



Title	神経変性疾患におけるBassoon遺伝子変異に関する研究
Author(s)	田中, 大貴
Description	配架番号 : 2996
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16903号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16903
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99748
Type	doctoral thesis
File Information	TANAKA_Daiki.pdf, 全文



学 位 論 文

神経変性疾患における *Bassoon* 遺伝子変異に関する研究
(Studies on *Bassoon* gene mutation in neurodegenerative diseases)

2026 年 3 月

北 海 道 大 学

田 中 大 貴

学 位 論 文

神経変性疾患における *Bassoon* 遺伝子変異に関する研究
(Studies on *Bassoon* gene mutation in neurodegenerative diseases)

2026 年 3 月

北 海 道 大 学

田 中 大 貴

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1 頁
要旨	2 頁
略語表	4 頁
緒言	6 頁
方法	21 頁
結果	27 頁
考察	53 頁
結論	58 頁
謝辞	60 頁
利益相反	61 頁
引用文献	62 頁

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

1. Daiki Tanaka, Hiroaki Yaguchi, Kaichi Yoshizaki, Akihiko Kudo, Fumiaki Mori, Taichi Nomura, Jing Pan, Yasuo Miki, Hidehisa Takahashi, Taichi Hara, Koichi Wakabayashi, Ichiro Yabe. Behavioral and histological analyses of the mouse *Bassoon* p.P3882A mutation corresponding to the human *BSN* p.P3866A mutation. *Frontiers in Neuroscience*, 18:1414145 (2024)

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. Daiki Tanaka, Hiroaki Yaguchi, Akihiko Kudo, Kaichi Yoshizaki, Taichi Nomura, Taichi Hara, Hidehisa Takahashi, Yasuo Miki, Fumiaki Mori, Koichi Wakabayashi, Ichiro Yabe. The results of behavioral and pathological analyses of *bassoon* knock-in mice. 65th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology and 19th Asian Oceanian Congress of Neurology. May 29–June 1, 2024. Tokyo, Japan.
2. Daiki Tanaka, Hiroaki Yaguchi, Akihiko Kudo, Kaichi Yoshizaki, Taichi Nomura, Jing Pan, Hidehisa Takahashi, Yasuo Miki, Fumiaki Mori, Koichi Wakabayashi, Ichiro Yabe. Analyses of *Bassoon* knock-in mice until twelve months of age: the second report. 66th Annual Meeting of the Japanese Society of Neurology. May 21–24, 2025. Osaka, Japan.

要旨

【背景と目的】脳神経内科では、動作緩慢や筋強剛などのパーキンソン症候群を伴う神経変性疾患を多数扱っている。具体的にはパーキンソン病、進行性核上性麻痺などが挙げられ、病理学的には中枢神経において沈着する蛋白質により区別される。各疾患で生じる症状は非常に多様であり、生前に病理組織を得ることの困難さもあり、正確な臨床診断が困難である。これは神経変性疾患の診療における問題点であり、病態生理のより詳細な解明、関連する遺伝子変異の解明が必要である。また、既存の疾患と類似した症候を示していても病理像は異なる場合があり、常に未知なる疾患が隠れている可能性がある。2018年、当教室の矢部らにより、進行性核上性麻痺に類似した症候を示す一家系から *Bassoon* 遺伝子の p.P3866A 変異が同定された。その後の解析により同変異が進行性核上性麻痺とは異なるタウオパチーに関与している可能性が考えられた。*Bassoon* 蛋白はシナプス前に存在する足場蛋白であり蛋白質のコントロールに関与していると考えられており、進行性核上性麻痺以外の複数の神経疾患との関連も既報で示唆されているが、*Bassoon* 遺伝子がもたらす病態生理の詳細は未だ不明である。そこで、ヒトの同遺伝子変異に相当する変異を有するノックインマウスを作成し、行動解析及び病理解析を行った。

【対象と方法】ヒトの *Bassoon* p.P3866A に相当する *Bassoon* p.P3882A 変異を有するノックインマウスを作成した。3 か月齢と 12 か月齢において行動解析、病理解析を行い、*Bassoon* 野生型のマウスと比較した。行動解析では、マウスの運動機能及び不安様行動を解析するオープンフィールドテスト、協調運動と学習能力を解析するローターロッドテスト、自発行動をみるホームケージ活動性テスト、空間作業記憶をみる Y 字迷路テスト、非空間作業記憶をみる新規物体認識テストを行った。病理解析では、ヘマトキシリン・エオジン染色に加え、*Bassoon* 抗体、リン酸化タウ抗体、シナプトフィジン抗体、 α シヌクレイン抗体、チロシンヒドロキシラーゼ抗体、ユビキチン抗体、p62 抗体、小胞体モノアミントランスポーター2 抗体を用いた免疫染色を行い、免疫反応性を比較したほか、中脳黒質のドーパミン産生ニューロンの計数を行った。

【結果】行動解析では、3 か月齢におけるホームケージ活動性テスト、3 か月齢における Y 字迷路テスト、12 か月齢におけるホームケージ活動性テストの結果に有意差を認め、ノックインマウスにおける自発行動の低下、空間作業記憶の低下が示唆された。その他の行動解析においては有意差を認めなかった。病理解析では、3 か月齢において、ノックインマウスのチロシンヒドロキシラーゼに対する有意な免疫反応性の亢進、小胞体モノアミントランスポーター2 の免疫反応性の低下を認めた。明らかな構造上の異常や、その他の物質に対する免疫反応性の有意差は認めなかった。中脳黒質

のドーパミン産生ニューロンの数についても有意差を認めなかった。12 か月齢においては、ノックインマウスの *Bassoon* に対する有意な免疫反応性の亢進、小胞体モノアミントランスポーター2 に対する免疫反応性の低下を認めた。明らかな構造上の異常や、チロシンヒドロキシラーゼを含めたその他の物質に対する免疫反応性の有意差は認めなかった。中脳黒質のドーパミン産生ニューロンの数は、有意に低下していた。

【考察】3 か月齢の Y 字迷路テストの結果からは、ノックインマウスの空間作業記憶の低下が示唆された。病理解析においてはチロシンヒドロキシラーゼの免疫反応性亢進を認めていた。既報では過度のドーパミンにより空間作業記憶が低下することが示唆されており、これと矛盾しない結果であった。おそらく、適切なドーパミンの分泌、作用のバランスが適切な空間作業記憶の維持に必要であると考ええる。12 か月齢においても同様の傾向がみられていたが、統計学的有意差には至っていなかった。加齢など他要因の関与の可能性が考えられる。また、ノックインマウスでは3 か月齢、12 か月齢ともホームケージ活動性テストで有意な低下を認めており、自発行動の低下が示唆された。3 か月齢では Y 字迷路テストと同様にドーパミン過剰による認知機能障害が反映されている可能性がある。12 か月齢ではチロシンヒドロキシラーゼの発現亢進こそ認めていなかったが、中脳黒質のドーパミン産生ニューロンの減少を認めており、同様にドーパミン分泌の異常が関与していた可能性がある。病理解析ではチロシンヒドロキシラーゼの免疫反応性亢進やドーパミン産生ニューロンの減少以外に、小胞体モノアミントランスポーター2 の免疫反応性低下を3 か月齢、12 か月齢両方のノックインマウスで認めていた。また、12 か月齢において *Bassoon* 蛋白の免疫反応性亢進を認めていた。既報によると、ヒトでは小胞体モノアミントランスポーター2 の発現低下はチロシンヒドロキシラーゼの発現低下に引き続いて起こるとされ、マウスにおいてもこれと矛盾しない結果が得られていた。*Bassoon* の遺伝子変異によりドーパミンの分泌障害が起こり、それが細胞内ストレスとなって変性に至る可能性が考えられる。今回の研究では、矢部らの先行研究で示されていたタウオパチーは明らかにならなかった。マウスの寿命は約2 年であり、12 か月（1 年）齢以降の高齢マウスでのタウ蓄積が発生するかどうか、今後の検討が必要である。また、また、各蛋白の発現の評価は脳組織の染色でしか評価しておらず、免疫ブロット法などを用いた生化学的解析も今後必要であると考ええる。

【結論】*Bassoon* ノックインマウスを作成し、3 か月齢及び12 か月齢での行動解析、病理組織学的解析を行った。*Bassoon* 遺伝子変異の病態生理はまだ不明な点が多く、実際のモデル動物において解析結果を経時的に追跡することができた点において意義があったものと考ええる。より高齢のマウスにおける追跡及び、各種蛋白の生化学的解析が今後の課題である。

略語表

本文中および図中で使用した略語は以下のとおりである。

ABC: avidin-biotin-peroxidase complex

AD: Alzheimer's dementia

ALS: amyotrophic lateral sclerosis

APOE: apolipoprotein E

BSN: Bassoon

C9ORF72: chromosome 9 open reading frame 72

CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy

CBD: corticobasal degeneration

CHMP2B: charged multivesicular body protein 2B

CRISPR: clustered regularly interspaced short palindromic repeats

crRNA: CRISPR RNA

DAB: diaminobenzidine

DCTN1: dynactin subunit 1

DLB: dementia with Lewy bodies

DNA: deoxyribonucleic acid

DNAJB6: DnaJ heat shock protein family member B6

EIF2AK3: eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 3

FTD: frontotemporal dementia

FUS: fused in sarcoma

GRN: progranulin

gRNA: guide RNA

HCA: home cage activity

HE: hematoxylin and eosin

HEK293T: human embryonic kidney cell 293T

ICR: Institute of Cancer Research

IHC: immunohistochemistry

KI: knock-in

LRRK2: leucine rich-repeat kinase 2

MAPT: microtubule-associated protein tau

MOBP: myelin associated oligodendrocyte basic protein
MRI: magnetic resonance imaging
MSA: multiple system atrophy
Munc13: mammalian unc13
NORT: novel object recognition test
OFT: open-field test
PARK2: parkinson protein 2
PBS: phosphate-buffered saline
PCR: polymerase chain reaction
PD: Parkinson's disease
PDD: Parkinson's disease dementia
PINK1: PTEN induced kinase 1
PSMB4: proteasome subunit beta type-4
PSP: progressive supranuclear palsy
PTEN: phosphatase and tensin homolog
RIM: Rab3-interacting molecule
RIMBP: RIM binding protein
RNA: ribonucleic acid
RRT: rotarod test
SNCA: synuclein alpha
ssODN: single strand oligodeoxynucleotide
STX6: syntaxin 6
TAKE: technique for animal knockout system by electroporation
TARDBP/TDP-43: transactive response DNA binding protein 43
TH: tyrosine hydroxylase
UCHL1: ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1
VCP: valosin-containing protein
VGCC: voltage-gated calcium channel
VMAT2: vesicular monoamine transporter 2
WT: wild-type
YMZ: Y-maze

緒言

(1) 神経変性疾患とパーキンソン症候群

神経疾患は脳、脊髄、末梢神経など神経の機能が障害される疾患群であり、その原因は神経変性、血管障害、感染症、自己免疫、代謝性要因、外傷など多岐にわたる。脳神経内科が診療を担当する疾患において、パーキンソン症候群は代表的疾患であり、パーキンソン症候群をきたす疾患の中には、複数の神経変性疾患が存在する (Lo, 2021)。神経変性疾患は、中枢神経において神経細胞（ニューロン）に何らかの変化が起こり、その結果神経細胞が進行性に脱落し機能を失っていく疾患の総称である (Agrawal and Biswas, 2015)。

パーキンソン症候群のうち、神経変性疾患である代表的なものとしてパーキンソン病 (Parkinson's disease: PD)、進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy: PSP)、大脳皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration: CBD)、レビー小体型認知症 (dementia with Lewy bodies: DLB)、多系統萎縮症 (multiple system atrophy: MSA) などが挙げられる。さらに、神経変性疾患と考えられるものの病理学的または臨床的な分類が困難な疾患群も存在し、「PSP-like」のような用語が用いられることもある。このような疾患群についても、その病態解明が望まれている。

パーキンソン症候群を呈する神経変性疾患について概括する (表 1)。パーキンソン症候群の原因疾患として最多であるのは PD である (Klockgether, 2004)。PD は、中脳の黒質緻密部にあるドーパミン産生ニューロンなどに変性が起こる疾患であり、病理学的にはレビー小体とよばれる α シヌクレインを含む封入体が沈着することが特徴である。臨床症状としては動作緩慢、安静時振戦、筋強剛、姿勢反射障害などの運動症状を主に呈するほか、嗅覚低下、レム睡眠行動障害、自律神経障害、不安、うつなどの非運動症状も見られる。PD の多くは孤発性であるが、家族歴を有する症例もある (Ye H et al, 2023)。

PSP は、垂直性核上性眼球運動障害をきたし、動作緩慢や筋強剛は頸部や体軸が優位となり、発症早期から姿勢反射障害が前景に立ちやすいという特徴がある (Tolosa et al, 2006)。また自発的な発話の減少、無関心、自己中心性、頑固さなどを伴い、前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia: FTD) と類似した認知機能障害をきたしやすい。症状の進行は PD より速く、治療面においても、PD の治療で使用するレボドパに対する反応性は不良である。これらの臨床症状はリチャードソン症候群とよばれ、PSP の典型的な症状とされる。一方で PSP の全症例がリチャードソン症候群を呈するとは限らず、多くの亜型が存在する。詳細に関しては次節で述べるが、言語障害が優位に

立つもの、無関心や衝動性などの前頭葉徴候が主となるもの、失行やミオクローヌスを呈するものなどがある。こうした症状の多様性のため、臨床的に PSP に含まれる症状を呈する疾患群はしばしば診断確定が困難で、「パーキンソン病プラス」や「非定型パーキンソン症候群」などの曖昧な病名のまま診療される症例もある (Rowe et al, 2021)。病理学的には、PSP は大脳基底核や脳幹におけるニューロンの脱落、神経原線維変化、4 リピータウの沈着（アストロサイトにおける房状の沈着は tufted astrocyte とよばれる）を特徴とする (Williams and Lees, 2009 ; Yoshida et al, 2022)。

CBD は、パーキンソン症候群に加えて大脳皮質の障害を反映した失行、皮質性感覚障害、他人の手徴候などの症状を特徴とする。ミオクローヌスやジストニアなどの不随意運動を伴うことも多い。また、顕著な左右差をもつパーキンソン症状を呈する。さらに、PSP と同様に FTD と類似した症状を呈する例も報告されている。CBD は一般に孤発性であるが、*MAPT* (microtubule-associated protein tau) 遺伝子変異による家系内発症も報告されている。病理学的には大脳皮質及び基底核における 4 リピータウの沈着を特徴とし、皮質の障害部位により多様な臨床症状を呈するとされる (Constantinides et al, 2019)。タウの沈着という点において CBD の病理所見は PSP の病理所見と共通しており、さらに臨床的に FTD と診断されている症例の病理所見とも共通している。PSP の一部には運動障害が半然とせず認知障害や行動障害が主症状となるケースもあるとされるほか (Kobylecki et al, 2015)、CBD においても臨床症状が PSP 様の例があったり、FTD と臨床診断された症例の病理所見が CBD に合致する例があったりし (Révész et al, 2024)、これらの疾患はタウオパチーという共通のスペクトラムに含まれている可能性が示唆されている。

DLB は、臨床症状としてパーキンソン症候群を呈するが、病初期から認知機能障害及び明瞭な幻視をきたしやすいことが特徴である。パーキンソン症候群は認知機能障害とほぼ同時に、あるいはこれより少し遅れて出現する。注意力や覚醒度の変動を伴うことも特徴である。パーキンソン症候群は PD よりも左右対称であることが多い。PD と類似した嗅覚低下、自律神経障害、レム睡眠行動障害などを認める場合もある。PD においても認知機能障害を合併する例があり、パーキンソン病認知症 (Parkinson's disease dementia: PDD) として知られているが、PDD は PD の進行期になって発生することが多く、この点が DLB とは対照的である (Gomperts, 2016)。病理学的には、PD と同様 α シヌクレインを含むレビー小体の沈着が特徴的であるが、認知症のない PD の症例と比較すると、DLB は大脳皮質におけるレビー小体が目立ちやすい。PDD の症例では大脳皮質のレビー小体が目立ち DLB と類似するようになり正確な鑑別は困難であるが、DLB においては、アルツハイマー型認知症 (Alzheimer's dementia: AD) でみられる神経原線維変化やアミロイドプラークが併存していることが多いとされる (Borghammer et al, 2024)。

MSA は、大脳基底核、小脳、自律神経系といった複数の神経系統に変性が生じる疾患であり、臨床症状としてパーキンソン症候群、小脳性運動失調、自律神経機能障害の合併が特徴である。パーキンソン症候群が優位に立つものを MSA-P、小脳症状が優位に立つものを MSA-C とよび、特に MSA-P の場合にはほかのパーキンソン症候群との鑑別が重要となる。PD とは異なりパーキンソン症候群は左右対称で、レボドパの効果も得られにくいことが多い。声帯開大不全による突然死が起こる場合があり臨床的に注意を要する。MSA では軽度の注意機能障害を認めることもあるが、DLB などとは異なり認知機能障害が前景に立つことはまれである。病理学的には、MSA はオリゴデンドロサイトにおける α シヌクレイン陽性の封入体 (glial cytoplasmic inclusion) が特徴であり、MSA-P では中脳黒質や基底核の線条体において、MSA-C では延髄オリブ核、橋、小脳において所見が目立つ (Goh et al, 2023)。

なお、神経変性疾患以外においてもパーキンソン症候群をきたす病態は多数あり、一例として多発脳梗塞を原因とする脳血管性パーキンソン症候群、スルピリドなどドーパミン遮断作用のある薬剤の摂取を原因とする薬剤性パーキンソン症候群、マンガンなど特定の物質への曝露を原因とする中毒性パーキンソン症候群などが挙げられる (Tolosa et al, 2006)。

パーキンソン症候群をきたす神経変性疾患に共通する点として、症例間の臨床症状や経過が非常に多様である点が挙げられ、このため鑑別の困難な症例も多々みられる。病理像は各疾患において異なっているものの、中枢神経における病理所見を確認するには死後の病理解剖を待つ必要があり、生前に病理所見を根拠として診断を下すことは極めて困難である。これは神経変性疾患の診療における重要な問題点のひとつであり、この問題点を解決するためには、病態生理のより詳細な解明及び関連する遺伝子変異の解明が必要である。また、パーキンソン症候群を示す症例の中に、既存の神経変性疾患の枠組みに当てはまらない未知の疾患が隠れている可能性も否定できず、実臨床においてはこのことを念頭に置く必要がある。

表 1. パーキンソン症候群をきたす神経変性疾患の特徴。

疾患名	PD	PSP	CBD	DLB	MSA
臨床症状	・安静時振戦 ・左右非対称の筋強剛、動作緩慢 ・姿勢反射障害 ・自律神経障害 ・嗅覚低下	・体幹部、頸部優位の筋強剛、動作緩慢 ・垂直性核上性眼球運動障害 ・病初期からの姿勢障害	・左右非対称の筋強剛、動作緩慢 ・失行 ・皮質性感覚障害 ・他人の手徴候	・病初期からの明瞭な幻視 ・左右対称の筋強剛、動作緩慢 ・自律神経障害 ・嗅覚低下	・筋強剛、動作緩慢 ・小脳性運動失調 ・自律神経障害 ・声帯開大不全
認知機能障害	進行期に出現 (PDD)	FTD 類似で出現	FTD 類似で出現	病初期より出現 幻視、覚醒度の変動を伴う	軽度の注意機能障害
レボドパ反応性	良好	不良	不良	不良	不良
沈着蛋白質	α シヌクレイン	4 リピートタウ	4 リピートタウ	α シヌクレイン	α シヌクレイン
封入体	Lewy body	Neurofibrillary tangles, Tufted astrocytes	Pretangles, Astrocytic plaques	Lewy body	Glial cytoplasmic inclusion
責任病巣	中脳黒質	基底核 脳幹	大脳皮質 基底核	大脳皮質	(MSA-P) 中脳黒質、基底核 (MSA-C) 延髄オリブ核、橋、小脳

(2) PSP の各亜型の臨床像

前節で触れた PSP の臨床的亜型について概括する。PSP において典型的とされる症状は、垂直性核上性眼球運動障害、四肢に比べて頸部及び体軸で優位となる筋強剛、早期からの姿勢不安定性や易転倒性である。PD と比較すると四肢の筋強剛は左右対称で、その程度も早期から高度であることが多い。レボドパに対する反応性も不良である。こうした臨床症状はリチャードソン症候群として知られているが、病理学的に PSP と診断される症例の臨床症状には複数の亜型があり、近年では PSP の症例の半数近くはリチャードソン症候群を認めないといわれている (Rowe et al, 2021)。

リチャードソン症候群以外の PSP の臨床的亜型としては、以下のようなものが知られている (Rowe et al, 2021)。リチャードソン症候群は、以下の亜型の表記にならない、PSP-RS (Richardson syndrome) と表記される。

- ・ PSP-OM (ocular motor dysfunction): 病初期の垂直性核上性眼球運動障害が目立つが、ほかの運動症状などは明確でない。
- ・ PSP-PI (postural instability): 病初期の姿勢不安定性や易転倒性が目立つが、ほかの運動症状などは明確でない。
- ・ PSP-P (parkinsonism): 運動症状が PD と類似しており、左右非対称の筋強剛、振戦を認める。病初期にレボドパへの反応性が見られる場合もある。
- ・ PSP-F (frontal): 無関心、衝動性、不適切な行動など、いわゆる前頭葉徴候が前景に立つ。
- ・ PSP-PGF (progressive gait freezing): 歩行時の足が出にくくなる、いわゆるすくみ足が次第に進行する。
- ・ PSP-CBS (corticobasal syndrome): CBD でみられる臨床症状（大脳皮質基底核症候群）と類似した、ジストニア、失行、ミオクローヌスなどの症状を認める。
- ・ PSP-PLS (primary lateral sclerosis): 上位運動ニューロン徴候がみられるもの。頻度は低いとされる。
- ・ PSP-C (cerebellar ataxia): 小脳性運動失調を認めるもの。頻度は低いとされる。
- ・ PSP-SL (speech and language): 病初期に非流暢性失語症を伴う言語障害を認める。筋強剛などの運動症状は遅れて出現する。

従来はリチャードソン症候群以外の亜型に関して診断基準が存在しなかったが、2017 年に亜型も含めた包括的な PSP 診断基準が Movement Disorder Society より提唱されている (Höglinger et al, 2017) (表 2、表 3)。同診断基準では、眼球運動障害、姿勢不安定性、動作緩慢、認知機能障害の 4 種類の症状に関してレベル 1 からレベル 3 に

分類し、その組み合わせにより亜型を診断するよう定めている。なお、PSP-P に関してはこのほかに支持的所見が定められている。しかし、依然として診断の確定には中枢神経の病理が必要とされており、臨床症状のみからの診断が困難であることは問題点として残っている。特に、頻度が低いとされる PSP-PLS、PSP-C は Movement Disorder Society の診断基準にも明示されていない。

