

京都大学	博士 (医学)	氏名	大石 真 秀
論文題目	Comprehensive Molecular Diagnosis of a Large Cohort of Japanese Retinitis Pigmentosa and Usher Syndrome Patients by Next-Generation Sequencing (日本人網膜色素変性及びアッシャー症候群に対する次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子スクリーニング)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景と目的】 網膜色素変性は進行性に視細胞死を引き起こす遺伝性疾患であり、その有病率は約4000人に1人と報告されている。同疾患には現在有効な治療法がなく、先進国における主な失明原因の1つである。多数の原因遺伝子が存在し、その頻度は人種によって異なる事が知られていたが、日本人における頻度は不明であった。近年、次世代シーケンサーの開発により網羅的遺伝子検索が迅速に行えるようになった。本研究では多数の日本人患者を対象に次世代シーケンサーを用いて網羅的遺伝子検索を行い、原因遺伝子の頻度を調べた。</p> <p>【方法】 網膜色素変性及びアッシャー症候群（網膜色素変性に聴覚障害を伴うもの）を呈する日本人患者329名を対象に、遺伝性眼疾患の原因遺伝子として報告されている全193遺伝子の全てのエクソン及びエクソン-イントロン境界部分25塩基対の遺伝子配列を調べた。対象領域を任意に設定できる HaloPlex Target Enrichment kit 2.5 Mb を用いて目的とする領域の抽出及び増幅を行い、Illumina HiSeq 2500 を用いてシーケンスした。検出された遺伝子変異の病原性は、正常者での保有頻度、変異の種類、イン・シリコ予測解析、報告されている遺伝形式や表現型との整合性、家系解析を用いて評価した。</p> <p>【結果】 網膜色素変性患者の36.3%（115/317人）、アッシャー症候群患者の50%（6/12人）で遺伝子診断に至った。30遺伝子に104種類の病原性変異が検出され、そのうち66種類が今回の研究で初めて報告された変異であった。原因遺伝子としては、EYS、USH2A 及び RHO の頻度が高かった。中でも EYS は劣性遺伝形式及び孤発例患者の原因の15%（35/234人）を占め最も多かった。これは網膜色素変性患者全体の10.7%（35/317人）にあたり、単一遺伝子が占める割合としては他の人種での報告を含めこれまでで最も高いものであった。また今回、過去に病原性変異として報告された遺伝子変異が189種類検出されたが、そのうち29.1%（55/189種類）は正常者での保有頻度が高い事から本研究では病原性変異として扱わなかった。</p> <p>【考察】 多数の日本人網膜色素変性患者及びアッシャー症候群患者の網羅的遺伝子検索を行い、日本人患者における病原性変異を明らかにした。また、日本人と他の人種では頻度の高い原因遺伝子や変異が異なる事を示唆する結果を得た。一施設での結果であり、多施設研究による確認が望まれる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

網膜色素変性は、遺伝子の変異によって網膜変性をきたし失明に至る遺伝性疾患の1つであるが、原因遺伝子が多数存在し従来の遺伝子検査法でその総てを調べるのは困難であった。また、人種によって各原因遺伝子の占める割合が異なる事を示唆する報告はあったが、日本人患者における頻度はこれまで不明であった。しかし、近年次世代シーケンサーが開発され、網羅的な遺伝子検索が迅速に行えるようになった事から、本研究ではこの手法を用いて網膜色素変性及びアッシャー症候群を呈する日本人患者329名を対象に、これまで報告されている遺伝性眼疾患の原因遺伝子193個総てを調べ、対象者の36.8%で原因と考えられる遺伝子変異を同定した。その結果、日本人患者では EYS 遺伝子に変異を持つ割合が全対象者の10.7%を占め最も多い事が確認され、またその他の原因遺伝子についても欧米や中国の報告とは頻度が異なるという結果であった。更に、本研究では過去に病原性変異として報告されている遺伝子変異の検証を行い、正常者での保有頻度が高い事からその病原性の判断に慎重を要する変異を複数（55種類）明らかにした。多数の日本人患者で原因遺伝子が同定できた事で、今後の効率的な遺伝子スクリーニングや原因遺伝子に基づいた研究が可能となった。

以上の研究は網膜色素変性の原因遺伝子の解明に貢献し今後の当該疾患の病態解明に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成29年11月15日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降