



A de novo mutation of the MYH7 gene in a large Chinese family with autosomal dominant myopathy

Oda, Tetsuya

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2017-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第6882号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1006882>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



学位論文の内容要旨

A *de novo* mutation of the *MYH7* gene in a large Chinese family with autosomal dominant myopathy

常染色体優性遺伝形式をとる中国人筋疾患大家系における
MYH7 遺伝子の新生突然変異

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
神経内科学
(指導教員: 戸田 達史教授)

小田 哲也

【背景・目的】

遠位型ミオパシーは四肢遠位筋の筋力低下と筋萎縮を特徴とし、多くの原因遺伝子が知られている。今回、四肢筋力低下を呈し、当初は肢帶型筋ジストロフィー (limb-girdle muscle dystrophy、LGMD) が疑われた 5 世代に渡る常染色体優性遺伝形式をとる中国人大家系について、原因遺伝子の同定を目的に遺伝学的解析を行った。

【方法】

罹患者の臨床的特徴、経過を調査し、臨床検査を施行した。家系内の罹患者 8 名、非罹患者 10 名の末梢血白血球から DNA を採取した。GeneChip マイクロアレイ (Affymetrix 社) を用いて、家系内 15 名の SNP タイピングを行った。得られた SNP データを利用し、罹患者 8 名のみ (F1) と非罹患者を含めた 15 名 (F2) の 2 つのデータセットを作成し、Merlin プログラムによる多点パラメトリック連鎖解析を行った。LOD スコア 1.6 以上の候補領域を検索した。SNP データを用いて CNV を検索した。さらに 4 名の罹患者 (IV-14、IV-19、V-4、V-6) について次世代シーケンサー (Hiseq2000: Illumina 社) を用いた全エクソーム解析 (Sure Select Human All Exon V4 kit: Agilent 社) を行い、候補領域内の原因変異を検索した。得られた変異について家系内 18 名でサンガーフィークエンスを施行した。また、SNP データやマイクロサテライトマーカーを用いた候補領域内のハプロタイプ解析を行った。

【結果】

＜症例・臨床像＞

5 世代に渡る常染色体優性遺伝形式をとる中国人の筋疾患家系である。本家系には 14 名の罹患者が確認され、出生時～乳児期に異常所見はなく、幼児期 (3 歳～10 歳) に足趾の背屈障害・下垂足で発症し、数年後に罹患者の多くが近位筋を含めた下肢筋力低下が出現し、登攀性起立を認めた。罹患者の一部には軽度翼状肩甲を認めた。罹患者全員が下腿後面筋の肥大を認め、緩徐進行性に四肢・肢帶部の筋力低下、筋萎縮を呈し、深部腱反射は低下していた。50 歳頃までに手指伸筋や頸部屈曲筋の筋力低下を認めた。症状の左右差や性差はなかった。構音障害、嚥下障害、顔面筋罹患、高口蓋や振聴、感覺障害、関節拘縮、呼吸不全、明らかな心不全症状はいずれも認めなかった。知能は正常だった。罹患者の 6 名が側弯症を呈し、4 名は重症であり、若年成人期から歩行障害を認めた。60～70 歳代の進行期には自立歩行が困難だった。患者は 64 歳～80 歳で死亡し、寿命は家系内の非罹患者と同程度であった。血清クレアチニーゼ (CK) 値は正常、末梢神経伝導検査で伝導速度は正常、針筋電図検査で筋原性変化を認めた。

＜連鎖解析・エクソーム解析＞

家系情報、臨床症状から常染色体優性遺伝の小児期発症 LGMD を疑ったが、確定診断に至らなかった。そこで連鎖解析を行った。家系 1 世代目 (I-1, I-2) の罹患情報は不明とした。F1 セットの解析では、1q23.2-24.1, 14q11.2-12, 15q26.2-26.3 (いずれも最大 LOD スコア 1.81, θ=0)、17q24.3 (最大 LOD スコア 1.64, θ=0) の 4 領域を検出した。F2 セットの解析では 1q23.3-24.1 (最大 LOD スコア 3.01, θ=0) のみを検出した。本家系の原因遺伝子を含む候補領域として 4 領域 (約 21Mb) が抽出され、特に 1q23.3-24.1 に注目した。この 4 領域について疾患原因となる CNV は検出できなかった。

