

氏名（本籍） 辻 尚子（岡山県）

学位の種類 博士（医学）

学位授与番号 甲 第 679 号

学位授与日付 令和2年3月12日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 Functional analysis of a novel G87V *TNFRSF1A* mutation in patients with TNF receptor-associated periodic syndrome

審査委員 教授 通山 薫 教授 栗林 太 教授 近藤 英生

論文の内容の要旨・論文審査の結果の報告

TNF 受容体関連周期性症候群（TRAPS）は繰り返す炎症発作を主徴とする優性遺伝性の希少難病である。責任遺伝子として TNF 受容体（TNFR）関連遺伝子である *TNFRSF1A* のヘテロ接合体変異が同定されており、100 種類以上の変異が報告されているが、*TNFRSF1A* 変異の機能解析が行われているのは重症度の高い T79M 変異等ごくわずかに過ぎない。申請者は附属病院での日常診療において TRAPS が疑われる母娘例に遭遇し、次世代シーケンシングを用いた遺伝子解析の結果、両患者に共通して *TNFRSF1A* G87V/T90I 変異を見出した。とくに G87V 変異は新規な変異であった。しかもオンライン機能予測システムからは TNFR1 の機能に影響する変異であることが予測された。

そこで申請者は G87V 変異をはじめ種々の変異を有する *TNFRSF1A* 遺伝子発現ベクターを作成して HEK-293 細胞に強制発現させ、インビトロ実験にて種々の機能解析をおこなった。その結果、G87V 変異を有する TNFR1 は重症度の高い T79M 変異のときと同様に細胞表面への発現が低下していること、下流の NF- κ B 転写活性が抑制されていることがわかった。また患者末梢血単核球のミトコンドリア内活性酸素種産生が健常人の場合に比べて上昇していること、さらに患者末梢血単核球において Toll-like receptor 刺激による炎症性サイトカイン産生亢進が見られたことから、今回発見された *TNFRSF1A* G87V 変異は TRAPS の責任遺伝子変異のひとつであると考えられた。

申請者の今回の研究は TRAPS の母娘症例を端緒として、ゲノム解析の結果からリコンビナント細胞実験を実施して TRAPS の病態理解に迫るきわめて有用な知見を示したものであり、学位論文として十分な価値をもつと評価された。

学位審査会（最終試験）の結果の要旨

まず申請者から主論文に関して約 15 分間にわたって研究成果が発表された。今回の研究の背景として、TRAPS の遺伝学的要因や現在知りえている病態メカニズムについて詳細な説明がなされた。次いで今回の母娘症例の遺伝子解析の方法論と家系調査の結果、さらに変異遺伝子の単離、遺伝子導入実験とその結果が具体的に述べられ、新しい G87V 変異が当該症例における責任遺伝子であることが示された。

その後 3 人の審査委員から主論文の研究計画・材料と方法論・結果とその解釈・考察および結論に至るまで多数の質疑と応答がおこなわれた。まず、本研究は患者のゲノム解析および健常者血液細胞を扱う研究を含むものであったことから、研究にあたっての倫理的観点を質したところ、正しい理解と手続き、協力者への真摯な対応が示された。次に分子病態メカニズムに議論が移り、G87V 変異が具体的に TNFR1 蛋白のいかなる構造的・生化学的変化をもたらすのかについて、既報に基づいて異常な重合がおこった結果正常アリル由来蛋白の機能を抑制するという説明がなされたが、詳細については今後の検討が待たれる。一方、本研究の中心を成すリコンビナント細胞実験は自ら推進していったことが明瞭で、卓越した研究手法が証明されたといえる。得られた結果も説得力のあるものであった。

本研究は日常診療で遭遇した症例の検索から新規なゲノム変異を発見し、それが責任遺伝子変異であることを遺伝子単離・再構成実験によって証明し得たというまさに **Bed to Bench** を実践した研究であり、また実験全体が申請者自身の努力に基づき遂行されたことが明白であり、その過程で申請者は大学院生として十分な学識と経験を得たことが示された。しかも早期にこの成果が一流国際誌に採択され、特例適用による申請が認められたことも特筆に値する。審査員による合議の結果、学位審査最終試験は合格と判定された。