

神経有棘赤血球症に関する研究

研究分担者 中村 雅之
鹿児島大学 大学院医歯学総合研究科 精神機能病学分野・准教授

【研究要旨】有棘赤血球舞蹈病 (Chorea-acanthocytosis; ChAc)は稀な常染色体劣性遺伝性神経変性疾患であり患者数は世界で1000症例程と推定されている。日本人ChAcについては100症例以上の報告があり世界の中では日本人に比較的多い疾患であるが、原因遺伝子である *VPS13A* 遺伝子の変異分布などは明らかにされていない。今回、我々はChAcと臨床診断された日本人ChAc17症例についてコピー数変異 (Copy Number Variation; CNV) 解析を含めた包括的遺伝子変異解析と赤血球膜分画を用いた *VPS13A* 遺伝子産物である chorein のウェスタンブロット解析による分子的診断を行った。遺伝子型表現型の明らかな相関は認めなかったが、ChAc患者の多くは認知機能の低下を含め多彩な精神症状を呈することが明らかとなった。日本人ChAc患者において exon 60-61の欠失変異と exon 37 上のc.4411C>T (R1471X) の遺伝子変異が55.1%を占め東京と西日本に多く存在し、一部の創始者効果が示唆された。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

有棘赤血球舞蹈病 (Chorea-acanthocytosis; ChAc)は稀な常染色体劣性遺伝性神経変性疾患であり患者数は世界で1000症例程と推定されている。日本人ChAcについては100症例以上の報告があり世界の中では日本人に比較的多い疾患とされているが、原因遺伝子 (*VPS13A*) 変異の分布などは明らかにされていない。今回、我々は日本人ChAcの遺伝子変異の分布と臨床症状の関連を明らかにするために日本人ChAc17症例の *VPS13A* 遺伝子に関して、コピー数変異 (Copy Number Variation; CNV) 解析を含めた包括的遺伝子変異解析と赤血球膜分画を用いた *VPS13A* 遺伝子産物である chorein のウェスタンブロット解析による分子的診断を行った。また、既報22症例を合わせた計39症例の日本人ChAcの

VPS13A 遺伝子変異の変異分布、臨床症状を解析した。

B．研究方法

ChAcと臨床診断された患者に対し、文書による説明と同意を得て血液を採取し、赤血球から赤血球膜分画、白血球からgDNAとRNA抽出し、cDNAを合成した。赤血球膜分画タンパク質をウェスタンブロット法で解析し、免疫反応により chorein 蛋白質を検定した。サンガー法によるシーケンシングと TaqMan probe を用いた CNV 解析により、17名の日本人ChAc患者において病因遺伝子である *VPS13A* の全73エクソン及び近傍領域で遺伝子変異解析を行った。TaqMan probe によって CNV (duplication) 変異が予想された領域に関しては、long range PCR とサン

ガーシークエンスを組み合わせて break points を同定した。また、これまでに我々が ChAc の分子的診断を下した既報 22 症例を加えた日本人 ChAc39 症例における臨床症状の解析を行った。

(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

17 症例は赤血球膜分画の chorein ウェスタンブロット解析において chorein 蛋白質のバンドは 1 症例では著しい減退、他 16 症例では chorein 蛋白質のバンドを認めなかった。これら 17 症例について遺伝子変異解析を行ったところ、1 種類の新規 CNV (exon36-45 の duplication) 変異を含めた 11 種類の新規変異を同定した。chorein ウェスタンブロット解析において chorein 蛋白質のバンドが著しい減退を示した症例においては、下流にストップコドンを生じる欠失変異とターミネーションコドンを伴わない欠失変異を複合ヘテロ接合性に有していた。これまでに我々が ChAc の分子的診断を下した既報 22 症例を加えた日本人 ChAc39 症例における臨床症状の解析では運動症状に加えて、5 例の精神症状の詳細不明な症例を除くと 97.1% の患者において多彩な精神症状や認知機能低下を認めた。日本人 ChAc 患者において exon 60-61 の欠失変異と exon 37 上の c.4411C>T (R1471X) の 2 種の遺伝子変異が全体の 55.1% を占め東京と西日本に多く存在した。一方で他の患者は個々で異なる多種の変異を有しており沖縄を除く全国に分布していた。

D . 考察

17 症例の日本人 ChAc 患者において 1 種類の新規 CNV を含め、11 種類の *VPS13A* 遺伝子の新規疾患変異を同定した。ChAc 患者において、ナンセンス変異依存 mRNA 分解と推定される機構によって通常 chorein 蛋白質の免疫反応は消失するが、ターミネーションコドンを伴わない変異を有した症例においては chorein 蛋白質の免疫反応がわずかに残存した。既報の 22 例を含めた日本人 ChAc39 例の臨床症状の解析を行ったところ、遺伝子型表現型の明らかな相関は認めなかったが、ChAc 患者の多くは認知機能の低下を含め多彩な精神症状を呈することが明らかとなった。日本人 ChAc 患者において exon 60-61 の欠失変異と exon 37 上の c.4411C>T (R1471X) の遺伝子変異が 55.1% を占め東京と西日本に多く存在し、一部の創始者効果が示唆された。

E . 結論

日本人 ChAc 患者における *VPS13A* 遺伝子変異は多彩で遺伝子上に幅広く分布するが関東以西においては一部創始者効果も認めた。ChAc 患者の多くは認知機能の低下を含め多彩な精神症状を有する。臨床症状と変異の間に明らかな関係性は認めなかった。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。

G . 研究発表

1. 論文発表

Nishida Y, Nakamura M, Urata Y, Kasamo K, Hiwatashi H, Yokoyama I, Mizobuchi M, Sakurai K, Osaki Y, Morita Y, Watanabe M, Yoshida K, Yamane K, Miyakoshi N, Ryouichi Okiyama R, Ueda T, Wakasugi N, Saitoh Y, Sakamoto T, Takahashi Y, Shibano K, Tokuoka H, Hara A, Monma K, Ogata K, Kakuda K, Mochizuki H, Arai T, Araki M, Fujii T, Tsukita K, Sakamaki-Tsukita H, Sano A: Novel pathogenic *VPS13A* gene mutations in Japanese patients with chorea-acanthocytosis. *Neurol. Genet.*, 5: e332, 2019

H . 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他