

脊髄小脳変性症の診断支援・未診断疾患の原因同定に関する研究

研究分担者: 高嶋 博 鹿児島大学大学院 脳神経内科・老年病学講座

研究協力者: 樋口雄二郎¹⁾, 安藤匡宏¹⁾, 崎山佑介¹⁾, 橋口昭大¹⁾, 吉村明子¹⁾, 岡本裕嗣¹⁾, 松浦英治¹⁾, 中川正法²⁾, 石浦浩之³⁾, 三井 純³⁾, 戸田 達史³⁾, 辻 省次³⁾, 村山 圭⁴⁾, 原 太一⁵⁾, 山口政光⁶⁾

- 1) 鹿児島大学病院神経内科
- 2) 京都府立医科大学附属北部医療センター神経内科
- 3) 東京大学医学部附属病院 神経内科
- 4) 千葉県こども病院代謝科
- 5) 早稲田大学人間科学学術院 健康福祉科学科 細胞制御学
- 6) 京都工芸繊維大学 応用生物学系・染色体工学研究室

研究要旨

平成 30 年度に同定した軸索型ニューロパチーと伴う脊髄小脳変性症の新規原因遺伝子 *COA7* (Cytochrome c oxidase assembly factor 7) 変異を有する症例を蓄積し、その臨床的・遺伝学的検討を行った。*COA7* 遺伝子変異を有する症例(累計 7 例)の臨床的検討を行い、小脳失調症以外に軸索型ニューロパチーおよび錐体外路障害、痙性、認知機能障害、ミオパチーなど多系統の障害をきたすことを明らかにした。また原因未同定の脊髄小脳変性症を対象に次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝解析(全エクソーム解析)を行い診断支援を行った。リピート伸張変異のスクリーニングを行い、異常の検出できなかった原因未同定の小脳失調症の症例の中から累計 96 例を対象に全エクソーム解析を実施し、既報告の病的変異 10 例(10%)、新規の病的変異 18 例(19%)を同定し、脊髄小脳変性症の包括的な遺伝子診断支援を行った。

A. 研究目的

平成 30 年度、我々は小脳失調を伴う軸索型ニューロパチーの新規原因遺伝子 *COA7* (Cytochrome c oxidase assembly factor 7) を同定し、4 家系の臨床的特徴から spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy type 3 (SCAN3) と命名し報告した¹⁾。その後も症例が蓄積されたので、その臨床的特徴を明らかにする。また当施設にて以前より実施している遺伝性小脳失調症の包括的遺伝子解析を継続して行う。またリピート伸張異常を同定できない症例に対しては全エクソーム解析(whole exome sequencing; WES)を実施し、個々の症例の遺伝子異常およびその頻度などを明らかにする。

B. 研究方法

当科で同定した *COA7* 変異の既報告 4 症例 (Patient 1-4) に加え、新規に同定した 2 症例 (Patient 5、6) および海外からの症例報告 1 例 (Patient 7) を含む計 7 例の臨床的特徴を臨床経過、神経所見、神経画像所見、電気生理学的所見、病理学的所見などから詳細に検討した。これまでに当施設に遺伝子検査依頼のあった遺伝性小脳失調症患者の症例(1406 例)の中から SCA1、2、3、6、7、8、12、31、DRPLA のリピート伸張異常を認めず、またプリオン遺伝子(*PRNP*)に異常を認めなかった症例の中から家族歴の有無や血族婚の有無、臨床経過などにより遺伝性小脳失調症の可能性が強く示唆される 96 症例を選出・対象とし、次世代シーケンサー (Ion Proton) を用いた全エクソーム

解析を行った。得られた変異は既報告の変異と新規変異に分類し、新規変異に関しては ACMG ガイドラインにそって Pathogenic もしくは likely pathogenic 変異を選出した。

(倫理面への配慮)

これらの実験に使用する DNA 検体の使用については、鹿児島大学のヒトゲノム使用研究に関する倫理委員会で承認され、使用目的(遺伝性神経疾患の遺伝子診断検査、研究目的での原因検索の施行および厳重な保存)について患者または家族全員に十分に説明し、文書で遺伝子検査に関する同意書を得ている。

C. 研究結果

COA7 変異症例 7 例全例とも軸索型ニューロパチーを呈していた。6 例で小脳失調および軽度の小脳萎縮を認めたが、1 例は認めなかった。興味深いことに、新規に同定した 2 症例 (Patient 5、6) では、パーキンソニズムやジストニアなどの錐体外路症状も呈しており、L-dopa が有効であった。1 例(Patient 5)ではダツスキャンでは著明な集積低下を認め脳深部刺激療法が有効であった。認知機能面では 3 例で障害を認め、MRI でも大脳深部白質病変を認めた。また 2 例で脊髄萎縮を認めた。血液検査では、6 例で CK もしくは乳酸・ピルビン酸の上昇を認め、筋生検(Patient 1)では少数の ragged-red fiber および CCO 欠損線維を認め、subclinical mitochondrial myopathy を示唆する所見を認めた。遺伝性小脳失調症 96 症例の全エクソーム解析においては、10 例(10.4%)に既報告の病的変異を、18 例(18.8%)に新規変異を認めた。既報告の病的変異は、CACNA1A、KCND3、GRID2、DNMT1、PEX10、NOTCH3、KIF5A、PMP22 (deletion)、SH3TC2 であり、新規変異は ELOVL4、TMEM240、CACNA1A、CCDC88C、KCNA1、SPG7、SPG21、SPAST、KIF1A、AP5Z1、GRM1、ERCC6、ANO10、SYNE1、PTRH2 であった。

