



# Novel missense mutation of the UGT1A1 gene in Thai siblings with Gilbert's syndrome

Retno, Sutomo

---

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2004-03-31

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲2970

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1002970>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



【 1 2 0 】

氏 名・（本 籍） RETNO SUTOMO （インドネシア）

博士の専攻分野の名称 博士（医学）

学 位 記 番 号 博い第1580号

学位授与の 要 件 学位規則第4条第1項該当

学位授与の 日 付 平成16年3月31日

【 学位論文題目 】

Novel missense mutation of the UGT1A1 gene in Thai  
siblings with Gilbert's syndrome

（タイ国のGilbert症候群患者姉妹のUGT1A1遺伝子に  
認められた新しいミスセンス変異）

審 査 委 員

主 査 教 授 丸 尾 猛

教 授 千 原 和 夫

教 授 堀 田 博

## INTRODUCTION

Gilbert's syndrome is a common inherited disorder of bilirubin metabolism resulting from a reduction of bilirubin UDP-glucuronosyltransferase activity. It contributes to the development of neonatal jaundice and causing recurrent jaundice after the neonatal period. The enzyme is encoded by the UGT1A1 gene, which encodes the enzyme. In Caucasians and Africans, Gilbert's syndrome is associated with homozygosity for a longer variant TATA box in the promoter region of the gene. In Asian populations, however, mutations in the coding region are more frequent. Some of these Asian patients are homozygous while others are heterozygous for the mutation, leading to a controversy about the inheritance trait of Gilbert's syndrome. Here, we report a Thai familial case of the syndrome with a new mutation.

## SUBJECTS AND METHODS

Two Thai siblings with Gilbert's syndrome and their parents were enrolled in the study. As controls, 110 Japanese individuals were also studied to determine the population frequency of the gene mutation. Molecular genetic analysis was performed after obtaining their informed consent.

Promoter region of the UGT1A1 gene was amplified by polymerase chain reaction (PCR) and analyzed by GeneScan method to determine the size of the TATA box. To search for mutation in coding region, all exons were amplified by PCR and sequenced directly. Detection of the mutation among the family members and controls was carried out by PCR-restriction enzyme digestion analysis.

## RESULTS

The patients and their parents were homozygous for the normal TATA box, (TA)<sub>6</sub>, indicating that a longer variant TATA box was not associated with Gilbert's syndrome in the family.

All exons of the gene were proven to be structurally normal since they showed no apparent duplication, insertion or deletion on gel electrophoresis. According to the sequencing results of all exons, the patients were homozygous for a novel single transition of T-to-C at nucleotide 247 (exon 1), which would predict a substitution of leucine for phenylalanine at codon 83 (F83L). No other mutation was detected in any other regions. The parents with no symptoms showed heterozygosity for the mutation. Among the 110 Japanese controls, no homozygous and three heterozygous individuals for the mutation were identified, giving a mutated allele frequency of 0.0136.

## DISCUSSION

Many alterations in exon 1 of the UGT1A1 gene have been reported to influence glucuronidation of bilirubin. In this study, a novel mutation, 247T>C (F83L), was identified in Thai siblings with Gilbert's syndrome. Substitution of phenylalanine at codon 83 by a non-aromatic amino acid such as leucine may reduce the enzyme activity. For example, phenylalanine at codon 170 has been proven to be indispensable for maintaining the enzyme activity, suggesting that aromaticity and hydrophobicity of the amino acid are essential in this position. However, the actual enzyme activity of the mutated UGT1A1 remains to be clarified using transfection and expression analysis.

The affected siblings were homozygous for F83L, whereas their parents, with no symptoms, were heterozygous for the mutation, indicating an autosomal recessive

inheritance trait in the family. However, the possibility remains that the parents carried a very mild type of Gilbert's syndrome, in which case it would be carried as an autosomal dominant trait.

The inheritance trait of Gilbert's syndrome remains controversial. In Caucasians and Africans, homozygosity of a longer variant TATA box is required for the syndrome. In Japan, homozygosity of missense mutations (for example, G71R, Y486N) has been reported as a cause of Gilbert's syndrome, suggesting an autosomal recessive trait of Gilbert's syndrome. However, some patients with Gilbert's syndrome were heterozygous for G71R. In addition, patients with heterozygous missense mutations, such as P229Q, R367G and L132P, have also been reported. These give support for an autosomal dominant inheritance trait of the syndrome.

Based on the results of the present and previous studies, the phenotypic severity of Gilbert's syndrome may be associated with the zygotic state of the mutation in the UGT1A1 gene. Homozygosity for a mutation may cause a severer phenotype, leading to a tendency to consider Gilbert's syndrome with such a severer phenotype (or Crigler-Najjar syndrome type 1 and 2) to be an autosomal recessive trait. Heterozygosity for the mutation may cause a milder phenotype, leading to a tendency to consider the syndrome with such a milder phenotype to be an autosomal dominant trait.

