

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 27 日現在

機関番号：15401  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23659456  
 研究課題名（和文） 新たな遺伝学手法による未知の脊髄小脳変性症遺伝子探索  
 研究課題名（英文） New Causative Genes for Spinocerebellar degenerations  
 by new genetic methods  
 研究代表者  
 川上 秀史（KAWAKAMI HIDESHI）  
 広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授  
 研究者番号 70253060

### 研究成果の概要（和文）：

これまで2000名以上の脊髄小脳変性症患者で原因遺伝子を検索してきたが、原因遺伝子不明の患者は200名に及ぶ。原因遺伝子を同定することを目的として、特に中四国に在住する脊髄小脳変性症患者で優性遺伝を示すもの30名のDNAの各々約90万個のSNPを決定したが、共通する領域のは検出できなかった。そこで、新規に同定された**SCA36**に関してその異常の検出を試みたところ、12人の患者で異常を認めた。さらに血族婚の患者にエクソームを適用することにより、**SYNE1**の遺伝子異常を3人に認め、その内1人は、運動神経の障害も存在するという貴重な所見を得た。

### 研究成果の概要（英文）：

We have screened over 2000 patients with spinocerebellar degeneration. The two hundred patients do not indicate the causative genes. To clarify the causative genes, we typed SNPs of DNA samples from 30 patients in Chugoku and Shikoku areas. We could not find the significant common haplotypes. In the next, we screened **SCA36**, and found the 12 patients. Furthermore, we analyzed the consanguinity families by exome sequencing. In the results, we found the mutations of **SYNE1** gene in 3 patients. One of them showed the motor neuron abnormality.

### 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,800,000	840,000	3,640,000

研究分野：神経内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：脊髄小脳変性症

#### 1. 研究開始当初の背景

申請者は Machado-Joseph 病（遺伝性脊髄小脳変性症の 1 つである）の遺伝子同定（*Nature Genetics* 8, 221-228, 1994）に関わって以来、2000名以上の脊髄小脳変

性症の患者 DNA を用いて臨床遺伝学的研究に携わってきた（*Nature Genetics* 9, 344, 1995, *Human Molecular Genetics* 4, 807, 1995, *Human Molecular Genetics* 6, 1283, 1997,

*Am J Medical Genetics* 114:578, *Am J Hum Genet*:72(3):704, 2003 *Mov Disord.* 2006;21:1355. *Neurology* 2006;67:147. *J Neurol Sci.* 2008;266:180. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:841. 優性遺伝を示す脊髄小脳変性症は、我々のデータでは、200名程度の患者が原因遺伝子不明である。特に中四国では優性遺伝を示す患者の40%が原因遺伝子不明である。これを明らかにするためには、連鎖解析の対象となる大家系が必要であるが、これはかなり得難いものである。これまでの脊髄小脳変性症の遺伝子研究、特に SCA3 や SCA6 の研究において、世界的にみても同祖 (one founder) である可能性が指摘されている。SCA6 のハプロタイプを解析した我々の結果においても、2M 塩基対にわたって、共通のハプロタイプを示している (*Neurosci Lett* 358(2004)107-110)。このことは、未知の遺伝子異常においても、家系が異なっても、同祖であれば、この領域を同定することにより、原因遺伝子を同定できることを意味している。

## 2. 研究の目的

優性遺伝を示す脊髄小脳変性症で原因遺伝子不明の患者は200名に及ぶ。これらの患者家系はいずれも小さく連鎖解析の対象足り得ない。しかし、全ゲノム SNP タイピングとホモ接合ハプロタイプ法を用いて、患者に共通するハプロタイプを検出することができれば、同祖領域を検出することが可能である。そこには原因遺伝子存在する可能性が高く、原因遺伝子を同定することを目的とする。

## 3. 研究の方法

遺伝性脊髄小脳変性症の患者 DNA を30人分 AffymetrixSNP6.0chip により、約90万個の SNP を決定する。Homozygote Haplotyping 法

により、共通のハプロタイプを持つ領域を抽出する。その領域を塩基配列を決定することにより、原因遺伝子を同定する。

## 4. 研究成果

中国・四国地方を中心に脊髄小脳変性症患者 30 人の DNA について AffymetrixSNP6.0chip をもちいて、各々約90万個の SNP を決定した。Homozygote Haplotyping 法により、共通のハプロタイプを持つ領域を抽出したが、1-5M 塩基対をカットオフにした場合、有意な共通領域を見いだせなかった。またそれ以下のカットオフにすると、ノイズが多く特異的な共通領域を抽出することができなかった。

そこで最近同定された SCA36 に関して、その地理的分布と臨床的特徴を検討することにした。2121 人の日本人脊髄小脳変性症患者コホートより、既知の遺伝子異常が同定されているものを除き、リピートプライマーアッセイ法により SCA36 のリピートの伸長を検討した。その結果、12人にリピートの伸長を認めた。原著と異なり、小脳失調に加えて運動ニューロンの障害を持つ患者は少なかった。また患者は西日本に分布し、創始者効果によるものと推察された。

