

## PDGFRB / PDGFB 遺伝子変異の検索

研究分担者：保住 功（岐阜薬科大学薬物治療学）

研究協力者：金子雅幸、山田 恵、位田雅俊（岐阜薬科大学薬物治療学）

### 研究要旨

昨年、血小板由来成長因子の受容体 *PDGFRB* とそのリガンド *PDGFB* に関して、相次いでファール病（特発性基底核石灰化症：IBGC）患者の遺伝子変異が報告されたことから、私たちは本邦におけるこれら遺伝子の変異について検討を行った。その結果、*PDGFRB* において 1 例、*PDGFB* において 4 例変異を見いだした。

### A．研究目的

一昨年、ファール病研究においてリン酸トランスポーター遺伝子である *SLC20A 2*（PiT-2）が同定され、家族例の約 50%に認められた。当研究室でも検索を行い、その結果は *Neurology*（82,705-712,2014）に報告している。さらに昨年、血小板由来成長因子の受容体 *PDGFRB*（PDGFR-）とそのリガンド *PDGFB*（PDGF-B）に関して、相次いで IBGC の原因遺伝子として報告されたことから、私たちは本邦におけるこれら二つの遺伝子の変異について検討を行った。

### B．研究方法

変異の検索では、76 症例の患者のゲノム DNA について、*PDGFB* および *PDGFRB* の各エクソンとその近傍領域を増幅するよう設計したプライマーで PCR を行い、得られた PCR 産物でサンガー法によるダイレクトシーケンスを行った。同定した変異のタンパク質への影響について、Polyphen-2 でダメージ予測を行った。

スプライスサイトにおける変異に関しては、患者の血液から total RNA を抽出し、スプラ

イスサイトをまたぐ領域を RT-PCR 法により増幅した。その後、電気泳動およびダイレクトシーケンスを行い、配列を確認した。

### （倫理面への配慮）

本研究では、岐阜大学ならびに岐阜薬科大学倫理委員会の許可の下、全国のファール病患者に文書での同意を得た上で提供された血液より、ゲノム DNA および total RNA を抽出した。

### C．研究結果

*PDGFB* では、フレームシフト変異 c.33\_34delCT（p.Leu11Leufs\*19）、ミスセンス変異 c.316A>G（p.Ile106Val）、スプライスサイト変異 c.160+2T>A、c.457-1G>T が同定された。ミスセンス変異 c.316A>G について Polyphen-2 で解析した結果、影響は benign と判定された。一方、スプライスサイト変異 c.160+2T>A に関して、2つのエクソンの間をシーケンスにより確認したところ、170bp ほどイントロンが挿入されていることが判明した。

*PDGFRB* では、ミスセンス変異

c.2493C>G ( p.Asn831Lys ) を同定し、Polyphen-2 で解析した結果、影響は Probably Damaging と判定された。

## D . 考察

フレームシフト変異 c.33\_34delCT は、欠損によるフレームシフトの影響が翻訳領域のほぼ全体に及ぶので、タンパク質の機能および分泌に大きく影響することが考えられる。また、スプライスサイト変異 c.160+2T>A、c.457-1G>T もイントロンの一部挿入により、多くのアミノ酸残基の挿入およびフレームシフトにより、分泌異常や機能の欠失が起これると考えられる。今回同定した *PDGFB* のタンパク質コード領域のミスセンス変異についても、実際に変異の影響があるか調べるため、リコンビナントタンパク質を作成し、活性を評価する必要がある。

また、*PDGFRB* のミスセンス変異 c.2493C>G については、変異がある家系内で変異に関係なく脳内の石灰化が確認された。さらに、dbSNP に登録のある変異が他に多くあったが、その中に probably damaging と予測されるものも存在する。また、乳幼児筋線維腫症 (infantile myofibromatosis) においても、*PDGFRB* の変異が報告されている。以上から、*PDGFRB* の変異 c.2493C>G がファール病の発症に関与するか疑問が残る。現在、これらの変異と受容体活性への影響に関して、検証中である。

## E . 結論

現時点で、*PDGFB* は *SLC20A2* に次ぐ頻度で見られるファール病の原因遺伝子である。*PDGFRB* に関しては、ファール病の原因遺伝子として議論の余地がある。

## G . 研究発表

### 1. 論文発表

投稿準備中

### 2. 学会発表

1. Hozumi I, Roles of biological trace elements in neurodegeneration (ALS and Fahr's disease (IBGC)) From molecular mechanisms to therapeutic strategies. ISTERH2013 (International Society of Trace Element Research in Human) (2013/11/20、Tokyo)