

## 神経有棘赤血球症に関する研究

研究分担者 中村 雅之

国立大学法人鹿児島大学・学術研究院医歯学域医学系・教授

## 研究要旨

神経有棘赤血球症とは神経症候と有棘赤血球症を併せ持つ病態に対して包括的に使用される用語であり、中核群は有棘赤血球舞蹈病 (Chorea-acanthocytosis; ChAc) と McLeod 症候群 (McLeod syndrome; MLS) で占められる。両疾患ともに希少疾患であり、自然史などは明らかにされていない。前年度に引き続き、ChAc の原因である VPS13A 遺伝子変異と MLS の原因である XK 遺伝子変異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を行い、併せて赤血球膜分画を用いた VPS13A 遺伝子産物である chorein と XK 遺伝子産物である XK タンパク質のウェスタンブロット解析による分子的診断を行った。今回、ChAc における多彩な精神神経症状の中でてんかんの症状に着目して調査し、頻度を明らかにし、動物実験において、てんかん誘発修飾遺伝子変異を同定した。また、自然史を追うための神経有棘赤血球症追跡調査票を作成し、将来の診療ガイドラインの作成を目指す。

## A. 研究目的

神経有棘赤血球症 (Neuroacanthocytosis; NA) とは神経症候と有棘赤血球症を併せ持つ病態に対して包括的に使用される用語であり、その中核群は (Chorea-acanthocytosis; ChAc) と McLeod 症候群 (McLeod syndrome; MLS) で占められる。両疾患ともに希少であり、ChAc については患者数は世界で 1000 症例程、MLS は数百例程度と推定されている。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。前年度に引き続き、我々は ChAc の原因である VPS13A 遺伝子変異と MLS の原因である XK 遺伝子変異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を行い、併せて赤血球膜分画を用いた VPS13A 遺伝子産物である chorein と XK 遺伝子産物である XK 蛋白質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、分子診断確定した NA 患者に対して自然史を追跡するために調査票を作成した。ChAc

におけるてんかんの頻度は高く生活機能や予後の増悪因子として影響すると考えられている。今回は分子診断が確定した ChAc におけるてんかんについて詳細に調査した。ChAc モデルマウスはてんかん発作を生ずることは稀であったが、継代中にてんかん発作を頻回に生じる家系が出現し、そのマウス家系における症状修飾遺伝因子について解析した。

## B. 研究方法

NA 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 を抽出、また RNA を抽出し、cDNA を合成した。また、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 タンパク質と XK タンパク質を検定した。

サンガー法によるシーケンシングによって VPS13A 遺伝子と XK 遺伝子の全エクソン及び近傍領域について遺伝子変異解析を行った。long range PCR を組み合わせて CNV 解析を行

なった。また、発症時と現在の臨床症状について比較調査するための神経有棘赤血球症症状追跡調査票を作成した。研究室が保管している 77 名の ChAc 患者の臨床症状を集計し、てんかんの状況を調査した。また、てんかんを頻回に生じる ChAc モデルマウス家系を用いて全ゲノム配列解析による遺伝子変異解析を行った。

#### (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)。動物実験に関しては、有棘赤血球舞踏病モデルマウスに関する遺伝子組換え動物の取り扱いについては、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律(平成 15 年 6 月 18 日法律第 97 号)及び関連する政省令・告示に基づき、鹿児島大学においてすでに承認を受けた上で行った(承認番号 19S024)。神経有棘赤血球症症状追跡調査票を用いた自然史解析については、今後臨床研究倫理委員会に申請予定である。

### C. 研究結果

令和 2 年度は 3 例の ChAc、1 例の MLS を分子的に診断確定した。それらのうちから 3 つの新規 VPS13A 遺伝子変異を同定した。今回分子的に診断が確定した 3 例の ChAc の VPS13A 遺伝子変異は exon 16 から exon 61 に分布していた。これら 3 例の ChAc の赤血球膜分画の chorein ウェスタンブロット解析において chorein のバンドは認めなかった。

また、今回の MLS の赤血球膜分画を用いた XK タンパク質ウェスタンブロット解析では XK タンパク質のバンドは認めなかった。追跡調査票は、発症時年齢、初発症状、初診時と現在の介護度、生活状況、神経学的症候、認知機能、精神症状について調査項目を作成した。

ChAc 患者 77 名のうち、てんかんを持つものは 35 名(45.5%)であり、初発症状がてんかん発作であったものが 21 名(27.3%)であった。発作型に関する詳細情報がある患者 12 名中、二次性を含む全般発作が 8 名(66.7%)、詳細不明の意識消失が 2 名(16.7%)複雑部分発作と部分発作がそれぞれ 1 名(8.3%)であった。発症年齢を比較すると、てんかん発作有りの群が  $28.5 \pm 7.4$  歳、無しが  $31.3 \pm 7.6$  歳であった。

てんかん発作を頻回に生じる ChAc モデルマウス家系から、てんかん発作と連鎖する新規遺伝子変異候補を同定した。ChAc 変異と新規変異の両変異を併せ持つマウスがてんかん発作を頻回に生じることを確認した。

### D. 考察

日本人 NA の遺伝子変異は多彩である。臨床症状との関連については横断的な症候では捉え難いため、神経有棘赤血球症症状追跡調査票を用いて今後詳細な追跡調査を行う必要がある。てんかんについては、ChAc では頻度高く見られ、統計学的有意差はないものの、Huntington 病などの他の神経変性疾患同様にてんかん発作を有すると発症年齢が若年化する傾向を認めた。今回マウスにおいて同定した新規変異は ChAc モデルマウスのてんかんに関する症状修飾因子であることが示唆され、今後は数を増やし、ヒト ChAc におけるてんかんと関連を解析する。

### 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。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。今後は今回作成した神経有棘赤血球症症状追跡調査票を用いて分子診断により診断が確定した患者の詳細な自然史を追い、将来の診療ガイドラインの作成を目指す。

ChAc においててんかんの頻度は高く発症に影響

する遺伝的修飾因子が存在する可能性が示唆された。マウスにおいて同定したてんかん症状修飾因子候補遺伝子について、今後はヒト ChAc との関連を含めて詳細な解析を行う予定である。

#### **G.研究発表**

##### 1. 論文発表

なし

##### 2. 学会発表

Arai K, Nagata O, Sakimoto H, Sano A, Nakamura M: Chorein maintains mitochondrial morphology in mouse sperm and interacts with mitochondrial enzyme IDH3A. 10th International Meeting on Neuroacanthocytosis Syndromes, Barcelona, Spain, March 10–12, 2021 (web)

#### **H.知的所有権の取得状況（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