

厚生科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

遺伝子診断システムの構築

分担研究者 才津 浩智 浜松医科大学医化学

研究要旨

これまでの検討により、遺伝性白質疾患の遺伝子診断技術として、遺伝子のエクソン領域を網羅的に解析可能な全エクソーム解析が最も有用と考えられる。今回、白質異常を呈する5症例において、全エクソーム解析により *NDUFAF5*, *SLC35A2*, *HSD17B4*, *COL4A1* 変異を同定し、白質疾患の遺伝的多様性と網羅的遺伝子解析の必要性が明らかとなった。

A. B. 研究目的および方法

本研究では、白質異常を呈する5症例において、その臨床所見と全エクソーム解析で同定した変異の病的意義について検討した。

C. 結果

(1) *NDUFAF5* 変異

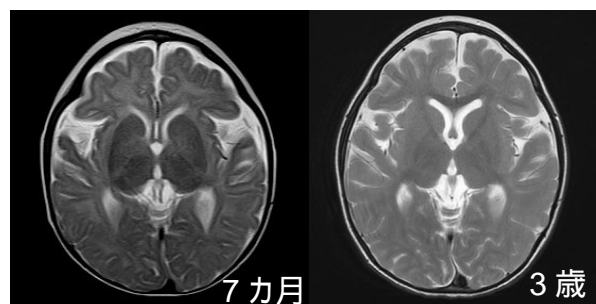
症例1および症例2は一卵性双胎の男児で、生後1-2カ月から兄弟ともに眼振を認め、3か月時の頭部MRI検査ではT1WIで脳全体が均一な信号を呈し、hypomyelinationと考えられた。1歳4か月時のMRIの再検でもhypomyelinationの所見は認められ、未定額と発達は著しく遅れていた。全エクソーム解析では、ミトコンドリアの複合体Iの構成因子をコードする *NDUFAF5* の複合ヘテロ接合性変異が同定された。NM\_024120.4: c.423T>A:p.(Asp141Glu)はgnomADに登録のない極めて稀な変異で、Asp141はS-adenosyl-L-methionineの結合に重要なアミノ酸であった。また、NM\_024120.4: c.848C>T:p.(Ala283Val)は、gnomADで251,238アレル中3アレルしか認めない極めて稀な変異で、両変異ともにPoyPhen-2の病的予測はprobably pathogenicであった。しかし、乳酸値の上昇は認めないことから、非定型のミトコンドリア病である可能性が疑われ、現在、皮膚線維芽細胞を用いたミトコンドリアの機能解析を行っている。

(2) *SLC35A2* 変異

症例3は3歳の女児で、発達の遅れを指摘され、7カ月時に撮影したMRIで髄鞘化遅延が認められた。1歳8カ月、3歳時のMRIでは髄鞘化は進行していたが(図1)重度発達遅滞と痙

図1. *SLC35A2* 変異症例の髄鞘化遅延

性四肢麻痺が認められた。全エクソーム解析では、グリコシル化の材料となるUDP-ガラクトースの輸送体をコードする *SLC35A2* のヘテロ接合性変異(スプライス部位の変異)を同定し



(NM\_005660.2:c.274+1G>A) サンガー法で、この変異がご両親には認められない *de novo* 変異であることを確認した。血液白血球より抽出したRNAを用いたスプライス異常の解析では、変異によってイントロン2の33塩基が保持される異常転写産物が確認でき(図2)、11アミノ酸が挿入された異常遺伝子産物が生成されることが予想された。これまでの *SLC35A2* 変異症例は、筋緊張が低下する場合がほとんどであり、本症例のような痙性四肢麻痺は極めて稀である。 *SLC35A2* 変異症例で通常認めるてんかんも認められないことから、本症例は11アミノ酸の挿入による軽度の機能低下により引き起こされた非典型例と考えられた。

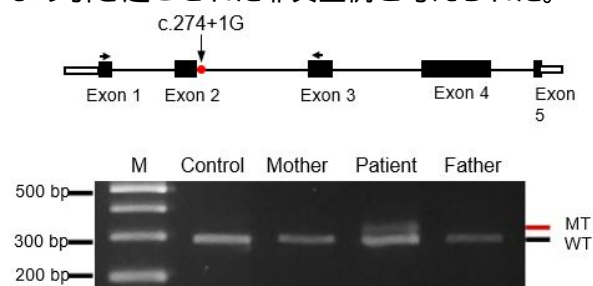


図2. *SLC35A2* スプライス異常(患者で長い異常転写産物を認める)

### (3) HSD17B4 変異の同定

症例 4 は 5 歳の男児で、生後すぐに感音性難聴が判明した。1 歳 3 カ月時の MRI で後頭部有意に T2, FLAIR で淡い高信号を示す深部白質病変を認めた。2 歳頃から感染に伴い急速な精神運動退行および痙性の進行を繰り返し、その都度、後頭部有意の白質病変の拡大を認めた。極長鎖脂肪酸の増加は認めなかった。全エクソーム解析で、ペルオキシソームでの脂肪酸の酸化で働く D-二頭酵素をコードする *HSD17B4* 遺伝子の複合ヘテロ接合性変異を認めた。NM\_000414.3:c.350A>T:p.(Asp117Val) および NM\_000414.3:c.394C>T:p.(Arg132Trp) はどちらも極めて稀な変異で、p.(Arg132Trp) は過去にペルオキシソーム病患者で同定された病的変異であった。遺伝子解析結果を受けての脂肪酸分析では、フィタン酸、プリスタン酸の蓄積を認め、分枝鎖脂肪酸におけるペルオキシソーム酸化の軽度の異常が示唆され、非典型的な D-二頭酵素欠損症と考えられた。

### (3) COL4A1 変異の同定

症例 5 は 10 歳の男児で、中等度の知的障害と調節性内斜視、遠視とコントロール可能な眼がんが認められた。MRI では、左側脳室の拡大と深部白質の T2 高信号を認めた。全エクソーム解析では、IV 型コラーゲンをコードする *COL4A1* のヘテロ接合性変異を同定し (NM\_001845.4:c.2662G>A, p.(Gly888Arg)) サンガー法で、この変異がご両親には認められない *de novo* 変異であることを確認した。コラーゲンの Gly-X-Y リピート中の Gly のアミノ酸置換であり、左側脳室の拡大の孔脳症に合致する所見も認められたため、この *COL4A1* 変異が原因と考えられた。

#### D. E. 考察および結論

白質異常を呈する 5 症例において、全エクソーム解析により *NDUFAF5*, *SLC35A2*, *HSD17B4*, *COL4A1* 変異を同定した。*COL4A1* 変異症例を除き、5 症例はどれも典型的な症状でなく、当該遺伝子の軽度の機能異常によって引き起こされる非典型例と考えられ、臨床所見から原因遺伝子変異を推定することが困難であった。そのような症例においても、全エクソーム解析によって原因遺伝子変異が同定されており、遺伝的にヘテロな集団である白質疾患においては、全エクソーム解析のような網羅的遺伝子解析が有用であることが、改めて確認された。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Takashima S, Saitsu H, Shimozawa N. Expanding the concept of peroxisomal diseases and efficient diagnostic system in Japan. *J Hum Genet.* 2019 Feb;64(2):145-152.
2. Miyatake S, Schneeberger S, Koyama N, Yokochi K, Ohmura K, Shiina M, Mori H, Koshimizu E, Imagawa E, Uchiyama Y, Mitsuhashi S, Frith MC, Fujita A, Satoh M, Taguri M, Tomono Y, Takahashi K, Doi H, Takeuchi H, Nakashima M, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Saitsu H, Tanaka F, Ogata K, Hennet T, Matsumoto N. Biallelic *COLGALT1* variants are associated with cerebral small vessel disease. *Ann Neurol.* 2018 Dec;84(6):843-853.
3. Shiraku H, Nakashima M, Takeshita S, Khoo CS, Haniffa M, Ch'ng GS, Takada K, Nakajima K, Ohta M, Okanishi T, Kanai S, Fujimoto A, Saitsu H, Matsumoto N, Kato M. *PLPBP* mutations cause variable phenotypes of developmental and epileptic encephalopathy. *Epilepsia Open.* 2018 Nov 1;3(4):495-502.
4. Hamada N, Ogaya S, Nakashima M, Nishijo T, Sugawara Y, Iwamoto I, Ito H, Maki Y, Shirai K, Baba S, Maruyama K, Saitsu H, Kato M, Matsumoto N, Momiyama T, Nagata KI. *De novo PHACTR1* mutations in West syndrome and their pathophysiological effects. *Brain.* 2018 Nov 1;141(11):3098-3114.
5. Tsuchida N, Hamada K, Shiina M, Kato M, Kobayashi Y, Tohyama J, Kimura K, Hoshino K, Ganesan V, Teik KW, Nakashima M, Mitsuhashi S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Saitsu H, Ogata K, Miyatake S, Matsumoto N. *GRIN2D* variants in three cases of developmental and epileptic encephalopathy. *Clin Genet.* 2018 Dec;94(6):538-547.
6. Chong PF, Saitsu H, Sakai Y, Imagi T, Nakamura R, Matsukura M, Matsumoto N, Kira R. Deletions of *SCN2A* and *SCN3A*

- genes in a patient with West syndrome and autistic spectrum disorder. *Seizure*. 2018 Aug;60:91-93.
7. Sato T, Kato M, Moriyama K, Haraguchi K, **Saitsu H**, Matsumoto N, Moriuchi H. A case of tubulinopathy presenting with porencephaly caused by a novel missense mutation in the *TUBA1A* gene. *Brain Dev*. 2018 Oct;40(9):819-823.
  8. Hamanaka K, Miyatake S, Zerem A, Lev D, Blumkin L, Yokochi K, Fujita A, Imagawa E, Iwama K, Nakashima M, Mitsuhashi S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, **Saitsu H**, van der Knaap MS, Lerman-Sagie T, Matsumoto N. Expanding the phenotype of *IBA57* mutations: related leukodystrophy can remain asymptomatic. *J Hum Genet*. 2018 Dec;63(12):1223-1229.
  9. Belal H, Nakashima M, Matsumoto H, Yokochi K, Taniguchi-Ikeda M, Aoto K, Amin MB, Maruyama A, Nagase H, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyake N, Iijima K, Nonoyama S, Matsumoto N\*, **Saitsu H\***. *De novo* variants in *RHOBTB2*, an atypical Rho GTPase gene, cause epileptic encephalopathy. *Hum Mutat*. 2018 Aug;39(8):1070-1075.
  10. Kunii M, Doi H, Ishii Y, Ohba C, Tanaka K, Tada M, Fukai R, Hashiguchi S, Kishida H, Ueda N, Kudo Y, Kugimoto C, Nakano T, Udaka N, Miyatake S, Miyake N, **Saitsu H**, Ito Y, Takahashi K, Nakamura H, Tomita-Katsumoto A, Takeuchi H, Koyano S, Matsumoto N, Tanaka F. Genetic analysis of adult leukoencephalopathy patients using a custom-designed gene panel. *Clin Genet*. 2018 Aug;94(2):232-238.
  11. Takeguchi R, Haginoya K, Uchiyama Y, Fujita A, Nagura M, Takeshita E, Inui T, Okubo Y, Sato R, Miyabayashi T, Togashi N, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Nakashima M, **Saitsu H**, Matsumoto N, Sasaki M. Two Japanese cases of epileptic encephalopathy associated with an *FGF12* mutation. *Brain Dev*. 2018 Sep;40(8):728-732..
  12. Fassio A, Esposito A, Kato M, **Saitsu H**, Mei D, Marini C, Conti V, Nakashima M, Okamoto N, Olmez Turker A, Albus B, Semerci Gündüz CN, Yanagihara K, Belmonte E, Maragliano L, Ramsey K, Balak C, Siniard A, Narayanan V; C4RCD Research Group, Ohba C, Shiina M, Ogata K, Matsumoto N, Benfenati F, Guerrini R. *De novo* mutations of the *ATP6V1A* gene cause developmental encephalopathy with epilepsy. *Brain*. 2018 Jun 1;141(6):1703-1718.
  13. Saikusa T, Hara M, Iwama K, Yuge K, Ohba C, Okada JI, Hisano T, Yamashita Y, Okamoto N, **Saitsu H**, Matsumoto N, Matsuishi T. *De novo* *HDAC8* mutation causes Rett-related disorder with distinctive facial features and multiple congenital anomalies. *Brain Dev*. 2018 May;40(5):406-409.
  14. Mizuguchi T, Nakashima M, Kato M, Okamoto N, Kurahashi H, Ekhilevitch N, Shiina M, Nishimura G, Shibata T, Matsuo M, Ikeda T, Ogata K, Tsuchida N, Mitsuhashi S, Miyatake S, Takata A, Miyake N, Hata K, Kaname T, Matsubara Y, **Saitsu H**, Matsumoto N. Loss-of-function and gain-of-function mutations in *PPP3CA* cause two distinct disorders. *Hum Mol Genet*. 2018 Apr 15;27(8):1421-1433.
2. 学会発表
    1. **才津浩智**. 「発達期脳神経疾患の遺伝要因と分子病態の解明」 第 110 回東海臨床遺伝・代謝懇話会、2019 年 2 月 16 日、名古屋
    2. **才津浩智**. 「発達期脳神経疾患の分子病態の解明」 第 24 回日本小児神経学会東北地方会、2018 年 11 月 10 日、山形
    3. **才津浩智**. 「遺伝子診断技術」 第 28 回遺伝医学セミナー、2018 年 9 月 8 日、大阪
    4. **才津浩智**. 「難治性疾患の全エクソーム解析」 *Endocrinology Debate and Global Exchange in Japan*、2018 年 7 月 22 日、東京
    5. **才津浩智**. シンポジウム ゲノム医療の幕開け 「網羅的遺伝子解析による遺伝性疾患の診断」 第 58 回日本臨床化学会年次学術集会 2018 年 8 月 24 日、名古屋
- H . 知的財産権の出願・登録状況
- 特になし