

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⁾、相田 莉奈¹⁾、本郷 祥子²⁾、他田 真理²⁾、笹岡 俊邦³⁾

¹⁾ 東京科学大学生命理工学院 ²⁾ 新潟大学脳研究所 病理学分野・脳疾患標本資源解析学分野
³⁾ 新潟大学脳研究所 動物資源開発研究分野

研究要旨

黒質線条体系ドーパミンニューロンの機能低下により動作緩慢・無動を示すパーキンソニズムが発症することが知られているが、ドーパ反応性ジストニア (DRD) 患者も脳内ドーパミンの不足が原因となりジストニアの症状が現れる。なぜ同じドーパミンニューロンの機能低下により異なる症状が現れるのか解明されていない。ドーパ反応性ジストニアのモデルマウスとして、DRD の原因遺伝子である GTP シクロヒドロラーゼ I (GCH) 遺伝子をドーパミンニューロン選択的に欠損させてドーパミン欠乏を示すマウスを作製し、運動機能の変化を解析した。また、近年 GCH 遺伝子変異からジストニアではなく痙性対麻痺を発症する患者が見出されており、本邦でみつけられた痙性対麻痺を発症した患者の世界で初となる剖検脳の生化学的解析を行い対照脳および既報の DRD 症例と比較検討した。

A. 研究目的

黒質線条体系ドーパミンニューロンの変性によるドーパミンの減少から動作緩慢・無動を示すパーキンソニズムの症状が現れることが知られているが、同じくドーパミンの低下により発症するドーパ反応性ジストニアでは不随意運動が現れる。同じドーパミンニューロンの機能低下により異なる症状が現れる理由は解明されていない。

我々はドーパ反応性ジストニア DYT5 の発症機序の解明とドーパミンによる運動機能調節機構を解明するために、DYT5 の原因遺伝子である GTP シクロヒドロラーゼ I (GCH) をドーパミンニューロン選択的に欠失させたマウスを作製した。GCH はドーパミン生合成律速酵素であるチロシン水酸化酵素 (TH) の補酵素であるテトラヒドロbiopterin (BH4) の生合成酵素であるため、ドーパミンニューロンで *Gch* を欠損したマウスでは、BH4 の不足からドーパミン生合成量が低下してドーパミン欠乏を示すと考えられる。本研究では、このマウスの

運動機能や表現型を調べてコントロールマウスと比較検討することにより、ドーパミン欠乏により引き起こされる運動機能の変化を解析することを目的とした。

また、近年 DYT5 と同じ GCH 遺伝子のヘテロ変異により痙性対麻痺 spastic paraplegia を発症する症例が複数例報告されている。本邦において同様の症状を示し遺伝子変異が同定された症例について、世界で初めてとなる剖検脳の解析が脳研究所病理学分野で行われた。この症例について、ジストニア発症例との違いを解析するために、生化学的な解析を行った。

B. 研究方法 (倫理面への配慮を含む)

Gch の遺伝子イントロン内に、DNA 組換え酵素 *Cre* の認識配列である *loxP* 配列を 2 カ所相同組換えにより組み込んだマウス (*Gch*^{f/f} マウス) はオックスフォード大学の Prof. Keith Channon 教授から提供された。Dr. Xiaoxi Zhuang により作製さ

れたドパミントランスポータ遺伝子座に DNA 組換え酵素 Cre を挿入した *DatCre* マウスが笹岡教授から提供され、*Gch^{f/f}* マウスと交配して *DatCre-Gch^{f/f}* マウスを作出した。

患者剖検脳の組織は脳研究所病理学分野・脳疾患標本資源解析学分野の他田教授から提供された。

本研究は、東京工業大学（現：東京科学大学）および新潟大学の遺伝子組換え実験等安全委員会、動物実験に関する倫理審査委員会、および、人を対象とする研究倫理審査委員会により審査・承認されてから実施した。

C. 研究結果

DatCre-Gch^{f/f} マウスは、野生型マウスより 10～20%体重が軽くやや身体が小さいが、成獣まで自律的に成長することができた。組織中ドパミン量は、細胞体のある中脳ではコントロールの約 40%、神経終末のある線条体では約 5%と線条体で顕著に減少していた。BH4 とドパミンの減少に伴い線条体 TH タンパク質量も線条体で著明に減少していた。一方、セロトニンやノルアドレナリンも生合成に BH4 を必要とするが、*DatCre-Gch^{f/f}* マウスの脳内各部位において有意な変化は認められず、ドパミンニューロン選択的な *Gch* 遺伝子の欠損が起きていると考えられた。

