

常染色体優性遺伝性成人発症脱髄性白質脳症における

*LMNB1* コピー数解析と分子臨床遺伝学的検討

目崎 直実

新潟大学大学院医歯学総合研究科

神経内科学分野

(指導：小野寺 理教授)

Autosomal Dominant Adult-Onset Demyelinating Leukodystrophy: Identification of  
Copy Number Variations of *LMNB1* and Clinical Characteristics

Naomi MEZAKI

*Department of Neurology, Niigata University*

*Graduate School of Medical and Dental Science*

*(Director: Prof. Osamu ONODERA)*

別刷請求先：〒951-8585 新潟市中央区旭町通 1-757

新潟大学脳研究所神経内科

目崎 直実

**Reprint requests to:** Naomi MEZAKI

Department of Neurology, Brain Research Institute, Niigata University

1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,

Niigata 951-8585 Japan

## 要旨

近年、遺伝子検索により確定診断が可能となった成人発症大脳白質脳症が増えて  
いる。Autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD) は、常染  
色体優性遺伝を呈する成人発症大脳白質脳症の一病型である。ADLD は、中年期以  
降に自律神経障害から発症し、錐体路徴候や失調を呈する。ADLD の原因として  
*Lamin B1 (LMNB1)* 重複と *LMNB1* 上流のエンハンサー領域の欠失が報告されてい  
る。*LMNB1* は核内膜の裏打ちタンパクである Lamin B1 をコードする。いずれのタ  
イプの変異においても *LMNB1* の発現が亢進することが示されており、Lamin B1 タ  
ンパクの過剰産生が ADLD の病態機序として考えられている。

本研究は、成人発症大脳白質脳症患者を対象に *LMNB1* および周辺領域のコピー数  
解析を行い、本邦 ADLD の臨床遺伝学的特徴を明らかにすることを目的とした。原  
因が未同定の成人発症大脳白質脳症の 99 例を対象とし、*LMNB1* とその上流領域の  
遺伝子コピー数を TaqMan プローブによるリアルタイム PCR 法で解析した。この解  
析により *LMNB1* 重複を 3 家系 4 例同定した。ゲノム上の重複範囲は 153 kb, 220  
kb, 221 kb であり、既報の *LMNB1* 重複範囲と異なっていた。また *LMNB1* 上流のエ  
ンハンサー領域の欠失を 1 家系 2 例同定した。この家系の欠失範囲は 249 kb であ  
り、既報 1 家系で示された欠失範囲 (660 kb) よりも狭い領域の欠失を認めた。次  
に、コピー数変化を示した症例の末梢血白血球から全 RNA を抽出し、*LMNB1* 発現  
量解析を行った。重複を示した 4 例の *LMNB1* 発現量は対照者と比較して有意に増加  
していた。一方、欠失例では *LMNB1* の発現量に有意な差を認めなかった。*LMNB1*  
重複を伴う 6 例の平均発症年齢は  $46.3 \pm 7.6$  歳であった。重複例は起立性低血圧、錐  
体路徴候、運動失調が全例で出現しており、既報例と類似していた。欠失例では自  
律神経障害を認めなかった点が重複例と異なっていた。本研究で同定した ADLD  
は、既報例に比して認知機能障害が重複例・欠失例ともに高頻度であった。MRI で  
は左右対称性の大脳白質と中小脳脚の信号変化を認め、側脳室近傍白質は比較的保

たれていた。本研究で示された ADLD の臨床・画像的特徴は成人発症大脳白質脳症患者の鑑別診断と効率的な遺伝子解析の施行に有用であると思われた。

キーワード：大脳白質脳症，白質ジストロフィー，成人発症，コピー数多型, Lamin B1 (LMNB1)，常染色体優性，Autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD)

## はじめに

成人発症大脳白質脳症の原因は脳血管障害，脱髄，炎症，感染，腫瘍，外傷など多岐にわたり，診断を確定するのは容易ではない．しかし，近年，遺伝子診断により確定診断が可能となった成人発症大脳白質脳症が増えてきている．Autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD) は，常染色体優性遺伝を呈する成人発症大脳白質脳症の一病型である．ADLD の平均発症年齢は  $46.4 \pm 5.0$  歳である<sup>1)-14)</sup>．典型的な臨床経過は，中年期以降に自律神経障害から発症し，錐体路徴候や失調が出現する<sup>15)</sup>．認知機能は正常あるいは軽度の障害のことが多い<sup>7) 15)</sup>．MRI 画像所見の特徴は，大脳白質の信号変化に加え，錐体路や中小脳脚病変を認める<sup>1) 15)</sup>．病理学的所見としては，中枢神経系の炎症を伴わない脱髄を認める点の特徴的である<sup>2) 6) 16)</sup>．

2006 年，*LMNB1* 重複が ADLD 4 家系において同定された<sup>17)</sup>．遺伝子重複は，*LMNB1* 全遺伝子領域を含んだ 169 kb，341 kb，150 kb の範囲とされた<sup>17)</sup>．現在までに，26 家系の *LMNB1* 重複を伴う ADLD が世界から報告されている<sup>9) 10) 18)</sup>．さらに 2015 年，*LMNB1* プロモーター上流領域の 660 kb に及ぶ欠失が ADLD の原因となることがイタリアの 1 家系で報告された<sup>19)</sup>．

本研究は，原因遺伝子が未同定である成人発症大脳白質脳症患者を対象に *LMNB1* 関連 ADLD を同定することを目的に *LMNB1* とその上流領域の遺伝子コピー数解析を行った．この解析により *LMNB1* 関連 ADLD の 4 家系 6 例を同定し，分子臨床遺伝学的な特徴を明らかにした．

## 方法

### 対象

成人発症大脳白質脳症と臨床的に診断され，*colony stimulating factor 1 receptor* 変異が陰性であった 99 例を対象とした．遺伝子解析を行う際には，患者または代諾者か

らインフォームド・コンセントを取得した。本研究は新潟大学の遺伝子倫理委員会の承認を受けた。

### 遺伝子コピー数の確定

ゲノム DNA は患者の末梢血白血球から QIAamp DNA Blood Maxi Kit (QIAGEN) を用いて抽出した。TaqMan Copy Number Assays (Thermo Fisher Scientific) を用いて遺伝子コピー数解析を行った。LMNB1 の exon 3 (Hs02537023\_cn), exon 6 (Hs00696436\_cn), exon 10 (Hs00579415\_cn) に TaqMan プローブを設定した。LMNB1 上流のゲノム領域においては PHAX exon 5 (Hs0092512\_cn), ALDH7A1 exon 8 (Hs00222439\_cn), GRAMD3 exon 2 (Hs01106540\_cn) に TaqMan プローブを設定した。定量はリアルタイム polymerase chain reaction (PCR) 法で、TaqMan Copy Number Assays のプロトコルに準じ、ABI 7900HT (Applied Biosystems) を用いて行った。LMNB1 の相対量を CopyCaller Software v2.0 (Applied Biosystems) を用い、比較 Ct 法で解析した。基準となるゲノム DNA サンプルはコントロール DNA CEPH 1347-02 を、内在性コントロールは TaqMan Copy Number Reference Assay, Human, RNaseP を用いて算出した。LMNB1 及びその周辺領域の遺伝子コピー数変動領域を Affymetrix CytoScan HD Array により決定した。

### 遺伝子発現量解析

患者の末梢静脈血を PAXgene RNA 採血管 (BD Biosciences) を用い採取し、PAXgene Blood RNA Kit (QIAGEN) により全 RNA を抽出した。抽出した RNA は Bioanalyzer 2100 を用い RNA integrity number (RIN) を測定した。RIN 7 以上を示した RNA を用い、SuperScrip IV VILO Master Mix (Thermo Fisher Scientific) を用い相補的 DNA を合成した。遺伝子発現量は、LMNB1 の 2 ヶ所 (Hs01059207\_m1, Hs01059210\_m1) に設計した TaqMan Gene Expression Assays (Thermo Fisher Scientific)

を用いて定量 PCR を行い、ABI 7900HT (Applied Biosystems) を用いて測定した。*ACTB* (Hs99999903\_m1) または *TBP* (Hs99999910\_m1) を内在性コントロールとして補正し、*LMNBI* 相対的発現量を算出した。年齢を適合させた 7 人の対照群の平均を 1 に設定した比較 Ct 法を用いた。データは中央値±標準偏差として提示し、統計的解析は Mann-Whitney U 検定を用いた。

## 臨床症状の解析

遺伝子解析により *LMNBI* 関連 ADLD と診断した 4 家系 6 例 (図 1) の臨床像を後方視的に確認した。患者の背景情報、初発症状、臨床症状として自律神経障害、錐体路徴候、失調の有無を診療録を用いて検索した。認知機能は Mini-Mental State Examination (MMSE)、Montreal Cognitive Assessment (MoCA) により評価した。1.5 テスラ MRI を用い、T1 強調画像 (T1 weighted image: T1WI)、T2 強調画像 (T2 weighted image: T2WI)、fluid attenuated inversion recovery (FLAIR)、拡散強調画像 (diffusion weighted image: DWI)、Apparent diffusion coefficient (ADC) により脳病変を評価した。

## 結果

### *LMNBI* 重複変異

99 例の成人発症大脳白質脳症患者を対象に *LMNBI* の 3 つの領域に設計した TaqMan プローブを用い、*LMNBI* の遺伝子コピー数を解析した。基準となるゲノム DNA (CEPH 1347-02) と比較し、対照者の *LMNBI* コピー数は約 2 を示した。99 例の患者群の中で、3 家系 4 例において *LMNBI* コピー数が約 3 となり、*LMNBI* 重複の存在が示唆された (図 2A)。

次に、*LMNBI* 重複を認めた 3 家系において、Affymetrix CytoScan HD Array を用いてゲノム重複範囲を決定した。3 家系とも *LMNBI* の全遺伝子領域と *MARCH3* の一

部の領域が重複していた（図 3）。ゲノム DNA の重複範囲は、家系 I で 153 kb、家系 II で 220 kb、家系 III で 221 kb であった。

### ***LMNBI* の上流領域欠失変異**

*LMNBI* 上流領域の欠失が ADLD の原因となりうることが既報により報告されているため<sup>19)</sup>、*LMNBI* 重複を認めた 4 例を含む前述の 99 例を対象に *LMNBI* の上流領域の遺伝子コピー数を解析した。この解析により、*LMNBI* の上流に位置する *PHAX*、*ALDH7A1* を含む領域で欠失を 1 家系 2 例において認めた（図 2B）。Affymetrix CytoScan HD Array を用いた解析により、本家系の欠失範囲は 249 kb であることが示され、既報例の欠失範囲よりも狭い領域であった（図 3）<sup>19)</sup>。

### ***LMNBI* 発現量解析**

*LMNBI* コピー数の変化を示した ADLD 患者の末梢血白血球由来の全 RNA を用い *LMNBI* 発現量を解析した。*LMNBI* 重複患者の *LMNBI* mRNA の相対的発現量は、7 人の対照群と比較して有意に増加していた（図 4）。*LMNBI* 転写産物を検出する 2 つのアンプリコンを解析し、*ACTB* 補正で 3.66 倍（ $p < 0.0001$ ）および 4.14 倍（ $p = 0.0106$ ）の増加、*TBP* 補正で 3.81 倍（ $p = 0.0115$ ）および 4.30 倍（ $p = 0.0061$ ）の増加を認めた。*LMNBI* 上流領域の欠失例では、健常対照群と比較し、末梢血白血球における mRNA 発現量の有意な増加は認めなかった。

### **臨床症状**

本研究で同定した *LMNBI* 関連 ADLD の 4 家系のうち、3 家系において常染色体優性遺伝形式に矛盾しない家族内類症を認めた（図 1）。家系 I では明らかな家族内発症を認めなかった。

ADLD の 4 家系 6 例の臨床症状を表 1 にまとめた。*LMNBI* 重複を伴う 3 家系 4 例



の平均発症年齢は 50.3 歳（44~55 歳）であった。初発症状として歩行障害が多く、ふらつきを初発症状とする症例もあった。起立性低血圧、排尿障害、便秘などの自律神経障害や錐体路徴候、運動失調、認知機能障害は全例で認められた（表 1）。

*LMNBI* 上流領域欠失 1 家系 2 例の発症年齢は 34 歳および 43 歳であった。錐体路徴候、運動失調、認知機能障害は *LMNBI* 重複症例と同様に認めたが、自律神経障害は認めなかった。

## MRI 画像

全例において大脳白質の両側性の信号異常が T2WI/FLAIR により検出された（図 5）。側脳室近傍の大脳白質の信号変化は比較的軽度に留まっていた。中小脳脚は高信号を呈しており、middle cerebellar peduncle (MCP) サインを認めた。*LMNBI* 上流領域欠失例では大脳白質病変が前頭葉や側頭葉前部を含む広い範囲に認められた。FLAIR で高信号を呈した領域は DWI でも高信号であり、同部位は ADC で等信号あるいは高信号を呈していた。

## 考察

成人発症大脳白質脳症の 99 名を対象に *LMNBI* 及び周辺領域の遺伝子コピー数を検索することにより 4 家系 6 例の日本人 *LMNBI* 関連 ADLD 患者を見出した。*LMNBI* 変異が確認されている ADLD は本邦で 1 家系の報告がある<sup>17)</sup>。本研究により新規の *LMNBI* 関連 ADLD 家系を同定し、その分子臨床遺伝学的な特徴を明らかにした。

本研究で同定した *LMNBI* 重複範囲は家系 I 153 kb、家系 II 220 kb、家系 III 221 kb であった。ゲノム重複が生じている範囲は、既報の *LMNBI* 重複の範囲とは異なっており<sup>17)20)</sup>、新規の重複変異であることが示唆された。ゲノムの重複範囲は既報例と

異なっていたが、*LMNB1* 全領域に及んでいる点は共通していた。家系 II, III は、重複範囲が 220 kb, 221 kb と類似していることから、同じ創始者を有する可能性が考えられた。*LMNB1* 重複を伴う患者の末梢血白血球由来 RNA を用いた解析により、重複例では *LMNB1* 発現が亢進していることを明らかにした (図 4)。また既報では、Lamin B1 タンパクが増加していることが明らかにされている<sup>1)4)8)17)19)20)</sup>。しかしながら、*LMNB1* 過剰発現が ADLD を引き起こす機序は未だ明確にはされていない。Lamin B1 は核内膜を裏打ちするタンパクの一つであり、核をもつ全ての細胞に存在している。ADLD のモデルとなりうる *LMNB1* を過剰発現するトランスジェニックマウスにおいて、加齢とともに中枢神経系の脱髄が生じたという報告がある<sup>21)</sup>。このマウスの脳由来の RNA を用いた網羅的な発現解析により、ミエリンの主要な構成成分である脂質やコレステロール合成に関わる遺伝子発現量の減少が明らかにされている<sup>21)</sup>。このことから、*LMNB1* が過剰発現するとミエリン合成が抑制され ADLD 発症に至る機序が考えられている。

本研究において *LMNB1* 上流領域欠失による ADLD の 1 家系を見出した。*LMNB1* 上流領域欠失はイタリア人 1 家系の報告がある<sup>19)</sup>。既報例におけるゲノム欠失範囲は 660 kb であり、本家系 IV の欠失範囲は 249 kb とより狭い領域であった。既報の欠失例では、*LMNB1* mRNA 発現量が患者脳において増加していることが示されている<sup>19)</sup>。この機序として、*PHAX* と *ALDH7A1* の間に存在し、遺伝子間の干渉を防ぐためのインシュレーターと本来 *LMNB1* に作用するエンハンサー (Enh-A) が欠失し、本来機能しない別のエンハンサー (Enh-B) が作用することにより、*LMNB1* の発現亢進が生じる可能性が考えられている (図 3)<sup>19)</sup>。本例と既報例で共通した 188 kb の欠失領域にはインシュレーターと Enh-A を含んでおり、この説を支持している。しかしながら、本例の末梢血白血球由来の RNA を用いた発現解析では、欠失を有する患者において *LMNB1* 発現の明らかな亢進は認めなかった。本例で *LMNB1* の発現亢進を認めなかった理由は不明であるが、解析した組織の違いに起因する可能性が

考えられる。ADLDは脳白質が病変の主座であり、病理学的にもオリゴデンドロサイトが主として障害される。非神経系においては、ADLDの病変は通常生じない。LMNB1は神経組織、とりわけオリゴデンドロサイトにおいてエンハンサーを介した発現調節がなされているのかもしれない。本例でもオリゴデンドロサイトを含む中枢神経系組織でのLMNB1発現量の解析が重要と考えられる。

次に、本症例で認めた臨床像について考察する。LMNB1重複例の臨床的特徴は、既報例<sup>1)-15)</sup>と類似しており、自律神経障害、錐体路徴候や運動失調を呈していた。認知機能障害の出現頻度は既報例では62.5%に認めており<sup>1)2)5)7)9)10)23)</sup>、本例では全例に認知機能障害を認めたことが特徴的であった。LMNB1上流領域欠失の既報例での特徴は、重複例と比較し発症年齢が遅く、自律神経障害と運動失調の頻度が低い点であった<sup>14)</sup>。本研究で同定した欠失例では自律神経障害を認めなかった点は合致していた。しかし、本例は重複例と比較し、発症年齢が若年であり、運動失調と認知機能障害を認めた点が既報と異なっていた。

既報例でのLMNB1関連白質脳症のMRI画像の特徴は、脳白質と中小脳脚の信号変化であり、本例でも同様の所見を認めた<sup>1)-6)8)12)14)15)</sup>。

今回の結果から、本邦においても複数のADLD家系が存在することが明らかとなった。本研究で示されたADLDの臨床・画像的特徴は成人発症脳白質脳症患者の鑑別診断と効率的な遺伝子解析の施行に有用と考える。

## 結論

原因未同定の成人発症脳白質脳症患者において、既報とは異なる範囲の重複および欠失変異を有するLMNB1関連ADLDの4家系を同定した。

## 謝辞

本研究をご指導いただきました新潟大学脳研究所 遺伝子機能解析学分野教授 池

内 健先生，論文をご高閲いただきました神経内科学分野教授 小野寺 理先生，また  
貴重な症例をご提供いただきました順天堂大学医学部附属静岡病院 脳神経内科 大  
垣 光太郎先生，河尻 澄宏先生，大熊 泰之先生，佐賀大学医学部 内科学講座 神経  
内科 江里口 誠先生，末次 南月先生，原 英夫先生，九州大学大学院医学研究院 神  
経内科 水野 裕理先生，山崎 亮先生，吉良 潤一先生，北野病院 神経内科 小松 研  
一先生，山崎 博輝先生に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) Schuster J, Sundblom J, Thuresson AC, Hassin-Baer S, Klopstock T, Dichgans M, Cohen OS, Raininko R, Melberg A, Dahl N: Genomic duplications mediate overexpression of lamin B1 in adult-onset autosomal dominant leukodystrophy (ADLD) with autonomic symptoms. *Neurogenetics* 12: 65-72, 2011.
- 2) Brussino A, Vaula G, Cagnoli C, Mauro A, Pradotto L, Daniele D, Di Gregorio E, Barberis M, Arduino C, Squadrone S, Abete MC, Migone N, Calabrese O, Brusco A: A novel family with Lamin B1 duplication associated with adult-onset leukoencephalopathy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 80: 237-240, 2009.
- 3) Potic A, Pavlovic AM, Uziel G, Kozic D, Ostojic J, Rovelli A, Sternic N, Bjelan M, Sarto E, Di Bella D, Taroni F: Adult-onset autosomal dominant leukodystrophy without early autonomic dysfunctions linked to lamin B1 duplication: a phenotypic variant. *J Neurol* 260: 2124-2129, 2013.
- 4) Columbaro M, Mattioli E, Maraldi NM, Ortolani M, Gasparini L, D'Apice MR, Postorivo D, Nardone AM, Avnet S, Cortelli P, Liguori R, Lattanzi G: Oct-1 recruitment to the nuclear envelope in adult-onset autosomal dominant leukodystrophy. *Biochim Biophys Acta* 1832: 411-420, 2013.
- 5) Dos Santos MM, Grond-Ginsbach C, Aksay SS, Chen B, Tchatchou S, Wolf NI, van der Knaap MS, Grau AJ: Adult-onset autosomal dominant leukodystrophy due to LMNB1 gene duplication. *J Neurol* 259: 579-581, 2012.
- 6) Eldridge R, Anayiotos CP, Schlesinger S, Cowen D, Bever C, Patronas N, McFarland H: Hereditary adult-onset leukodystrophy simulating chronic progressive multiple sclerosis. *N Engl J Med* 311: 948-953, 1984.
- 7) Schwankhaus JD, Katz DA, Eldridge R, Schlesinger S, McFarland H: Clinical and pathological features of an autosomal dominant, adult-onset leukodystrophy simulating

chronic progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 51: 757-766, 1994.

8) Melberg A, Hallberg L, Kalimo H, Raininko R: MR characteristics and neuropathology in adult-onset autosomal dominant leukodystrophy with autonomic symptoms. *AJNR Am J Neuroradiol* 27: 904-911, 2006.

9) Dai Y, Ma Y, Li S, Banerjee S, Liang S, Liu Q, Yang Y, Peng B, Cui L, Jin L: An LMNB1 Duplication Caused Adult-Onset Autosomal Dominant Leukodystrophy in Chinese Family: Clinical Manifestations, Neuroradiology and Genetic Diagnosis. *Front Mol Neurosci* 10: 215, 2017.

10) Sandoval-Rodríguez V, Cansino-Torres MA, Sáenz-Farret M, Castañeda-Cisneros G, Moreno G, Zúñiga-Ramírez C: Autosomal dominant leukodystrophy presenting as Alzheimer's-type dementia. *Mult Scler Relat Disord* 17: 230-233, 2017.

11) Brunetti V, Ferilli MA, Nociti V, Silvestri G: Teaching NeuroImages: Autosomal dominant leukodystrophy in a sporadic case. *Neurology* 83: e121, 2014.

12) Flanagan EP, Gavrilova RH, Boeve BF, Kumar N, Jelsing EJ, Silber MH: Adult-onset autosomal dominant leukodystrophy presenting with REM sleep behavior disorder. *Neurology* 80:118-120, 2013.

13) Quattrocchio G, Leombruni S, Vaula G, Bergui M, Riva A, Bradac GB, Bergamini L: Autosomal dominant late-onset leukoencephalopathy. Clinical report of a new Italian family. *Eur Neurol* 37: 53-61, 1997.

14) Brussino A, Vaula G, Cagnoli C, Panza E, Seri M, Di Gregorio E, Scappaticci S, Camanini S, Daniele D, Bradac GB, Pinessi L, Cavalieri S, Grosso E, Migone N, Brusco A: A family with autosomal dominant leukodystrophy linked to 5q23.2-q23.3 without lamin B1 mutations. *Eur J Neurol* 17: 541-549, 2010.

15) Finnsson J, Sundblom J, Dahl N, Melberg A, Raininko R: LMNB1-related autosomal-dominant leukodystrophy: Clinical and radiological course. *Ann Neurol* 78: 412-425, 2015.

