

## 厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）

### 総括研究報告書

遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築

研究代表者 小坂 仁 自治医科大学 小児科教授

#### 研究要旨

本年度は、白質疾患医療支援ネットワークの形成として下記の研究を行った。

- ① “大脳白質疾患病変画像からの診断ガイドライン”に関して、2021年5月に刊行される。
- ② 先天性大脳白質形成不全症の診断サポートのためのコンサルテーションボードにより各主治医からの診断依頼に討議を行い回答するとともに、一部診断を班員内で担当した。
- ③ 市民公開セミナーを実施した  
以上を通じ、患者の願いである、“最善の診断、治療を生涯受けて、治療研究を推進してほしい、国内外の情報を伝達してほしい” という希望に応えた。

#### A. 研究目的

我々の班の対象は、大脳白質疾患および知的障害を呈する疾患であり、現在下記の疾患群を扱っている。

①白質疾患；遺伝的ミエリン形成不全；先天性大脳白質形成不全症

(1) Pelizaeus-Merzbacher 病 (2) Pelizaeus-Merzbacher 様病 1 (3) 基底核および小脳萎縮を伴う髄鞘形成不全症 (4) 18q 欠失症候群 (5) Allan-Herndon-Dudley 症候群 (6) HSP60 chaperon 病 (7) Salla 病 (8) 小脳萎縮と脳梁低形成を伴う慢性大脳白質形成不全症 (9) 先天性白内障を伴う髄鞘形成不全症 (10) 失調、歯牙低形成を伴う髄鞘形成不全症 (11) 脱髄型末梢神経炎・中枢性髄鞘形成不全症・Waardenburg 症候群・Hirschsprung 病) 遺伝性脱髄疾患；アレキサンダー病、カナバン病、進行性白質脳症（皮質下嚢胞をもつ大頭型白質脳症、白質消失病、卵巣機能障害を伴う進行性白質脳症）

②知的障害；ATR-X、脳クレアチン欠乏症候群（アルギニン・グリシンアミノ基転移酵素欠損症、グアニジノ酢酸メチル基転移酵素欠損症、クラアチントランスポーター欠損症）。

目的；

新規調査研究；国際化に対応するため、既存ガイ

ドラインを英文化し、主治医等より、要望の多い下記2つのガイドラインを作成し、トランジション・境界疾患の調査をおこなう

治療可能な遺伝性疾患の早期診断・治療に関するガイドライン（H30,R1）

画像上の白質病変から早期診断に至る診断ガイドライン（R1,R2）

継続；小児～成人を通じた、世界水準のオールジャパン体制を構築し、情報収集把握を行い医療の均てん化とともに、患者・研究者の協調により、治療研究を推進する。

患者レジストリの難病プラットフォームへの統合、年二回の患者会セミナー、セミナーに合わせた自然歴研究、国際白質コンソーシアム GLA との会議、創薬支援を、医師、研究者、家族会等の代表からなる研究班で継続し(H30,R1, R2)、オンラインでの診断コンサルトにより、診断戦略を速やかに立案回答し、診断を紹介あるいは本研究班で実施する(H30,R1, R2)。

方法；

新規研究 1；困難な診断を支援する“白質疾患診断ガイドライン”の作成

既存診断ガイドラインを英文化する（H30）

“白質疾患疑い画像からの診断ガイドライン”を作成する(R1, R2)。

ガイドラインに明記された遺伝子・生化学診断システムを構築する(R1, R2)。

### **新規研究 2 ; “治療可能な神経疾患診断・診療ガイドライン”の作成**

治療法が存在する疾患について、優先的に診断、治療を開始するための“治療可能な神経遺伝性疾患ガイドライン”を作成する (H30,R1)。

ガイドライン上の遺伝子・生化学診断システムを整備し運営する(R1, R2)。

### **新規研究 3 ; トランジション、境界領域を調査し継続的・包括的な提供を行う**

生涯に至り、多診療科が関わる医療体制を目指すために、患者会とセミナーで蓄積された問題点に対し、オンライン会議で議論する。Q&A 形式で班のウェブサイトに掲載し、重要なものはガイドラインとして取り上げる (H30, R1, R2)。

新規白質疾患と境界領域疾患を調査し、アップデートする (H30, R1, R2)。

### **継続研究 ; オールジャパン体制を構築し、患者・研究者と協調し、診断・治療研究を推進する**

年 2 回の患者セミナーを継続し、セミナーに合わせて自然歴の調査を継続し、治験を推進する。GLIA コンソーシアム研究者と共同研究を継続し、国際基準の疾患分類再改定を行う。MRI 画像と臨床情報からなる従来レジストリを難病プラットフォームへ統合する。AMED,NEDO 研究班を支援し、研究者、企業の RS 戦略相談に同行し、新規治療の導出に協力する (H30, R1, R2)。

期待される成果;

#### 早期診断の実現による“神経変性前の治療開始” 神経白質病変からの疾患診断が遅れている。

白質病変は、まず MRI で気づかれるが数百種類にもおよぶ鑑別診断があり、初診時から診断計画を立案するためのガイドラインが臨床現場から待たれている。画像、臨床診断、遺伝子診断の最前線の研究者からなるチームで診断方法を示し、合わせて遺伝子、生化学的検索を日本どこでも行えるための診断体制構築を作成し、白質疾患医療の均てん化を支援する

#### **治療可能な遺伝性神経疾患の診断が遅れている。**

AMED 小児希少・未診断疾患イニシアチブ等により、より年々多くの治療可能な遺伝性疾患が見出されてきている。早期診断治療が可能な疾患は、劇的な治療効果を示す反面、治療の遅れは不可逆的な神経変性をきたすため、全ての臨床医が知る必要がある。そのための診断ガイドラインを、臨

床現場に提示し、AMED 研究班等の成果還元役割も担う。

#### トランジションの推進と境界領域調査による“もれなく生涯を支援する”

難病治療、とくにトランジションの現状を調査し、それを阻害する要因を調査する。

また診断の谷間となる境界領域の疾患定義と細分類をおこない、診断ガイドラインの改定項目と疾患を調査する。

#### オールジャパン診療体制の構築・研究・普及啓発による“世界水準の診断治療実現”

セミナー等の患者会支援を継続し、患者の要請に密着した班としての特色を維持する。また永続可能な画像・臨床レジストリを難病プラットフォームへ集約する。またウェブサイトは引き続き、和文英語表記で提供し国内外の患者会と、医師、研究者、行政が協調した希少難病連携体制を維持する。

以上を通じ、患者の願いである、早期診断、最善の診断、治療を生涯受けたい、治療研究を推進してほしい、国内外の情報を伝達してほしい という希望に応える。

C、研究結果および  
下記の成果を得た。

### **新規研究 1 ; 困難な診断を支援する“白質疾患診断ガイドライン”の作成**

“遺伝性白質疾患 診断の手引き”に関して、ガイドライン作成が終了し、2021. 5 月刊行予定である。

### **新規研究 2 ; “治療可能な神経疾患診断・診療ガイドライン”の作成**

1) “治療可能な神経遺伝性疾患ガイドライン”に関して 2019.12. 10 班研究による書籍として刊行済み。

### **新規研究 3 ; トランジション、境界領域を調査し継続的・包括的な提供を行う**

- 1) 成育医療センターでの移行症例 299 例の調査を施行した。
- 2) ワーキンググループ (小坂、出口、久保田)

でのメール会議を通じ、小児科側から見た問題点とその解決案を提示した。今後受け手側の神経内科グループ（東京都立北療育医療センター 内科部長 望月葉子医師らと、CQ を設定し課題として更に研究を継続する。

### 継続研究；オールジャパン体制の構築による診断・治療研究を推進する

- 1) 先天性大脳白質形成不全症の患者セミナーを継続した（夏のセミナーはコロナ禍で中止、秋のセミナーはズーム形式で実施）。セミナーでオンラインでのコンサルテーションを行った（小坂、井上 2019.7.13、2019.11.3）。
- 2) オンラインでの、主治医からの診断コンサルトを継続した（全班員）。
- 3) 国際コンソーシウム GLIA と 6 回にわたるウェブ会議を行い、国際 PMD シンポジウムに参加した。国際共同治験；ペンシルベニア小児病院(Vandever 医師)が主導する PMD 自然歴研究について、本邦に割り当てられた 15 症例の臨床情報解析を開始した（井上、高梨）。
- 4) 診断コンサルト症例の一部に対して、遺伝学的診断を実施した。（全班員）。
- 5) 日本小児神経学会総会を主催し（佐々木）、白質形成不全症の第一人者である Van der Knaap の招待講演を企画した（佐々木、座長；小坂>コロナ禍により中止）
- 6) 先天性大脳白質形成不全症のレジストレーションを難病プラットフォームで開始した（小坂、井上）。画像データベースは、難病プラットフォームでの運用が困難であり、当班で整備してきた国立精神・神経医療研究センターで稼働している画像収集システム IBISS を継続している。
- 7) 白質形成不全症の細胞治療に関し、安全性試験の対面助言に同行し、新規治療の導出に協力した（小坂、井上；2020.8.19）
- 8) アレキサンダー病の遺伝学的検査と表現型解析を継続した（吉田）

### 9) 班員による研究により MCT 8 早期診断法を確立した

- 10) AMED 研究費応募の支援・申請を行った
- ①患者アストロサイトをを用いた希少疾患病態解明と創薬研究（令和 2 年度創薬基盤推進研究事業；iPS 研究所 近藤孝之）（小坂；2020. 2 月；支援）
- ②クレアチントランスポーター欠損症の遺伝子治療開発（AMED 難治性疾患実用化研究事業、令和 3 年度 再生・細胞医療・遺伝子治療のシーズ探索研究（再生等ステップ 0）熊本大学 大槻純男（小坂；2020. 12 月；支援）
- ③ATR-X 症候群に対する 5-アミノレブリン酸の有効性と安全性に関する研究（AMED 難治性疾患実用化研究事業、令和 3 年度 希少難治性疾患に対する画期的な医薬品の実用化に関する研究、A-1 医薬品の治験準備（医薬品ステップ 1）（和田；2020. 12 月；応募）
- ④ATR-X 症候群に対する 5-アミノレブリン酸の有効性と安全性に関する研究（AMED 難治性疾患実用化研究事業、令和 3 年度 患者のニーズに応える医薬品開発に資する臨床研究・治験の推進 1 医薬品開発を目指す臨床研究・医師主導治験の Protokol 作成に関する研究（準備：ステップ 1）（和田；2020. 12 月；応募）
- ⑤従来の疾患分類に含まれない先天性大脳白質形成不全症の遺伝学的診断と診療ガイドライン作成に向けたエビデンス創出研究（AMED 難治性疾患実用化研究事業、D 希少難治性疾患の診療に直結するエビデンス創出研究（エビデンス創出）（井上；2020. 12 月；応募）
- ⑥難治性疾患等実用化研究事業 難治性疾患実用化研究事業、人工 miRNA を搭載した遺伝子発現抑制 AAV による先天性大脳白質形成不全症の遺伝子治療法開発 C-1. 希少難治性疾患に対する画期的な再生・細胞医療・遺伝子治療の実用化に関する研究分野／再生・細胞医療・遺伝子治療のシーズ探索研究（再生等ステップ 0）（井上；2020. 12 月；応募）

### D. 考察

本年度は、“大脳白質疾患病変画像からの診断ガイドライン（仮題）”に関して、統括委員会を設置して、システムティックレビューを開始し、

“治療可能な神経遺伝性疾患ガイドライン”に関してシステマティックレビュー、推奨決定を経て、ガイドラインを作成し、これらのガイドラインに、総論1；“症候からどのように診断するのか、”総論2；先天性代謝性疾患との関係の章を加え班研究による書籍として刊行した。また先天性大脳白質形成不全症の診断サポートのためのコンサルテーションボードにより各主治医からの診断依頼に討議、1W以内に返答し、一部診断を班員内で担当した。例年通り、市民公開セミナーを2回（東京、大阪）実施し、自然歴調査を行った以上を通じ、患者の願いである、“最善の診断、治療を生涯受けたい、治療研究を推進してほしい、国内外の情報を伝達してほしい”という希望に応えた。

E. 健康危険情報  
特になし。

F. 研究発表  
主たる発表論文

[1]

1. T. Yoshida, Clinical characteristics of Alexander disease *Neurodegenerative disease management* 10 (2020) 325-333.
2. T. Wada, S. Suzuki, N. Shioda, 5-Aminolevulinic acid can ameliorate language dysfunction of patients with ATR-X syndrome *Congenit Anom (Kyoto)* 60 (2020) 147-148.
3. T. Uemura, S. Ito, T. Masuda, H. Shimbo, T. Goto, H. Osaka, T. Wada, P.O. Couraud, S. Ohtsuki, Cyclocreatine Transport by SLC6A8, the Creatine Transporter, in HEK293 Cells, a Human Blood-Brain Barrier Model Cell, and CCDSs Patient-Derived Fibroblasts *Pharmaceutical research* 37 (2020) 61.
4. Sugiyama, N. Sato, Y. Kimura, H. Fujii, Y. Shigemoto, F. Suzuki, Z.I. Tanei, Y. Saito, M. Sasaki, Y. Takahashi, H. Matsuda, S. Kuwabara, The cerebellar white matter

lesions in dentatorubral-pallidoluysian atrophy *J Neurol Sci* 416 (2020) 117040.

5. M. Sasaki, Integrating science to find cures in child neurology *Developmental medicine and child neurology* 62 (2020) 405.
6. Ozaki, M. Sasaki, T. Hiraide, N. Sumitomo, E. Takeshita, Y. Shimizu-Motohashi, A. Ishiyama, T. Saito, H. Komaki, E. Nakagawa, N. Sato, M. Nakashima, H. Saitsu, A case of CLCN2-related leukoencephalopathy with bright tree appearance during aseptic meningitis *Brain Dev* 42 (2020) 462-467.
7. T. Ogawa, K. Ogaki, M. Ishiguro, M. Ando, T. Yoshida, K. Noda, N. Hattori, Y. Okuma, Novel GFAP p. Glu206Ala Mutation in Alexander Disease with Decreased Dopamine Transporter Uptake Movement disorders *clinical practice* 7 (2020) 720-722.
8. Y. Murofushi, K. Hosoyama, K. Kubota, N. Sato, Y. Takahashi, J.I. Takanashi, Cerebral white matter lacerations in children caused by repetitive head trauma *Brain Dev* 42 (2020) 83-87.
9. R. Kosaki, M. Kubota, T. Uehara, H. Suzuki, T. Takenouchi, K. Kosaki, Consecutive medical exome analysis at a tertiary center: Diagnostic and health-economic outcomes *Am J Med Genet A* 182 (2020) 1601-1607.
10. H. Kashiki, H. Li, S. Miyamoto, H. Ueno, Y. Tsurusaki, C. Ikeda, H. Kurata, T. Okada, T. Shimazu, H. Imamura, Y. Enomoto, J.I. Takanashi, K. Kurosawa, H. Saitsu, K. Inoue, POLR1C variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy *Neurology. Genetics* 6 (2020) e524.
11. S. Ikemoto, S.I. Hamano, K. Kikuchi, R. Koichihara, Y. Hirata, R. Matsuura, T. Hiraide, M. Nakashima, K. Inoue, K. Kurosawa, H. Saitsu, A recurrent

TMEM106B mutation in hypomyelinating leukodystrophy: A rapid diagnostic assay  
Brain Dev 42 (2020) 603-606.

12. T. Hiraide, M. Nakashima, T. Ikeda, D. Tanaka, H. Osaka, H. Saitsu, Identification of a deep intronic POLR3A variant causing inclusion of a pseudoexon derived from an Alu element in Pol III-related leukodystrophy  
J Hum Genet 65 (2020) 921-925.
13. S. Asamitsu, Y. Yabuki, S. Ikenoshita, T. Wada, N. Shioda, Pharmacological prospects of G-quadruplexes for neurological diseases using porphyrins  
Biochem Biophys Res Commun 531 (2020) 51-55.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

## 患者家族会との双方向性情報共有体制の確立：先天性大脳白質形成不全症市民公開セミナーの開催

井上 健<sup>1</sup>、出口貴美子<sup>2,3</sup>、小坂 仁<sup>4</sup>

1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部

2 慶応義塾大学 解剖学教室

3 出口小児科医院

4 自治医科大学 小児科

### 研究要旨

難病研究において、患者家族会と双方向性の情報共有体制を確立することは、現実に即したクリニカルクエスションのあぶり出しや実効性の高い臨床研究の実施のために重要な役割を果たしうる。平成21年7月以来継続して開催し、本年度で11年目を迎えた先天性大脳白質形成不全症市民公開セミナーは、令和2年度はCOVID-19感染拡大のため、当初の年2回開催の予定を変更し、オンラインにて1回のみで開催となった。本セミナーは疾患の理解と家族・研究者の情報の相互共有を目的として本疾患の研究班と家族会の共同作業として開催されている。セミナーに先立ち、例年行っている専門医による診察は、オンラインでの相談として実施し、個別の要望や疑問に応える場を提供した。事前登録制で、全国より32家系が参加し、他に医療関係者など合計38名が参加した。本セミナーは、先天性大脳白質形成不全症の臨床研究を実施していくための重要なネットワークとして、研究者、医療者、患者家族の間の相互理解と協力体制の構築には非常に重要な役割を果たしている。

#### A. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、非常に希少な遺伝性の難治性疾患であり、患者の家族のみならず、主治医も疾患に関する詳細な情報を持ち合わせていないことが多く、患者家族は診療現場で不安を抱くことが少なくない。また、多くの患者家族が、相談や疾患に関する話題を共有したいと思っても、稀少疾患であるため、他の家族との交流を持つことが困難で、地域に孤立してしまう。また、疾患に関する知識も一般的には入手することが困難であることから、患者の疾患の原因や治療法、ケアの方法や予後、遺伝カウンセ

リングなどについて知るための機会がなく、不安の多い生活を送らざるを得ないのが実情である。

そこで、我々は平成21年度に前身となる研究班を立ち上げるにあたり、孤立している家族のコミュニティー形成の場として、またこの疾患の医療の現状や研究の進歩の状況について知ることが出来る場として、患者家族やゲアスタッフを対象とした市民公開セミナーを開催することを計画した。平成21年度に第1回市民公開セミナーを神奈川県立こども医療センターにおいて開催して以降、毎年市民公開セミナーを開催しており、今年度

は11年目の開催を迎えた。

例年通り、日程調整と会場の選定段階から患者家族会との連携を密にとり、家族会のメンバーが積極的にセミナーの運営に関与する形で年2回のセミナー開催の準備を行っていたが、COVID-19感染拡大のため、従来型のセミナーの開催が不可能となった。当初の5月開催を中止したのち、別の形での開催を模索し、最終的にZoomを用いたオンラインでの開催を決めた。当初、依頼していた特別講演は見送らざるを得なかったが、研究班のメンバーによる講演を中心にプログラムを組み直し、令和2年11月の開催にこぎつけた。オンラインでの開催は、新たなセミナーの開催形式として、そのメリット、デメリットを確認し、今後の市民公開セミナーのあり方に新たな選択肢をもたらした点で意義はあったと考えられる。

## B. 研究方法

### 1. 第18回市民公開セミナー（オンライン）

【実施日】令和2年11月22日（日）

【会場】当初は昨年に引き続き、お台場近くの産業総合技術研究所臨海センターの会議室の利用を計画していたが、新型コロナウイルス感染症の拡大に伴い、日程を延期した上でオンライン開催に変更した。Zoomを用いたミーティング形式での実施とした。オンラインとすることで、東京あるいは大阪での会場開催は物理的な理由で参加できなかった患者家族の参加も可能になると考え、セミナーの内容は疾患の基礎的な理解を深めることができるような内容を重点的に含めるように工夫をした。その一方で、セミナー参加者が強く求める情報の1つである治療法開発研究の進展について、国際的

な動向を含めた紹介にも重点的に紹介をする内容とした。例年、セミナー実施に合わせて実施している班員の小児神経科医師による希望者への診察と相談についてもセミナー開始前にオンライン相談という形で実施した。家族にとっても患児の症状に関する疑問についても直接、専門医師に質問し、意見を聞くことが出来る貴重な場となっている。

## C. 研究結果

### 【参加者】

セミナーに関する周知は、例年通り、患者家族会のネットワークにより行った。その結果、32家族を含む38名の事前の参加申し込みとなった。

### 【運営スタッフ】

本年度のセミナーは、本厚生労働科学研究費（難治性疾患政策研究事業：小坂班）の事業として実施された。研究班員施設からの運営スタッフ以外に患者家族会の役員もスタッフとして運営に関与した。慣れない家族のためにZoomへの接続に関する情報をあらかじめ提供するなど、事前から準備を行った。親の会と研究班は、例年通り、今回の延期とオンライン開催の決定と実際の運営において、密な連携を取り、一体となって市民公開セミナーを開催した。またセミナーの回を重ねるごとに患者家族会の主体的な関わりが大きくなっている点は非常に好ましいと考えており、市民参画型の開催が持続的な取り組みにつながっていると考えられる。

### 【講演】

今回は、例年行なっている特別講演は残念ながら見送ることとなった。当初、リハビリに関する実践的な講演を計画していたが、オンラインではやや困難であるという講演者からの申し

出によるものである。来年度以降にリアル開催において改めてのご登壇を依頼する予定である。班員の講演は、自治医科大学の小坂仁医師が「PMD とその関連疾患；概説とアップデート」という演題で、国立精神・神経医療研究センターの井上健医師が「日本と世界での疾患克服に向けた研究開発の最前線」という演題で行なった。

#### D. 考察

本セミナーは本年度で計 18 回目の開催を数え、恒例といえる段階に入った。我々も参加する子供たちの成長を実感することができる貴重な場となっている。本年度は、オンラインでの開催となったが、これまで遠方であること、患児の病状などの観点から参加が困難であった家族も参加が可能であった点は意義深いと考えている。一方で、リアルでの開催で得られる個人個人の繋がりについては、オンラインでは困難であるため、双方の利点を活かした開催の形を将来のあるべき姿として模索する必要性が明らかとなった。

#### E. 結論

先天性大脳白質形成不全症の患者家族を対象とした市民公開セミナーを実施し、疾患に関する医療や研究の進歩についての情報を提供するとともに、患者家族同士、患者と医療・研究者との交流を深めることが出来た。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T, Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y, Takanashi JI, Kurosawa K, Saitsu H, Inoue K. *POLR1C* variants

dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurol Genet.* 2020 Oct 13;6(6):e524. doi:10.1212/NXG.0000000000000524. PMID: 33134519; PMCID: PMC7577547.

- (2) Ikemoto S, Hamano SI, Kikuchi K, Koichihara R, Hirata Y, Matsuura R, Hiraide T, Nakashima M, Inoue K, Kurosawa K, Saitsu H. A recurrent TMEM106B mutation in hypomyelinating leukodystrophy: A rapid diagnostic assay. *Brain Dev.* 2020 Sep;42(8):603-606. doi: 10.1016/j.braindev.2020.06.002. Epub 2020 Jun 25. PMID:32595021.

##### 2. 学会発表

- (1) 井上 健、本橋裕子、石山昭彦、山本晃代、佐藤典子、小坂 仁、佐々木征行 ペリツェウス・メルツバハ病に対するクルクミンの効果に関する小規模臨床研究 第62回日本小児神経学会 2020年8月18日-20日 WEB開催
- (2) Li H, Okada H, Suzuki S, Sakai K, Ichinohe N, Goto Y, Okada T, Inoue K. Gene suppressing therapy for Pelizaeus- Merzbacher disease using AAV harboring *PLP1*-targeting artificial miRNA. *American society of gene & cell therapy 23<sup>rd</sup> Annual Meeting.* 2020,5,12-15. Virtual.

##### 7. 知的財産権の出願・登録状況 なし



## 先天性大脳白質形成不全症の診断サポート：コンサルテーションを通じた疾患 遺伝子変異の同定

井上 健<sup>1</sup>、植松有里佳<sup>2</sup>、黒澤健司<sup>3</sup>、才津浩智<sup>4</sup>、高梨潤一<sup>5</sup>、山本俊至<sup>6</sup>、小坂 仁<sup>7</sup>

- 1 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第二部
- 2 東北大学小児科
- 3 神奈川県立こども医療センター 遺伝科
- 4 浜松医科大学 医生化学
- 5 東京女子医科大学八千代医療センター 小児科
- 6 東京女子医科大学 医学部
- 7 自治医科大学 小児科

### 研究要旨

【背景】先天性大脳白質形成不全症は、Pelizaeus-Merzbacher 病とその類似疾患を含む中枢神経系の髄鞘形成不全を共通の病態基盤とする疾患群の総称である。近年、網羅的ゲノム解析により新規の疾患原因遺伝子が次々に同定されてきているが、多様な臨床画像所見を示すため、検査を進め、確定診断をサポートするコンサルテーションは有用と考えられる。【方法】診断に迷う先天性大脳白質形成不全症が疑われる症例について、全国からメールベースでの診断コンサルテーションを受け、必要に応じて遺伝学的解析を実施し、確定診断につなげるための診断サポートをおこなう。【結果】これまで7年間で110症例の相談を受けた。特に近年新たに同定された疾患遺伝子 *TMEM106B* および *POLR1C* に変異を持つ症例を同定した。またこれまで先天性大脳白質形成不全症とは異なる疾患遺伝子として知られる *SLC35A2* および *ACO2* の変異も同定された。【考察】先天性大脳白質形成不全症は、生化学的な診断が困難であるため、確定診断のためには遺伝学的検査を要する。網羅的遺伝子解析による新たな疾患遺伝子の同定が進み、本疾患の疾患概念の広がりや遺伝学的多様性が明らかになりつつある。

#### A. 研究目的

先天性大脳白質形成不全症は、乳児期より生涯に渡って重篤な運動発達障害を呈する小児の難治性遺伝性疾患群で、中枢神経系の髄鞘形成不全を本態とする疾患群の総称で、これまで本邦では Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) など 11 疾患に分類され、過去の研究

班ではこれらの診断基準の策定を行なった。一方、近年これら 11 疾患以外の新たな疾患遺伝子が複数報告され、新規の先天性大脳白質形成不全症が見出されている。またこれまで他疾患の原因遺伝子として知られていた遺伝子の変異が先天性大脳白質形成不全症患者に見出されており、分子

レベルでは他疾患との境界線が曖昧となりつつある。これらの事実は、臨床現場における疾患群としての概念の広がりを示唆する。

先天性大脳白質形成不全症はどれも極めて希少な疾患であることから、これが疑われる症例に出会った場合には、診断に苦慮することが稀ではない。特に遺伝学的検査の実施や鑑別診断については容易ではない。こういった背景のもと我々はこれまで我々はこういった主治医からの問い合わせに対応し、臨床および画像所見に基づいた診断と鑑別診断、遺伝子検査の実施などについての助言と情報提供、さらに必要に応じて遺伝子解析の実施を行ってきた（7年間で100件以上に対応）。

## B. 研究方法

研究班のウェブサイト「先天性大脳白質形成不全症:PMDと類縁疾患に関するネットワーク (<http://plaza.umin.ac.jp/~pmd/>)」や学会発表などを介して、全国の医師より先天性大脳白質形成不全症の診断に関する相談が年間20件以上寄せられる。これらの相談に対して、画像、臨床、臨床遺伝、遺伝子解析を各専門とする班員チームを作り、寄せられた相談症例に関するコンサルテーションをメールベースで実施する。診断、画像所見、検査、遺伝学的解析などについて取りまとめたレポートを2週間以内に返却する。その症例が先天性大脳白質形成不全症の可能性が高い場合には、標的遺伝子解析およびエクソーム解析などの実施について助言を行い、実施希望に応じて遺伝学的解析を実施する。家族には親の会などの情報を伝え、医療以外の面でもサポートする体制を作る。

## C. 研究結果

平成30年から令和2年までのコンサルテーション依頼数は、平成30年は19件、令和元年は29件、令和2年は22件、3年間の合計は70件であった。コンサルテーションの数は、平成29年度より急増しており、学会発表や口コミなどでその認知が広がって来ていることが推測されている。主治医からの依頼に基づき、各症例について、個人情報を含まない臨床情報、MRI画像情報を主治医から提供を受け、これを班員間で共有して、鑑別診断と遺伝学的検査の可否を含む解析の方向性についてのディスカッションをメールベースで行い、その情報を取りまとめて主治医に返却した。遺伝学的解析が診断に寄与することが期待されると判断した場合には、患者が解析を希望するか否かを主治医に確認していただき、希望がある場合には班員施設にて実施する解析の種類に応じて診療あるいは研究として解析を行った。研究班では実施していない解析が好ましいと判断された場合には他施設での解析を推奨した。

実際に遺伝学的解析を行うなどして疾患原因変異が同定された症例としては、平成30年は、POLR3B、MECP2重複、1p36del、EIF2B4、令和元年は、RAB11A、SOX10、GJC2、CLCN2、令和2年はSPTAN1、PLP1 intron3、SCN1Aなどが同定された。

## D. 考察

3年間で70症例のコンサルテーションの依頼を受けた。全ての症例について、班員による鑑別診断や遺伝学的検査の進め方についての助言を主治医に返却した。これらのうち、遺伝学

的解析が実施された症例では、11 症例について、新たに疾患原因遺伝子変異が同定された。興味深いことに、これらの新たな遺伝子変異は、典型的な先天性大脳白質形成不全症ではなく、非典型例が多くを占めた。これは、典型的な臨床像や経過、画像所見を呈する症例については、我々のへのコンサルテーションを要さず、また遺伝学的解析も検査会社などでの実施が増加し、各施設内で確定診断に至るようになったためと考えられる。一方で診断に苦慮する非典型的な症例について、白質の所見を切り口にコンサルテーションの依頼があると考えている。

## E. 結論

先天性大脳白質形成不全症コンサルテーションを実施し、平成 30 年から令和 2 年までの 3 年間に 70 症例の相談を受けた。稀少であることから、診断に苦慮することが多い本疾患に関する我が国の医療の均等化と質の向上に一部、寄与することができたのではないかと考える。今後、本疾患の代表的疾患である Pelizaeus-Merzbacher 病の治療法開発が進み、実用化されることになれば、さらに早期診断の重要性が増すと考えられる。また本疾患では、新たな疾患原因遺伝子が同定されており、これらの新規遺伝子に関連する疾患については、まだその臨床情報の蓄積が十分でない。こういった疾患の掘り起こしと情報の蓄積も今後の重要な課題であると考えられる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- (1) Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T, Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y,

Takanashi JI, Kurosawa K, Saitsu H, Inoue K. *POLR1C* variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurol Genet.* 2020 Oct 13;6(6):e524.

doi:10.1212/NXG.00000000000000524. PMID: 33134519; PMCID: PMC7577547.

