

22. **Kitada T**, Asakawa S, Hattori N, *et al*. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature* 1998;**392**:605–8.
23. **Hattori N**, Kitada T, Matsumine H, *et al*. Molecular genetic analysis of a novel parkin gene in Japanese families with autosomal recessive juvenile parkinsonism: evidence for variable homozygous deletions in the parkin gene in affected individuals. *Ann Neurol* 1998;**44**:935–41.
24. **Matsumine H**, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, *et al*. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet* 1997;**60**:588–96.
25. **Mori H**, Kondo T, Yokochi M, *et al*. Pathologic and biochemical studies of juvenile parkinsonism linked to chromosome 6q. *Neurology* 1998;**51**:890–2.
26. **Takahashi H**, Ohama E, Suzuki S, *et al*. Familial juvenile parkinsonism: clinical and pathologic study in a family. *Neurology* 1994;**44**:437–41.
27. **Farrer M**, Chan P, Chen R, *et al*. Lewy bodies and parkinsonism in families with parkin mutations. *Ann Neurol* 2001;**50**:293–300.
28. **Hilker R**, Klein C, Ghaemi M, *et al*. Positron emission tomographic analysis of the nigrostriatal dopaminergic system in familial parkinsonism associated with mutations in the parkin gene. *Ann Neurol* 2001;**49**:367–76.
29. **Khan NL**, Brooks DJ, Pavese N, *et al*. Progression of nigrostriatal dysfunction in a parkin kindred: an [18F]dopa PET and clinical study. *Brain* 2002;**125**:2248–56.
30. **Klein C**, Pramstaller PP, Kis B, *et al*. Parkin deletions in a family with adult-onset, tremor-dominant parkinsonism: expanding the phenotype. *Ann Neurol* 2000;**48**:65–71.
31. **Pramstaller PP**, Kis B, Eskelson C, *et al*. Phenotypic variability in a large kindred (family LA) with deletions in the parkin gene. *Mov Disord* 2002;**17**:424–6.
32. **Lincoln SJ**, Maraganore DM, Lesnick TG, *et al*. Parkin variants in North American Parkinson's disease: cases and controls. *Mov Disord* 2003;**18**:1306–11.
33. **Kay DM**, Moran D, Moses L, *et al*. Heterozygous parkin point mutations are as common in control subjects as in Parkinson's patients. *Ann Neurol* 2007;**61**:47–54.
34. **Shimura H**, Hattori N, Kubo S, *et al*. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000;**25**:302–5.
35. **Matsuda N**, Kitami T, Suzuki T, *et al*. Diverse effects of pathogenic mutations of Parkin that catalyze multiple monoubiquitylation in vitro. *J Biol Chem* 2006;**281**:3204–9.
36. **Shimura H**, Schlossmacher MG, Hattori N, *et al*. Ubiquitination of a new form of alpha-synuclein by parkin from human brain: implications for Parkinson's disease. *Science* 2001;**293**:263–9.
37. **Chung KK**, Zhang Y, Lim KL, *et al*. Parkin ubiquitinates the alpha-synuclein-interacting protein, synphilin-1: implications for Lewy-body formation in Parkinson disease. *Nat Med* 2001;**7**:1144–50.
38. **Weihofen A**, Thomas KJ, Ostaszewski BL, *et al*. Pink1 forms a multiprotein complex with Viro and Milton, linking Pink1 function to mitochondrial trafficking (dagger). *Biochemistry* 2009;**48**:2045–52.
39. **Narendra D**, Tanaka A, Suen DF, *et al*. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol* 2008;**183**:795–803.
40. **Narendra D**, Kane LA, Hauser DN, *et al*. p62/SQSTM1 is required for Parkin-induced mitochondrial clustering but not mitophagy; VDAC1 is dispensable for both. *Autophagy* 2010;**6**:1090–106.
41. **Matsuda N**, Sato S, Shiba K, *et al*. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J Cell Biol* 2010;**189**:211–21.
42. **Park J**, Lee G, Chung J. The PINK1–Parkin pathway is involved in the regulation of mitochondrial remodeling process. *Biochem Biophys Res Commun* 2009;**378**:518–23.
43. **Valente EM**, Bentivoglio AR, Dixon PH, *et al*. Localization of a novel locus for autosomal recessive early-onset parkinsonism, PARK6, on human chromosome 1p35-p36. *Am J Hum Genet* 2001;**68**:895–900.
44. **Valente EM**, Abou-Sleiman PM, Caputo V, *et al*. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1. *Science* 2004;**304**:1158–60.
45. **Marongiu R**, Brancati F, Antonini A, *et al*. Whole gene deletion and splicing mutations expand the PINK1 genotypic spectrum. *Hum Mutat* 2007;**28**:98.
46. **Hatano Y**, Li Y, Sato K, *et al*. Novel PINK1 mutations in early-onset parkinsonism. *Ann Neurol* 2004;**56**:424–7.
47. **Samaranch L**, Lorenzo-Betancor O, Arbelo JM, *et al*. PINK1-linked parkinsonism is associated with Lewy body pathology. *Brain* 2010;**133**:1128–42.
48. **Kawajiri S**, Saiki S, Sato S, *et al*. Genetic mutations and functions of PINK1. *Trends Pharmacol Sci* 2011;**32**:573–80.
49. **Beilina A**, Van Der Brug M, Ahmad R, *et al*. Mutations in PTEN-induced putative kinase 1 associated with recessive parkinsonism have differential effects on protein stability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;**102**:5703–8.
50. **Pridgeon JW**, Olzmann JA, Chin LS, *et al*. PINK1 protects against oxidative stress by phosphorylating mitochondrial chaperone TRAP1. *PLoS Biol* 2007;**5**:e172.
51. **Silvestri L**, Caputo V, Bellacchio E, *et al*. Mitochondrial import and enzymatic activity of PINK1 mutants associated to recessive parkinsonism. *Hum Mol Genet* 2005;**14**:3477–92.
52. **Sim CH**, Lio DS, Mok SS, *et al*. C-terminal truncation and Parkinson's disease-associated mutations down-regulate the protein serine/threonine kinase activity of PTEN-induced kinase-1. *Hum Mol Genet* 2006;**15**:3251–62.
53. **Murata H**, Sakaguchi M, Jin Y, *et al*. A new cytosolic pathway from a Parkinson disease-associated kinase, BRP/PINK1: activation of AKT1 via mTORC2. *J Biol Chem* 2011;**286**:7182–9.
54. **Plun-Favreau H**, Klupsch K, Moiso N, *et al*. The mitochondrial protease HtrA2 is regulated by Parkinson's disease-associated kinase PINK1. *Nat Cell Biol* 2007;**9**:1243–52.
55. **Strauss KM**, Martins LM, Plun-Favreau H, *et al*. Loss of function mutations in the gene encoding Omi/HtrA2 in Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2005;**14**:2099–111.
56. **Wang X**, Schwarz TL. The mechanism of Ca²⁺-dependent regulation of kinesin-mediated mitochondrial motility. *Cell* 2009;**136**:163–74.
57. **Liu W**, Vives-Bauza C, Acin-Perez R, *et al*. PINK1 defect causes mitochondrial dysfunction, proteasomal deficit and alpha-synuclein aggregation in cell culture models of Parkinson's disease. *PLoS One* 2009;**4**:e4597.
58. **Amo T**, Sato S, Saiki S, *et al*. Mitochondrial membrane potential decrease caused by loss of PINK1 is not due to proton leak, but to respiratory chain defects. *Neurobiol Dis* 2011;**41**:111–8.
59. **Deng H**, Dodson MW, Huang H, *et al*. The Parkinson's disease genes pink1 and parkin promote mitochondrial fission and/or inhibit fusion in Drosophila. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;**105**:14503–8.
60. **Poole AC**, Thomas RE, Andrews LA, *et al*. The PINK1/Parkin pathway regulates mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;**105**:1638–43.
61. **Haque ME**, Thomas KJ, D'Souza C, *et al*. Cytoplasmic Pink1 activity protects neurons from dopaminergic neurotoxin MPTP. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;**105**:1716–21.
62. **Clark IE**, Dodson MW, Jiang C, *et al*. Drosophila pink1 is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature* 2006;**441**:1162–6.
63. **Park J**, Lee SB, Lee S, *et al*. Mitochondrial dysfunction in Drosophila PINK1 mutants is complemented by parkin. *Nature* 2006;**441**:1157–61.
64. **Yang Y**, Gehrke S, Imai Y, *et al*. Mitochondrial pathology and muscle and dopaminergic neuron degeneration caused by inactivation of Drosophila Pink1 is rescued by Parkin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;**103**:10793–8.
65. **Kawajiri S**, Saiki S, Sato S, *et al*. PINK1 is recruited to mitochondria with parkin and associates with LC3 in mitophagy. *FEBS Lett* 2010;**584**:1073–9.
66. **Youle RJ**, Narendra DP. Mechanisms of mitophagy. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2011;**12**:9–14.
67. **Abou-Sleiman PM**, Healy DG, Quinn N, *et al*. The role of pathogenic DJ-1 mutations in Parkinson's disease. *Ann Neurol* 2003;**54**:283–6.
68. **Bandopadhyay R**, Kingsbury AE, Cookson MR, *et al*. The expression of DJ-1 (PARK7) in normal human CNS and idiopathic Parkinson's disease. *Brain* 2004;**127**:420–30.
69. **Neumann M**, Muller V, Gorner K, *et al*. Pathological properties of the Parkinson's disease-associated protein DJ-1 in alpha-synucleinopathies and tauopathies: relevance for multiple system atrophy and Pick's disease. *Acta Neuropathol* 2004;**107**:489–96.
70. **Olzmann JA**, Bordelon JR, Muly EC, *et al*. Selective enrichment of DJ-1 protein in primate striatal neuronal processes: implications for Parkinson's disease. *J Comp Neurol* 2007;**500**:585–99.
71. **Usami Y**, Hatano T, Imai S, *et al*. DJ-1 associates with synaptic membranes. *Neurobiol Dis* 2011;**43**:651–62.
72. **Miller DW**, Ahmad R, Hague S, *et al*. L166P mutant DJ-1, causative for recessive Parkinson's disease, is degraded through the ubiquitin-proteasome system. *J Biol Chem* 2003;**278**:36588–95.
73. **Goldberg MS**, Pisani A, Haburcak M, *et al*. Nigrostriatal dopaminergic deficits and hypokinesia caused by inactivation of the familial parkinsonism-linked gene DJ-1. *Neuron* 2005;**45**:489–96.
74. **Wang Z**, Liu J, Chen S, *et al*. DJ-1 modulates the expression of Cu/Zn-superoxide dismutase-1 through the Erk1/2-Erk1 pathway in neuroprotection. *Ann Neurol* 2011;**70**:591–9.
75. **Lev N**, Roncevic D, Ickowicz D, *et al*. Role of DJ-1 in Parkinson's disease. *J Mol Neurosci* 2006;**29**:215–25.
76. **Fu K**, Ren H, Wang Y, *et al*. DJ-1 inhibits TRAIL-induced apoptosis by blocking procaspase-8 recruitment to FADD. *Oncogene*. Published Online First: 25 July 2011. doi:10.1038/onc.2011.315.
77. **Xiong H**, Wang D, Chen L, *et al*. Parkin, PINK1, and DJ-1 form a ubiquitin E3 ligase complex promoting unfolded protein degradation. *J Clin Invest* 2009;**119**:650–60.
78. **Paisan-Ruiz C**, Jain S, Evans EW, *et al*. Cloning of the gene containing mutations that cause PARK8-linked Parkinson's disease. *Neuron* 2004;**44**:595–600.
79. **Zimprich A**, Biskup S, Leitner P, *et al*. Mutations in LRRK2 cause autosomal-dominant parkinsonism with pleomorphic pathology. *Neuron* 2004;**44**:601–7.
80. **Berwick DC**, Harvey K. LRRK2 signaling pathways: the key to unlocking neurodegeneration? *Trends Cell Biol* 2011;**21**:257–65.
81. **Cookson MR**. The role of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2010;**11**:791–7.
82. **Gilks WP**, Abou-Sleiman PM, Gandhi S, *et al*. A common LRRK2 mutation in idiopathic Parkinson's disease. *Lancet* 2005;**365**:415–16.
83. **Wszolek ZK**, Pfeiffer RF, Tsuboi Y, *et al*. Autosomal dominant parkinsonism associated with variable synuclein and tau pathology. *Neurology* 2004;**62**:1619–22.
84. **Ross OA**, Toft M, Whittle AJ, *et al*. Lrrk2 and Lewy body disease. *Ann Neurol* 2006;**59**:388–93.
85. **Dachsel JC**, Ross OA, Mata IF, *et al*. Lrrk2 G2019S substitution in frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-immunoreactive neuronal inclusions. *Acta Neuropathol* 2007;**113**:601–6.

