

# 発作性運動誘発性ジスキネジアの分子遺伝学的原因探索

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻 小野 慎治  
(主任指導教員：吉浦孝一郎 教授)

## 諸言

発作性運動誘発性ジスキネジア (paroxysmal kinesigenic dyskinesia: PKD) は、運動によって誘発される短時間の不随意運動を主症状とした思春期に好発する原因不明の神経疾患である。遺伝性と散发例があり、遺伝性の場合には常染色体優性遺伝の形式をとることが知られている。本大学人類遺伝学教室の富田らの連鎖解析によって責任遺伝子座の局在 16p11.2-q12.1 に同定されて以来、次々と同領域が疾患責任座位であることが報告されてきた。それらを受けて 2007 年に同教室の菊池らが、他報告の連鎖解析と併せて、重複最小領域である D16S3131-D16S416 領域内に存在する 157 遺伝子の変異解析を行ったが、疾患原因遺伝子は同定出来なかった。

そこで本研究では、原因遺伝子を同定し発症機序を解明すべく、これまでの連鎖解析によって疾患責任候補領域とされた最大領域を対象に、領域内にある全ての遺伝子の変異解析を行うと同時に、候補領域内のコピー数解析を行った。

## 対象と方法

変異解析：16 番染色体との連鎖が確定している日本人 12 家系から各 1 名、新たに収集した日本人 2 家系から各 1 名、孤発例 2 名の計 16 名で、新たな候補領域として対象とする D16S416-D16S503 間に存在する 72 遺伝子について全てのエクソンとスプライス部位を含む領域を PCR 増幅後、直接シーケンス法による塩基配列決定を行った。

コピー数解析：6 家系から各 1 名、孤発例 2 名の計 8 名で、Illumina HumanExon510S-Duo BeadChip (BeadChip) を用いて、16 番染色体全域の欠失、重複領域の探索を行った。また、2007 年の菊池らの報告で、疾患原因遺伝子として可能性の残る 2 つの遺伝子 *SCNN1G* (sodium channel, nonvoltage-gated 1, gamma) と *ITGAL* (integrin alpha L)、さらに今回の変異解析で見つかった家系内で連鎖しているデータベース未登録塩基置換が存在した *NLRC5* (nucleotide-binding oligomerization domains 27) の 3 遺伝子について、8 家系から各 1 名計 8 名において、高密度のプローブを搭載するよう設計した array comparative genome hybridization (array CGH) を用いて、欠失、重複領域を探索した。これらマイクロアレイで得られた結果は、TaqMan プローブによる定量 PCR 法で確認した。

## 結 果

変異解析：D16S416 から D16S503 の間に存在するゲノムデータベース上に登録されている 72 遺伝子について変異解析を行った結果、15 か所に SNP データベース未登録の塩基置換を認めた。13 個は健常者 100 名中に確認される多型で、1 個(*GPR114* 内の塩基置換) は家系内で疾患と共分離していなかった。同義的置換である *NLRC5* 内の T153T (g.35905C>T) のみが PKD 原因変異候補として残ったが、*in silico* の解析でスプライシングに影響はないことが示唆され、また一家系のみでしか変異が見られないことにより PKD 発症原因変異の可能性は低いと考えられた。

コピー数解析：BeadChip を用いた 16 番染色体全体のコピー数解析では、セントロメア近傍短腕側に患者 8 名で共通のコピー数減少が示唆されたが、健常人にもみられるデータベース登録コピー数多型であった。高密度 array CGH を用いた 3 遺伝子 (*SCNN1G*, *ITGAL*, *NLRC5*) のコピー数解析では、コピー数多型データベース未登録の 100bp 以下のコピー数減少領域が 2 か所、領域 1 では 3 名、領域 2 では 5 名 *ITGAL* 内に示唆された。しかしながら定量 PCR 法で再検証した結果、領域 1 はコピー数の変化は確認できず、領域 2 では 1 名のみの患者にみられる変化であったため、この *ITGAL* 遺伝子が疾患原因という結論には至らなかった。

## 考 察

本研究での変異解析、つまり D16S416 から D16S503 までの領域内に存在する 72 遺伝子の全てのエクソン、スプライス部位には疾患原因遺伝子を同定することが出来なかった。2007 年菊池らの報告と併せて考えると、これまで報告された全ての PKD 候補領域を包括した領域内にあるタンパクコード遺伝子のエクソン、スプライス部位に変異が同定出来なかったことになる。

また、直接シーケンス法では同定不可能な大きな欠失、重複についてもマイクロアレイで検証したが、この点においても疾患原因となるゲノム変化は同定出来なかった。これらの結果から、PCR—直接シーケンス法によるエクソン内の変異解析では解明出来ない疾患原因、つまりイントロン内の変異、プロモーター領域の変異、non-coding RNA の変異、全ゲノムアレイ解析では見つけられない程の小さなコピー数変化等が PKD の原因となっている可能性を考慮する必要がある。