



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	新生児マス・スクリーニング陽性の先天性甲状腺機能低下症に対する次世代シーケンサーを用いたターゲットリシーケンス [全文の要約]
Author(s)	山口, 健史
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 配架番号：2561 他
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14095号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/78090
Type	doctoral thesis
File Information	Takeshi_Yamaguchi_summary.pdf



学位論文の要旨

新生児マス・スクリーニング陽性の先天性甲状腺機能低下症に対する
次世代シーケンサーを用いたターゲトリシーケンス

(Targeted next-generation sequencing for congenital
hypothyroidism with positive neonatal TSH screening)

2020 年 3 月

北海道大学

山口 健史

Takeshi Yamaguchi

【背景と目的】 先天性甲状腺機能低下症 (congenital hypothyroidism: CH) は、最も頻度の高い先天性内分泌疾患で、そのほとんどが新生児マス・スクリーニング (newborn screening: NBS) で発見される。CH の疾患責任遺伝子は複数知られるが、候補遺伝子の解析による診断率は低く、分子遺伝学的要因は不明ほとんど不明なままであった。近年は次世代シーケンス解析の普及により、新規の疾患責任遺伝子が報告され網羅的な候補遺伝子の解析による報告が増えているが、日本からの CH に対する次世代シーケンサー (next-generation sequencing: NGS) を用いた網羅的遺伝子解析の報告はない。

【目的】 NBS 陽性、日本人 CH の候補遺伝子の網羅的解析によるバリエント同定率を調査する。同定されたバリエントとその臨床像を解析し、CH 発症の分子遺伝学的要因を検討する。

【対象と方法】 NBS で発見され、レボチロキシン (L-T4) 補充歴のある原発性 CH を対象とした。対象となった 168 名 (合成障害 57 名、形成異常 33 名、病型診断未施行 78 名) に対して、NGS を用いて既知の CH 疾患責任遺伝子 (24 遺伝子) をターゲットとして網羅的解析を行った。コールされたバリエントは、The American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ガイドラインに従い分類し、pathogenic, likely pathogenic, uncertain significance のバリエントを抽出した。バリエントを保有する形式により、メンデル遺伝 (常染色体優性遺伝形式をとる責任遺伝子に単一の病的バリエントを同定する、あるいは、常染色体劣性遺伝形式をとる責任遺伝子に複数の病的バリエントを複合型ヘテロ接合性あるいはホモ接合性に同定される症例)、Oligogenic 群 (メンデル遺伝形式のバリエントは同定されなかったが、常染色体劣性遺伝形式をとる複数の責任遺伝子それぞれに単一の病的バリエントを組み合わせで同定された症例)、Monogenic 群 (メンデル遺伝形式のバリエントは同定されなかったが、常染色体劣性遺伝形式をとる一つの責任遺伝子に単一の病的バリエントを同定された症例) に分類した。さらに、バリエント保因数と重症度の相関を検討するため、合成障害による CH において Oligogenic 群と Monogenic 群の臨床像を比較した。

【結果】 全体では、168 名中 112 名 (66.7%) にバリエントを同定した。メンデル遺伝を 14.9% (25 名/168 名) に同定し、その内訳は *DUOX2* 13 名、*TSHR* 4 名、*TG* 2 名、*TPO* 2 名 (以上は常染色体劣性遺伝形式の責任遺伝子)、*PAX8* 3 名 (常

染色体優性遺伝形式)、*TSHR+PAX8* 1 名だった。また、Oligogenic 群を 18.5% (31 名/168 名)、Monogenic 群を 33.3% (56 名/112 名)に同定した。

