

- 11) Itoh M, Suzuki Y, Takashima S:
A novel peroxisomal enzyme, D-3-hydroxyacyl-CoA dehydratase/D-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase bifunctional protein: its expression in the developing human brain.
Microscopy Research and Technique 45:383-388, 1999
- 12) Saito Y, Ito M, Ozawa Y, Obonai T, Kobayashi Y, Washizawa K, Ohsone Y, Takami T, Oku K, Takashima S:
Changes of neurotransmitters in the brainstem of patients with respiratory-pattern disorders during childhood.
Neuropediatrics 30:133-140, 1999
- 13) Mizuguchi M, Yamanouchi H, Takashima S:
Neurological aspects of tuberous sclerosis.
Gann Monograph on Cancer Research No. 16, Japan Scientific Society Press, Tokyo, p61-71, 1999

厚生科学研究費補助金（脳研究事業）
分担研究報告書

脳の発達障害に関する遺伝子群を解明するための研究

分担研究者 難波栄二 鳥取大学 遺伝子実験施設

研究要旨 日本人自閉症に関連する遺伝子の候補として Serotonin transporter 遺伝子の解析を行ってきたが、本疾患との関連はないとの結論を得た。近年、自閉症の遺伝にはゲノムインプリンティングの機構が関与している可能性が示唆されてきた。我々は 19 番染色体上のインプリンティングに関連する遺伝子を総合的に検索している。これにはマウス A9 細胞にヒト染色体を 1 本導入したクローンライブラリーを用いた。このライブラリーから父親発現クローンと母親発現クローンを選びだし、Expressed Sequence Tags (ESTs)の情報を元に、PCR 法で発現を確認した。現在までに、父方発現の EST を 9、母方発現の EST を 5 選びだしている。この方法を用いることにより、今後自閉症に関連するインプリンティング遺伝子を検索することが可能になった。

A.研究目的

自閉症や精神遅滞の遺伝的背景を検討するために、我々はセロトニントランスポーター遺伝子を中心とする Association study を進めているが、多くの遺伝子からどのような遺伝子を候補に選ぶかの壁にぶつかっている。最近、自閉症の遺伝的なメカニズムにゲノムインプリンティングの機構が関係する可能性が報告された。我々は 19 番染色体上に存在し、脳に関連するインプリンティング遺伝子を総合的に検索しているので、その研究の進行を報告する。

B.研究方法

マウス A9 細胞にヒト染色体を 1 本導入したライブラリーを用いた。これらから 19 番染色体を導入したクローンを選択するために、APC2、X75b-VSSM、KLK-1 などのマーカーを用いた。遺伝子の発現は Transcript Map96、GeneMap98 の Expressed Sequence Tags (ESTs)のプライマー 298 組を用いて RT-PCR 法で検討した。また、父方発現が明らかである PEG3 遺伝子の発現も確認した。

C.研究結果

19 番染色体を含む A9 クローンから、X75b-VSSM の多型を用い父由来染色体を含むクローン（父クローン）を 9、母由来染色体を含むクローン（母クローン）を 4

選択した。このうち、それぞれ 3 クローンを選び以降の検討に用いた。まず、これらのクローンを用いて PEG3 遺伝子の発現を検討した結果、父クローンのみに発現していた。RT-PCR 法で検討した結果、両方のクローンともに発現していた ESTs が 252、父クローンのみに発現していた ESTs が 9、母クローンにのみ発現していた ESTs が 5、判断できなかった ESTs が 39 であった。

D.考察

今回は 19 番染色体のインプリンティング遺伝子を検討し、父方発現、母方発現の遺伝子の候補を得た。これらの遺伝子は脳の機能に関連している可能性があり、さらに検討を進める。自閉症は一卵性双胎での発症一致率が 80%に対して、2 卵生双胎や同胞での発症一致率は 2-4%にとどまる。しかも男女比が 4-5:1 と片寄っている。これはもちろんメンデルの法則では説明がつかず、関連する遺伝子の中に特別な遺伝機構を考える必要がある。最近、自閉症にインプリンティング遺伝子が関与する可能性が示されてきている。今後、インプリンティング遺伝子に注目して自閉症の遺伝的背景を解明してゆく予定である。

