

構成労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）  
（分担）研究報告書

若年性パーキンソニズム：PRKN変異剖検例の分子遺伝学と神経病理学的解析

研究分担者 柿田 明美 新潟大学脳研究所 教授

研究要旨 若年性パーキンソン病の病態を知る目的から、PRKN変異剖検例を対象に分子病理学的解析を行った。PARK2の遺伝子検索にはcDNA解析が必要であり、中脳黒質の神経細胞脱落の特徴は共通していた。臨床病理像にはParkin蛋白の減少が関与する。

A. 研究目的

PARK2は、常染色体劣性遺伝形式で最も頻度の高い若年性パーキンソン病であり、原因遺伝子はPRKNである。PRKNは12のexonで構成される。PARK2症例では、点変異、遺伝子重複や欠損、コピー数変異など様々な遺伝子変異が知られている。そこで本研究は、若年性パーキンソン病と臨床診断され、両アレルにPRKNの遺伝子変異を同定したPARK2症例の遺伝学および病理学的検討を行った。

B. 研究方法

新潟大学脳研究所病理学分野で経験した若年性パーキンソニズム患者の剖検例のうちで遺伝子検索が可能であった8例を対象とした。遺伝子検索は、剖検脳からゲノムDNAを抽出し、ダイレクトシーケンス、コピー数多型解析を実施した。また剖検脳からmRNAを抽出しcDNAを作製してシーケンスした。凍結脳から蛋白を抽出し、Parkinのウェスタンブロットを行った。病理検索は、一般染色、および抗Parkin抗体と抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体による免疫染色により解析した。

（倫理面への配慮）

新潟大学医学部遺伝子倫理委員会の承認を得て行った（承認番号 479, 522）。

C. 研究結果

発症年齢は10-36歳(中央値21歳)、死亡時年齢は63-82歳(中央値70.5歳)、病歴は

38-63年(中央値47年)であり、いずれもL-Dopaに対する反応は良好であった。遺伝子変異はホモ接合5例 (p.C432F/exon6-7重複/exon10-11重複が各1例、exon4欠失2例)、混合ヘテロ接合3例 (p.C432F+exon2-4欠失/exon2三重重複+exon2-3欠失/exon2-3重複+exon3-4欠失が各1例)であった。exon2-3重複+exon3-4欠失の混合ヘテロ接合症例では、ゲノムDNAのコピー数多型解析では、exon2重複のヘテロ接合となり原因変異を同定することができず、cDNAのシーケンスにより初めて原因を同定することができた。病理検索では、中脳黒質緻密層のventrolateralとmedial groupの神経細胞脱落が最も強く、一方paranigralisやdorsal groupの神経細胞数は比較的保たれていた。グリオシスは軽度だった。レビー小体は3例の脳幹や辺縁系に少数認めたが、中脳黒質には認めなかった。全例で、脊髄薄束の髄鞘淡明化、後根神経節の変性と後根の大径有髄線維の消失を認めた。いずれの変異でも、こうした病理組織所見は類似していた。ウェスタンブロットでParkin蛋白は、p.C432F変異例ではわずかに検出されたが、その他の症例では検出できず、また免疫染色でも大脳皮質、被殻、後根神経節の免疫原性は消失していた。

D. 考察

PRKN遺伝子変異を有する若年性パーキンソン病患者の臨床病理像は、Parkin蛋白の機能喪失に起因することが示された。両アレルにおけるexonの再構築：複数のexonにわたる欠失や重複の状況を正確に知るためにはmRNAの解析が必要であることが示された。

## E. 結論

PARK2の遺伝子検索では、ゲノムDNA解析だけでは十分とは言えず、cDNAのシーケンスが必要な場合がある。また組織学的には、中脳黒質緻密層の神経細胞脱落の分布と程度はいずれも類似し、Parkin蛋白の減少が関与していると推測する。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Seike N, Yokoseki A, Takeuchi R, Saito K, Miyahara H, Miyashita A, Ikeda T, Aida I, Nakajima T, Kanazawa M, Wakabayashi M, Toyoshima Y, Takahashi H, Matumoro R, Toda T, Onodera O, Ishikawa A, Ikeuchi T, Kakita A. Genetic variations and neuropathologic features of patients with PARK2. *Mov Disord* 2021; 36 (7): 1634-1643. doi: 10.1002/mds.28521.
- 2) Zhang L, Toyoshima Y, Takeshima A, Shimizu H, Tomita I, Onocera O, Takahashi H, Kakita A. Progressive supranuclear palsy: neuropathology of patients with short disease duration due to unexpected death. *Neuropathology* 2021; 41 (3): 174-182. doi: 10.1111/neup.12707.
- 3) Saito R, Hara N, Tada M, Honma Y, Miyashita A, Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A (2020 Aug 12). Novel *CHP1* mutation in autosomal-recessive cerebellar ataxia: autopsy features of two siblings. *Acta Neuropathol Commun* 2020; 8 (1): 134. doi:10.1186/s40478-020-01008-2.
- 4) Saito R, Shimizu H, Miura T, Hara N, Miyashita A, Kawachi I, Sanpei K, Honma Y, Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A (2020 June 3). Oculopharyngodistal myopathy with coexisting histology of systemic neuronal intranuclear inclusion disease: clinicopathologic features of an autopsied patient harboring CGG repeat expansions in *LRP12*. *Acta Neuropathol Commun* 2020; 8: 75. doi: 10.1186/s40478-020-00945-2.
- 5) Ito J, Shimizu H, Ohta K, Idezuka J, Tanaka H, Kondo H, Nakajima T, Takahashi H, Onodera O, Kakita A (2020 Feb; Epub 2019 Nov 26). ALS with pallido-nigro-Luysian degeneration: a clinicopathological study. *Ann Neurol* 2020; 87 (2): 302-312. doi: 10.1002/ana.25652.
- 6) Tanaka H, Shimizu H, Yonemochi Y, Ozawa T, Toyoshima Y, Nakajima T, Kakita A (Epub 2022 Mar 2). Fibrodysplasia ossificans progressive: histopathological implications of aberrant BMP signaling for CNS dysgenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol*, in press. doi: 10.1111/nan.12805.
- 7) Sainouchi M, Tada M, Fitrah YA, Hara N, Tanaka K, Idezuka J, Aida I, Nakajima T, Miyashita A, Akazawa K, Ikeuchi T, Onodera O, Kakita A

(2022 April; Epub 2021 Dec 15). *Brain TDP-43 pathology in corticobasal degeneration: topographical correlation with neuronal loss*. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2022; 48 (3): e12786. doi: 10.1111/nan.12786.

- 8) Sainouchi M, Tanaka H, Shimizu H, Mashima T, Fukushima T, Ishihara T, Makino K, Onodera O, Kakita A (2021 Sep; Epub 2021 Apr 21). Hemiplegic type ALS: clinicopathological features of two autopsied patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2021; 92 (9): 1014-1016. doi: 10.1136/jnnp-2021-326257.
- 9) Sainouchi M, Hatano Y, Tada M, Ishihara T, Ando S, Kato T, Tokunaga J, Ito G, Miyahara H, Toyoshima Y, Yokoseki A, Ozawa T, Akazawa K, Onodera O, Kakita A (2021 Jun 7). A novel splicing variant of *ANXA11* in a patient with amyotrophic lateral sclerosis: histologic and biochemical features. *Acta Neuropathol Commun* 2021; 9 (1): 106. doi: 10.1186/s40478-021-01202-w.

### 2. 学会発表

- 1) Tada M, Hatano Y, Takeshima A, Saito R, Saji E, Tokutake T, Ishihara T, Toyoshima Y, Onodera O, Kakita A. Clinicopathologic study of two patients with amyotrophic lateral sclerosis harboring TBK1 mutations. 第62回日本神経学会 2021年5月19-22日. 京都Web.
- 2) Sainouchi M, Hatano Y, Tada M, Ishihara T, Miyahara H, Toyoshima Y, Ozawa T, Ito G, Onodera O, Kakita A. A novel splicing variant of ANXA11 in a patient with amyotrophic lateral sclerosis: histologic and biochemical features. 第62回日本神経病理学会 2021年5月27-29日. 東京Web.
- 3) Tada M, Hasegawa A, Hara N, Ishihara T, Miyashita A, Koike R, Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A. Clinicopathologic features of a patient with nemaline myopathy and intellectual disability harboring a ADSS1L1 mutation. 第62回日本神経病理学会 2021年5月27-29日. 東京Web.

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし