

平成 21 年 6 月 24 日現在

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2007-2008

課題番号：19390244

研究課題名(和文) 家族性パーキンソン病の原因遺伝子産物の共通機構の解明と新規原因遺伝子の同定

研究課題名(英文) Identification of a common pathway among gene products for familial Parkinson's disease and screening for a novel causative gene for

研究代表者

服部 信孝 (HATTORI NOBUTAKA)

順天堂大学・医学部・教授

研究者番号：80218510

研究成果の概要：

遺伝性パーキンソン病 (FPD) の病態には共通してドパミン反応性パーキンソニズムがある。従って共通した機構が存在していることが予想される。現在、孤発型 PD と鑑別が依然これら遺伝子産物の詳細な機能は不明である。本課題では parkin と PINK1 の相互作用を検討し、両分子はミトコンドリア外膜で会合し、parkin は PINK1 の安定性に関与していることが分かった。また FPD においては半数以上が、原因遺伝子が不明であり、新規原因遺伝子座を決定した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	7,600,000	2,280,000	9,880,000
2008 年度	6,800,000	2,040,000	8,840,000
年度			
年度			
年度			
総計	14,400,000	4,320,000	18,720,000

研究分野：神経内科、神経生物学、神経遺伝学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・神経内科

キーワード：パーキンソン病、遺伝性パーキンソン病、共通機構、新規原因遺伝子

1. 研究開始当初の背景

パーキンソン病 (PD) の殆どは遺伝歴のない孤発型である。一方、約 10% は、遺伝性パーキンソン病 (FPD) が占める。FPD は臨床的にも PD と相違なく神経病理学的にもドパミン神経細胞脱落を特徴としていることが判明している。FPD の優性型には SNCA, Lrrk2 が原因遺伝子として単離・同定されている。劣性型には parkin, PINK1, DJ-1, ATP13A2 が同定されており、特に parkin, PINK1, DJ-1 は臨床的にも、また発症年齢においても類似性

が高く、共通機構を形成している可能性が高い。その共通機構は神経脱落の主なカスケードを形成している可能性が高く、孤発型 PD の発症機序に繋がる可能性が高い。本課題は、FPD の遺伝子産物の機能解析から黒質神経変性の機序解明を目指す。また FPD の半数以上は原因遺伝子が判明していない。既に我々の研究室では 1000 検体以上の DNA があり、そのうち劣性遺伝性で中高年で発症する家系が存在している。本課題では遺伝子座の決定を目指した。

2. 研究の目的

parkin と PINK1 は臨床的にも類似性が高い。またショウジョウバエの解析から PINK1 は parkin の上流に位置することが判明している。本課題では、parkin と PINK1 の相互作用に重点を当てて解析した。更に同じ機構を形成している可能性の高い DJ-1 の詳細な機能は判明していない。DJ-1 の機能については、詳細な細胞内局在について検討した。また 50 歳前後で発症する劣性遺伝性 PD が疑われる 4 家系について遺伝子座決定を行った。

3. 研究の方法

FRET を用いて living cell における parkin と PINK1 の相互作用について検討した。また pulse chase により PINK1 の安定性について検討した。DJ-1 の細胞内局在についてはペプチド抗体を作成し、細胞内局在について検討した。SNP を用いたホモ接合体マッピングで中高年発症の常染色体劣性遺伝形式の 4 家系について遺伝子座を決定した。また iron response protein 2 (IRP2) と parkin KO mice の掛け合わせを行い生化学的検討を行った。

4. 研究成果

Parkin と PINK1 はミトコンドリア外膜で会合していることは分かった。また Pulse chase 法にて parkin は PINK1 の安定性に関与していることが分かった。Parkin が存在すると PINK1 の安定性が増すことが判明した。更に parkin の stable cell line では PINK1 のタンパク量が増えていた。Parkin 遺伝子変異を持つ剖検脳での比較検討では正常脳の PINK1 タンパク量に比べて parkin 変異陽性の剖検脳ではタンパク量が減少していた。以上より parkin の存在下では PINK1 のポリユビキチン鎖の付加が抑制され PINK1 蛋白の安定性が増すことが分かった。

