

最終試験の結果の要旨

報告番号	総論第 27 号		学位申請者	橋口 昭大
審査委員	主査	出雲 周二	学位	博士 (医学・歯学・学術)
	副査	武田 泰生	副査	橋口 照人
	副査	中村 雅之	副査	久保田 龍二
<p>主査および副査の5名は、平成28年3月23日、学位申請者 橋口 昭大 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。</p> <p>質問1) ニューロフィラメントの異常により様々な蛋白輸送の障害で神経萎縮をきたしたと理解してよいか。 (回答) ニューロフィラメントライトの障害で軸索輸送障害、特にこれまでの報告や本症例の病理においてもミトコンドリアの輸送障害がおこり神経萎縮をきたしたとそのように理解している。</p> <p>質問2) 錐体路徴候を伴うニューロパチーを起こすその他の遺伝子もこのような軸索輸送障害によるものなのか。 (回答) 核遺伝子由来のミトコンドリア異常による痙性対麻痺では輸送障害ではなくて機能異常によるものなども認められるため必ずしもミトコンドリアの輸送障害だけとは限らない。</p> <p>質問3) ニューロフィラメントはニューロン特異的な蛋白だがシュワン細胞でもミトコンドリアの集積が認められたのはどうしてか。 (回答) その点についてはまだ十分な検討がされておらず、今後検討すべき点である。</p> <p>質問4) 他のCMTは10~20歳代で発症するが、この家系は50歳代以降の発症であり、早期発症と遅発性の違いに原因があるのか。 (回答) 1000例近く集めた検体をみると20歳未満と50歳以降に発症年齢のピークがあり、変性を起こす背景にこの遺伝子異常が関係すると考えている。そこに環境ストレスなど何らかの因子が加わり遅発性に発症し、それが50歳以降に起こるのではないかと考えている。</p> <p>質問5) 他の遺伝子変異との組み合わせで起こっているのではないか。 (回答) DNAチップに搭載した残る27遺伝子では変異は見つかっていない。その後多数の原因遺伝子が発見されているがそれらについてはまだ調べていない。</p> <p>質問6) 未発症の親、兄弟の遺伝子は調べられていないのか？ (回答) 未発症の方は臨床的に全く健常で、遺伝子検査の同意が得られなかったため検査はできなかった。</p> <p>質問7) 錐体路障害はどこに病巣があるのか。 (回答) 脊髄のMRIでは全く萎縮がなく、頭蓋内・テント上レベルであると考えられる。</p> <p>質問8) 上肢のワーテンベルグやトレムナーなどの反射はどうだったか。 (回答) ワーテンベルグ・トレムナーは認めなかった。</p> <p>質問9) ミトコンドリアの分布の異常とは具体的にどのようなものか。 (回答) ミトコンドリアが正常に移動せず部分的に集積したと考えられる。</p> <p>質問10) 363のプライマーセットは1つのチューブで全て行うのか。</p>				

(回答) 幾つかのチューブにバランスよく分けて1つのチューブで15から20ペアのPCRを行っている。

質問11) 家系同胞5人全員が発症しているが、CMTでは常染色体優性遺伝だけれども、一般的に発症比率が高いと言われているか。

(回答) 一般的には言われていない。

質問12) 優性遺伝の割に polyphen2などは機能喪失の様な数値を示しているが、その解釈はどうか。

(回答) 機能喪失とは考えていない。病的な機能をもったと考えている。

質問13) ハプロ不全というよりは他の異常な機能を獲得したと考えられるのか。

(回答) ミトコンドリアの正常な移動を妨げるような機能を獲得したと考える。

質問14) NEFL 変異の CMT はすべて常染色体優性遺伝か。

(回答) 現時点ではすべて優性遺伝と考える。

質問15) 現在はエクソーム解析もされるようになってきたが、現在もこのチップ解析は行っているのか。

(回答) 現在はチップ解析はしていない。次世代シーケンサーで72の対象遺伝子を調べて変異がなく、臨床的に家族歴なども考慮してCMTと考えられる症例ではエクソーム解析を行っている。

質問16) 同じ変異は他の家系には見つかっていないか。

(回答) 同じ変異はまだ他の家系に見つかっていない。

質問17) チロシンからシステインへの変異だが、リン酸化されるチロシンなのか。

(回答) その点は今回は検討していない。

質問18) この変異が100%原因であるというためには今後どのような研究を進めたら良いか。

(回答) 培養細胞にこの変異を導入して同じようなミトコンドリアの移動障害が起こるかどうかなを確認するのと、健常な家族の解析が必要であると考える。

質問19) この患者の線維芽細胞からiPS細胞化させてそれを神経細胞に分化させると機能障害が出てくるはずなのでそこに正常なNFL遺伝子を導入すると機能が正常に戻るのではないか。

(回答) そのような視点は持ったことがなかったので貴重な意見として今後検討する。

質問20) ホモロジーがどこまで保存されているのか。

(回答) 鳥類まで確認できている。

質問21) ニューロフィラメントライトは顕微鏡で観察されるものなのか。

(回答) 観察可能だが、今回の研究では観察することができなかった。

質問22) HAMや遺伝性痙性対麻痺との違いで、下顎反射や腹壁反射は観察されたか。

(回答) 下顎反射は正常レベルであった。腹壁反射は消失していた。

質問23) 錐体路徴候の原因として一次モーターニューロンの末梢で障害された結果と考えられないか。

(回答) 考えうる可能性であり今後検討する。

質問24) 他の遺伝性痙性対麻痺の変異はなかったか。

(回答) 臨床的にニューロパチー主体だったので、まずニューロパチーをきたす疾患の責任遺伝子の検査をしたところこの変異が見つかったため、その後、遺伝性痙性対麻痺の変異は確認していない。

質問25) NEFL, p.Y389C 変異によって機能が半減しているのかあるいは正常な働きを阻害するのか。

(回答) 正常な輸送を妨げるような機能を獲得したと考えている。

質問26) この変異の発現解析は行っているのか。

(回答) 発現解析はしていない。今後検討したい。

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同等あるいはそれ以上の学力・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。