



TITLE:

Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Uemura, Norihito

CITATION:

Uemura, Norihito. Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (*Oryzias latipes*) displays axonal accumulation of alpha-synuclein. 京都大学, 2015, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2015-05-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19178>

RIGHT:

京都大学	博士（医学）	氏名	上村紀仁
論文題目	Viable neuronopathic Gaucher disease model in medaka (<i>Oryzias latipes</i>) displays axonal accumulation of alpha-synuclein (生存可能な神経型ゴーシェ病モデルメダカは軸索にアルファシヌクレイン蓄積を示す)		
(論文内容の要旨) 【背景】 パーキンソン病 (PD) は運動機能障害を主徴とする神経変性疾患で、病理学的には黒質線条体系ドパミン神経の選択的脱落と、アルファシヌクレイン (α -syn) を主要構成成分とする神経細胞内封入体 (Lewy 小体) の形成を特徴とする。我が国の患者数は 15 万人に上り、高齢化社会の進展に伴い今後も患者数の増加が予想されるが、現在のところ根本的な治療法や病状の進行を抑える治療法は開発されていない。 近年、ゴーシェ病の原因遺伝子である <i>glucocerebrosidase</i> (<i>GBA</i>) のヘテロ接合型変異が、孤発性 PD の強力な遺伝的リスクであることが示された。日本人においてはそのオッズ比は 28 で、PD 患者の 9.4% に <i>GBA</i> 変異が認められており、孤発性 PD の発症に極めて重要な遺伝的リスク因子であると考えられている。 小型魚類のメダカは、純系が存在し、全ゲノムが解読済、遺伝子改変が可能、飼育が容易であるなど実験動物として多くの利点を有する。これまでに、遺伝性 PD の原因遺伝子である <i>Parkin</i> と <i>PINK1</i> の二重変異メダカと、同じく遺伝性 PD の原因遺伝子である <i>ATP13A2</i> 変異メダカが、ドパミン神経細胞の進行性かつ選択的脱落を示すことが報告されている。 メダカは PD の研究において有用なモデルとなる可能性があり、 <i>GBA</i> 変異が PD 発症に繋がる機序の解明を、メダカを用いて試みた。 【方法】 Targeting Induced Local Lesions In Genomes (TILLING) 法にて <i>GBA</i> 欠失メダカを作製し、表現型を解析した。また、Transcription activator-like effector nucleases (TALENs) にて α -syn 欠失メダカを作製し、 <i>GBA</i> 欠失メダカと交配し表現型を解析した。 【結果】 TILLING ライブラリーのスクリーニングにて <i>GBA</i> ナンセンス変異体が見つかり、人工授精にて同変異体を作製した。脳を用いて <i>GBA</i> 酵素活性を測定したところ、同ホモ接合型変異 (<i>GBA</i> ^{-/-}) メダカは酵素活性を完全に欠損していた。ヒトやマウスでは <i>GBA</i> 酵素活性を欠損すると生後間もなく致死となるが、 <i>GBA</i> ^{-/-} メダカは月単位で生存し、病態の進行が観察可能であった。 <i>GBA</i> ^{-/-} メダカは 2 か月齢で回転する異常行動を示し、5 か月齢までに死亡した。3 か月齢で脳の病理学的な解析を行ったところ、ゴーシェ細胞様の細胞の浸潤、非選択的な神経細胞死と神経炎症を認め、これらはヒトの神経型ゴーシェ病に類似した病理像であった。また、神経細胞においてライソソームの異常と、オートファゴソームの蓄積を伴う軸索の腫脹を認め、同軸索の腫脹部に α -syn の蓄積を認めた。 さらに、 <i>GBA</i> ^{-/-} メダカにおいて α -syn の病態への関与を調べるため、TALENs にて α -syn 欠失 (<i>α-syn</i> ^{-/-}) メダカを作製した。しかし、 <i>GBA</i> ^{-/-} <i>α-syn</i> ^{+/+} メダカと比較して <i>GBA</i> ^{-/-} <i>α-syn</i> ^{-/-} メダカは生存期間、軸索の腫脹の形成、神経細胞死と			

神経炎症いずれにおいても改善を認めなかった。

【結論】 *GBA*^{-/-}メダカは月単位で生存し、新規神経型ゴーシェ病モデルとして、また本研究目的のモデルとして有用と考えた。病理解析結果から、同変異体における α -syn 蓄積の一因としてオートファジー・ライソソーム経路の障害を考えた。さらに、 α -syn が軸索に蓄積することから、 α -syn の軸索輸送がこの蓄積の病態に関与している可能性を考えた。しかし、*GBA* と α -syn の二重欠失メダカの解析から、*GBA*^{-/-}メダカにおける α -syn の病態への関与は確認できなかった。

(論文審査の結果の要旨)

パーキンソン病 (PD) は運動機能障害を主徴とする原因不明の神経変性疾患である。病理学的には黒質線条体系ドパミン神経の選択的脱落と、アルファシヌクレイン (α -syn) を主要構成成分とする神経細胞内封入体 (Lewy 小体) の形成を特徴とする。近年、ゴーシェ病の原因遺伝子である *glucocerebrosidase* (*GBA*) のヘテロ接合型変異が、孤発性 PD の強力な遺伝的リスクであることが示された。本研究はメダカをモデル動物として用いて、*GBA* 変異が PD を引き起こす病態の解明を試みた。

申請者らは *GBA* 欠失メダカを作製し、その表現型を解析した。*GBA* 欠失マウスは生後間もなく致命的となるのに対し、*GBA* 欠失メダカは月単位で生存し、病態の進行を観察することが可能であった。同変異メダカは 2 か月齢で回転する異常行動を示し、5 か月齢までに死亡した。3 か月齢で脳の病理学的な解析を行ったところ、非選択的な神経細胞脱落と神経炎症を認めた。また、神経細胞においてライソソームの異常とオートファゴソームの蓄積を伴った軸索の腫脹を認め、後者に一致して α -syn の蓄積を認めた。以上から、同変異体における α -syn 蓄積の病態としてオートファジー・ライソソーム経路の障害や、軸索輸送の障害の関与を考えた。

これらの結果は、*GBA* 欠失メダカが新規の神経型ゴーシェ病モデルとして、また PD の病態解明において、今後の研究に有用である可能性を示した。

以上の研究はパーキンソン病の解明に貢献し、将来的な治療法開発に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 27 年 5 月 8 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降