DJ-1 の詳細な細胞内局在に関しては、トランスフェリンとその局在が一致していた。Endosome との関連性が推定された。

新規遺伝子座に関しては SNP を用いたホモ接合体マッピングでの検討で 1 カ所に遺伝子座が決定した。現在、原因遺伝子を同定すべくスクリーニングを行っている。

IRP2 Tg と parkin KO の掛け合わせではドパミン量の低下を認めた。このマウスはヒト PD モデルに成りうると思われる

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 25 件)

1. Hatano T, Hattori N, et al.

Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Human Mol Genet.* 2007;16: 678-690

2. Ihara M, Hattori N, et al. Sept4, a component of presynaptic Scaffold and Lewy bodies, is required for the suppression of alpha-synuclein neurotoxicity. *Neuron.* 2007;53: 519-533

3. Funayama M, Hattori N, et al. LRRK2 G2385R variant is a risk factor for Parkinson disease in Asian population. *NeuroReport.* 2007;18: 273-275

4. Kubo S, Iwatake A, Ebihara N, Murakami A, Hattori N. Visual impairment in Parkinson's disease treated with amantadine: case report and review of the literature. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14(2):166-9.

5. Funayama M, Li Y, Tsoi TH, Lam CW, Ohi T, Yazawa S, Uyama E, Djaldetti R, Melamed E, Yoshino H, Imamichi Y, Takashima H, Nishioka K, Sato K, Tomiyama H, Kubo S, MD, Mizuno Y, Hattori N. Familial parkinsonism with digenic parkin and PINK1 mutations. *Mov Disord.* 2008;65:802-808.

6. Kumazawa R, Tomiyama H, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Yoshino H, Yokochi F, Fukusako T, Takehisa Y, Kashihara K, Kondo T, Elibol B, Bostantjopoulou S, Toda T, Takahashi H, Yoshii F, Mizuno Y, Hattori N. Mutation analysis of the PINK1 gene in 391 patients with Parkinson disease. *Arch Neurol.* 2008 Jun;65(6):802-8.

7. Ning Y, Kanai K, Tomiyama H, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Sato S, Asahina M, Kuwabara S, Takeda A, Hattori T, Mizuno Y, Hattori N, PARK9-linked parkinsonism in Eastern Asia: Mutation detection in ATP13A2 and clinical phenotype. *Neurology* 2008;70:1491-1493.

8. Ross OA, Wu YR, Lee MC, Funayama M, Chen ML, Soto AI, Mata IF, Lee-Chen GJ, Chen CM, Tang M, Zhao Y, Hattori N, Farrer MJ, Tan EK, Wu RM. Analysis of Lrrk2 R1628P as a risk factor for Parkinson's disease. *Ann Neurol.*

- 2008;64:88-92.
9. Tomiyama H, Kokubo Y, Sasaki R, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Mizuno Y, Hattori N, Kuzuhara S. Mutation analyses in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Kii, Japan. *Mov Disord*. 2008;23:2344-2348.
 10. Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo S, Mizuno Y, Toda T, Hattori N. LRRK2 P755L variant in sporadic Parkinson's disease. *J Hum Genet* 2008 ;53:1012-5
 11. Chan DK, Mok V, Ng PW, Yeung J, Kwok JB, Fang ZM, Clarke R, Wong L, Schofield PR, Hattori N. PARK2 mutations and clinical features in a Chinese population with early-onset Parkinson's disease. *J Neural Transm*. 2008 ; 115 : 715-9
 12. Hattori N, Sato S. Animal models of Parkinson's disease: similarities and differences between the disease and models. *Neuropathology*. 2007 27:479-83.
 13. Kagohashi M, Nakazato T, Yoshimi K, Moizumi S, Hattori N, Kitazawa S. Wireless voltammetry recording in unanesthetized behaving rats. *Neurosci Res*. 2008 ;60:120-7.
 14. Mizuno Y, Hattori N, Kubo SI, Sato S, Nishioka K, Hatano T, Tomiyama H, Funayama M, Machida Y, Mochizuki H. Review. Progress in the pathogenesis and genetics of Parkinson's disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2008;27:363:2215-2227.
 15. Suzuki A, Ivandini TA, Yoshimi K, Fujishima A, Oyama G, Nakazato T, Hattori N, Kitazawa S, Einaga Y. Fabrication, characterization, and application of boron-doped diamond microelectrodes for in vivo dopamine detection. *Anal Chem*. 2007 Nov 15;79:8608-15.
 16. Yasuda T, Fukuda-Tani M, Nihira T, Wada K, Hattori N, Mizuno Y, Mochizuki H. Correlation between levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in the striatum of patients with Parkinson's disease. *Exp Neurol*. 2007 ;206:308-17.
 17. Satake W, Mizuta I, Suzuki S, Nakabayashi Y, Ito C, Watanabe M, Takeda A, Hasegawa K, Sakoda S, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T. Fibroblast growth factor 20 gene and Parkinson's disease in the Japanese population. *Neuroreport*. 2007 Jun 11;18:937-40.
 18. Tamo W, Imaizumi T, Tanji K, Yoshida H, Takanashi S, Wakabayashi K, Takahashi R, Hattori N, Satoh K. Parkin is expressed in vascular endothelial cells. *Neurosci Lett*. 2007 ;419:199-201.
 19. Hatano T, Kubo S, Imai S, Maeda M, Ishikawa K, Mizuno Y, Hattori N. Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Hum Mol Genet*. 2007 ;16:678-90.
 20. Funayama M, Li Y, Tomiyama H, Yoshino H, Imamichi Y, Yamamoto M, Murata M, Toda T, Mizuno Y, Hattori N. Leucine-rich repeat kinase 2 G2385R variant is a risk factor for Parkinson disease in Asian population. *Neuroreport*. 2007 12;18:273-5.
 21. Fukae J, Mizuno Y, Hattori N. Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Mitochondrion*. 2007 ;7:58-62.
 22. Ihara M, Yamasaki N, Hagiwara A, Tanigaki A, Kitano A, Hikawa R, Tomimoto H, Noda M, Takanashi M, Mori H, Hattori N, Miyakawa T, Kinoshita M. Sept4, a Component of Presynaptic Scaffold and Lewy Bodies, Is Required for the Suppression of alpha-Synuclein Neurotoxicity. *Neuron*. 2007 ;53:519-33.
 23. Ephraty L, Porat O, Israeli D, Cohen OS, Tunkel O, Yael S, Hatano Y, Hattori N, Hassin-Baer S. Neuropsychiatric and cognitive features in autosomal-recessive early parkinsonism due to PINK1 mutations.

Mov Disord. 2007 Mar ;22:566-9.

24. Kono S, Shirakawa K, Ouchi Y, Sakamoto M, Ida H, Sugiura T, Tomiyama H, Suzuki H, Takahashi Y, Miyajima H, Hattori N, Mizuno Y. Dopaminergic neuronal dysfunction associated with parkinsonism in both a Gaucher disease patient and a carrier. J Neurol Sci. 2007 ;252:181-4.

25. Ishihara L, Gibson RA, Warren L, Amouri R, Lyons K, Wielinski C, Hunter C, Swartz JE, Elango R, Akkari PA, Leppert D, Surh L, Reeves KH, Thomas S, Ragone L, Hattori N, Pahwa R, Jankovic J, Nance M, Freeman A, Gouider-Khouja N, Kefi M, Zouari M, Ben Sassi S, Ben Yahmed S, El Euch-Fayeche G, Middleton L, Burn DJ, Watts RL, Hentati F. Screening for Lrrk2 G2019S and clinical comparison of Tunisian and North American Caucasian Parkinson's disease families. Mov Disord. 2007 ;22:55-61.

