

審査の結果の要旨

氏名 成瀬 紘也

本研究は exome 解析を含む網羅的ゲノム解析情報に基づき、筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic lateral sclerosis: ALS) のゲノム基盤を明らかにすることを目的としたものである。ALS の病因遺伝子の変異解析を単一遺伝子疾患および多因子疾患の 2 つの側面から実施しており、下記の結果を得ている。

1. 単一遺伝子疾患としての ALS の側面からの解析では、網羅的ゲノム解析情報を用いて ALS の病因遺伝子における病原性変異を同定し、日本人の ALS の分子疫学を明らかにした。当科の家族性 ALS (FALS) の 87 家系のうち 49 家系 (56.3%) に病原性変異を同定し、exome 解析による網羅的な遺伝子解析の有用性を示した。*SOD1* 変異が最も多く (36.8%) 病因遺伝子として同定されたが、欧米の ALS 集団で最多である *C9ORF72* 変異の頻度は低く (2.3%)、集団による ALS の分子疫学の違いを示した。
2. Exome 解析による ALS の病因遺伝子の変異解析から、*HNRNPA1*, *TBK1*, *VCP* の各遺伝子の新規変異を日本人の FALS 家系で同定した。この 3 家系の臨床病型の検討に加え、変異の健常対照例での頻度、変異の部位 (特定のドメイン・疾患変異の好発部位)、機能予測による変異の有害性の評価、培養細胞を用いた機能解析実験での病原性の評価等を検討し、いずれも病原性変異である可能性が高いことを示した。
3. 今回同定した *HNRNPA1* 遺伝子の新規変異 (p.P288A) について、ALS の病態に関与するストレス顆粒 (SG) の形成との関連についての機能解析実験を実施した。新規の変異型 (p.P288A) の hnRNPA1 を発現させると、野生型や ALS の既報告の変異型 (p.D262V) と比較して、多くの SG の形成が観察された。本変異が hnRNPA1 の核局在シグナル (nuclear localization signal: NLS) に位置することから、hnRNPA1 の NLS の機能に着目し、NLS の機能が保持あるいは障害される変異でそれぞれの SG の形成量を比較したところ、NLS の機能が障害される変異の導入により、多くの SG 形成が観察されることを見出した。今回の新規変異も含めた、NLS の機能障害により SG 形成が増加することが示され、*HNRNPA1* 遺伝子の NLS に位置する変異による SG 形成の増加は、従来想定されたプリオン様ドメイン (PrLD) に位置する変異によるものとは異なるメカニズムが関与している可能性が考えられた。NLS の機能障害が ALS の病態に重要な役割を果たす可能性を示した。
4. 孤発性 ALS (SALS) 症例 (377 例) について exome 解析を含む網羅的ゲノム解析に基づき ALS の病因遺伝子を探索した。SALS の 12 例 (3%) に既知の病原性変異を検出

した。 *SETX* 遺伝子の既知の病原性変異を 1 例で同定し、若年発症である点を含め既報告の臨床病型と合致しており、 *de novo* 変異の可能性が考えられた。一方で、SALS の大部分の症例で ALS の病因遺伝子の病原性変異が検出されないことも示した。

5. 多因子疾患としての ALS の側面からの解析を実施した。最近の大規模 exome 関連解析により、LoF (loss of function: 機能喪失型) バリエントと SALS 症例との関連が見出された *NEK1*, *TBK1* 遺伝子について、日本人の SALS 症例でも同様に関連が見られるかを検討した。SALS 群で健常対照群よりも有意に多くの LoF バリエントが検出され、これらの LoF バリエントが ALS の病態に関与する可能性を示した。
6. さらに網羅的 exome 解析情報を用いて、ALS の病因遺伝子上の複数のバリエントが臨床病型を修飾するかについての検討を行った。ALS の病因遺伝子の、病原性変異と考えられるバリエントおよび deleterious と考えられる稀なバリエントを解析対象とした。ALS の病因遺伝子に 2 個以上の稀なバリエントをもつ症例 (全体の 3.3% (FALS の 8.4%, SALS の 2.0%)) は、その他の症例よりも発症年齢が有意に早いことを示した。病原性変異を含む症例を除いて、deleterious と考えられる稀なバリエントのみを対象とした解析でも、稀なバリエントの重複により発症年齢が有意に早くなる同様の結果であることを初めて示した。病原性変異が同定されない ALS 症例に、多因子遺伝が関与する可能性を示す一つの結果であると考えられた。

以上、本論文は、exome 解析を含む網羅的ゲノム解析情報に基づき、ALS のゲノム基盤を明らかにした。FALS 家系において *HNRNPA1*, *TBK1*, *VCP* 遺伝子の新規の病原性変異を同定し、ALS の分子遺伝疫学としてまとめた。*HNRNPA1* の新規変異は NLS に位置しており、NLS の機能異常と ALS の病態に関わる SG の形成との関連を機能解析実験から明らかにした。さらに、*NEK1*, *TBK1* 遺伝子の LoF バリエントが SALS 群で多いこと、ALS の病因遺伝子の稀なバリエントの重複により、ALS の発症年齢が早期化することを、日本人 ALS で初めて示した。これらの ALS のゲノム基盤の解明は、ALS の病態解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。