

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
分担研究報告書

分担研究課題名

先天性 GPI 欠損症に関する研究

分担研究者： 村上良子（大阪大学微生物病研究所 寄附研究部門教授）

研究要旨

先天性 GPI 欠損症(IGD)は精神・運動発達遅滞やてんかん、奇形等の症状を来す遺伝性疾患で、今年度新規に 2 遺伝子の欠損症が見つかり現在 21 種類の遺伝子変異による IGD が報告されている。国内で約 42 例、海外を合わせると約 330 例の報告があり、その多くに我々が関わっている。SRL 社に FACS 解析を委託し全国的なスクリーニングを実施するとともに、遺伝子解析による責任遺伝子の同定を行った。さらに昨年秋から先天性糖鎖異常症に疾患範囲を拡大して、AMED 研究班とともに実態調査を開始している。

研究協力者氏名

井上徳光 公立大学法人和歌山県立医科大学  
分子遺伝学講座 教授

A．研究目的

GPI (Glycosylphosphatidylinositol) アンカーは 150 種以上の蛋白質を細胞膜につなぐ糖脂質でその生合成に 27 個の遺伝子が関与する。これら GPI 遺伝子群の変異により重要な機能を担う GPI アンカー型蛋白質(GPI-AP)の発現が低下し精神・運動発達遅滞やてんかん、奇形等の症状を来す先天性 GPI 欠損症(IGD)となる。今年度新規に 2 遺伝子の欠損症が見つかり現在 21 種類の遺伝子変異による先天性 GPI 欠損症(IGD)が報告されている。IGD は症状が多彩なのでベッドサイドでの診断が難しい。さらに生後も病態が進行する症例もあるので早期診断が必要である。疾患登録を推進して多症例の臨床像・検査所見を詳細に解析し、より鋭敏な疾患マーカを見つけてそれらを診療ガイドラインに反映させ、より早期の正確な診断を目指す。

B．研究方法

平成 29 年度より指定難病、30 年度より小児慢性特定疾病に認定された。フローサイトメトリーによる顆粒球上の CD16b の発現量の低下がスクリーニングに有効であることが今までの研究で

わかってきた。昨年度にこの FACS 解析をベッドサイドで行えるよう SRL 社に委託し患者検体のみで判定できるようカットオフ値を決定した。今年度はさらに IGD 患者の検体を収集しカットオフ値の修正を行った。CD16b の発現低下が見られれば、IGD の診断は確定する。責任遺伝子同定の為に末梢血から抽出したゲノムを用いて横浜市立大学の遺伝子解析拠点班と連携して全エクソームシーケンスを行っている。また FACS 解析で有意な低下が見られるにも係わらず、全エクソーム検査にて原因遺伝子が同定できない症例については、RNAseq や全ゲノムシーケンスを試みている。今年度は疾患マーカーとして CEA の有用性を検証した。CEA は ALP と同様 GPI アンカー型タンパク質で IGD で血清中の分泌が増加すると考えられる。ALP は小児で高値であるので疾患マーカーとしては偽陽性例が多いが、CEA は小児では低値で疾患マーカーとして期待できる。

さらに大阪大学未来医療開発センターと共同して、米国 Vanderbilt 大学が開発したデータ集積管理システム REDCap を使ったデータベースを作成したのでの患者登録を進めている。

（倫理面への配慮）

診断に遺伝子解析を伴うので、大阪大学におけ

るヒトゲノム倫理委員会に申請し承認されている。遺伝子診断に伴う利益、不利益などにつき書面提示し、患者の保護者に対して説明し同意を得た。また、診断や結果に対して、不安が生じた場合は、遺伝カウンセリングを提供できる体制を整えており、いつでも相談できる旨を併せて説明した。

#### C . 研究結果

海外との共同研究により、今年度新たに PIGB、PIGU 遺伝子変異による IGD を報告した。これで 21 種の遺伝子異常による IGD の症例が国内外で約 330 例報告されている。

SRL に委託したスクリーニング検査の結果、FACS における平均蛍光強度で、顆粒球上の CD16 発現量を定量し、カットオフ値を

IGD を疑うための基準値 possible<60000

強く IGD を疑う 基準値 probable<40000

とした。今年度は 27 件の SRL での FACS 解析を行い、3 人が probable 2 人が possible であった。これらは現在遺伝子解析を行っている。

CEA は SRL でのカットオフ値を 2.2ng/ml 以上とすると感度 95.7%, 特異度 93.8% で優良なマーカーになり得ることがわかった。

#### D . 考察

今後疾患範囲を IGD を含めた先天性糖鎖異常症 (CDG) に拡大して実態調査と全国調査を進めて行く。疾患マーカーの検索のためには症例数を増やす必要があるが、希少疾患であるので難しく全国規模の調査研究が必要である。現在は AMED が推進している IRUD との連携の準備をしている。遺伝子解析から診断をするシステムが複数走り、診断がついても、その疾患の専門家である政策班に知らされていない。データシェアリングのシステムが早く構築されることを期待している。

