

高畑 太一 論文内容の要旨

主 論 文

Novel mutations in the *SIL1* gene in a Japanese pedigree with Marinesco-Sjögren Syndrome

(マリネスコ・シェーグレン症候群日本人家系における *SIL1* 遺伝子の変異解析)

高畑太一、山田浩喜、山田義久、小野慎治、木下晃、松坂哲應、吉浦孝一郎、北岡隆

(Journal of Human Genetics)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻

(主任指導教員：北岡隆教授)

緒 言

マリネスコ・シェーグレン症候群 (MSS) は、先天性両眼白内障、小脳萎縮、筋障害、骨格異常、精神発達遅滞などを特徴とする稀な脊髄小脳変性症である。1931年に Marinesco らが初めて MSS 患者を報告し、1950年に Sjögren が MSS が常染色体劣性遺伝の疾患であることを指摘した。2005年になり Senderek らと Anttonen らがそれぞれ MSS 家系に *SIL1* 遺伝子の変異をみつけた。その後、他の MSS 患者でも *SIL1* 遺伝子の変異が報告され、現在、MSS の原因は *SIL1* 遺伝子の変異であると考えられている。しかし、一方 *SIL1* 遺伝子に変異を認めない典型的な MSS 家系の報告もあり、遺伝的異質性も疑われている。本研究で、我々は長崎大学病院にて経過観察中の日本人 MSS 家系の遺伝子変異を解析した。

対象と方法

対象は3人の罹患者と1人の非罹患者の4同胞とその両親からなる日本人の MSS 家系である。両親は血族結婚でなく、また4同胞全ては出生時に異常を認めなかった。しかし、その後3人の罹患者に典型的な MSS 患者の臨床症状が出現し、3-4歳の時には長崎大学病院にて両眼白内障手術を受けた。本研究は事前に長崎大学ヒトゲノム・遺伝子解析倫理審査委員会の承認を得ており、検体は研究依頼文書を用いた十分な説明を行った上で、自由意思に基づくインフォームド・コンセントを得て採取した。

全対象の血液より高分子ゲノム DNA を抽出精製した。候補遺伝子を *SIL1* 遺伝子とし、polymerase chain reaction (PCR) にて *SIL1* 遺伝子の全翻訳領域を増幅し、PCR 産物を精製した後、Dye Terminator 法で塩基配列を決定した。マイクロサテライト解析は全対象の第 5 染色体上の 8 マーカーのマイクロサテライト多型を解析した。リアルタイム PCR はインターカレーション法を用い、*SIL1* 遺伝子のエクソン 2, 6, 10 のコピーナンバーバリエーションを決定した。Array based comparative genomic hybridization (アレイ CGH) は *SIL1* 遺伝子を含む 300K 塩基のゲノム領域に 2685 プローブを作成して、遺伝子変異の break point を決定した。

結 果

全対象の塩基配列を決定するために PCR による直接塩基配列決定を行い、3 罹患者の *SIL1* 遺伝子のエクソン 6 に 5 塩基欠失のホモ接合体を認め、非罹患者の同胞は正常であった。したがって本家系は両親がそれぞれエクソン 6 に 5 塩基欠失のヘテロ接合を持ち、罹患者はその両方を受け継いだ 5 塩基欠失のホモ接合体であると予想した。予想通り、父親のエクソン 6 に 5 塩基欠失のヘテロ接合を認めたが、母親の PCR での塩基配列に異常は認めなかった。

この結果を受け、次にマイクロサテライト解析を行い、親子関係と片親性ダイソミーがないことを確認した。これらより罹患者と母親にコピーナンバーバリエーションがあると予想した。全対象の *SIL1* 遺伝子のエクソン 2, 6, 10 のコピー数をリアルタイム PCR により調べたところ、罹患者と母親のエクソン 6 が 1 コピーで、エクソン 2, 10 は 2 コピーのままであった。非罹患者の同胞と父親はすべてのエクソンが 2 コピーであった。これにより罹患者と母親の *SIL1* 遺伝子にはエクソン 6 を含む欠失があることがわかった。その後、アレイ CGH により、break point を決定し、罹患者と母親は *SIL1* 遺伝子にエクソン 6 と 7 を含む 58K 塩基の欠失があることが明らかになった。したがって本家系は、父親が *SIL1* 遺伝子のエクソン 6 に 5 塩基欠失をもち、母親がエクソン 6 含む 58K 塩基の欠失をもち、罹患者はその両者の変異遺伝子を引き継いだコンパウンド・ヘテロであることがわかった。

考 察

我々は、日本人 MSS 家系に 2 つの新たな遺伝子変異を見つけ、その一つは PCR による直接塩基配列決定では異常を示さない遺伝子内欠失であった。過去の、*SIL1* 遺伝子に変異を認めない MSS 家系の報告は遺伝的異質性を疑わせるが、異なるエクソンの欠失を持つコンパウンドヘテロである可能性も否定できない。単一遺伝子病の変異解析においては、PCR による直接塩基配列決定で異常を認めない変異の存在も考慮する必要がある。