次いで全エクソーム解析を施行し、連鎖解析で検出された領域 1q23.3-24.1 に位置する *HSPA6* (heat-shock 70-kDa protein 6) 遺伝子でアミノ酸置換のあるヘテロ接合の c.661G>A (p.V221M) の一塩基多型 (SNV) を検出した。サンガーフィークエンスで罹患者全員と 1 名の高齢非罹患者 (II-7) が *HSPA6* 遺伝子 c.661G>A ヘテロ接合多型を有していた。*HSPA6* 遺伝子は F2 セットの連鎖解析で検出された領域の境界部に位置していた。ハプロタイプ解析では *HSPA6* 遺伝子を含む領域 1q23.1-23.3 について、この非罹患者 (II-7) が罹患者と共通のハプロタイプを有していることが判明し、この *HSPA6* 遺伝子多型は原因変異ではないと判断した。また、連鎖解析で検出された他の 3 領域 (14q11.2-12, 15q26.2-26.3, 17q24.3) について疾患原因となる SNV は検出できなかった。

白とHSP40ファミリーとの疎水性相互作用において最も重要なアミノ酸である。そのため、HSPA6蛋白がDNAJB6蛋白と結合し、骨筋の機能維持に関与しているならば、HSPA6蛋白の結合部位を変化させるp.V221M置換は病原性を有さないが疾患重症度と関連しているかもしれない。しかし、この仮説は本家系の全罹患者が *MYH7* 遺伝子の欠失と *HSPA6* 遺伝子の置換の両方を有し、*MYH7* 遺伝子の欠失のみを有する患者が存在しないことから確認できなかった。家系内の非罹患者 (II-7, III-14) が *MYH7* 遺伝子を含む領域 14q11.2において罹患者と同じハプロタイプを有していたが、彼らは *MYH7* 遺伝子の欠失 (p.K1617del) を有していなかった。そのため、この欠失はII世代目の罹患者 (II-2) で新生突然変異により発生したと推察した。連鎖解析を実行する際には新生突然変異に注意を払う必要がある。さらに *MYH7* 遺伝子の欠失 (p.K1617del) は独立した複数の家系で報告され、この領域のDNA配列は欠失を起こしやすい可能性がある。

【結論】

原因不明の四肢筋力低下を来し、常染色体優性遺伝形式をとる中国人大家系について、連鎖解析と全エクソーム解析を行い、*MYH7* 遺伝子の既知の 3 塩基インフレーム欠失 (p.K1617del) を検出し、LDMと診断した。過去に報告された同欠失の家系と比較し、重症で進行も早く、臨床像の多様性が示された。新生突然変異が示唆され、連鎖解析による診断を困難にしていた。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2676 号	氏名	小田 哲也
論文題目 Title of Dissertation	<p>A <i>de novo</i> mutation of the MYH7 gene in a large Chinese family with autosomal dominant myopathy</p> <p>常染色体優性遺伝形式をとる中国人筋疾患大家系における MYH7 遺伝子の新生突然変異</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 飯島 一誠 Chief Examiner</p> <p>副査 錦織 千恵子 Vice-examiner</p> <p>副査 岩良 一郎 Vice-examiner</p>		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

遠位型ミオパチーは四肢遠位筋の筋力低下と筋委縮を特徴とし、多くの原因遺伝子が知られている。申請者らは、四肢筋力低下を呈し、当初は肢帶型筋ジストロフィー(limb-girdle muscle dystrophy、LGMD)が疑われた5世代に渡る常染色体優性遺伝形式をとる中国人大家系について、原因遺伝子の同定を目的に遺伝学的解析を行った。

罹患者の臨床的特徴、経過を調査し、臨床検査を実施した。家系内の罹患者8名、非罹患者10名の末梢血白血球からDNAを採取した。GeneChipマイクロアレイ(Affymetrix社)を用いて、家系内15名のSNPタイピングを行った。得られたSNPデータを利用し、罹患者8名のみ(F1)と非罹患者を含めた15名(F2)の2つのデータセットを作成し、Merlinプログラムによる多点パラメトリック連鎖解析を行った。LODスコア1.6以上の候補領域を検索した。SNPデータを用いてCNVを検索した。さらに4名の罹患者(IV-14、IV-19、V-4、V-6)について次世代シーケンサー(Hiseq2000: Illumina社)を用いた全エクソーム解析(Sure Select Human All Exon V4 kit: Agilent社)を行い、候補領域内の原因変異を検索した。得られた変異について家系内18名でサンガーフラグメント解析を実行した。また、SNPデータやマイクロサテライトマーカーを用いた候補領域内のハプロタイプ解析を行った。

