

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 494 号	学位申請者	田邊 肇
審査委員	主査	久保田 龍二	学位
	副査	熊本 一郎	副査
	副査	橋口 照人	副査
			博士 (医学)
			武田 泰生
			中村 雅之

主査および副査の5名は、平成31年1月29日、学位申請者 田邊 肇 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) CMT2F/HMN2B が高齢発症であるのはどのような機序が推測できるのか。

(回答) 変異 HspB1 の作用により tubulin の可動性が低下し軸索輸送が障害されるが、代償機構として脱アセチル化が生じることによって、適切な可動性をしばらくは維持することが可能であるため発症がその分遅れると考えられる。

質問2) 男女の発症率の違いは男性が脚が長いからと説明したが、スライドに出た女性の身長はどのくらいか。

(回答) 身長については測定していないが、写真から判断する限り母親の方が息子よりも身長が低いように思える。

質問3) 神経伝導検査の活動電位から、CMT2F/HMN2B によるのか糖尿病性ニューロパチーによるものか判断できるか。

(回答) CMT2F/HMN2B も糖尿病性ニューロパチーも軸索変異を生じる疾患なので、両者を臨床的あるいは病理学的に区別することは困難である。

質問4) 運動障害だけの症例も、罹病期間が長くなると感覚障害が出現するのか。

(回答) 一般的には変異部位によって CMT2F か HMN2B のいずれかになると言われているが、両者は同一スペクトラム上の疾患と考えられ、オーバーラップする部分もある(片側だけ電気生理学的に感覚障害がある症例など)。今回の研究では平均すると CMT2F の方が HMN2B よりも5年程度罹病期間が長かった。従って、一部の HMN2B 症例では、更に長期間観察すれば CMT2F に移行する可能性も否定できない。

質問5) メタアナリシスという言葉を使用しているが、統計解析を行ったのか。

(回答) メタアナリシスという言葉は、「情報の収集から吟味解析までのシステムティック・レビューあるいはそのデータ解析の部分」を指す。従ってメタアナリシスには統計解析が含まれていなければならない。今回の研究は統計解析を行っていないため、正しくは「過去の論文のレビューを行った」と表現すべきと思われる。

質問6) HspB1 は神経系に特異的な蛋白質なのか。

(回答) HspB1 は神経系以外の殆どの臓器に普遍的に発現しており、必ずしも神経系に局限しているわけではない。また発現量も神経系に偏っているわけではない。

質問7) 他の臓器に症状が出現しないのは何故か。

(回答) 詳細はわかっていないが、他の臓器では変異が生じてもそれを代償するような機序が働いているのかもしれない。あるいはその臓器の機能に対する HspB1 の寄与の度合いが低く、障害を生じる程の閾値に達しないのかもしれない。

質問8) K123*変異は unknown significance であることの考察を論文中で述べており、その理由を述べている中で、nonsense mediated mRNA decay をエスケープする可能性があるかと述べられているが、nonsense mediated mRNA decay について説明しなさい。

(回答) nonsense mediated mRNA decay とはすべての真核生物に存在する mRNA の品質監視機構である。その主要な機能は、何らかの原因により本来より DNA 上の上流に出現した終始コドンを含む mRNA を分解・除去することにより、最終産物である異常なタンパク質の量を未然に減少させることである。

質問9) p.E190H は ALS とオーバーラップしている報告があると書かれているが、ALS とわからないようなニューロパチーがあるのか。

(回答) ALS の初期で下位運動ニューロンの障害で発症した場合は、軸索型の運動性ニューロパチーと区別がつかない場合もある。

質問10) 糖尿病性ニューロパチーで血清の HspB1 が上昇している理由は何か。

(回答) HspB1 はアポトーシスから細胞を保護する役割を担っていると考えられている。従って糖尿病性ニューロパチーが生じた際に、その神経を養っている神経細胞を保護するために、HspB1 が増加しているものと推察される。

質問11) HspB1 は筋肉のインスリン抵抗性にも寄与しているのか。この疾患群はミオパチーを呈するのか。

(回答) HspB1 は筋細胞に発現したインスリン受容体のリン酸化を阻害することでインスリン抵抗性の改善に寄与している。HSPB1 変異でミオパチーを生じた症例は報告されているが、耐糖能異常や糖尿病を生じたとする報告はない。

質問12) 今回の研究では HSPB1 変異はヘテロ接合型だけだが、ホモ接合型はいないのか。

(回答) p.L99Mの家系でホモ接合型をとったという報告がある。

質問 1 3) 臨床的に CMT2F/HMN2B のホモ型の報告はないのか。

(回答) 現時点では常染色体劣性(潜性)遺伝形式の CMT2F/HMN2B で、小児期発症かつ重症例という臨床的にホモ接合型らしい症例の報告はない。

質問 1 4) 同じ部位の点変異で CMT2F と HMN2B を呈しているが、そこに何か違いはないのか。HSPB1 変異以外の関連遺伝子の変異は生じていなかったのか。

(回答) CMT2F と HMN2B は同じスペクトラム上の疾患でオーバーラップしている部分があるので、同じ部位の点変異では、機能の違いで臨床病型が異なるというよりも、罹病期間の長さが表現型に影響している可能性が考えやすいが、全てがそれで説明がつけられるわけではなく未知の機序が存在している可能性は否定できない。また、今回の研究で HSPB1 変異以外の関連遺伝子の変異については検出されていない。

質問 1 5) gain of function で障害を起こす機構はなにか。

(回答) HSPB1 変異により cyclin dependent kinase-5 の機能を増強させて neurofilament の過剰なリン酸化を生じることにより、neurofilament の集積を妨げていることなどが gain of function の機序として想定されている。

質問 1 6) 色々な変異があるがそれが全て gain of function につながっていくのか。loss of function で発症する場合はないのか。

(回答) Hspb1 のノックアウトマウスではニューロパチーの症状が出現しないので、遺伝子産物の減少が症状の発現には寄与しないと考えられる。従って原則的にはどの変異でも gain of function で症状が出現していると考えられる。

質問 1 7) CMT2F/HMN2B の平均罹病期間とはどのような意味合いなのか。

(回答) 今回の研究における罹病期間とは、発症から診察時までの期間であり、例えば死亡などによる観察期間の終了までを示したものではない。

質問 1 8) インスリン抵抗性について、HSPB1 のワイルドタイプそのものが抵抗性を下げ、変異が生じると抵抗性を上昇させるということだが、どのような機構でおきるのか。

(回答) インスリン受容体をリン酸化させる蛋白質(IkappaB kinase-beta など)を阻害することでインスリン抵抗性を低下させていると推測されているが、HSPB1 変異によりそうした蛋白質の阻害に支障をきたすことによってインスリン抵抗性が増加すると推測される(実験で証明はされていない)。

質問 1 9) HSPB1 変異を有する患者は日本全体ではどの程度の数になると推測されるか。

(回答) 当科は日本の全 CMT 患者の約 7%の患者について解析を担っていると推定される。今回 HSPB1 変異が検出されたのが 13 人なので、日本で HSPB1 変異を持つ患者は $13 \times 100 / 7 = 185$ 名程度と推測される。

質問 2 0) CMT2F/HMN2B で copy number variation (CNV) で発症した報告や変異の hot spot の存在については言われていないか。

(回答) CNV や hot spot について存在するとした報告は検索した範囲では見いだせなかった。

質問 2 1) 他の CMT でも男女差があるのか。

(回答) MME 変異による CMT2T は男性優位に発症者数が多いと言われている。

質問 2 2) 浸透率が低いようだがこれらの変異で日本のコントロールデータベースに登録されているものはないのか。

(回答) 京都大学の Human Genetic Variation Database や東北大学の integrative Japanese Genome Variation Database には登録がなかった。

質問 2 3) nonsense 変異は mRNA decay をエスケープされることが予想されるがそれらを機能解析する予定があるか。

(回答) 機能解析は変異 HSPB1 を導入した transgenic mouse を作製するため現時点では計画していないが、nonsense 変異を生じた HSPB1 の mRNA や蛋白質の発現量を各々リアルタイム PCR やウェスタンブロットを行うことによって実際に mRNA decay をエスケープしているか評価することが可能と思われる。

質問 2 4) p.T151I は重症度や発症年齢が違っているのはなぜか。

(回答) ハプロタイプ解析は行っていないが、4 人とも同一地域の患者であり、創始者効果が存在している可能性が高いと思われる。従って重症度が異なるのは罹病期間や性別、あるいは環境などが関与しているものと思われる。

質問 2 5) Table 1 において 19 歳発症者は進行が速いのか。

(回答) 発症から 30 年経過しているが独歩可能であり、必ずしも進行が速いというわけではない。

質問 2 6) 一般的に CMT は発症が早い人が重症化しやすいか。

(回答) 一般的に CMT は発症年齢が早くても、必ずしも重症というわけではない。

質問 2 7) 地域集積性は他の変異にはみられないか。

(回答) p.R140G の 2 家系は共に福岡在住、p.P39L の 2 家系も、各々東京と埼玉在住と地域集積性がみられた。従ってこれらの変異も創始者が存在していた可能性があると思われる。

質問 2 8) 常染色体優性(顕性)遺伝(AD)と常染色体劣性(潜性)遺伝(AR)の両者を示す遺伝子があるが、同一部位の変異で AD と AR の両方を示すことがあるのか。

(回答) 同一の遺伝子変異で AD と AR の両方の遺伝形式をとるものも存在している。

質問 2 9) 変異の種類が色々あるがそれが全て軸索輸送に影響を与えているのか。

(回答) いずれの変異も下肢遠位部の筋力低下で発症しており、電気生理学的にも軸索障害パターンを呈しているため、いずれも軸索輸送の障害で発症している可能性が高いと思われる。

質問 3 0) シャペロンの働きの中では折りたたまれた蛋白質をもとに戻す機能よりも蛋白質の移動を助ける働きに影響を与えているのか。

(回答) 蛋白質の産生において、ミスフォールドされた構造をもつ蛋白質も多量に産生されるが、分子シャペロンはそれらを(すべてではないが)修復した上で移動の補助を担っていると考えられる。

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。