



Aceruloplasminemia: ceruloplasmin lacking ferroxidase activity due to a novel missence mutation (His978Gln) in the ceruloplasmin gene

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 河野, 智 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1176

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博第 323号	学位授与年月日	平成13年 3月27日
氏 名	河 野 智		
論文題目	Aceruloplasminemia: ceruloplasmin lacking ferroxidase activity due to a novel missence mutation (His978Gln) in the ceruloplasmin gene (無セルロプラスミン血症の新たな遺伝子変異：フェロキシダーゼ活性を有しないセルロプラスミン)		

博士(医学) 河野 智

論文題目

Aceruloplasminemia: ceruloplasmin lacking ferroxidase activity due to a novel missense mutation (His978Gln) in the ceruloplasmin gene

(無セルロプラスミン血症の新たな遺伝子変異：フェロキシダーゼ活性を有しないセルロプラスミン)

論文の内容の要旨

[はじめに]

無セルロプラスミン血症は、セルロプラスミンの遺伝子異常により血清の全フェロキシダーゼ活性の95%以上を占めるセルロプラスミンが欠損するため組織からの鉄の輸送が障害され全身に鉄沈着をきたす鉄代謝異常症である。常染色体劣性遺伝を呈し臨床的には網膜変性症・糖尿病・神経症状を3大徴候とする。今回我々は、無セルロプラスミン血症と同様な臨床型をとりながらもウエスタンブロット解析にて血清セルロプラスミンを認めた一例について、セルロプラスミン遺伝子変異とフェロキシダーゼ活性との関係について検討した。

[患者ならびに方法]

対象は、34歳男性。21歳より糖尿病と網膜変性症を呈し神経所見では両側の感音性難聴、軽度の体幹失調を認めた。検査所見では血清銅12ug/dl(68-128ug/dl)、血清鉄38ug/dL(85-160ug/dl)、血清フェリチン1127ng/ml(10-180ng/ml)、血清セルロプラスミンは7mg/dl(21-37mg/dl)であった。肝生検では著明な鉄沈着がみられMRIのT2強調画像にて基底核、視床、小脳歯状核および肝臓に鉄沈着によると考えられる低信号がみられた。また患者の母は無症状であり血清セルロプラスミンは20mg/dlと軽度低下を認めた。以下の1)-4)について検討した。

- 1) 患者および母、無セルロプラスミン血症症例2例、健常成人30人を対象として血清フェロキシダーゼ活性を測定し、免疫沈降法によるセルロプラスミン濃度との関係について検討した。
- 2) ウエスタンブロット解析にて血清中のセルロプラスミン蛋白の発現量を評価し、更にオキシダーゼ活性の有無を調べた。
- 3) 患者白血球よりDNA抽出し、セルロプラスミン遺伝子解析を行った。
- 4) 遺伝子変異についてrestriction fragment length polymorphism(RFLP)解析を行い、本家系での遺伝子多型について検討した。

[結果]

- 1) 血清フェロキシダーゼ活性とセルロプラスミン濃度は正の相関を示した($r=0.99$; $p<0.0001$; $n=30$)。患者の血清フェロキシダーゼ活性は0U/L、また母は218U/Lであり健常者平均値(591 ± 85 U/L)の約半分であった。
- 2) セルロプラスミンのウエスタンブロット解析では、患者では正常例の約半分の発現がみられたがオキシダーゼ染色では活性がみられなかった。
- 3) 患者DNAのセルロプラスミン遺伝子解析にて、エキソン16; nt2701: C→A (Arg882ter)のナンセンス変異とエキソン17; nt2991: T→G (His978Gln)のミスセンス変異を同定した。

4) RFLP解析では、エキソン16について患者はheterozygoteでありエキソン17では患者および母がともにheterozygoteであった。これより本患者はArg882terとHis978Glnの二つの変異をもつcompound heterozygoteと診断した。

〔結論〕

フェロキシダーゼ活性をもたない血清セルロプラスミンを有する無セルロプラスミン血症を報告した。本例は、セルロプラスミン遺伝子のArg882terとHis978Glnの2つの新たな遺伝子変異をもつcompound heterozygoteであった。従来報告されている無セルロプラスミン血症の症例ではセルロプラスミン遺伝子変異はすべてtruncation mutationであり血清中のセルロプラスミンは欠損している。本例では、無セルロプラスミン血症の臨床的特徴を有しているのにも関わらず血清セルロプラスミン蛋白は存在し、そのフェロキシダーゼ活性はみられなかった。また、本症の母はセルロプラスミン蛋白量は正常であったが、フェロキシダーゼ活性は正常の半分であり、遺伝子解析にて本症例同様にエキソン17のミスセンス変異が確認された。このことは同部の変異がフェロキシダーゼ活性に影響を与えているものと考えた。このエキソン17のHis978GlnにみられるHis978は、フェロキシダーゼ活性部位を形成するtrinuclear copper binding cluster内のタイプ2銅の結合部位の1つであると考えられている。本例の遺伝子変異はセルロプラスミンのフェロキシダーゼ活性を考えるうえで重要なものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

無セルロプラスミン血症は、セルロプラスミンの遺伝子の変異により血清の全フェロキシダーゼ活性の95%以上を占めるセルロプラスミンを欠損するため、脳、肝臓、脾臓をはじめとする全身の諸臓器への鉄の過剰蓄積をきたす鉄代謝異常症である。1987年宮嶋らが初めて報告した常染色体劣性遺伝疾患で、臨床的には網膜変性症、糖尿病、神経症状を特徴とする。現在まで16家系が報告されているが、すべて血清セルロプラスミン蛋白の欠損を伴っている。今回、申請者らは無セルロプラスミン血症と同様な臨床症状を示しながら、血清セルロプラスミンの存在を認めた新しいタイプの無セルロプラスミン血症を見つけ、その遺伝子変異とフェロキシダーゼ活性との関係について解析した。

対象は、34歳男性で、21歳より糖尿病と網膜変性症が発症し、両側性の感音性難聴、軽度の体幹失調を認めた。検査所見では血清銅の低下、血清鉄の低下、血清フェリチンの上昇、血清セルロプラスミンは完全欠損でなく正常の1/3の低下を示した。肝生検で著明な鉄の沈着を認められ、脳のMRI画像では大脳基底核、視床、小脳歯状核に鉄沈着と考えられる低信号が認められた。また、母親も軽い血清セルロプラスミンの低下を認めた。

申請者らはこの症例を中心として以下の解析を行った。患者および母親、無セルロプラスミン血症2例、健常人30名について、血清フェロキシダーゼ活性と免疫沈降法による血清セルロプラスミン濃度との関係、ウエスタンブロットによる血清セルロプラスミン蛋白の発現パターンの解析、患者白血球から抽出したセルロプラスミン遺伝子の解析、遺伝子変異について本家系での遺伝子多型について検討した。

その結果、次の点が明らかになった。患者の血清フェロキシダーゼ活性はゼロであり、母親は健常人の平均値の約半分であった。なおフェロキシダーゼ活性と血清セルロプラスミン濃度は正の相関を示すことが分かった。ウエスタンブロットの解析で患者の血清セルロプラスミンは正常者の約半分の発現が見られたが、オキシダーゼ染色では活性が見られなかった。患者DNAのセルロプラスミン遺伝子の解析において、エクソン16にナンセンス変異を、エクソン17にミスセンス変異を同定した。遺伝子多型の解

析では、患者のエクソン16の変異はheterozygoteであり、エクソン17の変異は患者、母親ともにheterozygoteであった。

以上から申請者らは今までの無セルロプラスミン血症と異なり、2つの変異によるcompound heterozygoteの新しいタイプの無セルロプラスミン血症の存在を示し、この無セルロプラスミン血症ではセルロプラスミンは健常人の1/3存在するにもかかわらず、血清フェロキシダーゼ活性が無いことを明らかにした。審査委員会では申請者が無セルロプラスミン血症の全く新しいタイプが存在することを示し、その機序に示唆を与えたことはセルロプラスミンのフェロキシダーゼ活性を考える上で、重要な知見であると高く評価した。

審査の過程において、申請者に対して次のような質問がなされた。

- 1) ナンセンス変異は父方からきたと考えられるが、父方の遺伝子解析をしたか
- 2) 血清セルロプラスミンの濃度およびフェロキシダーゼ活性は正常人でもかなりバラツキがあるが年齢、性などである種の傾向があるか
- 3) 無セルロプラスミン血症の地域差、人種差はあるか
- 4) なぜ錐体外路床状と小脳失調症状が前面にでるのか
- 5) 鉄の沈着の程度と症状、臨床的重症度とは相関するか
- 6) セルロプラスミンはアストロサイトに発現しやすいとされているが、なぜ無セルロプラスミン血症では大脳基底核に鉄が沈着しやすいか
- 7) グリア細胞への鉄の沈着によって脳・血管関門の破綻を来すと考えられるか
- 8) パーキンソン症状を呈する無セルロプラスミン血症はどのくらいあり、なぜそのような症状がでるか
- 9) 無セルロプラスミン血症は如何に治療するか
- 10) 無セルロプラスミン血症をスクリーニングするにはどうすればよいか

これらの質問に対して申請者の解答は適切であり、問題も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 筒井 祥 博

副査 福田 敦 夫 副査 龍 浩 志