[学会発表] (計 5 件)

1. Hattori N. Molecular Genetics & Biology in Parkinson's Disease: Concepts, Approach & Methodology. 1st Asian and Oceania Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress. 2007. 10. 22. Singapore,
2. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 水野美邦, 服部信孝. Autosomal recessive late onset parkinsonism の原因遺伝子探索. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5 月 16 日, 2008.
3. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝. NDUFV2+/- マウスにおける MPTP 感受性の検討. 生体機能と創薬シンポジウム 2008 東京, 東京, 9 月 5 日, 2008.
4. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 富山弘幸, 久保紳一郎, 水野美邦, 服部信孝. Autosomal recessive late onset parkinsonism の原因遺伝子探索. 第 2 回 Movement Disorder Society, Japan

学術集会, 京都, 10 月 4 日, 2008.

5. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝. NDUFV2+/- マウスにおける MPTP 感受性の検討. 第 8 回日本ミトコンドリア学会年会, 東京, 12 月 20 日, 2008.

[図書] (計 4 件)

1. 服部信孝. 基本治療薬 115 使い方と禁忌 富野 康日己 編
三環系抗うつ薬 <服部信孝> 塩酸アミトリプチリン トリプタノール (Tryptanol), 67 脳血栓症急性期およびクモ膜下出血治療薬 <服部信孝> オザグレルナトリウム カタクロット (Cataclot), キサンボン (Xanbon) 2007.
2. 名取司保子・服部信孝. パーキンソン病患者さんに発生する合併症の諸問題と具体的対応策. 難病と在宅ケア. 14 巻 4 号 Page25-28. 2008 年 7 月.
3. 服部信孝. 薬学セレクト 疾患と薬物治療知っておきたい common diseases101. 富野康日己・望月正隆 編. 医歯薬出版. 2008 年 5 月.
4. 服部信孝. 高齢者パーキンソン病の治療戦略 (座談会). Pharma Medica. 26 巻 3 号 Page153-159. 2008 年 3 月.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

出願番号 2009-69122, [パーキンソン病モデルマウス及びその作製方法並びに該マウスを用いたパーキンソン病治療薬のスクリーニング方法及び評価方法]

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

海外講演 (計 9 件)

1. Hattori N, Symposium in the genetics of Parkinson's disease, The annual meeting of Taiwan Neurology Association (Tao-yuan), Taiwan, 2007. 4. 7
2. Hattori N, Clinical Features and Molecular mechanisms of Nigral Neuronal Death in Parkinsonism with

parfkin Gene Mutation (PARK2),
department of Neurology National
Taiwan University Hospital College of
Medicine National Taiwan University,
Taiwan, 2007.4.7

3. Hattori N, The Aspects of Motor and non-Motor control with Dopamine Agonists, The opening meeting of PD Center of National Taiwan University Hospital (Taipei), Taiwan, 2007.4.8
4. Hattori N, The Aspects of Motor and non-Motor control with Dopamine Agonists, Lecture meeting in Taichung, Taiwan, 2007.4.9
5. Hattori N, The Formats of Motor and Non-Motor control with Dopamine agonists, Lecture meeting in Kaohsiung, Taiwan, 2007.4.10
6. Hattori N, Pathogenesis of PD: insight obtained from inherited PD, ADPD Korea Japan Joint Meeting, Korea, 2007.4.14
7. Hattori N, Protein Degradation System in Parkinson's disease, the 19th Annual Meeting of KSMCB, Korea, 2007.10.19
8. Hattori N, The role of ubiquitin - proteasome system in Parkinson's Disease Duration of Lecture, 1st Asian and Oceania Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress, Singapore, 2007.10.21
9. Hattori N, Molecular Genetics & Biology in Parkinson's Disease: Concepts, Approach & Methodology, 1st Asian and Oceania Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress, Singapore, 2007.10.22

6. 研究組織

(1) 研究代表者

服部 信孝 (HATTORI NOBUTAKA)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号：80218510

(2) 研究分担者

久保 紳一郎 (KUBO SHINITIRO)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：20327795

佐藤 栄人 (SATO SHIGETO)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：00445537

富山 弘幸 (TOMIYAMA HIROYUKI)
順天堂大学・医学部・助教
研究者番号：20515069

(3) 連携研究者

岩井 一宏 (IWAI KAZUYHIRO)
大阪大学・医学研究科・教授
研究者番号：60252459

(4) 研究協力者

坂田 真一 (SAKATA SHINITHI)
大阪大学・医学研究科