

## 学位論文の要約

Identification of novel *SNORD118* mutations in  
seven patients with leukoencephalopathy with  
brain calcifications and cysts

(白質脳症，頭蓋内石灰化，嚢胞形成を呈した 7 患者の *SNORD118* 変異同定)

Kazuhiro Iwama

岩間 一浩

Department of Human Genetics

Yokohama City University Graduate School of Medicine

横浜市立大学 大学院医学研究科医科学専攻 遺伝学

( Doctoral Supervisor : Naomichi Matsumoto, Professor )

( 指導教員 : 松本 直通 教授 )

## 学位論文の要約

### Identification of novel *SNORD118* mutations in seven patients with leukoencephalopathy with brain calcifications and cysts

(白質脳症、頭蓋内石灰化、嚢胞形成を呈した 7 患者の *SNORD118* 変異同定)

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/cge.12991>

#### 1. 序論

遺伝性疾患とは、遺伝子や染色体などの遺伝要因が、その発症に関与する疾患のことであり、その中で、遺伝要因の効果の高い疾患群として、メンデル遺伝性疾患(単一遺伝子疾患)がある。メンデル遺伝性疾患は、生物学的効果は大きいですが、健常コントロールではほとんど検出されないような極めて頻度の低い “レアバリエント” によって引き起こされると考えられている。全エクソーム解析 (Whole exome sequencing) は、ゲノム中のほぼ全ての遺伝子のタンパク質コーディング領域を網羅的に解析する手法であり、原因不明の遺伝性疾患の責任遺伝子を探索する際の中心的手法である。本研究では、白質脳症、頭蓋内石灰化、嚢胞形成を画像上の 3 徴とする Leukoencephalopathy with brain calcification and cysts (LCC) 患者群と、小脳症状を呈する患者群に対して、主に WES を中心とする遺伝学的手法による病因の探索を行った。

#### 2. 対象と方法

LCC 患者を含む 8 家系と、小脳萎縮や小脳失調症状を呈し、臨床学的には確定診断に至らなかった小脳症状を呈する患者を含む 160 家系を解析対象とした。LCC 家系に対しては、2016 年に新規に責任遺伝子として報告された Small nucleolar RNA, C/D box 118 (*SNORD118*) について (Jenkinson et al., 2016), WES データの後方視的解析とサンガー法による追加検証を行った。小脳症状の家系からは、既知遺伝子の病的バリエントが検出された 85 家系 (53.1%) のうち、Human Gene Mutation Database (HGMD) のバリエント登録数の少ない遺伝子で病的バリエントを検出した 6 家系 7 患者について注目し、臨床医から表現型の詳細な情報を得て、既報との比較検討やバリエントの病的意義の評価を行った。

### 3. 結果

LCC 8 家系に対して行った当初の WES 解析では、病因は同定できなかったが、新たに疾患責任遺伝子として報告された *SNORD118* バリアントについて、サンガーシーケンスを行ったところ、7/8 家系(87.5%)で 4 つの新規バリアント(n.19C>G, n.24C>T, n.61A>T, n.118T>G)を含む両アレル性バリアントを検出した。WES データの後方視的解析では、*SNORD118*はジュベール症候群の責任遺伝子である *TMEM107*の 3'UTR に位置しており、エクソームキャプチャーに用いている SureSelect Human All Exon kit (v4, v5, v6)でカバーされていることが確認できた。また、アノテーション方法を Refseq Gene から Ensemble Gene を対象としたものに変えることで, ENSG00000200463 (*SNORD118*)のバリアントとしてコールされることが明らかになった。

小脳症状の家系からは、既知遺伝子の病的バリアントが 85/160 家系 (53.1%) が検出された。報告数の少ない遺伝子としては、Patient 2-1, 2-2 から、Sep (O-Phosphoserine) TRNA:Sec (Selenocysteine) TRNA synthase (*SEPSECS*)の複合ヘテロ接合性バリアント、Patient 2-3, 2-4 (兄弟例)から、Solute carrier family 9 member A1 (*SLC9A1*) のホモ接合性バリアント、Patient 2-5, 2-6 から、Misato 1, mitochondrial distribution and morphology regulator (*MSTO1*)の複合ヘテロ接合性バリアント、Patient 2-7 から Solute carrier family 1 member A3 (*SLC1A3*) の *de novo* (ヘテロ接合性)バリアントを検出した。

### 4. 考察

検出されたバリアントの病原性を評価するために、ミスセンスバリアントについては、SIFT, PolyPhen2, MutationTaster, CADD の 4 つの予測スコアを用いた評価を行ったところ、病的意義を支持するものが多数を占めた。*SNORD118*バリアントについては、タンパク質非コーディング領域に対しても定義されている CADD と PhyloP を用いたところ、CADD よりも PhyloP の方がバリアントの評価に有用であった。このことは、タンパク質非コーディング遺伝子の重要領域が、生物種間で高度に保存された領域であることを示唆すると考えられた。バリアントの総合的な評価には、American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology (ACMG/AMP) ガイドライン (Richards et al., 2015) を用いたが、同定された全てのバリアントが Likely pathogenic あるいは Pathogenic と評価された。本研究で病因が同定された症例の知見の中に、表現型のスペクトラムを修正するものが含まれていた。*SEPSECS* 病的バリアントは、小児期より MRI で小脳萎縮を呈する症例が報告されていた (Agamy et al., 2010) が、本研究の Patient 2-1, 2-2 はそれよりも緩徐進行型であった。*SLC9A1* は、小脳萎縮と感音性難聴を呈する

