

(様式4)

学位論文の内容の要旨

(氏名 Fathul Huda) 印

(学位論文のタイトル)

Distinct transduction profiles in the CNS via three injection routes of AAV9 and the application to generation of a neurodegenerative mouse model

(アデノ随伴ウイルスベクターの3つの投与経路の違いによる中枢神経系遺伝子発現の差異、および神経変性疾患モデルマウス作成への応用)

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

Using single-stranded adeno-associated virus serotype 9 (ssAAV9) vectors containing the neuron-specific synapsin-I promoter, we examined whether different administration routes (direct cerebellar cortical (DC), intrathecal (IT) and intravenous (IV) injections) could elicit specific transduction profiles in the CNS. The DC injection route robustly and exclusively transduced the whole cerebellum, whereas the IT injection route primarily transduced the cerebellar lobules 9 and 10 close to the injection site and the spinal cord. An IV injection in neonatal mice weakly and homogeneously transduced broad CNS areas. In the cerebellar cortex, the DC and IT injection routes transduced all neuron types, whereas the IV injection route primarily transduced Purkinje cells. To verify the usefulness of this method, we generated a mouse model of spinocerebellar ataxia type 1 (SCA1). Mice that received a DC injection of the ssAAV9 vector expressing mutant ATXN1, a protein responsible for SCA1, showed the intranuclear aggregation of mutant ATXN1 in Purkinje cells, significant atrophy of the Purkinje cell dendrites and progressive motor deficits, which are characteristics of SCA1. Thus, ssAAV9-mediated transduction areas, levels, and cell types change depending on the route of injection. Moreover, this approach can be used for the generation of different mouse models of CNS/neurodegenerative diseases.

神経細胞特異的シナプシンIプロモーターを搭載したシングルストランドアデノ随伴ウイルスベクター9型 (ssAAV9) を3つの異なる経路で投与して、中枢神経系にどのようなパターンで遺伝子発現が見られるのかを検討した。投与経路は、経静脈的、髄注、および直接小脳皮質の3つである。直接小脳に投与した場合は、小脳選択的かつ小脳全体に強く遺伝子発現が観察された。これに対し髄注の場合は脊髄と小脳、ただし小脳はウイルス投与部

位に近い第9, 10小葉だけに遺伝子発現が観察された。静脈投与では新生マウスを用いたときのみ遺伝子発現が認められ、発現レベルは弱いが中枢神経系広範囲に一樣に観察された。小脳直接投与および髄注の場合、小脳皮質のすべての種類の神経細胞に遺伝子発現が見られたのに対し、静脈投与ではプルキンエ細胞選択的に遺伝子発現が見られた。直接小脳に投与した場合、小脳皮質全体の神経細胞に強く遺伝子発現が誘導されるため、脊髄小脳変性症モデルマウスを作成することができるのでないかと考えた。脊髄小脳変性症1型の変異原因遺伝子、ATXN1を発現するssAAV9を成熟マウスの小脳皮質にインジェクションしたところ、進行性の小脳失調が見られた。1ヶ月後に小脳皮質を観察すると、プルキンエ細胞樹状突起の著しい萎縮と、特徴的な核内凝集体が見られた。このようにssAAV9の投与経路の違いで、遺伝子発現の場所、細胞種、発現量が大きく異なることが明らかとなった。さらにこの方法を応用することで、様々な中枢神経系疾患モデルマウスを作成できる可能性が示された。