

[別紙 2]

審査の結果の要旨

氏名 周家毅

本研究は歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (dentatorubropallidoluysian atrophy, DRPLA) の脳における CAG リピート長依存性の、経時的な、また部位別遺伝子発現の変化をゲノムワイドで明らかにするため、異なる CAG リピート長 (Q76、Q113、Q129) を持つ DRPLA トランスジェニックマウスを使って、Affymetrix GeneChip プロブアレイで、4 週と 12 週においてトランスジェニック (Tg) 対ノントランスジェニックマウス (NTg) の小脳と大脳における遺伝子発現をプロファイリングしたものであり、下記の結果を得ている。

1. GeneChip プロブアレイの解析方法を検討し、Welle's R はアレイ間の variance を小さくし、t-test の統計学的な検出力をあげた。解析に用いる Welle's R t-test の信頼性を確かめるため、同一個体における正常の大脳と小脳の遺伝子発現を本方法を用いて調べ、過去の報告と比較検討した結果、Welle's R t-test の信頼性が高いことが分かった。
2. 個体差の検定： 同一系統の同じ週齢の個体 3 匹を比較し、Detection call の一致率は 90% 近く、シグナルの値の相関係数は 0.98-0.99 であり、個体差は非常に少ないことが分かった。
3. CAG リピート長による変化： Q76Tg、Q113Tg、Q129Tg とそれぞれの NTg と比較した結果、4 週でも、12 週でも、Q76Tg、Q113Tg、Q129Tg と NTg との間で、有意に発現が減少及び増加している遺伝子は、大脳と小脳いずれにおいても CAG リピート長が長ければ長いほど多くなり、Q129Tg では特に多かった。また、CAG リピート長が長ければ長いほど Fold Change が大きくなる遺伝子も見出し、その数は 4 週より 12 週の方が多かった。

4. 経時変化: TgとNTgと比較して、12週では有意差のある遺伝子がより多かった。Q113Tgでは、4週の時点でNTgと有意差の認められる遺伝子がほとんどないにもかかわらず、12週になると多数認められるようになることが分かった。4週、12週のQ129Tg対NTgの発現レベルの差を経時的に調べた結果、この差が12週でより大きくなる遺伝子を見出した。
5. Tg対NTgの小脳と大脳における部位別遺伝子発現変化: 4週と12週のQ129Tg対NTgの大脳と小脳における遺伝子発現を調べた結果、大脳のみ、小脳のみ、あるいは大脳と小脳両方におけるTg対NTgの発現レベルに有意差のある遺伝子が認められた。
6. DRPLAトランスジェニックマウスにおいて、4週でも12週でも発現が減少している遺伝子数は、増加している遺伝子数より多く、Fold Changeも大きかった。DRPLAの発症に転写障害が関与しているという仮説と矛盾しない所見と考えられる。

以上、本論文は歯状核赤核淡蒼球レイ体萎縮症(DRPLA)の脳におけるCAGリピート長依存性の、経時的な、また部位別遺伝子発現の変化を初めてゲノムワイドで調べ、DRPLAの発症機序の解明及び遺伝子治療法の開発において、重要な基盤をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。