

氏 名（本籍）	まつ 松	なが 永	じゅん 純
学位の種類	博 士（医 学）		
学位記番号	医 第 2672 号		
学位授与年月日	平成 6 年 2 月 23 日		
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 2 項該当		
最終学歴	昭和 61 年 3 月 25 日 東北大学医学部医学科卒業		
学位論文題目	チロシナーゼ陰性型白皮症の DNA 診断法の開発 の試		

（主 査）

論文審査委員	教授 田 上 八 朗	教授 成 澤 邦 明
	教授 林 典 夫	

論 文 内 容 要 旨

眼皮膚型白皮症（OCA）はチロシナーゼ陰性型と陽性型に分類されている。チロシナーゼ陰性型 OCA では本症がチロシナーゼ遺伝子の異常により引き起こされることが明らかになっている。本邦では富田らが、チロシナーゼ遺伝子のエクソン 2 に同じ insertion mutation をホモで持つ 2 症例を報告したのをかわきりに、武田らがエクソン 1 にやはり同じ point mutation をホモで持つ症例を報告している。これら 3 人の患者の両親はいずれも近親結婚ではないにもかかわらず、お互いに同じ変異遺伝子を持った組合せであることは非常に興味深く、エクソン 1 の point mutation とエクソン 2 の insertion mutation が日本人にはかなり多いタイプの変異である可能性が示唆された。そこで我々は日本においては、この二つの変異を検出することでかなりの患者およびその家族の遺伝子診断が出来るようになるのではないかと考えた。

岡山らが開発した対立遺伝子特異的増幅法は、polymerase chain reaction（PCR）法を利用して、1塩基変異を同定する方法としては最も簡便でなおかつ優れた方法である。我々は、偽陽性反応を抑制する目的で、原法に若干の変更を加えた方法を用いて、新たな 2 症例の遺伝子診断を試みた。その結果、患者のひとはエクソン 1 の point mutation と未知の変異の組合せで、もうひとはエクソン 2 の insertion mutation とやはり未知の変異の組合せで発症していることが示唆された。従って、武田らが報告したエクソン 1 の point mutation と、富田らが報告したエクソン 2 の insertion mutation が日本人にかなり多いタイプの変異である可能性が確認されると同時に、日本においてチロシナーゼ陰性型 OCA の遺伝子診断をおこなうにあたっては、その前に少なくとも第 3 の変異を同定する必要があることが明らかになった。

審査結果の要旨

眼皮膚型白皮症（OCA）はチロシナーゼ陰性型と陽性型に分類されている。チロシナーゼ陰性型 OCA では本症がチロシナーゼ遺伝子の異常により引き起こされることが明らかになっている。本邦では富田らが、チロシナーゼ遺伝子のエクソン 2 に同じ insertion mutation をホモで持つ 2 症例を報告したのをかわきりに、武田らがエクソン 1 にやはり同じ point mutation で持つ症例を報告している。これら 3 人の患者の両親はいずれも近親結婚ではないにもかかわらず、お互いに同じ変異遺伝子を持った組合わせであることは非常に興味深く、エクソン 1 の point mutation とエクソン 2 の insertion mutation が日本人にはかなり多いタイプの変異である可能性が示唆された。そこで申請者は、日本においては、この二つの変異を検出することでかなりの患者の遺伝子診断が出来るようになるのではないかと考え、次のような方法を開発した。

本研究は、日本人のチロシナーゼ陰性型 OCA 患者に見いだされた変異を、対立遺伝子特異的増幅法を活用して簡便に検出する方法を開発したものである。本法の原理は、PCR のプライマーの 3' 端にミスマッチがあると Taq ポリメラーゼによる DNA の増幅が行われないことを利用したものである。ところが、申請者が行った予備実験ではプライマーの 3' 端にミスマッチがある場合でも DNA の増幅がみられた。遺伝子診断を行うにあたっては誠に都合の悪い偽陽性反応がみられたわけで、この問題を解決するために、プライマーの 3' 端から -1 の部位にミスマッチを導入している。こうすることによって、プライマーの 3' 端がミスマッチであると、ミスマッチが二つ続くことになり、偽陽性反応は著しく抑制される。それと同時に、3' 端がマッチしていれば、-1 の部位にミスマッチがあったとしても目的とする DNA が十分に増幅されることを確認している。

次に、このようにして岡山の原法に改変を加えたプライマーを用いて、新たな 2 症例の遺伝子診断を試みている。その結果、患者のひとりにはエクソン 1 の point mutation と未知の変異の組合わせで発症、もうひとりにはエクソン 2 の insertion mutation とやはり未知の変異の組合わせで発症していることが明らかになった。したがって、日本にはチロシナーゼ陰性型 OCA の病因となる第 3 の変異が存在する。この変異の部位を明らかにすることは今後の課題であると言える。また、すでに武田らが報告したエクソン 1 の point mutation と、富田らが報告したエクソン 2 の insertion mutation が日本人にかなり多いタイプの変異である可能性がさらに強くなった。

以上の研究成果は、チロシナーゼ陰性型 OCA の遺伝子診断の開発に貢献するものであり、医学博士の授与に値すると考えられた。