

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02742

研究課題名(和文) Charcot-Marie-Tooth病の分子遺伝学的アプローチによる病態解明

研究課題名(英文) Elucidation of pathology by molecular genetic approach in Charcot-Marie-Tooth disease

研究代表者

高嶋 博 (Takashima, Hiroshi)

鹿児島大学・医歯学域医学系・教授

研究者番号：80372803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：Charcot-Marie-Tooth病(CMT)は頻度の高い遺伝性末梢神経障害である。CMT遺伝子診断により、2481名中10名のATTR-FAP患者を診断でき、治療を開始することが出来た。2007年から2019年末までに2481名のCMT包括的遺伝子診断を行い、脱髄型の51.2%、軸索型の32.5%の患者において遺伝的な原因を決定した。さらに、連続1005症例について包括的なCMT遺伝子診断の詳細な解析結果をJNNP誌に報告した。原因遺伝子別の頻度や臨床的な特徴について多方面から解析を行い、CMT全体の施策を考える上での重要な報告となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

日本において、包括的で詳細なCMTの遺伝子診断を年間約250名に行っている。2018年には、連続1005症例について世界で最も詳細に調べた包括的なCMT遺伝子診断の詳細な解析結果をJNNP誌に報告し、原因遺伝子別の頻度や臨床的な特徴について多方面から解析を行い、CMT研究全体を俯瞰するうえでの最も重要な報告のひとつとなっている。

さらにミトコンドリア関連遺伝子COA7が軸索型末梢神経障害を伴う小脳失調症をSCAN3 (spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy 3:新疾患)の原因となることを突き止め、動物モデルの解析とともに報告した。

研究成果の概要(英文)：Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) is a common hereditary peripheral neuropathy. Our CMT genetic diagnosis was able to diagnose 10 of 2481 ATTR-FAP patients and provided effective treatment. From 2007 to the end of 2019, 2481 CMT comprehensive genetic tests were performed to determine the genetic cause in 51.2% of demyelinated and 32.5% axonal patients. In addition, we reported in JNNP the detailed analysis results of comprehensive CMT genetic diagnosis for 1005 consecutive cases. It was an important report for considering the overall measures of CMT by analyzing the frequency and clinical characteristics of each causative gene from various aspects.

研究分野：脳神経内科

キーワード：遺伝性ニューロパシー Charcot-Marie-Tooth病 遺伝子診断 脊髄小脳失調症

## 1. 研究開始当初の背景

Charcot-Marie-Tooth 病 (CMT) は、上下肢の運動障害や感覚異常になり、車椅子生活を余儀なくされるなどの障害を引き起こす疾患である。我々は、CMT 友の会 (患者会) の皆さんとともに疾患の啓蒙と理解、そして、日常生活、結婚、出産などの様々な問題について、解決策を模索してきた。我々は、本邦において 2007 年から現在まで CMT の遺伝子診断を提供し、担当医師と患者にできる限り早く結果が返せるように、改良を重ねながら実施してきた。しかしながら、診断率は世界最高レベルと思われるが 40% に届かず、今後の改善には未解明の原因遺伝子を網羅的に発見する他はない。

現在、遺伝子診断は、具体的には、遺伝子変異の解析プログラムを当大学の研究チームで継続してアップデートし、世界で最も診断力の高い CMT の遺伝子検査を迅速かつ無償で行っている。欧米では 1 検体、16 遺伝子のスクリーニングをするのに 25,000 ドルの費用が保険診療でカバーされている。本邦では、PMP22 遺伝子の重複検査のみが保険診療で、その他の検査は研究者に委ねられている。我々は、Ion PROTON シークエンサーを用いて、72 の原因遺伝子をファーストスクリーニングの遺伝子として選択し、研究レベルではあるがその実際のコストも 1 検体あたり 1 万円程度まで下げること成功しており、アメリカの 280 分の 1 のコストとなっている。遺伝子診断でもっとも難しいところはシークエンス後であり、発見された遺伝子変異が多型なのか実際の病気に関わっているのかの判定である。それを解決するために我々は、世界の変異データベースを極限まで利用すると同時に、多数の信頼できる病的変異判定プログラムを組み合わせることで精度を上げ、さらにその変異判定をできる限り自動化し、現在は多数の検体でも結果を出すことができるようになった。もちろんさらなる改良は必要である。

