

Partial androgen insensitivity syndrome caused by a deep intronic mutation creating an alternative splice acceptor site of the AR gene

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2019-05-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 小野, 裕之 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003556

博士（医学）小野 裕之

論文題目

Partial androgen insensitivity syndrome caused by a deep intronic mutation creating an alternative splice acceptor site of the *AR* gene

（新たなスプライス受容部位を供する *AR* 遺伝子深部イントロン変異による部分型アンドロゲン不応症）

論文の内容の要旨

〔はじめに〕

部分型アンドロゲン不応症 (PAIS) は、部分的なアンドロゲン作用障害によって引き起こされる 46,XY disorder of sex development (DSD) である。PAIS は、正常アンドロゲン産生能下において、出生時からの曖昧外性器、思春期からの女性化乳房を呈する。注目すべきことに、PAIS において、アンドロゲン受容体遺伝子 (*AR*) の翻訳領域あるいはスプライス部位に変異が同定される割合は 25% 未満にすぎない。このことは、*AR* の非翻訳領域に変異が存在する可能性、あるいは *AR* シグナリングに関与する他の遺伝子に変異が存在する可能性を示唆する。

われわれは、*AR* のイントロン 6 に新たなスプライス受容部位を供する深部イントロン変異を同定したので報告する。

〔患者〕

われわれは、X 連鎖劣性あるいは限性常染色体優性遺伝形式の 46,XY DSD の日本人家系例を経験した。発端者とその甥 2 人に、陰茎陰嚢部尿道下裂・矮小陰茎・二分陰嚢・停留精巣、ならびに正常アンドロゲン産生・高ゴナドトロピン血症が認められた。保因者と考えられる女性 2 人とその非血縁の夫には、異常所見は認められなかった。

〔分子遺伝学的解析〕

まず、*AR* と PAIS 様表現型の原因遺伝子である *NR5A1*, *MAMLD1*, *SRD5A2* の変異解析が行われたが、それらのエクソンとスプライス部位に病的バリエーションは同定されなかった。次に、target enrichment システムを用いた 25 の尿道下裂関連遺伝子の解析が行われたが、それらのエクソンとスプライス部位に病的バリエーションは同定されなかった。さらに、家系の 7 人（発端者、2 人の甥、両親、姉、姉の夫）において全エクソーム解析が行われたが既知および候補性分化疾患遺伝子の翻訳領域とその 10 bp 近傍イントロンに病的バリエーションは同定されなかった。

しかし、*AR* エクソン 1 の CAG リピート数解析において、3 人の男性患者と 2 人の女性保因者が共通アレルを有することが確認され、このことから *AR* 非翻訳領域の変異の存在が示唆された。そこで、全エクソーム解析のデータをもとにイントロン配列を詳細に再解析した結果、3 人の男性患者と 2 人の女性保因者において、*AR* のイントロン 6 に新たな“AG”スプライス受容モチーフを供する

c.2450-42G>A が同定された。さらに、Human Splicing Finder による *in silico* 解析において、この”AG”モチーフはスプライシングに必須である POLY-(Y) 様配列と branch site 様配列を伴っていることが示唆された。

そこで、リンパ球セルラインを用いた reverse-transcriptase (RT)-polymerase chain reaction (PCR)解析を行った。その結果、2人の男性患者（発端者の2人の甥）では、正常 mRNA 由来 PCR 産物と 40 塩基余剰の変異 mRNA 由来 PCR 産物が認められた。そのうち、変異 mRNA は、その PCR 産物のバンド濃度が nonsense-mediated mRNA decay (NMD)阻害薬であるシクロヘキシミド (CHX)処理により顕著に上昇したことから、NMD をうけると考えられた。さらに CHX 処理前後の quantitative RT-PCR 解析から、この2症例の正常 mRNA 発現率は正常コントロールの 25~30%に低下していることが示された。なお、無症状の姉の夫と健常男性においては正常 mRNA 由来 PCR 産物のみが認められた。

なお、本研究は、浜松医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会により承認されている。

[考察]

われわれは、PAIS 家系において、AR イントロン 6 に新たなスプライス受容部位を供する深部イントロン変異 (c.2450-42G>A)を同定した。また、RT-PCR 解析において、新たなスプライス受容部位により NMD をうける多量の変異 mRNA が発現し、正常スプライス受容部位により少量の正常 mRNA が発現することを明らかにした。さらに、NMD を免れた少量の変異 mRNA は、それが *in vivo* で産生されたとしても、機能ドメインを欠いた不完全な AR タンパク質を生じると予測された。これらの結果から、本研究で同定された深部イントロン変異は、正常 mRNA の発現低下から、PAIS を引き起こしたと考えられる。

これまでに、AR のスプライスサイト変異を除くイントロン変異として、次の3つが報告されている。[1] PAIS 患者で同定されたイントロン 2 の branch site を含む 6 kb の欠失: エクソン 3 のインフレームスキッピングにより変異 mRNA が発現し、正常スプライシングにより少量の正常 mRNA が発現する。[2] 完全型アンドロゲン不応症 (CAIS)患者で同定された c.1769-11T>A: 69 bp のインフレーム伸長とエクソン 3 のインフレームスキッピングにより2つの変異 mRNA が発現し、正常スプライシングによりごく微量の正常 mRNA が発現する。[3] CAIS 患者で同定された c.2450-118A>G: 85 bp あるいは 202 bp の伸長により NMD をうける2種の変異 mRNA が発現する。これらの知見と本研究の結果は、スプライスサイト変異を除くいくつかのイントロン変異が AR には存在すること、少量の正常 mRNA 発現が認められる場合に PAIS が引き起こされることを示唆する。

[結論]

本研究の結果は、AR 深部イントロン変異 (c.2450-42G>A)が PAIS の病的バリエーションであること強く支持するものである。