

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 平良 摩紀子

本研究は、眼咽頭型遠位型ミオパチー(oculopharyngodistal myopathy: OPDM) における疾患病因遺伝子を同定し、治療法開発の基盤となる病態機序を明らかにすることを試みたものである。まず前半では、当神経内科で経験した眼・咽頭を侵すミオパチー症例 11 家系 27 名について臨床遺伝学的に検討を行った。さらに後半において、近親婚がある劣性遺伝形式をもつ一家系について連鎖解析及び全ゲノム解析を行い、OPDM の原因遺伝子同定に至った。これらについて、下記の結果を得ている。

1. 当神経内科で経験した眼・咽頭を侵すミオパチー症例 11 家系 27 名について臨床遺伝学的に検討を行った結果、遺伝形式は様々で発症年齢も 17-80 歳と幅広かった。白質脳症・腸管機能障害を合併する家系や、近位筋優位の筋力低下を示し縁取り空胞を認めない家系など、heterogeneous な疾患群と考えられた。一方で、遠位筋優位の筋力低下を示す家系に限ると、筋生検されたすべての症例で縁取り空胞を認めた。これらの症例は 40-50 代発症の症例が多く、初発症状の半数近くは四肢筋力低下及び構音障害であり、遺伝形式は優性遺伝をとる家系が多かった。これらの特徴は既に報告されている OPDM と類似しており、同一疾患と考えられた。
2. OPDM の原因遺伝子同定を試みた。若年発症で近親婚があり常染色体劣性遺伝様式を持つと考えられる OPDM の一家系に対してパラメトリック連鎖解析を行い、最大 LOD スコアが 1.57 を認める領域を認め、LOD スコアが 1 以上となる約 86.5 Mb の領域を候補領域と考えた。
3. 上記家系の発端者について、Illumina HiSeq2000/100bp 断片長ペアエンド解析による全ゲノム配列解析を行った。平均カバレッジ(被覆度)は 57.92 X、一か所に遺伝子座が決定したリードに関しては 50.47 X であった。カバレッジが 3 X 以上の領域は全ゲノムの 99.93 %を占めることからデータとしての有効性は十分と考えられた。SAMtools を用いて塩基置換と挿入・欠失をコールし、3,661,037 個の一塩基多型と 580,802 個の短い挿入・欠失が見いだされた。これらは、RefSeq、dbSNP132、1000 genomes project database、Exome Sequencing Project Database を用いてアノテーションを行い、得られたデータを上記の公共データベースに参照し、新規なものに絞りこんだところそれぞれ 66,466 個と 54,145 個となった。次に非同義置換及び splice 部位にあるものに絞ったところ、274 個と 70 個が候補として残った。上記 1 の対象

に対し、連鎖解析の結果をあわせ、最終的に *ADAM18* c.1018G>A, p.A340T)が候補として残った。これは家系内で共分離を認め、日本人コントロール 552 染色体に存在せず、各種データベースにも存在しなかった。A340 は哺乳類までは進化的に保存されたアミノ酸であった。また、候補領域内に存在し、全ゲノム配列解析で十分なカバレッジが得られなかったエクソンに関しては直接塩基配列決定法により解析を行ったが、これ以外の変異は認めなかった。以上より、*ADAM18* が本家系における有力な原因遺伝子と考えられた。

4. 他 OPDM 家系で *ADAM18* 変異を持つ症例の有無を検討するため、当院で経験した眼・咽頭を侵すミオパチー症例 6 家系と、国立精神・神経医療研究センター神経研究所よりご供与頂いた 100 例について *ADAM18* 全 exon を直接塩基配列解析法で解析した。結果として、1 名で同一の c.1018G>A, p.A340T 変異をヘテロ接合性で見出したが、ホモ接合性もしくは複合ヘテロ接合性に変異を持つ例は見出すことはできなかった。このことは、*ADAM18* 変異を認める常染色体劣性 OPDM 家系は稀であり、locus heterogeneity が存在するものと考えられた。
5. OPDM の常染色体劣性遺伝形式原因遺伝子 *ADAM18* はもともとシステインに富みメタロプロテアーゼ様やディスインテグリン様のドメインを持ち精巣内に発現するタンパクとして単離された遺伝子だが、メタロプロテアーゼとしての酵素活性を持たない。サルでは筋に発現していることは示されているものの、その生理活性についての報告はほとんどなく、*ADAM18* 変異の OPDM における意義を検討するには、さらなる機能解析が必要であると考えられた。

以上、本研究では、当科で経験した OPDM 家系の臨床遺伝学的解析を行い、OPDM の疫学を明らかにした。また、常染色体劣性遺伝を呈する家系について、連鎖解析と全ゲノム配列解析を行い、*ADAM18* が原因遺伝子と考えられた。今後機能解析によるさらなる研究が必要であるものの、本研究における OPDM 常染色体劣性遺伝子の同定の一結果は、これまで未知だった OPDM の病態解明へ向けた端緒となる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。