

## 61. 新規脊髄小脳変性症の遺伝子同定

川上 秀史

Key words : Perrault 症候群, 遺伝性脊髄小脳変性症,  
エクソーム解析, ミトコンドリア

広島大学 原爆放射線医科学研究所  
分子疫学研究分野

### 緒 言

Perrault syndrome (PS) は, 1951 年に Perrault らによって最初に報告された稀な劣性遺伝性疾患で, 感音性難聴, 原発性無月経, 失調症状を主徴し, 広義の脊髄小脳変性症に属する<sup>1,2)</sup>. 明らかな近親婚がみられない症例も多い. 不完全な症状をきたす症例や高口蓋, 凹足変形, てんかん, 眼球運動障害, 認知機能障害, 進行性の神経症状を呈する症例もある. これまで, PS の原因遺伝子は *HSD17B4*<sup>3)</sup>, *HARS2*<sup>4)</sup>, *CLPP*<sup>5)</sup>, *LARS2*<sup>6)</sup> の 4 つの遺伝子が知られている. *HSD17B4* タンパク質は, 脂肪酸のベーター酸化とステロイドの代謝に関与することが, 他の *HARS2*, *CLPP*, *LARS2* タンパク質は, ミトコンドリア遺伝子の翻訳及びタンパク質の恒常性にかかわることが知られている.

### 方 法

症例は, 3 人同胞のうち発症した 2 人の姉妹であり, 近親婚の形跡は認められなかった. ともに出産, 幼児期の発育に問題なし. 姉は中学生の頃, 妹は 8 歳頃より難聴を自覚し, それぞれ 20 歳, 16 歳頃よりふらつきが出現し徐々に増悪した. X 年, 二次性徴の欠落を主訴に姉妹で当院産婦人科を受診し, 性器発育不全と原発性無月経を指摘された. 染色体検査の結果は共に 46XX と正常であり, Perrault 症候群と診断された. 失調症状と軽度の眼球運動制限, CK の軽度高値, 性腺ホルモン低下, ミトコンドリア機能を評価するための好気性運動負荷試験では, 乳酸, ピルビン酸, 乳酸・ピルビン酸比の高値を認めミトコンドリアの機能障害が疑われた.

広島大学の倫理審査の許可の下, 以下の研究を行った. 2 人姉妹の血液から DNA を抽出し exome library を作製し, 次世代シーケンサにより, エクソーム配列の決定を行った. カバレッジの中央値は 85 倍以上であった. 次世代シーケンサのデータ解析のパイプラインは BWA, Samtools, Picard, GATK を用いた. シークエンズの共通変異は, PS 以外の神経疾患を主とした 186 症例のデータおよび dbSNPv137, the National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) Exome Sequencing Project のデータを用いて除外した. 変異は, 予想される機能に基づいて, ナンセンス変異, フレームシフト変異, スプライスサイトの 1 塩基以内の変異およびミッセンス変異に分類した. ミッセンス変異は, PolyPhen-2 を用いて, タンパク質の構造や機能における効果を予測し, 評価した. 候補変異は, サンガーシーケンズで確認し, 家系内で分離を検討した.

### 結 果

Perrault syndrome は劣性遺伝であるので, 罹患した姉妹は機能的に障害されている可能性のある変異の, 同祖のホモ接合か複合ヘテロであることが期待させる. ホモ接合の傷害された変異は見つからなかった. したがって, 複合ヘテロ変異となる可能性のある, 1 つの遺伝子上に異なる変異をそれぞれの対立遺伝子に持つ変異を探した. その結果, 両姉妹とも, *C10orf2* c.1172G.A (p.Arg391His) (NM\_021830; MIM 606075) を父から, *C10orf2* c.1754A.G (p.Asn585Ser) を母から受け継いだ複合ヘテロ接合であった. 非罹患の兄弟は *C10orf2* c.1172G.A のみを持つヘテロ接合で, もう一つの対立遺伝子は正常であった (図 1).

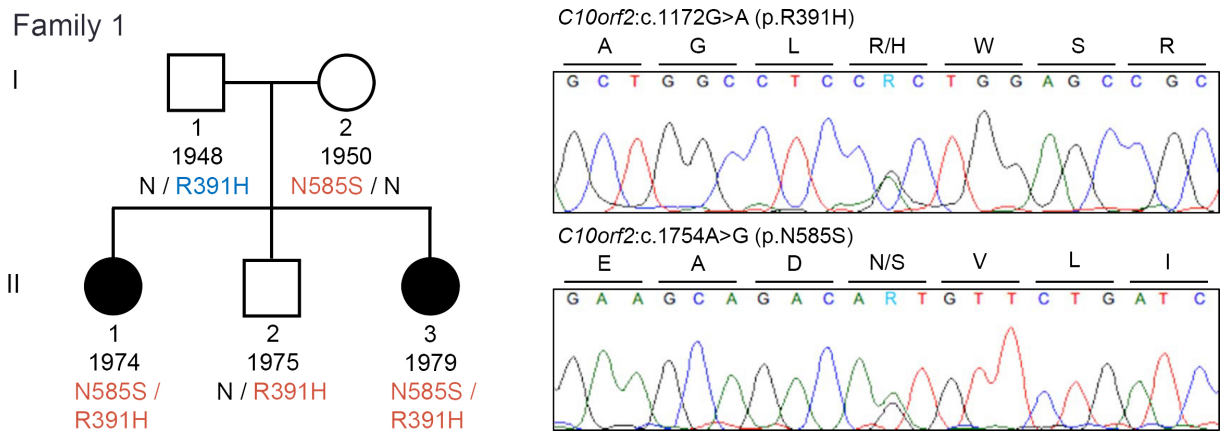


図1. Perrault syndrome の家系.  
姉妹発症.

PolyPhen-2 のスコアは, 0.995 for p.Arg391His と 1.000 for p.Asn585Ser. であり, 1 近くあり, 機能的障害が示唆された. *C10orf2* 遺伝子は, Twinkle タンパク質をコードし, この蛋白はヘリケースとしてミトコンドリア DNA の複製に必要なことがわかっている (図2).

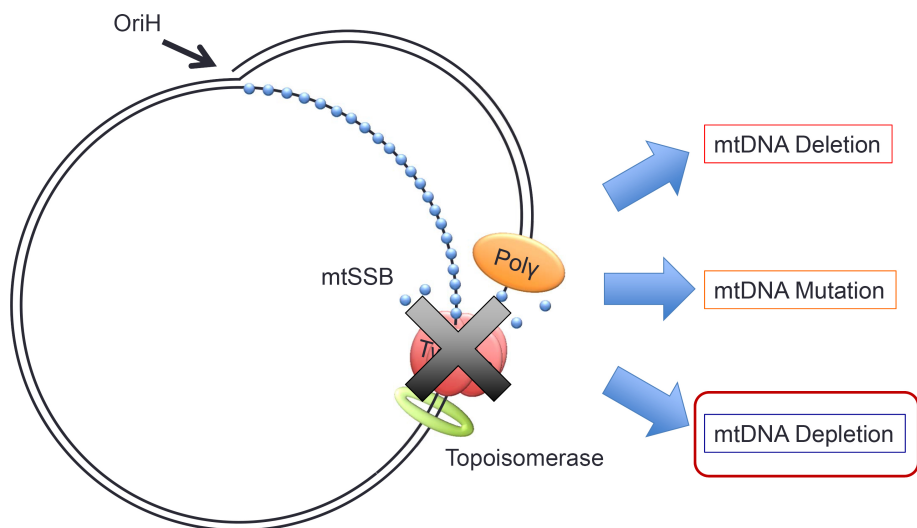


図2. Twinkle の機能.

## 考 察

*C10orf2* 遺伝子の変異は, 既に複数の表現型と関連付けられており<sup>7-9)</sup>, 優性遺伝性進行性外眼筋麻痺 Dominant progressive external ophthalmoplegia type 3 (PEOA3, MIM 609286), 及び劣性のミトコンドリア DNA 欠失症 7 型 recessive mtDNA depletion syndrome 7 (MTDPS7, MIM 271245) 別名幼児期発症の脊髄小脳失調症 infantile-onset spinocerebellar ataxia (IOSCA) がこれまでに知られている. これらの表現型はお互いに重なっている (表1).

表 1. *CI0orf2* 関連疾患

	PEOA3	MTDPS7	Perrault
Clinical symptoms			
Age at onset	17-73 years	< 2 years	7-13 years
Hearing loss	+	++	++
Female Hypogonadism	-	++	++
Ataxia	+	++	++
Myopathy	++	++	+
Neuropathy	+	++	++
Hyporeflexia	+	++	++
Ophthalmoplegia	++	++	++
Optic atrophy	-	++	-
Intellectual disability	-	++	-
Dementia	+	-	-
Epilepsy	+	++	+
Liver involvement	-	+	-
Laboratory findings			
Lactate elevation	+	+	++
CK elevation	+	+	++
Abnormal neuroimaging	+	++	++
mtDNA			
Deletion	++	-	-
Depletion	+	++	n.t.

- absent; + present in some cases; ++ present in most cases; n.t. not tested

また既知の Perrault syndrome 遺伝子 4 つの内, *HARS2*, *LARS2*, および *CLPP* の 3 つがミトコンドリアの機能に関わる遺伝子であり, *CI0orf2* 遺伝子も Perrault syndrome を引き起こす 4 番目のミトコンドリア関連の遺伝子となったことを意味する。

今回の結果は, Perrault syndrome が *CI0orf2* の劣性の変異によって, Twinkle の機能不全をおこし, その結果ミトコンドリア DNA の複製の異常を引き起こすことによって起こることを示すものである。それにより, Twinkle 異常の表現型のスペクトラムを拡大し, 同時に今後卵巣形成不全, 難聴に神経学的徴候を持つ患者がいた場合, *CI0orf2* の変異を考慮すべきであることを意味する<sup>10)</sup>。

## 共同研究者

本研究の共同研究者は, 広島大学原爆放射線医科学研究所の森野豊之, 松田由喜子, 大澤亮介, および倉持真人である。

## 文献

- 1) Perrault, M., Klotz, B. & Housset, E. : Two cases of Turner syndrome with deaf-mutism in two sisters. *Bull. Mem. Soc. Med. Hop. Paris*, **16** : 79-84, 1951.
- 2) Nishi, Y., Hamamoto, K., Kajiyama, M. & Kawamura, I. : The Perrault syndrome: clinical report and review. *Am. J. Med. Genet.*, **31** : 623-629, 1988.
- 3) Pierce, S. B., Walsh, T., Chisholm, K. M., Lee, M. K., Thornton, A. M., Fiumara, A., Opitz, J. M., Levy-Lahad, E., Klevit, R. E. & King, M. C. : Mutations in the DBP-deficiency protein HSD17B4 cause ovarian dysgenesis, hearing loss, and ataxia of Perrault syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, **87** : 282-288, 2010.
- 4) Pierce, S. B., Chisholm, K. M., Lynch, E. D., Lee, M. K., Walsh, T., Opitz, J. M., Li, W., Klevit, R. E. & King, M. C. : Mutations in mitochondrial histidyl tRNA synthetase *HARS2* cause ovarian dysgenesis and sensorineural hearing loss of Perrault syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **108** : 6543-6548, 2011.
- 5) Pierce, S. B., Gersak, K., Michaelson-Cohen, R., Walsh, T., Lee, M. K., Malach, D., Klevit, R. E., King, M. C. & Levy-Lahad, E. : Mutations in *LARS2*, encoding mitochondrial leucyl-tRNA synthetase, lead to premature ovarian failure and hearing loss in Perrault syndrome. *Am. J. Hum. Genet.*, **92** : 614-620, 2013.

- 6) Jenkinson, E. M., Rehman, A. U., Walsh, T., Clayton-Smith, J., Lee, K., Morell, R. J., Drummond, M. C., Khan, S. N., Naeem, M. A., Rauf, B., Billington, N., Schultz, J. M., Urquhart, J. E., Lee, M. K., Berry, A., Hanley, N. A., Mehta, S., Cilliers, D., Clayton, P. E., Kingston, H., Smith, M. J., Warner, T. T., Black, G. C., Trump, D., Davis, J. R., Ahmad, W., Leal, S. M., Riazuddin, S., King, M. C., Friedman, T. B. & Newman, W. G. : Perrault syndrome is caused by recessive mutations in CLPP, encoding a mitochondrial ATP-dependent chambered protease. *Am. J. Hum. Genet.*, **92** : 605–613, 2013.
- 7) Spelbrink, J. N., Li, F. Y., Tiranti, V., Nikali, K., Yuan, Q. P., Tariq, M., Wanrooi, J. S., Garrido, N., Comi, G., Morandi, L., Santoro, L., Toscano, A., Fabrizi, G. M., Somer, H., Croxen, R., Beeson, D., Poulton, J., Suomalainen, A., Jacobs, H. T., Zeviani, M. & Larsson, C. : Human mitochondrial DNA deletions associated with mutations in the gene encoding Twinkle, a phage T7 gene 4-like protein localized in mitochondria. *Nat. Genet.*, **28** : 223–231, 2001.
- 8) Nikali, K., Suomalainen, A., Saharinen, J., Kuokkanen, M., Spelbrink, J. N., Lönnqvist, T. & Peltonen, L. : Infantile onset spinocerebellar ataxia is caused by recessive mutations in mitochondrial proteins Twinkle and Twinky. *Hum. Mol. Genet.*, **14** : 2981–2990, 2005.
- 9) Sarzi, E., Goffart, S., Serre, V., Chrétien, D., Slama, A., Munnich, A., Spelbrink, J. N. & Rötig, A. : Twinkle helicase (PEO1) gene mutation causes mitochondrial DNA depletion. *Ann. Neurol.*, **62** : 579–587, 2007.
- 10) Morino, H., Pierce, S. B., Matsuda, Y., Walsh, T., Ohsawa, R., Newby, M., Hiraki-Kamon, K., Kuramochi, M., Lee, M. K., Klevit, R. E., Martin, A., Maruyama, H., King, M. C. & Kawakami, H. : Mutations in Twinkle primase-helicase cause Perrault syndrome with neurologic features. *Neurol.*, **83** : 2054–2061, 2014.