

論 文 要 旨

**Linking LRP12 CGG repeat expansion to inherited
peripheral neuropathy**

(*LRP12* 遺伝子の CGG リピート伸長と
遺伝性末梢神経障害の関連性)

穂原 貴裕

【序論及び目的】

遺伝性末梢神経障害 (IPN)は、末梢神経の機能不全を主な特徴とする多様な遺伝性神経疾患である。IPN には遺伝性運動感覚性ニューロパチー (Charcot-Marie-Tooth 病:CMT), 遺伝性運動性ニューロパチー (HMN) , 遺伝性感覚神経ニューロパチーなど様々な病型がある。IPN の原因遺伝子は 140 以上の遺伝子が発見されているが、60%以上の IPN 患者は遺伝学的に未診断のままである。近年、非翻訳領域リピート伸長が多くの遺伝性神経疾患の原因として報告されている。2019 年に眼咽頭遠位型ミオパチー (OPDM)の原因遺伝子として *LRP12* 遺伝子が同定され、その後 *GIPC1*, *NOTCH2NLC*, *RILPL1* が相次いで報告された。この中で *NOTCH2NLC* は、OPDM だけでなく、IPN の原因遺伝子としても報告されている。我々はこれらの、*NOTCH2NLC* 以外の 3 つの OPDM の原因遺伝子も IPN の原因遺伝子になりうると仮定し、原因遺伝子未同定の 1,555 例の日本人 IPN 患者を対象に、*LRP12*, *GIPC1*, *RILPL1* 遺伝子の CGG リピート伸長の有無を明らかにし、その患者の臨床、電気生理、放射線画像および病理学的所見について検討する。

【材料及び方法】

本研究では、まず既知の遺伝子変異の症例を除外するために、2007 年から 2021 年にかけて臨床的に IPN と診断され、研究同意を得た 2,424 例の日本人患者の DNA 検体を用いて、遺伝子検査を実施した。脱髄型 CMT 症例に関しては、事前に fluorescence in situ hybridization (FISH)法もしくは multiplex ligation probe amplification (MLPA)を行い、*PMP22* の重複・欠失が確認された症例は本研究から除外した。既知の IPN/CMT 原因遺伝子スクリーニングには Affymetrix 社の DNA マイクロアレイ、Illumina 社の Miseq 及び ThermoFisher Scientific 社の Ion Proton の 2 つのゲノムシーケンサーによる Target resequencing を行った。これらの遺伝子検査で陰性であった症例のうち、758 例に Illumina 社の Hiseq2000/Hiseq2500 platform 及び Ion Proton を用いて Whole exome sequencing を行なった。さらに IPN の原因遺伝子として過去に我々が報告した *NOTCH2NLC*, *RFC1* 遺伝子のリピート伸長についても、flanking PCR, repeat primed PCR (RP-PCR), Amplicon length PCR (AL-PCR)などを用いて解析した。これらのスクリーニングを経て原因遺伝子を同定できなかった 1,555 例の IPN 患者を対象に、RP-PCR を用いて *LRP12*, *GIPC1*, *RILPL1* 遺伝子の CGG リピート伸長を検索した。RP-PCR で陽性であった症例については、AL-PCR にてリピート数を計測した。さらに 5 例では AL-PCR でリピート数の同定が困難であったため、ロングリードゲノムシーケンサーである Oxford nanopore 社の GridION を用いて、その DNA 配列からリピート数の同定を行った。

【結 果】

IPN 患者 44 例で *LRP12* 遺伝子の非翻訳領域に CGG リピート伸長を認めた. *GIPC1* 及び *RILPL1* 遺伝子のリピート伸長は認めなかった. *LRP12* 遺伝子の CGG リピート数の平均は 76.41 ± 17.97 (50–152) 回であり, コントロール 208 例の CGG リピート数 2–28 回に比し, 有意に伸長していた. リピート数は 41 例で 100 リピート以下であった.

