

論文審査の要旨

報告番号	総研第	号	学位申請者	笠毛 溪
審査委員	主査	高嶋 博	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	久保田 龍二	副査	武田 泰生
	副査	橋口 照人	副査	橋口 昭大

A PRIMPOL mutation and variants in multiple genes may contribute to phenotypes in a familial case with chronic progressive external ophthalmoplegia symptoms

(PRIMPOL 変異と複数の遺伝子バリエーションが表現型に関与すると考えられた慢性進行性外眼筋麻痺症候を呈した家系)

ミトコンドリア病はミトコンドリア DNA (mtDNA) の変異や核遺伝子変異により引き起こされ、その中でも慢性進行性外眼筋麻痺症候群 (CPEO) は、慢性に進行する外眼筋麻痺や眼瞼下垂、四肢の筋力低下などを特徴とする疾患であり、典型的には筋の mtDNA の多重欠失と ragged red fiber の筋病理を特徴とする。通常、常染色体顕性 (優性) または潜性 (劣性) の遺伝形式の核遺伝子変異が mtDNA 多重欠失の原因となり、CPEO を引き起こす。今回我々は、精神症状に加え CPEO 症候を呈した家系において、ミトコンドリア遺伝子および全エクソーム解析を含め遺伝子変異解析を行った。

その結果、本研究で以下の知見が明らかにされた。

- 1) 発端者の上腕二頭筋の筋病理では ragged red fiber は認めなかったが、筋由来の mtDNA に多重欠失を認めた。
- 2) *POLG*, *POLG2*, *C10orf2*, *SLC25A4*, *ECGF1*, *OPA1*, *WFS1*, *RRM2B* 遺伝子の coding 領域及び 1kb 上流領域についてサンガー法による配列解析を行なったが病的変異は認めなかった。
- 3) 全エクソーム解析で抽出されたバリエーションから mtDNA または複製に関わる遺伝子を抽出し、3つの病的変異 *PRIMPOL* (Y89D)、*BRCA1* (G275D)、*CPT2* (V605L) がヘテロ接合性に共分離していた。*PRIMPOL* (Y89D)、*BRCA1* (G275D) は DNA 損傷について、*CPT2* (V605L) はミトコンドリア障害について共分離していると考えられた。またホモ接合性のバリエーションから非常に稀な変異を抽出したところ、家系内で難聴と *GJB2* (L79Cfs) は共分離していた。
- 4) *CPT2* 遺伝子の熱不安定性多型である F352C と V386I も同定された。また、発熱や炎症に関連した遺伝子の機能多型として *CARD8* (V98Kfs) と *MEFV* (L110P、E148Q) も同定された。

PrimPol はミトコンドリアに局在し、RNA/DNA プライマーゼと DNA ポリメラーゼ活性の機能を有し、核やミトコンドリアの DNA 修復と損傷乗り越え修復に関与していると言われている。Y89D 変異をトランスフェクションした細胞は、UV・ダメージを受けた際の細胞生存率の低下や DNA 修復速度の著しい低下を来すと報告されており、発端者の Y89D 変異が mtDNA 複製に損傷を来し、mtDNA 多重欠失をもたらしたことが推測された。*CPT2* の V605L 変異と F352C 及び V386I の多型は熱不安定性多型で、高熱下では非常に酵素活性が低下しミトコンドリア障害を引き起こすとの報告がある。加えて発端者では熱関連遺伝子である *CARD8* 遺伝子と *MEFV* 遺伝子の機能多型を有していた。*GJB2* の L79Cfs 変異は先天性難聴の原因であるが、mtDNA 多重欠失による ATP 産生減少との相乗作用により、発端者の難聴の重症度に影響を与えた可能性が考えられた。これら複数の遺伝子産物の機能障害が発端者家系の CPEO 症候に関連していることが示唆された。

本研究は、複数の遺伝子変異や遺伝子バリエーションの機能的関連が CPEO の病因となる可能性を示したものであり、学術的に学位論文として十分な価値を有するものと判定した。