

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 一 瀬 栄 佑

主論文 1 編

Impaired neuronal activity and differential gene expression in STXBP1 encephalopathy patient iPSC-derived GABAergic neurons.

Human Molecular Genetics 30;1337-1348, 2021

審査結果の要旨

STXBP1 遺伝子は、シナプス前終末における神経伝達物質の開口放出について必要不可欠な分子である Syntaxin-binding protein 1 (*STXBP1/MUNC18-1*) をコードしている。*STXBP1* の病原性変異は、てんかん性疾患、発達障害、若年性パーキンソニズムといった様々な疾患で同定されている。それらの幅広い表現型は *STXBP1* 脳症と総称されているが、多彩な症状を来す機序は解明されていない。近年の *Stxbp1*^{+/+}マウスモデルの研究から、*STXBP1* 脳症の要因として GABA 作動性神経の機能障害が示唆されている。しかし、*STXBP1* 脳症患者の GABA 作動性神経の解析は技術的に困難であり、今日まで報告は無い。

申請者は、*STXBP1* 脳症患者由来 iPSC 細胞を GABA 作動性神経に選択的分化させ病態解析を行った。まず、患者由来 iPSC 細胞の *STXBP1* 遺伝子変異を CRISPR/Cas9 を用いて修復し、isogenic control として変異修復 iPSC 細胞を作成した。そして、患者由来 iPSC 細胞、変異修復 iPSC 細胞、健常父由来 iPSC 細胞に *ASCL1* と *DLX2* が発現する Tet-On システムを導入し、Doxycycline を添加する事で GABA 作動性神経に選択的に分化させた。さらに患者 iPSC 細胞由来 GABA 作動性神経では *STXBP1* 発現レベルが約 50%、*STXBP1* タンパク質レベルが約 20%低下している事を確認し、*STXBP1* 脳症患者 iPSC 細胞由来 GABA 作動性神経モデルを確立した。次に、Microelectrode array 解析を用いて *STXBP1* 脳症患者 iPSC 細胞由来 GABA 作動性神経の機能解析を行った。その結果、変異修復、健常父由来 GABA 作動性神経は自発的神経活動が経時的に増加した一方、患者由来 GABA 作動性神経では神経分化 8 週後以降、成熟とともに神経活動が低下していた。更に、神経分化 8 週後の iPSC 細胞由来 GABA 作動性神経で遺伝子発現解析を行ったところ、てんかん、発達障害、神経変性疾患への関連が報告されている、*KCNH1*, *KCNH5*, *CNN3*, *RASGRF1*, *SEMA3A*, *SLAH3*, *INPP5F* の遺伝子発現変動が認められた。本研究により、*STXBP1* 脳症のヒト由来 GABA 作動性神経モデルでの機能低下が世界で初めて確認され、*STXBP1* 脳症の病態において GABA 作動性神経の機能不全が重要であるという仮説が確固たるものとなった。さらに、*STXBP1* 変異による、てんかん、発達障害、神経変性疾患に関連する遺伝子発現の変動が、*STXBP1* 脳症の幅広い表現型の要因となる事が示唆された。

以上が本論文の要旨であるが、疾患の病態解明に重要な示唆を与えると共に、将来的に *STXBP1* 脳症の標的治療につながる可能性がある点で、医学的価値ある研究と認める。

令和 4 年 1 月 20 日

審査委員 教授 八木田 和弘 ㊞

審査委員 教授 家原 知子 ㊞

審査委員 教授 橋本 直哉 ㊞