

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 号
------	---------

氏 名 张 少 川

論 文 題 目

A mutation in *DOK7* in congenital myasthenic syndrome forms aggresome in cultured cells, and reduces *DOK7* expression and MuSK phosphorylation in patient-derived iPS cells

(先天性筋無力症候群における *DOK7* の変異は、培養細胞でアグリソーム形成を誘導し、患者由来 iPS 細胞で *DOK7* の発現と MuSK リン酸化を減少させる)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

木山 博資

名古屋大学教授

委員

岡島 徹也

名古屋大学教授

委員

門松 健治

名古屋大学教授

指導教授

大野 欽司

## 論文審査の結果の要旨

本研究では、先天性筋無力症候群患者が DOK7 遺伝子に持つ 2 つの変異 653-1G>C と 190G>A を解析した。653-1G>C の変異はスプライシング異常を引き起こし、190G>A(G64R)の変異は誤ったタンパク質折り畳みを誘導し細胞核周囲に不溶性の凝集体を形成した。プロテアソーム阻害剤はアグリソーム形成を促進した。また、患者由来の iPSC 細胞を筋肉細胞へ分化させると、同様の凝集体が観察された。点突然変異 190G>A を修復するために Cas9 遺伝子編集技術を適用したところ、アグリソームは消失した。これらの結果から、アグリソームが先天性筋無力症候群の発症に関わる潜在的なメカニズムであることが示唆された。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1、2.G64R-DOK7 によるアグリソームの形成は、タンパク質が誤った折り畳みを起こし、細胞毒性を有した可能性がある。細胞のオートファジーとユビキチン-プロテアソームシステムは、誤った折り畳みタンパク質を除去する主要な経路である。G64R-DOK7 が大量の誤った折り畳みタンパク質を形成した場合、これらは細胞の分解能力を超え、結果的にこれらを集積させ、毒性を低減するために不溶性のアグリソームを形成する例が報告されている。このことから、G64R-DOK7 は不溶性のアグリソームを形成し、オートファジー-リソソーム経路を通じて分解される可能性が高い。

3.MG132 はユビキチン-プロテアソームシステムの阻害剤であり、誤って折り畳みを起こしたタンパク質はユビキチン-プロテアソームシステムによる分解が阻害される。この結果、アグリソームの形成が促進される。本研究では、MG132 により G64R-DOK7 のアグリソーム形成が促進された。

4.現在、筋肉切片中で観察されたアグリソームに関する報告はない。本研究では患者の iPSC 細胞でのみアグリソームが観察された。先天性筋無力症候群患者の別の DOK7 変異型プラスミドを COS7 細胞に導入し、今回もう 1 つのアグリソーム形成促進の点突然変異 T77M を発見した。これらの結果から、DOK7 のアグリソームが先天性筋無力症候群の発症機序の 1 つである可能性が非常に高いことが示唆される。

本研究は DOK7 遺伝子の変異が伴う先天性筋無力症候群の発症に関わるメカニズムを知る上で、「アグリソーム形成を起こす」という重要な知見を提供した。

以上、適正な議論がなされたことにより、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値が有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	张 少川
試験担当者	主査 木山 博資		副査 <sub>1</sub> 岡島 徹也	
	副査 <sub>2</sub> 門松 健治		指導教授 大野 欽司	
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. G64R-DOK7が細胞質内凝集体アグリソーム (aggresome) を形成するメカニズムは何か。</li><li>2. このアグリソームは細胞毒性を持つか。</li><li>3. プロテアソーム阻害剤MG132処理後、アグリソーム形成に対する影響は何か。</li><li>4. 患者の筋肉細胞内にアグリソームが存在するかどうかは、認められたか。</li></ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、神経遺伝情報学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				