

論文内容要旨

論文題目

色素異常症に関わる遺伝子変異検索

: PCR-SSCP 法と次世代シーケンス法を用いた解析

責任講座： 皮膚科学 講座
氏名： 荒木 勇太

【内容要旨】(1,200 字以内)

【背景】

色素異常症は、メラニン合成経路に関わる酵素や、制御機構、メラニンの合成の場であるメラノソームの機能・形成等に関する遺伝子に異常を来すことにより引き起こされるが、詳細なメカニズムは未だ十分に明らかにされていない。そのため、診断や分類がつかない疾患も存在する。そこで、本邦とモンゴル人家系の色素異常を呈する患者の病態に関わる遺伝子変異を同定するため、想起される疾患の有無で異なる解析方法を用いて検索を試みた。

【方法】

対象 1 は、臨床的に眼皮膚白皮症(OCA)と出血傾向を伴う 6 歳の日本人女兒、対象 2 は、赤毛で露光部位に多数の色素斑を認める 14 歳のモンゴル人少年とその家族(家族には少年のような皮膚症状は認めない)であった。対象 1 では、臨床所見から Hermansky Pudlak 症候群(HPS)を疑い、本邦の OCA 疫学データを考慮し、*OCA1-4*、*HPS1,3,4* の各エクソンとその近傍を検索した。遺伝子変異検索には、一塩基置換の検出に有効な PCR-SSCP 法を用いた。対象 2 では、新しい遺伝性色素異常症の存在を疑い、全エクソンを網羅的に検索する次世代シーケンサーを用いたエクソーム解析法を選択した。

【結果】

対象 1 では、*OCA1-4*、*HPS1,3* には変異を認めず、*HPS4* に新規遺伝子変異(c.730 C>T, p.Q244X homozygous)を認め、本邦 3 家系目の HPS4 型と診断した。HPS4 型の小児例としては本邦初報告であった。対象 2 では、最初の解析で、新規の病的遺伝子や、*ADAR1*、*ABCB6*、*ADAM10*、*SASH1*、*XPA*、*XPB*、*XPC*、*XPD*、*DDB2*、*XPF*、*ERCC5*、*POLH* 等の既知の色素異常症の原因遺伝子には変異を認めなかった。そこで、表現型を変化させるような機能低下型の SNP に着目し再度解析を行うと、家系内に、ヒトの皮膚色や髪の毛の色に関わる遺伝子である、melanocortin 1 receptor 遺伝子(*MC1R*)に 3 つの異なる変異(p.R142H heterozygous, p.R163Q heterozygous, p.S172I heterozygous)と、眼の色に関わる *OCA2* に 1 つの変異(c.1256G>A, p.R419Q heterozygous)が検出された。サンガーシーケンス解析により、患者の *MC1R* の変異は R142H と S172I の compound heterozygote であることが分かり、これらは *in silico* 解析で有害度の高い変異と判定され、色素斑との関連が報告されている変異であった。

【結論】

新規遺伝子変異を有する本邦 3 家系目の HPS4 型症例を診断した。*MC1R* の機能低下型アレルの compound heterozygote が露光部位に多数の色素斑を生じることが推定される。本研究の解析方法は、今後の色素異常症の遺伝子変異検索にも有用であると思われる。

平成 29 年 1 月 19 日

山形大学大学院医学系研究科長 殿

学位論文審査結果報告書

申請者氏名： 荒 木 勇 太

論文題目：色素異常症に関わる遺伝子変異検索：PCR-SSCP 法と
次世代シーケンス法を用いた解析

審査委員：主審査委員 中 島 修

副審査委員 山 川 光 徳

副審査委員 三 井 哲 夫



審査終了日：平成 29 年 1 月 18 日

【 論 文 審 査 結 果 要 旨 】

色素異常症の多くは、メラニン代謝異常によって惹起されるが、チロシナーゼをはじめとする合成過程を触媒する酵素遺伝子にとどまらず、メラニン合成誘導に関わるシグナル伝達系の遺伝子群やメラニン合成の場であるメラノソーム形成に関わる遺伝子群の異常でも、メラニン代謝異常が引き起こされることが、これまでの色素異常症の原因遺伝子検索研究から、明らかになっている。原因遺伝子不明の色素異常症は、未だ、多数例あり、メラニン代謝における複雑な調節機構の存在が示唆される。

メラニン代謝における調節機構に関与する因子の同定を目的として、申請者は、本研究において、本邦およびモンゴルにおける色素異常症患者およびその家族における遺伝子異常検索を、種々の遺伝子解析法を駆使して行っている。

本邦の色素異常症患者（小児症例）は、眼皮皮膚白皮症所見に加え、皮膚紫斑や出血時間の延長を認めたことから、申請者は、Hermansky-Pudlak 症候群(HPS)を疑い、本邦での眼皮皮膚白皮症の疫学データを考慮して、7 種の色素異常症遺伝子 (*OCA1-4, HPS1/3/4*) の各エキソンを標的とした、100 種以上の PCR-SSCP (PCR 産物の一本鎖高次構造多型) 解析を行ったところ、患者が *HPS4* エキソン 10 で多型を有すること、さらに、PCR 産物のサンガーシーケンス解析により、当該患者がエキソン 10 におけるナンセンス変異をホモ接合体で有していることを明かにし、当該症例を *HPS4* と診断している。

モンゴルの色素異常症例については、露光部位、特に、顔面に夥しい色素斑を呈するが、既知の色素異常症と合致する所見が得られなかったことから、申請者は、色素異常症の新規遺伝子の同定を目指して、患者およびその家族（患者と同様の症状なし）に対して、エキソーム解析を行っている。期待された、新規の色素異常症の関与が疑われる遺伝子異常は検出されなかったが、紫外線依存的なメラニン合成誘導のシグナル伝達系を担うメラノコルチン 1 受容体遺伝子 (*MCL1R*) の 3 つの異なる変異を家系内で有することを明らかにした。さらに、PCR 産物のサンガーシーケンス解析により、患者のみが、機能喪失が予測される 2 つの変異からなる複合変異ヘテロ接合体であることを示し、本症例が *MCL1R* の機能喪失変異によって惹起されることを示唆した。

本研究では、症例の臨床所見に応じて、遺伝子変異検索手法を選択し、色素異常症の原因遺伝子の同定を行っており、今後の色素異常症の原因遺伝子検索の研究方針の決定に、本研究は大いに参考になるものであり、メラニン代謝調節機構の解明を促すものと考えられる。本邦の HPS 患者は極めて稀であり、本研究では、新規の *HPS4* 変異が見出されている。一方、エキソーム解析により、メラニン合成誘導のシグナル伝達の障害をもたらす *MCL1R* 変異が色素異常症を惹起することを明らかにしている。

以上から、審査委員会では、本研究が学位（医学博士）の授与に十分、値するものと判定した。

(1, 200 字以内)