

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2006～2009

課題番号：18390316

研究課題名(和文) ヒト認知機能を障害させる遺伝子異常を持つモデル動物の作出とその病態解析

研究課題名(英文) Study of pathogenesis and pathophysiology of epilepsy using genetic model harboring epileptic mutation.

研究代表者 岡田 元宏(OKADA MOTOHIRO)

三重大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10281916

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系診療医学・精神神経科学

キーワード：てんかん・遺伝子・分子生物学・神経伝達

## 1. 研究計画の概要

- (1) 同定された中枢神経系機能性疾患の責任遺伝子を導入した遺伝子改変モデル動物の作出。
- (2) 作出された遺伝子改変モデル動物が、ヒト機能性疾患のモデル動物としての妥当性検証
- (3) モデル動物としての妥当性が検証された、ヒト中枢神経系機能性疾患の責任遺伝子導入遺伝子改変モデル動物を用いた、病態解析

## 2. 研究の進捗状況

- (1) 常染色体優性夜間前頭葉てんかんの責任遺伝子 S284L 変異型 Chrna4 遺伝子導入ラット (S284L-TG) に加え、同疾患の V287M 変異型 Chrnb2 遺伝子導入ラット (V287M-TG) および V287L 変異型 Chrnb2 遺伝子導入ラット (V287L-TG) の作出を完了した。
- (2) 作出された遺伝子改変モデル動物の中で、S284L-TG のみが、導入遺伝子の発現量がヒト疾患患者と同等であり、導入遺伝子の発現部位もヒト疾患患者と同等であり、構造的妥当性が検証されたが、V287M-TG と V287L-TG に関しては、導入遺伝子発現量が高く、構造的妥当性は得られなかった。S284L-TG は、ヒト疾患患者同様に、生殖能力獲得前後に前頭葉を焦点とする、睡眠誘発性の自発性てんかん発作を獲得しており、表現的妥当性も検証された。ヒト疾患患者に有効な抗てんかん薬ゾニサミドは S284L-TG の発作頻度を減少したが、無効な抗てんかん薬カルバマゼピンは S284L-TG の発作頻度には影響しなかった。

- (3) モデル動物としての妥当性が検証された、S284L-TG の発作焦点領域(前頭葉)の情報伝達系機能と発作症状の関連性を検討した。S284L-TG のニコチン受容体機能変異は4週齢で既に獲得されていたが、てんかん関連性のフェノタイプは認められなかった。6週齢で interictal discharge を獲得し、8週齢で ictal discharge を獲得した。また、6週齢では認められなかった、前頭葉の睡眠誘発性グルタミン酸遊離低下が S284L-TG では認められなかった。

以上の結果から、常染色体優性夜間前頭葉てんかんに、中枢性ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 4$ サブユニットの遺伝子変異に伴う、ニコチン性アセチルコリン受容体の機能変異が関与していることを明らかにするとともに、神経伝達機構の発達過程にこのタンパク機能変異が影響を及ぼし、健常システムの機能変異が加わることで、自発性てんかん発作を獲得することが示唆された。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

現段階で得られた結果から、常染色体優性夜間前頭葉てんかんに、中枢性ニコチン性アセチルコリン受容体 $\alpha 4$ サブユニットの遺伝子変異に伴う、ニコチン性アセチルコリン受容体の機能変異が関与していることを明らかにするとともに、神経伝達機構の発達過程にこのタンパク機能変異が影響を及ぼし、健常システムの機能変異が加わることで、自発性てんかん発作を獲得することが示唆された。

#### 4. 今後の研究の推進方策

S284L-TG を用いた、病態解析からは、変異タンパク機能が健常伝達系機能の発達課程に干渉することが明らかとなり、申請時に想定していた、責任遺伝子の機能補正による中枢神経系機能性疾患の根治的な治療法は不可能であると考えられる。現段階では、発症前段階での早期介入による、発症予防法開発に必要な前臨床段階の基礎的研究資料を得る必要があり、この実験系を確立するためにS284L-TG に新たな修飾遺伝子の導入を施した遺伝子改変モデル動物の作出を検討している。

#### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 26 件)

- ① Zhu G, Okada M, Yoshida S, Ueno S, Mori F, Takahara T, Saito R, Miura Y, Kishi A, Tomiyama M, Sato A, Kojima T, Fukuma G, Wakabayashi K, Hase K, Ohno H, Kijima H, Takano Y, Mitsudome A, Kaneko S, Hirose S. (2008) Rats harboring S284L Chrna4 mutation show attenuation of synaptic and extrasynaptic GABAergic transmission and exhibit the nocturnal frontal lobe epilepsy phenotype. *J Neurosci* 28:12465-12476. [査読有]
- ② Yoshida S, Okada M, Zhu G, Kaneko S. (2007) Carbamazepine prevents breakdown of neurotransmitter release induced by hyperactivation of ryanodine receptor. *Neuropharmacology* 52:1538-1546. [査読有]
- ③ Yamada J, Furukawa T, Ueno S, Yamamoto S, Fukuda A. (2007) Molecular basis for the GABAA receptor-mediated tonic inhibition in rat somatosensory cortex. *Cereb Cortex* 17:1782-1787. [査読有]
- ④ Yamamoto S, Yamada J, Ueno S, Kubota H, Furukawa T, Fukuda A. (2007) Insertion of alpha7 nicotinic receptors at neocortical layer V GABAergic synapses is induced by a benzodiazepine, midazolam. *Cereb Cortex* 17:653-660. [査読有]
- ⑤ Zhu G, Okada M, Yoshida S, Mori F, Ueno S, Wakabayashi K, Kaneko S. (2006) Effects of interleukin-1beta on hippocampal glutamate and GABA releases associated with Ca<sup>2+</sup>-induced Ca<sup>2+</sup> releasing systems. *Epilepsy Res* 71:107-116. [査読有]

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 1 件)

産業財産権の名称:

けいれん性疾患に関連する遺伝子変異とけいれん性疾患診断方法

発明者: 小島俊男・廣瀬伸一・岡田元宏・兼子直

権利者: 国立大学法人弘前大学・独立行政法人理化学研究所・学校法人福岡大学、

番号: 特開 2006-325500 (P2006-325500A)

取得年月日: (2006.12.7)

国内外の別: 国内