

との相関ははっきりしない。*parkin* 遺伝子異常のみが民族を越えて世界に幅広く認められ、その頻度はARPDの約50%と報告されている^{4,5)}。

病状の発症は40歳以下が多いが6~72歳と幅がある。ARの家族歴をもつ家系が多いが、家族歴のない早期発症例の報告も少なくない。孤発性PDの特徴に加え、症状の日内変動、下肢優位のジストニア、l-dopa開始後早期のジスキネジア (peak dose of dyskinesia)、睡眠効果、深部腱反射亢進などの特徴を有する。痴呆はない。出現頻度は自律神経症状60%、経過中のジストニア78%、精神症状56%、睡眠効果63%とする報告がある⁶⁾。10歳以下の発症で、ジストニアを呈する症例は瀬川病(dopa responsive dystonia; DRD)との鑑別が重要である。ジストニアが初発である場合整形外科を受診するケースも多い。経過は数十年と長いにもかかわらず、onの時Yahr3、offの時Yahr4を越えるような重症例は少ない⁶⁾。精神症状に関してはパーキンソニズムの発症前に精神症状が先行しているケースもある⁶⁾。精神症状としては、うつ病が多いが、パラノイア、不安神経症、神経性食欲不振症の報告もある。キャリア(ヘテロ接合体で*parkin* 遺伝子異常を認めるがパーキンソニズムは認めない)において精神症状がでやすいとする報告がある⁶⁾。

parkin は単離されて以来、精力的にその機能解明が追究されてきた。異なる民族を共通して高頻度に認めておりPDの発症メカニズムを解明する際の中核となる蛋白といえる。その実体はubiquitin-proteasome system (UPS) で働くE3であり、Loss-of-function効果で*parkin* の基質にポリユビキチン鎖が付加されないために、プロテアソームにより分解されないことが予想される。これまでに基質候補としてCDCrel-1, Pael-receptor, o-glycosylated α -synucleinなど10種類の分子が基質候補としてあげられている。若年発症でありながら、その長期予後はYahr4を一般に越えないという比較的良性的経過を辿る。細胞変性をきたすメカニズムにおいてどの

ような中心的役割をなしているのか非常に興味深い蛋白質である。また神経病理学的にレビー小体が一般に存在しないことから、その形成機序に必要な役割をなしている可能性があり、今後の更なる追究が期待される。

3) *DJ-1*

ヨーロッパのARの家系を対象とした連鎖解析により1p36にマップされ、2002年Bonifatiらにより原因遺伝子として*DJ-1* 遺伝子が同定された⁷⁾。オランダの家系においてexon1から5にまたがる2,000bpの広範な欠失が見いだされ、イタリアの家系にてL166Pの点変異が認められた。*DJ-1* 遺伝子は全長23.5Kb、189のアミノ酸から構成され、脳も含め体内の各組織にユビキタスに発現している。RNA binding proteinの調節因子、さまざまな転写因子を調節するSUMO-1 ligaseとの結合、さらに酸化ストレスに対する防御的作用などが指摘されているが全貌は明らかでない。

追試により、海外で点変異5例、欠失2例を認めているが、大規模調査にても陰性例が多く、稀な変異である可能性が示唆されている⁸⁾。当研究室においてもアジアのARPDを対象にハプロタイプ解析を施行し、PARK7に連鎖している家系を6家系見いだしたが*DJ-1* 遺伝子変異は認めていない(論文投稿中)。*DJ-1* 遺伝子変異の患者は、発症は平均 34.6 ± 9.2 歳でPARK2に類似した臨床症状を呈する。神経症や精神症状(不安神経症、パニック発作、幻覚)を伴うことが報告されているが、症例数が少なく今後の検討が必要である。

4) *PINK1*

(1) *PINK1* 遺伝子異常の発見

シシリア島のARの家系を対象とした連鎖解析により1p35-36にLocusが絞られ、候補遺伝子の変異解析により*PINK1* (PTEN Induced Putative Kinase 1) 遺伝子異常が2004年4月に報告された⁹⁾。イタリアの2家系にノンセンス変異W437X、スペインの1家系にG309Dが認められた。我々も

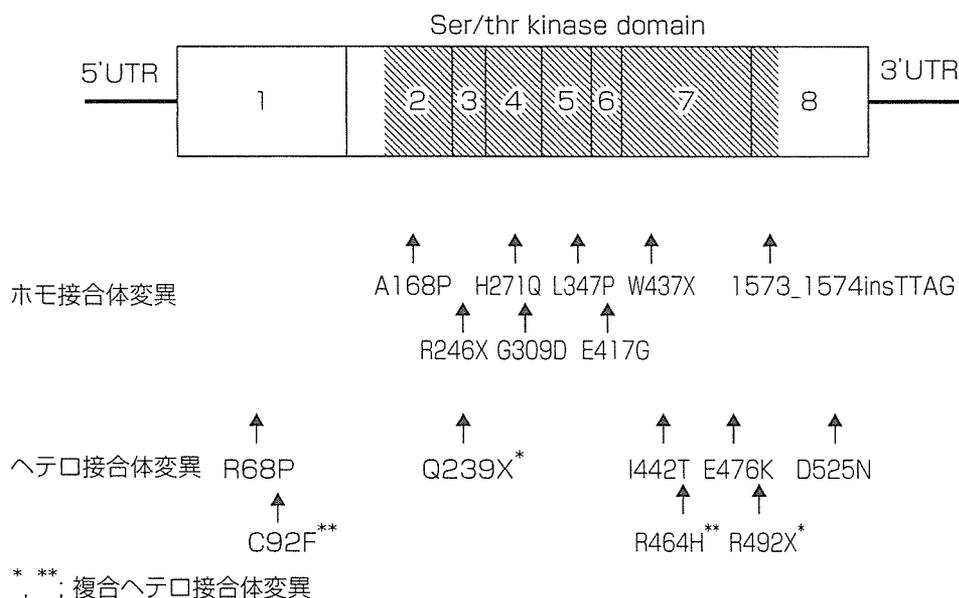


図 1. PINK1 遺伝子変異

アジアのARPDの家系を対象にハプロタイプ解析を施行し、1p35-36に連鎖する家系を8家系認め¹⁰⁾、そのLOD scoreが9.88と高く濃厚な連鎖が示唆された。その原因遺伝子同定のためその領域に存在する候補遺伝子のスクリーニングを行い、イタリアの研究室に先手を越されたが別にPINK1が原因遺伝子であることを突き止めた。8家系のうち6家系（日本R246X, H271Q, E417G, イスラエルR246X, フィリピンL347P, 台湾Q239X/R492X）にPINK1の病的変異を見いだした¹¹⁾。

点変異が主体であり、挿入の報告は一例、欠失は今のところない（図1）。また日本とイスラエルにて同様の変異（R246X）を認め、ハプロタイプ解析にても創始者効果は否定的であり、変異のホットスポットである可能性がある¹¹⁾。変異の多くはセリン/トレオニンキナーゼドメインに集中して存在する。また、ホモ接合体ミスセンス変異の箇所は、機能ドメインを推測する上で重要な箇所であると予想される。早期発症の孤発型（50歳以下）においてはヘテロ接合体での変異も報告されている¹²⁾。報告された症例数は約20例と未だ少ないが、報告されたなかでは、変異のタイプと臨床症状の重症度との相関ははっ

きりしない。今後プロモーター、イントロンの解析、exon rearrangementの定量などの追究が期待される。

PINK1はUnokiらにより癌関連遺伝子であるPTENを活性化した際に高発現する遺伝子として単離された。PINK1遺伝子は581のアミノ酸からなり、マウスと95%の相同性をもつことから種間を共通して保存されている重要な蛋白であると予想される。構造上、最初の34のアミノ酸残基にミトコンドリア移行シグナルをもち、後半の大部分をカルモジュリンファミリーのセリン/トレオニンキナーゼドメインが占める。全長1.4Mbの巨大なparkin遺伝子に比し、PINK1遺伝子は18kbである。これまでにミトコンドリアへの局在、及びストレスにより引き起こされるミトコンドリアの機能障害とアポトーシスの誘導に対して保護的に働いていることが実験的に示されているが、詳細な機能は未だ不明である⁹⁾。

(2) PINK1 遺伝子異常をもつ若年性パーキンソンニズム

これまでにイタリア5家系、日本3家系、スペイン、フィリピン、台湾、イスラエルそれぞれ1家系ずつの報告がある。まだ症例数が少なく、人種間における差異、頻度など明確な点は

表 2. ARPD の臨床的特徴

原因遺伝子	<i>parkin</i>	<i>DJ-1</i>	<i>PINK1</i>
発症年齢	40 歳以下が多い	27 ~ 40 歳	18 ~ 48 歳
報告数	多数	7 例	20 例
遺伝形式	AR	AR	AR
臨床的特徴			
睡眠効果	+	-	-
ジストニア	+	+	-
腱反射亢進	+	-	-
日内変動	+	-	-
痴呆	-	-	-
レボドパの有効性	+	+	+
蛋白の機能	ユビキチンリガーゼ	抗酸化作用?	キナーゼ?

表 3. PINK1 遺伝子変異をもつ ARPD の臨床的特徴

発症年齢 (歳)	31.7 ± 7.96 (18 ~ 48)	(n = 19)
罹患年数 (年)	17.1 ± 6.84 (2 ~ 29)	(n = 18)
性差	男 : 女 = 8 : 11	(n = 19)
臨床症状		
安静時振戦	77.7%	(n = 18)
固縮	94.1%	(n = 17)
無動	100%	(n = 18)
姿勢反射障害	58.8%	(n = 17)
l-dopa への反応性	100%	(n = 18)
発症時の症状の左右差	76.4%	(n = 17)
ジスキネジア	83.30%	(n = 18)
睡眠効果	35.20%	(n = 17)
発症時のジストニア	16.60%	(n = 18)
腱反射亢進	35.2%	(n = 17)
精神症状	23.5%	(n = 17)
痴呆	5.5%	(n = 18)

不明であるが、アジアを中心に変異を認めているのは事実である。日本では *parkin* について多い遺伝子異常である可能性がある。*parkin* 遺伝子異常を認めない ARPD のうち、約 3~4% が *PINK1* 遺伝子異常をもつと考えられる。その臨床型は、発症年齢は平均 32 ± 7.87 歳、罹患期間平均 17.5 年、l-dopa が奏功し、Park2 に比し発症時のジストニア、睡眠効果、日内変動、腱反射亢進を呈する症例は少ない傾向がある (表 2, 3)。自律神経症状、痴呆は稀である。眼球運動障害、病的反射、小脳失調の合併はない。精神症状は稀ではあるが、一部の患者に発症前に統合失調症様

症状、うつ状態を認めている。若年の発症で孤発型に類似した臨床症状であれば *PINK1* 遺伝子異常を検索する必要があると思われる。イタリアのホモ接合体変異の家系において ^{18}F -dopa の線条体での取り込み低下が認められている¹²⁾。心筋シンチ、SPECT の報告は未だない。剖検例もなく、Lewy 小体が存在するかどうかは不明である。

5) ヘテロ接合体変異の意義

parkin, *DJ-1*, *PINK1* いずれにおいても家族歴のない早期発症の PD においてヘテロ接合体変異をもつ患者が存在する。変異を一方のアレルにしか持たないことの意義は、変異アレルのドミ

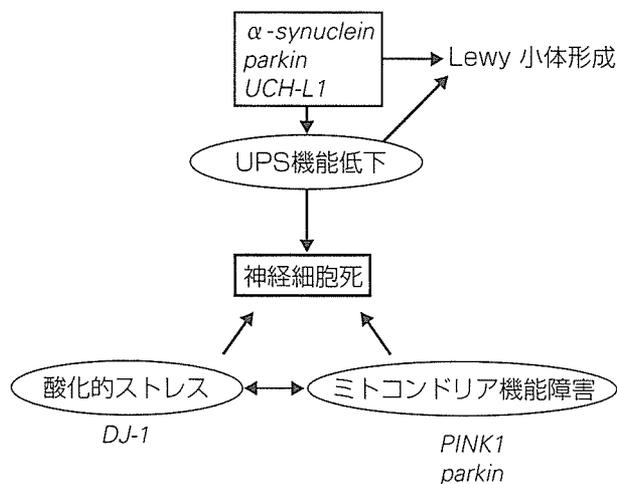


図2. 家族性パーキンソニズムの発症機序

ナントネガティブ効果かハプロ不全が、その機序として推定される。ARPD家系のキャリアにおいて軽症ではあるもののparkinsonismや精神症状を認める例が存在すること、*parkin*、*PINK1* 遺伝子変異のキャリアでの¹⁸F-dopaの線条体での取り込み低下を認めていることなどより、PD発症のrisk factorであろうと考えられている¹²⁾。環境要因や他の遺伝学的要因が重なり発症に結びつくのであろう。ヘテロ接合体でも発症することは、ARPDの家族への遺伝的カウンセリングにおいて慎重に対応すべき点である。

6) その他の遺伝子異常

ADの家系において認められた原因遺伝子に*UCH-L1*と*Nurr1*があるが、追試の報告はなく、非常に稀な変異である可能性がある。*UCH-L1*はユビキチンリガーゼ活性を持つとの報告もありUPSでの機能解明が期待される。家族性パーキンソニズムの原因遺伝子産物は酸化ストレス、UPS機能低下、ミトコンドリア機能低下との関連性が指摘されている(図2)⁵⁾。これらは同時にPD発症の誘因としても注目されており、遺伝性と孤発型が共通したカスケードを持つことが示された。

その他、2004年11月に*PARK8*の原因遺伝子として*LRRK2/dardarin*が報告された^{13,14)}。アメリカ、ヨーロッパの11家系にてミスセンス変異を

認め、その後の追試にて孤発例においても認めており、頻度の高い遺伝子変異である可能性がある。日本を始め今後の検討が期待される。

7) 治療薬の開発

原因遺伝子に対応した治療方針は今のところ確立されておらず、一般的に発症年齢、生活背景、副作用を考慮しレボドパ、アゴニスト、アマタジン、ドロキシドパ、セレギリンを使い分けるのが主流である。FPDは若年発症例が多く、レボドパの長期副作用を避けるためにアゴニスト単剤で治療するケースが多いと思われる。*Parkin*や*PINK1* 遺伝子異常をもつARPDではパーキンソニズム発症前に精神症状を認めている症例もあり、抗精神病薬の投与により薬剤性パーキンソニズムとして診断・治療されている可能性があり注意を要する。何れにしろ若年発症のパーキンソニズムでは、家族歴がなくとも遺伝子検索をすることが望ましい。

若年発症ということ考虑した場合、根本治療の開発が重要である。1つの治療選択として遺伝子を補充するreplacement therapyがあげられよう。ARPDであることよりこのreplacement therapyは実現性の高い治療と言える。一方で、*PINK1*を焦点にあてればミトコンドリア保護剤の開発、*DJ-1*については抗酸化剤、*Parkin*では、ユビキチン・プロテアソーム系関連剤と個々遺伝子の持つ機能から治療薬開発の戦略が考えられる。

おわりに

上記の既存の遺伝子異常を認めない家族性パーキンソン病の患者も数多く存在する。ゲノムワイドな連鎖解析、その候補領域の検討も行われており、新規遺伝子座の発見も待たれる。またSNPによる薬剤の個体での反応の差異、原因遺伝子に対応した薬剤の選択法など、遺伝子レベルでのオーダーメイド医療に基づく治療方針の確立も近い将来に可能になると推定される。今後

さらに飛躍的に進歩しPD発症の病態解明, 治療へと結びつくことを期待する。

追記) 本稿の執筆中にノーベル化学賞の発表があった。本年度はユビキチンの発見が受賞対象となり, アーロン・チカノバー(イスラエル), アブラム・ハーシュコ(イスラエル), アーウィン・ローズ(アメリカ)が受賞した。Parkinは, まさしくユビキチン・プロテアソーム系のユビキチンリガーゼであり, 神経変性疾患において初めてこの系が直接的に関与していると証明された遺伝子産物である。多くの変性疾患でユビキチン陽性封入体が観察されることから, この系の重要性が推測される。

謝辞 遺伝子診断にご協力下さった患者さんとそのご家族, 並びにDNA及び臨床情報をご提供いただいた山村安弘先生(広島大学脳神経内科), 朝比奈正人先生(千葉大学神経内科), 篠遠仁先生(旭神経内科病院), 小林奏先生(北野病院), Dr. Arlene NG(鹿児島大学第三内科), Dr. Rosales RL(Santo Tomas University), Dr. Lu CS(Chang Gung Memorial Hospital), Dr. Hassin S(Chaim Sheba Medical Center)に深謝いたします。

文 献

- 1) Farrer M, et al: Comparison of kindreds with parkinsonism and alpha-synuclein genomic multiplications. *Ann Neurol* 55: 174-179, 2004.
- 2) Ibanez P, et al: Causal relation between alpha-synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease. *Lancet* 364 (9440): 1169-1171, 2004.
- 3) Kitada T, et al: Mutations in the *parkin* gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 392: 605-608, 1998.
- 4) Lücking CB, et al: Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the *parkin* gene. *N Engl J Med* 342: 1560-1567, 2000.
- 5) Hattori N, Mizuno Y: Pathogenetic mechanisms of parkin in Parkinson's disease. *Lancet* 364 (9435): 722-724, 2004.
- 6) Khan NL, et al: Parkin disease: a phenotypic study of a large case series. *Brain* 126 (Pt 6): 1279-1292, 2003.
- 7) Bonifati V, et al: Mutations in the *DJ-1* gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299: 256-259, 2003.
- 8) Hedrich K, et al: *DJ-1* (*PARK7*) mutations are less frequent than *Parkin* (*PARK2*) mutations in early-onset Parkinson disease. *Neurology* 62: 389-394, 2004.
- 9) Valente EM, et al: Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in *PINK1*. *Science* 304: 1158-1160, 2004.
- 10) Hatano Y, et al: *PARK6*-linked Autosomal Recessive Early-Onset Parkinsonism in Asian Populations. *Neurology* 63: 1482-1485, 2004.
- 11) Hatano Y, et al: Novel *PINK1* Mutations in Early-Onset Parkinsonism. *Ann Neurol* 56 (3): 424-427, 2004.
- 12) Valente EM, et al: *PINK1* mutations are associated with sporadic early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 56 (3): 336-341, 2004.
- 13) Zimprich A, et al: Mutations in *LRRK2* cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 44 (4): 601-607, 2004.
- 14) Paisan-Ruiz C, et al: Cloning of the gene containing mutations that cause *PARK8*-linked Parkinson's disease. *Neuron* 44 (4): 595-600, 2004.

＜シンポジウム 5—4＞パーキンソン病の病態と治療

パーキンソン病の発症機序：parkin と α -synuclein の
共通カスケードと新規 Lewy 小体構成蛋白

服部 信孝 町田 裕 野田 和幸

(臨床神経, 45 : 905—907, 2005)

Key words : パーキン, α -シヌクレイン, ドーパ・ドパミンキノン, リン酸化, IkappB

はじめに

パーキンソン病 (PD) のほとんどは遺伝性のない孤発型であるが、一部家族内発症をみとめる遺伝性 PD (FPD) が存在する。単一遺伝子異常で選択的黒質神経細胞死が惹起されるため、その病態解明は孤発型 PD の病態解明にも繋がると考えられており、現在もっともホットな研究領域となっている。FPD は現在のところ SNCA (Park1)-Park11 までマップが決まっており、そのうち Park1, 2, 4, 5, 6, 7, 8 の原因遺伝子が同定されている。興味深いことに FPD の病理像が多彩であり、Lewy 小体がみとめられたり存在しなかったり、あるいはタウオパチーの病理像をも兼ね備えているタイプもあり、単一遺伝子異常とはいっても、単にドパミン神経細胞死のみならず Lewy 小体形成の発症機序やタウ蛋白の蓄積まで多くの情報を提供してくれる。本稿では、Park2 の病態から選択的ドパミン細胞死について焦点を当て、更には Lewy 小体に存在する新規蛋白の解析からその形成メカニズムまでを解説したい。

1. Park2

Park2 の特徴的な臨床症状としては、1) 日内変動をみとめるパーキンソニズム 2) levodopa の反応が著効 3) 睡眠効果 4) 薬物療法早期からのジスキネジア 5) 痴呆をみとめない 6) 自律神経症状をみとめない 7) 下肢優位のジストニア 8) 腱反射の亢進(早期)を特徴とし、神経病理学的には黒質の選択的変性が主体で、青斑核の変性はあっても軽い。特筆すべき点は、Lewy 小体のみとめないことである。つまり選択的ドパミン神経細胞死解明のモデルとして有効であると考えられており、遺伝子産物である parkin の機能解明がその鍵を握っていると推定されている¹⁾。また一般に Lewy 小体が観察されないことから、parkin が Lewy 小体形成上必須因子であるともいえる。Parkin の機能解析は、i) 選択的ドパミン神経細胞死、ii) Lewy 小体形成のメカニズムに大きな情報を与えてくれるものと信じている。

2. 選択的ドパミン神経細胞死のメカニズム

Parkin の機能については、ユビキチンリガーゼであることがわかっており²⁾、loss-of-function 型変異効果でリガーゼ活性が低下することで parkin の基質が蓄積して細胞死が惹起されると推定されている。ユビキチン化には、48 番目のリジンにポリユビキチン鎖が付加されるばあいと 63 番目のリジンに付加されるばあいが parkin で報告されている³⁾。48 番目のリジンが付加サイトになるばあいは蛋白分解系に関与し、63 番目の付加サイトのばあいは、endocytosis や DNA 修復などその機能については不明なことが多い。Parkin の基質は多数報告されており、しかも同じ基質であっても 48 番目と 63 番目のリジン残基にポリユビキチン鎖の付加が報告されており、詳細な機能については依然不明である。

Park2 の病態を考えるばあい、同定されている基質から推定するのが妥当であろう。Parkin の基質からその病態として想定されていることは、ER ストレス、exocytosis の低下、 α -synuclein の関与から Lewy 小体形成との関連が指摘されている⁴⁾。蛋白分解系からのアプローチが盛んにおこなわれたが、候補となっている基質のヒト剖検脳内における蓄積は確認されていない。つまり単に基質候補を中心とした生化学的・分子生物学的アプローチでは真の原因究明には限界がある。更に parkin ノックアウトマウスの解析では、細胞脱落が生じないこと行動異常を観察しないことよりマウスを使った解析でも限界がある⁵⁾。

そこで *in vitro* で parkin 蛋白をノックダウンすることで Park2 の病態を検討した。ノックダウンには、RNAi、アンチセンス strand を使った方法があるが、神経細胞が分裂終了細胞であることより、parkin アンチセンス strand を組み込んだアデノウイルスベクターをもちい検討を加えた⁶⁾。まず神経細胞腫でありドパミン神経様特徴を持ち合わせる SH-SY5Y 細胞を使い、titer 依存性に細胞死が誘導されることを確認し、次にこのアンチセンス strand の効果が細胞特異性があるか検討した。その結果、このアンチセンス効果は、SH-SY5Y 細胞に細胞死は誘導できたものの、同じくヒト由来子宮頸ガ

ン由来 HeLa 細胞には細胞死を誘導できなかった。このことはアンチセンス効果が神経特異的であることが予想された。マウス由来の細胞では、よりドパミン神経様特徴を持った細胞の方がアンチセンスによる細胞死が誘導されやすいことがわかった。SH-SY5Y 細胞は、レチノイン酸で神経細胞様に分化するが、レチノイン酸による分化誘導の有無では、神経細胞様に分化させた方が、よりアンチセンス strand による細胞死効果が強く出現した。またアンチセンスを加えた後にセンス strand を加えると細胞死の誘導は抑制された。つまりアンチセンスの効果は、parkin 遺伝子発現に特異的に起こっているといえる⁶⁾。

なぜドパミン神経細胞様特徴を持つ SH-SY5Y 細胞に神経細胞死が誘導されたのか? Park2 には一般に Lewy 小体形成が観察されない。この Lewy 小体形成には α -synuclein の関与が推定されており、その形成にドーパ・ドパミンキノン (Dopa/DA-quinone) の関与が指摘されていた。ドパミン神経細胞死も説明する上でもドーパ・ドパミンキノンの関与を想定することが大事であると考えた。ドーパ・ドパミンキノンは、ドパミンから自動酸化によりセミキノン・キノンが産生される。このキノンに注目して parkin アンチセンスの効果は、このキノン体増加にあることをみいだした。キノン体はとも不安定な分子であるため安定分子であるドーパ・ドパミンクロムを測定し、アンチセンス効果がこのキノン体増加にともなうものであることがわかった⁶⁾。

興味深いことに野性型 α -synuclein を組み込んだアデノウイルスベクターを感染させることよりアンチセンスによる細胞死が抑制された。この抑制効果は、変異型 α -synuclein では、観察されなかった。SH-SY5Y 細胞は、内在性 α -synuclein がきわめて少なくノックダウンされている状態といえる。これら実験成果は、Park1, 4 が蛋白分解の低下が蛋白の発現レベル増加が発症において重要な因子であることと併せて、 α -synuclein が dual function を示すことが考えられる。つまり α -synuclein は濃度が高くても低くても細胞毒性を示すことが仮説として考えられる。ここで強調したいのはドパミン神経細胞死にドパミンの自動酸化により産生されるドーパ・ドパミンキノン体が細胞死の実行分子であったこと、そして Park1 と Park2 の遺伝子産物が同じカスケードを共有していたことである⁶⁾。

3. Lewy 小体形成のメカニズム

PD を理解する上でこの封入体形成のメカニズムは重要なヒントになる。Park2 では一般に Lewy 小体形成をみとめない。孤発型 PD と同じ選択的ドパミン細胞死でありながら、形成をみとめないのを特徴とする。つまりドパミン神経細胞死は封入体形成をともなわなくとも起こりうるということが確認されたといえる。現在この封入体形成については細胞毒性であるとする仮説があるものの神経保護的に作用するとする仮説が有力である。では本当に封入体は細胞保護に作用するのか?

われわれは、ヒト PD 剖検脳で新規 Lewy 小体に存在する

I κ B α をみいだした。この分子は neuroinflammation に関与しており、I κ B α と結合する分子 NF- κ B が PD では核移行すると報告されている⁷⁾。しかもこの分子はリン酸化されることでポリユビキチン化され、その結果プロテアソームですみやかに分解される。Parkin の発見により、プロテアソームの関与が、 α -synuclein のリン酸化の関与で細胞死とリン酸化の問題が注目されており⁸⁾、両因子に関与する分子 I κ B α が Lewy 小体に局在していたことは興味深い。I κ B α に関与する分子として Cullin-1, SCF complex, ROC1 も Lewy 小体に存在していた⁹⁾。SH-SY5Y 細胞にプロテアソーム阻害剤を加えると細胞内封入体形成が観察されるが、この時の封入体構成成分にも I κ B α をはじめとする先にあげた関連分子すべての分子が存在していた。I κ B α はリン酸化されることでポリユビキチン化され分解されるが、このリン酸化酵素である I κ B kinase (IKK) を阻害するペプチドを作製し、IKK を抑制した¹⁰⁾。IKK を阻害することで確かに封入体形成は抑制されたが、細胞死にはほとんど影響を与えなかった。少なくとも ubiquitin 陽性かつ I κ B α 陽性封入体は減じたが細胞死には影響を与えなかった。ここで特筆すべき点として I κ B α と α -synuclein の動向は必ずしも並行しなかったことである。このことは α -synuclein の封入体への局在はプロテアソーム阻害だけではおきないのかもしれない。

おわりに

FPD の病態は孤発型を反映していることはまちがいないであろう。今後も新規遺伝子が単離・同定されるであろうが、おそらく同じカスケードを形成しているものと考えている。FPD が示唆してくれるものを究明すれば必ずや FPD のみならず孤発型 PD の解明もそう遠くない将来に現実的となろう。

文 献

- 1) Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al : Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998 ; 392 : 605—608
- 2) Shimura H, Hattori N, Kubo S, et al : Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000 ; 25 : 302—305
- 3) Lim KL, Chew KC, Tan JM, et al : Parkin mediates non-classical, proteasomal-independent ubiquitination of synphilin-1 : implications for Lewy body formation. *J Neurosci* 2005 ; 25 : 2002—2009
- 4) Hattori N, Mizuno Y : Pathogenetic mechanisms of parkin in Parkinson's disease. *Lancet* 2004 ; 364 : 722—724
- 5) Goldberg MS, Fleming SM, Palacino JJ, et al : Parkin-deficient mice exhibit nigrostriatal deficits but not loss of dopaminergic neurons. *J Biol Chem* 2003 ; 278 : 43628—43635

- 6) Machida Y, Chiba T, Takayanagi A, et al : Common anti-apoptotic roles of parkin and alpha-synuclein in human dopaminergic cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 332 : 233—240
- 7) Hunot S, Brugg B, Ricard D, et al : Nuclear translocation of NF-kappaB is increased in dopaminergic neurons of patients with parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997 ; 94 : 7531—7536
- 8) Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, et al : alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002 ; 4 : 160—164
- 9) Noda K, Kitami T, Gai WP, et al : Phosphorylated Ikap-paBalpha is a component of Lewy body of Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2005 ; 331 : 309—317
- 10) May MJ, D'Acquisto F, Madge LA, et al : Selective inhibition of NF-kappaB activation by a peptide that blocks the interaction of NEMO with the IkappaB kinase complex. *Science* 2000 ; 289 : 1550—1554

Abstract

Pathogenesis of Parkinson's disease : a common pathway between α -synuclein and parkin and the mechanism of Lewy bodies formation

Nobutaka Hattori, M.D., Yutaka Machida, M.D. and Kazuyuki Noda, M.D.
Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine

Parkin, a product of Park2 gene, is an important player in the pathogenic process of Parkinson's disease (PD). Despite numerous studies including search for the substrate of parkin, the mechanism by which loss-of-function of parkin induces selective dopaminergic neuronal death remains unclear. Here we show that antisense knockdown of parkin causes apoptotic cell death of human dopaminergic SH-SY5Y cells associated with caspase activation and accompanied by accumulation of oxidative dopamine (DA) metabolites due to auto-oxidation of DOPA and DA. Forced expression of α -synuclein (α -SN), another familial PD gene product, prevented accumulation of oxidative DOPA/DA metabolites and cell death caused by parkin loss. Our findings indicate that both parkin and α -SN share a common pathway in DA metabolism whose abnormality leads to accumulation of oxidative DA metabolites and subsequent cell death.

In addition, we identified a phosphorylated form of I κ B α (pI κ B α), an inhibitor of the NF- κ B signaling pathway, and the components of the SCF^{B-TrCP}, ubiquitin ligase of pI κ B α , are novel protein components in LBs. Subsequently, we showed those proteins are included in the ubiquitin-LB-like inclusions generated by treatment of a proteasome inhibitor. Furthermore, the generation of the inclusions are independent on cell death due to impairment of the proteasome.

(*Clin Neurol*, 45 : 905—907, 2005)

Key words : parkin, α -synuclein, dopa · dopamin quinone, phosphorylation, I κ B

単
遺一
伝子
ゲ病
ノと
ム

① 脳神経変性疾患

- 2 遺伝性悪性腫瘍
- 3 骨格筋疾患
- 4 成人内分泌・代謝性疾患
- 5 循環器疾患
- 6 動脈硬化・血管炎
- 7 小児内分泌疾患
- 8 先天性代謝異常症
- 9 先天性腎/尿路疾患
- 10 先天性出血性疾患
- 11 感覚器疾患1—聴覚等—
- 12 感覚器疾患2—網膜色素変性症等—

①-2. パーキンソン病

：単一遺伝子異常から黒質神経変性の病態解明へのアプローチ

Hattori Nobutaka / 服部信孝

順天堂大学医学部脳神経内科助教授
老人性疾患病態治療研究センター助教授

Key Words

- Familial Parkinson's disease
- parkin
- α -synuclein
- DJ-1
- PINK1
- UCH-1
- LRRK2
- Nurr1
- Lewy bodies

はじめに

孤発性パーキンソン病(PD)は遺伝的素因、環境素因の関与する多因子疾患と考えられている。これまでに酸化ストレス、ミトコンドリア機能障害、加齢変化の関与などが指摘されているが、病態解明には至っていない。PDという terminology では単一疾患であるが、その病態は多様に広がっており、孤発型 PD からのみのアプローチでは、病態を明らかにすることは困難であるといわざるを得ない。一方で、若年性パーキンソニズムにおける研究はめざましい進歩を遂げた。若年発症の PD

の原因に、単一遺伝子異常が関与していることは間違いなく、事実、遺伝子異常にともなう家族性 PD の遺伝子座のうち、原因遺伝子として *parkin* (PARK2), *PINK1* (PARK6), *DJ-1* (PARK7) が同定・単離されている。もちろん、通常型 PD においても遺伝的素因の関与は十分に推定されているが、ゲノムワイドな解析なくして真の感受性遺伝子の同定は難しいため、母集団の臨床診断の正確性、そして均一性が重要な鍵を握っているといえる。感受性遺伝子の単離・同定ができれば PD リスクグループの遺伝子診断が可

単一遺伝子病とゲノム

能になり、予防医学の発展へと展開できることが予想される。一方で、5~10%の家族性PD(FPD)の病態解明は、その遺伝子産物の機能が黒質神経細胞の脱落という共通機序を形成している可能性があり、神経保護作用ももつ薬物の開発が現実的になると考えている。本稿では、FPDの病態を中心に論じ、孤発型PDの原因について解説したい。

家族性パーキンソン病の分類と臨床型

現在のところ PARK11 までの報告があり、そのうち6つの原因遺伝子が

同定されている。常染色体優性遺伝性PD(ADPD)では、*SNCA*^{1,2)}、*UCHL-1*³⁾、*LRRK2/dardarin*^{4,5)}が、常染色体劣性遺伝性PD(ARPD)では、*parkin*⁶⁾、*DJ-1*⁷⁾、*PINK1*⁸⁾が同定された(表1)。PARK10はPDの疾患感受性遺伝子としてマップされている。

FPDの分類は遺伝形式から優性型、劣性型に、PDの神経病理学的必須事項としてLewy小体の有無で分類される。従来Lewy小体形成は病理学的診断上欠かせない要素であったが、遺伝子診断が可能になった現時点では臨床症状とドパ反応性がPD診断にとって重要になってきている。もちろん、

Lewy小体の有無については現在もその存在が不可欠とする意見もあり決着がつかない。本稿では、臨床症状とドパ反応性に重点を置きLewy小体が神経病理学的に存在しなくともパーキンソニズムとはせずPDとして扱いたい。

同定されている原因遺伝子のうち、日本人ではわれわれのグループにより単離・同定された*parkin*遺伝子変異のみが報告されていたが、最近になりPARK6の原因遺伝子である*PINK1*遺伝子異常をもつ日本人のARPDが存在することが判明した⁹⁾。日本は島国であり歴史背景から近親婚が多かつ

表1 遺伝性パーキンソン病の分類

gene	locus	Hereditary form	Lewy body
PARK1 <i>α-synuclein</i>	4q21-23	AD	+
PARK2 <i>parkin</i>	6q25.2-27	AR	-
PARK3 ?	2p13	AD	+
PARK4 <i>α-synuclein triplication</i>	4q13-22	AD	+
PARK5 <i>UCHL-1</i>	4p14-15	AD	?
PARK6 <i>PINK1</i>	1p35-36	AR	?
PARK7 <i>DJ-1</i>	1p36	AR	?
PARK8 <i>dardarin/LRRK2</i>	12p11.2-q13.1	AD	-/+
PARK9 ?	1p36	AR	?
PARK10 ?	1p32	感受性遺伝子	?
PARK11 ?	2q36-37	AD	?
NR4A2 <i>Nurr1</i>	2q22-23	AD	?

現在わかっている家族性PDの分類を示す。

2. パーキンソン病：単一遺伝子異常から黒質神経変性の病態解明へのアプローチ

たという事情もあり、常染色体劣性若年性パーキンソニズム(ARPD)が多い。第二次世界大戦以後、人口の移動にともない近親婚率は減少しているが、日常外来で ARPD に遭遇することは決してまれではないと思われる。

一方、AD 型 PD については舩山らにより相模原地方に存在する一大家系の ADPD が PARK8 としてマップされた。わが国にも PARK8 が存在することは間違いなく、今後の遺伝子解析結果が注目される。このように、原因遺伝子群が単離・同定され遺伝子産物間の相互作用の検討が可能になってきており、事実、遺伝子間における相互作用の報告が相次いでおり、今後は単一遺伝子異常にともなう FPD の共通カスケードの解明に重点が置かれると推定される。

優性遺伝性 PD-SNCA, PARK4 (triplication)

1997 年から 1998 年にかけてヨーロッパの AD の家系において α -synuclein の A53T, A30P の 2 つの点変異が報告された。さらに、スペイン家系に E46K のミスセンス変異が報告されたが、いずれも頻度的には低い。ミスセンス変異は創始者効果が示唆されており、A53T 変異については先祖が共通していることがわかっている。臨床症状はやや経過が速く一部に痴呆を認める。蛋白の生化学的解析により α -synuclein が凝集しやすい性質を獲得していることが推測されている。

最近になり、PARK4 としてマップされていた Iowa 家系のマップは間違

いであり、 α -synuclein の triplication によることが報告された²⁾。遺伝子のコピー数が正常者の 2 倍あることにより遺伝子発現レベルが過剰状態となり、その結果として正常 α -synuclein の脳内の凝集が惹起されていると推定されている。つまり、 α -synuclein の過剰状態や蛋白の変性しやすさが α -synuclein の凝集傾向を生じさせ、その凝集が細胞死を誘導していると考えられている。triplication(コピーが 3 個のものと正常 1 個)とは別に duplication(コピーが 2 個と正常 1 個)が報告されているが^{10,11)}、duplication の症例は臨床的に痴呆をとともなわず孤発型と類似しており、コピー数と痴呆発現との関連が指摘されている。事実、 α -synuclein の過剰発現系マウスではほとんどの研究室でヒト PD の再現を見出していない。

α -synuclein の変異頻度は少ないものの、Lewy 小体の主要構成成分であり¹²⁾、PD における Lewy 小体形成や選択的細胞変性にどのように関与しているかメカニズムの解明の糸口となり得る重要な蛋白質であることは間違いない。この蛋白とドパミンキノン体の複合体形成が指摘されており^{13,14)}、ドパミン神経細胞死との関連が注目されている。この蛋白を中心とした Lewy 小体形成阻止剤の開発が重要課題といえる。

優性遺伝性 PD-PARK8 (LRRK2/dardarin)

PARK8 に連鎖する ADPD の原因遺伝子として最近同定された LRRK2/

dardarin は、 α -synuclein とは対照的にその変異頻度はかなり高いことが報告されている^{4,5)}。遺伝子マップは、相模原地方を起源とする一大家系を中心に決定された。変異頻度は 5%前後にもおよぶとされている。蛋白の機能については何もわかっていないがリン酸化にかかわっている可能性が指摘されている。PARK8 の特徴としては Lewy 小体と同じ家系内であっても存在する場合としない場合があることと、臨床的に遺伝性の進行性核上性麻痺(PSP)と思わせるような家系も存在することである。発症年齢も若年のケースもあるが、通常の PD 同様の中年で発症するケースもあり、多様性に富んだタイプといえる。PSP と PD の要素をもつことは、この分子がタウオパチーとシヌクレイノパチーの両病態の上流に位置するものと推定される。後述する PARK2 が Lewy 小体を一般に形成しないことを特徴とし、PSP に特徴的なタウ蛋白の蓄積を認める症例も存在することより PARK8 は PARK2 と PD の中間的位置付けにくと考えている。LRRK2 がリン酸化酵素であることより、 α -synuclein を基質とするか否かが今後の大きな課題である。

劣性遺伝性 PD-PARK2 (parkin)

1973 年に Yamamura らによりその臨床型が発表され、その後、連鎖解析から遺伝子同定までを世界に先がけてわが国により確立されたものであり、現在ではわが国のみならず世界に分布

する最も頻度の高いタイプであることが明らかにされた^{15,16}。変異型としては、欠失が本邦に多く、海外ではミスセンス変異および microdeletion が多い¹⁶。特徴的臨床症状として日内変動、レボドパ(levodopa; L-dopa)治療後の早期に出現する motor complication、睡眠効果、痴呆を認めないなどほかにも多彩な表現型の報告があり、遺伝子変異タイプと表現型との相関ははっきりしない。その頻度は ARPD の約 50% と報告されている。発症年齢は 40 歳以下が多いが 7~72 歳と幅がある。AR の家族歴をもつ家系が多いが、家族歴のない孤発の若年発症にも報告は少なくない。出現頻度は自律神経症状 60%、経過中のジストニア 78%、精神症状 56%、睡眠効果 63% とする報告がある¹⁵。10 歳以下の発症で、ジストニアを呈する症例は瀬川病(dopa responsive dystonia; DRD)との鑑別が重要である。ジストニアが初発である場合、整形外科を受診するケースも多い。経過は数十年と長いにもかかわらず、on のとき Yahr3、off のとき Yahr4 を越えるような重症例は少ない。精神症状に関してはパーキンソニズムの前に精神症状が先行しているケースもある。精神症状としては、うつ病が多いが、パラノイア、不安神経症、神経性食欲不振症の報告もある。キャリア(ヘテロ接合体で *parkin* 遺伝子異常を認めるがパーキンソニズムは認めない)において精神症状がしやすいとする報告もある。また、一部のキャリアでは、発症年齢はホモ接合体と比して高齢化ではあるが、発症することが報告されており、

その機序としてドミナントネガティブ効果(変異蛋白が正常蛋白の機能を阻害する)かハプロ不全(1つの遺伝子アリルに異常があると正常では2つのアリルが機能として作用するので、キャリアでは正常蛋白が正常者の半分となるために発症する)で発症することが推定される。後述する ARPD の原因遺伝子 *DJ-1*、*PINK1* ともにキャリアでも発症するケースが存在することから、ARPD に同じメカニズムの関与が推定されている。

Parkin は、ubiquitin-proteasome system (UPS) で働くユビキチンリガーゼ(E3)であり¹⁷、これまでに CDCrel-1、Pael-receptor、*o*-glycosylated α -synuclein などが基質候補として挙げられている¹⁸。また、立体構造上、parkin が proteasome の Rpn10 サブユニットで結合することが指摘されている¹⁹。神経病理学的には、Lewy 小体形成を一般に認めず、一部の症例ではタウ蛋白の蓄積を認め進行性核上性麻痺に類似した病理所見を呈する²⁰。しかしながら、*Drosophila* で人為的に遺伝子操作すると、Pael 受容体よる選択的黒質変性が生じることは報告されているものの²¹、ヒトやマウスでの基質の蓄積を証明できていないことから、Parkin の E3 機能については、48 番目のリジン残基を介さないポリユビキチン鎖の形成に関与している可能性が指摘されている。最も可能性の高いポリユビキチン鎖は 63 番目のリジン残基を介した場合で、この場合プロテアソームの分解シグナルとはならずエンドサイトーシス、DNA 修復、アミノ酸輸送、蛋白の翻訳に関与する

とされている。特に parkin は、シナプス小胞にも局在することより、エンドサイトーシスやエクソサイトーシスに関与する可能性を考えている。事実、parkin が negative regulator として機能して、シナプス小胞において docking、fusion に関与している可能性を考えている。

劣性遺伝性

PD-PINK1(PARK6)、DJ-1(PARK7)

PARK7 はヨーロッパの AR の家系を対象とした連鎖解析により 1p36 にマップされ、2002 年 Bonifati らにより原因遺伝子として *DJ-1* 遺伝子が同定された⁷。オランダ家系においてエクソン 1~5 にまたがる 2000bp の広範の欠失が見出され、イタリア家系にて L166P の点変異が認められた。*DJ-1* 遺伝子は全長 23.5 Kb、189 のアミノ酸から構成され、脳も含め体内の各組織にユビキチンに発現している。機能は不明であるが、酸化ストレスへの関与、ユビキチン様蛋白である SUMO-1 との結合により UPS との関連も指摘されている。追試により、海外で点変異 5 例、欠失 2 例を認めているが、大規模調査にても陰性例が多く、まれな変異である可能性が示唆されている。当研究室においてもアジアの ARPD を対象にハプロタイプ解析を施行し、PARK7 に連鎖している家系を 6 家系見出したが *DJ-1* 遺伝子変異は認めなかった。*DJ-1* 遺伝子変異の患者は、発症は平均 34.6±9.2 歳で PARK2 に類似した臨床症状を呈する。神経症や精神症状(不安神経症、パニック発

2. パーキンソン病：単一遺伝子異常から黒質神経変性の病態解明へのアプローチ

作、幻覚)をとまなうことが報告されているが、症例数が少なく今後の検討が必要である。

PARK6は、シシリア島のARの家系を対象とした連鎖解析により1p35-36にLocusが絞られ、候補遺伝子の変異解析によりPINK1 (PTEN Induced Putative Kinase 1) 遺伝子異常が報告された⁸⁾。イタリアの2家系にノンセンス変異W437X、スペインの1家系にG309Dが認められた。われわれもアジアのARPDの家系を中心に6家系(日本R246X, H271Q, E417G, イスラエルR246X, フィリピンL347P, 台湾Q239X/R492X)にPINK1の病的変異を見出した⁹⁾。点変異が主体であるが、わが国でエクソン6~8まで欠失している家系を見出した。PINK1での欠失の存在は、日本人には欠失が生じやすい人種的特徴の存在を示唆するのかもしれない。また、ナンセンス変異(R246X)と欠失を認めた患者では、痴呆症状を認めたことも興味深い。いずれにしろ、変異の多くはセリン/トレオニンキナーゼドメインに集中して存在しており、このドメインが機能的に重要な箇所であると予想される。

PINK1 遺伝子は581のアミノ酸からなり、マウスと95%の相同性をもつことから種間を共通して保存されている重要な蛋白であると予想される。構造上、最初の34のアミノ酸残基にミトコンドリアへの移行シグナルをもち、後半の大部分をカルモジュリンファミリーのセリン/トレオニンキナーゼドメインが占める。PARK8のLRRK2同様、リン酸化酵素に関連性が指摘されており、PDの共通機序にミトコン

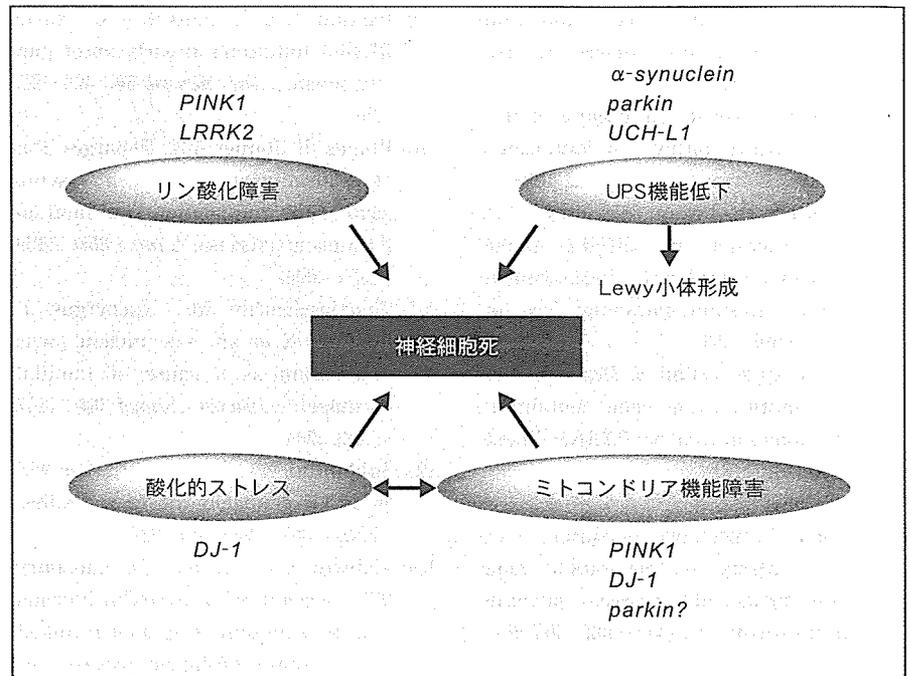


図1 家族性パーキンソン病の発症機序

各遺伝子産物は細胞死に対し、ミトコンドリア機能、酸化ストレス、ユビキチン・プロテアソーム系、リン酸化を通じて作用していることが予想される。実際に、parkinとDJ-1が相互作用する論文報告もあり、今後は各分子間の相互作用が注目される。

ドリア機能、酸化ストレス、蛋白分解系、そしてリン酸化が考えられる。

おわりに

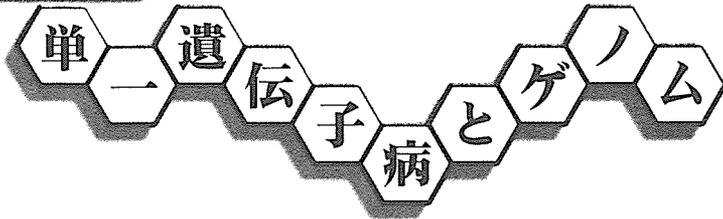
原因遺伝子産物の機能解明により、遺伝子産物群が形成するカスケードを明らかにすることで黒質神経変性の発症機序を解明することが最も効率のよい戦略と考えている。今後は、これら遺伝子産物間の相互作用を明らかにすることが大事であると考え(図1)

一方、上記の既存の遺伝子異常を認めない家族性パーキンソン病の患者も数多く存在する。事実、ARPDであってもまだ40%のFPDは原因遺伝子が不明である。現在、われわれの研究グループでも精力的に未知の原因遺

伝子単離の解析を進めている。ゲノムワイドな連鎖解析、その候補領域の検討も行われており、新規遺伝子座あるいは感受性遺伝子の発見も待たれる。また、SNPによる薬剤の個体での反応の差異、原因遺伝子に対応した薬剤の選択法など、個々の患者に対応した遺伝子レベルでの治療方針、つまりオーダーメイド医療の確立もそう遠くない未来にくるかもしれない。

References

- 1) Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E et al: Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276: 2045-2047, 1997
- 2) Singleton AB, Farrer M, Johnson J et



- al: α -Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 302 : 841, 2003
- 3) Leroy E, Boyer R, Auburger G et al : The ubiquitin pathway in Parkinson's disease. *Nature* 395 : 451-452, 1998
 - 4) Zimprich A, Biskup S, Leitner P et al : Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 44 : 601-607, 2004
 - 5) Paisan-Ruiz C, Jain S, Evans EW et al : Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked parkinson's disease. *Neuron* 44 : 595-600, 2004
 - 6) Kitada T, Asakawa S, Hattori N et al : Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 392 : 605-608, 1998
 - 7) Bonifati V, Rizzu P, van Baren MJ et al : Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299 : 256-259, 2003
 - 8) Valente EM, Abou-Sleiman PM, Caputo V et al : Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 304 : 1158-1160, 2004
 - 9) Hatano Y, Li Y, Sato K et al : Novel PINK1 mutations in early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 56 : 424-427, 2004
 - 10) Ibanez P, Bonnet AM, Debarges B et al : Causal relation between α -synuclein gene duplication and familial Parkinson's disease. *Lancet* 364 : 1169-1171, 2004
 - 11) Chartier-Harlin MC, Kachergus J, Roumier C et al : α -synuclein locus duplication as a cause of familial Parkinson's disease. *Lancet* 364 : 1167-1169, 2004
 - 12) Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM et al : α -synuclein in Lewy bodies. *Nature* 388 : 839-840, 1997
 - 13) Conway KA, Harper JD, Lansbury PT : Accelerated *in vitro* fibril formation by a mutant α -synuclein linked to early-onset Parkinson disease. *Nat Med* 4 : 1318-1320, 1998
 - 14) Xu J, Kao SY, Lee FJ et al : Dopamine-dependent neurotoxicity of α -synuclein : A mechanism for selective neurodegeneration in Parkinson disease. *Nat Med* 8 : 600-606, 2002
 - 15) Lucking CB, Durr A, Bonifati V et al : Association between early-onset Parkinson's disease and mutations in the parkin gene. *N Engl J Med* 342 : 1560-1567, 2000
 - 16) Hattori N, Matsumine H, Asakawa S et al : Point mutations (Thr240Arg and Gln311Stop) [correction of Thr240Arg and Ala311Stop] in the Parkin gene. *Biochem Biophys Res Commun* 249 : 754-758, 1998
 - 17) Shimura H, Hattori N, Kubo S et al : Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 25 : 302-305, 2000
 - 18) Hattori N, Mizuno Y : Pathogenetic mechanisms of parkin in Parkinson's disease. *Lancet* 364 : 722-724, 2004
 - 19) Sakata E, Yamaguchi Y, Kurimoto E et al : Parkin binds the Rpn 10 subunit of 26S proteasomes through its ubiquitin-like domain. *EMBO Rep* 4 : 301-306, 2003
 - 20) van de Warrenburg BP, Lammens M, Lucking CB et al : Clinical and pathologic abnormalities in a family with parkinsonism and parkin gene mutations. *Neurology* 56 : 555-557, 2001
 - 21) Yang T, Nishimura I, Imai Y et al : Parkin suppressed dopaminergic neuron-selective neurotoxicity induced by Pael-R in *Drosophila*. *Neuron* 37 : 911-924, 2003

7 パーキンソン病の ゲノム疫学 — 単一遺伝子異常から孤 発型の病態解明に挑む

はっとり のぶたか
■ 服部 信孝

順天堂大学医学部

脳神経内科・老人性疾患病態治療研究センター



服部 信孝
1985年順天堂大学医学部卒。90～93年まで名古屋大学医学部生化学第2国内留学，95年順天堂大学神経学助手，2003年より現職。2002年ベルツ賞一等賞受賞。03年日本神経学会賞受賞。04年トムソンサイエンティフィック社リサーチフロントアワード受賞。研究テーマはパーキンソン病の発症機序に関する研究。ミトコンドリア機能と加齢。趣味は娘と遊ぶこと，スキー。

Key words : Familial Parkinson's disease, parkin, alpha-synuclein, DJ-1, PINK1, UCH-1, LRRK2, Nurr1, Lewy bodies

Abstract

パーキンソン病は運動障害をきたす神経変性疾患としては最も頻度が高く、遺伝性のない孤発型がほとんどを占める。しかし、単一遺伝子異常で発症する家族性パーキンソン病の報告が相次いで、遺伝的素因の関与が孤発型においても重要であることが提唱されている。全ての原因遺伝子が同定されたわけでないが、遺伝子産物は共通カスケードを形成している可能性があり、事実、複数の原因遺伝子産物が、蛋白分解系に関与している。未だ一時的要因は不明であるが、遺伝性の病態解明から真の原因究明への戦略が最も効率かつ有効であると考えられている。

はじめに

孤発性パーキンソン病 (PD) は遺伝的素因、環境素因の関与する多因子疾患と考えられている。これまでに酸化ストレス、ミトコンドリア機能障害、加齢変化の関与などが指摘されているが、病態解明には至っていない。一方で若年性パーキンソニズムにおける研究はめざましい進歩を遂げた。加齢が重要な危険因子であるPDにおいて加齢の影響を受けない若年発症のPDの研究は大きな情報を我々に提供してくれた。若年発症のPDの場

