



Title	Repeat Expansion and Somatic Instability in TCF4 in Patients With Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy Identified by Small Pool PCR
Author(s)	前野, 紗代
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105738
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	前野 紗代
論文題名 Title	Repeat Expansion and Somatic Instability in <i>TCF4</i> in Patients With Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy Identified by Small Pool PCR (Small Pool PCRによるFuchs角膜内皮ジストロフィーにおける <i>TCF4</i> のリピート伸長および体細胞不安定性の評価)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 Fuchs角膜内皮ジストロフィー (FECD) は、異常な細胞外マトリックスの沈着により角膜内皮細胞障害が進行し、角膜の浮腫性混濁と重篤な視力低下をきたす角膜疾患である。<i>TCF4</i>遺伝子におけるCTGリピート (trinucleotide repeat (TNR)) の異常伸長は、FECDの主要な遺伝的リスク因子として同定され、発症機構解明の手がかりとなっている。我々はこれまでに、本邦でTNR伸長例が約20%であり、リピート異常伸長と臨床的重症度に明確な相関を示さないことを報告している (Maeno et al. Cornea, 2024)。 トリプレットリピート病では、細胞間でリピート数変動する体細胞不安定性、および罹患組織において末梢血よりも顕著なリピート伸長を示すことが知られている。Small pool PCR (SP-PCR) は筋強直性ジストロフィー、Huntington病、Friedreich運動失調症などのトリプレットリピート病において、リピート数分布や体細胞不安定性を検出できる有用な技術として応用されている。一方、FECDではこれらの動態を生体組織レベルで直接解析した報告はない。既報のlong-read sequencingやGenome Southern blottingによる解析では、多量の高分子量DNAを必要とし、角膜内皮のような微量組織への応用は困難であった。 本研究では、SP-PCRをFECDに初めて応用し、FECD患者におけるTNR伸長の具体的なリピート数および体細胞不安定性を定量的に評価し、その特性を明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 大阪大学医学部附属病院アイセンターに通院する69名の本邦FECD患者のうち、Short tandem repeat assayおよびTriplet repeat primed PCRにより、<i>TCF4</i>遺伝子に50回以上のTNR伸長アレルを有する15名を選定した。これらの末梢血由来DNAに対しSP-PCRを適用し、サザンブロット解析により具体的なリピート数分布と体細胞不安定性を定量解析した。さらに、角膜移植術を受けた1例についてはFECD患者角膜内皮由来DNAを抽出し、同様の方法で末梢血との比較を行った。 SP-PCRを用いることで、FECD患者15例での末梢血由来DNAにおける<i>TCF4</i>リピート伸長アレルの明瞭なバンドパターンが検出され、異常伸長TNR数の把握が可能であった。最大リピート数およびリピート種類数を算出した結果、最大リピート数の平均は1602 ± 1258リピート、異常伸長アレルの検出バンド数は平均19 ± 15バンドであり、最大リピート長とリピート種類の間には有意な正の相関 (R=0.84, p<0.05) を認めた。これにより、FECDにおいても体細胞レベルでのリピート不安定性が存在し、その程度がリピート長に依存する可能性が示唆された。また、細胞数・DNA量が限られる角膜内皮組織においてもSP-PCR解析での評価が成立し、同一患者の末梢血に比して角膜内皮DNAでにより長いリピート伸長が確認された。 〔総括(Conclusion)〕 FECD患者の末梢血において<i>TCF4</i>リピート伸長の体細胞不安定性が認められ、その程度は最大リピート数と相関していることが示された。また、障害組織である角膜内皮では末梢血よりも著しいTNR異常伸長が観察され、組織特異的な不安定性の存在が示唆された。本研究ではSP-PCRをFECDに初めて適用し、培養過程の影響を受けない生体組織DNAを用いて体細胞不安定性を直接評価した点に新規性がある。SP-PCRは限られた臨床サンプルからの解析が可能であり、希少な角膜組織を対象とした研究にも応用が可能である。本手法により、FECDにおけるリピート数および体細胞不安定性を正確に把握できることが示され、今後の病態解明やリスク評価の基盤となる有用な解析手段であることが明らかとなった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 前野 紗代				
論文審査担当者	(職)	氏	名	
	主 査	大阪大学教授	西田 幸二	西田 幸二 署名
	副 査	大阪大学教授	高橋 正紀	高橋 正紀 署名
	副 査	大阪大学教授	貴島 晴彦	貴島 晴彦 署名

論文審査の結果の要旨

Fuchs角膜内皮ジストロフィー (FECD) は、異常な細胞外マトリックス沈着により角膜内皮細胞が障害され、視力障害をきたす。TCF4遺伝子のCTG三塩基リピート (TNR) 異常伸長は主要な遺伝因子であり、トリプレットリピート病では体細胞不安定性を伴うことが知られている。本研究では、FECD患者の末梢血および細胞数やDNA量が限られる角膜内皮由来DNAを用いてSmall Pool PCR (SP-PCR) を実施し、リピート数と体細胞不安定性を定量的に解析した。その結果、末梢血において両者の間に正の相関を認めた。さらに、角膜移植術を施行した1例では、FECD患者由来角膜内皮でより長いリピートが検出され、組織特異的な不安定性が示唆された。SP-PCRをFECDに初めて応用し、生体組織DNAで体細胞不安定性を直接評価した点に新規性があり、本研究は博士の学位授与に値する。