



Title	長島型掌蹠角化症の原因遺伝子SERPINB7におけるリードスルー作用およびmRNA分解についての研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	大口, 由香
Description	配架番号 : 2364
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12985号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70259
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuka_Oguchi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 大 口 由 香

主査 矢部 一郎 准教授
審査担当者 副査 石田 晋 教授
副査 田中 真樹 教授
副査 畠山 鎮次 教授

学 位 論 文 題 名

長島型掌蹠角化症の原因遺伝子 *SERPINB7* におけるリードスルー作用および mRNA 分解
についての研究

(Studies on the readthrough and nonsense-mediated mRNA decay of *SERPINB7*
nonsense mutant transcripts in Nagashima-type palmoplantar keratosis)

長島型掌蹠角化症（Nagashima-type palmoplantar keratosis; NPPK）は、世界で最も頻度の高い掌蹠角化症であり、常染色体劣性遺伝する。NPPK は *SERPINB7* 遺伝子変異により発症するが、ナンセンス変異 c.796C>T を患者の 92%が保有しているため、ナンセンス変異をターゲットとするリードスルー治療が有効であると考えられる。申請者は、本研究において、リードスルー作用を持つアミノグリコシド系抗生剤であるゲンタマイシンが、NPPK に対して有効であることを、変異 *SERPINB7* cDNA、患者不死化表皮角化細胞を用いた実験およびゲンタマイシン外用の臨床研究により実証した。更に、c.796C>T では exon junction complex-independent な nonsense-mediated mRNA decay (NMD) が起きていること、truncated *SERPINB7* がプロテアソームによる分解を受けていることを示した。審査にあたり、副査の石田晋教授からアミノグリコシドがリードスルーを起こす機序について質問があり、申請者はアミノグリコシドがリボソームに結合し、翻訳時にエラーを起こし、早期終止コドンにおいてランダムなアミノ酸を持つアミノアシル tRNA が挿入されることにより翻訳が継続されると回答した。次に、ataluren が *SERPINB7* タンパク質を増加させなかった理由について質問があった。申請者は、ataluren はルシフェラーゼアッセイを用いた化合物スクリーニングで開発された薬だが、リードスルー作用によりルシフェラーゼの発光を増強させたのではなく、ルシフェラーゼを安定化させることにより見かけ上発光を増強した可能性があり、効果が疑問視されていることを説明した。実際、申請者

の研究でも ataluren 治療で SERPINB7 の産生増加は見られなかったが、*SERPINB7* cDNA と同時にトランスフェクションした firefly luciferase の発現が増加していたことを説明した。石田教授からは更に、ゲンタマイシンによるリードスルーと NMD の阻害剤を併用することにより、効果が増加することが考えられるため、NMD 阻害剤のドラッグスクリーニングを行い開発することが今後重要である、とのコメントがあった。副査の田中真樹教授からは、NPPK の症状出現部位が掌蹠に局限している理由について質問があった。申請者は、*SERPINB7* が全身皮膚の表皮の顆粒層、角層に発現しており、それぞれの部位において表皮の厚さが異なるため *SERPINB7* の発現量にも違いがある可能性と、掌蹠のみならず、膝や肘にも角化性紅斑が出現している症例もあることから、機械的刺激の影響の可能性もあると回答した。副査の畠山鎮次教授からは、リードスルーでアミノ酸配列が変化することによる発癌性や副作用の報告について質問があり、申請者は調べ得る限りリードスルー治療による発癌性の報告はないことを述べ、副作用については高濃度のアミノグリコシドで長期間治療した場合、聴覚障害や腎機能障害が起こる可能性があるという回答した。最後に主査の矢部一郎准教授から、ゲンタマイシン外用の治験などを行う上で、評価者による症状の評価と VAS スコア以外に治療効果を評価する簡便なバイオマーカーがあるかという質問があり、NPPK 患者では病変部位を水に浸すと白色となり浸軟する特徴があり、皮膚の水分の浸透が亢進していることがわかっており、治療前後の経皮水分蒸散量の改善度も評価項目として使用できると回答した。また、実際ゲンタマイシン外用での治療効果を上げるために今後必要なことは何かという質問があり、申請者は、細胞の治療実験にて高濃度のゲンタマイシンで *SERPINB7* が産生されていたことから、ゲンタマイシンの濃度を上げることや、外用期間の延長、密封療法などが必要となると回答した。

この論文は、現在根本的な治療のない NPPK に対して外用によるリードスルー治療の可能性を示唆した点、更に他の遺伝性皮膚疾患にとっても同治療が有用である可能性を示した点で非常に重要である。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。