

	おかだ ひろゆき
氏 名	岡 田 潤 幸
学 位	博 士 (医学)
学 位 記 番 号	新大院博(医)第172号
学位授与の日付	平成19年 3月22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	マイクロアレイ発現解析及び SNP 相関解析による無精子症 感受性遺伝子の限定
論文審査委員	主査 教授 田 中 憲 一 副査 教授 木 南 凌 副査 教授 高 橋 公 太

#### 博士論文の要旨

【目的】精巣生検 (TESE) 時に採取した精巣組織を用いたマイクロアレイ発現解析と、ゲノムDNAを用いたSNP相関解析を組み合わせ、無精子症感受性遺伝子を限定する。

【方法】マイクロアレイ解析には非閉塞性無精子症 (NOA) 47症例および閉塞性無精子症 (OA) 11例の精巣組織から抽出したRNAを対象とし、Human Oligo 1A (V2) (約2万遺伝子, Agilent) を用い、referenceとしてHuman Testis Total RNA (BD Biosciences) と比較して遺伝子を限定し、NMF (非負値行列分解アルゴリズム) 解析によるNOA症例のサブクラス分類を行なった後、各群間で有意な発現変化を認める疾患感受性遺伝子群を抽出した (Tukey test  $P < 0.01$ )。

SNP相関解析では各遺伝子上に約10kb間隔でSNPを設定、ABI7900 (Applied Biosystem) によるTaq-Man法にてタイピングを行ない、各アレル頻度について患者—対照間での $\chi^2$ 検定を行なった。一次スクリーニングとして患者群 (無精子症あるいは精子濃度 $1 \times 10^6$ /ml以下の重度乏精子症) 190例、正常対照群190例 (有意水準  $P < 0.1$ )、二次スクリーニングとして患者群380例、正常対照群380例 (有意水準  $P < 0.05$ )、三次スクリーニングとして患者群475例、正常対照群475例によるハプロタイプ、ディプロタイプ解析を行なった。

【成績】マイクロアレイ解析の結果、NOA 47症例が3つのサブクラスに分類され、各サブクラス間で有意な発現変化を示す53個の疾患感受性遺伝子を抽出した。SNP相関解析による一次スクリーニングにより8遺伝子、さらに二次スクリーニングによりART3とLOC92196の2遺伝子が限定された (ART3  $p=0.00061$ ; LOC92196  $p=0.016$ )。このうちART3遺伝子を対象とした三次スクリーニングの結果、 $P=0.00017$ と有意差を示すハプロタイプが同定された (case 24.2 % vs. control 31.6 %,  $\chi^2=14.5$ )。さらにディプロタイプ解析では有意ハプロタイプをホモ接合体で持つ無精子症症例において有意に血清テストステロン値が高値を示した。 ( $P=0.026$ )

【結論】マイクロアレイ発現解析および SNP 相関解析にて ART3 が有力な無精子症感受性遺伝子と考えられた。また ART3 上の有意差を認めるハプロタイプは疾患抵抗性を示し血清テストステロン値と関連する事が示された。

(論文審査の要旨)

不妊症の約 50%を占めるといわれている造精機能障害の原因解明を目的として、申請者は精巣組織を用いたマイクロアレイ発現解析と SNP 相関解析を組み合わせて感受性遺伝子の分離を行った。マイクロアレイ発現解析により有意な発現変化を示す 53 遺伝子を抽出、570 例の患者および対象を用いた SNP 解析スクリーニングを 2 回と 1 回のハプロタイプスクリーニングを行い、53 遺伝子より候補遺伝子として ART3 遺伝子が分離された (case 24.2% vs. control 31.6%,  $\chi^2 = 14.5$ )。さらにディプロタイプ解析で ART3 遺伝子の有意ハプロタイプをホモで持つ症例において高い血清テストステロン値を示した ( $P = 0.026$ )。以上 ART3 遺伝子が造成機能障害とりわけ疾患抵抗性に関わっている遺伝子であり、血清テストステロンの値と関連することを明らかにした点に、学位論文としての価値を認める。