

## 論文審査の要旨(甲)

申請者領域・分野 氏名	感覺統合科学領域 皮膚科学分野 氏名 福井 智久
指導教授氏名	澤村 大輔
論文審査担当者	主査 漆館 聰志 副査 大山 力 副査 中澤 満

(論文題目) Analysis of the mechanism underlying a mild phenotype of hereditary coproporphyrria due to a homozygous missense mutation in the transcription initiation codon of the coproporphyrinogen III oxidase gene.  
(コプロポルフィリノーゲンIII酸化酵素遺伝子の開始コドンにホモ接合型ミスセンス変異がみられた軽症の遺伝性コプロポルフィリン症の機序分析)

## (論文審査の要旨)

遺伝性コプロポルフィリン症(HCP)は、コプロポルフィリノーゲンIII酸化酵素(CPOX)の遺伝子異常で生じる常染色体優性遺伝性疾患である。今回、開始コドン(TIC)にホモ接合型の新規ミスセンス変異(c.2T>G: p.M1R)を同定したHCP患者を経験した。本来、ホモ接合型のCPOX遺伝子異常をもつ症例は、重症な病型として報告されているが、本症例では軽症であったため、その発症機序を明らかにするため以下の研究を行った。

まず変異型CPOX遺伝子の全長cDNAを作成し、pcDNA4/T0/myc-HisA発現ベクターに組み込んだ。同様に野生型CPOX遺伝子を組み込んだものをコントロールとし、それらのベクターをCos7細胞にトランスフェクションさせ、抗myc抗体でウェスタンプロットを行った。野生型CPOXでは、53kDaと39kDaの2つのバンドがみられ、変異型CPOXでは42kDaと39kDaのバンドがみられた。CPOX遺伝子は2つのTICを持ち、最初のTIC(TIC-1)から300bp下流に2番目のTIC(TIC-2)が存在する。従って、CPOXはTIC-1より翻訳された長CPOX、TIC-2より翻訳された短CPOX、そしてN末端プレシーケンスに蛋白質分解処理を受けた成熟CPOXの3種類が存在する。3つのバンドはそれぞれ、53kDaは長CPOX、42kDaは短CPOX、39kDaは成熟CPOXに一致する。

次に、テトラサイクリン調整発現システムであるT-REX™-HeLa細胞系を用いて、CPOXの正確な細胞内分布を調査した。野生型CPOXはほとんどミトコンドリア画分に発現がみられ、細胞質画分にはほとんどみられなかった。変異型CPOXは明確に細胞質分画にみられ、ミトコンドリア画分ではみられなかった。変異型CPOXクローニング細胞株の細胞質画分では成熟CPOXも少量検出された。

さらに免疫蛍光染色を行った。野生型のCPOXはミトコンドリア内への局在がみられた。一方で、変異型CPOXは、細胞質内へ分布がみられたものの、ミトコンドリアへの共局在化は明らかではなかった。これらはウェスタンプロッティングの結果に合致した。

本研究はTIC-1変異型CPOXでは短CPOXしか合成できないが、細胞質内で短CPOXから成熟CPOXを生成し得ることを示し、ホモ接合型のTIC-1のミスセンス変異HCP患者であっても、細胞質内の成熟CPOXがヘム合成経路に関与することでヘム合成経路が一部稼働していることを示した初めての論文であり、学位授与に値する。

公表雑誌等名	Journal of Dermatological Scienceに受理(2020年6月)
--------	---