

厚生労働科学研究費補助金 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 総合研究報告書

## SSPE 発症における宿主側要因の解明

研究分担者：楠原浩一 産業医科大学小児科  
 研究協力者：竹本竜一 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：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：酒井康成 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：大賀正一 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：Marissa B. Lukban Department of Pediatrics and Neurosciences, University of the Philippines – Philippine General Hospital

**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。本遺伝子を SSPE の疾患感受性候補遺伝子として、フィリピン人 SSPE 患者 60 名の解析を行った。2 家系に共通する複合ヘテロ変異を構成する 3 つの変異は認められず、これらが位置する 3 エクソンに見出された新たな 3 つの変異は複合ヘテロではなかった。また、家系ごとのエキソーム解析を行い、患者にホモ変異もしくは複合ヘテロ変異があり、かつ両親またはいずれかの親にヘテロ変異がある遺伝子を探索した結果、*CCDC150* 遺伝子以外に 20 の SSPE 疾患感受性候補遺伝子を見出した。

### 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 *PDI* 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 発症における宿主側要因を解明するために、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。さらに、疾患感受性候補遺伝子として抽出された coiled-coil domain-containing protein 150 (*CCDC150*) 遺伝子 (*CCDC150*) について、フィリピン人患者 60 名の遺伝子解析を行った。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

#### <対象>

エキソーム解析には、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 検体を用いた。

*CCDC150* の遺伝子解析にはフィリピン人 SSPE 患者 60 名から採取した検体を用いた。

#### <方法>

##### 1) 3 家系のエキソーム解析

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。

## 2) *CCDC150* 遺伝子解析

*CCDC150* 遺伝子は 2 番染色体 (2q33.1) の 128kb の範囲に存在し 33 個のエクソンを持つサイズの大きい遺伝子であるため、エキソーム解析で認められた複合ヘテロ変異を構成する 3 つの変異 (p.Met365Val, p.His511Tyr, p.Val704Ile) が位置する exon10, 14, 19 について解析した。各 exon の塩基配列は PCR sequencing により決定した。

## 3) 家系ごとのエキソーム解析

上記 1) で得られたデータをもとに、家系ごとに、患者にホモ変異もしくは複合ヘテロ変異があり、かつ両親またはいずれかの親にヘテロ変異がある *CCDC150* 以外の遺伝子を検索した。

### (倫理面への配慮)

本研究における遺伝子解析は、所属施設の倫理委員会およびフィリピン大学 Research and Development Office 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

### 1) 3 家系のエキソーム解析

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 *CCDC150* 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。

### 2) *CCDC150* 遺伝子解析

フィリピン人 SSPE 患者 60 名の解析では 3 名にそれぞれ p.Gln375His、p.Ala524Glu、p.Ala674Val の 3 つのアミノ酸置換を伴う変異が認められたが、いずれも複合ヘテロ変異ではなかった。また、日本人患者家系のエキソーム解析で 2 家系に認められた複合ヘテロ変異を構成する 3 つの変異は認めなかった。

### 3) 家系ごとのエキソーム解析

Family 1 では、ホモ変異 2 遺伝子 (*AQP12A*, *GSPT1*)、複合ヘテロ変異 7 遺伝子 (*AHNAK2*, *C17orf97*, *CELSR1*, *FER1L6*, *FRAS1*, *NEB*, *OBSCN*) を見出した。Family 2 では、ホモ変異 2 遺伝子 (*ADARB2*, *FAM171A1*)、複合ヘテロ変異 9 遺伝子 (*DDX51*, *DSPP*, *EP400*, *GOLGA5*, *MYOM2*, *MRO*, *TBC1D3*, *SPEN*, *VPS13A*) を見出した。Family 3 では、ホモ変異 2 遺伝子 (*LOR*, *RAX*)、複合ヘテロ変異 4 遺伝子 (*CACNAIS*, *CYLC2*, *EXOG*, *LRIG1*) を見出した。

## D. 考察

*CCDC150* という分子は、Human Protein Reference Database では、Gene Symbol : *CCDC150* coiled coil domain containing protein 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<sup>1)</sup>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<sup>2)</sup>。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<sup>3)</sup>の EF-Hand Domain-Containing Protein 1 (EFHC1) と *CCDC150* の間に相互作用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。しかし、フィリピン人 SSPE 患者 60 名の *CCDC150* 遺伝子解析では、複合ヘテロ変異は認められず、本遺伝子と SSPE 発症との関連を明らかにすることはできなかった。今後、日本人 SSPE 患者における *CCDC150* 遺伝子の解析を進めていく予定である。

