

(様式5)

新潟大学脳研究所
「脳神経病理資源活用の疾患病態共同研究拠点」
共同利用・共同研究報告書

ドーパミン生合成遺伝子の改変によるジストニア・パーキンソニズム発症 機構の解析

研究代表者 一瀬 宏¹⁾
研究分担者 小川 涼平¹⁾, 笹岡 俊邦²⁾

1) 東京工業大学・生命理工学院 2) 新潟大学脳研究所 動物資源開発研究分野

研究要旨

ドーパ反応性ジストニア (DYT5) はドーパミン生合成に必須なテトラヒドロbiopterin (BH4) の生合成酵素 GTP シクロヒドロラーゼ I (GCH) の片側アリルの変異により発症する遺伝性の疾患である。DYT5 は、BH4 合成量の低下に伴う線条体でのドーパミン欠乏により発症する。同じく線条体ドーパミンの欠乏により発症するパーキンソン病がパーキンソニズムを発症するのに対して、DYT5 ではジストニアが主徴となる理由は明らかとなっていない。両疾患の発症機構の違いを解明するために、DYT5 の疾患モデルとなるマウスを作製して表現型の解析を行った。このマウスはドーパミンニューロン選択的に *Gch* 遺伝子が破壊されているため、線条体ドーパミン量はコントロールの5%程度に低下していた。このマウスの運動機能を解析したところ、パーキンソニズムと考えられる表現型を示した。

A. 研究目的

ドーパ反応性ジストニア (DYT5) はドーパミン生合成に必須なテトラヒドロbiopterin (BH4) の生合成酵素 GTP シクロヒドロラーゼ I (GCH) の片側アリルの変異が原因となり、幼小児期に女兒に多く発症するジストニアを主徴とする疾患である。DYT5 は BH4 合成量の低下に伴う線条体でのドーパミン欠乏により発症すると考えられ、ドーパミンの前駆体であるドーパの内服が著効する。同じく線条体ドーパミンの欠乏により発症するパーキンソン病は高齢発症でパーキンソニズムを発症するのに対して、DYT5 ではジストニアが主徴となる理由は明らかとなっていない。両疾患の発症機構の違いを解明するために、DYT5 の疾患モデルとなるマウスを作製して表現型の解析を行った。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

ドーパミントランスポーター (DAT) の遺伝子を

DNA 組換え酵素 *Cre* で置き換えた *Dat-Cre* マウスと、*Gch* 遺伝子のイントロン内に2つの *loxP* 配列が挿入されている *Gch-flox* マウスを交配して、*Gch-ckO* マウスを作製した。このマウスでは、*Dat* が発現するドーパミンニューロンで *Gch* 遺伝子が破壊されているため、ドーパミンニューロン選択的に BH4 が合成できないマウスとなる (図1)。コントロールとしては、*Cre* 遺伝子を有していない *Gch-flox* マウスを用いた。

本研究で用いた *Dat-Cre* マウスは、新潟大学脳研究所の笹岡教授から供与された。

本研究は、東京工業大学遺伝子組換え実験等安全委員会、および、動物実験に関する倫理審査委員会による承認のもとに実施した。

C. 研究結果

Gch-ckO マウスは、体重がコントロールマウスより10~20%程度小さいことを除いて、外見上コントロールマウスと大きな違いは観察されな

った。中脳の Gch タンパク質量はコントロールの約半分に減少し、ビオプテリン量も半分に低下していた。また、Th タンパク質量は 20%にまで低下し、ドーパミン量もコントロールの約 30%に減少していた。また、ドーパをドーパミンに変換する芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素 (AADC) のタンパク質量にはコントロールと *Gch-cKO* マウスで違いは認められなかった。BH4 の減少に伴う Th タンパク質量の減少は、他の BH4 欠乏マウスでも観察されており、ドーパミンの減少に伴う Th タンパク質の不安定化が原因と考えている。

黒質線条体ドーパミンニューロンの投射先である線条体では、ビオプテリンやドーパミンの減少が細胞体のある中脳より顕著に現れており、*Gch-cKO* マウスの Gch とビオプテリンはコントロールの約 30%まで低下し、Th とドーパミンはコントロールの約 5%にまで減少していた。線条体でも AADC タンパク質量に大きな変化はなく、ドーパミンニューロンの変性は起きていないと考えられた。

Gch-cKO マウスの運動機能の変化を調べるために、オープンフィールド試験、ポール試験、ロータロッド試験を行った。いずれの試験においても *Gch-cKO* マウスはコントロールマウスより低い成績を示した。しかし、いずれの試験でもそれほど重篤な表現型は示さず、全体的に運動量が少ないながら、四肢の協調運動に障害がある様子は観察されなかった。尾懸垂試験でも異常な肢位はとらなかった。これらの結果は、*Gch-cKO* マウスがジストニアの表現型を示していないこと、寡動という点からはパーキンソニズムと考えられる表現型を示すことが明らかとなった。

D. 考察

Gch-cKO マウスがジストニアの表現型を示さなかったことから、BH4 欠乏がジストニアの表現型をもたらすものではないと考えられた。DYT5 におけるジストニア症状も、BH4 欠乏によりもたらされるドーパミンの減少が原因となり引き起こされたと考えられる。

ジストニアとパーキンソニズムという表現型の違いは、発達時期による大脳基底核の神経回路の違い、セロトニンなど他のニューロンの影響などが考えられ、今後更なる検討が必要である。

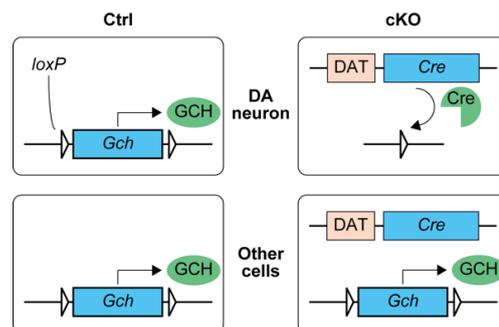


図 1、Gch-cKO マウスにおける遺伝子組換えの模式図

E. 結論

ドーパミンニューロン選択的に *Gch* 遺伝子が破壊されている *Gch-cKO* マウスは、線条体ドーパミンがコントロールの 5%に減少しており、脳内ドーパミン欠乏マウスとして有用であると考えられた。運動機能はコントロールマウスより低下しているが、ジストニアではなくパーキンソニズムの表現型を示していた。

F. 研究発表 (上記課題名に関するもの)

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 小川涼平、鈴木実乃里、原怜、一瀬宏、ドーパミンニューロン選択的テトラヒドロビオプテリン欠乏マウスを用いたドーパミン欠乏による運動障害の解析、第 25 回活性アミンに関するワークショップ、2023 年 8 月、久留米大学

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし