

スモン（SMON）の疾患感受性遺伝子に関する研究 令和3年度の進捗報告

大西 秀典（東海国立大学機構岐阜大学大学院医学系研究科小児科学）
久留 聡（国立病院機構鈴鹿病院神経内科）
南山 誠（国立病院機構鈴鹿病院神経内科）
小長谷正明（国立病院機構鈴鹿病院神経内科）
鷲見 幸彦（国立長寿医療研究センター神経内科）
徳田 治彦（国立長寿医療研究センターメディカルゲノムセンター）
勝山 真人（京都府立医科大学大学院医学研究科中央研究室 RI 部門）
木村 暁夫（東海国立大学機構岐阜大学大学院医学系研究科神経内科）
溝口 功一（国立病院機構静岡富士病院院長）
杉本精一郎（国立病院機構宮崎東病院神経内科）
小池 春樹（名古屋大学大学院医学系研究科神経内科）
松尾 秀徳（国立病院機構長崎川棚医療センター神経内科）
軸丸 美香（大分大学医学部神経内科）
三ッ井貴夫（国立病院機構徳島病院臨床研究部）
高橋 美枝（高知記念病院神経内科）
坂井 研一（国立病院機構南岡山医療センター臨床研究部）
濱田 康宏（香川大学医学部消化器・神経内科）
千田 圭二（NHO 岩手病院）
峠 哲男（香川大学医学部看護学科健康科学）
大越 教夫（筑波技術大学学長）
井上 学（大阪市立総合医療センター神経内科）
松本 英樹（東海国立大学機構岐阜大学大学院医学系研究科小児科学）

研究要旨

NQO1（NADH quinone acceptor oxidoreductase1）という多機能な抗酸化酵素の機能喪失型遺伝子多型（rs1800566、rs10517、rs689452、rs689456）について、これらの多型を有する者が SMON に対する易罹患性があり、また重症化しやすかったという仮説のもとに、SMON 患者の本遺伝子の多型解析を行った。優性遺伝モデル、劣性遺伝モデル、アレル頻度での解析でこれら 4 つの多型と SMON 発症との間に有意な関連性は見いだせなかった。また、2019 年度に本研究班で実施した研究で解析した、欧米から SMON 発症に関連があるのではと指摘された ABCC4 rs3765334 および ABCC11 rs17822931 について健常日本人における頻度と SMON 患者における頻度に全く差が認められなかったこと（SMON 発症とは無関係であったこと）を論文として報告した。

A. 研究目的

SMON (亜急性脊髄視神経障害) はキノホルムによる薬害であり、発症機序は未解明の部分が多い。日本人に好発したことから、SMON 発症と日本人特有の遺伝的背景との関連が示唆されており、将来的な類縁疾患の発症阻止及び新規治療法の開発のため、SMON 発症と関連する遺伝的背景の解明が重要である。本研究では SMON 発症に関連する遺伝子を同定し、SMON 患者に対する新規治療の開発につなげることを目的とする。

SMON 発症には神経細胞における酸化ストレスが影響しているとされる。酸化ストレスと関連する遺伝子、NQO1 に存在する機能喪失性多型 (rs1800566) が発見され、キノホルムの毒性を用量依存性に抑制することが報告されている。また、NQO1 の他の一塩基多型 (SNP) のうち、rs10517、rs689452、rs689456 についても NQO1 の機能低下に関与すると報告されており、あわせて解析した。

また、2019 年 Perez らは、Pharmacology and Therapeutics にキノホルムの総説の中で、cAMP-transporting ABC pumps をキノホルムが抑制するが、それに transporter 機能の低下を引き起こす遺伝学的な背景が重なって神経学的異常をきたしたのではと推測し、cAMP-transporting ABC pumps の ABCC4 と ABCC11 における欧米人に比べ日本人に非常に頻度の高い多型があたかも SMON が日本に多発した原因であるかのような記載をしたが、その仮説を検証するため 2019 年度我々は本研究班の研究としてこの 2 遺伝子の日本人で頻度が高いと指摘されている多型について、SMON 患者と日本人一般集団での頻度比較を行ったところ、有意差は認められなかった。この結果につき論文報告を行った。

B. 研究方法

日本国内で発症した SMON 患者から本研究について書面で同意を得、血液検体を全国の協力施設から収集し、白血球分画から DNA を抽出した。Sanger 法及びアレレル特異的 PCR 法により NQO1 遺伝子の以下の 4 つの SNP (rs1800566、rs10517、rs689452、rs689456) の有無について、遺伝子解析を行った。

SMON 患者群と大規模日本人遺伝子多型データベース (HGVD 及び jMorp) を比較し、SMON 発症と遺伝子多型の関連性を統計学的に検討した。大規模日本人遺伝子多型データベースに情報のない多型については、自施設の二次利用可能な DNA を対照として使用した。統計学的手法は Pearson の χ^2 検定を用いた。p 値は 0.05 未満を有意とした。

