

McLeod 症候群の XK 遺伝子変異解析と XK タンパク質と chorein の相互作用に関する研究

研究分担者 佐野 輝

国立大学法人鹿児島大学・学術研究院医歯学域医学系・教授

研究要旨

神経有棘赤血球症の中核群の一つである、McLeod 症候群に関して全国から集積した血液サンプルを用いて遺伝子変異解析、責任タンパク質の発現解析ならびに臨床症状の解析を行った。分子診断のついた McLeod 症候群患者由来の赤血球膜分画を用いたウエスタンブロットでは chorein の免疫反応が有意に低下しており、chorein の低下が McLeod 症候群の分子病態に深く関与する可能性が示唆された。今後は今回の解析結果もとに分子診断により診断が確定した患者の自然史を追い、将来の診療ガイドラインの作成を目指す。

A. 研究目的と背景

神経有棘赤血球症とは神経症候と有棘赤血球症を併せ持つ病態に対して包括的に使用される用語である。神経有棘赤血球症は臨床的な神経症候において舞踏運動などのいわゆる movement disorder を呈する中核群と呈さない 2 群に大別される。中核群の多くは有棘赤血球舞踏病 (chorea-acanthocytosis; ChAc) と McLeod 症候群 (McLeod syndrome; MLS) で占められる。分子遺伝学的研究の進歩により、これらの疾患の病因遺伝子がいずれも明らかにされ、遺伝子診断により確定診断が可能となっている。今回、本邦における MLS に関してこれまで集積したサンプルから、XK 遺伝子の変異解析を行い、変異の分布や臨床症状について解析を行った。また、分子診断のついた MLS 患者では全例 ChAc 患者の

責任タンパク質である chorein が低下しており、chorein と XK の相互作用について解析した。

B. 方法

日本全国から集積した神経有棘赤血球症疑いの患者血液から遺伝子 DNA、RNA、赤血球膜分画を抽出した。赤血球膜分画の chorein ウエスタンブロットや XK タンパクのウエスタンブロットを行った。XK タンパクの免疫反応が無い患者由来の遺伝子 DNA や、RNA から作成した cDNA を用いてサンガー法により XK 遺伝子の配列解析を行った。サンガー法により解析が不能であったコピー数変異についてはゲノムシーケンスから得られた情報をもとにサンガー法を組み合わせ変異の断端配列を確認した。

chorein 安定高発現培養細胞を用いて免疫沈降法により chorein と XK タンパク質の共沈について解析した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究を含むため、鹿児島大学医学部遺伝子研究倫理委員会での審査を経て研究を行う承認を得た上で行った (受付番号第 101 号)。

C. 研究結果

1. XK 遺伝子変異

今回我々はウエスタンブロット解析で XK タンパク質の免疫反応の欠如を認めた 6 症例について MLS 遺伝子変異解析を行った。全例において XK 遺伝子変異を同定し、6 症例中 3 症例が新規の変異であった。表 1 に XK 遺伝子の変異を示す。

表1 XK 遺伝子変異

症例	Exon	DNA	アミノ酸
1	Exon 3	c.del669_673TGTAGinsGGTCCTCTTTACC	p.V225Lfs*12
2	Exon 3	c.1013delT	p.F338Sfs*70
3	Exon 2	c.451dupC	p.Q151Pfs*47
4	Exon 2	c.370C>T	p.Q124*
5	Exon 2	c.397C>T	p.R133*
6	Exon 3	Gross deletion	Unknown

1 例は、c.del669_673TGTAGinsGGTCCTCTTTACC (p.Val225LeufsTer12) (すでに報告済み)、他 2 症例は、exon2 上における c.370C>T (p.Gln124Ter)、c.508+32452_38252delinsc.508+32469_32850inv (Exon3 large deletion) の新規変異を同定した。

2. 臨床症状

表 2 に臨床症状を示す。

表2 McLeod症候群患者の臨床症状

症例	採血時年齢	発症年齢	発症時の症状	主たる精神症状	有棘赤血球症	舞蹈運動	脳波異常	CK値 (IU/L)	深部腱反射	心臓症	MRIにおける脳条件萎縮
1	64	47	筋力低下	不眠	+	+	間欠性θ波	5465	欠如	-	+
2	61	53	不随意運動	?	?	+	?	?	亢進	?	+
3	69	43	筋力低下	被害妄想	+	?	?	920	欠如	+	?
4	56	33	不随意運動	うつ	+	+	3-4Hz徐波	821	正常	-	+
5	65	50	不随意運動	認知機能低下	+	+	?	2422	?	?	?
6	70	55	不随意運動	強迫症状	+	+	?	1052	欠如	-	-

発症年齢は平均 46.8 歳 ± 8 歳 (33~67 歳)、初発症状は、不随意運動が 4 例、筋力低下が 2 例であった。初発症状の発症から最終診断までの経過年数は、平均 16.8 ± 6.7 年 (8~26 年) であった。分子診断により確定できた MLS は、ChAc と比べて発症年齢が遅いことが示唆された。

3. XK タンパク質と chorein との相互作用

McLeod 症候群患者全例の赤血球膜分画における chorein の免疫反応が健常者と比べて有意に低下していた。全例 VPS13A 遺伝子変異は持たなかったが、そのレベルは ChAc の VPS13A 遺伝子変異保因者レベルであった。chorein 安定高発現培養細胞を用いて免疫沈降法により chorein と XK タンパク質が共沈しており、chorein と XK タンパク質との間に何らかの相互作用の存在が示唆された。

D. 考察

日本人 6 例の MLS の分子診断を行い、3 つの新規変異を含む XK 遺伝子変異を同定した。ChAc と MLS の臨床症状は酷似しており、chorein 欠損と XK タンパク質欠損に共通分子病態が存在することが示唆される。今回、chorein と XK タンパク質の相互作用が示唆され、McLeod 症候群の患者赤血球膜では chorein が低下していた。両者の臨床症状は

酷似するが、ChAc の発症年齢が約 30 歳であるのに対して、MLS は約 46 歳であり、進行も緩徐である。中枢神経系における解析が必要であるが、これらから McLeod 症候群においては chorein 低下が分子病態に深く関わる可能性が示唆された。

E. 結論

神経有棘赤血球症の中核群である MLS に関して、XK 遺伝子の変異解析を行った。全例 chorein ウエスタンブロットの結果 chorein の免疫反応は低下しており、chorein と XK タンパク質の相互作用の存在が示唆された。

今後は診療ガイドラインの作成に向かい、分子診断に基づいた患者の症状や自然史に加え、基礎医学的な病態生理を含めたエビデンスを蓄積する。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Yuka Urata, Masayuki Nakamura, Natsuki Sasaki, Nari Shiokawa, Yoshiaki Nishida, Kaoru Arai, Hanae Hiwatashi, Izumi Yokoyama, Shinsuke Narumi, Yasuo Terayama, Takenobu Murakami, Yoshikazu Ugawa, Hiroki Sakamoto, Satoshi Kaneko, Yusuke Nakazawa, Ryo Yamasaki, Shoko Sadashima, Toshiaki Sakai, Hiroaki Arai, and Akira Sano: Novel pathogenic

XK mutations in McLeod syndrome and interaction between XK protein and chorein. *Neurology: genetics*, in press

2. 学会発表

Yuka Urata, Masayuki Nakamura, Hanae Hiwatashi, Izumi Yokoyama, Kyoko Meguro, Akira Sano: Molecular diagnosis and symptoms of the six cases of McLeod syndrome. WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry
Sep. 8, 2018 Kobe Japan

Yoshiaki Nishida Masayuki Nakamura, Akira Sano: Novel pathogenic mutations in the VPS13A gene in patients with Chorea-acanthocytosis and clinical diversities in Japanese patients. WFSBP Asia Pacific Regional Congress of Biological Psychiatry
Sep. 8, 2018 Kobe Japan

H. 知的財産の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得 ; 該当なし
2. 実用新案登録 ; 該当なし
3. その他 ; 該当なし