

氏名(本籍)	はせがわ 長谷川	まこと 誠(茨城県)
学位の種類	博士(医学)	
学位記番号	博甲第3444号	
学位授与年月日	平成16年3月25日	
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当	
審査研究科	医学研究科	
学位論文題目	本邦における進行性家族性肝内胆汁うっ滞症の病因遺伝子 <i>FIC1</i> , <i>BSEP</i> の変異と臨床病理像との関連について	
主査	筑波大学教授	医学博士 田中直見
副査	筑波大学教授	医学博士 落合直之
副査	筑波大学助教授	医学博士 轟健
副査	筑波大学助教授	医学博士 中原朗

## 論文の内容の要旨

### (目的)

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症 (progressive familial intrahepatic cholestasis : PFIC) は、小児期のうちに肝不全に進行しうる常染色体劣性遺伝の慢性肝内胆汁うっ滞症である。近年、胆汁うっ滞にもかかわらず血清  $\gamma$  GTP 値が正常である PFIC の病因遺伝子 *FIC1*, *BSEP* が同定され、それぞれ1型、2型と命名された。*FIC1* は肝、小腸、膵臓などに発現するアミノリン脂質転送体で、*BSEP* は肝細胞毛細胆管膜に発現する胆汁酸輸送蛋白である。

遺伝子診断に基づき PFIC1 型と2型の臨床像を比較した報告は非常に少ない。また、*FIC1* は、良性反復性肝内胆汁うっ滞症という非進行性の疾患の病因遺伝子でもあるが、*FIC1* 変異が2つの異なる疾患を引き起こす機序は不明である。本研究は、本邦の PFIC1 型、2型、良性反復性肝内胆汁うっ滞症の遺伝子診断を行い、遺伝子変異と表現型との関連について明らかにすることを目的とした。

### (対象と方法)

インフォームド・コンセントを得た上で、国内諸施設から紹介された日本人の PFIC17 症例について、*FIC1*, *BSEP* 変異の有無を解析した。同様に良性反復性肝内胆汁うっ滞症4症例について、*FIC1* 変異の有無を解析した。

*FIC1*, *BSEP* のゲノム構造を Basic Local Alignment Search Tool により同定し、exon-intron 境界部を含む各27、28個の exon を増幅する新規プライマーを設定し、末梢血白血球由来の遺伝子 DNA を用いて direct sequence 法で変異の有無を解析した。さらに RT-PCR により肝組織から cDNA を精製し、*FIC1*, *BSEP* の mRNA 塩基配列内に設定した新規プライマーを用いて、両遺伝子の変異を同様に解析した。認められた非同義の一塩基置換については、正常対照50人における変異の有無を RFLP または direct sequence 法で確認した。

### (結果)

*FIC1* 変異26個と *BSEP* 変異13個が同定された。PFIC17 例中13例が PFIC1 型、4例が PFIC2 型と診断され、良性反復性肝内胆汁うっ滞症は3例が遺伝学的に診断された。変異の種類は、PFIC1 型の *FIC1* 変異

16個、PFIC2型のBSEP変異6個、良性反復性肝内胆汁うっ滞症のFIC1変異5個であった。PFIC1型と良性反復性肝内胆汁うっ滞症に共通するFIC1変異はなかった。一塩基置換、スプライシング変異、挿入、欠失など多彩な変異が認められ、これらはすべて海外の報告例の変異とは異なっていた。一方、正常対照にも認められる遺伝子多型がFIC1に5個、BSEPに7個認められた。

PFIC1型、2型の臨床病理像を比較したところ、両者を明確に分けることのできる臨床病理所見はなく、従来2型に特異的と考えられていたALT高値や巨細胞肝炎像の所見も1型と2型で明確な違いは見出されなかった。ただし、肝移植後、1型では全例に難治性下痢、脂肪肝などの合併症を生じていたが、2型ではそれらの合併症はみられなかった。

FIC1、BSEPの各変異と症状の重篤度の間には明らかな相関はなかった。FIC1変異には、異なる生物種の相同蛋白ファミリーの中で保存されている部位の変異と非保存領域の変異があったが、PFIC1型、良性反復性肝内胆汁うっ滞症の間で一定の傾向はなかった。

#### (考察)

本邦では多彩な新規のFIC1、BSEP変異が同定され、PFIC1型の頻度が高かった。これまで、2型では著明なALT高値を伴い、進行が早く、巨細胞性肝炎の組織像を示すという仮説が提唱されていたが、今回の検討では、その説にあてはまらない結果が得られた。

一方、肝移植後は1型のみ難治性下痢などの合併症が生ずることが判明し、移植前にPFICの型の遺伝子診断を行うことが移植後の転帰を予測する上で有用と考えられた。

各遺伝子に認められた個々の変異と表現型の関連は見出せなかったが、同一の変異を有する同胞間でも重症度に違いがあるため、表現型には環境因子やその他の修飾因子が影響している可能性が強い。今後、変異蛋白の発現系を確立することなどにより解明されるべき課題であると考えられた。

#### (結論)

- 1)  $\gamma$  GTP正常のPFIC17例中、FIC1、BSEP変異検索により、1型13例、2型4例が診断された。また、良性反復性肝内胆汁うっ滞症4例中3例が遺伝子診断された。認められた変異は全て海外と異なっていた。
- 2) 進行性家族性肝内胆汁うっ滞症の型の鑑別は遺伝子診断によってはじめて可能となる。1型では肝移植後に遷延性下痢や脂肪肝などの合併症が出現する可能性が高いため、肝移植前の遺伝子診断が望ましい。
- 3) 良性反復性肝内胆汁うっ滞症のFIC1変異はPFIC1型の変異と異なっていた。変異部位の相同蛋白間でのアミノ酸配列保存性は、両疾患ともにさまざまであった。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

進行性家族性肝内胆汁うっ滞症1型、2型ならびに良性反復性肝内胆汁うっ滞症のgenotype-phenotype correlationを検討した報告はこれまで非常に少ない。本論文では、あらたに遺伝子診断のシステムを確立し、全国から集められた進行性家族性肝内胆汁うっ滞症17例と良性反復性肝内胆汁うっ滞症4例の遺伝子診断を行い、各臨床像を比較検討した。診断症例数を増やすことで今後のさらなる解析が期待されるが、①1型、2型の鑑別は遺伝子診断のみによって可能であること、②肝移植後の難治性下痢や脂肪肝といった重大な合併症が1型でのみ生じうること、③同じ遺伝子の異常で起こる進行性家族性肝内胆汁うっ滞症1型と良性反復性肝内胆汁うっ滞症の臨床経過の違いは、変異部位のアミノ酸配列保存性だけでは説明できないこと、を見出した点は評価される。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。