

## スフィンゴリピドーシスの病型診断と遺伝子変異に関する検討

(分担研究：効果的な小児慢性特定疾患治療研究事業の推進に関する研究)

研究協力者：桃井真里子

共同研究者：山形崇倫、斎藤茂子、森雅人

要旨：先天代謝異常症の臨床診断における病因遺伝子変異の同定の重要性を示す例として、GM1 ガングリオシドーシスの同胞例の臨床像と遺伝子変異の関連を報告した。幼児期発症の男児同胞例であり、精神運動退行と失調など神経症候を主要臨床像とし、22歳と18歳の現在、独歩不能であるが緩徐な進行を示すのみである。従来の成人型で報告されているIleu51Thrがheterozygoteに同定され、一方の変異としては、これまでに報告のないAsp441Valが認められた。前者の変異は患者の緩徐な経過や神経症候が主体である病像と関連し、後者の変異は幼児期発症と骨の一部の変化などの非神経症候と関連すると考えられた。これらの情報の蓄積が患者の予後、経過などの診断に大きく寄与すると考えられる。

見出し語：スフィンゴリピドーシス、GM<sub>1</sub>ガングリオシドーシス、β-ガラクトシダーゼ、遺伝子変異

研究目的：スフィンゴリピドは、分子中にスフィンゴシンを含む脂質の総称であり、多くは脳の神経細胞膜、ミエリンの膜や構成脂質の成分であるため、その代謝障害は主として中枢神経症状を持って発症する。スフィンゴリピドーシスは欠損酵素と蓄積物質により診断され、同じ疾患の中でも発症時期、臨床経過により、乳児型、若年型、成人型などに病型分類される。病態の基本が代謝物質の蓄積であり、その蓄積速度は一般的に緩徐であることから、病因遺伝子変異によって、遺伝子産物（酵素蛋白）の活性低下程度が異なり、臨床像が大きく異なる特徴がある。スフィンゴリピドーシスの多くの疾患に乳児期発症病型から成人期発症病型までであるのは、このためであり、各病型

を決定する遺伝子変異の同定が進められることが求められている。遺伝子変異の情報の蓄積は、発症時期からの臨床診断のみならず、進行速度、神経症候の予後などの診断にも、有益であることが予測される。

我々は、GM<sub>1</sub>ガングリオシドーシスの兄弟例を長期間経過観察し、今まで報告のない部位の遺伝子変異を見出した。臨床的にも従来報告されている病型とは異なる点があり、新たな遺伝子変異と臨床像の関連を示す者と思われた。GM<sub>1</sub>ガングリオシドーシスに関するこれまでの知見と我々の症例についての臨床経過、遺伝子変異検索のアプローチ、および臨床病型と遺伝子変異の関連について報告し、代謝異常症における遺伝子診断の意義を検討する。

これまでの知見：GM<sub>1</sub>ガングリオシドーシスはβ-ガラクトシダーゼの活性が損なわれたためにGM<sub>1</sub>ガングリオシドがリソソーム内に蓄積することにより起こる疾患であり、染色体の3p21-terに存在し、常染色体優性遺伝形式をとる。β-ガラクトシダーゼ欠損による疾患として、MorquioB病も存在することから、近年、両者をあわせてβ-ガラクトシドーシスと称する疾患概念も提唱されている。GM<sub>1</sub>ガングリオシドーシスの病型は、乳児期早期に発症し全身症状を呈する致死的な乳児型、乳児期から幼児期に発症し、中枢神経症状が主体の後期乳児/若年型、発症年齢は遅く、症状の進行も緩徐で錐体外路症状を主体とする成人/慢性型に分類されている(表)。これらの病型に対して報告されている遺伝子異常は表のごとくであるが、いくつかの特徴を持っている。乳児型では共通する変異はないが、duplicationや変異により終始コドンとなるような点変異を示している。後期乳児/若年型ではR201Cの変異がhomozygoteまたはheterozygoteに認められる。成人/慢性型ではI51Tの変異が16例ではhomozygoteに1例のみheterozygoteに認められている。培養系ではR201C変異により、β-ガラクトシダーゼ酵素活性は12分の1、I51T変異により酵素活性は4分の1に低下することが報告されている。乳児型の変異では残存活性は認められていない。これらのことは、遺伝子変異部位と酵素活性の挿管を示唆し、残存酵素活性により臨床病型の重症度が異なると考えられる。

#### 症例：臨床経過

症例1：22歳男子。症例2の弟以外に神経疾患の家族歴なし。血族結婚なし。座位7カ月、つまり立ち11カ月と乳児期の発達は正常であった。1歳頃、水平眼振出現。1歳6カ月には独歩可能

となったが、退行を示し、2歳時には伝い歩き、6歳以降は座位となった。言語発達は単語のみ認められていたが、現在は喃語のみである。5歳から痙攣が出現。13歳時、当科初診し、知能障害、錐体路徴候、錐体外路徴候、小脳失調、左外斜視、関節拘縮を認めた。眼底異常、肝脾腫はない。以後、10年間で病状の進行は極軽度であり易感染性もない。

症例2：18歳男子。症例1の弟。1歳4カ月で独歩可能、有意語もあったが、2歳頃から独歩不能、3歳頃から単語数も減少し、喃語のみとなった。9歳から痙攣が出現し、症例1と同様の身体所見を呈している。最近の10年間で支え歩行が困難になったほかは、大きな進行はなく、知的な反応性の低下も軽度である。

#### 検査所見：

骨X-P：骨梁の希薄化、椎体扁平化、腰椎嚙様変化

頭部CT：脳萎縮

頭部MRI：両側基底核～白質の一部T2低信号域

皮膚線維芽細胞：電頭上、細胞質内に空胞あり。

白血球β-ガラクトシダーゼ活性：

症例1；4.78nmol/mgprotein/h

症例2；8.84nmol/mgprotein/h

(測定は東京都臨床研鈴木義之先生)

変異遺伝子検索：既知の遺伝子変異についてはそれぞれの変異遺伝子存在部位のエクソンをPCR増幅し、制限酵素を用い、変異の有無を確認した。これまで日本人の乳児後期/若年型で共通して報告されているR201Cの変異は検出されず、成人型で認められるI51T変異をheterozygoteにみとめた。もう一方のalleleの変異遺伝子の検索のため、患

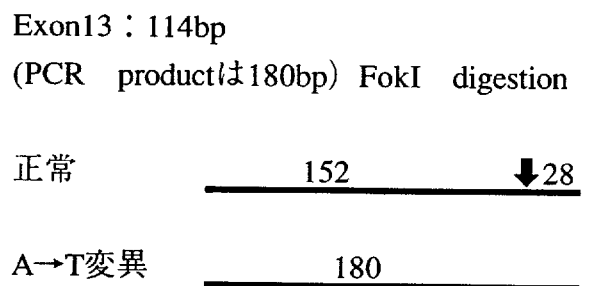
者培養線維芽細胞を用い、mRNAを抽出し、RT-PCRでβ-ガラクトシダーゼ cDNAを増幅後、TAクローニングレシークエンスを行った。この結果、今までに報告のないエクソン13の塩基番号1393A→T変異が認められ、Asp441Valの置換が存在していた。エクソン13をPCR増幅し、HocIにて制限酵素処理を行ったところ、変異をもたないDNA由来の断片と変異遺伝子由来の断片がheterozygoteに認められ、アミノ酸置換も認められることから、この変異が疾患に関与している遺伝子変異であると確認された。

考察：我々の症例は、2歳前の発症で、重度かつdiffuseな中枢神経症状を呈し、皮膚線維芽細胞や骨髄にも病変が広がっていた。しかし、22歳の現在も生存し、症状の進行もない点では、乳児後期/若年型としても非典型である。遺伝子検索では、乳児後期/若年型で報告されている変異は示さず、成人/慢性型で報告されている点変異をheterozygoteに認めた。D441V変異の報告はないが、I51T変異のhomozygote例に比べ症状が重度であることから、compound heterozygoteであり、D441V変異の存在が、症状を成人/慢性型よりも重症にしていると考えられる。

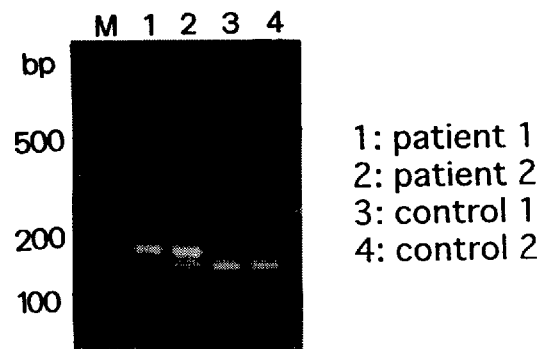
日本人の乳児型の遺伝子変異はそれぞれが1例報告であり、一方、後期乳児/若年型ではR201C変異を、成人/慢性型ではI51T変異を共通に認めている。特に、I51T変異はhomozygoteで認められることから、日本人には比較的多い変異であることが予想される一方、外国ではR208Cの変異が多く報告されている。後期乳児/若年型および成人/慢性型での共通する遺伝子変異の存在は、有意な残存活性を持つ特異的な変異蛋白が臨床型を規定していることを示し、同型での重症度はもう一方のalleleの残存活性によると考えられる。

本例が示すように、スフィンゴリピドーシスは臨床診断、酵素診断で診断は確定できるが、各症例の予後診断、経過の推定、などには、遺伝子変異の同定が大きな意義を有すると考えられる。

図：新たに同定されたmissense mutation



Asp(GAT) → Val(GTT)





## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要旨:先天代謝異常症の臨床診断における病因遺伝子変異の同定の重要性を示す例として、GM1 ガングリオシドーシスの同胞例の臨床像と遺伝子変異の関連を報告した。幼児期発症の男児同胞例であり、精神運動退行と失調など神経症候を主要臨床像とし、22歳と18歳の現在、独歩不能であるが緩徐な進行を示すのみである。従来の成人型で報告されている Ileu51Thr が heterozygote に同定され、一方の変異としては、これまでに報告のない Asp441Val が認められた。前者の変異は患者の緩徐な経過や神経症候が主体である病像と関連し、後者の変異は幼児期発症と骨の一部の変化などの非神経症候と関連すると考えられた。これらの情報の蓄積が患者の予後、経過などの診断に大きく寄与すると考えられる。