

氏 名 (本 籍)	松 尾 雅 博 (兵庫県)
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	博 士 第 5 4 6 号
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
学 位 授 与 年 月 日	平 成 1 9 年 3 月 2 6 日
学 位 論 文 題 目	A novel SNP in <i>hPer2</i> associates with diurnal preference in a healthy population  ( <i>hPer2</i> 遺 伝 子 に お け る 新 し い SNP が、健 康 成 人 の 朝 型 ・ 夜 型 傾 向 と 関 連 し て い る)
審 査 委 員	主 査 教 授 大 路 正 人 副 査 教 授 木 村 宏 副 査 教 授 永 田 啓

## 論文内容要旨

*整理番号	552	(ふりがな) 氏 名	まつお まひろ 松尾 雅博
学位論文題目	A novel SNP in hPer2 associates with diurnal preference in a healthy population (hPer2 遺伝子における新しい SNP が、健康成人の朝型・夜型傾向と関連している)		
<p style="text-align: center;">研究の目的</p> <p>概日リズムは地球上の多くの生物に共通して認められているが、近年それらを形成する分子機構が明らかとなった。特に時計遺伝子と呼ばれる遺伝子は、大きく転写抑制系と活性系の 2 群にわかれ、お互いの転写を制御しあうフィードバック機構を形成している。このフィードバック機構により、約 24 時間の転写リズムを形成されている。さらに、これら時計遺伝子の転写産物が、細胞質内でリン酸化などの修飾をうけることで、リズムの長さ、周期を決める上で重要であることも示されている。</p> <p>一方でゲノムプロジェクトが完了するにともない、遺伝子多型とよばれる遺伝子の塩基配列の違いが多くの遺伝子で見られることがわかり、これらの違いにより多くの生物機能が影響を受けることも分かった。</p> <p>ヒトの概日リズムに関しても、時計遺伝子にみられる遺伝子多型がその行動に影響を与えていることが既に報告されている。家族性睡眠相前進症候群と呼ばれる病態では、罹患者もつ内因性の概日周期の長さが短くなり、きわめて朝早くに覚醒して夕方には早期に就寝してしまうという症状が認められる。この家族性睡眠相前進症候群罹患者では、時計遺伝子の 1 つである <i>Period2</i> 遺伝子に単塩基置換があることが明らかとなった。この単塩基置換はリン酸化部位をコードする部位に存在し、その結果 <i>Period2</i> タンパクが細胞質内で異なる修飾のされかたをするために家族性睡眠相前進症候群にみられる症状が出現したと考えられている。</p> <p>また、個人ごとの概日リズムの違いは、社会生活が困難となる睡眠相前進症候群といった病態にのみ見られるのものではなく、健康成人でも個々で概日リズムが異なっていることは知られている。この健康成人でみられる概日リズムのばらつきは、社会的な機能低下に至らないものの、朝型生活や夜型生活といった個々の生活リズムに反映されている。</p> <p>以上のことから、家族性睡眠相前進症候群で見られた遺伝子多型が健康成人でも認められるか調べるのに加え、これまでに報告されていない遺伝子多型が、健康成人の概日行動リズムに影響を与えていないかを調べることにした。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

### 方法

健康成人 71 名 (女性 50 名、男性 21 名、平均年齢 23.5 歳) を対象に研究を行った。既に生物学的な概日リズム特性を反映することが確立されている Horne & Ostberg 質問紙により、対象者個人ごとの朝型・夜型傾向を点数化した。また、対象者全員から採血によりゲノムを採取した。採取されたゲノムは、*Period 2* 遺伝子のリン酸化サイトであるエクソン 17 を含むように 487bp の範囲を PCR で増幅した。増幅された PCR 産物をさらに Nested PCR 法にて 361bp の範囲で増幅し、これをダブルストランドでシーケンスした。得られたシーケンスは、Sequencher ソフトウェアでアラインし、多型の確認を行った。

### 結果

対象者の朝型夜型傾向を点数化し、確立された基準点数で分類したところ朝型が 8 名、夜型が 19 名、どちらでもない中間型が 44 名確認された。

シーケンスの結果、調べた範囲で 3 つの単塩基多型が認められたが、家族性睡眠相前進症候群と関連が報告されている単塩基多型は認められなかった。

これら 3 つの単塩基多型と朝型夜型傾向の分布を調べたところ、*Period 2* 遺伝子転写開始点から 2114 番目の単塩基多型で偏りが認められた。この多型ではグアニンがアデニンに置き換わるが、アデニンは夜型の対象者でのみ認められ、その偏りは統計的に優位であった (カイ二乗検定 イェーツ補正、 $P=0.000243$ )。

### 考察

これまで時計遺伝子の多型は、概日リズム障害といった疾病との関連を中心に調べられてきた。一方で、朝型・夜型傾向は健康成人でも見られるものの、遺伝子多型と関連は調べてこられていなかった。このためこの研究では、健康成人に見られる朝型・夜型傾向が遺伝子多型による影響を調べた。その結果これまでに報告のなかった遺伝子多型が、夜型傾向と関連することがはじめて分かった。

この多型はアミノ酸コーディング部位であるエクソン 17 に認められたが、コドン内の 3 番目にありアミノ酸置換を起こさないものであった。このため、タンパク質レベルでの影響はないものとかんがえられる。しかし、この単塩基置換によるスプライシングの変化、mRNA 安定性の変化などは否定できず、今後の課題となった。また、母集団が 71 名と少ないことから母集団を増やしての検討も必要と考えられた。

### 結論

概日リズムに問題のない健康成人を対象に、*Period 2* 遺伝子の遺伝子多型を調べた。この結果、タンパクをコードするエクソン 17 上の単塩基多型の 1 つが優位に夜型に分布することが分かった。この単塩基多型はアミノ酸置換を起こさないことから、タンパクレベルでの機能変化はないと考えられる。

## 学位論文審査の結果の要旨

整理番号	552	氏名	松尾 雅博
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>本研究は、健康成人でみられる朝型・夜型傾向の概日リズムが体内時計遺伝子の多型と関連するか否かについて検討したものである。</p> <p>Horne &amp; Osteberg の質問紙を用い、解析対象の健康成人 71 名(女性 50 名、男性 21 名、平均年齢 23.5 歳)を分類したところ、朝型 8 名、夜型 19 名、中間型 44 名であった。これら対象者の血液からゲノムを採取し、時計遺伝子の一つ <i>Period2</i> に焦点をあて、そのリン酸化残基をコードするエクソン 17 を含む 361bp の塩基配列を分析し、遺伝子多型について解析した。その結果、新しい 3 種の単塩基多型が同定された。これら 3 種の単塩基多型と朝型夜型傾向との関連性を調べたところ、夜型では <i>Period2</i> 遺伝子の転写開始点から 2114 番目のグアニンがアデニンで置換された単塩基多型が有意に多いことが判明した。</p> <p>本研究は、健康成人の夜型傾向が時計遺伝子の単塩基多型と関連する可能性を指摘したものであり、博士(医学)の学位授与に値すると判定された。</p>			
(平成 19 年 1 月 31 日)			