メンデル遺伝のうち、*DUOX2* 異常症を 13 名に同定し、病型診断をした 7 例全例で、初診時より病型診断時の TSH 基礎値は低下していた。さらに 5 名は一過性 CH であった。*TSHR* 異常症を 5 名に同定し、全例 p. R450H を保因しており、3 名は低形成だった。*PAX8* 異常症を 4 名に同定したが、形成異常を認めたのは *TSHR* のバリエントを複合ヘテロ接合性に保因していた 1 名の低形成のみだった。*TG* 異常症は 2 名に同定し、いずれも甲状腺腫は認めなかったが、血清 TG は基準下限で推移していた。*TP0* 異常症を 2 名に同定し、いずれも病型診断未施行例だが、1 名は左葉欠損だった。

合成障害の CH のうち、Oligogenic 群 11 名と Monogenic 群 23 名で臨床像を検討したところ、Oligogenic 群は Monogenic 群に比較し、初診時 TSH 値が有意に高かった。また、治療開始時および現在の L-T4 投与量に統計学的な有意差はなかったが、Oligogenic 群で多い傾向を認めた。

今回の解析では兄弟例が 11 名 (5 家系) 含まれ、8 名 (72.7%) にバリエントを同定したが、そのうちメンデル遺伝は 1 家系 (2 名) のみだった。

【考察】 本研究は、日本人における初めての CH の網羅的遺伝子解析の報告となる。近年、CH に対する NGS を用いた候補遺伝子の網羅的解析に関する報告は増えているが、対象の選定・バリエントのフィルタリング・病原性の判断等により同定率は報告により大きく異なる。かつて、NGS 普及前に行われた遺伝子解析による遺伝子変異の同定率は 10-20%程度とされてきたが、これはメンデル遺伝としての報告が多く、本研究におけるメンデル遺伝のバリエント同定率 14.9% (25 名/168 名) とほぼ同等の結果であった。一方、近年、NGS を用いた研究では、メンデル遺伝に限らず、同定された病的バリエント全てを報告しており、その同定率は 33.0-51.5%とされ、本研究の同定率 66.7% (112 名/168 名) とほぼ同等であった。

メンデル遺伝に関して、*DUOX2* 異常症 13 名、*TSHR* 異常症 4 名、*PAX8* 異常症 3 名、*TG* 異常症 2 名、*TP0* 異常症 2 名、*TSHR+PAX8* 異常症 1 名を同定した。アジアからの既報と同様に *DUOX2* 異常症が最多であった。臨床像は、*DUOX2* 異常症の経時的に甲状腺機能の改善、*TSHR* 異常症の p. R450H を保因や低形成、*TG* 異常症の血清 Tg 低値などの既報の特徴に合致した。一方で、*PAX8* 異常症で形成異常を認めない症例が多かったこと、*TP0* 異常症における左葉欠損など、既報と異なる

臨床像も見られたが、明確な理由は不明で今後の検討課題である。

CH は、単一遺伝子疾患として発症する例もあるが、近年では複数の疾患責任遺伝子におけるバリエーションの組み合わせで発症する oligogenic model も提唱されている。本研究においても、Oligogenic 群が存在し、Oligogenic 群と Monogenic 群で臨床像を比較検討したところ、Oligogenic 群の方が重症の傾向を認めた。Oligogenic と Monogenic の重症度を比較した報告はこれまでないが、バリエーション保因数と重症度に相関がある可能性が示唆された。

今回の解析における兄弟例 5 家系 11 名の解析では、メンデル遺伝形式のバリエーションが同定されたのは 1 家系のみであった。家族例でも候補遺伝子の解析でバリエーションが同定されないことがあることは知られているが、今後、両親を含めたエクソーム解析を検討している。

【結論】 日本人先天性甲状腺機能低下症における最大規模の候補遺伝子解析である。日本人においても、海外の既報と同程度バリエーションが同定される事が示された。また、日本人においても、候補遺伝子のメンデル遺伝として同定されることは一部であり、単一遺伝子疾患以外の原因として発症する方が多いと考えられた。

バリエーションを複数の疾患責任遺伝子に複数保因する症例は、1 つ保因する症例に比較し、より重症となる可能性が示された。複数の疾患責任遺伝子においてバリエーションを複数保因することにより、遺伝子効果が相加的に作用して疾患が重症になる可能性がある。