The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	日本人フコシドーシス患者の遺伝子解析の研究
Author(s)	赤木, 幹弘
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40062
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

【10】

氏　　名	赤　木　幹　弘（あかぎ　もとひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　12976　号
学位授与年月日	平成9年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科生理系専攻
学　位　論　文　名	**日本人フコシドーシス患者の遺伝子解析の研究**
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　祖父江憲治 （副査） 教　授　岡田伸太郎　　教　授　谷口　直之

論文内容の要旨

【目的】

フコシドーシスは，常染色体劣性の遺伝病で，リソソーム酵素である α－L－fucosidase［(EC3．2．1．51)，α－L－fucoside fucohydrolase)］の欠損により，脳神経系を含む全身の細胞にフコースを含んだ糖蛋白質，糖脂質が蓄積する。リソソーム病の中でも稀な疾患であり本邦での報告は成人例を含めても数例にすぎない。遺伝子座は1p34にあり，461のアミノ酸残基をコードするcDNAがクローニングされ，そのゲノム遺伝子構造も解明されている。14種類以上の変異が報告されているが，日本人を含め東洋人の遺伝子変異は報告されていない。本研究では1才で発症し進行の遅いII型と考えられる患者に遺伝子解析を行い，今までに報告されていない新たな変異を同定したので報告する。

【方法】

対象は，現在14才の女児。独歩は1才7カ月とやや遅れ，難聴と言語発達の遅延を指摘されていた。3才7カ月時，顔貌やや粗で低身長，被角血管腫，脊椎の変形を認め，臨床的，酵素学的にフコシドーシスと診断した。その後，6才時には歩行不能，13才頃より筋緊張亢進，ジストニアが出現した。血族結婚はない。高精度染色体分染法で染色体は正常であった。以上よりフコシドーシスII型と診断した。

DNAシークエンス：α－L－fucosidase遺伝子の8個のexonに関し，報告に基づいてプライマーを設定し，患者およびその両親の末梢血白血球から抽出したゲノムDNAを用いexon－intron接合部分を含めてPCR法で増幅し，サイクルシークエンス反応にてダイレクトシークエンスを行い塩基配列を決定した。

患者およびその両親のゲノムDNA（15μg）を*Eco*R I，*Bam* H I，*Hind* IIIで処理し，プローブとして全長cDNAを用いSouthern Blottingを行った。

totalRNAを患者および健常人の皮膚線維芽細胞から抽出し，全長cDNAをプローブとしてNorthern Blottingを行った。

変異部位のゲノムでの確認を，exon 2のPCR産物を*Bsr* Iで処理して行った。

【成績】

点突然変異の検出：ダイレクトシークエンスにより，患者ゲノムDNAに，exon 2内でコドンがGからAへ置換する点変異を認めた。この点変異は，148番目のアミノ酸残基Trpがストップコドンに置換するナンセンス変異（W148X）である。この変異に関し，父親は正常と変異遺伝子のヘテロ（G／A）であり，母親は正常の遺伝子配列のみが検出された。

変異W148Xにより制限酵素*Bsr* I サイトが消失する。ゲノムDNAでは，患者exon 2のPCR産物は全く切断されなかったが，父親は正常と変異遺伝子のヘテロ接合のパターンを示し，母親は制限酵素で完全に切断され，正常と同様のパターンを示した。このことは，患者の一方のアリルは点突然変異で，他方のアリルはexon 2を含む欠失であることを示唆する。患者では，mRNAは全く検出されなかった。

Southern Blottingでは，*Eco*R I，*Bam*H I，*Hind*Ⅲで消化したパターンは，患者，両親，正常コントロールとも同一のパターンを示した。

以上のことから，患者は，父親からのナンセンス変異W148Xと母親からのexon 2を含む比較的大きな欠失を有している可能性が考えられ，その欠失は3種の制限酵素で切断したSouthern Blottingのパターンに正常との差が認められないことから，exon 1からexon 8に及ぶものと考えられた。

【総括】

以上の結果より，患児は複合ヘテロ接合で，一方の変異は父親由来のW148X，他方の変異は母親由来のexon 2を含む比較的大きな欠失であると考えられる。

フコシドーシスは，臨床的に乳幼児期に発症し進行の早いI型と1～2才で発症し進行の遅いII型の2つのタイプに分けられてきた。同一家系で重症型と軽症型とが存在する報告もあり，同一の遺伝子変異であっても重症度の異なることも知られている。本例のようなナンセンス変異と遺伝子座全域にわたる欠失の報告はない。この患者では，2つのアリルよりα－fucosidaseの発現が全くないと考えられるにもかかわらず，臨床的には軽症型に入る点が非常に興味深く，フコシドーシスの病態解明上示唆に富むものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

フコシドーシスは，常染色体劣性の遺伝病で，リソソーム病の中でも稀な疾患であり本邦での報告は成人例を含めても数例にすぎない。すでにcDNAがクローニングされ，そのゲノム遺伝子構造も解明されている。しかし，14種類以上の変異が報告されているにもかかわらず，日本人を含め東洋人の遺伝子変異は報告されていない。本研究では1才で発症し進行の遅いII型と考えられる患者に遺伝子解析を行い，今までに報告されていない新たな変異を同定した。

DNAシークエンス，制限酵素解析，ノーザンブロット解析，サザンブロット解析の結果，患児は複合ヘテロ接合で，一方の変異は父親由来のW148X，他方の変異は母親由来のexon 2を含む大きな欠失であることを明らかにした。

本例のようなナンセンス変異と遺伝子座全域にわたる欠失の報告はなく，2つのアリルよりα－fucosidaseの発現が全くないと考えられるにもかかわらず，臨床的には軽症型に入る点が非常に興味深く，フコシドーシスの病態解明のうえでも意義深いものであり，新しい変異を同定した本研究は博士論文に値するものと認める。