

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 遠藤 邦幸

論 文 題 目

Silencing of FUS in the common marmoset (*Callithrix jacchus*) brain
via stereotaxic injection of an adeno-associated virus encoding shRNA

(shRNA を発現するアデノ随伴ウイルスの定位注入法による
コモンマーモセット脳での FUS タンパク質の発現抑制)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

大野 欽司 

名古屋大学教授

委員

山田 清文 

名古屋大学教授

委員

山中 宏二 

名古屋大学教授

指導教授

勝野 雅央 

論文審査の結果の要旨

マーモセットにおける *FUS* 遺伝子配列を同定し、*FUS* タンパク質が脳で広範に発現していることを確認した。さらに、shRNA を発現する AAV を用いてマーモセット脳の *FUS* タンパク質の発現を抑制することに成功した。また、*FUS* タンパク質の喪失によりグリア細胞が活性化されることを示した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. *FUS* タンパク質は RNA 結合タンパク質の 1 種であり、核内において SFPQ タンパク質と結合して数百種類に上る RNA 代謝に関わることが知られている。特に MAPT タンパク質に対しては、スプライシングに影響を及ぼし、*FUS* タンパク質の機能喪失あるいは *FUS* タンパク質と SFPQ タンパク質との結合低下によって 3R-Tau が減少し、4R-Tau が増加する。
2. マーモセット *FUS* 遺伝子のクローニングは、Ensembl 遺伝子データベースに登録されていた *FUS* の mRNA 配列の部分的情報を用いて 5' -UTR とコーディング配列 (CDS) の末端に対するプライマーを設計し、PCR 法を用いて遺伝子配列を増幅させ、*FUS* 遺伝子の CDS を解読した。
3. アデノウイルス随伴ベクター (AAV) は、マーモセットの中樞神経系において最も効率よく発現できるとされる血清型 9 を用いた。AAV は、H1 プロモータ下に shRNA 配列があり、CAG プロモータ下に EGFP 配列を持ち、AAV が取り込まれた細胞において EGFP の蛍光が観察できる。今回の実験では、少なくとも神経細胞、ミクログリア、アストロサイトで EGFP の蛍光が観察され、導入効率は 9 割を超えていた。
4. *FUS* タンパク質の喪失によりグリア細胞の活性化がみられたが、本研究の結果からは神経細胞における *FUS* の喪失か、あるいはグリア細胞における *FUS* の喪失が要因となったのかは断定ができない。しかし、活性化されたグリア細胞においても GFP の発現と *FUS* の抑制がみられたことから、グリア細胞における *FUS* の喪失がグリア細胞を活性化した可能性が示唆された。
5. マーモセットを研究に利用する意義は、げっ歯類よりもより高次な行動異常を観察できる点にあると考えている。今回開発した手法を用いることで、海馬や尾状核などの脳組織で部位特異的に *FUS* タンパク質の発現を抑制したマーモセットモデルが作成することができ、前頭側頭葉変性症 (FTLD) の病態発症のメカニズム解明に役立つことが期待される。

本研究は、FTLD モデルマーモセットを確立する上で、重要な手法を確立した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	遠藤 邦幸
試験担当者	主査	大野 欽司	副査 ₁	山田 清文
	副査 ₂	山中 宏二	指導教授	勝野 雅央
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none">1. FUSタンパク質の生理的機能について2. マーモセット<i>FUS</i>遺伝子のクローニングについて3. アデノウイルス随伴ベクターの設計と有効性について4. FUSタンパク質の喪失とグリア細胞の活性化の関係について5. 今回開発した手法の将来展望について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、神経内科学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				