

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	山 門 穂 高
論文題目	α -synuclein BAC transgenic mice as a model for Parkinson' s disease manifested decreased anxiety-like behavior and hyperlocomotion. (パーキンソン病モデルである α -シヌクレインBACトランスジェニックマウスは、不安の低下と運動量増加を呈した)		
(論文内容の要旨)			
【背景】パーキンソン病 (PD) の病態解明・治療開発に動物モデルが不可欠であるが、①ドパミン神経細胞死、②細胞内封入体 (レビー小体) の形成、③寡動を中心とする運動症状、これら全てを満たすマウスモデルは存在しない。近年、レビー小体の主要構成成分である α-シヌクレイン (α-syn) の遺伝子重複により発症する家族性 PD (PARK4) の存在や、GWAS の結果から、α-syn が孤発性 PD 発症にも重要であることが判明した。【目的】PD マウスモデルの作製と、ヒト α-syn 遺伝子の in vivo における遺伝子量効果を検証する。 【方法】細菌人工染色体 (bacterial artificial chromosome: BAC) を用いて、ヒト α-syn 遺伝子 (約 1 1 0 k b) の遺伝子発現調整領域を含んだ、約 1 9 0 k b のトランスジェニック (Tg) コンストラクトを調整し、ヒト α-syn BAC Tg マウスを作製した。1 2 か月・2 4 か月齢にて網羅的行動解析を、2 4 か月齢では生化学的・病理学的解析を行った。【結果】ホモ接合体 α-syn BAC Tg マウスは約 8 copy のヒト α-syn 遺伝子を持ち、マウス α-syn と比較し 2.7 倍の α-syn を発現した。ヒト α-syn は固有の遺伝子発現調整領域により、マウス中枢神経内でヒトと同様の発現分布を示した。2 4 か月齢 Tg マウスの解析では、ドパミン神経細胞死やパーキンソン症状を認めず、脳内カテコラミン含有量やドパミン神経終末蛋白量、中脳黒質 tyrosine hydroxylase 陽性細胞数も野生型と比し、減少を認めなかった。しかし 1 2 か月・2 4 か月齢での行動解析において、オープンフィールド試験や高架式十字路試験で運動量の増加や不安の低下という精神行動異常を認め、前脳部セロトニントランスポーター (serotonin transporter: SERT)、線条体ドパミントランスポーター (dopamine transporter: DAT) の発現量が増加していた。【考察】ヒト α-syn 遺伝子重複による家族性 PD とほぼ同等の α-syn 発現量にも関わらず、ヒト α-syn BAC Tg が PD を発症しなかった理由として、1) マウスの寿命が神経変性を生じるには 2 年と短いこと、2) マウスのドパミン神経細胞が α-syn 毒性に対して抵抗性であること、などが考えられた。運動量の増加や不安の低下という行動異常について、認知機能障害やセロトニンの有意な低下を認めず、SERT・DAT それぞれの Tg マウス・KO マウスの表現型を考慮すると、SERT の増加が一因と推測された。一方、α-syn は神経伝達物質放出抑制にも			

関与している報告もあり、他の神経伝達物質異常の要因も除外できない。転写亢進を伴わない SERT の発現量増加に関しては、 α -syn の存在下で DAT 発現量が増加する endocytic recycling pathway の知見からも、 α -syn との共通のメカニズムを介した相互作用の結果と考えられた。一般に PD 患者においては、不安は増強しているとの報告が多いが、病前性格に関しては、結論が出ていない。ヒト α -syn BAC Tg マウスにおける不安の低下は α -syn の in vivo における遺伝子量効果を反映している可能性がある。【結論】ヒト α -syn を用いた BAC Tg マウスは、PD の発症モデルとはならなかった。しかし SERT 発現量増加を伴う不安の低下を認め、 α -syn の遺伝子量効果を反映した精神行動異常の可能性があり、創薬における in vivo モデルとしても有用と考えられた。
(論文審査の結果の要旨)
パーキンソン病 (PD) の病態解明・治療開発に動物モデルが不可欠であるが、PD の臨床症状、病理所見を再現したマウスモデルは存在しない。近年、遺伝性 PD の原因遺伝子であるアルファシヌクレイン (α -syn) の発現量増加が孤発性 PD の発症にも重要であることが判明している。モデル動物作製のため、細菌人工染色体 (BAC) を用いて、ヒト α -syn 遺伝子の遺伝子発現調整領域を含んだ、ヒト α -syn BAC Tg マウスを作製した。このマウスは、内因性マウス α -syn と比較し 2. 7 倍の α -syn を発現したが、その発現分布はヒトやマウスの内因性 α -syn と同様であった。高齢マウスの解析では、ドパミン神経細胞死やパーキンソン症状を認めなかったが、オープンフィールド試験や高架式十字路試験では運動量の増加や不安の低下という精神行動異常を認め、後者は前脳部セロトニントランスポーターの発現量増加との関連が示唆された。PD 患者において不安は増強しているとの報告が多い。当マウスにおける不安の低下は発症前の α -syn の in vivo における遺伝子量効果を反映している可能性がある。またヒト α -syn 遺伝子の転写抑制を目的とした創薬において、当マウスは in vivo モデルとして有用と考えられた。
上記の研究は、パーキンソン病の病態解明に寄与し、将来的な治療法開発に寄与するところが大きい。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 2 4 年 5 月 3 1 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。