

(11)

氏名(生年月日)	伊 藤 万 由 里
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第356号
学位授与の日付	平成14年3月15日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	Phenotype-genotype correlation in Japanese spinal muscular atrophy-analysis of the DNA and mRNA of the SMN gene (日本人の脊髄性筋萎縮症における表現型と遺伝型の関係—SMN 遺伝子の DNA および mRNA 解析—)
論文審査委員	(主査) 教授 大澤真木子 (副査) 教授 高桑 雄一, 岩田 誠

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

脊髄性筋萎縮症(SMA)の原因遺伝子 survival motor neuron 遺伝子(SMNt)にはコピー遺伝子(SMNC)が存在し、患者ではSMNtが欠失している。SMAの各臨床型(I, IIおよびIII型)において、その欠失の本態は異なり、遺伝子変換の可能性も報告されている。我々は、SMN 遺伝子の構築と患児の臨床的重症度との関係を検討するため、SMN 遺伝子をDNA, mRNAで解析した。

〔対象および方法〕

当科での遺伝子診断を希望され、保護者または本人からインフォームドコンセントを得たSMA患者29名(I型7名, II型11名, III型11名)を対象とし、末梢血リンパ球を用いてDNAとmRNAを抽出した。DNAレベルでは、SMNtのエクソン7, 8をPCR-制限酵素法で解析し、遺伝子欠失範囲(修飾遺伝子のNAIPおよびSERF1も含む)を同定した。また、SMNtがSMNCへ変換したことを示すhybrid geneをDNAおよびmRNAにおいてRT-PCR-制限酵素法で検出した。Hybrid geneの存在と臨床的重症度との関係については、発症年齢と最高到達運動レベルを、hybrid geneのある例とない例で比較、検討した。また、SMN エクソン7, 8のRT-PCR産物を直接塩基配列決定法で解析し、さらにクローニングを行い、各クローンの塩基配列を調べた。

〔結果〕

DNAでの欠失の分析では、I型で主にSERF1から

NAIPまでの広範囲の欠失を認め、II型, III型ではSMNtエクソン7, 8またはエクソン7のみの欠失を認めた。Hybrid geneは、DNAで5例, mRNAで5例, 合計9例(1例のみDNAとmRNAの両者で検出)で存在した。最高到達運動レベルはhybrid geneのある例がない例に比し有意差はないがやや高い傾向にあった($p=0.16$)。RT-PCR産物の直接塩基配列解析では、SMNtの配列を5例で認めた。また、クローニング産物の塩基配列解析では、4例で同様にSMNtの配列を認めた。

〔考察〕

SMAの原因遺伝子が存在する染色体5q13の領域には、多数の逆位、重複配列が存在し、そのため遺伝子欠失や遺伝子変換が起こり易くなっている。本研究では、得られた結果より29例のDNAの構築を、真の欠失の群と遺伝子変換の群(DNA診断のレベルでは両群の判別不可能)に分類した。重症のI型では7例すべてが真の欠失を示し、II型では11例中3例が、軽症のIII型では11例中8例が、遺伝子変換を示していた。SMNtからSMNCへの遺伝子変換によりSMNCの量が増えた例とSMNCからSMNtへの遺伝子変換によりSMNtの欠失を代償している例を見出した。これらは、真の欠失を示す例よりも臨床型は軽症になることが示唆された。

〔結論〕

SMAの重症型では遺伝子欠失の範囲が広がった。遺伝子変換は軽症のII型, III型のみで認めたことか

ら, SMN 遺伝子における遺伝子変換は臨床症状の軽減化と関係すると考えられた。

論文審査の要旨

本研究では, 脊髄性筋萎縮症の方において SMN 遺伝子を DNA, mRNA で解析した。その結果, 脊髄性筋萎縮症の重症の方では遺伝子欠失の範囲が広いこと, 遺伝子変換は軽症の II 型, III 型のみで認めることを明らかにした。遺伝子変換は臨床症状の軽減化に関わることを明らかにした点で価値がある。

主論文公表誌

Phenotype-genotype correlation in Japanese spinal muscular atrophy-analysis of the DNA and mRNA of the SMN gene (日本人の脊髄性筋萎縮症における表現型と遺伝型の関係—SMN 遺伝子の DNA および mRNA 解析)

American Journal of Medical Genetics (投稿中)
伊藤万由里, 斎藤加代子, 杜 娟, 三谷昌平,
大澤真木子

副論文公表誌

- 1) 下肢痛時に筋 MRI T2 強調画像で高信号域を呈した Duchenne 型筋ジストロフィーの 1 例. 東女医大誌 70(臨増): E161-E165(2000)伊藤万由里, 斎藤加代子, 伊藤 康, 平野幸子, 池谷紀代子, 勝盛 宏, 舟塚 真, 林 北見, 小峯 聡, 新井 ゆみ, 大澤真木子