

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	目崎 直実
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 796 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	常染色体優性遺伝性成人発症脱髄性白質脳症における <i>LMNB1</i> 遺伝子コピー数解析と分子臨床遺伝学的検討
論文審査委員	主査 教授 竹林 浩秀 副査 教授 柿田 明美 副査 教授 小野寺 理

博士論文の要旨

【背景】

近年、遺伝子解析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おり、その一つに常染色体優性遺伝性成人発症脱髄性白質脳症 (Autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy: ADLD) がある。ADLD は *LMNB1* の遺伝子重複、あるいは *LMNB1* 上流エンハンサー領域の欠失を原因とすることが報告されている。

【目的】

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、本邦の *LMNB1* 関連 ADLD 家系を同定し、その臨床遺伝学的特徴を明らかにする。

【方法】

成人発症大脳白質脳症と臨床的に診断され、*CSF1R* 変異陰性の 99 例を対象とした。 *LMNB1* の exon 3, 6, 10 と、 *LMNB1* 上流のゲノム領域である *PHAX* exon 5, *ALDH7A1* exon 8, *GRAMD3* exon 2 に設計した TaqMan Copy Number Assays を用いてリアルタイム PCR を施行し、遺伝子コピー数を比較 Ct 法で解析した。遺伝子コピー数変動領域は Affymetrix CytoScan HD Array により決定した。

遺伝子コピー数変化を認めた症例に対し、遺伝子発現量解析を行った。患者の末梢静脈血から全 RNA を調整した。SuperScript IV VILO Master Mix を用い相補的 DNA を合成した。遺伝子発現量は、 *LMNB1* の 2 か所に設計した TaqMan Gene Expression Assays を用いリアルタイム PCR を施行した。 *ACTB* または *TBP* を内在性コントロールとし、 *LMNB1* 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 *LMNB1* 発現量の平均を 1 に設定し比較 Ct 法を用いた。

本研究で同定した *LMNB1* 関連 ADLD 症例の臨床像を後方視的に検討した。

【結果】

LMNB1 コピー数をリアルタイム PCR により決定し、3 家系 4 例において *LMNB1* 重複を同定した。ゲノム重複範囲は 3 家系とも *LMNB1* の全遺伝子領域と *MARCH3* の一部を含んでおり、それぞれ 153 kb, 220 kb, 221 kb の重複を認めた。 *LMNB1* 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。その欠失範囲は 249 kb であり、既報例の欠失範囲 (660 kb) よりも狭い領域であった。

遺伝子コピー数変化を呈した症例に対し遺伝子発現量解析を行った。 *LMNB1* 重複患者における

LMNB1 mRNA の相対的発現量は、健常対照群と比較して有意に増加していた。*LMNB1* 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 *LMNB1* の mRNA 発現量に有意な差は認めなかった。

LMNB1 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かった。自律神経障害、錐体路徴候、運動失調、認知機能障害は全例で認めた。*LMNB1* 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 *LMNB1* 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 画像では全例において大脳白質の両側性の信号異常を認め、中小脳脚病変を伴っていた。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。*LMNB1* 上流領域欠失例では前頭葉や側頭葉前部を含む広範囲な大脳白質病変を呈していた。

【考察】

LMNB1 関連 ADLD は日本からの 1 家系を含む 26 家系が世界から報告されている。本研究では、原因未同定の成人発症大脳白質脳症 99 例を対象に *LMNB1* 及びその周辺の遺伝子コピー数の解析を行い、4 家系 6 例の *LMNB1* 関連 ADLD を同定した。

本研究で同定した *LMNB1* 重複 3 家系の重複範囲は既報例とは異なっており、新規の重複変異と思われた。ゲノムの重複範囲は既報と異なっていたが、*LMNB1* 全領域を含んでいる点は 3 家系に共通していた。*LMNB1* 重複を伴う患者由来 RNA を用いた解析により、ADLD 患者では *LMNB1* 発現が亢進していることが示唆された。このことから、*LMNB1* 発現亢進が ADLD の病態に関与していることが想定される。しかしながら、ユビキタスに発現する *LMNB1* の発現亢進が大脳白質脳症を引き起こす機序は不明である。

LMNB1 上流欠失による ADLD は 1 家系の既報があるのみであり、本例は 2 家系目となる。本例の欠失範囲は既報例より狭い領域であった。*LMNB1* 上流欠失例における ADLD 発症の機序は、*PHAX* と *ALDH7A1* の間に存在している遺伝子間の干渉を防ぐためのインシュレーターと *LMNB1* に作用するエンハンサーが欠失し、本来機能しない別のエンハンサー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。しかしながら、*LMNB1* 上流欠失を示した 2 例の末梢血白血球 RNA を用いた解析では *LMNB1* 遺伝子発現量は増加していなかった。この結果は、*LMNB1* の発現調節機序に組織特異性がある可能性を示唆しており、中枢神経系における *LMNB1* 発現量の解析が今後重要と考えられた。

審査結果の要旨

本論文は、常染色体優性遺伝性成人発症脱髄性白質脳症 (Autosomal dominant adult-onset demyelinating leukodystrophy: ADLD) と臨床診断され、*CSF1R* 変異陰性の 99 例を対象として *LMNB1* および周辺領域のコピー数解析を行い、*LMNB1* の遺伝子重複を 3 家系 4 例 (*LMNB1* の全遺伝子領域と *MARCH3* の一部、それぞれ 153 kb, 220 kb, 221 kb)、あるいは *LMNB1* 上流エンハンサー領域の欠失を 1 家系 2 例 (*PHAX*, *ALDH7A1* を含む 249 kb) を同定した。これらの症例に対し、末梢静脈血における遺伝子発現解析を行い、重複患者における *LMNB1* mRNA の相対的発現量は有意に増加していること、しかし、上流の欠失例では、有意な差は認めないことを明らかにした。欠失例では、上流の *PHAX* と *ALDH7A1* の間に存在している遺伝子間の干渉を防ぐインシュレーターと *LMNB1* に作用するエンハンサーが欠失し、本来機能しない別のエンハンサーが *LMNB1* に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おり、このエンハンサーは細胞種特異性があることが示唆された。

本研究では、本邦における ADLD 99 例を対象に *LMNB1* 及びその周辺の遺伝子コピー数の解析を行い、4 家系 6 例の *LMNB1* 関連 ADLD を同定し、その臨床症状の特徴を明らかにした。ここに学位論文としての価値を認める。