#### E . 結論

先天性 GPI 欠損症 (IGD) は新しい疾患であるが最近原因不明の運動発達障害や難治性てんかんの症例の中から次々と見つかりつつある。末梢血のフローサイトメトリーでスクリーニングが可能であり、遺伝子解析で変異遺伝子を同定し、機能解析で確認できる系がある。またビタミン B6 (ピリドキシン) の投与がけいれん発作に著効する症例がある。早期診断・早期治療を実現する為にベッドサイドでの鋭敏な疾患マーカーの検索と、新たな治療法の開発が重要である。

#### F . 研究発表

##### 1. 論文発表

- Wang Y, Maeda Y, Liu YS, Takada Y, Ninomiya A, Hirata T, Fujita M, Murakami Y, Kinoshita T. Cross-talks of glycosylphosphatidylinositol biosynthesis with glycosphingolipid biosynthesis and ER-associated degradation. *Nat Commun.* 2020 Feb 13;11(1):860.
- Höchsmann, B.\*, Y. Murakami\*, M. Osato\*, A. Knaus, M. Kawamoto, N. Inoue, T. Hirata, S. Murata, M. Anliker, T. Eggerman, M. Jaeger, R. Floettmann, A. Höllein, S. Murase, Y. Ueda, J. Nishimura, Y. Kanakura, N. Kohara, H. Schrezenmeier+, P. M. Krawitz+ and T. Kinoshita+. 2019. Complement and inflammasome overactivation mediates paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with autoinflammation. *J Clin Invest.* 2019 Dec 2;129(12):5123-5136.
- Knaus, A., F. Kortüm, T. Kleefstra, A. Stray-Pedersen, D. Dukić, Y. Murakami, T. Gerstner, H. van Bokhoven, Z. Iqbal, D. Horn, T. Kinoshita, M. Hempel and P. M. Krawitz.. Mutations in *PIGU* impair the function of the GPI transamidase complex causing severe intellectual disability, epilepsy and brain

anomalies. *Am. J. Hum. Genet.*, 2019  
105:395-402.

- Murakami Y, T. T. M. Nguyen,, N.Baratang,  
P.K Raju, A.Knaus, S. Ellard, G. Jones, B.  
Lace, J. Rousseau, N.F Ajeawung, A.Kamei, G.  
Minase, M. Akasaka, N. Araya, E. Koshimizu,  
J. van den Ende, F. Erger, J. Altmüller, Z.  
Krumina, J. Strautmanis, I. Inashkina, J.  
Stavusis, A. E.Gharbawy, J. Sebastian, R.D.  
Puri, S.Kulshrestha, I. C Verma, E. M. Maier,  
T. B Haack, A. Israni, J. Baptista, A. Gunning,  
J. A Rosenfeld, P.Liu, M. Joosten, M.E. Rocha,  
M. O. Hashem, H. M Aldhalaan, F. S Alkuraya,  
S. Miyatake, N. Matsumoto, P. Krawitz, E.  
Rossignol, T. Kinoshita, P. M Campeau.  
Mutations in *PIGB* cause an inherited GPI  
biosynthesis defect with an axonal neuropathy  
and metabolic abnormality in the severe cases  
*Am. J. Hum. Genet.*,2019 105:384-394.

## 2. 学会発表

- 村上 良子 シンポジウム 補体系と臨床  
医学 –up to date-補体と発作性夜間ヘモ  
グロビン尿症(PNH)をはじめとする GPI  
欠損症 第 122 回日本小児科学会学術集会  
2019-4-19~21 金沢 発表は 20 日
- 王 宜成、平田哲也、柳芸石、村上良子、  
前田裕輔、木下タロウ B3GALT4 は GPI  
アンカー側鎖のガラクトースをも転移す  
る (ポスター発表) 第 38 回日本糖質学会  
年会 2019-8-19~21 名古屋大学 発  
表は 20 日
- 村上良子 シンポジウム 1 「広がる補体の  
可能性—基礎研究・病態—」赤血球と補  
体：発作性夜間ヘモグロビン尿症をはじめ  
とする GPI 欠損症第 56 回日本補体学会学  
術集会 2019-8-23~24 東京 発表は  
23 日
- Yoshiko Murakami A Novel Structure of  
GPI Anchored Proteins; The

Ethanolamine Phosphate on the Second  
Mannose Bridges Proteins\_\_25<sup>th</sup>  
International Symposium on  
Glycoconjugate (Glyco 25) 2019-8-25  
~31 Milano イタリア 口頭発表は 29 日

G . 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