

令和元年6月10日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09618

研究課題名(和文)先天性GPI欠損症の治療法と診断マーカーの開発

研究課題名(英文) Development of diagnostic marker and new treatment for inherited glycosylphosphatidylinositol anchored protein deficiency

研究代表者

富永 康仁 (KOJI, TOMINAGA)

大阪大学・連合小児発達学研究所・助教

研究者番号：20599245

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：1.一病型のPIGOの9症例につき遺伝子型と臨床型の相関の検討を行い国際誌に報告した。PIGOでは高ALP血症とフローサイトメトリーによる分析が診断に有用であるが、GPIアンカー型蛋白質の発現量と高ALP血症とは相関せず機能解析でも臨床的重症度と相関しないことを明らかにした。
2.10症例につき血中ALP値の検討を行った。結果、高ALP血症は必ず合併するとは限らず、個々の症例でALP値が高値～正常値を呈する場合があることを報告した。結論として臨床症状より本症を疑う例では、血清ALP値に関わらずフローサイトメトリーによるスクリーニングが重要とした。
3.ピリドキシンによる臨床研究を9症例に行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天性GPI欠損症は、疾患概念が確立してから間もない神経難病である。また多数の原因遺伝子が存在するため、各遺伝子変異に対応する病型は今後も増える可能性がある。主症状が知的障害と運動発達遅滞、てんかんといった非特異的症状であるため、実際には多くの患者が診断されずに存在すると考えられる。そのため本疾患のスクリーニング検査や確定診断の方法、更には治療法の確立は非常に学術的意義、社会的意義が高いと考える。

研究成果の概要(英文)：1.We assessed that phenotype-genotype correlations in PIGO patients, and published to the journal of Human mutation. In this journal, we showed how the clinical severity of IGDs correlates with flow cytometric analysis of blood, functional analysis using a PIGO-deficient cell line, and the degree of hyperphosphatasia. The flow cytometric analysis and hyperphosphatasia are useful for IGD diagnosis, but the expression level of GPI-anchored proteins and the degree of hyperphosphatasia do not correlate, although functional studies do, with clinical severity.
2. In 10 IGD patients, serum alkaline phosphatase was examined. The results were that hyperphosphatasia was not always in individual cases. Then, flow cytometric analysis of blood was necessary in suspected IGD cases with normal range of alkaline phosphatase.
3. A study of pyridoxin therapy for 9 IGD patients was performed.

研究分野：小児神経学

キーワード：先天性GPI欠損症 ピリドキシン てんかん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 先天性 GPI (glycosylphosphatidylinositol) 欠損症は、研究協力者の村上らにより 2006 年に世界で初めて報告された GPI アンカーの異常による疾患である。GPI アンカーは、GPI にグルコサミン、マンノース、エタノールアミンリン酸が結合した糖脂質で、哺乳類では 150 種類以上の蛋白質が GPI アンカーを介し細胞膜表面に結合している。この GPI が欠損すると GPI アンカー型蛋白質が細胞表面上に発現できず、完全欠損であれば胎生致死となる。そのため先天性 GPI 欠損症はいずれも部分欠損で、現在まで 27 個の遺伝子が GPI アンカーの生合成や修飾に必要であると分かっている。これらの遺伝子変異により現在まで 12 種の先天性 GPI 欠損症 (PIGM, PIGV, PIGO, PIGA, PIGQ, PIGW, PIGL, PIGN, PIGT, PGAP1, PGAP2, PGAP3) が発見されている。そのため本疾患はどの遺伝子の変異であるか、またその部分欠損の程度により多様な症状 (難治性てんかん、知的障害、運動発達遅滞を主症状とし、時に高アルカリフォスファターゼ (ALP) 血症を伴う。その他、特異的顔貌、手指末節骨/爪の低形成・難聴・腎尿路奇形・鎖肛・Hirschsprung 病など多臓器奇形) を呈し診断が困難である。主症状が知的障害と運動発達遅滞、てんかんといった非特異的症状であるため、実際には更に多くの症例が存在すると考えられている。診断は、臨床症状や高 ALP 血症より疑い、顆粒球のフローサイトメトリー (FACS 解析) にて殆どの症例で診断が可能である。病型診断には次世代シーケンサーを用いた GPI 遺伝子のターゲットシーケンスによる。治療は、現時点で確立されたものはない。主症状であるてんかんは、複数の抗てんかん薬でも難治に経過することが多い。しかし、PIGV, PIGO 遺伝子異常の症例で難治に経過していたてんかんが、ビタミン B6 の一種であるピリドキシンで消失したとの報告がある。

(2) このように本疾患が多種の病型を有すること、治療法が確立されていないことよりもまず症例の集積を行い、その過程で各病型における特異症状・検査値などを検討し更に本疾患を診断する一助となる診断マーカーを探索することが疾患の理解と更に治療法の探索に必要と考えた。また報告レベルにとどまるピリドキシン療法についても複数症例で検討を行いその効果や投与量を確立することが重要と考えた。

2. 研究の目的

- (1) 先天性 GPI 欠損症の各病型における特徴や検査所見を明らかにする。
- (2) 先天性 GPI 欠損症を早期に診断するためのスクリーニングの診断マーカーを探索する。
- (3) ピリドキシン療法を確立する。

3. 研究の方法

- (1) 学会報告や疾患 HP などの周知により、本疾患の疑い症例の紹介を受けて FACS 解析をはじめとして遺伝子検索を行い、確定診断と病型診断を行い新規患者の同定を行う。
- (2) 本疾患と確定診断した新規症例につき血液/尿検査・頭部 MRI 検査を行い、本疾患の各病型の特徴や、各種検査所見より得られた結果より診断の一助となる項目を探索する。
- (3) 確定診断した患者に対し治療プロトコルに従いピリドキシン投与と定期評価を行い、その有効性を確認し最適投与量とより有効な病型を確立する。

4. 研究成果

(1) 当院で診断、治療した症例を学会発表し本疾患の周知を行った。また本疾患の一病型である PIGO9 症例につき遺伝子型と臨床型の相関の検討を行い Human Mutation 誌に報告した。その中で高 ALP 血症とフローサイトメトリーによる分析が診断に有用であること、しかし GPI アンカー型蛋白質の発現量と高 ALP 血症の値とは相関しないこと、また機能解析によっても臨床的重症度と相関していなかったことを明らかにした。更に他の病型である PIGA と比較し、PIGO は臨床的特徴 (Hirschsprung 病、指趾末梢欠損、高 ALP 血症) を有することを明らかにした。以上より病型により臨床症状のスペクトラムが異なることがわかった。

(2) 診断マーカーとして、本疾患の病態より GPI アンカー型蛋白質である物質によるスクリーニングが挙げられた。診断確定症例で定期的に血液検査を行い、その中で GPI アンカー型蛋白質により影響を受けると考えられたリポ蛋白分画、CEA、Hb 分画などを評価したが信頼性の高い診断マーカーの確立には至らなかった。また当院でフォローしている全症例につき ALP 値の検討を行った。その結果、高 ALP 血症は本症に必ず合併するとは限らず、個々の症例においても ALP 値が高値～正常値を呈する場面があることを報告した。特に ALP 値が正常範囲を呈するとされる PIGL でも高値を示した症例があった。そのため ALP 値を上昇させる他の病態の存在の可能性を推定した。以上より臨床症状より本症を疑う例では、血清 ALP 値に関わらずフローサイトメトリー解析によるスクリーニングを行うことが重要であると結論づけた。

(3) ピリドキシン投与による臨床研究を 9 症例に行った。その結果、「元々発作がない」あるいは「ピリドキシン開始前より発作がコントロールされていた」症例を除いた 4 例ではピリドキシン投与で発作が減少した症例が 3 例あったが発作消失までに至った症例はなかった。また発作の有無に関わらずピリドキシン投与により投与前の発達ペースよりも伸びを示した症例があった。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

2017 年発表分

Junpei Tanigawa, Haruka Mimatsu, Seiji Mizuno, Nobuhiko Okamoto, Daisuke Fukushi, Koji Tominaga, Hiroyuki Kidokoro, Yukako Muramatsu, Eriko Nishi, Shota Nakamura, Daisuke Motooka, Noriko Nomura, Kiyoshi Hayasaka, Tetsuya Niihori, Yoko Aoki, Shin Nabatame, Masahiro Hayakawa, Jun Natsume, Keiichi Ozono, Taroh Kinoshita, Nobuaki Wakamatsu, Yoshiko Murakami, Phenotype-genotype correlations of PIGO deficiency with variable phenotypes from infantile lethality to mild learning difficulties. Human Mutation, 査読有, Vol 38, Issue 7, 2017, p805-815, DOI:10.1002/humu.23219.

〔学会発表〕(計 7 件)

2018 年発表分

第 60 回日本小児神経学会、先天性 GPI 欠損症と鑑別を要した症例を含む ZTTK 症候群の新規 3 例の検討
谷河純平、岡本伸彦、富永康仁、北井征宏、青天目信、宮武聡子、三宅紀子、松本直通、木下タロウ、村上良子、大園恵一

2017 年発表分

第 59 回日本小児神経学会、先天性 GPI アンカー欠損症における血清 ALP 値の検討
富永康仁、谷河純平、山下朋代、広恒実加、渡辺陽和、岩谷祥子、下野九理子、青天目信、村上良子、木下タロウ、永井利三郎、大園恵一

第 53 回日本周産期・新生児学会、胎児発育不全を呈した先天性 GPI 欠損症の一例
野口真由子、宮下恵美子、富永康仁、徳永康行

第 30 回近畿小児科学会
持続する高 ALP 血症を契機に診断された先天性 GPI 欠損症
橋本泰佑、宮下恵美子、山本浩継、吉川真紀子、徳永康行、谷河純平、富永康仁、青天目信、岡本伸彦、茶山公祐

2016 年発表分

第 58 回日本小児神経学会、先天性 GPI 欠損症(PIGO 遺伝子異常)における臨床症状の検討
谷河純平、村上良子、富永康仁、青天目信、見松はるか、城所博之、早川昌弘、水野誠司、若松延昭、岡本伸彦、夏目淳、木下タロウ、大園恵一

2015 年発表分

第 49 回日本てんかん学会
West 症候群を呈した先天性 GPI 欠損症に対するビタミン B6 療法の効果
富永康仁、岸本加奈子、渡辺陽和、谷河純平、岩谷祥子、青天目信、下野九理子、大園恵一

第 57 回日本小児神経学会、先天性 GPI 欠損症に対する当院での取り組み
谷河純平、岸本加奈子、山崎早苗、岩谷祥子、富永康仁、下野九理子、青天目信、村上良子、木下タロウ、永井利三郎、大園恵一

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

先天性 GPI 欠損症(IGD) igd.biken.osaka-u.ac.jp/

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：青天目 信

ローマ字氏名：NABATAME SHIN

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：講師

研究者番号(8桁): 30570072

研究分担者氏名：岩谷 祥子

ローマ字氏名：IWATANI YOSHIKO

所属研究機関名：大阪大学

部局名：連合小児発達学研究所

職名：特任助教

研究者番号(8桁): 60724903

(2)研究協力者

研究協力者氏名：村上 良子

ローマ字氏名：MURAKAMI YOSHIKO

所属研究機関名：大阪大学

部局名：微生物病研究所・藪本難病解明寄附研究部門

職名：教授

研究者番号(8桁): 00304048

研究協力者氏名：谷河 純平

ローマ字氏名：JUNPEI TANIGAWA

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：医員

研究者番号(8桁): 40768636

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。