D. 考察

COA7 タンパクはミトコンドリア呼吸鎖複合体のアセンブリ(集合)に重要な役割をもち、神経系においては小脳や大脳皮質、基底核など中枢神経系および末梢神経系に発現していることが分かっている。本研究では、COA7 異常によりニューロパチーおよび小脳失調症以外に錐体外路症状、痙性、認知機能障害、ミオパチーなど、多系統の障害をきたすことが分かった。COA7 異常症の病態解明は、遺伝性ニューロパチーや脊髄小脳変性症を含むさまざまな神経変性疾患に共通する神経変性メカニズムのさらなる病態解明および今後の治療開発に貢献するものと思われる。

また、96 例の全エクソーム解析で同定された病的変異は全体で 28 例(29%)であった。同定した遺伝子の中には、Charcot-Marie-Tooth 病の原因遺伝子(SH3TC2)や遺伝性痙性対麻痺の原因遺伝子(SPAST、SPG7、SPG21、KIF5A、KIF1A、AP5Z1)など、脊髄小脳変性症以外の遺伝子変異も複数同定された。これらの遺伝子の変異では小脳失調を呈する表現型も報告されていることから、遺伝性失調症と鑑別を要する疾患は多岐にわたると考えられる。したがって、網羅的な遺伝子解析には、全エクソーム解析が非常に有用であった。一方、原因未同定の遺伝性小脳失調症がまだ多数存在し、今後は新規原因遺伝子の探索を進める。

E. 結論

COA7 異常は小脳失調、ニューロパチー、錐体外路徴候、痙性、認知機能障害、ミオパチーなど多系統の障害を引き起こすことが明らかになった。COA7 異常症の病態解明は、遺伝性ニューロパチーや脊髄小脳変性症を含むさまざまな神経変性疾患に共通する神経変性メカニズムのさらなる病態解明および今後の治療開発に貢献するものと思われる。リピート伸長異常が同定されない遺伝性小脳失調症においては、引き続き全エクソーム解析を継続して実施し、今後は新規原因遺伝子の探索を進める。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

- 1) ○Higuchi Y, Okunushi R, Hara T, Hashiguchi A, Yuan J, Yoshimura A, Murayama K, Ohtake A, Ando M, Hiramatsu Y, Ishihara S, Tanabe H, Okamoto Y, Matsuura E, Ueda T, Toda T, Yamashita S, Yamada K, Koide T, Yaguchi H, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Doi K, Morishita S, Sato K, Nakagawa M, Yamaguchi M, Tsuji S, Takashima H: Mutations in COA7 cause spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Brain*. 2018 Jun 1;141(6):1622-1636. doi: 10.1093/brain/awy104.PMID: 29718187
- 2) ○Yoshimura A, Yuan JH, Hashiguchi A, Ando M, Higuchi Y, Nakamura T, Okamoto Y, Nakagawa M, Takashima H: Genetic profile and onset features of 1005 patients with Charcot-Marie-Tooth disease in Japan. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2018 Sep 26. pii: jnnp-2018-318839. doi: 10.1136. PMID: 30257968
- 3) ○Yoshimura M, Yuan JH, Higashi K, Yoshimura A, Arata H, Okubo R, Nakabeppu Y, Yoshiura T, Takashima H: Correlation between clinical and radiologic features of patients with Gerstmann-Sträussler-Scheinker syndrome (Pro102Leu). *J Neurol Sci*. 2018 Aug 15;391:15-21. doi: 10.1016/j.jns.2018.05.012. Epub 2018 May 17. PMID: 30103963
- 4) Miyabayashi T, Ochiai T, Suzuki N, Aoki M, Inui T, Okubo Y, Sato R, Togashi N, Takashima H, Ishiura H, Tsuji S, Koh K, Takayama Y, Haginoya K: A novel homozygous mutation of the TFG gene in a patient with early onset spastic paraplegia and later onset sensorimotor polyneuropathy. *J Hum Genet*. 2019 Feb;64(2):171-176. doi: 10.1038/s10038-018-0538-4. Epub 2018 Nov 22. PMID: 30467354
- 5) Takanashi M, Funayama M, Matsuura E, Yoshino H, Li Y, Tsuyama S, Takashima H, Nishioka K, Hattori N: Isolated nigral degeneration without pathological protein aggregation in autopsied brains with LRRK2 p.R1441H homozygous and heterozygous mutations. *Acta Neuropathol Commun*. 2018 Oct 17;6(1):105. doi: 10.1186/s40478-018-0617-y. PMID: 30333048
- 6) Nishikura N, Yamagata T, Morimune T, Matsui J, Sokoda T, Sawai C, Sakaue Y, Higuchi Y, Hashiguchi A, Takashima H, Takeuchi Y, Maruo Y: X-linked Charcot-Marie-Tooth disease type 5 with recurrent weakness after febrile illness. *Brain Dev*. 2019 Feb;41(2):201-204. doi: 10.1016/j.braindev.2018.08.006. Epub 2018 Aug 31. PMID: 30177296
- 7) Sakiyama Y, Matsuura E, Maki Y, Yoshimura A, Ando M, Nomura M, Shinohara K, Saigo R, Nakamura T, Hashiguchi A, Takashima H: Peripheral neuropathy in a case with CADASIL: a case report. *BMC Neurol*. 2018 Aug 31;18(1):134. doi: 10.1186/s12883-018-1131-3. PMID: 30170552
- 8) ○Yamaguchi M, Takashima H: Drosophila Charcot-Marie-Tooth Disease Models. *Adv Exp Med Biol*. 2018;1076:97-117. doi: 10.1007/978-981-13-0529-0_7. Review. PMID: 29951817
- 9) 竹丸 誠, 下江 豊, 佐藤 恒太, 橋口 昭大, 高嶋 博, 栗山 勝: 一過性の繰り返す大脳白質病変を示し, GJB1 遺伝子点変異ヘテロ接合体の X連鎖 Charcot-Marie-Tooth 病の女性例. *臨床神経学*. 2018 May 25;58(5):302-307. doi: 10.5692/clinicalneurology.001138. Epub 2018 Apr 28. Review. Japanese. PMID: 29710024
- 10) Fujisaki N, Suwazono S, Suehara M, Nakachi

