

(様式6-A) A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

内山 由理 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題目 Ultra-sensitive droplet digital PCR for detecting a low-prevalence somatic *GNAQ* mutation in Sturge-Weber syndrome

(超高感度ドロプレットデジタルPCRを使用した、Sturge-Weber症候群における低頻度体細胞*GNAQ*変異の検出手法)

Scientific Reports, published online, 09 March 2016 6:22985

Yuri Uchiyama, Mitsuko Nakashima, Satoshi Watanabe, Masakazu Miyajima, Masataka Taguri, Satoko Miyatake, Noriko Miyake, Hiroto Saito, Hiroyuki Mishima, Akira Kinoshita, Hajime Arai, Ko-ichiro Yoshiura, and Naomichi Matsumoto

論文の要旨及び判定理由

ドロプレットデジタルPCR (ddPCR)はTaqmanプローブを使用してDNAを絶対定量する低頻度体細胞変異検出に有用なツールである。ペプチド核酸 (PNA)とTaqManプローブを組み合わせることにより更に感度の上昇が期待される。本研究ではSturge-Weber syndrome (SWS)の既知責任遺伝子変異である*GNAQ* c.548G>A変異における低頻度体細胞モザイクの検出限界と、過去に次世代シーケンサー解析を行っている15例のSWS由来の試料(脳組織及び血液/唾液由来DNA)を用いて変異含有率の再検討を行った。1アッセイ3000コピーに調整した変異型・野生型のプラスミドクローニングDNA混合ゲノム溶液を用いて作成した予定変異含有率を検証した結果、ddPCRの検出限界は0.25% (7.5コピー)、PNA-ddPCRでは0.1% (3コピー)まで変異の有無を判断可能であった。この検出系を利用したSWS15例の再検証結果では、2例の脳組織から新たに*GNAQ*変異を検出し、最終的な変異同定率を80% (12例)から93.3% (14例)へ上昇させた。血液及び唾液由来DNA3例にも1%未満の*GNAQ*変異を検出し、体細胞変異の起源は中胚葉の可能性が示唆された。

以上より、ddPCRは胎生初期の体細胞変異を原因とする疾患の診断や、悪性腫瘍の診断と治療後のフォローアップにおける臨床応用が期待され、本研究は、ddPCRにおける絶対定量を含めた正確性及びその検出限界について検討するとともに、SWS15例の変異の有無を再検討することにより本技術の有用性を明らかにしたことから、博士(医学)の学位に値するものと判定した。

(平成29年8月7日)

審査委員

主査	群馬大学教授 (医学系研究科)		
	脳神経内科学分野担任	池田 佳生	印
副査	群馬大学教授 (医学系研究科)		
	内分泌代謝内科学分野担任	山田 正信	印
副査	群馬大学教授 (医学系研究科)		
	病理診断学分野担任	小山 徹也	印

（様式6, 2頁目）

参考論文

1. A novel *GFI1B* mutation at the first zinc finger domain causes congenital macrothrombocytopenia
British Journal of Haematology, 25 April 2017 online published (in press)
(先天性巨大血小板性血小板減少症を引き起こす第一zinc finger domain上の新規GFI1B 変異)
Uchiyama Y, Ogawa Y, Kunishima S, Shiina M, Nakashima M, Yanagisawa K, Yokohama A, Imagawa E, Miyatake S, Mizuguchi T, Takata A, Miyake N, Ogata K, Handa H, Matsumoto N.

最終試験の結果の要旨

ddPCR臨床応用への展開についておよびSturge-Weber症候群の遺伝性と遺伝相談について

試問し満足すべき解答を得た.

(試験年月日平成29年8月7日)

試験委員

群馬大学教授（医学系研究科） 血液内科学分野担任代行	倉林 正彦	印
群馬大学教授（医学系研究科） 脳神経内科学分野担任	池田 佳生	印

試験科目

主専攻分野	血液内科学
副専攻分野	脳神経内科学