

学位論文題名

Clinical and Genetic Analysis
on Hereditary Movement Disorder

(遺伝性神経疾患における臨床的及び分子遺伝学的検討)

学位論文内容の要旨

This thesis is concerned with clinical and genetic analysis in autosomal dominant cerebellar ataxia, hereditary spastic paraplegia and X-linked Chorchot-Marie-Tooth diseases.

Autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) is a clinically and genetically heterogeneous group of neurodegenerative disorders affecting the cerebellum, brainstem, spinal cord and cranial nerve nuclei. The molecular genetic basis of at least 15 SCA subtypes (SCA1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 15, 17, DRPLA, 27) has been elucidated and indicates several mutational mechanisms affecting a diverse set of genes. The most common genetic mechanism implicated in the etiology of these diseases is expansion of trinucleotide repeat sequences leading to elongated polyglutamine tracts in the respective genes, and toxic action of the mutations occurs primarily at the protein level. In Japan, approximately 30% of ataxic disorders are hereditary and are classified by chromosomal location and mode of inheritance. The most precise means of identifying SCA, including the specific type, is through DNA analysis. If the disease is caused by a polyglutamine trinucleotide repeat (CAG) expansion, a longer expansion may lead to an earlier onset and a more radical progression of clinical symptoms. However, the etiology for the remaining 25 to 30% is unknown in dominant hereditary spinocerebellar degeneration (hSCD). Recently, hSCD caused by a point mutation in the responsible gene was reported apart from the repeat diseases. I had support and conduct a broad range of genetic and clinical research on spinocerebellar degeneration, including elongated polyglutamine tracts (CAG) and point mutation in the respective genes, as well. The study aimed at finding the genetic causes of ataxias and their clinical signs and symptoms, their severity, and their prevalence based on ethnic origin and geographical variations. Here in Hokkaido, we investigated the relative prevalence of different subtypes of repeat expansions and the other new varieties of 16q22.1-linked ADCA, SCA13, SCA5, SCA27, and SCA16 in Japanese patients on Hokkaido, the northernmost island of Japan. Genetic analyses of 113 unrelated Japanese families with ADCA from different areas of Hokkaido Island were carried out in our laboratory between April 1999 and the end of December 2006.

Hereditary spastic paraplegia (HSP), also called familial spastic paraparesis (FSP), refers to a group of inherited disorders that are characterized by progressive weakness and stiffness of the legs. The most common form of hereditary spastic paraplegia is caused by mutations in the spastin gene (*SPAST*), which encodes spastin, an adenosine triphosphatase associated with various cellular activities protein. This time, we screened 14 unrelated Japanese patients, including 8 with AD-HSP and 6 with

sporadic cases of unknown origin, to assess the frequency of the SPG4 gene. In this study, we did genetic analysis and detected four causative mutations of *SPAST* among 14 unrelated patients with spastic paraplegia.

Charcot-Marie-Tooth (CMT) disease is the most common form of inherited motor and sensory neuropathy. X-linked disease CMTX is mostly associated with mutations in the gap junction protein $\beta 1$ genes (*GJB1*) on chromosome Xq13.1. The severity of clinical symptom was found in carrier females in advanced age. Here, we describe clinical and genetic analyses in a female patient with CMTX neuropathy who exhibited a mutation in the *GJB1* gene as well as atypical scattered lesions in cerebral white matter in T2-weighted magnetic resonance images (MRI). We demonstrated the first female patient with CMTX who was severely clinically affected and exhibited both the features of demyelination and axonopathy along with atypical scattered lesions in cerebral white matter in T2-weighted MRI.