## 2. 研究の目的

Charcot-Marie-Tooth 病 (CMT) は比較的頻度の高い疾患で、80 以上の遺伝子が同定され、遺伝子型別に治療のトライアルが行われている。我々は 2007 年から 1800 名を超える CMT 病の包括的遺伝子診断を行い、脱髄型の 47.7%、軸索型の 33.3% の患者の原因を決定した。今回、研究の目的として、まず、継続して遺伝子診断を提供することにより個別の CMT 病患者の診断を行い、本邦の分子疫学を正確に算出することである。加えて同時に新規原因遺伝子の同定を行い、診断精度を上げるとともに、治療法開発のための病態解明のブレイクスルーを行うことである。

## 3. 研究の方法

遺伝子診断として、具体的には Ion PROTON シークエンサーを用いて 72 の原因遺伝子をファーストスクリーニングの遺伝子として選択し、その実際のコストも 1 検体あたり 1 万円程度まで下げること成功している。遺伝子診断でもっとも難しいところはシークエンス後であり、発見された遺伝子変異が多型なのか実際の病気に関わっているのかの判定である。それを解決するために我々は、上記のパイプラインのように世界の変異データベースを極限まで利用すると同時に、多数の信頼できる病的変異判定プログラムを組み合わせることで精度を上げ、さらにその変異判定をできる限り自動化した。

遺伝子検査が陰性の場合にはエクソーム解析を行っているが、これまでに 800 名に行われた。その大規模なエクソーム解析は、東京大学の辻省次教授により AMED の研究費で行われ、共同研究体制をとっている。そのデータを鹿児島大学において解析し、CMT のみならず、ALS、HSAN、遠位型ミオパチー、その他ニューロパチーを表現系にもつ様々な疾患、これまで病的とされたすべての遺伝性疾患の既知の変異をチェックする。

加えて、我々が新開発した ESVD システムを用いて新規原因遺伝子の発見を行う。ESVD システムは、エクソーム解析にて、一人あたり 100-200 個程度の強い変異を抜きだし、家系間で比較し共通の遺伝子異常を見だし、新規 CMT 関連遺伝子を発見する方法である。その他にも既知の原因の機能から候補蛋白/遺伝子を割り出しその候補に変異がないか調べる方法や、劣性遺伝性の場合、loss-of-function が多く、ホモ接合性に強い変異がある遺伝子の抽出を行う。このシステムを長期的に運用することで、頻度の低い疾患原因遺伝子を見つけ出すことができると考えている。

様々な方法で検出された遺伝子変異の結果をふまえて、遺伝子異常ごとにその臨床像、遺伝子変異の部位と臨床病型の関わり、男女間の臨床像の比較、電気生理検査所見などを比較する。遺伝子変異と疾患の発症について検討する。

#### 4. 研究成果

本研究により、これまで通算して 538 例の CMT の原因を同定し、間近 2 年間でも多くの施設と共同研究を行い、20 以上の論文として報告した。CMT 全体の 30-50%をしめるといわれる *PMP22* の重複例を除いて 1800 例の症例の解析は、世界でも際だって多い解析数であり、例えば我々が 2017 年に報告した。

*MFN2* 変異を持つ CMT2A 型 79 症例のまとめは、世界で最多の解析となっているのも事実である。近年発見された、*MORC* 遺伝子異常の CMT2Z も 13 例のまとめとして、Euro J Neurol 誌に報告した。

我々が発見した *MME* 遺伝子異常の AR-CMT2T は現在では 25 家系となり、AR-CMT としては最も多い原因となっており、遺伝子診断の陽性率を大いに向上させた。

2018 年にはミトコンドリア関連遺伝子 *COA7* が軸索型末梢神経障害を伴う小脳失調症を SCAN3 (spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy 3: 新疾患) の原因となることを突き止め、動物モデルの解析とともに Brain 誌に報告した。*COA7* は、ミトコンドリア呼吸鎖複合体アセンブリ(集合)因子をエンコードする蛋白である。遺伝性末梢神経障害と脊髄小脳変性症はいずれも、その病態や遺伝的原因が未解明の部分が多く、根本的治療法の確立されていない神経難病であるが、本研究によりミトコンドリア機能異常が末梢神経および中枢神経の両方に神経変性を引き起こすことが解明されたことで 2 つの神経難病の病態理解が深まった。さらに、本研究では世界で初めて SCAN3 のショウジョウバエ疾患モデルの樹立にも成功した。本研究は、SCAN3 のみならず、遺伝性末梢神経障害や脊髄小脳変性症、その他の複数の系統が障害される神経変性疾患のさらなる病態解明や治療開発にも大きく貢献しうる成果である。

