

令和 4 年 5 月 11 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K17308

研究課題名(和文) 蛋白輸送障害に着目したSchaaf-Yang症候群の分子機構の解明と治療法開発

研究課題名(英文) The development of the molecular mechanism and treatment methods of Schaaf-Yang syndrome focusing on protein transport disorders

研究代表者

堀 いくみ (HORI, IKUMI)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・研究員

研究者番号：00745929

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：蛋白輸送に着目しSchaaf-Yang症候群(SYS)の臨床像を確立し、発症メカニズムを解明することが本研究の目的である。患者集積に関しては、日本におけるSYSの全国疫学調査を実施し、患者レジストリーの作成を行った。SYSのモデルマウスとして、トランスジェニックマウス(Tgマウス)及び、ノックアウト(KO)マウスを作成した。Tgマウスは胎生致死であったが、KOマウスの表現型は軽微にとどまった。変異の種類によりMAGEL2に対する影響が大きく異なるとの仮説をたて、in vitroにおいてMAGEL2の種々の変異を導入した細胞株ライブラリーの作成を行い、機能解析の基盤を作成中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Schaaf-Yang症候群(SHFYNG)はMAGEL2の短縮変異が原因である。重度の知的障害を示し関節拘縮や脳症の合併を認める。しかし、MAGEL2の短縮型変異がSHFYNGを発症させる分子経路メカニズムはいまだに解明されておらず、本研究は分子機構の解明に一步近づいたと考えられる。蛋白輸送経路障害を中心としたSHFYNGの発症機序を解明することで、自閉症、パーキンソン病やアルツハイマー病などの神経変性疾患の分子機構の解明につながり、治療法開発の基盤となる。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to establish the clinical feature of Schaaf-Yang syndrome (SYS) by focusing on protein transport and to elucidate the molecular mechanism. Regarding patient accumulation, we conducted a national survey of SYS in Japan and created a patient registry.

Transgenic mice (Tg mice) and knockout (KO) mice has been created. Tg mice were embryonic lethal, but the phenotype of KO mice remained minimal. Based on the hypothesis that the effect on MAGEL2 differs depending on the type of mutation, we are creating a cell line library in vitro in which various mutations of MAGEL2 are introduced.

研究分野：小児神経

キーワード：Schaaf-Yang症候群

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Schaaf-Yang 症候群 (SHFYNG) は筋緊張低下、哺乳障害、過食、発達遅滞、性腺機能低下などの Prader-Willi 症候群 (PWS) 様症状や自閉症をきたす疾患である。SHFYNG は刷り込み遺伝子 MAGEL2 の父由来アレルの短縮型変異が原因である。MAGEL2 は PWS 責任領域 15q11-q13 に位置する父性発現遺伝子である。MAGEL2 の機能喪失が SHFYNG の発症機序とされている。一方、父由来アレルの MAGEL2 遺伝子欠失は軽症の知的障害に留まり、PWS 症状への関与に否定的な意見もある。SHFYNG の発症機序の解明が急がれる。我々は PWS 様症状を示すが、遺伝学的に PWS が否定された 105 名を解析し、同胞例 1 組を含む 6 名に MAGEL2 の短縮型変異を同定した。変異同定例は、新生児期筋緊張低下、哺乳障害、肥満など、PWS と共通する症状を有していた。しかし、有意語を認めない、関節拘縮、原因不明の脳症罹患歴など PWS とは異なる特徴を認めた。このように、SHFYNG は PWS より重度の表現型を示すことを我々は見出した。MAGEL2 遺伝子全体を含む父性欠失の症例とも表現型が異なる。

同定された遺伝子変異はすべて短縮型変異であった。MAGEL2 はイントロンレス遺伝子のため、ナンセンス変異依存性 mRNA 分解が起こらず、変異蛋白が産生される。そこで、この変異蛋白が神経細胞機能を障害すると考えた。私たちはすでに変異 Magel2 を強制発現するトランスジェニックマウスを世界に先駆けて作成していた。トランスジェニックマウスは、胎生もしくは新生児致死となる。このように我々は MAGEL2 変異蛋白が神経毒性を示すことで PWS より重度の神経症状を引き起こすことを明らかにしたい。

2. 研究の目的

MAGEL2 は TRIM27 E3 RING ユビキチンリガーゼと結合して、その活性を高める。また、MAGEL2-USP7-TRIM27 (MUST) 複合体はレトロマ 複合体と結合して逆行性輸送に関与していることが知られている。逆行性輸送はエンドソームからトランスゴルジ網へ積荷蛋白の輸送を行う。逆行性輸送は細胞の恒常性維持に重要であり、パーキンソン病やアルツハイマー病にも関与している。MAGEL2 は脳での発現が多く、脳組織特異的に逆行性輸送を調節していると考えられている。

以上のことから、MAGEL2 変異に伴う逆行性輸送経路の障害が SHFYNG の発症に関与していると推察した。本研究の目的は SHFYNG における逆行性輸送を介した病因発症機序の解明である。さらには SHFYNG の治療法、同様の分子機構を有する自閉症などの治療法開発につなげたい。

3. 研究の方法

SHFYNG の報告はいまだ少ない。全国から患者を集積し、変異と症状の関連を調べることは重要である。全国学会で研究成果を報告し、患者の集積を続ける。

私たちは既に MAGEL2 変異解析方法 (サンガーシークエンスおよび変異の親由来の決定) を確立している

患者集積に関しては、日本における SYS の全国疫学調査を実施する。

CRISPR/Cas9 システムを用いた Magel2 ノックインマウスが作成済みであった。変異が父由来の罹患マウスを対象とする。

SYS のモデルマウスとして、Magel2 遺伝子の 5' 側の約半分を過剰発現するトランスジェニックマウス (Tg マウス) 及び、1690 番 ~ 1924 番の 235 塩基欠失のフレームシフト変異を有するノックアウト (KO) マウスを作成する。

4. 研究成果

患者集積に関しては、日本における SYS の全国疫学調査を実施した。一次調査にて 27 例の遺伝学的に確定した日本人 SYS 患者し、二次調査ではそのうち 25 例の詳細な臨床情報を集積できた。これらの患者の臨床情報と遺伝学的情報を集積した患者レジストリーの作成を行い、日本人 SYS 研究の拠点としての役割を確立した。

Magel2 はイントロンレスの遺伝子であり、nonsense mediated mRNA decay (NMD) が起こらず、短縮型の蛋白が発現する。Tg マウスは強い表現型を示し、多くが胎仔期に発生が停止した。一部が出生したものの、新生仔早期に死亡した。出生した仔は強い低体重を示した。これらの結果から、短縮型 Magel2 の過剰発現は強い毒性を示す可能性が示された。一方、KO マウスはヒト患者と比較して軽症の表現型を示した。KO マウスにおいては、ゲノムインプリンティングは正常に保たれ、また、変異 mRNA の分布も保たれていた。KO マウスの表現型としては、出生時には対照と比較して体重が軽かったが、成長に伴い、キャッチアップを示した。

そこで、変異の種類により MAGEL2 に対する影響が大きく異なるとの仮説をたて、in vitro において MAGEL2 の種々の変異を導入した細胞株ライブラリーの作成を行い、機能解析の基盤を作成している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kondo Yuto, Aoyama Kohei, Suzuki Hisato, Hattori Ayako, Hori Ikumi, Ito Koichi, Yoshida Aya, Koroki Mari, Ueda Kentaro, Kosaki Kenjiro, Saitoh Shinji	4. 巻 7
2. 論文標題 De novo 2q36.3q37.1 deletion encompassing TRIP12 and NPPC yields distinct phenotypes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Human Genome Variation	6. 最初と最後の頁 19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41439-020-0107-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Hiroyuki, Tamasaki Akiko, Oguri Masayoshi, Hori Ikumi, Saitoh Shinji, Maegaki Yoshihiro	4. 巻 22
2. 論文標題 Frequent epileptic apnoea in a patient with Pitt-Hopkins syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Epileptic Disorders	6. 最初と最後の頁 673 ~ 677
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1684/epd.2020.1212	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hori Ikumi, Ieda Daisuke, Ito Shogo, Ebe Seimi, Nakamura Yuji, Ohashi Kei, Aoyama Kohei, Hattori Ayako, Kokubo Minoru, Saitoh Shinji	4. 巻 43
2. 論文標題 Peripheral nerves are involved in hypomyelinating leukodystrophy-3 caused by a homozygous AIMP1 variant	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 590 ~ 595
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.braindev.2020.12.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yuji Nakamura, Kana Hosoki, Daisuke Ieda, Ikumi Hori, Yutaka Negishi, Ayako Hattori, Shinji Saitoh
2. 発表標題 Mild Phenotypic features associated with non-truncating UBE3A mutations in Angelman syndrome.
3. 学会等名 第62回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 堀いくみ, 宮冬樹, 中島光子, 中村勇治, 家田大輔, 大橋圭, 根岸豊, 服部文子, 安藤直樹, 角田達彦, 才津浩智, 金村米博, 小崎健次郎, 齋藤伸治
2. 発表標題 当院でエキソーム解析を実施した小児神経疾患症例の臨床的検討.
3. 学会等名 第62回日本小児神経学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Daisuke Ieda
2. 発表標題 Generation of a mouse model carrying a truncating mutation in Magel2
3. 学会等名 第61回日本小児神経学会、日本-台湾 新生児・小児神経ワークショップ
4. 発表年 2019年

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------