

学 位 論 文 題 名

マイクロサテライト解析による家族性モヤモヤ病原因遺伝子の  
ポジショナルクローニング第17番染色体における連鎖解析

学位論文内容の要旨

目的

ウィリス動脈輪閉塞症は、日本人、小児に好発する原因不明の脳血管疾患であり、脳血管撮影で異常血管網を認めることからモヤモヤ病といわれる。病因は未だ不明ではあるが、症例の一部では宿主要因（多因子遺伝）の関連が示唆されている。患者の約 9% に本症の家族歴を認めることから、家族内発症を認めたモヤモヤ病家系において病因遺伝子の存在が疑われている。モヤモヤ病に特徴的な病変の合併を認めた遺伝性疾患はいくつかの報告があるが、そのうちの 하나가神経線維腫症 1 型（レックリングハウゼン氏病、NF1）である。NF1 は既にその病因遺伝子が第 17 番染色体の 17q11.2 に”NF1”遺伝子として同定されている。我々はモヤモヤ病の病因遺伝子の 하나가”NF1”遺伝子の近傍に存在するのではないかと考え、第 17 番染色体についてマイクロサテライト連鎖解析を行った。

方法

モヤモヤ病の病因遺伝子が第 17 番染色体に存在するかどうかを調べるため、モヤモヤ病の 8 家系及び 16 同胞対を対象として、マイクロサテライト連鎖解析を行った。家系内各個体の末梢血白血球より抽出したゲノム DNA を用い、第 17 番染色体の計 22 個のマイクロサテライトマーカーについて、各マーカーに応じたプライマーを用いて、PCR 増幅を行った。増幅された PCR フラグメントを自動シーケンサーを用いて分析し、Gene Scan にて解析して DNA タイピングを施行した。

結果

二点間での連鎖解析により、遺伝形式を常染色体優性遺伝と仮定して、D17S939 というマーカーにおいて組み換え率 0.00 で最大の LOD スコア 3.11 が得られた。Affected pedigree member method でも、第 17 番染色体 17q25 に位置する五つのマーカーにおいて、有意に低い P-value (0.00001 未満) を示した。多点間の連鎖解析でも、D17S785 から D17S836 の間の 9 cM の領域で最大の LOD スコア 4.58 が得られ、この領域に病因遺伝子が存在することが示唆された。

結論

家族内発症を認めたモヤモヤ病家系において第 17 番染色体長腕の 17q25 の領域でモヤモヤ病発症との連鎖が認められた。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 阿 部 弘  
副 査 教 授 田 代 邦 雄  
副 査 教 授 守 内 哲 也

学 位 論 文 題 名

## マイクロサテライト解析による家族性モヤモヤ病原因遺伝子の ポジショナルクローニング第17番染色体における連鎖解析

ウィリス動脈輪閉塞症は原因不明の脳血管疾患であり、毛細血管拡張様の異常血管網を認めることからモヤモヤ病ともいわれる。本邦では人口10万人あたり3を超える患者数を認め、日本人に好発する。モヤモヤ病の一部症例では遺伝的要因が関与していると考えられ、患者の約9%に本症の家族歴を認める。

モヤモヤ病に特徴的な血管病変をしばしば合併する遺伝性疾患の一つが神経線維腫症1型であり、その原因遺伝子は既に第17番染色体長腕17q11.2にNF1として同定されている。そこで、本研究では、モヤモヤ病発症に特定の染色体領域が関与しているのかどうかを調べるため、家族性モヤモヤ病の家系を用いて連鎖解析を行った。

モヤモヤ病の原因遺伝子が第17番染色体に存在するかどうかを調べるため、モヤモヤ病の24家系を対象として、マイクロサテライト連鎖解析を行った。家系内各個体の末梢血白血球より抽出したゲノムDNAを用い、第17番染色体の計22個のマイクロサテライトマーカーについて、各マーカーに応じたプライマーを用いて、PCR増幅を行った。増幅されたPCRフラグメントを自動DNAシーケンサーを用いて分析し、Gene Scanにて解析してDNAタイピングを施行した。

二点間での連鎖解析により、遺伝形式を常染色体優性遺伝と仮定して、D17S939というマーカーにおいて組み換え率0.00で最大のLODスコア3.11が得られた。Affected pedigree member methodでも、第17番染色体17q25に位置する五つのマーカーにおいて、有意に低いP-value (0.00001未満)を示した。多点間の連鎖解析でも、D17S785からD17S836の間の9 cMの領域で最大のLODスコア4.58が得られ、この領域に原因遺伝子が存在することが示唆された。

本研究の結果から、家族性モヤモヤ病の原因遺伝子の少なくとも一つは第17番染色体長腕の17q25に存在するものと考えられた。今後、さらなる解析により、異なる遺伝子座に存在する遺伝子の間の関連について、解明してゆくべきと考えられた。また、家族性モヤモヤ病の遺伝的要因が明らかになることは、同様に、モヤモヤ病孤発例についてもより理解が深まるものと考えられることから、第17番染色体17q25の領域における原因遺伝子のク

ローニングにとりかかっているところである。

公開発表において、守内哲也教授より、連鎖が認められた領域をさらに絞り込む具体的方法について、モヤモヤ病の病態について、NF1遺伝子の関与についての質問があった。次いで、田代邦雄教授より、複数の原因遺伝子の存在の可能性について、連鎖の不均一性の検討について、候補遺伝子のクローニングについての質問があった。最後に、阿部弘教授より、諸外国での遺伝子解析の現状について、国別による家族内発症の頻度の違いについての質問があった。いずれの質問に対しても、申請者は自らの研究に基づく経験や過去の論文の内容を引用し、豊富な知識に基づいて明快に解答した。

本研究は、家族性モヤモヤ病の原因遺伝子が第17番染色体長腕の17q25に存在することを明らかにした点が高く評価され、今後、孤発例も含めたモヤモヤ病の病態の解明および、発病予防を含めた治療法の確立に役立つものと期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、研究者として誠実かつ熱心であり、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。