

論 文 の 内 容 の 要 旨

論文提出者氏名	山 口 智 美
論文審査担当者	主 査 桑 原 宏 一 郎 副 査 中 沢 洋 三 ・ 松 田 和 之 ・ 才 津 浩 智
<p>論 文 題 目</p> <p>Comprehensive genetic screening for vascular Ehlers–Danlos syndrome through an amplification-based next generation sequencing system (PCR 増幅ベースの次世代シーケンシングシステムを用いた血管型エーラス・ダンロス症候群に対する包括的な遺伝子スクリーニング)</p> <p>(論文の内容の要旨)</p> <p>〔背景と目的〕 遺伝性結合組織疾患である血管型エーラス・ダンロス症候群 (vascular Ehlers–Danlos syndrome ; vEDS) は III 型コラーゲン遺伝子 <i>COL3A1</i> の病的バリエントに基づく常染色体顕性遺伝疾患であり、動脈病変 (瘤、解離、破裂)、臓器破裂などの致命的な合併症を生じる。正確な診断に基づく早期介入 (セリプロロール投与など) が患者の生命予後・QOL 向上に寄与する。従来、診断には培養皮膚線維芽細胞を用いた蛋白質あるいは mRNA の解析が行われてきたが、次世代シーケンシング (next-generation sequencing ; NGS) の登場により、鑑別疾患を含む、より包括的な解析が末梢血由来のゲノム DNA で可能になった。しかし NGS を用いて診断した vEDS 患者シリーズの報告はこれまでわずか 2 報のみである。</p> <p>本研究の目的は、vEDS を含む遺伝性結合組織疾患に対する最適な NGS 解析システムを構築し、これを用いて vEDS 患者の分子遺伝学的・臨床的特徴を明らかにすることである。</p> <p>〔対象と方法〕 対象は、2013 年 4 月～2020 年 12 月に、当センターおよび国内 100 施設からリクルートした遺伝性結合組織疾患が疑われる患者 429 名 (うち vEDS 疑いは 101 名) である。PCR 増幅ベースの NGS 解析 (Ion Torrent™ シーケンシングテクノロジー [サーモフィッシュャーサイエンティフィック社]) を基本に、塩基置換、小挿入欠失のみならず、コピー数異常の検出を可能とするシステムを構築した。また、病理解剖検体にも対応できる解析法を確立した。</p> <p>〔結果〕 vEDS 疑い 101 名のうち、<i>COL3A1</i> バリエントが検出されたのは 33 名 (32.7%) であった。また、ロイス・ディーツ症候群および/あるいは家族性胸部大動脈瘤・解離の臨床診断を受けた 2 名にも <i>COL3A1</i> バリエントが検出された。<i>COL3A1</i> バリエントが検出された計 35 名 (病理解剖検体で解析した患者 2 名含む) のうち、トリプルヘリカルドメインの Gly 置換を伴うミスセンスバリエントが 20 名 (57.1%) に、Gly 以外のアミノ酸置換を伴うミスセンスバリエントが 1 名 (2.9%) に、スプライス部位のバリエントが 8 名 (22.9%) に、ナンセンスバリエントが 3 名 (8.6%) に、インフレーム欠失が 2 名 (5.7%) に、複数エクソンの欠失が 1 名 (2.9%) に検出された。合計 34 種のバリエントのうち、18 種 (52.9%) が既報告であった。新規 16 種のバリエントは ACMG/AMP ガイドライン 2015 および ClinGen シーケンシングバリエント解釈ワーキンググループの推奨事項に従い、5 種 (31.3%) が Pathogenic、8 種 (50.0%) が Likely pathogenic、3 種 (18.8%) が Variant of Uncertain Significance (VUS) に分類された。</p> <p>35 名のうち、22 名に vEDS に関連する家族歴 (動脈破裂、大動脈解離、子宮破裂などの重大なイベントあるいは易出血性、関節過可動性などの軽度の症状) が認められ、そのうち 11 名に早期死亡の家族歴が認められた。また、27 名が vEDS 診断基準の大基準 (大動脈解離・破裂、動脈解離・破裂、子宮破裂、S 状結腸破裂、頸動脈海綿静脈洞瘤) のいずれかを有していた。大基準を有さない残りの 8 名のうち 6 名が治療を有する合併症 (自然気胸 5 名、腱・筋断裂 1 名) を経験し、2 名の若い患者 (17 歳と 8 歳) には親の早期死亡が認められた。</p>	

非典型例として、50歳で上行大動脈解離を発症、安全に弁置換術を受け、皮膚・骨格の特徴がないことからロイス・ディーツ症候群あるいは家族性胸部大動脈瘤・解離が疑われた患者において、*COL3A1* にナンセンスバリエントが検出された。また、55歳で動脈破裂と複数の動脈瘤を発症、皮膚・関節・歯肉の脆弱性を伴い、vEDSを疑われた患者において、非 Gly 置換のミスセンスバリエントが検出された。後者では、培養皮膚線維芽細胞の III 型コラーゲンレベルの低下は軽度で、皮膚電顕病理におけるコラーゲン細線維サイズの不均一性も Gly 置換を伴う典型例に比べて軽度であった。

〔まとめ〕 本報告は、アジアにおける vEDS の過去最大の患者シリーズであり、遺伝性結合組織疾患に対して PCR 増幅ベースの NGS を適用した世界最初のシリーズである。本解析システムは、典型例の他、軽症患者におけるナンセンスバリエント、非 Gly 置換を伴うミスセンスバリエント、複数エクソンの欠失、病理解剖検体からのバリエントなど、様々なバリエントの検出を可能とする包括的な遺伝子スクリーニング法である。非 Gly 置換などの非典型例に対しては、臨床、生化学、病理学などを含むより包括的なアプローチの必要性が示された。今後さらなる患者の解析を通じて、より迅速・正確・包括的なシステムに発展させることが期待される。