なお、ABCC4 rs3765334 (c.G2268A, p.E857K) および ABCC11 rs17822931 (c.G538A, p.G180R) 遺伝子多型の解析も同様の手法で行った (2019 年度研究班研究成果報告書にて報告済み)。

(倫理面への配慮)

本研究は、岐阜大学大学院医学系研究科医学研究等倫理審査委員会の承認を得ている (承認番号 29-209)。

C. 研究結果

1) NQO1 (rs1800566、rs10517、rs689452、rs689456)

遺伝子多型の解析

優性遺伝モデルでの比較 (HGVD と比較 : rs1800566、 $p=0.091$ 、自施設対照と比較 : rs10517、 $p=0.381$; rs689452、 $p=0.532$; rs689456、 $p=0.532$)、劣性遺伝モデルで比較 (HGVD と比較 : rs1800566、 $p=0.586$ 、自施設対照と比較 : rs10517、 $p=0.145$; rs689452、 $p=0.099$; rs689456、 $p=0.099$)、アレレル頻度での比較 (HGVD と比較 : rs1800566、 $p=0.321$; rs10517、 $p=0.429$; rs689452、 $p=0.596$ 、jMorp と比較 : rs1800566、 $p=0.136$; rs10517、 $p=0.764$; rs689456、 $p=0.947$ 、自施設対照と比較 : rs10517、 $p=0.456$; rs689452、 $p=0.309$; rs689456、 $p=0.309$)、いずれにおいても有意差は認めなかった。rs689452、rs689456 に関しては、解析した範囲では完全に連鎖していた。

2) ABCC4 rs3765334 (c.G2268A, p.E857K) および ABCC11 rs17822931 (c.G538A, p.G180R) 遺伝子多型の解析

この 2 つの多型については、その頻度分布は SMON 患者と健常日本人データベース (Human Genomic Variation database、iJGVD) との間で有意差を認めなかったことを 2019 年度の研究報告会で報告しており、その結果につきまとめ英語論文として発

表した。

D. 考察

キノホルムのミトコンドリア障害が、NQO1のタンパク発現量と負の相関があり、NQO1の発現が低い細胞ほど強く障害されることが細胞レベルの実験から示唆されている (Siegel D, Pharmacogenetics 1999)。このため NQO1 の機能喪失型多型である NQO1 rs1800566 多型を有する者は、キノホルムによる細胞障害が強く生じる可能性があると考えられる。この多型は日本人に多いことが判明している。また、NQO1 rs10517、rs689452、rs689456 多型についても NQO1 の機能低下を招くことが報告されている (Lienhart WD, FEBS J 2014、Tian L, Cardiovasc Ther 2021、Hemissi I, Mol Genet Genomic Med 2021、Reddy AJ, J Cell Mol Med 2009)。これらが日本で SMON が多発したことと関連がある可能性を考え、SMON 患者に NQO1 機能喪失多型を持つものが多いという仮説のもとに現在までに通算 125 例の解析を行った。この解析ではキノホルムを同様に内服していたのに SMON を発症しなかった人を比較対照にすることができず、代替として日本人の健常者と考えられる 1000 人ゲノム等の多型頻度と比較しており、その点が有意差が検出し難い要因となっているのではないかと推測している。このため今後はさらに解析症例数を増やして解析したいと考えている。また、今回解析した SNP 以外の何らかの遺伝的要因の差が SMON 発症に関係した可能性も残されており、今後 SNP アレイやエクソーム解析などで SMON 発症に関与する遺伝的背景について範囲を拡大して調べることも検討している。

2019 年に Perez らが Pharmacology and Therapeutics に投稿したキノホルムの総説で ABCC4 と ABCC11 遺伝子上の日本人に非常に頻度の高いとされる多型があたかも SMON が日本に多発した原因であるかのような記載がなされていたが、我々は 2019 年度の報告で SMON 患者と一般日本人におけるこれら 2 つの遺伝子の多型において頻度の差は認められず、SMON の発症に関与したという根拠がないことが明らかにした。この結果については Perez らの報告に対

する反論として、125 例の解析結果を学術論文として投稿し受理された。

E. 結論

本研究で解析した NQO1 の 4 つの SNP と SMON 発症との間に有意な関連性は見いだせなかった。今後、さらなる症例の蓄積が必要である。NQO1 については SMON 発症の中心的な要因ではないかもしれないが、SMON 発症に関わる疾患感受性遺伝子のうちの一つである可能性は高いと考えている。今後解析対象 SNP を広げることを検討している。

ABCC4 rs3765334 (c.G2268A, E857K) および ABCC11 rs17822931 (c.G538A, G180R) は SMON との関連性は低いと考えられ、論文報告した。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Matsumoto H, Sasai H, Kawamoto N, Katsuyama M, Minamiyama M, Kuru S, Fukao T, Ohnishi H; SMON research group members. Founder genetic variants of ABCC4 and ABCC11 in the Japanese population are not associated with the development of subacute myelo-optico-neuropathy (SMON). Mol Genet Genomic Med. 2022; 10 (1): e1845. doi: 10.1002/mgg3.1845. PMID: 34951141.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

I. 文献

特になし