

研究機関名：東北大学

受付番号：2015-1-98

### 研究課題名

ミトコンドリア機能異常症の遺伝子解析とその診断

研究期間 西暦 2015年 5月（倫理委員会承認後）～ 2020年 4月

### 対象試料

- 病理試料（対象臓器名 \_\_\_\_\_）  
 生検試料（対象臓器名 皮膚線維芽細胞 \_\_\_\_\_）  
 血液試料  遊離細胞  その他（尿 \_\_\_\_\_）

上記試料の採取期間 西暦 2010年 5月～2015年 4月

### 意義、目的

（目的）本研究によって、ミトコンドリア機能異常症、およびその類縁疾患の患者の遺伝子的診断を行い病気の原因と遺伝子異常を解明することを目的とする。

（意義）細胞内オルガネラの一つであるミトコンドリアは、ATPを産生し生体内のエネルギー供給を担っている。ミトコンドリア機能異常症は、ミトコンドリア機能異常の程度により重篤な全身性臓器障害から軽度の単臓器障害まで様々な病型を取りうる疾患群である。ミトコンドリア機能異常症に関わる遺伝子を同定する方法としては、第一段階として既知の病態関連遺伝子異常のスクリーニングを行う。既知の病態関連遺伝子異常を認めない場合には、第二段階として次世代シーケンサーを用いた全ミトコンドリアDNA解析、全エクソン解析ならびに全ゲノム解析を行うことで新たな病態関連遺伝子を特定できる可能性がある。これらの症例において病態関連遺伝子を検討することはミトコンドリア機能異常症の理解を大きく助けるとともに新たな病態解明と診断、治療に結びつくと考えられ、遺伝子異常を同定することは患者の今後の治療方針決定において臨床上重要な役割も持つと考えられる。

### 方法

<試料>血液、リンパ球、尿、皮膚由来線維芽細胞

2010年5月から2015年4月までの間に東北大学病院を受診したミトコンドリア機能異常症の患者さんが対象となる。対象疾患が疑われる患者さんより供与された末梢血25mlからゲノム遺伝子ならびにリンパ球cDNAを調製する。また、同じく供与された尿の尿中に含まれる細胞由来のcDNAを調製する。皮膚生検時に採取した組織検体から培養増殖させた皮膚線維芽細胞からゲノム遺伝子ならびにリンパ球cDNAを調整する。

<利用目的> ミトコンドリア機能異常症の疑いのある患者さんおよびその同胞、ご両親から採取した血液、尿、皮膚などの検体を用いて、ミトコンドリア機能異常症の原因遺伝子を特定することを目的とする。

<解析する遺伝子、遺伝子群>

原則として全ゲノム（全ミトコンドリア遺伝子を含む）を対象とした。既知のミトコンドリア機能異常症の病態関連遺伝子としては以下の領域の検索を行い、新規遺伝子の報告があった場合には随時追加する。tRNA-Leu, 12s rRNA, ND5, ND4, ND3, ATPase6, tRNA-Lys

<解析方法>

1. 既知のミトコンドリア機能異常症関連遺伝子の解析 シークエンサーまたはRFLPを用いる
2. 全ミトコンドリア遺伝子解析 Long-PCR法または次世代シーケンサーを用いる
3. ヘテロプラスミー割合の検討 既知および未知の遺伝子変異がミトコンドリアDNA領域に認められた場合、その変異のミトコンドリア内におけるヘテロプラスミー割合を、Sanger法、PCR-RFLP法、定量PCR法、ディープシーケンス法にて検討する。ミトコンドリア遺伝子に病因候補となる変異を認めない場合は全ゲノムを対象として以下の解析を行う。
4. 全ゲノムSNPチップによる連鎖解析：候補座位を検索する。
5. エクソーム解析 罹患者についてエクソンキャプチャー法を用いて抽出した全エクソン領域を次世代シーケンサーにて配列解析する。家系内の非罹患者を解析する場合、罹患者と比較することで疾患に関連した変異のみを抽出する。解析結果の確認のため変異の見られたものの一部はキャピラリーシーケンスを行う。

また、対象となる代表的な疾患名として、Leigh、MELAS、Leber、Kearns-Sayer症候群などが挙げられるが、それ以外にもミトコンドリア機能異常が疑われる疾患は多数存在すると考えられている。これらの疾患では、生まれつき何らかの重篤な機能異常が出現している。心伝導系の異常、慢性腎不

全、視力障害、聴力障害、運動障害、自閉症等の精神発達障害など、出現する症状は非常に多岐に渡っている。現在、これらのミトコンドリア機能異常症に対する治療法はなく、酵素補充療法、ビタミン剤投与に加えて、それぞれの症状に対する対症療法がなされているのみである。

### 問い合わせ等の窓口

住所：宮城県仙台市青葉区星陵町 1-1

研究機関名：東北大学大学院医工学研究科・分子病態医工学分野

および 東北大学病院 腎高血圧内分泌科

連絡先：東北大学病院腎高血圧内分泌科

電話：022-717-7163

FAX：022-717-7168

担当者氏名：阿部高明

E-mail：takaabe@med.tohoku.ac.jp