

脊髄小脳変性症の発症における情報伝達系の関与

矢部 一郎 [北海道大学大学院医学研究科神経内科／講師]

背景・目的

優性遺伝をきたす脊髄小脳変性症(以下SCA)のなかで、30-40%は該当遺伝子や起因となる遺伝子変異が不明である。我々は長年にわたり、SCAの病因に関する研究を行ってきた。その過程で新しいSCAの遺伝子座を決定し、SCA14として世界で初めて報告した。次いで、その原因遺伝子がprotein kinase C gamma(*PRKCG*)遺伝子であることを解明するに至った。その遺伝子変異はCa²⁺やdiacylglycerolが結合する*PRKCG*のC1 domainに位置していた。しかし、この遺伝子変異がどのような機序で、SCA発症に導くのかは明らかにされていない。protein kinase C(PKC)はイノシトールリン脂質を介するシグナル伝達系において重要な役割を担っているが、加えて、その上流に位置するphospholipase C- β (PLCB)のアイソザイムで、小脳に発現するPLCB4のノックアウトマウスにおいて小脳失調を呈することも知られている。しかしながら、SCAの発症病態におけるprotein kinase C(PKC)およびイノシトールリン脂質を介するシグナル伝達系の関わりは未解明である。我々はこの病態機序を明らかにすることを目的に、*PRKCG*ノックインマウスの作成、原因遺伝子が未知のSCAにおけるPKC isoenzyme遺伝子解析およびPLCB遺伝子解析、などの手法を用いて研究を進めることを目的とした。

内容・方法

(1)モデル動物の作成

我々が発見した*PRKCG*遺伝子変異を導入したヒトcDNAを組み込んだベクターを用いノックインマウスを作成する。併せてヒト*PRKCG*の影響も考慮し、野生型ヒトcDNAを導入したノックインマウスも作製する。既に全長ヒトcDNAを用い、ベクターの調整が済んでおり、ノックインマウスの作製にとりかかっている。作製後は神経病理学的解析、および神経症候学的解析を行う。特にわれわれが見つけた遺伝子変異を伴うSCAは小脳性運動失調に加え、発作性の不随意運動という特異的な症状があり、マウスにおいても小脳性運動失調と不随意運動の両面を念頭に検討する予定である。そして、将来的には治療法の開発に利用したいと考えている。この作製に研究費の大部分が使用される予定である。

(2)原因遺伝子が未知のSCAにおける γ subtype以外のprotein kinase C isoenzyme遺伝子およびPLCB遺伝子解析

Protein kinase C δ subtypeや ϵ subtypeは γ subtype同様、小脳に発現していることが知られている。加えてPLCB4も小脳に発現している。これらの遺伝子における疾患特異的変異の有無について起因遺伝子が未知のSCAにつき解析を行う。

結果・成果

モデル動物実験系においては、キメラマウスの作製にまで到達している。現在、F1マウス作製中である。分子遺伝学的研究ではPLCB4が本邦の遺伝性脊髄小脳変性症に関与している可能性が低いことを明らかにした。臨床医学的には*PRKCG*遺伝子変異により発症するSCA14の遺伝子変異の特徴とその臨床病型について明らかにした。

今後の展望

モデル動物完成後は神経病理学的解析、および神経症候学的解析を行う。特に我々が見つけた遺伝子変異を伴うSCAは小脳性運動失調に加え、発作性の不随意運動という特異的な症状があり、マウスにおいても小脳性運動失調と不随意運動の両面を念頭に検討する予定である。また、*PRKCG*は過去の研究で、情動運動や、虚血耐性因子、疼痛制御にも関連していると考えられている。不安行動の解析や、脳虚血、疼痛負荷を行い、それぞれの状況下においても、行動解析、病理学的解析、遺伝子発現解析、この系の酵素蛋白の活性測定解析を行うことにより、小脳以外の中枢神経系におけるこの情報伝達系機能の関与を明らかにしたいとも考えている。また、モデルマウスは治療法の開発に利用したいと考えている。それについては、遺伝子発現解析や病理学的解析を踏まえ、まずは、RNAiを用いた治療の可能性を検討する。