The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Single Strand Conformation Polymorphism Analysis on the δ-Sarcoglycan Gene in Japanese Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy
Author(s)	伊達, 基郎
Citation	大阪大学, 2000, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41729
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

【95】

氏　　名	伊　達　基　郎（だて もとお）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　15300　号
学位授与年月日	平成12年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系専攻
学　位　論　文　名	Single Strand Conformation Polymorphism Analysis on the δ-Sarcoglycan Gene in Japanese Patients with Hypertrophic Cardiomyopathy （一本鎖DNA高次構造多型解析を用いた肥大型心筋症におけるδサルコグリカン遺伝子変異の検索）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　多田　道彦 （副査） 教　授　松田　暉　　教　授　祖父江憲治

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

肥大型心筋症（Hypertrophic Cardiomyopathy；HCM）は高血圧など明らかな原因がないにも関わらず、心筋の異常な肥大をきたす疾患であり、約50～60%に家族内発症が認められる。現在ではサルコメアを構成するβミオシン重鎖遺伝子、αトロポミオシン、心筋トロポニンT、ミオシン結合蛋白C、トロポニンI、ミオシン調節軽鎖、ミオシンアルカリ軽鎖、アクチン及びタイチンの遺伝子変異がHCMの原因であることが明らかになっている。しかしながらこれらサルコメア蛋白質の遺伝子異常で説明できるのは家族性HCMの50～70%のみである。一方、シリアンハムスターBIO14.6はHCMの実験動物モデルとして広く利用されてきた。このハムスターは常染色体劣性遺伝形式を示し、生後約6ケ月で心肥大をきたし、8～10ケ月後には心不全にいたる。組織学的には心筋細胞の肥大、錯綜配列が認められ、ヒトHCMに類似した特徴を有している。近年その原因はδサルコグリカン遺伝子のエクソン1を含む領域の欠失であると報告された。δサルコグリカンは筋形質膜上に存在する分子量約35kDaの膜貫通型糖蛋白質で、α、β、γサルコグリカンと複合体を形成し、筋形質膜の安定性に関与している。ヒトではδサルコグリカンの遺伝子変異（エクソン7の単塩基欠失により終止コドンが生ずる）により肢帯型筋ジストロフィーを発症する家系が報告されている。

本研究ではδサルコグリカンの遺伝子変異がヒト肥大型心筋症の原因であるか否かを検討するため一本鎖DNA高次構造多型（Single Strand Conformation Polymorphism；SSCP）解析法による遺伝子解析を行った。

【方法ならびに成績】

患者群は大阪大学医学部附属病院及び臨床研究会心臓部会参加施設を受診したHCM患者102名（年齢19～86歳、平均59.1±12.8歳、男性68名、女性34名）を対象とした。HCMの診断は厚生省特定疾患特発性心筋症調査研究班「特発性心筋症診断の手引き」に基づいて行った。患者群及び健常対象群63名の末梢血白血球よりProteinase K／Salting out法により高分子DNAを抽出した。ヒトδサルコグリカン遺伝子の8つのエクソンのうち非翻訳領域と開始コドン（ATG）のみから構成されているエクソン1を除く7つのエクソンを解析対象とし、各エクソンを近接イントロン内に設定したプライマー（23～29塩基）を用いてPCR法により増幅した。PCR産物を95℃で熱変性しPharmacia Phast Systemを用いて12.5%及び20%ポリアクリルアミドゲルにて電気泳動した後、銀染色を行うことにより解析を行った。その結果、エクソン2にSSCPを持つ症例が認められたが、それ以外のエクソンには認めなかっ

た。このPCR産物をプラスミドにサブクローニングし塩基配列を検討した結果、このSSCPはC84T変異によることが判明した。しかし、この遺伝子変異は健常対照群にも認められ、またアミノ酸変異（TAC→TAT,Tyr→Tyr）を伴っていないことから、遺伝子多型であると考えられた。次にHCM症例を、1．閉塞型HCM（HOCM）、2．心尖部肥厚型HCM（Apical－HCM）、3．家族性HCMに分類し各サブグループごとにこのアレルの出現頻度を健常対照群と比較した。その結果、HOCMの患者群で、“T”アレルの出現頻度が健常対照群と比較して有意に高値であった（31.6%vs15.1%,RR＝2.6,Pc＝0.023）。しかしその他のサブグループと健常対照群の比較ではアレル出現頻度の有意差は認めなかった。

【総括】

BIO14.6の原因遺伝子であるδサルコグリカンのSSCP及び塩基配列解析を行った。その結果エクソン2でC84T変異が認められたが、その他のエクソンには明らかな変異は検出できなかった。このC84Tはアミノ酸変異を伴わず、またその発現頻度は健常対照群と有意差を認めなかった。以上よりδサルコグリカンのアミノ酸変異による構造機能異常はヒトHCMの主要な原因ではないことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究は一本鎖DNA高次構造多型解析及びDNAシークエンス解析を用いて、ヒト肥大型心筋症におけるδサルコグリカン遺伝子変異の検索を行ったものである。その結果、エクソン2にアミノ酸変異を伴わないC84T遺伝子多型が存在し、健常対照群と肥大型心筋症群の比較ではその頻度に有意差がなく、また病型分類による比較では閉塞型肥大型心筋症でTのアレル頻度が健常対照群に比べ有意に高値であることを明らかにした。

本研究ではハムスターにおいて心筋症を引き起こすδサルコグリカン蛋白質のアミノ酸変異がヒト肥大型心筋症の主要な原因ではないことを初めて明らかにした点で重要である。以上より、本研究は学位の授与に値すると考えられる。