

氏名	河合美紀
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第1269号
学位授与の日付	2021年3月14日
学位論文題名	Molecular analysis of low level mosaicism of the <i>IKBK</i> G mutation using the X Chromosome Inactivation pattern in Incontinentia Pigmenti 「X染色体不活化の偏りを利用した色素失調症における <i>IKBK</i> G遺伝子低頻度モザイクの解析」 Molecular Genetics & Genomic Medicine. 2020;8:e1531
指導教授	倉橋浩樹
論文審査委員	主査 教授 杉浦一充 副査 教授 吉川哲史 教授 渡辺宏久

論文内容の要旨

【背景】

色素失調症は、皮膚の水疱、炎症、色素沈着を呈し、髪、歯、爪、目、中枢神経に合併症が現れる疾患である。X染色体優性遺伝形式をとるため、患者の多くは女性であり、男性は通常胎生致死であるが、まれに男性患者も存在する。原因遺伝子は*IKBK*G/*NEMO*遺伝子であるが、病的バリエーションの検出率は75%とされており、単一遺伝子疾患での検出率としては少ないとされている。これらの未検出例には、低頻度モザイク変異による患者が含まれているのではないかと仮定し、遺伝学的解析を行った。

【方法】

血縁関係のない30家系の発端者とその家族において*IKBK*G遺伝子の遺伝学的解析を行った。*IKBK*G遺伝子共通欠失特異的PCR解析、点変異解析、コピー数解析を行った。色素失調症を含むX染色体疾患では女性の2本のX染色体の不活化に選択的偏りが生じるため、全例HUMARAアッセイを行ない、X染色体不活化の偏りの程度と表現型とを比較検討した。モザイク変異を疑った症例には、共通欠失特異的PCRのnested PCR法とデジタルドロップレットPCR法を追加した。

【結果】

30人中13人の患者で*IKBK*G遺伝子特異的欠失が検出され、これは患者全体の43.3%であった。次にサンガーシーケンス法により配列決定を行ったところ、6人よりナンセンス変異、フレームシフト変異、インフレームアミノ酸欠失、スプライス変異の点変異が検出された。さらにMLPA法によりコピー数解析を行ったところ、1名より大規模な欠失変異

が検出された。以上より、発端者30人中20人より病的バリエーションが検出された。

変異が検出されなかった10人の表現型を皮膚、神経、目、歯、髪、爪の症状から重症度をスコアリングし、すでに変異の検出された患者と比較すると、変異の検出されていない患者では重症度が軽い傾向が見られた。X染色体の不活化の選択的偏りを、変異が検出された患者と検出されていない患者を比較すると、変異の検出されていない患者では不活化の偏りが少ない傾向にあった。そこで、nested PCR法と、デジタルドロップレットPCR法を行ったところ、変異の検出されていない10人の中から5人に低頻度モザイクとみられる*IKBK*G遺伝子特異的欠失が検出された。さらに次世代シーケンサーで変異の見つからない残りの5人で、リード数x200以上でモザイク解析を行ったが変異は検出されなかった。

【結論】

30人中25人に*IKBK*G変異が検出された。これは患者30人の83.3%でありこれまでの75%とされていた検出率よりも高い検出率となった。X染色体の不活化の選択的偏りの有無を調べ、偏りのみられない患者でnested PCR法、デジタルドロップレットPCR法で検出感度を上げ、低頻度モザイク変異の検出を試みることで、患者の遺伝子変異検出率を向上させる可能性がある。軽症例で低頻度モザイク変異を同定することにより、次世代へ伝達するリスクを評価することができ、遺伝カウンセリングを行うときに必要な情報として活かすことができる。

論文審査結果の要旨

色素失調症はX染色体優性遺伝性疾患で、原因遺伝子は*IKBK*G遺伝子である。病的バリエーションの検出率は75%とされており、単一遺伝子疾患での検出率としては少ない。本研究では、未検出例には低頻度モザイク変異による患者が含まれると仮定し、遺伝学的解析が行われた。PCR法で30人中13人の患者で*IKBK*G遺伝子特異的欠失が検出された。次にサンガーシーケンス法で6人に点変異が検出された。さらにMLPA法で1人に大規模欠失変異が検出された。変異が検出されなかった10人の症状から重症度をスコアリングし、変異の検出されていない患者ではすでに変異の検出された患者と比較して重症度が軽い傾向が見られた。さらに、変異の検出されていない患者ではX染色体の不活化の偏りが少ない傾向にあった。nested PCR法と、デジタルドロップレットPCR法で、さらに5人に低頻度モザイクの*IKBK*G遺伝子特異的欠失が検出された。30人中25人(83.3%)に*IKBK*G遺伝子変異が検出された。75%よりも高い検出率となった。本解析と同様の方法を用いることにより、患者の遺伝子変異検出率を向上させる可能性があり、低頻度モザイク変異の同定により、次世代へ伝達する確率を同定することができ、遺伝相談に必要な情報として活かすことができる。質疑応答では申請者より適切な解説がなされた。本研究は学位取得にふさわしい内容であることが確認された。