

Title	A point mutation in Semaphorin 4A associates with defective endosomal sorting and causes retinal degeneration
Author(s)	野島, 聡
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/34240">https://hdl.handle.net/11094/34240</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏名 Name	野島 聡
論文題名 Title	A point mutation in <i>Semaphorin 4A</i> associates with defective endosomal sorting and causes retinal degeneration. (エンドソームでの選別異常に関連し網膜変性の原因となる <i>Semaphorin 4A</i> 中の点突然変異)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>網膜色素変性症は網膜光受容体細胞が広範に変性し失明に至る重篤な疾患であるが、その病態機序については未だ不明な点が多い。<i>Semaphorin4A</i>(<i>Sema4A</i>)はその遺伝子欠損マウスが網膜色素変性症を発症する点から網膜色素変性症の原因遺伝子の一つと考えられており (Toyofuku T, Nojima S et al, <i>Genes&amp;Dev.</i> 2012)、実際にヒト網膜色素変性症患者が<i>Sema4A</i>遺伝子に点突然変異を有しているという報告もなされている (Abid A et al, <i>J. Med. Genet.</i> 2006)。この報告においてD345H, F350C, R713Qの3種の点突然変異が認められている。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>正常<i>Sema4A</i>蛋白の代わりに各点突然変異D345H, F350C, R713Qを有する変異<i>Sema4A</i>蛋白を発現する遺伝子改変マウス(ノックインマウス)をそれぞれ作成し、各々が網膜色素変性症を発症するかを検討した。発症した系統のノックインマウスについては各種イメージング技術や分子生物学的手法を用いて病態機序の検索を行った。</p> <p>点突然変異F350Cを有するノックインマウスは網膜色素変性症を発症した。他の変異であるD345H, R713Qについては疾患原性を確認できなかった。F350C変異蛋白の網膜における局在を評価したところ、正常の局在部位である光受容体側の細胞膜表面に局在せず、細胞質内に留まってしまうという異常な局在を示していることが明らかとなった。次に、blue-native PAGEを用いF350C変異蛋白の立体構造を評価したところ、これらが著明に崩壊し、異常な蛋白の凝集を起こしていることが分かった。F350にC(システイン)以外の様々なアミノ酸変異を導入し、それぞれが細胞膜表面に局在できるかを評価したところ、メチオニン・チロシンに変異した場合には正常部位に局在でき、グリシンに変異した場合にはシステインと同様に異常な局在を示すことが分かった。更に、<i>Sema4A</i>の立体構造モデルを作成し、以上の規則性を考察したところ、変異先のアミノ酸の側鎖のサイズが重要であることが明らかとなった。すなわち、F350C変異が起こると、350番目のアミノ酸の側鎖の体積不足により蛋白内部が空洞となり、蛋白の立体構造が崩壊してしまい、正常の二量体・単量体構造を形成できずに、結果として色素上皮細胞における正常の部位に局在できない、ということが病原性の本態であることが示された。また、最後に遺伝子治療の実験系を用い、<i>Sema4A</i>欠損マウスおよびF350Cノックインマウスに対して、生後すぐの段階でレンチウイルスを用い正常<i>Sema4A</i>蛋白を補充してやったところ、網膜色素変性症の発症を有意に予防することができた。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>実際にヒト網膜色素変性症患者において認められた<i>Sema4A</i>における点突然変異の病的意義およびその病態機序を明らかにし、<i>Sema4A</i>の遺伝子治療の標的分子としての有用性を示すことに成功した。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 野 島 聡	
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 大阪大学教授 荻井 英一
	副 査 大阪大学教授 西田 幸二
	副 査 大阪大学教授 石井 俊

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、ヒト網膜色素変性症患者において報告されていた *Sema4A* 遺伝子における点突然変異 D345H, F350C, R713Q について、各点突然変異を有するノックインマウスを作成し、各々の病理学的意義を検討した。結果、変異 F350C を有するノックインマウスは網膜色素変性症を発症した。更に、F350C 変異蛋白は 350 番目のアミノ酸側鎖の体積の減少により蛋白の立体構造が崩壊しており、色素上皮細胞における正常の部位に局在できないことが明らかになり、これらの異常が病原性の本態であることが示された。また、*Sema4A* 欠損マウスおよび F350C ノックインマウスに対しレンチウイルスを用い遺伝子治療を施行したところ、網膜色素変性症の発症を有意に予防することができた。以上は、ヒト網膜色素変性症患者における重要な病理病態機序を明らかにし、治療の可能性を示唆した意義深い結果であり、学位の授与に値すると考えられる。