

濱 辺 淳 一 (長崎県) 昭和31年8月8日生

授与年月日 平成3年3月31日

- 主 論 文 (1) A molecular study of the Prader-Willi syndrome: deletion, RFLP and phenotype analyses on 50 patients
- (2) DNA deletion and its parental origin in Angelman syndrome patients *American Journal of Medical Genetics*, 1991 (in press)

論文内容の要旨

緒 言

Angelman症候群 (AS) と Prader-Willi症候群 (PWS) は臨床的には別種の先天奇形症候群であるが、両疾患患者のそれぞれ半数以上に15番染色体q11-13の欠失や、その領域のDNAレベルの欠失が検出され、共通または近接した遺伝子 (群) の存在が示唆される。しかし欠失の親起源は全く対称的で、PWSは父由来ASは母由来である。Lalandeらは、核型正常のPWS患者で2本の15番相同染色体両方とも母由来で、父の15番染色体を欠くという片親性isodisomyの例を6例示し、PWSとASの欠失の親起源が逆なのは15q11.2部分の遺伝子群の不活化が親の性で異なること、即ちgenomic imprinting (ゲノム刷り込み) によるものであると提唱した。また両疾患の症状の多様性から「隣接遺伝子症候群」であるとの仮説がNiikawaらにより提唱されている。著者はこの2つの仮説を検証し、両症候群関与の遺伝子群の単離の基礎的所見を得るため、分子遺伝学的研究を行った。

材料と方法

研究対象は、50名のPWS患者と14名のAS患者(2様の同胞例を含む)およびその両親である。AS患者では

核型正常の同胞3名とその両親、及び母方祖父母の分析も行った。

- (1) すべての患者の末梢血リンパ球を高精度分染法を用いて、核型分析を行った。
- (2) 15q11-abに座位を持つ5種のクローン化DNA pIR39, pML-34, pIR4-3R, pTD3-21, pIR10 (これらの位置関係はcentromere側よりこの順序になっている)をprobeとして、RFLP分析と遺伝子コピー数より欠失範囲を分析した。遺伝子コピー数の分析の内部対照として、pPAL, PTHをそれぞれ用いた。
- (3) 50人のPWS患者の臨床症状と、染色体および分子レベルでの欠失の有無との関係について比較検討した。手足の大きさの比較のために、正常人における年齢別の平均値と標準偏差資料を作成した。

結 果

- (1) PWS50例中32例 (64%) に分子レベルでの欠失を認めた。そのうち3例ではpIR10で遺伝子重複を認めた。41例に染色体異常を認めたが、6例の15q欠失、2例のt (15;15)、1例のinv dup (15) では分子レベルでの欠失を認めなかった。AS14例中8例に分子レベルでの欠失を認めた。そのうち2同胞例ではpTD3-21のみに、1孤発例ではpIR4-3Rのみに欠失を認めた。PWSの欠失の親起源は父由来であることが3例で確認できた。分子レベルで欠失のなかった15;15転座の1例と、核型正常のPWS1例では15番染色体が母性片親性isodisomyであることを確認した。ASの3同胞と1孤発例のDNA欠失は母由来であることが確認できた。核型正常のPWS2例とASの3例ではisodisomyを否定した。
- (2) 染色体欠失はあるが分子レベルでの欠失を認めないPWS6例中3例と核型正常のPWS9例中7例では「小さな手足」の症状がなかった。より小さい分子レベルの欠失の3例、染色体欠失はあるが分子レベルでの欠失を認めない6例中4例と核型正常の9例では頭髪等の色素異常症状がなかった。
- (3) 1同胞例の家系のRFLP分析: pTD3-21/AluIでは、3人の患児共1.5kb alleleのhemizygoteで、母親から来るべきalleleが欠失していた。母親(正常)は祖父からの1.5kb alleleを欠失しているhemizygoteであった。pTD3-21/TalIの遺伝子コピー数の分析では、母親と3人の患児および母方祖父が1コピーであった。すなわち、3人の患児のDNA欠失は母由来で、母の欠失はその父由来であった。pTD3-21以外のprobeでは全ての家族構成員で欠失を認めなかった。

考察と結論

- ①15q11.2領域に存在する遺伝子(群)はPWSとASの原因に重要な役割をしている。
- ②典型例のPWSでは非典型例に比べ欠失の範囲は大きい。
- ③PWSは隣接遺伝子症候群であり、少なくとも、小さな手足と色素異常に関連する遺伝子は遠位端の方にある。
- ④15q11.2領域部分の父由来の遺伝子を欠如することがPWSの原因のひとつである。
- ⑤核型正常のPWSには片親性disomyの例と微小欠失例の2種類がある。
- ⑥ASの原因遺伝子座における欠失が母由来の場合その人はASとなり、父由来の場合は正常である。すなわち、ゲノム刷り込みがASの発症に関与する。AS3同胞例の母は正常であるので、欠失が父由来のときPWS表現型をとるとする従来の仮説は否定的である。
- ⑦ASの原因遺伝子はpIR4-3RとpTD3-21の間にある。
- ⑧PWSとASではその責任遺伝子の位置がわずかに違っている。
- ⑨ゲノム刷り込みの仮説と隣接遺伝子症候群仮説は互いに相矛盾するものではなくPWSとASの発症機構の説明に適用できる。

