

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590927

研究課題名（和文） SLC19A3変異マウスを用いたウエルニッケ様脳症の病態解析

研究課題名（英文） Pathological mechanism in Wernicke's-like encephalopathy using SLC19A3 transgenic mouse

研究代表者 河野 智 (KONO SATOSHI)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40397386

研究成果の概要（和文）：本研究は、2009年に世界に先駆けて論文報告したウエルニッケ様脳症の病態解明を目的とした。この疾患は、ウエルニッケ脳症と極めて類似する臨床特徴をもち、チアミントランスポーター2をコードするSLC19A3遺伝子変異による遺伝性のビタミンB1代謝異常による神経疾患である。本疾患の病態解明を行うため、SLC19A3遺伝子変異をもつトランスジェニックマウスを作製し、陽電子放射断層撮影（PET）による脳機能画像解析や行動科学による評価、培養神経細胞を用いチアミン代謝関連蛋白とチアミントランスポーターとの相互作用の生化学的解析を行った。遺伝子改変したホモ接合体マウスは胎生期に死亡した。対象マウスをヘテロ接合体マウスに変更し脳機能解析を行ったが、PET解析では野生型マウスと同様のグルコース代謝率を示した。マウスの脳機能画像解析および培養細胞の実験を進める過程で、本疾患と同様な遺伝性代謝性神経疾患をモデルとして解析を行いその成果を論文報告した。今後、ヘテロ接合体マウスを用いて、ビタミンB1欠乏下での脳機能画像検査検討、ホモマウスの脳組織標本を用いて病理学および生化学的解析を継続する予定である。

研究成果の概要（英文）：An aim of this study is clarify molecular pathological mechanism of Wernicke's-like encephalopathy which we first identified in 2009. Wernicke-like encephalopathy is autosomal recessive inherited neurological disease due to *SLC19A3* gene mutation encoding thiamine transporter 2. Clinical characters of this disease are similar to Wernicke encephalopathy caused by thiamin deficiency. *SLC19A3* transgenic mice was generated to investigate brain glucose metabolism using positron emission tomography(PET) and biochemical thiamine metabolism in primary neuronal cell culture system. Homozygous transgenic mice with a mutation in *SLC19A3* gene were dead at a late embryonic stage. There was no difference in brain glucose metabolism between the heterozygous mice and wild mice. In the process of investigation, we report some novel findings in the functional brain analysis and molecular cellular model in hereditary neurological disease including amyotrophic lateral sclerosis, Parkinson's disease and et al. Functional brain imaging in heterozygous mice under thiamin deficiency and biochemical analysis of brain tissues in homozygous mice are in progress.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

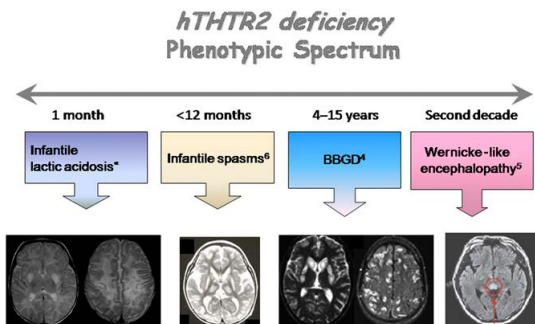
研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科学

キーワード：ビタミン B1 ウエルニッケ様脳症 SLC19A3 遺伝子 チアミントランスポーター

1. 研究開始当初の背景

Wernicke (ウエルニッケ) 脳症は、水溶性ビタミンであるチアミン (ビタミン B1) の欠乏によって生じる急性脳症である。その症状は、急性発症の意識障害、外眼筋麻痺、失調性歩行を古典的 3 徴とし、その回復後には後遺症として、前向性健忘と逆行性健忘、見当識障害、作話、病識欠如を特徴とする Korsakoff 症候群がしばしば生じる。Wernicke 脳症の臨床診断には、チアミン欠乏を疑う病歴、例えばアルコール摂取歴・消化管手術歴・ビタミン剤を含まない長期輸液歴から疑い、古典的 3 徴およびチアミン投与による症状の速やかな改善がみられることが重要である。検査所見では、血清チアミン値の低下の他に、頭部 MRI, T2 強調画像や FLAIR 画像での第三脳室周囲の視床、中脳水道に高信号病変の検査所見が有用である。最近、我々はこのような Wernicke 脳症の臨床特徴と類似した遺伝性チアミン代謝異常症を見だし「Wernicke 様脳症」(Wernicke's like encephalopathy: MIM 606152) として名付け 2009 年に論文報告した。ここでは Wernicke 様脳症の原因はチアミントランスポーター 2 (hTHTR2) をコードする SLC19A3 遺伝子異常が原因であることを同定した。本症発表以降、SLC19A3 遺伝子異常が原因である疾患は、本症以外に乳児の Leigh 脳症類似の乳酸アシドーシス・スパズム、幼児期発症のピオチン反応性基底核疾患・成人発症の Wernicke 様脳症が、臨床上の表現型のスペクトラムとして報告されている。



PEDIATRICALS Volume 131, Number 5, May 2013
より引用

チアミンは細胞内にて transketolase,

pyruvate dehydrogenase complex, alpha-ketoglutarate dehydrogenase の補酵素として働いている。チアミン欠乏が神経細胞内に及ぼす影響としてはエネルギー代謝障害・乳酸増加によるアシドーシス・NMDA 受容体を介する神経毒性・血液脳関門の破綻などが提唱されているが、Wernicke 脳症の本態は不明のままである。Wernicke 脳症の発症の背景には、アルコール多飲者では食事の質の低下・アルコール分解によるチアミン消費の亢進、消化管からのチアミン吸収低下の発症要因として報告されている。更に、胃全摘や腸管吻合術後に発症したとの報告、中心静脈栄養や長期点滴管理中の発症、悪阻での経口摂取困難な妊婦での発症、ダイエットによる発症も報告されている。しかしながら同じ状況下のすべての患者に Wernicke 脳症が発症するのではなく、発症しやすさを規定する要因が存在することが予想される。現在までこのような個人差を説明する Wernicke 脳症の遺伝子の関与については確立されたものはない。Wernicke 脳症と類似した臨床特徴をもつ Wernicke 様脳症の存在は、SLC19A3 遺伝子変異が Wernicke 脳症の発症リスクに関与している可能性を予測させるものかもしれない。

2. 研究の目的

SLC19A3 遺伝子変異による疾患は、前述もごとく表現型が著しく異なる 3 つのタイプの神経疾患が現在までに報告されている。この表現型の差異が生じるメカニズムは不明である。しかし、同じ変異をもつ同一家系内での症例では表現型は同一であることから、遺伝子変異そのものによるチアミントランスポーター 2 の機能障害の差異が表現型の差異に起因することが予想される SLC19A3 遺伝子異常がなぜ乳児から成人までの発症年齢で異なる臨床表現型をきたすのかを動物モデルを介して検討し、Wernicke 様脳症の分子メカニズムについて検討することを目標とした。

3. 研究の方法

SLC19A3 遺伝子変異をもつトランスジェニックマウスを作製し、陽電子放射断層撮影 (PET) による脳機能画像解析や行動科学による評価、初代培養神経細胞を用いた細胞レベルでのチアミン代謝関連蛋白とチアミント

ラスポーターとの相互作用を検討した。

Wernicke 様脳症の原因遺伝子は K44E, E320Q の複合ヘテロ変異が原因である。また、ピオチン反応性基底核疾患は T442A, G23V のホモ変異、乳児期のスパズムで発症するタイプは、E320Q ホモ変異である。そのため、E320Q、および K44E のトランスジェニックマウスをおのおの作成し、掛け合わせにより複合ヘテロマウスを作成し、本症のモデルマウスをして、上記の脳機能画像・生化学的解析をおこなった。

4. 研究成果

遺伝子改変ホモ接合体・複合ヘテロ接合体マウスは生後早期または胎生期に死亡することが判明した。これは、SLC19A3 遺伝子異常による乳児期の臨床型である Leigh 脳症類似の乳酸アシドーシス・スパズムが、乳児期での死亡を反映した結果であると考えられた。そこでヘテロ接合体マウスを対象に放射性同位元素でラベルしたグルコース (FDG) を投与して PET による脳機能解析を試行した。ヘテロ接合体マウスでの FDG-PET は野生型マウスと同様のグルコース代謝を示し、表現型の異常も確認されなかった。

また、マウスの脳機能画像解析の条件検討を行うために、ヒトを対象とした本症同様の遺伝性代謝性神経疾患をモデルとして解析に必要な条件設定を行った。本疾患同様な遺伝性神経疾患である筋萎縮性側索硬化症・ライソソーム酵素遺伝子異常をもつパーキンソン病事例・レストレスレッグ症候群・遺伝性痙性対麻痺・良性遺伝性舞蹈病を対象に PET による脳機能解析を施行した。それぞれの疾患において、いままでに知られていないドーパミン機能異常・グルコース代謝異常が明らかとなり、その結果を論文報告した。

また、遺伝子改変マウスの初代培養神経細胞を用い変異 SLC19A3 蛋白と他のチアミン関連蛋白との相互作用の解析条件を検討した。解析の細胞モデルとして本疾患同様の遺伝性代謝異常性神経疾患である無セルロプラスミン血症の対象とした。培養細胞モデルを作製し、セルロプラスミン関連鉄代謝蛋白であるフェロポルチンやヘプシジンと変異セルロプラスミン蛋白との相互作用につき検討しその結果を論文報告した。

ホモ接合体・複合ヘテロ接合体の遺伝子改変マウスは胎生期に死亡するため、Wernicke 様脳症の同様な表現型をきたす動物モデルの作成にはいたらなかった。また、ヘテロ接合体のチアミン欠乏条件下での表現型の解析や PET での生体イメージングの解析は野生型と同様であった。今後、死亡したホモ接合体マウスを対象として、脳組織を病理学のお

よび生化学的に解析し、SLC19A3 遺伝子異常による乳児型の表現型である Leigh 脳症類似脳症の病態と比較検討する予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

1. ビ宮嶋裕明 ビタミン学と神経疾患 神経治療学 2012; 86:155-159 査読あり
<http://jglobal.jst.go.jp/public/20090422/201102260771318942>
2. 宮嶋裕明 河野智 家族性 Wernicke 類似脳症 臨床神経 2010;50:855-857 査読あり
http://www.neurology-jp.org/Journal/public_pdf/050110855.pdf
3. 河野智, 白川健太郎, 宮嶋裕明 Vitamin B1 と神経疾患 Wernicke 様脳症 (thiamine transporter gene mutation) 神経内科 巻: 76 号: 248-254 2012 査読なし
<http://www.kahyo.com/item/S201203-763>
4. 宮嶋裕明 家族性ウエルニッケ類似脳症におけるチアミントランスポーターの遺伝子変異 医学のあゆみ 第 237 巻 12 号 (2011 年 6 月 18 日号) 1132-1133 査読なし
<http://www.de-hon.ne.jp/digital/bin/product.asp?sku=3030000000135800900P>
5. Konishi T, Kono S, Fujimoto M, Terada T, Matsushita K, Ouchi Y, Miyajima H. Benign hereditary chorea: dopaminergic brain imaging in patients with a novel intronic NKX2.1 gene mutation. J Neurol. 2013 Jan;260(1):207-13. doi: 10.1007/s00415-012-6618-z. 査読あり
6. Oboshi Y, Ouchi Y, Yagi S, Kono S, Nakai N, Yoshikawa E, Futatsubashi M, Terada T, Kim K, Harada K. In vivo mesolimbic D2/3 receptor binding predicts posttherapeutic clinical responses in restless legs syndrome: a positron emission tomography study. J Cereb Blood Flow Metab. 2012

- Apr;32(4):654-62. doi:
10.1038/jcbfm.2011.201. 査読あり
7. Kono S, Ouchi Y, Terada T, Suzuki M, Yagi S, Miyajima H. Combined FDG and raclopride PET study in a case of ALS with the R521C FUS gene mutation. J Neurol. 2012 Feb;259(2):367-9. doi:
10.1007/s00415-011-6168-9. 査読あり
8. Terada T, Kono S, Ouchi Y, Yoshida K, Hamaya Y, Kanaoka S, Miyajima H. SPG3A-linked hereditary spastic paraplegia associated with cerebral glucose hypometabolism. Ann Nucl Med. 2013 Apr;27(3):303-8. doi:
10.1007/s12149-012-0673-5. 査読あり
9. Kono S, Ouchi Y, Terada T, Ida H, Suzuki M, Miyajima H. Functional brain imaging in glucocerebrosidase mutation carriers with and without parkinsonism. Mov Disord. 2010 Sep 15;25(12):1823-9. doi:
10.1002/mds.23213. 査読あり
10. Kono S, Yoshida K, Tomosugi N, Terada T, Hamaya Y, Kanaoka S, Miyajima H. Biological effects of mutant ceruloplasmin on hepcidin-mediated internalization of ferroportin. Biochim Biophys Acta. 2010 Nov;1802(11):968-75. doi:
10.1016/j.bbdis.2010.07.011. 査読あり
11. 宮嶋裕明 チアミントランスポーター変異と Wernicke encephalopathy(Wernicke encephalopathy に関する最近の話題」-ビタミン B1 による認知症の予防・治療-, シンポジウム(平成 23 年度), ビタミン B
- 研究委員会) ビタミン 86, 337-338, 2012 査読なし
- [学会発表] (計 3 件)
宮嶋裕明 ビタミン学と神経疾患 第 29 回日本神経治療学会総会 教育講演 2011 年 11 月 17 日
宮嶋裕明 単一遺伝子異常による遺伝性神経疾患: 家族性ウエルニッケ様脳症 第 51 回 日本神経学会総会 2010 年 5 月 20 日 東京国際フォーラム
- 河野智 Combined FDG and raclopride PET study in a case of ALS with the R521C FUS gene mutation. 世界神経学会 2011 年 11 月 17 日 モロッコ・マケラシュ
- [図書] (計 0 件)
- [産業財産権]
○出願状況 (計 0 件)
○取得状況 (計 0 件)
- [その他]
ホームページ等
なし
6. 研究組織
(1) 研究代表者
河野 智 (KONO SATOSHI)
浜松医科大学・医学部附属病院・講師
研究者番号: 40397386
- (2) 研究分担者
宮嶋 裕明 (MIJAJIMA HIROAKI)
浜松医科大学・医学部・教授
研究者番号: 90221613
- (3) 連携研究者
鈴木 万幾子 (SUZUKI MAKIKO)
浜松医科大学・医学部附属病院・医員
研究者番号: 60549278