表 2. Movement Disorder Society の 2017 年の診断基準で言及されている 4 種類の臨床症状とそのレベル、及び支持的所見。

診断のコアとなる臨床所見				
臨床症状	眼球運動障害 (O)	姿勢不安定性 (P)	動作緩慢 (A)	認知機能障害 (C)
レベル 1	O1: 垂直性核上性 眼球運動障害	P1: 発症 3 年以内 に起こる原因 不明の易転倒 性	A1: 発症 3 年以内 のすくみ足	C1: 原発性進行性 失語または進 行性発語失行 の非流暢性、 失文法バリア ント
レベル 2	O2: 垂直方向の急 速眼球運動の 速度低下	P2: 発症 3 年以内 の pull-test に よる転倒	A2: パーキンソン 症候群 無動を伴う筋 強剛、頸部体 軸優位 レボドパ治療 に反応しない	C2: 前頭葉障害に よる認知機能 障害、行動異 常
レベル 3	O3: 矩形波眼球運 動または開眼 失行	P3: 発症 3 年以内 の pull-test で 2 歩以上下がる	A3: パーキンソン 症候群 振戦を伴う か、左右対称 レボドパ治療 に反応する	C3: 大脳皮質基底 核症候群
支持的所見 (Clinical Clues: CC)				
CC1	レボドパ治療に反応しない			
CC2	動作緩慢、痙性構音障害			
CC3	嚥下障害			
CC4	羞明			

表 3. Movement Disorder Society の 2017 年の診断基準。表 2 に記した臨床症状及び支持
 的所見の組み合わせで診断する。

亜型	PSP-RS	PSP-OM	PSP-PI	PSP-P
Definite	臨床症状によらず、病理所見が PSP に合致するもの			
Probable	(O1 or O2) + (P1 or P2)	-	-	(O1 or O2) + (A2 or A3)
Possible	O2 + P3	O1	-	-
Suggestive	O3 + (P2 or P3)	O2 or O3	P1 or P2	(A2 or A3) + (O3, P1, P2, C1, C2, CC1, CC2, CC3, or CC4)
亜型	PSP-F	PSP-PGF	PSP-CBS	PSP-SL
Definite	臨床症状によらず、病理所見が PSP に合致するもの			
Probable	(O1 or O2) + C2	(O1 or O2) + A1	-	-
Possible	-	A1	(O1 or O2) + C3	(O1 or O2) + C1
Suggestive	C2 + (O3 or P3)	-	C3	C1

(3) PSP に関与しうる遺伝子

PSP を含め、パーキンソン症候群や認知症を呈する神経変性疾患は多くが孤発性であるとされる。一方で近年の遺伝学の進歩により、パーキンソン症候群などの既存の神経変性疾患と類似した症候を示す遺伝性疾患の存在が明らかになってきている (表 4)。

一例として、ペリー症候群は、*DCTN1* (dynactin subunit 1) 遺伝子変異により生じる疾患であり、臨床的にはパーキンソン症候群のほか、PSP に類似した眼球運動障害や FTD に類似した認知機能障害を示すことがある。精神症状として抑うつとの合併が多いこと、中枢性低換気や体重減少などを伴うことが特徴的である。レボドパ治療には抵抗性で、むしろせん妄やジスキネジアなどの有害な症状が誘発される場合がある。診断においては、PD、PSP、FTD などとの鑑別に注意する必要がある。病理学的にはレビー小体などは伴わず、TDP-43 (transactive response DNA [deoxyribonucleic acid] binding protein 43) 陽性の封入体を伴い、中脳黒質における高度の神経脱落を認めることが特徴であり PD や PSP の病理所見とは区別される。*DCTN1* 遺伝子は逆行性軸索輸送に関与しているダイニン・ダイナクチン複合体のサブユニットをコードしており、神経変性に軸索の輸送障害が関与していることが示唆されている (Caroppo et al, 2014)。

C9ORF72 (chromosome 9 open reading frame 72) 遺伝子の非コーディング領域における GGGCCC リピートの異常伸長は、家族性の FTD ないし筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis: ALS) の原因のひとつとして知られている。一方で同遺伝子のリピート伸長を有する症例の一部は PD、PSP、CBD に類似した症候を示すことが報告されているほか、同リピート伸長を有し FTD や ALS として発症する症例の一部は経過中にパーキンソン症候群を合併するとされる (Lesage et al, 2013)。病理学的には、神経細胞の細胞質における p62・ユビキチン陽性、TDP-43 陰性の封入体の特徴であり孤発性の FTD や ALS などとは区別される (Bourinaris and Houlden, 2018)。

TDP-43 を発現する *TARDBP* 遺伝子の変異を有する症例においても、パーキンソン症候群を発症することがあるとされる。TDP-43 は ALS の多くの症例において認められるユビキチン陽性の封入体の主成分であり、FTD の症例においても約半数で同様の封入体が認められる。一方で、臨床的に PD、PSP 及び CBD と診断されている症例の一部においても同遺伝子の変異が確認されていることが報告されている。同変異を有する PD、PSP、CBD 症例の病理所見の詳細は不明であるが、同変異がパーキンソン症候群の発症と何らかの関係がある可能性が示唆されている (Tiloca et al, 2022)。

細胞間のシグナル伝達に関わる Notch 蛋白のひとつを発現させる *NOTCH3* 遺伝子の変異により、皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体顕性脳動脈症 (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy: CADASIL) を発症す

ることが知られている。CADASIL は、血管系のリスク因子を伴うことなく反復する若年性脳梗塞において、鑑別を要する疾患である。臨床症状として片麻痺などの脳梗塞症状のほか片頭痛を伴い、次第に認知機能低下が進行するのが特徴である。その一方でまれながらパーキンソン症候群を合併することがある。脳梗塞の多発を背景として脳血管性パーキンソン症候群が生じることは一般に知られており、CADASIL のパーキンソン症候群も通常は後期に出現することが多いとされるが、症例によっては早期から PSP に類似したパーキンソン症候群を呈することが報告されている (Rifino et al, 2025)。

このほか、PSP と共通のスペクトラムであることが示唆される FTD との関連が示唆される遺伝子として、*MAPT* (Ressler et al, 2024)、*FUS* (fused in sarcoma) (Neumann et al, 2009)、*VCP* (valosin-containing protein) (Ikenaga et al, 2020)、*GRN* (progranulin) (Deng et al, 2021)、*CHMP2B* (charged multivesicular body protein 2B) (Isaacs et al, 2011)、*DNAJB6* (DnaJ heat shock protein family member B6) (Yabe et al, 2014) などが挙げられる。

2011 年に行われた PSP 患者と健常対照を比較したゲノムワイド関連解析においては、*MAPT* のほか *STX6* (syntaxin 6)、*EIF2AK3* (eukaryotic translation initiation factor 2 alpha kinase 3)、*MOBP* (myelin associated oligodendrocyte basic protein) の各遺伝子が PSP の感受性遺伝子として報告されている (Höglinger et al, 2011)。日本神経治療学会による「進行性核上性麻痺診療ガイドライン 2020」においても上記の報告につき言及されており、孤発例の PSP の感受性遺伝子に留意する必要性が指摘されている (進行性核上性麻痺 (PSP) 診療ガイドライン 2020 作成委員会, 2020)。

ほかにパーキンソン症候群との関連が示唆される遺伝子として、 α シヌクレインを発現させる *SNCA* (synuclein alpha) (Higgins et al, 1998) をはじめ、*PARK2* (parkinson protein 2/Parkin) (Mizuno, 2020)、*UCHL1* (ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase L1) (Ham et al, 2021)、*LRRK2* (leucine rich-repeat kinase 2) (Rui et al, 2018)、*PINK1* (PTEN [phosphatase and tensin homolog] induced kinase 1) (Vizziello et al, 2021)、*DJI* (Repici and Giorgini, 2019) などが挙げられる。また、認知症の代表的な疾患である AD においても、*APOE* (apolipoprotein E) 遺伝子をはじめとする遺伝子解析の重要性が示され、関連遺伝子の研究がなされている (Bellenguez et al, 2022 ; 尾崎・新飯田, 2019 ; 認知症に関する APOE 遺伝学的検査の適正使用ガイドライン作成委員会, 2025)。

各遺伝子変異がどのように神経変性を生じるのか、という機序の詳細は未だ不明な点が多い。しかし、臨床症状のみでの診断確定が困難な孤発性の各種神経変性疾患とは異なり、遺伝性の神経変性疾患においては遺伝子検査による確定診断が得られる可能性がある。また、当該の遺伝子変異を対象とした治療法が開発される可能性もある (Stamelou et al, 2013)。こうした理由から、神経変性疾患においては遺伝学的要因について研究を進めることも重要である。

表 4. パーキンソン症候群との関連が示唆される代表的な遺伝子。

遺伝子の名称	関連疾患	臨床症状
<i>DCTN1</i>	ペリー症候群	パーキンソン症候群 認知機能障害 中枢性無換気 うつ 体重減少
<i>C9ORF72</i>	FTD ALS	認知機能障害 行動障害 筋力低下 パーキンソン症候群
<i>TARDBP</i>	FTD ALS	認知機能障害 行動障害 筋力低下 パーキンソン症候群
<i>NOTCH3</i>	CADASIL	片頭痛 繰り返す脳梗塞 認知機能障害 パーキンソン症候群
<i>MAPT</i>	FTD	認知機能障害
<i>FUS</i>	FTD	認知機能障害
<i>VCP</i>	FTD	認知機能障害
<i>GRN</i>	FTD	認知機能障害
<i>CHMP2B</i>	FTD	認知機能障害
<i>DNAJB6</i>	FTD	認知機能障害
<i>SNCA</i>	MSA PD	パーキンソン症候群 小脳性運動失調
<i>PARK2</i>	PD	パーキンソン症候群
<i>UCHL1</i>	PD	パーキンソン症候群
<i>LRRK2</i>	PD	パーキンソン症候群
<i>PINK1</i>	PD	パーキンソン症候群
<i>DJI</i>	PD	パーキンソン症候群

(4) PSP 様症候群の一家系における *Bassoon* 遺伝子変異の発見

2018 年、当教室の矢部らは、通常の PSP とは異なり、記銘力障害で発症し、PSP 様のパーキンソン症状を呈した患者の一家系を解析した。同例は、表 4 の FTD やパーキンソン症候群に関連して報告されている既知の遺伝子の変異を除外したうえで、*Bassoon* (*BSN*) 遺伝子の新規バリエーション (c.11596C>G、p.P3866A のミスセンス変異) を同定した。この家系における患者群は、臨床症状として記銘力障害に加え核上性麻痺、頸部筋強剛、姿勢不安定性を認めており、脳 MRI (magnetic resonance imaging) では PSP で典型的に認められる中脳被蓋、小脳、脳幹の萎縮に加えて、海馬の萎縮を認めていた。この家系のうち 1 名で病理解剖所見を得、海馬、基底核、脳幹に 3 リピータウと 4 リピータウの沈着を認めること、PSP の病理診断に必須である tufted astrocyte を認めないことが明らかとなり、病理学的には PSP とは異なる疾患群であることが判明した。続いて、*BSN* 遺伝子のバリエーションがタウ沈着を引き起こすかどうか、細胞を用いた検討を行うため、ヒト *BSN* c.11596C>G、p.P3866A バリエーションに相当するラット *Bsn* c.11623C>G、p.P3875A バリエーションを含む相補的 DNA を作成してヒト胚性腎臓細胞 (human embryonic kidney cell 293T: HEK293T) に導入し、*Bsn* 野生型を導入したものとの比較を行った。その結果、*Bsn* バリエーションを導入した細胞株においてタウと *BSN* 蛋白の不溶性画分の有意な増加を認めた。このことから、*Bsn* バリエーション *BSN* 蛋白自体の不溶化に加え、タウの不溶化を引き起こし、タウの凝集と沈着を生じる可能性が示唆された (Yabe et al, 2018)。

このように、*BSN* c.11596C>G、p.P3866A バリエーションがタウオパチーを引き起こす可能性が示唆されたことから、タウオパチーを呈する孤発性 PSP においても *BSN* バリエーションを認めるかどうか検討した。孤発性 PSP の 41 症例を対象に解析を行ったところ、約 10%である 4 例に *BSN* 遺伝子のバリエーションを認めた。当該 4 症例のバリエーションは、p.P3866A とは異なっていたが、これらの *BSN* バリエーションは in house の健常 100 例では認めなかったものであり、病的バリエーションの可能性が高く、タウオパチーの病態に何らかの関連がある可能性が示唆された (Yabe et al, 2018)。また、矢部らによる先行報告以降、*BSN* のレアバリエーションと神経疾患の関連報告が多数なされている (Yousaf et al, 2024 ; Guzman et al, 2025)。

(5) BSN 蛋白の生理的機能

BSN 遺伝子により発現する約 420kDa の BSN 蛋白は、シナプス前終末において神経伝達物質を含むシナプス小胞のドッキングや放出に関与する部位である「アクティブゾーン」に存在し、シグナル伝達に関与する分子を結びつける「足場蛋白質」として知られている。シナプス前終末における BSN 蛋白の機能としては、オートファジーの調節 (Okerlund et al, 2017 ; Hoffmann-Conaway et al, 2020 ; Montenegro-Venegas et al, 2020)、蛋白質の品質コントロール (Okerlund et al, 2017)、ユビキチン化 (Ivanova et al, 2016) が報告されている。Montenegro-Venegas らによる既報では、BSN 蛋白はプロテアソームのサブユニットである proteasome subunit beta type-4 (PSMB4) を介してプロテアソームと直接相互作用し、その活性を阻害することで蛋白質のコントロールに関与しているとされる (Montenegro-Venegas et al, 2021)。また、BSN 蛋白はアクティブゾーンにおいてシナプス小胞からシナプスへ神経伝達物質を放出することにも関与している。BSN はシナプス小胞と結合してシナプス前の末端にシナプス小胞を繫留し、Rab3-interacting molecule (RIM)、RIM binding proteins (RIMBP)、mammalian unc13 (Munc13) などのアクティブゾーンに存在する蛋白質群と相互作用し、電位依存性カルシウムチャネル (voltage-gated calcium channel: VGCC) を介して、シナプス小胞内の物質をシナプス内へ放出させることを促していると考えられている (図 1)。

Martinez らは、矢部らが報告した *BSN* p.P3866A 変異によりタウ蛋白の拡散が起こり毒性を示すこと、及び BSN 蛋白のダウンレギュレーションによりタウの拡散などが抑制され、その結果脳萎縮などの所見が軽度になることを、マウスとショウジョウバエのモデルにより示した。また、同論文では、タウオパチーを呈するヒトの PSP 症例とヒトの AD 症例で、タウが BSN 蛋白と複合体を形成することを示している (Martinez et al, 2022)。このことから、BSN 蛋白がタウオパチーにおいて重要な役割を担うことが示唆され、タウオパチーの治療ターゲットタンパク質となる可能性が示されている。

BSN 遺伝子と BSN 蛋白の関与が示唆されている疾患は、PSP 様症候群に限らない (Kaladiyil and Kukkle, 2025)。既報では、MSA (Hashida et al, 1998)、PD (Andrews et al, 2023)、ハンチントン病 (Huang et al, 2020)、統合失調症、双極性障害 (Chen et al, 2021)、多発性硬化症 (Schattling et al, 2019)、てんかん (Ye T et al, 2023) への関与も示唆されている。特に、PD では *BSN* 遺伝子のレアバリエントが若年発症の危険因子とされる (Andrews et al, 2023)。このため、BSN 蛋白は PSP 様症候群ないしタウオパチーに限らず、多くの神経疾患において、病態解明の鍵となる可能性が考えられる。また、*Bsn* ノックアウトマウスは早期発症のてんかんのモデル動物として基礎実験に用いられている (Blondiaux et al, 2023)。

BSN のバリエントがパーキンソン症候群に影響する病態生理に関しては、未だ不明

な点が多い。このため、モデル動物を用いてその病態生理を解明することが重要であると考え、ヒトの *BSN* p.P3866A に相当する *Bsn* 変異を有するモデルマウスを作成し、行動解析、病理学的解析の研究を行った。

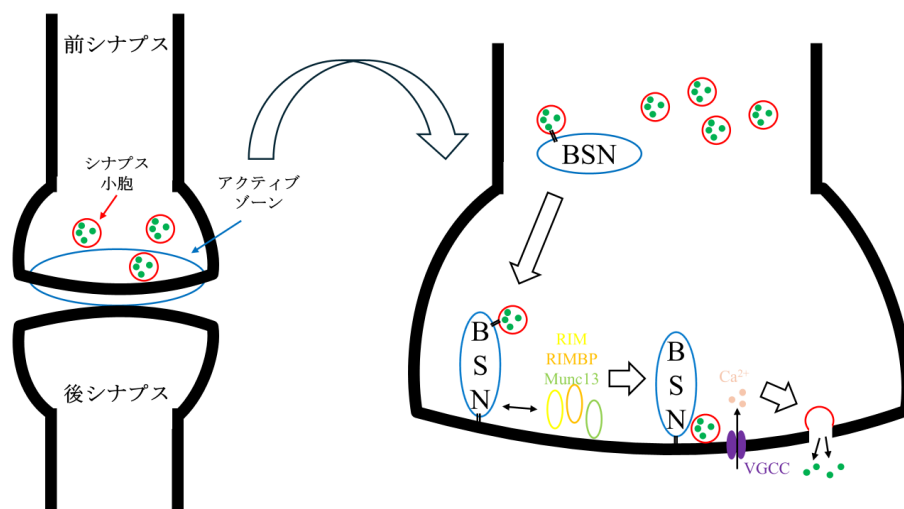


図 1. BSN のシナプス内での機能に関する概略図。Kaladiyil and Kukkle, 2025 より改変。

方法

(1) モデル動物

日本エスエルシー株式会社より C57BL/6J 系統の雌雄マウス、及び ICR (Institute of Cancer Research) マウスを購入した。このうち ICR マウスを *Bsn* 遺伝子変異のノックインに使用し、C57BL/6J マウスは繁殖に使用した。すべての実験は C57BL/6J の雄マウスを使用して行った。ノックインは 12 週齢の雄マウスと 4 週齢の雌マウスをそれぞれ精子、卵子のドナーとして使用した。ICR 雌マウスは胚移植に使用した。行動解析には、3 か月齢及び 12 か月齢の雄マウスを使用した。

マウスの飼育は、2024 年 12 月 12 日までは北海道大学医歯学総合研究棟 8 階実験生物部門にて、同年 12 月 13 日以降は北海道大学大学院医学研究院附属動物実験施設 5 階にて行った。飼育室は 12 時間周期での照明管理（7:00 から 19:00 まで点灯、19:00 から翌 7:00 までは消灯）を行い、室温は $23^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ となるよう管理した。食餌及び水分は自由に摂取できるようにした。

すべての動物実験にあたり、北海道大学倫理委員会に倫理審査を受け承認を受けた（動物実験計画書承認番号: 22-0242）。また本研究は、当時愛知県医療療育総合センター発達障害研究所障害モデル研究部門に所属されていた吉崎嘉一先生と共同で実施しており、同施設における倫理審査の承認も受けている（承認番号: 2020-005）。すべての動物実験は、「北海道大学動物実験に関する規程」「北海道大学遺伝子組換え実験等安全管理規程」及びアメリカ合衆国国立衛生研究所による「実験動物の管理と使用に関する指針」第 8 版の記載に従って行った。

(2) *Bsn* ノックインマウスの作成

雌雄のマウスを体外受精させ前核期胚をつくった。Integrated DNA Technologies 株式会社より Alt-R™S.p. Cas9 nuclease V3 (Cat#1081058)、CRISPR RNA (clustered regularly interspaced short palindromic repeats RNA [ribonucleic acid] : crRNA)、Alt-R®CRISPR-Cas9 tracrRNA (cat#1072532) を購入した。crRNA は C57BL/6J マウスの *Bsn* 遺伝子における 5' -CCAGAGTACTCAGAGCAATCTCT-3' の配列をターゲットとしている。*Bsn* 遺伝子の c.11596C>G、p.P3866A 変異を含む 70 塩基対のホモロジーアームからなる一本鎖オリゴデオキシヌクレオチド (single strand oligodeoxynucleotide: ssODN)、制限酵素 Sca I の切断部位に相当する改変制限酵素は Integrated DNA Technologies 株式会社で合成されたものを使用した。塩基配列は次の通りであり、太字部分が p.P3866A 部分、下線部が Sca I による認識部位である。

5'-CAAAGCGCCCCAGCAGGGACGGGCTCCTCAG
GCGCAGACAACTCCAGGAGCTGGACCTGCAGGTGAGCTGTGCCCAGAGATCTCA
GAGCAATCTCTCCCTATACCACTGT-3'

ヌクレアーゼは、修正 TAKE (technique for animal knockout system by electroporation) 法 (Kaneko and Mashimo, 2015) を用いて前核期胚から導入した。2 細胞期胚は、胚移植の前日に精管切除した雄マウスと交尾し偽妊娠した ICR 雌マウスの卵管から移植した。

(3) 行動解析

Bsn ノックイン (knock-in: KI) 雄マウスと *Bsn* 野生型 (wild-type: WT) 雄マウスを対象に、3 か月齢と 12 か月齢において系統的な行動解析を実施した。使用したマウスの数は、3 か月齢の KI マウス 11 匹、3 か月齢の WT マウス 11 匹、12 か月齢の KI マウス 11 匹、12 か月齢の WT マウス 11 匹の合計 44 匹である。このうち、12 か月齢のマウス 2 匹が給水トラブルにより死亡したため、最終的に行動解析のデータが得られたマウスは 42 匹である。KI マウスは、すべてホモ接合体の個体を用いた。

具体的に行った行動解析の実験は以下の 5 種である。

1. オープンフィールドテスト (open-field test: OFT)

マウスの運動機能及び不安様行動を解析するための実験である。小原医科産業株式会社より、縦 50 cm×横 50 cm×深さ 50 cm のオープンフィールド装置を購入した。実験方法は Yoshizaki らによる方法に従って実施した (Yoshizaki et al, 2020)。はじめにマウスを装置の中心に配置した。装置内における外壁より 10 cm 内側の正方形部分をセンターゾーンと定義し、マウスを装置の中心に配置してから 10 分間で動いた距離、及びセンターゾーン内にいた時間を記録した。この記録には Noldus Information Technology 社によるビデオ追跡ソフトウェアの EthoVision XT を用いた。

2. ローターロッドテスト (rotarod test: RRT)

マウスの協調運動と学習能力を解析するための実験である。室町機械株式会社のラット・マウス兼用型シングルレーンロータロッド MK-630B を購入した。マウスをレーン上に乗せ、毎分 4 回転の速度から開始し 10 分かけて 40 回転まで加速させた。この実験は 2 日間かけて合計 5 回の試行を行った。1 日目は 3 試行、2 日目は 2 試行を行い、各試行の間には最低 1 時間の休憩時間を設けた。各試行において、マウスがレーンから落下するまでの時間を記録した。

3. ホームケージ活動性 (home cage activity: HCA) テスト

マウスの自発行動をみる実験である。有限会社メルクエストよりマウス用回転かご式自発運動量測定装置 RWC-15 を購入した。この装置は幅 180 mm×全長 225 mm×高さ 123 mm のケージに、幅 50 mm×直径 143 mm の回転かごが入った装置である。この中にマウスを入れ、12 時間周期での照明管理 (7:00 から 19:00 まで点灯、19:00 から翌 7:00 までは消灯) を行い、自由に摂取できる食餌及び水を用意し、マウスが回転かごを回転させた回数を記録した。記録は 5 日間連続で行い、各日の記録は 13:00 から開始した。運動量の記録には同じく有限会社メルクエストの運動量データ記録解析シ

システム CIF-4 を使用した。

4. Y 字迷路 (Y-maze: YMZ) テスト

空間作業記憶をみる実験である。株式会社ブレインサイエンス・アイデアの Y 字迷路装置を購入した。長さ 40 cm のアームが Y 字のように 3 方向に伸びており、内寸は上部幅が 13 cm、下部幅が 3 cm、高さが 15 cm となっている。各マウスを迷路装置の中央部に配置し、10 分間でアームに入った回数の合計、及び直前のアームとは異なるアームに入ることでできた回数の合計を記録した。記録には Noldus Information Technology 社によるビデオ追跡ソフトウェアの EthoVision XT を用いた。異なるアームに入ることでできた回数を、アームに入った回数の合計で除した値を算出し、空間作業記憶の指標とした。

5. 新規物体認識テスト (novel object recognition test: NORT)

非空間作業記憶をみる実験である。上記 1. の OFT と同様、小原医科産業株式会社より購入した縦 50 cm×横 50 cm×深さ 50 cm のオープンフィールド装置を用いて行った。加えて、オブジェクトとして白のウレタン製の球体と銀色の金属製の円柱を用意した。実験 1 日目には、同じ形のオブジェクトを 2 つ、それぞれオープンフィールド装置の両端に置いたうえで、装置内をマウスに 10 分間自由に移動させた。マウスが自分の鼻をオブジェクトから 1 cm 以内の距離に近づける動作を行ったとき、その動作を「探索」と定義し、探索の回数を記録した。実験 2 日目には、2 つのオブジェクトのうち 1 つを別のオブジェクト（新規オブジェクトと呼ぶ）に置き換え、装置内をマウスに 3 分間自由に移動させた。この 3 分間で新規オブジェクトを「探索」した回数を N（novel の頭文字）、既存のオブジェクトを「探索」した回数を F（familiar の頭文字）とし、EthoVision XT によるビデオ自動解析を用いて N と F の回数を記録した。加えて、 $(N-F) \div (N+F)$ の値を discrimination index とし、評価指標として算出した。なお、実験にあたり、嗅覚刺激や場所によるオブジェクトの記憶を防ぐため、どちらを既存オブジェクトとしどちらを新規オブジェクトにするかをマウスごとにランダムに変更し、オブジェクトの位置もランダムに変更した。また、オブジェクトは毎試行ごとに 70% アルコールで消毒した。

(4) 病理学的解析

KI マウスと WT マウスそれぞれの脳を用いて病理学的解析を行った。KI マウスは、すべてホモ接合体の個体を用いた。脳の採取にあたっては、マウスをイソフルランで麻酔し、リン酸緩衝液 (phosphate-buffered saline: PBS) に溶解させた 4% パラホルムアルデヒドを用い、マウスの左心室に針を刺して固定液を注入することで灌流固定した。マウスの脳を注意深く摘出し、この固定液の中につけることで一晩後固定を行い、その後 PBS を用いて洗浄した。

病理解析は Tanaka らによる既報 (Tanaka et al, 2022) に基づいて行った。マウス的大脑は橋の前端より 1 mm 前方の部位で冠状断方向に切除し、そこから後方へ 2 mm ずつの間隔でスライスを作成した。小脳及び脳幹は中央で矢状断方向に切除した。その後は段階的に濃度が上がっていくエタノールの脱水系列を用いて脱水を行い、パラフィン包埋のうえ 4 μ m の厚さの標本作製した。組織学的解析のルーチンとして、各標本に対してヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin and eosin: HE) 染色を行った。

1. 免疫組織化学染色

免疫組織化学染色 (immunohistochemistry: IHC) は、パラフィン包埋した標本を用いて行った。脱水処理ののち、一次抗体に対する抗原賦活として、濃度 10 mmol/L、pH 6.0 のクエン酸塩緩衝剤に入れ、15 分間のオートクレーブを行った。十分に冷まし、洗浄した後にスライドガラス上の標本に対し次の処理を行った。

内在性ビオチンによる非特異的染色のブロッキングを行った後に、Vector Laboratories 社製のアビジン・ビオチン化ペルオキシダーゼ複合体 (avidin-biotin-peroxidase complex: ABC) 法を用いて一次抗体により標識したシグナルを増幅し、発色のための色素としてはシグマ・アルドリッチ社製のジアミノベンジジン (diaminobenzidine: DAB) を用いた。すべての薄切標本に対して、DAB による処理時間は同一とした。対比染色にはヘマトキシリンを用いた。

一次抗体として、マウス BSN 抗体 (Abcam 社、ab82958、1:100)、ウサギリン酸化タウ抗体 (Abcam 社、ab151559、1:2000)、マウスシナプトフィジン抗体 (Dako 社、SY38、1:1000) マウス α シヌクレイン抗体 (Novus Biologicals 社、2A7、1:1000)、マウスチロシンヒドロキシラーゼ (tyrosine hydroxylase: TH) 抗体 (シグマ・アルドリッチ社、TH-16、1:500)、ウサギ TH 抗体 (Protos Biotech Corporation 社、CA-101、1:200)、ウサギユビキチン抗体 (Dako 社、Z0458、1:1000)、マウス p62 抗体 (BD Transduction Laboratorie 社、610832、1:100)、ウサギ小胞体モノアミントランスポーター 2 (vesicular monoamine transporter 2: VMAT2) 抗体 (Proteintech 社、20873-1-AP、1:100) を使用した。WT マウスと KI マウスの脳のすべての部位に対し、組織学的観

察を行った。

2. 蛋白の免疫反応性の半定量的解析

各マウスの線条体のデジタル画像を、オリンパス株式会社のデジタル撮影機能付き顕微鏡 Provis AX70 で撮影した。また、免疫反応性に関して画像処理ソフト NIH Image 1.61 を用いて画像のグレースケールの半定量的解析を行った。データは背景色の減算処理を行い標準化した。WT マウスと KI マウスの線条体における、BSN、リン酸化タウ、TH、シナプトフィジン、 α シヌクレインの各蛋白に対する免疫反応性につき、Student の t 検定を用いて統計学的解析により比較した。

3. TH 陽性ニューロン数の計数

各マウスにおいて、両側黒質の TH 陽性のニューロンの計数を行った。染色は TH-16 抗体を用いて行った。TH-16 は、TH に対するモノクローナル抗体でありヒトとマウスの脳組織においてともに作用する抗体である。倍率を 200 倍とし、接眼レンズに装着したグリッドと顕微鏡のステージの平行走査を用いて黒質全体を調べた。WT マウスと KI マウスの線条体におけるニューロン数を、Student の t 検定を用いて統計学的解析により比較した。

4. 統計学的解析

データは平均±標準誤差を計算した。行動解析における WT マウスと KI マウスの有意差は Student の t 検定と二元配置分散分析を用いて判定した。解析には統計分析ツールの StatPlus を用い、p 値が 0.05 未満の場合に有意とした。免疫染色における染色強度の判定には、Mann-Whitney の U 検定を用いた。

結果

(1) *Bsn* ノックインマウスの作成

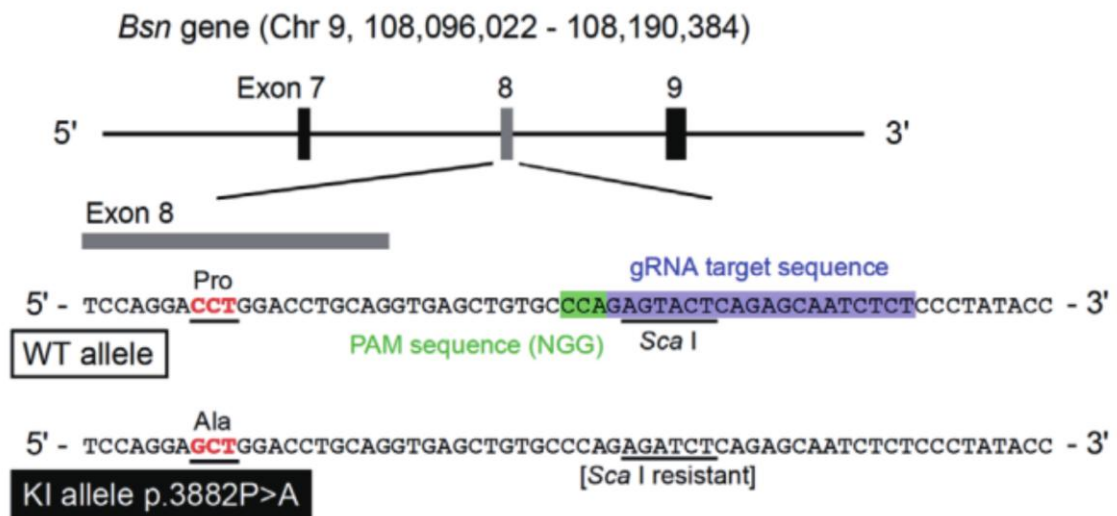
ヒトの *BSN* p.P3886A 変異に対応する、マウス *Bsn* p.P3882A 変異を有する KI マウスを作成した (図 2 a-b)。作成にあたっては前述の通り TAKE 法を用いた。*Bsn* 遺伝子及びその p.P3882A 変異部分を含む ssODN をターゲットとするガイド RNA (guide RNA: gRNA) を作成し、制限酵素 *Sca* I を用いて修正した。*Bsn* 変異の遺伝子型特定は、ポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR) 法と *Sca* I を用いた制限酵素により行った。WT アレルは *Sca* I により消化されるが、*Bsn* 変異アレルは消化されない (図 2 c)。

a

Human (p.3866) RAPQAQ**P**TPG**P**GPA

Mus musculus (p.3882) RAPQAQ**P**TPG**P**GPA

b



c

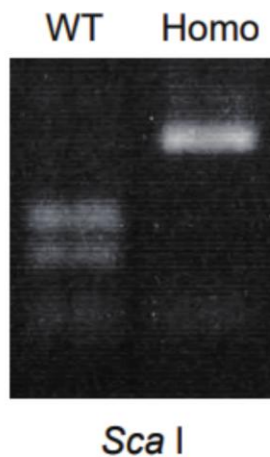


図2. *BSN*p.P3866A バリエントに相当するノックインマウスの作成。

a: ヒト (Human) *BSN* 遺伝子とマウス (*Mus musculus*) *Bsn* 遺伝子の各野生型の遺伝子配列。赤色がヒトの3866番目のアミノ酸 (P: プロリン) 及びマウスの3882番目のアミノ酸 (P: プロリン) であり、矢部らの報告したヒトの変異及び本研究で作成したマウ

スの変異ではこのプロリンが A（アラニン）に置き換わっている。*BSN* 遺伝子は進化的に保存されており、当該部分の周辺の配列についても、青色で表示しているアミノ酸（P 及び T: スレオニン）以外は同一となっている。b: マウスの *Bsn* 遺伝子変異の作成。*Bsn* 遺伝子は第 9 染色体エクソン 8 に存在している。c: マウスのジェノタイプ確認のため実施した PCR 法。