- 16) Alturkustani M, Sharma M, Hammond R, Ang LC: Adult-onset leukodystrophy: review of 3 clinicopathologic phenotypes and a proposed classification. *J Neuropathol Exp Neurol* 72: 1090-1103, 2013.
- 17) Padiath QS, Saigoh K, Schiffmann R, Asahara H, Yamada T, Koeppen A, Hogan K, Ptáček LJ, Fu YH: Lamin B1 duplications cause autosomal dominant leukodystrophy. *Nat Genet* 38: 1114-1123, 2006.
- 18) Nahhas N, Sabet Rasekh P, Vanderver A, Padiath Q: Autosomal Dominant Leukodystrophy with Autonomic Disease. *GeneReviews* , 2016.
- 19) Giorgio E, Robyr D, Spielmann M, Ferrero E, Di Gregorio E, Imperiale D, Vaula G, Stamoulis G, Santoni F, Atzori C, Gasparini L, Ferrera D, Canale C, Guipponi M, Pennacchio LA, Antonarakis SE, Brussino A, Brusco A: A large genomic deletion leads to enhancer adoption by the lamin B1 gene: a second path to autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy (ADLD). *Hum Mol Genet* 24: 3143-3154, 2015.
- 20) Giorgio E, Rolyan H, Kropp L, Chakka AB, Yatsenko S, Di Gregorio E, Lacerenza D, Vaula G, Talarico F, Mandich P, Toro C, Pierre EE, Labauge P, Capellari S, Cortelli P, Vairo FP, Miguel D, Stubbolo D, Marques LC, Gahl W, Boespflug-Tanguy O, Melberg A, Hassin-Baer S, Cohen OS, Pjontek R, Grau A, Klopstock T, Fogel B, Meijer I, Rouleau G, Bouchard JP, Ganapathiraju M, Vanderver A, Dahl N, Hobson G, Brusco A, Brussino A, Padiath QS: Analysis of LMNB1 duplications in autosomal dominant leukodystrophy provides insights into duplication mechanisms and allele-specific expression. *Hum Mutat* 34: 1160-1171, 2013.
- 21) Rolyan H, Tyurina YY, Hernandez M, Amoscato AA, Sparvero LJ, Nmezi BC, Lu Y, Estécio MR, Lin K, Chen J, He RR, Gong P, Rigatti LH, Dupree J, Bayır H, Kagan VE, Casaccia P, Padiath QS: Defects of Lipid Synthesis Are Linked to the Age-Dependent Demyelination Caused by Lamin B1 Overexpression. *J Neurosci* 26: 12002-12017, 2015.
- 22) Heng MY, Lin ST, Verret L, Huang Y, Kamiya S, Padiath QS, Tong Y, Palop JJ, Huang

EJ, Ptáček LJ, Fu YH: Lamin B1 mediates cell-autonomous neuropathology in a leukodystrophy mouse model. *J Clin Invest* 123: 2719-2729, 2013.

23) Meijer IA, Simoes-Lopes AA, Laurent S, Katz T, St-Onge J, Verlaan DJ, Dupré N, Thibault M, Mathurin J, Bouchard JP, Rouleau GA: A novel duplication confirms the involvement of 5q23.2 in autosomal dominant leukodystrophy. *Arch Neurol* 65: 1496-1501, 2008.



## 図の説明

### 図1 *LMNB1* 関連 ADLD 患者の家系図.

家系 I から IV の家系図を示す.

### 図2 *LMNB1* とその上流領域の遺伝子コピー数解析.

(A) *LMNB1* の exon 3, exon 6, exon 10 に TaqMan プローブを設計し, 遺伝子コピー数を解析した. 症例 1 から 4 において *LMNB1* コピー数が約 3 を示し, 重複の存在が示唆された. 症例 5 と 6 のコピー数は約 2 を示した.

(B) *LMNB1* 上流にある 3 つの遺伝子 (*PHAX*, *ALDH7A1*, *GRAMD3*) のコピー数を TaqMan プローブを用いて解析した. 症例 5 と 6 において *LMNB1* の上流 *PHAX*, *ALDH7A1* のコピー数は約 1 を示し, この領域の欠失が示唆された. *GRAMD3* のコピー数変化はみられなかった.

### 図3 *LMNB1* 周辺のコピー数変化のゲノム上の範囲の決定.

Affymetrix CytoScan HD Array の結果を示す. 家系 I から IV において遺伝子コピー数変化を示したゲノム領域を, UCSC ゲノムブラウザ (アセンブリ GRCh37/hg19) を参照して呈示する. *LMNB1* のエンハンサー A (Enh-A) および B (Enh-B) を矢頭で, 既報<sup>19)</sup>の *LMNB1* 上流欠失領域を点線で示す.

### 図4 *LMNB1* mRNA 発現量解析.

*LMNB1* に 2 つのプローブを設計し, *LMNB1* mRNA 相対的発現量を解析した. 内在性コントロールとして *ACTB* (左) または *TBP* (右) で補正し, 対照群 7 人の発現量を基準とした. 統計的解析は Mann-Whitney U 検定を用い, 中央値±標準偏差を示した.

(A) *LMNB1* (Hs01059207\_m1) 測定, *ACTB* (Hs99999903\_m1) で補正.

(B) *LMNBI* (Hs01059207\_m1) 測定, *TBP* (Hs99999910\_m1)で補正.

(C) *LMNBI* (Hs01059210\_m1) 測定, *ACTB* (Hs99999903\_m1)で補正.

(D) *LMNBI* (Hs01059210\_m1) 測定, *TBP* (Hs99999910\_m1)で補正.

図5 *LMNBI* 関連 ADLD 患者の MRI 画像.

T1WI, FLAIR, DWI を示す.

(A) 症例 1. 家系 I. *LMNBI* 重複例. 56 歳女性.

(B) 症例 2. 家系 II. *LMNBI* 重複例. 57 歳男性.

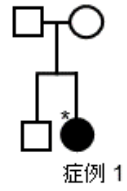
(C) 症例 4. 家系 III. *LMNBI* 重複例. 70 歳女性.

