

平成 30 年 6 月 15 日現在

機関番号：32620

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2016～2017

課題番号：16H07184

研究課題名(和文) リソソーム病の病態とパーキンソン病発症機序の関与の検討

研究課題名(英文) Investigation of the association between lysosomal storage disorder and Parkinson's disease

研究代表者

王子 悠(Oji, Yutaka)

順天堂大学・医学部・助手

研究者番号：60777845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者は、リソソーム病に関わる遺伝子Xの新規病的変異を3家系の常染色体優性パーキンソン病において見出した。iPS細胞由来ドパミン神経細胞の解析ではオートファジー-リソソーム系の異常を見出し、 α -シヌクレインの増加を確認した。さらに遺伝子X導入マウスでは黒質のチロシンヒドロキシラーゼ陽性細胞の脱落を確認した。これらの結果は、リソソーム病の病態メカニズムがパーキンソン病の発症機序に重要に関与することを示唆すると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Research leader found a novel mutation of gene X involved in the onset of lysosomal disease in three families of autosomal dominant Parkinson's disease. Impairment of autophagic-lysosomal pathway and elevation of α -synuclein were revealed in induced pluripotent stem cells (iPSCs)-derived dopaminergic neurons. Neuronal loss of tyrosine-hydroxylase (TH) positive neurons in the substantia nigra was revealed in mice harboring mutation in gene X. These findings suggest the important involvement of mechanism of lysosomal storage disorder in the pathogenesis of Parkinson's disease.

研究分野：パーキンソン病

キーワード：リソソーム病 オートファジー iPS細胞 α -シヌクレイン

図1. 遺伝子X変異由来PD患者の皮膚線維芽細胞では autophagic flux の障害がある。

さらに遺伝子X変異陽性PD患者由来の皮膚線維芽細胞では、健常対照に比べて選択的オートファジーの基質であるp62蛋白の上昇もみとめた(図2)。これらの所見は、遺伝子X変異によるオートファジー・リソソーム系の異常と考えられた。

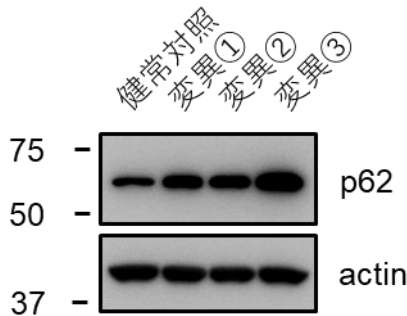


図2. 遺伝子X変異由来PD患者の皮膚線維芽細胞では p62 の上昇がある。

パーキンソン病の病態においてオートファジー・リソソーム系の異常は、 α -シヌクレインの蓄積を起こし細胞障害に関与するとされている。皮膚線維芽細胞で得られたオートファジー・リソソーム系の異常を示唆する結果を踏まえて、iPS細胞由来ドパミン神経細胞による解析を行い、遺伝子X変異陽性PD患者由来ドパミン神経細胞でLC3-IIの上昇をみとめた。さらに、LAMP-1やLAMP-2などリソソーム膜蛋白、カテプシンDやGBAなどリソソーム酵素の蛋白レベルの減少およびそれらのリソソーム酵素の活性低下をみとめた。これらのリソソーム異常に加えて、遺伝子X変異陽性PD患者由来の細胞では α -シヌクレインの蛋白レベルの上昇もみとめた(図3)。これらの結果は、リソソーム病の病態とパーキンソン病の病態の関与を示唆するものと考えられた。

