

報道関係各位

平成28年8月26日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「家族性パーキンソン病PARK17の病態に神経終末からのドーパミン放出機能障害が関与」 — パーキンソン病の病態解明への期待 —

【ポイント】

- ゲノム編集技術を用いて家族性パーキンソン病 PARK17 の患者と同じ変異を Vps35 遺伝子にもつマウスの作成に世界で初めて成功しました。
- 変異マウスでは、線条体の神経終末からのドーパミン放出機能が障害されていることが判明しました。
- パーキンソン病の病態解明への新たな道が開かれました。

東京医科歯科大学脳統合機能研究センター 渡瀬 啓 准教授、同大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学分野 横田 隆徳 教授及び脳神経病態学博士課程 石津 暢隆 大学院生の研究グループは、国立病院機構東京病院及び千葉大学との共同研究で、家族性パーキンソン病PARK17のモデルマウスでは線条体内の神経終末からのドーパミン放出機能が障害されていることをつきとめました。この研究は文部科学省科学研究費補助金の支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌Human Molecular Genetics(ヒューマンモレキュラー・ジェネティクス)に、2016年8月25日(英国時間)にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

パーキンソン病は神経変性疾患の中ではアルツハイマー病に次いで2番目に多い疾患で、ドーパミンと呼ばれる神経伝達物質を産生する中脳黒質神経細胞やドーパミンを放出する線条体などが徐々に変性・脱落するため、ゆっくりと運動機能が障害されていく疾患ですが、その発症のメカニズムについては不明な点が多いのが現状です。パーキンソン病の多くは家族歴のない孤発性パーキンソン病(sPD)ですが、今回私たちは、sPDと同様の症状を示す家族性(遺伝性)パーキンソン病のひとつである PARK17 に注目しました。PARK17 は 2011 年ヨーロッパや我が国から発見された常染色体優性遺伝性パーキンソン病で、VPS35 遺伝子の点変異(多くは D620N 変異)が原因遺伝子であることがわかっています。VPS35 は細胞質内において様々なタンパク質のリサイクルを行う運び屋の役割を担っていて、神経細胞だけでなく、身体中の多くの細胞に存在しているタンパク質

ですが、なぜ VPS35 遺伝子の異常でパーキンソン病を発症するのかは不明でした。そこで私たちの研究グループは最近開発されたゲノム編集技術を用いて、マウスの Vps35 遺伝子を改変して患者と同じ VPS35 変異タンパクを発現する VPS35 遺伝子変異マウスを作製しました。このモデルマウスを詳しく解析すれば、PARK17 だけでなく sPD の病態解明や根本的治療法の開発にもつながると考えたからです。

【研究成果の概要】

私たちは CRISPR/Cas9 システムという、自然界の細菌が免疫機能として持っているウイルスの侵入を防ぐ仕組みを応用したゲノム編集技術を用いて VPS35 D620N 変異マウスおよび VPS35 ノックアウトマウス(1塩基欠失:Del1)の作製に成功しました。

ヒトの VPS35 タンパクは 796 個のアミノ酸から形成され、VPS35 D620N 変異は 620 番目のアミノ酸が D(アスパラギン酸)から N(アスパラギン)に置換されたものです。私たちの研究グループはこの CRISPR/Cas9 法で得られた VPS35 変異マウスを交配し、得られたマウスの成長、行動分析をはじめ脳のタンパク分析、神経病理組織解析やドーパミン濃度の解析などを行いました。

VPS35 D620N/D620N 変異マウスについてはメンデルの遺伝の法則に従った数のマウス誕生が認められ、またパーキンソン病のような運動機能障害は認められませんでした(図 1)。一方、VPS35 1 塩基欠失型(Del1)アレル^{注1}を2つ持っている VPS35 Del1/Del1 マウスは誕生してこなかったことから、この Del1 アレルは致死性アレルと考えられました(図 2)。

さらに VPS35D620N マウスと Del1 マウスの交配を行ったところ D620N/Del1 マウスが誕生しましたが、生後 3 週までの成長過程でそのうち約 30%が死に至りました(図 3)。ヘテロ接合 Del1/+マウスは正常に成長したことから、VPS35D620N アレルは野生(正常)型アレル(+)とは異なり完全には Del1 アレルの致死性を補えず、部分的に機能を喪失していると考えられました。

次に私たちは中脳由来のドーパミン作動性神経の神経終末がシナプス^{注2}を形成する線条体という組織にプローベという管を挿入し、マイクロダイアリシスという方法を用いて、シナプスから放出されるドーパミン濃度を経時的に測定しました。一般的にドーパミンを包んだシナプス小胞は電気刺激など(この実験では KCl 刺激)を受けると、シナプス小胞とシナプス外膜が融合し、小胞内のドーパミンがシナプス末端から放出されます(図 4)。病理学的な解析などでは VPS35 D620N 変異マウスの線条体や黒質には明らかな神経変性は見られませんでした。マイクロダイアリシスの結果、VPS35 D620N 変異マウスでは KCl 刺激によってシナプスから放出されるドーパミン量が野生(正常)型マウスと比べて少ないことがわかったのです(図 4,5)。

これらの結果より VPS35D620N マウスのドーパミンの放出機能の低下は VPS35 分子の部分的な機能喪失型変異によって生じている可能性が高いこと、またドーパミン産生神経細胞が少なくとも本マウスの組織所見では明らかな神経変性を生じる前から始まっていることを示唆する所見であり、パーキンソン病の発症メカニズムを考える上で極めて重要な発見であると考えられます。

【用語説明】

注 1) アレル: 2個一組の相同遺伝子における対立遺伝子のこと

注 2) シナプス: 神経軸索の末端のコブ状に膨らんだ部分で、軸索を伝わってきた電気刺激によりシナプス内に貯蔵されている神経伝達物質(ドーパミンなど)を放出して次の細胞にその情報を伝達する機能を持つ。

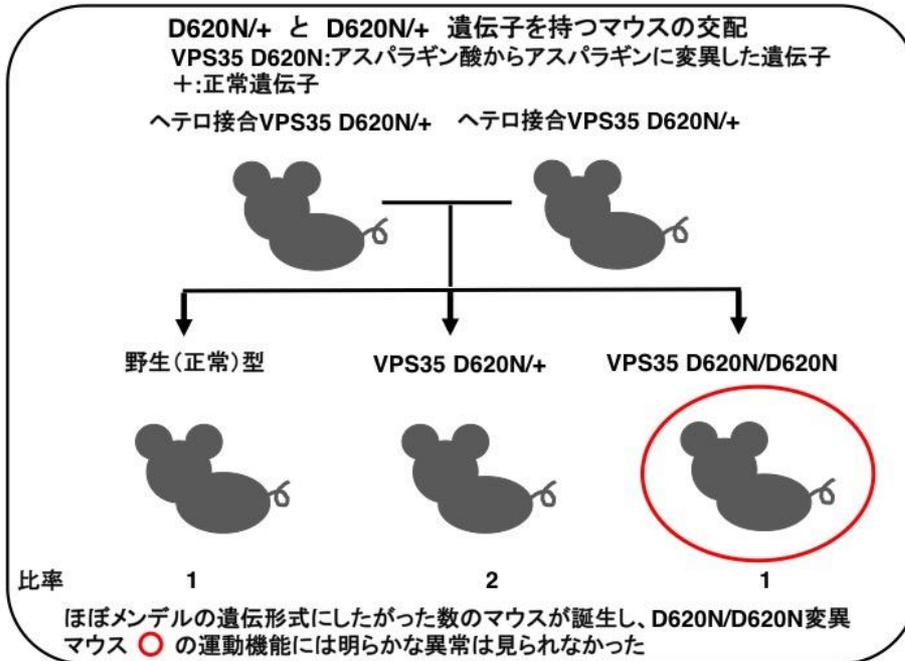


図 1

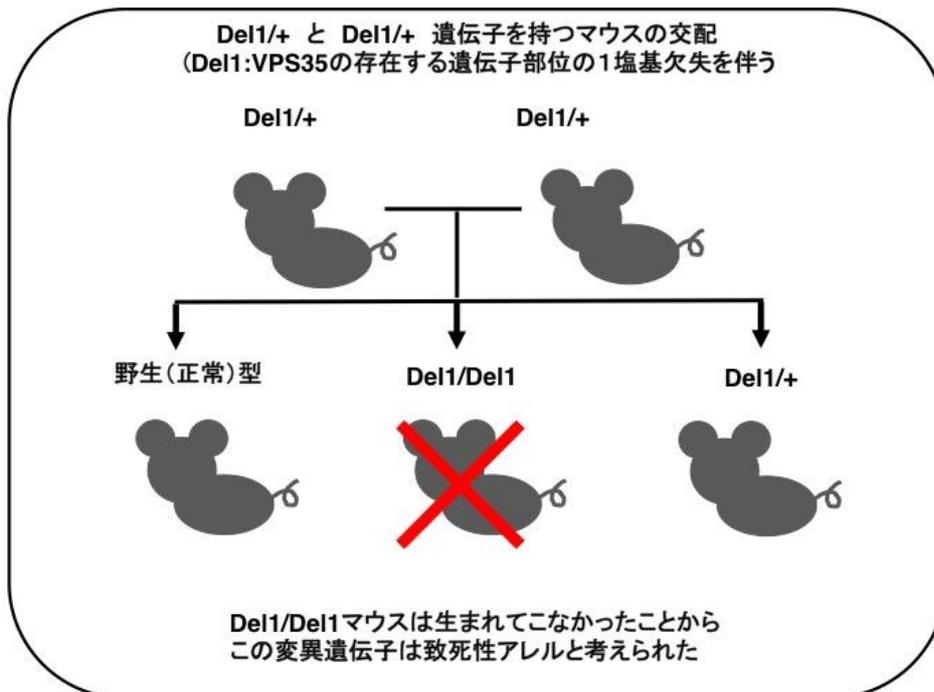


図 2

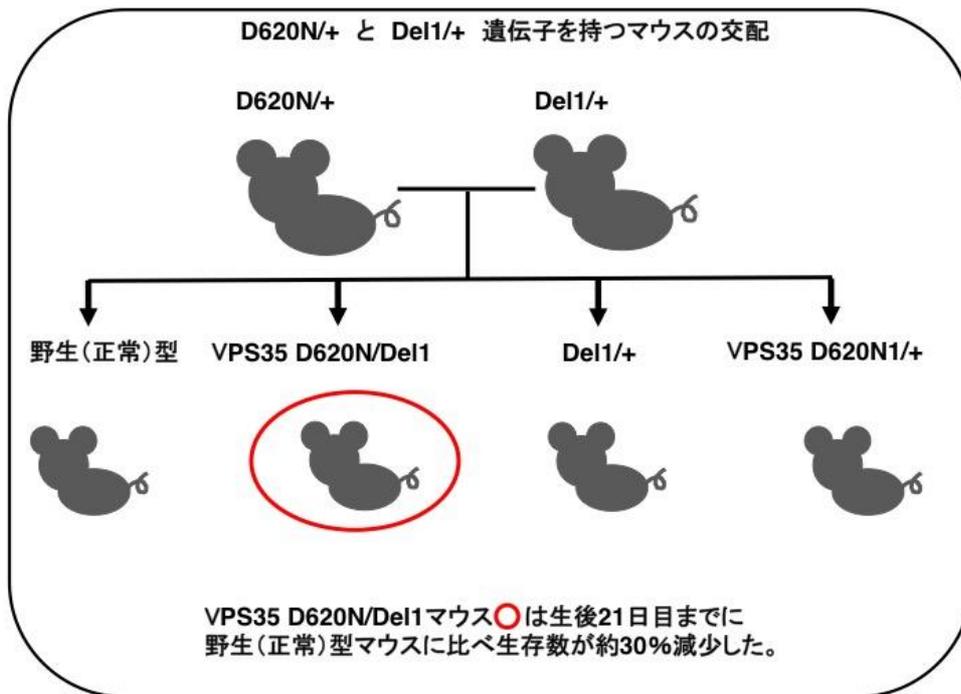


図 3

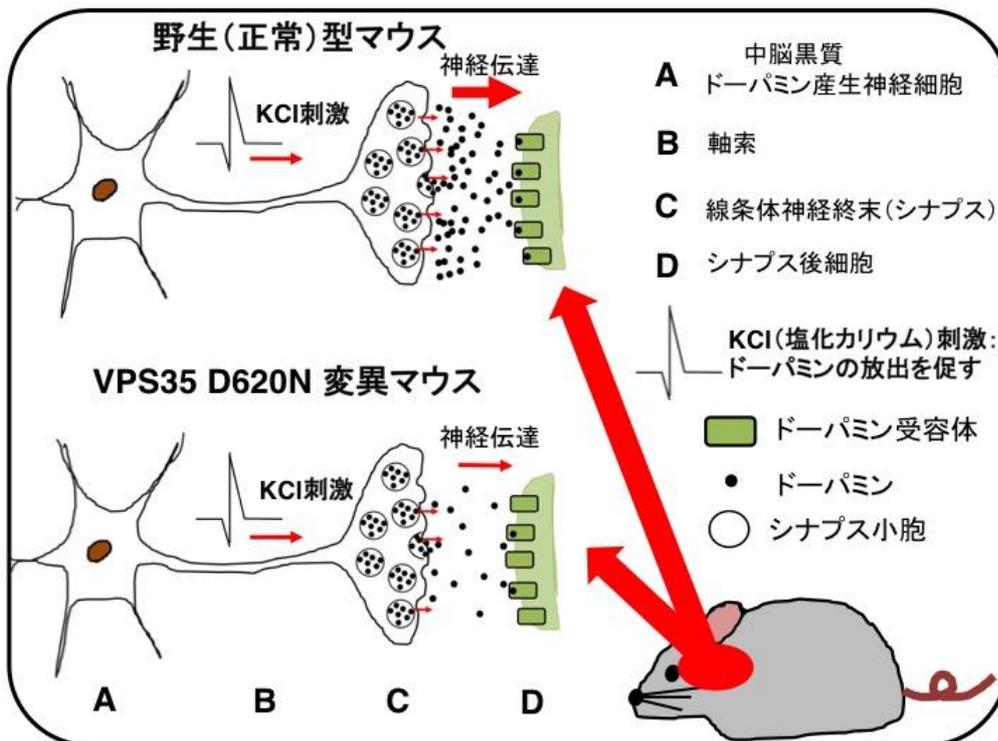


図 4

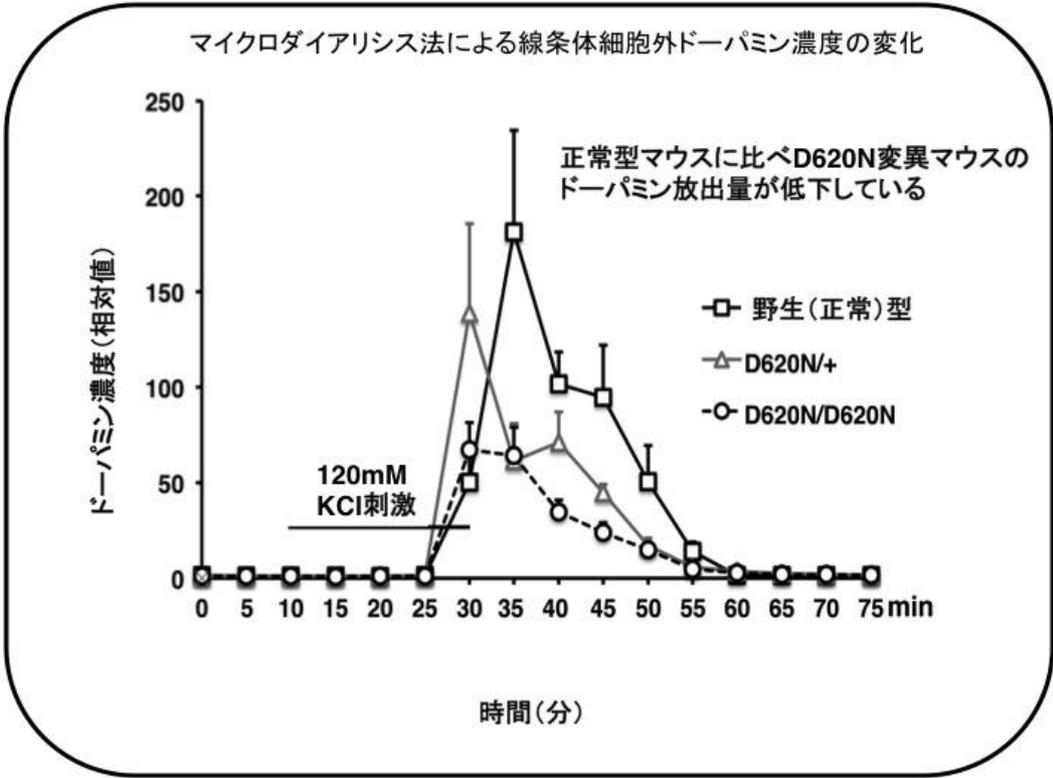


図 5

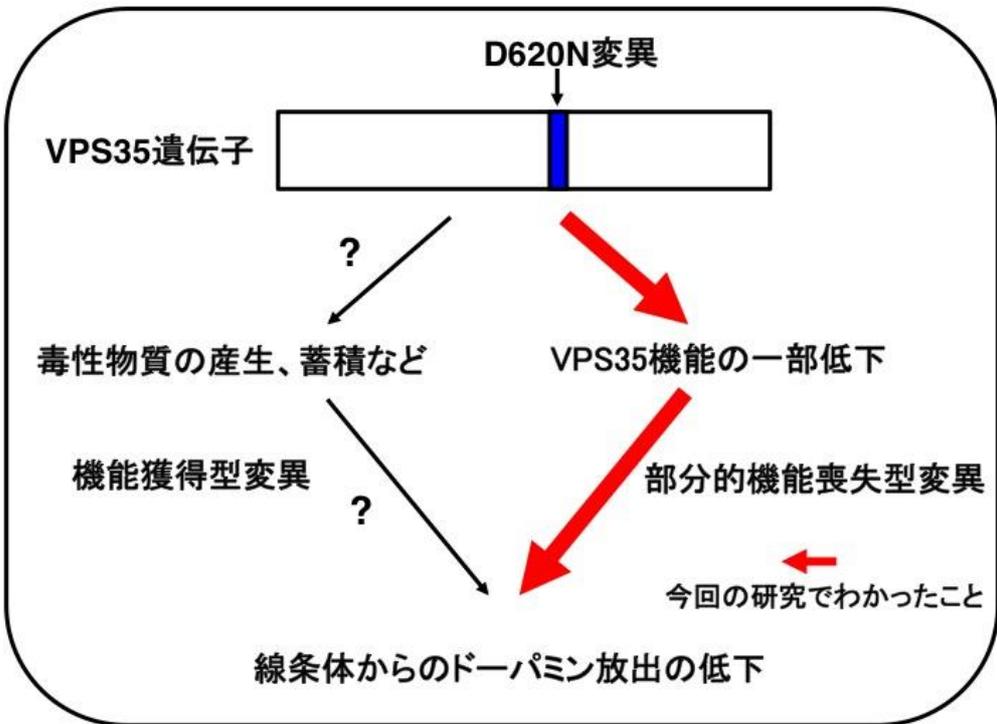


図 6

【研究成果の意義】

CRISPR/Cas9 法は最近、比較的短期間に遺伝子を組み替えることができる方法として急速に遺伝子組換え技術に応用されている手法ですが、このゲノム編集技術を用いて作製した PARK17 モデルマウスは世界で初めてであり、今後本疾患の病因解明や治療法開発に向けて様々な応用が期待できると考えています。またある種の神経変性疾患（遺伝性プリオン病など）のように変異遺伝子が作り出す異常凝集タンパクなどの毒性産物が脳内に蓄積することによって発症すると言われている機能獲得型の変異とは異なり、正常な遺伝子機能の一部を失うことにより発症する部分機能喪失型変異として PARK17 の発症に関わる可能性を示したことは病態全体の解明に向け前進できるものと考えています（図 6）。さらに線条体ドーパミン放出機能障害が少なくとも本マウスの組織所見では明らかな神経変性を生じるより前に見られたことは極めて興味深く、PARK17 のみならず sPD の病態解明につながる可能性があります。

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学 脳統合機能研究センター 渡瀬 啓(ワタセ ケイ)

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 脳神経病態学 横田 隆徳(ヨコタ タカノリ)

同脳神経病態学博士課程、国立病院機構東京病院 神経内科 石津 暢隆(イシヅ ノブタカ)

Tel: 03-5803-4716 Fax: 03-5803-4716 E-mail: keinuro@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 広報部広報課

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp