



Title	CARD14関連遺伝性皮膚疾患における復帰変異モザイク発生機序の解明 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	宮内, 俊成
Description	配架番号 : 2629
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14519号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81499
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Toshinari_Miyauchi_review.pdf, 審査の要旨



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 宮内 俊成

主査 教授 神谷 温之
審査担当者 副査 准教授 山崎 美和子
副査 准教授 野田 航介

学 位 論 文 題 名

CARD14 関連遺伝性皮膚疾患における復帰変異モザイク発生機序の解明
(Elucidation of the mechanism underlying revertant mosaicism in CARD14-related genetic skin disease)

本研究では CARD14 変異で発症する常染色体優性遺伝性皮膚疾患である CARD14-associated papulosquamous eruption の 2 症例を臨床的、病理組織学的、分子生物学的に解析し、世界で初めて同疾患における revertant mosaicism の存在を証明した。その中で、変異消失機序として相同組換えによる loss of heterozygosity が重要であることを示し、変異型 CARD14 がこの相同組換えを促進させるのではないかという仮説のもと、DNA 損傷修復や DNA 複製・複製ストレス反応との関連を詳細に解析した。その結果、変異型 CARD14 発現細胞では複製ストレス曝露に伴う DNA 損傷の増加が確認された。さらに、その DNA 損傷が break-induced replication を介した相同組換えで修復され、結果として loss of heterozygosity を生じる可能性を実験的に示し、DNA 複製ストレス反応の変化が正常化細胞発生機構において重要な役割を果たしている可能性があるという結論づけた。

審査にあたり、まず副査の山崎准教授から、相同組換えにより変異が消失した細胞が出現するが、変異が 2 つになった細胞が出現する可能性について質問された。これに対し申請者は、交叉型組換えを介する場合には細胞分裂の過程で変異が 2 つの細胞が出現し得るが、それらは同時に出現する変異が消失した細胞との生存競争の過程で淘汰されるのではないかと推測されると回答した。一方、break-induced replication を介する場合には変異が消失した細胞と変異が 2 つになる細胞が同時に出現することはないと考えられると回答した。また CARD14 の機能や発現パターン、DNA 損傷の指標となる γ H2AX などについて追加の説明が求められ、申請者は詳細にそれらを説明した。副査の野田准教授からは教科書的に CARD14 は毛孔性紅色秕糠疹に関連し、同疾患は臨床的に正常な皮膚が混在すると記載されているが、これらが全て CARD14 変異に関連しているのかについて問われた。これに対し申請者は、CARD14 が家族性毛孔性紅色秕糠疹の原因として報告されたが、全ての毛孔

性紅色粧糠疹に関連するわけではないため、一般的な毛孔性紅色粧糠疹において正常皮膚とされる部位には **CARD14** の変異あるいはその消失という現象は関係しないと回答した。また、複数の皮膚腫瘍を生じた症例を解析していたが、本疾患における皮膚腫瘍の頻度に関しても質問された。それに対しては、過去の報告上は腫瘍出現頻度の上昇は指摘されていないことを説明の上、患者個人の持つがん抑制遺伝子の遺伝子多型等を背景に腫瘍を生じやすいケースがあると推測されると回答した。さらに、変異型 **CARD14** が免疫染色で異常凝集塊を形成したが、それらが複製ストレス反応の変化をもたらすのかに関して質問された。それに対しては、変異型 **CARD14** はオリゴマー形成することで凝集塊の像を呈すると考えられており、それに伴う細胞内シグナルの変化が複製ストレス反応に影響している可能性が考えられるが、そのメカニズムに関しては現時点では不明であると回答した。最後に主査の神谷教授からは、まず本研究の世界的な位置付け、あるいは他研究施設で治療応用が進んでいるかどうかに関して質問された。それに対して申請者は、本研究分野に焦点を当てて研究している施設が非常に少ない点、また北海道大学皮膚科が表皮水疱症における **revertant mosaicism** を利用した表皮培養シート移植という治療応用研究も世界に先駆けて行っている点を説明した。また、他疾患における **revertant mosaicism** の可能性や皮膚疾患において **revertant mosaicism** の報告が多く見られる理由に関しても質問された。それに対しては、原発性免疫不全症や血液疾患においても同様の現象が知られていることを説明するとともに、他疾患と比べて皮膚疾患においては現象の出現を目視にて認識可能である点が研究に際して非常に有利に働きうると回答した。さらに同教授からは治療応用も見据えると **revertant spot** を広げるという観点から **migration** との関連についての研究も興味深いとの指摘がなされた。

この論文は、**revertant mosaicism** を生じる疾患を新たに発見し、また相同組換えに至る分子生物学的機序について重要な示唆を与えたことが高く評価され、今後染色体維持機構や **DNA** 複製調節機構に関する研究分野の発展に大きく貢献することが期待される。

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十分な資格を有するものと判定した。