

論文審査の要旨

報告番号	総研第 332 号	学位申請者	樋口 雄二郎
審査委員	主査	武田 泰生	学位 博士 (医学)
	副査	橋口 照人	副査 久保田 龍二
	副査	佐野 輝	副査 中村 雅之

Mutations in *MME* Cause an Autosomal-Recessive Charcot-Marie-Tooth Disease Type 2

(*MME* 遺伝子変異は常染色体劣性遺伝型シャルコー・マリー・トゥース病タイプ2の原因である)

Charcot-Marie-Tooth 病 (CMT) は、遺伝性ニューロパチーの中でもっとも代表的な疾患であり、これまで 70 以上の原因遺伝子が報告されているが、未知の原因遺伝子が多く存在する。そこで学位申請者らは、原因未同定の CMT 多数例を対象に、次世代ゲノムシーケンサーを用いたエクソーム解析を行い、常染色体劣性遺伝型 CMT (AR-CMT) の新規原因遺伝子の同定を試みた。CMT 症例 726 例 (初解析 372 例、追解析 354 例) の DNA 検体を収集し、初解析群 372 例を対象にマイクロアレイ法による CMT 既知遺伝子の変異解析を実施し、陰性症例 303 例にエクソーム解析を実施した。次に、303 例の中から、AR もしくは孤発例の症例 163 例を選出し、複数の症例間で共有する新規のホモ接合性変異を抽出することで AR-CMT の候補遺伝子を絞り込んだ。さらに 354 例の追解析群を対象に候補遺伝子の変異解析を実施した。同定した候補遺伝子変異の病的意義を検証するため、臨床的、遺伝学的、病理学的そして放射線学的検討を行った。一部の症例を対象に認知機能評価、頭部 CT/MRI、アミロイド PET、segregation analysis、RT-PCR 法 (reverse transcription - polymerase chain reaction) を用いた mRNA 解析、腓腹神経組織における抗 NEP 抗体を用いた免疫組織染色および Western blot 法によるタンパク発現解析を実施した。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) CMT 症例 726 例中 10 例に *MME* 遺伝子 (membrane metalloendopeptidase) のホモ接合性もしくは複合ヘテロ接合性変異を同定した。
- 2) 変異はミスセンス変異 1 例、ナンセンス変異 2 例、欠失変異 1 例、スプライス部位変異 6 例であった。
- 3) 臨床的には高齢発症の軸索型ニューロパチーという共通の表現型を呈していた。
- 4) 認知機能低下、頭部 MRI/CT での脳萎縮所見を認めた症例はなく、アミロイド PET を施行した 1 例では、アルツハイマー病 (AD) に特徴的な大脳白質への β アミロイド集積亢進所見は認めなかった。
- 5) segregation analysis を実施できた 6 家系において、*MME* 変異はそれぞれの家系内で共分離していた。
- 6) 同定されたスプライス部位変異およびナンセンス変異は、RNA 解析により、それぞれスプライシング異常 (エクソンスキッピング) および mRNA 発現消失を引き起こしていた。
- 7) 疾患コントロールの腓腹神経組織の免疫染色にて、末梢神経系に neprilysin (NEP) が発現していることを明らかにし、*MME* 変異症例の腓腹神経組織の免疫染色および Western blot 解析では、NEP の発現は低下ないし消失していた。

原因未同定 CMT 多数例のエクソーム解析の変異データから、overlap strategy を用いて AR-CMT の新規原因遺伝子 *MME* を同定した。さらに、DNA レベル、RNA レベル、Protein レベルで *MME* 変異が病的変異 (機能喪失性変異) であることを証明し、AR-CMT2 の原因遺伝子であると結論づけた (AR-CMT2T と命名)。また、*MME* がコードする NEP は、アルツハイマー病 (AD) の発症に関与する β アミロイドを分解する主要酵素であることが知られているが、*MME* 変異症例では、AD の発症を示唆する所見はなく *MME* 変異は若年性家族性 AD の原因としては十分ではないと考察した。NEP の末梢神経系での機能は不明であるが、過去の文献から NEP は末梢神経の発達、軸索再生に重要な働きがあり、神経細胞の代謝・処理にも関与しているのではないかと推測され、その機能不全により末梢神経の変性をきたすのではないかと考察した。

本研究により、AR-CMT 患者の分子診断率は 22% から 35% と向上し、さらに *MME* 遺伝子の異常は AR-CMT の中では最も頻度の高い原因であることが明らかにした。この研究は、末梢神経系の変性のメカニズムの解明および今後の治療開発にも大きく貢献しうるものと考えられる。よって本研究は学位論文として十分な価値を有するものと判定した。