

ゲノム編集技術を用いた希少難治性神経発達障害の原因遺伝子変異ノックインマウスモデルの確立およびその解析による病態解明と新規治療薬探索

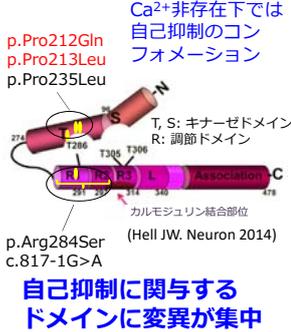
課題概要

- (目的)** 希少難治性神経発達障害の4つの原因遺伝子 (CAMK2A, CAMK2B等) のヒト変異ノックイン疾患モデルマウスを確立し、病態解明と新規治療薬探索を行う
- (これまでの成果)** ・3遺伝子についてヒト変異ノックインモデルマウスを解析中
- ・CAMK2A/2B変異による自己抑制の障害とCaMKIIの発現抑制という複雑な病態が明らかになり、自己抑制障害の改善が治療ターゲットになると考えられた。
 - ・CaMKIIの立体構造に基づく*in silico*スクリーニングにより、候補薬剤/化合物を抽出。

CAMK2A/2B変異は神経発達障害の原因

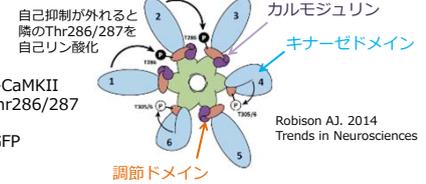
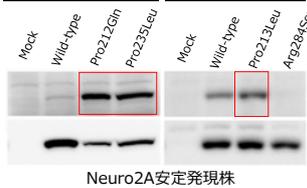
シナプス可塑性に重要なCa²⁺依存性セリン・スレオニンキナーゼをコードヘテロ12量体を形成 (CAMK2A→CaMKII α , CAMK2B→CaMKII β)

	CAMK2A (3例)	CAMK2B (2例)
疾患	West症候群 (1) てんかん性脳症(1) 知的障害・発達遅滞(1)	知的障害・発達遅滞(2)
脳形態異常	進行性小頭症(1) 小脳萎縮(1)	進行性小頭症(2) 小脳萎縮(1)
神経学的所見	自閉症 (1) 常同運動 (1) 不随意運動(2)	運動失調 (1)
変異	p.Pro212Gln p.Pro235Leu c.817-1G>A	p.Pro213Leu p.Arg284Ser



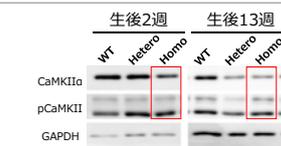
変異による自己リン酸化亢進と発現抑制

EGFP-CAMK2A mClover2-CAMK2B

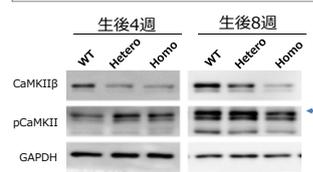


3変異体でリン酸化が亢進

Camk2a^{Pro212Gln}マウス (海馬)



Camk2b^{Pro213Leu}マウス (小脳)

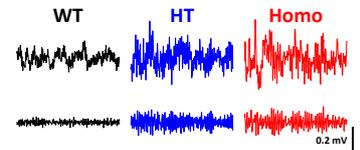
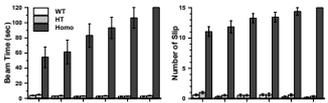


変異ノックインマウスの表現型

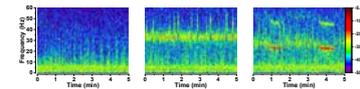
Camk2b^{Pro213Leu}マウス

覚醒下マウスの大脳皮質より記録される脳波異常

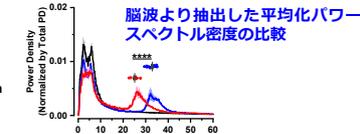
Beam walking test (バランスと協同運動機能の評価)



Camk2b変異ノックインマウスより記録される異常脳波 (上) と脳波より抽出した20~40Hzの成分の比較 (下)

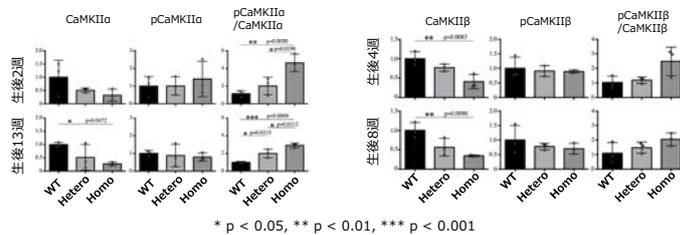
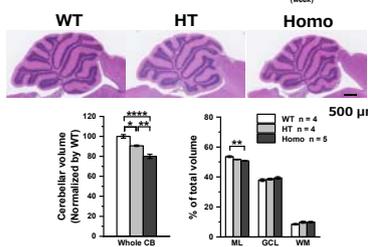


脳波をshort-time Fourier transform解析することで異常脳波が定常的に存在していることが分かる



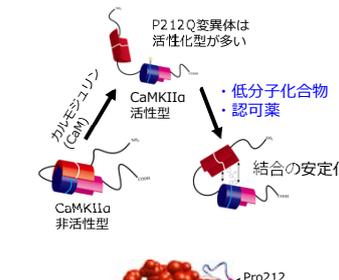
脳波異常がCamk2b変異ノックインマウスより記録され、患者でてんかん症状と関連していると考えられる

(上) 患者と同様の運動失調を観察
(下) 小脳容量の低下

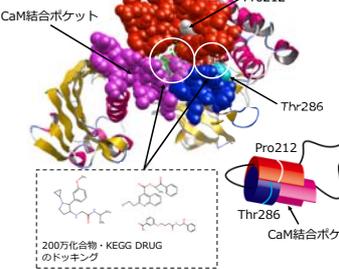
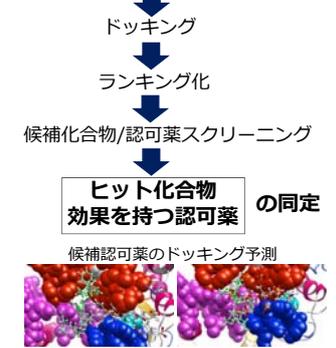


* p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001
Camk2aおよびCamk2b変異ノックインマウスで、自己リン酸化の割合は増加しているが、変異体自身の発現は低下している

新規治療薬の検索

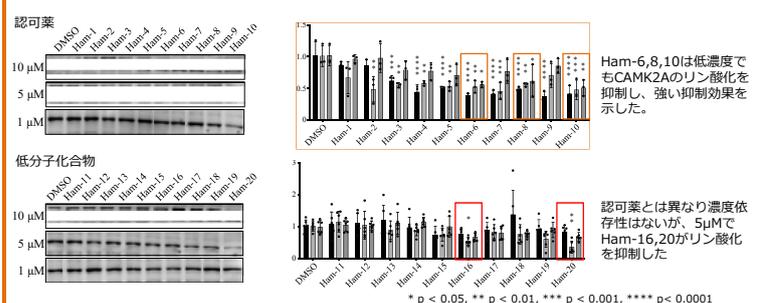


myPresto (Screening, Sivigene)
+
化合物データベース
LigandBox; 200万低分子化合物
KEGG DRUG; 認可薬 (1万7000種)



Neuro2A安定発現株を用いて、自己リン酸化を指標にランキング上位の化合物/認可薬をスクリーニング

in vitro スクリーニングによるCAMK2A自己リン酸化状態の評価



【関連する発表論文】

Akita T, Aoto K, Kato M, et al. De novo variants in CAMK2A and CAMK2B cause neurodevelopmental disorders. Ann Clin Transl Neurol. 2018 Jan 29;5(3):280-296

お問合せ先

国立大学法人 浜松医科大学
産学連携・知財活用推進センター

〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山一丁目20番1号
TEL : 053-435-2230・2681 FAX : 053-435-2433
e-mail : amanov@hama-med.ac.jp itos@hama-med.ac.jp

