

2024年5月30日
横浜市立大学
北海道大学病院

ナノポアシーケンス解析により 日本人における SCA27B の遺伝学的特徴を解明

横浜市立大学附属病院 遺伝子診療科 宮武聡子准教授、同大学神経内科学・脳卒中医学
土井宏准教授、田中章景教授、同大学大学院医学研究科 遺伝学 奥水江里子助教、松本直通
教授、北海道大学大学院医学研究院 神経内科学教室 矢口裕章准教授、矢部一郎教授らの研
究グループは、小脳失調症*1の1つとして最近報告された SCA27B (FGF14 遺伝子の GAA
リピート伸長が原因) について、遺伝学的原因不明の小脳失調症に罹患している日本人の患
者さん 460 例と、罹患していない日本人 1,022 例を対象に、従来の PCR を用いた検査法と
ナノポアシーケンス解析を併用して詳細に検討し、日本人における SCA27B の遺伝学的
特徴、および SCA27B の発症のしきい値についての新たな知見を見出しました。

本研究成果は「Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry」に掲載されます。
(日本時間 2024 年 5 月 31 日 8 時)

研究成果のポイント

- FGF14 のリピート伸長配列として、病的トリプレット (3 塩基) 配列である GAA 以外に GCA が高頻度に見られる。GCA リピート長は、GAA リピート長より長い傾向があるが、GAA リピートとは別の祖先染色体 DNA に由来する非病的配列である。
- リピートが伸長していないアレルでは、リピート配列の直前に特有のゲノム配列変化が存在しており、リピート伸長を抑制する効果が示唆される。
- これまで GAA リピート数が 250 回を超えると疾患発症のリスクが有意に高くなると考えられていたが、今回の検討で発症のしきい値は 200 回程度と示唆された。

研究背景

SCA27B は小脳失調症の一型として、2023 年に欧米から初めて報告されました。この疾患はリピート伸長病*2の1つであり、FGF14 遺伝子のイントロン領域にある GAA 配列が通常 50 回くらいまで連続して並んでいるところ、250 回以上に伸長すると、疾患を発症する可能性が有意に高まるとされ、欧米では、比較的頻度が高い疾患と考えられています。ところが、日本人でこのリピート配列を調べてみると、GAA 以外の配列が伸長していることも多く、どんな配列がどれくらい伸長していると病気と関係しているのかについてはよくわかっていませんでした。

研究内容

本研究では、遺伝学的原因不明の小脳失調症と診断された日本人の患者さん 460 例と、本疾患に罹患していない日本人コントロール 1,022 例を対象に、PCR ベースの手法と、ロングリードシーケンサーの 1 つであるナノポアシーケンサー^{*3}を組み合わせ、*FGF14* 遺伝子リピート配列を検討しました。

日本人では GAA 以外のリピート配列として、主に GCA 配列が頻繁にみられました。GCA リピートは GAA リピートより長い傾向があり、従来のリピート伸長病の考え方に当てはめると病的配列の可能性が考えられます。しかし、GAA リピートと GCA リピートの周囲およそ 50kb の領域の DNA 配列を詳細に調べたところ、GAA 配列と GCA 配列は別々の祖先染色体 DNA から起こった配列変化であり、病的配列である GAA 配列がさらに変異したものではないことが示唆されました。例えば、リピート配列の直前に rs534066520 という名前がついた塩基があり、この塩基は本来 T (チミン) となります。後続するリピート配列が GAA の場合、ここは本来の配列 (T) になっていますが、後続するリピート配列 GCA の場合、ここが A (アデニン) に変化しています。同様に GAA リピートと GCA リピートで、近傍に存在する塩基のパターンが異なる部位が何箇所もあり、こうした所見は多くの場合、それぞれのリピート配列が載っている染色体 DNA が別々の祖先に由来することを示唆します。

患者群とコントロール群における、*FGF14* リピート配列の分布を調べてみると、GCA リピート伸長は患者群とコントロール群で頻度差はなく、病的効果がないリピート伸長であることがわかりました。また GAA リピート伸長配列については、200 回以上に伸長した GAA 配列が患者群で有意に高頻度に存在することがわかり、疾患発症のしきい値として、従来考えられていた 250 回より短く、200 回程度であることがわかりました。また、GAA リピートが 250 回以上の伸長と GAA リピートが 200-249 回の伸長は、いずれも直前の rs534066520 が T(チミン)で同じ祖先染色体 DNA 由来である可能性を支持し、250 回以上の伸長と 200-249 回の伸長の機序が同様の遺伝学的背景を有することを示唆します。

FGF14 リピート配列が伸長していない場合、リピート配列の直前に特有の配列変化 (GAA リピート配列の直前の GAAGAAAGAAA という配列が欠失して、TAGTCATAGTACCCCAA という 17 塩基の配列に置き換わるという配列変化) があることが欧米人のゲノムの観察から見出されており、リピート配列が誤って伸長してしまうのを防ぐ効果を持つ配列である可能性が考えられています。この配列は、今回検討した日本人のリピート伸長がないゲノムでも同様に観察され、民族を越えて見られる変化と考えられました。

今回の検討で、SCA27B と診断された患者さんのうち、従来の疾患発症のしきい値 (リピート数 250 回以上) を超えた人が 8 人、リピート数 200 回以上だった人が 14 人いました。日本人における SCA27B の頻度は、疾患発症のしきい値を 250 回以上で考えると 1.7% であり、欧米圏 (国や民族により異なりますが 13-61% と報告されています) に比べ頻度が低いと考えられました。

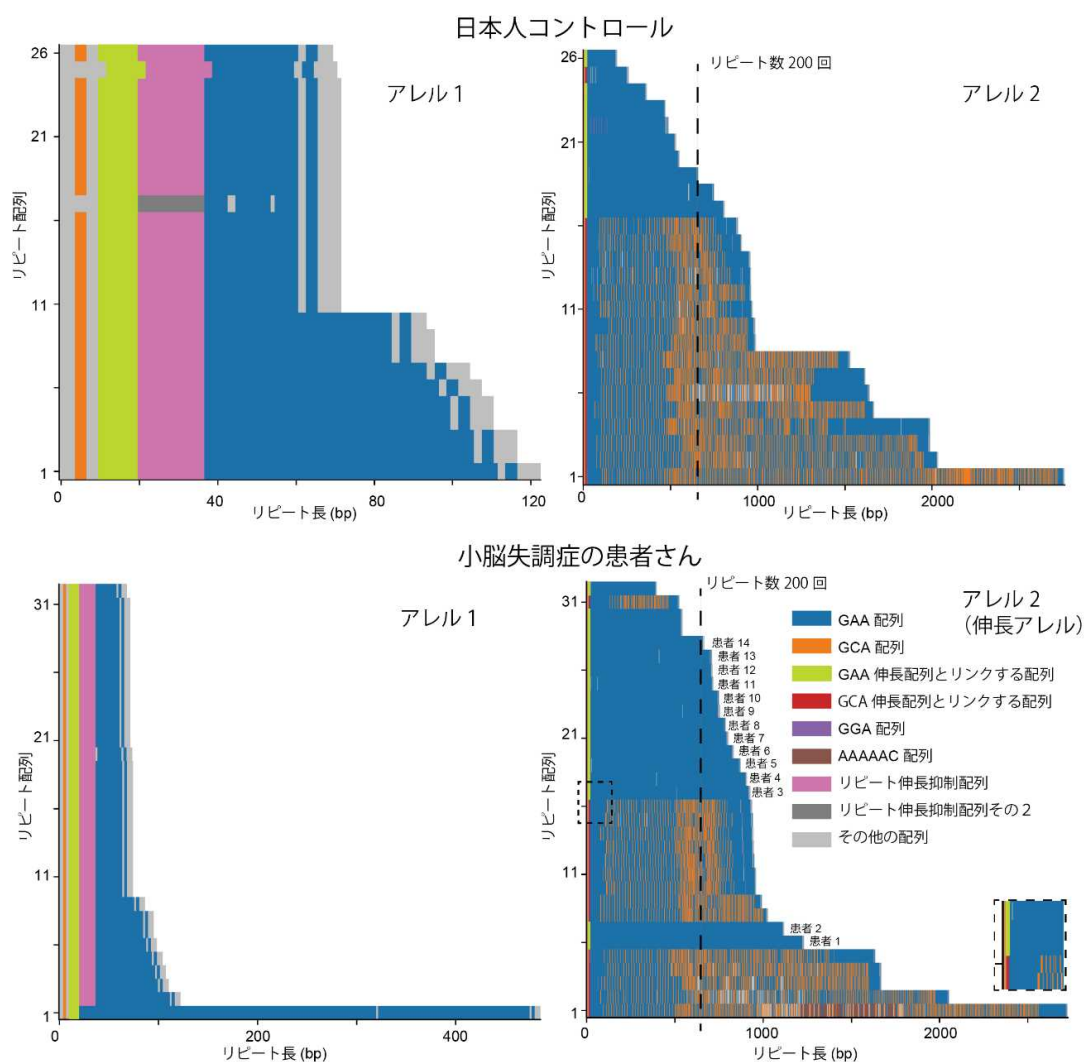


図1 日本人コントロールと小脳失調の患者さんの *FGF14* リピート配列のウォーターフォールプロット
 人は、その両親から由来する *FGF14* 遺伝子を2つ持っているので、*FGF14* のリピート配列も2つ持っている。その2つあるリピートのうち、1つが異常伸長した場合に SCA27B を発症する。本図は、*FGF14* リピート数の長い方が正常の50回を超えている人について、その配列をウォーターフォールプロットで示した。2つのうち短いリピート配列をアレル1、長いリピート配列をアレル2と分けている。グラフの横軸はリピート長、縦軸は各人のリピート配列。縦軸1行につき一人のリピート配列を左から右に向かって表示し、リピート長の長い順に下から積み上げて図示している。日本人コントロールと小脳失調症の患者さんのアレル1は、1例を除き正常リピート数を超えておらず、この1例を除く全員がリピート伸長抑制配列（ピンクもしくは灰色）を GAA リピート配列（青色）の直前に持っている。日本人コントロールと小脳失調症の患者さんのアレル2を見ると、GAA 伸長配列より、GCA 伸長配列（オレンジ色）でリピート長が長い傾向があり、GCA 伸長配列はどちらの集団（日本人コントロールと小脳失調症患者さんの集団）においても、発症のしきい値の200回を大きく超えるものが多く見られる。GAA 伸長配列の直前に GAA 伸長配列とリンクする配列（黄緑色、rs534066520 が本来の塩基である T になっている）が、GCA 伸長配列の直前に GCA 伸長配列とリンクする配列（赤色、rs534066520 が A に変化している）が存在しており、GAA 伸長配列と GCA 伸長配列は別の祖先染色体 DNA に由来する可能性が示唆される。

