

論 文 要 旨

Heteroplasmic m.1624C>T mutation of the mitochondrial tRNA^{Val} gene in a proband and his mother with repeated consciousness disturbances

〔 意識障害を繰り返す母子例におけるミトコンドリア tRNA^{Val} 遺伝子上の heteroplasmic m.1624C>T 変異 〕

三月田 葉子

【序論および目的】

ミトコンドリア病の病因となるミトコンドリア遺伝子 (mtDNA) 上の点変異に関しては、数百以上の種類に及ぶ報告がある。その中でも m.1624C>T 変異の報告は一家系列の報告のみであり (Robert McFarland et al. Nat Genet. 30, 145-6, 2002)、症例は全例変異を homoplasmic に有しているが臨床表現型は多様で、母親は軽症であったがその子らの多くは胎生致死もしくは生下後数時間で死亡し、生存患児も Leigh 脳症類似の重篤な臨床症状を引き起こした。これまでに heteroplasmic に m.1624C>T 変異を持つ症例の報告はない。今回我々は成人発症で精神運動興奮を伴う一過性の意識障害を繰り返し、m.1624C>T 変異を heteroplasmic に持つ母子例を経験した。本家系列において同変異の heteroplasmy の割合の定量を行い、既報の homoplasmic にもつ家系列と臨床症状を比較検討し、相違点について考察した。

【材料および方法】

発端者となった症例は、36歳男性。25歳時に、せん妄による精神運動興奮を伴う一過性の意識障害を呈し入院加療となった。脱抑制、知的機能低下、人格変化などの精神神経症状を認めた。脳脊髄液では乳酸、ピルビン酸の上昇を繰り返し認めた。この症例に対して、WAIS-R、WAIS-III、Trail-Making test、Modified Stroop test、Wisconsin card sorting test、Word fluency test などの神経心理学的検査を行い、7年間の経過を追った。また、母親は37歳時より精神運動興奮、幻視、幻聴やてんかん発作を伴う一過性の意識障害を繰り返し、頭部 CT 上に一過性に出現する低吸収域を繰り返し認めた。

文章によるインフォームドコンセントを患者、患者母親から得た後に採血を行い、白血球、患者筋肉から常法を用いて mtDNA を抽出した。患者白血球、患者筋肉、患者母親白血球の mtDNA について直接シーケンス法で変異検索を行った。

また、ARMS (Amplification Refractory Mutation System) 法を用いた real-time PCR 法により heteroplasmic m.1624C>T の定量を行った。定量の際には、p-GEM-T vector を利用した wild-type1624C と mutation1624T の plasmid により検量線を作成した。定量の際の蛍光試薬には SYBR Green を使用した。

尚、本症例の報告に当たっては、個人が特定されないよう十分に配慮した。また、本研究は鹿児島大学医学部生命倫理・遺伝子解析研究倫理委員会、遺伝子組み換え実験安全委員会の承認を

得た。

【結 果】

患者白血球、患者筋肉、両者の白血球から抽出した mtDNA において、全 mtDNA の配列解析を行い、m.1624C>T heteroplasmy 変異を見出した。また、ARMS 法を用いた real-timePCR により得られた Ct 値から、検量線を利用して変異比率の定量を行った。m.1624C>T 変異比率は患者筋肉 88.8%(29 歳時)>患者筋肉 59.7%(36 歳時)>患者白血球 47.8% (29 歳時)>患者白血球 34.0% (36 歳)>母親白血球 17.2%>>健常者白血球 0% という結果を得た。m.1624T の変異比率は 7 年間で患者白血球、患者筋肉で共に減少していた。

【結論及び考察】

近年では、うつ病、双極性障害、統合失調症、知的障害、自閉症などの精神障害患者で mtDNA 変異や mtDNA と関連する核遺伝子変異を持つ症例が多数報告されている (Fattal et al., Psychosomatics, 2006; Kato et al., Neurosci. Res., 2011; Munakata et al., Mutat. Res. 2007; Rollins et al., PLoS One, 2009; Rossignol and Frye, Mol. Psychiatry, 2012)。今回我々は、繰り返す意識障害を伴う精神神経症状を呈し、脳脊髄液中の乳酸、ピルビン酸の上昇を認める家系例に対して、heteroplasmic な m.1624C>T 変異を同定した。今回、患者脳 sample はなかったが、Macmillan や Shiraiwa らによると死後脳の変異率と死後筋肉検体の変異率は同等であったと報告されており (Macmillan et al., Neurology. 1993 ; Shiraiwa et al., J. Neurol. Sci., 1993)、本患者での脳の変異率も筋と同等であり、精神症状になんらかの影響を及ぼしていると考えられる。

既報の homoplasmic 症例では、COX 欠損がみられていたが、本患者筋肉において、88.8%(29 歳)、59.7%(36 歳)といった高率の m.1624C>T 変異が見られたにもかかわらず、筋病理所見では、大小不同の筋線維以外の異常所見やミオパチーは認めなかった。M.3243A>G 変異では、COX-deficient fiber や ragged-red fiber がみられる変異率の閾値があると報告されている (Jeppesen et al., Arch. Neurol., 2006)。M.1624C>T 変異に関しても同様に筋病理所見や筋症状が出現する変異率の閾値があり、本症例は閾値以下の変異率であることが示唆された。

低比率の heteroplasmy の検出には RFLP や Taqman probe による real-time PCR よりも ARMS 法を使用した real-time PCR が有用であると報告されている (Bai and Wong, Clin. Chem., 2004)。直接シーケンス法では、低比率の変異は周囲のノイズと見間違える可能性がある。

胎生致死もしくは Leigh 脳症類似の重篤な臨床症状を引き起こしている homoplasmic な家系例に対して、我々の症例は発症年齢や臨床症状において、比較的軽症例と言える。Homoplasmic 家系では母親のみが片頭痛、易疲労感、筋力低下などの軽症となっており、Rorbach らは、VAR2 (valyl-tRNA synthetase 2) の発現が本変異の障害を rescue する可能性を考察していた (Rorbach et al., Nucleic Acids Res., 2008)。今回の結果から既報の homoplasmic に変異をもつ家系に比較すると、heteroplasmic に変異を有する本家系例の臨床症状は軽症であり、heteroplasmy の比率が表現型決定因子の一つであると考えられた。

発端者の 7 年間の経過で白血球と筋ともに m.1624C>T の変異率が低下していた。白血球においては経時的に m.3243A>G 変異率が低下することが知られている。Olsson, t'Hart らの研究では rapid turn over によるものではないかと考察されていた (Olsson et al., J. Hum. Genet., 2001; t'Hart et al., Hum. Mutat., 1996)。しかし、筋細胞では turn over の説明はできず、筋細胞における heteroplasmic 変異率の経時的減少の報告はほとんどない。Zhang らは筋において経時的な m.13167A>G 変異率低下を報告しており、変異細胞の複製の遅さによるのではないかと考察していた (Zhang et al., Hum. Mutat., 1998)。本例の筋においても同様の機序で m.1624C>T 変異率低下が起こっている可能性が示唆された。