

## 多系統萎縮症の素因遺伝子

辻 省次<sup>1)</sup>

要旨：多系統萎縮症の多発家系に着目して、連鎖解析による候補遺伝子座の絞りこみ、全ゲノム配列解析による病因遺伝子の同定を進め、6家系中4家系で、COQ2遺伝子に病原性変異をみいだした。さらに、孤発性多系統萎縮患者、対照群において、COQ2の遺伝子配列解析を実施し、機能障害性COQ2が、MSA発症のリスクとなっていることをみいだした。コエンザイムQ10の機能としては、ミトコンドリアの電子伝達系における電子の運搬、細胞内で発生する様々な活性酸素種の除去にかかわっていることが知られており、COQ2変異は、ATP産生の低下や酸化ストレスに対する脆弱性を増すことが病態機序として想定されている。

(臨床神経 2014;54:969-971)

## はじめに

多系統萎縮症 (Multiple System Atrophy; MSA) という病名は、それまで別個の疾患と考えられていたオリブ橋小脳萎縮症、線条体黒質変性症、シャイ・ドレーガー症候群を包括する疾患概念として、GrahamとOppenheimerにより提唱された<sup>1)</sup>。MSAの病型については、小脳性運動失調症を主症候とするばあいは、MSA-C、パーキンソンズを主症候とするばあいは、MSA-Pと分類されるようになってきている。臨床面ではGilmanらによりMSAの診断基準の改訂版が発行され<sup>2)</sup>、MSAの診断基準として広くもちいられるようになってきている。

MSAの病学的所見として、 $\alpha$ -synucleinを主成分としたglial cytoplasmic inclusion (GCI)がオリブ橋小脳萎縮症に集積していることがみいだされ<sup>3)-5)</sup>、 $\alpha$ -synucleinの129番セリン残基が異常にリン酸化されていることが報告された<sup>6)</sup>。

MSAの分子病態機序について、上述のように、特徴的な病理所見やそれに関連する生化学的な異常はみいだされてきているもの、その根本的な原因が何に基づくのかは依然として不明のままであった。われわれは、疾患発症に対する影響度の大いなる遺伝的要因が存在するばあいは、家系内に複数の発症者が出やすくなるという考えに立ち、MSAの多発家系に着目し、病因遺伝子を見いだし、次いで、孤発性のMSA症例群で当該遺伝子が発症のリスク遺伝子になっているかどうかを検証するという筋道で研究を進めた。

## MSA多発家系におけるCOQ2遺伝子異常の発見

われわれは、頻度の上ではまれであるものの、MSA多発家系を見いだした<sup>7)</sup>。いずれの家系でも同胞で発症がみられ、1家系には両親に近親婚がみとめられ、常染色体劣性遺伝性が想定される。同胞間でMSA-C、MSA-Pのsubtypeが一致す

る傾向があることも注目される。

これらの家系について、連鎖解析により候補遺伝子座を80 Mbの領域にまで絞りこみ、1名の発症者について、全ゲノム配列解析を実施した。標準ゲノム配列と比較すると、300万以上の変異がみいだされた。この中から、候補領域に存在する、遺伝子の翻訳領域あるいはスプライス部位に存在する、翻訳領域の変異の中では非同義置換である、データベースに登録されていない新規変異である、などの条件で絞りこむことにより、4つの変異に絞りこむことができた。

この4つの変異について、さらに健常者集団で検討したところ、このうちの1つの変異が健常者集団には存在しないことが示された。この遺伝子(COQ2)について、6家系で変異解析をおこなったところ、さらにもう1家系でことなる変異が複合ヘテロ接合性に存在する事が明らかになり、COQ2遺伝子が、MSA多発家系の一部で病因遺伝子となっていると結論した<sup>8)</sup>。

COQ2は、コエンザイムQ10を合成経路の酵素をコードしており、COQ2変異により、コエンザイムQ10の合成が低下すると考えられる。事実、COQ2変異をホモ接合で有する症例の剖検脳で、コエンザイムQ10の含量が著減していることが示された。

コエンザイムQ10は、ミトコンドリアの電子伝達系において、complex I、IIからcomplex IIIへの電子の運搬にかかわっており、コエンザイムQ10の低下は、電子伝達の低下、ATP産生の低下をもたらすと考えられる。コエンザイムQ10は、強い還元能を持っていることから、細胞内で発生する様々な活性酸素種の除去にもかかわっていると考えられており、コエンザイムQ10の低下は、酸化ストレスに対する脆弱性を増す可能性も想定されている。

<sup>1)</sup> 東京大学医学部附属病院神経内科ゲノム医学センター [〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1]  
(受付日：2014年5月22日)

## 孤発性多系統萎縮症の分子機構の解明

## まとめ

次に、*COQ2* 遺伝子が、孤発性の MSA の発症に関連するかどうかを検討するため、患者・対照群に対して *COQ2* 遺伝子の塩基配列を網羅的に解析し、*COQ* 遺伝子の変異が、MSA の発症に関連するかどうかを検討した。

日本人 MSA 患者群 363 例と対照群 520 例、ヨーロッパの MSA 患者群 223 例と対照群 315 例、北米の MSA 患者群 172 例と対照群 294 例を解析対象とした。*COQ2* 遺伝子の全エクソンの塩基配列を解析したところ、患者群・対照群で合わせて 13 種類の変異が検出された。ほとんどの変異は、1 例にしかみられないまれな変異であったが、V393A の頻度は比較的高く日本人にのみ観察された。患者群で 9.1% が保因者、対照群で 3.3% が保因者あり、オッズ比 3.05、 $p$  値  $1.5 \times 10^{-4}$  と有意な関連があることがわかった。また、V393A 変異をヘテロ接合性を持っている MSA 患者と *COQ2* 変異を持たない健常者から樹立されたリンパ芽球様細胞からミトコンドリア分画を抽出して酵素活性をくらべてみると、V393A 変異キャリアー MSA 患者例の酵素活性は、変異を持たない健常例と酵素活性とくらべて活性が低下していることが確認された。このことから V393A は実際に機能障害性に働く変異であることがわかった。

その他のまれな 12 種類の変異については意義付けが不明であったため、変異体の機能を解析するために酵母をもちいた機能解析をおこなった。酵母の *coq2* 遺伝子を欠失させた酵母は電子伝達系を利用したエネルギー産生ができなくなるため、グリセロールなど非発酵性炭素源を培地にして培養すると増殖できない。この *coq2* 欠失酵母に対して、ヒト *COQ2* cDNA をもちいて形質転換すると、非発酵性炭素源における増殖能力が回復する。このような機能補完現象を利用して、各々の変異体 cDNA を導入した時に機能補完がおきるかどうかを検討した。その結果、9 種類の変異が機能障害性変異であることが示された。日本、ヨーロッパ、北米の全サンプルをあわせて検討すると、758 例の MSA 患者中 8 例、1129 例の対照者中 1 例に機能障害性変異がヘテロ接合性にみとめられたこととなり、オッズ比 11.97、 $p$  値 0.004 と有意な関連があることがわかった。

次世代シーケンサーの実用化により、候補遺伝子領域の絞りこみが十分でないばあいでも、exome 配列解析や全ゲノム配列解析により、遺伝子変異の探索が十分に可能であり、今後、多くの神経疾患の研究に応用されていくことが期待される。そのばあいに、家系リソース、患者、健常者の大規模リソースが必須となり、幅広い共同研究体制の構築と推進が重要となる。

本研究の成果から、コエンザイム Q10 の大量投与が、MSA 患者、とくに *COQ2* 変異を有する患者に対して有効な治療法となる可能性があり、早急に治験が実施されることが望まれる。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

## 文 献

- 1) Graham JG, Oppenheimer DR. Orthostatic hypotension and nicotine sensitivity in a case of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1969;32:28-34.
- 2) Gilman S, Wenning GK, Low PA, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology* 2008;71:670-676.
- 3) Papp MI, Kahn JE, Lantos PL. Glial cytoplasmic inclusions in the CNS of patients with multiple system atrophy (striatonigral degeneration, olivopontocerebellar atrophy and Shy-Drager syndrome). *J Neurol Sci* 1989;94:79-100.
- 4) Wakabayashi K, Ikeuchi T, Ishikawa A, et al. Multiple system atrophy with severe involvement of the motor cortical areas and cerebral white matter. *J Neurol Sci* 1998;156:114-117.
- 5) Spillantini MG, Crowther RA, Jakes R, et al. Filamentous alpha-synuclein inclusions link multiple system atrophy with Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Neurosci Lett* 1998;251:205-208.
- 6) Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, et al. alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002; 4:160-164.
- 7) Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, et al. Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol* 2007;64:545-551.
- 8) Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, et al. Mutations in *COQ2* in familial and sporadic multiple-system atrophy. *N Engl J Med* 2013;369:233-244.

**Abstract****Susceptibility gene in multiple system atrophy (MSA)**Shoji Tsuji, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup><sup>1)</sup>Department of Neurology, The University of Tokyo Hospital

To elucidate molecular bases of multiple system atrophy (MSA), we first focused on recently identified MSA multiplex families. Though linkage analyses followed by whole genome resequencing, we have identified a causative gene, *COQ2*, for MSA. We then conducted comprehensive nucleotide sequence analysis of *COQ2* of sporadic MSA cases and controls, and found that functionally deleterious *COQ2* variants confer a strong risk for developing MSA. *COQ2* encodes an enzyme in the biosynthetic pathway of coenzyme Q10. Decreased synthesis of coenzyme Q10 is considered to be involved in the pathogenesis of MSA through decreased electron transport in mitochondria and increased vulnerability to oxidative stress.

(Clin Neurol 2014;54:969-971)

---