

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03585

研究課題名（和文）Bassoon proteinopathyの病態解析研究

研究課題名（英文）Pathophysiological study of Bassoon proteinopathy

研究代表者

矢部 一郎 (Yabe, Ichiro)

北海道大学・医学研究院・教授

研究者番号：60372273

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000円

研究成果の概要（和文）：われわれは先行研究として、BSN遺伝子変異による病理像が3リピートと4リピートのタウ蛋白質が蓄積するタウオパチーであり、海馬硬化を伴い既存の報告にない病態であることも示した。本研究ではさらに先行研究を発展させて、下記三点の成果を得た。一点目として、われわれが初めて発見し、その病原性を確認したBSN変異を導入したノックインモデルマウスの作製と行動解析が終了した。二点目としてヒトBSN遺伝子をクローニングし、遺伝子変異体が作製完了した。三点目としてBSN変異例剖検例を集積し、神経病理学的同源性をもとめ、現在論文作製中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究においては、BSN変異のノックインマウスを作成が可能となった。同マウスの行動解析を行い、有意差が認められており、BSN変異による神経変性疾患のメカニズム解明が期待できる。近年、神経疾患領域においては抗体医薬、核酸医薬、遺伝子治療など複数の新しい治療法の開発がすすんでいる。今回の研究成果の学術的意義と社会的意義は、本モデル動物の解析を通してbassoon proteinopathy病態解明等の研究を行うことで、認知症やパーキンソン症候群の一因であるタウオパチーの治療方法開発につながる可能性があるということである。

研究成果の概要（英文）：In our previous study, we showed that the pathology caused by BSN mutation is a tauopathy with accumulation of 3- and 4-repeat tau protein, which is accompanied by hippocampal sclerosis, and which has not been reported before. In this study, we further developed our previous studies and obtained the following three results. First, we completed the generation and behavioral analysis of a knock-in mouse model in which the BSN mutation, which we first discovered and confirmed to be pathogenic, was introduced. Second, we cloned the human BSN gene and completed the production of the gene mutant. Third, we have collected autopsy cases with BSN mutations and found neuropathological homology, and are currently preparing a research paper.

研究分野：神経内科学

キーワード：パーキンソン症候群 タウオパチー Bassoon

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

これまでの研究で、申請者は家族歴を有する進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy; PSP) の家系を対象に連鎖解析とエクソーム解析を行い、Bassoon (*BSN*) 遺伝子の変異によりタウオパチーが発症する可能性があることを発見した (Yabe I, et al. Sci Rep 2018; 8: 819)。同時に、*BSN* 遺伝子変異による病理像は3リピートと4リピートのタウ蛋白質が蓄積するタウオパチーであり、臨床像とあわせてこれまでの既存の報告にない病態であることも示し、加えて臨床的に孤発 PSP と診断された症例のうちおよそ 10% に *BSN* 遺伝子変異を有することも報告した。それらの結果を踏まえ分子生物学的手法を用いて、*BSN* 遺伝子変異がタウ蛋白質を不溶性分画に移行させる病原性があることも示した。また最近、我々の論文を引用し、Bassoon proteinopathy という疾患概念も提唱されている (Schattling B, et al. Nat Neurosci 2019; 22: 887)。この先行研究に基づき、我々は *BSN* 蛋白質が PSP などのタウオパチーにおいて重要な発症素因分子である可能性をさらに追及し、遺伝学的な側面から新たな疾患概念の確立を図っている。

2. 研究の目的

一番の目的は、モデル動物において *BSN* 遺伝子変異がタウオパチーを惹起するかどうかを明らかにすることにある。さらに、複数の患者から同定された *BSN* 遺伝子変異が分子生物学的にタウ蛋白質の不溶化を惹起するかどうかを明らかにする。そのために、これまでの症例から *BSN* 遺伝子変異を持つ症例を抽出し、詳細に検討を行う。

本研究では上記を目的とした。

3. 研究の方法

モデル動物において *BSN* 遺伝子変異がタウオパチーを惹起するかどうかを明らかにする。申請者は病原性を確認するためには、*in vitro* のみならず *in vivo* での評価が必要と考えている。そのため、申請者はモデルマウス (ノックインマウス) を作製し、病原性を多方面から解析し示すことを第一の目標とした。具体的には、マウス受精卵に CRISPR/Cas9 をもちいたゲノム編集技術により、疾患関連変異を導入したマウスを作出する。マウス受精卵に gRNA、Cas9 蛋白質、疾患関連変異を有する一本鎖ドナーオリゴヌクレオチド (ssODN) をエレクトロポレーション法により導入し、短時間マウスゲノムに特定のゲノム改変を行う予定である。得られたヘテロマウスを交配することで、疾患関連変異のみを有する疾患モデルマウスを作製し、その表現型を解析する。

これまでの症例から *BSN* 遺伝子変異を持つ症例を抽出した。ヒト *BSN* cDNA をクローニングし、変異を挿入として不死化細胞に発現させ評価を行う。また *BSN* 遺伝子変異の詳細な病理学的解析を行う。

4. 研究成果

われわれは先行研究として、*BSN* 遺伝子変異による病理像が3リピートと4リピートのタウ蛋白質が蓄積するタウオパチーであり、海馬硬化を伴い既存の報告にない病態であることも示した。本研究ではさらに先行研究を発展させて、下記三点の成果を得た。一点目として、われわれが初めて発見し、その病原性を確認した *BSN* 変異を導入したノックインモデルマウスの作製と行動

解析が終了した。現在論文投稿準備中である。二点目としてヒト BSN 遺伝子をクローニングし、遺伝子変異体が作製完了した。三点目として BSN 変異例剖検例を集積した。同定例以外に 2 例の剖検が得られた。神経病理学的相同性に関して、現在論文準備中である。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 脇田雅大、長井梓、矢口裕章、矢部一郎	4. 巻 95
2. 論文標題 Bassoon proteinopathy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 脳神経内科	6. 最初と最後の頁 482-488
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 M. Wakita, A. Nagai, H. Yaguchi, I. Yabe.
2. 発表標題 Mutation analysis of BSN gene in patients with multiple system atrophy
3. 学会等名 MDS Virtual Congress 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yabe I
2. 発表標題 Genetic aspects of typical and atypical tauopathy
3. 学会等名 61st Annual Meeting of Japanese Neurological Association（招待講演）
4. 発表年 2020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
研究分担者	原 太一 (Hara Taichi) (00392374)	早稲田大学・人間科学学術院・教授 (32689)	

6. 研究組織（つづき）

	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	矢口 裕章 (Yaguchi Hiroaki) (00421975)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	池内 健 (Ikeuchi Takeshi) (20372469)	新潟大学・脳研究所・教授 (13101)	
研究分担者	高橋 秀尚 (Takahashi Hidehisa) (30423544)	横浜市立大学・医学研究科・教授 (22701)	
研究分担者	大塚 稔久 (Ohtsuka Toshihisa) (40401806)	山梨大学・大学院総合研究部・教授 (13501)	
研究分担者	若林 孝一 (Wakabayashi Koichi) (50240768)	弘前大学・医学研究科・教授 (11101)	
研究分担者	畠山 鎮次 (Hatakeyama Shigetsugu) (70294973)	北海道大学・医学研究院・教授 (10101)	

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