

# 筋ジストロフィーの遺伝子解析－臨床表現型と遺伝子型の関連分析

近藤 恵里

女性医学研究者支援室  
兼 遺伝子医療センター

## はじめに

筋ジストロフィーに関する新たな原因遺伝子が次々と同定されるとともに、治療を目指し、リードスルー誘導法やエクソスキッピング法などを中心とした分子治療研究が進んでいる。筋ジストロフィーにおいても、個々の患者の遺伝子変異に最も適した治療法が選択されるオーダーメイド医療化への流れが捉えられ、迅速かつ正確な遺伝子診断の重要性はより高まっている。

## 目的

通常のスクリーニングでは遺伝子変異が見つからなかった筋ジストロフィー症例を中心に、新たな手法を加えた積極的な変異検索を施行し、診断精度の向上を図る。その結果を治療法適応の検討につなげるとともに、新たな病態生理の解明に寄与させる。

## 方法

先天性筋ジストロフィーでは、福山型 (FCMD) の遺伝子変異が同定されず、臨床的にも FCMD が否定的な症例に対し、筋眼脳型 (MEB) の新規遺伝子 (POMGnT1) のダイレクトシーケンスによる変異検索を行った。Duchenne 型 (DMD) に対しては、従来の multiplex PCR 法に Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) 法と cDNA ダイレクトシーケンスを加えた検索を行った。

## 結果

MEB では 3 例に遺伝子変異が判明し、診断が確定した。DMD では、MLPA 施行によって multiplex PCR 法レベルよりエクソン欠失範囲が広いと判明した例が 5 例、新規の欠失・重複が判明した例が 6 例、cDNA ダイレクトシーケンスで点変異が判明した例が 9 例あった。

## 考察

MEB で遺伝子変異が判明した 3 例において、明らかな臨床表現型と遺伝子型との関連は見出せなかったが、変異位置が遺伝子 3' 側の方が臨床的に軽症な傾向の可能性が考えられた。

DMD における MLPA 法は全エクソンをカバーして欠失・重複が検出できる大変有用な方法であった。ナンセンス変異が判明した6症例中4例は、リードスルー誘導治療に最適であるストップコドン(PTC) TGAを有しており、将来的な治療適応が期待された。ミスセンス点変異の1例は、exon10(M335T)と exon33(K1510R)の2箇所に変異が認められるものの、臨床的には非常に軽症であった。スプライシング異常の1例は、intron/exon junctionの一塩基置換によるスプライス異常のため、exon69の最初のアミノ酸2個のみが欠失(in frame)し、Becker型が予測される結果であった。筋組織のジストロフィン免疫染色でも筋細胞膜に薄い染色性が認められた(ウエスタンブロットでは陰性)。しかし臨床的にはDMDであり、乳児期からの運動発達遅延と中等度の知的発達遅延(DQ53)を認めている。この理由につき、運動発達遅延に関しては、欠失する2アミノ酸の場所が、筋細胞膜で $\beta$ ジストログリカンとの結合部位にあたること、知的発達遅延に関しては、DMDにおける知能との関連が報告されるC末のジストロフィンアイソフォーム Dp140に何らかの影響を与えている可能性を考えられた。単独エクソン重複(exon2:62bp)がMLPAでは検出できなかった理由については、重複するエクソン2同士のゲノム上の位置関係とプローブ配列の位置による関係を現在検討中である。

## まとめ

遺伝子変異の状態と臨床的重症度に discrepancyのある興味深い症例もあり、遺伝子診断の精度向上は病態・治療法解明のヒントにもつながると思われた。今後さらにデータを増やし、多彩な症状と遺伝子異常とのつながりをより詳しく解析したい。

## 参考文献

Barton-Davis ER et al., Aminoglycoside antibiotics restore dystrophin function to skeletal muscles of mdx mice. J Clin Invest104:375-381,1999

Taniguchi K et al., Worldwide distribution and broader clinical spectrum of muscle-eye-brain disease. Hum Mol Genet12:527-534, 2003