

令和4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

TR 推進

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7症例にエクソーム解析を施行し、6例で原因と考えられる病的バリエントを同定した。また、かずさDNA研究所でのパネル検査で病的バリエントが同定されなかったHypomyelination of early myelinating structuresの症例に対して、パネル検査データの再解析を行い、病的と考えられる深部イントロンバリエントを同定した。遺伝子診断により、橋渡し研究において重要な希少疾患のレジストリの充実に貢献することができた。

A、B. 研究目的および方法

本研究では、白質異常を呈する6症例において、同定した病的バリエントと臨床所見について検討し、また、パネル検査データの再解析の現状とその有用性について検討を行った。

C. 結果

(1) エクソーム解析で同定した病的バリエントと臨床所見

症例1は男児で、31週で出生した。双胎妊娠の同胞（女児）の発達に異常なし。3歳時に撮像した頭部MRIにて、T2強調画像でのびまん性白質高信号と小脳萎縮を認め、H-ABCあるいはPOLIII関連疾患が疑われた。患児のエクソーム解析をおこなったところ、H-ABCの原因遺伝子TUBB4Aのミスセンスバリエントが同定され（NM\_006087.4:c.535G>A p.(Val179Met)）、ご両親に認められない*de novo*バリエントであった。本バリエントと同一部位の異なる塩基置換（c.535G>C若しくはc.535G>T）が病的バリエントとして登録されており、米国臨床遺伝・ゲノム学会（ACMG）のガイドラインではLikely pathogenic（PS2, PM2, PM5, PP3）と判断されたため、病的バリエントとして報告した。

症例2は15歳女児で、小学校に入学したころから勉強や巧緻性、協調運動の苦手を指摘されていた。その後、軽度知的障害の診断で療

育、リハビリを続けていたが、13歳ごろ失調性歩行が悪化し、紹介受診となった。神経学的には小脳失調が主体で、明らかな痙直や歯牙形成異常も認めなかったが、二次性徴の遅れは認められた。頭部MRIにて、T2強調画像でのびまん性高信号と、T1強調画像でのコントラスト不良と脳梁低形成、小脳の萎縮が認められ、POLIII関連疾患あるいはH-ABCが疑われた。患児のエクソーム解析をおこなったところ、POLIII関連疾患の原因遺伝子の一つである、POLRIC（NM\_203290.4）に複合ヘテロ接合性バリエントを同定した。父由来バリエントはc.595A>T, p.(Ile199Phe)で、過去に白質形成異常症患者で報告のあるバリエントであった。一方、母由来のc.98A>G, p.(Tyr33Cys)バリエントは新規バリエントであった。どちらも日本人データベース（14K JPN）で登録のない稀なバリエントであった。ACMGのガイドラインではc.98A>GバリエントはUncertain Significance（PM2, PM3, PP3）、c.595A>TバリエントはLikely Pathogenic（PS1, PM2, PP3）であると判断されたが、臨床所見が合致するため、本症例の疾患原因である可能性が非常に高いと考えられた。

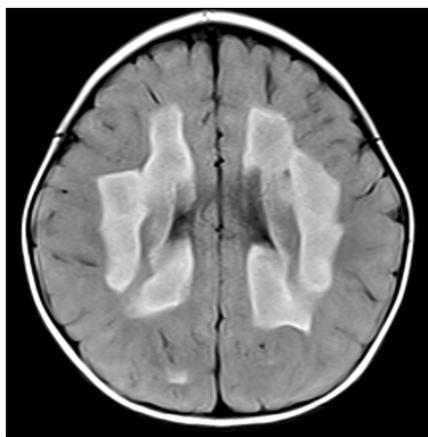
症例3は58歳女性で、緩徐進行性の痙性歩行が認められ、現在杖歩行している。不随意運動や失調は認めなかった。身体所見としては、軽度の禿頭、歯がもろいという所見があり、両手の3-5指の先天的癒着、バセドウ病、潰瘍性

大腸炎、緑内障、偏頭痛の既往が認められた。頭部 MRI で白質の軽い T2 高信号があり、hypomyelination の疑いでエクソーム解析を行ったところ、Oculodentodigital dysplasia の原因遺伝子である *GJAI* に NM\_000165.5:c.338T>C, p.(Leu113Pro) バリアントが同定された。このバリアントは過去に Oculodentodigital dysplasia 患者で報告のあるバリアントで、ACMG のガイドラインでは、Likely Pathogenic (PS1, PM2, PP3) と判断された。合趾症やエナメル質の低形成（歯牙のもろさ）、緑内障、禿頭など臨床症状も合致していた。

症例 4 は 1 歳男児で、発達の遅れと上肢・体幹優位の筋緊張低下を認めた。頭部 MRI では髄鞘化遅延と白質容量の低下があり、非特異的な所見で候補遺伝子が絞られないためエクソーム解析を行った。エクソームデータを用いたコピー数解析により、22q13ter の約 7.6MB の欠失が認められ、この欠失は両親では認められない *de novo* の欠失であった。*SHANK3* 遺伝子を含む 22q13 領域の欠失は全般性発達障害や筋緊張低下、脳梁形成不全・髄鞘化遅延を占めず Phelan-McDermid syndrome (OMIM# 606232) の原因であり、本症例の原因であると考えられた。

症例 5 は 7 歳男児で、低出生後、原因不明の溶血性貧血で輸血が行われた。自閉スペクトラム症の診断でフォロー中にてんかんを発症し、頭部 MRI では白質信号変化を認めた。遺伝子検査の希望がありエクソーム解析を行ったところ、*COL4A1* の *de novo* ミスセンスバリアントを認めた (NM\_001845.6:c.625G>A, p.(Gly209Ser))。出生後の溶血性貧血も説明可能で、ACMG のガイドラインでは Pathogenic (PS1, PS2, PM2, PP3) であった。

症例 6 は 1 歳女児で、生後 7 カ月までの発達は正常であったが、8 カ月より退行を認め、水



平性眼振と下肢の筋緊張亢進が認められた。頭部 MRI では、大脳深部白質においてびまん性に病変を認め (図 1、T2 FLAIR 画像)、また、MRS

では著明な乳酸ピークが認められ、progressive cavitating leukoencephalopathy が疑われた。エクソーム解析を行ったところ、*IBA57* (NM\_001010867.4) の複合ヘテロ接合性バリアントを同定した。父由来バリアントは c.49\_67dup, p.(Leu23Profs\*61) で、母由来のバリアントは c.991C>G, p.(Leu331Val) であり、どちらも新規バリアントであった。c.49\_67dup は日本人データベース (38K JPN) でアレル頻度 0.000142 と極めて稀なバリアントであり、c.991C>G は登録が認められなかった。*IBA57* 遺伝子の病的バリアントは、下肢優位の痙性麻痺や遠位筋の萎縮、遠位の感覚障害、凹足、視神経萎縮、progressive cavitating leukoencephalopathy、血清/髄液での乳酸上昇などを呈すことから、表現型と一致していた。ACMG のガイドラインでは c.49\_67dup バリアントは Likely Pathogenic (PVS1, PM2)、c.991C>G バリアントは Uncertain Significance (PM2, PM3, PP3) であると判断されたが、臨床所見からも本バリアントが疾患原因である可能性が高いと考えられた。

## (2) かずさ DNA 研究所でのパネル検査データの再解析

症例は 2 歳の男児で、1 歳 8 カ月頃から左眼に持続する水平性眼振が認められたため紹介受診し、頭部 MRI で内包後脚に縞状に高信号があり、後頭葉白質の白質の淡い高信号も認めたため、Hypomyelination of Early Myelinating Structures (HEMS) が疑われた。かずさ DNA 研究所で先天性大脳白質形成不全症遺伝子検査 (*PLP1*, *GJC2*, *TUBB4A*, *MBP*, *SLC16A2*, *HSPD1*, *SLC17A5*, *POLR3B*, *FAM126A*, *POLR3A*, *SOX10* の 11 遺伝子解析対象遺伝子) を施行したが、病的バリアントは同定されなかった。HEMS は *PLP1* 遺伝子の深部エクソンの病的バリアントで引き起こされることも報告されていたため、研究班で再解析を行った。かずさ DNA 研究所の先天性大脳白質形成不全症遺伝子検査では、25 遺伝子を解析し、そのうち公式の解析対象 11 遺伝子だけの結果が報告される。今回、25 遺伝子のデータを解析する予定であったが、解析対象の 11 遺伝子のみが返却されていた。再解析の結果、*PLP1* 遺伝子の深部イントロンバリアント (NM\_000533.5:c.453+162G>A) がヘミ接合性に同定された。c.453+162G>A バリアントは 38KJPN や gnomAD で登録のない極めて稀なバリアントであり、近傍に 2 つの病的バリアント (c.453+159G>A および c.453+164G>A)

の報告が認められる。このことから本バリエントの病的意義が疑われたため、奈川県立こども医療センター臨床研究所 新保裕子先生にミニジーンズプライミング解析を依頼し、変異型では *PLP1* の発現量が激減していたことから、病的と考えられた。

#### D. E. 考察および結論

本研究では、白質異常 7 症例に対してエクソーム解析を行い、6 症例において原因と考えられる病的バリエントを同定することができた。6 症例中 2 症例（症例 1 と症例 2）では臨床所見から H-ABC あるいは POLIII 関連疾患が想定されており、後方視的には症例 1 はかずさ DNA 研究所の先天性大脳白質形成不全症遺伝子検査で診断可能であり、症例 2 もパネル遺伝子検査後の再解析を行うことで診断可能であったと考えられた。しかし、残り 4 症例についてはパネル検査の解析対象外の遺伝子・ゲノムの異常であり、エクソーム解析でなければ診断できなかった。欧米では、エクソーム解析を行い全遺伝子のバリエント情報を入手した上で、患者の臨床所見に合わせて解析対象遺伝子を絞り結果返却する virtual panel 検査の運用が進んでいる。エクソーム解析のコストも低下しているため、そのようなエクソーム解析を用いた virtual panel 検査が望まれる。もしエクソーム解析での virtual panel 検査が可能であれば、今回の 4 症例についても保険での virtual panel 検査から研究での再解析という流れで診断することが可能である。

エクソーム解析で診断できた症例 3 では、頭部 MRI 画像での hypomyelination の所見だけでなく、軽度の禿頭、歯がもろいという身体所見や、両手の 3-5 指の先天性癒着、バセドウ病、潰瘍性大腸炎、緑内障、偏頭痛の合併症が認められた。合趾症やエナメル質の低形成（歯牙のもろさ）、緑内障、禿頭は *GJAI* バリエントが引き起こす臨床所見と一致しており、身体所見、合併症の重要性が再確認される結果であった。

今回、1 例において、かずさ DNA 研究所でのパネル検査の後に、Bam ファイル形式でデータを頂き再解析した。25 遺伝子を対象にキャプチャを行っているはずだが、11 遺伝子のデータしか送られておらず、今後の対応についてかずさ DNA 研究所と議論する必要がある。本症例において、深部イントロンの病的バリエントが

同定されたことから、再解析は有用であることが明確に示された。深部イントロンのバリエントの病的意義を証明するためには、ミニジーンズプライミング解析が必要であり、バリエントの解釈に関する必要な労力と考えられる。衛生検査所であるかずさ DNA 研究所ではこのような労力を費やすことが不可能なことは自明であり、今後シーケンスしてバリエントを同定するまでのステップと、同定されたバリエントの評価・解釈のステップとに分けてコストを検討することが、遺伝医療の医療実装に重要だと考えられた。

今回、エクソーム解析を用いた網羅的遺伝子解析で、6 例で遺伝子診断がなされた。希少疾患のレジストリは、本研究班の目的の一つである橋渡し研究において重要であり、その充実に貢献する成果であった。

#### F. 健康危険情報

特になし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Miyamoto S, Nakamura K, Kato M, Nakashima M, **Saito H\***. Identification of pathogenic deep intronic variant and exonic LINE-1 insertion in a patient with Meckel syndrome. *Ann Hum Genet.* 2023 Mar 27. doi: 10.1111/ahg.12507.
2. Hiraide T, Shimizu K, Okumura Y, Miyamoto S, Nakashima M, Ogata T, **Saito H\***. A deep intronic *TCTN2* variant activating a cryptic exon predicted by SpliceRover in a patient with Joubert syndrome. *J Hum Genet.* 2023 Mar 10. doi: 10.1038/s10038-023-01143-3.
3. Fukahori K, Yamoto K, **Saito H**, Ogata T, Nagasaki K. *PORCN*-related microphthalmia with limb anomalies: Case report and literature review. *Am J Med Genet A.* 2023 Feb;191(2):636-639. doi: 10.1002/ajmg.a.63048.
4. Morikawa H, Nishina S, Torii K, Hosono K, Yokoi T, Shigeyasu C, Yamada M, Kosuga M, Fukami M, **Saito H**, Azuma N, Hori Y, Hotta Y. A pediatric case of congenital stromal corneal dystrophy caused by the novel variant c.953del of the DCN gene. *Hum Genome Var.* 2023 Mar 24;10(1):9. doi: 10.1038/s41439-023-00239-8.
5. Watanabe K, Nakashima M, Wakatsuki R,

