

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	Tofazzal Md Rakib
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 矢吹 映
	副査 山口大学 教授 高木 光博
	副査 鹿児島大学 教授 三浦 直樹
	副査 鹿児島大学 教授 有村 卓朗
	副査 鹿児島大学 准教授 宇野 泰広
審査協力者	鹿児島大学 教授 大和 修
題 目	Study on the molecular bases of feline Pompe disease and Niemann-Pick disease type C (猫のポンペ病およびニーマン・ピック病C型の分子基盤に関する研究)
審査の要旨:	
<p>申請者の Tofazzal Md Rakib 氏は、猫の糖原病 II 型 (ポンペ病、PD) およびニーマン・ピック病 (NP) の既報の症例について、それらの保存されていたパラフィンブロック標本から抽出された DNA を用いて、猫 PD および NP の C 型の新規変異を同定した。これらの目的を達成するために、以下の第 1 章と第 2 章の研究が実施された。</p> <p>第 1 章: Investigation of genetic defects responsible for Pompe disease in a domestic short-haired cat (短毛雑種猫に認められたポンペ病の原因遺伝子変異の解析)</p> <p>PD は、ライソゾーム内のグリコーゲン水解反応を触媒する <i>GAA</i> 遺伝子でコードされる酸性 α-グルコシダーゼの欠損によって生じる常染色体性劣性の進行性の筋・神経変性性疾患である。また、本疾患は糖原病の II 型に分類され、糖原病では唯一ライソゾーム蓄積病に含まれる疾患である。近年、若齢の短毛雑種猫において、肥大型心筋症および心筋細胞へのグリコーゲンの過剰蓄積などの特徴的な所見に基づいて、臨床的および病理学的に PD が診断された。本研究は、保管されていた本症例のパラフィンブロック標本から抽出された DNA を用いて、猫 <i>GAA</i> 遺伝子のエクソンおよびエクソン-イントロン接合部を解析し、猫 PD の原因変異を同定するために実施された。Sanger シーケンス法で解析して得られた複数の候補変異について、<i>in silico</i> 解析法を用いて、それら候補変異による <i>GAA</i> 蛋白の有害性や不安定性を見積もり、最終的に候補変異を <i>GAA:c.1799G>A</i> (p.R600H) に絞り込んだ。この変異はヒトの新生児発症型ポンペ病患者でも報告されていた変異であったこと、ならびに予備的な猫集団スクリーニング調査で同変異を有する猫が認められなかったことから、本変異が猫 PD の原因変異であると証明された。</p>	

第2章：Molecular investigation of genetic defects responsible for Niemann-Pick type C disease in a Siamese and a Japanese domestic cats (シヤム猫および日本猫に認められたニーマン・ピック病C型の原因遺伝子変異の解析)

NPのC型は、コレステロールや各種糖脂質が進行性にライソゾームおよび後期エンドソーム内に蓄積し、進行性致死性の神経変性を引き起こすライソゾーム蓄積病である。NPのC型は、コレステロールの輸送と代謝に関与する *NPC1* 遺伝子あるいは *NPC2* 遺伝子のいずれかの異常によって生じる。これまでに国内では、NPのC型と考えられるシヤム猫および日本猫が報告されていた。本研究は、保管されていたこれらの症例のパラフィンブロック標本から抽出されたDNAを用いて、猫 *NPC1* 遺伝子および *NPC2* 遺伝子のエクソンおよびエクソン-イントロン接合部を解析し、これら猫NPの原因変異を同定するために実施された。Sangerシーケンス法で解析して得られた複数の候補変異について、*in silico* 解析法を用いて、それら候補変異による *NPC1* および *NPC2* 蛋白の有害性や不安定性を見積もり、最終的に両症例に共通の候補変異を *NPC2:c.376G>A* (p.V126M) に絞り込んだ。この変異は、すべての *in silico* 解析で有害かつ不安定性を導き、当該シヤム猫ではホモ接合で日本猫ではヘテロ接合であったことから、本変異が一つの原因であることが証明された。また、当該日本猫では、スプライシング領域に *NPC2:c.364-4C>T* が同定されたため、この変異がもう一つの原因になっていることが示唆された。また、予備的な猫集団におけるスクリーニング調査で、両変異を有する猫が認められなかったことから、両変異が猫NPのC2型の原因であると強く示唆された。

以上のように、本研究においては、猫PDおよびNPのC2型の原因変異を明らかにすることができた。猫PDでは、*GAA:c.1799G>A* (p.R600H) が猫の同疾患での初めての遺伝子変異の報告となった。猫NPでは、NPのC2型の変異として *NPC2:c.376G>A* (p.V126M) が同定され、これは猫の同疾患の2番目の報告となった。また、*NPC2:c.364-4C>T* も同疾患の原因変異の一つであると示唆された。本研究の成果は、猫の遺伝子病学および獣医臨床遺伝学の発展に大きく寄与するものと考えられた。さらに、これらの変異を有する猫は、将来的にヒトのPDやNPの重要なモデルになり得ると考えられた。

以上により、本論文は博士（獣医学）の学位に十分に値すると判断された。