対象は5世代に渡る常染色体優性遺伝形式をとる中国人の筋疾患家系である。本家系には14名の罹患者が確認され、出生時～乳児期に異常所見はなく、幼児期(3歳～10歳)に足趾の背屈障害・下垂足で発症し、数年後に罹患者の多くが近位筋を含めた下肢筋力低下が出現し、登攀性起立を認めた。罹患者の一部には軽度翼状肩甲を認めた。罹患者全員が下腿後面筋の肥大を認め、緩徐進行性に四肢・肢帶部の筋力低下、筋委縮を呈し、深部腱反射は低下していた。50歳頃までに手指伸展筋や頸部屈曲筋の筋力低下を認めた。症状の左右差や性差はなかった。構音障害、嚥下障害、顔面筋罹患、高口蓋や振戦、感覺障害、関節拘縮、呼吸不全、明らかな心不全症状はいずれも認めなかった。知能は正常だった。罹患者の6名が側弯症を呈し、4名は重症であり、若年成人期から歩行障害を認めた。60～70歳代の進行期には自立歩行が困難だった。患者は64歳～80歳で死亡し、寿命は家系内の非罹患者と同程度であった。血清クレアチニーゼ(CK)値は正常、末梢神経伝導検査で伝導速度は正常、針筋電図検査で筋原性変化を認めた。

家系情報、臨床症状から常染色体優性遺伝の小児期発症LGMDを疑ったが、確定診断に至らなかった。そこで連鎖解析を行った。家系1世代目(I-1、I-2)の罹患情報は不明とした。F1セットの解析では、1q23.2-24.1、14q11.2-12、15q26.2-26.3(いずれも最大LODスコア1.81、θ=0)、17q24.3(最大LODスコア1.64、θ=0)の4領域を検出した。F2セットの解析では1q23.3-24.1(最大LODスコア3.01、θ=0)のみを検出した。本家系の原因遺伝子を含む候補領域として4領域(約21Mb)が抽出され、特に1q23.3-24.1に注目した。この4領域について疾患原因となるCNVは検出できなかった。

次いで全エクソーム解析を施行し、連鎖解析で検出された領域 1q23.3-24.1 に位置する HSPA6 (heat-shock 70-kDa protein 6) 遺伝子でアミノ酸置換のあるヘテロ接合の c.661G>A (p.V221M) の一塩基多型 (SNV) を検出した。サンガーフラグメントシーケンスで罹患者全員と 1 名の高齢非罹患者 (II-7) が HSAP6 遺伝子 c.661G>A ヘテロ接合多型を有していた。HSPA6 遺伝子は F2 セットの連鎖解析で検出された領域の境界部に位置していた。ハプロタイプ解析では HSPA6 遺伝子を含む領域 1q23.1-23.3 について、この非罹患者 (II-7) が罹患者と共にハプロタイプを有していることが判明し、この HSPA6 遺伝子多型は原因変異ではないと判断した。また、連鎖解析で検出された他の 3 領域 (14q11.2-12、15q26.2-26.3、17q24.3) について疾患原因となる SNV は検出できなかった。

次に indel について検索し、F1 セットの連鎖解析で検出された 4 領域に、4 人の罹患者共通にした 21 個のヘテロ接合の indel を検出した。その中に 14q11.2 に位置する MYH7 (Slow/beta cardiac myosin heavy-chain) 遺伝子のインフレーム欠失 (c.4849-4851del、p.K1617del) を検出した。サンガーフラグメントシーケンスで罹患者のみにこの欠失を確認した。この MYH7 遺伝子 p.K1617del は Laing 型遠位型ミオパチー (LDM) の原因として知られている欠失 (rs121913648) であった。他の 20 個の indel はいずれも dbSNP (build137) で登録され、病原性はなかった。LGMD 類似の筋疾患が疑われた本家系は MYH7 遺伝子の欠失 (p.K1617del) が原因である LDM と確定診断した。ハプロタイプ解析では MYH7 遺伝子を含む領域 14q11.2 において非罹患者 (II-7、III-14) が、罹患者と共にハプロタイプを有していたが、この MYH7 遺伝子の欠失 (p.K1617del) は有していないかった。家系内の I 世代 (I-1、I-2) は筋症状を有したという病歴がなく、非罹患者であった可能性が高かった。本家系の MYH7 遺伝子の病原欠失 (p.K1617del) は I 世代目から II 世代目の罹患者 (II-2) へ遺伝する際に新生突然変異として発生したと推定した。そのため、F1 セットの連鎖解析で検出された MYH7 遺伝子を含む 14q11.2 の領域が、F2 セットの連鎖解析で検出されず、診断を困難にしていた。

本研究は、原因不明の四肢筋力低下を来し、常染色体優性遺伝形式をとる中国人大家系について、連鎖解析と全エクソーム解析を行い、MYH7 遺伝子の既知の 3 塩基インフレーム欠失 (p.K1617del) を検出し、LDM と診断したものであるが、過去に報告された同欠失の家系と比較し、重症で進行も早く、臨床像の多様性を示した点で重要な知見を得たものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。