

主論文の要旨

Mutations in *HADHB*, which Encodes the β -Subunit of Mitochondrial Trifunctional Protein, Cause Infantile Onset Hypoparathyroidism and Peripheral Polyneuropathy

ミトコンドリア三頭酵素をコードする *HADHB* 遺伝子の変異は乳児期発症の副甲状腺機能低下症と末梢神経障害を引き起こす

名古屋大学大学院医学系研究科 健康社会医学専攻
発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：小島 勢二 教授)

内木 美紗子

【緒言】

ミトコンドリア三頭酵素 (mitochondrial trifunctional protein, MTP) はミトコンドリア内膜に存在し、脂肪酸の β 酸化の最終段階を担う 3 つの酵素、long-chain enoyl-CoA hydratase (LCEH)、long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) と long-chain 3-ketoacyl-CoA thiolase (LCKT) で構成される。MTP は、*HADHA* がコードする α 鎖 (LCEH と LCHAD の 2 つ酵素活性を有する) と *HADHB* がコードする β 鎖 (LCKT 活性を有する) が 4 個ずつ結合した 8 量体である。*HADHA* と *HADHB* のいずれの変異でも、8 量体の成熟したタンパク質は作られず、MTP 欠損症が引き起こされる。(例外として、*HADHA* の 1528G>C 変異は LCHAD 単独欠損症を引き起こす。) MTP 欠損症は、心筋症、低血糖、代謝性アシドーシス、脳症、乳児突然死、肝機能障害、末梢神経障害、横紋筋融解症など様々な症状を呈することが報告されている。

副甲状腺機能低下症は、副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone, PTH) の作用不足や欠損で引き起こされる疾患であり、常染色体劣性遺伝形式の副甲状腺機能低下症の病因遺伝子として、*PTH* と *GCMB* が報告されている。

我々は、両親がいとこ婚で、乳児期から副甲状腺機能低下症が見られ、後に末梢神経障害と横紋筋融解症が出現した二卵性双生児例を経験した。臨床所見から MTP 欠損症が疑われ、*HADHB* に新規の変異を同定した。本論文では MTP 欠損症による副甲状腺機能低下症の報告例をまとめるとともに、副甲状腺機能低下症の病因について考察した。

【対象および方法】

対象：症例 1 は 18 歳女子。生後 5 週に副甲状腺機能低下症と診断された。3 歳から下肢遠位部の筋力低下と筋萎縮が出現し、感染時に横紋筋融解症を反復している。症例 2 は症例 1 の二卵性双生児の弟で、生後 4 か月に副甲状腺機能低下症と診断された。3 歳から姉と同様に下肢遠位部の筋力低下と筋萎縮、感染時の横紋筋融解症が認められた。両親がいとこ婚であり、常染色体劣性遺伝の疾患が考えられた (Fig. 1A)。

方法：

- 1) 病因遺伝子を同定するために、常染色体劣性遺伝形式の副甲状腺機能低下症の病因遺伝子である *PTH* と *GCMB* の変異解析を行った。次に、横紋筋融解症から MTP 欠損症を疑い、*HADHA* と *HADHB* の変異解析を行った。2 症例から *HADHB* に同じ変異を同定したので、リンパ芽球の *HADHB* がコードする LCKT の活性測定と MTP のイムノブロット解析を行った。
- 2) 同定した変異が MTP 8 量体形成に与える影響を調べるために、FLAG タグをつけた β 鎖 (野生型と 4 種類の変異体 ; R61C、N389D、A392V、R444K) と MYC タグをつけた野生型の α 鎖を HEK293 細胞に共発現させ、FLAG 抗体を用いて免疫沈降を行った。次に抗 MYC 抗体を用いて免疫沈降物の Western blot を行った。
- 3) Swiss PDB Viewer に登録されている thiolase の 2 量体の立体構造モデルを用いて、ヒトの 2 量体 (α 鎖と β 鎖) の立体構造を作製し、それを 8 量体 ($\alpha 4\beta 4$)

である MTP の立体構造に適応することで、変異 MTP タンパク質の構造解析を行い、変異による立体構造変化を検討した。

【結果】

- 1) *HADHB* に (c.1175C>T, [p.A392V]) 変異を同定した (Fig. 1C)。2 症例は本変異のホモ接合体、両親と祖母はヘテロ接合体であった (Fig. 1D)。2 症例のリンパ芽球の LCKT 活性は、それぞれ正常の 5%、14% に低下しており (Fig. 2A)、イムノブロット解析でも MTP (α 鎖と β 鎖) 量が低下していた (Fig. 2B)。以上の結果から、本症例は同定した *HADHB* 変異による MTP 欠損症と診断された。
- 2) 変異 β 鎖と野生型 α 鎖との 8 量体形成を解析した免疫沈降実験では、同定した A392V がある β 鎖は α 鎖との結合が著しく低下していた (Fig. 2C)。他の R61C (中間型)、N389D (神経筋型)、R444K (神経筋型) 変異がある β 鎖も同様の結果が得られた (Fig. 2C)。
- 3) MTP タンパク質の構造解析では、N389 と A392 は共に β 鎖の活性中心 (C138、H428 と C458) に非常に近く位置しており (Fig. 3B)、N389D と A392V の変異はそれぞれ、D389-T356 間の水素結合の消失、V392 と T356 の衝突が起こり、MTP タンパク質の立体構造を変化させることが示唆された (Fig. 3C, D)。

【考察】

MTP 欠損症は、発症時期と臨床症状から 1) 新生児期発症の重症型、2) 乳児期発症の中間型、3) 乳児期以降に発症する神経筋型の 3 型に分類される。臨床症状から、本症例は、副甲状腺機能低下症を伴った神経筋型と考えられた。海外の報告では神経筋型の頻度が最も高いが、本邦では、報告のある 6 例の MTP 欠損症の中で、神経筋型は 2 例のみである。これは、末梢神経障害を主症状とする神経筋型では、MTP 欠損症の診断が十分になされておらず、他の遺伝性末梢神経疾患と診断されている可能性が考えられた。

副甲状腺機能低下症を伴う MTP 欠損症の報告は過去に 2 例あり、1 例から *HADHB* 変異 (N389D) が同定されている (Table 1)。この変異は、本症例の変異 (A392V) と非常に近接している。臨床症状では、いずれの症例も生後 15 か月までに副甲状腺機能低下症が発症し、後に神経筋型の症状である末梢神経障害と横紋筋融解症が出現している。

MTP タンパク質の立体構造解析では、N389 と A392 は α 鎖と β 鎖の結合面ではなく、活性中心の近傍に位置することが明らかになった。両変異は、 β 鎖内で「水素結合の消失」や「衝突」などの影響を与え、その結果、変異 β 鎖は立体構造が変化して α 鎖との会合ができなくなり、MTP 欠損症を引き起こしたと考えられた。ただし、 β 鎖の変異の位置と副甲状腺機能低下症の関係は今のところ不明であり、今後、類似の症例の蓄積が重要である。副甲状腺機能低下症は、他のミトコンドリア脂肪酸代謝異常症 (LCHAD 欠損症、MCAD 欠損症) でも見られ、ミトコンドリアにおけるエネルギー

ギー（ATP）産生障害や長鎖脂肪酸などの代謝物の蓄積が病因と考えられているが、発症機序は未だ解明されていない。しかし、剖検時に、副甲状腺の低形成を認めた症例もあり、脂肪酸の代謝異常がその形成に影響を与えている可能性が指摘されている。

MTP 欠損症は進行性の疾患であり、早期に診断し、治療を開始することが重要である。近年、MTP 欠損症は食事療法（和食中心の低脂肪食、食事間隔を短くする）に加えて薬物療法が開発されており、小児の遺伝性末梢神経疾患は神経筋型の本症を考慮すべきである。

【結論】

本症例は、世界で2例目と3例目の、副甲状腺機能低下症を伴った *HADHB* 変異による神経筋型の MTP 欠損症であり、乳児期に副甲状腺機能低下症で発症し、後に横紋筋融解症と末梢神経障害が出現した。MTP 欠損症は、近年、ベザフィブラートなどの薬物療法が開発されている。従って、乳児期発症の副甲状腺機能低下症は MTP 欠損症を考慮して鑑別診断（遺伝子診断など）を行い、MTP 欠損症と診断されれば直ちに食事療法や薬物療法を行うべきである。