家系ごとのエキソーム解析の結果、新たに 20 の SSPE 疾患感受性候補遺伝子を見出した。

National Center for Biotechnology Information (NCBI) の遺伝子データベース<sup>1)</sup>によれば、これらのうち以下の遺伝子については、コードする蛋白の機能が明らかにされている。

*AHNAK2* : Ca チャネル蛋白を介して Ca シグナリングに作用。

*CELSR1* : 細胞間シグナル伝達に関与する細胞膜上の受容体。

*FRAS1* : 器官形成に関与する細胞外マトリクス蛋白。Fraser 症候群 1 の原因遺伝子。

*NEB* : 細胞骨格マトリクスの構成成分である巨大蛋白 (nebulin)。nemaline myopathy の原因遺伝子。

*OBSCN* : 筋原線維の形成や筋原線維と筋小胞体の相互作用に関わる蛋白 (obscurin)。

*ADARB2* : RNA-editing を制御する二本鎖 RNA アデノシンデアミナーゼ。

*DSPP* : 象牙質の石灰化に関わる蛋白。象牙質形成不全症の原因遺伝子。

*GOLGA5* : ゴルジ体局在蛋白である golgin ファミリーの 1 つ。

*MYOM2* : サルコメアに連結する巨大蛋白である titin の関連蛋白 (myomesin 2)。

*MRO* : 性分化に関与する蛋白 (maestro)。

*SPEN* : ホルモンで誘導される転写抑制因子。

*VPS13A* : エンドソーム、ライソゾーム、細胞膜に向かう trans-Golgi network を介して蛋白のサイクリンを制御。

*LOR* : 終末分化した表皮細胞の角化細胞エンベロープの主成分 (loricrin)。Vohwinkel 症候群の原因遺伝子。

*RAX* : 眼の形成に関わる転写因子。

*CACNA1S* : 骨格筋細胞の L 型電位依存性抑制性 Ca チャネルの構成成分。

*CYLC2* : 精子頭部の形態形成に関わる蛋白 (cyclin 2)。

*EXO2* : 5'-3'エキソヌクレアーゼ活性を持つエン

ドヌクレアーゼ/エキソヌクレアーゼ。

家系ごとのエキソーム解析で見出されたこれらの遺伝子 (コードする蛋白の機能が不明のものも含む) と昨年度に報告した *CCDC150* について変異/多型の関連解析を行うことにより、SSPE の新たな疾患感受性遺伝子を明らかにできる可能性がある。

## E. 結論

SSPE 患者とその両親のエキソーム解析では、解析した 3 家系中 2 家系で *CCDC150* 遺伝子に複合ヘテロ変異を認め、SSPE 疾患感受性に関わる最も可能性が高い候補遺伝子と考えられた。しかし、フィリピン人 SSPE 患者 60 名の *CCDC150* 遺伝子解析では、複合ヘテロ変異は認められず、本遺伝子と SSPE 発症との関連を明らかにすることはできなかった。家系ごとのエキソーム解析により、*CCDC150* 以外に 20 個の SSPE 疾患感受性候補遺伝子を見出した。

## [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.rerio*  
coiled-coil domain-containing protein 150-like

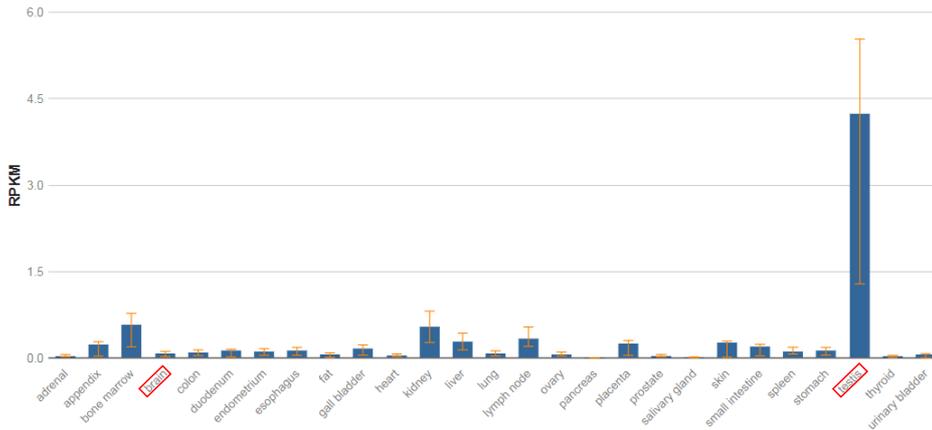
Proteins

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>