

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K07520

研究課題名(和文) 特発性正常圧水頭症モデルマウスの作成と新規疾患感受性遺伝子の同定

研究課題名(英文) iNPH model mice and identification of susceptibility genes for iNPH

研究代表者

小山 信吾 (Koyama, Shingo)

山形大学・大学院医学系研究科・非常勤講師

研究者番号：30436208

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：正常圧水頭症(idiopathic normal pressure hydrocephalus: iNPH)の病態は未だ不明であり、iNPHの疾患モデルマウスは確立されていない。我々は、SFMBT1遺伝子がiNPHの疾患感受性遺伝子であることを報告した。本研究では、中枢神経におけるSFMBT1遺伝子のはたらきを明らかにするため、遺伝子編集技術によりSFMBT1遺伝子ノックアウトマウスの作成を行なった。現在までに、SFMBT1遺伝子エクソン4における一塩基欠失と4塩基欠失の2種類のノックアウトマウスのラインを確立することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iNPHの病態は未だ不明であるが、遺伝的背景を加味したiNPH疾患モデルマウスは存在していない。本研究では、疾患感受性遺伝子であるSFMBT1遺伝子に着目して遺伝的リスク因子を加味したiNPH疾患モデルマウスの作成を目指した。中枢神経におけるSFMBT1遺伝子のはたらきを明らかにするため、遺伝子編集技術によりSFMBT1遺伝子ノックアウトマウスの作成を行なった。このマウスを用いてiNPHの病態解明や新たな疾患感受性遺伝子の同定が期待できるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Little is known about the pathophysiology of idiopathic normal pressure hydrocephalus (iNPH). There is no generally accepted murine model of this condition. We have reported that a copy number loss in the SFMBT1 gene is a genetic risk for iNPH. To examine the effect of SFMBT1 in the central nervous system, we generated Sfmbt1 knockout mice using CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats CRISPR-associated Proteins 9) system. We produced two different mouse lines heterozygous for the disrupted Sfmbt1 allele (one-base deletion in exon 4 and four-base deletion in exon 4, respectively).

研究分野：神経内科学

キーワード：正常圧水頭症 モデルマウス

1. 研究開始当初の背景

正常圧水頭症 (idiopathic normal pressure hydrocephalus: iNPH) は高齢に発症する認知症、排尿障害、歩行障害を中核症状とする疾患であり、患者生活に大きな支障をきたす。今後の高齢化社会を考慮すると罹患患者は増加することが予想される。山形大学第3内科では2000年から山形県高島町及び寒河江市において住民コホート研究を実施してきた。この取り組みから、iNPHの有病率は61歳以上住民で0.5%、86歳以上住民では6.7%、発症率は70歳以上住民で1.2/1,000人年と、全世界で散見されていた既報告に比べ有病率で15倍、発症率で100倍程度も多いことを示し、地域に潜在するiNPHの高齢者が存在する可能性を指摘した。さらに我々はSFMBT1 (Scm-like with four MBT domains protein 1) 遺伝子イントロン2の約12kbpにわたるコピー数減少が、健常高齢者や疾患対照群に比して、iNPH患者で有意に高い頻度で認められることを発見し、世界で初めてiNPHの疾患感受性遺伝子として報告した。我々が世界で初めてiNPHのリスク遺伝子を報告したことを受け、ヨーロッパにおいても同様の解析が行われ、iNPH患者で優位にSFMBT1遺伝子のコピー数が低下していることが報告され、我々の発見は人種を超えて再現された。SFMBT1遺伝子は、LSD1などととも複合体を形成しヒストンの脱メチル化などを介したエピジェネティックな機構により上皮間葉転換や精子形成などに関与することが知られているが、中枢神経系における役割は解明されていない。SFMBT1タンパクはヒト脳組織では、髄液循環に重要な役割を果たしていると考えられている脈絡叢上皮細胞、脳室上衣細胞、クモ膜下腔の血管内皮などに存在することが示されている。髄液循環障害に起因すると考えられるiNPHにおいて重要な分子であることが想定されたが、iNPHの病態におけるSFMBT1遺伝子のコピー数変化の意義、SFMBT1遺伝子の果たす役割は現時点では不明であった。iNPHの病態は未だ不明であるが、遺伝的背景を加味したiNPH疾患モデルマウスは存在していないのが現状である。

また、我々は、iNPHの疾患感受性遺伝子としてSFMBT1遺伝子を同定したが、SFMBT1遺伝子のコピー数低下はiNPH全体の約1/4で認められているに過ぎない。つまり約3/4のiNPH患者では遺伝的リスク因子は明らかになっていないのが現状である。したがって、SFMBT1遺伝子以外の疾患感受性遺伝子が存在することが考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、以下の2点を研究目的とした。

SFMBT1遺伝子に着目して世界初の遺伝的リスク因子を加味したiNPH疾患モデルマウスの作成を目指すこと。

SFMBT1遺伝子改変マウスを用いて、新たなiNPH疾患感受性遺伝子の探索を行うこと。

3. 研究の方法

研究目的 疾患モデルマウスの作成について

iNPHの病態は未だ不明であるが、遺伝的背景を加味したiNPH疾患モデルマウスは存在していないのが現状であり、疾患感受性遺伝子として同定したSFMBT1遺伝子に着目しモデルマウス作成を目指した。中枢神経におけるSFMBT1遺伝子のはたらきを明らかにするため、CRISPR-Cas9システム (clustered regularly Interspaced short palindromic repeats CRISPR-associated Proteins 9) を用いた遺伝子編集技術によりSFMBT1遺伝子ノックアウトマウスの作成を行なった。iNPHモデルマウスとして妥当かどうかの表現型の評価として、ロータロッドなどによる運動機能評価、新規物体認識試験などによる認知機能評価、MRIなどの画像検査による脳室サイズを観察してiNPHの表現型を模倣できるかどうかを検討する。

研究目的 新たなiNPH疾患感受性遺伝子の探索について

SFMBT1遺伝子改変マウスおよび野生型マウスの脈絡叢を採取し、次世代シーケンサーを用いた全トランスクリプトーム解析を行う。SFMBT1遺伝子改変によって生じる遺伝子発現の変化を網羅的・包括的にスクリーニングすることでiNPHの病態に重要な役割を果たす候補遺伝子群を明らかにする。網羅的な遺伝子発現解析によって得られた結果から候補遺伝子群を絞り、これらの遺伝子におけるrare variantの存在、コピー数変化を次世代シーケンサーやdigital PCRなどの手法を用いてiNPH患者とコントロール間で比較検討し、新たな疾患感受性遺伝子の同定を試みる。

4. 研究成果

SFMBT1 遺伝子エクソン 4 における一塩基欠失と 4 塩基欠失の 2 種類のノックアウトマウスのラインを確立することができた。今後は、SFMBT1 遺伝子のホモ欠失マウスを確立して、SFMBT1 遺伝子の機能低下が中枢神経にどのような変化をもたらすかを検証していく。ロータロッドによる運動機能評価、新規物体認識試験などによる認知機能評価、MRI を用いた経時的な脳室サイズの観察を行い、SFMBT1 遺伝子改変マウスが iNPH の表現型を模倣できるかどうかを検討していく。SFMBT1 遺伝子改変マウスおよび野生型マウスの脈絡叢サンプルとして次世代シーケンサーを用いた全トランスクリプトーム解析を行う。マウスから得られた知見をもとに候補遺伝子を絞り込み、iNPH 患者での検証を進めることで第二の疾患感受性遺伝子の同定を試みていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐藤 秀則 (Sato Hidenori) (60326030)	山形大学・医学部・助教 (11501)	
研究分担者	中島 修 (Nakajima Osamu) (80312841)	山形大学・医学部・教授 (11501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関