- (2) Ikemoto S, Hamano SI, Kikuchi K, Koichihara R, Hirata Y, Matsuura R, Hiraide T, Nakashima M, Inoue K, Kurosawa K, Saitsu H. A recurrent TMEM106B mutation in hypomyelinating leukodystrophy: A rapid diagnostic assay. *Brain Dev.* 2020 Sep;42(8):603-606. doi: 10.1016/j.braindev.2020.06.002. Epub 2020 Jun 25. PMID:32595021.

### 2. 学会発表

- (1) 井上 健、本橋裕子、石山昭彦、山本晃代、佐藤典子、小坂 仁、佐々木征行 ペリツェウス・メルツバッハ病に対するクルクミンの効果に関する小規模臨床研究 第62回日本小児神経学会 2020年8月18日-20日 WEB開催
- (2) Li H, Okada H, Suzuki S, Sakai K, Ichinohe N, Goto Y, Okada T, Inoue K. Gene suppressing therapy for Pelizaeus- Merzbacher disease using AAV harboring *PLP1*-targeting artificial miRNA. American society of gene & cell therapy 23<sup>rd</sup> Annual Meeting. 2020,5,12-15. Virtual.

## 7. 知的財産権の出願・登録状況 なし

重度神経疾患の移行の現状：阻害因子からみる今後の課題に関する研究

研究分担者 久保田 雅也 島田療育センター 副院長

研究要旨

現在まで移行の一つの型として重症心身障害児施設で行われてきたことと小児ナショナルセンター病院の神経内科（小児神経科）での移行の現状をみることで問題点を明らかにする。島田療育センターは開院から20年間は入所時年齢は15才以下が多かったが、その後15才以上が増加し、2010年以降は半数は20才以上だった。成人期にさしかかって保護者の疾病その他で在宅維持が困難な場合の移行先として機能している。国立成育医療研究センター神経内科における2020.3までの2年間に移行先としてはのべ367名のうち最も多かったのがクリニックであり、総合病院、専門病院と続いた。クリニックが移行の重要な拠点となっている。てんかんにおいて移行阻害因子を探ると1. ADLが全介助、2. 自閉症スペクトラムを合併、3. 他科受診（神経以外の合併症）の3点であった。社会モデルの構築が急務ということを示していると考えられる。

A. 研究目的

神経疾患の小児領域から成人領域への移行が議論されているが、システムも不十分で理念ばかり先行している。現在まで移行の一つの型として重症心身障害児施設で行われてきたことと小児ナショナルセンター病院の神経内科（小児神経科）での移行の現状をみることで問題点を明らかにする。

B. 研究方法

対象と方法

- ① 島田療育センター1961年開院以来60年のカルテを参照して重症心身障害児者の入所施設として現在の移行システムの中でどういう役割を果たしているかを調査した。
- ② 国立成育医療研究センター神経内科の電子カルテ上診療情報提供書のうち、2018.4-2020.3に移行を目的として書かれた患者を対象とし、基礎疾患、年齢、移行先病院の種類や数、移行都道府県などを後方視的に調査した。299症例（のべ367症例）を対象とした。実際の移行は移行外来における専門ナースやMSWとの連携で遂行された。また2002年開院-2017年5月までの18才以上のてんかん患者1331名のうち約1/3を抽出し、移行できた72名と移行できなかった47名の特性を調査した。

（倫理面への配慮）

本研究は島田療育センターの倫理委員会の承認をえた。

C. 研究結果

- ① 島田療育センターに現在入所している233名の入所時期と入所時年齢を調査した。図1に示すように開院から20年間は入所時年齢は15才以下が多かったが、その後15才以上が増加し、2010年以降は半数は20才以上となっている（表1）。
- ② 国立成育医療研究センター神経内科における2018.4-2020.3の2年間に移行を進めた患者299名のうち20才代は54%、30才代16%、40才代4%、平均年齢24.4才であった（図1）。移行先としてはのべ367名のうち最も多かったのがクリニックであり、総合病院、専門病院と続き、大学病院は約1割に過ぎなかった（図2）。また、同センター開

院以来15年間でのてんかん患者のうち移行できた72名と移行できなかった47名の特性を比較すると有意差が出たのはADLが全介助、自閉症スペクトラムを合併、他科受診（神経以外の合併症）の3点であった（表2）。この解析では発作頻度は有意差はなかった。

D. 考察

- ① 島田療育センターは日本で最初に設立された重症心身障害児施設である。設立から20年は入所は小児のみであったが、その後入所時年齢は増加し、最近10年は半数は成人である。成人後の様々な養育困難が入所の理由であり、移行の一つの型ともいえる。訪問診療・看護、学校教育、短期入所などの充実があり、小児期での入所希望は減少しているとの報告もあるが、成人期にさしかかって保護者の疾病その他で在宅維持が困難な場合の受け入れ先としては他にない。
  - ② 国立成育医療研究センター神経内科における2018.4から2年間の移行の実態が示された。半数が20才代であり、20%は30才以上であった。移行は個々の患者家族の希望、疾患の個別のニーズ、医学モデルと地域の社会モデルの有り様で決められる。小児専門病院でのフォローが長いほど移行が困難な傾向もある。移行先として顕著であったのはクリニックが多かったことである。重症度が低ければ在宅クリニックが主治医として関わり、高ければ総合病院や専門病院とペアで日頃の診療にあたる場合も多かった。移行外来での希望聴取や移行先との折衝により56例は複数の病院に診療情報を提供した。重い神経疾患の場合、日頃のケアとともに入院先の確保が重要となる。きめ細かい個別の対応が必要である。
- てんかん患者の移行において1. ADLが全介助、2. 自閉症スペクトラムを合併、3. 他科受診（神経以外の合併症）の3点がスムーズな移行を困難にする因子であった。これらは狭義の医学モデルで現在解決できる者ではなく、多職種による社会モデル構築の重要性を示唆するものである。

E. 結論

重症心身障害児施設は成人期にさしかかって保護者の疾病その他で在宅維持が困難な場合の

受け入れ先として移行の一翼をになっている。重い神経疾患の場合、日頃のケアとともに入院先の確保が重要となり、在宅クリニックと総合病院や専門病院がペアで日頃の診療にあたる場合も多かった。きめ細かい個別の対応が必要である。てんかん患者の移行において1. ADLが全介助、2. 自閉症スペクトラムを合併、3. 他科受診（神経以外の合併症）の3点がスムーズな移行を困難にする因子であった。これらは狭義の医学モデルで現在解決できる者ではなく、多職種による社会モデル構築の重要性を示唆するものである。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特に無し。

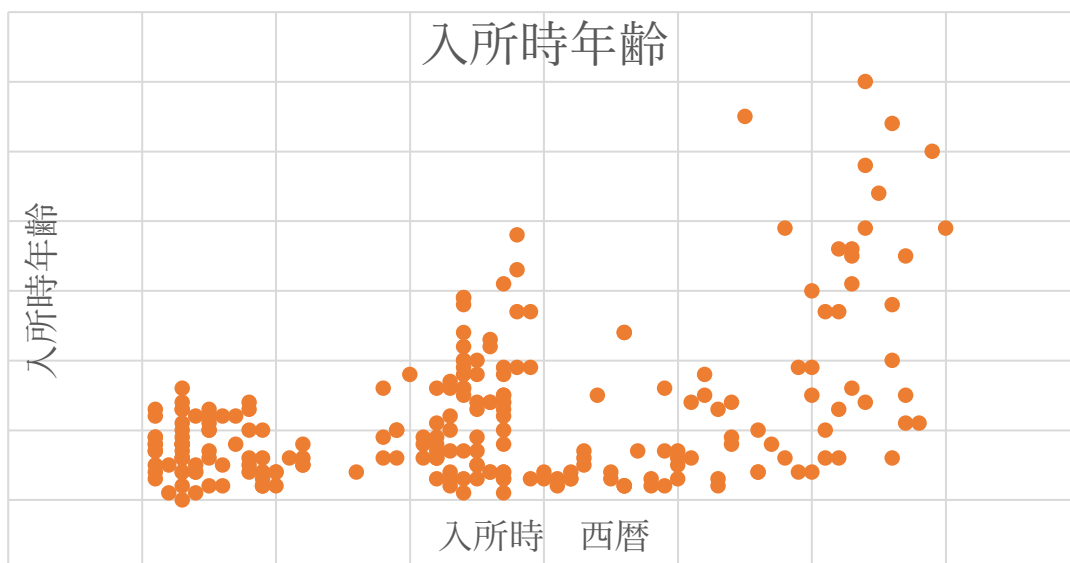


表1 島田療育センターにおける1961年開院から現在までの患者の入所時年齢

2018.4-2020.3の間の移行症例299例の年齢分布

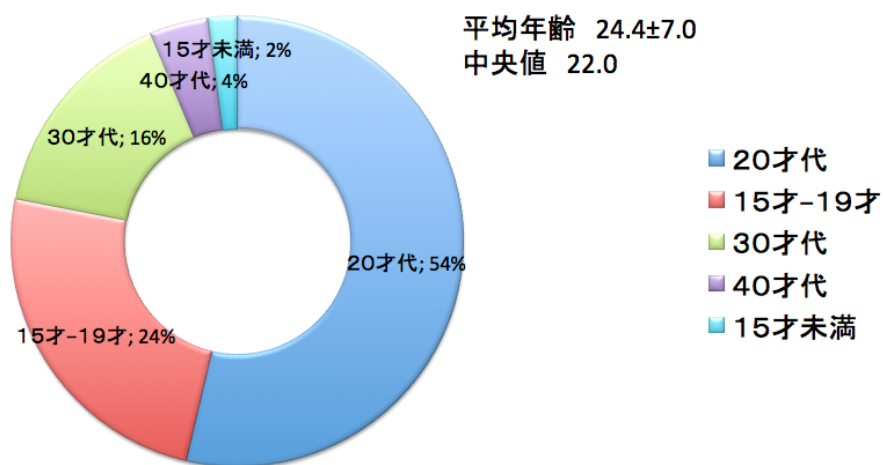


図1 国立成育医療研究センターにおける2018.4-2020.3の移行症例299例の年齢分布

2018.4-2020.3の間の移行症例のべ367例の移行先

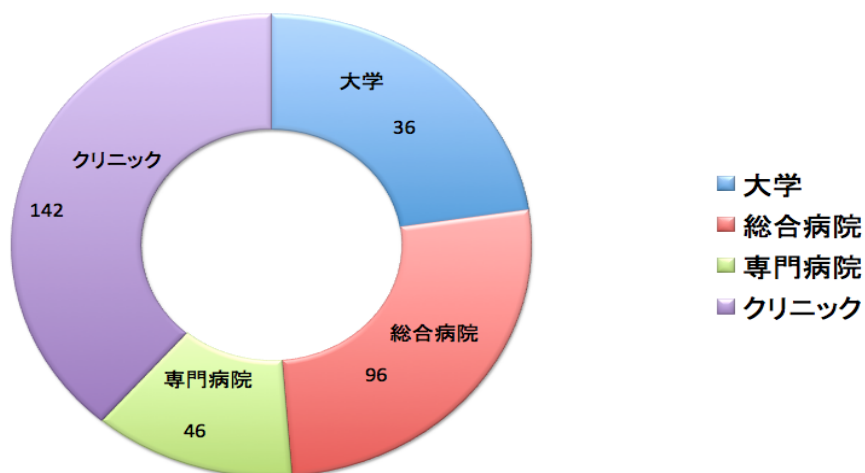


図2 国立成育医療研究センターにおける 2018. 4-2020. 3 の移行症例 299 例（のべ 367 例）の移行先

	オッズ比	95%信頼区間下限	95%信頼区間上限	P 値
ADL 全介助	9.09	3.33	25.0	<0.01
自閉スペクトラム症	7.14	2.04	25.0	<0.001
他科受診	4.00	1.43	11.11	<0.001

表2：①群72名 VS②③群47名間で有意差のあった項目についてのロジスティック回帰分析

(P 値を用いたステップワイズの変数選択) 結果

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

先天性大脳白質形成不全症の遺伝学的診断

研究分担者 黒澤健司

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立こども医療センター遺伝科 部長

研究要旨

先天性大脳白質形成不全症は、大脳白質を中心とした髓鞘形成不全を特徴とする遺伝的異質性の高い疾患で、画像および病理所見を診断の手掛かりとして来た。代表的疾患として X 連鎖劣性遺伝形式を示す Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) があがり、医療管理や遺伝カウンセリングの点から遺伝学的な診断の確定は極めて重要である。遺伝的異質性が高い疾患の遺伝子診断は網羅的解析が不可欠となる。今回網羅的解析により 5 家系の同疾患家系の解析を行い、1 家系では既報告の *TMEM63A* 遺伝子の変異を検出した。この変異は神経学的に正常の親由来であった。遺伝学的検査の一つとして網羅的解析をいかに臨床に結び付けるかが、今後の課題と思われた。

