要　　約

報告番号	㊙乙　第　　号	氏　名	井　上　　忠

主 論 文 題 名

The c.1617del variant of *TMEM260* is identified as the most frequent single gene determinant for Japanese patients with a specific type of congenital heart disease
（*TMEM260* c.1617delは日本人の総動脈幹症において最も頻度の高い単一遺伝子バリアントである）

（内 容 の 要 旨）

総動脈幹症（persistent truncus arteriosus: PTA）は心臓流出路の異常による先天性心疾患の最重症型で、小児期の死亡原因となり、手術で修復されても生涯的医療を要する。約30%の症例に染色体22q11.2微細欠失が認められ、ごく一部に単一遺伝子異常が報告されているが、大部分の原因は不明である。近年、おもに海外から、心臓と腎臓に異常をきたすSHDRA症候群関連遺伝子*TMEM260*のバリアントを認めたPTA症例の報告が散見される。日本人のPTAにおける*TMEM260*バリアントの頻度や意義は不明である。

PTAの姉弟を含む一家系の網羅的遺伝子解析により、*TMEM260* c.1617delを罹患者からホモ接合性に、両親からヘテロ接合性に検出し、常染色体潜性遺伝形式によるPTAの発症を明らかにした。*TMEM260* c.1617delは日本人と韓国人だけにみられる稀少バリアント（日本人におけるアリル頻度0.0036）で、フレームシフトによりC末端側の機能ドメインを失うと予想された。日本人のPTAにおける*TMEM260* c.1617delの頻度を明らかにするために26例を解析し、3例（12%）にこのバリアントをホモ接合性に認めた。

次に*TMEM260* c.1617delの病的意義を検討するために、罹患者と正常対照のリンパ芽球からmRNAを抽出して逆転写定量PCRを行ったところ、罹患者では*TMEM260*の発現量が有意に低下していた。また、マウス*Tmem260*の野生型およびヒトと相同なバリアントをHEK293T細胞に強制発現させた実験で、ウエスタンブロッティングによりバリアントタンパク質のサイズ減少と発現量の低下を、細胞免疫染色によりバリアントタンパク質の細胞質内での凝集を認めた。以上の結果より、*TMEM260* c.1617delの病原性が示唆された。

さらに、PTAの発症に関わる心臓流出路発生におけるTMEM260の発現を明らかにするために、*in situ* hybridization法により胎生 8.5-11.5日マウス胚を解析した。*Tmem260*は8.5日胚から胚全体にわずかに発現し、9.5日胚以降は発現量が増加して心臓流出路を含む胚全体に広がった。また、データベースを用いて心臓発生を担う転写因子の結合部位が集中する約0.8 kbpの領域をイントロン3内に特定し、この塩基配列に*LacZ*遺伝子を連結させた遺伝子改変マウスを作製して、10.5日胚でβ-ガラクトシダーゼ染色を行ったところ、心臓流出路、心室、心房に特異的に*LacZ*の発現が認められた。

本研究により、PTAの遺伝的原因として*TMEM260* c.1617delが、単一遺伝子の一つのバリアントとして最も頻度が高く、先天性心疾患の遺伝としては稀な常染色体潜性遺伝形式で発症することを明らかにした。本バリアントは日本人に特徴的で病的意義が高く、同時期に東北大学でも同様の知見が得られたため、“*TMEM260* Keio-Tohoku variant ”と命名した。このバリアントは、日本人PTAの遺伝カウンセリングで新たに考慮される必要があり、これまで多因子遺伝が中心の先天性心疾患の遺伝カウンセリングの一部に、より明確な説明と同意が得られることが期待される。また、今回*Tmem260*に約0.8 kbpの発現調節領域が特定されたことから、*TMEM260*がPTAの発症に関与することと同時に、その発現が心臓発生特異的転写因子により制御されることが示唆された。