

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論文題目

Human endogenous retroviruses with transcriptional potential in the brain
(脳における潜在的転写活性能を持つヒト内在性レトロウイルスの同定)

氏 名 中村 明文 (中村)

【背景】家系研究や双生児研究等の遺伝疫学的研究から、統合失調症の発症に遺伝因子が関与することは確立された認識である。一方で、一卵性双生児での一致率（約50%）に示唆されるように、発症に環境要因が関与することも一般的見解である。遺伝子解析技術及び遺伝子情報が飛躍的に充実した現在においても、統合失調症の遺伝子研究は混迷の中にある。このような状況の一因として、また、環境要因の作用を説明するものとして、メチル化を主とする後成的DNA修飾の異常が発症に関与する可能性を想定した。

【目的】統合失調症の分子病態メカニズムとして3つの作業仮説を設定した。(1)統合失調症を始めとする機能性精神疾患は、精神機能に関連する複数の遺伝子の統御の乱れによって生じる、(2)この乱れの主たる原因は、メチル化を軸とする後成的発現制御機構にある、(3)メチル化異常下でのレトロトランスポゾンが精神機能関連遺伝子の発現制御に干

渉する。これらの作業仮説検証の第一歩として、脳での発現活性を保持しているヒト内在性レトロウイルス (HERV) を探索・同定することにした。




【方法】ESTデータベースのBLAST解析から、脳での発現が期待できるHERVを選び出した。抽出したHERVについて、胎児脳RNAを用いたRT-PCRとそのクローン化産物の塩基配列解析に基づくグループ化によって、その発現能を検討した。一連の作業過程で、癌におけるHERV発現がその発生母体の正常組織での発現能を反映するか否かを把握する必要が生じた。これは、奇形癌由来の細胞RNAを用いて、同様の実験で検討した。

【結果】(1) 脳での発現活性を保持するHERVとして、HERV-K102とHERV-Hファミリーに属するHERVの2つを同定した。(2) 前者 (HERV-K102) は染色体1番 (1q21-q22) に、後者は染色体22番 (22q12) に局在する。(3) 奇形癌から樹立された細胞で発現が亢進

している HERV-K は、高いホモロジーを示す多数のローカスのうちのごく限られた少数であり、奇形癌に共通して認められるものと、発生母体に依存するものの二種類があった。

【考察】同定した2つの HERV は、それぞれ 1q21-q22 及び 22q12 に局在し、統合失調症との連鎖が検出されている SCZD9 及び SCZD4 ローカスと領域がオーバーラップしていた。特に、22q12 に局在する HERV はシナプシン III 遺伝子 (*SYN3*) の 4 kb 下流に逆向きに存在しており、read-through 転写によるアンチセンス RNA を介して *SYN3* の発現制御に干渉する可能性がある。これらの HERV は、患者死後脳でのメチル化及び発現解析の明確な候補と成り得る。また、干渉メカニズムの *in vitro* での検証を可能にし、統合失調症の分子病態解明への足掛かりを与えるものとして期待される。

論文審査結果の要旨

報告番号	*課程博第	号	氏名	中村 明文
			平成16年1月13日	
論文審査委員	主査教授		田 中 龍 夫	
	副査教授		辻 森 毅	
	副査教授		佐 藤 良 也	
(論 文 題 目)				
Human endogenous retroviruses with transcriptional potential in the brain				
(論文審査結果の要旨)				
上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。				
1. 研究の背景と目的				
<p>統合失調症の連鎖解析や関連研究等の遺伝子解析研究が、しばしば相反する結果を生じている現状がこの研究の背景になっている。著者は、その原因の一つとして後成的 DNA 修飾の関与を想定し、環境要因と遺伝要因の作用様式から病態発生までを一元的に説明する作業仮説を設定した。そこでは、病像形成に直接関与する遺伝子は二次的なものであり、一義的遺伝因子は後成的 DNA 修飾の構築・維持機構に求められ、これらの媒介として DNA メチル化と内在性レトロウイルス(HERV)が重要な役割を果たす。この作業仮説の検証の第一歩として、脳での潜在的発現活性を持つ HERV を同定することが本研究の目的である。</p>				
2. 研究内容				
<p>本研究において、独自に開発した潜在的発現活性を持つ HERV 同定法を応用した。この応用に先立って EST スクリーニングを行い、候補となる HERV 5つを抽出した。また、レチノイン酸で神経上皮細胞に誘導される奇形癌由来細胞で発現の亢進している HERV-K101 及び K102 も候補とした。胎児脳 RNA を用いた RT-PCR 及びそのクローン化産物の塩基配列解析から、最終的に2つの HERV を脳での潜在的発現活性を持つものとして同定した。</p>				

備 考 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書とすること。

2 要旨は 800 字～1200 字以内にまとめること。

3 *印は記入しないこと。

論文審査結果の要旨

一つは染色体1番の1q21-q22に局在するHERV-K102で、もう一つはHERV-Hに属し22q12に局在するものであった。これらHERVの染色体局在は、統合失調症の感受性座SCZD9(1q21-q22)及びSCZD4(22q11-q13)とオーバーラップしていた。特に、22q12に局在するHERVは、シナプシンIII遺伝子(SYN3)の4-kb下流に逆向きに存在し、read-through転写によるアンチセンスRNAを介してSYN3の発現制御に干渉する可能性がある。更に、本研究で、奇形癌から樹立された細胞で発現が亢進しているHERV-Kは、高いホモロジーを示す多数のローカスのうちのごく限られた少数であり、奇形癌に共通して認められるものと、発生母体に依存するものの二種類があることを明らかにした。

3. 研究成果の意義と学術的水準

統合失調症の遺伝子関連研究で対象とされる遺伝子は、薬効的側面からモノアミン系ニューロトランスミッター受容体等が主たるものであった。本研究は、一義的遺伝要因を後成的DNA修飾機構に求め、その作用の媒介として内在性レトロウイルス(レトロトランスポゾン)を想定している点に著しい特色がある。また、環境要因と遺伝要因を加味した検証可能な作業仮説を設定して、系統的ないしは段階的に一貫した研究を展開するアプローチは類を見ず、独創的である。本研究において、脳での潜在的発現活性能を持つことの期待される2つのHERVを同定した。これらのHERVは、患者死後脳でのメチル化及び発現解析の明確な候補と成り得る。また、干渉メカニズムのin vitroでの検証を可能にし、統合失調症の分子病態解明への足掛かりを与えるものとして期待される。

以上により、本論文は学位授与に十分に値するものであると判断した。