論文審査の結果の要旨

濱辺淳一は昭和60年3月長崎大学医学部を卒業、昭和60年5月医師国家試験に合格、同年6月長崎大学医学附属病院内科学第2教室に入局。2年間の研修後、昭和62年4月長崎大学大学院医学研究科に入学。大学院では病理系を修め、人類遺伝学を主科目、腫瘍分子生物学を副科目、消化器病学を選択科目とし、平成3年3月までに所定の単位を修得した。この間長崎大学医学部附属原爆後障害医療研究施設先異常部門新川詔夫教授のもと、学位論文「A molecular study of the Prader-Willi syndrome: deletion, RFLP and phenotype analyses on 50 patients」及び「DNA deletion and its parental origin in Angelman syndrome patients」の2編を完成、American Journal of Medical Geneticsに投稿した。これら2編を主論文とし、その他参考論文7編を附して、長崎大学医学研究科委員に学位申請した。平成3年2月6日、同委員会は上記論文内容の要旨を検討し、研究経歴などを審査し、受理を決定後、上記3名の審査委員を選定。同委員らは主査を中心として慎重に審査し、平成3年3月20日の大学院研究発表会にて同上学位論文を発表、質疑応答した。同日の定例大学院医学研究科委員会でその結果も併せて報告した。主論文は、Angelman症候群(AS)とPrader-Willi症候群(PWS)の分子遺伝学的研究で

あり、研究対象は、50名のPWS患者と14名のAS患者(2種の同胞例を含む)およびその両親である。患者の末梢血リンパ球を高精度分染法を用いて、核型分析を行うと共に15q11-12に座位を持つ5種のクローン化DNA pIR39, pML-34, pIR4-3R, pTD3-21, pIR10をprobeとして用いRFLP分析と遺伝子コピー数より欠失範囲を分析した。

その結果PWS50例中32例(64%)に分子レベルでの欠失を認め、41例に染色体異常を認めたが内6例で分子レベルでの欠失を認めなかった。AS14例中8例に分子レベルでの欠失を認めそのうち3同胞例ではpTD3-21のみに、1孤発例ではpIR4-3Rのみに欠失を認めた。PWSの欠失の親起源は父由来であることを3例で確認でき、分子レベルで欠失のなかったPWS2例では15番染色体が母性片親性isodisomyであることを確認した。ASの3同胞と1孤発例のDNA欠失は母由来であることが確認できた。染色体欠失はあるが分子レベルでの欠失を認めないPWS6例中3例とPWS9例中7例では『小さな手足』の症状がなかった。より小さい分子レベルの欠失の3例、染色体欠失はあるが分子レベルでの欠失を認めない6例中4例と核型正常の9例では頭髪等の色素異常症状がなかった。更に3同胞例の家系のRFLP分析では、3人の患児共1.5kb alleleのhemizygoteで、母親から来るべきalleleが欠失していた。母親(正常)は祖父からの1.5kb alleleを欠失しているhemizygoteであった。pTD3-21/TaqIの遺伝子コピー数の分析では、母親と3人の患児および母方祖父が1コピーであった。

これらより、15q11.2領域に存在する遺伝子(群)はPWSとASの原因に重要な役割をしているが典型例のPWSでは非典型例に比べ欠失の範囲は大きい。PWSは隣接遺伝子症候群であり、少なくとも、小さな手足と色素異常に関連する遺伝子は遠位端の方にある。15q11.2領域部分の父由来の遺伝子を欠如することがPWSの原因のひとつである。ASの原因遺伝子座における欠失が母由来の場合その人はASとなり、父由来の場合は正常である。すなわち、ゲノム刷り込みがASの発症に関与する。AS3同胞例の母は正常であるので、欠失が父由来のときPWS表現型をとるとする従来の仮説は否定的である。ASの原因遺伝子はpIR4-3RとpTD3-21の間にあるがゲノム刷り込みの仮説と隣接遺伝子症候群の仮説は互いに相矛盾するものではなくPWSとASの発症機構の説明に適用できる。等が明らかにされた。

本研究はAngelman症候群およびPrader-Willi症候群の分子遺伝学的基礎の解釈を大きく前進させるものである。本研究の成果が今後様々な生物学的分野、医学分野に与える影響は大きく、その研究成果は高く評

価されるものと考えられる。医学研究科委員会は審査委員の報告に基づいて、これを討論に附して審査した結果学位に値するものとして合格とした。

審査担当者	主査	教授	珠玖	洋
	副査	教授	原	耕平
	副査	教授	辻	芳郎