

機能亢進型 GNAS 変異関連疾患の機能亢進型 GNAS 変異の検出に関する研究1：
自律性卵巢嚢腫

研究分担者 石井智弘・慶應義塾大学医学部小児科学教室・准教授

研究分担者 室谷浩二・神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科・医長

研究分担者 鳴海覚志・国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部・室長

研究要旨

機能亢進型 GNAS 変異関連疾患のひとつである自律性卵巢嚢腫において、機能亢進型 GNAS 変異の検出を試みた。7 例中 5 例 (71.4%) において機能亢進型 GNAS 変異を同定した。

研究連帯者

柴田浩憲・慶應義塾大学医学部小児科学教室・助教

朝倉由美・神奈川県立こども医療センター内分泌代謝科

A. 研究目的

様々な器官の cAMP パスウェイを介在する Gs 蛋白質をコードする遺伝子 *GNAS* に体細胞モザイク性機能亢進変異が生じる機能亢進型 *GNAS* 変異関連疾患には、最重症型である McCune-Albright 症候群のみならず、自律性卵巢嚢腫も含む。今回は自律性卵巢嚢腫における機能亢進型 *GNAS* 変異の検出を目的とした。

なお過去において、nested PCR と制限酵素を用い自律性卵巢嚢腫 39 例中、末梢血で機能亢進型 *GNAS* 変異を 3 例 (7.7%) に同定したという報告がある ([Lumbroso S, et al. Activating Gs Mutations: Analysis of 113 Patients with Signs of McCune-Albright Syndrome—A European Collaborative Study. J Clin Endocrinol Metab 89: 2107-2113, 2004;](#))。

B. 研究方法

自律性卵巢嚢腫 7 例を対象とし、我々が独自に開発した次世代型遺伝子解析装置を用いた方法で解析した。すなわち、機能亢進型 *GNAS* 変異 (R201H, R201C, Q227L) の存在するエクソン 8 および 9 を PCR 法で増幅した。変異の高感度検出実験では、野生型 PCR 産物の増幅を抑制し、変異型産物の存在割合を増幅するペプチド

核酸プローブ (PNA: Gly-NH₂-CGC TGC CGT GTC -HAc) を混和した (ただし定量実験では混和せず)。1st PCR には、次世代解析で用いるアダプター配列を両断端に付加したプライマーを用いた。得られた PCR 産物を精製し、アタッチメント配列、インデックス配列を付加したプライマーで 2nd PCR を行った。解析はベンチトップ型次世代遺伝子解析装置 Miseq (イリミナ社) を用いた。標準的な読み取りの depth は 50,000 以上であった。

(倫理面への配慮)

本研究は慶應義塾大学医学部倫理委員会の承認のもとに行った。またヘルシンキ宣言、ヒトを対象とする医学系研究に関する倫理指針に準拠した。

C. 研究結果

5 例 (71.4%) において、PNA を併用した次世代型遺伝子解析により機能亢進型 *GNAS* 変異を同定した (資料 3 - 1. The 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society / The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology 抄録、および 資料 3 - 2. The 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society / The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology 発表パワーポイント 参照)。

D. 考察

今回の研究により、自律性卵巢嚢腫の7例中5例において末梢血にモザイクとして機能亢進型 *GNAS* 変異を認めたことは、自律性卵巢嚢腫が機能亢進型 *GNAS* 変異関連疾患であることと矛盾しない。今後、末梢血の機能亢進型 *GNAS* 変異陰性例において、卵巢嚢腫由来 DNA での解析が望まれる。

E. 結論

自律性機能性卵巢嚢腫7例中5例において機能亢進型 *GNAS* 変異を同定した。

G. 研究発表

1. 論文発表

(英文)

なし

(和文)

なし

2. 学会発表

(海外)

1. Shibata H, Narumi S, Ishii T, Muroya K, Asakura Y, Adachi M, Sasaki G, Shibasaki T, Hara Y, Hasegawa T. Detection of somatic activating *GNAS* mutations in girls with isolated autonomous ovarian cyst by next generation sequencing. 2016.11.16-11.20 The 9th Biennial Scientific Meeting of the Asia Pacific Paediatric Endocrine Society / The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Endocrinology

(国内)

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし