

論 文 審 査 の 要 旨

筆頭著者（学位申請者）氏名

大串 健一郎

主論文の題目
および
掲載・審査委員

題 目 DNA Methylation Status of *SHOX*- Flanking CpG Islands in Healthy Individuals and Short Stature Patients with Pseudoautosomal Copy-Number Variations

（健常人及び擬常染色体領域にゲノムコピー数異常を持つ低身長患者における *SHOX* 隣接 CpG アイランドのメチル化状態についての検討）

掲載誌 Cytogenetic and Genome Research 2019;158:56-62

主査 新井 文子
副査 池森 敦子
副査 鈴木 真奈絵

[論文の要旨・価値] *SHOX*遺伝子とは、性染色体短腕擬常染色体領域（Pseudoautosomal Region: PAR1）に位置する成長決定遺伝子である。X染色体不活性化（X Chromosome Inactivation: XCI）から逃れることで、男女ともに両アリルによる発現が維持されており、片側のアリルの変異つまりハプロ不全は、発育遅滞を示す Leri-Weill軟骨異形成症（Leri-Weill Dyschondrosteosis: LWD）の原因とされる。また、ハプロ不全は特発性低身長（Idiopathic Short Stature: ISS）の1.9-22.2%でも認められることから、*SHOX*は発育、特に身長の進展に重要な役割を担っているとされている。申請者らは、先行研究で、*SHOX* に隣接するCpG アイランドが健常女性で低メチル化状態である一方、X染色体の構造異常をもつ低身長症女性症例では高メチル化状態であったことを見出し報告した。このことは*SHOX*隣接CpG アイランドのメチル化が*SHOX*遺伝子の発現とそれによる身長の発育に重要である可能性を示唆する。*SHOX*遺伝子のハプロ不全は、*SHOX*遺伝子そのものの異常より、PAR1内のconserved noncoding DNA elements (CNEs)に存在する*SHOX*遺伝子発現調整領域のゲノムコピー数異常(Copy-Number Variations: CNV) が原因であることが多い。本研究では、X染色体の構造異常は無いがCNVを認める低身長もしくはLWDの症例について、その*SHOX*隣接CpGアイランドのDNAメチル化頻度を解析し健常者と比較した。本研究の目的は低身長やLWD発症の原因となる*SHOX*遺伝子の発現が、DNAメチル化によるエピジェネティックな制御をうけているのか、検討、解明することであった。解析にはPAR1領域、CNEs内にコピー数異常を認めるISSおよびLWD患者10人の末梢血由来DNAを用いた。CNVは欠失5例、増幅5例であった。標準的な身長の健常者49人の末梢血由来DNAを対象とし、*SHOX*隣接CpGアイランド3か所のメチル化をBisulfite 処理に続くPyrosequencingおよびSanger sequencingにて解析し、その頻度を比較した。培養軟骨細胞を*SHOX*発現細胞の陽性コントロールとして用いた。結果は、いずれにおいても*SHOX*隣接CpGアイランドは低メチル化状態にあり差は無かった。以上から、*SHOX*遺伝子周囲のCNVを伴う低身長やLWDにおいて、それらの原因と考えられる*SHOX*遺伝子のハプロ不全は、メチル化以外の機序によると考えられた。本論文の価値は、多数の患者試料を用いて丁寧に解析した点にある。地道な解析を行い、結果は仮説に反するものであったが、今後の研究へ道筋を示した意義のある研究と考える。

[審査概要] 審査は1名の指導教授と数名の陪席の下、約20分間のPCを用いたプレゼンテーションと約40分間の質疑応答により行われた。プレゼンテーションは明解で、質疑応答では*SHOX*遺伝子の機能、メチル化等の解析方法、推測されるメチル化以外の発現調節機構などを多方面から質問したが、いずれも適切な回答を得た。

最 終 試 験 結 果 の 要 旨

[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 英語読解力は英文文献の一部を指定し、その場での和訳により十分な読解力があると判断した。申請者は研究能力・知識等、十分な能力を有し医学博士にふさわしい品格を持つ研究者と考えられ学位授与に値すると判断した。