

論 文 要 旨

Genetic spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease associated with myelin protein zero gene variants in Japan

日本における myelin protein zero 遺伝子に関連するシャルコー・マリー・トゥース病の遺伝的な広がり

【序論及び目的】 Myelin protein zero (以下、MPZ) 蛋白は主要な髄鞘構成蛋白の1つであり、MPZ 遺伝子によりコードされる。シャルコー・マリー・トゥース病 (以下、CMT)は最も一般的な遺伝性末梢神経障害であるが、正中神経における運動神経伝導速度 (以下、Median MCV) が 38m/s より遅い場合は脱髄型、38m/s より速い場合は軸索型に分類される。MPZ 遺伝子変異は脱髄型の CMT1B、軸索型の CMT2I/J、より重症で幼少期に発症する Dejerine-Sottas 症候群や congenital hypomyelinating neuropathy-2、さらに中間的な Median MCV を呈し、常染色体優性遺伝性の dominant intermediate CMT (CMTDID)の発症に寄与する。これまでに点変異や遺伝子コピー数変異を含む約 250 個の MPZ 遺伝子変異が遺伝性末梢神経障害の原因として報告されているが、同遺伝子の変異を持つ多数の患者を分析した研究は限られている。今回我々は MPZ 遺伝子変異による遺伝性末梢神経障害の遺伝的な広がりや臨床的特徴を明らかにするため、同変異を持つ多数の患者を後方視的に分析した。

【材料及び方法】 2007 年 4 月から 2012 年 4 月まで 417 名に対しマイクロアレイ法、2012 年 5 月から 2014 年 7 月まで次世代シーケンサー (Illumina 社製 MiSeq®)を用い遺伝性末梢神経障害に関連する 60 遺伝子に対するターゲットリシーケンシングを 437 名に対して行い、2014 年 9 月からは新たな次世代シーケンサー (Life technologies 社 Ion Proton™)を導入し、遺伝性末梢神経障害に関連する 72 遺伝子に対するターゲットリシーケンシングを 2017 年 8 月までに 803 名に行った。また、マイクロアレイ法を行った患者については偽陰性例があることから Illumina 社 HiSeq®を用いた全エクソンシーケンシングを行い、Ion Proton™にて解析した患者では遺伝子コピー数変異を持つ患者を抽出するために CovCopCan ソフトウェアを用いた解析を行った。検出された全ての MPZ 遺伝子変異は、当教室のデータベース、Human Gene Mutation Database (HGMD, <https://portal.biobaseinternational.com/hgmd/pro/gene>)、gnomAD (<https://gnomad.broadinstitute.org>)、Human Genetic Variation Database (<http://www.hgvd.genome.med.kyoto-u.ac.jp>)、the Japanese Multi Omics Reference panel (<https://jmorp.megabank.tohoku.ac.jp/ijgvd/>)を用いて既報告の病的変異か正常多型かを検討した。報告にない新規変異については、正常多型でないことを確認し、POLYPHEN-2、SIFT、PROVEAN、Mutation Taster を用いた In silico 解析を行い、the American Collage of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology (ACMG/AMP) guidelines (Richards S, et al. *Genet Med* 2015; **17**: 405-424)によりその病原性を評価した。HGMD に掲載されている既報告の MPZ 遺伝子変異の報告全てをまとめ、その種類と頻度を算出した。そして当科で認めた同遺伝子変異の種類と頻度を比較した。さらに当科における症例も含め、全世界における MPZ 遺伝子変異の分布を調査した。

