

(第7号様式)

## 学位論文審査結果の要旨

氏 名	文 明
審 査 委 員	主査 小林 直人 副査 松田 正司 副査 難波 大輔 副査 佐野 由文 副査 松原 裕子

論 文 名

円錐動脈幹部心奇形発生における DiGeorge 責任領域近位端に位置する DGCR6 の関与

学位論文の要旨

[背景と目的]

DiGeorge 症候群は、出生 4000 から 6000 に 1 例の頻度で現れ、心血管系の先天奇形を含む多様な発生異常を生じる疾患である。DiGeorge 症候群の約 8 割には心血管系、特に心臓の流出路の先天異常を伴い、その責任遺伝子の一つとして *TBX1* が想定されている。しかしながら、DiGeorge 症候群に典型的な心血管系の奇形のみを示す群では、本症候群の診断に用いられる染色体異常である 22q11.2 の欠失が FISH 法では認められないことが多い。そこで本研究では、本症候群に典型的な心血管系の奇形のみを示す群において、その責任遺伝子を明らかにすることを目的とする。

[対象と方法]

申請者らが経験した DiGeorge 症候群の患者のうち、本症候群に典型的な心血管系の奇形を示し、胸腺の低形成・口蓋裂・低カルシウム血症が認められず、FISH 法では 22q11.2 の領域に欠失が認められなかった 6 例を解析した。ヘルシンキ宣言に基づいて、患児の親から本研究に対するインフォームド・コンセントを得ている。本研究は、愛媛大学と徳島大学における倫理委員会の審理を経て承認された。ゲノム DNA の試料を抹消血から採取し、コピー数の解析には定量的 PCR 法と Array 解析法とを用いた。

[結果]

解析した症例では *TBX1* の遺伝子異常は検出されなかった。しかしながら高解像アレイ CGH 解析により、6 例のうちの 2 例において DiGeorge critical region (*DGCR*) の近位端付近に、短い欠失 (deletion) ないし重複 (duplication) が認められた。

この領域には、*DGCR6*、*PRODH*、*DGCR5*、*DGCR9*、の4つの遺伝子が含まれていた。これらのうち、*DGCR6*は*TBX1*の発現に関与するといわれている一方、他の3つの遺伝子には今までのところ DiGeorge 症候群との直接の関連が認められていない。報告されている他症例のデータとあわせて考察した結果、申請者は、*DGCR6*が今回解析した2例の責任遺伝子として最も可能性が高いと結論した。

さらに申請者は、*DGCR6*と*TBX1*との関連を直接検討するため、申請した主論文にはない追加実験を行った。培養ヒト大動脈平滑筋細胞を用いて、*DGCR6*を強制発現させたところ、*TBX1*の発現は抑制された。一方、他の研究者らの文献によると、ニワトリ胚を用いて*DGCR6*の発現を抑制したところ*TBX1*の発現は亢進したという。

#### [考察]

ゲノム上の*DGCR6*のコピー数が増えて*TBX1*の発現が低下しても、逆に*DGCR6*のコピー数が減って*TBX1*の発現が亢進しても、同様な phenotype が生じたと考えられる。申請者はこのような特異な現象を、*TBX1*タンパクは別の因子と hetero-dimer を形成することで正常に機能するが*TBX1*自体が homo-dimer となると機能できない、という Liao らの仮説を採用して説明した。

#### 審査結果の要旨

本論文の公開審査会は、平成27年1月19日に行われた。

申請者は、DiGeorge 症候群の病態、今回の研究の目的と方法、結果 (*in vitro* の追加実験を含む) とその解釈について英語で説明した。その後、審査委員から日本語で質問を行った。主な質疑内容は以下の通りであった ([ ] 内は申請者の応答)。

- ① *DGCR6*と*TBX1*とが関係して DiGeorge 症候群を引き起こすという本研究が提示する仮説を、今後どのような動物モデルや実験方法を使って証明できると考えるか。  
[患者のデータからの解析は難しいが、マウスを用いた研究では証明可能。*TBX1*に対する免疫沈降法で、結合している別の因子を同定できるかも知れない。]
- ② 本研究の成果が、DiGeorge 症候群の臨床的な診断にどのように役立てられるか。遺伝子解析を用いて本症が出現するか予見できないか。[現在入手可能なプローブでは遺伝子診断は難しい。今回は患者の両親の遺伝子解析はしていない。]
- ③ 核内に局在するタンパクである *DGCR6* のリン酸化はどのように制御されているか。  
[*DGCR6* についての研究データが少なく、詳細な検討は今後の課題。]
- ④ 追加実験で用いた培養細胞の種類が妥当かどうか。[神経堤細胞の培養が難しいため今回は平滑筋細胞で代用したが、他の細胞種でも同様の結果を得ている。]
- ⑤ ファロー四徴症の重症度と *DGCR6* 遺伝子のコピー数との間に関連はないか。[今回は症例数が少ないので関連性は不明。症例を増やして解析する必要がある。]
- ⑥ 本研究で解析しなかった他の遺伝子や他のゲノム領域が DiGeorge 症候群の発症に関連している可能性はないか。[可能性は排除できないので要検討である。]

申請者はこれらの質疑に対し、日本語で的確に応答した。

以上から、本審査委員会は本論文を高く評価し、全員一致して博士(医学)の学位に値すると判断した。