

氏名(本籍)	内木康博(岐阜県)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲第 264 号
学位授与日付	平成 6 年 2 月 16 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	A nonsense mutation (TGG [¹⁴ Trp] →TAG [Stop]) in CYP11B1 causes steroid 11β-hydroxylase deficiency
審査委員	(主査)教授 折居 忠 夫 (副査)教授 野澤 義 則 教授 安田 圭 吾

論 文 内 容 の 要 旨

ステロイド11β水酸化酵素欠損症は、先天性副腎皮質過形成の原因の一つで、ステロイド合成経路に関与するミトコンドリアのチトクローム P450 酵素の一つであるステロイド11β水酸化酵素(P450_{c11})の異常により生じる常染色体劣性遺伝の遺伝性疾患である。先天性副腎皮質過形成の原因の約5%を占めると言われるが、日本では報告が稀で、その臨床症状としては男性化と高血圧を主徴とする。近年になり P450_{c11} の遺伝子 (CYP11B1) がクローニングされ疾患の遺伝子解析が行われつつある。

申請者は、初めてステロイド11β水酸化酵素欠損症の日本人1家系について遺伝子解析を行い、病因と考えられる遺伝子変異を同定した。さらにその変異について家系解析を行い、発現実験を行って病因であることを証明した。

研究方法

ステロイド11β水酸化酵素欠損症の患者1例を含む日本人1家系について解析を行った。患者の両親は血族結婚であった。患者の末梢血より得た genomic DNA から CYP11B1 を PCR 法を用いて増幅し、全9エクソンを各々サブクローニングして塩基配列を決定した。同定された変異部位についてサザンブロット法と PCR-RFLP 法を用いて家系解析を行った。さらに、変異部位を含む cDNA を発現ベクターに組み込み、COS-7 細胞に導入して発現させた蛋白の P450_{c11} 活性を測定した。また、CYP11B1 と非常にホモロジーの高いステロイド18位水酸化酵素 (P450_{c18}) の遺伝子 (CYP11B2) についても同様の方法で塩基配列を決定した。

研究結果

- 1) ステロイド11β水酸化酵素欠損症の患者の CYP11B1 の116番目のトリプトファンが終止コードに置換する G から A への 1 塩基置換を同定した。
- 2) この 1 塩基置換により新たに *Bln* I 認識部位を生じるため、サザンブロット法で行った家系解析では患者は変異 allele のホモ、両親はヘテロの保因者であることが判明した。
- 3) 変異部位を含む断片を増幅し *Bln* I 消化を行ったところ、患者はホモ、両親はヘテロの保因者であることが確かめられた。
- 4) 変異蛋白の発現実験では、変異 cDNA を組み込んだ COS-7 細胞のミトコンドリア分画から得られた蛋白にはほとんど酵素活性が認められなかった。

5) 患者の CYP11B2 上には変異は認められなかった。

以上により本疾患において病因と考えられる遺伝子変異を同定し、この変異を含む cDNA を用いた発現実験で酵素活性が認められなかったことより、この変異が病因であることを明らかにした。本疾患の日本人症例の遺伝子解析の報告は今回が初めてであり、今まで見つかっていない変異であるので、これが人種差によるものかどうか今後多数例について遺伝子解析を行っていく上で明らかにしたい。またこの症例のように RFLP で保因者診断できる変異はまだなく、今後の本疾患の遺伝子解析を行っていく上でおおいに有意義な知見であると思われる。さらに本疾患では多様な臨床像が知られており、今回行った関連遺伝子の解析が臨床像と遺伝子変異との関連性の解析に役立つ可能性があると思われた。今後、多数例について遺伝子変異と臨床表現型との関連を明らかにするとともに、出生前診断を含めた保因者診断にも応用していく予定である。

論文審査の結果の要旨

申請者 内木康博は、ステロイド11β水酸化酵素欠損症の日本人一家系について遺伝子解析を行い病因と考えられる遺伝子変異を同定し、家系解析ならびに発現実験により、この変異が病因であることを明らかにした。

この研究は、小児科学ならびに先天代謝異常学の進歩に少なからず寄与するところが大きいものと認める。

[主論文公表誌]

A nonsense mutation (TGG [¹¹⁶Trp] →TAG [Stop]) in *CYP11B1* causes steroid 11β-hydroxylase deficiency

平成5年12月発行 J. Clin. Endocrinol. Metab. 77 : 1677~1682