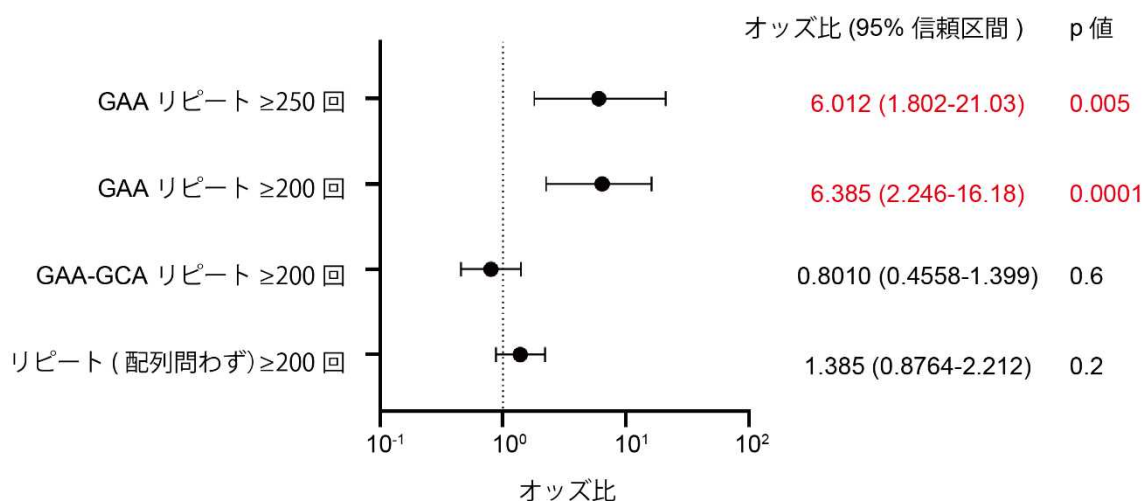


図2 FGF14 リピート配列と小脳失調症発症の関連についてのオッズ比

GAA リピート伸長が 200 回以上になると、有意に発症のリスクが高まる。

GCA リピート伸長では発症のリスクに差が見られない。

今後の展開

本研究により、SCA27B におけるリピート配列、およびリピート数と疾患の関連が明確になりました。本疾患の遺伝学的理解が深まるとともに、SCA27B の正確な遺伝学的診断のために有用な情報（リピート数のみでなく、リピート伸長を構成している配列を確認する必要性）を提供するものです。

研究費

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）難治性疾患実用化研究事業「未到達領域のロングリードジェノミクス：未解決症例の解明（研究代表者：松本直通）」、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業「運動失調症の医療水準、患者 QOL の向上に資する研究班」、日本学術振興会、武田科学振興財団、および横浜市立大学の支援を受けて実施されました。

論文情報

タイトル：Complete nanopore repeat sequencing of SCA27B (GAA-FGF14 ataxia) in Japanese

著者：Satoko Miyatake, Hiroshi Doi, Hiroaki Yaguchi, Eriko Koshimizu, Naoki Kihara, Tomoyasu Matsubara, Yasuko Mori, Kenjiro Kunieda, Yusaku Shimizu, Tomoko Toyota, Shinichi Shirai, Masaaki Matsushima, Masaki Okubo, Taishi Wada, Misako Kunii, Ken Johkura, Ryosuke Miyamoto, Yusuke Osaki, Takabumi Miyama, Mai Satoh, Atsushi Fujita, Yuri Uchiyama, Naomi Tsuchida, Kazuharu Misawa, Kohei Hamanaka, Haruka Hamanoue, Takeshi Mizuguchi, Hiroyuki Morino, Yuishin Izumi, Takayoshi Shimohata,

Kunihiro Yoshida, Hiroaki Adachi, Fumiaki Tanaka, Ichiro Yabe, Naomichi Matsumoto

掲載雑誌：Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry

DOI：10.1136/jnnp-2024-333541

お問い合わせ先

横浜市立大学 プロモーション担当課長 中込雄一

Tel：045-787-2414 koho@yokohama-cu.ac.jp

北海道大学病院 総務課総務係

Tel：011-706-7631 pr_office@huhp.hokudai.ac.jp



横浜市立大学は、
様々な取り組みを
通じてSDGsの達
成を目指します。



用語説明

*1 小脳失調症：主に小脳と呼ばれる脳の一部の障害によって、歩行時のふらつき、四肢の協調的な運動の障害、ろれつが回らない、物が二重に見えたりめまいを感じたりする、などの症状をきたす疾患群。

*2 リピート伸長病：特定の塩基配列の繰り返し（リピート配列：多くは3から6塩基の反復ユニット配列で、ショートタンデムリピートとも呼ばれる）が正常範囲を超えて異常に伸長することで引き起こされる疾患群。現在60種類程度の疾患関連リピート伸長配列が発見されているが、その多くは神経筋疾患の原因になることが分かっている。リピート長がより長いほど、またはリピート配列が正常のパターンと異なって伸長しているような場合、病的であることが多いと考えられる。

*3 ナノポアシーケンサー：1分子のゲノムDNA配列の解析が可能なオックスフォード・ナノポア社のロングリードシーケンサー。ナノポアとよばれるタンパク質の穴を、モータータンパク質を付加したDNA分子が通過する時に、ナノポアが埋め込まれた人工膜を流れる電流値の変化によって、DNAの塩基配列をリアルタイムに解析することができる。