

氏名(生年月日)	ヤナギ 柳 澤 暁 子
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第444号
学位授与の日付	平成20年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	<b>New POMT2 mutations causing congenital muscular dystrophy: Identification of a founder mutation</b> (先天性筋ジストロフィーの原因となる新しい POMT2 変異と, 創始者変異の同定に関する研究)
主論文公表誌	Neurology 第69巻 1254-1260頁 2007年
論文審査委員	(主査) 教授 大澤真木子 (副査) 教授 岩田 誠, 高桑 雄一

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

先天性筋ジストロフィー (CMD) は早期に発症する常染色体劣性遺伝の筋疾患で, 筋組織のジストロフィー変化を特徴とする。特に福山型 CMD, 筋・眼・脳病 (MEB), Walker-Warburg 症候群 (WWS) は, 中枢神経異常, 眼所見を伴い, その病態には筋肉の膜構造を構成している膜蛋白, 特に  $\alpha$ ジストログリカン ( $\alpha$ DG) と呼ばれる糖蛋白の異常が関連し, この異常は少なくとも6つの蛋白をコードする遺伝子 (*FKTN*, *POMGNT1*, *POMT1*, *POMT2*, *FKRP*, *LARGE*) の変異で生ずることが判明している。これらの遺伝子の変異は臨床的重症度において広いスペクトラムの CMD を呈し, 特に *POMT1* と *POMT2* の変異では最重度の WWS から軽度の CMD までの臨床像の報告がある。今回, 精神遅滞, 小頭症,  $\alpha$ DG 異常を伴った CMD 4 症例に今まで報告のない *POMT2* 変異を認めた。さらに共通の *POMT2* 変異を有した CMD 症例と家族に対しハプロタイプ解析を行い, ヨーロッパ人種間に新しい創始者変異が同定できたので報告する。

### 〔方法〕

精神遅滞と  $\alpha$ DG 異常を伴った CMD 症例のなかで *FKRP*, *POMGNT1*, *POMT1* 異常を否定した症例に対し, *POMT2* 遺伝子シーケンスを行った。さらに共通の *POMT2* 変異を認めた症例と同家族に対し, *POMT2* の上流, 下流側に位置するマイクロサテライトマーカーと, *POMT2* 内の SNP を設定し, ハプロタイプ解析を行った。

### 〔結果〕

*POMT2* の今までに報告のないミスセンス変異をホモ接合性に2症例に認め, 同変異を他の6症例にヘテロ接合性に認めた。このヘテロの中の2例ではその対立遺伝子に *POMT2* の新たなミスセンス変異とナンセンス変異とを個々に認めた。さらに共通のミスセンス変異に対して行ったハプロタイプ解析の結果, この8家系においては共通の *POMT2* を含む 170kb の遺伝子座に同じハプロタイプを共有していることが判明した。

### 〔考察〕

*POMT2* 異常では, 現在まで臨床的に最重度の WWS 3 症例と MEB 様 CMD 1 例が報告されているが, 今回2つの対立遺伝子を明確にできた *POMT2* 変異をもつ4症例は表現型が WWS よりも軽症であるという重症度における共通点を認め, 遺伝子型と表現型の関連が示唆された。またハプロタイプ解析の結果から *POMT2* を含む 170 kb の遺伝子座に共通のハプロタイプを認め, その変異が特異的ミスセンス変異であり, かつヨーロッパ人種間における創始者変異であることを明らかにした。

### 〔結論〕

精神遅滞, 小頭症,  $\alpha$ DG の異常を伴った CMD 症例に新しい *POMT2* 変異を認め, *POMT2* 変異と表現型の関連

が示唆された。さらにハプロタイプ解析の結果、症例共通の特異的ミスセンス変異がヨーロッパ人種間における創始者変異であることを明らかにした。

### 論文審査の要旨

先天性筋ジストロフィーは常染色体劣性遺伝性疾患である。特に福山型 CMD, 筋・眼・脳病(MEB), Walker-Warburg 症候群(WWS)は、中枢神経異常, 眼所見を伴い、その病態には筋肉の膜構造を構成している膜蛋白, 特に $\alpha$ ジストログリカン ( $\alpha$ DG) と呼ばれる糖蛋白の異常が関連し、少なくとも6つの蛋白をコードする遺伝子 (*FKTN*, *POMGNT1*, *POMT1*, *POMT2*, *FKRP*, *LARGE*) の変異で生ずる。これらの遺伝子の変異は臨床的重症度において広いスペクトラムの CMD を呈し、特に *POMT1* と *POMT2* の変異では最重度の WWS から軽度の CMD までの報告がある。本研究では精神遅滞, 小頭症,  $\alpha$ DG の異常を伴った CMD 症例に新しい *POMT2* 変異を認め、*POMT2* 変異と新たな表現型の関連が示唆された。さらにハプロタイプ解析の結果、症例共通の特異的ミスセンス変異がヨーロッパ人種間における創始者変異であることを明らかにした。本論文はこの点で価値がある。

51

氏名(生年月日)	ノ 野 崎 貴 之
本 籍	
学位の種類	博士(医学)
学位授与の番号	甲第445号
学位授与の日付	平成20年3月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当(医学研究科専攻, 博士課程修了者)
学位論文題目	<b>Transportation of transplantable cell sheets fabricated with temperature-responsive culture surfaces for regenerative medicine</b> (温度応答性培養表面上で作製した再生医療用細胞シートの輸送技術に関する研究)
主論文公表誌	Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine 投稿中
論文審査委員	(主査) 教授 岡野 光夫 (副査) 教授 山本 雅一, 佐々木 宏

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

温度変化のみで細胞を非侵襲的に回収できる温度応答性培養表面を用いた「細胞シート工学」の臨床応用が既に始まっている。温度応答性培養皿上の再生組織を遠方へ輸送する際に必要となる、恒温輸送容器を新規に開発し、輸送後の再生組織を評価した。

#### 〔対象および方法〕

温度応答性培養皿を用いて、ウイスターラット由来真皮線維芽細胞シートを作製し、以下の実験に供した。A群は対照群としてインキュベータ内(37°C・CO<sub>2</sub>5%)に保存、B群は恒温輸送容器内(約36°C)、C群は車中温度下(20~30°C)、D群は水上(5~10°C)にて車両による8時間の輸送をした。輸送後、温度応答性培養表面への接着性維持、低温処理による組織回収、細胞生存率、HE染色およびAzan染色による組織構造について評価を行った。

#### 〔結果〕

輸送容器は36.4°Cを液相・固相の相転移温とするn-エイコサンを蓄熱材として用い、蓄熱材周囲には断熱材を充填した。容器壁には真空断熱構造を採用し、熱分布を一様化するため内部に銅版を配した。熱流解析プログラムを用いたシミュレーションから、10時間にわたり中心部は約36°Cを維持し、その間蓄熱材は液体状態で培養容