

# 要 約

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	武 田 和 樹
<b>主 論 文 題 名</b>  Compound Heterozygosity for Null Mutations and a Common Hypomorphic Risk Haplotype in <i>TBX6</i> Causes Congenital Scoliosis ( <i>TBX6</i> 遺伝子の機能喪失型突然変異とリスクハプロタイプのヘテロ接合性が先天性側弯症を引き起こす)				
<b>( 内 容 の 要 旨 )</b>  先天性側弯症 (congenital scoliosis: CS) は椎体の形態異常に起因する側弯症で、発症頻度は0.5-1/1000出生である。CSは急速に進行し手術適応となる症例が多いため、早期診断が極めて重要である。近年、CSに対する遺伝子解析が進んでおり、 <i>TBX6</i> 遺伝子の機能喪失型変異と3つの一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) (rs2289292、rs3809624、rs3809627) から成るハプロタイプのヘテロ接合性が、中国人CS症例の約10%に関与しているとの報告がなされた。一方、 <i>TBX6</i> 遺伝子の片アレルのみの機能喪失型変異は、CSより重篤な表現型を呈する骨系統疾患、常染色体優性型脊椎異骨症 (spondylocostal dysostosis: SCD) の原因遺伝子として報告されており、 <i>TBX6</i> 関連CS ( <i>TBX6</i> -associated CS: TACS) の発症形式には未だ不明な点が多い。また、 <i>TBX6</i> 遺伝子変異として、フレームシフト変異などの機能喪失型変異だけではなく、複数の新規ミスセンスバリエーションも同定されているが、それらのCS発症への関与は未だ不明である。本研究の目的は、日本人CSにおけるTACSの頻度を明らかにし、同定されたバリエーションの機能解析を行うことでその有害性を評価し、TACSの遺伝型と表現型の関連性を明らかにすることである。  日本人CS 94例に対し、 <i>TBX6</i> の構造異常をcopy number assayとmicroarray-based comparative genomic hybridizationを用いて検出した。 <i>TBX6</i> の変異とリスクハプロタイプはサンガー法により確認した。同定されたミスセンスバリエーションに対して変異予測プログラムを用いて変異の有害性を検討し、遺伝子発現に及ぼす影響をLuciferase assayにより検討した。さらに <i>TBX6</i> 変異の有害性と表現型の関連およびTACSの発症形式を検討した。94例中5例に <i>TBX6</i> 遺伝子を含む染色体16p11.2の欠失を、3例に新規ナンセンス変異 (p.Trp233*) およびフレームシフト変異 (p.D312Efs*187、p.M53Wfs*41) を認めた。すべての変異がデータベースに登録されていない新規の変異であった。 <i>TBX6</i> 変異を有する8例全例が、変異がない側のアレルにリスクハプロタイプ (rs2289292、rs3809624、rs3809627) を有しておりTACSであると診断した。日本人CS症例の約9%がTACSであり、東アジア人では <i>TBX6</i> の遺伝子診断がCSの早期診断に有用であること明らかにした。また、中国人および日本人CSで同定された14のミスセンスバリエーションのうち、変異予測プログラムで有害性が高いと判定されたのは5バリエーションであった。Luciferase assayの結果、日本人CSで認められたミスセンスバリエーション (c.333G>T) のみが著明な転写活性の低下を認め、一部のミスセンス変異は機能喪失型変異でCS発症に関与していることを明らかにした。さらに、CSとSCDで同定された <i>TBX6</i> タンパクの異常延長を伴うフレームシフト変異が、遺伝子発現に及ぼす影響をco-transfection Luciferase assayにより検討したところ、正常 <i>TBX6</i> タンパクに対してdominant negativeに作用し、転写活性を著明に低下させた。同変異を有するCS症例は、多発する椎体の形態異常および肋骨癒合を有しており、SCDの表現型と類似していたことから、CSとSCDは <i>TBX6</i> 遺伝子関連の同一疾患の可能性が非常に高いと考えられた。  本研究は、これまで原因が不明とされてきたCSに対する日本初の大規模な遺伝子解析であり、今後 <i>TBX6</i> の遺伝子検査により、CSの早期診断、早期の疾患特異的な治療が可能になると考えられる。				