

【目的】我々は、体細胞復帰変異によるモザイク (RSM) を高率に生じる細胞モデル、マウスモデルの作製のために必要な情報を集積するため、実際の患者において起こっている体細胞復帰変異を来すメカニズムを、ゲノムレベルで詳細に解析する必要があると考えた。本研究では、RSM を生じる機序の解明を目的として、RSM を生じていると考えられる症例を収集し、それらの症例において、体細胞復帰変異による健常部皮膚の表皮細胞を対象として、詳細なゲノム解析を行った。

【方法】まず、解析対象となる体細胞復帰変異を有する魚鱗癬症例を収集した。本研究では、これまでに文献上、体細胞復帰変異による健常皮膚斑を有することが報告されている ichthyosis with confetti (IWC) 症例についても検索した。患者末梢血中の細胞からゲノム DNA を抽出し、ケラチン遺伝子、*KRT1*、*KRT10* の全コード領域とエクソン-イントロン境界領域を、PCR にて増幅し、サンガー法にてシークエンシングを行なった。また、健常皮膚部での表皮細胞のゲノム DNA の解析も行った。健常皮膚部から皮膚生検を施行し、生検皮膚検体を EDTA 溶液に浸漬することで、表皮と真皮以下とに分け、表皮のみからゲノム DNA を抽出した。表皮から抽出したゲノム DNA を用いて、病因ケラチン遺伝子変異が RSM により消失していることを確認するために、*KRT1* について、サンガー法によるダイレクト・シークエンシングを施行した。さらに、RSM の生じた機序が体細胞での遺伝子組み替えであるか、否かを明らかにするため、*KRT1* の近傍における loss-of-heterozygosity (LOH) の存在を、CytoScan HD (Affymetrix) を用いた SNP array 検索にて解析した。さらに、健常部皮膚表皮細胞での体細胞遺伝子組み替えの範囲を厳密に特定するために、*KRT1* の近傍について、次世代シーケンサーを用いて、全ゲノム・シークエンシングを施行した。

【結果】体細胞復帰変異による健常皮膚斑を有する表皮融解性魚鱗癬、3 症例を集積した。各症例ともに、出生時から広汎に皮膚の潮紅と鱗屑を認め、水疱形成も認められた。症例によって、10 歳代から 30 歳代くらいから複数の健常に見える皮膚が生じて来ていたとのことであった。表皮融解性魚鱗癬の病因としては、*KRT1* に、ヘテロの挿入変異、c.1758_1759insT (p.Tyr587-Leufs*67)、*KRT1* の intron1 から intron5 に至る比較的大きな欠失変異 (197 番目のアミノ酸から 375 番目のアミノ酸までの欠失)、ミスセンス変異、c.563A>G (p.Asn188Ser) を認めた。全例で健常部皮膚の表皮細胞では、体細胞復帰変異により病因遺伝子変異は失われていた。SNP array 検索、*KRT1* の近傍の全ゲノム解析の結果、2 症例では *KRT1* の近傍における LOH を認め、RSM を生じた機序は体細胞遺伝子組み換えと考えられた。残りの 1 例では、LOH は見られず、病因変異部の点変異による RSM と考えられた。

体細胞復帰変異によるモザイク症例 (50 歳、男性) の臨床像

