



Novel frameshift mutation 840delA and a novel polymorphism D203A in the steroidogenic acute regulatory protein gene in a Japanese patient with congenital lipoid adrenal hyperplasia

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-29 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 勝又, 規行 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1605

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 328号	学位授与年月日	平成13年 1月26日
氏 名	勝 又 規 行		
論文題目	Novel frameshift mutation 840delA and a novel polymorphism D203A in the steroidogenic acute regulatory protein gene in a Japanese patient with congenital lipoid adrenal hyperplasia (先天性副腎リポイド過形成症の日本人患者で認められた steroidogenic acute regulatory protein 遺伝子の新しいフレームシフト変異 840delA と新しい多型 D203A)		

博士(医学) 勝 又 規 行

論文題目

Novel frameshift mutation 840delA and a novel polymorphism D203A in the steroidogenic acute regulatory protein gene in a Japanese patient with congenital lipid adrenal hyperplasia

(先天性副腎リポイド過形成症の日本人患者で認められたsteroidogenic acute regulatory protein遺伝子の新しいフレームシフト変異840delAと新しい多型D203A)

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

先天性副腎リポイド過形成症は、すべてのステロイド産生が障害される常染色体劣性遺伝性疾患である。近年、先天性副腎リポイド過形成症はsteroidogenic acute regulatory protein (StAR) 遺伝子の変異によって起こることが明らかにされたが、これまでに2種のナンセンス変異と1種のスプライシング変異の報告しかない。今回、先天性副腎リポイド過形成症の患者でStAR遺伝子の新しいフレームシフト変異と新しい多型を明らかにした。

〔患者ならびに方法〕

患者は1979年生まれの子。出生児から色素沈着があった。染色体は46, XYであったが外性器は正常女性型であった。生後2週から電解質異常あり、患者はハイドロコルチゾン、フルドロコルチゾン、食塩で治療され経過は良好であった。生後6カ月時に内分泌学的精査が行われ、患者は先天性副腎リポイド過形成症と診断された。

患者および健常人20名の末梢血液からDNAを抽出した。Polymerase chain reaction (PCR) 法によりStAR遺伝子のエクソン5, 6, 7を増幅し、直接シーケンス法で塩基配列を決定した。異なる対立遺伝子上の塩基配列を決定するために、エクソン5-7を一括して増幅してpCR II プラスミドにクローニングし、塩基配列を決定した。今回新たに発見したD203A多型は、PCR産物を制限酵素Eae I で消化した後にアガロースゲルで電気泳動して確認した。

〔結果〕

患者は、StAR遺伝子の一方にコドン258がグルタミンをコードするCAGから終止コドン(TAG)に置換されるナンセンス変異Q258Xをもち、他方にコドン238(AAA)に存在する3個のアデノシンのうちの1個が欠失するこれまでに報告のないフレームシフト変異840delAをもつ複合ヘテロ接合体であった。また、患者はコドン203がアスパラギン酸をコードするGACからアラニンをコードするGCCに置換されるミスセンス変異D203Aのホモ接合体であった。

D203A変異は制限酵素Eae I の認識部位を新たに生じるので、健常人20名から得られたPCR産物をEae I で消化した後にアガロースゲルで電気泳動を行い検討したところ、20名全員がD203A変異のホモ接合体であった。

〔考察〕

StAR遺伝子の840delA変異はメッセンジャーRNAの翻訳フレームを変化させ、コドン237よりあとのア

ミノ酸配列がまったく異なり、アミノ酸残基が34個長くなった蛋白を生じ、StARの機能を損なうと考えられた。したがって、すでにStARの活性を損なうことが報告されているStAR遺伝子のQ258X変異と同様に、新しい840delA変異は先天性副腎リポイド過形成症の原因であると考えられた。

ヒトStAR cDNAばかりでなく、ヒトStAR構造遺伝子も単離され、その両者でコドン203はアスパラギン酸をコードするGACであると報告された。われわれは今回先天性副腎リポイド過形成症でD203A変異を見いだしたが、D203A変異のホモ接合体は健常人でも認められたので、病的意義のない多型と考えられた。もう一つの説明として、ヒトStARのコドン203に相当するアミノ酸はこれまでに報告のあるマウス、ウシ、ヒツジ、ブタのすべてにおいてアラニンであるので、以前の報告は誤りで、ヒトStARの203位もアラニンである可能性も考えられた。

〔結論〕

先天性副腎リポイド過形成症の原因となるStAR遺伝子の新しいフレームシフト変異を明らかにするとともに、StAR遺伝子の初めての多型を同定した。

論文審査の結果の要旨

先天性副腎リポイド過形成症(Prader症候群)は、先天性副腎過形成症のうちすべてのステロイドホルモンの合成が障害されているまれな病型である。本症においてはその反応に関与する酵素である20-22デスマラーゼ自体の異常は確認されず、その病因には不明な点が残されていた。近年、コレステロール輸送蛋白であるStAR(steroidogenic acute regulatory protein)が発見されたのに続き、本症患者においてStAR遺伝子変異を有する症例が報告され、このため20-22デスマラーゼの反応が進行しないことが明らかとなり、病因の解明が急速に進みつつある。これまでに2種のナンセンス変異と1種のスプライシング変異が報告されたのみであったため、申請者は自らの症例および多数の健常者についてStAR遺伝子の解析を行い、いくつかの知見をえた。

研究対象となった症例は46,XYの核型を有しているが女性の表現型をとり、副腎皮質機能不全、塩類喪失症状を呈し、内分泌学的検査にて先天性副腎リポイド過形成症と診断されている。この他に20人の健常者についても合わせて解析を行い、StAR遺伝子の多型性について検討を行った。試料として末梢血を採血しDNAを抽出し、polymerase chain reaction(PCR)法によりStAR遺伝子のエクソン5,6,7を増幅し、直接シーケンス法にて塩基配列を決定した。コドン203の多形性を確認するために、PCR産物を制限酵素Eae Iにて消化し電気泳動して検討した。

対象とした先天性副腎リポイド過形成症患者においては、エクソン7、コドン258のナンセンス変異およびエクソン6、コドン238における欠失によるフレームシフト変異を有する複合ヘテロ接合体であることが確認された。コドン258の変異は以前報告された2つのナンセンス変異のうちの1つと同一である。この結果はこの変異が先天性副腎リポイド過形成症の発症において、重要なものであることを明らかにしたものである。コドン238の変異については今までに報告のないものであり、新たな知見といえる。この変異によりアミノ酸残基が34個長くなった蛋白が生じ、StARの機能を障害する可能性があると考えられる。

これらの異常に加え、申請者は本例がエクソン5のコドン203におけるアスパラギン酸からアラニンへのミスセンス変異のホモ接合体であるとの結果をえた。この変異は制限酵素Eae Iの認識部位を生ずるの

で、健常者20人について検討したところすべてがこの変異のホモ接合体であり、これは本症の病因とは考え難い多型であると考えられた。むしろ患者および健常者全員に同一の塩基配列が確認されたこと、ヒト以外のウシ、ブタ、ヒツジ、マウスなどでも203位はアラニンである点から、以前報告されたヒトの203位がアスパラギン酸であるとの結果を再検討する必要性を示唆している。

本研究は貴重な症例の臨床検討から、近年発見されたステロイドホルモン産生系において重要な役割りを演じているStARの遺伝子解析を行い、先天性副腎リポイド過形成症の病因となる遺伝子変異を明らかにし、StAR遺伝子の健常者における多型性についての知見をえたことが、意義ある研究として評価された。

以上の研究に対して、審査委員会では以下の質疑を行った。

- 1) 先天性副腎リポイド過形成症の組織学的特徴
- 2) コレステロール側鎖切断酵素(P450_{scc})の作用について
- 3) StARの構造とその作用
- 4) StARの遺伝子解析における問題点
- 5) 性ステロイドホルモン合成とStAR
- 6) 鉱質コルチコイド合成とStAR
- 7) 胎盤におけるステロイド代謝と先天性副腎過形成症
- 8) 47, XYY症例におけるステロイドホルモン合成
- 9) 副腎皮質ステロイドホルモン合成酵素異常症における各種負荷試験
- 10) 副腎皮質および髄質の機能相関
- 11) プレグネノロン以降の代謝経路とその異常
- 12) 先天性副腎リポイド過形成症の類縁疾患の遺伝子診断

これらの質問に対し申請者の解答は適切であり、問題点も十分理解しており、博士(医学)の学位論文にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者	主査	大 関 武 彦			
	副査	小 出 幸 夫	副査	沖	隆