

氏名 赤岩 靖久  
 学位 博士 (医学)  
 学位記番号 新大院博(医)第17号  
 学位授与の日付 平成17年 3月23日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
 博士論文名 DRPLA ノックアウトマウスにおける遺伝子発現プロファイリング

論文審査委員 主査 教授 西澤 正豊  
 副査 教授 那波 宏之  
 副査 教授 木南 凌

#### 博士論文の要旨

DRPLA (歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症) は、進行性ミオクローヌスてんかん、小脳失調、舞踏アテトーゼ、性格変化、痴呆などの多彩な神経症状を示し、病理学的には歯状核赤核路と淡蒼球ルイ体路の変性を特徴とする常染色体優性遺伝形式の脊髄小脳変性症であり、伸長ポリグルタミン病の一つである。伸長ポリグルタミン鎖を有する変異蛋白による細胞傷害機構の解明が進む一方で、DRPLA タンパクの生理的機能についてはいまだに不明な点が多い。転写制御に関与する分子と結合する点が注目されており、ショウジョウバエにおける DRPLA 蛋白の相同遺伝子 Atro の欠失モデルの研究では、co-repressor として転写を抑制する機能が示唆されている。近年 RNAi 法により目的とする遺伝子の発現を効率よく抑制する技術が開発され、神経変性疾患の新たな治療法として注目されている。この治療法の安全性を確立するためには、本遺伝子の生理的役割を明らかにすることが重要である。本研究は、DRPLA 蛋白が種々の転写制御に関わっている可能性を想定し、その生理的機能を解析するため、DRPLA ノックアウトマウスにおいて、網羅的な遺伝子発現プロファイリングを行い、本遺伝子欠損の影響を明らかにすることを目的とした。

野生型マウス及び DRPLA ノックアウトマウス (オス胎生 14 日齢(E14)、生後 1 日齢(P1)、生後 42 日齢(P42)) を用いた。全脳より polyA(+) RNA を抽出し、Affymetrix 社の GeneChip (Murine genome U74Av2) を用いて各 genotype における遺伝子の発現プロファイルを比較検討した。Rosetta Resolver® (解析ソフト) を用いて ANOVA 検定を行い、有意なものを抽出した。発現量の低い遺伝子を除外した既知の遺伝子を、ネット上のバイオインフォマティクスを参考に検討した。

DRPLA ノックアウトマウス脳では、E14 において 192 遺伝子で発現低下、242 遺伝子で発現上昇がみられた。P1 では、21 遺伝子で上昇、21 遺伝子で低下、P42 では 26 遺伝子で低下、101 遺伝子で上昇していた。この中で 2 倍以上の発現量の変化がみられたものは、E14 では発現低下で 9 遺伝子、発現上昇で 57 遺伝子、P1 では低下で 2 遺伝子、上昇で 3 遺伝子、P42 では発現上昇で 3 遺伝子のみであった。また、各時期に共通して発現が低下していたものは、5 遺伝子 (Npy, Ttr, Polr2k, Ociad1, Sfrs2, 1110008H02Rik) であり、

共通して発現が上昇していたものは 3 遺伝子 (Efnb2、2610042L04Rik、4930577M16Rik) であった。これらの遺伝子は、神経ペプチド、甲状腺ホルモン輸送、転写活性因子、血管形成、シナプス形成、RNA プロセッシングに関連したものであった。

DRPLA ノックアウトマウスの遺伝子プロファイリングを行なうことで、DRPLA 蛋白が今回発現変化を示した遺伝子群の転写調節に関与している可能性が考えられ、これら遺伝子の発現量の変化が DRPLA の病態に関連していることも推測された。また、DRPLA ノックアウトマウスは胎生致死にならず寿命も野生型マウスと同じであること、さらに今回の発現解析でも遺伝子の著明な発現変化を認めなかったことは、個体レベルでは DRPLA 遺伝子がノックアウトされたことに対して何らかの代償機構が働くことが考えられた。RNAi を用いた神経変性疾患の治療に対する試みでは増大アレル特異的なプローブの開発は困難を伴うが、今後の治療において今回の結果から DRPLA 遺伝子をアレル非特異的にノックダウンすることの安全性が示唆されると考えられた。

## 審査結果の要旨

歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA) では伸長ポリグルタミン鎖を有する変異蛋白による細胞機能障害機構の解明は進んでいるが、DRPLA 蛋白の生理的機能については転写抑制因子と推定されながら、未だ不明な点が多い。申請者は DRPLA ノックアウトマウス (DRPLA-KO) において、網羅的な遺伝子発現プロファイリングを行うことにより、DRPLA 遺伝子欠損の影響を明らかにすることを目的とした。

DRPLA-KO (オス 胎生 14(E14)、生後 1(P1)、生後 42(P42)日齢) における遺伝子の発現プロファイルを野生型マウスと比較検討した結果、DRPLA-KO 脳では E14 で 192、P1 で 21、P42 で 26 個の遺伝子に発現低下を、E14 で 242、P1 で 21、P42 で 101 個に発現上昇を認めた。2 倍以上の変化は、E14 で 9、P1 で 2 個に発現低下を、E14 で 57、P1 で 3、P42 で 3 個に発現上昇を認めた。各時期に共通する発現低下は 5 遺伝子、発現上昇は 3 遺伝子に認め、転写関連遺伝子が多く含まれていた。

以上、本研究は正常 DRPLA 蛋白の機能を解析する上で基礎となる、遺伝発現の変化に関する網羅的なデータを提供し、DRPLA 蛋白の下流に位置すると考えられる候補遺伝子群を明らかにした点に、学位論文としての価値を認めた。