当科で得られた症例については臨床的特徴について検討を行った。発症年齢、脳神経症状、電気生理学的所見 (Median MCV)、髄液蛋白値、血清 CK 値を中心に評価した。本研究では Median MCV が 38m/s 未満を脱髄型 CMT、38m/s 以上を軸索型 CMT に分類し、髄液蛋白値 > 50 mg/dL は髄液蛋白高値、血清 CK 値 > 250 U/L は血清 CK 高値とした。髄液蛋白高値群は脊椎 MRI の評価も行った。CK 高値群と正常群において、発症年齢が 20 歳より高い成人発症群の割合と軸索型 CMT の割合、ならびに髄液蛋白高値群と正常群における脱髄型、軸索型 CMT の割合を Fisher の正確確率検定を用いて比較し、 p 値 < 0.05 を有意差ありとした。

【結 果】 1657 名の遺伝性末梢神経障害が疑われた日本人のうち、85 名が新規変異を含む *MPZ* 遺伝子変異を持っていた。既報告変異を持つのは 64 名で 23 個の既報告変異を認めた。本研究で多かったのは p.Arg98His、p.Thr124Met、p.Asp75Val、p.Arg98Cys、p.Asn35Tyr、p.Ser78Leu だった。本研究を含む日本からの報告と日本以外の地域における報告を比較した際、日本では p.Ser44Phe、p.Ser63Phe、p.Thr65Ala、p.Ile135Thr、p.Ser140Thr、p.Arg227Ser を認めなかった一方、p.Val32Phe、p.Leu48Val、p.Ile62Phe、p.Phe64del、p.Asp75Val、p.Gly93Glu、p.Lys96Glu、p.Asp118_Tyr119insPheTyr、p.Asn131Ser、p.Val146Phe、p.Leu170Arg、p.Ala189Glyfs*47、p.Arg227Gly は本国からの報告のみだった。本研究では 17 個の新規変異を 21 名に認めたが、ACMG/AMP guideline に従い 11 個が likely pathogenic に分類され、その病原性が示唆された。病原性が示唆された 11 個の新規変異を持つ 13 名と既報告変異を持つ 64 名の臨床的特徴を検討したところ、20 名が脳神経障害を呈し、血清 CK 高値は 30 名中 8 名、髄液蛋白高値は 30 名中 18 名に認めた。血清 CK 高値例のほとんどが 1000U/L 未満で 30 歳から 60 歳代発症の患者に集中しており、成人発症群の割合は CK 正常群に比して CK 高値群の方が多かった ($p=0.039$)。一方、CK 正常群と高値群における軸索型 CMT の割合には有意差を認めなかった ($p=0.57$)。また髄液蛋白正常群と高値群における脱髄型、軸索型 CMT の割合も有意差を認めなかった ($p=0.168$)。髄液蛋白高値の患者のうち 8 名で脊椎 MRI を行っており、4 名が脊椎疾患を有し 2 名が神経根や馬尾の肥厚を呈していた。

【結論及び考察】 日本と他国で多く認められる *MPZ* 遺伝子の種類について一部差異が認められ、本研究では検討できなかったものの創始者効果や民族的な差異等の様々な要因が関与していると考えられた。また *MPZ* 遺伝子の病的変異を新たに 11 個同定した。脳神経障害は CMT において稀に見られる所見だが、本研究では 20 名に認めており、*MPZ* 遺伝子変異を持つ CMT における診断の一助になると考えられた。過去の報告では成人発症例の CMT において髄鞘化された軸索の変性が生じることが報告されている一方で、軸索変性に伴う脱神経によって障害された筋膜の保全性が CK 高値に関わっていることが示唆されており、本研究でもこれらの機序が CK 高値を認めた患者において関与していると考えられた。髄液蛋白高値については、髄液循環の障害による血中蛋白質の漏出や肥厚した神経根における血液神経関門の障害が関与しているとされており、脊椎疾患や神経根、馬尾の肥厚が髄液蛋白高値と関連している可能性が示唆された。一方、脊椎疾患や神経根、馬尾肥厚を認めない症例も含まれており、過去の報告では特定の *MPZ* 変異を持つ複数の症例で髄液蛋白高値を認めたものもあることから、髄液蛋白高値と関わる *MPZ* 変異がある可能性が示唆された。