

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 篠原 麻由

本研究は日本人小児けいれん重積型急性脳症（AESD）患者の遺伝的背景を明らかにするため、日本人小児AESD患者85例を対象に、*CPT2*, *ADORA1*, *ADORA2A* の遺伝子解析を行い、下記の結果を得ている。

1. ミトコンドリア、マトリックス内膜に存在する carnitine palmitoyl transferase 2 酵素は、ミトコンドリア β 酸化に関与している。本研究では、carnitine palmitoyl transferase 2 遺伝子 (*CPT2*) の全長塩基配列解析の結果、*CPT2* の rs2229291 c.1055 G (p.352 C) の頻度が、患者群で有意に高いことを示した。
先行研究で rs2229291 G を有する *CPT2* の酵素活性は 42°C の場合、37°C の場合と比較して、約 50% まで低下することが報告されている。このことから、rs2229291 G を有する患者では、感染症に伴う高熱を契機に *CPT2* の酵素活性が低下し、患者はミトコンドリア β 酸化からエネルギーを得ることが難しくなり、深刻なエネルギー危機に陥いると考えられる。これらの結果から、熱不安定 *CPT2* 酵素によるエネルギー危機が、AESD の発症機序の一つであることが示された。
2. アデノシンは内因性の神経修飾物質であり、抗けいれん作用を有している。また非選択的アデノシン A₁, A_{2A} 受容体アンタゴニストであるテオフィリンを服用している患者が感染症を契機に、重度の AESD を発症したケースが報告されており、テオフィリンは AESD の環境要因の一つであると考えられている。そこで中枢神経系でアデノシン A₁, A_{2A} 受容体の、なんらかの機能異常が、AESD の病理学的特徴である興奮毒性を引き起こすのではないかと考え、アデノシン A₁, A_{2A} 受容体遺伝子 (*ADORA1*, *ADORA2A*) の全長遺伝子解析を行った。結果、*ADORA2A* の rs2298383 C, rs5751876 T, rs35320474 del, rs4822492 C からなるハプロタイプ A、さらにハプロタイプ A のホモ接合ディプロタイプ AA が、患者群で有意に高頻度であることを示した。
3. 脳サンプルから抽出した RNA を用いて、Quantitative-Real-Time PCR 法により発現量を測定し、ディプロタイプで比較した結果、*ADORA2A* のディプロタイプ AA で mRNA の発現量が増加していることを示した。
4. リンパ芽球から抽出した RNA、蛋白を用いて、Quantitative-Real-Time PCR 法と Western blotting 法により発現量を測定し、ディプロタイプで比較した結果、*ADORA2A* のディプロタイプ AA で mRNA、蛋白ともに発現量が増加していることを示した。

5. アデノシン A_{2A} 受容体は Adenylcyclase を活性化して、細胞内 cAMP 産生量を増加させ、cAMP が Protein Kinase A に働きかえ、神経細胞興奮を引き起こすことが知られている。本研究でリンパ芽球を用いて、ELISA 法により細胞内 cAMP 産生量を測定したところ、*ADORA2A* のディプロタイプ AA で細胞内 cAMP 産生量が増加していることを示した。これらの結果から *ADORA2A* のディプロタイプ AA が、アデノシン A_{2A} 受容体の発現量の増加、細胞内 cAMP 産生量の増加を引き起こし、神経細胞興奮性を促進させていることが考えられる。この結果から *ADORA2A* のディプロタイプ AA による細胞内 cAMP 産生量の亢進が、A E S D の病理学的特徴である興奮毒性の一つの要因であることが示された。

以上、本論文は日本人小児けいれん重積型急性脳症（A E S D）患者 85 例の遺伝子解析を行い、熱感受性の *CPT2* rs2229291 G と、*ADORA2A* のディプロタイプ AA が、A E S D の遺伝的要因であることを明らかにした。本研究まで、けいれん重積型急性脳症単独での遺伝的要因の報告がなく、本研究の結果は疾患の診断、治療法の確立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。