

論文内容の要旨

論文提出者氏名 安田 怜

論文題目

Towards genomic database of Alexander disease to identify variations modifying disease phenotype

(疾患表現型修飾遺伝子同定のためのアレキサンダー病ゲノムデータベース構築に向けて)

論文内容の要旨

アレキサンダー病 (Alexander disease; AxD) は glial fibrillary acidic protein (GFAP) 遺伝子変異による極めて稀な (有病率 1/270 万) 遺伝性神経変性疾患で、病理学的にはアストロサイト内の Rosenthal 線維が特徴である。AxD は多様な臨床表現型を呈することが知られており、神経症候と画像所見に基づいて大脳優位型、延髄脊髄優位型、中間型の 3 病型に分類される。大脳優位型は乳児期発症の痙攣、大頭症、精神運動発達遅滞を呈し、頭部 MRI では前頭部優位の白質病変が特徴であり、延髄脊髄優位型は主に若年期から成人期発症の筋力低下、痙性、球症状を呈し、延髄・脊髄の異常信号や萎縮が特徴である。中間型は大脳優位型、延髄脊髄優位型の両者の特徴を有する病型である。大脳優位型は乳児期発症に限局しており、70%の症例で特定のアミノ酸 (R79、R88、R239 のいずれか) の変化に相当する GFAP 変異を有するため、表現型は大部分が GFAP 変異により規定されるものと考えられる。一方で、延髄脊髄型、中間型では幅広い発症年齢を呈し、変異のホットスポットは認められないため、GFAP 変異以外に表現型の多様性を修飾する因子の存在が考慮されてきた。近年、ハンチントン病やデュシャンヌ型筋ジストロフィー等の単一遺伝子疾患において、ゲノムワイド関連解析を用いて表現型の多様性に関連する遺伝子座が報告されてきたが、AxD での関連解析は報告がない。我々は延髄脊髄優位型、中間型 AxD 患者について、全エキソームシーケンス (whole exome sequencing; WES) と DNA マイクロアレイ解析によりゲノムデータを取得し、表現型多様性に関連する遺伝子を同定するため発症年齢に注目し関連解析を行った。

対象は 2004 年から 2016 年までに遺伝子検査のため本学に紹介され、GFAP ヘテロ変異を認めた 40 例の日本人 AxD 患者である。臨床情報を調査票により取得し、脳・脊髄 MRI を 2 名の画像診断に習熟した神経内科医 (安田 怜、吉田誠克) が再評価し、病型を分類した。追加解析の同意が得られなかった症例および大脳優位型の症例を除外し、発端者である 31 例の延髄脊髄優位型または中間型 AxD 患者を解析対象とした。WES は SureSelect Human All Exon V5 (Agilent Technologies) を使用してターゲットキャプチャーを行い、HiScanSQ (Illumina) を用いてシーケンスを行った。マイクロアレイ解析では tag SNPs

を含む約 55 万個のマーカーを搭載した InfiniumCoreExome-24 v.1.1 BeadChip (Illumina) を用いてハイブリダイゼーションを行った。GFAP 変異の違いによる発症年齢への影響を調整するため、GFAP 変異は変異効果予測ツールである PROVEAN を用いて "Neutral" または "Deleterious" に分類した。WES、マイクロアレイデータを使用して、発症年齢 (45 歳未満または 45 歳以上) を目的変数、GFAP 変異効果予測 (Neutral または Deleterious) を共変数として、各バリエーションについてロジスティック回帰分析による関連解析を行った。次いで AxD 病態生理との関連が報告されている 33 の候補遺伝子に注目した。

延髄脊髄優位型、中間型 AxD の発症年齢は幅広く (5-72 歳)、10-30 歳代と 60 歳前後をピークとする二峰性であった。このため 45 歳未満発症を若年発症群 (n=13)、45 歳以上発症を高年齢発症群 (n=18) と定義した。高年齢発症群は全例で延髄脊髄型を呈し、若年発症群は 92% で中間型を呈した。同一 GFAP 変異を有する症例では同様の発症年齢を呈する傾向にあったが (p.R70W、p.M74T、p.N386S 変異例は高年齢発症群、p.R79H 変異例は若年発症群)、p.R416W 変異では若年、高年齢発症群の双方に患者を認めた。GFAP 変異効果予測は 9 例で Neutral、22 例で Deleterious を呈し、発症年齢に有意差を認めた (Neutral 58.0±8.8 歳、Deleterious 38.9±8.8 歳、p<0.01)。GFAP 変異効果予測で調整した発症年齢に関する関連解析では WES で 46 バリエーション、マイクロアレイ解析で 645 SNPs が p<0.01 を示したが、ゲノムワイドレベルにおける有意水準には至らなかった。AxD 病態に関連する候補遺伝子の解析では GAN、SLC1A2、CASP3、HDACs、PI3K のバリエーションに p<0.05 の関連が示された。GAN は GFAP 蛋白分解、SLC1A2 はグルタミン酸毒性、CASP3 はアストロサイトの viability、HDACs と PI3K は GFAP 発現調節との関連が報告されている。

今回の研究は AxD を含む超稀少単一遺伝子疾患のゲノムワイド解析としては世界で最初の報告で、発症年齢に関連する複数の遺伝子を同定した。延髄脊髄優位型、中間型 AxD では既報告 (平均発症年齢 21 歳) と比較し我々の症例では高年齢発症の割合が高く (45 歳以上が 58%)、幅広い発症年齢を呈することが明らかになり、多様性に関連する修飾遺伝子の存在が示唆された。非常に稀な単一遺伝性疾患である AxD に対してゲノムワイドで有意な修飾遺伝子を同定することは挑戦的であるが、AxD の病態生理と治療標的の解明をめざすためには重要である。我々の研究は AxD の疾患表現型修飾遺伝子を同定するためのゲノムデータベースの構築に向けて基盤となる学術的に貴重な研究である。