

氏名・(本籍) 丸尾良浩(兵庫県)
学位の種類 博士(医学)
学位記番号 博士第329号
学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日 平成11年9月29日
学位論文題目 Association of Neonatal Hyperbilirubinemia with Bilirubin UDP-Glucuronosyltransferase Polymorphism
(新生児高ビリルビン血症とビリルビンUDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子多型に関する研究)

審査委員 主査 教授 木村 博
副査 教授 佐藤 浩
副査 教授 島田 司 巳

論文内容の要旨

【目的】

新生児黄疸の大部分は非抱合型高ビリルビン血症に起因し、生理的なものが殆どである。しかし、血清ビリルビン値が $206\sim 223\mu\text{mol}/\ell$ ($12\sim 13\text{mg}/\text{d}\ell$) を越える場合は、非生理的新生児高ビリルビン血症として臨床治療を要する。この非生理的新生児高ビリルビン血症は東アジアでは他の地域に比べ高頻度に見られる。ビリルビン代謝には、ビリルビンUDP-グルクロン酸転移酵素が主要な役割を演じている。そのため、その遺伝子 (*UGT1A1*) の変異は遺伝性非抱合型高ビリルビン血症である Crigler-Najjar 症候群と Gilbert 症候群をきたすが、本研究では非生理的新生児高ビリルビン血症と *UGT1A1* 変異の関係について検索した。

【方法】

県内某病院で非生理的新生児高ビリルビン血症(血清ビリルビン値 $257\mu\text{mol}/\ell$ 以上)のため光線療法を受け、黄疸増悪因子が認められなかった新生児25名(男児13名、女児12名)と、遺伝的バックグランドコントロールとして同院で出生した健康新生児50名(男24名、女26名)を対象として *UGT1A1* 遺伝子の解析をおこなった。末梢血よりゲノムDNAを抽出し、polymerase chain reaction法にて *UGT1A1* のプロモーター領域とエキソンを増幅し、ダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定した。採血は新生児の両親の同意を得て行った。コントロールの新生児では、生後1週間の間、ミノルタ黄疸計を用いて経皮ビリルビン係数を測定した。グループ間における遺伝子変異の頻度に関する統計処理は χ^2 検定を用い、コントロール群における遺伝子変異と生後一週間の経皮的ビリルビン係数の頂値との関係については、分散分析(Scheffeによる post hoc test)で検定を行った。

【結果】

UGT1A1 の解析の結果、非生理的新生児高ビリルビン血症の25例中14例にエクソン1の211番目の塩基がグアニンからアデニンに変わる点突然変異が認められた(56%)。そのため、酵素の71番目のアミノ酸がグリシンからアルギニンに置換されていた(211G→A:G71R)。また、14例中3例がホモ接合体、11例がヘテロ接合体であった。25例中2例(8%)はプロモーター領域のTATA boxに2塩基挿入変異[A(TA)7TAA]がヘテロ接合で認められた。

コントロールの50例中13例にG71Rが認められた(26%)。13例中1例がホモ接合体、12例がヘテロ接合体であった。また50例中11例にA(TA)7TAAがみられた(22%)、そのうちの2例がホモ接合体、9例がヘテロ接合体であった。50例中2例はG71RとA(TA)7TAAの複合ヘテロ接合体であった(4%)。

G71R変異の遺伝子頻度は高ビリルビン血症群(0.34)がコントロール群(0.16)に比べ有意に高かった($\chi^2=5.56$, $p=0.025$)。一方、A(TA)7TAAの変異の頻度は高ビリルビン血症群(0.04)

がコントロール群 (0.15) に比べ有意に低かった ($\chi^2=5.92$, $p<0.025$)。

コントロール群における遺伝型と生後一週間の経皮ビリルビン係数の頂値との関係は変異のない群、A(TA)7TAA のヘテロ接合体群、および G71R ヘテロ接合体群で各々 20.4 ± 2.48 ($n=24$)、 19.6 ± 1.99 ($n=9$) および 22.8 ± 1.99 ($n=12$) であり、分散分析にて 3 群間に有意な差をみとめた (df:2/42, $F=6.452$, $p=0.0036$)。さらに post hoc test でも、G71R ヘテロ接合体群の経皮ビリルビン係数は変異のない群 ($p=0.0162$)、および A(TA)7TAA のヘテロ接合体群 ($P=0.0088$) に比べ有意差が高かったが、A(TA)7TAA のヘテロ接合体群は変異のない群と比べ有意差はなかった ($p=0.6430$)。

【考 察】

今回われわれが行ったコントロール群の遺伝子解析より、日本人には *UGT1A1* の G71R の変異が 0.16 の頻度で見られ、日本人には G71R の遺伝子多型が存在することが明らかになった。G71R をもつ酵素の活性はホモおよびヘテロの状態ではそれぞれ正常の 32% および 60% であった。

G71R の変異は高ビリルビン血症群に有意に多くみられた。われわれが行っている遺伝性非抱合型高ビリルビン血症である Gilbert 症候群の遺伝子解析においても、G71R の変異は日本人にもっとも多くみられること、またこの変異は酵素活性の低下をとるものことから、G71R の変異が新生児高ビリルビン血症の危険因子であると判断した。

UGT1A1 については、その主要な変異が日本人と白人では異なっており、日本人では G71R の多型が存在した。白人では、これまでに G71R の報告はなく、A(TA)7TAA が主要な変異である。A(TA)7TAA の遺伝子頻度は、今回の検索ではコントロール群で 0.15 であり、白人で報告されている 0.33-0.4 に比べ少なかった。さらに高ビリルビン血症群ではこの変異はコントロール群に比べて有意に低かった。また、コントロール群における A(TA)7TAA のヘテロ接合体群では、生後一週間の経皮ビリルビン係数の頂値は変異をもたない群との間に差はなかった。これらの結果から、A(TA)7TAA については非生理的 newborn 高ビリルビン血症の危険因子でないと判断した。

【結論】

今回のわれわれの研究で (1) 日本人においてビリルビン UDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子の多型 (211G→A : G71R) があることを発見した。(2) G71R は非生理的 newborn 高ビリルビン血症の危険因子であった。(3) A(TA)7TAA は危険因子でなかった。(4) 遺伝的背景が人種により異なることが明らかになった。以上より日本人に非生理的 newborn 高ビリルビン血症が高頻度に認められるのは G71R が多く存在するためであると結論した。

論文審査の結果の要旨

本研究では、新生児高ビリルビン血症 (新生児黄疸) とビリルビン UDP-グルクロン酸転移酵素遺伝子 (*UGT1A1*) の変異との関係を解析し、日本人に *UGT1A1* の 211G→A : G71R の遺伝子多型があることを発見した。日本人に新生児黄疸が多いのは、その多型によることが明らかにされた。

非生理的 newborn 高ビリルビン血症 25 名とコントロール 50 名の新生児の *UGT1A1* の塩基配列決定をし、変異との関係を解析した結果、高ビリルビン血症群では G71R の遺伝子頻度が 0.34 で、コントロール群の 0.16 に比べ有意に高く、コントロール群内での経皮ビリルビン係数と変異の関係も G71R のヘテロ群が他群より有意に高かった。以上より G71R は新生児黄疸の危険因子と判断された。

従って、本論文は博士 (医学) の学位論文として価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 11 年 8 月 26 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。