

クラス II ARFノックアウトマウスがライソゾーム病の症状を示すメカニズムを解明する



群馬大学テニュアトラック普及推進室 講師 定方 哲史

【目的】

我々が細胞内トラフィッキングに関与する●●●タンパク質のノックアウト (KO) マウスを作製したところ、中脳網様部特異的に、強い自家蛍光が見られることを見出した。波長特性からこの自家蛍光はリポフスチンであると考えられた。リポフスチンは、細胞質内の不飽和脂肪酸の過酸化によりライソゾーム内に形成される不溶性色素である。ライソゾームによって細胞内消化されたミトコンドリアの残余物質であり、加齢性色素あるいは消耗性色素とも呼ばれる。リポフスチンが脳内に蓄積する疾患はセロイドリポフスチノーシスと呼ばれ、ライソゾーム病に分類される。セロイドリポフスチノーシスは発育不全が認められ、急激な筋肉の収縮、けいれん、精神運動発達の障害を示す疾患である。一方、このマウスも頸部に強い振戦を示し (図1)、ライソゾーム病様の行動形質を示す。

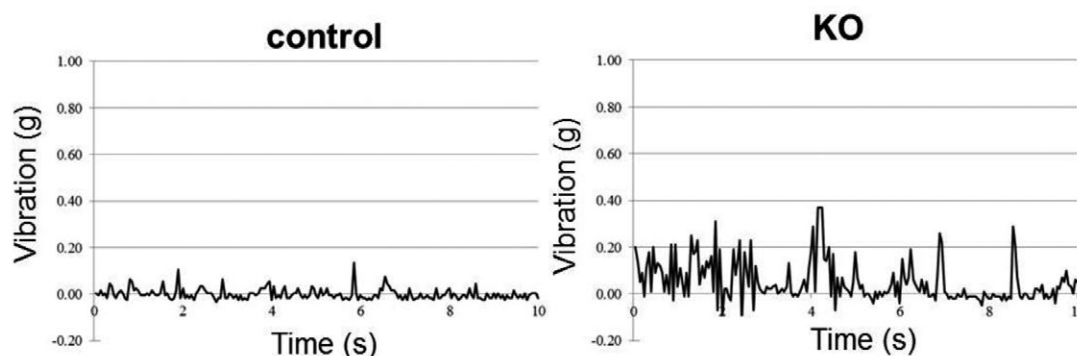


図1 マウスを尻尾で吊り下げた場合の震度

我々は●●●タンパク質のKOマウスの解析を行い、ライソゾーム病の発症メカニズムの解明と治療法の検討を試みた。

【結果】

我々は各種薬剤を用いて、振戦に対する効果を検討してきた。その結果、このKOマウスに β 遮断薬であるpropranololや抗てんかん薬であるgabapentinを投与すると振戦の軽減が見られた (図2)。

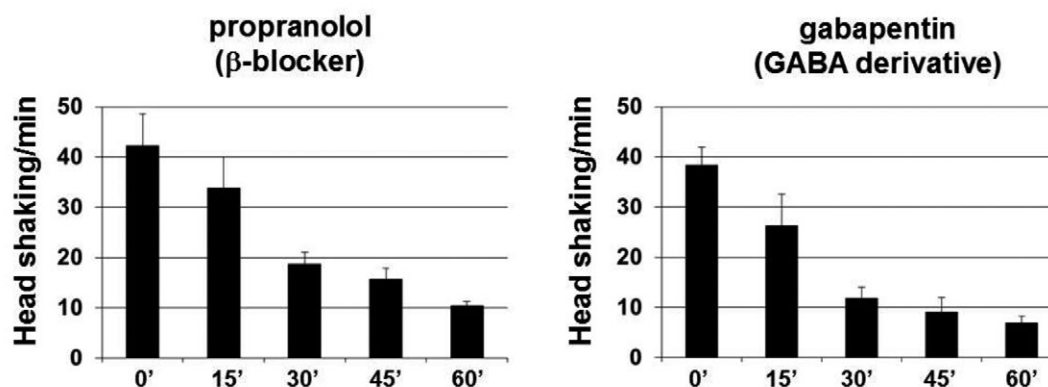


図2 propranololとgabapentin投与後の首振り回数

このマウス覚醒時の脳波（EEG）、筋電図（EMG）を測定したところ、安静時から姿勢を変える際（点線）に著しい振戦と異常脳波が観察された（図3）。

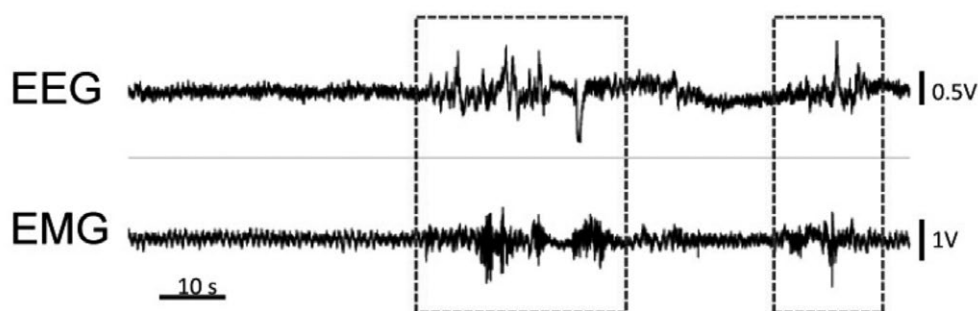


図3 覚醒時の脳波（EEG）、筋電図（EMG）

このKOマウスに関する解剖学的解析を行ったところ、小脳プルキンエ細胞の樹状突起上に野生型では見られないIP₃受容体の免疫染色性の大きな塊が見られた（図4）。これを電子顕微鏡にて観察したところ、多層化した小胞体のような異常な構造物が見られた（図5）。

また、小脳プルキンエ細胞の軸索起始部にある特定のNa⁺チャネル（Nav1.6）が消失していた。電気生理学的な解析を行ったところ、Na⁺チャネルの消失によると思われるプルキンエ細胞の活動性に異常な低下も見られた。さらに、小脳の体積の減少、プルキンエ細胞の樹状突起上におけるスパイン密度の増加、小脳登上線維の長さの減少等、解剖学的な異常が小脳において集中してみられた。

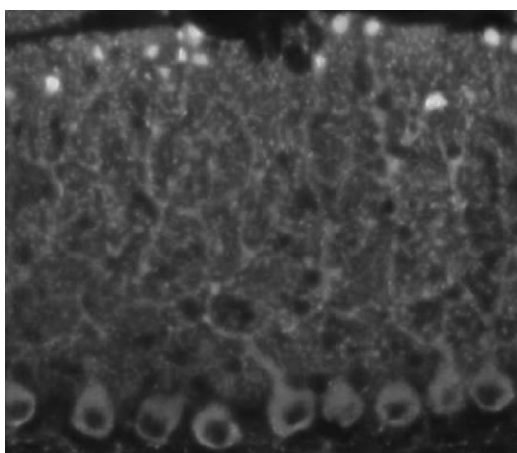


図4 小脳の IP₃受容体の免疫染色性

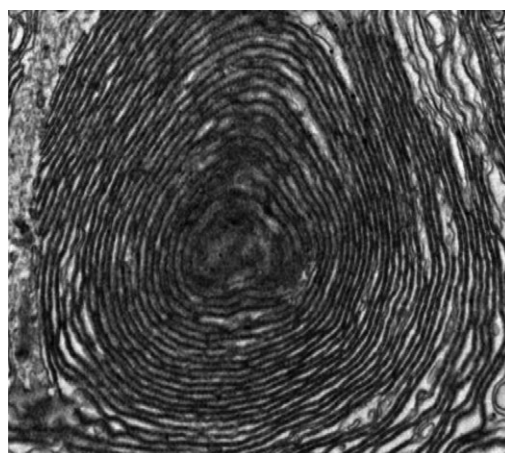


図5 小脳の多層化した小胞体の構造物

我々はアデノ随伴ウイルスにより、プルキンエ細胞特異的に●●●タンパク質を発現させた。その結果、解剖学的には、上記のプルキンエ細胞樹状突起上にあったIP₃受容体の免疫染色性の大きな塊が減少し、軸索起始部のNav1.6チャネルの免疫染色性が回復した。また、震戦の低減も確認された。

【考 察】

小脳に関しては、その機能異常は運動失調をもたらすと考えられており、振戦との結びつきに関しては反論する意見もあり、議論の的となっている。しかし、我々の結果から、小脳のプルキンエ細胞の異常が、ライソゾーム病で見られる振戦の主たる原因である可能性が高い。我々はさらなる詳細な解析を行うことで、振戦が起きるメカニズムの解明を試みる予定である。

【論 文】

Mayu Hosono, Yo Shinoda, Touko Hirano, Yasuki Ishizaki, Teiichi Furuichi, and Tetsushi Sadakata. *Neurosci Lett.* 617:p232-235 (2016).