

学位論文題名

家族性もやもや病家系における表現促進現象と

17q25 の triplet repeat の伸長に関する研究

—家族性もやもや病の原因遺伝子の検索—

学位論文内容の要旨

もやもや病(特発性ウィリス動脈輪閉塞症)は、両側の内頸動脈終末部が進行性に狭窄・閉塞をきたす疾患である。約10%の症例に家族歴が認められ、日本や韓国での罹患率が高く、欧米では少ないという地域差が認められ、民族的な発症特異性がある。これらの事実より、もやもや病は遺伝病のひとつであると考えられ、その遺伝形式は多因子遺伝あるいは浸透率の低い常染色体優性遺伝が想定されている。日本国内のいくつかのグループがポジショナルクローニングの手法を用いて、遺伝子座位の同定を試みており、これまでに第3、6、17染色体に責任遺伝子の存在を示唆する報告がなされている。しかし、その原因遺伝子は未だ同定されておらず、詳細な病態を解明するには至っていない。

今回、これまでの文献報告例および自験例を対象とし、家族性もやもや病の臨床的な特徴を統計学的に解析したところ、表現促進現象を示唆する結論を得た。そのため、自験例のうち、連鎖解析により17q25に強い相関をもつと明らかになっている家族発症例に対して、17q25における三塩基繰り返し配列の伸長の有無を検討することとした。

文献上、親子例16家系38例、同胞例51家系128例(うち一卵性双生児例8組16例を含む)を含む、合わせて76家系172例(男性74例女性94例)が報告されている。文献報告例のうち、親子発症例の検討では、男性14例女性24例で男女比は1:1.7となった。父親例が5例、母親例が11例であり、子世代については男性8例、女性12例である。親世代16例の発症年齢は 39.5 ± 12.8 歳、子の発症年齢は 12.7 ± 8.0 歳であり、子世代の発症年齢の方が有意に若かった($p < 0.0001$)。これにより、表現促進現象の存在が示唆された。性別による発症年齢は、男性 21.5 ± 18.9 歳、女性 24.8 ± 15.1 歳で明らかな差を認めなかった。

当施設および関連施設においては、1969年から2002年まで、155例のもやもや病を経験した。これら155例のうち、家族歴をもつ家族発症例は10家系24例であり、残りの131例が孤発例である。家族発症例24例は男性4例女性20例であり、孤発例131例は男性50例女性81例であった。また、家族発症例の発症年齢は 11.8 ± 11.7 歳で、孤発例の発症年齢は 30.0 ± 20.9 歳で、カプラン-マイヤー法にてログランク検定を行ったところ、家族発症例の方が有意に若く発症していた($p < 0.0001$)。親子発症の7家系の親子例はすべて母—子例であり、父—子例はなかった。この7家系には、8例の母親と10例の子供が含まれていた。8例の母親は、22歳から36歳の間で発症しており(mean \pm SD; 30.7 ± 7.5 歳)、一方10例の子供は5歳から11歳に発症していた(7.2 ± 2.7 yr)。発症年齢は明らかに子供のほうが若い(unpaired t-test, $P < 0.0001$)。8例の母親は、3例が一過性脳虚血発作で発症し、3例が脳出血にて発症し、2例が無症候で発見されている。一方子供例では、男性3例女性6例となっており、全例一過性脳虚血発作にて発症している。

二世代発症例の解析では、親世代の発症年齢より子世代の発症年齢の方が、有意に若かった。家族に患者がいることで生じるバイアスの存在は否定しきれないが、自験例の7家系のうち、子が発端者であったのは5家系、親が発端者であったのは2家系であり、バイアスのみでこの結果が生じるとは考えにくい。

文献例および自験例の解析いずれからも、家族内発症例の中で世代を経るにつれて発症年齢が若くなることが判明し、表現促進現象の存在が示唆された。表現促進現象のみられる疾患は、その発症機序に三塩基繰り返し配列の伸長が関与することが知られている。そのため、家族性もやもや病の原因遺伝子にも三塩基繰り返し配列の伸長が関与する可能性があると考えた。そこで、これまでの連鎖解析によって17q25の領域に原因遺伝子が存在することが示されている11家系について、同領域における三塩基繰り返し配列の伸長について解析を行った。

表現促進現象は、ある優性形質が世代を経るにしたがって、発症が若年化し、重症化する現象である。表現促進現象が認められるとされる疾患は、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)にて検索すると74疾患あるが、現在のところ、その分子生物学的発症機序が解明されているのは、Huntington病やMachado-Joseph病など遺伝性の神経変性疾患のみである。その発症機序には、三塩基繰り返し配列の伸長が関与している。三塩基繰り返し配列の伸長の程度が、その疾患の重症度や発症年齢の若年化に反映し、世代が下るほど三塩基繰り返し配列が伸長すると考えられている。

今回、親子発症例の発症年齢について統計学的解析により、表現促進現象が存在することが明らかとなったため、三塩基繰り返し配列の伸長を検討することとした。もやもや病は多因子遺伝疾患と考えられるため、以前の研究で原因遺伝子が17q25に連鎖していることが証明されている家系において、同領域で存在する三塩基の繰り返し配列について網羅的に解析を行った。ゲノムプロジェクトの発展に伴い、インターネット上でDNAの塩基配列についての情報が入手できるようになった。17q25の領域に存在する三塩基配列を抽出し、家族性もやもや病の家系のDNAにおいて、それらの三塩基配列が伸長しているか否かをダイレクトシーケンシングにて明らかにした。しかし、今回の検討では、明らかに疾患と連鎖する塩基配列の伸長を認めなかった。その原因としては、1. 17q25の領域で、今のところ未知の塩基配列の部分に存在する三塩基繰り返し配列が病因に関与しているため、2. 本症が多因子遺伝疾患であり、浸透率があまり高くないため、3. 三塩基繰り返し配列の伸長の他に、表現促進現象を示す機序があるため、などが考えられた。

