学位論文要約

博士論文題目次世代シークエンサーを用いた成人発症遺伝性筋疾患の遺伝子解析.....

.....東北大学大学院医学系研究科 医科学専攻.....

.....神経・感覚器病態学講座 神経内科学分野.....

氏名.....井泉 瑠美子.....

成人発症の遺伝性筋疾患は、肢帯型筋ジストロフィーと遠位型ミオパチーが占める割合が比較的高いが、従来の臨床症状および生検骨格筋組織を用いた病理学的診断には限界がある。筋疾患の原因遺伝子は複数の巨大遺伝子を含め、少なくとも40以上報告されており、遺伝的背景が明らかとならず病因確定に至らない症例が多く存在する。本研究では、このような遺伝的背景が不明である筋疾患の家系もしくは症例を対象として原因遺伝子変異を明らかとするために、ゲノムの網羅的配列決定が可能である次世代シークエンサーを利用した解析を行った。

研究1では、遠位型ミオパチーの臨床像をとる筋原線維性ミオパチーの大家系に対して、家系内の罹患者5名と非罹患者5名の計10名について遺伝子解析の同意を得て、原因遺伝子変異を明らかとするために、エクソーム解析(全エクソン配列決定)及び連鎖解析を行った。連鎖解析では、一塩基多型 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) のジェノタイプングデータを用いて、多点解析を行った結果、LODスコアが2以上となる5領域を同定した。エクソーム解析では、ゲノムの全エクソン領域を抽出し、次世代シークエンサーで配列決定し情報解析を行った。多型データベースや罹患者状態からバリエーションの絞り込みを行うことにより、連鎖解析での候補領域に存在する *TTN* 遺伝子のミスセンス変異 c.90263G>T, p.W30088L 変異を病因変異として同定した。本変異は、病理学的に筋原線維性ミオパチーを呈する Hereditary myopathy with early respiratory failure (HMERF, MIM #603689) の新規病因変異と考えられ、HMERF の疾患概念の確立に貢献した。

研究2では、*DYSF* 遺伝子の変異によって起こされる筋疾患 (Dysferlinopathy : ジスフェルリン異常症) が疑われる70症例 (*DYSF* 遺伝子の PCR-SSCP 法による変異スクリーニングで変異が同定できなかった58例、及び新規解析12例) を対象として、*DYSF* 遺伝子を含む42筋疾患関連遺伝子を解析対象としたターゲットリシーケンス解析 (既知筋疾患関連遺伝子の網羅的解析) を行った。42遺伝子のエクソン領域を抽出した後、次世代シークエンサーで配列決定を行った。情報解析により検出されたバリエーションから疾患関連既報告変異の抽出を行うとともに、多型データベースを用いて稀なバリエーションを絞り込み、遺伝形式、臨床情報等との照合を行い疾患との病的関連が疑われる変異を抽出した。70症例中、43例(61%)で、*DYSF* 遺伝子を含む複数の筋疾患関連遺伝子に病的関連が疑われる変異を同定した。この方法を用いることで、従来行われていた *DYSF* 遺伝子の PCR-SSCP 法で59.0%であった変異検出率は77.8%にまで上昇した。

本研究では、次世代シークエンサーを用いて、遺伝性筋疾患の家系例における新規遺伝子変異の同定と、成人発症遺伝性筋疾患の疾患関連遺伝子の網羅的遺伝子診断システムの確立を行うことができた。今回確立した次世代シークエンサーによる遺伝子解析システムは、他の遺伝性神経筋疾患を対象としても応用可能であり、今後の神経筋疾患における遺伝子診断に貢献すると考えられる。