

一方のAlleleのみに変異を認めた若年型糖原病II型 (酸性 α -glucosidase欠損症)の1例

松本 正¹・清水 貴士²・土井 知巳²・近藤 達郎²

要旨 若年型糖原病II型の1例で遺伝子解析を施行した。患者は母親由来alleleのみにR600C変異を有し、同時にその他に2種類の多型をもたらすアミノ酸置換変異を同じallele上に有していた。RT-PCR産物の制限酵素消化では他方の父親由来alleleの発現が少ない可能性が示唆された。今後、発現低下機構の解明が必要である。

長崎大学医学部保健学科紀要 16(2): 59-62, 2003

Key Words : 若年型糖原病II型, 変異

はじめに

糖原病II型は常染色体劣性疾患であり、発生頻度は1/4万人と考えられている¹⁾。臨床的には乳児型、若年型、成人型に分類され、重症度は多くの患者では酸性 α -glucosidase (GAA)の残存酵素活性に相関すると考えられている。若年型は乳幼児期に近位筋の筋力低下で発症し、筋原性酵素の上昇で疑われ、筋生検・酵素活性低下で診断される。その後、筋力低下が徐々に進行して20歳前後で呼吸不全に陥る。酸性 α -glucosidase遺伝子(GAA)は17q25に座位し、20個のエクソンより構成される。本症では約100種類の変異が検出されているが(Human Gene Mutation Database)、遺伝子型と臨床型との相関は必ずしも明らかではない。

本症の治療としては若年型や成人型では高蛋白食療法²⁾や高分枝鎖アミノ酸療法³⁾の有効性が報告されたが全員に有効という訳ではなく、現時点では根本的治療は存在しない。しかし、最近遺伝子工学により産生されたGAAの治験がPhase IIに入っており、その有効性も確認され⁴⁾、早期の市販が待たれる。

今回、若年型糖原病II型の1例で遺伝子解析を施行したので報告する。

症 例

22歳、女性。家族歴に著変なし。独歩15ヶ月だが幼児期より走るのが遅く、転倒しやすいとの訴えで9歳時に長崎大学病院小児科受診。軽度の筋力低下を認めたが、理学的所見に異常なく、筋萎縮も明らかではない。血清CPKは3043IU/lと高値で、他の筋原性酵素も高値を呈した。筋生検では筋繊維内の空胞を認め、酸性 α -glucosidase活性は正常対照の4%であった。その後、高蛋白食療法、高分枝鎖アミノ酸療法を行うも、筋力低下は徐々に進行した。20歳時に寝返り困難、呼吸困難が

出現し、血液ガス分析でpH 7.31、PO₂ 32.9mmHg、PCO₂ 82.2mmHgと呼吸性アシドーシスを示し、昼間の傾眠傾向も認めたので夜間人工換気療法を開始した。

材料と方法

発端者および両親の抹消血よりDNAを抽出し、発端者は同時にRNAも抽出した。GAAの全エクソンを増幅するためのプライマーを合成した。PCRは94℃30秒denature, annealingは30秒間で温度はプライマー毎に設定、extensionは72℃で1分間とした。PCR産物より日立SQ5500 sequencerを用いて直接塩基配列決定を行った。RT-PCRはエクソン12からエクソン13を増幅するようにプライマーを設定し、PCR産物を制限酵素で消化した。

結 果

塩基配列決定によりエクソン12内のコドン576がGGCからAGCに、エクソン13内のコドン600がCGCからTGCに、エクソン15内のコドン689がGAGからAAGに変化していた。この塩基置換によりコドン576ではGlyからSer (G576S)、コドン600ではArgからCys (R600C)、コドン689ではGluからLys (E689K)へのアミノ酸置換が生じる。しかし両親の検索では3種類の変異は全て母親由来であった。その他にはアミノ酸置換をもたらす変異は検出されなかった。

エクソン12および13を含む発端者の214 base pair (bp) RT-PCR産物を制限酵素Hae IIIまたはAci Iで消化した結果を図1に示す。いずれの酵素の場合も父親由来のallele断片濃度(Hae IIIの87bp, Aci Iの120bp)は母親由来断片(137bpと179bp)に比べて薄く、発端者では野生型alleleの発現が少ないと推測された。

1 長崎大学医学部保健学科

2 長崎大学医学部小児科

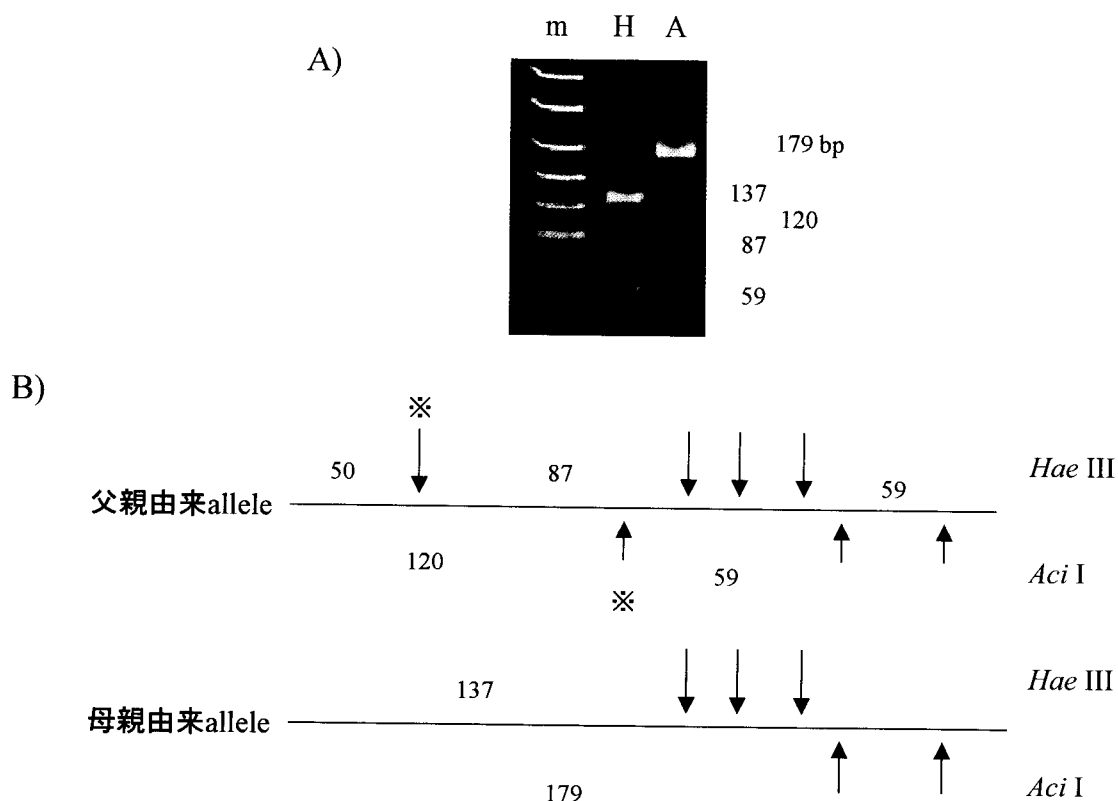


図 1. RT-PCR産物の制限酵素断片

- A) エクソン12および13を含むRT-PCR産物をHae IIIまたはAci Iで消化した断片. m: marker, H: Hae III, A: Aci I.
- B) 制限酵素認識部位と得られる断片長. 長い矢印(横線の上側)はHae III, 短い矢印(下側)はAci Iの認識部位. 数字は断片長. ※は変異により消失する認識部位.

考 察

若年型糖原病Ⅱ型の1例を報告した. 酸性 α -glucosidase活性は正常対照の4%とかなり低下していたが, 臨床的には若年型であった. 残存酵素活性と臨床的重症度とはかならずしも相関しない例の存在も知られている⁵⁾.

GAA全エクソンを含む遺伝子変異の検索では母親由来alleleに3種類の変異が検出された. G576S変異およびE689K変異は共に多型と考えられているが^{6,7)}, R600C変異は重症な臨床型をもたらすとされており, 本邦ではR600C変異の頻度は高いと考えられている⁸⁾. 父親由来の変異は検出されなかったが, 日本人患者22名の検索で約半数が一方のalleleのみに変異が検出されている⁸⁾. 今回の症例では父親由来alleleの発現低下が示唆されたが, DNA変異は一方のalleleのみで野生型alleleの発現低下により発症する症例の存在が考えられる⁹⁾. あるいはプロモーター, エンハンサー領域の変異の存在も考慮して更なる検討が必要と考えられる¹⁰⁾.

本例では既に夜間人工換気療法が必要となっており, 酵素補充療法が早期に承認されることを待望している.

謝 辞

筋病理を検索していただきました国立精神・神経セン

ター塾中征哉先生, 酵素活性を測定していただきました浜松市発達医療センター杉江秀夫先生に深謝いたします.

文 献

- 1) Martiniuk F, Chen A, Mack A, Arvanitopoulos E, Chen Y, Rom WN, Codd WJ, Hanna B, Alcabes P, Raben N, Plotz P: Carrier frequency for glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease. *Am J Med Genet* 79: 69-72, 1998.
- 2) Bodamer OAF, Leonard JV, Halliday D: Dietary treatment in late-onset acid maltase deficiency. *Eur J Pediatr* 156: S39-S42, 1997.
- 3) Mobarhan S, Pintozzi RL, Damle P, Friedman H: Treatment of acid maltase deficiency with a diet high in branched-chain amino acids. *J Parent Enter Nutri* 14: 210-212, 1989.
- 4) Amalfitano A, Bengur AR, Morse RP, Majure JM, Case LE, Veeling DL, Mackey J, Kishnani P, Smith W, McVie-Wylie A, Sullivan JA, Hoganson GE, Phillips JA, Schaefer GB, Charrow J, Ware RE, Bossen EH, Chen Y:

- Recombinant human acid alpha-glucosidase enzyme therapy for infantile glycogen storage disease type II: Results of a phase I/II clinical trial. *Genet Med* 3 : 132-138, 2001.
- 5) Reuser AJJ, Kroos M, Willemsen R, Awallow D, Tager JM, Galjaad H: Clinical diversity in glycogenosis type II: biosynthesis and in situ localization of acid alpha-glucosidase in mutant fibroblasts. *J Clin Invest* 79 : 1689-1699, 1987.
 - 6) Reuser AJ, Kross MA, Hermans MM, Bijvoet AG, Verbeet MP, Diggeden OP, Kleijer WJ, Ploeg AT: Glycogenosis type II (acid maltase deficiency). *Muscle Nerve* 3 : S61-68, 1995.
 - 7) Huie ML, Chen AS, Brooks SS, Grix A, Hirschhorn R: A de novo 13nt deletion, a newly identified C647W missense mutation and a deletion of exon 18 in infantile onset glycogen storage disease type II. *Hum Mol Genet* 3 : 1081-1087, 1994.
 - 8) Tsujino S, Huie M, Kanazawa N, Sugie H, Goto Y, Kawai M, Nonaka I, Hirschhorn R, Sakuragawa N: Frequent mutations in Japanese patients with acid maltase deficiency. *Neuromuscular Disorders* 10 : 599-603, 2000.
 - 9) Zhong N, Martiniuk F, Tzall S, Hirschhorn R: Identification of a missense mutation in one allele of a patient with Pompe disease, and use of endonuclease digestion of PCR-amplified RNA to demonstrate lack of mRNA expression from the second allele. *Am J Hum Genet* 49 : 635-645, 1991.
 - 10) Yan B, Raben N, Lu N, Plotz PH: Identification and characterization of a tissue-specific silencer element in the first intron of the human acid maltase gene. *Hum Genet* 109 : 186-190, 2001.

松本 正 他

A juvenile type acid maltase deficiency with R600C mutation in one allele

Tadashi MATSUMOTO¹, Takashi SHIMIZU², Tomomi DOI², Tatsuro KONDOH²

1 Department of Nursing, Nagasaki University School of Medicine

2 Department of Pediatrics, Nagasaki University School of Medicine