

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等政策研究事業（難治性疾患政策研究事業）
 プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班 分担研究報告書

SSPE 患者と両親のエキソーム解析による疾患感受性候補遺伝子の検索

研究分担者：楠原浩一 産業医科大学小児科
 研究協力者：石崎義人 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野
 研究協力者：原 寿郎 九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野

研究要旨 SSPE 患者とその母親の血液が得られた 1 家系 2 検体、および SSPE 患者とその両親の血液が得られた 2 家系 6 検体の合計 3 家系 8 検体のエキソーム解析を行った。うち 2 家系で共通する遺伝子変異は 500 以上となったが、最も可能性が高い責任遺伝子候補として CCDC150 遺伝子に複合ヘテロ変異を認めた。

A. 研究目的

SSPE の宿主遺伝要因は正確には解明されていない。私たちは、これまで、遺伝子多型を用いた関連解析により、自然免疫に関わる遺伝子の中で MxA と TLR3、獲得免疫に関わる遺伝子の中で IL4 と PD1 のバリエーションが SSPE の発症に関与していることを報告してきた。

近年、次世代シーケンサー技術とバイオインフォマティクスの著しい進歩に伴い、ヒト遺伝子の全エクソムのシーケンス解析を容易に行うことが可能になり、種々の遺伝性疾患におけるゲノム変異データが蓄積されてきている。我々は、SSPE 患者と両親のエキソーム解析を行い、SSPE の疾患感受性に関与している候補遺伝子の検索を行った。本研究は、「SSPE の診療ガイドラインの策定・改訂」に関連した研究である

B. 研究方法

SSPE 患者とその母親の血液が得られた 1 家系(Family 1) 2 検体、および SSPE 患者とその両親の血液が得られた 2 家系 (Family 2, Family 3) 6 検体の合計 3 家系 8 検体とした。

データ解析は、3 家系のトリオ解析を行った。同胞の解析はなかった。HiSeq™ シーケンスシステム (HiSeq2000, Illumina 社) を用いてエキソーム解析を行った。遺伝子解析の第 1 段階では、Coding Sequence 領域におけるミスセンス変異と挿入/欠失によるフレームシフト変異を検索した。エキソーム解析データの質を示す Quality

は 100 以上であった。第 2 段階では、Minor Allele Frequency (MAF) 1%未満という条件を満たす病的変異を OMIM の Short Genetic Variations database (dbSNP) を用いて絞り込んだ。これに加えて、3 家系のうち少なくとも 2 家系で共通している、症例でホモ変異または複合ヘテロ変異がみられる、という 2 つの条件でさらに絞り込みを行った。

(倫理面への配慮)

本研究は所属施設の倫理委員会の承認を受けており、被検者あるいは保護者の文書による同意を得て行った。

C. 研究結果

エキソーム解析の解析対象となったミスセンス変異またはフレームシフト変異の数を表 1 に示した。これらを出発点として絞り込みを行った。

Family 1 と Family 2 の 2 家系で共通する遺伝子変異は 500 以上となったが、最も可能性が高い候補遺伝子として coiled-coil domain containing 150 (CCDC150) 遺伝子に複合ヘテロ変異を認めた。Family 1 の Case 1 では、p.Val704Ile は母由来であることが確認され、もう 1 つの p.Met365Val は父由来と推測された。Family 2 の Case 2 では、p.Val704Ile が父親由来、p.His511Tyr が母親由来であることが確認された。この 2 家系で見出された 3 つの変異、p.Val704Ile (dbSNP #rs 201013091)、p.Met365Val

(dbSNP #rs146455752)、p.His511Tyr (dbSNP #rs74600676) の ExAc Aggregated Populations の 12 万人のデータに基づく minor allele の頻度は、それぞれ 0.0005、0.0018、0.0014 で、いずれも極めて低頻度であった。

D. 考察

CCDC150 という分子は、Human Protein Reference Database では、Gene Symbol: CCDC150 coiled coil domain 150、Gene Map Locus: 2q33.1、Molecular Weight (Da) : 128760 (128.76kDa)、Protein Sequence: 1101AA (NP_001074008.1)、PROTEIN INTERACTORS : なし、と記載されている。図 1 に示した HomoloGene の記載¹⁾によれば、種を超えて保存されていることから、重要な機能を担っていることが推測される。図 2 は NCBI の RNA-seq で登録されている各組織での CCDC150 の発現状況を示したものである²⁾。特に精巣での発現が高く、脳でも低いながら発現が認められている。

CCDC150 は PubMed で検索しても関連論文がなく、機能についても不明であり、Molecular Interaction Map (MIM) にも情報がない。唯一、Boldt らの蛋白のネットワーク解析の論文³⁾の EF-Hand Domain-Containing Protein 1 (EFHC1) と CCDC150 の間にインタラクションがあるとの記載がある。EFHC1 は神経細胞の細胞骨格に関わる分子で、ミオクロニーてんかんに関連しているため、高率にミオクロニーがみられる SSPE の病態を考える上で興味深いデータと思われる。

今回の結果の問題点としては、2 つの家系で共通して認められた p.Val704Ile について、同じ分岐鎖アミノ酸の変異であることから、タンパク質機能への変化が小さいことが予想されることがあるが、CCDC150 についての情報が少なく解析が困難である。

E. 結論

SSPE 患者とその両親のエキソーム解析を行い、最も可能性が高い責任遺伝子候補として CCDC150 遺伝子に複合ヘテロ変異を認めた。今後は、日本人サンプル(40 件体)で CCDC150 遺伝子の解析を進め、遺伝学的妥当性の証明を行う予定である。

[参考文献]

- 1) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene/15814>
- 2) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/284992>
- 3) Boldt K, van Reeuwijk J, Lu Q et al. An organelle-specific protein landscape identifies novel diseases and molecular mechanisms. *Nat Commun* 7:11491, 2016.

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1 HomoloGeneにおけるCCDC150の記載

HomoloGene:15814. Gene conserved in Euteleostomi

Genes

Genes identified as putative homologs of one another during the construction of HomoloGene.

-  CCDC150, *H.sapiens*
coiled-coil domain containing 150
-  CCDC150, *P.troglodytes*
coiled-coil domain containing 150
-  CCDC150, *M.mulatta*
coiled-coil domain containing 150
-  CCDC150, *C.lupus*
coiled-coil domain containing 150
-  CCDC150, *B.taurus*
coiled-coil domain containing 150
-  Ccdc150, *M.musculus*
coiled-coil domain containing 150
-  Ccdc150, *R.norvegicus*
coiled-coil domain containing 150
-  ccdc150, *X.tropicalis*
coiled-coil domain containing 150
-  LOC100534986, *D.erio*
coiled-coil domain-containing protein 150-like

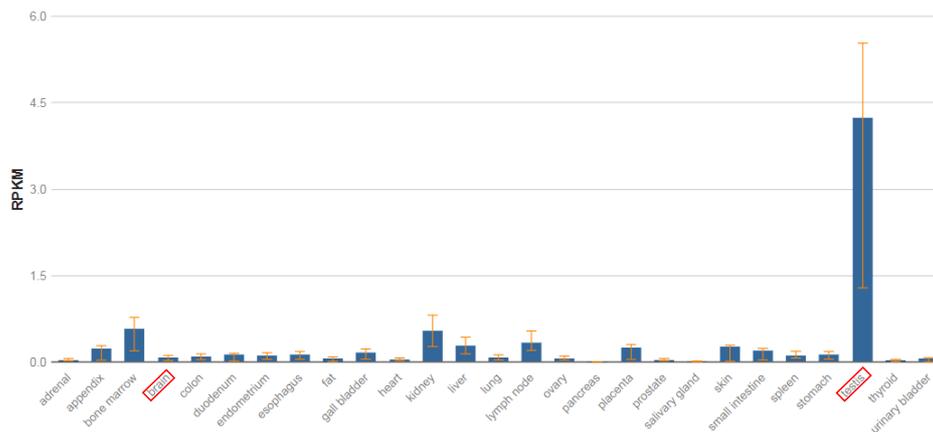
Proteins

Proteins used in sequence comparisons and their conserved domain architectures.

-  NP_001074008.1
1101 aa
-  XP_525991.3
1105 aa
-  XP_001086129.2
1105 aa
-  XP_005640539.1
1058 aa
-  XP_002685523.2
1148 aa
-  NP_084301.2
1110 aa
-  NP_001178735.1
1102 aa
-  XP_002935200.2
1096 aa
-  XP_003200128.2
964 aa

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/homologene/15814>

図2 ヒトの各組織でのCCDC150の発現状況



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/284992>