

神経変性疾患の病理学的解析：

(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： 研究分担者 柿田 明美 新潟大学脳研究所 教授

研究要旨

神経変性疾患 (ALS, PD, PSP, CBD, SCD, FOP) の臨床病理学的解析を進めた。いずれも各疾患の病態理解につながる新規知見を見出し、その成果を論発表した。その中から、若年性パーキンソニズムに関する研究結果を記載する。

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 のウエ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 α 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られたが、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。ウエスタンブロットで 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 (2020/4/1 ~ 2021/3/31 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. Novel *CHPI* 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. 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. 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. Fibrodysplasia ossificans progressive: histopathological implications of aberrant BMP signaling for CNS dysgenesis. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2022; 48 (4): e12805. 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. 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. 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. 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.
- 10) Saito R, Hara N, Tada M, Wakabayashi M, Miyashita A, Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A. *SYNE1*-ataxia: clinicopathologic features of an autopsied patient with novel compound heterozygous mutations. *J Neuropathol Exp Neurol* 2023; 82 (3): 267-271. doi: 10.1093/jnen/nlac120.
- 11) Saito R, Tada Y, Oikawa D, Seto M, Sato S, Sato Y, Kume K, Ueki N, Nakashima M, Hayashi S, Toyoshima Y, Tokunaga F, Kawakami H, Kakita A. Spinocerebellar ataxia type 17-digenic *TBP/STUB1* disease: neuropathologic features of an autopsied patient. *Acta Neuropathol Commun* 2022; 10: 177. doi: 10.1186/s40478-022-01486-6.

2. 学会発表

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. 他 多数。
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

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