

論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称	博 士 （ 医 学 ）	氏名	原 圭 一
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1・2 項該当		
<p>論 文 題 目</p> <p>Significance of <i>ACADM</i> mutations identified through newborn screening of MCAD deficiency in Japan.</p> <p>(本邦における中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症新生児スクリーニングより発見された <i>ACADM</i> 遺伝子変異の重要性)</p>			
<p>論文審査担当者</p> <p>主 査 教 授 稲 葉 俊 哉 印</p> <p>審査委員 教 授 川 上 秀 史</p> <p>審査委員 教 授 工 藤 美 樹</p>			
<p>[論文審査の要旨]</p> <p>先天性代謝異常症の早期診断・治療を目的とした新生児マススクリーニングは、本邦では 1977 年にガスリー法による 5 疾患を対象に開始され、早期治療と長期予後改善に多大な貢献をしてきている。欧米では 1990 年代に、直列に結合した質量分析計を用いたタンデムマス法が新生児マススクリーニングに導入され、大きな成果を上げている。本邦でも 1997 年よりタンデムマス法による新生児マススクリーニングが試行され、2014 年からは全国都道府県・政令指定都市において実施されるに至った。この際に 19 疾患に拡大された対象疾患に中鎖アシル CoA 脱水素酵素 (MCAD) 欠損症が含まれている。</p> <p>MCAD は脂肪酸 β 酸化系の第一段階に働く酵素である。MCAD 欠損症患者は通常 3 歳以前に、発熱や飢餓時間の遷延を契機に急性脳症様の発作で発症し、発症した小児の多くは初回発作で突然死するか重い神経学的後遺症を遺す。新生児マススクリーニングで発症前診断が可能となれば、保護者に対し長時間飢餓の防止や高熱を伴う感染時の医療機関への早期受診など、適切な対応をあらかじめ指導することで急性発症を防ぐことができ、患児は正常な発育・発達が期待できる。MCAD 欠損症は他の先天性代謝異常疾患同様、生化学診断、酵素学的診断、遺伝子診断の組み合わせで確定診断される。欧米の MCAD 欠損症の 90% 以上を占める K329E 変異蛋白の特性は詳しく検討がなされている。また 2 番目に多い Y67H 変異はスクリーニング陽性者にのみ見つかри、急性発症した症例には見つかっていないため、一</p>			

塩基多型 (SNP) である可能性が否定できず、保護者への指導上の問題を残している。ところが、本邦患者やマススクリーニング陽性例ではこれらの変異は皆無であり、本邦例の変異蛋白の特性を検討する必要性が生じた。

本研究では、急性発症した日本人 MCAD 欠損症患者 5 人とマススクリーニング陽性者 8 人に同定された 11 の変異蛋白と、欧米における好発変異 (K329E, Y67H) の病原性について検討を行った。正常・変異 MCAD を培養細胞 (HEK293) に導入し過剰発現させたところ、免疫ブロット法では本邦における好発変異 P128X および急性発症患者で同定された P92L では MCAD 蛋白発現がみられなかった。さらに細胞抽出液を可溶性分画および不溶性分画に分けて検討すると、急性発症患者で同定された 2 つの変異を含む 3 つの変異蛋白 (P92L, Y397L, Q45R) は不溶性分画に多く発現しており、蛋白の折り畳み異常や凝集の可能性が考えられた。

次に変異 MCAD 遺伝子を導入した細胞抽出液の MCAD の比活性を、高速液体クロマトグラフィーで反応生成物を定量することにより測定した。欧米人好発変異 K329E および Y67H の残存活性は野生型に比し、それぞれ 28.6%, 62.5% で、これまでの報告と同様であった。本邦患者とマススクリーニング陽性者に認められた変異では P128X が検出感度以下、3 つの変異 (R281S, G362E, Y397N) で 1% 程度の残存酵素活性であった。一方、主にマススクリーニング陽性者に見つかった 5 つの変異 (R53C, K271E, M274V, I416T, R17H) では 50% 以上の活性を有していた。

急性発症は発熱時に認められることが多いため、酵素の熱に対する安定性検討は重要である。実際に K329E は高温条件下 (40°C) で活性が大きく下がることが知られている。比較的活性の保たれていた 4 つの変異 (R17H, K271E, M274V, I416T) については反応温度を 40°C とした場合の活性を 37°C の場合と比較したところ、マススクリーニング陽性者に見つかった M274V では K329E のような高温条件下での著明な活性低下がみられた。

MCAD 欠損症のマススクリーニング陽性者には急性発症のリスクの高いものとそうでないものが含まれている可能性がある。本検討から、従来からの陽性者白血球を用いた酵素診断の有用性が確認され、遺伝子解析結果と組み合わせることで陽性者の発症リスク評価の一助となることが明らかとされた。

以上の結果から、本論文は新生児マススクリーニングで発見される本邦の MCAD 欠損症の精確な診断法として、先天代謝異常症の早期診断と治療に貢献すること大である。よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。