

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	清水 健 司
論文審査担当者	主 査 小 池 健 一 副 査 池 田 修 一 ・ 宇 佐 美 真 一
論 文 題 目	Microarray and FISH-based genotype-phenotype analysis of 22 Japanese patients with Wolf-Hirschhorn syndrome (Wolf-Hirschhorn 症候群の日本人患者 22 名におけるマイクロアレイと FISH 解析を用いた遺伝型-表現型相関の検討)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景と目的】</p> <p>Wolf-Hirschhorn 症候群 (以下 WHS) は、4 番染色体短腕(4p)遠位部の欠失に起因し、特徴的顔貌所見、成長障害、精神運動発達遅滞、およびけいれんを主徴とする隣接遺伝子症候群である。解析技術の進展により、4p 欠失領域および合併する領域の重複など詳細な遺伝型が明らかにされてきたことに伴い、WHS の主要徴候の責任領域や、重症度との相関が検討されてきた。しかしながら未解明な点は多く、特に生命予後や発達予後に重要な影響を及ぼすけいれんにおいて、その責任領域の詳細や遺伝型-表現型の関連検討は重要課題と考えられている。本研究は、日本人 WHS22 症例においてマイクロアレイ法とメタフェーズ FISH 法により得た遺伝型と、けいれんを含む臨床症状との関連の詳細を検討することを目的とした。</p> <p>【対象と方法】</p> <p>2010 年 1 月より 2012 年 2 月の期間、国内 8 病院において、顔貌所見を含む臨床所見に加え、先行して行った G 分染法もしくは 4p 端部プローブの FISH 法にて 4p 欠失が同定され WHS と診断された日本人 22 例を対象とした。マイクロアレイ法によりゲノムコピー数異常を確定し、BAC プローブを用いたメタフェーズ FISH 法にて染色体再構成の詳細を確認した。臨床所見の詳細は各病院の臨床遺伝専門医からの情報を論文提出者が再評価した。</p> <p>【結果】</p> <p>対象に認めた欠失切断点は多様であり、サイズは 2.06-29.42Mb で全例 WHS 主要徴候の責任領域である WHS critical region 2 (WHSCR2) を含んでいた。<6Mb : 6 例、6-15Mb : 11 例、>15Mb : 5 例で、20 例が端部欠失、2 例が中間部欠失で、端部欠失のうち 4 例はその他領域の重複を伴っていた。マイクロアレイ結果より 11q 端部重複とのモザイクが疑われた症例 20 と、G 分染法で中間部欠失と正常細胞とのモザイクと報告されていた症例 15 は、それぞれ詳細なメタフェーズ解析を実施し、4p 切断点が一一致する der(4)(4;11)(p15.31;q25)[73%]と del(4)(p15.31)[27%]の構造異常モザイクと、del(4)(p15.33)[80%]と del(4)(p16.3)[20%]の異なる 2 種類の端部欠失のモザイクと判明した。</p> <p>けいれんを 20/21 (95%) に認め、欠失サイズ<6Mb ではけいれん発症年齢 1 歳未満の頻度が 2/6(33%)、重積頻度は 1/6(17%)であったのに対し、≥6Mb では 12/14(86%)、13/14(93%)と高い傾向にあった。4 例の難治性けいれんを認めた例において臭化カリウム/ナトリウムが追加投与されており、全例に投与後の改善を認めた。眼の構造異常と腎臓合併症頻度に、合併頻度と欠失サイズの相関を認めた。顔貌所見は最小欠失の症例 1 と中間部欠失の症例 13 のみが非典型例であった。従来報告のなかった合併症として、高コレステロール血症を 5 例(36%)に、1 例(5%)に多発性骨軟骨腫を認めた。</p>

【考察】

マイクロアレイ解析は詳細な欠失範囲の同定に非常に有用な染色体検査であるが、モザイク率が偏った場合は検出限界があり、染色体再構成やモザイクの最終的な判断にはメタフェーズ FISH 解析が有用であった。症例 15 のように同一個人の中で大小二種類の異なるサイズの端部欠失をもつモザイクの報告は過去に例がなく、端部欠失の不安定性を示唆する症例と考えられた。

けいれんについては、その重症度を発症年齢と重積頻度から評価したが、 $\geq 6\text{Mb}$ の欠失に重症度が高い傾向がみられ、結果として発達遅滞の重症度につながると考えられた。一方、けいれんのない 1 例は、従来のけいれん責任遺伝子である *LETM1* 遺伝子を含むものの、これより遠位の領域が保たれている中間部欠失例であり、*LETM1* を含まない遠位の欠失でけいれんを認める既報告との比較より、WHS におけるもう一つのけいれん感受性領域が 0.76-1.3Mb に存在する可能性を示唆した。本領域内にはけいれんとの関連が動物モデルにおいて示唆されている *CTBP1/CPLX1* の 2 遺伝子を内包しており、これらの新規感受性遺伝子と *LETM1* 領域を含む $\geq 6\text{Mb}$ 欠失においては、けいれん発症後、臭化物治療や含めた注意深い対応が望まれ、WHS 健康管理における新たな進歩になりうる知見と考えられた。

