

ゲノム解析による脳疾患遺伝子の解明

Elucidation of Molecular Mechanisms of Neurologic Diseases by Genome Analysis

(研究プロジェクト番号: JSPS-RFTF 96L00103)

プロジェクトリーダー

辻 省次 新潟大学脳研究所・教授

コアメンバー

小野寺 理 新潟大学脳研究所・助手



1. 研究目的

ヒトの脳神経系を侵す疾患は数多く存在するが、その病因が未解明のまま残されている疾患が多数存在する。本研究の目的は、このような発症機構が未解明である脳神経系疾患に焦点を絞り、ゲノム解析によるアプローチを駆使することにより、神経疾患の発症に関わる遺伝子を同定することにある。対象とする疾患は、1. 単一遺伝子疾患としての神経疾患、2. 多遺伝子性疾患としての神経疾患、の2つのカテゴリーのものを対象として、前者については、標準的なポジショナルクローニング、候補遺伝子アプローチ、などを駆使して病因遺伝子を同定することを目的とする。多遺伝子性疾患については、詳細な臨床データベースの構築と検体の収集を行うとともに、マイクロサテライト多型、一塩基置換による多型 (SNPs)、発現遺伝子内あるいはその近傍に見いだされる SNPs (cSNPs) を用いて、どのようなアプローチが効果的であるかという点についての検証を行いながら、研究を推進し、神経疾患の発症に関わる遺伝子、薬剤応答性を修飾する遺伝子などを効率よく解明することを目的とする。

2. 研究成果概要

2.1 アブラタキシン遺伝子の発見

単一遺伝子疾患として、常染色体劣勢遺伝性脊髄小脳変性症の病因遺伝子を同定した。常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症としては、Friedreich 失調症が有名であったが、わが国では臨床的に Friedreich 失調症が疑われるものの、Friedreich 失調症の遺伝子変異の確認された例はなく、その実体が不明であった。Friedreich 失調症類似の臨床病型を示す疾患の中に、低アルブミン血症を伴う一群の疾患があり、この疾患の連鎖解析を進めてきた。これまでの連鎖解析で、9p13 に連鎖することを見出していた。興味深いことに、この連鎖解析の過程で、家系間で共通するハプロタイプが存在することが見出された。7 家系で 6 家系で D9S165-D9S1788-D9S1845 の順で 4-4-9、さらに 3 家系で 5-7-4 という共通のハプロタイプを認め、強い連鎖不平衡が認められた。そこで、既報のゲノム塩基配列より新たにマイクロサテライト多型のマーカーを設定し、連鎖不平衡について

さらに詳細な検討を行なった。連鎖不平衡の認められる領域を中心として物理地図を作製した (図 3)。その結果、D9S165、D9S1788、D9S1845 の 3 つのマイクロサテライトマーカーが連続した 4 つの BAC 上に位置していた。さらに既報のゲノム塩基配列より新たにマイクロサテライトマーカーを設定し、126M6ms2 と 462B18ms2 で連鎖不平衡が崩れることを確認し、疾患遺伝子の存在する部位は約 450kb の領域に絞られることがわかった。この領域には少なくとも 5 つの ESTs、または発現遺伝子が確認でき、我々はこの中から中枢神経系での発現が報告されている遺伝子を候補遺伝子と考え解析した結果、全患者に於いてに変異が存在することを確認した。フレームシフト変異が存在すること、及びすべての患者に変異が認められたことから、この遺伝子が原因遺伝子であることが明らかとなった。

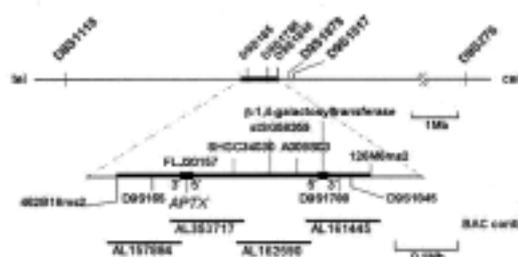


図 1 アブラタキシン候補領域の物理地図

2.2 アブラタキシン変異と臨床病型の相関

フレームシフト変異例とミスセンス変異例にわけて臨床病型との相関を検討した。フレームシフト変異ホモ接合体 26 家系 34 症例では、幼少期に眼球運動失行 (ocular motor apraxia, OMA) の記載が多く認められるが、年齢を経るにしたがい減少し注視眼振や眼球運動制限が顕著となる傾向が見られる。一方、生化学的異常では年齢を経るにつれて高コレステロール、低アルブミン血症の順で認められるようになり 30 代以降ではほぼ全例で認められるようになる。末梢神経障害は年齢を経る後に下肢遠位部の振動覚の低下から始まり、次第に遠位部の筋力低下、筋萎縮が著名となっていく。図 2 に示すように、幼小児期には OMA が、そし

て30才台以降は、低アルブミンが顕著となる本症の症状の特徴が見てとれる。

一方ミスセンス変異例では、症状のばらつきが大きいが、知的機能が保たれる例があり、また眼球運動失効も比較的高齢まで指摘されている。低アルブミン血症は、少し遅れて認められるようになるが、30代では全例で指摘されている。両者の臨床症状をまとめると図2のようになるが、ミスセンス変異では、全体に症状の変遷が右にシフトしている。

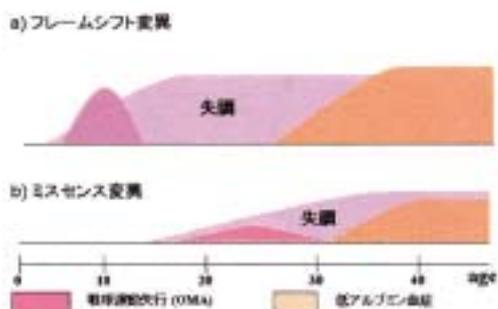


図2 アプラタキシン変異の種類と臨床病型の比較

アプラタキシン欠損症の臨床症状の特徴を要約すると、発症年齢は幼児から25歳まで、知能は全く問題ない症例から自立した社会生活ができない症例までと大きな広がりがある。症状の中核は失調症状で、小脳萎縮は早期から必ず捉えられる。また不随意筋の記載が多く認められることも特徴である。加えて、発症早期には眼球運動失行が前面に立つが、眼球運動失行は病状が進むにつれて消失し、注視方向性眼振が目立っていく。また経過と共に末梢神経障害、低アルブミン血症が顕著となっていく。

2.3 アプラタキシンの生理的機能

アプラタキシンには histidine triad motif (HIT)、Zinc finger モチーフ、ポリヌクレオチドキナーゼ 3'ホスファターゼ (PNKP) との相同性を有するモチーフが含まれ、核移行シグナルも存在する。HIT motif を有するタンパクは数多く報告があるが、本疾患はその HIT モチーフをもつ遺伝子 (APT X) の異常で発症することが報告された初めての疾患である。また、PNKPモチーフより DNA 修復機能が推測される。DNA 修復機能の障害から中枢神経系に影響を及ぼす疾患には、毛細血管拡張性失調症 (ataxia telangiectasia; AT)、色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum; XP)、コケイン症候群 (Cockayne syndrome; CS) などがある。特に AT とは臨床的にも小脳失調、眼球運動失行などの点で共通する点が多く興味深い。現在のところ aprataxin について中枢神経系での具体的な機能は不明であり、aprataxin 異常がどのようなメカニズムで神経細胞の機能障害をもたらすかの研究の発展が望まれる。

3. 結論

ゲノム解析を基盤として、常染色体劣勢遺伝性脊髄小脳変性症の病因遺伝子を発見し、アプラタキシン遺伝子と命名した。アプラタキシン

は、核内で DNA の修復に関与するものと推定されており、今後その生理的機能の解析が待たれる。

主な発表論文

1. Shimohata, T, Nakajima, T, Yamada, M, Uchida, C, Onodera, O, Naruse, S, Kimura, T, Koide, R, Nozaki, K, Sano, Y, Ishiguro, H, Sakoe, K, Ooshima, T, Sato, A, Ikeuchi, T, Oyake, M, Sato, T, Aoyagi, Y, Hozumi, I, Nagatsu, T, Takiyama, Y, Nishizawa, M, Goto, J, Kanazawa, I, Davidson, I, Tanese, N, Takahashi, H and Tsuji, S.: Expanded polyglutamine stretches associated with GAG repeat diseases interact with TAFII130, interfering with CREB-dependent transcription. *Nature Genet.* 26:29-35, 2000
2. Zaho, C., Takita, J., Tanaka, Y., Setou, M., Nakagawa, T., Takeda, S., Yang, H.W., Terada, S., Nakata, T., Takei, Y., Saito, M., Tsuji, S., Hayashi, Y. and Hirokawa, N.: Charcot-Marie-Tooth disease type 2A caused by mutation in a microtubule motor KIF1B . *Cell* 105:587-597, 2001
3. Date, H., Onodera, O., Tanaka, H., Iwabuchi, K., Uekawa, K., Igarashi, S., Koike, R., Hiroi, T., Yuasa, T., Awaya, Y., Sakai, T., Takahashi, T., Nagamoto, H., Sekijima, Y., Kawachi, I., Takiyama, Y., Nishizawa, M., Fukuhara, N., Saito, K., Sugano, S. and Tsuji, S.: Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia is caused by mutations in a new HIT superfamily gene. *Nature Genetics* 29: 184-188, 2001
4. Takahashi T., Igarashi S., Kimura T., Hozumi I., Kawachi I., Onodera O., Takano H., Saito M. and Tsuji S.: Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. (in press)