

主論文の要旨

**Phosphorylated proteome analysis of a novel germline  
*ABL1* mutation causing an autosomal dominant  
syndrome with ventricular septal defect**

生殖細胞 *ABL1* 変異による心室中隔欠損を伴う  
常染色体優性遺伝症候群のリン酸化プロテオーム解析

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
発育・加齢医学講座 小児科学分野

(指導：高橋 義行 教授)

山本 英範

## 【緒言】

先天性心疾患（CHD）の多くは遺伝的素因と環境的素因の相互作用により発症すると考えられている。その一方で、CHD の約 10%が単一遺伝子疾患とも報告されており、*NKX2.5*、*GATA4* などがその原因遺伝子として知られている。近年では全エクソーム解析（WES）により新規原因遺伝子も同定されており、*ABL1* もその一つである。

*ABL1* はチロシンキナーゼを発現する前癌遺伝子であり、骨髄細胞において *BCR* と融合遺伝子を形成することで慢性骨髄性白血病を発症することが知られている。一方で、生殖細胞における *ABL1* の機能獲得型変異が CHD を伴う症候群（以下 *ABL1* 症候群）の原因になることが 2017 年に初めて報告されたが、その分子メカニズムについては殆ど未解明である。

本研究では、常染色体優性遺伝形式に心室中隔欠損症（VSD）などを呈する家系において、WES で *ABL1* の新規機能獲得型変異を発見し、培養細胞を用いたリン酸化プロテオーム解析により表現型の発症メカニズムについて検討した。

## 【対象および方法】

常染色体優性遺伝形式に VSD、指拘縮、皮膚色素脱失、成長障害を呈する日本人の 1 家系を対象とした。生存する全員（本人または代諾者）から書面で同意を取得後、数人のサンプルを用いた WES で候補遺伝子を絞った。その後、家系の全員に対して候補遺伝子のサンガーシーケンスを行い、表現型と遺伝子型が合致することを確認した。HEK293 細胞に野生型・変異型の候補遺伝子を導入して強制発現させ、各群 3 サンプルずつ蛋白を抽出し、ウェスタンブロット法で機能解析を行った。また、各表現型の発症メカニズムを検討する目的で、同抽出蛋白を用いてリン酸化プロテオーム解析を行った。二群間でリン酸化スコアの平均値が 1.5 倍以上に変動した蛋白、および片群 3 サンプルのみで検出された蛋白を選出した。選出された蛋白のうち、表現型に強く関連する Medical subject headings (MeSH) term を付与されたものに対して統計解析を行った。統計解析では、各 MeSH term 毎に false discovery rate (FDR) を算出し、 $FDR < 0.1$  で統計学的有意と評価した。本研究は名古屋大学医学部生命倫理審査委員会の承認を得て行った（承認番号：2015-0032）。

## 【結果】

WES では *ABL1* (NM\_007313.2) のチロシンキナーゼドメイン内に新規変異 (c.1522A>C, p.I508L) が認められた。家系の全員で表現型と遺伝子型が一致することが確認された。強制発現実験のウェスタンブロット法では、*ABL1* およびその下流の *STAT5* におけるチロシンのリン酸化が統計学的有意に亢進しており、機能獲得型変異であることが示された。リン酸化プロテオーム解析では、本家系に認められた表現型に強く関連する MeSH term (“heart defect, congenital”, “limb abnormalities, congenital”, “hypopigmentation”, “failure to thrive”) に加え、本症候群の既報において高率に合併することが報告されている表現型（精神発達遅滞、男性器奇形）に関連する MeSH term

（“intellectual disability”, “urogenital abnormalities”）を付与された蛋白を選出して統計解析した結果、UFD1、AXIN1、ATRXなどで有意なリン酸化スコアの変動を認めた。(Table)

### 【考察】

*ABL1* 症候群は現在までに 13 症例（2 家族例を含む）が報告されているが、ほとんどが孤発例であり、またその発症メカニズムは殆ど解明されていない。本研究には 2 つの新規性がある。

第一に、本家系は 7 人で機能獲得型変異が確認された最大家系であった。その理由として、本家系の表現型が軽症であったことが考えられる。既報の *ABL1* 症候群では、精神発達遅滞、男性器奇形といった、社会適応や生殖に影響を及ぼす表現型が高頻度に確認されていたが、本家系では CHD 以外に医療介入を要する合併症はなく、全員が社会適応していた。また CHD に関しても、既報ではファロー四徴症などの中等度複雑型疾患が散見されたが、本家系では全員が VSD、すなわち単純型疾患であった。これらの所見は、*ABL1* 症候群は遺伝子変異の場所やタイプによって、表現型やその重症度が多岐に渡る可能性を示している。

二点目の新規性は、リン酸化プロテオーム解析で表現型の発症メカニズムを検討したことである。MeSH term “Heart defect, congenital”を付与された 3 つの統計学的有意な変動を確認された蛋白のうち、UFD1 は 22q11.2 欠失症候群の CHD 発症に関与することが知られている蛋白である。22q11.2 欠失症候群に合併する CHD の殆どは、ファロー四徴症や大動脈異常などの心臓流出路に異常を呈する疾患である。*ABL1* 症候群の既報 13 症例中、11 例が CHD を呈していたが、そのうち 8 症例が心臓流出路の異常を伴っていた。また、本研究の家系における CHD は全例が VSD であったが、大変興味深いことにいずれも漏斗部欠損型、すなわち流出路側組織である肺動脈弁下中隔の欠損であった。これらの所見は、*ABL1* 症候群の心臓発生において 22q11.2 欠失症候群と共通するメカニズムが存在する可能性を示唆している。心臓以外の表現型に関しては、リン酸化亢進が確認された蛋白の中でも、ATRX が骨格異常、成長障害、発達遅滞、男性器奇形に、AXIN1 が軟骨形成障害にそれぞれ関連することが知られており、これらの分子が発症に関与している可能性が考えられる。今後、ノックインマウスを用いたこれらの仮説の検証が期待される。

### 【結語】

*ABL1* 症候群は変異によって表現型やその重症度が多岐に渡ると考えられた。また、UFD1、AXIN1、ATRX のリン酸化が発症メカニズムに関与している可能性が考えられた。