Movement disorders

86. **Galter D**, Westerlund M, Carmine A, *et al*. LRRK2 expression linked to dopamine-innervated areas. *Ann Neurol* 2006;**59**:714–19.
87. **Hatano T**, Kubo S, Imai S, *et al*. Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Hum Mol Genet* 2007;**16**:678–90.
88. **Biskup S**, Moore DJ, Celsi F, *et al*. Localization of LRRK2 to membranous and vesicular structures in mammalian brain. *Ann Neurol* 2006;**60**:557–69.
89. **Smith WW**, Pei Z, Jiang H, *et al*. Leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) interacts with parkin, and mutant LRRK2 induces neuronal degeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;**102**:18676–81.
90. **Ng CH**, Mok SZ, Koh C, *et al*. Parkin protects against LRRK2 G2019S mutant-induced dopaminergic neurodegeneration in *Drosophila*. *J Neurosci* 2009;**29**:11257–62.
91. **Venderova K**, Kabbach G, Abdel-Messih E, *et al*. Leucine-rich repeat kinase 2 interacts with parkin, DJ-1 and PINK-1 in a *Drosophila melanogaster* model of Parkinson's disease. *Hum Mol Genet* 2009;**18**:4390–404.
92. **Chan D**, Citro A, Cordy JM, *et al*. Rac1 protein rescues neurite retraction caused by G2019S leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2). *J Biol Chem* 2011;**286**:16140–9.
93. **Angeles DC**, Gan BH, Onstead L, *et al*. Mutations in LRRK2 increase phosphorylation of peroxiredoxin 3 exacerbating oxidative stress-induced neuronal death. *Hum Mutat* 2011;**32**:1390–7.
94. **Dusonchet J**, Kochubev O, Stafa K, *et al*. A rat model of progressive nigral neurodegeneration induced by the Parkinson's disease-associated G2019S mutation in LRRK2. *J Neurosci* 2011;**31**:907–12.
95. **Li X**, Wang QJ, Pan N, *et al*. Phosphorylation-dependent 14-3-3 binding to LRRK2 is impaired by common mutations of familial Parkinson's disease. *PLoS One* 2011;**6**: e17153.
96. **Najim al-Din AS**, Wriekat A, Mubaidin A, *et al*. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and dementia: Kufor-Rakeb syndrome. *Acta Neurol Scand* 1994;**89**:347–52.
97. **Ramirez A**, Heimbach A, Grundemann J, *et al*. Hereditary parkinsonism with dementia is caused by mutations in ATP13A2, encoding a lysosomal type 5 P-type ATPase. *Nat Genet* 2006;**38**:1184–91.
98. **Gitler AD**, Chesi A, Geddie ML, *et al*. Alpha-synuclein is part of a diverse and highly conserved interaction network that includes PARK9 and manganese toxicity. *Nat Genet* 2009;**41**:308–15.
99. **Ugolino J**, Fang S, Kubisch C, *et al*. Mutant Atp13a2 proteins involved in parkinsonism are degraded by ER-associated degradation and sensitize cells to ER-stress induced cell death. *Hum Mol Genet* 2011;**20**:3565–77.
100. **Tan J**, Zhang T, Jiang L, *et al*. Regulation of intracellular manganese homeostasis by kufor-rakeb syndrome associated ATP13A2. *J Biol Chem* 2011;**286**:29654–62.
101. **Kawamoto Y**, Kobayashi Y, Suzuki Y, *et al*. Accumulation of HtrA2/Omi in neuronal and glial inclusions in brains with alpha-synucleinopathies. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008;**67**:984–93.
102. **Kruger R**, Sharma M, Riess O, *et al*. A large-scale genetic association study to evaluate the contribution of Omi/HtrA2 (PARK13) to Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2011;**32**:548 e9–18.
103. **Suzuki Y**, Takahashi-Niki K, Akagi T, *et al*. Mitochondrial protease Omi/HtrA2 enhances caspase activation through multiple pathways. *Cell Death Differ* 2004;**11**:208–16.
104. **Martins LM**. The serine protease Omi/HtrA2: a second mammalian protein with a reaper-like function. *Cell Death Differ* 2002;**9**:699–701.
105. **Martins LM**, Morrison A, Klupsch K, *et al*. Neuroprotective role of the reaper-related serine protease HtrA2/Omi revealed by targeted deletion in mice. *Mol Cell Biol* 2004;**24**:9848–62.
106. **Li B**, Hu Q, Wang H, *et al*. Omi/HtrA2 is a positive regulator of autophagy that facilitates the degradation of mutant proteins involved in neurodegenerative diseases. *Cell Death Differ* 2010;**17**:1773–84.
107. **Morgan NV**, Westaway SK, Morton JE, *et al*. PLA2G6, encoding a phospholipase A2, is mutated in neurodegenerative disorders with high brain iron. *Nat Genet* 2006;**38**:752–4.
108. **Paisan-Ruiz C**, Bhatia KP, Li A, *et al*. Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol* 2009;**65**:19–23.
109. **Yoshino H**, Tomiyama H, Tachibana N, *et al*. Phenotypic spectrum of patients with PLA2G6 mutation and PARK14-linked parkinsonism. *Neurology* 2010;**75**:1356–61.
110. **Jenkins CM**, Wolf MJ, Mancuso DJ, *et al*. Identification of the calmodulin-binding domain of recombinant calcium-independent phospholipase A2beta. Implications for structure and function. *J Biol Chem* 2001;**276**:7129–35.
111. **Wang Z**, Ramanadham S, Ma ZA, *et al*. Group VIA phospholipase A2 forms a signaling complex with the calcium/calmodulin-dependent protein kinase IIbeta expressed in pancreatic islet beta-cells. *J Biol Chem* 2005;**280**:6840–9.
112. **Shojaee S**, Sina F, Banifhosseini SS, *et al*. Genome-wide linkage analysis of a Parkinsonian-pyramidal syndrome pedigree by 500 K SNP arrays. *Am J Hum Genet* 2008;**82**:1375–84.
113. **Di Fonzo A**, Dekker MC, Montagna P, *et al*. FBX07 mutations cause autosomal recessive, early-onset parkinsonian-pyramidal syndrome. *Neurology* 2009;**72**:240–5.
114. **Pankratz N**, Wilk JB, Latourelle JC, *et al*. Genomewide association study for susceptibility genes contributing to familial Parkinson disease. *Hum Genet* 2009;**124**:593–605.
115. **Edwards TL**, Scott WK, Almonte C, *et al*. Genome-wide association study confirms SNPs in SNCA and the MAPT region as common risk factors for Parkinson disease. *Ann Hum Genet* 2010;**74**:97–109.
116. **Hamza TH**, Zabetian CP, Tenesa A, *et al*. Common genetic variation in the HLA region is associated with late-onset sporadic Parkinson's disease. *Nat Genet* 2010;**42**:781–5.
117. **Spencer CC**, Plagnol V, Strange A, *et al*. Dissection of the genetics of Parkinson's disease identifies an additional association 5' of SNCA and multiple associated haplotypes at 17q21. *Hum Mol Genet* 2010;**20**:345–53.
118. **Liu X**, Cheng R, Verbitsky M, *et al*. Genome-wide association study identifies candidate genes for Parkinson's disease in an Ashkenazi Jewish population. *BMC Med Genet* 2011;**12**:104.
119. **Do CB**, Tung JY, Dorfman E, *et al*. Web-based genome-wide association study identifies two novel loci and a substantial genetic component for Parkinson's disease. *PLoS Genet* 2011;**7**:e1002141.
120. **Hruska KS**, Goker-Alpan O, Sidransky E. Gaucher disease and the synucleinopathies. *J Biomed Biotechnol* 2006;**2006**:78549.
121. **Sidransky E**, Nalls MA, Aasly JO, *et al*. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;**361**:1651–61.
122. **Aharon-Peretz J**, Rosenbaum H, Gershoni-Baruch R. Mutations in the glucocerebrosidase gene and Parkinson's disease in Ashkenazi Jews. *N Engl J Med* 2004;**351**:1972–7.
123. **Mata IF**, Samii A, Schneer SH, *et al*. Glucocerebrosidase gene mutations: a risk factor for Lewy body disorders. *Arch Neurol* 2008;**65**:379–82.
124. **De Marco EV**, Annesi G, Tarantino P, *et al*. Glucocerebrosidase gene mutations are associated with Parkinson's disease in southern Italy. *Mov Disord* 2008;**23**:460–3.
125. **Morris HR**, Lees AJ, Wood NW. Neurofibrillary tangle parkinsonian disorders—tau pathology and tau genetics. *Mov Disord* 1999;**14**:731–6.
126. **Galpern WR**, Lang AE. Interface between tauopathies and synucleinopathies: a tale of two proteins. *Ann Neurol* 2006;**59**:449–58.
127. **Tayebi N**, Walker J, Stubblefield B, *et al*. Gaucher disease with parkinsonian manifestations: does glucocerebrosidase deficiency contribute to a vulnerability to parkinsonism? *Mol Genet Metab* 2003;**79**:104–9.
128. **Goker-Alpan O**, Stubblefield BK, Giasson BI, *et al*. Glucocerebrosidase is present in alpha-synuclein inclusions in Lewy body disorders. *Acta Neuropathol* 2010;**120**:641–9.
129. **Cullen V**, Sardi SP, Ng J, *et al*. Acid beta-glucosidase mutants linked to Gaucher disease, Parkinson disease, and Lewy body dementia alter alpha-synuclein processing. *Ann Neurol* 2011;**69**:940–53.
130. **Yap TL**, Gruschus JM, Velayati A, *et al*. Alpha-synuclein interacts with glucocerebrosidase providing a molecular link between Parkinson and Gaucher diseases. *J Biol Chem* 2011;**286**:28080–8.
131. **Hardy J**. No definitive evidence for a role for the environment in the etiology of Parkinson's disease. *Mov Disord* 2006;**21**:1790–1.
132. **Deng X**, Dzamko N, Prescott A, *et al*. Characterization of a selective inhibitor of the Parkinson's disease kinase LRRK2. *Nat Chem Biol* 2011;**7**:203–5.



Molecular pathogenesis of Parkinson's disease: update

Shinji Saiki, Shigeto Sato and Nobutaka Hattori

J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012 83: 430-436 originally published online December 3, 2011
doi: 10.1136/jnnp-2011-301205

Updated information and services can be found at:
<http://jnnp.bmj.com/content/83/4/430.full.html>

These include:

References

This article cites 131 articles, 44 of which can be accessed free at:
<http://jnnp.bmj.com/content/83/4/430.full.html#ref-list-1>

Email alerting service

Receive free email alerts when new articles cite this article. Sign up in the box at the top right corner of the online article.

Topic Collections

Articles on similar topics can be found in the following collections

Drugs: CNS (not psychiatric) (1396 articles)
Parkinson's disease (497 articles)

Notes

To request permissions go to:
<http://group.bmj.com/group/rights-licensing/permissions>

To order reprints go to:
<http://journals.bmj.com/cgi/reprintform>

To subscribe to BMJ go to:
<http://group.bmj.com/subscribe/>



Autosomal dominant Parkinsonism: its etiologies and differential diagnoses

Nobutaka Hattori*

Chairman and Professor of Dept. of Neurology, Juntendo Univ. School of Medicine, 2-1-1 Hongo, Bunkyo, Tokyo 113-8421, Japan

ARTICLE INFO

Keywords:

Autosomal dominant parkinsonism
PARK disorders
Hereditary parkinsonism

SUMMARY

Recently, several genes for parkinsonism have been identified. Among them, familial Parkinson's disease (PD) could be assigned for PARK disorders. PARK disorders consist of three different inherited modes such as autosomal recessive, autosomal dominant modes and susceptible genes. Some of them manifest not only typical parkinsonism, but also dystonia, pyramidal sign, and mental dysfunctions. While the monogenic forms of PARK disorders have been reviewed extensively, it is not easy to do differential diagnosis of PARK disorders due to the additional features except for typical parkinsonism. In this presentation, we focus on two different scenarios of patients with autosomal dominant parkinsonism: (1) parkinsonism with mutations in one of the PARK genes; (2) parkinsonism with mutations other than PARK genes or yet other genes where parkinsonism is a well recognized, concomitant, or even an isolated feature.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

In the past decade, a number of PARK disorders have been identified (Table 1). At the present time, 18 loci have been detected so far, and among them, there have been eleven identified genes. *SNCA* and *Lrrk2* have been recognized as major causative genes for autosomal dominant PD in which clinical symptoms are very similar to those of the sporadic form of PD [1]. Moreover, genome wide association studies revealed that polymorphisms in the same genes such as *SNCA* and *Lrrk2* could be involved in sporadic PD as one of risk factors, suggesting that inherited form and sporadic PD could share a common pathway. Therefore, understanding the function of these gene products encoded by both genes will hopefully elucidate the mechanisms leading to nigral degeneration. In addition, *GIGYF2* (*Grb10-Interacting GYF Protein-2* gene) responsible for PARK11 and *Omi/HtrA2* for PARK13 are causative genes for low frequent autosomal dominant PD.