E.結論

ゲノムインプリンティングを受ける遺伝子の単離方法を 19 番染色体を例に報告し

た。インプリンティング遺伝子に注目して
自閉症に関連する遺伝子を検討することが
可能になった。

F.研究発表

Mitsuhiro Kato, Eiji Nanba, Shinjiro Akaboshi,
Takashi Shiihara, Akiko Ito, Tomomi Honma,
Kenji Tsuburaya, Kiyoshi Hayasaka.

Sonic hedgehog signal peptide mutation in a
patient with holoprosencephaly.
Ann Neurol (in press)

Haidi Zhang, Eiji Nanba, Toshiyuki Yamamoto,
Haruaki Ninomiya Kousaku Ohno, Masashi
Mizuguchi, and Kenzo Takeshita

Mutational Analysis of TSC1 and TSC2 Genes in
Japanese Patients with Tuberous Sclerosis
Complex
J Hum Genet 44:391-396, 1999

Analysis of the CAG repeat number in patient with
Huntington's disease.

Yasuhisa Kono, Yauo Agawa, Yashuhiro
Watanabe, Eisaku Ohama, Eiji Nanba, Kenji
Nakashima

Internal Medicine 38:407-411,1999

2.学会発表

久保田智香、前川真治、門田満降、井上純、
押村光雄、難波栄二

先天性筋緊張性ジストロフィー症に関連する
遺伝子の研究：ヒト 19 番染色体の新規イン
プリンティング遺伝子の検索から

第 44 回 日本人類遺伝学会 1999 年 11 月 17
日-19 日

前川真治、久保田智香、難波栄二、押村光雄

ヒト 11 番染色体を保持するマウス A9 細胞内
でのヒトインプリント遺伝子の複製タイミン
グの解析

第 44 回 日本人類遺伝学会 1999 年 11 月 17
日-19 日

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

発達期脳障害における神経伝達機構の解析とその治療に関する研究

分担研究者 新井 一 順天堂大学医学部助教授

研究要旨

ラット培養羊膜細胞は、神経幹細胞としての分化能を有している可能性があり、これらの細胞を実験虚血動物脳に移植すると、長期間にわたり脳内に生着することが確認された。

A. 研究の目的

私達はこれまでに、培養羊膜細胞が神経幹細胞としての分化能を有している可能性を明らかにしてきたが、今回はこれら細胞の脳梗塞実験動物脳への移植を試みた。

B. 研究方法

(1) 妊娠ラットより培養羊膜細胞を樹立し DMEM 培養液および Neurobasal medium (Gibco) により培養した。(2) 自然発症高血圧ラットの右中大脳動脈を閉塞し、右大脳皮質に梗塞巣を作成した。上記(1)の培養羊膜細胞を、実験動物の右大脳へ定位脳手術的に移植した。移植後6ヵ月にわたり、実験動物脳を組織学的及び免疫組織学的に検討した。

C. 研究結果

脳内に移植した羊膜細胞は6ヵ月間生着しており、各種神経細胞マーカーに陽性であった。また、梗塞巣周囲では Nestin 陽性の細胞も観察された。さらに、対照群において移植細胞は移植部位および脳室周囲に、中大脳動脈閉塞群では皮質梗塞巣の周囲に存在する傾向がみられ両群間で移植細胞の局在に相違が認められた。

D. 考察

脳梗塞巣に移植された培養羊膜細胞は、移植後長期間にわたり宿主の脳内に生着し、さらに神経細胞に分化する可能性が示唆された。

E. 結論

ラット羊膜細胞の一部は神経細胞様に分化し、この特性は脳内移植後も保持されている可能性が示唆された。

F. 研究発表

学会発表

1. 虚血脳へのラット羊膜細胞の移植実験
大川英徳他、第58回日本脳神経外科学会総会、東京、1999年10月