

学 位 論 文 要 旨

Analysis of splicing abnormalities in the white matter of myotonic dystrophy type 1 brain using RNA sequencing

(RNA シーケンスを用いた筋強直性ジストロフィー1型脳の白質におけるスプライシング異常の解析)

兵庫医科大学大学院医学研究科

医科学専攻 高次神経制御系

脳神経内科学 (指導教授 木村 卓)

氏 名 吉積 一樹

筋強直性ジストロフィー 1 型 (DM1) は、DMPK 遺伝子の非翻訳領域の CTG リピートの延長により MBNL などの RNA 結合タンパク質が核内に隔離され、さまざまな遺伝子で異常なスプライシングが観察される神経筋障害である。DM1 患者の脳では異常なスプライシングが発生しているが、DM1 患者で認められる中枢神経系の症状との関係はまだ明らかになっていない。これまで画像研究では、DM1 患者における白質障害が示されてきたが我々の研究ではむしろ灰白質におけるスプライシング異常が目立っていた。今回我々は、DM1 患者と疾患対照として筋萎縮性側索硬化症患者それぞれ 5 名ずつの脳から前頭葉を取り出し、灰白質と白質を分離後に RNA を抽出した。RNA はリアルタイム PCR で皮質、白質に特異的に発現している遺伝子を使用し、皮質と白質に分離していることを確認した。それぞれ 3 検体ずつ RNA シーケンスを実施した。RNA シーケンスの結果を解析し DM1 脳、特に白質におけるスプライシング異常を調査した。また RNA シーケンスに利用した DM1 脳について皮質と白質から DNA を抽出し、CTG リピート長を測定した。RNA シーケンスでは 8 個の遺伝子が白質のみで異常を示したが、続けて行った PCR 検査による検証では 4 つの遺伝子が白質と灰白質に同程度のスプライシング異常を示しており、白質のみでスプライシング異常を示す遺伝子は発見できなかった。また皮質と白質の CTG リピート長には有意差は認めなかったが、皮質において延長している傾向であった。PCR による検証結果からは、DM1 における中枢神経症状が灰白質と白質の両方における異常な RNA スプライシングに起因する可能性を示唆していると考えられた。また異常なスプライシングを示す遺伝子のいくつかは星状膠細胞および希突起膠細胞で多く発現しており、白質のスプライシング異常はグリア細胞の異常な RNA スプライシングに起因するのではないかという仮説を立てた。