- R, Kido M, Fujiwara Y, Oshiro S, Tokashiki T, Takashima H, Nakagawa M: The natural history of hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement (HMSN-P) in 97 Japanese patients. *Intractable Rare Dis Res.* 2018 Feb;7(1):7-12. doi: 10.5582/irdr.2017.01084. PMID: 29552439
11. Dung VM, Suong DNA, Okamoto Y, Hiramatsu Y, Thao DTP, Yoshida H, Takashima H, Yamaguchi M: Neuron-specific knockdown of *Drosophila* PDHB induces reduction of lifespan, deficient locomotive ability, abnormal morphology of motor neuron terminals and photoreceptor axon targeting. *Exp Cell Res.* 2018 May 15;366(2):92-102. doi: 10.1016/j.yexcr.2018.02.035. Epub 2018 Mar 6. PMID: 29501567
- 12) Tanabe H, Higuchi Y, Yuan JH, Hashiguchi A, Yoshimura A, Ishihara S, Nozuma S, Okamoto Y, Matsuura E, Ishiura H, Mitsui J, Takashima R, Kokubun N, Maeda K, Asano Y, Sunami Y, Kono Y, Ishigaki Y, Yanamoto S, Fukae J, Kida H, Morita M, Tsuji S, Takashima H: Clinical and genetic features of Charcot-Marie-Tooth disease 2F and hereditary motor neuropathy 2B in Japan. *J Peripher Nerv Syst.* 2018 Mar;23(1):40-48. doi: 10.1111/jns.12252. Epub 2018 Feb 14. PMID: 29381233
- 13) Yuan JH, Hashiguchi A, Okamoto Y, Yoshimura A, Ando M, Shiomi K, Saito K, Takahashi M, Ichinose K, Ohmichi T, Ichikawa K, Tadashi A, Takigawa H, Shibayama H, Takashima H: Clinical and mutational spectrum of Japanese patients with recessive variants in SH3TC2. *J Hum Genet.* 2018 Mar;63(3):281-287. doi: 10.1038/s10038-017-0388-5. Epub 2018 Jan 10. PMID: 29321516

2.学会発表

- 1) ○樋口雄二郎¹⁾、橋口昭大¹⁾、袁 軍輝¹⁾、吉村明子¹⁾、岡本裕嗣¹⁾、松浦英治¹⁾、上田 健博²⁾、石浦浩之³⁾、三井 純³⁾、戸田 達史²⁾³⁾、辻省次²⁾、高嶋 博¹⁾ *COA7* は小脳失調を伴う軸索型ニューロパチーの新規原因遺伝子である。第 29 回日本末梢神経学会学術集会, 2018 年 9 月 8 日.
- 2) ○樋口雄二郎, 橋口昭大, 袁 軍輝, 吉村明子, 岡本裕嗣, 松浦英治, 高嶋 博 遺伝性ニューロパチーの 2 つの新規遺伝子 *MME* と *COA7* の同定, 第 60 回日本神経学会学術大会, 2019 年 5 月.
- 3) ○Yujiro Higuchi, Akihiro Hashiguchi, Akiko Yoshimura, Yuji Okamoto, Eiji Matsuura, Hiroshi Takashima, *COA7* cause spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. The American Society of Human Genetics 2019 Annual Meeting, Houston, USA, 2019

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1.特許取得

遺伝性疾患の検出方法(特許第 6378529 号, 出願日: 平成 26 年 4 月 28 日、取得年月日: 平成 30 年 8 月 3 日、利権者: 高嶋 博、樋口雄二郎)

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし