

平成 19年 3月

松本則子 学位論文審査要旨

主 査 大 野 耕 策
副主査 久 留 一 郎
同 難 波 栄 二

主論文

Imprinting status of paternally imprinted DLX5 gene in Japanese patients with Rett syndrome

(日本人レット症候群患者における父性刷り込みを受けるDLX5遺伝子の刷り込み状態)

(著者：松本(板場) 則子、前川真治、山縣英久、近藤郁子、押村光雄、難波栄二)

平成19年 Brain & Development 掲載予定

学 位 論 文 要 旨

Imprinting status of paternally imprinted DLX5 gene in Japanese patients with Rett syndrome

(日本人レット症候群患者における父性刷り込みを受けるDLX5遺伝子の刷り込み状態)

レット症候群は、methyl-CpG-binding protein 2 (MECP2) 遺伝子の変異によって生じるX連鎖性優性遺伝の進行性神経疾患で女兒に発症する。MECP2遺伝子はメチル化CpG結合ドメイン (MBD) ならびに転写抑制ドメイン (TRD) を有し、転写抑制に重要な役割を担っている。近年、このMECP2遺伝子の標的として、父性に刷り込みを受けるdistal-less homeo box 5 (DLX5) 遺伝子が明らかとなり、Mecp2欠損マウスならびに患者由来リンパ芽球細胞においてDLX5遺伝子の刷り込み異常が報告された。DLXタンパク質は神経伝達物質である抑制性γ-アミノ酪酸 (GABA) を合成するGAD67の発現を誘導することや、GABA作動性ニューロンの神経分化への関与が示唆されていることなどから、本疾患の発症機構の一つとして着目されている。そこで本研究では、DLX5遺伝子の刷り込み異常を誘引するMECP2遺伝子の変異タイプを明らかにすることを目的とし、本邦におけるレット症候群患者由来のリンパ芽細胞を用いてDLX5遺伝子の刷り込み異常の検討を行った。

方 法

本邦におけるレット症候群患者由来のリンパ芽球細胞40検体を使用した。まずこれらの細胞のゲノムDNAを用いて、DLX5遺伝子内に存在するC7/C8の単一塩基リピートの多型をPCR法で解析することにより多型を有する細胞を選出した。この多型を有する細胞を用いて、MECP2遺伝子の変異アレルの発現ならびにDLX5遺伝子の刷り込みの状態をRT-PCR法ならびにダイレクトシーケンス法により解析した

結 果

レット症候群患者由来のリンパ芽球細胞40検体のうち、DLX5遺伝子の刷り込み状態の解析が可能な多型は12検体にみられた。これら12検体のうち5検体はMBD内に、6検体についてはTRD内に、残り1検体についてはMBDとTRDの間の領域に変異を有していた。MECP2遺伝子のアレル特異的な発現を解析したところ、解析可能な12検体のうち7検体において、変異MECP2

アレルの発現がみられなかった。DLX5遺伝子内のC7/C8一塩基リピート多型を利用した発現解析では、12検体のうち5検体で刷り込み異常が生じ父性の刷り込みが失われていた。特に変異アレルの発現の最も高かったTRD内に変異をもつ検体RTT217ではDLX5の刷り込みが完全に消失し、両アレル発現を示していた。

考 察

MECP2遺伝子のアレル特異的な発現解析では、MBD内に変異を有する検体の8割で変異MECP2アレルの発現が消失していた。これはX不活化の影響も考えられるが、今回と同一検体で検討されたアンドロジェン受容体の解析からは否定的である。むしろMecp2^{308/Y}マウス由来神経の初代培養や患者由来Tリンパ球のクローン化などの研究結果から示されるように、MBD内の変異により細胞増殖が抑制されると考えられた。そのため、MBD内に変異を有する検体ではDLX5遺伝子の刷り込み異常の検討が困難であった。一方、TRD内に変異を有する検体では変異MECP2アレルの発現が高いほどDLX5遺伝子の刷り込みに異常が生じる傾向が認められた。この結果は、TRD内ではなくMBD内の変異によりDLX5遺伝子の刷り込み異常が生じるとした既報告とは異なっていた。これは、培養条件の違いによって生じた可能性があり、今後リンパ球などの直接の患者検体などの検討も必要と考えられた。

結 論

レット症候群40検体のうち解析可能な12検体についてMECP2遺伝子ならびにDLX5遺伝子のアレル特異的な発現を検討した。12検体のうち5検体はMECP2遺伝子のMBD内に変異があり、6検体はTRD内に変異が認められた。MBD内に変異を有する検体では変異MECP2アレルの発現が低いことから、この変異は細胞の増殖を抑制することが示唆された。また、TRD内に変異のあり変異アレルの発現が高い検体ではDLX5遺伝子が両アレルで発現しており、刷り込み異常が示唆された。