

自 19205
(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Tissue-specificity in methylation and expression of human genes coding for neuropeptides and their receptors and a human endogenous retrovirus K family

(神経ペプチド及びその受容体遺伝子とヒト内在性レトロウイルス
HERV-Kファミリーのメチル化及び発現の組織特異性に関する研究)

氏名 申紅梅



目的	:	神経発達や脳の機能に重要な役割を担
う	遺伝子の	DNAメチル化の組織特異性及びメ
チル化	と発現の	関連を明らかにすることが本
研究の	目的である。	
方法	:	解析対象遺伝子には、プロモーター領
域周辺に	CpG island	を持つ遺伝子としてドーパ
ミン受容体	遺伝子	DRD1, DRD2、神経細胞由来接着
因子	NCAM	及びカテコール-O-メチル転移酵素
COMT	の4つの	遺伝子を、また、CpG island
を持た	ない	遺伝子としてセロトニン受容体
遺伝子	HTR2A, HTR3A	、ヒポクレチン遺伝子
HCRT	及びドー	
パミン受容体	遺伝子	DRD3
の4つ	を選んだ。	更
に、	反復配列である	ヒト内在性レトロウイルス
ス	HERV-K	ファミリーのメチル化解析も合わせて
行った。	メチル化解析は、	メチル感受性制限
酵素を用いた	サザンプロット法と	bisulfite修
飾	DNA	のsequencingによるbisulfite法の2種の方法
を用いて	行った。	なお、HERV-Kのメチル化解析
は	サザンプロット法のみ	で行った。発現解
析は	RT-PCR法を用いて	半定量的に行った。解析

は、末梢白血球（成人）脳・肝臓・胎盤（16
週胎児）の4種類について、それぞれ3
サンプルを用いて行った。
結果：調べた8つの単一遺伝子は脳では全て
非メチル化或は低メチル化状態であり、強い
発現が確認された。プロモーター領域周辺に
CpG island を持つ4つの遺伝子 (<i>COMT</i> , <i>DRD1</i> , <i>DRD2</i> , <i>NCAM</i>)
は発現の有無にかかわらず非メチル化状態で
あった。対照的に、非 CpG island 群遺伝子は遺
伝子によって、組織／臓器によって、また個
体によってそれぞれ異なるメチル化パターン
を示した。しかし、脳では4つの遺伝子とも
低メチル化状態を示し、かつ、強い発現が認
められた。非 CpG island 群遺伝子が強く発現し
ている組織では、プロモーター領域周辺は低
メチル化であったが、その逆は必ずしも成立
するものではなかった。 <i>HTR2A</i> と <i>HCR1</i> は胎盤で
メチル化の個体差が認められた。 <i>HERV-K</i> はほと
んどのローカスでメチル化されていたが、一
部のローカスは胎盤と肝臓で比較的低いメチ

ル化を示した。それらのローカスにおけるメチル化レベルに個体差が見られた。しかも、メチル化レベルの順位は胎盤と肝臓で一致した。しかし、単一遺伝子で低メチル化を示した1例が、HERV-Kでは逆に他の2例より強くメチル化されていた。

結語：脳関連遺伝子8つについて、3個人/個体からの4種類の組織/臓器におけるプロモーター領域周辺の詳細なメチル化情報を得た。CpG island 群遺伝子は、従来の見解と一致するものであった。しかし、非 CpG island 群遺伝子は組織/臓器及び遺伝子によってそれぞれ異なるメチル化パターンを示した。更に、非 CpG island 群遺伝子の2つとHERV-Kでメチル化レベルの個体差が見出された。この研究で得られた新知見は、個体差の原因やメチル化機序解明への基礎的研究のみならず、統合失調症等、機能性精神疾患へのエピジェネティクスの関与の有無を検討する研究などにおいて有益な情報を提供する。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	*課程博第	号	氏名	申 紅梅
論文審査委員		審査日	平成 18 年 2 月 24 日	
		主査教授	森 直樹	
		副査教授	田中 勇悦	
		副査教授	山 藤 敏	
(論文題目)				
Tissue-specificity in methylation and expression of human genes coding for neuropeptides and their receptors and a human endogenous retrovirus K family				
(論文審査結果の要旨)				
<p>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、学術的水準について慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p> <p>1. 研究の背景と目的</p> <p>DNA メチル化は重要な生物学的機能を担っている。癌のみならず、DNA メチル化異常による遺伝性疾患も幾つか知られている。それらの遺伝性疾患に共通する症状は脳の機能障害である。機能性精神疾患への関与も議論されているが、本格的研究はまだ少ない。大きな障害は、メチル化の組織特異性と解析法の技術的側面である。本研究は、神経発達や脳機能に重要な遺伝子の組織特異的メチル化パターン・メチル化と発現の関連・個人差の有無を明らかにすることを目的とした。</p> <p>2. 研究内容</p> <p>【方法】メチル感受性制限酵素を用いたサザーンプロット法と bisulfite 法の2つの方法を用いてメチル化解析を行った。解析対象には、プロモーター周辺に CpG island を持つ遺伝子 (CpG island 群) から <i>DRD1</i>, <i>DRD2</i>, <i>NCAM</i>, <i>COMT</i> の4つを、また、CpG island が無い非 CpG island 群から <i>HTR2A</i>, <i>HTR3A</i>, <i>HCRT</i>, <i>DRD3</i> の4つを選んだ。更に、反復配列である HERV-K のメチル化解析を行った。解析は、末梢白血球、(16～21 週胎児) 脳・肝臓・胎盤の4種類について、それぞれ3サンプルを用いて行った。発現解析は RT-PCR 法を用いて半定量的に行った。</p>				

- 備考 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
- 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。

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

【結果】 CpG island 群の 4 つの遺伝子は、発現の有無にかかわらず非メチル化パターンを示した。一方、非 CpG island 群遺伝子は、遺伝子によって、また組織/臓器によって異なる多彩なメチル化パターンを示した。発現の強い組織では、プロモーター周辺は低メチル化を示したが、その逆は必ずしも成立するものではなかった。HTR2A と HCRT は胎盤でメチル化の個体差が認められた。HERV-K はほとんどのローカスでメチル化されていたが一部のローカスは胎盤と肝臓で比較的低メチル化だった。それらのローカスにおけるメチル化レベルに個体差が見られ、個体間の順位は胎盤と肝臓で一致した。しかし、単一遺伝子で低メチル化を示した 1 例が、HERV-K では逆に他の 2 例より強くメチル化されていた。

3. 研究成果の意義と学術的水準

本研究結果は、CpG island を持たない組織特異的遺伝子のメチル化並びに発現との関連について、従来の見解よりもっと幅広い視野を持つことを促す。また、メチル化の個人差/個体差の存在を提示し、単一遺伝子と反復配列での相違を明らかにしている。更に、メチル化の個体差における順位関係が、異なる臓器で同様であることを見出している。この知見は、グローバルレベルにおいては、精神疾患のメチル化解析を白血球で行うことの合理性を支持する 1 つの根拠となる。

このように、本論文は複数の新知見を提供しており、メチル化機構のメカニズム解明や精神疾患へのメチル化の関与等に関する新研究の展開を期待させるものであり、国際的にも高く評価されるものである。

以上より、本論文は学位授与に十分値するものであると判断した。

- 備 考
- 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。
 - 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。