

公立大学法人横浜市立大学記者発表資料

厚生労働記者会・厚生日比谷クラブ・文部科学記者会・科学記者会・横浜市政記者クラブ同時発表

取 扱 注 意	
解 禁	テレビ・ラジオ・ 通信社・インターネット
	新聞

平成 28 年 9 月 20 日  
公立大学法人横浜市立大学  
研究企画・産学連携推進課  
国立研究開発法人  
日本医療研究開発機構

## 小児期早期発症神経変性脳症の責任遺伝子を明らかにしました — 一本疾患における微小管コファクターTBCD 遺伝子変異の同定 —

～ 『American Journal of Human Genetics』 に掲載

(米国時間 9 月 22 日正午：日本時間 9 月 23 日午前 1 時オンライン) ～

横浜市立大学 学術院医学群 三宅紀子准教授、松本直通教授（遺伝学教室）らは、小児期早期発症の神経変性脳症の責任遺伝子を解明しました。この研究は、東京大学・三浦正幸教授、広島大学・千原崇裕教授、新潟大学・柿田明美教授、清水宏助教、長野県立こども病院・奥野（湯口）慈雨医師、笛木昇医師、小木曾嘉文医師、独協医科大学小児科・鈴木宏准教授、今高城治准教授、渡部功之助教、Hospital Kuala Lumpur・Huey Yin Leong 医師、Tel Aviv Sourasky Medical Center・Aviva Fattal-Valevski 教授、Uri Kramer 教授らとの共同研究による成果です。

### ★研究成果のポイント

- 全エキソーム配列解析\*1により、微小管を構成する  $\alpha \cdot \beta$  チューブリン 2 量体の形成に必要な シャペロン複合体の構成分子の一つである *TBCD* 遺伝子の劣性変異が小児期早期発症の神経変性脳症を引き起こすことを明らかにした。
- タンパク質免疫沈降法により、*TBCD* 変異体ではその結合パートナーである  $\beta$  チューブリン、*TBCE*、*ARL2* との結合能が低下または消失していること、更にショウジョウバエの *tbcd<sup>l</sup>* 変異体を用いた解析で、軸索および樹状突起の形態異常がヒト変異 *TBCD* ではレスキューされないことを示した。
- 症例の病理組織学的解析により、筋組織の未熟性、多系統神経系組織にわたる神経核の消失および細胞内ミトコンドリア異常を示唆する所見が観察され、*TBCD* 変異から生じる疾病病態を明らかにした。

### ■研究概要

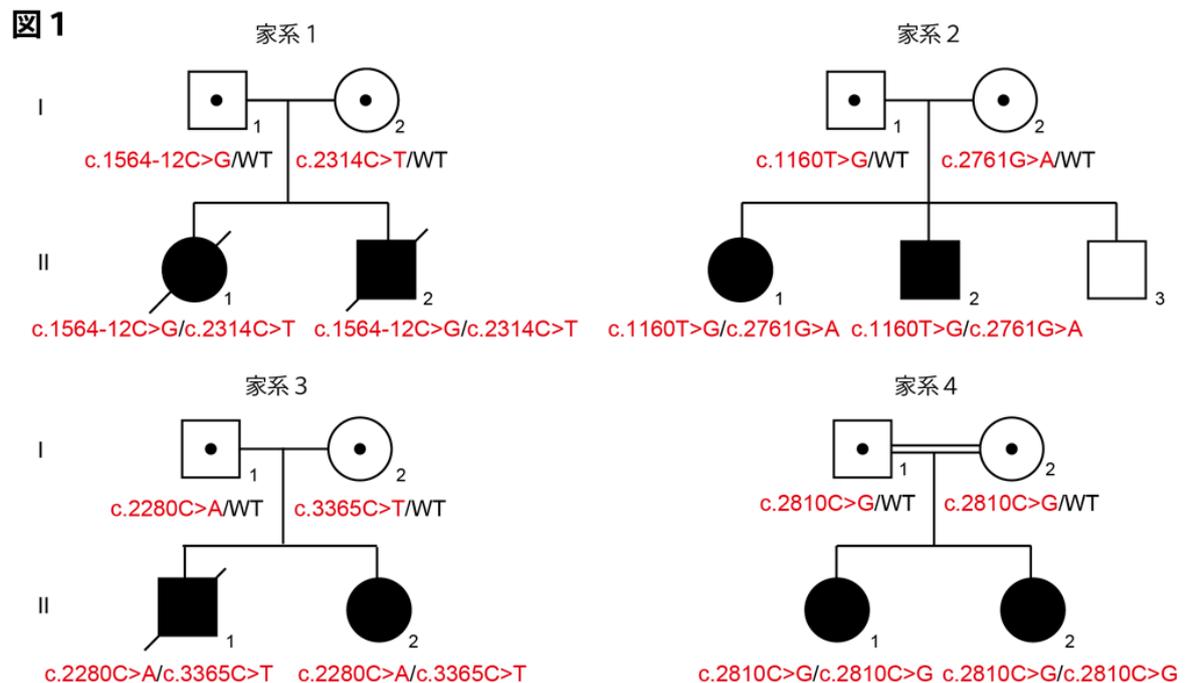
微小管は  $\alpha$  チューブリンと  $\beta$  チューブリンの二量体が積み重なることで構成される筒状の構造物です。その重合と脱重合によりダイナミックな挙動を示し、細胞の分裂、形態、極性、移動、細胞内輸送など細胞機能に重要な役割を果たしています。そのもとになる  $\alpha / \beta$  チューブリン二量体の形成には、tubulin folding co-factor と呼ばれる 5 つのシャペロン分子 (*TBCA*, *TBCB*, *TBCC*, *TBCD*, *TBCE*) が知られており、*TBCE* 遺伝子の異常はヒト疾患との関連が報告されていましたが、それ以外の遺伝子とヒト疾患の報告はありませんでした。

三宅准教授・松本教授らの研究グループは、小児期早期（1 歳未満）に発症し、中枢神経系が進行性に変性する新しい臨床像を呈する 4 家系 8 症例を対象に全エキソーム解析を用いて遺伝子変異探索を行いました。その結果全 8 症例に *TBCD* 遺伝子の劣性変異（複合ヘテロ接合性変異またはホモ接合性変異）を同定しました（図 1）。

TBCD 変異を有する症例には、進行性の脳萎縮（図2）、退行、小頭症、成長障害、筋力低下・萎縮、呼吸障害が認められました。筋生検で得られた組織の解析からは、筋肉の未熟性が示唆されました。また、剖検例の脳組織学的検索により、少なくとも小脳の歯状核、脳幹および脊髄前角における下位運動神経核の消失と、小脳のプルキンエ細胞\*2の変性所見（図3）が観察され、TBCD 変異に起因する変化と考えられました。後者の所見はミトコンドリア異常症で観察されること、また微小管が細胞内ミトコンドリア輸送に関わっていることから、TBCD の異常が微小管に依存する細胞内ミトコンドリア輸送を障害している可能性が示唆されました。

今回、ミスセンス変異5つ、ナンセンス変異1つ、スプライス部位の異常によるフレームシフト変異1つの計7変異が同定されました。それぞれの変異の影響を調べるために、TBCD と結合することが知られている TBCE、ARL2、βチューブリンとの結合能を免疫沈降で調べたところ、ほとんどの変異体において TBCD との結合能が低下していたことから、今回の変異が機能喪失型変異であることを証明しました。また、ショウジョウバエの *tbcd<sup>l</sup>* 変異体では、神経軸索が短縮したり正常の分岐が少なくなることが知られていましたが、ヒト TBCD を用いたレスキュー実験\*3により、野生型の遺伝子を導入するとそれらの異常形態が改善しました。これに対し、患者に認められた変異体では、遺伝子導入による回復がほとんどないことがわかりました。

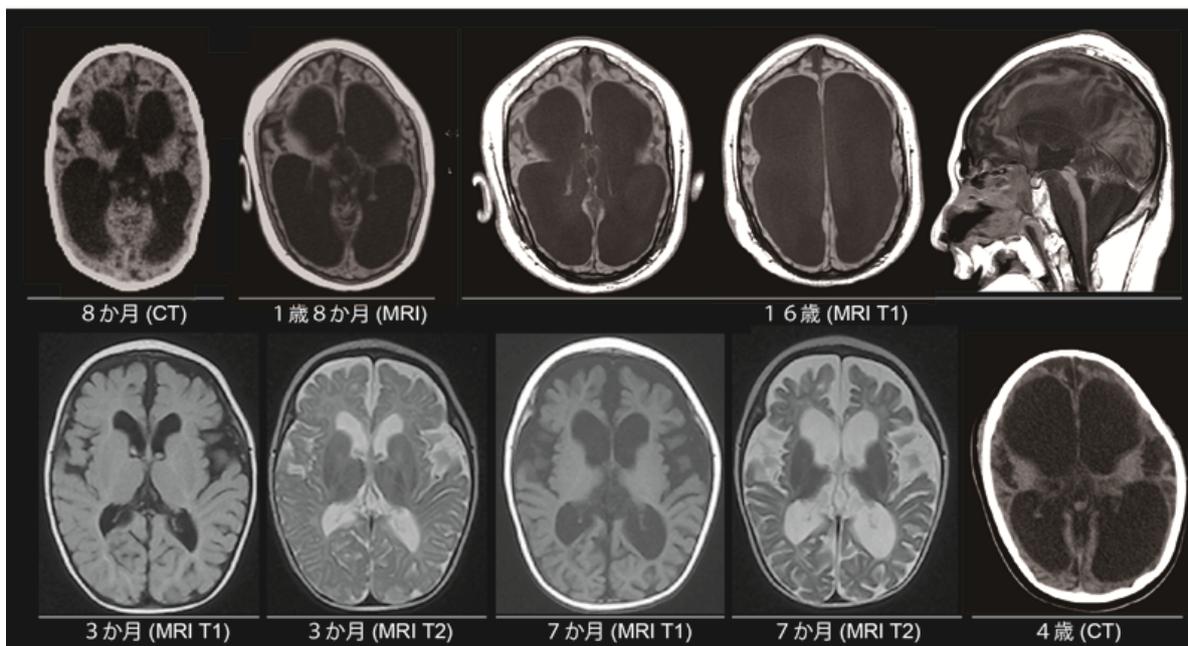
今回、新たな疾患遺伝子が解明されたことで小児期発症神経変性脳症の病態解明と、治療法の開発への大きな寄与が期待されます。



【図1】小児期早期発症神経変性脳症の家系図および TBCD 変異

赤字が変異を示す。WT: wild type (野生型) ■: 罹患男性、□: 非罹患男性、●: 罹患女性、○: 非罹患女性、■: 死亡した罹患男性、●: 死亡した罹患女性

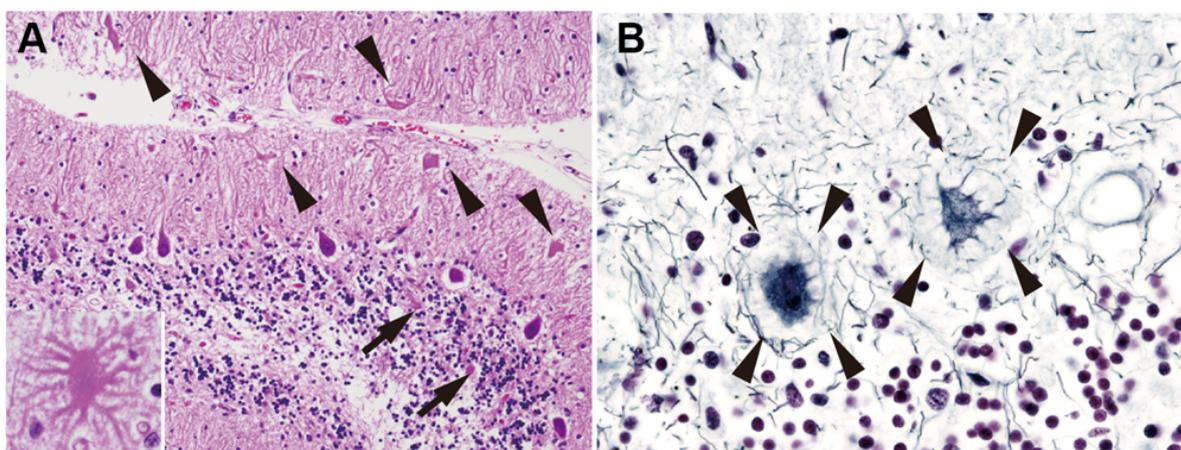
図2



【図2】TBCD変異を有する患者の頭部画像所見

家系1 II-2（上段）および家系2 II-1（下段）の頭部画像写真。両症例共に進行性に大脳の萎縮と脳室拡大が見られる。家系1 II-2の16歳時の画像では、小脳および脳幹部の萎縮も認められる。

図3



【図3】家系1 II-1の小脳病理所見

(A) ヘマトキシリン・エオジン染色。矢印はトルペド（プルキンエ細胞の近傍軸索の腫大）を、矢頭はアステロイド小体／カクタス（プルキンエ細胞の樹状突起の腫大）左下：アステロイド小体の拡大写真。(B) ボディアン染色。somatic sprout（矢頭）と呼ばれるハローのような構造物でプルキンエ細胞の変性で観察される。

（注釈）

\*1 全エクソーム配列解析：ゲノム上のエクソン領域（遺伝子がタンパク質の配列を決定するゲノム中の領域）を網羅的に分画後、次世代シーケンサーを用いて塩基配列を決定する方法。

\*2 プルキンエ細胞：小脳皮質の分子層と顆粒層の間（プルキンエ細胞層）に存在する大型の神経細胞で、伝達物質 GABA を放出する抑制性ニューロン。

\*3 レスキュー実験：遺伝子改変やノックダウン法により当該遺伝子の発現を消失もしくは低下させた個体もしくは細胞に現れた表現型が、野生型の遺伝子導入により正常に戻るか検討する実験のこと。機能を喪失している変異体を遺伝子導入しても表現型は正常に戻らない。

\*本研究成果は、米国の科学雑誌『*American Journal of Human Genetics*』に掲載されます。(米国時間9月22日正午：日本時間9月23日午前1時オンライン)

\*この研究は、日本医療研究開発機構(AMED)難治性疾患実用化研究事業、厚生労働省、文部科学省、科学技術振興機構、日本学術振興会の研究補助金、横浜市立大学先端医科学研究センター「研究開発プロジェクト」によって行われました。

\*本研究は、横浜市立大学神経内科・深井綾子医師、大場ちひろ医師、田中章景教授、横浜市立大学遺伝学・今川絵里博士研究員、横浜市立大学医学部生化学・椎名政昭助教、緒方一博教授、横浜市立大学附属病院遺伝子診療部・宮武聡子助教、昭和大学小児科・加藤光広講師、大阪府立母子保健総合医療センター・岡本伸彦医師、横浜市立大学大学院医学研究科分子細胞生物学・佐藤由典博士研究員、国立精神・神経医療研究センター・西野一三部長、三橋里美医師、横浜市立大学大学院医学研究科・免疫学教室・金子尚文氏、西山晃准教授、田村智彦教授、浜松医科大学医化学講座・才津浩智教授の協力を得て行われました。

<お問い合わせ先>

(本資料の内容に関するお問い合わせ)

横浜市立大学 学術院医学群 遺伝学

三宅 紀子、松本 直通

TEL : 045-787-2606 FAX : 045-786-5219

E-mail : nmiyake@yokohama-cu.ac.jp (三宅)

naomat@yokohama-cu.ac.jp (松本)

(取材対応窓口、資料請求など)

横浜市立大学 研究企画・産学連携推進課長 渡邊 誠

TEL : 045-787-2510 FAX : 045-787-2509

E-mail : sentan@yokohama-cu.ac.jp

#### 【横浜市立大学先端医科学研究センター】

横浜市の中期計画に基づき、「がん」や「生活習慣病」などの疾患克服に向けて取り組んでいる大学の研究施設です。基礎的研究を推進し、さらにその成果を少しでも早く診療の場や市民の方々に還元する「橋渡し研究(トランスレーショナルリサーチ)」体制の構築を目指しています。本学の持つ技術シーズを活用した最先端の医科学研究を行う研究開発プロジェクトを推進し、研究成果を市民等の皆様へ還元することを目指しております。

URL : <http://www.yokohama-cu.ac.jp/amedrc/index.html>

(事業に関するお問い合わせ)

日本医療研究開発機構 戦略推進部 難病研究課

〒100-0004 東京都千代田区大手町 1-7-1

Tel : 03-6870-2223 Fax : 03-6870-2243

E-mail: nambyo-info@amed.go.jp