

論文内容要旨

研究目的

三好型筋ジストロフィーは常染色体劣性遺伝形式、若年発症、高クレアチンキナーゼ (CK) 血症を特徴とし、腓腹筋から障害の始まる遠位型筋ジストロフィーであり、我が国の三好らによりはじめて報告された。近年その原因遺伝子 *dysferlin* がクローニングされ一部の肢帯型筋ジストロフィー (LGMD) の原因遺伝子でもあることが明らかになった。三好型筋ジストロフィーは日本人での報告が多いものの日本人での *dysferlin* 遺伝子異常の検討は未だほとんどなされていない。本研究では日本人三好型筋ジストロフィー患者の *dysferlin* 遺伝子異常をスクリーニングし、日本人での本疾患の遺伝子異常の特徴を明らかにすることを目的とする。

研究方法

21人の日本人三好型筋ジストロフィー患者、5人のLGMD患者及び2人の高CK血症患者のゲノムDNAを用いて *dysferlin* 遺伝子の55個の各エクソンを polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) 法にて変異をスクリーニングし、直接塩基配列決定法で変異を同定する。

研究結果

SSCP法にて10種類の遺伝子変異と8種類の遺伝的多型を検出した。しかし5人の患者では遺伝子変異を1アレルのみしか遺伝子変異を検出できず、また1人の患者は骨格筋での *dysferlin* 蛋白の免疫染色性が欠損していたにもかかわらず1アレルの遺伝子変異も検出できなかった。そのため上記6人の患者では全エクソンの直接塩基配列決定を行った。最終的には15人の三好型筋ジストロフィー患者と1人のLGMD患者及び1人の高CK血症患者において16種類の遺伝子変異(このうち11種類は新しい変異)と9種類の遺伝的多型を同定した。この中でミスセンス変異は正常100染色体に存在していないことを確認した。

結論

G3370T, 3746delG および 4870delT の3種類の変異は本研究での遺伝子変異のうち53パーセントを占め日本人患者の *dysferlin* 遺伝子異常において比較的高頻度でみられることが明らかになった。外国人患者での *dysferlin* 遺伝子異常はC末端付近に集中していたのに対し、日本人患者では遺伝子全体に広がって存在していた。遺伝子異常の確認された患者において臨床型を検討

したところ、検索した全例で早期から傍脊柱筋が障害されていた。また G3370T 変異は軽症型と G3510A 変異は重症型と関連している可能性が示された。

研究の意義・独創的な点

多数例での日本人三好型筋ジストロフィー患者での dysferlin 遺伝子異常を解析し 11 種類の新しい遺伝子変異を含む 16 種類の遺伝子変異を同定し、日本人患者に高頻度に見られる変異を同定した。さらには、これまでに報告のない遺伝子型と表現型との関連を見いだした。

審査結果の要旨

三好型筋ジストロフィーは常染色体劣性遺伝形式、若年発症、高クレアチンキナーゼ（CK）血症を特徴とし、腓腹筋から障害の始まる遠位型筋ジストロフィーであり、我が国の三好らによりはじめて報告された。近年その原因遺伝子 *dysferlin* がクローニングされ一部の肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）の原因遺伝子でもあることが明らかになった。三好型筋ジストロフィーは日本人での報告が多いものの日本人での *dysferlin* 遺伝子異常の検討は未だほとんどなされていない。したがって、本研究は日本人三好型筋ジストロフィー患者の *dysferlin* 遺伝子異常をスクリーニングし、日本人での本疾患の遺伝子異常の特徴を明らかにすることを目的としたものである。

21人の日本人三好型筋ジストロフィー患者、5人のLGMD患者及び2人の高CK血症患者のゲノムDNAを用いて *dysferlin* 遺伝子の55個の各エクソンを polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) 法にて変異をスクリーニングし、直接塩基配列決定法で変異を同定する。その結果、SSCP 法にて10種類の遺伝子変異と8種類の遺伝的多型を検出した。しかし5人の患者では遺伝子変異を1アレルのみしか遺伝子変異を検出できず、また1人の患者は骨格筋での *dysferlin* 蛋白の免疫染色性が欠損していたにもかかわらず1アレルの遺伝子変異も検出できなかった。そのため上記6人の患者では全エクソンの直接塩基配列決定を行った。最終的には15人の三好型筋ジストロフィー患者と1人のLGMD患者及び1人の高CK血症患者において16種類の遺伝子変異（このうち11種類は新しい変異）と9種類の遺伝的多型を同定した。この中でミスセンス変異は正常100染色体に存在していないことを確認した。

多数例での日本人三好型筋ジストロフィー患者での *dysferlin* 遺伝子異常を解析し11種類の新しい遺伝子変異を含む16種類の遺伝子変異を同定した。G3370T、3746delG および 4870delT の3種類の変異は本研究での遺伝子変異のうち53パーセントを占め日本人患者の *dysferlin* 遺伝子異常において比較的高頻度でみられることが明らかになった。外国人患者での *dysferlin* 遺伝子異常はC末端付近に集中していたのに対し、日本人患者では遺伝子全体に広がって存在していた。遺伝子異常の確認された患者において臨床型を検討したところ、検索した全例で早期から傍脊柱筋が障害されていた。また G3370T 変異は軽症型と G3510A 変異は重症型と関連している可能性が示された。

本研究は、日本人三好型筋ジストロフィー患者での *dysferlin* 検索で、これまでに報告のない遺伝子異常を多く見だし、それらの遺伝子異常と表現型との関連を検討した学位に値する研究と考える。