さらに劣性の原因遺伝子の探索のため、血族婚由来の脊髄小脳変性症の患者において、エクソームシーケンスを行った。その結果、これまでカナダでしか報告されていなかった、SYNE1 遺伝子の異常を3人の患者で認めた。さらに、その中の1人は、小脳失調に先行して筋萎縮を認め、運動ニューロンが障害されることを明らかにし、運動ニューロン死に関して興味深い知見を得た。また別の血族婚患者より ANO10 遺伝子においても変異を認め、世界で3報目の報告を行った。

## 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 6 件)

1. H Maruyama, H Morino, R Miyamoto, N Murakami, T Hamano, H Kawakami. Exome sequencing reveals a novel ANO10 mutation in a Japanese patient with autosomal recessive spinocerebellar ataxia. *Clinical Genetics* 04/2013; DOI:10.1111/cge.12140 査読有り

2. Miyashiro A, Sugihara K, Kawarai T, Miyamoto R, Izumi Y, Morino H, Maruyama H, Orlacchio A, Kawakami H, Kaji R. Oromandibular dystonia associated with SCA36. *Mov Disord.* 2013 Apr;28(4):558-9. 査読有り

3. Izumi Yuishin, Miyamoto Ryouyusuke, Morino Hiroyuki, Yoshizawa Akio, Nishinaka Kazuto, Udaka Fukashi, Kameyama Masakuni, Maruyama Hirofumi, Kawakami Hideshi. Cerebellar ataxia with SYNE1 mutation accompanying motor neuron disease. *Neurology* **80**, 600-601, 2013 査読有り

4. Sugihara K, Maruyama H, Morino H, Miyamoto R, Ueno H, Matsumoto M, Kaji R, Kitaguchi H, Yukitake M, Higashi Y, Nishinaka K, Oda M, Izumi Y, Kawakami H. The clinical characteristics of spinocerebellar ataxia 36: a study of 2121 Japanese ataxia patients. *Mov Disord.* 2012 Aug;27(9):1158-63. 査読有り

5. Tanaka E, Maruyama H, Morino H, Kawakami H. Detection of large expansions in SCA8 using a fluorescent repeat-primed PCR assay. *Hiroshima J Med Sci.* 60 63-66 2012 査読有り

6. Hagiwara K, Morino H, Shiihara J, Tanaka T, Miyazawa H, Suzuki T, Kohda M, Okazaki Y, Seyama K, Kawakami H. Homozygosity mapping on homozygosity haplotype analysis to detect recessive disease-causing genes from a small number of unrelated, outbred patients. *PLoS One.* 2011;6(9):e25059. 査読有り

[学会発表] (計 5 件)

1. Izumi Yuishin, Miyamoto Ryouyusuke, Morino Hiroyuki, Yoshizawa Akio, Nishinaka Kazuto, Udaka Fukashi, Kameyama Masakuni, Maruyama Hirofumi, Kawakami Hideshi.

Cerebellar ataxia with SYNE1 mutation accompanying motor neuron disease. 65th American Association of Neurology Annual Meetings 16-23, March 2013, San Diego, USA

2. R Miyamoto, H Morino, H Maruyama, Y Izumi, R Kaji, H Kawakami : Exome sequence identifies a novel *MRE11* mutation in a patient with generalized myoclonic tremor. 62<sup>nd</sup> Annual Meeting of The American Society of Human Genetics, San Francisco, USA 2012/11/8

3. 杉原勝宣, 丸山博文, 宮本亮介, 森野豊之, 上野弘貴, 北口浩史, 雪竹基弘, 東靖人, 西中和人, 織田雅也, 和泉唯信, 川上秀史 : SCA36 の臨床的特徴. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012/10/27

4. 宮本亮介, 森野豊之, 丸山博文, 和泉唯信, 梶龍兒, 川上秀史 : Exome sequencing identifies a novel *MRE11* mutation in a patient with generalized myoclonic tremor. 日本人類遺伝学会第 57 回大会, 東京, 2012/10/25

5. 和泉唯信, 宮本亮介, 山本伸昭, 島谷佳光, 藤田浩司, 佐藤健太, 寺澤由佳, 松井尚子, 野寺裕之, 瓦井俊孝, 梶龍兒, 森野豊之, 丸山博文, 川上秀史 : 徳島大学病院神経内科で診断した遺伝性脊髄小脳変性症. 第 92 回日本神経学会中国・四国地方会, 徳島, 2012/7/7

[その他]

ホームページ等

home.hiroshima-u.ac.jp/epidem/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川上 秀史 (KAWAKAMI HIDESHI)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授

研究者番号：70253060

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：