

令和 4 年 6 月 26 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15471

研究課題名（和文）iPS細胞を用いたPerry症候群疾患モデルの確立

研究課題名（英文）Establishment of a Perry syndrome disease model using human induced pluripotent stem cells

研究代表者

三嶋 崇靖（Mishima, Takayasu）

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：00600602

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：臨床研究では、家系調査により、Perry病（Perry症候群）の新たな2家系と新たな遺伝子変異について報告した。基礎研究では、G71A変異ノックインマウスを作製し、うつ様行動及びパーキンソニズムの再現、病理学的解析では、中脳黒質におけるTH染色性の低下を見出し、Perry病（Perry症候群）脳病理の一部再現に成功した。更に培養細胞やiPS細胞を用い、ダイナクチンがTDP-43に結合することダイナクチンのN末端領域、ダイナクチンドメイン、およびC末端領域がTDP-43と選択的に相互作用することを明らかにし、この相互作用の制御異常がTDP-43の誤局在化と凝集化を引き起こす可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Perry病（Perry症候群）はパーキンソニズム、うつやアパシー、体重減少、中枢性呼吸障害の4徴候を有する常染色体優性（顕性）遺伝の神経変性疾患で、2009年にDCTN1遺伝子変異が発見された。また、病理学的には、筋萎縮性側索硬化症（ALS）などと同様にTDP-43プロテノパチーに分類される。我々は、Perry病（Perry症候群）の国際診断基準を作成し、Perry症候群からPerry病への名称変更を提唱した。Perry病（Perry症候群）の研究は、パーキンソン病やALSなどの神経変性疾患の病態解明や治療薬開発だけでなく、うつ病や肥満などのコモンディジーズの研究にも寄与する。

研究成果の概要（英文）：We reported two novel mutations, p.G71V and p.K68E, in DCTN1 in patients from two different families. With regard to basic research, our heterozygous Dctn1 G71A mice showed depression-like behavior, motor deficits, and a functional reduction in substantia nigral neurons, by TH immunostaining, thereby exhibiting multiple features of Perry disease (Perry syndrome). Furthermore, we found that dynactin1 bound to TDP-43. Biochemical analysis revealed that the dynactin CAP-Gly-basic supra-domain, dynactin domain, and C-terminal region interacted with TDP-43, preferentially through its C-terminal region. We thus revealed DCTN1 as a new player in TDP-43 cytoplasmic-nuclear transport, and showed that dysregulation of DCTN1-TDP-43 interactions triggers mislocalization and aggregation of TDP-43.

研究分野：脳神経内科

キーワード：Perry症候群 Perry病 DCTN1 TDP-43 疾患モデル iPS細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

Perry 病 (Perry 症候群) はパーキンソニズム、うつやアパシー、体重減少、中枢性呼吸障害をきたす常染色体優性 (顕性) 遺伝の神経変性疾患である。2009 年に我々と Mayo Clinic との国際共同研究により、*DCTN1* が原因遺伝子であることが発見され (Farrer MJ, et al. Nat Genet. 2009)、病理学的には TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43) およびダイナクチン凝集体がみられ、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と同様に TDP-43 プロテノパチーに分類されることが明らかになったが (Wider C, et al. Parkinsonism Relat Disord. 2009, Mishima T, et al. J Neuropathol Exp Neurol. 2017) 確立した疾患モデルの報告はない。研究代表者の三嶋は本邦の 1 家系 (大牟田家系、p.F52L 変異) 患者の臨床症状を詳細に検討し、孤発性パーキンソン病に類似したパーキンソニズムがみられることを報告した。また、患者由来の iPS (induced pluripotent stem) 細胞を樹立し、疾患標的細胞である tyrosine hydroxylase (TH) 陽性神経細胞に分化誘導した。患者由来 iPS 細胞から分化誘導した TH 陽性神経細胞でのみダイナクチン凝集体を検出し、病態の一部再現に成功したが (Mishima, et al. Parkinsonism Relat Disord. 2016)、TDP-43 凝集体の検出および疾患モデル確立には至らなかった。

2. 研究の目的

・臨床研究: Mayo Clinic と国際共同研究を行い、Perry 病 (Perry 症候群) の国内外の家系間での臨床症状の比較検討を行う。
・基礎研究: Perry 病 (Perry 症候群) の国内外の家系患者由来の iPS 細胞を樹立し、疾患標的細胞である TH 陽性神経細胞および神経幹細胞に分化誘導し、疾患モデルの確立を目指す。

3. 研究の方法

・臨床研究: 福岡 (p.G71A 変異)、北九州 (p. Q74P 変異)、大牟田 (p.F52L 変異)、宮崎 (p. G71V 変異)、北海道 (p.K68E 変異) の 5 家系について家系調査を行い、Perry 病 (Perry 症候群) の生物学的マーカーを明らかにする。発症者についてパーキンソニズム、うつ・アパシー、体重減少、中枢性呼吸障害の 4 徴候やその他精神症状等の出現頻度、時期、死因や罹病期間、治療反応性を検討する。臨床症状は定量的評価法としてパーキンソン病の運動機能評価である MDS-UPDRS、うつに関して Hamilton Depression Rating Scale、Geriatric Depression Scale、Mini-Mental State Examination、長谷川式認知症検査や前頭葉機能検査 (Frontal Assessment Battery) にて神経心理学的な検討を行う。自律神経機能検査として MIBG 心筋シンチグラフィ、Head-up Tilt test、CVR-R test、中枢性呼吸障害に関しては血液ガス分析、睡眠ポリグラフの評価を、神経画像所見としては頭部 MRI、脳血流 SPECT、DAT scan を行う。血液・脳脊髄液の神経伝達物質、ドパミン、セロトニン、タウリン、オレキシン、レプチン、グレリン等の評価を行い、パーキンソニズム、うつ・アパシー、中枢性呼吸障害や体重減少との関連について検討する。各検査は臨床症状とともに経時的変化を確認する。これらの結果について国内外の家系間での臨床症状の比較検討を行う。

・基礎研究: 国内外の家系患者由来の iPS 細胞を樹立する。疾患標的細胞である TH 陽性神経細胞および神経幹細胞に分化誘導し、ダイナクチンおよび TDP-43 凝集体を検出、疾患モデル作製を行う。また、凝集体の構造解析、ダイナクチンおよび TDP-43 の細胞内動態の解析、神経細胞死、ミトコンドリア機能異常、酸化ストレス、小胞体ストレス、ユビキチン - プロテアソーム系、オートファジー系の異常についても検討する。

4. 研究成果

・臨床研究: 新たな 2 家系 (北海道家系: p.K68E 変異、宮崎家系: p. G71V 変異) について検討し、1 症例では、過去の我々の報告と同様に L-dopa やドパミンアゴニスト投与後に衝動制御障害がみられることを明らかにした (Mishima et al. Parkinsonism Relat Disord, 2021)。また、Perry 病 (Perry 症候群) の本邦 10 症例で MIBG 心筋シンチグラフィが施行され、8 症例 (80%) で取り込みが低下していることを報告した。便秘や排尿障害、起立性低血圧などが合併していることを明らかにし、同疾患の自律神経障害の生物学的マーカーになりうることを示した (Mishima et al. Parkinsonism Relat Disord, 2021)。更に本邦の家系調査により福岡家系 (p.G71A 変異) の 2 症例で気管切開を伴う侵襲的人工呼吸器 (TIV) 導入による長期生存例 (5 年以上) が確認された。

・基礎研究: 理化学研究所との共同研究で p.G71A 変異ノックインマウスを作製し、うつ様行動及びパーキンソニズムの再現、病理学的解析で中脳黒質における TH 染色性の低下を見出し、Perry 病 (Perry 症候群) 脳病理の一部再現に成功した (Deshimaru et al. Neurosci Lett, 2021)。また、我々は培養細胞および iPS 細胞由来の神経細胞を用い、ダイナクチンと TDP-43 の相互作用について生化学的 / 細胞生物学的解析を行った。免疫沈降及び GST-pull down により、ダイナクチンが TDP-43 に結合することが判明した。更にダイナクチンの N 末端領域、ダイナクチンドメイン、及び C 末端領域が TDP-43 と選択的に相互作用することを明らかにし (図 1)、この相互作用の制御異常が TDP-43 蛋白質の誤局在化と凝集化を引き起こす可能性を示した (図 2)。疾患

モデルに関して、培養細胞および iPS 細胞由来の神経細胞を用い、ダイナクチンと TDP-43 の凝集体の検出に成功した (図 3)。今回の研究から、ダイナクチンは TDP-43 蛋白質の細胞質-核間輸送の新たな担い手であることが判明し、Perry 病 (Perry 症候群) をはじめとする ALS などの TDP-43 プロテオパチーの病態解明と創薬につながると考えられる (Deshimaru et al. Int J Mol Sci, 2021)。

