

日本人におけるFGFR遺伝子変異による疾患の遺伝子解析

(分担研究：効果的な小児慢性特定疾患治療研究事業の推進に関する研究)

研究協力者：衛藤義勝^{1,2}

共同研究者：岩澤京子^{1,2}、鈴木英明¹、大橋十世^{1,2}

井田博幸^{1,2}

要旨：骨変形を来す疾患のうち、FGFRの遺伝子異常で起こる疾患についての遺伝子解析を、Achondroplasiaの患者21人、Thanatophoric Dysplasia type Iの患者3人、Apertの患者2人、Pfeiffer疑いの症例4人について行った。Achondroplasiaの患者全てにG380Rの変異を認めた。Thanatophoric Dysplasia type Iの患者ではR248Cの変異を、Apert症候群の患者では、2つのCommon Mutationを各1例ずつ認めた。Pfeiffer症候群では、Exon Bの5'側のsplicing acceptor siteのA→Gの変異を2例に認めた。発症頻度が高く、その集積が95%以上と推察されるAchondroplasiaの遺伝子診断、および出生前診断は、十分可能と考えられた。

見出し語：FGFR、Achondroplasia、Thanatophoric Dysplasia type I、Apert症候群、Pfeiffer症候群、遺伝子診断、出生前診断

研究目的：

著明な骨変形、低身長を来す場合、それは、社会生活を営む上で、非常なhandicapとなる。事実、低身長や骨変形を来す疾患、例えばAchondroplasiaには、GHの投与が検討されており、骨延長術の例数も増加している。今後、骨系統疾患に対するcareが従来と少しずつ変わっていくと考えられる。そういったcaseで重要となるのが、治療法を選択するための正確な疾患の診断と、合併症を少なくするための適切な早期careであると考ええる。

私達は、骨変形を来す疾患のうち、Fibroblast Growth Factor Receptorの遺伝子異常により起こる疾患についての遺伝子

解析をここ2年程積極的に行い、診断、治療法の選択に役立てている。日本人におけるFGFR遺伝子変異を検討したので報告する。

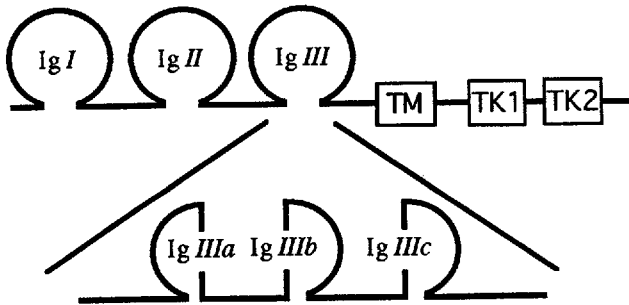
緒言：

1994年、Achondroplasiaは、染色体4q13に位置するFibroblast Growth Factor Receptor 3 (FGFR3) をコードする遺伝子の異常によって引き起こされることが報告された。その後、様々な骨系統疾患がFGFR3のみならず、FGFR1、FGFR2の遺伝子変異でおこることが報告された。図1にFGFRの構造を示す。FGFRは、Tyrosine kinase Receptor Familyに属し、3つの

1. 東京慈恵会医科大学小児科

2. 同 DNA医学研究所 遺伝子治療部門

図1 The structure of Fibroblast Growth Factor Receptor



Immunoglobulin Like Domain を有する Extracellular Domain、Transmembrane Domain、2つのThyrosine kinase domainを有するcytoplasmic domainの3部分からなっている。このうち、3番目のImmunoglobulin Like Domainの、後半の3'側のalternative splicingにより、ligandの選択性が発現する。

今までに報告されたFGFRの遺伝子変異により起こる疾患を表1に示す。FGFR 3の遺伝子変異によって起こるCrouzon以外のいずれの疾患 (Achondroplasia、Hypochondroplasia、Thanatophoric Dysplasia I及びII、の4疾患) において、その遺伝子変異に集積性が認められることで、Achondroplasiaについては、95%以上を占めるG380Rの2種類の変異とG375CとG346Eの合計4種類の変異が報告されている。

FGFR2遺伝子の変異によって起こる疾患は、Apert、Pfeifer、Jackson-Weiss、Crouzon、Beare-Stevenson cutis gyrata syndromeのcraniosynostosis、またacrocephalopolysyndactylyの5疾患の報告があり、さらに、分類不可能な同様疾患においても、FGFR2上の遺伝子変異が報告され

ている。

FGFR2の遺伝子変異は、3番目のImmunoglobulin Like Domainの、後半の3'側のExon B (IIIc) に集中している。しかし、FGFR3とは異なり、遺伝子変異の明確な集積は認められない。

それでは、日本人においても同様な遺伝子変異の集積が認められるのか、或いは、日本人に特有の変異が存在するのか。今回、私達は、日本人Achondroplasia患者および、他のFGFR2、3に変異を有する疾患の患者の遺伝子解析をしたので報告する。

表1 FGFRの遺伝子変異で起こる疾患

FGFR1	Pfeifer症候群
FGFR2	Pfeifer症候群
	Apert症候群
	Jackson-Weiss症候群
	Crouzon症候群
	Beare-Stevenson cutis gyrata症候群
FGFR3	Achondroplasia
	Hypochondroplasia
	Thanatophoric dysplasia
	Type I & II
	Crouzon症候群

対象:

対象は、臨床症状、X-Pの所見等より診断さ

れた患者で、Achondroplasiaの患者21人、Thanatophoric Dysplasia Type Iの患者3人、Apertの患者2人、Pffeiferと考えられる症例4人。

実験方法：

遺伝子解析を行うにあたり、患者の末梢白血球からGenomic DNAを抽出した。それぞれの変異部分を含むDNAをPolymerase Chain Reaction (PCR)法で増幅した。疾患による遺伝子変異の集積の認められるFGFR3では、その変異により、新たな制限酵素の認識部位が生じるので、PCRのProductを制限酵素で処理し、特異的な電気泳動のパターンにより変異の有無を検索した。また、変異の集積の認められないFGFR2の遺伝子については、IIIa、IIIC部分のSubcloningを行い、塩基配列決定（シーケンス）を行った。

結果：

FGFR3遺伝子の変異によっておこるAchondroplasiaの患者21人中、20人が、1138G→Aによる、また1人が1138G→CによるG380Rの変異のHeterozygoteであった。これらの変異は、非罹患の家族には認められなかった。また、親子例2家族については、優性遺伝形式を示した。

池川らは、日本人のAchondroplasia患者7人の遺伝子解析において、1人に1123G→T、G375Cの変異を報告しているが、今回の解析した症例には含まれていなかった。よって、G380Rの変異は、日本人においても他の人種と同様に90%以上の集積が推察されるcommon mutationと考えられる。

Thanatophoric Dysplasia type Iの患者においては、3症例とも742C→T、R248Cの変異を示した。Thanatophoric Dysplasia type IのR248Cの変異は、TD Iの遺伝子変異では、最も多く認められる変異で、報告によっては、70%異常の集積を認めている。わずか3症例なので明言はできないが、TD Iにおいても、変異遺伝子は、他の人種と同様の集積がある可能性示唆された。

表2 日本人のFGFR遺伝子の変異

Achondroplasia :	FGFR3	G380R	21人
		(1138 G→T	20人
		1138 G→C	1人)
Thanatophoric dysplasia :			
	FGFR3	R248C	3人
		(742C→T	3人)
Apert症候群 :	FGFR2	S252W	1人
		(934C→G	1人)
		P253R	1人
		(937C→G	1人)
Pffeifer症候群 :	FGFR2	Exon B 5'側	
		(-2)A→G	

FGFR2遺伝子に変異の報告されているApert症候群の患者においては、今までに同定されている2つのCommon Mutationが各1例ずつ認められた。当初、この2つの変異のPhenotypeに差異は認められないと報告されていたが、最近、

口蓋裂、合指症の程度に差異があると報告されている。しかし、本症例におきましては、特に、差異は認められなかった。

Pffeifer症候群では、Exon B (IIIcのcode部分) の5'側のsplicing acceptor siteのAからGへの変異を2例に認めた。残り2例においては、少なくともExonBには遺伝子変異は認められず、Exon U (IIIaのcode部分)、FGFR1のExon IIIaについて、現在検索中である。

考察：

日本人のFGFRの遺伝子変異によって起こる疾患、Achondroplasia、Thanatophoric dysplasia Type I、Apert症候群は、その遺伝子変異において他の人種と同様の集積を示した。FGFR3の遺伝子変異によって起こるAchondroplasia、Hypochondroplasia、Thanatophoric Dysplasia I及びIIを、4つの別の疾患ととらえずに、Bone Deformityの疾患のvariationと考えれば、Phenotypeとgenotypeがはっきりしたcorrelationを持っていると言える。発症頻度が高いこと、変異の種類が少なく、更にその集積が、95%以上と推察されることより、Achondroplasiaの遺伝子診断、および、出生前診断は、十分可能と考えられる。

Achondroplasiaは、先天性の大後頭孔の狭小化があるとの報告もあり、同部での頸髄への圧迫により突然の呼吸停止を来す症例も、けっして少なくない。早期に遺伝子診断により、他の区別のつきにくい疾患、たとえば、Hypochondroplasiaなどと区別ができれば、早期に適切な治療を行うことができ、不幸な例

を避けられると考える。

また、Apert症候群をはじめとするAcrocephropolysyndactyly、Craniosynostosisにおいても、minor anomalyに対する検索、分類、予後の予測において遺伝子診断は有用と思われる。

以上、日本人のFGFR遺伝子の変異による疾患の患者の遺伝子解析を行い、他の人種と同様の変異が認められること、遺伝子診断の可能性について、報告した。

末筆になりましたが、貴重な検体を御供与下さいました先生方に厚く御礼申し上げます。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要旨:骨変形を来す疾患のうち、FGFR の遺伝子異常で起こる疾患についての遺伝子解析を、Achondroplasia の患者 21 人、Thanatophoric Dysplasia type の患者 3 人、Apert の患者 2 人、Pfeifer 疑いの症例 4 人について行った。Achondroplasia の患者全てに G380R の変異を認めた。Thanatophoric Dysplasia type の患者では R248C の変異を、Apert 症候群の患者では、2 つの Common Mutation を各 1 例ずつ認めた。Pfeifer 症候群では、Exon B の 5'側の splicing acceptor site の A G の変異を 2 例に認めた。発症頻度が高く、その集積が 95%以上と推察される Achondroplasia の遺伝子診断、および出生前診断は、十分可能と考えられた。