Considering the mode of inheritance, autosomal dominant parkinsonism could be caused by toxic-gain of function. In addition to PARK disorders, there has been typical parkinsonism without PARK genes such as DYT or SCA genes. In contrast, there has been atypical parkinsonism in other genetic disorders typically characterized by features other than parkinsonism. Moreover, glucocerebrosidase (GBA), the gene responsible for Gaucher's disease, is one of the susceptible genes that poses a risk for developing into PD even in heterozygous cases. As it is difficult to differentiate various types of autosomal dominant parkinsonism, it is important to understand the phenotype-genotype. In addition, there appears to be a similarity in the pathogenesis between sporadic and familial PD. This finding provides us a good hint to clarify a mechanism of nigral degeneration between the sporadic and monogenic form of PD [2]. In this review, we summarize

the phenotype-genotype correlation and the possible role of gene products.

2. Autosomal dominant parkinsonism as PARK disorders

Among PARK disorders, PARK8 is the most frequent autosomal dominant disorder. In contrast, although the frequency of *SNCA* mutations including missense or duplications have been much lower than that of PARK8 disorders, the role of this gene product is essential for the formation of Lewy bodies and neuritis. Thus, both genes are major genes for autosomal dominant PD [3]. In addition, PARK5, 11, and 13 have been reported as PARK disorders. Regarding PARK5, only one family has been reported so far. Therefore, it is not clear whether or not this is a responsible gene, *UCH-L1* is the true causative gene for PARK5. Also, PARK11-linked PD has been linked to 2q36–37. Subsequently, mutations in *GIGYF2* (*Grb10-Interacting GYF Protein-2* gene) were found in Italians and French. However, extensive studies failed to detect the same mutations in patients with familial PD, and the same mutations have been found in normal controls, suggesting that it seems to be unlikely that *GIGYF2* is the causative gene for PARK11.

Missense mutations in *Omi/HtrA2* were reported to be associated with four patients with the sporadic form of PD, presenting typical parkinsonism. G399S and A141S mutations were detected and resulted in defective activation of the protease activity of *Omi/HtrA2*. Pathologically, accumulation of *Omi* was found in neuronal and glial inclusions in brains with alpha-synucleinopathies as well as in Lewy bodies. The largest association study revealed no overall strong association of *Omi/HtrA2* variants with PD in populations worldwide [4].

SNCA and *Lrrk2* are major causative genes for autosomal dominant PD. *SNCA* was the first causal PD gene identified in a

Table 1

Genetic and clinical characteristics of the hereditary Parkinsonism (Mainly autosomal dominant forms of parkinsonism) (see text)

Locus	Inheritance	Gene	Type of mutations	Clinical features
PARK1/PARK4	AD	SNCA	Missense, duplication, triplication	A30P: late-onset, Levodopa responded parkinsonism, PD; A53T: typical parkinsonism with rapid progression, PD; E64K: DLB-like symptom; duplication: typical PD; triplication: early-onset PD with rapid progression
PARK3	AD	unknown	–	–
PARK5	AD	UCH-L1	missense	Typical PD, only one family
PARK8	AD	LRRK2	missense	Middle-to-late onset typical PD with response to Levodopa
PARK11	AD	GIGYF2?	missense	Typical PD?
PARK13	AD	Omi/HtrA2	missense	Typical PD
DYT3	XR	TAF1	missense	Parkinsonism, dystonia
DYT5	AD	GCH1	missense	Dopa responsive dystonia
DYT12	AD	ATP1A3	missense	Orofacial dystonia, dysarthria, dysphagia, involuntary dystonic spasms, parkinsonism with bradykinesia and postural instability
SCA2	AD	Ataxin 2	CAG repeat	Levodopa responsive parkinsonism of patients of Asian origin
SCA3	AD	Ataxin 3	CAG repeat	Levodopa responsive parkinsonism
SCA8	AD	Ataxin 8 Ataxin 8 opposite strand	CTA/CTG repeat	Atypical parkinsonism
SCA17	AD	TBP	CAG repeat	Atypical parkinsonism
POLG	AD	POLG	missense	Atypical parkinsonism and external ophthalmoplegia
GBA	AD or AR	GBA	missense	Early onset parkinsonism or typical PD, similar to sporadic PD

AD, autosomal dominant; AR, autosomal recessive; XR, X-linked recessive; DLB, dementia with Lewy bodies; PD, Parkinson.

large Italian family. Three missense mutations (A30P, E46K and A53T), duplications and triplications of the SNCA gene have been reported [5]. In Japanese patients with familial PD, duplication is the most frequent type among SNCA mutations. No missense mutation has been identified so far. Clinical features of patients with E46K mutation are similar to those of dementia with Lewy bodies, whilst A30P is not associated with severe dementia. Individuals with SNCA triplication developed an early-onset form of PD with rapid progression and more extended neurodegeneration [6].

The recent genome-wide association studies (GWAS) have demonstrated a strong association between common single nucleotide polymorphism (SNPs) within the SNCA locus and the disease in different populations, consistent with the finding that variation at the SNCA locus increases PD susceptibility [6,7]. Very interestingly, no SNPs have been reported so far within the coding region of the gene, suggesting that this gene may be a new gene considering the evolution of human genome.

Alpha-synuclein is mainly expressed in the presynaptic terminal of the central nervous system and a major component of Lewy bodies. The protein binds with lipids and unfolds in the steady state. Although the exact function remains unclear, it regulates dopamine homeostasis in presynaptic vesicle cycling. Compared to the wild-type alpha-synuclein, mutant forms easily aggregate in neuronal cells *in vitro* and *in vivo* [8,9]. What types of alpha-synuclein species are the most toxic to cells remains unclear, but some studies assert that mature aggregates are not themselves the toxic moiety rather an attempt by the cell to clear small toxic oligomers [10]. Recent advances in the protein degradation system in PD reveal the importance of both ubiquitin proteasome (UPS) and autophagy-lysosome pathway (ALP) in the disease pathogenesis [11]. Wild-type alpha-synuclein is degraded by both chaperone-mediated autophagy (CMA) and macroautophagy, whilst A30P and A53T is mainly the latter.

Several lines of evidence have shown that permeabilized alpha-synuclein from a neuron may be toxic to neurons and/or glia. Actually, grafted healthy neurons can gradually develop the same pathology as host neurons in the PD brains [12]. These findings have suggested that non-autonomous cell death as well as cell autonomous cell death may play an important role on the disease pathogenesis as well in Amyotrophic lateral sclerosis (ALS).

PARK8 is the most common form of hereditary PD in the world. The original family was described in a Japanese journal by Nukada et al. in 1978. Clinical features of PARK8 are essentially similar to those of sporadic PD. The locus was mapped to the centromeric region of chromosome 12 (12p11.23–q13.11) and the disease gene was identified as the leucine-rich repeat kinase 2 gene (LRRK2). Until now, 20 missense or nonsense mutations have been reported [13]. G2019S is the most common missense mutation seen in European countries, Ashkenazi Jewish people, and Arabic subjects in North Africa. I2020T mutation was found in the original family in Sagami-hara. Neuropathological findings were heterogeneous [14–16]. Most of the cases with LRRK2 mutations showed various degrees of Lewy bodies, but intraneuronal aggregations positive to tau were rarely detected.

LRRK2 protein, containing GTPase domain, Ras-of-complex (ROC) domain, a C-terminal of Ras complex (COR) domain and mitogen-activated kinase domain, is highly expressed in brain, and the levels of mRNA are rich in the striatum and hippocampus compared to other regions. Intracellular LRRK2 mainly distributes in the plasma membrane. However, LRRK2 proteins are also present in membranous organelles including ER, golgi apparatus, early endosomes, lysosomes, synaptic vesicles, and mitochondria. Moreover, it has been reported that LRRK2 binds to lipid rafts within the synaptosomes [17].

Changes in LRRK2 activity cause alterations in mitogen-activated protein kinase, translational control, tumor necrosis factor alpha/Fas

ligand and Wnt signaling pathways with the cell biological functions of LRRK2 such as vesicle trafficking. The most common pathological mutation in LRRK2, G2019S LRRK2, causes neurite retraction by activation of Rac1 small GTPase. Thus, activity changes of LRRK2 kinase and GTPase may be involved as a key factor in the LRRK pathogenesis.

Among autosomal recessive PARK disorders such as PARK2, 6, and 7, single heterozygous mutations are known to have a parkinsonian phenotype. Thus, it would be possible that pseudo-autosomal dominant familial PD might take in place in some patients. This finding suggests that parkin, PINK1, and DJ-1 are also candidates for autosomal dominant parkinsonism.

3. Autosomal dominant parkinsonism without PARK genes

Clinical features associated with mutations of PARK disorders often markedly differ from those of classical parkinsonism. On the other hand, some gene-proven cases without PARK genes mimicking classical parkinsonism have been reported and the genes should thus be considered in the differential diagnosis of parkinsonism (Table 1). Dystonia plus parkinsonism should be considered for differential diagnosis. Currently, at least 20 monogenic forms of DYT disorders have been listed. Among them, DYT3, DYT5, and DYT12 present combined features, with dystonia and parkinsonism. Among three DYT disorders, only DYT12 is an autosomal dominant mode of inheritance. DYT12 is clinically characterized clinically characterized by orofacial dystonia, dysarthria, dysphagia, and involuntary dystonic spasms, predominantly in the upper limbs with superimposed parkinsonian features, primarily bradykinesia, and postural instability with or without rigidity [18]. The symptoms are not levodopa-responsive. DYT disorders usually lack responsiveness of levodopa except for DYT5.

Inherited ataxias represent a clinically and genetically heterogeneous group. Parkinsonism has been described in several of these. SCA2 mutations may cause classical, L-dopa-responsive parkinsonism in patients from different genetic backgrounds and seems to be particularly frequent among patients of Asian origin in whom it accounts for about 10% of familial parkinsonism [18]. Thus, clinicians should consider SCA2 for differential diagnosis in PD patients with autosomal dominant mode of inheritance and Asian origin. In addition, mutations of DNA Polymerase gamma (POLG) and the Twinkle genes are found in some patients presenting with predominant progressive external ophthalmoplegia (PEO) and concomitant features of parkinsonism. Both are also causative genes for autosomal dominant PD.

Early identified patients with Gaucher disease (GD) and their heterozygous relatives present parkinsonism. In addition, autopsy studies revealed the presence of mutant glucocerebrosidase in alpha-synuclein positive Lewy bodies in GD patients and carriers with alpha-synucleinopathies [19]. Since then similar reports followed and heterozygous carriers of GBA were considered to have a high risk for sporadic PD. The age of onset of PD among GBA carriers was 39 to 65, disease duration 1.2–16 years, and half of the patients had cognitive impairment. Recent meta-analysis revealed the OR of 5.43 for any mutation of GBA [20]. Thus GBA carriers have the highest risk for sporadic PD. It is interesting to speculate that lysosomal function is impaired in sporadic PD and GBA is a lysosomal enzyme. As there are many healthy carriers of GBA, some additional factors seem to be necessary to be afflicted with PD.

4. Conclusions

There are many diseases that have parkinsonism, which should be considered in the differential diagnosis (Table 1). It is important

to evaluate the levodopa-responsiveness in the patients with autosomal dominant mode of inheritance based on the differential diagnosis.

Conflict of interests

Nobutaka Hattori has received personal compensation for attending advisory board meetings as a member of the advisory boards of Boehringer Ingelheim and FP Pharmaceutical Company. He has received consultancy fees from Ohtsuka Pharmaceutical Company, Kyowa Hakko Kirin Pharmaceutical Company, GlaxoSmithKline, Novartis, and Schering-Plough.

