

最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 664 号		学位申請者	平松 有
審査委員	主査	中村 雅之	学位	博士 (医学)
	副査	橋口 照人	副査	武田 泰生
	副査	久保田龍二	副査	谷口 昇

中村 雅之主査および副査の5名は、令和4年5月23日、学位申請者 平松 有君に面接し、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) Patient 2 でビタミン B12 が低下していたが、大球性貧血は認められたか。

(回答) 大球性貧血を認めた。

質問2) ビタミン B12 の投与により症状が悪化したことについてどのように考察しているか。

(回答) MTPAP 遺伝子の変異では DNA 修復の遅延や DNA 二本鎖の切断増加などが報告されており、DNA が障害されやすくなることで補酵素となるビタミン B12 の需要が増え、欠乏している可能性を考えている。

質問3) Patient 3 で横紋筋融解を繰り返していることについてどのように考察しているか。

(回答) 本症例の筋生検の結果では神経原性変化のみ認めたが、横紋筋融解をきたしたのは遺伝子検査の後で、筋生検からも日時が経っていることことから、本症例においては時間経過と共に筋の障害も合併してきた可能性を考えている。HADHB 遺伝子変異では横紋筋融解をきたす報告が多数みられている。

質問4) PDHB 遺伝子と HADHB 遺伝子のモデルフライは点変異ではなく、ノックダウンしたものだが、基本的にはマウスであればノックダウンしたら胎生致死をきたすと考えて良いのか。

(回答) 遺伝子をノックダウンした場合は胎生致死にいたると考えられる。

質問5) "Likely pathogenic" を "Pathogenic" とするためにどのようなアプローチをしたら良いか。

(回答) ACMG ガイドラインによれば、該当する遺伝子変異による機能変化の解析をすることが望ましい。同じ変異をきたしたモデルフライの解析であったり、線維芽細胞を iPS 化して神経細胞に分化する際にどのような変化があるかを判断したりすることも考えられる。

質問6) 今回4つの遺伝子の変異の近傍にも変異がみられているが、それらの報告でも末梢神経障害はきたしているのか。

(回答) HADHB 遺伝子に関しては近傍で末梢神経障害の報告が近年みられているが、他の3つの遺伝子については末梢神経障害の報告はみられない。ただ末梢神経障害は積極的にさがさないと見逃す可能性があるため、合併していた可能性は否定できないと考える。

質問7) Patient 1 と 3 については両親が同じ変異をヘテロで持っていて、発症しているが頻度の多い変異なのか。

(回答) 少なくとも公共のデータベースではバリエーションの報告はなく、頻度が高い訳ではない。得られた情報では血縁結婚ではないということであったが、遠く遊ればつながりがあるのかもしれない。

質問8) MTPAP 遺伝子の p.Q511* の変異については loss of function ではないと記載されているが、どのような機序が予想されるか。

(回答) 今回は対立アレルも含めて蛋白機能の低下を起こしていると考えられる。

質問9) 今回の症例において、エネルギーを補充する治療が有効と考えて良いか。

(回答) 考察にも述べたように代謝経路に関わる遺伝子の変異の場合、それ以外のエネルギー回路を利用することで、発症や進行を遅らせることができる可能性があると考えられる。

質問10) モデルフライの解析はノックダウンなので、今回の遺伝子変異が病的意義があるかの真の証明にはなっていないのではないのか。

(回答) ご指摘のように実際の遺伝子変異を組み込んだモデルフライを解析することが望ましいが、点変異では異

最終試験の結果の要旨

常を検出できない可能性もあり、神経障害が証明できるかはやってみないとわからないところがある。

質問 11) Patient 3 は de novo 変異の可能性はないのか。

(回答) 可能性はある。本来であれば両親の家計調査が必要だが既に逝去されており困難であった。

質問 12) Figure 3 の筋病理では神経原性変化がみられ、筋原性の変化はほとんどみられていないが、過去のミトコンドリア関連核遺伝子の変異報告でミトコンドリアの形態や数などの異常がみられたものはあるのか。

(回答) *SUCLA2* 遺伝子変異の症例では筋のミトコンドリア DNA の数が減少する、枯渇が報告されている。また *MFN2* 遺伝子や *GDAP1* 遺伝子など、ミトコンドリアのダイナミクスに関わる遺伝子の変異では、ミトコンドリアの大きさの変化が報告されている。

質問 13) Patient 1 は乳幼児に 4 回痙攣を起こしているが、脳症状と捉えて良いのか。

(回答) 以後の痙攣の記載はなく、頭部 MRI も軽度の脳萎縮がみられるのみであり、関連性ははっきりしない。

質問 14) 全体の遺伝性末梢神経障害のなかでミトコンドリア関連は何割を占めているのか。

(回答) 我々の講座における解析では *MFN2* 遺伝子、*GDAP1* 遺伝子を中心に 2 割を占めている。

質問 15) ミトコンドリア関連遺伝子以外の機序でのニューロパチーの原因遺伝子は報告されているのか。

(回答) イオンチャネルや蛋白の輸送・代謝・処理、DNA 修復・転写・核酸合成などに関わる遺伝子など多数報告されている。

質問 16) *PMP22* 遺伝子の重複を除外しているのはどういうことか。

(回答) *PMP22* 遺伝子については *CMT1A* の原因遺伝子として一番多く報告されており、保険内で検査可能であるため予め検査をして除外をしてもらっている。

質問 17) *PMP22* 遺伝子の重複は *CMT* のどの程度を占めているのか。

(回答) 本邦での正確な頻度は明らかではないが、*PMP22* 遺伝子の重複が *CMT* の 20%-40% と推定される。

質問 18) 今回の対象は他の *CMT* 患者は除外されていると考えて良いのか。

(回答) あくまでも既知の遺伝子の変異については除外をしているだけなので、完全に除外できている訳ではない。

質問 19) 今回の 4 つの遺伝子異常は全て loss of function と考えて良いのか。

(回答) 基本的には loss of function を想定している。但し、*MTPAP* 遺伝子に関してはミスセンス変異の報告だけであり、gain of function の可能性を残している。

質問 20) 今回の遺伝子変異で蛋白の局在移行に関連したものがあるか。

(回答) 今回の変異がみられた 4 つの遺伝子にはそのような機序は確認されていない。

質問 21) mtDNA 自体の欠失などの解析はおこなっているのか。

(回答) 患者の診療をした小児科では呼吸鎖酵素活性などの評価はされており、行われている可能性はあるが、その情報は臨床医から入手できていない。白血球からの mtDNA の欠失評価についてはヘテロプラスミーの観点から難しく、行っていない。

質問 22) Patient 1 や 4 は中枢神経障害もあり、複合遺伝性末梢神経障害というよりもミトコンドリア異常症ではないか。疾患概念をどのように考えているか。

(回答) 遺伝子解析が進歩したことにより、*CMT* の原因遺伝子と考えられていた遺伝子で中枢神経障害をきたす報告も出ていること、また中枢神経障害の原因遺伝子が末梢神経障害を合併することもあるなど、症候でミトコンドリア異常症か複合性遺伝性末梢神経障害とするかを判断することは難しくなっている。主訴・主症状が何かということで判断するしかないところもあるが、これからは症候よりも遺伝子単位での分類が望ましいと考える。

質問 23) Figure 4 の電気泳動はヘテロダイマーをみているのではないか。

(回答) ヘテロダイマーをみている可能性はあるが、変異のみられるエクソン 6 のスプライスサイトを挟むプライマーペアを用いて *SUCLA2* の cDNA を増幅し、サンガー法にて 9 塩基の欠失は確認している。

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。