- Bunai T, Ouchi Y, Nakamura T, Miyajima H, **Saito H\***. Cognitive Impairment in a Complex Family With AAGGG and ACAGG Repeat Expansions in RFC1 Detected by ExpansionHunter Denovo. *Neurol Genet*. 2022 May 16;8(3):e682. doi: 10.1212/NXG.0000000000000682.doi:10.1016/j.braindev.2022.02.001.
6. Hiraide T, Akita T\*, Uematsu K, Miyamoto S, Nakashima M, Sasaki M, Fukuda A, Kato M, **Saito H\***. A novel de novo *KCNB1* variant altering channel characteristics in a patient with periventricular heterotopia, abnormal corpus callosum, and mild seizure outcome. *J Hum Genet*. 2023 Jan;68(1):25-31. doi: 10.1038/s10038-022-01090-5.
  7. Masunaga Y, Nishimura G, Takahashi K, Hishiyama T, Imamura M, Kashimada K, Kadoya M, Wada Y, Okamoto N, Oba D, Ohashi H, Ikeno M, Sakamoto Y, Fukami M, **Saito H**, Ogata T. Clinical and molecular findings in three Japanese patients with N-acetylneuraminic acid synthetase-congenital disorder of glycosylation (NANS-CDG). *Sci Rep*. 2022 Oct 12;12(1):17079. doi: 10.1038/s41598-022-21751-x.
  8. Kojima K, Wada T, Shimbo H, Ikeda T, Jimbo EF, **Saito H**, Matsumoto N, Yamagata T. The ATRX splicing variant c.21-1G>A is asymptomatic. *Hum Genome Var*. 2022 Sep 14;9(1):33. doi: 10.1038/s41439-022-00212-x.
  9. Kawashima S, Yuno A, Sano S, Nakamura A, Ishiwata K, Kawasaki T, Hosomichi K, Nakabayashi K, Akustu H, **Saito H**, Fukami M, Usui T, Ogata T, Kagami M. Familial pseudohypoparathyroidism type 1B caused by an SVA retrotransposon insertion on the GNAS locus. *J Bone Miner Res*. 2022 Oct;37(10):1850-1859. doi:10.1002/jbmr.4652.
  10. Hashiguchi M, Monden Y, Nozaki Y, Watanabe K, Nakashima M, **Saito H**, Yamagata T, Osaka H. A TUBB4A Met363Thr variant in pediatric hypomyelination without atrophy of the basal ganglia. *Hum Genome Var*. 2022 Jun 3;9(1):19. doi:10.1038/s41439-022-00198-6.
  11. Abe K, Ando K, Kato M, **Saito H**, Nakashima M, Aoki S, Kimura T. A New Case With Cortical Malformation Caused by Biallelic Variants in *LAMC3*. *Neurol Genet*. 2022 May 9;8(3):e680. doi: 10.1212/NXG.0000000000000680.
  12. Komatsu K, Fukumura S, Minagawa K, Nakashima M, **Saito H\***. A new case of concurrent existence of PRRT2-associated paroxysmal movement disorders with c.649dup variant and 16p11.2 microdeletion syndrome. *Brain Dev*. 2022 Aug;44(7):474-479. doi: 10.1016/j.braindev.2022.03.008.
  13. Masunaga Y, Ohkubo Y, Nishimura G, Ueno T, Fujisawa Y, Fukami M, **Saito H**, Ogata T. ACAN biallelic variants in a girl with severe idiopathic short stature. *J Hum Genet*. 2022 Aug;67(8):481-486. doi: 10.1038/s10038-022-01030-3.
2. 学会発表
    1. **才津浩智**. シンポジウム 19 「稀少疾患ゲノミクス：病因・病態解明に向けた多面的なアプローチ」 稀少疾患の診断の進歩: WES 再解析/WGS/RNA-seq 解析の現状と有用性 日本人類遺伝学会第 67 回大会 2022 年 12 月 17 日、パシフィコ横浜
    2. **才津浩智**. シンポジウム 6 「ゲノムの変化からみた先天異常の成り立ち」 全ゲノムおよびトランスクリプトーム解析による疾患原因の同定 第 62 回日本先天異常学会学術集会 2022 年 7 月 31 日、金沢市文化ホール
    3. **才津浩智**. 共同研究支援委員会主催セミナー 網羅的遺伝子解析による病的意義不明例の検出と病態・機能解析、第 64 回日本小児神経学会学術集会、2022 年 6 月 4 日、G メッセ群馬、高崎
  - H. 知的財産権の出願・登録状況  
特になし