

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：32202

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26670170

研究課題名(和文)非翻訳領域リピート病のリピート異常翻訳と不安定性メカニズム

研究課題名(英文)RAN translation and repeat instability mechanism in non-coding repeat expansion disorders

研究代表者

松浦 徹(Matsuura, Tohru)

自治医科大学・医学部・教授

研究者番号：90402560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：脆弱X随伴振戦/失調症候群(FXTAS)はFMR1遺伝子CGGリピート伸長を原因とする遺伝性疾患だが、その体細胞不安定性は明らかでない。FXTAS剖検例から複数の組織のDNAを抽出し、CGGリピート数と挿入配列の有無を検討した。AGG挿入配列を伴う86～93リピートの体細胞モザイクを呈していた。組織間リピート数の相違は、3'リピートの不安定性のためであった。各組織のDNAミスマッチ修復(MMR)遺伝子発現を解析し、MMR遺伝子発現が強いほど、リピート数は伸長する傾向にあった。癌組織ではMMR遺伝子発現が著しく減弱しているが、リピート数は不安定化しており、異なる不安定性メカニズムが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Fragile X-associated tremor and ataxia syndrome (FXTAS) is a heritable neurological disorder caused by premutation (55-200 CGG repeats) of the Fragile-X-mental retardation 1 (FMR1) gene. The mechanism of fragile X repeat expansion is not well understood, including the somatic repeat number heterogeneity evident in distinct tissues from the same individual. Using multiple tissues from the autopsied FXTAS patient, we have analyzed the association between the degree of somatic mosaicism and the expression level of mismatch repair (MMR) genes. The CGG repeat sizes ranged from 86～93 with one AGG interruption in multiple tissues. The difference of the repeat size was determined by the number of 3' CGG repeat. The repeat size correlated with the expression level of MMR genes in each tissue. However, cancerous tissues exhibited a bimodal repeat distribution despite extremely low expression of MMR genes.

研究分野：遺伝性神経筋疾患の分子病態

キーワード：脆弱X随伴振戦/失調症候群 FMR1遺伝子 CGGリピート 体細胞モザイク mismatch repair遺伝子 リピート不安定性

#### 1. 研究開始当初の背景

脆弱 X 症候群 (FXS) は知的障害や自閉症などの症状をもち、原因遺伝子 (FMR1) の第 1 イントロン CGG リピート伸長 (>200 リピート) で発症する。脆弱 X 随伴振戦/失調症候群 (FXTAS) は、FXS の保因者 (CGG リピート数 55 ~ 200) に発症する疾患で、50 歳以降に振戦や失調などの症状を呈し、パーキンソン病、神経核内封入体病などとの鑑別が必要な疾患である。この保因者は、一般女性 130 人 ~ 250 人、一般男性 250 ~ 810 人に 1 人存在し、この女性保因者の 16%、男性保因者の 40% に FXTAS が発症する。日本で初めての FXTAS 症例が報告され (Ishii K, et al. Internal Med 2010) さらに 10 数例の FXTAS 患者が本邦で新たに発見されている。

#### 2. 研究の目的

FXTAS の実態は解明されておらず、治療法も確立していない。そこで、本研究では FXTAS CGG リピート伸長不安定性メカニズムを解明し、治療法開発の基礎データを得る。

#### 3. 研究の方法

FXTAS 剖検例を用いて、各体細胞組織の CGG リピート不安定性を検討する。神経組織間、非神経組織間、がん組織と正常組織間のリピート不安定性を検討し、各々のミスマッチ修復 (MMR) 遺伝子の発現レベルとの関連で検討を重ね、その不安定性メカニズムを解明する。

#### 4. 研究成果

FXTAS 剖検例の体細胞組織は、AGG 挿入配列を伴う 86 ~ 93 リピートの体細胞モザイクを呈していた。組織間リピート数の相違は、3' リピートの不安定性のためであった。各組織の MMR 遺伝子発現を解析し、その発現が強いほど、リピート数は伸長する傾向にあった。癌組織では MMR 遺伝子発現が著しく低下しているが、リピート数は不安定化しており、異なる不安定性メカニズムが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 5 件)

1. Nakayama T, Nakamura H, Oya Y, Kimura T, Imahuku I, Ohno K, Nishino I, Abe K, Matsuura T\* (\*corresponding author).  
Clinical and genetic analysis of the first known Asian family with myotonic dystrophy type 2. Journal of Human Genetics. 2014, 59, 129-33. doi: 10.1038/jhg.2013.133.
2. Yamashita Y<sup>#</sup>, Matsuura T<sup>#</sup> \* (#equally contributed, \*corresponding author), Kurosaki T, Amakusa Y, Kinoshita T, Ibi T, Sahashi K, Ohno K. LDB3 splicing abnormalities are specific to skeletal muscles of patients with myotonic dystrophy type 1 and alter its PKC binding affinity. Neurobiology of Disease. 2014, 69, 200-5. doi: 10.1016/j.nbd.2014.05.026.
3. Gao R, Liu Y, Silva-Fernandes A, Fang X, Paulucci-Holthausen A, Chatterjee A, Zhang HL, Matsuura T, Choudhary S, Ashizawa T, Koeppen AH, Maciel P, Hazra TK, Sarkar PS. Inactivation of PNKP by mutant ATXN3 triggers apoptosis by activating the DNA damage response pathway in SCA3. PLoS Genetics. 2015, 11, e1004834. doi: 10.1371/journal.pgen.1004834.
4. Chen G, Masuda A, Konishi H, Ohkawara B, Ito M, Kinoshita M, Kiyama H, Matsuura T, Ohno K.

Phenylbutazone induces expression of MBNL1 and suppresses formation of MBNL1-CUG RNA foci in a mouse model of myotonic dystrophy. Scientific Reports. 2016, 6, 25317. doi: 10.1038/srep25317.

5. Mashiko T, Sakashita E, Kasashima K, Tominaga K, Kuroiwa K, Nozaki Y, Matsuura T, Hamamoto T, Endo H. Developmentally-regulated RNA-binding Protein 1 (Drb1)/RNA-binding Motif Protein 45 (RBM45), a Nuclear-cytoplasmic Trafficking Protein, Forms TAR DNA-binding Protein 43 (TDP-43)-mediated Cytoplasmic Aggregates. J Biol Chem. 2016, 291, 14996-15007. doi: 10.1074/jbc.M115.712232.

[学会発表](計 11件)

1. Tohru Matsuura, “Parkinsonism in SCAs”, 13th International Parkinson’s Disease Symposium in Takamatsu (iPDST), 2014/2/21-23, かがわ国際会議場 (香川県, 高松市).
2. 松浦 徹, 「筋強直性ジストロフィーの分子病態～治療」, 第6回遺伝カウンセリングアドバンスセミナー, 2015/1/10, 大阪国際交流センター (大阪府, 大阪市).
3. Tohru Matsuura, “RNA disease mechanism in DM1 and SCA10 brain”, 第38回日本神経科学大会, 2015/7/29, 神戸コンベンションセンター (兵庫県, 神戸市).
4. Kaori Adachi, Yuji Nakayama, Kazuhiro Ishii, Tohru Matsuura, Yu-ichi Goto, Eiji Nanba, “A

Collaborated Study of Fragile X syndrome and its related disorders for promoting clinical research in Japan”, 17th International Workshop of Fragile X and other Early-Onset Cognitive Disorders, 2015/9/27~30, Strasbourg, (France).

5. Shimazaki H, Matsuura T, “Novel compound heterozygous mutations of SPG11 gene in sporadic spastic paraplegia with thin corpus callosum”, The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/3-7, 国立京都国際会館 (京都府, 京都市).
6. Kaori Adachi, Tohru Matsuura, Kazuhiro Ishii, Yuji Nakayama, Yu-ichi Goto, Eiji Nanba, “A Collaborated Study of Fragile X syndrome and Fragile-X-Associated Tremor/ataxia Syndrome (FXTAS) for promoting clinical research in Japan”, The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/3-7, 国立京都国際会館 (京都府, 京都市).
7. Shimazaki H, Matsuura T, “Novel compound heterozygous mutations of SPG11 gene in sporadic spastic paraplegia with thin corpus callosum”, 第57回日本神経学会学術大会, 2016/5/18-21, 国立京都国際会館 (京都府, 京都市).
8. Ishii K, Ishihara S, Koide T, Matsuura T, Adachi K, Nanba E, Tomidokoro Y, Tamaoka A, “FMRP and FMR1 mRNA expression in FXTAS and other neurodegenerative brain”, 第57回日本神経学会学

術大会, 2016/5/18-21, 国立京都  
国際会館(京都府、京都市)。

9. Kitao R, Abe T, Ohkuma A, Watanabe D, Mihara M, Nakazato T, Ogino Y, Ishihara T, Matsuura T, Komori T, “Newly identified Japanese DM2 pedigree”, 第57回日本神経学会学術大会, 2016/5/18-21, 国立京都国際会館(京都府、京都市)。
10. Mashiko T, Sakashita E, Kasashima K, Tominaga K, Kuroiwa K, Matsuura T, Endo H, “Inhibition of nuclear-cytoplasmic trafficking of Drb1/RBM45 induces toxic cytoplasmic aggregates”, The 21st Annual Meeting of the RNA Society, 2016/6/28-7/2, 国立京都国際会館(京都府、京都市)。
11. Kaori Adachi, Yuji Nakayama, Kazuhiro Ishii, Tohru Matsuura, Yu-ichi Goto, Eiji Nanba, “A Collaborated Study of Fragile X syndrome and its related disorders for promoting clinical research in Japan”, The 15th International Fragile X Conference, 2016/7/20-24, San Antonio (USA)。

〔図書〕(計 6件)

1. 松浦 徹, 「骨格筋症候群(上)[第2版]」日本臨床 2015年5月別冊, 筋強直性ジストロフィー2型, 2015, 188-191
2. 松浦 徹, 南山堂・南山堂医学大辞典, 遠位型ミオパチー, 2015, 259
3. 松浦 徹, 南山堂・南山堂医学大辞典, 筋強直症, 2015, 586
4. 松浦 徹, 南山堂・南山堂医学大辞典, ジスフェリン, 2015, 1027
5. 松浦 徹, 南山堂・南山堂医学大辞典, 多発筋炎, 2015, 1552
6. 松浦 徹, 中外医学社・看護学生のための神経内科学, 神経遺伝学の基本, 2015, 35-40

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称:

発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
松浦 徹(Matsuura, Tohru)  
自治医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90402560

(2)研究分担者  
( )

研究者番号:

(3)連携研究者  
石井一弘(Ishii, Kazuhiro)  
筑波大学・医学医療系・准教授  
研究者番号: 70323293

(4)研究協力者  
( )