

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 齋藤祐

本研究は、本邦における FGF23 関連低リン血症性くる病の病因を明らかにすることを目的として、幼少期に低リン血症性くる病と診断され、そのうち血中 FGF23 濃度から FGF 関連遺伝性低リン血症性くる病と考えられた 14 家系 21 名について遺伝子解析を行ったものであり、以下の結果を得ている。

1. 上記の 14 家系 21 名のゲノム DNA を末梢血から抽出し、*PHEX*、*FGF23*、および *DMP1* 遺伝子変異の有無を直接シーケンス法により検討した。その結果、10 家系 15 名において 6 種類の新規変異を含む 10 種類の *PHEX* 遺伝子変異を同定した。*FGF23* 遺伝子、*DMP1* 遺伝子に変異を認めた症例は存在しなかった。
2. 家系 1 では、両親にくる病所見が認められないことから、ARHR が疑われていたが、男性患者の *PHEX* 遺伝子の exon1-3 が PCR で増幅されなかったため、*PHEX* 遺伝子の部分欠失を有することが示唆された。したがって *PHEX* 遺伝子上流と intron3 に 8 種類ずつのプライマーセットを作成し、*PHEX* 遺伝子の欠失範囲を同定した。その結果、*PHEX* 遺伝子の exon1 から exon3 を含む 52143bp の欠失であり、家系 1 は XLH であることが示された。また、母と娘のゲノム DNA を用いた野生型 *PHEX* 遺伝子量と変異型 *PHEX* 遺伝子量の半定量 PCR による比較検討、および母の *PHEX* 遺伝子欠失範囲内の SNP 解析によって、家系 1 の母が *PHEX* 遺伝子欠失の体細胞モザイクであることが示された。したがって、遺伝形式や症状から、臨床的に XLH と ARHR を鑑別することができない場合があることが示された。
3. ここまでの検討で病因を明らかにできていない家系 5、7、13 の 3 家系 4 名は全例女性であったが、家系 1 のような *PHEX* 遺伝子の大きな欠失は、女性患者では直接シーケンス法で明らかにできないため、MLPA 法を用いて、*PHEX* 遺伝子欠失のスクリーニングを行った。その結果、家系 5、7、13 では、*PHEX* 遺伝子の欠失を示唆する結果は得られなかった。
4. 家系 5、7、13 では、最近 ARHR2 の原因遺伝子として報告された *ENPP1* 遺伝子についても、直接シーケンス法による検討を行った。その結果、家系 7 ではホモ接合性の新規変異 [IVS21+1\_3(GTA>CACC)] が認められた。次に家系 7 の血球から RNA を採取して、*ENPP1* 遺伝子の exon21 を含む領域の RT-PCR を行ったところ、家系 7 の mRNA では *ENPP1* 遺伝子の exon21 がスキップされ、exon22 内に新たな終止コドンが形成されることが明らかとなり、家系 7 で認められた変異が病的変異であることが示された。
5. さらに家系 13 では、*PHEX* 遺伝子発現についても検討した。まず、血球から RNA

を採取して、*PHEX*遺伝子の RT-PCR を行ったところ、血球において *PHEX* 遺伝子発現が認められることが明らかになった。さらに、家系 13 の血球における *PHEX* 遺伝子発現を、RT-PCR と Real Time PCR を用いて検討したところ、家系 13 では exon12 以降の *PHEX* 遺伝子発現が認められないことが分かり、家系 13 は *PHEX* 遺伝子発現の異常を原因とした XLH であることが示された。

6. 以上をまとめると、検討した 14 家系 21 名のうち、12 家系 18 名が *PHEX* 遺伝子の異常による XLH、1 家系 1 名が *ENPP1* 遺伝子異常による ARHR2 であった。家系 5 については、明らかな家族歴を認めるにもかかわらず、今回の検討では病因を明らかにすることができなかった。

以上、本論文は、本邦における FGF23 関連遺伝性低リン血症性くる病の大部分が XLH であること、また、本邦にも ARHR2 の家系が存在することを明らかにした。さらに、*PHEX* 遺伝子のダイレクトシーケンスで異常を認めなかった症例においても、MLPA 法を用いた女性患者における *PHEX* 遺伝子のヘテロ接合性の欠失の検討、または血球における *PHEX* 遺伝子発現の検討などの詳細な検討を行うことで、*PHEX* 遺伝子の異常を明らかにできる可能性があることを示した。本研究は、本邦の FGF23 関連低リン血症性くる病の病因の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。