HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	日本人における遺伝性葉酸吸収不全症の研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	戸澤, 雄介
Description	配架番号：2544
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14079号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77920
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yusuke_Tozawa_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称　　博士（医　学）　　氏名　戸　澤　雄　介

審査担当者
主査　教授　豊　嶋　崇　徳
副査　教授　橋　野　　聡
副査　教授　安　斉　俊　久
副査　教授　村　上　正　晃

学位論文題名

日本人における遺伝性葉酸吸収不全症の研究
(Studies on hereditary folate malabsorption in Japanese patients)

申請者は本論文で、日本人の血縁関係のない遺伝性葉酸吸収不全症（HFM）4 例全例において、責任遺伝子 *SLC46A1* の intron 3 に deep intronic mutation, c.1166-285T > G, p.A389Gfs*20 が共通していることを示した。さらに、発症時期の遅く、症状も軽症な患者で新規変異 p.F392V を見出した。機能が残存した変異の可能性を考えたが、MTX-FITC を用いた葉酸取り込み能はほぼ完全に欠如することを示した。

審査にあたり、1 日目は副査の橋野聡教授より①HFM の診断における遺伝子解析の必要性、②本研究の HFM 患者の出生時の状態、③葉酸補充による機能や生命予後の改善程度について、④本症で消化管での PCFT の機能障害があっても葉酸の経口内服で治療できるのかと質問があった。申請者は①HFM は PCFT をコードする *SLC46A1* の機能喪失型変異で生じることが判明しており、確定診断のためにはこの遺伝子の解析を行なうことが重要である。葉酸が欠乏する病態は葉酸摂取不足や抗てんかん薬のフェニトイン内服などで生じることがあり、そのような二次的な欠乏例との鑑別のためにも遺伝子検査は重要である、②4 例はいずれも孤発例であり、出生時に貧血も含め本症を疑う臨床徴候はみられず、いずれも出生後に体内の葉酸が枯渇化してから貧血が生じたと推測される、③本症では葉酸の補充により貧血や免疫の機能が正常化するが、血球系の回復をもって十分だとしてしまうと脳脊髄液への移行が不十分で、後から神経学的異常が出現することがあるので注意を要する、④葉酸を大量に内服することで血中濃度が上昇する場合はあると、回答した。また、学位論文における誤字 2 か所の指摘があり、申請者はこれを修正すると回答した。

次に副査の安斉俊久教授から、①葉酸欠乏自体はまれな病態なのか、②本症例で見られた deep intronic mutation の海外での報告例の有無と、解析における問題点について、③患者 4 だけ比較的軽症だったというが、このような違いが生じた原因は遺伝子変異の違いによるものか、④本症の症状出現時期はいつかという質問がなされた。申請者は①葉酸欠乏自体は先に述べた摂取不足や抗てんかん薬内服あるいは代謝における酵素の遺伝子異常などによっても生じうるため、葉酸欠乏自体はまれではない、②同一変異の海外報告例はないが、この変異は deep intronic mutation であり、PCFT の血球系での発現が乏しいこともあり検索が難しく、また症状は急性に起こり、原因が分からず死亡した例も少なからず存在することが推測される。本研究で発見した変異部位を検索することで、海外の同一変異例が発見される可能性はある、③本症は genotype と phenotype の明らかな関連性は不

明だが、患者 4 の持つ新規変異 F392V は Grantham score で他の 2 つのミスセンス変異と比べて、影響が少ないとされたことと、PCFT 発現が正常と同程度だったことから、機能が残存している可能性を考えたが、少なくとも MTX-FITC を用いた取り込み能の解析では他と同じく欠如しており、機能との関連性は不明である、④症状は生後 2 か月前後から起こることが多い、と回答した。安斉教授からはさらに IRUD などの情報データベースの登録により情報共有を促進し、今回発見された変異の検索を国際的に進めていくことが期待されるとコメントがあった。

最後に主査の豊嶋崇徳教授から、申請者が中間審査時の研究からテーマを変更した理由、変更前の研究テーマの現在の状況、遺伝性葉酸吸収不全症の研究を行った期間、研究における共同研究者の contribution について質問があり、申請者はいずれも適切に回答した。

2 日目は副査の村上正晃教授から、①葉酸のトランスポーターの種類について、②4 例の HFM 患者の祖父母や親戚などの血縁関係の遺伝子解析の有無、③患者 1, 3, 4 で見られたミスセンス変異についてゲノムデータベースで検索を行ったか、④MTX-FITC の取り込み実験を行う際に pH 5.5 に調整した理由について質問が出され、申請者は①葉酸のトランスポーターは PCFT 以外にも RFC と FRαがある、②HFM 患者と両親以外の血縁関係者の遺伝子解析は行っていない、③deep intronic mutation 以外の変異は検索していない、④PCFT は酸性環境下で活性化するため、低 pH 下で MTX-FITC を取り込ませた、と回答した。村上教授からは、ゲノムデータベースは日々データが集積されているため、引き続き本症例で見られた変異の検索を行うべきとのコメントがあった。

以上の審査において、申請者はいずれの質問にも概ね適切に回答した。

この論文は、共通する deep intronic mutation が創始者変異あるいは hot spot である可能性を示し、機能解析においても MTX-FITC を使用することで、より簡便かつ安全に葉酸輸送能を評価できることを示した。今後の症例の集積により、HFM の遺伝子変異の特徴や表現型との関連について解析の進展が期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに充分な資格を有する者と判定した。