

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 顧 艶 紅

本研究は銅代謝病である Menkes 病の日本人患者の遺伝子変異が本症の phenotype、血清銅濃度、血清セルロプラスミンと培養皮膚繊維芽細胞内の銅の濃度の関係を明らかにするため、また、家族の希望に応じて、保因者を同定し、保因者が妊娠した際に男性胎児に対して出生前診断を行うため、Menkes 病の責任遺伝子—*ATP7A* を DNA と mRNA レベルで解析したものであり、下記の結果を得ている。

1. 20 名の Menkes 病患者のうち、19 名の Menkes 病患者から 18 の異なった変異が見つかった。うち 12 の変異は今までに報告されていない変異であった。RT-PCR 解析により、Menkes 病患者において正常な長さの cDNA がなかったことがわかった。また、20 名の Menkes 病患者の血清銅とセルロプラスミンが低値を示した。これらの変異により *ATP7A* の機能は著しく低下したと考えられた。11 名の患者の培養皮膚繊維芽細胞の銅濃度を測定したところ、遺伝子変異の種類と関係なく、細胞内に銅が著明に蓄積していた。

一方、1 名の軽症の Menkes 病である occipital horn 症候群の患者はスプライスサイト変異であった。RT-PCR 解析でエクソン 6 はスプライシングされたセグメントが確認されたほか、正常な *ATP7A* cDNA も少量に存在することもわかった。Real-time RT-PCR 法でこの正常な *ATP7A* mRNA の発現量を調べたところ、正常コントロールの 18–21%であった。occipital horn 症候群の患者においては正常な *ATP7A* mRNA の発現量によって血清銅とセルロプラスミン値を含む phenotype が違うという新しい知見が得られた。本患者の培養皮膚繊維芽細胞の銅濃度は Menkes 病患者と同様に高値を示し、occipital horn 症候群患者の

診断に培養皮膚繊維芽細胞の銅濃度測定が有用であることを示した。しかし、培養皮膚繊維芽細胞の銅濃度は本症の重症度を示さない。

2. さらに、Menkes 病患者の遺伝子変異を同定する際に日本人 *ATP7A* 遺伝子における 25 個の多型を同定した。これは日本人 Menkes 病患者の遺伝子の解析に大いに役に立つ。
3. 保因者は 1 本の変異アレルを持っているにもかかわらず血清銅とセルロプラスミン値が正常であった。保因者のうち、2 名で培養皮膚繊維芽細胞の銅濃度測定を行った結果、銅濃度は Menkes 病患者と同様に高値を示した。患者は同じ変異であっても、母親が保因者である場合と保因者ではない場合があることであって、25%の Menkes 病患者の変異は新生突然変異によるものであり、本研究成果は Menkes 病患者およびその家族に非常に有用であると考えられる。
4. 遺伝子変異が同定されていない Menkes 病患者の家系での出生前診断には培養羊水細胞の銅測定が有効であることが示された。

以上、本論文は日本人 Menkes 病患者においての遺伝子解析から①患者および保因者の同定と出生前診断には血清銅、血清セルロプラスミンと培養細胞内の銅濃度より遺伝子診断は最も確実な診断方法であることがわかった。②日本人 *ATP7A* 遺伝子における 12 個の新たな変異と 25 個の多型を同定した。③OHS 患者で同じ変異でも、培養皮膚繊維芽細胞の正常 mRNA の発現量や phenotype が異なるという新しい知見を得た。④患者は同じ変異であっても、母親が保因者である場合と保因者ではない場合があることを明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった日本人患者においての phenotype、血清銅、血清セルロプラスミン、培養細胞内の銅濃度が遺伝子変異との関係の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。