

氏 名	まい はら とし ろう 毎 原 敏 郎
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	論 医 博 第 1745 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学位論文題目	Chromosomal mapping of genes for epilepsy in NER: a rat strain with tonic-clonic seizures (強直間代性けいれんを呈するラット系統 NER のてんかん遺伝子の染色体マ ッピング)
論文調査委員	(主 査) 教 授 柴 崎 浩 教 授 橋 本 信 夫 教 授 中 畑 龍 俊

論 文 内 容 の 要 旨

NER (Noda Epileptic Rat) はてんかん様発作を自然発症する遺伝性ミュータントラットである。発作時脳波は高振幅棘波・棘徐波を呈し、ヒトの強直間代性けいれん (GTC) のモデル動物として有用である。ヒトのてんかん遺伝子については近年解析が進められているが、今のところまだいくつかのものが同定されたにすぎない。NER のけいれん発症に関与する遺伝子を明らかにすることは、ヒトや動物におけるてんかんの本態を解明するのに重要な役割を果たす。NER のけいれん発作の遺伝は、これまでの交配実験の結果から主要な 1 つの常染色体劣性遺伝子といくつかの修飾遺伝子によって支配されていることが推定されていた。本研究の目的は、その遺伝形式を確認することと、けいれん発症に関与する遺伝子座をラット連鎖地図上にマッピングすることである。

用いた動物は 1) NER, 2) けいれん非感受性の F344 ラット, 3) NER と F344 との交配で得た F1 仔, 4) F1 と NER との交配で得た戻し交雑仔 (NER N2 と呼ぶ), 5) F1 と F344 との交配で得た戻し交雑仔 (F344 N2 と呼ぶ) である。対象を刺激群 (個体数は NER ♂10♀10, F344 ♂10♀10, F1 ♂10♀10, NER N2 ♂50♀50, F344 N2 ♂50♀50) と非刺激群 (NER ♂6♀3, F344 ♂5♀5, F1 ♂2♀8, NER N2 ♂108♀124) の 2 群とし、それぞれを独立して作成した。

実験は 3 つの step に分かれる。Step 1 は GTC の遺伝形式を確認するためのもので、刺激群には生後 5～16 週齢に週 1 回の放り上げ刺激を与えて、また非刺激群は生後 12～48 週齢に毎週 1 回 1 時間の観察を行って、それぞれその間の GTC の出現の有無を判定した。Step 2 は全ゲノムスキャンを目的としてラット全染色体上から 119 個の遺伝マーカーを選んで、刺激群の NER N2 について個体のタイピングを行い GTC の誘発の有無との間の連鎖を解析した。放り上げ刺激そのものがけいれん感受性に影響を及ぼした可能性があるため、Step 2 では GTC の初発週齢を量的形質と考えて QTL 解析を行った。Step 3 では Step 2 で有意の連鎖を示した領域のマーカーを用いて、非刺激群の NER N2 について個体のタイピングを行い GTC の自然発症の有無との間の連鎖を解析した。遺伝マーカーとしては SSLP マーカーを用いて PCR で個体のタイピングを行い、連鎖解析には χ^2 検定, MapMaker / EXP 及び MapMaker / QTL を用いた。

Step 1 の結果であるが、GTC の累積発症率は刺激群の NER で 90%, NER N2 で 66%, 非刺激群の NER で 100%, NER N2 で 64.2% であった。しかし刺激群の F344, F1, F344 N2, 及び非刺激群の F344, F1 では GTC の発症は認められず、またいずれの場合にも GTC の発症率に有意の性差はなかった。これらの結果から GTC の発症には主要な 1 つの常染色体劣性遺伝子が関与していることが確認された。

Step 2 の刺激群の解析ではラット Chr. 1, Chr. 3 上のマーカーが GTC の発症と連鎖している可能性が示され、QTL 解析では Chr. 1 の D1 Rat215 と D1 Rat132 との間で lod score 3.49, Chr. 3 の D3M2Mit382 において lod score 2.75 という値が得られた。さらに Step 3 の非刺激群の解析では D1 Rat215 において lod score 4.13 という値が得られたため、この領域を GTC の自然発症に関与する遺伝子座 *Ner1* として命名した。D3M2Mit382 は刺激群のみでけいれん発症との連鎖を示したため、放り上げ刺激に関連した遺伝子座 *Ner2* として命名した。D1 Rat215 近傍の領域はマウス Chr. 7, ヒト Chr. 11, Chr. 15q, Chr. 16p と、また D3M2Mit382 近傍の領域は、マウス Chr. 2, ヒト Chr. 2q, Chr. 11p と相同である。これらの領

域にけいれんに関与する遺伝子が存在する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

NER (Noda Epileptic Rat) は強直間代性けいれん (GTC) を自然発症する遺伝性てんかんラットで、ヒトの特発性全般てんかんのモデル動物として有用である。本研究ではそのてんかん遺伝子座のマッピングを行った。使用した動物は NER, F344, (NER×F344) F1, F1×NER, F1×F344 である。刺激群と非刺激群の2群を作成し、刺激群には生後5～16週齢に週1回の放り上げ刺激を与え、非刺激群には生後12～48週齢で週1回1時間の観察を行って、各々GTCの出現の有無を判定した。両群での累積発症率からGTCは劣性の遺伝形質であると考えられた。刺激群のF1×NERを用いて全ゲノムスキャンを行いGTC発症との連鎖を解析すると、Chr. 1, Chr. 3に有意の連鎖を示す領域を認めた。更に非刺激群のF1×NERを用いて解析し、Chr. 1のD1Rat215近傍の領域にGTCの自然発症に関与する遺伝子座を見出して *Ner1* (lod=4.13) と命名した。またChr. 3のD3M2Mit382近傍の領域には放り上げ刺激に関連した遺伝子座を見出し *Ner2* (lod=2.75) と命名した。比較ゲノム地図によりいくつかのヒトのてんかん症候群との関連が示唆された。また複数の遺伝子が発症に関与することはてんかんなどの多因子遺伝性疾患において遺伝子の相互作用を研究するモデルとしても有用である。

以上の研究はヒトや動物におけるてんかんの本態の解明に貢献しててんかんの遺伝的研究に寄与する所が大きい。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成13年2月5日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。