オープンフィールドテストにおいて、*DatCre-Gch^{f/f}* マウスはコントロールマウスより有意に移動距離が少なかった。しかし、ドパミンの著明な低下にも関わらず、無動を示すことはなく自発的な運動を続けた。ドパミン、ノルアドレナリン、セロトニンが全て野生型の 10%以下に低下しているセピアプテリン合成酵素欠損 (*Spr-K0*) マウスはうずくまったままほとんど自発的に動かないことと比べて違いは顕著であった。

痙性対麻痺を示した患者剖検脳および 10 例の対照脳において、ビオプテリン、ドパミン、TH タンパク質量、などを分析した。本患者では GCH のヘテロな変異のため正常な GCH アリルも残存しているはずであるが、患者の被殻ビオプテリンは対照群と比べると約 10%の量しか検出されなかった。ドパミン量も対照脳と比べて著明に低下していた。興味深いことに、被殻の中でも吻側より尾側においてドパミンの減少が著しかった。TH タンパ

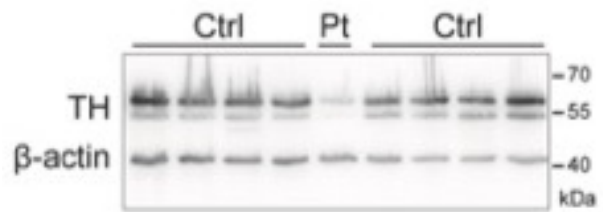


図 1.GCH 遺伝子変異を有し痙性対麻痺の症状を示した患者および対照患者剖検脳(被殻)の TH ウェスタンブロット解析

ク質量をウェスタンブロッティングにより解析した。図に示すように被殻尾側の組織ホモジネートにおいて、患者脳では TH タンパク質が著明に減少していることが示された。

D. 考察

DatCre-Gch^{f/f} マウスの解析からドパミンだけを欠乏させてもパーキンソン病でみられるような無動や振戦様の四肢の震えは観察されなかった。一方 *Spr-K0* マウスのようにドパミンだけでなくノルアドレナリンやセロトニンも低下させたマウスでは、*DatCre-Gch^{f/f}* マウスより明らかな運動量の低下を示した。これらの結果はパーキンソニズムの発症にドパミンだけでなく、ノルアドレナリンの減少も関与していることを示唆した。

痙性対麻痺を示した患者剖検脳の解析から、被殻尾側のドパミンの著明な減少に比べて吻側のドパミンが保たれていることが明らかとなった。運動野とループ回路を形成している被殻における尾側と吻側のドパミン量の違いが、本症例における痙性対麻痺の症状を示す原因となっていることが示唆された。被殻におけるドパミン量の違いをもたらした原因は明らかではないが、本症例と同じ遺伝子変異でジストニアを呈した症例も報告されていることから *GCH* 遺伝子型によるものではなく、何らかの他の遺伝的因子の影響や環境的要因が脳内ドパミン代謝に影響を及ぼしたことが想定された。

E. 結論

黒質線条体系ドパミンニューロンの機能低下によりパーキンソニズムやジストニアなど多様な運動障害が引き起こされる。これらの発症には、ドパミンだけでなく他のモノアミン神経伝達物質や、遺伝的・環境的相互作用などが複雑に影響

していると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hongo S, Ikeda T, Tada M, Aida R, Ozawa T, Hara N, Miyashita A, Nakajima T, Onodera O, Ikeuchi T, Ichinose H, Kakita A (2025) Novel Aspects of Hereditary Spastic Paraplegia: A Clinicopathologic and Biochemical Study of a Patient with a Heterozygous GCH1 Variant. *Neuropathol Appl Neurobiol* 51: e70006.

2. 学会発表

一瀬宏、瀬川病モデルマウスの表現型から考える
ジストニア・パーキンソニズムの発症機構，第 38
回日本大脳基底核研究会．2024 年 8 月、学士会館
（東京）．

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし