

論 文 内 容 要 旨

題目 Targeted exome sequencing and chromosomal microarray for the molecular diagnosis of nevoid basal cell carcinoma syndrome (ターゲットエクソーム解析および染色体マイクロアレイ解析を用いた母斑性基底細胞癌症候群の遺伝子診断)

著者 Yoshihiro Matsudate, Takuya Naruto, Yumiko Hayashi, Mitsuyoshi Minami, Mikiko Tohyama, Kenji Yokota, Daisuke Yamada, Issei Imoto, Yoshiaki Kubo  
平成 29 年発行 Journal of Dermatological Science に掲載予定

内容要旨

母斑性基底細胞癌症候群 (nevoid basal cell carcinoma syndrome: NBCCS) は常染色体優性遺伝性疾患で、主な原因遺伝子は *PTCH1* である。若年より発症する多発性基底細胞癌、掌蹠の小陥凹、顎骨の角化嚢胞性歯原性腫瘍、骨格異常などの特徴的な臨床症状に加え、遺伝子変異を同定することが NBCCS の診断において非常に有用である。当教室では、臨床上 NBCCS が疑われる症例に対して、*PTCH1* 遺伝子の個々のエクソンを一本鎖形態多型 (single strand conformation polymorphism: SSCP) 法でスクリーニングし、泳動度の異常がみられたエクソンを調べる方法で遺伝子解析を行ってきたが、検出率は 60% (20 例中 12 例) であった。変異を検出できなかった症例では、*PTCH1* 遺伝子の一つ以上のエクソンが欠失するような大きな異常や *PTCH2*, *SUFU* 遺伝子などの *PTCH1* 遺伝子以外の原因遺伝子に変異がある可能性を疑った。

今回、NBCCS の遺伝子診断法の改善を目的として、従来の方法では変異を検出できなかった 8 症例および新規 (SSCP 法による解析未施行) 2 症例の計 10 症例において、*PTCH1*, *PTCH2*, *SUFU* 遺伝子やその他の sonic hedgehog シグナル経路に関連する遺伝子を含む疾患パネルを用いたターゲットエクソーム解析 (targeted exome sequencing: TES) を行った。また、TES で *PTCH1* 遺伝子内や周囲を含めたコピー数変異がみられた症例では、欠失領域を詳細に確認するために染色体マイクロアレイ解析を行った。

解析を行った 10 症例のうち、*PTCH1* 遺伝子の一塩基変異が 2 例 (いずれも変異未検出症例)、塩基の挿入/欠失が 2 例 (いずれも新規症例)、*PTCH1* 遺伝子内もしくは周囲を含めた大欠失が 3 例 (いずれも変異未検出症例) にみられた。しかしながら、今回の解析でも 3 例は変異を検出することができなかった。大

## 様式 (8)

欠失がみられた 3 例のうち 2 例は *PTCH1* 遺伝子が全欠失し、周囲の遺伝子も欠失していた。そのうち 1 例では重度の精神遅滞のような NBCCS に非典型的な臨床症状がみられたが、これは 4.3Mb の欠失領域の遺伝子が関連していると思われた。中でも欠失領域端の *TGFBR1* 遺伝子に注目し、*PTCH1* 遺伝子と *TGFBR1* 遺伝子がヘテロ接合性に機能喪失することが非典型的な臨床症状の一因となっている可能性を指摘した。

NBCCS の分子診断において、TES はすべてのターゲットエクソンの変異やコピー数変化を同時に評価できる点から、従来の方法に比べより有用であると考えた。また、TES で確認した欠失領域を詳細に確認するために染色体マイクロアレイ解析を行うことが勧められる。

今回の解析においても変異を検出できなかった症例に関しては、原因遺伝子のイントロン領域やレギュラトリー領域に変異がある可能性を疑っており、全ゲノム解析などを行う必要がある。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1340</b> 号	氏名	松立 吉弘
審査委員	主査 安友 康二 副査 橋本 一郎 副査 西良 浩一		

題目 Targeted exome sequencing and chromosomal microarray for the molecular diagnosis of nevoid basal cell carcinoma syndrome

(ターゲットエクソーム解析および染色体マイクロアレイ解析を用いた母斑性基底細胞癌症候群の遺伝子診断)

著者 Yoshihiro Matsudate, Takuya Naruto, Yumiko Hayashi, Mitsuyoshi Minami, Mikiko Tohyama, Kenji Yokota, Daisuke Yamada, Issei Imoto, Yoshiaki Kubo

平成 29 年 6 月発行 Journal of Dermatological Science 第 86 巻第 3 号 206 ページから 211 ページに発表済  
(主任教授 久保 宜明)

要旨 母斑性基底細胞癌症候群は常染色体優性遺伝性疾患であり、主な原因遺伝子は *PTCH1* である。*PTCH1* 分子は sonic hedgehog の受容体であり、同シグナル経路を負に制御する。本症候群では、若年発症の多発性基底細胞癌、掌蹠の小陥凹、顎骨の角化嚢胞性歯原性腫瘍、骨格異常など多彩な臨床症状がみられるが、年齢により症状が揃わないこともあり、診断の確定には遺伝子診断が推奨される。これまでに申請者らは、临床上本症候群が疑われる症例において、*PTCH1* 遺伝子の各エクソンを PCR 法で増幅し解析する方法で遺伝子診断を行ってきたが、遺伝子異常の同定率は 60% (20

例中 12 例) だった。

遺伝子異常を検出できなかった 8 例と新規 2 例の計 10 例において、*PTCH1*, *PTCH2*, *SUFU* など sonic hedgehog シグナル経路関連遺伝子を含む疾患パネルを用いたターゲットエクソーム解析を行った。ターゲットエクソーム解析で *PTCH1* 遺伝子内や周囲を含めたコピー数変異がみられた例では、欠失領域を詳細に調べるために染色体マイクロアレイ解析を行った。

得られた結果は以下の通りである。

1. ターゲットエクソーム解析はすべてのターゲットエクソンの変異やコピー数変化を同時に評価でき、10 例中 7 例において *PTCH1* 遺伝子の異常を同定した。遺伝子異常の同定率は 86.4% (22 例中 19 例) に向上した。
2. 同定した 7 例では、*PTCH1* 遺伝子の一塩基変異が 2 例、塩基の挿入/欠失が 2 例、*PTCH1* 遺伝子内もしくは周囲を含めた大欠失が 3 例にみられた。
3. 大欠失がみられた 3 例のうち 2 例は、*PTCH1* 遺伝子の全欠失に加え周囲の遺伝子も欠失しており、染色体マイクロアレイ解析により欠失範囲はそれぞれ 4.3Mb と 2.22Mb だった。
4. 4.3Mb の欠失を同定した症例では、精神遅滞や自閉症など本症候群に非典型的な臨床症状がみられた。それらの臨床症状には、*PTCH1* 遺伝子に加え欠失領域端に位置する *TGFBR1* 遺伝子のヘテロ接合性機能喪失が関与していると考えられた。

以上の結果より、ターゲットエクソーム解析は本症候群の遺伝子診断の感度を大幅に向上させ、染色体マイクロアレイ解析は欠失領域を詳細に同定できることが明らかになった。本研究は、遺伝性疾患における高精度の遺伝子診断方法を解明したことから、その臨床的ならびに学術的意義は大きく、学位授与に値すると判定した。