

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：22701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461315

研究課題名(和文)ポリグルタミン病におけるカルシウムシグナリングの解明

研究課題名(英文)Calcium-signaling abnormality of polyglutamine diseases

研究代表者

児矢野 繁 (KOYANO, Shigeru)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：50315818

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究の目的はポリグルタミン病とカルシウムシグナリング異常の関連性を明らかにすることである。

ポリグルタミン病は原因たんぱく質がカルシウムシグナリングの異常を引き起こし、細胞死へと向かわせる働きがあることが知られている。ポリグルタミン病とカルシウムチャネルの関連性を明らかにするために、CACNA1Aカルシウムチャネルが病態形成に関わることを明らかにし、病因蛋白と結合するカルシウムチャネルサブタイプを同定した。ポリグルタミン病の脳各部位におけるカルシウムチャネルのサブタイプやカルシウム結合蛋白質の発現分布から神経変性に対する抵抗性や脆弱性を示し、各種ポリグルタミン病の選択的病変の有無を確認した。

研究成果の概要(英文)：We examined association of polyglutamine disease and the calcium-signaling abnormality. Polyglutamine diseases are chronic, progressive neurodegenerative diseases caused by expansion of a glutamine tract in widely expressed genes and a heterogeneous group of dominantly inherited neurodegenerative disorders affecting the cerebellum and its associated pathways. These cause proteins are associated with cell death by calcium-signaling abnormality. We determined the possibility that a CACNA1A calcium channel in the polyglutamine disease was associated with abnormal cause protein formation of polyglutamine disease and identified a calcium channel subtype binding to cause protein. We confirmed the distribution of the calcium channel subtype expressions showed possibility reflecting a lesion of each polyglutamine disease and showed resistibility and vulnerability for the neurodegeneration.

研究分野：神経内科

キーワード：ポリグルタミン病 カルシウムシグナリング

1. 研究開始当初の背景

神経細胞内では、カルシウムイオンの動きに伴い、細胞内の様々な部位に信号が伝わり細胞の機能を正常に維持している。このようにカルシウムシグナリングは極めて重要な生命現象であるが、一方で異常な量のカルシウムが動くことで細胞死が誘導されることが知られている。すなわち、細胞質におけるカルシウム濃度は、百種類以上の蛋白質分子の活性制御機構や分解に関与しており、その時間的・空間的制御は細胞機能に必須である。細胞が活性化されることによりイオンチャネルを介した細胞外からのカルシウムの流入が引き起こされるが、その経路は複数存在する。すなわち、カルシウム動態を制御するチャネルは数多く存在し、開閉が膜電位に依存する電位依存性カルシウムチャネルや受容体作動性カルシウムチャネルをはじめ、小胞体などのカルシウム細胞内貯蔵器官からカルシウムを放出するイノシトール3リン酸受容体やリアノジン受容体などがカルシウムシグナリング経路を形成している。

一方、アルツハイマー病、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、ハンチントン病、脊髄小脳変性症などの神経変性疾患において、このカルシウムシグナリングの異常が変性や細胞死に関わっていることが、様々な実験で示唆されている (Bezprozvanny Trends Mol Med 2009)。これらの疾患群の中でハンチントン病や脊髄小脳変性症の一部に代表されるポリグルタミン病では各種カルシウムチャネルとの関連からカルシウムシグナリングの異常を示唆する報告が散見される (Tang et al. J

Neurosci 2009, Kasumu et al. Cerebellum 2012)。

ポリグルタミン病を含めた神経変性疾患には疾患別に神経変性に脆弱な選択的病変部位が存在するものの、そのメカニズムは明らかにされていない。カルシウムシグナリングの異常は神経細胞死に深く関わっていることより、その解明は病変選択性を説明するキーとなる可能性がある。本研究は、これらの学術的背景の下、各種ポリグルタミン病においてカルシウムシグナリングの解析を通じた病変特異性の機序解明をめざすものである。

2. 研究の目的

神経変性疾患において、ポリグルタミン病は原因たんぱく質がカルシウムシグナリングの異常を引き起こし、細胞死へと向かわせる働きがあることが知られている。ポリグルタミン病とカルシウムチャネルの関連性を明らかにするために、ポリグルタミン病におけるカルシウムチャネルが病態形成に関わる可能性を明らかにする。ポリグルタミン病の脳各部位におけるカルシウムチャネルのサブタイプやカルシウム結合蛋白質の発現分布から神経変性に対する抵抗性と脆弱性を示すことによって、各種ポリグルタミン病の選択的病変の有無を確認する。

3. 研究の方法

(1) 対象

正常の剖検脳(3例)と臨床病理学的に診断した5種類のポリグルタミン病の剖検脳18例(SCA1:4例, SCA2:3例, SCA3:5例, DRPLA:

3例, HD:3例))

(2) 方法

上記剖検例におけるカルシウムチャネルのサブタイプとカルシウム結合蛋白質について免疫組織学的検討を行い、正常脳、ポリグルタミン病脳に特異的な発現頻度・分布・発現量(発現濃度)を明らかにする。発現濃度はNIHimageにより、濃度測定し、発現量の程度を下記のような4つに分類した。

発現を認めない濃度 (none: -)

mild: ± (の 115-130%)

moderate: + (の 130-160%)

severe: ++ (の 160%以上)

<各種抗体>

膜電位依存性カルシウムチャネルのサブタイプ

Cav1.2, Cav1.3, Cav2.1, Cav2.2, Cav2.3, Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3 抗体

カルシウム結合蛋白質に対する抗体

IP3R1 抗体, RYR2 抗体

4. 研究成果

(1) 正常脳におけるカルシウムチャネルの

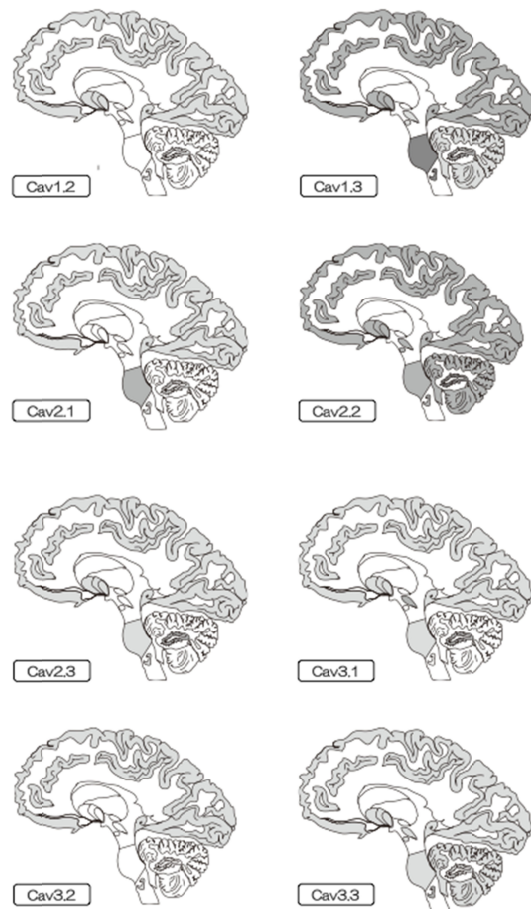
サブタイプの発現分布

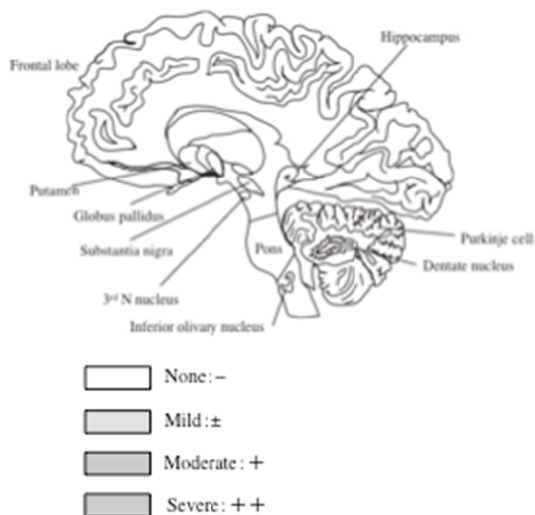
膜電位依存性カルシウムチャネルのサブタイプである Cav1.2, Cav1.3, Cav2.1, Cav2.2, Cav2.3, Cav3.1, Cav3.2, Cav3.3 それぞれの正常脳における発現分布を

示す。正常では全体的に Cav1.3 と Cav2.2 の脳の発現が高く、特に橋核、下オリーブ核、小脳歯状核に分布していた。また、正常のヒトの脳では IP3 受容体が小脳 Purkinje 細胞に

特異的に発現し、大脳にはほとんど認められなかった。リアノジン受容体は小脳顆粒層に重点的に発現していた。(図1)

図1. 正常脳におけるカルシウムチャネルのサブタイプの発現分布





(2) ポリグルタミン病の脳におけるカルシウムチャンネルのサブタイプとカルシウム結合蛋白質の分布、および正常脳との比較 (表 1abc)

表 1. 正常およびポリグルタミン病におけるカルシウムチャンネルのサブタイプの発現分布
表 1 a

	Ctl	SCA1	SCA2	SCA3	DRPLA	HD
Cav1.3						
Cortex	+	+	+	±	+	±
Hippocampus	+	+	+	±	+	±
Basal ganglia	+	+	±	++	+	±
Purkinje cell	±	±	±	±	±	-
Dentate N	+	+	+	±	±	-
3rd N	±	±	±	±	+	-
Subst. nigra	±	±	++	±	+	-
Pontine N	++	+	++	±	±	-
Inf. olivary N	++	+	++	+	+	-

表 1 b

	Ctl	SCA1	SCA2	SCA3	DRP	HD
Cav2.2						
Cortex	+	+	+	±	+	+
Basal ganglia	+	+	+	±	+	+
RPBasal ganglia	+	±	±	±	±	±
Purkinje cell	+	+	±	±	-	-
Dentate N	++	++	++	++	±	±
3rd N	+	-	+	++	±	-
Subst. nigra	+	-	+	++	±	-
Pontine N	+	+	+	±	±	±
Inf. olivary N	+	+	+	±	+	+

表 1 c

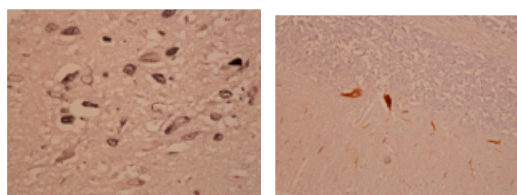
	Ctl	SCA1	SCA2	SCA3	DRPLA	HD
Cav3.3						
Cortex	±	±	±	±	±	++
Basal ganglia	±	±	±	±	±	+
Basal ganglia	±	±	-	-	±	±
Purkinje cell	±	-	-	-	-	-
Dentate N	+	±	±	+	-	-
3rd N nucleus	±	-	-	-	-	±
Subst. nigra	±	-	-	-	-	±
Pontine N	±	±	±	±	±	±
Inf. olivary N	+	+	±	+	±	±
IP3R1	++	++	+++	++	++	++

膜電位依存性カルシウムチャンネルのサブタイプの中で Cav1.3 チャンネル受容体では SCA3 が基底核に、SCA2 が黒質に強く発現していた。Cav2.2 チャンネル受容体では SCA3 が動眼神経

核と黒質に強く発現し、Cav3.3 チャンネル受容体では HD が大脳皮質に強く発現していた。

IP3 受容体では小脳 Purkinje 細胞に SCA2 が強く発現していた。(図 2) Cav2.1, Cav2.2 では SCA1 および SCA2 の橋核に核内封入体を認めた

図 2 . SCA2 における黒質の Cav1.3 および Purkinje 細胞の IP3R1 発現



(A:黒質(Cav1.3) B: Purkinje細胞(IP3R1))

(3) 考察

正常脳とポリグルタミン病の脳における膜電位依存性カルシウムチャンネルのサブタイプの発現分布に疾患によって違いがあることからポリグルタミン病がカルシウムシグナリングの異常に深く関わっている可能性を示唆する。さらに発現の上昇している部位は疾患それぞれの障害部位に一致する (SCA2 の Purkinje cell, 黒質、SCA3 の動眼神経核、黒質、HD の大脳皮質など) ことから疾患の選択的障害にも関連している可能性がある。

(4) 結論

各ポリグルタミン病におけるカルシウムチャンネルのサブタイプの発現分布は神経変性に対する抵抗性と脆弱性を反映し、選択的病変形成に関与している可能性がある。

5 . 主な発表論文

[雑誌論文] (計1件)

Mitsui J, Koyano S (36 番目) .

Variants associated with Gaucher disease in multiple system atrophy.

Ann Clin Transl Neurol.2015;2(4): 417-26

[学会発表] (計1件)

児矢野 繁, 柳下 三郎, 田中 章景: カルシウムシグナリングからみたポリグルタミン病の神経病理学的研究 .第55回日本神経学会総会, 2014.5.23.福岡

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

児矢野 繁 (KOYANO, Shigeru)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号 : 50315818

(2) 研究分担者

田中 章景 (TANAKA, Fumiaki)

横浜市立大学・医学研究科・教授

研究者番号 : 30378012

多田 美紀子 (TADA, Mikiko)

横浜市立大学・附属病院・助教

研究者番号 : 30722467