(D) 症例 5. 家系 IV. *LMNBI* 上流欠失例. 50 歳女性.

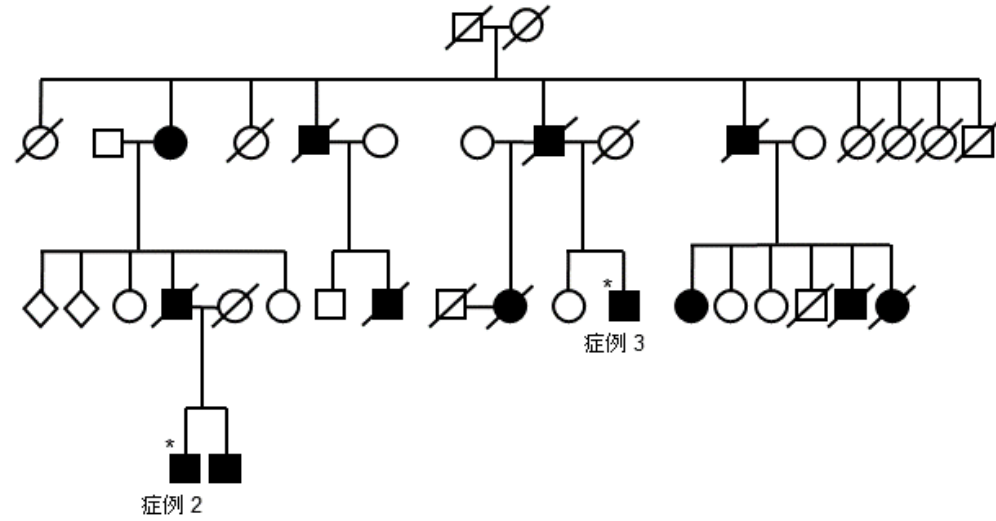
(E) 症例 6. 家系 IV. *LMNBI* 上流欠失例. 42 歳男性.

図1

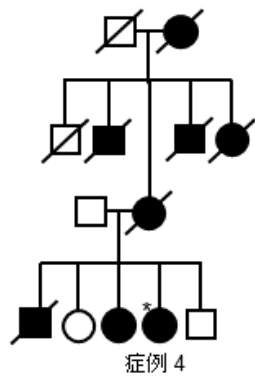
家系I



家系II



家系III



家系IV

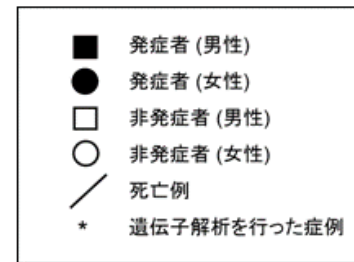
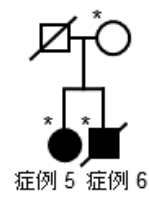