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 三 輪 聡 一
副 査 教 授 福 田 諭
副 査 教 授 寺 沢 浩 一
副 査 教 授 近 藤 哲
副 査 教 授 佐々木 秀 直

学 位 論 文 題 名

Clinical and Genetic Analysis on Hereditary Movement Disorder

(遺伝性神経疾患における臨床的及び分子遺伝学的検討)

本学位申請論文は3つのテーマから構成されている。

第一のテーマは常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症の遺伝子解析である。遺伝性脊髄小脳変性症 (spinocerebellar ataxia; SCA) は、小脳性または脊髄性の運動失調症を主症候とし、小脳や脊髄に系統変性病変の主座をもつ遺伝性疾患の総称である。SCA は原因の異なる多様な疾患からなり、遺伝座の決定順に番号を付けて登録されている。現在までに、遺伝子座もしくは当該遺伝子の起因変異が同定された SCA は 30 近くに達する。各 SCA の起因変異は、翻訳領域あるいは非翻訳領域においてピート配列が異常伸長するもののあることが既に知られている。最近では点変異や欠失などに起因する SCA が報告されている。そこで、申請者は、発端者である SCA 患者 113 名を対象に遺伝子解析を行った。その結果、SCA6 は 31%、SCA3 は 27%、SCA1 が 10%、ついで最近確立した 16q 連鎖性 SCA は 9% を占めた。起因変異が未定の SCA は 14% を占めた。

第二のテーマは家族性痙性対麻痺 (familial spastic paraplegia; FSP) の当該遺伝子である spastin 遺伝子の解析である。家族性痙性対麻痺は進行性の下肢痙性麻痺を主徴とする疾患であり、当該遺伝子の遺伝子座もしくは起因変異が同定されたものは 30 余にのぼる。本研究では非血縁の患者 14 名を対象に、FSP の当該遺伝子として頻度の最も高い spastin の遺伝子解析を行なった。その結果、3 名からは今迄に知られていない新たな変異を見出した。

第三のテーマと X 連鎖性 Charcot-Marie-Tooth 病 (CMTX) の 1 家系について遺伝子解析を行い臨床所見と合わせて検討した。CMT の当該遺伝子は複数あり、そのうち CMTX は約 20% 程度を占めるとされている。起因変異は gap junction protein $\beta 1$ (GJB1) 遺伝子の点変異であり、アミノ酸置換 (R142W) をきたしていた。本例は女性例の発病であり、かつ大脳白質病変を伴うなど臨床的には稀な症例であった。その機序として、本例における変異部位が何らかの toxic function を得ている可能性や、修飾遺伝子の介在について考察した。

これら 3 つテーマ毎に英語で発表を行い、英語で質疑応答を行なった。最初に優性遺伝性

SCA の遺伝子解析について、副査の近藤教授より、北海道において現在の住民の祖先は本州からの移民が多いが、元来当地に住んでいた住民患者についての分析の有無に関して、質問があった。副査の福田教授より、小脳と前庭の障害は共に運動失調を呈し小脳萎縮を認めない段階での鑑別は用意ではないので遺伝子診断が役立つ可能性について、質問があった。また、当該遺伝子の翻訳産物、変異タンパクの組織発現と病態との関係について、SCA5 における SPTBN2 タンパクを例に、質問があった。ついで、主査の三輪教授より遺伝性 SCA の分類の基礎にある考え方、臨床診断と遺伝子診断の一致率、レポート数の算出方法、16q 連鎖性 SCA における puratrophin-1 遺伝子の 1 塩基置換が当該遺伝子の発現にもたらす影響について、質問があった。第二のテーマである FSP については、副査の福田教授と主査の三輪教授より、spastin タンパクの分子機能と病態との関係、in vitro 培養系を用いた変異 spastin 遺伝子の発現研究に関して、質問があった。副査の寺沢教授より、対象例では発病年齢のバラツキが大きい、単一遺伝子の変異でこのような発病年齢や症状の多彩さをきたす機序について質問があった。第三テーマである CMTX については、副査の寺沢教授より、CMTX 例で認められた脳 MRI での白質病変に対応する組織像について質問があった。副査の佐々木教授より、X 連鎖性疾患では女性は保因者に留まることを踏まえて本女性例の発病機序に関する質問があった。次いで主査の三輪教授より、神経組織における GJB1 の発現分布、特に CMTX における組織病理での検討について、質問があった。何れの質問においても申請者は、自らの研究結果をもとに、文献的な考証を踏まえて、概ね適切に回答した。

この論文は、遺伝性神経疾患の臨床像と遺伝子異常について詳細に解析を行った点で高く評価され、今後、正確な臨床診断に役立つのみならず、未知の遺伝性疾患の発症原因の発見などに結びつく可能性が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。