

## 神経線維腫症 1 型モザイク例の遺伝学的解析と次世代伝達リスク評価 に関する研究

研究分担者 久保 亮治 神戸大学大学院医学研究科 内科系講座皮膚科学分野 教授

### 研究要旨

神経線維腫症 1 型は、*NF1*の病的バリエーションによる顕性遺伝性の疾患であるが、患者の半数以上が孤発例である。*NF1*遺伝子が巨大であるために、*de novo*に変異が入る確率が高いためと考えられている。孤発例の中には、発生過程の初期に*NF1*に生じた体細胞変異によるモザイク症例も数多い。体細胞変異が発生過程のごく初期に生じたか、比較的後期に生じたかにより、症状の分布や組み合わせが異なる。原因となった体細胞変異を持つ多能性幹細胞から始原生殖細胞が生じたか否かによって、次世代が神経線維腫症 1 型に罹患するリスクが大きく異なってくる。男性のモザイク例であれば、原因となった体細胞変異を同定し、その体細胞変異を持つ精子が何パーセント存在するかによって、次世代への伝達リスクを評価することが可能である。一方、女性のモザイク例では卵子を調べることはできないため、女性例における次世代伝達リスクの評価法は定まっていない。本研究の目的は、神経線維腫症 1 型のモザイク例において、皮膚症状の種類と分布、各細胞系列におけるモザイク率の解析を通じて、生殖細胞におけるモザイク率を推定し、次世代伝達リスクを評価することである。

本年度は、モザイク症例の神経線維腫の組織から得たゲノムDNAを用いて、原因となった体細胞変異を特定し、末梢血白血球においてその体細胞変異が検出できるかについて検討を行った。

### A. 研究目的

神経線維腫症 1 型のモザイク例において、皮膚症状の種類と分布、各細胞系列におけるモザイク率の解析を通じて、生殖細胞におけるモザイク率を推定し、次世代伝達リスクを評価する。

### B. 研究方法

神経線維腫症 1 型のモザイク症例のレジストリを構築し、同意を得られた患者からゲノム DNA の採取を行う。同意された内容により、末梢血白血球からのゲノム採取、神経線維腫および神経線維腫組織から初代培養した線維芽細胞からのゲノム採取、カフェオレ斑から初代培養したメラノサイトからのゲノム採取を行う。病変部の細胞から採取したゲノム DNA について *NF1* を次世代シーケンサによりディープシーケンシングし、発症要因となった体細胞変異を特定する。発症要因の変異を持つ末梢血白血球が存在するかどうかを、末梢血白血球由来のゲノム DNA をディープシーケンシングすることにより検索する。

（倫理面への配慮）

慶應義塾大学病院では「皮膚形成異常をきたす先天性疾患の包括的遺伝子診断システムの構築」の研究（承認番号：20120226）、神戸大学医学部附属病院では「小児遺伝性希少神経筋代謝疾患および先天異常症候群の疾患遺伝子及び疾患感受性

遺伝子同定研究」（承認番号：No. 86(遺)）および「遺伝性難病の遺伝学的検査の実施と病態解明に関する研究」（承認番号：No. 1210）の臨床観察研究に任意で同意された方から試料採取を行った。

### C. 研究結果

神経線維腫症 1 型のモザイク症例をレジストリ登録した。うち 1 例について、詳細な解析を行った。カフェオレ斑および雀卵斑様色素斑の分布範囲と神経線維腫の分布範囲が、それぞれ独立したチェッカーボードパターンとなっており、一部は重複して *superimpose* の状態であった。複数の神経線維腫から精製したゲノム DNA において共通の *NF1* 変異が同定され、その変異は神経線維腫を覆う表皮からは同定されなかった。以上より、本変異が発生期に生じた病原性の体細胞変異と考えられた。末梢血白血球において、低い頻度ではあるが同じ体細胞変異がモザイクで同定された。

### D. 考察

神経線維腫を形成する細胞はシュワン細胞系列の *NF1* 変異を持つ細胞と考えられ、外胚葉由来である。一方、末梢血白血球は中胚葉由来である。本症例では、同一の *NF1* 体細胞変異が、神経線維腫の組織と末梢血白血球との双方から同定され

た。すなわち、原因となった胎生期の体細胞変異は、外胚葉と中胚葉に分化する前の、多能性を持った幹細胞において生じたと考えられた。本症例は女性であったため確定はできなかったが、おそらく始原生殖細胞が分化するよりも前に生じた体細胞変異で、卵子においても同変異を持つ細胞が含まれていた可能性が考えられた。今後、男性例での解析を行うことが必要である。

## E. 結論

神経線維腫症1型のモザイク症例のレジストリ構築を開始した。神経線維腫症1型のモザイク症例の解析方法を検討し、病変部特異的に存在する、発症要因となった体細胞変異を同定することができた。

## F. 健康危険情報

特記すべきことなし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Hisato Iriki, Noriko Umegaki-Arao, Risa Kakuta, Harumi Fujita, Satomi Aoki, Masayuki Amagai, Takashi Sasaki, Yasuo Hamamoto, Robert Nakayama, Akiharu Kubo. Superimposition of checkerboard distribution of ephelides and neurofibromas in a patient with segmental neurofibromatosis. JAAD Case Rep 25:89-92, 2022.

久保亮治、【母斑と母斑症～モザイクをめぐる知的冒険～】私説 遺伝学的モザイクの分類と考え方、皮膚病診療 44(11):942-951, 2022

### 2. 学会発表

Akiharu Kubo, Genetic and epigenetic mosaicism in skin diseases, The 4th RIKEN BDR-Kobe University Joint Symposium Feb 1, 2023, Kobe, Japan.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし