

令和 5 年 5 月 11 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03588

研究課題名（和文）ロングリードシーケンサーを活用した非コードリピート伸長病の病態解明研究

研究課題名（英文）Revealing pathogenesis of noncoding repeat expansion diseases using long-read sequencing

研究代表者

石浦 浩之（Ishiura, Hiroyuki）

岡山大学・医歯薬学域・教授

研究者番号：40632849

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：ショートリード全ゲノム配列解析からリピート伸長変異を抽出するパイプラインを確立し、ミオクローヌスてんかん、白質脳症、筋疾患、運動失調症家系に応用した。眼咽頭遠位型ミオパチー、神経核内封入体病についての臨床遺伝学的解析を行い、新規の臨床像については論文として報告を行った。ロングリードシーケンスの分析も行い、リピート伸長変異が既に知られている症例のリピート全長を解読した。リピート伸長配列のクローニング方法についても検討を行った。CGGリピート伸長変異を基盤とする白質脳症から眼咽頭型ミオパチーまでの臨床像について、FNOP-spectrum disorderという概念を提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者は神経筋疾患においてリピート伸長病を多く同定してきた。リピート伸長変異は、通常の解析では見つからないことが多いため、専用の解析方法の適応が必要になる。本研究では、リピート伸長変異に注目し新規リピート伸長変異の同定を目指すとともに、既に同定したリピート伸長病の病態に迫ることを目的としている。これまで、リピート病の研究を進めるとともに、眼咽頭遠位型ミオパチー1型の臨床病型の広がり、神経核内封入体病の臨床像の広がりについて報告するとともに、新しい疾患概念FNOP-spectrum disorderを提唱した。

研究成果の概要（英文）：We established a pipeline to extract repeat expansion mutations from short read whole genome sequencing and applied it to patients with myoclonus epilepsy, leukoencephalopathy, muscle diseases, and ataxia. Clinical genetic analysis of oculopharyngodistal myopathy and neuronal nuclear inclusion body disease was performed, and novel clinical presentations were reported as papers. Long-read sequencing was also analyzed to decipher full-length repeat sequences in patients with already known repeat expansion mutations. Cloning methods for repeat extension sequences were also discussed. We proposed the concept of FNOP-spectrum disorder, which describes clinical manifestations ranging from leukoencephalopathy to oropharyngeal myopathy based on CGG repeat expansion mutations.

研究分野：神経遺伝学

キーワード：ロングリードシーケンス リピート伸長病

1. 研究開始当初の背景

近年、非コード領域のリピート伸長変異がてんかん、白質脳症、ミオパチーなど様々な疾患を呈することが明らかになり、その疾患概念は拡大している。また、これまでの申請者らの研究から、リピートモチーフと臨床像の間に密接な関係があることが明らかとなり、リピートモチーフ・表現型関連という概念を提唱している。本研究は、発展著しいリピート伸長病に着目し、ロングリードシーケンサーを用いながら、病態解明を目指すことを目的とする。

具体的には、良性成人型家族性ミオクローヌステんかんはこれまで6病型が知られているが、全てイントロンに TTTCA リピート伸長変異の挿入が認められる。脆弱 X 関連振戦・失調症候群、神経核内封入体病、白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチーにおいては、非翻訳領域に CGG/CCG リピート伸長変異が存在する。それぞれの原因遺伝子の機能には共通点が見いだせないことから、原因遺伝子の機能障害というよりはそれぞれのリピート配列の毒性獲得による病態機序が考えられている。

2. 研究の目的

リピート伸長病の病態にせまり、治療法開発をめざす研究である。

3. 研究の方法

リピート伸長変異を探索する解析系を確立し、良性成人型家族性ミオクローヌステんかんが遺伝学的に否定されたミオクローヌステんかん患者、原因不明の白質脳症患者、筋疾患、運動失調症患者について、全ゲノム配列解析を行い、リピート伸長変異の探索を行った。

ロングリードシーケンスの解析を行う体制を構築し、リピート全長解析を目指す。

リピート伸長配列をクローニングする系を確立する。

4. 研究成果

良性成人型家族性ミオクローヌステんかんが否定された患者の全ゲノム配列データから、進行性ミオクローヌステんかんの既知原因変異を同定した。また、ExpansionHunterDeNovo を用いたショートリードでのリピート解析系を確立し、CSTB の 12 塩基リピート伸長変異で生じる Unverricht-Lundborg 病患者を見出した。解析した中には TTTCA リピート伸長変異を有する症例は存在しなかった。

既知の良性成人型家族性ミオクローヌステんかん家系のロングリード解析データについて解析を行い、リピート伸長配列の全長解読をすることができた。ショートリードシーケンサーより想定していた構造の通りであったことが判明した。

白質脳症家系についても同様の解析を行ったが、現時点で CGG リピート伸長変異を認めた症例はない。他の疾患の可能性も考えつつ、引き続き解析を行う予定である。

神経核内封入体病については、多くの遺伝子解析を行った。MRI で paravermal region に T2 高信号のみを示す例を見出し論文として発表した。

筋疾患家系については、候補領域が既に知られているが、全ゲノム配列解析からはその領域には明らかなリピート伸長変異は認めなかった。本疾患については、今後も原因変異の同定を目指し研究を続ける。

眼咽頭遠位型ミオパチー1型についての臨床遺伝学的解析を行い、臨床像が従来考えられていたよりも広いことについて論文として発表を行った。

CGG リピート伸長変異を基盤とする神経核内封入体病、眼咽頭ミオパチーのような疾患について、FNOP-spectrum disorder として新たな疾患概念を提唱する論文を発表した。

リピート伸長配列のクローニングについては困難な点が多いが、無細胞増幅系でクローニングできる配列があることがわかった。本技術の応用もふくめて検討を行い、論文を準備している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Tokimura Ryo, Hashimoto Meiko, Mitsutake Akihiko, Sakai Souichi, Suzuki Fumio, Sugasawa Keiko, Fujimoto Chisato, Ishiura Hiroyuki, Toda Tatsushi	4. 巻 in press
2. 論文標題 Isolated Paravermal Hyperintensities in Neuronal Intranuclear Inclusion Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurology	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1212/WNL.000000000200590	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Kubota Akatsuki, Ishiura Hiroyuki, Porto Kristine Joyce Linay, Tanaka Masaki, Mitsui Jun, Unuma Atsushi, Maki Hisataka, Komuro Issei, Tsuji Shoji, Shimizu Jun, Toda Tatsushi	4. 巻 32
2. 論文標題 DMD exon 2 duplication due to a complex genomic rearrangement is associated with a somatic mosaicism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neuromuscular Disorders	6. 最初と最後の頁 263 ~ 269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmd.2021.12.004	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Almansour Asem, Ishiura Hiroyuki, Mitsui Jun, Matsukawa Takashi, Matsukawa Miho Kawabe, Shimizu Hideaki, Sugiyama Atsuhiko, Toda Tatsushi, Tsuji Shoji	4. 巻 in press
2. 論文標題 Frequency of FMR1 Premutation Alleles in Patients with Undiagnosed Cerebellar Ataxia and Multiple System Atrophy in the Japanese Population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Cerebellum	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12311-021-01329-5	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -
1. 著者名 Kokubo Yasumasa, Morimoto Satoru, Sasaki Ryogen, Hasegawa Masato, Ishiura Hiroyuki, Tsuji Shoji, Yoshida Mari, Yamazoe Naohisa, Miyazaki Mitsukazu, Kuzuhara Shigeki	4. 巻 43
2. 論文標題 An immigrant family with Kii amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurological Sciences	6. 最初と最後の頁 1423 ~ 1425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10072-021-05737-7	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Neshige Shuichiro, Hitomi Takefumi, Tojima Maya, Oi Kazuki, Kobayashi Katsuya, Matsuhashi Masao, Shimotake Akihiro, Matsumoto Riki, Kanda Masutarō, Maruyama Hirofumi, Ishiura Hiroyuki, Tsuji Shoji, Takahashi Ryosuke, Ikeda Akio	4. 巻 36
2. 論文標題 A Role of Aging in the Progression of Cortical Excitability in Benign Adult Familial Myoclonus Epilepsy type 1 Patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 2446 ~ 2448
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.28718	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kumutpongpanich Theerawat, Ogasawara Masashi, Ozaki Ayami, Ishiura Hiroyuki, Tsuji Shoji, Minami Narihiro, Hayashi Shinichiro, Noguchi Satoru, Iida Aritoshi, Nishino Ichiz, OPDM_LRP12 Study Group	4. 巻 78
2. 論文標題 Clinicopathologic Features of Oculopharyngodistal Myopathy With LRP12 CGG Repeat Expansions Compared With Other Oculopharyngodistal Myopathy Subtypes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JAMA Neurology	6. 最初と最後の頁 853 ~ 853
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamaneurol.2021.1509	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kikuchi Junko, Kanda, Nagashima Yu, Mano Tatsuo, Ishiura Hiroyuki, Hayashi Toshihiro, Shimizu Jun, Matsukawa Takashi, Ichikawa Yaeko, Takahashi Yuji, Karino Shotaro, Kanbayashi Takashi, Kira Junichi, Goto Jun, Tsuji Shoji	4. 巻 71
2. 論文標題 Cerebellar Ataxia as a Common Clinical Presentation Associated with DNMT1 p.Y511H and a Review of the Literature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 1796 ~ 1801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12031-020-01784-5	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 石浦浩之	4. 巻 72
2. 論文標題 CGGリピートと筋疾患	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 560-564
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 石浦浩之, 柴田頌太.	4. 巻 39
2. 論文標題 CGGリピート病(神経核内封入体病、白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 370-371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Kikuchi Junko Kanda, Nagashima Yu, Mano Tatsuo, Ishiura Hiroyuki, Hayashi Toshihiro, Shimizu Jun, Matsukawa Takashi, Ichikawa Yaeko, Takahashi Yuji, Karino Shotaro, Kanbayashi Takashi, Kira Junichi, Goto Jun, Tsuji Shoji	4. 巻 2021
2. 論文標題 Cerebellar Ataxia as a Common Clinical Presentation Associated with DNMT1 p.Y511H and a Review of the Literature	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12031-020-01784-5	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Yau Wai Yan, Vandrovцова Jana, Sullivan Roisin, Chen Zhongbo, Zecchinelli Anna, Cilia Roberto, Duga Stefano, Murray Malgorzata, Carmona Susana, Chelban Viorica, Ishiura Hiroyuki, Tsuji Shoji, Jaunmuktane Zane, Turner Chris, Wood Nicholas W., Houlden Henry, Genomics England Research Consortium	4. 巻 36
2. 論文標題 Low Prevalence of NOTCH2NLC GGC Repeat Expansion in White Patients with Movement Disorders	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 251 ~ 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mds.28302	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

1. 著者名 Nakamura Natsuko, Tsunoda Kazushige, Mitsutake Akihiko, Shibata Shota, Mano Tatsuo, Nagashima Yu, Ishiura Hiroyuki, Iwata Atsushi, Toda Tatsushi, Tsuji Shoji, Sawamura Hiromasa	4. 巻 61
2. 論文標題 Clinical Characteristics of Neuronal Intranuclear Inclusion Disease-Related Retinopathy With CGG Repeat Expansions in the NOTCH2NLC Gene	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 27 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.61.11.27	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Ishiura Hiroyuki, Tsuji Shoji	4. 巻 65
2. 論文標題 Advances in repeat expansion diseases and a new concept of repeat motif?phenotype correlation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Current Opinion in Genetics & Development	6. 最初と最後の頁 176 ~ 185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gde.2020.05.029	査読の有無 有
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 Lim Shen-Yang, Ishiura Hiroyuki, Ramli Norlisah, Shibata Shota, Almansour M. Asem, Tan Ai Huey, Houlden Henry, Lang Anthony E., Tsuji Shoji	4. 巻 74
2. 論文標題 Adult-onset neuronal intranuclear inclusion disease mimicking Fragile X-associated tremor-ataxia syndrome in ethnic Chinese patients	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 25 ~ 27
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2020.03.025	査読の有無 有
オープンアクセス 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 該当する

1. 著者名 石浦浩之、柴田頌太	4. 巻 39
2. 論文標題 CGGリピート病(神経核内封入体病、白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー、眼咽頭遠位型ミオパチー)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Neuroscience	6. 最初と最後の頁 370-371
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 石浦浩之	4. 巻 93
2. 論文標題 良性成人型家族性ミオクローヌスてんかんの分子遺伝学	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 310-315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 松川美穂、石浦浩之、辻省次	4. 巻 93
2. 論文標題 良性成人型家族性ミオクローヌスてんかんの臨床的特徴	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 286-290
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 石浦浩之	4. 巻 38
2. 論文標題 ロングリードシークエンスによるリピート病概念の拡大	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2197-2202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

1. 著者名 石浦浩之	4. 巻 273
2. 論文標題 リピート伸長とRAN翻訳関連疾患	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 79-83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス 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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 8件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 BAFMEの遺伝子解析
3. 学会等名 第51回日本臨床神経生理学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 新しいリピート伸長病とロングリードシーケンシング
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 ノンコーディングリピート病研究の進歩
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第66回大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 リピート伸長変異が拓く新たな神経学
3. 学会等名 第62回日本神経学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishiura H, Tsuji S.
2. 発表標題 Repeat motif-phenotype correlation in non-coding repeat expansion disorders.
3. 学会等名 East Asia Union of Human Genetics（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ishiura H
2. 発表標題 Noncoding CGG repeat expansions in neuronal intranuclear inclusion disease and oculopharyngodistal myopathy.
3. 学会等名 The 19th Asian-Oceania Myology Center Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 BAFMEにおけるリピート伸長変異の同定
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石浦浩之
2. 発表標題 続々同定される 非コード領域リピート伸長病
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shota Shibata, Hiroyuki Ishiura, Shoji Tsuji, Tatsushi Toda
2. 発表標題 Genotype-phenotype correlation study of Neuronal Intranuclear Inclusion Disease
3. 学会等名 Annual meeting of American Society of Human Genetics (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------