

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 野村 友希子

学位論文題名

日本人慢性膿皮症患者における γ -セクレターゼ遺伝子変異

【背景と目的】

慢性膿皮症は毛包を中心とする皮膚付属器から発症する遷延性の化膿性炎症であり、毛包脂腺系において角栓形成による毛包閉塞が生じた結果、毛包・脂腺・アポクリン腺の分泌・代謝物が貯留し、これに二次的な細菌感染や異物反応が加わって難治性の瘻孔が形成される。一般的には再燃を繰り返すうちに難治性となり、患部に瘢痕と瘻孔の形成を繰り返すため、患者に整容面での多大な苦痛を与えるだけでなく、慢性膿皮症を発生母地として皮膚有棘細胞癌が発症することがある。本症の病因は長らく不明であったが、その発症には宿主側の要因が深く関係しており、約30%の症例で、常染色体優性遺伝の症例が報告されていた（家族性慢性膿皮症）。2010年、家族性慢性膿皮症の原因遺伝子が膜貫通タンパクの一種である γ -セクレターゼをコードする遺伝子であることが明らかになり、その後、中国やイギリスから相次いで家族性慢性膿皮症における γ -セクレターゼの遺伝子変異が報告された。 γ -セクレターゼは presenilin、nicastrin、presenilin enhancer-2、anterior pharynx defective 1 の4つのサブユニットで構成されており、それらはそれぞれ *PSEN1*、*PSEN2*、*NCSTN*、*PSENEN*、*APH1A*、*APH1B* という6つの遺伝子でコードされている。本研究の目的は、家族性及び孤発性慢性膿皮症の日本人患者における γ -セクレターゼ遺伝子変異の有無を同定することである。

【材料と方法】

材料：日本人家族性慢性膿皮症患者 11 家系、孤発性慢性膿皮症患者 21 人、一般コントロール 50 人。

方法：①患者、及びその家族の末梢血または唾液から DNA を抽出し、 γ -セクレターゼを構成する6つの遺伝子：*PSEN1*、*PSEN2*、*NCSTN*、*PSENEN*、*APH1A*、*APH1B* のエクソン及びエクソン-イントロン境界部のシーケンスを行った。

②*NCSTN* の変異を認めた1家系目の家族性慢性膿皮症患者の末梢血から mRNA を抽出し、real time RT-PCR を行い、その発現量を正常コントロールと比較した。

③抽出した mRNA を cDNA へと変換し、TA クローニングを行い、どのようなスプライシングが起きているかをシーケンスで確認した。

【結果】

① γ -セクレターゼ遺伝子変異検索

家族性慢性膿皮症家系：日本人家族性慢性膿皮症 11 家系において、2 家系で γ -セクレターゼを構成する遺伝子の一つである *NCSTN* にそれぞれ c. 582+1del1G のスプライシング変異及び

p. Gln568Term のナンセンス変異をヘテロ接合性に認めた。

孤発性慢性膿皮症：孤発性慢性膿皮症患者では1名で *PSEN2* のエクソン13に p. Thr421Met のミスセンス変異をヘテロ接合性に認めた。その他の患者では6つの遺伝子に変異を認めなかった。

- ② **NCSTN mRNA 発現量の比較**：リアルタイム RT-PCR にて *NCSTN* mRNA 発現量の比較を行ったところ、*NCSTN* に c. 582+1delG の遺伝子変異を持つ発端者では、正常コントロールと比較してその発現量が有意に低下していた。
- ③ **スプライシングの検討**：正常コントロールでは *NCSTN* のエクソン5からエクソン6へのスプライシングのみを認めた。一方、*NCSTN* に c. 582+1delG の遺伝子変異を持つ発端者ではエクソン5からエクソン6への正常なスプライシングがある一方で、エクソン5からエクソン7、エクソン5からエクソン9への異常なスプライシング産物を認めた。

【考察】

γ-セクレターゼ遺伝子変異検索：今回、日本人家族性慢性膿皮症2家系でγ-セクレターゼを構成する遺伝子の一つである *NCSTN* に新規変異、c. 582+1delG 及び p. Gln568Term を同定した。

c. 582+1delG を持つ1家系目ではこれまでの報告と同様、同じ変異を持っていても臨床症状の重症度は異なっていた。さらに p. Gln568Term の変異を認めた2家系目では、同じ *NCSTN* のナンセンス変異を持ちながらも、同一家系内に慢性膿皮症の症状を持つ個体と全く慢性膿皮症の症状を持たない個体がいることが判明した。肥満、喫煙などのγ-セクレターゼ遺伝子変異以外の要因がその重症度に大きく関わっていると考えられた。孤発性慢性膿皮症患者では、γ-セクレターゼを構成する6つの遺伝子には、明らかな機能喪失変異を認めなかった。1名で *PSEN2* のエクソン13に p. Thr421Met のミスセンス変異をヘテロ接合性に認めたが、慢性膿皮症発症との関連は不明であった。

NCSTN mRNA 発現量の比較：*NCSTN* に c. 582+1delG のスプライシング変異をヘテロ接合性に持った発端者では、正常コントロールと比較してその mRNA 発現量が約30%程度まで低下していた。これは、変異をもった mRNA がナンセンス変異依存 mRNA 分解機構によって細胞内で分解された結果であると考えた。

スプライシングの検討：*NCSTN* エクソン5からエクソン7のスプライシング産物に関しては早期終止コドンが生じていたことから、生体内では変異をもった mRNA がナンセンス変異依存 mRNA 分解機構によって細胞内で分解されると考えられた。エクソン5からエクソン9へのスプライシングに関してはインフレームの変異であり、明らかな早期終止コドンを確認することができなかった。しかし、*NCSTN* のミスセンス変異が機能喪失変異であると推測されていることを照らし合わせると、この異常なスプライシング産物もエクソン6から8がコードするアミノ酸の欠失によりγ-セクレターゼ活性が低下している可能性が高いと推測した。

【結論】

日本人家族性慢性膿皮症家系において、γ-セクレターゼを構成する遺伝子の一つである *NCSTN* に新規のスプライシング変異及びナンセンス変異を同定した。本研究により、日本人でもγ-セクレターゼの遺伝子変異は慢性膿皮症発症に深くかかわっていることが明らかになった。一方、孤発性慢性膿皮症患者では、明らかな機能喪失遺伝子変異は認められなかった。γ-セクレターゼ遺伝子変異以外にも喫煙、肥満などの外的要因が慢性膿皮症の発症と重症度に大きく関係している可能性が明らかになった。