

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（難治性疾患克服研究事業）
運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班 分担研究報告

脊髄小脳失調症 13 型 (SCA13) の病態解明

研究分担者 中村 和裕（群馬大学大学院医学系研究科神経生理学）
共同研究者 平井 宏和（群馬大学大学院医学系研究科神経生理学）

研究要旨

脊髄小脳失調症 13 型 (SCA13) は、電位依存性カリウムチャンネル Kv3.3 のミスセンス変異が原因である。Kv3.3 はプルキンエ細胞に豊富に発現していることから、Kv3.3 変異は、プルキンエ細胞を強く障害することが推測される。しかし、変異 Kv3.3 がプルキンエ細胞に、どのような機能的障害を引き起こすのかは不明である。そこで、我々は SCA13 変異 (R424H) をもつマウスの Kv3.3 を、レンチウイルスベクターを用いてマウスの培養小脳神経細胞に発現させた。変異 Kv3.3 を発現するプルキンエ細胞では、外向き電流は低下、活動電位スパイクの幅は広がり、細胞内カルシウム濃度も上昇することが明らかとなった。さらに変異 Kv3.3 発現は、プルキンエ細胞選択的に樹状突起の伸長障害と細胞死を引き起こした。樹状突起伸長障害と細胞死は、神経細胞培養液中に P/Q タイプカルシウムチャンネル阻害剤を加えることで抑制できた。以上より、同様の障害が SCA13 患者でも見られ、カルシウムチャンネル阻害剤で障害を抑制できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

脊髄小脳失調症 13 型 (SCA13) は、小脳萎縮と小脳症状を示す常染色体優性遺伝性疾患で、電位依存性カリウムチャンネル Kv3.3 のミスセンス変異が原因である。中枢神経系において、Kv3.3 は小脳プルキンエ細胞にきわめて豊富に発現していることから、SCA13 の患者ではプルキンエ細胞が強く障害されていると推測される。本研究では、レンチウイルスベクターを用いて、培養プルキンエ細胞に変異 Kv3.3 を発現させることで引き起こされる機能異常や形態障害を調べることで、SCA13 の病態を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

レンチウイルスベクターを用いて、マウス培養プルキンエ細胞にミスセンス変異 (R424H) をもつ Kv3.3 を発現させ、形態学および電気生理学的に変異 Kv3.3 を発現するプルキンエ細胞を解析した。

(倫理面への配慮)

できるかぎり使用動物個体数を少なくするよう検討した。また実験動物には麻酔など適切な方法を講じた。

C. 研究結果

ウイルス未感染、あるいは GFP のみ発現しているプルキンエ細胞と比較し、変

異 Kv3.3 発現プルキンエ細胞では、脱分極パルスによる外向き電流の減少、活動電位の幅の拡大、細胞内カルシウム濃度の上昇が観察された。さらに変異 Kv3.3 発現により、プルキンエ細胞の樹状突起の発達が障害され、細胞死が惹起された。樹状突起伸長障害と細胞死は P/Q タイプのカルシウムチャンネル阻害薬を加えることで防ぐことが可能であった。

D. 考察

P/Q タイプのカルシウムチャンネル阻害薬で、培養プルキンエ細胞の樹状突起伸長障害と細胞死が阻害されたことから、この薬剤が SCA13 の治療薬となる可能性があり、その検証には、生体の SCA13 マウスを用いた研究が必要と考えられる。

E. 結論

プルキンエ細胞に R424H 変異 Kv3.3 が発現すると、内在性 Kv3 チャンネルの機能低下を介して神経細胞が過剰興奮し、細胞内カルシウム濃度が上昇、その結果、神経細胞死が誘導されると考えられた。SCA13 患者でも同様の障害を介してプルキンエ細胞の興奮性が増大し、プルキンエ細胞死が誘導されることが示唆された。

F. 健康危険情報

特記事項なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Irie T, Matsuzaki Y, Sekino Y, Hirai H : Kv3.3 channels harbouring a mutation of spinocerebellar ataxia

type 13 alter excitability and induce cell death in cultured cerebellar Purkinje cells .J Physiol 2014;592(Pt 1):229-47

- 2) Matsuzaki Y, Oue M, Hirai H: Generation of a neurodegenerative disease mouse model using lentiviral vectors carrying an enhanced synapsin I promoter. J Neurosci Methods 2014;223:133-43
- 3) Konno A, Shuvaev AN, Miyake N, Miyake K, Iizuka A, Matsuura S, Huda F, Nakamura K, Yanagi S, Shimada T, Hirai H: Mutant Ataxin-3 with an Abnormally Expanded Polyglutamine Chain Disrupts Dendritic Development and Metabotropic Glutamate Receptor Signaling in Mouse Cerebellar Purkinje Cells. Cerebellum 2014;13(1):29-41
- 4) Matsuura S, Shuvaev AN, Iizuka A, Nakamura K, Hirai H: Mesenchymal Stem Cells Ameliorate Cerebellar Pathology in a Mouse Model of Spinocerebellar Ataxia Type 1. Cerebellum. 2013 Nov 17. [Epub ahead of print]

2. 学会発表

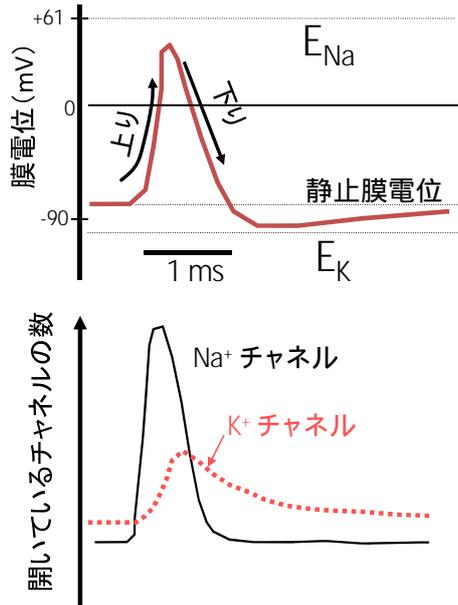
- 1) Konno A. Shuvaev A, Yanagi S, Hirai H : Perturbation of mGluR signaling in SCA3 model mice expressing mutant ataxin-3 and the rescue by intravascular administration of AAV9 . 23rd Neuropharmacology Conference 11/7-8/2013 サンディ

エゴ

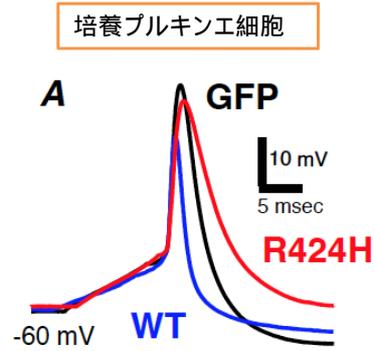
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

なし

脊髄小脳失調症13型(SCA13)の病態を解明



活動電位の下りは、電位依存性 K^+ の開口によって規定される。



- SCA13患者では、電位依存性 K^+ チャネルKv3.3にミスセンス変異(マウスではR424Hに相当)がある。
- Kv3.3は小脳プルキンエ細胞に豊富に発現
- 変異Kv3.3発現プルキンエ細胞では、電位依存性 K^+ チャネルを介する外向き電流が減少
- プルキンエ細胞の活動電位の幅が広がる(上図参照)。
- 細胞内への Ca^{2+} 流入が増加→プルキンエ細胞死