

常染色体性優性急性壊死性脳症の病態に関する研究

研究分担者 水口 雅 東京大学 大学院医学系研究科 研究員
心身障害児総合医療療育センター むらさき愛育園 園長

研究要旨

急性壊死性脳症の脳病理はLeigh脳症との類似点を有し、病態にミトコンドリア機能異常が関与する可能性を示唆する。常染色体優性（顕性）急性壊死性脳症（ADANE）の原因遺伝子産物Ran-binding protein 2 (RANBP2)は核膜を構成するタンパクで、核-細胞質の物質輸送に関与する。私たちは今年度、ADANEにおけるミトコンドリア機能を *in vitro* で解析し、RANBP2とcytochrome oxidase copper chaperone (COX11)の結合能がADANEの病因変異により低下することを見出した。

A. 研究目的

常染色体優性（顕性）急性壊死性脳症 (autosomal dominant acute necrotizing encephalopathy, 以下ADANE)は、発熱を伴う感染症に続発して発症し、嘔吐、痙攣、筋緊張亢進、異常姿勢、呼吸変容、意識障害を呈する。遺伝性（常染色体性優性遺伝）、臨床所見（脳以外の臓器障害は軽い）、病変分布（外包、内側側頭葉に病変）、経過（しばしば再発）、予後（孤発性に比べれば良好）など、孤発性の急性壊死性脳症とは若干違う特徴を有する。報告は主に欧米人で、日本人では従来1症例のみである。2003年にNeilsonらが初めて報告し、原因遺伝子として *RANBP2* を同定した。今までに *RANBP2* のロイシンリッチドメイン(LD)内に4変異が同定されている。*RANBP2* のLDはcytochrome *c* oxidase copper chaperone (COX11)のhexokinase 1(HK1)に対する阻害作用を抑制すること、*RANBP2* ヘテロ欠損マウスの中樞神経系ではHK1とATPの低下することが報告されている。本研究ではADANEの*RANBP2*変異がCOX11との相互作用に影響を及ぼすか検討した。

B. 研究方法

患者のcDNAから*RANBP2* c.1754 C>T変異を含む変異型および野生型pGEXベクターを作成した。大腸菌コンピテントセルを形質転換後、

GST-*RANBP2* 融合タンパクを発現させ、COX11とのブルダウンアッセイを行った。

また末梢血由来のリンパ芽球を用いてATPアッセイを行い、ADANE (c.1754 C>T変異)患者1名と正常対照者10名の間で細胞内のATP産生を比較した。

C. 研究結果

変異型*RANBP2*では野生型と比べてCOX11との結合が有意に低下していた。

リンパ芽球のATP産生については、患者と正常対照者の間に差がなかった。

D. 考察

変異型*RANBP2*ではCOX11との結合能が低下し、COX11によるHK1阻害作用が亢進し、ATP産生低下、エネルギー代謝不全、脳症発症へとつながる可能性が考えられた。本研究で認められた結合能低下の程度は3割程度と小さかったが、このことがADANE家系における浸透率が約40%と低いこと、患者も感染症のストレスがかからない限りは無症候であることの原因であると思われた。

血液の細胞であるリンパ芽球でATP産生低下が認められなかったことは、脳や筋などATP需要の高い臓器系の細胞でなく、サイトカイン刺激

などの負荷も加えられていない条件下での実験だったためと推測された。

急性壊死性脳症はサイトカインストーム脳症の代表的な病型である。一方で、急性壊死性脳症の病変分布（大脳深部や脳幹被蓋の神経核を左右対称性に冒す）は Leigh 脳症などミトコンドリア異常症と類似することから、急性壊死性脳症の病態にミトコンドリア機能異常が関与するという仮説が従来からある。本研究では、この仮説を部分的ながら支持する結果が得られた。

E. 結論

ADANE を含む急性壊死性脳症の病態にミトコンドリア機能異常が関与する可能性が、*in vitro* の機能解析で示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Ohashi E, Hayakawa I, Murofushi Y, Kawai M, Suzuki-Muromoto S, Abe Y, Yoshida M, Kono N, Kosaki R, Hoshino A, Mizuguchi M, Kubota M. Recurrent acute necrotizing encephalopathy in a boy with RANBP2 mutation and thermolabile CPT2 variant: The first case of ANE1 in Japan. *Brain and Development* 2021; 43(8): 873-878.

Shibata A, Kasai M, Hoshino A, Tanaka T, Mizuguchi M. RANBP2 mutation causing autosomal dominant acute necrotizing encephalopathy attenuates its interaction with COX11. *Neuroscience Letters* 2021; 763: 136173

Nguyen PHA, Yamada S, Harada S, Fukushi S, Mizuguchi M, Saijo M. Virulence of herpes simplex virus 1 harbouring a UAG stop codon between the first and second initiation codon in the thymidine kinase gene. *Japanese Journal of Infectious Diseases*. in press.

Kasai M, Omae Y, Kawai Y, Shibata A, Hoshino A,

Mizuguchi M, Tokunaga K. GWAS identifies candidate susceptibility loci and microRNA biomarkers for acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. *Scientific Reports* 2022; 12: 1332.

水口雅. [神経・筋疾患]急性脳症. 水口雅、山形崇倫(編) クリニカルガイド小児科. 南山堂、東京、2021, pp. 813-817.

水口雅. [私の治療]急性弛緩性脊髄炎. *日本医事新報* 2021; 5060:49.

山内秀雄, 市山高志, 大澤麻木子, 勝沼俊雄, 高橋孝夫, 新島新一, 永井理三郎, 水口雅, 吉川秀人. 小児の急性脳症. 改訂新版重篤副作用疾患別対応マニュアル, 第2集. 日本医薬情報センター, 東京, 2022, pp. 153-175

2. 学会発表

Kasai M, Omae M, Kawai Y, Shibata A, Hoshino A, Mizuguchi M, Tokunaga K: AESD-associated microRNAs and target genes are involved in inflammatory responses. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-29日

Shibata A, Kasai M, Hoshino A, Mizuguchi M: *IL-1B* polymorphism in acute encephalopathy with biphasic seizures and late reduced diffusion. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-29日

星野愛, 佐久間啓, 多田弘子, 葛西真梨子, 柴田明子, 水口雅: 血清 mRNA に着目した難治頻回部分発作重積型急性脳炎の網羅的バイオマーカー探索. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-29日

大橋瑛梨, 阿部裕一, 室伏佑香, 川井未加子, 早川格, 鈴木智, 小崎里華, 星野愛, 水口雅, 久保田雅也: RANBP2 遺伝子変異陽性、CPT2 遺伝子多型を持つ反復性急性壊死性脳症(ANE1)の1例. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-29日

森貴幸, 柿本優, 竹中暁, 下田木の実, 佐藤敦志, 岡明, 水口雅. 前頭葉病変により構成障害を来した急性散在性脳脊髄炎の1例. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-

29日

竹中暁, 柿本優, 下田木の実, 内野俊平, 佐藤敦志, 岡明, 水口雅: 症候性先天性サイトメガロウイルス感染児の幼児期発達予後. 第63回日本小児神経学会学術集会, オンライン, 2021年5月27-29日

水口雅. [中枢神経感染症等の診断と治療に関する最新情報]インフルエンザ脳症. 第53回日本小児感染症学会総会・学術集会, 東京, 2021年10月

9日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし