



Four types of possible founder mutations are responsible for 87 % of Japanese patients with xeroderma pigmentosum variant type

正木, 太朗

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2008-09-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲4438

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1004438>

※ 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。



氏 名 正木 太朗
博士の専攻分野の名称 博士 (医学)
学 位 記 番 号 博い第 1956 号
学位授与の 要 件 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位授与の 日 付 平成 20 年 9 月 25 日

【 学位論文題目 】

Four types of possible founder mutations are responsible for 87 % of Japanese patients with xeroderma pigmentosum variant type(日本人色素性乾皮症バリアント群の 87 %は、DNA ポリメラーゼイータの 4 種類の創始者変異が原因である。)

審 査 委 員

主 査 教 授 松尾 雅文
教 授 南 博信
教 授 西尾 久英

遺伝子は、環境中の放射線、紫外線など種々の外因性物質、ならびに細胞内代謝により生じる酸化ストレスなどの内因性の物質によって損傷が生じている。遺伝子に生じた傷がそのまま複製されて誤った遺伝情報が伝えられることを防ぐために、生物には遺伝子に生じた傷を修復する多様な機構が備わっている。ヒトでは紫外線DNA損傷であるダイピリミジン二量体の修復にはヌクレオチド除去修復 (nucleotide excision repair; NER) が働くが、それでも傷が残ってしまった場合に、複製フォークがDNA損傷に遭遇した際に損傷を乗り越えて複製をおこなう損傷乗り越え機構がはたらく。

ヌクレオチド除去修復が欠損した場合に、色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum: XP) のA~G群が発症し、損傷乗り越え機構に障害があるとバリアント群(XP-V)が発症する。日本人XPの発生頻度は、全人口に対して22,000人に1人と推定されており、欧米の250,000人に1人と比較すると多い。その中で、XP-A群は約半分であり、XP-V群は約1/4を占めている。XP-V群は、露光部に皮膚癌を発症する常染色体劣性遺伝病であるが、神経症状は伴わない。日光曝露後の紅斑を自覚していないことが多く、遮光が不十分なために、中年以降に露光部に皮膚癌が生じて、初めて診断される例が多かった。また、ヌクレオチド除去修復の指標となる不定期DNA合成能は低下しないことも多く、細胞生物学的修復テストでの確定診断は難しい。XP-Vの原因遺伝子が1999年に花岡らによりDNAポリメラーゼh (POLH)と同定され、症状が完成するまでに診断を確定することが可能となった。XP-Vは6番染色体短腕6p21.1-6p12に座乗しており、40kbの塩基よりなり、11エクソンからなっている。

本研究では、これまでに臨床的、細胞生物学的にXPバリアント群を強く疑った症例のうち同意書を取得できた29症例についてDNAポリメラーゼhの変異について調べ、臨床像、細胞生物学的修復能との関連性について調べた。患者の年齢分布は13才~82才(平均年齢55.1才)男性12例、女性17例。2例を除いて皮膚癌を生じていた。皮膚癌初発年齢は22才~76才(平均46才)であった。UDSは57~115%(平均87%)。コロニー形成能を用いた紫外線致死感受性は正常ないし軽度感受性で、カフェイン(0.5~1mM)存在下で紫外線致死感受性は増強した。

遺伝子解析はXP-V遺伝子のエクソン1ントロン境界領域を含めプライマーを設定し、11Exon全てをシークエンスしたところ、29例中27例に遺伝子の変異を認めた。エクソン4、6、8、9、11の7カ所に変異を見つけ、既報告例4例のうち3例の変異と同一の変異も含まれた。そのうち、エクソン4のG490Tの変異が33%、

エクソン6のC725Gが11%、エクソン8のG916Tが20%、エクソン11のdel1661Aが22%で、この4カ所の変異が日本人バリアント群患者の変異のおよそ87%を占めた。これらの4種類の変異は日本人以外では見つかっておらず、創始者変異の可能性が示唆される。遺伝子診断を行う際に、これらの塩基配列を調べることは有用であると思われる。

次に、遺伝子変異から推測される蛋白とそれらの変異を持つ患者の臨床症状とのあいだに関連性が有るかを検討した。POLH蛋白は713アミノ酸からなっているが、catalytic domainは始めの511アミノ酸に、保存領域は始めの400アミノ酸である。del1661Aだけはcatalytic domainを保持していることが推定され、C725G、G916T、C1066Tはcatalytic domainより内側で切れることが推定される。G490Tの変異からは2種類のスプライス異常がおきるため、生成される蛋白の大きさを推定するのは困難である。最小紅斑量(MED)、雀卵斑様色素斑の出現時期、皮膚癌初発年齢、不定期DNA合成(UDS)などを指標として、それぞれ遺伝子型と臨床症状との関連性を比較してみた。皮膚癌初発年齢以外の点については大きな差がみられなかつたが、基底細胞癌、有棘細胞癌、悪性黒色腫の平均発癌初発年齢を遺伝子変異の箇所別に比較すると、del1661Aホモ接合体(あるいはヘミ接合体)6症例の平均年齢は56、63.7、67歳であり、C725G、G916T、C1066Tのホモ接合体(あるいはヘミ接合体)8症例の平均年齢47.2、53.7、48歳よりも高齢であった。また発癌を伴わない2例もdel1661Aをhomozygousにもつ患者に含まれた。G490Tの基底細胞癌、有棘細胞癌の平均発癌初発年齢は48.2歳、48.2歳であった。遺伝子型と表現型との相関性が類推されるが、症例数がまだ十分でないことや、日光曝露時間の個人差もあり、これから検討課題である。