リピート伸長が見られた 37 例について臨床所見の解析を行った. 平均発症年齢は 39.08 歳で, 初発症状の 81% は下肢の筋力低下であった. 全例に四肢の筋力低下を認めたが, 感覚障害は 7 例 (18.9%) のみに見られた. 進行は緩徐で, 歩行機能を評価した 33 例のうち 27 例は独歩可能であった. Creatine kinase (CK) 値は 34 例中 32 例で上昇しており, 平均 CK 値は 715.9 IU/L であった. 37 例の神経伝導検査の解析では, 22 例 (59.5%) に運動神経の異常を認めた. 感覚神経の異常は 18.9% と低頻度であった. 脛骨神経の複合筋活動電位 (CMAP) の低下が 41.7% と最も多く見られた異常所見であった. 正中神経の CMAP の低下は 14.3% と低頻度であった. 針筋電図検査では 31 例中 29 例で神経原性変化を認めたが, 1 例で神経原性変化と筋原性変化の両者が混在しており, IPN と OPDM の合併が示唆された. 12 例で筋生検組織の病理学的評価を行い, 群集萎縮や小角化線維などの神経原性変化が見られた. OPDM に特徴的な縁取り空胞や p62 陽性封入体は低頻度であった. 1 例では筋病理と末梢神経病理で共に p62 陽性封入体が見られ, IPN と OPDM の合併が示された. *LRP12* 遺伝子のリピート伸長による末梢神経障害を LRP12-IPN と名付けた.

【結論及び考察】

LRP12-IPN は, IPN 患者 2,424 例のうち 44 例で認められた. 遺伝子検査診断がなされた 913 例の 4.8% に該当し, *LRP12* のリピート伸長は, 末梢神経障害の原因としてリピート伸長病の中では最多で, IPN 原因遺伝子全体では, *MFN2*, *GJB1*, *MPZ* に次いで 4 番目に多い原因であることが明らかになった.

LRP12-IPN は, 慢性の経過を示し, 四肢の筋力低下と筋萎縮を認め, 特に CT や MRI では下腿後面筋の萎縮が顕著であることは LRP12-OPDM と同様であった. 一方で, OPDM に特徴的な眼咽頭の症状は, LRP12-IPN では既報告の OPDM と比し有意に少なかった ($p < 0.0001$). 針筋電図・筋病理は神経原性変化を強く示唆していた. LRP12-IPN では臨床所見・電気生理所見共に感覚神経障害の頻度が低く運動神経障害が高頻度で, 臨床病型は CMT が 20%, 運動神経障害が主体の HMN が 80% であった. また全例で正中神経の運動神経伝導速度が 38m/s を超えており, 軸索型の IPN に分類される所見であった. 今回の LRP12-IPN 44 例と, 我々が過去に報告した *NOTCH2NLC* 遺伝子を原因遺伝子とする IPN (*NOTCH2NLC*-IPN) 21 例を比較した. *NOTCH2NLC*-IPN では軸索型/中間型の CMT の病型をとることが多いが, LRP12-IPN では軸索型の CMT をとることが多く, 同じ OPDM の原因遺伝子でも末梢神経障害については異なる臨床型をとることが明らかになった. また LRP12-IPN では LRP12-OPDM より有意にリピート数が短く, 既報告の OPDM ではリピート数は 162.33 ± 76.92 回であるが, *LRP12* による IPN は 76.41 ± 17.97 回であり, OPDM と比較して有意にリピート数が小さかった ($p < 0.0001$). 非翻訳領域のリピートの長さが表現型に影響するメカニズムは不明であるが, 脆弱 X 症候群の原因遺伝子である *FMR1* では, リピート数に応じて, 機能喪失を起こすか毒性獲得を起こすかが変化し, 異なる表現型をきたすことが報告されている. *LRP12* の既報でもリピートの長い症例では機能喪失を, リピート数の短い症例では毒性獲得を起こしている可能性が示されており, LRP12-IPN でも同様の機序が働いている可能性がある.

結論として, 本研究により *LRP12* 遺伝子のリピート伸長が IPN の原因になることを明らかにし, *LRP12* を原因遺伝子とする疾患の表現系を拡張した. これまで遺伝子の重複や点変異が主体と考えられていた IPN の中で, *LRP12* のリピート伸長が 4 番目に多い原因遺伝子であることを特定し, IPN の発症においてリピート伸長がより重要な役割を持つことを明らかにした.

