

眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早発型失調症 (EAOH) の臨床病型と分子病態メカニズムの解明

横 関 明 男

新潟大学コア・ステーション医歯学系附置
臓器連関研究センター

Analysis for Clinical Features and Molecular Mechanism of Early onset Ataxia with Ocular Motor Apraxia and Hypoalbuminemia

Akio YOKOSEKI

Center for Inter-organ Communication Research
Graduate School of Medical and Dental Science
Niigata University

要 旨

脊髄小脳変性症は、小脳の神経細胞の変性、脱落による運動失調を呈する神経変性疾患の一群であり、孤発性、遺伝性のものに分類できる。劣性遺伝性の脊髄小脳変性症では、欧米ではフリードライヒ失調症が最も頻度が高いが、本邦ではフリードライヒ失調症は存在せず、フリードライヒ失調症と類似の運動症状を示し、眼球運動失行と低アルブミン血症を伴う早発型失調症 (EAOH) が最も頻度が高い。EAOH は、患者数は少なく稀な疾患であるが、臨床概念の確立、原因遺伝子 *aprataxin* の発見、アプラタキシン蛋白の機能解析と基礎研究から臨床まで多くの点で新潟大学の研究者が関わってきた疾患であり、本学の研究者の研究結果を中心に、本疾患を紹介させていただいた。

キーワード：EAOH, AOA1, *aprataxin*, genotype - phenotype correlation, single strand break repair

はじめに

脊髄小脳変性症 (spinocerebellar degeneration,

SCD) は、小脳の神経細胞の変性により運動失調を来す神経変性疾患の一群を示す。本疾患は厚生労働省の特定疾患であり、同研究事業の個人調査

Reprint requests to: Akio YOKOSEKI
Center for Inter-Organ Communication
Research Graduate School of Medical and
Dental Science Niigata University
1-757 Asahimachi - dori Chuo - ku,
Niigata 951-8510 Japan

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通1-757
新潟大学コア・ステーション医歯学系附置
臓器連関研究センター

横 関 明 男

票によると、患者数は全国で約34,000人である。SCDの原因疾患は様々で、最も頻度が高いのが孤発性である多系統萎縮症であり、患者数は、約10,000人である¹⁾。その他に遺伝性のSCDも存在し、遺伝性は優性遺伝、劣性遺伝の2群に分類できる。遺伝性SCDの中で、劣性遺伝形式のSCDの中で、本邦で最も頻度が高い疾患が、Early onset Ataxia with Ocular motor apraxia and Hypoalbuminemia, EAOH (OMIM: #208920)である。EAOHは、患者数は極めて少なく稀なSCDであるが、本疾患の臨床概念の確立、原因遺伝子 *aprataxin* の発見、アプラタキシン蛋白の機能解明など基礎から臨床に渡り、多くの分野で新潟大学の研究者が関わってきた疾患である。今回、本学の研究者の研究結果を中心に、難病である神経変性疾患への神経内科医の関わりを紹介させていただく。

EAOHの臨床概念の確立

欧米の教科書には、劣性遺伝のSCDでは、フリードライヒ失調症が最も頻度が高いと記載されている。フリードライヒ失調症は、小児期から思春期に体幹や四肢の失調で発症し、構音障害、腱反射の低下～消失、筋萎縮や筋力低下を認める。また脊椎の側弯や足変形、心肥大、糖尿病などを合併することを特徴としている。原因遺伝子は、第9染色体長腕の *frataxin* 遺伝子の第1イントロン上のGAAリピートの異常伸長により発症する²⁾。

本邦においては、かつてはフリードライヒ失調症の症例報告、病理所見などの記載が認められたが、現在では、*frataxin* 遺伝子変異を認めた症例は1例も報告されていない。つまり、フリードライヒ失調症に極めて類似の臨床型を示す劣性遺伝の若年発症の失調症が存在していたことを示している。新潟大学医学部附属病院にも、かつてそのような症例が検査入院していた。第1例目は、1976年に入院した入院時25歳の女性である。この症例は、小児期発症の小脳失調に加え不随意運動を認め、教授回診ではフリードライヒ失調症と毛細血管拡張性運動失調症のいずれかの可能性につい

て検討が行われていた。一方、主治医である原山尋実先生(現新潟県立がんセンター新潟病院 神経内科)は、いずれの疾患でも説明は難しく、「unclassified spinocerebellar degeneration (new type?)」と記載を残されていた。その後1978年に第2例目となる入院時27歳女性の症例の入院され、同じく原山先生が主治医をされていた。同患者でもフリードライヒ失調症と毛細血管拡張性運動失調症が鑑別疾患にあげられていたが、原山先生は、第1例目と第2例目が極めて類似の症例であることを指摘していた。いずれの症例においても、診療録には非常に丁寧に診察所見が記載されており、さらには眼球運動失行を疑わせる所見についても診療録には記載されていた。これらの診療録は、我々後輩に対して解決すべき課題を提示していた。

その後本邦を中心に、低アルブミン血症を合併しフリードライヒ失調症と類似の小児期発症の運動失調症の症例報告が相次いで認められ、福原信義先生(現上越総合病院 神経内科)らも、「Hereditary motor and sensory neuropathy associated with cerebellar atrophy」の病名で新たな疾患の可能性について報告した³⁾。また、田中一先生(現信楽園病院 神経内科)らは、全国から報告された低アルブミン血症を伴う若年発症の失調症患者の連鎖解析を行い、フリードライヒ失調症の原因遺伝子 *frataxin* が発見される以前に、本邦のフリードライヒ失調症類似の疾患は、欧米のフリードライヒ失調症とは遺伝子座が異なることを明らかとした。このことから本邦の低アルブミン血症を伴う若年発症の失調症は、フリードライヒ失調症とは異なる疾患であり、若年発症の運動失調に加え低アルブミン血症、高コレステロール血症、四肢に浮腫を伴うなどの特徴から本疾患を Early Onset Ataxia associated with HypoAlbuminemia, EOAHA と命名し⁴⁾、原因遺伝子の解明が本学脳研究所で継続された。



図1 アプラタキシン蛋白の構造と *aprataxin* 遺伝子変異部位
 図上段の数字は、N末からのアミノ酸の番号を示す。図下段は、新潟大学脳研究所神経内科で同定したEAOHの遺伝子変異変異の部位を示す。

原因遺伝子 *aprataxin* の発見と, genotype - phenotype correlation

2001年、本学脳研究所 神経内科で研究をされていた伊達英俊先生（現 東京大学 神経内科）、小野寺理先生（現 脳研究所 生命科学リソース研究センター）らにより、EOAHAと命名していた疾患の原因遺伝子が同定された⁵⁾。また、原因遺伝子が同定されるまでEOAHAとの異同が議論され、主に小児科領域で報告されてきた特異な眼球運動異常である眼球運動失行を伴う若年発症の運動失調症（Ataxia - oculomotor apraxia 1, AOA1）においても同遺伝子に異常があることが明らかとなった。そのことから、疾患名をEarly onset Ataxia with Ocular motor apraxia and Hypoalbuminemiaと改め、原因遺伝子名を眼球運動失行（ocular motor apraxia）のapraxiaから*aprataxin*と命名された⁵⁾。この時、私は神経内科に入局した年であり、同年にEAOHの患者さんの検査入院を2名担当する機会をいただいたことから、本疾患に興味を持ち、本疾患の臨床および基礎研究に進むきっかけとなった。

aprataxin 遺伝子の発見後、ヨーロッパや本邦を中心に、新規遺伝子変異の報告や、臨床症状の広がりについての報告を認めた。その中での議論の一つが、本疾患に遺伝子変異と臨床型との間の相関（genotype - phenotype correlation）が存在するか否かという点であった。我々の見解では、フ

レームシフト変異症例は、ミスセンス変異症例より重症であると考えていたが、他の施設からは genotype - phenotype correlation はないとの報告も認め⁶⁾⁷⁾、一定の見解は得られていなかった。

