

## LEBER 病におけるミトコンドリア DNA 解析

～ハプロタイプ決定の取り組み～

©松下 瑞季<sup>1)</sup>、安本 龍馬<sup>1)</sup>、中崎 信彦<sup>1)</sup>、櫻井 慶造<sup>1)</sup>、内田 一弘<sup>1)</sup>、棟方 伸一<sup>1)</sup>、狩野 有作<sup>2)</sup>  
北里大学病院 臨床検査部<sup>1)</sup>、北里大学医学部 臨床検査診断学<sup>2)</sup>

【目的】レーベル遺伝性視神経症(LEBER 病)は若年男性に好発し、急性または亜急性に両眼の視力低下と中心暗点を認め、視神経萎縮にいたる疾患である。原因は、ミトコンドリア DNA(mtDNA)の点変異であり、m.11778G>A、m.3460G>A、m.14484T>C などが報告されている。これらは MITOMAP(<http://www.mitomap.org/>)の LHON Mutations に登録されている。2015 年に難病認定を受けたが、不明な点が多く病態解明と治療法の開発が進められている。当検査室では上記 3 種類を含めた計 7 種類の点変異を標的として解析を行っているが、LHON Mutations に登録されていない一塩基置換も検出されている。その解釈や LEBER 病との関連を明らかにするためには、mtDNA のハプロタイプを決定する必要があるが、解析法には明確な基準がない。よって、今回ハプロタイプを決定する解析法について検討した。

【方法】末梢血から、市販のキットを用いて DNA を抽出し、Long PCR にて mtDNA を 3 領域に分けて増幅した。その後、シーケンス解析を行いハプロタイプを決定した。手順は、①MITOMAP の The revised Cambridge Reference

Sequence (rCRS)との比較②LHON Mutations への登録の有無確認③日本人のハプロタイプの簡易スクリーニング

④Reconstructed Sapiens Reference Sequence (RSRS)との比較

⑤ハプロタイプ決定に考慮されない一塩基置換の除外⑥ハプロタイプの検索⑦推定されるハプロタイプとの比較、とし、当検査室に検査依頼があった 1 例を対象に解析した。

【結果】ハプロタイプの決定手順に従い解析した結果、ハプロタイプは F1b と決定された。

【考察およびまとめ】今回、検討した解析法でハプロタイプを決定することができた。しかし、一塩基置換の検出に用いる rCRS とハプロタイプを決定するための RSRS の塩基配列が異なるなど解釈には複雑な点が多く、手順が煩雑であった。また、LHON Mutations に登録されていない一塩基置換が検出された場合、その解釈にはハプロタイプの決定が必要不可欠であると考えられた。今後、より多数例の検体解析を行い、LEBER 病とハプロタイプとの関連性を含めて検討を推進していきたい。

連絡先：042-778-9714