

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 464 号	学位申請者	川野 孝文
審査委員	主査	河野 嘉文	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	小林 裕明	副査 橋口 照人
	副査	前村 公成	副査 西川 拓朗

主査および副査の5名は、平成30年1月22日、学位申請者 川野 孝文 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) Figure 1の家系図において、Iにあたる方の情報はあるか。

(回答) 亡くなっており、情報はない。

質問2) 女性にのみ発症しているが、発症者レベル、つまり出生がないだけで、性別の選別が行われている可能性があると思うが、そういった事実はあるか。

(回答) 確認しているが、流産歴はない。

質問3) 家族歴のレベルIII-3の男性の遺伝子変異は調べているか。

(回答) 調べたが、明らかな遺伝子変異は認めなかった。

質問4) 一般的なヒルシュスブルング病は男性に多いが、この家系では女性にが多い。この事実に対する説明、考察はもう少しあるか。

(回答) 性染色体を含めて、検索したが同定することはできなかった。

質問5) RET 遺伝子のタンパク発現に例えばホルモンの影響が加わった可能性はあるか。

(回答) 今の所報告はなく、今回の検証でもなかった。

質問6) 同様の家系の国内での発症例はあるか。

(回答) 全国疫学研究が行われているが、報告はない。

質問7) 新しい変異ともう一つの変異が合併して発症したという考察だが、その点を明らかにするために今後どんなストラテジーを考えているか。

(回答) ノックアウトマウスや遺伝子変異ラット、この家系から作成した iPS 細胞を用いることを考えている。

質問8) RET のみならず ECE1、EDN3、EDNRB のこれらの遺伝子異常と表現型は異なるのか。

(回答) 現在のところ特徴はなく変わらないと考えられている。

質問9) Fig2の遺伝子を絞っていく過程で最初に家族で共通、非共通のものを絞り込んだ方が効率がよいと思うが、どうしてこの順番にしたのか。

(回答) プログラムを組んでいるので、手間としては変わらない。しかし、この順番にしたのは、家族で共通、非共通のものを選択することを最初に行うと、珍しい変異も除外されてしまう可能性があり、その検証も必要のため、その工程を最後にした。あとから珍しい変異を除外した可能性についても検証した。

## 最終試験の結果の要旨

質問 10) 今回同定された変異は、1208 名の日本人の変異データ HGVD のなかに報告はあったか。

(回答) なかった。

質問 11) Sanger 法による確認だが、RET 以外の候補遺伝子も Sanger 法で確認したか。

(回答) 行っていない。しかし、RET の enhancer は RET の周辺に散在していることが分かっているので、RET 周辺の変異の確認も行ったが候補となる遺伝子変異はなかった。

質問 12) iPS 細胞を使って病原性の確認をしたいということだが、具体的にはどのように考えているか。

(回答) 罹患者の iPS 細胞を作成培養し神経細胞に分化させて RET の発現量を検討することを考えている。

質問 13) 蛋白質機能の予測ツールとして3つが選ばれているが、これを選択するには何か理由があるか。

(回答) 報告上一番よく用いられているツールで蛋白質機能に反映するという報告があり選択した。

質問 14) A1CF は予測ツール上、候補として考えられるのではないかと思うが、どうして外したのか？

(回答) A1CF の SIFT は 0.12、Polyphen2 は 0.984 であり SIFT は 0 に近く、Polyphen2 は 1 に近いほど異常な変異と考えられてるので、今回は除外した。

質問 15) この対象の患者は他の症状はあるか。

(回答) 他の症状はない。遺伝子の変異上、嗅神経の異常はある可能性はあるが、不明である。

質問 16) ヒルシュスプルング病はタイプによって、症状や重症度は変わるのか。

(回答) ヒルシュスプルング病の症状はタイプにより重症度は変わるが臨床症状は変わらない。

質問 17) チロシンキナーゼに関わる発症機序と病気のタイプは関係しているのか。

(回答) 研究は様々行われているが、タイプの違いの原因に関しては分かっていない。

質問 18) この遺伝子を調べた結果は、その後の治療などに応用できる発展性はあるか。

(回答) 現在の所は考えてはいない。予後に関係しない。遺伝カウンセリング等は今後行っていける。

質問 19) 男児は遺伝子変異を持っていても発症していないというのはどのように考えればよいか。

(回答) 遺伝子状態を、様々検索したが、その点についてはわからなかった。

質問 20) RET の発現量で疾患発症するということが定量化する方法があるのか。

(回答) 検体自体は残っており RET の発現は確認できる。発生時の腸管神経節細胞の遊走に關与するので、手術時(生後 4~5 か月)の検体で定量化することに意味があるか、現在報告はなく、今後検討したい。

質問 21) RET はがん遺伝子だがヒルシュスプルング病の家系と発がんの関係は何か報告があるのか。

(回答) NF1 や MEN2 の異常でもヒルシュスプルング病が合併することがあり、症候性のものに関しては報告がある。

質問 22) 症候性のヒルシュスプルング病と非症候性は同じ遺伝子の変異にも関わらずどうして異なるのか。

(回答) RET 遺伝子の変異の場所によって表現型が違ふと考えられている。

質問 23) 対象家系の患者 5 名の、タイプに違いがあったか。

(回答) 全くなかった。全員 S 状結腸までの short type だった。

質問 24) 病変の広さに関係があるような報告は他の遺伝子変異も含めてあるか。

(回答) 無神経節腸管が世代を重ねると長くなるという報告はされているが、この家系は変化なく非常に珍しい。

質問 25) 他の 3 家系に変異はなかったということだが、同じ遺伝子解析を行ったのか。

(回答) 3 家系は short type で male dominant であり RET とその周辺の遺伝子のみ検索を行った。

以上の結果から、5 名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め、博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。