図 1 ダイナクチンと TDP-43 の結合部位

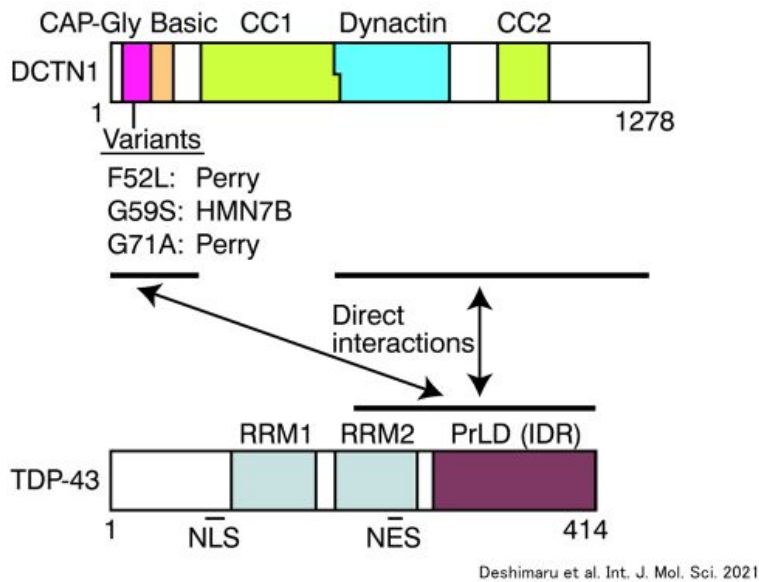


図 2 ダイナクチンと TDP-43 凝集体形成の機序

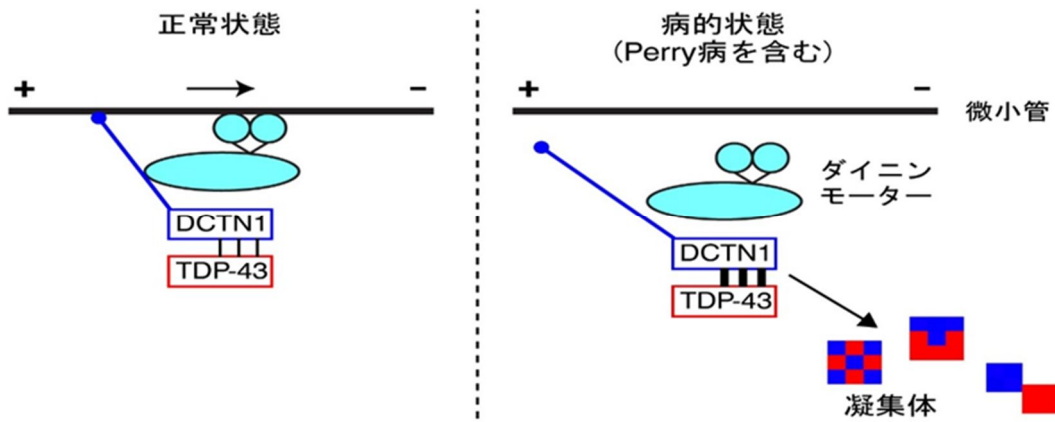
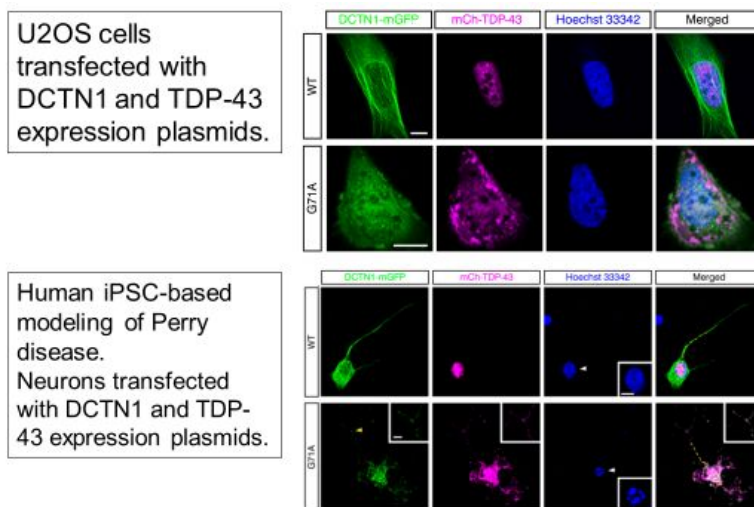


図 3 ダイナクチンと TDP-43 の凝集体



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Deshimaru M, Mishima T, Watanabe T, Kubota K, Hosoi M, Kinoshita-Kawada M, Yuasa-Kawada J, Ikeda M, Mori M, Murata Y, Abe T, Enjoji M, Kiyonari H, Kodama S, Fujioka S, Iwasaki K, Tsuboi Y	4. 巻 764
2. 論文標題 Behavioral profile in a Dctn1 G71A knock-in mouse model of Perry disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Neurosci Lett	6. 最初と最後の頁 136234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2021.136234.	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 -

1. 著者名 Deshimaru M, Kinoshita-Kawada M, Kubota K, Watanabe T, Tanaka Y, Hirano S, Ishidate F, Hiramoto M, Ishikawa M, Uehara Y, Okano H, Hirose S, Fujioka S, Iwasaki K, Yuasa-Kawada J, Mishima T, Tsuboi Y	4. 巻 22
2. 論文標題 DCTN1 Binds to TDP-43 and Regulates TDP-43 Aggregation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci	6. 最初と最後の頁 3985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22083985	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Tsuboi Y, Mishima T, Fujioka S	4. 巻 14
2. 論文標題 Perry Disease: Concept of a New Disease and Clinical Diagnostic Criteria	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Movement Disorders	6. 最初と最後の頁 1, 9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/dev.172106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mishima T, Fujioka S, Nishioka K, Li Y, Sato K, Houzen H, Yabe I, Shiomi K, Eriguchi M, Hara H, Hattori N, Tsuboi Y	4. 巻 83
2. 論文標題 Meta-iodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in Perry disease.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parkinsonism & Related Disorders	6. 最初と最後の頁 49, 53
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parkreldis.2020.12.017. Epub 2021 Jan 12	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 -

1. 著者名 Mishima T, Fujioka S, Tsuboi Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Perry disease: recent advances and perspectives	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Orphan Drugs	6. 最初と最後の頁 253, 259
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/21678707.2019.1625766	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 -

1. 著者名 Mishima T, Fujioka S, Fukae J, Yuasa-Kawada J, Tsuboi Y.	4. 巻 19
2. 論文標題 Modeling Parkinson's Disease and Atypical Parkinsonian Syndromes Using Induced Pluripotent Stem Cells.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 3870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19123870	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 三嶋崇靖, 弟子丸眞実, 池田茉偉子, 河田真理子, 河田純一, 藤岡伸助, 窪田香織, 渡辺拓也, 清成寛, 岩崎克典, 坪井義夫
2. 発表標題 Behavioral defects in a Dctn1 G71A knock-in mouse model of Perry disease
3. 学会等名 第15回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三嶋崇靖
2. 発表標題 Characteristic of Perry disease in Japan
3. 学会等名 第61回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 三嶋崇靖, 弟子丸眞実, 池田茉偉子, 河田真理子, 河田純一, 藤岡伸助, 窪田香織, 渡辺拓也, 清成寛, 岩崎克典, 坪井義夫
2. 発表標題 DCTN1 G71A変異Perry病ノックインマウスにおける黒質・線条体のtyrosine hydroxylase染色性低下
3. 学会等名 第14回パーキンソン病・運動障害疾患 कांग्रेस
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 三嶋崇靖, 藤岡伸助, 坪井義夫
2. 発表標題 Perry病におけるMIBG心筋シンチグラフィー低下の頻度
3. 学会等名 第13回パーキンソン病・運動障害疾患 कांग्रेस
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三嶋崇靖, 藤岡伸助, 富山弘幸, 矢部一郎, 栗崎玲一, 藤井直樹, 音成龍司, Ross OA, Farrer MJ, Dickson DW, Wszolek ZK, 服部信孝, 坪井義夫
2. 発表標題 Perry症候群国際診断基準の確立
3. 学会等名 第59回日本神経学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三嶋崇靖, 弟子丸眞実, 渡辺拓也, 窪田香織, 河田真理子, 河田純一, 高崎浩太郎, 上原吉就, 神野尚三, 岩崎克典, 坪井義夫
2. 発表標題 DCTN1 G71A変異Perry症候群トランスジェニックマウスにおける行動障害
3. 学会等名 第12回パーキンソン病・運動障害疾患 कांग्रेस
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takayasu Mishima, Fujioka S, Tomiyama H, Yabe I, Kurisaki R, Fujii N, Neshige R, Ross OA, Farrer MJ, Dickson DW, Wszolek ZK, Hattori N, Tsuboi Y
2. 発表標題 Proposal of international diagnostic criteria and a new disease concept
3. 学会等名 International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (国際学会)
4. 発表年 2018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

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		
米国	スクリプス研究所		