References

1. Biernacka JM, Armasu SM, Cunningham JM, Ahlskog JE, Chung SJ, Maraganore DM. Do interactions between SNCA, MAPT, and LRRK2 genes contribute to Parkinson's disease susceptibility? *Parkinsonism Relat Disord* 2011 Aug 2 [Epub ahead of print]. doi: 10.1016/j.parkreldis.2011.07.001.
2. Hatano T, Kubo S, Sato S, Hattori N. Pathogenesis of familial Parkinson's disease: new insights based on monogenic forms of Parkinson's disease. *J Neurochem* 2009;111:1075–93.
3. Nuytemans K, Theuns J, Cruts M, Van Broeckhoven C. Genetic etiology of Parkinson disease associated with mutations in the SNCA, PARK2, PINK1, PARK7, and LRRK2 genes: a mutation update. *Hum Mutat* 2010;31:763–80.
4. Kruger R, Sharma M, Riess O, Gasser T, Van Broeckhoven C, Theuns J, et al. A large-scale genetic association study to evaluate the contribution of Omi/HtrA2 (PARK13) to Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2011;32:548–9–18.
5. Nishioka K, Ross OA, Ishii K, Kachergus JM, Ishiwata K, Kitagawa M, et al. Expanding the clinical phenotype of SNCA duplication carriers. *Mov Disord* 2009;24:1811–9.
6. Simon-Sanchez J, Schulte C, Bras JM, Sharma M, Gibbs JR, Berg D, et al. Genome-wide association study reveals genetic risk underlying Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1308–12.
7. Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, et al. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet* 2009;41:1303–7.
8. Giasson BI, Duda JE, Murray IV, Chen Q, Souza JM, Hurtig HI, et al. Oxidative damage linked to neurodegeneration by selective alpha-synuclein nitration in synucleinopathy lesions. *Science* 2000;290:985–9.
9. Kruger R, Eberhardt O, Riess O, Schulz JB. Parkinson's disease: one biochemical pathway to fit all genes? *Trends Mol Med* 2002;8(5):236–40.
10. Cookson MR, van der Brug M. Cell systems and the toxic mechanism(s) of alpha-synuclein. *Exp Neurol* 2008;209:5–11.
11. Webb JL, Ravikumar B, Atkins J, Skepper JN, Rubinsztein DC. Alpha-Synuclein is degraded by both autophagy and the proteasome. *J Biol Chem* 2003;278:25009–13.
12. Brundin P, Li JY, Holton JL, Lindvall O, Revesz T. Research in motion: the enigma of Parkinson's disease pathology spread. *Nat Rev Neurosci* 2008;9:741–5.
13. Cookson MR. The role of leucine-rich repeat kinase 2 (LRRK2) in Parkinson's disease. *Nat Rev Neurosci* 2010;11:791–7.
14. Wszolek ZK, Pfeiffer RF, Tsuboi Y, Uitti RJ, McComb RD, Stoessl AJ, et al. Autosomal dominant parkinsonism associated with variable synuclein and tau pathology. *Neurology* 2004;62:1619–22.
15. Belarbi S, Hecham N, Lesage S, Kediha MI, Smail N, Benhassine T, et al. LRRK2 G2019S mutation in Parkinson's disease: a neuropsychological and neuropsychiatric study in a large Algerian cohort. *Parkinsonism Relat Disord* 2010 Dec;16(10):676–9.
16. Johansen KK, Hasselberg K, White LR, Farrer MJ, Aasly JO. Genealogical studies in LRRK2-associated Parkinson's disease in central Norway. *Parkinsonism Relat Disord* 2010 Sep;16(8):527–30.
17. Hatano T, Kubo S, Imai S, Maeda M, Ishikawa K, Mizuno Y, et al. Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Hum Mol Genet* 2007;16(6):678–90.
18. Klein C, Schneider SA, Lang AE. Hereditary parkinsonism: Parkinson disease look-alikes—an algorithm for clinicians to “PARK” genes and beyond. *Mov Disord* 2009;24:2042–58.
19. Goker-Alpan O, Stubblefield BK, Giasson BI, Sidransky E. Glucocerebrosidase is present in alpha-synuclein inclusions in Lewy body disorders. *Acta Neuropathol* 2010;120(5):641–9.
20. Sidransky E, Nalls MA, Aasly JO, Aharon-Peretz J, Annesi G, Barbosa ER, et al. Multicenter analysis of glucocerebrosidase mutations in Parkinson's disease. *N Engl J Med* 2009;361:1651–61.

HISTORY

遺伝子工学からの恩恵 — 4

「iPS 細胞の誕生と再生医療への応用」

■ 富施 敦仁¹⁾・深江 治郎²⁾
はっとり のぶたか¹⁾
服部 信孝¹⁾



1) 順天堂大学医学部脳神経内科

2) 福岡大学医学部神経内科

富施 敦仁

2006年 埼玉医科大学医学部卒業

2008年 順天堂大学医学部脳神経内科入局

2011年 順天堂大学大学院医学研究科
神経学入学

研究テーマ：神経変性疾患の蛋白機能解析。

Key words : iPS 細胞, 転写因子, 再生医療

Abstract

iPS 細胞は分化した体細胞に4つの転写因子 (Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4) を導入することで樹立される万能多能幹細胞である。2006年にiPS 細胞は京都大学の山中教授らによって世界で初めて樹立され、動物マウス研究やES 細胞研究とともに病態疾患メカニズムの解明や新しい治療法の確立、再生医療への応用が大きく期待されている。しかし、iPS 細胞の初期化のメカニズム、腫瘍化の危険性など取り組むべき課題は多く存在する。本稿では、主に現在までに報告されている研究成果を振り返るとともに臨床へ応用するために解決しなければならない問題などについての解説を行う。

年には、体細胞クローン羊である“Dolly”が誕生し世界に大きな衝撃を与えた。Dolly 誕生により再生医療の新たな可能性が見いだされたが、残念ながら人への応用は技術面で難しく成功には至っていない。2006年にマウス人工多能性幹細胞 (induced Pluripotent Stem cell: iPS 細胞) の樹立に成功した。iPS 細胞は自己の細胞から樹立される万能多能幹細胞であることから倫理的な問題や免疫学的な拒絶反応がなく、再生医療への実用化にさらに大きく期待が集まるようになった。

1. iPS 細胞の誕生

はじめに

1981年にマウス胚性幹 (Embryonic Stem: ES) 細胞が発見され、分化多能性とほぼ無限な増殖能から再生医療への応用が大きく期待されたが、胚細胞を使用することから倫理的問題や法規制の問題などにより慎重な研究運用を求められた。1997

1981年にマウスの奇形腫を用いた早期胚からES細胞が発見され、1998年にヒト由来ES細胞が報告された¹⁾。ES細胞はほぼ全ての組織に分化する分化多能性を持ち、ほぼ無限に増殖可能であることから疾患病態メカニズムの解明、創薬研究、再生医療などへ応用が可能と考えられ注目されるようになった。しかし、ES細胞は胚細胞を用いることから倫理的

Discovery of iPS cells and application of iPS cells to regenerative medicine : Akihito Fuse¹⁾, Jiro Fukae²⁾, Nobutaka Hattori¹⁾,

1) Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine 2) Department of Neurology, Fukuoka University Faculty of Medicine

HISTORY

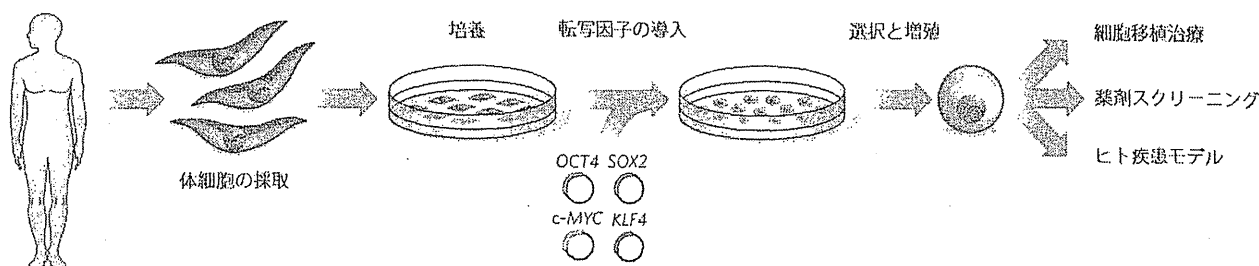


図 iPS 細胞樹立と活用法 (文献 16 より改変)

表 1 iPS 細胞と ES 細胞の比較

	iPS 細胞	ES 細胞
利点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 多能性 2. ほぼ無限な増殖能 3. 胚細胞を用いない 4. 免疫拒絶反応の可能性が低い 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 多能性 2. ほぼ無限な増殖能 3. 遺伝子導入が不要
欠点	<ol style="list-style-type: none"> 1. 遺伝子導入による癌化のリスク 2. 初期化のメカニズムが不明 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 胚細胞の利用による倫理的問題 2. 移植後の免疫拒絶反応の可能性 3. 胚細胞が大量に必要

問題、法規制の問題などがあり慎重な研究運用を求められた。ES 細胞は移植細胞の腫瘍化や拒絶反応による生着率の低さなどの課題が多く、広く普及に至っていない。

2006 年 8 月に京都大学の山中教授らはマウスの皮膚から線維芽細胞を採取し、Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4 の 4 つの転写因子 (これらは山中因子と呼ばれている) をレトロウイルスベクターを用いて遺伝子導入することで体細胞の核をリプロミリングし iPS 細胞の樹立に初めて成功した。2007 年 11 月には成人皮膚由来の線維芽細胞を用いてヒト iPS 細胞の樹立に成功した²⁾(図)。iPS 細胞は形態学的、増殖能、表面抗原、遺伝子発現、エピジェネティック状態、テロメラーゼ活性などの点で ES 細胞と類似し、神経細胞や心筋細胞へ直接的に分化誘導することが可能である。特にヒト iPS 細胞は自己の細胞を用いて多能性幹細胞を樹立できる

ことから ES 細胞が抱える倫理的問題や移植後の拒絶反応を回避することができるため、ES 細胞に替わり iPS 細胞が新たに注目を浴びるようになった (表 1)。

2. iPS 細胞の実用化と安全性

iPS 細胞樹立の発表以降、様々な体細胞や転写因子を用いて作製された iPS 細胞の樹立成功が報告されるようになった。現在、iPS 細胞は主に皮膚細胞、毛根組織、歯髄細胞、血液細胞から作製されるが、由来する細胞によって iPS 細胞の性質や能力に違いがみられることがわかってきている。iPS 細胞の実用化には均一で安定した性能が求められるため作製方法の標準化が求められている。当初、体細胞の初期化には山中因子が必須であることが明らかにされたが、iPS 細胞由来の細胞を

移植したキメラマウスの子孫の約 20% に甲状腺癌や神経節芽細胞腫などの悪性腫瘍が形成されることが報告された³⁾。腫瘍化は癌原遺伝子である c-Myc の再活性化が原因と考えられ、c-Myc を除いた Oct3/4, Sox2, Klf4 で iPS 細胞を作製できることが報告され、腫瘍形成はほぼ回避できている。また、Oct4, Sox2, Nanog, Lin28 を用いる方法や Oct4 のみを用いる方法なども報告され、iPS 細胞の作製方法については盛んに研究されている。現在は、初期化に必要な転写因子における役割や関連性などは完全には解明されていないが、Oct4 が体細胞の初期化に最も重要であり、Sox2 や Klf4 はそれぞれ Sox1, Klf2, Klf5 でも代用できることがわかってきている。

ところで、iPS 細胞の腫瘍化の原因は転写因子だけではなく、遺伝子導入の際に用いるウイルスベクターの使用も一因と考えられている。そのため、ウイルスベクターを使用しないで導入する方法についても様々な研究が行われている。遺伝子工学で広く用いられるプラスミドベクターで導入された遺伝子の発現は一時的であるが、繰り返し遺伝子導入することで iPS 細胞を作製できることが報告され、腫瘍化の危険性が低い点で有用と考えられている。その他にエピゾーマルベクターやセンダイウイルス、ポリシストロニックベクターなどで遺伝子導入する方法や山中因子をコードする mRNA またはこれにより合成されたタンパク質を細胞外から導入する方法などさまざま報告されている。

さらに、iPS 細胞の作製効率の向上についても研究が進められている。山中因子での作製効率は数% であるが、c-Myc を用いない作製方法ではさらに効率が低下することがわかっている。c-Myc は作製効率に寄与する反面、腫瘍形成の可能性があるため c-Myc に替わる新しい転写因子が探索され、Myc ファミリーの 1 つである L-Myc が腫瘍化の危険性を上げずに効率良く iPS 細胞を誘導できること

表 2 iPS 細胞研究が行われている主な中枢神経疾患の一覧

中枢神経疾患
孤発性パーキンソン病
遺伝性パーキンソン病
ハンチントン病
筋萎縮性側索硬化症
脊髄性筋萎縮症
Friedreich 失調症
家族性自律神経失調症
Duchenne 型筋ジストロフィー
Becker 型筋ジストロフィー
Gaucher 病
Rett 症候群
Down 症候群
脆弱 X 症候群
Prader-Willi 症候群

(文献 16 より)

が報告された⁴⁾。また、iPS 細胞誘導時に癌抑制遺伝子である p53 とその下流にある p21 が高く発現しリプロミングを阻害していることから p53 を抑制する方法が報告された。その他に未授精卵や受精卵で高度に発現している Gli 様転写因子 Glis1 を Oct3/4, Sox2, Klf4 とともに導入させる方法などさまざま報告されている。

このように iPS 細胞の実用化にはまだ解決すべき課題があるが、iPS 細胞の安全性の向上に向けて初期化因子の選定、遺伝子導入方法、作製効率の改良など日進月歩で進められている。

3. iPS 細胞を用いた研究

患者の体細胞から作製された iPS 細胞を用いることにより、希少疾患、遺伝性疾患、複数要因による疾患の病態メカニズムの解明や新たな治療方

HISTORY

法の開発が可能と考えられており、特に疾患モデルのない希少疾患では大きく期待されている。ここでは神経変性疾患に焦点を当てて紹介する。(表 2)

(1) 疾患特異的な iPS 細胞の作製と疾患研究

神経変性疾患にはさまざまな疾患が存在するが、いまだ疾患病態の詳細なメカニズムが解明されていないものが多く存在する。これまで報告されてきた剖検脳での病理所見は疾患の末期を反映したものであり、どのような過程で疾患が進行するかは不明な点が多い。患者の体細胞から作製された iPS 細胞は分化の過程から細胞変化を観察できることにより病態メカニズムの解明やさらには再生医療への応用が期待できる。現在までに多くの神経疾患モデル iPS 細胞が作製され研究が進められている⁶。

脊髄性筋萎縮症 (Spinal Muscular Atrophy: SMA) や家族性自律神経失調症 (Familial Dysautonomia: FD) などの発症年齢の低い疾患は遺伝子要因が大きく、疾患モデル iPS 細胞の作製と疾患再現が早期に報告された。SMA では疾患 iPS 細胞由来の運動神経細胞が原因遺伝子の変異により細胞死を引き起こして神経細胞が減少し、FD では疾患モデル iPS 由来の神経細胞が原因遺伝子の転写異常により分化と遊走に異常が起こることが報告された^{7, 8}。どちらの疾患についても優れた動物モデルがなく、iPS 細胞を用いて病態を再現することで疾患病態の解明に大きな貢献をしている。

パーキンソン病 (Parkinson's Disease: PD) は振戦、無動、筋固縮、姿勢反射障害を主症状とする慢性進行性疾患である。PD のほとんどは孤発性であるが、一部は遺伝性であることから遺伝的要因と環境要因が複合的に関連していると想定されている。孤発型 PD 患者の皮膚線維芽細胞から作製された iPS 細胞を神経細胞に分化誘導させると、PD 患者由来の iPS 細胞と非 PD 患者由来の

iPS 細胞のどちらも有意差がなかったことが報告され、孤発性 PD の発症には遺伝的要因よりも酸化ストレスや老化などの環境要因の方がより強い影響を及ぼしている可能性があることが示唆された⁹。一方で、PINK1 遺伝子異常をもつ PD 患者由来の iPS 細胞を神経細胞に分化誘導させるとミトコンドリアの parkin 蛋白の移行障害が確認されている¹⁰。さらには LRRK2 遺伝子異常をもつ PD 患者由来の iPS 細胞を神経細胞に分化誘導させ酸化ストレスである過酸化水素や 6-OHDA に暴露させると対照群に比べ神経細胞における酸化ストレス反応の上昇や α シヌクレインの増加が確認され、*in vitro* や *in vivo* で報告されている病態と同様な現象が確認されている¹¹。

アルツハイマー病 (Alzheimer's Disease: AD) は中高年発症の認知症を症状とする進行性疾患で、認知症の約半分を占める最も頻度の高い神経変性疾患である。AD 剖検脳においてアミロイド β の蓄積が多く報告され、これが AD の病態に関連していることが想定されている。家族性 AD 患者由来の iPS 細胞を神経細胞に分化誘導させるとアミロイド β が非 AD 患者由来の神経細胞に比べ 2~3 倍発現量が高いことが確認されている¹²。

(2) 創薬研究

iPS 細胞を用いて疾患病態のメカニズムを解明することで、新たな治療薬の開発が期待できる。先述の通り、SMA は疾患病態モデルの再現が行われ、それと同時に治療薬の開発も進められている。SMA は SMN1 および SMN2 遺伝子の変異が原因で SMN 蛋白産生量が減少するが、バルプロ酸およびトブラマイシンが SMN 蛋白を増加させることが報告されている。FD についても原因と考えられる IKBKAP スプライシング異常と神経分化異常を修復できる薬剤スクリーニングした結果、カイネチンが神経細胞への分化を促進したと報告されている。

(3) 再生医療

iPS細胞研究は再生医療への応用にも期待されており、iPS細胞樹立の発表からわずか1年後に鎌状赤血球症のマウスにiPS細胞を用いた治療が報告された¹³⁾。中枢神経系の分野ではPD、脊髄損傷、筋萎縮性側索硬化症などでモデル動物やES細胞を用いた研究が中心に行われているが、最近ではiPS細胞を用いた研究が報告されている。免疫不全状態の脊髄損傷マウスモデルに成人の皮膚線維芽細胞から作製されたiPS細胞を3種類の神経系細胞(神経細胞、正常膠細胞、希突起膠細胞)に分化誘導させ移植すると、iPS細胞由来の神経細胞は生着・分化してマウス由来神経細胞とシナプスを形成し、脊髄損傷後の血管新生や神経軸索線維の再生を認め運動機能が改善したことが報告されている¹⁴⁾。また、PDモデルラットに孤発型PD患者由来のiPS細胞を神経細胞に分化させ線条体に移植すると、長期間生着し非対称性運動が軽減したことが報告されている¹⁵⁾。

おわりに

iPS細胞樹立からまだ数年しか経っていないが、疾患病態メカニズムの解明や創薬研究、再生医療への応用に向けて世界各国で盛んにiPS細胞研究が行われている。しかし、iPS細胞の品質の向上、腫瘍化の抑制など解決すべき課題はまだ多い。iPS細胞研究はめざましく発展をしており、これらの成果によってもたらされる基礎研究および臨床研究へのメリットは非常に大きく、早期の実用化が期待される。

参考文献

- 1) James A. Thomson, Joseph Itskovitz-Eldor, Sander S. Shapiro, Michelle A. Waknitz, Jennifer J. Swiergiel, Vivienne S. Marshall, Jeffrey M. Jones : Embryonic Stem Cell Lines Derived from Human Blastocysts. *Science* 1998; 282: 1145-1147
- 2) Kazutoshi Takahashi, Koji Tanabe, Mari Ohnuki, Megumi Narita, Tomoko Ichisaka, Kiichiro Tomoda, and Shinya Yamanaka : Induction of Pluripotent Stem Cells from Adult Human Fibroblasts by Defined Factors. *Cell* 2007; 131: 861-872
- 3) Keisuke Okita, Tomoko Ichisaka & Shinya Yamanaka : Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. *Nature* 2007; 448: 313-318
- 4) Keisuke Okita, Masato Nakagawa, Hong Hyenjong, Tomoko Ichisaka, Shinya Yamanaka : Generation of Mouse Induced Pluripotent Stem Cells Without Viral Vectors. *Science* 2008; 322: 949-953
- 5) Masato Nakagawa, Nanako Takizawa, Megumi Narita, Tomoko Ichisaka, and Shinya Yamanaka : Promotion of direct reprogramming by transformation-deficient Myc. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 14152-14157
- 6) Steve S.W. Han, Luis A. Williams, and Kevin C. Eggan : Constructing and Deconstructing Stem Cell Models of Neurological Disease. *Neuron* 2011; 70: 627-644
- 7) Allison D. Ebert, Junying Yu, Ferrill F. Rose Jr, Virginia B. Mattis, Christian L. Lorson, James A. Thomson & Clive N. Svendsen : Induced pluripotent stem cells from a spinal muscular atrophy patient. *Nature* 2009; 457: 277-281
- 8) Gabsang Lee, Eirini P. Papapetrou, Hyesoo Kim, Stuart M. Chambers, Mark J. Tomishima, Christopher A. Fasano, Yosif M. Ganat, Jayanthi Menon, Fumiko Shimizu, Agnes Viale, Viviane Tabar, Michel Sadelain & Lorenz Studer : Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs. *Nature* 2009; 461: 402-408
- 9) Frank Soldner, Dirk Hockemeyer, Caroline Beard, Qing Gao, George W. Bell, Elizabeth G. Cook, Gunnar Hargus, Alexandra Blak, Oliver Cooper, Maisam Mitalipova, Ole Isacson, and Rudolf Jaenisch : Parkinson's Disease Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells Free of Viral Reprogramming Factors. *Cell* 2009; 136: 964-977
- 10) Philip Seibler, John Graziotto, Hyun Jeong, Filip Simunovic, Christine Klein, and Dimitri Krainc : Mitochondrial Parkin Recruitment Is Impaired in Neurons Derived from Mutant PINK1 Induced Pluripotent Stem Cells. *The Journal of Neuroscience* 2011; 31: 5970-5976
- 11) Ha Nam Nguyen, Blake Byers, Branden Cord, Aleksandr Shcheglovitov, James Byrne, Prachi Gujar, Kehkooi Kee, Birgitt Schule, Ricardo E. Dolmetsch, William Langston, Theo D. Palmer : LRRK2 Mutant iPSC-Derived DA Neurons Demonstrate Increased Susceptibility to Oxidative Stress. *Cell Stem Cell* 2011; 4:267-280
- 12) Takuya Yagil, Daisuke Ito, Yohei Okada, Wado Akamatsu, Yoshihiro Nihei, Takahito Yoshizaki, Shinya Yamanaka, Hideyuki Okano and Norihiro Suzuki : Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Human Molecular Genetics* 2011; 20: 4530-4539
- 13) Jacob Hanna, Marius Wernig, Styliani Markoulaki, Chiao-Wang Sun, Alexander Meissner, John P. Cassidy, Caroline Beard, Tobias Brambrink, Li-Chen Wu, Tim M. Townes, Rudolf Jaenisch : Treatment of Sickle Cell Anemia Mouse Model with iPSC Cells Generated from Autologous Skin. *Science* 2007; 318: 1920-1923
- 14) Satoshi Nori, Yohei Okada, Akimasa Yasuda, Osahiko Tsuji, Yuichiro Takahashi, Yoshiomi Kobayashi, Kanehiro Fujiyoshi, Masato Koike, Yasuo Uchiyama, Eiji Ikeda, Yoshiaki Toyama, Shinya Yamanaka, Masaya Nakamura, and Hideyuki Okano : Grafted human-induced pluripotent stem-cell-derived neurospheres promote motor functional recovery after spinal cord injury in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 16825-16830
- 15) Gunnar Hargus, Oliver Cooper, Michela Deleidi, Adam Levy, Kristen Lee, Elizabeth Marlow, Alyssa Yow, Frank Soldner, Dirk Hockemeyer, Penelope J. Hallett, Teresia Osborn, Rudolf Jaenisch, and Ole Isacson : Differentiated Parkinson patient-derived induced pluripotent stem cells grow in the adult rodent brain and reduce motor asymmetry in Parkinsonian rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 107: 15921-1592
- 16) Shinya Yamanaka & Helen M. Blau : Nuclear reprogramming to a pluripotent state by three approaches. *Nature* 2010; 465: 704-712

HISTORY

遺伝子工学からの恩恵 — 2

「連鎖解析, 疾患遺伝子の探索: パーキン遺伝子発見の経緯」

ふなやま まなぶ 1,2)
 船山 学
 はっとり のぶたか 1,2)
 服部 信孝

- 1) 順天堂大学大学院医学研究科
老人性疾患病態・治療研究センター
- 2) 順天堂大学医学部脳神経内科



船山 学
 順天堂大学大学院医学研究科老人性疾患病態・
 治療研究センター准教授, 医学博士(北里大学)
 1996年 北里大学衛生学部卒業
 2004年 北里大学大学院医療系研究科修了
 2005年 順天堂大学大学院医学研究科老人性
 疾患病態・治療研究センター博士研究員
 2009年 順天堂大学医学部神経学講座, 助教
 2011年より現職
 研究テーマ: 遺伝性疾患の原因遺伝子探索

Key words : 連鎖解析, ポジショナルクローニング,
 BAC, パーキンソン病, parkin

Abstract

単一遺伝性疾患, いわゆる遺伝病の原因遺伝子は 80 年代後半から高精度の遺伝地図が構築されたことにより次々に発見された。これを支えたのが遺伝統計学であり連鎖解析という解析法である。常染色体劣性遺伝性若年性パーキンソニズム (AR-JP) の原因遺伝子「パーキン遺伝子」は 1998 年に報告され, 現在のパーキンソン病研究において重要な役割を演じている。パーキン遺伝子も連鎖解析によって遺伝子座が同定され, 高精度 BAC ライブラリーによって迅速に遺伝子が単離された。その経緯と現在における遺伝子単離技術を解説する。

在では若年発症のパーキンソン病の約 15% に変異がみつかるという研究報告や, パーキン蛋白がパーキンソン病の発症に重要な役割を演じていることがパーキン蛋白の機能解析から明らかになってきており, その名に恥じないパーキンソン病研究の王道を突き進んでいる。パーキン遺伝子は連鎖解析という研究手法と高精度 BAC ライブラリーを利用したことに加え, いくつかの幸運が重なったことで非常に短時間に発見まで辿り着いた。

はじめに

パーキン遺伝子は 1998 年に報告された常染色体劣性遺伝性若年性パーキンソニズム (AR-JP) の原因遺伝子であり, 遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子としては α シヌクレイン (1997 年に報告) に次いで 2 番目に発見された。発表当時は通常高齢発症であるパーキンソン病に対して稀であり, 臨床的にも孤発性パーキンソン病とは異なるところもあり, 「パーキン」という名前に異論もあったようだが, 現

1. AR-JP とは

1973 年に広島大の山村安弘先生が初めて Neurology 誌に報告したこの疾患は若年 (主に 20 歳代) に発症し, 中には 10 歳前に発症する症例もいる¹⁾。通常のパーキンソン病と異なる特徴として, 若年発症に加え, 劣性遺伝形式を取ること, 発症時下肢のジストニアを伴う事が多いこと, 睡眠効果 (睡眠によって症状が緩和する) があること, パーキンソン病の病理学的特徴であるレビー小体が観察されないことなどが挙げられる。

Positional cloning of human disease genes : discovery of parkin : Manabu Funayama ^{1,2)}, Nobutaka Hattori ^{1,2)},

1) Research Institute for Diseases of Old Age, Graduate School of Medicine, Juntendo University

2) Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine

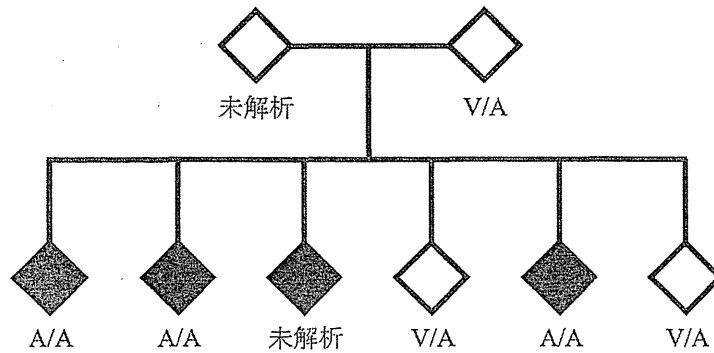


図1 「MnSOD 遺伝子多型と発症が一致した AR-JP 家系」
 黒で示した患者は全てアラニン/アラニン (A/A) のホモ接合体で、白で示した未発症者は
 バリン/アラニン (V/A) のヘテロ接合体である。参考文献3を一部改変。

2. MnSOD 遺伝子多型 (第一の幸運)

パーキンソン病は遺伝的素因と環境要因が複合的に作用した結果、発症に至ると考えられており、神経毒や酸化ストレスなどの環境要因の代謝に関わる遺伝子多型が調べられていた。その中に MnSOD 遺伝子 (SOD2) があった。MnSOD はミトコンドリアに存在し活性酸素の処理を行う酵素である。MnSOD のミトコンドリアへ移行するシグナルペプチド内にバリンがアラニンに置換する多型が存在し、パーキンソン病患者と正常群でその頻度に差があるという研究が行われていた²⁾。その患者サンプルの中に AR-JP の家系サンプルも含まれており、家系内で発症と MnSOD 多型が完全に一致する家系が発見された (図1)³⁾。

3. 連鎖解析

MnSOD のバリン-アラニン多型はこの家系の原因遺伝子ではなかったが、この遺伝子の近くに真の原因遺伝子が存在していることが予想された。そこで、連鎖解析を行ったところ MnSOD 遺伝子が存在する6番染色体長腕に強い連鎖が確認された³⁾。

連鎖とは一つ一つの形質はそれぞれ独立して遺伝するという「メンデルの独立の法則」の例外で、

同じ染色体の近い位置にある形質と一緒に遺伝することをいう。形質を決めているものは遺伝子と考えられ、「AR-JP を発症している」というのが形質であり、その遺伝子が「AR-JP の原因遺伝子 (= パーキンソン遺伝子)」である。MnSOD 遺伝子のバリン-アラニン多型は発症と一致 (= 連鎖) しているが原因遺伝子では無かった。そこで MnSOD 遺伝子の染色体上のごく近い位置に真の原因遺伝子があるのではないかと予想ができる。この予想が当たる確立を計算しロッドスコアという数値で表すのが連鎖解析である (図2)。

4. 遺伝マーカーの欠失 (第二の幸運)

連鎖解析は MnSOD 遺伝子多型のような個人を区別できるものを目印 (= 遺伝マーカー) として利用する。例えば MnSOD の場合、バリン/バリンとアラニン/アラニンのホモ接合体、バリン/アラニンのヘテロ接合体の3種類に分けられる。最初に MnSOD 遺伝子多型を調べた家系に加え12家系の AR-JP 家系を追調査した結果、患者はいずれもバリンまたはアラニンのホモ接合体であった。ゲノムにはこのように遺伝子上に存在するものの他に沢山の多型があることが知られている。AR-JP の研究で使われたマイクロサテライトも多型の一つである。多型を遺伝マーカーとして連鎖解析に利用する上で

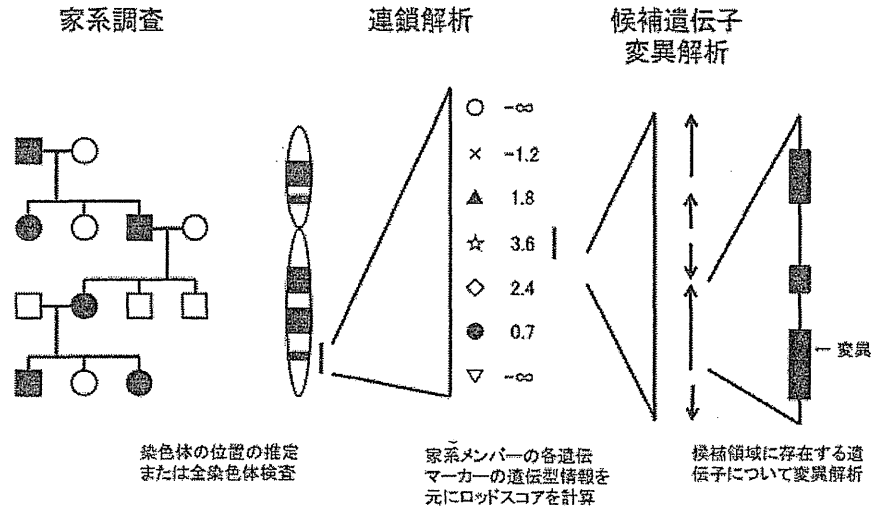


図2 「連鎖解析から遺伝子単離までの流れ」

遺伝性の家系調査・診察・家系図の作成を行い、発症者・未発症者の家系メンバーからゲノムDNAを採取する。原因遺伝子の染色体上の位置を遺伝マーカーなどの検査から推定、連鎖解析によりロッドスコアの計算を行う。ロッドスコアは3点でP=0.05である。連鎖解析から絞り込んだ領域に存在する遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定する。見つかった変異が疾患と一致し、非血縁対照者では見つからないなどいくつかの追試験を行い原因遺伝子を単離する。

重要なことはその多型の染色体上の位置がわかっていることである。もしAR-JPと連鎖した多型が見つかってその位置がわからなければその先の解析へ進むことが出来ない。

連鎖解析を進めて行く中でMnSOD遺伝子のすぐ近くにあるマイクロサテライトD6S305がホモ接合体で欠失している家系が発見された⁴⁾。AR-JPは劣性遺伝であるので、原因遺伝子がホモ接合体で欠失する可能性も十分に考えられる。したがって、D6S305は原因遺伝子の中にある可能性が高いと考えられた。

5. 慶應 BAC ライブラリー

現在は国際ヒトゲノム計画が終了しインターネット上で瞬時に遺伝子の位置情報などを検索出来るが、当時はまだドラフトシーケンスも発表されていなかった。そこでその国際ヒトゲノム計画にも貢献した慶應 BAC ライブラリーを使って遺伝子がスクリーニングされた。BACとは大腸菌人工染色体のことで、ヒトゲノムを細切れにし、その切れ端を1つづ

つ分けて大腸菌で増やした(クローン化)ものをヒトゲノム BAC クローンライブラリーという。慶應 BAC ライブラリーは約20万クローンからなるヒトゲノムライブラリーで30億塩基対あるヒトゲノムの約95%をカバーしている。そのうち約10万クローンが1000枚の96 wellプレートに分けられており、1つのwellには1種類のクローンが入っている。それを100枚分まとめて(つまり9600クローン)1本のDNA溶液としたものを1次スクリーニングPCRにもちいる。2次スクリーニングは4D-PCR法により迅速に目的の遺伝子の挿入しているクローンのスクリーニングが可能である。

AR-JP患者からホモ接合体の欠失が見つかったD6S305をスクリーニングの標的とし目的のクローンを得た。しかしそのクローンはエクソンが1つしか無かったので、そのエクソンをプローブとして全長cDNAを得てその配列を基に別のエクソンがあるBACクローンを見つけるための標的を作りパーキンの全遺伝子配列を決定した。パーキン遺伝子は12個のエクソンからなり、その全長は約1.5Mbと非常に巨大な遺伝子である。BACには100~300kb位

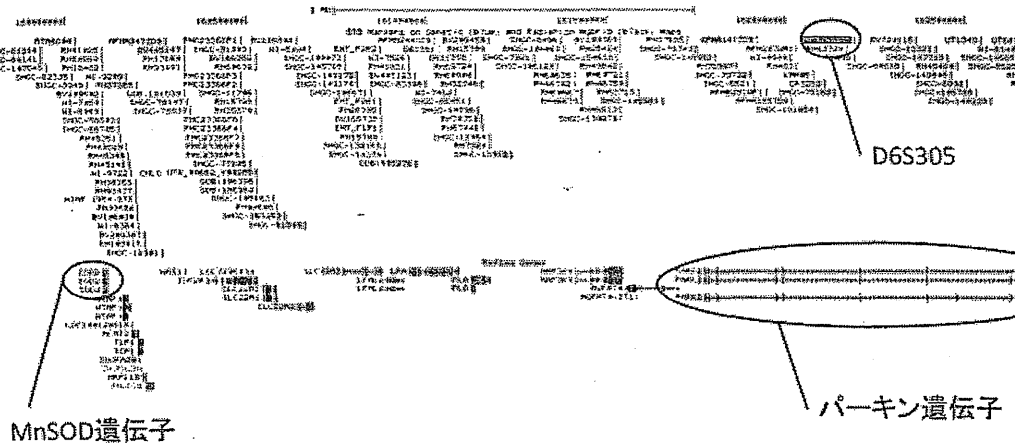


図3 「パーキン遺伝子周辺の遺伝子地図」

パーキン遺伝子上にAR-JP患者で欠失していた遺伝マーカー (D6S305) があり, MnSOD 遺伝子もパーキン遺伝子の近傍に存在していることがわかる。UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/>) から一部抜粋。

の外來 DNA が挿入されているので, 1つのクローンに1つのエクソンしか無かったのも納得である⁵⁾。

6. これからの疾患遺伝子単離研究

ヒトゲノムの全塩基配列を解析する国際ヒトゲノムプロジェクトが2003年に完了し, 今では誰でもヒトゲノムの塩基配列を閲覧出来る。図3にパーキン遺伝子とその周辺の位置情報を示した。このような情報がインターネット上に無料で公開されている(図3)。国際ヒトゲノムプロジェクトは複数のヒトゲノムをつなぎ合わせたもので, 解析には13年間, 約3000億円という莫大な費用がかかった。その後, 塩基配列解読の技術革新によって2007年には1人分の全ゲノム配列解読に1ヶ月, 約1億円で解析可能になり, まもなく数日, 数万円で解析可能になる。したがって, これからはいかに遺伝性疾患の家系を丁寧に収集していくかが重要である。また, 究極の個人情報と言われるゲノム情報が誰でも簡単に手に入る時代になっていくため, 倫理・個人情報保護の面でも今後ますます実際に患者に接する医師の役割が大きくなっていくと思われる。

参考文献

- 1) Yamamura Y, Sobue I, Ando K, Iida M, Yanagi T. Paralysis agitans of early onset with marked diurnal fluctuation of symptoms. *Neurology*. 1973 Mar;23(3):239-44. No abstract available.
- 2) Shimoda-Matsubayashi S, Matsumine H, Kobayashi T, Nakagawa-Hattori Y, Shimizu Y, Mizuno Y. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996 Sep 13;226(2):561-5. Erratum in: *Biochem Biophys Res Commun* 1996 Dec 4;229(1):361.
- 3) Matsumine H, Saito M, Shimoda-Matsubayashi S, Tanaka H, Ishikawa A, Nakagawa-Hattori Y, Yokochi M, Kobayashi T, Igarashi S, Takano H, Sanpei K, Koike R, Mori H, Kondo T, Mizutani Y, Schäffer AA, Yamamura Y, Nakamura S, Kuzuhara S, Tsuji S, Mizuno Y. Localization of a gene for an autosomal recessive form of juvenile Parkinsonism to chromosome 6q25.2-27. *Am J Hum Genet*. 1997 Mar;60(3):588-96.
- 4) Matsumine H, Yamamura Y, Hattori N, Kobayashi T, Kitada T, Yoritaka A, Mizuno Y. A microdeletion of D6S305 in a family of autosomal recessive juvenile parkinsonism (PARK2). *Genomics*. 1998 Apr 1;49(1):143-6.
- 5) Kitada T, Asakawa S, Hattori N, Matsumine H, Yamamura Y, Minoshima S, Yokochi M, Mizuno Y, Shimizu N. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*. 1998 Apr 9;392(6676):605-8.

パーキンソン病

佐藤 栄人 服部 信孝

はじめに

パーキンソン病はアルツハイマー病について頻度の高い神経変性疾患で、黒質ドーパミン神経細胞が変性することにより動作が遅くなる、手足がふるえる等の運動障害が主な症状である。一方で、うつ症状、認知機能障害、自律神経障害等、多岐にわたる障害が高頻度に合併することにより患者の日常生活動作を著しく阻害する。今後予想される高齢化社会に向け患者が増加することが確実視されている。昨今、その根本的治療法は未だ開発されていない。これまでのパーキンソン病の発症機構は諸説紛々あるが、振り返ってみるとパーキンソン病の病態研究は約10年ごとに大きな変遷がみられる。1990年代の孤発性パーキンソン病におけるミトコンドリア Complex I の活性低下の研究に始まり、2000年代に入ってから遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子単離と機能解析の研究はパーキンソン病研究の隆盛を極めた。単離された原因遺伝子の中にはミトコンドリアに局在するタンパク質をコードするものもあり、遺伝性パーキンソン病においてもミトコンドリア障害の指摘が相次いだ。そして、2008年に発表された研究を境に2010年代のパーキンソン病の病態研究はミトコンドリアが再び主役に躍り出てきた。本稿ではパーキンソン病とミトコンドリア異常の関係に着目し、歴史を振り返りながら解説していく。

1990年代の孤発性パーキンソン病と ミトコンドリア研究

パーキンソン病の記載は1817年のJames Parkinsonによる“An Essay on Shaking Palsy”が最初とされる。この著書の中で彼自身が診察したパーキンソン病の特徴的な症状を呈する6例の患者を報告し、パーキンソン病の疾患概念を確立させる基となった。Parkinsonはこの中で4大症候のうちの振戦、無動、姿勢、歩行障害に相当する記述をしている。その後、60年以上経ってフランスの有名な神経学者Jean Martin Charcotが本症をパーキンソン病と呼ぶ

さとう しげと 順天堂大学准教授/脳神経内科
はっとり のぶたか 同 教授

ことを提唱し、さらに固縮を追加することにより現在のパーキンソン病の原型が完成した。その後、パーキンソン病の責任病巣が中脳黒質であることが1919年Tretiakoffの研究によって明らかにされるが、本格的な病態研究は1983年のLangstonらによる1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP)によるヒトパーキンソニスムの発生がきっかけとなった¹⁾。1987年MizunoらはマウスでMPTPモデルを作製し、MPTPがComplex Iを阻害することをin vivoで証明した²⁾。実際にパーキンソン病患者の黒質でComplex Iの活性が低下していることを示したのは1989年のSchapiraら³⁾による。この初めての報告は実に短いletterであり、9人のパーキンソン病患者の死後脳から採取した黒質のComplex Iの活性を測定している。この論文の結語としてL-dopaがComplex Iと呼吸鎖の活性低下に影響を与える可能性を示唆する一文があり、この考察は現在に通じる着眼点である。その後、前頭葉皮質でComplex Iの活性が低下するという例はあるものの、パーキンソン病患者の黒質での低下を示す続報はなく、死後脳での活性の測定自体にも難点があると思われる。一方、骨格筋、血小板、リンパ芽球でComplex Iの活性が低下するとの記載もある。しかしながら有意差は非常にわずかなものであり、必ずしもComplex I特異的な低下とはいえない。このことは逆の視点からすると、パーキンソン病の病巣は脳に限局したものではなく全身性の疾患であることを示唆している。MPTPは確かにComplex Iを阻害し、MPTP投与マウスはパーキンソン病モデルとして現在も有用である。しかしながら、パーキンソン病の発症機序としてComplex Iに限定するのは尚早であるのかもしれない。

L-dopa と酸化ストレス

数多くの疾患が酸化ストレスの影響を指摘されているが、パーキンソン病も例外ではない。ミトコンドリアの生理的反応によって電子伝達系から漏出した電子が豊富に存在する酸素と反応することにより活性酸素種(reactive oxygen species: ROS)が産生される。スーパーオキシド

遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子

Locus	Gene	Inheritance	Protein function/nature
4q21-23	PARK1 <i>α-synuclein</i>	AD	Aggregate
6q25. 2-27	PARK2 <i>Parkin</i>	AR	Ubiquitin ligase
4q21-22	PARK4 <i>α-synuclein</i>	AD	Triplication of PARK1
4p14-15. 1	PARK5 <i>UCH-L1</i>	AD	Ubiquitin C-terminal hydrolase
1p35-36	PARK6 <i>PINK1</i>	AR	Protein kinase
1p36	PARK7 <i>DJ-1</i>	AR	Antioxidant
12p11. 2-q13. 1	PARK8 <i>LRRK2</i>	AD	Protein kinase
1p36	PARK9 <i>ATP13A2</i>	AR	Lysosome
2q36-37	PARK11 <i>GIGYF2</i>	AD	Grb10 interact : signal
2p13	PARK13 <i>Omi/HtrA2</i>	AD	Protease
22q13. 1	PARK14 <i>PLA2G6</i>	AR	Phospholipase
22q12-q13	PARK15 <i>FBXO7</i>	AR	F-BOX protein

AD : 常染色体優性遺伝, AR : 常染色体劣性遺伝

ニオン (O_2^-), 過酸化水素 (H_2O_2), ヒドロキシラジカル (OH^-) などの ROS は, 脂質過酸化, DNA 損傷, 酵素タンパク質障害をきたすとされるが, パーキンソン病ではこれら酸化ストレスの指標の上昇がみられることから ROS の関与が強く示唆されてきた。しかしながら, この仮説では黒質の選択的細胞死を説明するのが難しく, ドーパミンの代謝と鉄の存在に着目すると理解が容易になる。カテコールアミンとはカテコール核を有するアミン化合物の総称であり, 哺乳類ではドーパミン, ノルアドレナリン, アドレナリンの3種を指す。ドーパミンは自動酸化によりセミキノラジカル中間体を経てセミキノンが形成されるが, その過程で ROS ($2O_2^-$) が産生される。ドーパミンはミトコンドリア外膜に存在する MAO-B によって DOPAC に代謝されるが, その際に発生した H^+ は ROS ($2O_2^-$) と反応し H_2O_2 が産生される。さらに, そこに鉄が存在すると H_2O_2 は2価の鉄と反応 (Fenton reaction) し ROS ($\cdot OH$) が産生される。実際, パーキンソン病⁴⁾ や遺伝性パーキンソン病⁵⁾ の黒質緻密層内に鉄の沈着が多いことが報告されている。このように黒質は通常の細胞に比べて非常に酸化ストレスを受けやすい環境にあるといえる。

ミトコンドリア遺伝子異常の蓄積

老化と酸化ストレスによるミトコンドリア DNA (mtDNA) に変異が蓄積することが推測されるが, パーキンソン病において mtDNA 欠損などの疾患に共通した変異は認められない。しかし, ミトコンドリア cytochrome b の多型解析によるとパーキンソン病で有意に増加している⁶⁾。さらに, 黒質神経細胞で mtDNA の欠損を定量したところ加齢によって欠損が増加する傾向があり, 同時に COX 活性が低下するほど欠損は増加する。しかしながら, パーキンソン病における mtDNA 欠損を定量すると通常

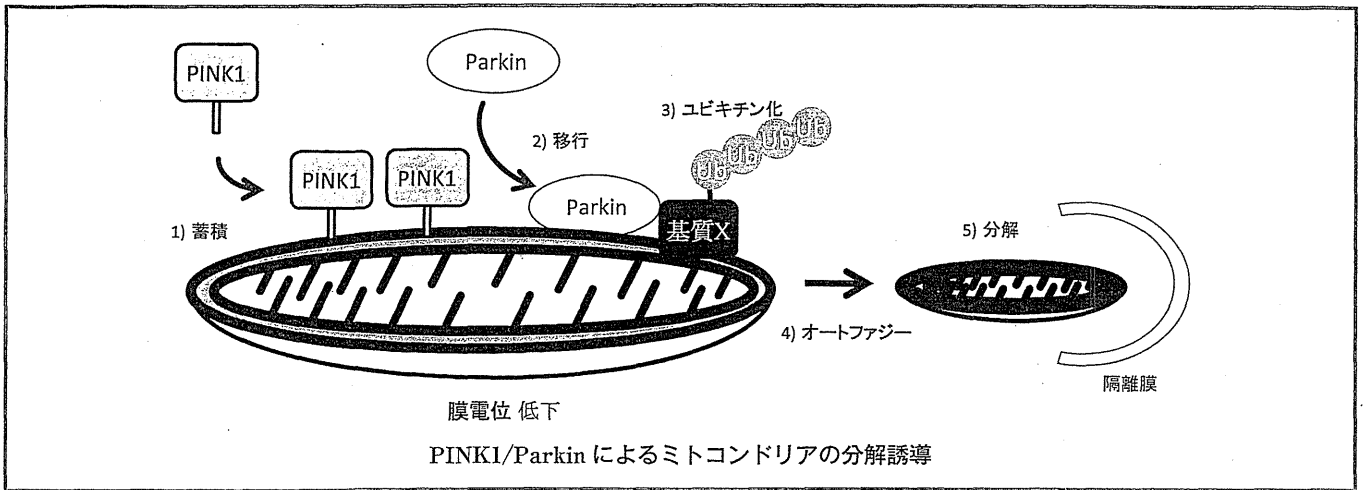
の加齢の域を超えるものではない⁷⁾。

Cybrid cell を用いた研究

一方で, 以前から cybrid cell を用いた研究があり, mtDNA の関与が示唆されている。mtDNA を排除した neuroblastoma cell (rho0 cell) にパーキンソン病患者の血小坂から抽出した mtDNA を hybrid させた培養系を確立したところ Complex I の20%の活性低下を示したとする報告がはじめである⁸⁾。また, Gu らのグループも同様の手法により25%の Complex I の活性低下と20%の Complex IV の活性低下を示している⁹⁾。さらに, Trimmer らはパーキンソン病の cybrid cell においてミトコンドリア膜電位の低下と電顕観察による形態異常を指摘している¹⁰⁾。最近のパーキンソン病の病態機序をふまえると, ミトコンドリア膜電位の低下がおこっていることを示した点で興味深い。なぜなら, 後に述べるミトファジーを誘導する契機となる現象がミトコンドリア膜電位の低下であるからである。Cybrid cell における研究は mtDNA 異常がミトコンドリア呼吸鎖に影響を与えうる可能性を示すものであるか, 孤発性パーキンソン病において特定の mtDNA の異常は明らかではない。

遺伝性パーキンソン病の遺伝子単離とタンパク質分解異常

遺伝性パーキンソン病の研究は2000年代にめざましい発展を遂げる。パーキンソン病の約5~10%は家族性であるがこれまでに多くの原因遺伝子が単離され(表), パーキンソン病の病態解明に大きく貢献してきた。遺伝性パーキンソン病の中で常染色体優性の遺伝形式をとる PARK1 (*synuclein* が原因遺伝子) は最初に同定された遺伝子であり, 1997年の *synuclein* の A53T 変異の報告により遺伝性



パーキンソン病研究の幕が切られる¹¹⁾。現在までに A30P, E46K のミスセンス変異が確認されているが、頻度は稀である。その後 synuclein は Lewy 小体の主要な構成成分であることが判明したが、Lewy 小体の形成機構と病態への関与は未だ謎な部分が多くパーキンソン病研究における主要な研究テーマである。今後ミトコンドリアとの関連を含めての解明が期待される。常染色体劣性遺伝形式を呈する PARK2 (*Parkin* が原因遺伝子) は、1998 年に順天堂大学と慶應義塾大学の共同研究により単離された¹²⁾。 *Parkin* 変異は遺伝性パーキンソン病の中で最も頻度が高い。臨床像は若年発症であり L-dopa が有効である反面、L-dopa によって誘発されるジスキネジアや wearing off などの運動障害が早期から出やすいという特徴をもつ。また日内変動や睡眠効果がみられることも共通点である。病理学的には Lewy 小体が形成されないと定義されるが、Lewy 小体を有する剖検例も散見され議論の余地がある。 *Parkin* は 465 アミノ酸からなる約 52 kDa のタンパク質で、N 末端にユビキチン様 (Ubl) ドメインを、C 末端には二つの RING finger ドメインとそれに挟まれた IBR (in between RING finger) からなる RING box 構造、さらに Ubl と RING box をつなぐ linker 領域により構成されている。RING finger ドメインは多くのタンパク質で見つかるモチーフであり、ユビキチン化反応に関与している (RING 型 E3)。基質候補としては多様な分子が推定され混沌とした状況である。 *Parkin* のノックアウトマウスについては複数の報告があり、一部の基質については蓄積しているようであるが未だ統一した見解はない。しかしながら、タンパク質分解機構の破綻が神経変性を引き起こすという概念を病態研究に導入するきっかけとなると共に、その考えは損傷ミトコンドリア (膜電位の低下したミトコンドリア) の分解異常 (ミトコンドリア品質管理の異常) へとつながることになる。

遺伝性パーキンソン病と ミトコンドリア品質管理の異常

遺伝性パーキンソン病の中でも常染色体劣性の遺伝形式を呈する PARK2 (*Parkin*) と PARK6 (*PINK1*) は、若年発症であることや L-dopa が有効であるなどの理由から非常に類似した疾患群である。2006 年にショウジョウバエを用いた遺伝学的解析^{13, 14)} から両分子は同じカスケード上で働いていることが判明し、このような臨床ならびに基礎的な知見から両者の作用機序は近いものであることが推測された。そのような折、2008 年の Youle らの報告¹⁵⁾ を契機にミトコンドリア研究が再び注目されることとなり、2010 年以降 *PINK1* と *Parkin* の共同作業によるミトファジー研究が注目されている。

その要点は次のようである。

- 1) 細胞を脱共役剤処理すると *Parkin* は膜電位の低下したミトコンドリアに移行する。
- 2) 膜電位の低下した損傷ミトコンドリアはオートファジーの発動 (ミトファジー) によって分解される。

脱共役剤 (CCCP) はミトコンドリア膜透過性を亢進させ、プロトン勾配を解消することにより膜電位を失わせる。細胞を CCCP 処理すると通常は細胞質の存在する *Parkin* は膜電位低下依存的にミトコンドリアに移行する。この際に *Parkin* はミトコンドリア上の何を認識し移行するのは興味深い点であるが、*PINK1* のミトコンドリア外膜での蓄積は指標の一つである。すなわち、*PINK1* ノックアウトマウス由来の MEF 細胞に *Parkin* を導入して CCCP 処理しても、*Parkin* はほとんどミトコンドリアに移行しない。さらに、この実験では *PINK1* を補うことにより *Parkin* のミトコンドリアへの移行が回復した。さらに、詳細な *PINK1* 変異解析ではミトコンドリア移行ドメインが必

須であること、キナーゼ活性の欠失変異では Parkin の移行がおこらないことが判明した。要約すると PINK1 はミトコンドリア膜電位の低下を察知し、Parkin に先んじてミトコンドリア表面に局在し、そのリン酸化活性を発揮し Parkin をミトコンドリアに誘導しミトファジーを誘導することが推測された。実際 PINK1 の変異はキナーゼドメインに集中している。Parkin 自身は自己をユビキチン化する活性を持つが、ミトコンドリアに移行することによりこのリガーゼ活性を発揮する¹⁶⁾。このことからミトコンドリア上にも基質が存在することが推測されるが、候補として VDAC1¹⁷⁾や Mitofusin¹⁸⁾がすでに報告されている。ミトコンドリアでも複数の基質が存在するかどうかは今後の研究が期待される。Parkin が移行したミトコンドリアを長期観察すると次第に消退していくが、オートファジーの欠損した細胞ではミトコンドリアのクリアランスが滞る。このことからオートファジーによるミトコンドリアのクリアランス(ミトファジー)の関与が指摘されている¹⁹⁾(図)。このように細胞内では異常なミトコンドリアの分解機構が備わっているが、PINK1 や Parkin の変異による機能障害はミトファジーの破綻をきたし、異常ミトコンドリアの蓄積は細胞死を引き起こすと推測される。一方で、PINK1 や Parkin の補足的な機能としてミトコンドリア呼吸能に影響を与えるため²⁰⁾、PINK1 と Parkin の変異バリエーションによっては異常ミトコンドリアの産生が促進され、さらにミトファジー誘導不全が合併すると細胞死を加速し若年発症を惹起すると推測している。

むすび

遺伝性パーキンソン病のみならず孤発性パーキンソン病の病態としてミトコンドリア異常の証拠は枚挙にいとまがなく紹介しきれない。これまでの基礎および臨床研究の知見を総合するとミトコンドリア研究は発症機序の中核をなすものと推測される。異常ミトコンドリアの品質管理のシステムはまだ発端が明らかになったばかりであるが、ミトコンドリアダイナミックスの制御の解明はパーキンソン病の今後の治療戦略を考える上で大きなヒントを与えてくれるであろう。今後さらなる 10 年の研究の展開が楽しみである。

なお、本稿は順天堂大学の歴代研究を参考にさせていただいた。基礎研究では東京都医学研究機構田中研究室をは

じめとする多くの共同研究によるものであり、この場を借りて感謝したい。

文 献

- 1) Langston JW, Ballard P, Tetrud JW, et al. Chronic parkinsonism in humans due to a product of meperidine-analog synthesis. *Science*. 1983 ; 219 : 979-80.
- 2) Mizuno Y, Sone N, Saitoh T, et al. Effects of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine and 1-methylpyridinium ion on activities of the enzymes in the electron transport system in mouse brain. *J Neurochem*. 1987 ; 48 : 1787-93.
- 3) Schapira AH, Cooper JM, Dexter D, et al. Mitochondrial complex I deficiency in Parkinson's disease. *Lancet*. 1989 ; 1(8649) : 1269.
- 4) Dexter DT, Wells FR, Agid F, et al. Increased nigral iron content in postmortem parkinsonian brain. *Lancet*. 1987 ; 2(8568) : 1219-20.
- 5) Takanashi M, Mochizuki H, Yokomizo K, et al. Iron accumulation in the substantia nigra of autosomal recessive juvenile parkinsonism (ARJP). *Parkinsonism Relat Disord*. 2001 ; 7 : 311-3.
- 6) Tanaka M, Fuku N, Takeyasu T, et al. Golden mean to longevity : rareness of mitochondrial cytochrome b variants in centenarians but not in patients with Parkinson's disease. *J Neurosci Res*. 2002 ; 70 : 347-55.
- 7) Bender A, Krishnan KJ, Morris CM, et al. High levels of mitochondrial DNA deletions in substantia nigra neurons in aging and Parkinson disease. *Nat Genet*. 2006 ; 38 : 518-20.
- 8) Swerdlow RH, Parks JK, Miller SW, et al. Origin and functional consequence of the complex I defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1996 ; 40 : 663-71.
- 9) Gu M, Cooper JM, Taanman JW, et al. Mitochondrial DNA transmission of the mitochondrial defect in Parkinson's disease. *Ann Neurol*. 1998 ; 44 : 177-86.
- 10) Trimmer PA, Swerdlow RH, Parks JK, et al. Abnormal mitochondrial morphology in sporadic Parkinson's and Alzheimer's disease cybrid cell lines. *Exp Neurol*. 2000 ; 162 : 37-50.
- 11) Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, et al. Mutation in the α -synuclein gene disease. *Science*. 1997 ; 276 : 2045-7.
- 12) Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Nature*. 1998 ; 392 : 605-8.
- 13) Park J, Lee SB, Lee S, et al. Mitochondrial dysfunction in *Drosophila* PINK1 mutants is complemented by parkin. *Nature*. 2006 ; 441 : 1157-61.
- 14) Clark IE, Dodson MW, Jiang G, et al. *Drosophila* pink1 is required for mitochondrial function and interacts genetically with parkin. *Nature*. 2006 ; 441 : 1162-6.
- 15) Narendra D, Tanaka A, Suen DF, et al. Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *J Cell Biol*. 2008 ; 183 : 795-803.
- 16) Matsuda N, Sato S, Shiba K, et al. PINK1 stabilized by mitochondrial depolarization recruits Parkin to damaged mitochondria and activates latent Parkin for mitophagy. *J Cell Biol*. 2010 ; 189 : 211-21.
- 17) Geisler S, Holmström KM, Skujat D, et al. PINK1/Parkin-mediated mitophagy is dependent on VDAC1 and p62/SQSTM1. *Nat Cell Biol*. 2010 ; 12 : 119-31.
- 18) Gegg ME, Cooper JM, Chau KY, et al. Mitofusin1 and mitofusin2 are ubiquitinated in a PINK1/parkin-dependent manner upon induction of mitophagy. *Hum Mol Genet*. 2010 ; 19 : 4861-70.
- 19) Kawajiri S, Saiki S, Sato S, et al. PINK1 is recruited to mitochondria with parkin and associates with LC3 in mitophagy. *FEBS Lett*. 2010 ; 584 : 1073-9.
- 20) Amo T, Sato S, Saiki S, et al. Mitochondrial membrane potential decrease caused by loss of PINK1 is not due to proton leak, but to respiratory chain defects. *Neurobiol Dis*. 2011 ; 41 : 111-8.

α -シヌクレインを中心とした パーキンソン病研究の現状と 課題

西岡健弥, 服部信孝

α -シヌクレインとレビー小体はパーキンソン病の主要なバイオマーカーである。これらの物質の分子生物学的な病態解明が、疾患の病態理解ならびに新たな治療法開発への一助となっている。本稿では最近の知見について包括的に記載する。

キーワード ● α -シヌクレイン, レビー小体, パーキンソン病

はじめに

昨今の分子生物学の発展は目覚ましく、DNA、RNA、タンパク質の機能解析、遺伝子改変動物といった基礎的な研究からはじまり、その強力な発展とともに、新しい病態の概念や知見など多くの確証が得られている。しかしながら、依然パーキンソン病 (PD) の病態解明は全貌の一部だけに留まっており臨床現場で強力なツールとなりうるバイオマーカーの選定もできていない。一方、孤発型PDの感受性遺伝子として α -シヌクレインが同定され、その機能を詳細に解析することは、将来的な臨床診断、治療に向けた有力な情報となることは間違いない。本総説では、PDやレビー小体型認知症 (DLB) に中心的機能をなしているとして捉えられている α -シヌクレインと神経病理学的マーカーであるレビー小体について、最近の知見を交えながら解説する。

α -シヌクレインとレビー小体

PDは無動、固縮、振戦、姿勢反射障害を主症状と

し、アルツハイマー病に次いで2番目に多い神経変性疾患である。PDの病理学的なバイオマーカーとしてレビー小体があげられる¹⁾。 α -シヌクレインはレビー小体の主要構成成分であり、SNCA (4q21-22に存在) 遺伝子 (OMIM#163890) によりコードされる。レビー小体形成のメカニズムとして、神経細胞変性が開始されると、変性したタンパク質の異常凝集が起こり、線維化、単量体、重合体と形成され、最終的にレビー小体が形成されると推定されている (図)²⁾。 α -シヌクレインそのものの神経毒性に関しては、可溶性で重合体化した α -シヌクレインには毒性があり、レビー小体にまで至ったものに関しては、毒性は消失すると考えられている。このため変性初期の段階における α -シヌクレインの過剰発現のメカニズムの解明が重要な鍵となる。

SNCA 遺伝子は、当初連鎖解析にて家族性PDのPARK1の原因遺伝子として単離・同定された³⁾。その後、家族性PDの原因遺伝子変異としてA30P, E46K, A53T, また同領域周囲の遺伝子重複として、2倍体、3倍体といった変化が起きることが同定された。いずれも α -シヌクレインの分解低下、あるいは過剰発現

α -synuclein and Parkinson disease: a review of the literature

Kenya Nishioka/Nobutaka Hattori : Department of Neurology, Juntendo University School of Medicine (順天堂大学医学部脳神経内科)