

令和 5 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15698

研究課題名（和文）多系統萎縮症の原因遺伝子の探索

研究課題名（英文）Identifying the causative genes of multiple system atrophy

研究代表者

多田 有似（Tada, Yui）

広島大学・原爆放射線医科学研究所・助教

研究者番号：90881285

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：多系統萎縮症（multiple system atrophy: MSA）は、脊髄小脳変性症の一部に分類される神経変性疾患である。大部分が孤発性で遺伝的解析が困難であるために、孤発性MSAの原因遺伝子は未だに明確に同定されていない。本研究の目的は、MSAの原因遺伝子を同定することである。本研究では、家族性MSA家系で同定された原因遺伝子を孤発性MSAにおいて解析したが、新たな変異は同定できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原因遺伝子の同疾患の発病メカニズムの解明や治療法の開発に重要であるにもかかわらず、MSAでは明確な原因遺伝子が報告されていない。これはMSAの大部分が孤発性であるために、原因遺伝子の絞り込みが困難であることが一因である。近年では大規模スクリーニングが実施されているが、有意性がある遺伝子の同定には至っていない。

一方、本研究で孤発性MSAを対象に解析する遺伝子は、極めて稀なMSA血族婚家系の解析結果を根拠にしたものである。この遺伝子を孤発性MSAの原因遺伝子としても同定できれば、全く分かっていないMSAの遺伝的要因を新たに示すものとなる。

研究成果の概要（英文）：Multiple system atrophy (MSA) is a neurodegenerative disease classified as a part of spinocerebellar degeneration. The causative gene for solitary MSA has not yet been clearly identified because the majority of cases are solitary and genetic analysis is difficult. The purpose of this study is to identify the causative genes of MSA.

In this study, the causative genes identified in familial MSA families were analyzed in solitary MSA, but no new mutations were identified.

研究分野：神経科学

キーワード：神経変性疾患 多系統萎縮症 原因遺伝子

1. 研究開始当初の背景

多系統萎縮症 (multiple system atrophy: MSA) は孤発性脊髄小脳変性症の一種で、自律神経障害・錐体外路症状・小脳性運動失調の3つの症状がさまざまな割合で出現することを特徴とする神経変性疾患で、日本では約1万2千人の患者が存在している。

病理学的には、小脳皮質、橋核、オリブ核、線条体、黒質、脳幹や脊髄の自律神経核に加えて大脳皮質運動野などの神経細胞の変性、オリゴデンドログリア細胞質内の不溶化した α -synuclein からなる封入体 (グリア細胞質内封入体: GCI) を特徴とする。

遺伝的には、日本の家族性 MSA において *COQ2* の変異が同定され、孤発性 MSA においても健常人と比べて有意に高頻度で変異が発見されたという報告があるが、日本国外では確認されていない (N Engl J Med 2013, Neurology 2016)。更に、その後の日本人の報告でも有意な差が見られず、原因遺伝子としての評価は定まっていない (Neurol Genet. 2016)。また、918人のヨーロッパ人患者を対象にした全ゲノム相関解析において4つのピークが得られたが、有意水準に達しなかった (Neurol Genet. 2016)。すなわち現時点では、孤発性 MSA の原因遺伝子は明らかにならなかったものはない。

所属研究室では MSA 血族婚家系を見出し、ホモ接合マッピングと次世代シーケンサーを用いて原因遺伝子 A を同定した (図1)。遺伝子 A は転写因子をコードし、小脳の神経細胞の分化に関与することが知られているので、遺伝子 A は孤発性 MSA にも大きく関与することが強く示唆される。遺伝子 A を孤発性 MSA においても解析することで、これまで明確になっていなかった孤発性 MSA の遺伝的要因を明らかにし、MSA の病態解明に新しい知見をもたらすと期待される。

2. 研究の目的

家族性 MSA で同定された原因遺伝子 A について、スクリーニングによって孤発性 MSA での変異を解析し、これまで未知であった MSA の遺伝的要因を新たに解明することを目的とする。

原因遺伝子を同定することは疾患の発病メカニズムの解明や治療法の開発には重要であるにもかかわらず、MSA では明確な原因遺伝子が報告されていない。これは MSA の大部分が孤発性であるために、家族性疾患では可能な家系での分離ができず、原因遺伝子の絞り込みが困難であることが一因である。すなわち、孤発性 MSA では遺伝子解析の糸口を見つけることが難しかったのである。近年では糸口を見つけるために大規模スクリーニングが実施されている。しかし、2016年のヨーロッパのコホートにおける全ゲノム解析では有意性がある遺伝子の同定には至っていない。このように、膨大な数の遺伝子から原因遺伝子を同定することは、特に孤発性疾患において非常に困難である。

一方、本研究で孤発性 MSA を対象に解析する遺伝子 A は、極めて稀な MSA 血族婚家系の解析結果を根拠にしたものである。この遺伝子を孤発性 MSA の原因遺伝子としても同定できれば、全く分かっていない MSA の遺伝的要因を新たに示すものとなる。

遺伝子 A は、転写因子で小脳の神経細胞の分化を制御することが知られている。したがって、これらの遺伝子 A の働きから MSA の発病メカニズムの分子的解明や治療薬開発に役立つことが期待される。

3. 研究の方法

(1) 次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンシング

所属研究室が保有する原因遺伝子未知の孤発性 MSA 検体約 300 検体を対象にスクリーニングをする。解析するゲノムの領域は、遺伝子 A のエクソン領域である。次世代シーケンサー (Ion Proton system) を用いてターゲットシーケンシングを実施し、遺伝子 A のエクソン領域に存在するミスセンス変異を同定する。

(2) 健常人との頻度比較

健常人検体でも 1 と同様のスクリーニングを実施する。発症者が変異を保有する頻度と健常人での頻度とを比較し、発症者で有意に高い頻度の変異を MSA の原因であると特定する。

(3) 変異による遺伝子発現の解析

1 年目で同定された変異が細胞内で及ぼす影響を検討する。遺伝子 A が転写因子として制御する遺伝子の発現量の変化を定量 PCR で測定する。同時に、ルシフェラーゼレポーターアッセイによって遺伝子 A の変異によるプロモーター活性の変化を解析する。変異を有する患者の剖検脳が入手できれば、タンパク質量と局在の変化を染色によって解析する。

(4) 変異が同定できなかった場合は、非コード領域に着目する

遺伝子 A のプロモーター領域付近の非コード領域のリピート配列を中心に解析する。

MSA 検体に long-range PCR を実施し、リピート配列の伸長が見られる検体を選別する。同時に、健常人検体でも同様のスクリーニングを実施する。

その後、確認されたリピート配列の伸長をサザンブロッティングによって確認し、同時に伸長されたリピート数を測定する。

更に、ロングリードシーケンサーを用いて、伸長したリピート配列内部の塩基配列を決定する。

4. 研究成果

孤発性 MSA 患者検体を対象に遺伝子 A のスクリーニングを実施したが、遺伝子 A に変異は見つからなかった。プロモーター領域のリピート配列も複数例確認したが、異常身長が見られる検体はなかった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------