2018 年には、連続 1005 症例について世界で最も詳細に調べた包括的な CMT 遺伝子診断の詳細な解析結果を JNNP 誌に報告したが、原因遺伝子別の頻度や臨床的な特徴について多方面から解析を行い、CMT 研究全体を俯瞰するうえでの最も重要な報告のひとつとなった。

2018 年 112 名の *GJB1* 変異による CMTX1 患者について、臨床的、遺伝的特徴をまとめ、Eur J Neurol. 誌に報告した。CMTX1 の最も症例数の多い詳細な報告である。

2018 年沖縄型神経原性筋萎縮症(HMSN-P)97 名について *TFG* 変異を確認し、臨床的、遺伝的特徴を詳細にまとめ、Rare Dis Res. 誌に報告した。HMSN-P の最も症例数の多い詳細な報告である。

2018 年 CMT2F 及び HMN2B の本邦例について、遺伝子変異を確認し、臨床像および分子メカニズムについて J Peripher Nerv Syst. 誌に報告した。

2020 年 BSCL2 変異による遺伝性ニューロパチーの例について、臨床像を検討し J Peripher Nerv Syst 誌に報告した。

本研究では、遺伝性ニューロパチーの世界で、最も詳細に多くの遺伝子解析を行い、遺伝子診断から、分子メカニズムの解明まで、総合的に病態の解明を行った。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 10件）

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Tomari Shinya, Arima Junnosuke, Yoshida Takashi, Yamashita Hitomi, Sata Reiko, Hamada Rikuzo, Kanda Naoaki, Takashima Hiroshi.  | 4. 巻<br>402             |
| 2. 論文標題<br>Effect of direct oral anticoagulant for acute major cerebral artery occlusion in cardioembolic stroke/transient ischemic attack patients with non-valvular atrial fibrillation.  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of the neurological sciences  | 6. 最初と最後の頁<br>162-166   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jns.2019.05.023   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Sawada J, Katayama T, Tokashiki T, Kikuchi S, Kano K, Takahashi K, Saito T, Adachi Y, Okamoto Y, Yoshimura A, Takashima H, Hasebe N.  | 4. 巻<br>26              |
| 2. 論文標題<br>The First Case of Spinocerebellar Ataxia Type 8 in Monozygotic Twins.  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Intern Med.   | 6. 最初と最後の頁<br>2905-2919 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.2169/internalmedicine.2905-19  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Sone J, Mitsunashi S, Fujita A, Mizuguchi T, Hamanaka K, Mori K, Koike H, Hashiguchi A, Takashima H, Sugiyama H, Kohno Y, Takiyama Y, Maeda K, Doi H, Koyano S, Takeuchi H, Kawamoto M, Kohara N, Ando T, Ieda T, Kita Y, Kokubun N, Tsuboi Y, Katoh K, Kino Y, Katsuno M, Iwasaki Y, et al | 4. 巻<br>22              |
| 2. 論文標題<br>Long-read sequencing identifies GGC repeat expansions in NOTCH2NL associated with neuronal intranuclear inclusion disease.   | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Nature genetics   | 6. 最初と最後の頁<br>1215-1221 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41588-019-0459-y.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |
| 1. 著者名<br>Yamashita S, Kimura E, Zhang Z, Tawara N, Hara K, Yoshimura Akiko, Takashima Hiroshi, Ando Y.   | 4. 巻<br>60              |
| 2. 論文標題<br>Muscle pathology of hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement with TFG mutation.  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Muscle Nerve.   | 6. 最初と最後の頁<br>739-744   |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/mus.26683.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Hosokawa S, Kubo Y, Arakawa R, Takashima H, Saito K.                         | 4. 巻<br>42 (2)          |
| 2. 論文標題<br>Analysis of spinal muscular atrophy-like patients by targeted resequencing. | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>Brain Dev  | 6. 最初と最後の頁<br>148 - 156 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.2169/internalmedicine.2905-19                           | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Ishihara S, Okamoto Y, Tanabe H, Yoshimura A, Higuchi Y, Yuan JH, Hashiguchi A, Ishiura H, Mitsui J, Suwazono S, Oya Y, Sasaki M, Nakagawa M, Tsuji S, Ohya Y, Takashima H | 4. 巻<br>-               |
| 2. 論文標題<br>Clinical features of inherited neuropathy with BSCL2 mutations in Japan.  | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>J Peripher Nerv Syst   | 6. 最初と最後の頁<br>000 - 001 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/jns.12369  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yamagishi Y, Samukawa M, Kuwahara M, Takada K, Saigoh K, Mitsui Y, Oka N, Hashiguchi A, Takashima H, Kusunoki S.                  | 4. 巻<br>410             |
| 2. 論文標題<br>Charcot-Marie-Tooth disease with a mutation in FBLN5 accompanying with the small vasculitis and widespread onion-bulb formations | 5. 発行年<br>2020年         |
| 3. 雑誌名<br>J Neurol Sci  | 6. 最初と最後の頁<br>000 - 001 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jns.2019.116623   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yoshimura A, Yuan JH, Hashiguchi A, Ando M, Higuchi Y, Nakamura T, Okamoto Y, Nakagawa M       | 4. 巻<br>90              |
| 2. 論文標題<br>Genetic profile and onset features of 1005 patients with Charcot-Marie-Tooth disease in Japan | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry  | 6. 最初と最後の頁<br>195 ~ 202 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1136/jnnp-2018-318839   | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-               |

|  |                           |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名<br>Yuan JH, Sakiyama Y, Hashiguchi A, Ando M, Okamoto Y, Yoshimura A, Higuchi Y, Takashima H        | 4. 巻<br>25                |
| 2. 論文標題<br>Genetic and phenotypic profile of 112 patients with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease type 1 | 5. 発行年<br>2018年           |
| 3. 雑誌名<br>European Journal of Neurology  | 6. 最初と最後の頁<br>1454 ~ 1461 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/ene.13750  | 査読の有無<br>有                |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)   | 国際共著<br>-                 |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Higuchi Y, Okunushi R, Hara T, Hashiguchi A, Yuan J, Yoshimura A, Murayama K, Ohtake A, Ando M, Hiramatsu Y, Ishihara S, Tanabe H, Okamoto Y, Matsuura E, Ueda T, Toda T, Yamashita S, Yamada K, Koide T, Yaguchi H, Mitsui J, Ishiura H, Yoshimura J, Doi K, Tsuji S, Takashima H. et al | 4. 巻<br>141             |
| 2. 論文標題<br>Mutations in COA7 cause spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy  | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Brain   | 6. 最初と最後の頁<br>1622-1636 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1093/brain/awy104  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスとしている (また、その予定である)  | 国際共著<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Miyabayashi T, Ochiai T, Suzuki N, Aoki M, Inui T, Okubo Y, Sato R, Togashi N, Takashima H, Ishiura H, Tsuji S, Koh K, Takiyama Y, Haginoya K | 4. 巻<br>64            |
| 2. 論文標題<br>A novel homozygous mutation of the TFG gene in a patient with early onset spastic paraplegia and later onset sensorimotor polyneuropathy     | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>J Hum Genet   | 6. 最初と最後の頁<br>171-176 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s10038-018-0538-4   | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難  | 国際共著<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Taniguchi T, Ando M, Okamoto Y, Yoshimura A, Higuchi Y, Hashiguchi A, Shiga K, Hayashida A, Hatano T, Ishiura H, Mitsui J, Hattori N, Mizuno T, Nakagawa M, Tsuji S, Takashima H | 4. 巻<br>99            |
| 2. 論文標題<br>Genetic spectrum of Charcot-Marie-Tooth disease associated with myelin protein zero gene variants in Japan  | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Clin Genet   | 6. 最初と最後の頁<br>359-375 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/cge.13881.   | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難   | 国際共著<br>-             |

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

|                   | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号)                           | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号)                   | 備考 |
|-------------------|---|---|----|
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 岡本 裕嗣<br><br>(Okamoto Yuji)<br><br>(60709658)       | 鹿児島大学・医学部・教授<br><br><br>(17701)         |    |
| 研究<br>分<br>担<br>者 | 橋口 昭大<br><br>(Hashiguchi Akihiro)<br><br>(70760560) | 鹿児島大学・医歯学域鹿児島大学病院・講師<br><br><br>(17701) |    |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|