



Comprehensive genetic analysis confers high diagnostic yield in 16 Japanese patients with corpus callosum anomalies

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2022-03-31 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 宮本, 祥子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00004115

博士（医学） 宮本 祥子

論文題目

Comprehensive genetic analysis confers high diagnostic yield in 16 Japanese patients with corpus callosum anomalies

（脳梁形成異常を呈する日本人 16 症例における網羅的遺伝子解析）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

脳梁は左右の大腦半球を連絡する交連繊維（交連ニューロン）の束であり、両大腦半球間の視覚、体性感覚、運動の情報伝達を補助する主要な経路であることが知られている。脳梁形成異常は稀な先天性脳形成異常の一つであり、無症状から小児期に発症する精神運動発達遅滞、知的障害、てんかんなど幅広い神経症状まで様々な表現型を呈することが知られている。本疾患は様々な要因により胎生期の脳梁形成過程が障害されることによって生じる。主要な疾患原因の一つとしてあげられるのが遺伝的要因であり、これまでの研究では 30-40% の症例において疾患原因となりうる病的バリエント（染色体異常が 10%、その他の遺伝的要因が 20-35%）が同定されている。現在までに多数の疾患原因遺伝子が報告されており、脳梁形成異常単独で認められる症例よりも脳梁以外にも合併症状のある症例において病的バリエントの同定率が高いことが示唆されている。一方で、55-70% の患者では病因となる遺伝的要因が同定されていないのが現状であり、診断率向上のためには多様なゲノムバリエントに対する包括的アプローチが重要であると考えられた。そこで本研究では、16 症例の脳梁形成異常が認められた症例のエクソームデータを用いて、多様なゲノムバリエント（塩基置換、小さな挿入欠失、コピー数異常、体細胞モザイク、ヘテロ接合性の喪失など）に対する網羅的な遺伝子解析を施行し、診断率を向上させ、脳梁形成異常における遺伝子異常の詳細を明らかにすることを目的とした。

〔患者ならびに方法〕

本研究は浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認（承認番号 17-163）を得て施行し、2009 年に 1 例、2017 年から 2019 年の期間に 15 例の国内 10 施設から集められた先天性脳梁形成異常を呈する症例を対象とした。全例に対し MRI による脳画像解析を施行し、小児神経科医による評価を行った。また、てんかん発作を呈する症例に対しては、発作時の脳波検査を施行し神経専門医による評価を行った。

ゲノム解析では患者末梢血由来 DNA を用いて Whole-exome sequencing (WES) を施行し、疾患原因遺伝子の検索を行った。同時に WES データを利用したコピー数解析 (eXome-Hidden Markov Model および Nord method)、モザイクバリエントの検索 (MuTect2)、ヘテロ接合性喪失の検索 (H3M2) も追加で実施した。候補

となった病的バリエントはサンガーシーケンスや定量 PCR 法によりバリエントの確認および由来の検証を行った。またモザイクバリエントに対しては High Resolution Melt 法を用いてバリエント確認を行った。同定されたバリエントに対する病的意義は複数の *in silico* 病的意義予測ツールを用いて評価し、アレル頻度は公共データベース (gnomAD および 8.3K JPN) を参照した。バリエントの病的意義は、American College of Medical Genetics のガイドラインに沿って行った。

[結果]

対象者は男性 3 例、女性 13 例、2 歳 10 か月から 21 歳 (平均年齢 6.4 歳) であった。完全脳梁欠損が 14 例、脳梁形態異常が 2 例、部分欠損の患者はいなかった。観察された臨床症状は知的障害 (16/16, 100%)、運動発達遅滞 (15/16, 93.8%)、言語発達の遅れ (15/16, 93.8%)、発作 (9/15, 60%)、筋緊張低下 (11/16, 68.8%)、四肢麻痺 (7/16, 43.8%)、自閉症 (3/16, 18.8%) など多様な神経症状が呈した。一方、身体所見では顔貌異常 (8/16, 50%) 低身長 (7/16, 43.8%)、小頭症 (3/13, 23.1%)、巨脳症 (2/13, 15.4%) が複数の症例で観察された。MRI 所見では側脳室後角の拡大 (11/13, 84.6%) 及び上小脳槽の拡大 (5/12, 41.7%) が高頻度で観察された。WES の結果、16 例中 9 例 (56%) において原因と考えられる病的バリエントを同定した。9 例中 8 例は *de novo* バリエント (*ARID1B*、*CDK8*、*HIVEP2*、*TCF4* 及びコピー数異常) であった。この内コピー数異常 (1q44 deletion, 18q21.31-qter deletion) が 2 症例で同定された。同定されたバリエントはどれも公共データベースに登録のない稀なバリエントであり、*in silico* 予測ツールにおいて高い病的意義が示された。*ARID1B* の *de novo* バリエントは 3 症例で同定され、18q21.31-qter のモザイク欠失の領域には *TCF4* が含まれていたため、*ARID1B* 及び *TCF4* 遺伝子異常と脳梁形成異常との関係が強く示唆された。残りの 1 例は *TBCK* の複合ヘテロ接合性バリエントであった。

[考察]

脳梁形成異常は遺伝的背景が多様であるため、候補遺伝子を絞った遺伝子解析は難しいと考えられた。本研究では包括的な遺伝子解析を実施することで 16 例中 9 例において病的バリエントを同定することが出来た。これは遺伝的背景が多様な疾患における原因検索にはコピー数異常やモザイクバリエントの検索などを追加することの重要性を示唆している。脳梁形成異常単独の症例とその他の合併症状がある症例における病的バリエントの同定率を比較したところ、それぞれ 50% (3/6) と 60% (6/10) という結果であった。これは合併症状の有無にかかわらず遺伝的要因が脳梁形成異常における主要な疾患原因であり、網羅的なバリエント検索が重要であることを示している。今回の解析では 7 例において原因となる病的バリエントが同定できなかった。このような症例に対しては、さらに全ゲノム解析や RNA シーケンスを実施することで同定率の向上につながると考えられる。

〔結論〕

本研究により、脳梁形成異常の遺伝的要因として *de novo* の塩基異常やコピー数異常が重要であることが確認できた。WES を利用した包括的な遺伝子解析を行うことが高精度な遺伝的要因の解明や新たな脳梁の異常の病因を発見する一助になると考えられる。