我々は全国から *aprataxin* 遺伝子検査の依頼を受け、遺伝子変異を有していた症例についての臨床情報を集積した。さらに一部の症例については、現地に伺い、直接患者さんを診察させていただく機会もいただいた。その結果、*aprataxin* 遺伝子発見から約9年間で、全国から39家系59症例の臨床情報を収集することができた。当施設で確認した遺伝子変異型は、図1に示す4種類であり、全39家系中、c.[689_690insT]；[689_690insT]が29家系（73%）で最も頻度が高かった。その次は、p.[Pro206Leu]；[Pro206Leu]が4家系（10%）であった。またc.[689_690insT]；[617C > T]が3家系（8%）、c.[689_690insT]；[840delT]、p.[Val263Gly]；[Val263Gly]、p.[Pro206Leu]；[Val263Gly]がそれぞれ1家系（3%）ずつ認められた。genotype - phenotype correlationの解析には、フレームシフト変異（c.[689_690insT]；[689_690insT]）41症例とミスセンス変異（p.[Pro206Leu]；[Pro206Leu]、p.[Val263Gly]；[Val263Gly]、p.[Pro206Leu]；[Val263Gly]）9症例との間で臨床症状について比較した。歩行障害の発症時期は、フレームシフト変異例では、90%以上が10歳代に発症するが、ミスセンス変異例では10歳代では50%しか歩行障害を発症せず、

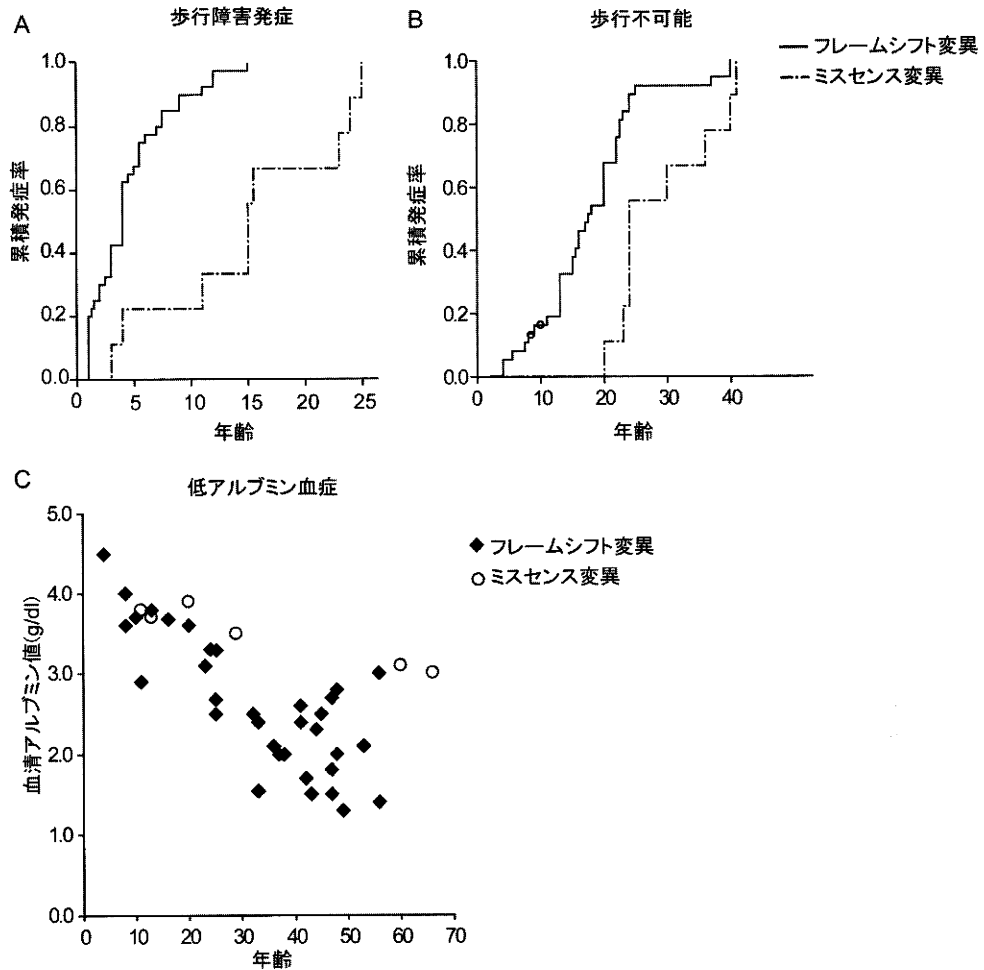


図2 フレームシフト変異とミスセンス変異の臨床症状の違い

- A 歩行障害発症の Kaplan - Meier 曲線. Log rank test, P = 0.0002.
 B 歩行障害不可能の Kaplan - Meier 曲線. Log rank test, P = 0.017. ○は歩行可能による打ち切り例を示す.
 C 血清アルブミン値の経時的変化.

フレームシフト変異例では歩行障害発症年齢がより若年であった(図2)。また歩行不可能となる時期についても、フレームシフト変異例では20歳前半で90%が歩行不可となったが、ミスセンス変異例では30歳で半数はまだ歩行が可能であり、運動機能についてはフレームシフト変異例はミスセンス変異症例より重症であった(図2)。血清アルブミン値については、フレームシフト変異

例は20歳以降には、3g/dl以下に低下したが、ミスセンス変異例は、血清アルブミン低下の程度はフレームシフト変異例より軽度であり、3g/dl程度までの低下であった(図2)。これらの検討から、本疾患はフレームシフト変異例はミスセンス変異例より若年発症、かつ臨床症状が重症であり、genotype - phenotype correlationが存在することが明らかとなった⁸⁾。

アプラタキシン蛋白の機能

アプラタキシン蛋白は、選択的スプライシングにより多数のアイソフォームが存在するが、最も多く発現しているものは342アミノ酸、39kDaの蛋白であり、核に局在し、全身に幅広く発現している。ホモロジー解析から、蛋白のN末には蛋白-蛋白結合に関与するFHA (forkhead-associated) ドメイン、C末にはヌクレオチドの加水分解やリン酸基転移反応を触媒するHIT (histidine triad) モチーフ、DNAやRNAとの結合に関与するzinc-fingerモチーフが存在することが明らかとなっている(図1)⁹⁾。現在まで報告されたEAOHの遺伝子変異は、HITモチーフを含むC末に集中している。

アプラタキシン蛋白は、一本鎖DNA損傷修復(single strand break repair, SSBR)の足場蛋白であるXRCC1 (X-ray repair cross-complementing protein 1) 蛋白と結合することや¹⁰⁾、アプラタキシン欠損リンパ芽球細胞では、一本鎖DNA損傷(single strand breaks, SSBs)を起こす薬剤に感受性を示すことが示されており、アプラタキシンがSSBRに関与していると考えられている。生体内では、細胞の好気性代謝によって生じる内因性の活性酸素種等によりDNAの糖鎖損傷や塩基損傷が起こり、その結果SSBsが生じる。SSBsにより糖鎖(デオキシリボース)が切断、開裂すると、その3'末断端はリン酸基やホスホグリコール酸基などの種々の形に修飾を受ける。SSBRでは、切断損傷認識とXRCC1による足場形成、切断部位の3'末断端を水酸基、5'末断端をリン酸基に変換するエンド・プロセッシング、DNAポリメラーゼによるDNA合成、DNAリガーゼによる切断部位の連結により修復される。我々のグループは、5'末を蛍光蛋白でラベルし3'末にSSBsで生じる化学修飾物を結合した人工オリゴヌクレオチドとアプラタキシンのリコンビナント蛋白を用いた実験から、一本鎖DNA3'末断端のリン酸基、ホスホグリコール酸基を除去し、水酸基に変換する活性が存在することを明らかとした¹¹⁾。また、他の研究グループはDNA5'末断端のエンド・プ

ロセッシング活性について報告しており、EAOHでは、アプラタキシン蛋白の機能低下、消失によりSSBsが蓄積し、最終的には神経細胞死が起こっていると推測される。

おわりに

EAOHの原因遺伝子が発見され今年で13年経過し、アプラタキシンの機能やEAOHの臨床症状など明らかになった事実がある一方で、いまだ不明な点も多い。本疾患の最も大きな特徴である低アルブミン血症の起こる原因、一本鎖DNA損傷修復の障害によりなぜ小脳や末梢神経の障害が起こるのか、眼球運動失行の責任病変はどこなのか、さらには本疾患の予後はどうなのかという根本的な部分も不明のままである。そのため、今後もアプラタキシンの基礎研究の継続とともに、EAOHの患者さんの長期的予後の解析も必要である。さらには、本疾患の研究から、神経変性疾患の治療への足がかりを見つけ、最終的には研究結果を患者さんへ還元できるところまで、末永い研究が必要である。

謝辞

貴重なご助言、ご指導をいただきました新潟大学脳研究所 神経内科および諸先輩の先生方に対して、お礼を申し上げます。また貴重な症例をご紹介いただいた全国の神経内科、小児科の先生、さらには我々の研究にご協力いただいたEAOHの患者さん、そのご家族の方にも改めて深謝申し上げます。

参考文献

- 1) 西澤正豊, 佐々木秀直, 水澤英洋:【脊髄小脳変性症(SCD)のUp-To-Date】脊髄小脳変性症の克服を目指して 脊髄小脳変性症をいかに克服するか. 最新医学 67: 1053-1064, 2012.
- 2) Campuzano V, Montermini L, Molto MD, Pianese L, Cossee M, Cavalcanti F, Monros E, Rodius F, Duclos F, Monticelli A, Zara F, Canizares J, Koutnikova H, Bidichandani SI,

- Gellera C, Brice A, Trouillas P, De Michele G, Filla A, De Frutos R, Palau F, Patel PI, Di Donato S, Mandel JL, Coccozza S, Koenig M and Pandolfo M: Friedreich's ataxia: autosomal recessive disease caused by an intronic GAA triplet repeat expansion. *Science* 271: 1423 - 1427, 1996.
- 3) Fukuhara N, Nakajima T, Sakajiri K, Matsubara N and Fujita M: Hereditary motor and sensory neuropathy associated with cerebellar atrophy (HMSNCA): a new disease. *J Neurol Sci* 133: 140 - 151, 1995.
- 4) 小池亮子, 田中 一, 辻 省次: 【Friedreich病及びその類似疾患】低アルブミン血症を伴う早発型脊髄小脳変性症. *神経内科* 48: 237 - 242, 1998.
- 5) Date H, Onodera O, Tanaka H, Iwabuchi K, Uekawa K, Igarashi S, Koike R, Hiroi T, Yuasa T, Awaya Y, Sakai T, Takahashi T, Nagatomo H, Sekijima Y, Kawachi I, Takiyama Y, Nishizawa M, Fukuhara N, Saito K, Sugano S and Tsuji S: Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia is caused by mutations in a new HIT superfamily gene. *Nat Genet* 29: 184 - 188, 2001.
- 6) Le Ber I, Moreira MC, Rivaud-Pechoux S, Chamayou C, Ochsner F, Kuntzer T, Tardieu M, Said G, Habert MO, Demarquay G, Tannier C, Beis JM, Brice A, Koenig M and Durr A: Cerebellar ataxia with oculomotor apraxia type 1: clinical and genetic studies. *Brain* 126: 2761 - 2772, 2003.
- 7) Shimazaki H, Takiyama Y, Sakoe K, Ikeguchi K, Nijima K, Kaneko J, Namekawa M, Ogawa T, Date H, Tsuji S, Nakano I and Nishizawa M: Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia: the aprataxin gene mutations. *Neurology* 59: 590 - 595, 2002.
- 8) Yokoseki A, Ishihara T, Koyama A, Shiga A, Yamada M, Suzuki C, Sekijima Y, Maruta K, Tsuchiya M, Date H, Sato T, Tada M, Ikeuchi T, Tsuji S, Nishizawa M and Onodera O: Genotype-phenotype correlations in early onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminaemia. *Brain* 134: 1387 - 1399, 2011.
- 9) 他田正義, 横関明男, 小野寺理: 【脳神経疾患の分子病態と治療への展開 アルツハイマー病, パーキンソン病, 発達障害, 精神疾患などの発症メカニズムを分子から解く】神経難病の病態トピックス DNA修復の異常と劣性遺伝性失調症. *実験医学* 25: 1988 - 1994, 2007.
- 10) Date H, Igarashi S, Sano Y, Takahashi T, Takano H, Tsuji S, Nishizawa M and Onodera O: The FHA domain of aprataxin interacts with the C-terminal region of XRCC1. *Biochem Biophys Res Commun* 325: 1279 - 1285, 2004.
- 11) Takahashi T, Tada M, Igarashi S, Koyama A, Date H, Yokoseki A, Shiga A, Yoshida Y, Tsuji S, Nishizawa M and Onodera O: Aprataxin, causative gene product for EAOH/AOA1, repairs DNA single-strand breaks with damaged 3'-phosphate and 3'-phosphoglycolate ends. *Nucleic Acids Res* 35: 3797 - 3809, 2007.
-