

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 586 号	学位申請者	梅原 ひろみ
審査委員	主査	高嶋 博	学位 博士 (医学・歯学・学術)
	副査	浅川 明弘	副査 武田 泰生
	副査	橋口 昭大	副査 崎山 佑介

主査および副査の5名は、令和3年1月14日、学位申請者 梅原 ひろみ 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) この家系を対象とした理由は何か。

(回答) 遺伝性に I 型双極性障害が発症しており、罹患者が全員炭酸リチウムで寛解したと言う特徴的な家系であったため研究対象とした。

質問 2) DOCK フェミリーの機能解析に関連するノックアウトマウスが存在するのか。

(回答) 肥満細胞におけるアレルギー関連の研究で *Dock5* ノックアウトマウスが存在するが、精神疾患に関する行動解析については行われていない。

質問 3) DOCK5 がミクログリアの活性化を抑制する機能を持っていることを予想していると思うが、DOCK2 のミクログリアの活性抑制のパスウェイも DOCK5 同様に GSK3 β を介するという理解で良いのか。

(回答) DOCK2 が低分子量 G タンパク質の活性化を介して、遊走・免疫シナプス形成等の様々なリンパ球機能を制御することが分かっているが、GSK3 β との関連についての報告を見つけることはできなかった。

質問 4) イントロンの配列解析は行ったのか。

(回答) 今回はエクソーム解析からの絞り込みを行った。エクソン-イントロン接合部は検証したが、それ以外のイントロン部については分析していない。

質問 5) 双極性障害や統合失調症等の精神疾患で遺伝性が高いとされるものには、環境要因が少ないのであればあまり認知行動療法は必要ないことになるのか。

(回答) 双極性障害や統合失調症については遺伝的な要素が強いとされているが、多因子遺伝疾患である。遺伝性が強い場合でも認知行動療法で服薬の重要性の認識はじめ、認知の歪みの修正を行い、ストレスコーピングを形成することは病気の増悪を繰り返さないために非常に重要と考えられる。

質問 6) *DOCK5* で今回の変異以外に共通した変異は見つかっていないのか。また双極性障害の研究で他に報告されている変異は認めなかったのか。

(回答) 見つかっていない。これまでに双極性障害に関連の可能性があるとされているものの中で、有力とされている遺伝子は家系の検体を用いて全て解析したが見つからなかった。

質問 7) *DOCK5* の発現場所はどこか。

(回答) 脳での発現はもちろんであるが、脾臓や骨髄をはじめ、多くの器官で発現しているタンパク質である。

質問 8) 変異タンパク質が発現しているとして、それがどのように関わってくると考えているのか。

gain of function となる毒性などは認めないのか。

(回答) 今回発見した *DOCK5* 変異が機能獲得性が機能喪失性なのかを明らかにするには、今後機能解析が必要であると考えている。変異によってドメイン近くのアミノ酸が親水性から疎水性に変化していることや、in silico 解析の結果から機能喪失性変異によるハプロ不全の可能性を考えている。

質問 9) 家系内の健常人で同じ変異を持つ方に関して、発症年齢は関係しているか。

(回答) 双極性障害は 30 代が好発年齢であるが、どの年齢でも発症し得る。面談時 40~50 代であった変異を持つ 2 人の健常人は、それぞれ診断閾値以下の発揚気質者と抑うつに近い状態であったが、その後診断閾値を超えて発症する可能性は十分あると思われる。

質問 10) うつ状態はうつ病と双極性障害で症状自体は変わらないが、抗うつ薬への薬剤反応性に相違があるのか。

最終試験の結果の要旨

(回答) 単極性うつ病患者には抗うつ薬が効果的であるが、双極性障害であれば、抗うつ薬への反応性が悪い、もしくは逆に躁状態になってしまう(躁転)リスクが高いなど反応性の違いがあり、気分安定薬を第一選択薬として用いる。

質問 11) 双極性障害と比して単極性のうつ病での遺伝性は低いのか。

(回答) 双生児研究や家系研究において、単極性うつ病のほうが遺伝性は低い。

質問 12) DOCK5 はアレルギーとの関わりが言われているが、家系のアレルギー罹患についてはどうか？

(回答) 家系内罹患患者(II-1)にアナフィラキシー様症状が出現した可能性はあるが、記録ではアレルギーによるものかは明らかでなかった。その他の家系員でのアレルギー関連疾患の罹患歴はなかった。

質問 13) GSK3 β がプロモーターとして働いてアレルギーを惹起させる因子と予想されるが、脳内でアレルギー反応の異常により精神疾患が発症するのではないのか。DOCK5 と脳内でのサイトカインについての関連報告はあるのか。

(回答) DOCK5 が脳内でのサイトカインと関連していると言う報告は未だないが、肥満細胞においてヒスタミンなどの炎症メディエーターの脱顆粒反応を調節している。脳内でも同様の働きをしている可能性は高く、精神疾患の病態機序の可能性があり、今後の課題としたい。

質問 14) 炭酸リチウム以外の薬剤の反応はあったか。最初は違う薬を使用されていたのか。

(回答) 受診時うつ状態の強かった数名は三環系抗うつ薬であるクロミプラミン塩酸塩が先行使用もしくは併用されていたが、薬剤抵抗性に経過した。最終的には炭酸リチウム(ほとんどは単剤)を主剤とした治療が行われ、全例寛解に至った。

質問 15) 認知症を合併した家系内の方はいるのか。若年性アルツハイマー病の可能性はないのか。

(回答) 詳細な認知機能検査等の資料はないが、明らかな認知症の臨床症状を示すものはいなかった。

質問 16) 一般的な炭酸リチウムの奏効率はどのくらいか。

(回答) 25%程度と言われている。

質問 17) I型双極性障害 50名は炭酸リチウム反応性であったのか。

(回答) 炭酸リチウムが主剤であった患者も、その他の薬剤が主剤であった患者もいた。

質問 18) 精神疾患が起こる機序は分かっているかないことであるが、機能画像での報告はどうなっているのか。

(回答) 報告はあるが、再現性や疾患特異性を含めた関連の程度は一定していない。

質問 19) 本研究の結果が双極性障害の原因として確定に至っていないのはどの点か。

(回答) 機能解析による証明に至っていないことが挙げられる。家系内罹患患者の細胞を用いて DOCK5 の発現解析や GSK3 β への影響などに関する解析を行いたいと考えている。

質問 20) 一般的に連鎖解析をする場合、罹患なのか健常なのかと言うのが精神疾患では難しいと思われるが、特に健常者の問診はどのように行ったのか。

(回答) 本人からの主観的状態の聴取に加え、家系内でリーダー的存在であった II-1 の妻への聴取により、客観的評価を行い、日常・社会生活に支障をきたす症状がない場合を健常とした。

質問 21) 連鎖解析において浸透率は色々変えてみたのか。

(回答) 2点解析は最初に高浸透率の変異を予備的に全染色体から探索するため 90%と設定した。

多点解析については、DOCK5 の変異同定後に DOCK5 変異の存在する周辺の連鎖を確認する目的で施行したので、本家系における DOCK5 c. 3170A>G 変異の浸透率に近い値(80%)を用いた。

質問 22) 10 番染色体は本当に変異がないのか。共分離する変異がないのであれば変異検索領域や 10 番染色体の 2 点解析の結果は間違いの可能性はあるのでは。

(回答) 連鎖解析結果に基づき十分に広い領域についてエクソーム解析によって変異検索を行ったが、共分離する稀な変異は全く存在しなかった。そのため、10 番染色体の 2 点解析の結果が間違えている可能性も疑われるが敢えての検証は行っていない。

質問 23) 健常の中に DOCK5 上で欠失挿入変異などのフレームシフト変異やストップコドン変異が多くあればハプロ不全とは言えない。このような変異を持つ健常者の有無についてデータベースで確認が必要ではないか。

(回答) 当研究室の健常検体ではフレームシフト変異やストップコドンは確認されていない。日本人約 4700 名(必ずしも全員健常ではない)を用いた東北ゲノムプロジェクトのデータベース(4.7KJP)では DOCK5 上のストップコドンを呈する変異はなかった。Genome Aggregation Database では極めて低頻度にストップコドンの報告があったが、疾患が気分障害などのように正常から異常に至るまでのスペクトラムを呈する場合、このような大きなデータベースにおいては、診断閾値の明確な設定は困難であり、データベースの健常者にも未発症を含めた気分障害患者が一部含まれている可能性がある。しかし、変異を持つものが健常者にいる場合は、c. 3170A>G 変異変異が機能獲得性の変異である可能性は否定できないと考える。

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。