合、同胞発症が多く遺伝的関与が濃厚であることが分かっており、分子生物学の進歩と共にその原因が加速的に解明されている。もちろん、通常型PDにおいても遺伝的素因の関与は推定されるが、十分に遺伝的素因の関与の証明はなされていない。ゲノムワイドな解析なくして真の感受性遺伝子の同定は難しいため母集団の臨床診断の正確性、そして均一性が重要な鍵を握っているといえる。感受性遺伝子の単離・同定ができればPDリスクグループの遺伝子診断が可能になり、予防医学の発展へと展開できることが予想される。一方で、5～10%の家族性PD (FPD) の病態解明は、その遺伝子産物の機能が黒質神経細胞の脱落という共通機序を形成している可能性があり、神経保護作用も持つ薬物の開発が現実的になると考えている。本稿では、FPDの病態を中心に論じ、孤発型PDの原因について解説したい。

1. 家族性パーキンソン病の分類と臨床型

現在のところPARK11までの報告があり、

そのうち6つの原因遺伝子が同定されている。常染色体優性遺伝性PD (ADPD) では、SNCA, UCHL-1, LRRK2/dardarinが、常染色体劣性遺伝性PD (ARPD) では、parkin, DJ-1, また最近になり新たにPINK1が同定された(表1)。PARK10はPDの疾患感受性遺伝子としてマップされている。

FPDの分類は遺伝形式から優性型, 劣性型に, PDの神経病理学的必須事項としてLewy小体の有無で分類される。従来Lewy小体形成は病理学的診断上欠かせない要素であったが, 遺伝子診断が可能になった現時点では臨床症状とドパ反応性がPD診断にとって重要になってきている。もちろん, Lewy小体の有無については現在もその存在が不可欠とする意見もあり決着がついていない。本稿では, 臨床症状とドパ反応性に重点を置きLewy小体が神経病理学的に存在しなくともパーキンソニズムとはせずPDとして扱いたい。

同定されている原因遺伝子のうち, 日本人では我々グループにより単離・同定されたparkin遺伝子変異のみが報告されていたが,

最近になりPARK6の原因遺伝子であるPINK1遺伝子異常をもつ日本人のARPDが存在することが判明した。日本は島国であり歴史背景から近親婚が多かったという事情もあり, 常染色体劣性若年性パーキンソニズム (ARPD) が多い。第二次世界大戦以後, 人口の移動に伴い近親婚率は減少しているが, 日常外来でARPDに遭遇することは決して稀ではないと思われる。

一方, AD型PDについては船山らにより相模原地方に存在する一大家系のAADPDがPARK8としてマップされた。残念なことに, このPARK8の原因遺伝子LRRK2は海外のグループより単離・同定されているが, 我が国にも存在することは間違いなく今後の遺伝子解析結果が注目される。このように原因遺伝子群が単離・同定され遺伝子産物間の相互作用の検討が可能になってきており, 事実遺伝子間における相互作用の報告が相次いでおり, 今後は単一遺伝子異常に伴うFPDの共通カスケードの同定に重点が置かれると推定される。

表1 遺伝性パーキンソン病の分類

	gene	locus	Hereditary form	Lewy body
PARK 1	α -Synuclein	4q21-23	AD	+
PARK 2	parkin	6q25.2-27	AR	-
PARK 3	?	2p13	AD	+
PARK 4	α -Synuclein triplication	4q13-22	AD	+
PARK 5	UCHL-1	4p14-15	AD	?
PARK 6	PINK1	1p35-36	AR	?
PARK 7	DJ-1	1p36	AR	?
PARK 8	Dardarin/LRRK2	12p11.2-q13.1	AD	-/+
PARK 9	?	1p36	AR	?
PARK10	?	1p32	AD	?
PARK11	?	2q36-37	AD	?
NR4A2	Nurr 1	2q22-23	AD	?

2. 優性遺伝性PD-SNCA, PARK4
(triplication), PARK8
(LRRK2/dardarin)

1997年から1998年にかけてヨーロッパのADの家系において α -synucleinのA53T, A30Pの二つの点変異が報告された。更にスペイン家系にE46Kのミスセンス変異が報告されたが、何れも頻度的には低い。ミスセンス変異は創始者効果が示唆されており、A53T変異については先祖が共通していることが分かっている。臨床症状はやや経過が早く一部に痴呆を認める。蛋白の生化学的解析により α -synucleinが凝集しやすい性質を獲得していることが推測されている。最近になりPARK4としてマップされていたIowa家系がマップは間違いであり、 α -synucleinのtriplicationによることが報告された。遺伝子のコピー数が正常者の2倍あることにより遺伝子発現レベルが過剰状態となり、その結果として α -synuclein

の脳内の凝集が惹起されていると推定されている。つまり α -synucleinの過剰状態や蛋白の変性しやすさが α -synucleinの凝集傾向を生じさせ、その凝集が細胞死を誘導していると考えられている。TriPLICATION (コピーが3個のもの)と正常1個とは別にduplication (コピーが2個と正常1個)が報告された。duplicationについては、臨床的に痴呆を伴わず孤発型と類似した症例もあり興味深い。コピー数と痴呆発現との関連が推定されている。これまで日本を含めアジアからの報告はないが、multiplicationは欠失と同じような機序により発生している可能性があることから(同じ欠失であっても一般に創始者効果は少ない傾向にある)、人種とは関係なくmultiplicationが生じる可能性がある。むしろ欠失変異の多い日本人は白人以上にこのタイプの変異が多いことも予想される。現在我々研究グループもこのタイプの変異の存在についてTaqMan probeを使った定量PCRでスクリーニングしてい

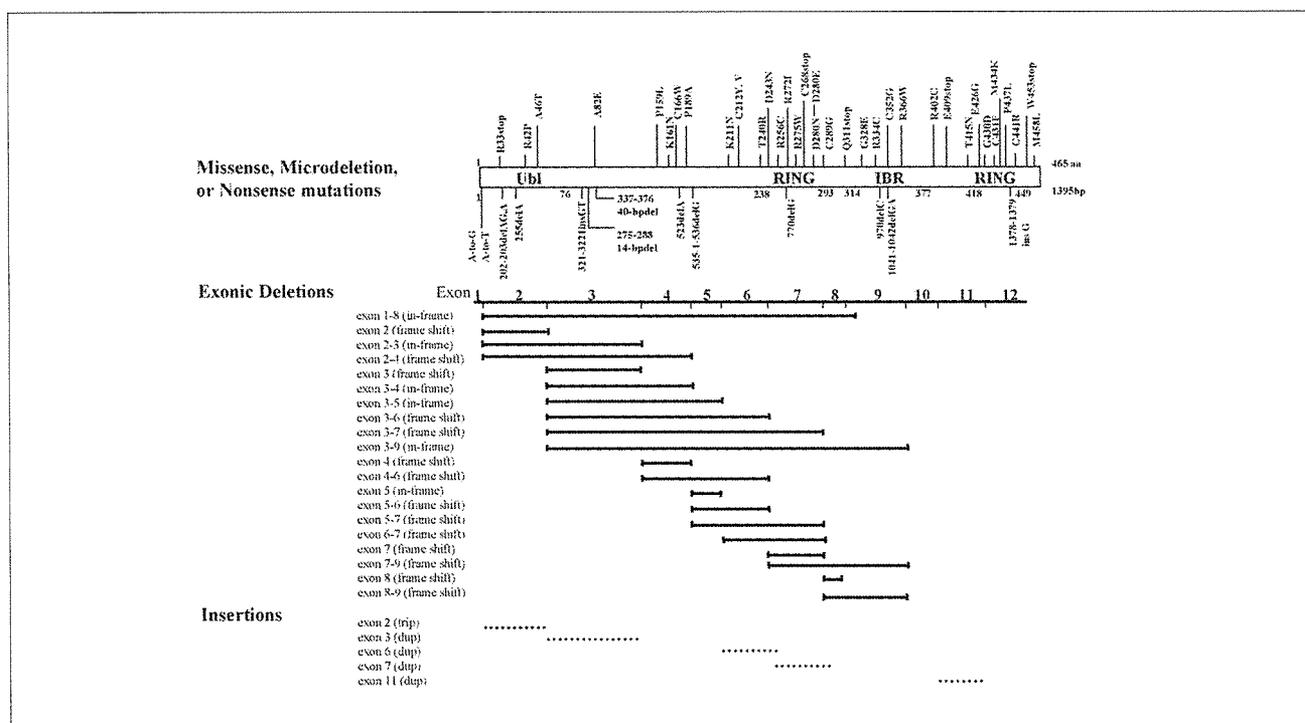


図1 パーキン遺伝子変異の種類と分布

る。また α -synuclein のコピー数による痴呆の有無が決定される可能性もあるが、multiplication の領域が必ずしも同一とは限らず、その重複している部位とその部位に含まれる遺伝子群により規定されることも十分にあると考えている。事実、 α -synuclein の過剰発現系マウスではほとんどの研究室でヒト PD の再現を見出していない。

α -synuclein の変異頻度は少ないものの、Lewy 小体の主要構成成分であり、PD における Lewy 小体形成や選択的細胞変性にどのように関与しているかメカニズムの解明の糸口となりうる重要な蛋白質であることは間違いない。この蛋白質を中心とした Lewy 小体形成阻止剤の開発が重要課題といえる。