High incidence of neonatal hyperbilirubinemia in Japan has been associated with G71R mutation in the UGT1A1 gene. However, the frequency of the F83L mutation was very rare in the Japanese population. Therefore, the F83L mutation, unlike the G71R, may not contribute significantly to the high incidence of neonatal hyperbilirubinemia in the Japanese population.

神戸大学大学院医学系研究科 (博士課程)

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 1571 号	氏 名	RETONO SUTOMO
論文題目	<p>Novel missense mutation of the UGT1A1 gene in Thai siblings with Gilbert's syndrome</p> <p>タイ国のGilbert症候群患者姉妹のUGT1A1遺伝子に 認められた新しいミスセンス変異</p>		
審査委員	<p>主 査 丸 尾 猛</p> <p>副 査 千原和夫</p> <p>副 査 堀 田 博</p>		
審査終了日	平成 16 年 2 月 23 日		

(要旨は1,000字~2,000字程度)

## Novel missense mutation of the UGT1A1 gene in Thai siblings with Gilbert's syndrome

(Gilbert 症候群を呈するタイ人姉妹の UGT1A1 遺伝子における新しいミスセンス変異)

### (背景)

Gilbert 症候群は、Uridine diphosphate-glucuronosyl transferase1 (UGT1A1) 酵素異常症である。本酵素はビリルビンのグルクロン酸抱合に関与する。2q37 染色体上にある UGT1A1 遺伝子の異常によって、活性の低い酵素が産生され、ビリルビンのグルクロン酸抱合がうまく行かず、間接型高ビリルビン血症を呈するに至る。UGT1A1 遺伝子異常によって生じる疾患群は、臨床的症状の重篤度により 3 つに分類される。すなわち、最も症状が重篤なものから、Crigler-Najjar 症候群 I 型、Crigler-Najjar 症候群 II 型、Gilbert 症候群である。

アジア諸国では新生児黄疸の発生率が高いことが知られているが、UGT1A1 遺伝子の変異がそのことにどのように関与しているかについては、いまだ明らかでない。また、Gilbert 症候群の遺伝形式についても議論が残っている。

### (研究結果)

著者たちは、Gilbert 症候群を呈するタイ人姉妹の UGT1A1 遺伝子の解析を行った。姉妹の UGT1A1 遺伝子のプロモーター領域の TATA box には異常は認められなかった。次いで、コーディング領域の PCR 産物を、順次、直接シーケンスしていった結果、exon1 上の 247 番目のヌクレオチドが T から C へ点変異をしているのを発見した。姉妹は、この点変異のホモ接合体であった。この塩基の変異により酵素蛋白の 83 番目のコドンが、phenylalanine から leucine に置換される (F83L)。この exon1 を除き、他の領域では変異は見つからなかった。

姉妹の両親は、この点変異のヘテロ接合体であった。タイ人コントロール群は 10 人しか検討できていないが、10 人とも T/T で、変異アレルを持つ者はいなかった。日本人コントロール群では T/T が 107 人、T/C が 3 人、C/C は 0 人で、変異アレルの頻度は 0.0136 であった。

### (考察)

著者らは、UGT1A1 遺伝子 exon1 上の 247 番目のヌクレオチドが T から C へと置換されている新規点変異を発見し、Gilbert 症候群との関連を明らかにした。このように、芳香族アミノ酸→非芳香族アミノ酸置換によって本酵素活性は著しく低下することが推測される。

本研究の患者姉妹は F83L のホモ接合体であり、新生児黄疸の遷延があり、また幼児期以後頻繁に黄疸の再発がみられた。一方、患者の両親はヘテロ接合体で、このような症状は見られなかったことから、この家族内では常染色体劣性遺伝形式をとっていることがわかる。

著者らは、日本人においては F83L 変異のアレル頻度は非常に低く、日本人の新生児黄疸の高い発生率には寄与しないことも明らかにした。

### (結論)

著者らは、Gilbert 症候群のタイ人姉妹の UGT1A1 遺伝子において、新しいミスセンス変異 F83L を発見した。家族の遺伝子解析から、本家系の Gilbert 症候群は常染色体劣性遺伝形式をとることも明らかになった。ただし、F83L 変異は日本人ではほとんどみられないため、日本での新生児黄疸の高い発生率をこの変異では説明できないことも明らかになった。

本研究は、Uridine diphosphate-glucuronosyl transferase1 (UGT1A1) 酵素異常症である Gilbert 症候群のタイ人姉妹の UGT1A1 遺伝子において、新しいミスセンス変異 F83L を発見し、常染色体劣性遺伝形式をとることを示したものであり、従来、日本人ではほとんどみられないため知られていなかった F83L 変異と Gilbert 症候群との関係を明らかにしたものとして価値ある集積であると認める。よって、本研究者は、博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。