図2

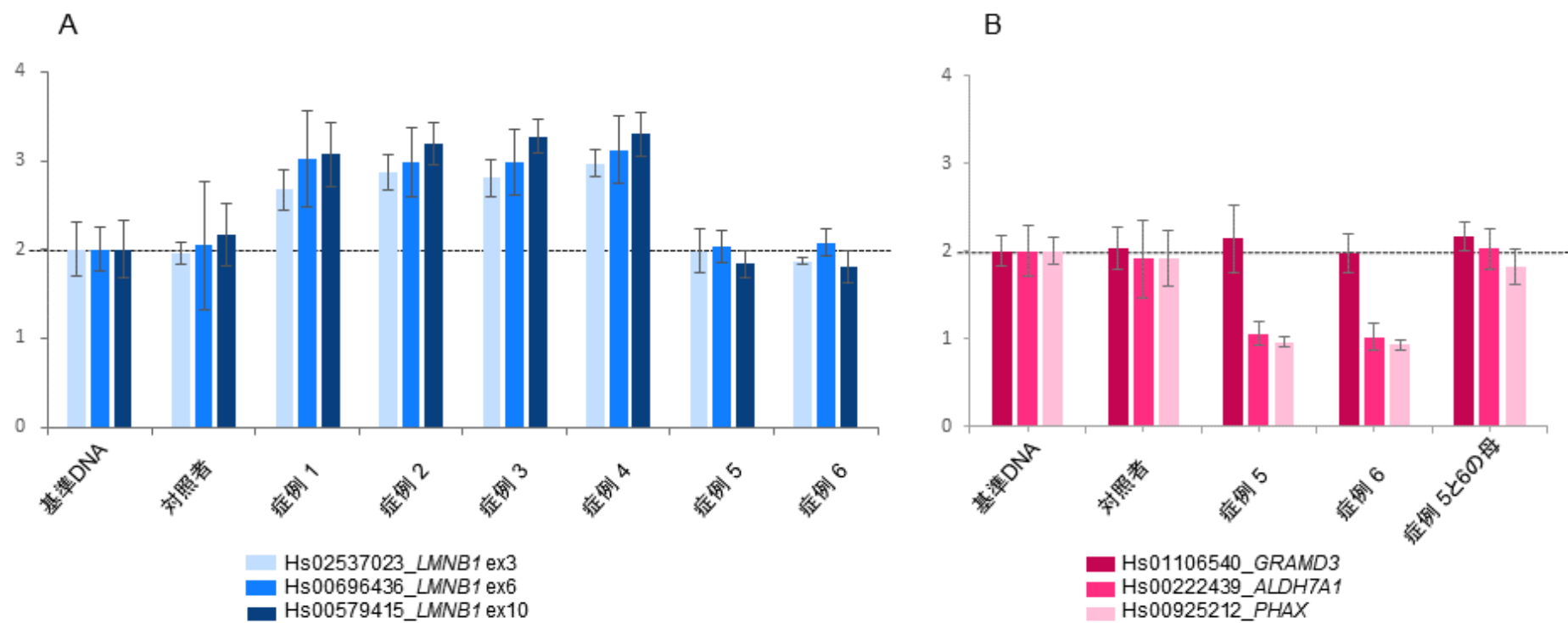


图3

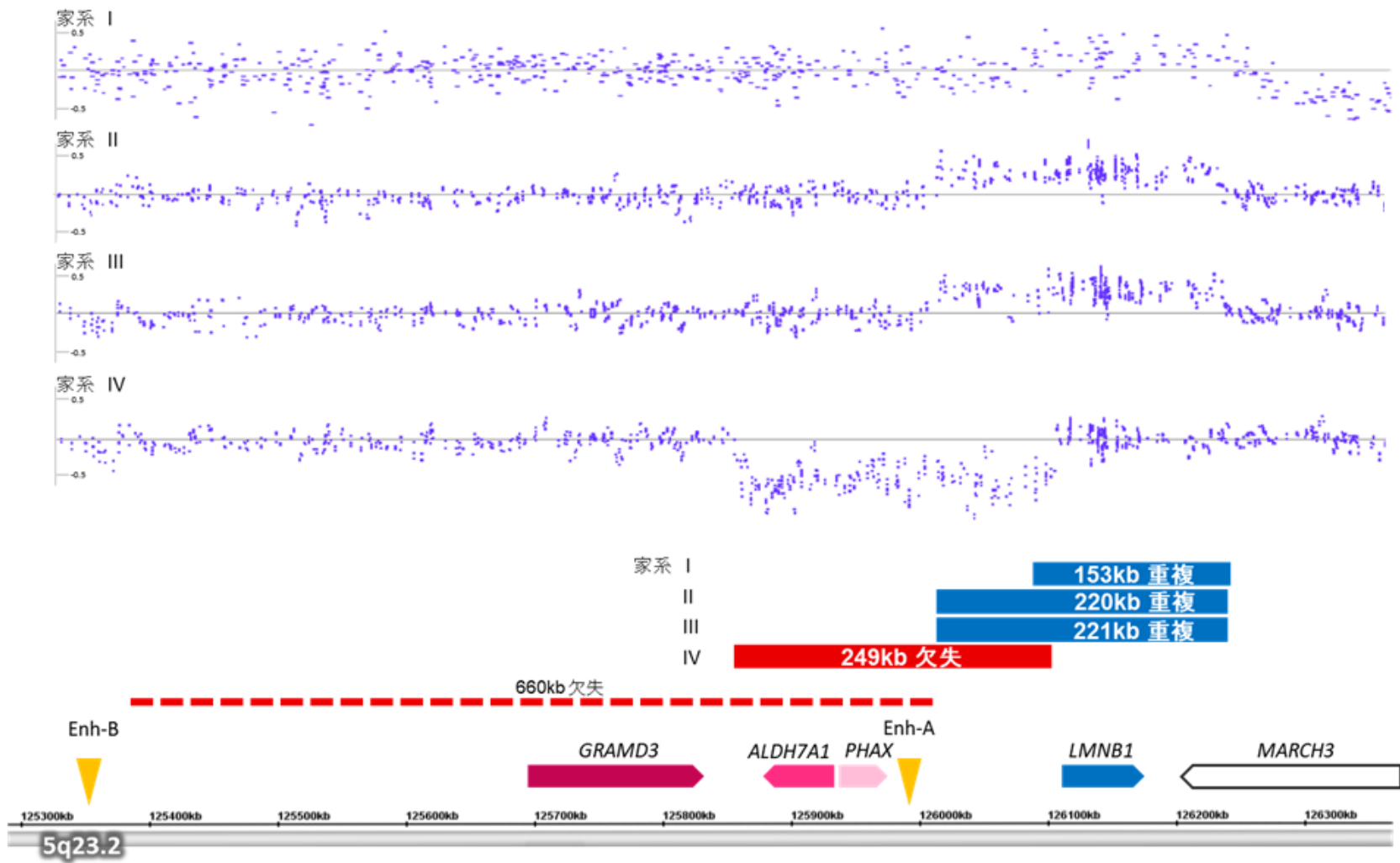


图4

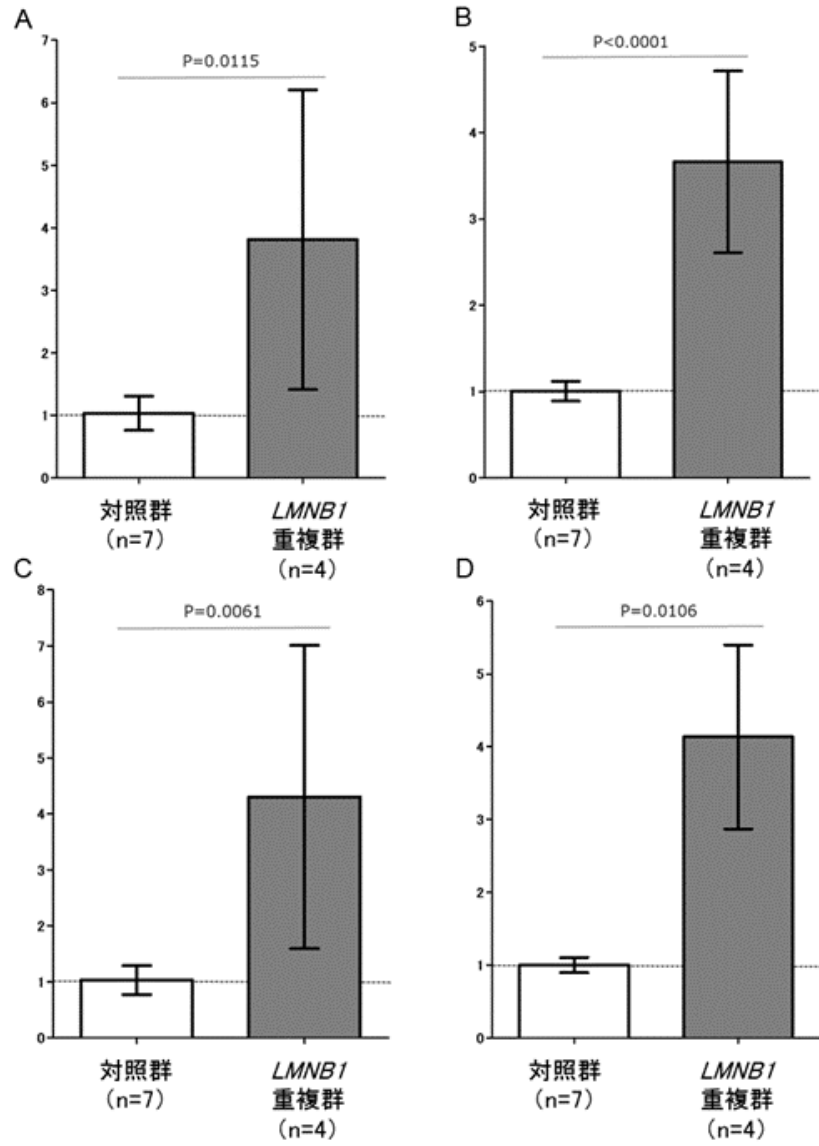


图5

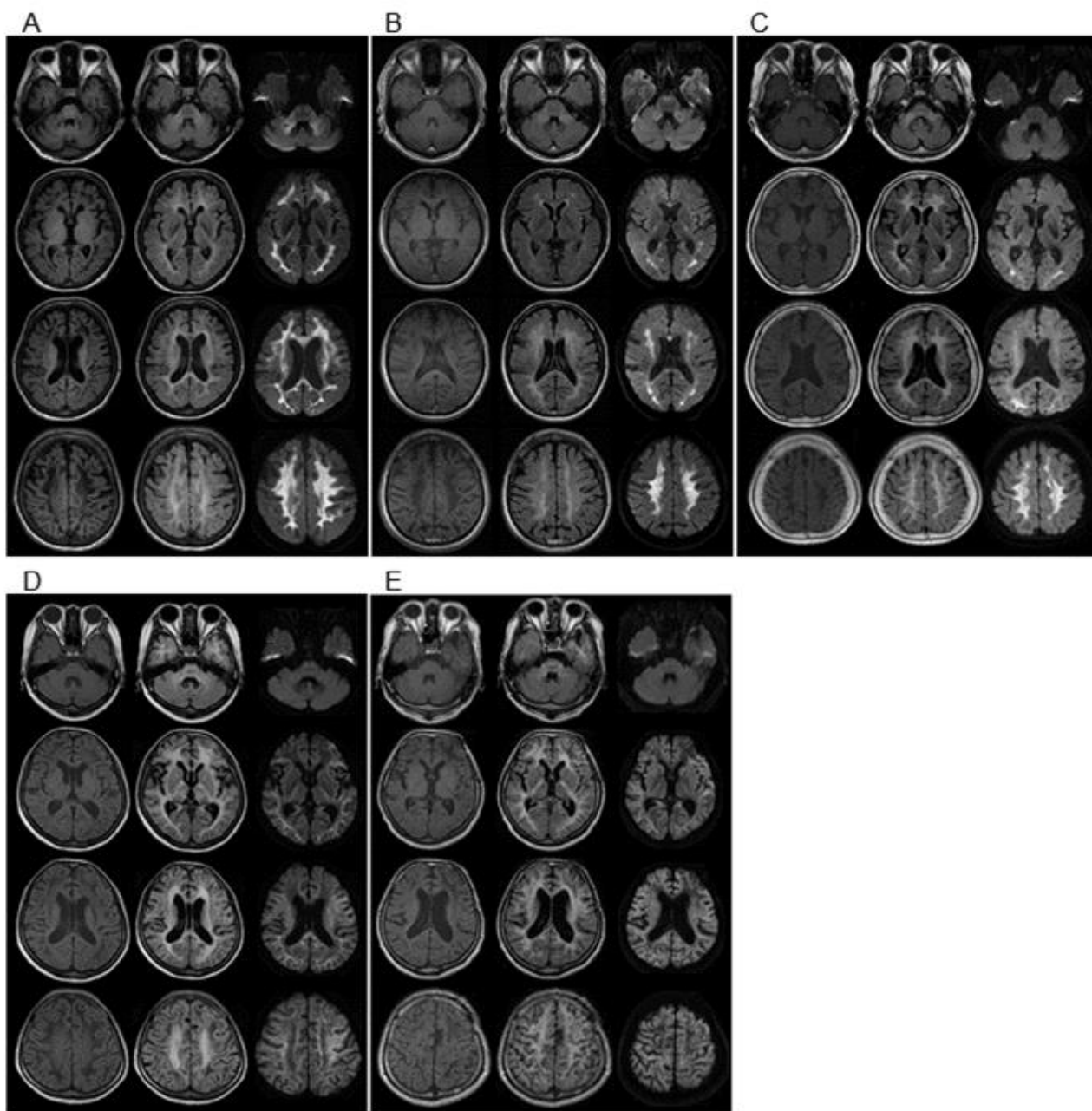


表1

症例	家系	LMNB1	性別	家族歴	発症年齢(歳)	検査時年齢(歳)	初発症状	自律神経障害	錐体路徴候	失調	認知機能障害
1	I	重複	女	-	44	56	ふらつき	+	+	+	+ MMSE 23
2	II	重複	男	+	55	57	痙性歩行	+	+	+	+ MoCA 21
3	II	重複	男	+	52	67	歩行障害	+	+	+	+ MMSE 15
4	III	重複	女	+	50	70	歩行障害	+	+	+	+ MMSE 22
5	IV	上流欠失	女	+	43	50	構音障害, 筋力低下 認知機能障害	-	+	+	+ MMSE 9
6	IV	上流欠失	男	+	34	42*	歩行障害	-	+	+	+ MoCA 10

MMSE = Mini Mental State Examination; MoCA = Montreal Cognitive Assessment

\*45歳時に死亡