PARK8 に連鎖する ADPD の原因遺伝子として最近同定された LRRK2/dardarin は α -synuclein とは対比的にその変異頻度はかなり高いことが報告されている。遺伝子マップは我が国の存在している相模原地方を起源とす

る一大家系を中心に決定された。遺伝子単離は海外のグループによりなされ、変異頻度は 5% 前後にも及ぶとされている。特にホットスポットが存在するようでエクソン 41 は頻的にも高いことが分かっている。蛋白質の機能については何も分かっていないが、リン酸化に関わっている可能性が指摘されている。PARK8 の特徴としては Lewy 小体が同じ家系ないであっても存在する場合としない場合があることと臨床的に遺伝性の進行性核上性麻痺 (PSP) と思わせるような家系も存在することである。発症年齢も若年のケースもあるが通常の PD 同様の中高年で発症するケースもあり多様性に富んだタイプと言える。後述する PARK2 が Lewy 小体を一般に形成しないことを特徴とし、PSP に特徴的な病理所見を持つことより PARK8 は PARK2 と PD の中間的位置づけにくと考えている。LRRK2 がリン酸化酵素であることより α -synuclein を基質とするか否かが今後の大きな課題である。

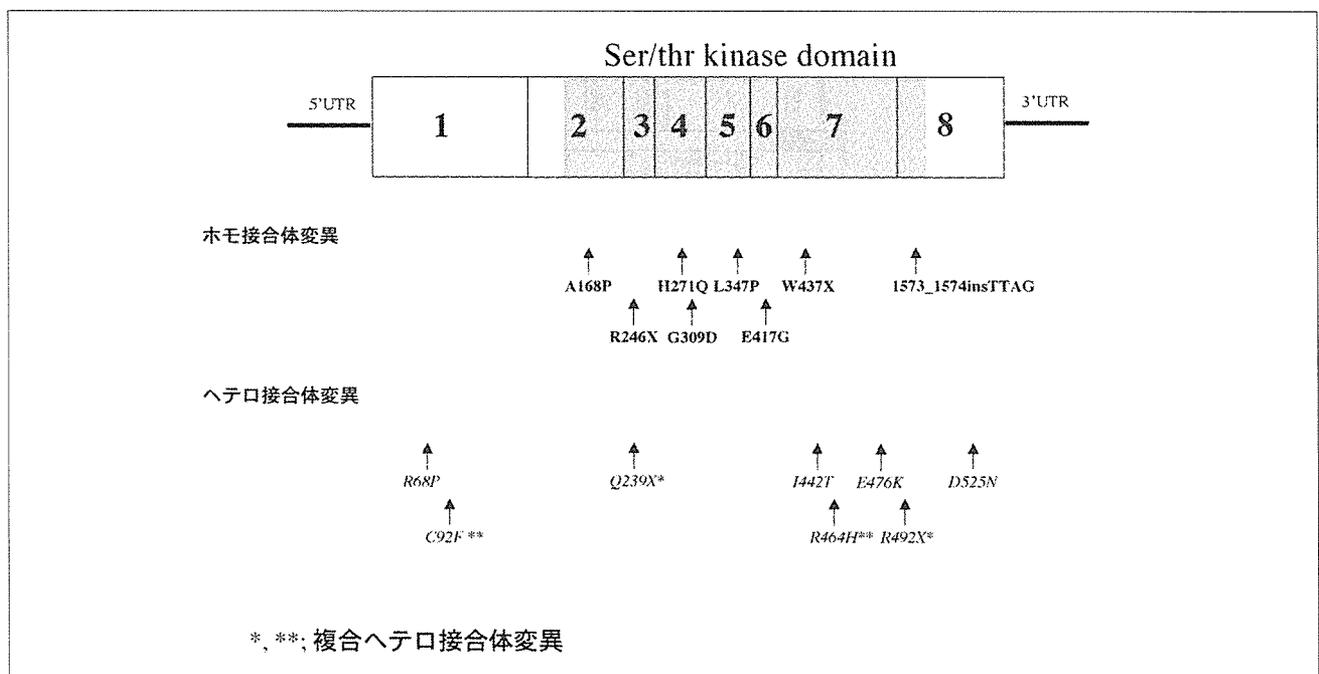


図2 PINK1 遺伝子変異の分布

3. ARPD-PARK2 (parkin), PARK6 (PINK1), PARK7 (DJ-1)

1973年にYamamuraらによりその臨床型が発表され、その後連鎖解析から遺伝子同定までを世界に先がけて我が国により確立されたものであり、現在では我が国のみならず世界に分布する最も頻度の高いタイプであることが明らかにされた。変異は、欠失は本邦にて多く、海外ではミスセンス変異及びmicrodeletionが多い(図1)。特徴的臨床症状として日内変動、L-ドパ治療後の早期に出現するmotor complication、睡眠効果、痴呆を認めないなど他にも多彩な表現型の報告があり、遺伝子変異タイプと表現型との相関ははっきりしない。その頻度はARPDの約50%と報告されている。発症年齢は40才以下が多いが7~72才と幅がある。ARの家族歴をもつ家系が多いが、家族歴のない孤発の若年発症にも報告も少なくない。出現頻度は自律神経症状60%、経過中のジストニア78%、精神症状56%、睡眠効果63%とする報告がある。10才以下の発症で、ジストニアを呈する症例は瀬川病(dopa responsive dystonia; DRD)との鑑別が重要である。ジストニアが初発である場合整形外科を受診するケースも多い。経過は数十年と長いにもかかわらず、onの時Yahr3、offの時Yahr4を越えるような重症例は少ない。精神症状に関してはパーキンソニズムの前に精神症状が先行しているケースもある。精神症状としては、うつ病が多いが、パラノイア、不安神経症、神経性食欲不振症の報告もある。キャリア(ヘテロ接合体でparkin遺伝子異常を認めるがパーキンソニズムは認めない)において精神症状がでやすい

とする報告もある。また一部のキャリアでは、発症年齢はホモ接合体と比して高齢化ではあるが、発症することが報告されており、その機序としてドミナントネガティブ効果(変異蛋白が正常蛋白の機能を阻害する)かハプロ不全(一つの遺伝子アリルに異常があると正常では2個のアリルが機能として作用するのでキャリアでは正常蛋白が正常者の半分となるために発症する)で発症することが推定される。後述するARPDの原因遺伝子DJ-1、PINK1ともにキャリアでも発症するケースが存在することからARPDに同じメカニズムの関与が推定されている。

Parkinは単離されて以来精力的にその機能の解明が追究されてきた。異なる民族を共通して高頻度に認めておりPDの発症メカニズムを解明する際の中核となる蛋白といえる。その実体はubiquitin-proteasome system (UPS)で働くユビキチンリガーゼ(E3)であり、これまでにCDCrel-1, Pael-receptor, o-glycosylated α -synucleinなどが基質候補としてあげられている。Loss-of-function効果でありながらその長期予後はYahr 4を越えることが少ないとされており、比較的良性的経過をたどる。一方で細胞レベルやin vivo系の実験ではparkinが α -synuclein凝集による細胞死を保護することが報告されており、黒質神経細胞生存の必須因子の可能性も指摘されている。

PARK7はヨーロッパのARの家系を対象とした連鎖解析により1p36にマップされ、2002年Bonifatiらにより原因遺伝子としてDJ-1遺伝子が同定された。オランダ家系においてexon1から5にまたがる2000 bpの広範な欠失が見いだされ、イタリア家系にてL166Pの点変異が認められた。DJ-1遺伝子は全長23.5Kb、

189のアミノ酸から構成され、脳も含め体内の各組織にユビキタスに発現している。機能は不明であるが、酸化ストレスへの関与、ユビキチン様蛋白であるSUMO-1との結合によりUPSとの関連も指摘されている。追試により、海外で点変異5例、欠失2例を認めているが、大規模調査にても陰性例が多く、稀な変異である可能性が示唆されている。当研究室においてもアジアのARPDを対象にハプロタイプ解析を施行し、PARK7に連鎖している家系を6家系見いだしたがDJ-1遺伝子変異は認めなかった。DJ-1遺伝子変異の患者は、発症は平均 34.6 ± 9.2 才でPARK2に類似した臨床症状を呈する。神経症や精神症状（不安神経症、パニック発作、幻覚）を伴うことが報告されているが、症例数が少なく今後の検討が必要である。

PARK6は、シシリア島のARの家系を対象とした連鎖解析により1p35-36にLocusが絞られ、候補遺伝子の変異解析によりPINK1

(PTEN Induced Putative Kinase 1) 遺伝子異常が2004年4月に報告された。イタリアの2家系にノンセンス変異W437X、スペインの1家系にG309Dが認められた。我々もアジアのARPDの家系を対象にハプロタイプ解析を施行し、1p35-36に連鎖する家系を8家系認めた。そのうち6家系（日本R246X, H271Q, E417G, イスラエルR246X, フィリピンL347P, 台湾Q239X/R492X）にPINK1の病的変異を見いだした。

点変異が主体であり、欠失、挿入の報告は1例ずつしかない（図2）。また日本とイスラエルにて同様の変異（R246X）を認めるが、ハプロタイプ解析では創始者効果は否定的であり、変異のホットスポットである可能性がある。

変異の多くはセリン/トレオニンキナーゼドメインに集中して存在する。また、ホモ接合体ミスセンス変異の箇所は、種族間を経てアミノ酸が保存されており、機能的に重要な箇

表2 家族性パーキンソン病の発症機序