研究協力者

熊木達郎（こども医療センター 遺伝科）

新保裕子（同 神経内科）

A. 研究目的

先天性の大脳白質形成不全症は、遺伝的異質性が高く、臨床症状のみで診断を特定することは難しい。遺伝子の多様性だけでなく、同一遺伝子の変異の位置なども多様性が高いことが特徴の一つである。医療管理および次子再発の可能性評価を含む遺伝カウンセリングでは、正確な遺伝学的データに基づく診断の確定が必須となる。中枢神経ミエリン構成タンパクであるプロテオリピドプロテインをコードする *PLP1* 遺伝子の異常は、先天性大脳白質形成不全症の代表である Pelizaeus-Merzbacher 病 (PMD) から 2 型痙性対麻痺

(SPG2) まで、幅広い臨床像をもたらす。

Pelizaeus-Merzbacher 病も含め先天性大脳白質形成不全症の多くは遺伝性疾患に分類され PLP だが、*PLP1* 遺伝子の変異だけでも、エクソン内あるいはスプライスサイトの点変異、スプライス異常を惹起するイントロン内深くに存在する変異、マイクロアレイで検出可能なゲノム重複、染色体転座に由来する場合など、種類は極めて多い。

こうした遺伝的異質性あるいはアレル上の異質性の高い疾患における遺伝学的検査では、次世代シーケンサーを用いた網羅的解析が不可欠とであ

る。今回、原因不明の先天性大脳白質形成不全症家系の解析で、髓鞘形成不全をきたすものの、成長とともに髓鞘化が進み発達の回復をもたらす *TMEM60A* 遺伝子変異の 1 家系を経験したので、その臨床経過等についてまとめた。

B. 研究方法

対象は、診断が未定の神経疾患を疑われる 1 家系で、先天性大脳白質形成不全症を特徴とした。解析方法として、臨床エクソームキット (TruSight One Sequence Panel, Illumina) を用いて卓上型次世代シーケンサー MiSeq (Illumina) での解析を 1 次スクリーニングとし、異常ないことを確認後、2 次スクリーニングとして全エクソーム解析へ進めた。得られたデータは、当施設でのオリジナルパイプライン (BWA、Snpeff、GATK を組み合わせた。データの可視化は、IGV (Integrative Genomics Viewer) を用いた。参照ゲノムデータベースは、gnomAD、1000 Genomes Project などを用いた。また、HGMD (Human Gene Mutation Database : <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) の最新版も参考とした。日本人データベースとして Human Genetic Variation Database (<http://www.genome.med.kyoto-u.ac.jp/SnpDB/>) や Tommo を参照した。さらに日本人データの不足を補うため、施設内既存 Exome データ (in-house データ) も参照する系とした。



#### (倫理面への配慮)

解析にあたっては施設内倫理審査を経たのちに、対象家系に対して文書による同意のもとで解析を進めた。

#### C. 研究結果

##### 臨床経過：

発達遅滞を6か月に医療機関を受診した。妊娠分節は正常で、出生時計測も正常範囲であった。父が小児期に発達の遅れを指摘されていたが、詳細は不明で、現在は神経学的異常を認めていなかった。1か月時に眼振に気づかれ、6か月時点で頸定未であるため頭部MRI施行、髄鞘化遅延を指摘。10か月時点でも未頸定で、寝返10か月で達成した。深部腱反射亢進認めず、痙性も認めなかった。全エクソーム解析で *TMEM63A* NM\_014698.2:c.1699G>A, p.(Gly567Ser)を検出した。この変異は父由来であった。また、この変異は、既報告の変異であった。

#### D. 考察

*TMEM63A* を原因とする先天性大脳白質形成不全症は、2019年に Yan らにより初めて報告されたもので、4症例が報告された。眼振、運動発達遅滞、髄鞘化遅延を認め、Pelizeus-Merzbacher (like) disease が疑われるが、症状と髄鞘化遅延は劇的に改善する特徴を呈していた。4症例はそれぞれ、独歩は17ヵ月から36ヵ月、髄鞘化の完了は4歳から12歳で幅があった。*TMEM63A* 遺伝子は mechanically activated ion channel をコードしている。なぜ成長とともに急速な髄鞘形成の改善が起こるのか、発症機構については、今後の展開が期待される。また、同じバリエントを有している親の精査も必要かもしれない。長期フォローによって得られる情報の蓄積が必要である。

#### E. 結論

網羅的解析により5家系の同疾患家系の解析を行い、1家系では既報告の *TMEM63A* の遺伝子変異を検出した。遺伝学的検査の一つとして網羅的解析をいかに臨床に結び付けるかが、今後の課題と思われた。

#### F. 健康被害状況

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T,

Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y, Takanashi JI, Kurosawa K, Saitsu H, Inoue K. POLR1C variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurol Genet.* 2020 Oct 13;6(6):e524. doi: 10.1212/NXG.0000000000000524.

Ikemoto S, Hamano SI, Kikuchi K, Koichihara R, Hirata Y, Matsuura R, Hiraide T, Nakashima M, Inoue K, Kurosawa K, Saitsu H. A recurrent *TMEM106B* mutation in hypomyelinating leukodystrophy: A rapid diagnostic assay. *Brain Dev.* 2020 Sep;42(8):603-606. doi: 10.1016/j.braindev.2020.06.002.

Nishimura N, Kumaki T, Murakami H, Enomoto Y, Tsurusaki Y, Tsuji M, Tsuyusaki Y, Goto T, Aida N, Kurosawa K. Expanding the phenotype of *COL4A1*-related disorders-Four novel variants. *Brain Dev.* 2020 Jun 18:S0387-7604(20)30150-9. doi: 10.1016/j.braindev.2020.05.009.

##### 2. 学会発表

熊木達郎、池田梓、西村直人、村上博昭、榎本友美、黒澤健司 REV3L 変異による痙性対麻痺の1例 第65回日本人類遺伝学会 2020.11.19-21 名古屋

村上博昭、田村律人、榎本友美、黒澤健司、花田賢太郎 セラミド輸送タンパク質 CERT のセリンリピートモチーフにおける機能獲得型変異は精神発達遅滞の原因となる 第65回日本人類遺伝学会 2020.11.19-21 名古屋

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

なし

令和2年度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

遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築班

分担研究課題：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 医学部 教授

研究要旨：

白質異常を呈する4症例において、全エクソーム解析により *CSF1R*, *SPTAN1* (2症例) 遺伝子の病的バリエーションを同定し、また Xq22.2 の重複を、エクソームデータを用いたコピー数解析で同定した。この結果は、遺伝性白質疾患の遺伝子診断技術としての全エクソーム解析の有用性を示している。更に、全エクソーム解析でも診断できない症例に対するアプローチとして、全ゲノム解析によるゲノム構造異常、RNA シークエンスによって発現異常遺伝子を同定するパイプラインを確立し、多面的なアプローチによる診断システムが構築できた。

A、B. 研究目的および方法

本研究では、白質異常を呈する4症例において、その臨床所見と同定した病的バリエーションおよびコピー数異常の意義について検討した。

C. 結果

(1) *CSF1R* バリエーション

症例1は1歳の男児で、9か月時に眼振を主訴に受診。発達遅滞、痙性麻痺、貧血、低ガンマグロブリン血症を認めた。1歳時の脳MRI検査では髄鞘形成不全が認められ、頭部CT検査では両側大脳の皮質下白質に点状の石灰化が認められた。そこで全エクソーム解析を行ったところ、*CSF1R* 遺伝子に *de novo* バリエーションを同定した (NM\_005211.3:c.2344C>T: p.(Arg782Cys))。 *CSF1R* 遺伝子は colony stimulating factor 1 受容体をコードしており、若年性の認知機能障害を引き起こす遺伝性白質脳症である、神経軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症 (HDLS) の原因遺伝子である。本バリエーションは別の HDLS 症例でも認められたバリエーションであり、病的意義が強いと考えられた。また、石灰化は生直後の CT でも認められたとする報告があり (Konno et al., Am J Neuroradiol 2017)、本症例の脳画像所見と合致する。しかし、HDLS は40歳~50歳台の発症が多く、本症例とは発症時期が大きく異なるため、この *de novo* バリエーションのみで病態を説明

するのは困難であった。2019年に *CSF1R* 遺伝子の両アレル性バリエーションによって早期発症の白質脳症と脳および骨の形成異常が起こることが報告されている (Guo et al., Am J Hum Genet. 2019)。そこで、*CSF1R* 遺伝子の両アレル性の異常の可能性も考慮して、全ゲノム解析と末梢血単核球を用いた RNA シークエンス解析を施行したが、*CSF1R* 遺伝子に *de novo* バリエーション以外の異常は認められなかった。また、RNA シークエンスのデータをもとに発現量が異常な遺伝子、スプライス異常、片アレル性の発現遺伝子を抽出したが、症例の臨床所見と明らかに関連する遺伝子の異常は認められなかった。

(2) *SPTAN1* バリエーション

症例2は1歳4か月の女児で、新生児期から哺乳・呼吸障害を認め、経管栄養、高流量酸素療法を必要とした。重度の発達遅滞（追視は不良で未頸定）と痙性四肢麻痺を認めた。乳児期早期から、音刺激で誘発され、スパズム様の両上肢の発作が先行する偏向発作を認めた。MRIでは白質容量減少、白質形成不全、橋小脳低形成、脳梁低形成を認め、基底核は保たれていた。全エクソーム解析を行ったところ、*SPTAN1* 遺伝子に、インフレームの *de novo* 重複バリエーション NM\_001130438.3: c.6612\_6635dup, p.(Glu2207\_Glu2214dup) を同定した。

症例3は1歳9か月の女児で、出生時より

近位筋優位の筋緊張低下、腱反射の亢進を認め、日齢0で頭部CT、日齢14で脳MRIを施行するも、明らかな異常を認めなかった。4か月健診で未頸定、小頭を指摘され、生後7か月のMRIで脳幹・小脳を中心に全体的な脳萎縮、脳梁低形成、髄鞘化遅延を認めた(図1)。全エクソーム解析を行ったところ、*SPTAN1* 遺伝子に、インフレームの *de novo* 重複バリエント NM\_001130438.2:c.6908\_6916dup, p.(Asp2303\_Leu2305dup)を同定した。

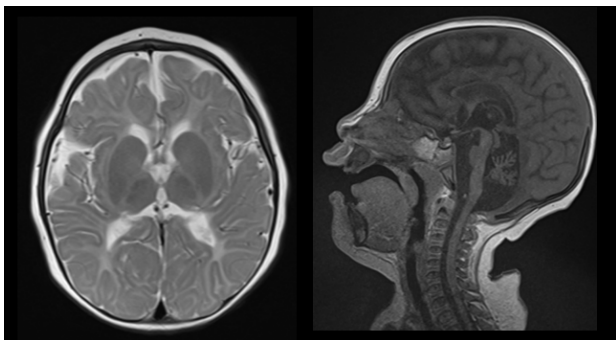


図1. 症例3の生後7か月時のMRI所見  
(左: T2強調、横断像で白質の高信を認める。右図: T1強調、矢状断画像で、小脳虫部および脳幹の萎縮を認める)

### (3) Xq22.2の重複

症例4は2歳9か月の男児で、生後2か月ごろより眼振出現。頸定3か月、寝返り4か月、伝い歩き12か月と発達を認めたが、1歳半健診で独歩なし、指さしなし、喃語無しのため受診となった。1歳9か月のMRIでは、髄鞘化遅延を認めた(図2)。

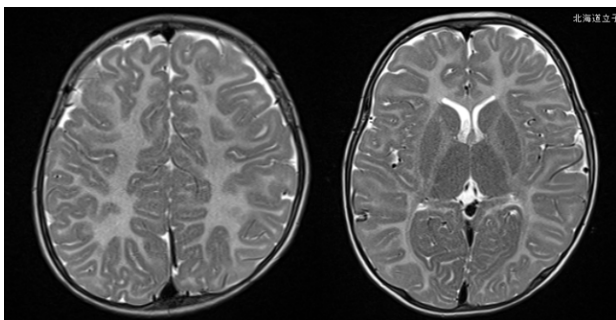


図2. 症例4の1歳9か月時のMRI所見  
(T2強調画像、横断像で白質の高信号を認め、髄鞘化は認められない)

全エクソーム解析を行ったところ、既知の先天性白質形成不全症の原因遺伝子に病的と考えられるバリエントを認めなかった。そこで全エクソーム解析データを用いたコピー数解析を行ったところ、*PLP1* 遺伝子を含 Xq22.2の重複を認め、*PLP1* 遺伝子重複が原因と考え

られた(図3)。この知見は、全エクソーム解析により、変異解析に加えてコピー数解析を加えることで、診断率が向上することを示している。

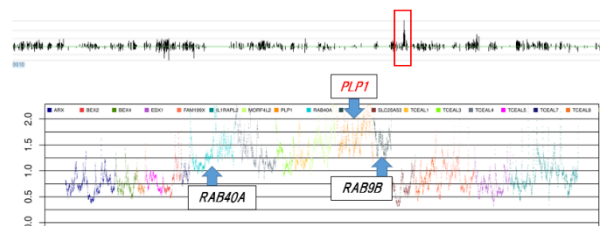


図3. 全エクソーム解析データのXHMMおよびNord解析によるXq22.2重複の同定  
(上段: XHMMによる重複の検出、重複部位を赤線で示す。下段: Nord解析による重複の確認。*PLP1* 遺伝子以外にも*RAB40A*や*RAB9B* 遺伝子を含む重複であることが分かる。)

### D. E. 考察および結論

白質異常を呈する4症例において、全エクソーム解析により*CSF1R*, *SPTAN1* (2症例) 遺伝子の病的バリエントを同定し、またXq22.2の重複を、エクソームデータを用いたコピー数解析で同定した。この結果は、全エクソーム解析の遺伝子診断における有用性を示している。

また、本研究ではRNAシーケンスのデータをもとに発現量が異常な遺伝子、スプライス異常、片アレル性の発現遺伝子を抽出する解析パイプラインを確立した。しかしながら、先天性白質形成不全症の原因遺伝子の約半数は、入手可能な末梢血単核球では発現しておらず、細胞の*in vitro* 分化やiPS細胞の利用などの新しい技術の導入が、多面的なアプローチによる診断システムの構築に不可欠である。

### F. 健康危険情報

特になし。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. Kobayashi Y, Tohyama J, Takahashi Y, Goto T, Haginoya K, Inoue T, Kubota M, Fujita H, Honda R, Ito M, Kishimoto K, Nakamura K, Sakai Y, Takanashi JI, Tanaka M, Tanda K, Tominaga K, Yoshioka S, Kato M, Nakashima M, **Saitu H**, Matsumoto N.

- Clinical manifestations and epilepsy treatment in Japanese patients with pathogenic *CDKL5* variants. *Brain Dev.* 2021 43(4):505-514. doi:10.1016/j.braindev.2020.12.006. Epub 2021 Jan 9.
2. Hiraide T, Fukumura S, Yamamoto A, Nakashima M, **Saitsu H**. Familial periodic paralysis associated with a rare *KCNJ5* variant that supposed to have incomplete penetrance. 2021 Mar;43(3):470-474. doi: 10.1016/j.braindev.2020.10.010.
  3. Anzai R, Tsuji M, Yamashita S, Wada Y, Okamoto N, **Saitsu H**, Matsumoto N, Goto T. Congenital disorders of glycosylation type IIb with *MOGS* mutations cause early infantile epileptic encephalopathy, dysmorphic features, and hepatic dysfunction. *Brain Dev.* 2021 Mar;43(3):402-410. doi:10.1016/j.braindev.2020.10.013.
  4. Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T, Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y, Takanashi JI, Kurosawa K, Saitsu H, Inoue K. *POLR1C* variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurol Genet.* 2020 Oct 13;6(6):e524. doi:10.1212/NXG.0000000000000524.
  5. Itai T, Hamanaka K, Sasaki K, Wagner M, Kotzaeridou U, Brosse I, Ries M, Kobayashi Y, Tohyama J, Kato M, Ong WP, Chew HB, Rethanavelu K, Ranza E, Blanc X, Uchiyama Y, Tsuchida N, Fujita A, Azuma Y, Koshimizu E, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Takahashi H, Miyagi E, Tsurusaki Y, Doi H, Taguri M, Antonarakis SE, Nakashima M, **Saitsu H**, Miyatake S, Matsumoto N. De novo variants in *CELF2* that disrupt the nuclear localization signal cause developmental and epileptic encephalopathy. *Hum Mutat.* 2021 Jan;42(1):66-76. doi: 10.1002/humu.24130.
  6. Ikemoto S, Hamano SI, Kikuchi K, Koichihara R, Hirata Y, Matsuura R, Hiraide T, Nakashima M, Inoue K, Kurosawa K, **Saitsu H**. A recurrent *TMEM106B* mutation in hypomyelinating leukodystrophy: A rapid diagnostic assay. *Brain Dev.* 2020 Sep;42(8):603-606. doi: 10.1016/j.braindev.2020.06.002. Epub 2020 Jun 25
  7. Hiraide T, Nakashima M, Ikeda T, Tanaka D, Osaka H, **Saitsu H**\*. Identification of a deep intronic *POLR3A* variant causing inclusion of a pseudoexon derived from an Alu element in Pol III-related leukodystrophy. *J Hum Genet.* 2020 Oct;65(10):921-925. doi: 10.1038/s10038-020-0786-y.
  8. Nakashima M, Kato M, Matsukura M, Kira R, Ngu LH, Lichtenbelt KD, van Gassen KLI, Mitsuhashi S, **Saitsu H**, Matsumoto N. De novo variants in *CUL3* are associated with global developmental delays with or without infantile spasms. *J Hum Genet.* 2020 Sep;65(9):727-734. doi: 10.1038/s10038-020-0758-2.
  9. Hinokuma N, Nakashima M, Asai H, Nakamura K, Akaboshi S, Fukuoka M, Togawa M, Oana S, Ohno K, Kasai M, Ogawa C, Yamamoto K, Okumiya K, Chong PF, Kira R, Uchino S, Fukuyama T, Shinagawa T, Miyata Y, Abe Y, Hojo A, Kobayashi K, Maegaki Y, Ishikawa N, Ikeda H, Amamoto M, Mizuguchi T, Iwama K, Itai T, Miyatake S, **Saitsu H**, Matsumoto N, Kato M. Clinical and genetic characteristics of patients with Doose syndrome. *Epilepsia Open.* 2020 Jul 23;5(3):442-450. doi: 10.1002/epi4.12417.
  10. Miura S, Kosaka K, Shimojo T, Matsuura E, Noda K, Fujioka R, Mori SI, Umehara F, Iwaki T, Yamamoto K, **Saitsu H**, Shibata H. Intronic variant in *IQGAP3* associated with hereditary neuropathy with proximal lower dominancy, urinary disturbance, and paroxysmal dry cough. *J Hum Genet.* 2020 Sep;65(9):717-725. doi: 10.1038/s10038-020-0761-7.
2. 学会発表
    1. **才津浩智**. 教育講演 1「小児神経疾患の遺伝学的原因検索から病態解明へ」第 62 回日本小児神経学会学術集会、2020 年 8 月 18 日、浜松町コンベンションホール
    2. **才津浩智**. シンポジウム 7 発生から見た先天異常「ゲノム異常と先天異常」第 29 回日本形成外科学会基礎学術集会、2020 年 10 月 9 日、パシフィコ横浜ノース
  - H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

小児の遺伝性大脳白質疾患 Up-date 2020

研究分担者 佐々木 征行 国立精神・神経医療研究センター病院

研究要旨：

Pelizaeus-Merzbacher病（PMD）の頭部MRI画像と臨床的重症度との相関を検討し、最近経験した遺伝性髄鞘形成不全症児の頭部MRI画像と臨床的重症度との関連性を検討した。遺伝性髄鞘形成不全症では原因疾患が異なっても、頭部MRI画像が臨床的重症度に相関することが示唆された。

A. 研究目的

- ①Pelizaeus-Merzbacher病（PMD）を含むPLP1異常症の臨床的重症度と頭部MRI画像との関連性を確認すること。
- ②最近当科で経験した髄鞘形成不全症児の頭部MRI画像所見と臨床的重症度との関連性を検討する。

B. 研究方法

- ①当科で経験した12例のPMD患者の頭部MRI画像と臨床的重症度（運動発達レベル）との関連性を検討した。
- ②最近当科で経験したHEMS（Hypo-myelination of early myelinating structures）、SOX10異常症、TMEM106B異常症例の頭部MRI画像と臨床的重症度を検討した。

C. 研究結果

- ①PMDは臨床的に重症例（頸定を認めない）、中等症例（座位程度）、軽症例（歩行可能）に分けられる。重症例では、頭部MRIでT1およびT2強調画像

で髄鞘化を認めない。中等症例では、T1で深部白質に髄鞘化を認めることが多い。軽症例になるとT1ではほぼ正常の髄鞘化を認めるもののT2では広範な髄鞘形成不全を認めることが確認された。

- ②HEMS例はT1で髄鞘化は正常、T2では皮質下と中小脳脚が髄鞘化され軽症例のパターンであった。SOX10例はT1で髄鞘化を認めず、常時臥床の重症例のパターンであった。TMEM106B異常症例では、T1で深部白質が髄鞘化され、2歳で擦り這い可能になり中等症パターンであった。以上より、HEMS、SOX10異常症、TMEM106B異常症の3例でもPMDと同様に臨床的重症度（運動発達レベル）と頭部MRI画像とに相関が認められた。

D. 考察

髄鞘形成不全症児の運動発達レベルは、PMDでは頭部MRI画像とある程度相関することが分かっていた。今回の

検討では、PMD 以外の髄鞘形成不全症  
児でも同様に運動発達レベルと頭部 MR  
I 画像の髄鞘化レベルとがある程度相  
関する可能性が示唆された。

#### E. 結論

髄鞘形成不全症では、頭部 MRI 画像の  
髄鞘化所見を見ることにより運動発達レ  
ベルを予測できる可能性がある。

#### F. 健康危険情報：なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Ozaki A, Sasaki M, Hiraide T, et al.  
A case of CLCN2-related leuko-enceph  
alopathy with bright tree ap-pearance  
during aseptic meningitis. Brain De  
v. 2020;42:462-7.

##### 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。)

なし

遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築

研究分担者 高梨潤一 東京女子医科大学 医学部 教授

研究要旨

本研究班で2020年1月に作成・発刊した「治療可能な遺伝性神経疾患 診断・治療の手引き」に引き続き、神経画像、特にMRIにおける白質病変や臨床症状から、適切に早期診断、鑑別診断を行うための実地臨床に即した診断手引書「遺伝性白質疾患 診断の手引き」を作成している。MRIの出現とともに中枢神経白質病変検出能は飛躍的に向上した。MRI (T1, T2 強調画像, FLAIR 法) の白質異常をパターン化し、併存病変（基底核・小脳など）と臨床像から多数の鑑別疾患から絞り込むことが可能となる。診断にたずさわる小児科医、疾患情報を求める患者さんに益すると思われる。

A. 研究目的

分子遺伝学の発展とともに、近年数多くの遺伝性白質疾患が見いだされている。神経画像、特にMRIにおける白質病変や臨床症状から、適切な早期診断、鑑別診断につながる冊子を作成し、小児科医・小児神経科医、疾患情報を求める患者さんに公開することを目的とする。

B. 研究方法

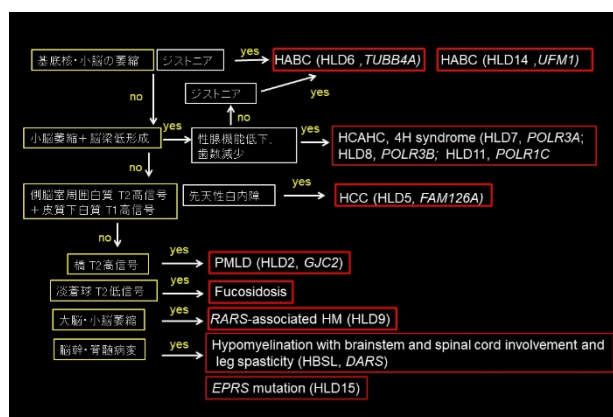
遺伝性白質疾患を先天性大脳白質形成不全症（＝髄鞘形成不全性白質ジストロフィー；hypomyelinating leukodystrophy [HLD]）とHLD以外に分類し、後者を脱髄性白質ジストロフィー（demyelinating leukodystrophy; DLD）として記載した。DLDは白質病変部位、白質病変以外の併存所見（基底核・小脳・脳幹病変など）、特徴的な臨床所見などからパターン化した。

C. 研究結果

HLDとして44疾患、DLDとして106疾患を抽出し、白質病変分類、併存病変分類、臨床症状分類を一覧表として示した。その中でHLD 12疾患、DLD 52疾患を各論で詳記した。図はHLDの代表疾患の診断フローチャートである。

D. 考察

MRIにおける白質病変から診断にいたる小児に特化した手引書は初めてであり、小児科、小児神経科医の日常診療に益すると考えられる。



F. 研究発表

1. 論文発表

1. Kashii H, Ueno H, Li H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T, Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y, Takanashi J, Kurosawa K, Inoue K. *POLR1C* variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurol Genet* 2020; 6: e524.
2. Itai T, Miyatake S, Taguri M, Takanashi JI, Mizuguchi T, Saitsu H, Matsumoto N, et al. Prenatal clinical manifestations in individuals with *COL4A1/2* variants. *J Med Genet* in press doi: 10.1136/jmedgenet-2020-106896. jmedgenet-2020-106896. doi: 10.1136/jmedgenet-2020-106896.
3. Kobayashi Y, Tohyama J, Takahashi Y, Saitsu H, Matsumoto N. Clinical manifestations and epilepsy treatment in Japanese patients with

pathogenic *CDKL5* variants. *Brain Dev* 2021; 43:  
505-514. doi, 10.1016/j.braindev.2020.12.006

2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 なし



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

後天性白質疾患に関する研究

研究分担者 松井 大 大津赤十字病院脳神経内科部長

研究要旨：

遺伝性白質疾患の遺伝子診断を、コストや労力の点から効率よく行うためには、後天性白質疾患の鑑別を、臨床所見や画像所見から適切に行う必要がある。本研究では、当科にて診療を行った後天性白質疾患の症例を検討し、後天性白質疾患の鑑別について考察を行った。

A. 研究目的

実際の臨床の現場においては、遺伝性ではない後天性の白質疾患が多く、遺伝性の白質疾患の診断のためには、遺伝子診断の前に、後天性白質疾患を除外することが必要となる。本研究では、脳アミロイドアンギオパチーについて考察を加えることとする。

B. 研究方法

当科で診療を行った大脳白質疾患のうち診断が困難であった症例について頭部MRIの解析による検討を行った。

C. 研究結果

大脳白質病変を示す後天性白質疾患の中で3例に、T2\*像で多発性のmicrobleedsを認めた。そのうち2例では、認知症を疑う症状を認め、1例では急性期の脳梗塞を認めた。この3例ともT2\*像のmicrobleedsの分布は、通常の高血圧で認められる分布とは違い、後頭葉や側頭葉に多発した。

D. 考察

脳アミロイドアンギオパチーは、脳の髄膜血管と皮質血管にアミロイドが沈着する疾患である。主にA $\beta$ 40が血管平滑筋の外側基底膜に沈着すると考えられている。認知機能低下や脳出血を認めることがあり、大脳白質病変を呈する疾患の中では、ビンスワンガー型白質脳症やCADASILなどが鑑別にあがる。

脳アミロイドアンギオパチーの場合、頭部MRI上、大脳皮質下を中心にFLAIR/T2強調像で高信号を示すが、拡散強調像では、高信号を示さない。

白質病変には、(1)虚血が関与していると考えられている側脳室周囲の対称性の白質病変や(2)U-fiberを含み浮腫性のmass effectを有する可逆性の非対称性白質病変があるが、症例1では、その両方の要素が認められた。

E. 結論

高齢者の白質病変の中で(1)脳表を主

体とする多発性の microbleeds、(2)非外傷性円蓋部のくも膜下出血、(3)U-fiber まで含む白質病変を認めた場合は、遺伝性ではなく、後天性の脳アミロイドアンギオパチーを考える必要がある。

F. 健康危険情報：なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Clin Neuropharm. 43:146-150, 2020

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。)

なし

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策研究事業）  
遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築  
分担研究報告書

希少難病における診療ガイドライン策定支援

研究分担者 三重野 牧子 自治医科大学情報センター医学情報学准教授

**研究要旨** 遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患を含む希少難病を対象とした診療ガイドライン策定のうえで基礎資料となる国内外の動向についての情報収集を継続した。また、希少難病ではないものの、公衆衛生上重大かつ迅速な対応が必要とされている Covid-19 のパンデミック下で検討されている診療ガイドライン策定に関する文献から、本研究における応用可能性についての検討を行った。