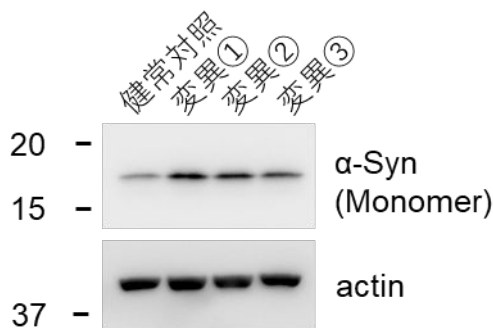


図3. 図2. 遺伝子X変異由来PD患者のiPS細胞から分化させたドパミン神経細胞では α -シヌクレイン(α -Syn)の上昇がみられる。

遺伝子Xの異常がPD病態に関与することを検証するために、遺伝子X変異導入マウスにて中脳黒質のチロシンヒドロキシラーゼ陽性神経細胞のカウントを行いその脱落の有無を評価した。遺伝子X変異導入マウスは、加齢により歩行障害など運動障害を呈しリソソーム病の表現型としてスフィンゴ脂質の構成変化をみとめた。

7月齢の遺伝子X変異導入マウスの中脳黒質についてチロシンヒドロキシラーゼ抗体を用いて免疫染色を行ったところ、野生型マウスと比較してヘテロ接合体マウスおよびホモ接合体マウスのいずれにおいても顕著にチロシンヒドロキシラーゼ陽性神経細胞が減少していた(図4)。

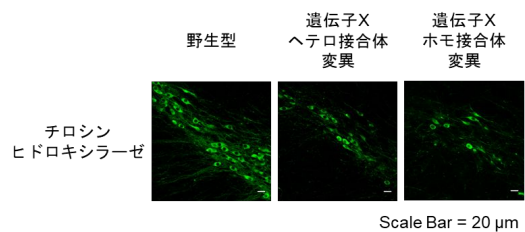


図4. の遺伝子X変異導入マウス(7月齢)では、中脳黒質のチロシンヒドロキシラーゼ陽性神経細胞の減少がみられる。

さらに8月齢のマウスにてチロシンヒドロキシラーゼ陽性神経細胞のカウントを行い、遺伝子X変異導入マウスでは、野生型と比較してヘテロ接合体変異で57%、ホモ接合体変異で60%のチロシンヒドロキシラーゼ陽性神経細胞の脱落をみとめた。これらの結果は遺伝子X変異導入マウスにおけるドパミン神経細胞障害を示唆する所見と考えられた。

さらに遺伝子X変異導入マウスの中脳黒質においてGFAP抗体とIba1抗体を用いて免疫染色を行ったところ、遺伝子X変異導入マウスではヘテロ接合体とホモ接合体のいずれにおいても顕著な増加をみとめた。これらは神経炎症を示唆する所見と考えられた(図5)。リソソーム病では中枢神経症状を来することが多いが神経炎症の関与が注目されている。これらの所見はリソソーム病の病態がドパミン神経細胞脱落に関与することを示唆する所見と考えられた。

本研究では、リソソーム病の発症に関与する遺伝子変異がオートファジー・リソソーム機能異常を来しPDの病態に関与し得ることを明らかにした。今後、iPS細胞由来ドパミン神経細胞やモデルマウスの解析を継続し病態解明を目指し、さらにその表現型の改善をもたらす化合物を探索することにより創薬を目指す。

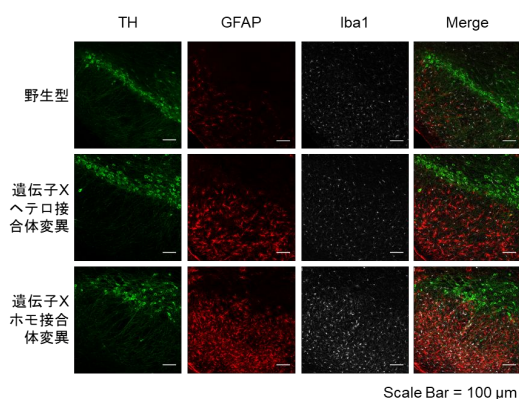


図 5. 遺伝子 X 変異導入マウスでは、GFAP および Iba1 陽性細胞の増加をみとめた。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

出願年月日：

国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

王子悠 (OJI, Yutaka)

順天堂大学・神経学講座・助手

研究者番号：60777845

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()