今回の検討では、原因遺伝子を明らかにすることができなかった。しかし、ポジショナルクローニングにより絞り込まれた遺伝子座位から、位置の情報だけで実際の責任遺伝子を同定したり、さらに遺伝子座位を絞り込むにあたって、三塩基繰り返し配列の有無は指標となると考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 岩 崎 喜 信
副 査 教 授 守 内 哲 也
副 査 教 授 佐 々 木 秀 直

学 位 論 文 題 名

家族性もやもや病家系における表現促進現象と 17q25 の triplet repeat の伸長に関する研究

—家族性もやもや病の原因遺伝子の検索—

もやもや病（特発性ウィリス動脈輪閉塞症）は、両側の内頸動脈終末部が進行性に狭窄・閉塞をきたす疾患であり、約 10% に家族性発症を認める。家族性もやもや病は遺伝病のひとつであると考えられ、その遺伝形式は多因子遺伝あるいは浸透率の低い常染色体優性遺伝が想定されている。日本国内のいくつかのグループがポジショナルクローニングの手法を用いて、遺伝子座位の同定を試みており、これまでに第 3, 6, 17 染色体に責任遺伝子の存在を示唆する報告がなされている。しかし、その原因遺伝子は未だ同定されてはおらず、詳細な病態を解明するには至っていない。今回、これまでの文献報告例および自験例を対象とし、家族性もやもや病の臨床的な特徴を統計学的に解析したところ、表現促進現象を示唆する結論を得た。そのため、自験例のうち、連鎖解析により 17q25 に強い相関をもつと明らかになっている家族発症例に対して、17q25 における三塩基繰り返し配列の伸長の有無を検討した。文献上、親子例 16 家系 38 例、同胞例 51 家系 128 例（うち一卵性双生児例 8 組 16 例を含む）を含む、合わせて 76 家系 172 例男性 74 例女性 94 例）が報告されている。文献報告例のうち、親世代 16 例の発症年齢は 39.5 ± 12.8 歳、子の発症年齢は 12.7 ± 8.0 歳であり、子世代の発症年齢の方が有意に若かった ($p < 0.0001$)。これにより、表現促進現象の存在が示唆された。当施設および関連施設においては、1969 年から 2002 年まで、155 例のもやもや病を経験した。これら 155 例のうち、家族歴をもつ家族発症例は 10 家系 24 例であり、残りの 131 例が孤発例である。家族発症例の発症年齢は 11.8 ± 11.7 歳で、孤発例の発症年齢は 30.0 ± 20.9 歳で、カプラン-マイヤー法にてログランク検定を行ったところ、家族発症例の方が有意に若く発症していた ($p < 0.0001$)。親子発症の 7 家系の親子例はすべて母—子例であり、父—子例はなかった。この 7 家系には、8 例の母親と 10 例の子供が含まれていた。8 例の母親

は、22歳から36歳の間で発症しており (mean \pm SD; 30.7 \pm 7.5歳), 一方10例の子供は5歳から11歳に発症していた (7.2 \pm 2.7 yr). 発症年齢は明らかに子供のほうが若い (unpaired t-test, $P < 0.0001$). 文献例および自験例の解析いずれからも, 家族内発症例の中で世代を経るにつれて発症年齢が若くなることが判明し, 表現促進現象の存在が示唆された. 表現促進現象のみられる疾患は, その発症機序に三塩基繰り返し配列の伸長が関与することが知られている. そのため, 家族性もやもや病の原因遺伝子にも三塩基繰り返し配列の伸長が関与する可能性があると考えた. そこで, これまでの連鎖解析によって17q25の領域に原因遺伝子が存在することが示されている家系について, 同領域における三塩基繰り返し配列の伸長について解析を行った. インターネット上で17q25の領域のDNAの塩基配列を入手し, 同領域に存在する三塩基配列を抽出し, 家族性もやもや病の家系のDNAにおいて, それらの三塩基配列が伸長しているか否かをダイレクトシーケンスにて明らかにした. しかし, 今回の検討では, 明らかに疾患と連鎖する塩基配列の伸長を認めなかった. しかし, ポジショナルクローニングにより絞り込まれた遺伝子座位から, 位置の情報だけで実際の責任遺伝子を同定したり, さらに遺伝子座位を絞り込むにあたって, 三塩基繰り返し配列の有無は指標となると考えられた. 公開発表において守内哲也教授より, 家族性もやもや病の家系において母親由来の傾向が強いことについての質問があった. 次に佐々木秀直教授より, 遺伝形式が劣性か不完全優性遺伝のどちらかなどの質問があり, 分離比の検討など今後の課題についての示唆があった. 最後に, 岩崎喜信教授より, もやもや病の発症が男性より女性に多いことの遺伝的な理由についての質問があった. いずれの質問に対しても, 申請者らは自らの研究に基づく経験や過去の論文の内容を引用し, 豊富な知識に基づいて明解に解答した.

この論文は家族性もやもや病において表現促進現象が認められることを明らかにし, 原因遺伝子検索の際に三塩基繰り返し配列について検討する重要性を明らかにした点が高く評価され, 今後のもやもや病の原因遺伝子の検索に応用できるものと期待される.

審査員一同はこれらの成果を高く評価し, 大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した.