

[別紙 1]

## 論文の内容の要旨

論文題目      **A Novel *WT1* Gene Mutation in Male Infants with Congenital Genitourinary Malformations, and the Association between the Mutation and Predisposition to Renal Failure and/or Wilms' Tumor**

先天性泌尿生殖器奇形男児における新たな *WT1* 遺伝子変異、  
およびその変異と腎不全あるいはウィルムス腫瘍発生との関係

指導教官      橋都浩平教授  
東京大学大学院医学系研究科  
平成七年4月入学  
医学博士課程  
生殖・発達・加齢医学専攻  
氏名      坂元 純

*WT1* 遺伝子はヒト11番染色体短腕13領域(11p13)上にあり、10個のエクソンからなる。この遺伝子のC末端、エクソン7から10は連続した4つのジンク・フィンガーを形成し、他の遺伝子のプロモーター領域の特定配列と結合する。N末端のエクソン1から6は転写活性化、もしくは転写抑制に関わることが知られ、*WT1* 遺伝子は転写因子と考えられている。*WT1* 遺伝子は、発生の段階では主に中胚葉由来の組織に発現し、間葉系組織の上皮化を促す作用があるといわれている。特に腎と性腺の発生に深く関わっており、この遺伝子の変異はウィルムス腫瘍や先天性泌尿生殖器異常、および腎不全を惹き起こすとされている。

我々は男児先天性泌尿生殖器異常にウィルムス腫瘍を伴うが腎不全は伴わない患児（このような疾患タイプをここでは“GU+WT”と称する）に新しい *WT1* 遺伝子の変異を確認した。それは *WT1* 遺伝子イントロン7内の点突然

変異であり、あわせてこの変異は体細胞では父方由来のヘテロ接合、ウィルムス腫瘍細胞では母方由来染色体11p領域における広汎なヘテロ接合の喪失 (Loss of Heterozygosity=LOH) によるヘミ接合であることを証明した。変異を生じたのはイントロン7のスプライス供与部位にあたる箇所、そのためこのWT1遺伝子からはエクソン7が脱落し、エクソン6とエクソン8が隣接する異常メッセンジャーRNAが形成される。その結果アミノ酸配列のフレームシフトが起こるだけでなく、エクソン9の冒頭に停止コドンを生じ、短縮型異常WT1蛋白が産生されていた。

ウィルムス腫瘍はいくつかの奇形症候群に伴うことが知られている。そのような症例では患児の腫瘍発症年齢が散发例に比べ明らかに低く両側性腫瘍の発症率も高いことから、奇形症候群に伴うウィルムス腫瘍は、散发性のものと比較して先天的な遺伝子異常と関わりが深いと考えられている。WT1遺伝子の変異の結果生ずる奇形症候群は「WT1遺伝子関連症候群」と呼ばれ、WAGR症候群、Denys-Drash症候群、Fraser症候群が知られている。我々はこの中にGU+WTも含めるべきだと考える。いずれの症候群も男児の場合先天性泌尿生殖器異常が必発で、その他腎不全、精巣腫瘍、ウィルムス腫瘍、その他の奇形などをそれぞれ伴う。このような症候群に伴うウィルムス腫瘍では、WT1遺伝子の異常がその腫瘍発生のメカニズムに深く関与していると考えられている。散发例の90パーセントには正常なWT1蛋白が強く発現していることはよく知られ、その意味でもWT1遺伝子関連症候群におけるウィルムス腫瘍の発症メカニズムは散发例のそれとは異なると予想される。

GU+WT患児のWT1遺伝子変異はこれまでに8例の報告を見るのみである。すべて産生される異常WT1蛋白は短縮型であり、多形を検索した4例にはすべてLOHが認められる。しかしこれまでのWT1遺伝子および11p領域の多形についての検討は不十分といわざるを得ない。父母の染色体も含めて遺伝子多形の手法を用い、この変異が父方由来であり、かつ腫瘍化に伴って母方染色体11p領域が広汎に喪失することを証明したのは我々がはじめてである。

短縮型WT1蛋白はそれ自身標的となる配列に結合できず無機能に陥るばかりでなく、正常WT1蛋白と結合しその働きをも弱めてしまう。我々は文献的検討を加えて、短縮型WT1蛋白のGU+WTにおける泌尿生殖器異常発生への具体的な関与を推察するとともに、GU+WT患児の発生段階でのWT1蛋白の低下がアポトーシスを抑制する方向に働くことが、ウィルムス腫瘍発症の刺激となっている可能性を示唆した。

またWAGR症候群に伴うウィルムス腫瘍、および一部の散发性ウィルムス腫瘍については、従来母方由来染色体11p領域のLOHとの関連がほのめか

されてきた。このことはウィルムス腫瘍発症になんらかの「刷り込み遺伝子」が関与していることを示唆するが、*WT1* 遺伝子自体は腎では「刷り込み」はみられず、そのような遺伝子は 11p15 領域に集中している。したがってウィルムス腫瘍発症に関わる「刷り込み遺伝子」は 11p15 領域にあると予想され（“WT2” と呼ばれる）、実体は明らかでないにせよ、11p13 領域だけでなく 11p15 領域を含む 11p 全体の「広汎な」喪失を証明しなければ、11p 領域の LOH とウィルムス腫瘍の発症の関係を論じることはできない。したがって今回の我々の結果をもってはじめて、GU+WT に伴うウィルムス腫瘍においても母方 11p 領域の LOH が関連している可能性を示唆されたといえる。

また最近 WT1 蛋白のイソ蛋白分配比率の違いがウィルムス腫瘍の発症に影響を及ぼしているとする研究が相次いでいる。GU+WT 患児においても WT1 蛋白のイソ蛋白分配比率異常が生じていることは明らかで、我々はこの点においても検討を加えた。

我々は 4 つの *WT1* 遺伝子関連症候群において、その典型的症状、および *WT1* 遺伝子の先天性の状態と腫瘍化で生じる 2 次的な状態変化について考察した。このような考察はこれまでなされなかったものである。とくに WAGR 症候群と GU+WT については詳細に検討し、それぞれのウィルムス腫瘍発症率の違いは減数分裂時と体細胞分裂時における染色体組み替え発生率の違いに基づいているのではないかという推察に至った。

今回の研究の臨床的な意義として、我々は出生時先天性泌尿生殖器異常男児のウィルムス腫瘍及び腎不全のリスク管理を容易にする計画図を作成した。このような計画図が作成されたのはじめてである。出生時先天性泌尿生殖器異常男児がウィルムス腫瘍や腎不全を発症するリスクはきわめて低いことがわかっているが、もし発症すればその後の患児の生活に多大な影響があり、両親の精神的及び経済的負担も大幅に増すことになる。そのリスクは *WT1* 遺伝子の異常と深く関わりがあり、我々の作成した計画図に基づいて患児を管理し、*WT1* 遺伝子変異や 11p 領域の多形を分析すれば、検査・治療計画の立案や両親への説明が容易になるばかりでなく、今後の GU+WT 症例の研究にも資するものである。