Lichtenstein-Knorr 症候群で報告されていた (Guissart et al., 2015) が, 本研究の Patient 2-3, 2-4 は聴覚異常を認めなかった. WES 解析を中心とした遺伝学的探索により同定した 5 つの遺伝子の新規病的バリエント 12 個 (*SNORD118*: 4 個, *SEPSECS*: 3 個, *SLC9A1*: 1 個, *MSTO1*: 3 個, *SLC1A3*: 1 個) と, 患者 14 名の臨床情報は, 今後の遺伝子診断の精度向上, 患者の予後の推測に資するものと考えられた.

#### キーワード

- ・ 全エクソーム解析
- ・ Leukoencephalopathy with brain calcification and cysts (LCC)
- ・ 小脳萎縮

遺伝子	バリエント	Patient	報告の有無	ACMG/AMP クライテリア	評価
SNORD118	n.3C>T	1・4, 1・6	Reported	PS1, PM2, PM3, PP2, PP4	P
	n.19C>G	1・4	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
	n.24C>T	1・6	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
	n.39G>C	1・1, 1・2, 1・3, 1・5, 1・7	Reported	PS1, PM2, PM3, PP2, PP4	P
	n.61A>T	1・7	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
	n.72A>G	1・1, 1・5	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
	n.103G>A	1・3	Reported	PS1, PM2, PM3, PP2, PP4	P
	n.118T>G	1・2	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
SEPSECS	c.77delG (p.Arg26Profs*42)	2・1	Novel	PVS1, PM2, PM3, PP4	P
	c.356A>G (p.Asn119Ser)	2・1, 2・2	Novel	PM2, PM3, PP3, PP4	LP
	c.467G>A (p.Arg156Gln)	2・2	Novel	PM2, PM3, PP3, PP4	LP
MSTO1	c.1099-1G>A (p.Val367Trpfs*2)	2・5	Novel	PVS1, PM2, PM3, PP4	P
	c.836G>A (p.Arg279His)	2・5, 2・6	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
	c.79C>T (p.Gln27*)	2・6	Novel	PM2, PM3, PP2, PP4	LP
SLC9A1	c.862delA (p.Ile288Serfs*9)	2・3, 2・4	Novel	PVS1, PM2, PM3, PP1, PP4	P
SLC1A3	c.383T>G (p.Met128Arg)	2・7	Novel	PS2, PM2, PP3, PP4	LP

表 本研究で同定したバリエントの ACMG/AMP ガイドラインにおける病原性評価

略語は、P: Pathogenic, LP: Likely pathogenic, ACMG/AMP: American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology を表す。クライテリアは、PVS1: 機能喪失型バリエント(ナンセンスバリエント、フレームシフトやスプライシング変化を引き起こすバリエント), PS1: 既知の病的バリエントと同じアミノ酸置換を起こす, PS2: 孤発例に見つかった *de novo* バリエントであり、生物学的親子関係が証明されている, PM2: 健常対照群に存在しない、または疾患頻度に対して非常に頻度が低い(劣性遺伝の場合), PM3: トランスに見つかる(劣性遺伝の場合), PP2: 良性ミスセンスの低い遺伝子のミスセンスバリエント, PP3: 複数の予測プログラムにより支持される, PP4: 患者の表現型が単一遺伝病に特異的である、を示す。

## 引用文献

Agamy, O., Ben Zeev, B., Lev, D., Marcus, B., Fine, D., Su, D., Narkis, G., Ofir, R., Hoffmann, C., Leshinsky-Silver, E., Flusser, H., Sivan, S., Soll, D., Lerman-Sagie, T., & Birk, O. S. (2010). Mutations disrupting selenocysteine formation cause progressive cerebello-cerebral atrophy. *Am J Hum Genet*, 87, 4, 538-544.

Guissart, C., Li, X., Leheup, B., Drouot, N., Montaut-Verient, B., Raffo, E., Jonveaux, P., Roux, A. F., Claustres, M., Fliegel, L., & Koenig, M. (2015). Mutation of SLC9A1, encoding the major Na(+)/H(+) exchanger, causes ataxia-deafness Lichtenstein-Knorr syndrome. *Hum Mol Genet*, 24, 2, 463-470.

