

京都大学	博士 (医科学)	氏 名	伊 東 潤二
論文題目	Functional and comparative genomics analyses of <i>pmp22</i> in medaka fish. (メダカ <i>pmp22</i> 遺伝子の機能解析および比較ゲノム解析)		
(論文内容の要旨)			
peripheral myelin protein 22 (<i>pmp22</i>) 遺伝子は、末梢神経系のシュワン細胞で発現しており、そのコードする 4 回膜貫通型のタンパク質は、末梢ミエリンの形成・維持に関わっている。ミエリンの形成異常に原因する末梢神経伝達速度の低下と、進行性の四肢の萎縮を呈するヒトの遺伝性末梢ニューロパチー Charcot-Marie-Tooth disease type 1A (CMT1A) 患者では <i>pmp22</i> を含むゲノム領域の重複が報告されている。実際、齧歯類の実験では <i>pmp22</i> の転写量が 1.5～2 倍に増大することにより末梢ミエリン形成に異常が現れることから、適正な <i>pmp22</i> 遺伝子の転写がミエリン形成に不可欠であり、その転写制御機構の解明が CMT1A の治療法の改良に繋がると考えられる。 末梢神経系におけるミエリンの形成は、脊椎動物の中では有顎脊椎動物において見られる。一方、<i>pmp22</i> 遺伝子が脊椎動物に保存されていることが報告されているが、ヒト・マウス・ラット以外の有顎脊椎動物において、<i>pmp22</i> 転写量の調節が末梢ミエリンの正常な形成に重要であるかは明らかでない。本研究は、進化学的に哺乳類から遠縁のモデル実験動物である有顎魚類のメダカを用いて、<i>pmp22</i> の転写量と末梢ミエリン形成の関係が、有顎脊椎動物全般に存在するかの検証を行なった。また、魚類と哺乳類間の比較ゲノム解析により <i>pmp22</i> 遺伝子の転写制御に関わる保存されたモチーフの解析を行なった。 メダカへの遺伝子導入により、野生型の約 2 倍の転写量を持つ <i>pmp22</i> 過剰発現系統を樹立した。<i>Pmp22</i> 過剰発現系統では、末梢神経の伝達速度が野生型の 1/5 程度に低下していた。電子顕微鏡観察により、過剰発現系統の末梢神経におけるミエリン形成を観察したところ、ミエリンの脱落やゆるみ、ミエリンと神経線維の間の空間の形成といった、哺乳類 CMT1A のミエリン形成異常と同様の形態異常が観察された。これらのことから、哺乳類・魚類を含む有顎脊椎動物全体において、<i>pmp22</i> 転写量の適正な制御が正常な末梢ミエリン形成に重要であることが明らかとなり、末梢神経系のシュワン細胞における <i>pmp22</i> 遺伝子の転写制御機構が、有顎脊椎動物間で保存されていることが示唆された。 本研究では、さらに、メダカ <i>pmp22</i> のシュワン細胞特異的プロモーター領域を同定し、その領域において哺乳類で報告されている転写制御の配列が保存されていることを明らかにした。一方、魚類・哺乳類間での対応する遺伝子領域の比較解析は、進化的に保存されたモチーフを同定する有効な手段となる。そこで、<i>pmp22</i> 遺伝子領域において比較ゲノム解析を行なったところ、第 1 イントロンと 3'UTR に、それぞれ 10 bp、70 bp の保存配列を新たに同定した。 本研究成果は、末梢ミエリンにおける細胞制御の分子機構の進化学的保存を、初めて明らかにしており、このことは、魚類を用いた末梢ミエリンの研究が、哺乳類実験系を補完する系として有効であることを示している。			

(論文審査の結果の要旨)
四回膜貫通型の膜タンパク質をコードする <i>Pmp22</i> 遺伝子の転写量の増大は、末梢ミエリンの形成異常と、末梢神経伝達速度の低下を特徴とする遺伝性末梢神経疾患シャルコー・マリー・トゥース1A型 (CMT1A) の原因となる。そのため、<i>Pmp22</i> 発現制御機構の解明は、CMT1A の治療の向上に繋がると期待される。申請者は、分類学的に哺乳類から離れた小型魚類の <i>Pmp22</i> 発現制御機構を解明するため、メダカを用いて <i>Pmp22</i> 転写量増大による CMT1A 様病態の発症を検証し、比較ゲノム解析により転写の制御配列を解析した。 初めに、遺伝子組換え技術により <i>Pmp22</i> 過剰発現メダカを樹立し、その表現型を調べた。その結果、メダカにおいても、<i>Pmp22</i> 過剰発現が末梢神経伝達速度の低下と末梢ミエリンの形成異常を惹起することを電気生理学的手法及び電子顕微鏡観察により確認し、<i>Pmp22</i> 転写量の増大による細胞レベルの変化や個体への影響が、魚類と哺乳類で共通していることを明らかにした。続いて、<i>Pmp22</i> 遺伝子領域を解析し、哺乳類で同定されていた制御配列がメダカにおいても保存されていることを見出し、さらに比較ゲノム解析により、2つの新規の保存配列をintronと3'-UTR領域において同定した。これにより、魚類においても正常なミエリン形成に <i>Pmp22</i> 発現量の調節が重要であり、魚類を用いた解析がヒト疾患研究に貢献し得ることを示した。 以上の研究は、末梢ミエリンの破綻を原因とする疾患の病態解明に貢献し、<i>Pmp22</i> 発現異常に起因する遺伝性末梢神経疾患CMT1Aの治療のための基礎研究に寄与するところが大い。 したがって、本論文は博士(医科学)の学位論文として価値あるものと認められる。 なお、本学位授与申請者は、平成21年8月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日 以降