

審査の結果の要旨

氏名 廣瀬 直毅

本研究は、孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者の脊髄運動神経で発現が低下する ADAR2 遺伝子の発現制御機構を明らかにするため、ヒト脊髄運動神経における ADAR2 遺伝子 *ADARBI* の活性型プロモーターを制御する転写因子群の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. レーザー・キャプチャ・マイクロダイセクション法で採取した2例の非 ALS ヒト脊髄運動神経と比較対照の後角・白質に対する cap analysis of gene expression (CAGE) 解析から、脊髄運動神経特異的な転写開始点を網羅的に同定した。*ADARBI* 周囲の脊髄運動神経の CAGE シグナルの強度・分布が比較対照組織の CAGE シグナルとは異なっていたことから、脊髄運動神経特異的な *ADARBI* の発現制御機構の存在が示唆された。
2. 脊髄運動神経の CAGE データとその他ヒト組織の既報 CAGE データから *ADARBI* のプロモーターを4箇所定義し、うち2箇所が脊髄運動神経における活性型プロモーターであると同定した。既報データの解析からは、4つの *ADARBI* プロモーターの活性が組織特異的であること、*ADARBI* プロモーターの塩基配列相同性には生物種差が大きいことが示された。
3. ヒト脊髄運動神経の CAGE データと既報 RNA-seq データから、ヒト脊髄運動神経で発現する1,334種の転写因子を同定した。一方で、マウスの脊髄運動神経の RNA-seq 解析から1,225種の転写因子を同定し、脊髄運動神経で発現する転写因子の種類・発現量には大きな生物種差があると示された。
4. 複数の既報データの *in silico* 解析から *ADARBI* プロモーターの活性を制御する転写因子を予測した。そして予測候補から脊髄運動神経で発現する34種・発現しない14種（比較対照）の転写因子を抽出し、HeLa細胞を用いた4つの *ADARBI* プロモーターに対するルシフェラーゼ・アッセイを行った結果、脊髄運動神経における発現の有無に依らず、計46種の転写因子が1つ以上の *ADARBI* プロモーターの活性を制御し、異なる転写因子群がそれぞれのプロモーターの活性を制御すると示された。
5. ルシフェラーゼ・アッセイを実施した脊髄運動神経で発現する転写因子には組織特異的に発現するものがあり、また、転写因子間だけでなく転写基本装置とも脊髄運動神経において相互作用すると、既報データの解析から示された。
6. 既報データの解析から、脊髄運動神経における活性型 *ADARBI* プロモーター由来のルシフェラーゼ・シグナルを増強させた転写因子の1つは、その組織特異的な発現が

加齢依存性に低下することに加え、孤発性 ALS 患者組織における発現低下と量的形質遺伝子座の一塩基多型も確認された。従って、この転写因子は孤発性 ALS 患者の脊髄運動神経における *ADARBI* の発現低下に関与している可能性があると考えられた。

以上、本論文は *ADARBI* 周囲の CAGE シグナル・*ADARBI* プロモーターの活性・転写因子の発現がヒト脊髄運動神経特異的であり、脊髄運動神経で発現する複数の転写因子が活性型 *ADARBI* プロモーターを制御しうることを明らかにして、ヒト脊髄運動神経特異的な *ADARBI* の発現制御機構の存在を示した。その上で、脊髄運動神経特異的に発現する転写因子群の発現低下が、孤発性 ALS 患者の脊髄運動神経における *ADARBI* の発現低下に関与する可能性を示した。本研究は孤発性 ALS の分子病態の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。