



Title	Identification of CAG repeat-containing genes expressed in human brain as candidate genes for autosomal dominant spinocerebellar ataxias and other neurodegenerative diseases
Author(s)	立川, 雅司
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45964">https://hdl.handle.net/11094/45964</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">ご参照ください</a> 。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	立川 雅司
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 19054 号
学位授与年月日	平成 16 年 10 月 21 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学位論文名	Identification of CAG repeat-containing genes expressed in human brain as candidate genes for autosomal dominant spinocerebellar ataxias and other neurodegenerative diseases (常染色体優性脊髄小脳変性症他神経変性疾患の原因遺伝子としてのヒト脳において発現の見られる CAG リピートを含む遺伝子の同定)
論文審査委員	(主査) 教授 戸田 達史  (副査) 教授 内山 安男 教授 佐古田三郎

### 論文内容の要旨

#### [ 目 的 ]

CAG リピートの伸長が原因で起こる神経変性疾患(トリプレットリピート病/ポリグルタミン病)が幾つか報告されている。これらの多くは常染色体優性遺伝形式をとり、また CAG リピートの伸長数と症状の重篤度、発症年齢に密接な関連が見られ、これを表現促進現象と呼んでいる。

しかしながら、常染色体優性遺伝形式を示す脊髄小脳変性症患者の約三分の一には、これらの原因遺伝子に CAG リピートの伸長が認められない。このことから、脊髄小脳変性症もしくはその他の常染色体優性遺伝形式を示す神経変性疾患の、新たな原因遺伝子の存在が推察される。これらの疾患原因遺伝子の同定を目的とし、CAG リピートを含む cDNA のスクリーニングと DNA データベースサーチをおこない、患者のゲノム DNA を用いてリピートの伸長が見られるかどうかを調べた。

#### [ 方法ならびに成績 ]

ヒト胎児脳 cDNA ライブラリーより、(CAG)<sub>10</sub> オリゴヌクレオチドをプローブとしてスクリーニングをおこない、62 クローンを単離した。得られたクローンの塩基配列を決定したところ、13 種類の遺伝子が含まれており、リピート部分は、九種類の遺伝子はポリグルタミンを、三種類はポリアラニンを、そして三種類はポリセリンをコードしていた。残り二種類の遺伝子は CAG リピートを 3' UTR に持っていた。

得られたクローンのうち、神経変性疾患の原因遺伝子として報告されていない 14 種類について、PCR プライマーを作成、患者ゲノム DNA をテンプレートとして PCR をおこない、トリプレットリピートの伸長を調べたところ、ribosomal protein L14 遺伝子と Accession No. U80740 の EST 登録のある遺伝子に、既に報告のある多型を確認し、また dachshund 遺伝子に新たな多型を見出した。これらの遺伝子について、多型の出現頻度を調べた。その結果、1) dachshund 遺伝子の、正常人と患者での多型の出現頻度に注目すると、患者ゲノムでは 74 bp アレルは 0.94% の頻度で見られ、正常コントロールのゲノムでは出現頻度は 0.22% だった。2) 正常コントロールのゲノムを用いて # U80740 遺伝子の多型の出現頻度を測ったところ、57 bp (5.41%)、54 bp (75.7%)、51 bp (17.6%)、45 bp (1.35%) と、既報告とは別の多型も見られた。3) ribosomal protein L14 遺伝子の多型は 45 bp (6%)、39 bp (58%)、36

bp (36%) の三種類のみ確認され、既報告にある他人種の多型と比べ、少ない種類の多型しか見られなかった。

さらに公開されているヒトゲノム/cDNA/EST データベースに対し、(CAG)<sub>30</sub> 配列で FASTA サーチをおこない、CAG リピートを含む 91 の配列を得た。これらを整理し、神経変性疾患の原因遺伝子として報告のあるものを除いた 22 種類の配列について、患者ゲノムの PCR によりリピートの伸長の有無を調べたところ MN1 遺伝子において、臨床的にハンチントン病を疑われた患者に 10 リピート伸長している例、晩発性小脳皮質萎縮症と診断された患者において 5 リピート伸長している例を確認した。正常コントロール 285 例では伸長例は見られなかった。

培養細胞に正常及び伸長 MN1 遺伝子を発現させたところ、この遺伝子産物は核に局在するが、ポリグルタミン病の特徴である核内の凝集は認められなかった。

#### [ 総 括 ]

今回おこなった実験により、ヒト胎児脳 cDNA ライブラリー、または DNA データベースよりトリプレットリピートに多型の見られる遺伝子が得られた。また原因未同定の患者のうち二例において CAG リピートの伸長している遺伝子を確認した。確実な神経変性疾患の原因遺伝子を見出す事はできなかったが、同一遺伝子でも人種により多型の出現頻度に差があることが確認された。疾患には地域的および人種的な特異性があることを考慮すれば、他地域、他人種の DNA コレクションを用いれば、今回単離した遺伝子群の中に、疾患の原因となっている遺伝子が見つかる可能性が残される。

### 論文審査の結果の要旨

脊髄小脳変性症は、未だ有効な治療法が確立されていない神経難病の一群であり、病態機序を解明するためには、病因遺伝子の同定が必須である。しかし、日本においては遺伝性脊髄小脳変性症発症者の二～三割が、原因遺伝子未同定とされている。

本研究は、まだ明らかとされていない脊髄小脳変性症の原因遺伝子の同定を目的としている。(CAG)<sub>10</sub> 配列をプローブとした cDNA スクリーニングに加え、近年充実してきた DNA データベースも利用し、CAG リピートを含む配列を網羅的に押さえ、患者ゲノム DNA を用いてリピートの伸長を確認、多型の既報告のある遺伝子 6 種以外に、二種の遺伝子 (DACH および新規の遺伝子) で新規の CAG リピート多型を、また CAG リピート病原因遺伝子の候補として MN1 遺伝子を見出した。また、CAG リピートの伸長した MN1 遺伝子をタンパク質として培養細胞に発現させる事により、翻訳産物が核内に局在する事、細胞毒性を持つ事も明らかにした。

以上の結果は脊髄小脳変性症の病態機序を解明する上で意義のある基礎的データの集積であり、今後この分野の研究の発展にも寄与するものである。よって本研究は学位の授与に値するものと考えられる。