

Development of a practical NF1 genetic testing method through the pilot analysis of five Japanese families with neurofibromatosis type 1

メタデータ	言語: en 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: 金沢大学
URL	http://hdl.handle.net/2297/43546

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



論文の内容要旨

主論文題名

Development of a practical *NF1* genetic testing method through the pilot analysis of five Japanese families with neurofibromatosis type 1

Brain and Development (平成 27 年掲載予定)

専攻部門 循環医科学専攻血管発達病態学

氏 名 奥村 亜希子

(主任教員 谷内江 昭宏教授)

神経線維腫症 1 型 (以下 NF1) は出生 3000 人に 1 人認められる頻度の高い常染色体優性遺伝疾患である。多発性のカフェオレ斑、虹彩小結節、皮膚神経線維腫を主徴とし、他にもびまん性神経線維腫、視神経膠腫、悪性末梢神経膠腫、骨格変形、学習障害など多彩な症状を様々な組み合わせと重症度で認める。疾患責任遺伝子である *NF1* は 350kb に及ぶ巨大な遺伝子であり、その産物であるニューロフィブロミンは細胞分化・増殖に関連する Ras や mTOR 系を抑制する作用から、がん抑制遺伝子と考えられている。NF1 の遺伝子診断は *NF1* に変異の hot spot がいないこと、多数の偽遺伝子が存在すること、遺伝子変異の種類の多様性のため、現在でも極めて困難である。このため本邦においては *NF1* 遺伝子変異のコホート研究はいまだなされていない。そこで今回我々は、単純かつ効率的な *NF1* 変異スクリーニング法の確立を目的として、日本人 NF1 患者 5 家系を解析した。

NF1 変異スクリーニングはヘテロ 2 本鎖 DNA を CEL エンドヌクレアーゼにより切断し、ポリアクリルアミドゲル電気泳動後に銀染色により検出するという独自の方法 (CHIPS) と逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) により行った。両者で異常がない場合には染色体レベルでの大欠失を考え、DNA マイクロアレイ法により切断点の特定を行った。

家系 1 では新規のナンセンス変異 p. Gln209* が、家系 2 ではスプライスドナー部位の変異 c. 2850+1G>T が同定された。家系 3 では c. 4402A>G が同定され、p. Ser1468Gly のミスセンス変異と予想されたが、mRNA 解析によりこの 1 塩基置換により異常なスプライスアクセプター部位が形成され、タンパクレベルではナンセンス変異 p. Phe1457* を引き起こすことが判明した。残りの 2 家系では CHIPS および RT-PCR で変異は同定されず、DNA マイクロアレイ法により 1 型大欠失と 1 型と 2 型を融合した新規の大欠失が確認された。以上の結果から *NF1* 変異の解釈には DNA レベルと RNA レベル双方での解析が不可欠であり、CHIPS と RT-PCR を組み合わせることで *NF1* の点突然変異を効果的にスクリーニングできることが証明された。また、欧米での報告 (5%) と比べて、日本人では *NF1* の大欠失の頻度が高く、欧米の症例では報告のない特異な切断点を持つ大欠失がみられる可能性が示唆された。真に日本人患者で大欠失の頻度が高いのであれば、今後 *NF1* 変異解析に蛍光インサイチュアハイブリダイゼーション法 (FISH) を導入すべきである。従来 NF1 では遺伝型-表現型の相関が明確ではない事が知られているが、我々の症例においても明らかな関係性は認められなかった。なお、今回の解析では、家族例における重症度の差は、体細胞モザイクや mRNA スプライシング効率の差によるものではない事が示された。また、従来大欠失例は点変異例よりも重症となるとされてきたが、我々の症例では程度は様々であり、比較的軽症に推移し子どもをもうける場合もあることが示された。

NF1 は PI3K/AKT/mTOR パスウェイ病の 1 つとして mTOR 阻害剤による治療が始まりつつあるが、幼児期にはカフェオレ斑しか認めず臨床診断確定が困難な症例も多く、遺伝子検査の需要は高まっている。また、mTOR 阻害剤による治療効果は一樣ではないことが予想されており、このレベルでの遺伝型-表現型の関連を明らかにすることが治療上重要となる。今後、本研究で確立した *NF1* スクリーニング法を用いた症例の解析を積み重ね、日本人での *NF1* 変異の特性・分布を明らかにしていく必要がある。