

（様式6-A） A. 雑誌発表論文による学位申請の場合

篠原 洋一郎 氏から学位申請のため提出された論文の審査要旨

題目 Viral Vector-Based Dissection of Marmoset GFAP Promoter in Mouse and Marmoset Brains

（マウスおよびマーモセットの脳におけるマーモセット由来GFAPプロモーターのウイルスベクターによる分析）

PLoS One 11(8): e0162023, 2016

Yoichiro Shinohara, Ayumu Konno, Nobutaka Takahashi, Yasunori Matsuzaki, Shoji Kishi, Hirokazu Hirai

論文の要旨及び判定理由

疾患の病態解明や治療法開発には非ヒト霊長類が極めて有用であるが、中でもマーモセットは小型で取り扱いやすく、繁殖力も高いため、医学、生命科学研究に用いられはじめている。マーモセットの脳へ細胞種特異的に外来遺伝子を導入するには、細胞種特異的プロモーターを組み込んだアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターが有用である。しかし、AAVベクターには導入可能な遺伝子のサイズに制限があり、さらに細胞種特異的プロモーターは一般的にサイズが大きいため、搭載可能な外来遺伝子のサイズに制限がある。本研究では、マーモセットでアストロサイト特異的に働くコンパクトなプロモーターの開発を目的とした。

マーモセットゲノムからアストロサイト特異的に発現するGFAP遺伝子上流プロモーター領域(cjGFAPプロモーター)のクローニングを行った。2.0kbから0.2kbまで様々な長さのGFAPプロモーター領域制御下で緑色蛍光タンパク質(GFP)を発現するレンチウイルスベクターを作成し、野生型マウスの小脳に投与し、プロモーター活性およびアストロサイト特異性を解析した。すると、0.3kbプロモーターはサイズがきわめて小さいが、プロモーター活性は2.0kbの40%程度保たれ、アストロサイト特異性も90%程度あることが明らかになった。次に0.3kbプロモーターをマウスの大脳皮質で検討した。すると大脳皮質では、ニューロン優位のGFP発現が観察された。マーモセットのGFAPプロモーターをマウスの大脳皮質に用いたため(動物種 mismatches)、アストロサイト特異性が見られなかった可能性が考えられた。そこで、マーモセット由来0.3kb cjGFAPプロモーター制御下でGFPを発現するAAVベクターをマーモセットの小脳皮質と大脳皮質に投与し解析したところ、両部位ともに90%程度のアストロサイト特異的なGFP発現が観察された。

本研究結果は、0.3kbのGFAPプロモーターとAAVベクターを組み合わせることで、アストロサイトを標的とした疾患モデルの作成や遺伝子治療研究に応用できる可能性を示したと認められ、博士(医学)の学位に値するものと判定した。

(平成30年1月10日)

審査委員

主査 群馬大学教授(医学系研究科)

遺伝発達行動学分野担任 柳川 右千夫 印

(様式6, 2頁目)

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)  
神経薬理学分野担任 白尾 智明 印

副査 群馬大学教授 (医学系研究科)  
病態病理学分野担任 横尾 英明 印

#### 参考論文

1. Viral Vector-Based Evaluation of Regulatory Regions in the Neuron-Specific Enolase (NSE) Promoter in Mouse Cerebellum In Vivo  
(マウス小脳における神経細胞特異的NSEプロモーター調節領域のウイルスベクターによる評価)  
Cerebellum 16(5-6): 913-922, 2017  
Shinohara Y, Ohtani T, Konno A, Hirai H
2. Short-term outcomes after EX-PRESS implantation versus trabeculectomy alone in patients with neovascular glaucoma  
(血管新生緑内障患者におけるエクस्प्रेस挿入術と線維柱帯切除術後の短期治療成績)  
Clinical Ophthalmology 11: 2207-2213, 2017  
Shinohara Y, Akiyama H, Magori M, Kishi S
3. Evaluation of Fundus Blood Flow in Normal Individuals and Patients with Internal Carotid Artery Obstruction Using Laser Speckle Flowgraphy  
(レーザースペックルフローグラフィを用いた健常人および内頸動脈閉塞患者の眼底血流評価)  
PLoS One 12(1): e0169596, 2017  
Shinohara Y, Kashima T, Akiyama H, Shimoda Y, Li D, Kishi S
4. Intravenous administration of the adeno-associated virus-PHP.B capsid fails to upregulate transduction efficiency in the marmoset brain  
(アデノ随伴ウイルスPHP.Bカプシドの静脈内投与はマーモセット脳における形質導入効率を増加させることができない)  
Neuroscience Letters 665: 182-188, 2017  
Matsuzaki Y, Konno A, Mochizuki R, Shinohara Y, Nitta K, Okada Y, Hirai H
5. Different Filling Patterns of the Choriocapillaris in Fluorescein and Indocyanine Green Angiography in Primate Eyes Under Elevated Intraocular Pressure  
(高眼圧霊長類の脈絡毛細血管板におけるフルオレセインおよびインドシアニングリーン血管造影の異なる充填様式)  
Investigative Ophthalmology & Visual Science 58(13): 5856-5861, 2017  
Hanyuda N, Akiyama H, Shimoda Y, Mukai R, Sano M, Shinohara Y, Kishi S