

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 490 号	学位申請者	吉村 明子
審査委員	主査	橋口 照人	学位 博士 (医学)
	副査	佐野 輝	副査 堀内 正久
	副査	下堂 菌 恵	副査 久保田 龍二

主査および副査の5名は、平成30年12月17日、学位申請者 吉村 明子 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) 同定した遺伝子変異の Pathogenicity の判断における in silico 解析について詳しく説明しなさい。

(回答) SIFTやPolyphen 2はgain of functionの病的意義を判定する上でその精度が下がるという報告があるため、本研究では5つの解析プログラム(SIFT、Polyphen2、PROVEAN、MutationAssessor、CONDEL)を組み合わせて精度の向上を図っている。

質問2) CNVs (copy number variations) の解析は行っているのか。

(回答) 本研究ではCNVs解析は行っていない。

質問3) CNVsを原因とする患者は多く存在するのか。

(回答) 正確な頻度は不明だが、CNVsが原因となる症例も一定の割合で存在するものと思われる。今後CNVs解析を実施する体制を整備中である。

質問4) 四国の患者での NEFL の変異は全て異なるのか。

(回答) 四国の3症例の変異部位はすべて異なる。

質問5) NEFL がなぜ四国に多いのか。遺伝子変異をおこしやすい原因などあるのか。

(回答) NEFL変異は全体で9例、そのうち四国の症例は3例である。四国に多い理由は不明だが、四国の3例は変異部位が異なるためhot spotや創始者効果では説明困難である。

質問6) 同じ遺伝子変異でも症状が違うことに関し、現在考えうる環境因子はどういうものがあるか。

(回答) 加齢、薬剤、アルコール、糖尿病など後天的な要因が表現型に影響している可能性がある。家族性アミロイドポリニューロパチーでは同じ変異でも重症度に地域差があり、環境により病型が大きく影響される。

質問7) GJBI 変異の表現型として軸索型と脱髄型の両方があるのはなぜか。

(回答) 軸索型か脱髄型かは運動神経伝導速度(MCV)38m/secで分類されるため、平均MCVが30-40m/sec付近であるGJBI変異患者は症例によって、軸索型と脱髄型に分かれてしまいやすい。

質問8) GJBI はどのタンパクに影響して脱髄がおこるのか。

(回答) GJBIがコードするConnexin 32(Cx32)は、ミエリンの形成や神経細胞の代謝産物などの透過に関与するgap junctionの蛋白であり、軸索とミエリンの結合に関与し、その機能異常により脱髄が引き起こされる。

質問9) GJBI 変異を持つ患者においてなぜ全身症状がおきるのか。

(回答) GJBIがコードするCx32は、中枢神経系のオリゴデンドロサイトに発現するため、GJBI変異症例の一部では難聴や白質脳症などの中枢神経症状を合併する。

質問10) 論文中の「今後の課題として structural variant を調べる」とはどういう意味か。

(回答) ここで言うstructural variant(構造多型)とはCNVs(Copy number variations)のことを意味しており、今後CNVs解析をする予定との意味である。

質問11) 全国から検体が集まるシステムについて説明しなさい。

(回答) CMTの網羅的遺伝子解析は国内では鹿児島大学でのみ実施しており、ホームページや学会活動、専門雑誌、CMT友の会(患者会)等を通じて、情報を提供しており、広く全国より検体を収集している。

質問12) 初発の患者はすべて鹿児島に遺伝子検査が依頼されるのか。

(回答) 臨床的にCMT症例の大部分は鹿児島大学に遺伝子検査依頼していると推測される。ただし、脱髄型の症例に関しては、PMP22の重複もしくは欠失の有無を、FISH法で確認後に遺伝子検査を引き受けている。

最終試験の結果の要旨

質問 13) 国毎の比較があるが、遺伝子頻度に人種差があるのか。

(回答) 人種差がある。その一因として、国により血族婚等により潜性遺伝が多く見られることや、家系の地域集積なども生じていることなどが考えられる。

質問 14) MiSeq から Ion Proton へ解析システムを変え、さらに対象遺伝子の増加に伴い診断率が上がったか。

(回答) MiSeq では 27.7%、Ion Proton では 31.7%とわずかに診断率が上昇した。

質問 15) 先行研究と比較した際、診断率の差は何に因するのか。国の要因か、対象遺伝子の要因か。

(回答) 対象遺伝子の差もあるが、頻度の高い変異をもつ家系の集積も影響していると推測される。

質問 16) 診断により治療にもつながっていくのか。

(回答) gain of function の遺伝性疾患では変異型 mRNA のみをノックダウンする方法も確立されているとの報告もあるので、今後治療にもつながっていくことを期待したい。

質問 17) 1,005 人は日本全体で予測される CMT 患者の何割をカバーしているのか。

(回答) 日本での頻度は 10 万人に 10.8 人とされており、人口 1.27 億人中約 13,700 人と推定され、約 7.3% をカバーしていると推測される。

質問 18) 神経伝導速度で CMT の病型を分類することは意味があるのか。

(回答) 本研究は CMT1A (*PMP22* 重複異常) を対象外としているが、最も頻度が高い CMT1A は明らかな脱髄型 CMT であり、軸索型との鑑別において神経伝導速度による分類は有用と考える。

質問 19) 軸索型が脱髄型に表現型が変わることがあるのか。

(回答) 軸索変性が進んで、神経伝導速度が低下し、分類上脱髄型に変化する可能性はある。相互に障害が起こるため、明確には分けられない場合がある。

質問 20) 関東と九州の *GJB1* の変異部位を比較した際、変異部位の集積に差は認められないか。

(回答) 2 つの地域を比較したが、際だって集積している変異部位は認められなかった。

質問 21) 関東など多地域の人が集まる場所においては、遺伝子変異部位の集積も平均化するような印象もあるが、今回の解析で同定された遺伝子変異について地域別の偏りがみられるか。

(回答) 変異部位の集積に違いがある遺伝子があり、その一例として、*GDAP1* では関東で founder mutation がみつかっており、同遺伝子の頻度が上がっている。

質問 22) 中国南部・台湾やロシアなどからの報告はどのようなのか。

(回答) 中国南部・台湾やロシアでは、多症例で網羅的に CMT 遺伝子変異を調査した報告はない。

質問 23) CMT の 60 遺伝子をどのような基準で選んだか。

(回答) 当時、既知の原因遺伝子として報告されていた 40 遺伝子と、蛋白質の機能から CMT 発症の原因となり得る 20 の候補遺伝子を選んだ。

質問 24) 70% が未診断となるが、家族のエクソーム解析をしても診断率はあがらないのか。

(回答) 発端者や家族のエクソーム解析を実施すれば、診断率は上がると思われる。実際、現在までに一部の症例でエクソーム解析を実施しており、診断率が向上している。

質問 25) *GJB1* や *MFN2* は頻度が高いが遺伝子の長さが長いのか。

(回答) 2 遺伝子は他の遺伝子と比較して特に長い遺伝子ではない。一般的に遺伝子長と変異頻度に相関はない。

質問 26) 一つの遺伝子が二つの表現型をおこしているのか。

(回答) 同じ遺伝子変異でも症例間で表現型が異なることがある。その一因として、糖尿病などの後天的な要因が表現型に修飾した可能性や、Digenic variants など他の遺伝的要因も影響している可能性がある。

質問 27) 活動電位が得られなかった症例の臨床症状は重症であったか。

(回答) 活動電位が得られない理由には、完全に誘発出来ない場合と外からは誘発出来ないが内部では活動電位が保たれている場合がある。一般的に、活動電位が低い程、臨床症状が重い傾向がある。本研究で活動電位が得られなかった 10 例中 8 例は車いすや下肢装具を使用し、発症年齢不詳の 1 名を除き若年発症であった。

質問 28) Patient consent が Not required と書かれているが同意はとられているのか。

(回答) 本研究は倫理審査に基づいて患者全例から同意書を取得している。本文中にもその旨を記載してある。論文中の Patient consent とは論文に写真などの個人情報に掲載する際に取得するものである。

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。