



## TSC1 intragenic deletion transmitted from a mosaic father to two siblings with cardiac rhabdomyomas: identification of two aberrant transcripts

|       |                                                                                                                |
|-------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| メタデータ | 言語: Japanese<br>出版者: 浜松医科大学<br>公開日: 2021-03-26<br>キーワード (Ja):<br>キーワード (En):<br>作成者: 内山, 弘基<br>メールアドレス:<br>所属: |
| URL   | <a href="http://hdl.handle.net/10271/00003803">http://hdl.handle.net/10271/00003803</a>                        |

博士（医学） 内山 弘基

## 論文題目

TSC1 intragenic deletion transmitted from a mosaic father to two siblings with cardiac rhabdomyomas: identification of two aberrant transcripts

（心臓横紋筋腫を呈する 2 人の同胞に生殖細胞モザイクの父親から伝達された TSC1 遺伝子内欠失変異: 2 種類の異常転写物の同定）

## 論文の内容の要旨

〔はじめに〕

結節性硬化症は、脳、腎臓、肺、心臓、皮膚など複数の臓器の過誤腫を特徴とする、まれな常染色体優性遺伝性疾患である。結節性硬化症の原因として *TSC1* 遺伝子、*TSC2* 遺伝子の変異が知られている。*TSC1* 遺伝子により産生されるハマルチンと *TSC2* 遺伝子により産生されるチュベリンは複合体を形成して、様々な細胞の増殖抑制作用を持つ。これら 2 つのタンパク質は多くの臓器や組織に広範に発現しており、*TSC1* もしくは *TSC2* 遺伝子の変異により細胞増殖が異常に活性化し、様々な臓器の過誤腫が形成される。今回我々は、胎児期および新生児期に同定された心臓腫瘍の兄妹例において、結節性硬化症では一般的な症状である発達遅滞や皮膚症状、てんかんなどの症状がないため臨床診断による診断基準を満たさなかったが、*TSC1* 遺伝子内欠失と 2 つの異常転写産物を同定し、結節性硬化症と確定診断できた症例を経験したので報告する。

〔患者ならびに方法〕

4 歳の兄は、胎児期に心臓腫瘍を指摘され在胎 37 週で仮死なく出生した。出生後の心臓超音波検査で結節性硬化症による心臓横紋筋腫が疑われたが、頭部 MRI や眼科診察、腹部エコーで異常は認められなかった。心臓腫瘍は経過とともに消退傾向を示し、兄は現在までにてんかん発作や精神運動発達遅滞も来たさず成長している。1 歳の妹は、母体の前期破水のため在胎 34 週で出生し、NICU に入院した。入院時の心臓超音波検査で多発性の心臓腫瘍が認められたため、結節性硬化症が疑われた。しかし、兄と同様に妹にも心臓腫瘍以外の症状は認めず、時間経過とともに心臓腫瘍は縮小傾向であった。妹は現在までてんかん発作や精神運動発達遅滞を来たさずに成長している。

兄妹が父または母から *TSC1* もしくは *TSC2* 遺伝子を遺伝した可能性、および、心臓腫瘍に関する未知の遺伝子変異を両親から遺伝した可能性について検証するため、両親と症例の兄妹で血液を用いた全エクソーム解析を行った。またシクロヘキシミド処理を施した不死化リンパ球セルラインを用いた RT-PCR 解析を行い、*TSC1* 遺伝子からの異常転写産物が nonsense-mediated mRNA decay (NMD) を受けるか否かについて解析した。この研究は浜松医科大学臨床研究倫理委員会の承認を得て、また紙面で両親からの同意を得て行った（承認番号 15-142）。

### [結果]

全エクソーム解析および Integrative Genomic Viewer 解析の結果、兄妹ともに *TSC1* 遺伝子のイントロン 15 (chr9: 135,777,038) とエクソン 19 の 5'領域 (chr9: 135,780,540) の間の 3,500 bp 欠失が同定された。この微細欠失は、全エクソーム解析では両親において同定されなかったが、欠失部位周辺のプライマーを用いた PCR 解析で父において同定された。また、エクソン 15 とエクソン 20 のプライマーを用いて、シクロヘキシミド処理を行ったもの、また行わなかったものでそれぞれ不死化リンパ球に対する RT-PCR を行った結果、兄妹において NMD を受けない major な異常転写産物と NMD を受ける minor な異常転写産物が検出された。前者は、イントロン 15 にある ag 配列を選択的スプライスアクセプター部位として利用することで産生され、イントロン 15 の 12 塩基のエクソン化を伴っていた。これに一致して、新規スプライスアクセプター部位は、Y-rich sequence と candidate branch site を伴っていた。後者は、エクソン 15 とエクソン 20 の間でスプライシングが起こることにより産生された異常転写産物であった。以上の結果から、結節性硬化症と診断した。

### [考察]

分子遺伝学的解析により、心臓腫瘍をもつ 2 人の兄妹においてヘテロ接合性の *TSC1* 遺伝子内欠失が明らかになった。重要な点として、この欠失は、エクソン 15 とエクソン 20 の間で異常スプライシングを生じさせるのみならず、新規スプライスアクセプター部位を介して異常スプライスを招いていた。このような複雑な転写産物の存在は、全エクソーム解析だけでは同定不能で RT-PCR を行って初めて同定できたものであり、発現解析の重要性を物語るものである。今回同定した *TSC1* 遺伝子内欠失は、アメリカ臨床遺伝学会のガイドラインに基づいて病原性があると判断できるが、我々の調べた得た限りでは初めての報告である。これらの結果により、本同胞は結節性硬化症を有すると確定診断された。

この欠失は、全エクソーム解析では父に認められなかったが、PCR では父にも同定された。したがって、父はこの *TSC1* 変異の低頻度性腺モザイク陽性者であると考えられる。このような性腺モザイク症例は結節性硬化症においても報告されており、一見突然変異と考えられる症例においても、両親の性腺モザイクの可能性を検討することの重要性を示唆する。

### [結論]

性腺モザイクの父親から 2 つの異常な転写産物を生成する *TSC1* 遺伝子内欠失が兄妹に伝達され、心臓横紋筋腫しか症状が出現していない早期の段階で結節性硬化症と確定診断することができた。今回の研究は遺伝学的背景を持つ疾患の同定に、分子遺伝学的研究が寄与することを示すものである。