

氏名	黒川啓二
学位(専攻分野)	博士(医学)
学位記番号	医博第3225号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Molecular and clinical analyses of Japanese patients with carbamoylphosphate synthetase 1 (CPS1) deficiency (カルバミルリン酸合成酵素1 (CPS1) 欠損症の日本人症例における分子学的および臨床的解析)
論文調査委員	(主査) 教授 松田文彦 教授 玉木敬二 教授 中尾一和

論文内容の要旨

カルバミルリン酸合成酵素1 (CPS1) は、尿素サイクルの第一段階を触媒するミトコンドリア基質内の酵素である。CPS1 欠損症は稀な常染色体劣性疾患であり、新生児期に高アンモニア血症から不可逆的な脳障害をきたし、多くは脳浮腫により死亡に至る。本酵素は肝臓と小腸でしか発現していないため、通常肝の酵素診断により診断されるが、患児の生存中には肝生検が困難であることが多く、報告のほとんどは死後の剖検肝の酵素診断によってきた。また、出生後の治療が困難であるため、一度罹患児をもった両親にとって次子の出生前診断が望ましいが、通常の羊水、絨毛などを使用した酵素診断は不可能であった。一方、遺伝子診断は、本遺伝子が38エクソンと大きく、また従来共通変異も知られていなかったことから比較的困難で、患児の遺伝子診断、胎児の出生前診断ともほとんど行われてこなかったのが現状である。過去の報告は、変異が同定されたのは世界的には33例、うち本邦では7例であった。本研究ではこの診断における困難を解決するための最初の取り組みとして、CPS1 欠損症と診断された日本人症例を集積して、変異スペクトラムや、遺伝子型と表現型の相関を見出すために、臨床的解析および変異解析を行った。

対象は臨床的に CPS1 欠損症と診断された日本人症例18例で、15例が新生児期発症、3例が遅発型である。患者の肝臓または末梢血リンパ球から抽出したゲノムDNAを用いて、近傍イントロンを含む全38エクソンのPCR増幅、直接シーケンシングを行った。エクソン30は両端の近傍イントロンにTストレッチが存在するため、サブクローニングの後、複数クローンのシーケンシングを行った。その結果、18例中16例に少なくとも1アレルでの変異を同定した。2例はCPS1活性の低下にもかかわらず変異を同定できなかった。16例中、25の変異が同定され、内訳はミスセンス変異14、ナンセンス変異4、スプライス部位変異2、挿入/欠失変異5であった。いくつかの変異は2家系以上に共通であった。変異は、ミスセンス変異では2つを除いて2つのリン酸化ドメインの周辺に存在する一方、ナンセンス変異や挿入/欠失変異は遺伝子の全領域に散在していた。また、これらの変異とは別に、未報告の共通多型-3insTTCを9例に同定した。

過去の報告では、ほとんどの変異がいわゆる *private mutation* であったが、本研究では、既報の日本人症例も含めると31.8% (44変異中14変異) に2家系以上に共通な変異を認めた。また、今回新たに同定した多型-3insTTCは、患者の確定診断がつけば、簡便な家族内の連鎖解析に有用と考えられた。遺伝子型-表現型の相関については、遅発型の症例が少ないため現時点では明らかではない。変異が認められなかった2例については、大欠失やプロモーター変異、NAGS欠損症などが考えられる。この2例は、いずれもCPS1活性の低下を認めたが、活性低下が必ずしも正確な診断に結び付かない事が知られており、さらなる解析が必要である。

論文審査の結果の要旨

カルバミルリン酸合成酵素1欠損症 (Carbamoylphosphate synthetase 1 deficiency: CPS1D) は、稀な常染色体劣性疾患であり、新生死期に致死的な高アンモニア血症を来す。主な発現部位である肝臓の組織採取が困難なことや酵素活性測定

の精度の問題、遺伝子の大きさなどから、診断は容易ではない。また発症頻度が低いため、本邦での CPS1D の臨床像は明らかにされてない。

申請者はこの問題を解決するため、CPS1D の日本人症例を集積して臨床像を解明し、変異スペクトラムや、遺伝子型と表現型の相関を見出すために、臨床的および分子遺伝学的解析を行った。対象の 18 例のうち 15 例が新生児期発症型で、発症は生後 3 日以内、アンモニア値は $1000 \mu\text{g/dl}$ 以上、早期死亡の症例が多かったが、後遺症のない症例もみられた。遅発型 3 例の中には予後不良な症例も認めた。酵素活性と臨床症候とは必ずしも相関しなかった。また 18 例中 16 例に少なくとも 1 アリルでの変異を同定した。既報の日本人症例も含めると 31.8% (44 変異中 14 変異) に共通変異を認め、変異スクリーニングに有用であった。また新規の多型-3insTTC を 18 例中 9 例に認め、原因変異が同定されなかった場合の連鎖解析に有用と考えられた。

以上の研究は、CPS1D の臨床像及び遺伝的背景の解明に貢献し、患者の診断・治療に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 2 月 14 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。