

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 589 号	学位申請者	横塚 紗永子
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	久保田 龍二	副査 橋口 昭大

主査および副査の5名は、令和 3年 2月 22日、学位申請者 横塚 紗永子 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) 当研究対象家系と同様な症状の患者は日本や世界で報告されているのか、地域偏在はあるのか。

(回答) Marfan 症候群様体型と統合失調症の関連はアメリカやイタリアでも報告されており、両者が併発する頻度は高いのではないかと推測されている。遺伝子変異の同定には至っていないが、愛媛や鹿児島においても併発例を経験しており、明らかな地域偏在性は認めていない。また、他のヒストンメチル化修飾因子の変異における稀な疾患も全世界で報告されている。

質問 2) 脳の血管障害は除外できているのか。

(回答) 発端者に関しては、頭部 CT と MRI で器質因を除外している。

質問 3) *Kdm2b* ノックアウトマウスは個体ごとにフェノタイプに相違があるのか。

(回答) 多くは神経管閉鎖不全により、胎生致死となる。かなり稀ではあるが、成熟する個体もあり、縮れた尾を呈する。以上のように表現型に個体差が存在する。

質問 4) *KDM2B* mRNA の発現量と奇形の報告はあるか。

(回答) CxxC ドメインをヘテロにノックアウトしたマウスでは、ホメオティックな骨格の変化をしめした報告がある。CxxC ドメインのホモ接合 null 胚では胚外発生や、重度の発達遅延を認め、発現量の量的な違いが表現型に反映していると考えられる。

質問 5) パーソナリティー障害での双生児研究は既報のものはあるのか。

(回答) 境界性パーソナリティー障害の罹患一致率は、2000 年の Torgersen らの報告によると、一卵性双生児で 35% (92 双子)、二卵性双生児で 7% (129 双子) の罹患一致率であることが示されており、中等度から高度の遺伝性を示している。

質問 6) *Kdm2b* ノックアウトマウスで神経管閉鎖不全がどのような遺伝子の発現の変化で生じているのか、既報の研究はあるか。

(回答) マウス *Kdm2b* 欠損胚では、*p19arf* の発現量が有意に亢進しており、異所的で過剰な細胞死を引き起こし、神経管閉鎖不全の一因であると考えられる。

質問 7) *KDM2B* は神経細胞での発現はあるのか、グリア細胞での発現か。

(回答) 神経細胞、グリア細胞両者ともに発現がある。大脳皮質での発現の内訳は神経細胞 35%、グリア細胞 65% である。

質問 8) *KDM2B* の発現は発生の過程や老化の過程で変化するのか。

(回答) マウスでは卵母細胞、受精卵、胚盤胞を含む初期胚において発現量が高いことが示唆されている。

質問 9) 変異が入っている場所はエクソンであるのに何故 mRNA の発現量に影響があるのか。

(回答) 機能的に重要なドメインであり、変異によりコドンの最適度が低くなり、mRNA が不安定化して RNA 分解に導かれていると考えている。

質問 10) 東北メディカルメガバンク機構データベースで確認された同じ変異を有する方は症状はなかったのか。

(回答) 変異を有する 1 名において、自記式の質問表に基づく臨床データを手入手することができたが、精神疾患や身体奇形は認めなかった。しかし、臨床医による客観的なデータでないため、身体小奇形や精神病症状がなかったとは断定できない。

質問 11) 対象家系内で、遺伝子異常がないが、表現型を一部有する方がいるが、変異との関連はないのか。

(回答) *KDM2B* 変異のない方で有する症状を、*KDM2B* 変異を有する 4 例で表現型は促進されていると考えている。

## 最終試験の結果の要旨

質問 1 2) *KDM2B* 変異が及ぼす影響が胎生期であると考えたときに、発現解析をリンパ芽球で行うのは一般的であるのか。

(回答) 材料が実際の患者から提供いただいた検体に限られており、解析方法に限界があった。神経系の発生段階での発現の解析も今後行う必要がある。

質問 1 3) ヒストン H3K4 トリメチル (me3) 量解析では発端者検体のみバラつきが大きい、なぜか。発端者の解析結果が増加すると予測を立てて解析したのか。

(回答) 発端者の変異がある場合、H3K4me3 量は増加すると考えていた。3回蛋白抽出から解析まで行い、1回の実験で3well計測したが発端者の変異のみ me3 量のばらつきが大きかったのは、何らかの機能的関連がある可能性もある。

質問 1 4) 論文中には、発現解析と me3 量解析では 95%CI を用いているが、SD でよいのではないか。

(回答) 発端者検体と、一般統合失調症患者検体は1検体であり、健常者の検体数が異なるため SD を用いて解析を行うことは統計学的に不適切と考え、今回は実験結果の平均値の推測のために 95%CI を用いた。

質問 1 5) ヒストンメチル化修飾因子が組織や時期特異的に機能するかは明らかになってきているのか。

(回答) 2019年に Jambhekar らが示しているように、哺乳類では発生段階でヒストン修飾因子が特異的に発現するタイミングや、臓器特異的に発現するものなどが明らかになりつつある。

質問 1 6) 家系内の変異を認めた方に特徴的な精神症状はあるのか。

(回答) 家系内の変異を認めた III-3、第四世代の 5、9 (発端者) は ICD10 の分類では破瓜型統合失調症に近い表現型であり、徐々に人格水準が低下していった。

質問 1 7) 家系内の変異を認めた方の知的障害の程度はどうであったか。

(回答) 発端者は 31 歳時の鈴木ビネー式知能検査で IQ 40 程度であった。IV-8 は生来知的障害があり、養護学校を卒業している。20 歳時の田中ビネー式知能検査で IQ35 であった。

質問 1 8) 家系内の変異を認めないが精神症状のある方の知的障害はどうであったか。

(回答) IV-1、IV-3 は社会適応もよく、家庭をもっており、知的能力は社会性を保てる程度有していたと考えられる。

質問 1 9) 既報の *KDM2B* 遺伝子変異の発現解析の知見などはあるか。

(回答) 報告はない。*KDM2B* 遺伝子変異が病因遺伝子と考え報告した論文のなかで、本研究で初めて発現解析を行っている。ヒストンメチル化酵素遺伝子である *KMT2B* 遺伝子変異で生じる早発性ジストニアで行われた線維芽細胞での発現解析では、本研究と同様に発現量は低下していた。

質問 2 0) 今回 H3K4me3 量は計測しているが、H3K36 ジメチル (me2) 量の定量は行なっているか。

(回答) おこなっていない。解答 19 でお示しした早発性ジストニアの *KMT2B* 遺伝子変異患者の線維芽細胞で H3K4me3 量の変化をみとめなかった。本研究はリンパ芽球様細胞での実験であり、H3K4me3 量と同様に H3K36me2 量の結果は意義が低いと考え、積極的に行わなかった。

質問 2 1) 家系内の方には、独語や空笑はあったが、幻覚や妄想などの陽性症状はあったのか。

(回答) 会話性の幻聴がある場合に他者からみると独語や空笑が観察される。他に奇異な行動もあることから、幻覚妄想状態があったと考えている。

質問 2 2) 浸透率を 100%とする場合には漏斗胸の原因遺伝子を解析してみるなどしなかったのか。漏斗胸を有する 6 人の連鎖解析で LOD 値を解析するなど、他の病因遺伝子の可能性はないのか。

(回答) 骨格系の異常については、Marfan 症候群の原因遺伝子の詳細な CNV 解析や、サンガーシーケンシングにより家系内で確認しているが、変異は認めなかった。浸透率 100%の想定でさまざまな表現型の組み合わせで、連鎖解析を行なったが、今回の結果以外に有意な連鎖領域に絞込むことはできなかった。

質問 2 4) 母親は精神症状が悪ければ、ここまで多産にならないのではないか。

(回答) 保護的な環境であったことや発症年齢が比較的遅かった可能性などを考えている。

質問 2 5) 足部の変形はニューロパチーからの可能性はないか。

(回答) 神経学的診察の際に、明らかな異常は認めなかった。

質問 2 6) Depth を 25 で絞り込むと重要な変異を見逃している可能性はないか。

(回答) Depth を 25 で絞り込む前に候補遺伝子については全て精査したが、精神症状に関連する機能的な遺伝子は認めなかった。

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。