

令和元年5月22日現在

機関番号：82611

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19679

研究課題名(和文)先天性大脳白質形成不全症における予後関連因子としての神経細胞障害に関する病態研究

研究課題名(英文)The study of neurodegeneration as a prognostic factor in congenital dysplasia of cortical white matter

研究代表者

李 コウ(Li, Heng)

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター・神経研究所 疾病研究第二部・科研費研究員

研究者番号：70621994

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：Pelizaeus-Merzbacher(PMD)病は先天性大脳白質形成不全症の代表的疾患であり、臨床的に生後から重度の精神運動遅滞を呈すが、10歳前後を境に緩徐に運動機能が低下する。この晩発性運動機能低下の原因として、髄鞘形成不全により神経細胞軸索エネルギー代謝異常を引き起こし、神経細胞体の変性がおこると考えられる。本研究はこの仮説を形態学、電気生理学、分子生物学的に実証することにより、髄鞘形成不全症モデルマウスの脳における神経細胞の変性と神経伝達の異常を確認された。この新規病態の解明は本疾患での二次的な症状の進行を予防する治療法開発のための基盤となる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的及び社会的意義は、これまで検証されていないPelizaeus-Merzbacher病の神経細胞体変性に対して、生理機能と病態表現の面で検証することができるということである。髄鞘形成不全における神経細胞体変性のメカニズムを解明することにより、当疾患の二次的な症状の悪化の予防及び治療法開発のための基盤になる知見を得ることが出来る点である。本研究の成果は、新しい治療法の評価手段としても応用できる。

研究成果の概要(英文)：Pelizaeus-Merzbacher (PMD) disease is a representative disease of congenital hypomyelinating leukodystrophies of the central nervous system (CNS). Common clinical features of PMD patients can be recognized as hypotonia, nystagmus and delay in developmental milestones within the first year of life. However, the motor functions of the PMD patients always decline slowly after 10 years of age. As a cause of this late-onset motor dysfunction, it is considered that dysmyelination causes neurodegeneration following aberrant axonal energy metabolism. We confirmed the pathological appearances of axonal degeneration and abnormal of neurotransmission via morphological, electrophysiological, and molecular biological studies in PMD model mice. Elucidating the mechanism of the neurodegeneration may serve as a basis for prevention of the secondary neurological symptoms in the future treatment of hypomyelinating leukodystrophies.

研究分野：神経科学

キーワード：先天性大脳白質形成不全 神経変性

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

Pelizaeus-Merzbacher 病(PMD)は中枢神経系の先天性大脳白質形成不全症の代表的疾患で、臨床的に生後から重度の精神運動遅滞を呈するが、10歳前後を堺に緩和に運動機能が低下する。この晩発性運動機能低下の原因として二次的神経障害の関与が考えられるが、その病態は全く不明である。

髄鞘は軸索の電気的な信号の伝達回路における絶縁体として働くのみならず、電気信号を速く、効率的に、減衰なく遠距離に届けることを可能にしている。髄鞘形成不全の軸索から電気信号を伝達する場合、神経細胞のエネルギーが過度に消費される。更に、最近の研究(2)から髄鞘を形成するオリゴデンドロサイトが、乳酸をエネルギー源として軸索に提供することがわかってきた。髄鞘形成不全病態では、神経細胞のエネルギーの供給不足と消費過多によって、エネルギー代謝異常が存在する可能性が考えられている。

我々は臨床所見と先行研究から、PMD患者に見られる10歳代からの緩徐進行性の病状悪化の原因として、神経細胞軸索エネルギー代謝異常がミトコンドリア機能障害を引き起こし、神経細胞体の変性がおこる、という新規病態仮説を提唱する。

## 2. 研究の目的

本研究では、神経細胞形態と錐体神経細胞のミトコンドリア機能、神経電気生理学的な変化に焦点を当て、そこからグリア細胞と神経細胞機能の相互関係に由来する病態を解明し、最終的に髄鞘形成不全に共通する神経細胞本体の生理機能変化を解明することを目的とする。

## 3. 研究の方法

遺伝性髄鞘形成不全に起因する二次的な神経細胞の障害に関する新たな細胞分子病態を解明するために、培養細胞とモデルマウスを用いて、下記の3項目について、順次解析を進めていた。

### (1) 神経細胞の軸索及びミトコンドリアの組織形態学的な変化の解析。

電子顕微鏡解析：ミトコンドリア機能障害は神経細胞体と軸索の変性を誘導するという仮説を検証するため、モデルマウスの脳梁、内包における神経細胞体、軸索及びミトコンドリアの形態学的な変化の有無を電子顕微鏡で検証した。変性神経染色：マウスの脳凍結切片を用いて、変性神経染色 Fluoro-Jade C staining を行った。

(2) 電気生理学的な特徴の解析。神経細胞変性が起こしたか否かが免疫染色実験を通し確認できるが、細胞機能的な変化を電気生理実験で評価することも必要だと考えられている。モデルマウスを用いて、聴性脳幹反応 (Auditory brainstem response; ABR) を測定した。

(3) 神経細胞のエネルギー代謝及びミトコンドリア膜電位の測定。モデルマウスからのオリゴデンドロサイトとニューロン初代共培養細胞を用いて、JC-1色素によって神経細胞のミトコンドリア膜における電気化学的勾配の変化を評価した。

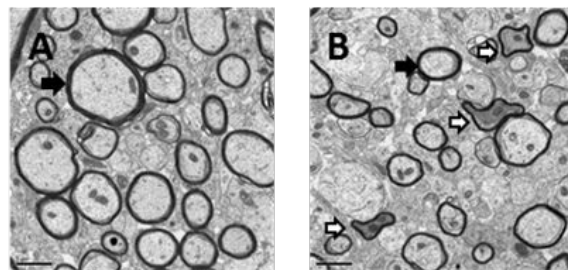


図1 脳梁電子顕微鏡写真：(A)野生型マウス、(B)PMDモデルマウス。  
黒矢印：髄鞘 白矢印：変性軸索。

## 4. 研究成果

(1) 組織形態学的な変化の解析：電子顕微鏡、変性神経染色を用いて、PMDモ

デルマウス (PLP1 Tg) において、脊髄錐体路、線条体、内包での髄鞘形成不全とともに神経細胞の軸索変性を示唆する所見が確認された(図 1)。

(2) 電気生理的な特徴の解析:聴性脳幹反応の波形について、正常マウス(wild-type)で I 波から 波まで検出されるのに対し、PLP1 Tg マウスでは I 波から 波までしか検出できなかった上に、潜時延長が確認された(図 2)。機序として、脳幹白質の髄鞘形成不全がまだらであることで神経伝導速度にばらつきが生ずるためと考えられている。髄鞘形成不全における神経細胞体変性及び神経伝達の異常を組織形態学、電気生理学的に証明した。そのメカニズムを解明することにより、当疾患の二次的な症状の悪化の予防及び治療法開発のための基盤になる。

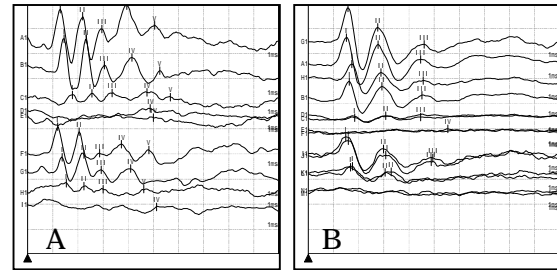


図 2 ABR 波形 : (A)野生型マウス, (B)PMD モデルマウス。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Heng Li, Hironori Okada, Sadafumi Suzuki, Kazuhisa Sakai, Hitomi Izumi, Yukiko Matsushima, Noritaka Ichinohe, Yu-ichi Goto, Takashi Okada, Ken Inoue1, Gene suppressing therapy for Pelizaeus-Merzbacher disease using artificial microRNA、JCI insight 2019;4(10):e125052、<https://doi.org/10.1172/jci.insight.125052>、査読有。

〔学会発表〕(計 2 件)

李 コウ、Globally Impaired ER-Golgi trafficking as a cellular pathogenesis of Pelizaeus-Merzbacher Disease、第 69 回日本細胞生物学会大会、2017 年

李 コウ、Development of AAV enabling oligodendrocyte-specific gene suppression: implication for the treatment of Pelizaeus-Merzbacher disease、第 41 回日本分子生物学会、2018 年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年 :  
国内外の別 :

取得状況 (計 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：井上 健

ローマ字氏名：Inoue Ken

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。