

【目的】我々は、研究対象としてきた脊髄小脳失調症 (SCA) 家系において電位依存性 T 型カルシウムチャネルの一種である Cav3.1 をコードする CACNA1G のバリエント (c.5144G>A p.Arg1715His) を責任遺伝子として独自に同定し、2015 年の海外からの報告を以て、この疾患は SCA42 と命名された。SCA42 は緩徐進行性の小脳性運動失調を主症状とし、小脳萎縮、プルキンエ細胞の脱落をきたす神経変性疾患である。我々は SCA42 の分子病態を解明するモデル動物を作製するため、ゲノム編集技術を用いて *Cacna1g* R1723H KI マウス (c.5168G>Ap.Arg1723His) を新規に作製・解析し、世界に先駆けて 2019 年に報告した。このモデルは、点変異の導入により、患者と同様の緩徐進行性の失調症状、小脳プルキンエ細胞変性をきたすことを証明し、疾患モデルとしての有用性を明らかにした。しかしながら、神経変性に至るメカニズムについては未解明であり、治療法開発へ向けた SCA42 の病態解明には解決すべき数多くの課題がある。本研究では、新規に確立した SCA42 モデルマウス (*Cacna1g*_R1723H_KI マウス) を、分子生物学的、病理学および電気生理学的手法を駆使しさらに多面的に解析することで、カルシウムチャネルパッチとしての神経変性の病態を解明し、病態に基づく根本治療開発へ繋げることを目的とした。

【方法】具体的には、①50 週齢のモデルマウスの小脳から RNA を抽出し、RNA シークエンスによる発現変動遺伝子解析、②T 型 Ca チャネルが発現しているプルキンエ細胞をターゲットに *in vivo* 系での神経細胞ネットワークを温存した状態での電気生理学的解析、③T 型 Ca チャネル修飾薬 (X) をモデルマウスに投与し、Rotarod test および foot print test による行動解析および小脳プルキンエ細胞変性過程についての病理学的解析、④CACNA1G バリエントを導入した培養細胞に対する (X) の電流電圧曲線に対する効果の検証を行うことで、SCA42 の病態解明・治療法開発を試みた。

【結果】①RNA シークエンスで網羅的に解析されたデータから発現変動遺伝子を検出し、バイオマーカーとなりうる分子を同定した。Pathway 解析ではヘテロ、ホモともに共通して低下している経路を見いだした。②*In vivo* 実験でのターゲットであるプルキンエ細胞の同定を確実にするために、L7 プロモーターを用いた Cre-LoxP システムを用いて、プルキンエ細胞特異的に光感受性イオンチャネルであるチャンネルロドプシン 2 (ChR2) を発現するトランスジェニックマウスとの交配を行った。③行動解析では 36 週以降では (X) の投与によりヘテロマウスで有意に Rotarod test での改善を認めた。病理学的解析では、50 週齢のマウス小脳切片において (X) 投与群でヘテロマウスのプルキンエ細胞脱落が有意に抑制された。④培養細胞 (HEK293T) にヒト SCA42 バリエント (R1715H) を transfection し、(X) 投与を行ったが、電流電圧曲線のシフトの改善は認めなかった。

若齢マウス小脳スライスのパッチクランプ法による電流電圧曲線

