

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：臨床データを元にした発作性運動誘発性舞踏アテトーゼ (PKD) の発生機序の解明及び新規治療薬の開発

2. 研究開発代表者：黒滝 直弘 (長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科精神神経科学)

3. 研究開発の成果

本研究は平成 26 年度に引き続き発作性運動誘発性舞踏アテトーゼ (PKD) において対処療法に留まる現在の治療方法を進展させることを主たる目的として遂行したものである。つまり 1) PKD の臨床症状を、特にてんかんや合併症に注目して、再評価を行うこと、2) 従来より原因遺伝子とされている PRRT2 遺伝子変異以外の変異をもつ患者を同定し、遺伝子型と臨床症状 (表現型) との関連解析を行い遺伝子診断の可能性を探索すること、3) PRRT2 蛋白の詳細な機能解析、病的変異による機能変異を評価し、PKD の発症機序を解明する、以上 3 項目が本年度の目標であった。

黒滝、小澤、白石、吉浦、齋藤加代子は臨床医を通じて採取した PKD 患者から kiagen, QIAamp DNA Blood Midi Kit を用い DNA の収集を継続した。結果、合計 215 検体を収集し、うち、両親を加えトリオを形成しているのが 15 組、親子または兄弟例 (両親のいずれか、または同胞いずれか) と罹患者) が 26 例、106 例が孤発例である。

パイロシーケンスにより PRRT2 変異陽性 (c.649dupC) のスクリーニングを終えたのが、91(215)例である。その中で PRRT2 (c.649dupC) が陽性だったのは 30 例である。DNA 検体を収集した全症例 215 例の中で、詳細な臨床情報を入手した者は 127 名である。本研究の主たる目的である合併症の臨床情報はまだ不十分である。中でも稀少疾患であるファール病を合併したものが 1 名である。今後は既知の PRRT2 のスポットの遺伝子変異のない検体のエキソームシーケンスを行う予定である。

一方、小澤と、黒滝は、臨床精神科医であることを基礎に、PKD が偏見の一員となりうると考え、その対策として WHO の作成した mhGAP IG(精神保健専門家のいない保健医療の場における精神・神経・物質使用障害のための mhGAP 介入ガイド)を翻訳し全国の大学病院に配布した。

齋藤伸治は独自に PRRT2 変異陽性 (c.649dupC) 3 家系 8 名を集積し臨床情報、特に脳波所見の解析を行った。中で、乳児けいれんは 6 名、発作性運動誘発性ジスキネジア (PKC) を 1 例に認めた。発達は 1 例を除いて良好であったが、1 例において DQ 57 の発達の遅れをみとめ、脳波異常を伴っていた。c.649dupC を有していたが、2 人とも発達は良好であり、脳波異常も認めなかった。同じ PRRT2 変異を有していても、家系内で臨床症状の違いが観察された。PRRT2 変異を有する乳児けいれんでは発達は良好と考えられているので、本家系での発達の遅れの解明は重要な意義がある。また発達遅滞の例は脳波異常を伴っていた。PRRT2 変異陽性例は脳波異常を持たないことが一般的であるが、本例の脳波異常・てんかんの原因が PRRT2 変異と関係するかどうかは今後の課題と考えられた。

岩田、城谷は PKD 原因遺伝子の機能解析と PKD モデルマウスの作成を実施した。PRRT2 と候補因子との結合を分析したが、現在までのところ PRRT2 と直接に結合する因子は同定できていない。一方で PRRT2 の機能として、神経細胞の発火の抑制が考えら期待通り脱分極を測定することに成功した。今年度中には神経細胞に PRRT2 を過剰発現あるいはノックダウンすることにより、PRRT2 と神経発火との関係性を明らかにする見込みである。PKD モデルマウスの作製のため CRISPR/CAS9 法により PRRT2 のノックアウトマウスの作製を行った。なお現在の CRISPR/CAS9 法ではノックインマウスの作製は困難なためノックアウトマウス作製に変更している。PKD でもっとも多く見ついている c.649dupC 変異周辺のガイド RNA を作製し CAS9 の RNA とともに受精卵にインジェクションした。産仔のゲノムから変異導入部周辺部位の PCR およびシーケンスを行ったところ 47 匹中 33 匹で欠損変異が見られた。どのような変異が導入されているかを TA シークエンスにより明らかにし、F1 マウスを作製する見込みである。

来年度は引き続き遺伝子型と臨床症状の詳細な解析を行うとともに、細胞生理学を専門とする長崎大学大学院、蒔田直昌教授および、疫学専門家である長崎大学大学院、本田純久教授を本研究に研究協力者として加え、発症機序の解明を進める予定である。