

AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

旭川医科大学研究フォーラム(2018)第18巻:

' ㄥ

は明らかにしてきた¹⁾²⁾。本疾患の本邦での頻度や地域特異性など不明な点が多く、原因不明の鉄過剰患者において、遺伝性ヘモクロマトーシス責任遺伝子の変異解析を継続し、全国での実臨床に寄与することが本研究の目的である。

【方法】

研究は旭川医科大学（承認番号 15031）および愛知学院大学の倫理委員会で承認を得て共同研究として行った。2015年8月から2017年9月までの間に日本全国の医療施設において、主治医判断で原因不明とされた鉄過剰症例から同意を得て採取された全血 7mL から QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) にて genomic DNA を抽出した。遺伝性ヘモクロマトーシスは単一の遺伝子の変異で起こるのではなく、5種類の責任遺伝子 (HFE, hemojuvelin (HJV), hepcidin (HAMP), transferrin receptor 2 (TFR2), ferroportin (FPN)) の変異に起因するものが含まれるため、これら5遺伝子について、まず gDNA から 4,563 - 11, 828bp に及ぶ比較的長い計9つの fragments を増幅させるように 1st PCR を行った。それらに対し、全ての exon 領域を網羅して解析できるように 2nd PCR を行い、最終的に計 48 fragments を得て (図1)、これらの全てに対し direct sequence を行った。

【結果】

期間中 20 症例の解析を行ったところ、14 症例において遺伝性ヘモクロマトーシス責任遺伝子群に 11 種類のアミノ酸置換をもたらす変異を認めた。HFE では H63D、HJV では Y150C、V274M、I281T および R288W、TFR2 では A75V、I238M および N402K、FPN では S209L、G490D および H507R に変異が認められた。HAMP 遺伝子では変異は認められなかった (図2)。

3) 本邦における遺伝性ヘモクロマトーシス

Hereditary hemochromatosis in Japan

研究代表者 生田 克哉

【目的】

鉄は生体にとって必要不可欠な金属元素であるが、体内に鉄が過剰に蓄積してしまうと逆に生体にとって毒性を呈し、肝臓や心臓など様々な臓器に障害を与え、予後にも影響する。本邦での鉄過剰の原因の大部分は難治性貧血に対する輸血であるが、輸血が関与していない症例も存在しており、一部に欧米で多い遺伝性ヘモクロマトーシスが存在することを研究代表者ら

【考察】

認められた遺伝子変異のうち、疾患起因性に関与するものとしては、遺伝形式の観点から (FPNのみ常染色体優性遺伝で、その他は常染色体劣性遺伝)、HJVの R288W および I281T ホモ変異、FPNの S209L、G490D および H507R ヘテロ変異は鉄過剰発症に関与していると考えられた。HJVの Y150C/V274M コン

• HFE	E1-E6	E1(515 bp), E2(511 bp), E3(518 bp), E4(491 bp), E5(418 bp), E6a(470bp)
• HFE	E4-E6	E6b(542 bp), E6c(510 bp), E6d(508 bp)
• HJV	E1-E4	E1(398 bp), E2(437 bp), E3a(461 bp), E3b(490 bp), E4a(526 bp), E4b(371 bp), E4c(414 bp), E4d(660 bp)
• HAMP	5'UTR-E3	5'UTR1(638 bp), 5'UTR2(609 bp), 5'UTR3(560 bp), 5'UTR4-E1(531 bp), E2-3(510 bp)
• TFR2	E1-E6	E1(301 bp), E2(480 bp), E3(437 bp), E4-5(547 bp)
• TFR2	E4-E17	E5-6(550 bp), E7-8(617 bp), E9(408 bp), E10(358 bp), E11-13(597 bp), E14-15(494 bp), E16(479 bp)
• TFR2	E16-E18	E17(473 bp), E18a(534 bp), E18b(535 bp)
• FPN	E1-E5	E1(689 bp), E2(404 bp), E3(424 bp), E4(395 bp)
• FPN	E5-E8	E5(542 bp), E6(583 bp), E7a(532 bp), E7b(567 bp), E8a(595 bp), E8b(420 bp), E8c(599 bp), E8d(465 bp)

図1 遺伝性ヘモクロマトーシス責任遺伝子群解析用 fragments
5 遺伝子を 9 long fragments で増幅させ、さらに 48 short fragments に分けて増幅させ、direct sequence を行う。

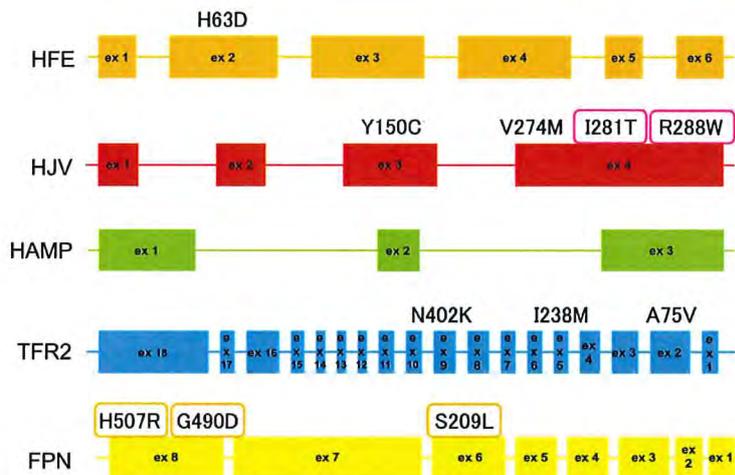


図2 本研究で発見された遺伝性ヘモクロマトーシス責任遺伝子群の変異
疾患起因性が強く疑われる変異は枠で囲まれたものである。

パウンドヘテロ変異と *TFR2* の I238M/N402K コンパウンドヘテロ変異は鉄過剰に寄与している可能性が考えられたが、確定のためにはさらなる家系調査や症例蓄積が必要であると考えられた。

本研究の結果から、遺伝性ヘモクロマトーシスは欧米で多い先天性鉄過剰症であるが、頻度は極めて稀とは思われるものの本邦でも確実に存在することがわかる。さらに、欧米では *HFE* 遺伝子の C282Y 変異の頻度が圧倒的に高いが、本邦では状況が異なり、*TFR2* など様々な遺伝子に多様な変異を認めていることから、遺伝性背景の大きな違いがわかる。本邦においても、原因不明の鉄過剰患者を診療する場合は、遺伝性ヘモクロマトーシスを鑑別に入れ、責任遺伝子変異の解析を行うことは、臨床的に非常に重要であり、本邦での解析は当研究グループしか行っていないため今後

も継続する必要があると考えている。

【文 献】

1) 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業「ヘモクロマトーシスの実態調査および診断基準作成」班研究報告書
2) Ikuta K, et al. Iron overload patients with unknown etiology from national survey in Japan. Int J Hematol. 2017 ; 105 (3) : 353 - 360.