#### A. 研究目的

本研究で対象としている遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患をはじめとする希少難病における診療ガイドライン策定に関して、国内外での議論についての情報を更新し、本研究で適切な診療ガイドラインを作成するための方法について検討した。とくに、2020年度は Covid-19 パンデミックという公衆衛生上の危機に瀕して、限られた資源の中から診療ガイドライン策定を迅速に行っていくプロセスが、希少疾患診療ガイドライン策定に対しても応用できる可能性があり、その適用可能性についても検討した。

#### B. 研究方法

診療ガイドラインとしては、従来から検討しているとおり、Minds (EBM 普及推進事業) の提供資料を中心に検討する。希少難病に関しては、欧米での希少疾患政策の最近の動向と公衆衛生上の位置づけも再度確認する。特に EU でまとめられた希少疾患ガイドライン開発に関するプロジェクト RARE BESTPRACTICES (Platform for sharing best practices for management of rare diseases) ([www.rarebestpractices.eu](http://www.rarebestpractices.eu)) 報告、GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluations) (<https://www.gradeworkinggroup.org/>) の方法論

に関する各種資料と実例、Covid-19 パンデミック下で提案されてきている方法に着目した。希少難病を対象とした場合でも妥当な診療ガイドラインを策定していく方法について引き続き検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は、既存文献検索および方法論研究であるため、個人情報保護に関する問題は生じない。

#### C. 研究結果

RARE BESTPRACTICES の最終報告書でも推奨されているところであるが、希少疾患の診療ガイドラインを策定する上で GRADE の方法論

(Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluations) はもともと強力なツールであることが示唆されている。本邦においても、Minds が国内診療ガイドライン作成システムとして正式に GRADE システムを採用している。GRADE システムの特徴としては、診療ガイドライン作成の透明性の確保を重視していることが挙げられ、最大限、エビデンスに基づいていたとしても不可欠となってくる、エビデンスの評価や推奨の作成における「判断」が明示的であることを利用者に要求している。臨床的な decision-making は、エビデンスだけでは

十分ではないという原則にもとづき、エビデンスの確実性と推奨の強さを分離して議論がなされている。

Covid-19 パンデミック下においては、多くの誤った情報や定かではない情報、あるいは極度に楽観的な情報などが飛び交っていたが、

Schünemann らは、決定を支持するエビデンスの確かさが重要であり、この緊急事態にあっても GRADE アプローチが介入効果や検査の正確性、リスクや予後因子、公衆衛生尺度の因果関係、質的な統合されたエビデンスに対しても同様に表現でき、確かさを伝えることができるとコメントしている (Journal of Clinical Epidemiology, 2020)。介入効果が確かなものかどうかのポイントとしては、

- ・用いられている研究デザインが適切かどうか
  - ・研究デザインや研究遂行に重大な限界がないか
  - ・設定や集団、介入、比較の基準やアウトカムがある程度似ている研究間で結果が一致しているか
  - ・その結果をどのくらい直接に集団（設定含む）、介入、比較の基準、関心のあるアウトカム (PICO) へ適用できるか
  - ・その結果は十分正確なのか、偶然によるものなのか
  - ・これが関心のある PICO クエスチョンで実行されたすべての研究なのか
  - ・とくに、介入の相当強い効果や用量反応性、あるいは望ましくないシナリオでも説得力のある効果を導くような、より確信できる何か存在しないのか、
- 等が挙げられる。

次に、推奨の策定を含む decision-maker へガイドできるような GRADE の問いは、

- ・利益が不利益を上回っているか（ここでは問題の優先度や深刻度、介入効果など含む）
- ・介入／戦略に関連して必要なリソース（とコスト）の大きさと費用対効果
- ・社会的関係や環境への影響を含む公正さへの介入／戦略の大きさ

・介入／戦略が異なったステークホルダーに受容可能か（倫理的配慮含む）

・介入／戦略が実行可能か（医療制度や社会的、法律的、政治的その他を含む）が挙げられている。

#### D. 考察

近年、GRADE システムあるいは GRADE ガイドラインに関する論文は増加傾向にある。Covid-19 パンデミック下での GRADE システムの有用性は Schünemann らによって示唆されているところであるが、彼らはまた、緊急時であることが、エビデンスの厳格な評価を省略することを正当化できるものではないとコメントしている

(Journal of Clinical Epidemiology, 2020)。この指摘は、希少難病の診療ガイドライン策定時の限界あるいは制約に対峙する際の姿勢につながるところがあると考えられる。十分な症例数が得られない場合で議論しなければならぬことと本質的に同じ部分もあり、希少疾患の診療ガイドライン策定方法を検討するうえで参考になる知見である。

Covid-19 パンデミック前後で様々なガイドライン開発に関してかなりの変化があったとの考察もある (Munn ら、Annals of Internal Medicine, 2020)。このパンデミックは世界中の多くの decision-maker たちに、確固たるエビデンスにもとづいた解決策の需要を引き起こした。それぞれの phase におけるデータを軸として、エビデンスの産生、エビデンスの統合、ガイドラインの産生、政策への反映、その評価、さらなるエビデンスの創出で構成されるような、Munn らの主張による「エビデンスのエコシステム」が機能していくことが望まれる。

#### E. 結論

希少難病における診療ガイドライン策定に関する最近の研究について概観し、本研究課題である遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患への応用可能性について検討した。さらなる体制づくりと度重なる議論が引き続き必要とされて

いる。

**F. 健康危険情報**

該当なし。

**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。

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

遺伝性白質疾患・知的障害をきたす疾患の診断・治療・研究システム構築

研究分担者 村松 一洋 自治医科大学小児科 准教授

【研究要旨】

遺伝性白質疾患 診断の手引きの分担著者を担当し、原稿執筆・校正を行い「遺伝性白質疾患 診断の手引き」を発刊した。

A. 研究目的

日常の小児診療において、MRIによる中枢神経の白質病変検出は遺伝性白質疾患の診断の契機となる。MRIによる特徴的な所見と遺伝子診断技術の進歩により診断確定可能となる遺伝性白質疾患が増加してきている。これらの疾患を全て、診療の現場で把握し診断することはもやは困難である。本研究では、診療の現場に有用な情報を提供するための「遺伝性白質疾患 診断の手引き」を作成することで、適切な時期に診断し治療開始できるような体制を構築することを目的とする。これは患者だけではなく、診療の現場においても期待されている内容である。

B. 研究方法

「遺伝性白質疾患 診断の手引き」の出版準備  
第2部各論 024 神経セロイドリポフスチン症を執筆及び校正した。

文献から、神経セロイドリポフスチン症の症例を集積し、特に6型について国内症例の経過を把握する。

C. 研究結果

「遺伝性白質疾患 診断の手引き」の出版準備  
第1部 総論、第2部 各論 65項目を盛り込み、2020年度末時点で「遺伝性白質疾患 診断の手引き」が診断と治療社よりまもなく発刊予定である。文献から、神経セロイドリポフスチン症の症例集積と特に6型について国内症例の経過を把握した。

D. 考察

他研究班・ガイドラインがないものについてMindsに準拠し扱う。MRIにおいて白質病変を有する疾患で、他研究班が研究している疾患においても、神経症候の記載がないもの、または神経科医からの目線が必要な内容を掲載した。

他研究班かがアップデートしない疾患を扱うことで最新の情報を提供するに至った。

このような特徴を有するものであり、診療の現場及び患者にとっても非常に有用と考えられる。

前年度に出版した「治療可能な遺伝性神経疾患 診断・治療の手引」に引き続き診療現場に有用な書籍となることが期待される。

神経セロイドリポフスチン症2型は、国内でも脳室内酵素補充療法が開始されたため、早期発見が重要になる。この診断・治療の手引が診療現場で役立つことが期待される。また、6型においては国内患者4名の経過を収集し、現状では治療法がないため自然歴を把握することとなっている。

E. 結論

本研究班の成果の一つとして、診療の現場および患者にとって非常に有用な「遺伝性白質疾患 診断の手引き」が発刊予定である。

F. 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

- なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 進行性白質脳症の遺伝子診断サポート

研究分担者 山本 俊至 東京女子医科大学遺伝子医療センターゲノム診療科・教授

### 研究要旨

#### 研究目的:

皮質下嚢胞をもつ大頭型白質脳症(megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: MLC)は乳児期から大頭症を呈し、頭部MRI画像上側脳室下角周辺の嚢胞様変化と脳室周囲白質のT2高信号を特徴とする所見を示す。白質障害は進行性で、錐体路徴候やてんかん発作、知的レベルの低下が徐々に明らかになることが多い。MLCは指定難病となっているが、診断の確定は原因遺伝子であるMLC1の変異を同定するしかないにも関わらず、この遺伝子診断は保険収載されていない。そのため本研究班の研究事業の一環として診断サポートを行っている。今年度は1例の新規例の診断を確定した。

#### 研究方法:

進行性白質脳症が疑われるも、未診断のままである患者に対して、PCR-Sanger法によりMLC1を解析し、診断のサポートを行った。

#### 結果と考察:

健診時に頭囲の拡大があり、頭部画像診断で白質障害が疑われた。その後運動発達の遅れが目立ってきたため、MLCが疑われ、コンサルテーションを受けた。MLC1遺伝子解析により既知変異の複合ヘテロ接合が認められた。患者は現在経過観察中である。

#### 結論:

MLCは乳児期に頭囲拡大で最初に気が付かれるケースが比較的多い。日本人MLC患者で共通の変異があるため診断は比較的容易であり、MLC1の遺伝学的検査は保険適用とされることが望ましいと考えられる。

### A. 研究目的

皮質下嚢胞をもつ大頭型白質脳症(megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: MLC)は乳児期から大頭症を呈し、頭部MRI画像上側脳室下角周辺の嚢胞様変化と脳室周囲白質のT2高信号を特徴とする所見を示す。白質障害は進行性で、錐体路徴候やてんかん発作、知的レベルの低下が徐々に明らかになることが多い。MLCは指定難病となっているが、診断の確定は原因遺伝子であるMLC1の変異を同定するしかないにも関わらず、この遺伝子診断は保険収載されていない。そのため本研究班の研究事業の一環として診断サポートを行っている。

今年度は1例の新規例の診断を確定した。

### B. 方法

MLC1のエクソン4に位置するS93L common変異の有無をサンガー法で確認した。MLC1 common変異が認められた場合、さらに他のエクソン領域にまで解析対象を広げた。

なお、本研究は東京女子医科大学における倫理審査委員会で認められた研究の一部として行い、患者あるいはその家族から書面による同意を得て行った。

### C. 研究結果

症例は下記のとおりである。

**症例:**1歳10か月男児

**家族歴:**同胞あり(姉)。家系内に神経筋疾患なし。

**周産期歴:**特記すべきことなし。

**現病歴:**7か月健診で+3 SDの大頭症を指摘され、頭部MRI検査を受けたところ、大脳白質に広範な

T2 高信号が認められた。1歳1か月時には歩行未獲得で軽度の運動発達遅滞が認められ、頭囲の拡大が進んでいたため、頭部 MRI 検査が再検査された。その結果脳室拡大の所見が認められ、増悪していると考えられ、診断についてコンサルトを受けた。画像所見より MLC の所見と合致していたため、*MLC1* 解析を行うこととした。

**遺伝子解析結果:** 両親より書面による同意取得後、*MLC1* エクソン4に位置する S93L common 変異の有無を解析したところ、ヘテロ変異を認めた。エクソン5においてフレームシフトを伴うヘテロ変異を認め、慎重に検討した結果、c.337\_353delinsG (p.Ile113Glyfs\*4)であることが判明した。

#### D. 考察

MLC 患者においては、発達遅滞と大頭症、MRIによる特徴的な所見から、比較的鑑別が容易である。本症例も *MLC1* エクソン4に位置する S93L common 変異と、さらにエクソン5の既知変異との組み合わせによる複合テロ変異で比較的容易に診断に至った。

エクソン5のフレームシフト変異は以前韓国から報告されており(Choi SA, Kim SY, Yoon J, et al.: A Unique Mutational Spectrum of *MLC1* in Korean Patients With Megalencephalic Leukoencephalopathy With Subcortical Cysts: p.Ala275Asp Founder Mutation and Maternal Uniparental Disomy of Chromosome 22. *Ann Lab Med* 37: 516-521, 2017)、当研究室でも過去に1例経験しているため比較的頻度が高い可能性がある (Yamamoto-Shimajima K, Kimoto Y, Watanabe Y, Yamamoto T: Two different *MLC1* variants compounded with a common variant S93L in Japanese patients of megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Tokyo Women's Medical University Journal* 4:

94-97, 2020)。

#### E. 結論

進行性白質脳症は希少疾患であり、新規患者は年間数例程度と考えられるが、遺伝学的検査でしか診断を確定させることができない。このうち MLC は日本人 common 変異が存在することから比較的診断が容易であり、*MLC1* の遺伝学的検査は保険収載されるべきと考える。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Yamamoto-Shimajima K, Osawa K, Saito M, Yamamoto T: iPSCs established from a female patient with Xq22 deletion confirm that BEX2 escapes from X-chromosome inactivation. *Congenit Anom* 61; 63-67, 2021.
2. 柳下友映, 下島圭子, 西 恵理子, チョンピンフィー, 山田 博之, 岡本 伸彦, 永田 智, 山本俊至: 日本人 Potocki-Lupski 症候群 7 症例の臨床症状. 脳と発達 in press
3. Imaizumi T, Yamamoto-Shimajima K, Yanagishita T, Ondo Y, Nishi E, Okamoto N, Yamamoto T: Complex chromosomal rearrangements of human chromosome 21 in a patient manifesting clinical features partially overlapped with that of Down syndrome. *Hum Genet* 139; 1555-1563, 2020.
4. Yanagishita T, Imaizumi T, Yamamoto-Shimajima K, Yano T, Okamoto N, Nagata S, Yamamoto T: Breakpoint junction analysis for complex genomic rearrangements with the caldera volcano-like pattern. *Hum Mutat* 41; 2119-2127, 2020.
5. Akiyama T, Hyodo Y, Hasegawa K, Oboshi T, Imai K, Ishihara N, Dowa Y, Koike T,



- Yamamoto T, Shibasaki J, Shimbo H, Fukuyama T, Takano R, Shiraku H, Takeshita S, Okanishi T, Baba S, Kubota M, Hamano S, Kobayashi K: Pyridoxal may be a better indicator of vitamin B6 dependent epilepsy than pyridoxal 5-phosphate. *Pediatr Neurol* 113; 33-41, 2020.
6. Cappuccio C, Sayou C, Tanno PL, Tisserant E, Bruel AL, Kennani SE, Sá J, Low KJ, Dias C, Havlovicová M, Hančárová M, Eichler EE, Devillard F, Moutton S, MD, Van-Gils J, Dubourg C, Odent S, Piton A, Yamamoto T, Okamoto N, Firth H, Metcalfe K, Moh A, Kimberly A, Chapman, Aref-Eshghi E, Kerkhof J, Torella A, Nigro V, Perrin L, Piard J, Le Guyader G, Jouan T, Thauvin-Robinet C, Duffourd Y, George-Abraham JK, Buchanan CA, Williams D, Kini U, Wilson K, Telethon Undiagnosed Diseases Program, The DDD study, Sousa SB, Hennekam RCM, Sadikovic B, Thevenon J, Govin J, Vitobello A, Brunetti-Pierri N: De novo SMARCA2 variants clustered outside the helicase domain cause a new recognizable syndrome with intellectual disability and blepharophimosis distinct from Nicolaides-Baraitser syndrome. *Genetics in Med* 22; 1838-1850, 2020.
  7. Ogura H, Ohga S, Aoki T, Utsugisawa T, Takahashi H, Iwai A, Watanabe K, Okuno Y, Yoshida K, Ogawa S, Miyano S, Kojima S, Yamamoto T, Yamamoto-Shimojima K, Kanno H: Novel COL4A1 mutations identified in infants with congenital hemolytic anemia in association with brain malformations. *Hum Genome Var* 7; 42, 2020.
  8. Imaizumi T, Yamamoto-Shimojima K, Yanagishita T, Ondo Y, Yamamoto T: Analyses of breakpoint-junctions of complex genomic rearrangements comprising multiple consecutive microdeletions by nanopore sequencing. *J Hum Genet* 65; 735-741, 2020.
  9. Kamio T, Kamio H, Aoki T, Ondo Y, Uchiyama T, Yamamoto-Shimojima K, Watanabe M, Okamoto T, Kanno H, Yamamoto T: Molecular Profiles of Breast Cancer in a Single Institution. *Anticancer Res* 40; 4567-4570, 2020.
  10. Kato T, Inagaki H, Miyai S, Suzuki F, Naru Y, Shinkai Y, Kato A, Kanyama K, Mizuno S, Muramatsu Y, Yamamoto T, Shinya M, Tazaki Y, Hiwatashi S, Ikeda T, Ozaki M, Kurahashi H: The involvement of U-type dicentric chromosomes in the formation of terminal deletions with or without adjacent inverted duplications. *Hum Genet* 139; 1417-1427, 2020.
  11. Hirose S, Tanaka Y, Shibata M, Kimura Y, Ishikawa M, Higurashi N, Yamamoto T, Ichise E, Chiyonobu T, Ishii A: Application of Induced Pluripotent Stem Cells in Epilepsy. *Molecular and Cellular Neuroscience* 108; 103535, 2020.
  12. Wakabayashi K, Osaka H, Kojima K, Imaizumi T, Yamamoto T, Yamagata T: MCT8 deficiency in a patient with a novel frameshift variant in the SLC16A2 gene. *Hum Genome Var* 8; 10, 2021.
  13. Yamamoto-Shimojima K, Akagawa H, Yanagi K, Kaname T, Okamoto N, Yamamoto T : Deep intronic deletion in intron 3 of PLP1 associated with severe phenotype of

- Pelizaeus-Merzbacher disease. Hum Genome Var in press
14. Yamamoto-Shimojima K, Kimoto Y, Watanabe Y, Yamamoto T: Two different MLC1 variants compounded with a common variant S93L in Japanese patients of megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. Tokyo Women's Medical University Journal 4; 94-97, 2020.
  15. Yanagishita T, Eto K, Yamamoto-Shimojima K, Imaizumi T, Nagata S, Yamamoto T: A novel PAFAH1B1 splicing variant identified in a patient with classical lissencephaly. Tokyo Women's Medical University Journal in press
  16. Fujita T, Ihara Y, Hayashi H, Ishii A, Ideguchi H, Inoue T, Imaizumi T, Yamamoto T, Hirose S: Coffin - Siris syndrome with bilateral macular dysplasia caused by a novel exonic deletion in ARID1B. Congenital Anomalies in press
  17. Yamamoto-Shimojima K, Ono H, Imaizumi T, Yamamoto T: Novel LAMA2 variants identified in a patient with white matter abnormality. Hum Genome Var 7; 16, 2020.
2. 著書
    1. 山本俊至: 遺伝子検査. お医者さんオンライン h00391. プレジジョン, 東京, 2020.
    2. 山本俊至: 脊髄性筋萎縮症. 周産期遺伝カウンセリングマニュアル 146-148. 中外医学社, 東京, 2020.5.
  3. 学会発表
    1. 山本俊至: 【シンポジウム: わが国における NIPT の在り方を考える】「小児科医の立場から」. 第 1 2 回日本小児科学会倫理委員会公開フォーラム-出生前診断を考える-, 東京(WEB), 2021/03
    2. 山本圭子, 澤石由記夫, 山本俊至: Inverted-duplication-deletion の領域にさらに不均衡転座が付加された過去に報告のない染色体構造異常の 1 例. 第 4 3 回日本小児遺伝学会学術集会, 松本(WEB), 2021/01
    3. 山本俊至, 山本圭子, 岡本伸彦: SMARCA2 の hot spot 変異は従来の SWI/SNF 複合体症候群とは異なる表現型を示す. 第 4 3 回日本小児遺伝学会学術集会, 松本(WEB), 2021/01
    4. 西恵理子, 上原朋子, 要匡, 山本俊至, 小崎健次郎, 岡本伸彦: EBF3 遺伝子のハプロ不全を有する患者の臨床症状. 第 4 3 回日本小児遺伝学会学術集会, 松本(WEB), 2021/01 山本俊至: 【生殖シンポジウム 1 : PGT】日本における遺伝学的検査の現状と PGT の問題点. 第 6 回日本産科婦人科遺伝診療学会学術集会, 金沢(WEB), 2020/12
    5. 山本俊至: 【シンポジウム 1 わが国の PGT-A はどこへ?】解析技術; Pros and cons. 第 6 5 回 日本生殖医学会学術講演会・総会, 東京(WEB), 2020/12
    6. 山本圭子, 小野浩明, 今泉太一, 山本俊至: 白質異常を端緒に特定された新規 LAMA2 バリエント. 日本人類遺伝学会第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
    7. 山本圭子, 赤川浩之, 荒木 敦, 柳 久美子, 要 匡, 岡本伸彦, 山本俊至: エクソン近傍のイントロン欠失によって生じる PLP1 スプライシング異常. 日本人類遺伝学会

- 第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
8. 山本俊至 : 【シンポジウム 4 ; 日本における PGT~臨床研究から倫理まで~】 PGT-A における本邦の課題. 日本人類遺伝学会第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
  9. 山本俊至, 柳下友映, 今泉太一, 山本圭子, 岡本伸彦 : ナノポアシーケンスによって明らかになるゲノム構造異常. 日本人類遺伝学会第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
  10. 相馬未来, チョン・ピンフィー, 今泉太一, 柳下友映, 山本圭子, 山本俊至 : 臨床症状より Coffin-Siris 症候群が疑われた患者において認められた新規 EP300 変異. 日本人類遺伝学会第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
  11. 村松みゆき, 山本俊至 : WAGR 症候群を持つ児への早期療育、特別支援教育の取組みに関する研究; システムティックレビュー. 日本人類遺伝学会第 65 回大会, 名古屋(Web), 2020/11
  12. 今泉太一, 柳下友映, 山本圭子, 西恵理子, 岡本伸彦, 山本俊至 : ロングリードシーケンサーを用いた染色体構造異常の解析. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張 (Web) , 2020/08
  13. 柳下友映, 山本圭子, 今泉太一, 恩藤由美子, 岡本伸彦, 矢野珠巨, 永田 智, 山本俊至 : 重複の両端のコピー数がさらに増えている新規染色体構造異常のメカニズム. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張 (Web) , 2020/08
  14. 山本圭子, 今泉太一, 赤川浩之, 菅野仁, 山本俊至 : 選択的 IgG2 低下を示し中耳炎を反復した ZBTB20 の de novo 変異による Primrose 症候群の 1 例. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張 (WEB), 2020/08
  15. 山本俊至 : 小児神経科医が知っておくべき出生前診断の現状. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張(WEB), 2020/08
  16. 山本俊至 : 脳と発達・B&D 編集委員会主催合同セミナー: 和文・英文両機関誌に求められる使命と役割分担「脳と発達の役割」. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張(WEB), 2020/08
  17. 山本俊至 : 遺伝学的検査普及のため NPO 法人を設立して: その経緯と課題. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張 (WEB), 2020/08
  18. 山本俊至, 山本圭子 : 疾患特異的 iPS 細胞を用いた CDKL5 てんかん脳症の病態解明. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張(WEB), 2020/08
  19. 大松泰生, 高橋幸利, 植田佑樹, 永井康平, 井田久仁子, 臼井大介, 山口解冬, 大谷英之, 池田浩子, 重松秀夫, 今井克美, 加藤光広, 山本俊至 : STXBP1 遺伝子異常 10 症例のてんかんの特徴. 第 62 回日本小児神経学会学術集会, 幕張 (WEB), 2020/08
  20. 山崎あや, 宮田理英, 恩藤由美子, 山本圭子, 山本俊至 : 14q サブテロメア欠失の表現型に関する一報告. 第 44 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 宜野湾市 (Web), 2020/07
  21. 山本圭子, 長谷川結子, 岡本伸彦, 菅野仁, 山本俊至 : Acrocentric な染色体の短腕への転座を示した 2 例. 第 44 回日本遺伝カウンセリング学会学術集会, 宜野湾市(Web), 2020/07

22. 山本俊至，山本圭子，恩藤由美子，谷本綾子，藤井裕士：G 分染法では2つの染色体間での均衡転座と診断された3染色体間での不均衡転座。第44回日本遺伝カウンセリング学会学術集会，宜野湾市(Web)，2020/07
23. 村松みゆき，柳下友映，下島圭子，三浦健一郎，山本俊至：WAGR 症候群患者の実態調査と家族会サポート。第44回日本遺伝カウンセリング学会学術集会，宜野湾市(Web)，2020/07
24. 柳下友映，佐藤孝俊，石垣景子，永田智，山本俊至：新規 BICD2 バリエーションにより歩容異常・下肢優位の筋力低下を示した母子例。第44回日本遺伝カウンセリング学会学術集会，宜野湾市(Web)，2020/07.

#### H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他

## 慎重な病的意義の解釈を要した *GFAP* バリエント

分担研究者 吉田誠克 京都府立医科大学大学院 医学研究科 神経内科学

### 研究要旨

アレキサンダー病（Alexander disease; ALXDRD）に認められる *GFAP* 変異は大多数がミスセンス変異であり，インフレーム挿入/欠失変異，終止コドン近傍のフレームシフト変異およびスプライス変異はごく少数である．当施設で解析した 79 例の *GFAP* 変異のうちミスセンスバリエント以外のバリエントは 7 例であった(8.9%)．これらはすべて singleton であり，病的意義の解釈に難渋する症例も含まれる．本研究では，このうち 2 症例について診断過程および病的意義の解釈について考察した．1 例はスプライス受容部位におけるミスセンス変異で，脳組織から得られた RT-PCR 産物を用いたシーケンス解析により，新たなスプライス受容部位の出現による 3 塩基のインフレーム欠失を明らかにした．アストロサイト *GFAP* の約 90% を占める *GFAP- $\alpha$*  はアストロサイト以外にはほとんど発現しないため，脳組織から得た RNA 転写物を用いた解析は重要である．もう 1 例は exon 6 内にデータベースに記載のない 6 塩基重複を認めた．健常である母にも同一バリエントを認めた．本例は成人の ALXDRD としては非典型的な臨床症状である一方で，ALXDRD は幅広い年齢層で発症しうることや浸透率が不明なことから本バリエントの病的意義に関しては長期にわたる慎重な検討が必要と考えられた．

### A. 研究目的

アレキサンダー病（Alexander disease; ALXDRD）はアストロサイト細胞質内にローゼンタル線維を認めることを病理学的特徴とし，ほぼすべての症例で *glial fibrillary acidic protein (GFAP)* 遺伝子変異を認める稀な一次性アストロサイト疾患である．*GFAP* 遺伝子変異はこれまで 100 種類以上が報告されているが，その大部分は exon 内のミスセンス変異であり，インフレーム挿入/欠失変異，終止コドン近傍のフレームシフト変異およびスプライス変異はごく少数

である．

当施設では 2006 年から全国の施設から依頼された ALXDRD 疑いの患者に対する *GFAP* 遺伝子解析を行い，2020 年 12 月の時点で 79 例の *GFAP* 変異を同定した．このうち 7 例がミスセンスバリエント以外のバリエントであった(8.9%)．これらの症例はすべて singleton であり，病的意義の解釈に難渋する症例も含まれる．本研究ではこの中から特に示唆に富む 2 症例を提示して ALXDRD に対する遺伝学的解釈について考察する．

## B. 研究方法

対象は2006年から2020年12月までに当施設で *GFAP* exon 内のミスセンスバリエーション以外のバリエーションが検出された7例のALXDRD (表1)のうち2例 (表1の症例5および6)について、その診断過程および病的意義についての解釈を行った。

表 1

Splice site and frameshift *GFAP* mutations identified in KPUM

sex	age at exam	age at onset	initial symptom	<i>GFAP</i> mutation	
1 M	12y	10y	gait disturbance	c.380_385dup	p.R126_L127dup
2 F	27y	22y	blurred vision	c.726_728dup	p.E243dup
3 F	47y	46y	gait disturbance	c.371_372insAGA	p.R124_L125insE
4 F	51y	10y	convulsion	c.1249delG	p.D417Mfs*15
5 M	76y	76y	gait unsteadiness	c.619-1 G>A	p.E207del
6 M	27y	27y	aphasia	c.976_981dup	p.E326_A327dup
7 M	3m	2m	convulsion	c.743_778del	p.S248_S259del

Total cases of *GFAP* mutation identified : 79

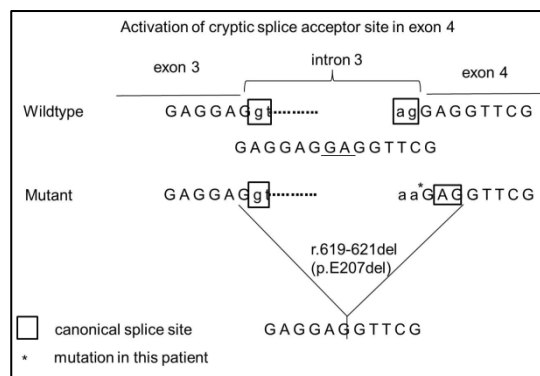
## C. 研究結果

症例 5 : 76 歳男性. 1 週間ほど前からの複視と左眼瞼下垂のため受診. 神経学的診察において左眼瞼下垂、全方向性の左眼球運動制限, 左眼の対光反射消失, 軽度の痙性歩行, 四肢腱反射の亢進を認めた. 頭部 MRI にて左眼窩内神経鞘腫を疑わせる腫瘍性病変を認めるとともに延髄および上位頸髄の信号異常を伴う萎縮の所見を認めた. ALXDRD を疑い, 当施設に *GFAP* 遺伝子検査が依頼された. サンガーシーケンスにて解析したところ, exon4 の 1 塩基上流のスプライス受容部位にミスセンスバリエーション(c.619-1G>A)をヘテロ接合体で認めた. 経過中に胃がんおよび多発転移により死亡され, 遺族の同意のもと剖検が実施された.

肉眼所見において延髄は萎縮し, 延髄被蓋部, 特に第 4 脳室周囲の髄鞘脱落を認めた. 組織学的にはローゼンタル線維を認めた. 病理学的には ALXDRD として矛盾ない所見であった.

剖検脳(側頭葉)より全 RNA を抽出して RT-PCR を実施し, その産物のシーケンスを確認したところ, exon 4 の 5'末端に 3 塩基のインフレーム欠失を認めた (p.E207del). exon 4 の 5'末端から 2 つ目(A) および 3 つ目(G)の塩基が新たなスプライス受容部位となったことが明らかとなった (図 1).

図 1



症例 6 : 27 歳男性. 急性発症の感覚性失語にて入院. 頭部 MRI では側脳室前角に嚢胞性変化を伴う cap 状の白質信号を認めたことから ALXDRD が疑われ, 当施設に *GFAP* 遺伝子検査の依頼があった. 一方, 成人の ALXDRD に特徴的な延髄および上位頸髄の萎縮や異常信号は認めず, ALXDRD の臨床像としては非典型的であった. 髄液中の乳酸・ピルビン酸値の上昇と来院時の HbA1c が 11.0%であったため MELAS などのミトコンドリア病の精査を推奨したうえで *GFAP* 遺伝子検査を実施した. すると予想に反して *GFAP* 遺伝子の

exon 6 にこれまでにデータベースに記載のない 6 塩基重複を認めた(c.976\_981dup, p.E326\_A327dup). 病的意義の確認のため、健常とされる両親の *GFAP* 遺伝子解析も実施したところ、母親（検査時 53 歳）において同一のバリエントを認めた。母親の頭部 MRI には異常は全く認めなかった。

#### D. 考察

症例 5: ALXDRD におけるスプライス部位の変異に関する既報告は 1 例のみである。この報告例は剖検にて延髄・脊髄の著明な萎縮と組織学的にローゼンタル線維を認め、病理学的には ALXDRD として矛盾がなかった。サンガーシーケンスにて exon 4 の 3 塩基上流、症例 5 より 2 塩基上流にミスセンスバリエントを認めた。脳組織から抽出した RNA を用いた RT-PCR により、*GFAP* 転写物の約 10% が exon 4 をスキップし、さらに細胞実験にてその割合でも *GFAP* の異常凝集が生じることを明らかにして病的バリエントであることを証明した。

症例 5 においてもアガロースゲルにて exon 4 のスキップを示す 513bp のバンドが得られることを予測したが、それは認めなかった。RT-PCR 産物のシーケンスを確認したところ、新たなスプライス受容部位の出現による 3 塩基欠失によるインフレーム欠失が明らかとなった。

アストロサイトの *GFAP* は約 90% が *GFAP- $\alpha$*  であり、本症例もこのアイソフォームをコードする遺伝子のバリエントであった。*GFAP- $\alpha$*  はアストロサイト以外ではほとんど発現しないため、脳組織以外から RNA 転写物を得ることは困難である。サンプルを得られない場合は *minigene* アッセ

イによる発現解析による実験的な確認あるいは SpliceAI などの予測ソフトによる *in silico* 解析に頼るしかない。本例において、脳組織にて直接転写産物を解析できた点では非常に貴重な症例と考える。

症例 6: 本バリエントの病的意義に関しては 3 つの解釈が考えられる。1 つは病原性変異ではない、2 つ目は患者、母親とも現段階では ALXDRD に関しては画像も含めて未発症であるが、高齢になって病態が顕在化する可能性、3 つ目は浸透率の低い変異で患者は発症（ただし、非典型的）、母親は未発症の可能性、である。ALXDRD は乳児期から高齢まで幅広い年齢層で発症がみられることや常染色体優性遺伝形式の遺伝が示唆されるものの浸透率は不明であることから、症例 6 で認められたバリエントの病的意義に関しては慎重な解釈を要する。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yoshida T. Clinical characteristics of Alexander disease. *Neurodegenerative Disease Management* 10: 325-333, 2020
- 2) 吉田誠克. アレキサンダー病の臨床的特徴と診断基準. *臨床神経* 60:581-588, 2020
- 3) 早野絵梨, 清水幹人, 馬場孝輔, 島村宗尚, 吉田誠克, 望月秀樹. ドパミントランスポーターシンチグラフィーで集積低下を呈し下肢ジストニアを来したアレキサンダー病の 1 例. *臨床神経* 60: 712-715, 2020

- 4) Ogawa T, Ogaki K, Sakurai M, Ando M, Yoshida T, Noda K, Hattori N, Okuma Y. Novel GFAP p.E206A mutation in Alexander disease with decreased dopamine transporter uptake. *Mov Disord Clin Prac* 7: 720-722, 2020
- 5) Hamada S, Kato T, Kora K, Kawaguchi T, Okubo T, Ide M, Tanaka T, Yoshida T, Sakakibara T. Ketogenic diet therapy for intractable epilepsy in infantile Alexander disease: A small case series and analysis of astroglial chemokines and proinflammatory cytokines. *Epilepsy Research*. 170: 106519: 2021
2. 学会発表
- 1) 吉田誠克、水田依久子、安田怜、中川正法、水野敏樹. けいれんを伴う小児期発症のアレキサンダー病の経年的変化の推測. 第 62 回日本小児神経学会学術大会. 2020 年 8 月 19 日(Web 開催 : 紙上発表).
- 2) 吉田誠克、水田依久子、安田怜、中川正法、水野敏樹. アレキサンダー病の遺伝カウンセリングに有用な遺伝学的データ. 第 61 回日本神経学会学術大会. 2020 年 8 月 31 日 ; 岡山(紙上発表)
- 3) 三木知子、横田修、原口俊、水田依久子、吉田誠克、竹之下慎太郎、寺田整司、山田了士. GFAP 遺伝子の R416W 変異を伴う家族性成人型 Alexander 病の一部検例. 第 61 回 日本神経病理学会. 2020 年 10 月 12 日(Web 開催 : 紙上発表).
- 4) 吉田誠克、水田依久子、安田怜、中川正法、水野敏樹. 高齢のアレキサンダー病患者の臨床学的特徴. 第 65 回日本人類遺伝学会. 2020 年 11 月 18 日 (Web 開催 : 紙上発表).

#### H. 知的所有権の取得状況

なし



厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
分担研究報告書

ATR-X 症候群および脳クレアチン欠乏症に関する臨床研究

研究分担者 和田 敬仁 京都大学大学院医学研究科・特定教授

### 研究要旨

ATR-X 症候群、および、脳クレアチン欠乏症（AGAT 欠損症と、GAMT 欠損症、および、クレアチンクレアチントランスポーター欠損症）は知的障害を主症状とする症候群である。ATR-X 症候群はモデルマウスを用いた研究により、5- アミノレブリン酸による知的障害に対する有効性が期待されている。また、脳クレアチン欠乏症候群のうち、AGAT 欠損症と GAMT 欠損症に対してはクレアチン投与が有効であり、治療法のある知的障害症候群として注目されている。もっとも頻度の高い知的障害症候群の一つであるクレアチンクレアチントランスポーター欠損症に対しては、有効な治療法がなく、開発が望まれる。本研究では、①ATR-X 症候群に対する 5- アミノレブリン酸の治療を進めるための基盤整備 ②脳クレアチン欠乏症候群の疾患周知と指定難病への登録、に向けて取り組んだ。

### A. 研究目的

知的障害は有病率が2～3%と高い病態であるが、その原因は多数の遺伝要因や環境要因からなる。適切な療育にはその原因解明が必須であり、近年の分子遺伝学的進歩により、知的障害の責任遺伝子が多数同定され、その中には、治療法のある疾患も含まれている。

本研究では、知的障害症候群の一つである ATR-X 症候群、および、脳クレアチン欠乏症を対象としている。

ATR-X 症候群は、X連鎖性知的障害症の一つであり、エピジェネティクスの破綻により、複数の遺伝子発現異常を来し、重度知的障害を主症状に多彩な症状を呈する。現在までに、約100症例が診断されている。我々は、5- アミノレブリン酸が知的障害の改善に有効である可能性を報告し(Shioda N, et al. Nature Medicine, 2018)、近い将来の患者さんへの治療準備を進めている。

脳クレアチン欠乏症は、クレアチン産生障害である AGAT (GATM) 欠損症と GAMT 欠損症、および、クレアチン輸送障害であるクレアチント

ランスポーター欠損症の3疾患からなる。日本国内で診断された症例は、論文報告症例を含めて、クレアチントランスポーター欠損症は7家系12症例、GAMT 欠損症は1家系1症例である。特に、クレアチントランスポーター欠損症は、遺伝性知的障がい症候群の中で、ダウン症候群に次いで、もっとも頻度の高い疾患のひとつであり、欧米では知的障がい男性患者の0.3～3.5%の頻度と推定され、日本国内での推定患者数は、日本の人口を1億2千万人、知的障がいの有病率を3%とすると、0.5～5万人罹患していると推定される。また、この疾患はX連鎖性疾患ではあり男性は典型的な症状を呈するが、女性の場合、正常から、発達障害や知的障がいなど様々な症状で発症する。欧米においては、様々な治療が試みられ、治療法のある知的障害症候群として注目されている。

### B. 研究方法

#### ① 患者レジストリーの整備

事務局を京都大学とし、患者・ご家族の同意により、患者・ご家族から直接医療情報を郵送によりお送り頂き、必要に応じて、患者・ご家

族の同意の元で、主治医と連携し、医療情報を確認するシステムである。

- ② ホームページの作成
- ③ 脳クレアチン欠乏症候群の周知
- ④ 患者会
- ⑤ 脳クレアチン欠乏症候群の指定難病への登録準備
- ⑥ ATR-X症候群および脳クレアチン欠乏症候群の診断支援
- ⑦ ATR-X 症候群の治験に向けての準備

## C. 研究結果

### ① 患者レジストリー制度

2021年3月1日現在で、脳クレアチン欠乏症候群は、クレアチントランスポーター欠損症7家系9症例、ATR-X症候群は、38家系40症例が登録されている。

### ② ホームページ

<http://atr-x.jp>

疾患概要、患者レジストリー制度などを紹介している。

### ③ 小児神経専門医への脳クレアチン周知への取り組み

日本小児神経学会認定 小児神経専門医 約1200名に対して、脳クレアチン欠乏症候群の趣致を目的に、「脳クレアチン欠乏症候群ハンドブック」および「パンフレット」を郵送により配布した。

### ④ 患者会の開催

ATR-X症候群、および、脳クレアチン欠乏症候群の家族会の開催を計画していたが、コロナ禍により開催中止とした。

### ⑤ 脳クレアチン欠乏症候群の指定難病登録への準備

脳クレアチン欠乏症候群の指定難病への追加に向けて、資料作成し申請した。

### ⑥ ATR-X症候群および脳クレアチン欠乏症候群の診断支援

かずさDNA研究所により ATR-X症候群および脳クレアチン欠乏症候群の一部の遺伝学的診断が実施され、診断支援を行っている。

ATR-X症候群;10症例で ATRX 遺伝子解析が行われ、うち3症例で診断確定、1症例で病的意義不明のバリエント(VUS)の検出、2例で benign のバリエントの検出、4例でバリエントは検出されなかった。

脳クレアチン欠乏症候群; GAMT および AGAT 遺伝子に病的バリエントは検出されなかった。

なお、2021.2からクレアチントランスポーター欠損症の責任遺伝子 *SLC6A8* の解析が可能となった。

### ⑦ ATR-X症候群の治験準備

ATR-X症候群の患者に対する5-アミノレブリン酸による治験準備のため、AMED(①橋渡し事業 PreC、②難治性疾患等実用化研究事業、③臨床研究・治験推進研究事業第一次)に申請した。

(倫理面への配慮)

本研究は、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に則り、京都大学医学部医の倫理委員会の承諾(R0799, および、R0952)により患者レジストリー制度を構築した。

## D. 考察

将来の臨床研究や治験を進めるにあたり、遺伝子変異ごとの病態の解明と治療法の開発、および、分子遺伝学的に確定診断された患者のレジストリーの基盤整備は重要である。

ATR-X症候群の患者レジストリーでは日本で診断されている患者数の約3割が、脳クレアチン欠乏症候群では約5割が登録されている。

特に、クレアチントランスポーター欠損症に関しては、推定される患者数に比較して、患者の診断数が低い。その理由は、日本は欧米に比べ、患者数の頻度が低い可能性もあるが、臨床家における知的障害の原因追及に対する関心の低さ、疾患の周知度の低さが主因であること

が想像される。より積極的な情報発信が必要と考えられる。

## E. 結論

ATR-X 症候群に対しては、5-アミノレブリン酸の治験準備を進めるために、患者レジストリー登録者を充実させる必要がある。また、網羅的遺伝学的解析により ATRX 遺伝子のバリエーションをもつ非典型的な症状を呈する患者に対する病態解明が必要である。脳クレアチン欠乏症候群に対しては、疾患の周知が大きな問題であり、研究班で作成したハンドブックやパンフレットの有効活用を検討する必要がある。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

1. 和田敬仁【学童期の神経疾患のファーストタッチから専門診療へ】主要疾患に対する専門診療 一般小児科医が知っておきたいこと 先天異常. 小児科診療 8 ; 59-63, 2021
2. Asamitsu S, Yabuki Y, Ikenoshita S, Wada T, Shioda N. Pharmacological prospects of G-quadruplexes for neurological diseases using porphyrins. Biochem Biophys Res Commun.531: 51-55, 2020.
- 3: Wada T, Suzuki S, Shioda N. 5-Aminolevulinic acid can ameliorate language dysfunction of patients with ATR-X syndrome. Congenit Anom (Kyoto). 60: 147-148, 2020

### 2. 学会発表

なし

## G. 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

なし