Jenkinson, E. M., Rodero, M. P., Kasher, P. R., Uggenti, C., Oojageer, A., Goosey, L. C., Rose, Y., Kershaw, C. J., Urquhart, J. E., Williams, S. G., Bhaskar, S. S., O'Sullivan, J., Baerlocher, G. M., Haubitz, M., Aubert, G., Baranano, K. W., Barnicoat, A. J., Battini, R., Berger, A., Blair, E. M., Brunstrom-Hernandez, J. E., Buckard, J. A., Cassiman, D. M., Caumes, R., Cordelli, D. M., De Waele, L. M., Fay, A. J., Ferreira, P., Fletcher, N. A., Fryer, A. E., Goel, H., Hemingway, C. A., Henneke, M., Hughes, I., Jefferson, R. J., Kumar, R., Lagae, L., Landrieu, P. G., Lourenco, C. M., Malpas, T. J., Mehta, S. G., Metz, I., Naidu, S., Ounap, K., Panzer, A., Prabhakar, P., Quaghebeur, G., Schiffmann, R., Sherr, E. H., Sinnathuray, K. R., Soh, C., Stewart, H. S., Stone, J., Van Esch, H., Van Mol, C. E., Vanderver, A., Wakeling, E. L., Whitney, A., Pavitt, G. D., Griffiths-Jones, S., Rice, G. I., Revy, P., van der Knaap, M. S., Livingston, J. H., O'Keefe, R. T., & Crow, Y. J. (2016). Mutations in SNORD118 cause the cerebral microangiopathy leukoencephalopathy with calcifications and cysts. *Nat Genet*, 48, 10, 1185-1192.

Richards, S., Aziz, N., Bale, S., Bick, D., Das, S., Gastier-Foster, J., Grody, W. W., Hegde, M., Lyon, E., Spector, E., Voelkerding, K., Rehm, H. L., & Committee, A. L. Q. A. (2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*, 17, 5, 405-424.

## 論文目録

### I. 主論文

- Identification of novel *SNORD118* mutations in seven patients with leukoencephalopathy with brain calcifications and cysts.  
Iwama, K., Mizuguchi, T., Takanashi, J. I., Shibayama, H., Shichiji, M., Ito, S., Oguni, H., Yamamoto, T., Sekine, A., Nagamine, S., Ikeda, Y., Nishida, H., Kumada, S., Yoshida, T., Awaya, T., Tanaka, R., Chikuchi, R., Niwa, H., Oka, Y. I., Miyatake, S., Nakashima, M., Takata, A., Miyake, N., Ito, S., Saitsu, H., Matsumoto, N.  
Clinical Genetics. Vol 92, Issue 2, Page 180-187. 2017.

### II. 副論文

- Milder progressive cerebellar atrophy caused by biallelic SEPSECS mutations.  
Iwama, K., Sasaki, M., Hirabayashi, S., Ohba, C., Iwabuchi, E., Miyatake, S., Nakashima, M., Miyake, N., Ito, S., Saitsu, H., Matsumoto, N.  
Journal of Human Genetics. Vol 61, Issue 6, Page 527-531. 2016.
- A novel SLC9A1 mutation causes cerebellar ataxia.  
Iwama, K., Osaka, H., Ikeda, T., Mitsuhashi, S., Miyatake, S., Takata, A., Miyake, N., Ito, S., Mizuguchi, T., Matsumoto, N.  
Journal of Human Genetics. Vol 63, Issue 10, Page 1049-1054. 2018.
- Novel recessive mutations in MSTO1 cause cerebellar atrophy with pigmentary retinopathy.  
Iwama, K., Takaori, T., Fukushima, A., Tohyama, J., Ishiyama, A., Ohba, C., Mitsuhashi, S., Miyatake, S., Takata, A., Miyake, N., Ito, S., Saitsu, H., Mizuguchi, T., Matsumoto, N.  
Journal of Human Genetics. Vol 63, Issue 3, Page 263-270. 2018.
- A novel mutation in SLC1A3 causes episodic ataxia.  
Iwama, K., Iwata, A., Shiina, M., Mitsuhashi, S., Miyatake, S., Takata, A., Miyake, N., Ogata, K., Ito, S., Mizuguchi, T., Matsumoto, N.  
Journal of Human Genetics. Vol 63, Issue 2, Page 207-211. 2018.

### III. 参考論文

- 神経発達障害の全エクソーム解析  
岩間一浩, 松本直通  
分子精神医学, 16(3), p.153-160, 2016.
- 次世代シーケンサーを用いた全エクソーム解析／全ゲノム解析  
岩間一浩, 松本直通  
Clinical neuroscience, 36(2), p.156-161, 2018.
- Diagnostic utility of whole exome sequencing in patients showing cerebellar and/or vermis atrophy in childhood.  
Ohba, C., Osaka, H., Iai, M., Yamashita, S., Suzuki, Y., Aida, N., Shimozawa, N., Takamura, A., Doi, H., Tomita-Katsumoto, A., Nishiyama, K., Tsurusaki, Y., Nakashima, M., Miyake, N., Eto, Y., Tanaka, F., Matsumoto, N., & Saito, H.  
*Neurogenetics* Vol 14, Issue 3-4, Page 225-232. 201