

審査の結果の要旨

氏名 大久保 真理子

我々は小児期発症脳小脳失調症の2家系3患者において新規遺伝子 *X* に変異を同定し、培養細胞、モデルマウスの作製によりその病因性を証明することを目的とし本研究を行い、下記の結果を得ている。

1. 小脳萎縮、筋力低下、軽度の知的障害を呈する常染色体劣勢遺伝形式をとる2家系3患者において、全エクソーム解析を行い両アレル性（ミスセンス変異、フレームシフト変異）の *X* 遺伝子変異を同定した。
2. 培養細胞に *X* 遺伝子変異体を過剰発現させたところ、ミスセンス変異 *X* の過剰発現が局在変化を示すとともに、細胞死を引き起こすことがわかった。この結果より *X* 遺伝子のミスセンス変異は過剰発現により強い神経細胞に対する障害性を有することが示唆された。
3. CRISPR-Cas9 システムを用いて、ヒト患者で見出された変異を有するノックインマウスを作製した。ミスセンス変異ノックインマウスはホモ接合性では生まれてこず、胎生致死であった。この結果は、2の細胞実験の結果と一致していた。これにより、ヒトの表現型を再現するためには、ヒトと同じミスセンス変異とフレーム変異の複合ヘテロ接合性変異を正確に模倣する必要があると推察された。
4. CRISPR-Cas9 システムを用い、フレームシフト変異ノックインマウスを作製し、ミスセンス変異ノックインマウスと掛け合わせることで、複合ヘテロ接合マウスを作製し、解析をおこなった。その結果、変異マウスでは低体重と運動失調を示した。
5. 変異マウスの脳組織の形態学観察では、小脳萎縮を呈した。発生・分化の過程における経時的な観察からは、小脳発達の容量増加が不十分であった。組織染色の結果、発生初期段階から顆粒細胞の移動不良を認めるとともに、Purkinje 細胞の樹状突起伸長不全を認めた。これらの形態学的異常により、小脳萎縮が引き起こされていると推察された。

以上の結果から、本研究より *X* 遺伝子の機能喪失が小脳萎縮、さらに運動失調を引き起こすことが示された。本遺伝子は疾患の原因としての報告はなく、小児期発症の小脳失調症の新規原因遺伝子を発見したことは、病態解明に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。