紅斑反応についてはFL32S-E-30 sunlampsを使用し、背部から30cmの距離から紫外線を照射した後のMED(最小紅斑量)(紫外線照射24時間後にからうじて認識できる程度の紅斑が生じる最小紅斑量)を測定していた。29症例のうちMEDを調べることの出来た19例では全例、日本人のMEDの正常域である60~140mJ/cm²のなかに収まった。日光曝露後皮膚があかくなりやすいと自覚している症例は少ないと矛盾しない結果であり、色素性乾皮症バリアント群の患者が、中年以降に皮膚発癌を生じてはじめて皮膚科を受診した際に診断されることを説明する。今回、皮膚癌発症までの13歳の時点で診断することのできた小児例があり、日本人色素性乾皮症バリアント群の診断のために、免疫沈降法とdel1661A、C725G、G916T、

C1066T の 4 カ所の遺伝子解析を行うことは、簡便かつ有用な方法と思われる。

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 1957 号	氏名	正木 太朗
論文題目 Title of Dissertation	日本人色素性乾皮症バリアント群の 87% は、DNA ポリメラーゼイータの 4 種類の創始者変異が原因である。 Four types of possible founder mutations are responsible for 87% of Japanese patients with xeroderma pigmentosum variant type.		
審査委員 Examiner	主査 松尾雅文 Chief Examiner 副査 田博信 Vice-examiner 副査 西尾久美 Vice-examiner		
審査終了日	平成 20 年 8 月 20 日		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

申請者は、臨床的、細胞生物学的に色素性乾皮症 (xeroderma pigmentosum : XP) バリアント群 (XP-V) を強く疑った症例 29 症例について、その原因遺伝子である DNA ポリメラーゼ η (POLH) の変異について調べ、臨床像、細胞生物学的修復能との関連性について検討した。対象患者の年齢分布は 13 才～82 才 (平均年齢 55.1 才) 男性 12 例、女性 17 例。2 例を除いて皮膚癌を生じていた。皮膚癌初発年齢は 22 才～76 才 (平均 46 才) であった。不定期 DNA 合成能 (UDS) は 57～115% (平均 87%)。コロニー形成能を用いた紫外線致死感受性は正常ないし軽度感受性で、カフェイン (0.5～1mM) 存在下で紫外線致死感受性は増強した。

遺伝子解析は XPV 遺伝子のエクソンイントロン境界領域を含めたプライマーで、11 エクソン全てをシークエンスし、29 例中 27 例に遺伝子の変異を認めた。エクソン 4、6、8、9、11 に 7 種類の変異を検出した。既報告例 4 例のうち 3 例の変異と同一の変異も含まれた。エクソン 4 の G490T の変異が 33%、エクソン 6 の C725G が 11%、エクソン 8 の G916T が 20%、エクソン 11 の del 1661A が 22% で、この 4 カ所の変異が日本人バリアント群患者の変異のおよそ 87% を占めていることを示した。これらの 4 種類の変異は日本人以外では見つかっておらず、創始者変異の可能性を示唆している。

次に申請者は、遺伝子変異から推測される蛋白とそれらの変異を持つ患者の臨床症状とのあいだに関連性が有るかを検討した。POLH の del 1661A の遺伝子産物は POLH 蛋白の 511 アミノ酸よりなる catalytic domain を保持しているが、C725G、G916T、C1066T は catalytic domain 内で蛋白生成が止まることが推測された。最小紅斑量 (MED)、雀卵斑様色素斑の出現時期、UDS などについては大きな差がみられなかったが、基底細胞癌、有棘細胞癌、悪性黒色腫の平均発癌初発年齢を遺伝子変異の箇所別に比較すると、del 1661A ホモ接合体 6 症例の平均年齢は 56、63.7、67 歳であり、C725G、G916T、C1066T のホモ接合体 8 症例の平均年齢 47.2、53.7、48 歳と比べると高齢であった。また発癌を伴わない

2 例も del 1661A を homozygous にもつ患者に含まれた。遺伝子型と表現型との相関性が類推されるが、症例数がまだ十分でないことや、日光暴露時間の個人差もあり、これらは、これからの検討課題と結論づけた。

さらに最小紅斑量 (MED) を調べることの出来た 19 例では全例、日本人の MED の正常域である 60～140mJ/cm² のなかに収まった。日光暴露後皮膚が赤くなりやすいと自覚している症例が少ないことと矛盾しない結果である。

本研究は、日本人色素性乾皮症バリアント群の診断には、del 1661A、C725G、G916T、C1066T の 4 カ所の遺伝子解析を行うことが、簡便かつ有用であることを明らかにし、XP-V 群の臨床診断の確立に重要な知見を得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。