(2) 3 か月齢における行動解析の結果

WT マウスと KI マウスを比較した。オープンフィールドにおけるマウスの移動距離、及びセンターゾーン内にいた時間には有意差を認めなかった (図 3 a-b)。ロータリーロッドテストにおけるマウスがレーンから落下するまでの時間も有意差を認めなかった (図 3 c)。一方で、ホームケージ活動性テストにおける 1 日あたりのマウスの回転かごを回転させた回数は、KI マウスにおいて WT マウスよりも有意に低下していた ($p<0.01$ 、図 3 d-e)。Y 字迷路テストにおいては、10 分間でアームに入った回数の合計は有意差を認めなかった (図 3 f) が、方向転換で直前に入ったアームとは異なるアームに入ることのできた回数は、KI マウスにおいて WT マウスよりも有意に低下していた ($p<0.05$ 、図 3 g)。新規物体認識テストにおいては、既知物体と新規物体の識別能力に関して有意差を認めなかった (図 3 h)。

これらの結果からは、3 か月齢における KI マウスの自発行動の低下、及び空間作業記憶の低下が示唆された。

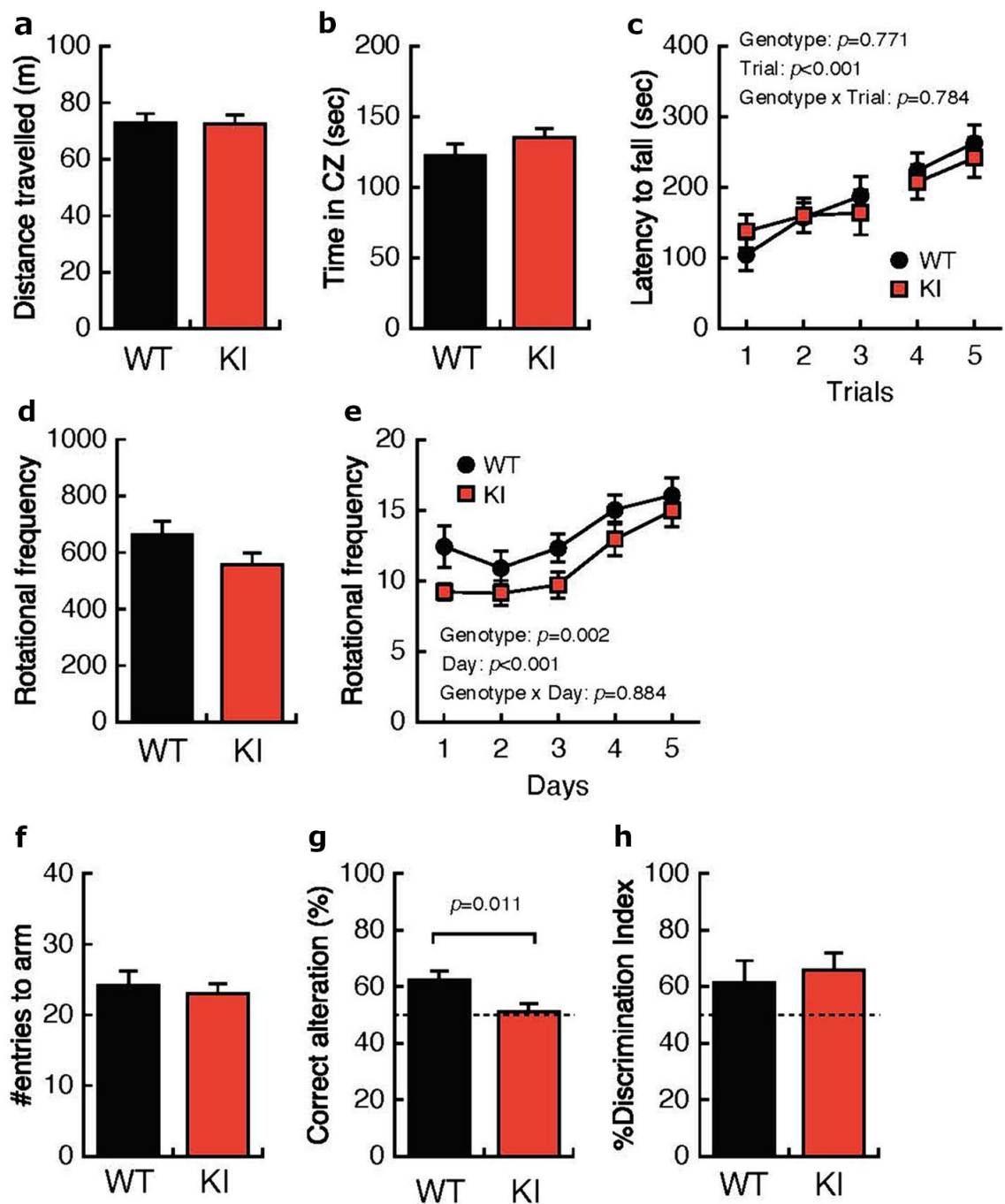


図 3.3 か月齢のマウスの行動解析結果。

a-b: オープンフィールドテストでのマウスの移動距離、及びセンターゾーンの滞在時間は同程度であった。c: ローターロッドテストでのマウスがレーンから落下するまでの時間は、WT と KI マウスとで有意差はなかった。d-e: ホームケージ活動性テストでのマウスが回転かごを回転させた回数に関して、5 日間の合計回数には有意差がなか

ったが、1日ごとの平均を評価すると KI マウスは WT マウスと比較して有意に減少していた。f: Y 字迷路テストでのアームに入った回数は有意差がなかった。g: Y 字迷路テストで直前のアームとは異なるアームに入ることのできた回数の割合は、KI マウスで WT と比較して有意に減少していた。h: 新規物体認識テストで既知の物体と新規物体を弁別する能力は有意差がなかった。CZ: center zone。

(3) 3 か月齢における病理解析の結果

KI マウス 4 匹と WT マウス 5 匹を比較した (表 5)。HE 染色では、マウス的大脑、小脳、脳幹において、WT マウスと KI マウスとに明らかな構造上の異常、神経脱落を認めなかった (図 4 a-d、図 5 a-b)。BSN 抗体 (図 4 e-h)、リン酸化タウ抗体 (図 4 i-l)、 α シヌクレイン抗体 (図 5 c-d)、シナプトフィジン抗体 (図 5 e-f) を用いた免疫染色では、KI マウスと WT マウスの間に明らかな差を認めなかった (図 7 a-e)。ユビキチン抗体、p62 抗体を用いた免疫染色においても、KI マウス、WT マウスとも明らかな染色性を認めなかった。TH に対するモノクローナル抗体である TH-16 を用いた免疫染色では、KI マウスの線条体における TH の免疫反応性が WT マウスのそれより強いことが確認され、定量解析においても有意差を示した ($p < 0.01$ 、図 4 m-p、図 7 c)。TH に対するポリクローナル抗体である CA-101 を用いた免疫染色でも同様の傾向を認めた (図 8) が、統計学的有意差は認めなかった。TH 陽性ニューロン数の計数では、KI マウスと WT マウスの間に有意差を認めなかった (表 5、図 7 f、図 9 a-b)。線条体における VMAT2 の免疫反応性は、KI マウスのほうが WT マウスのそれより弱かった (図 10 a-d)。

表 5.3 か月齢マウスにおける、線条体のシナプス関連蛋白の免疫染色性と黒質における TH 陽性細胞数。NA: not available。

マウス	BSN	リン酸化 タウ	TH	シナプト フィジン	α シヌク レイン	TH 陽性 細胞数
WT #1	23.7	30.7	22.8	34.3	NA	82
WT #2	39.2	30.4	32.6	34.1	57.6	67
WT #3	38.6	29.4	27.7	33.5	50.2	88
WT #4	31.1	24.8	19.8	29.9	45.3	63
WT #5	28.6	NA	22.1	34.0	48.5	76
WT 平均	32.2	28.8	25.0	33.2	50.4	75
KI #6	30.2	26.2	36.3	34.5	44.6	NA
KI #7	23.0	28.5	47.9	31.2	44.5	65
KI #8	27.3	26.8	45.4	30.2	44.3	74
KI #9	26.8	NA	44.7	27.0	52.3	71
KI 平均	26.8	27.2	43.6	30.7	46.4	70
統計学的 有意差	なし	なし	p<0.01	なし	なし	なし

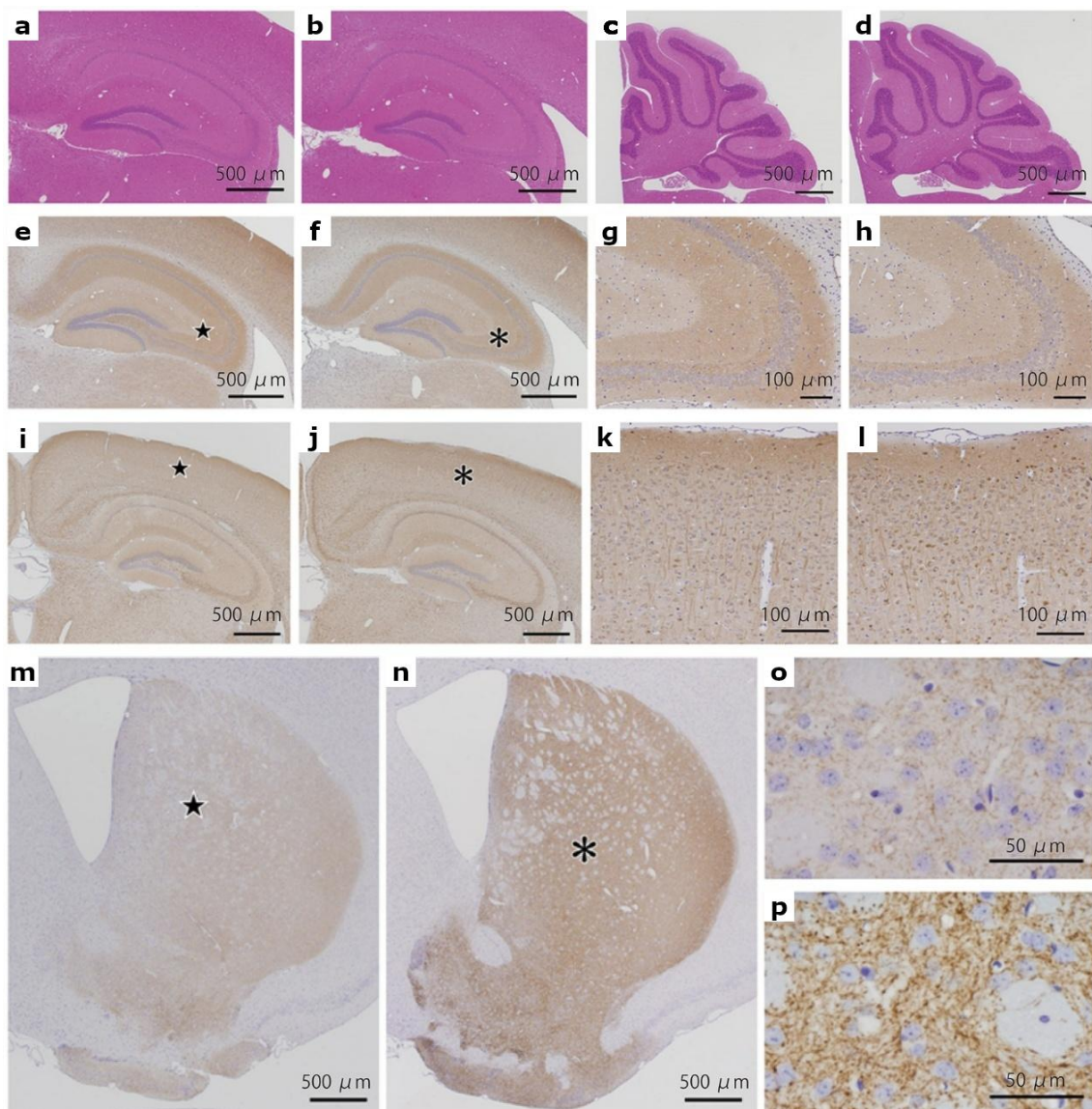


図 4.3 か月齢の WT マウスと KI マウスの組織学的な比較検討。

a, c: WT マウスの HE 染色像。b, d: KI マウスの HE 染色像。それぞれの海馬 (a, b) と小脳 (c, d) の HE 染色像。e-h: WT マウス、KI マウスそれぞれの海馬における BSN 抗体による免疫染色像。g, h: それぞれ e, f の★印、*印付近の強拡大像。i-l: WT マウス、KI マウスそれぞれの海馬、大脳皮質におけるリン酸化タウ抗体による免疫染色像。k, l: それぞれ i, j の★印、*印付近の強拡大像。m-p: WT マウス、KI マウスそれぞれの線条体における、TH-16 抗体による免疫染色像。o, p: それぞれ m, n の★印、*印付近の強拡大像。

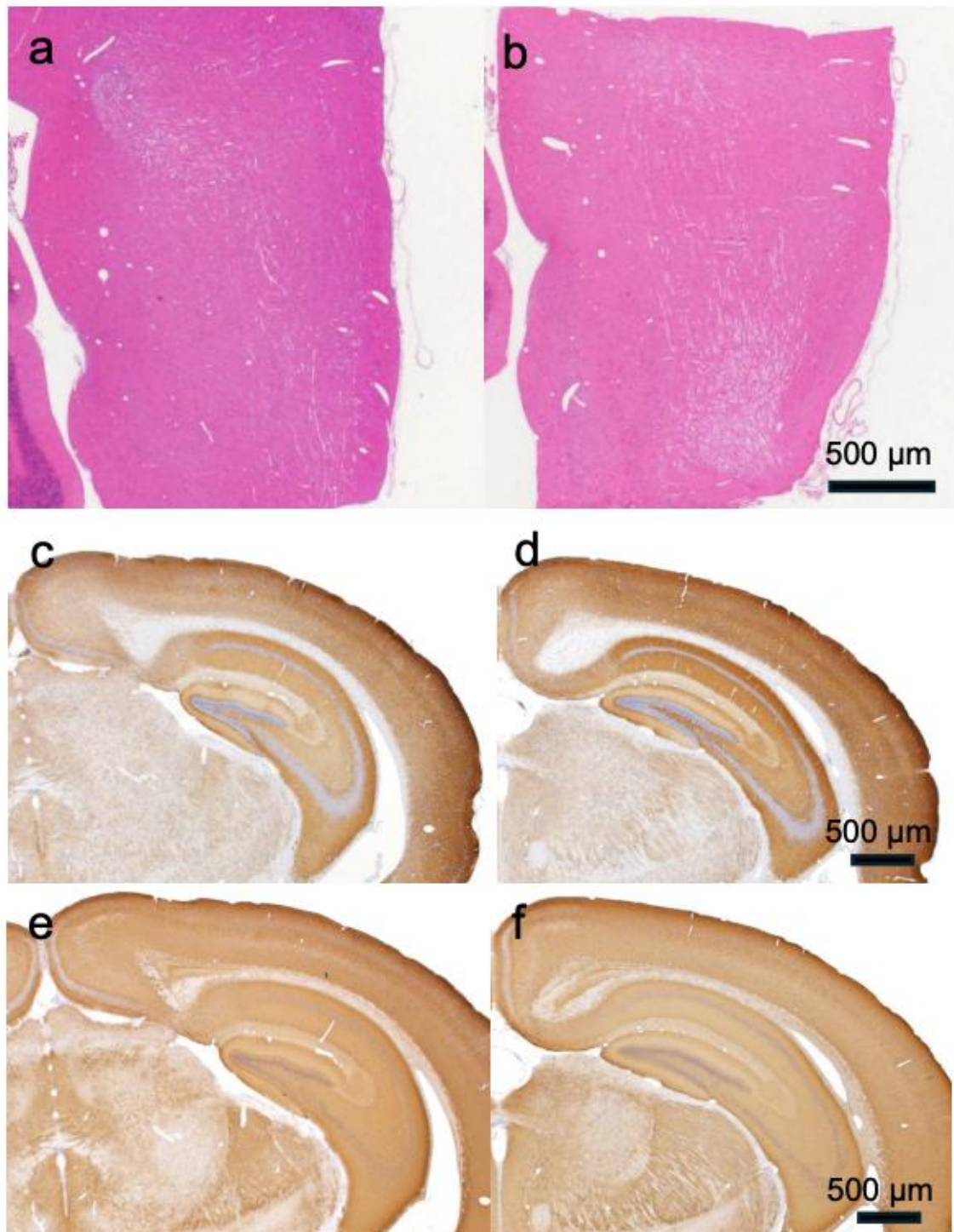


図 5.3 か月齢の WT マウスと KI マウスの組織学的な比較検討。
 a, b: WT マウス (a) と KI マウス (b) の脳幹における HE 染色像。それぞれのマウスで明らかな構造異常は認めない。c, d: WT マウス (c) と KI マウス (d) の海馬と大脳皮質における α シヌクレイン抗体による免疫染色像。e, f: WT マウス (e) と KI マウス (f)

の海馬と大脳皮質におけるシナプトフィジン抗体による免疫染色像。免疫染色性に WT マウスと KI マウスとで明らかな差はなかった。

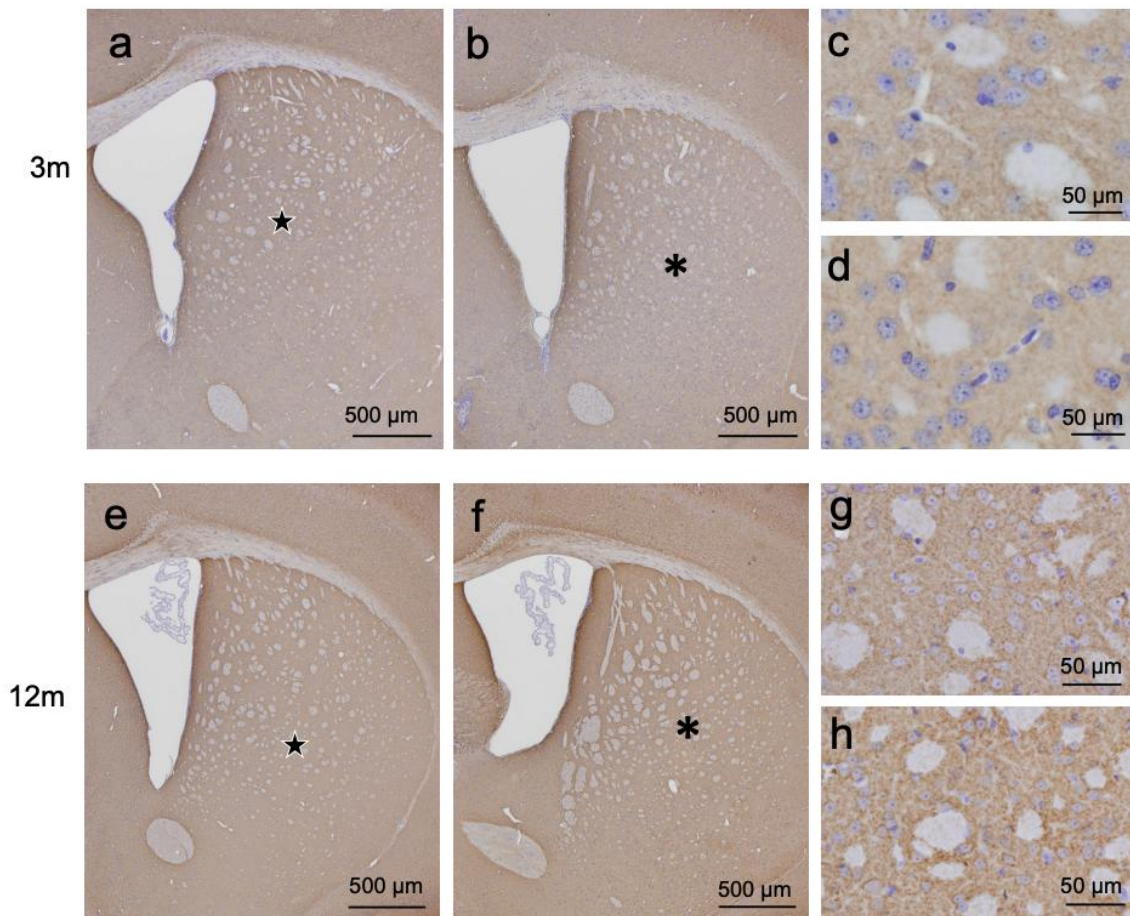


図 6.3 3 か月齢と 12 か月齢のマウスの線条体における α シヌクレイン抗体による免疫染色像。

a-d: 3 か月齢の WT マウス (a, c) 、 KI マウス (b, d) の線条体における α シヌクレイン抗体を用いた免疫染色像。c, d: それぞれ a, b の★印、*印付近の強拡大像。明らかな染色性の変化は認めない。e-h: 12 か月齢の WT マウス (e, g)、KI マウス (f, h) の線条体における α シヌクレイン抗体を用いた免疫染色像。g, h: それぞれ e, f の★印、*印付近の強拡大像。明らかな染色性の変化は認めない。なお、3 か月齢のマウスと 12 か月齢のマウスの染色とは同時に染色を行っていないため、染色強度は比較できない。

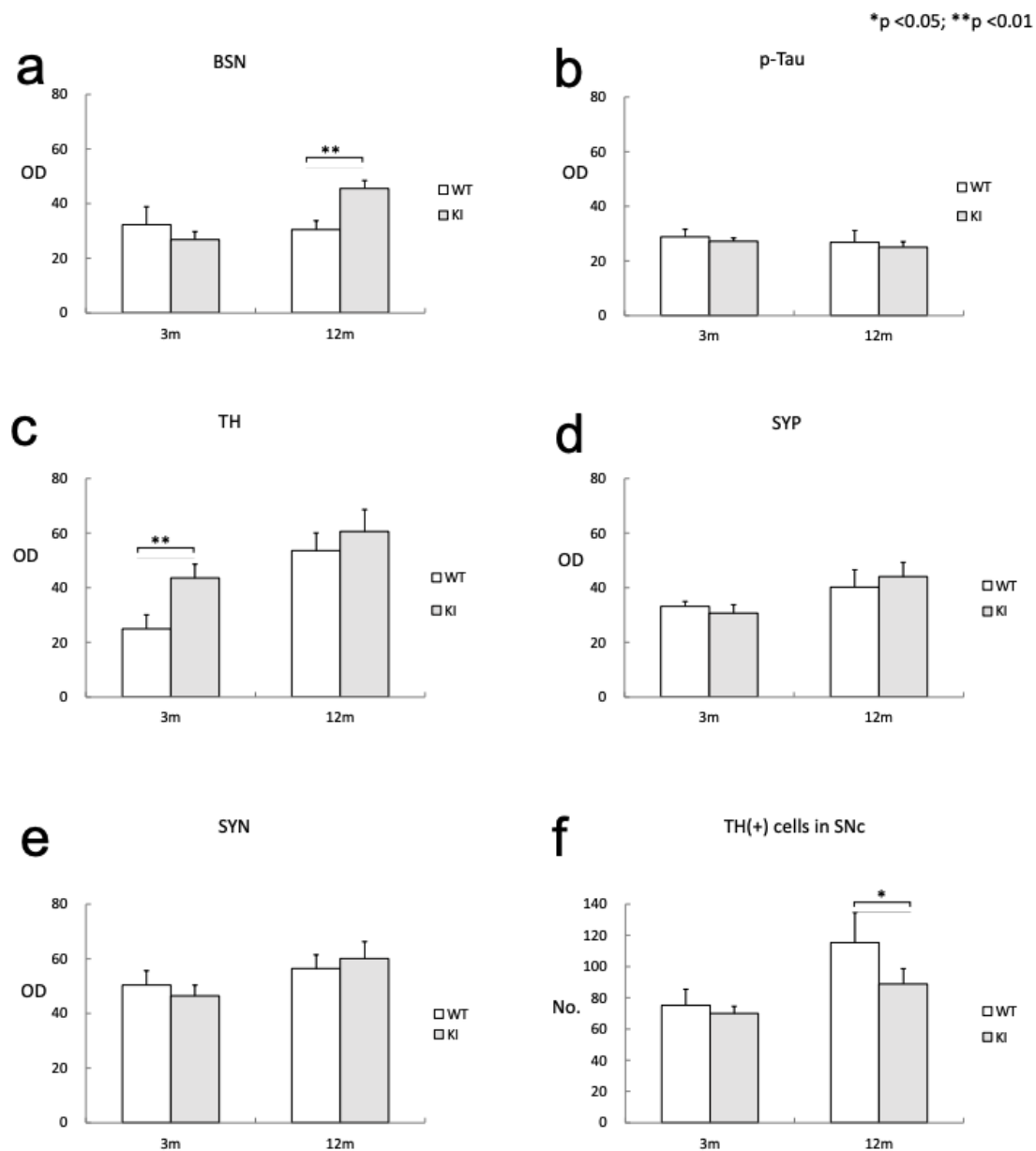


図7. 免疫染色性と神経細胞数の半定量解析結果。

a-e: BSN 抗体 (a)、リン酸化タウ抗体 (b)、TH-16 抗体 (c)、シナプトフィジン抗体 (d)、 α シヌクレイン抗体 (e) を用いて免疫染色を行ったときの、線条体における染色強度を WT マウス、KI マウスそれぞれの 3 か月齢、12 か月齢で比較したもの。KI マウスにおいて、BSN 抗体に対する染色強度が 12 か月齢で有意に増強し ($p < 0.01$)、TH-16 抗体に対する染色強度は 3 か月齢で有意に増強していた ($p < 0.01$)。f: 黒質における TH 陽性ドーパミン神経細胞数の定量評価結果。12 か月齢の KI マウスにおいて、WT マウスと比べてドーパミン神経細胞数が有意に減少した ($p < 0.05$)。OD: optical density、

p-Tau: phosphorylated tau、SNc: substantia nigra pars compacta、SYN: alpha-synuclein、SYP: synaptophysin。

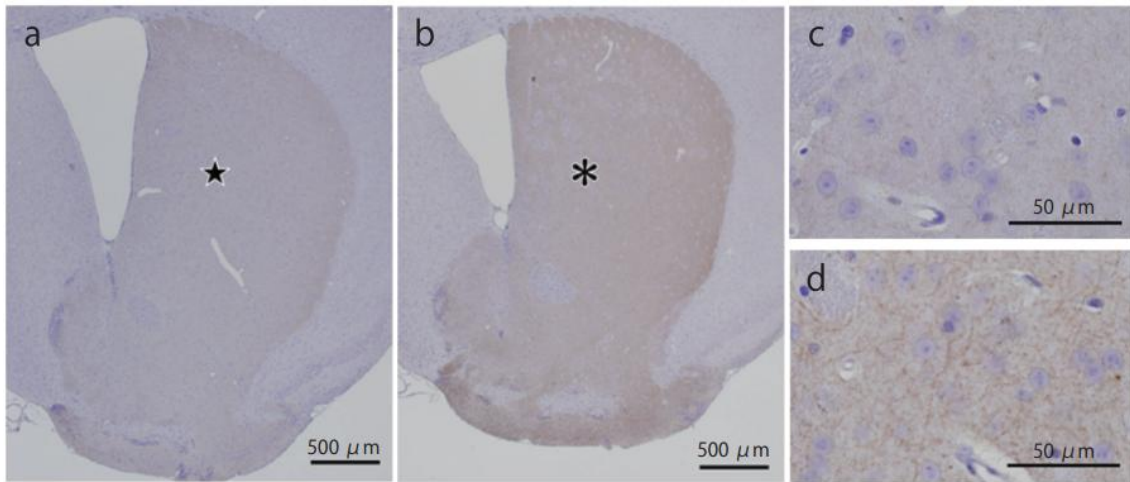


図 8.3 3 か月齢マウスの線条体における TH ポリクローナル抗体 (CA-101) による免疫染色像。

a, b: WT マウス (a)、KI マウス (b) の線条体における CA-101 抗体を用いた免疫染色像。c, d: それぞれ a, b の★印、*印付近の強拡大像。KI マウスにおいて CA-101 抗体による染色強度が増加していた。

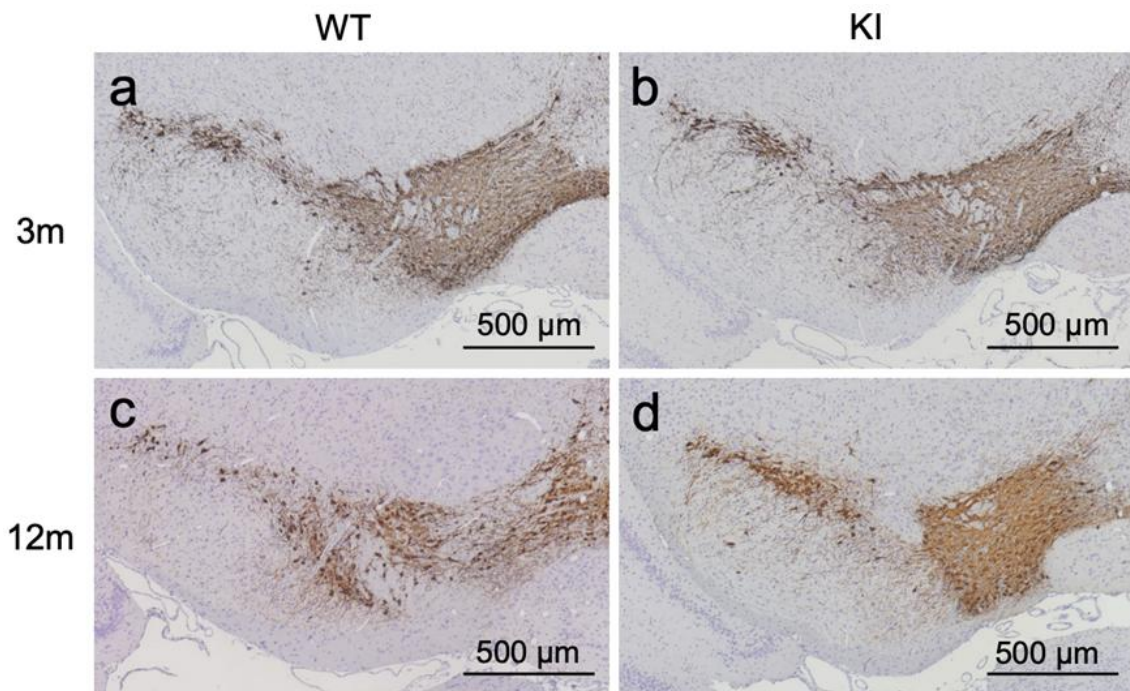


図 9. 黒質における TH 抗体を用いた染色像。

a, b: 3 か月齢の WT マウス (a)、KI マウス (b) の黒質における TH 抗体を用いた免疫染色像。c, d: 12 か月齢の WT マウス (c)、KI マウス (d) の黒質における TH 抗体を用いた免疫染色像。

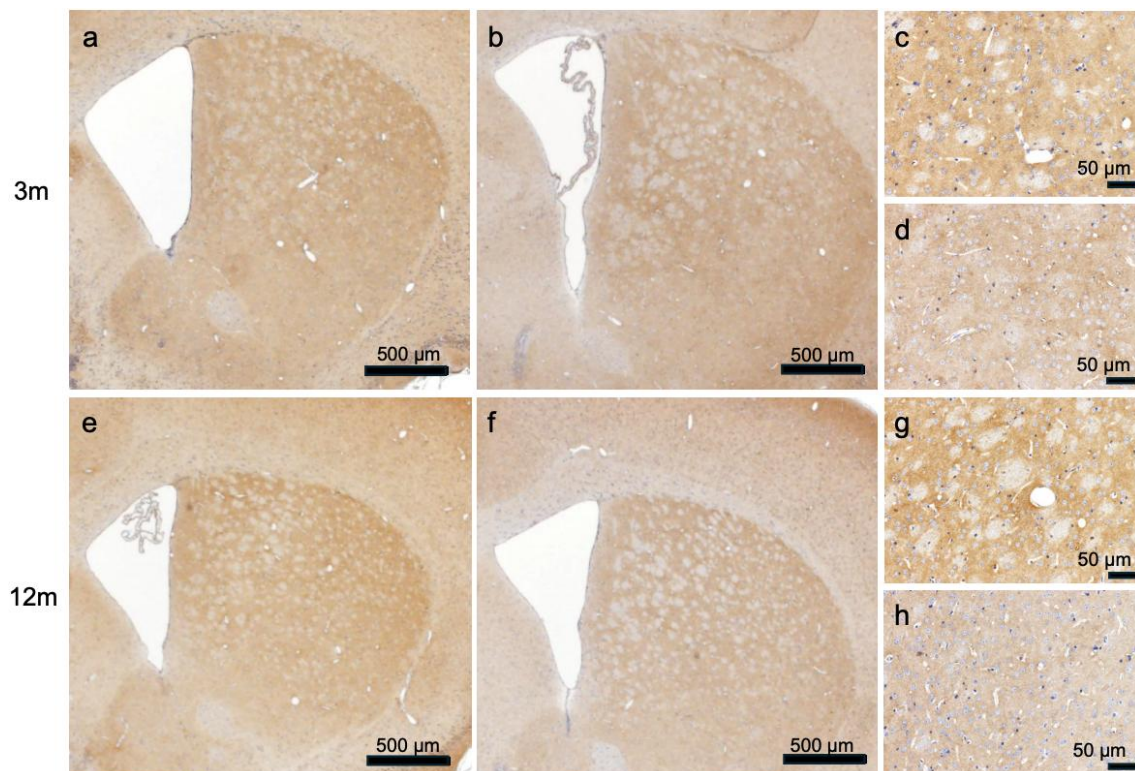


図 10.3 か月齢と 12 か月齢のマウスの線条体における VMAT2 抗体による免疫染色像。

a-d: 3 か月齢の WT マウス (a, c)、KI マウス (b, d) の線条体における VMAT2 抗体を用いた免疫染色像。c, d: それぞれ a, b の中心部付近の強拡大像。e-h: 12 か月齢の WT マウス (e, g)、KI マウス (f, h) の線条体における VMAT2 抗体を用いた免疫染色像。g, h: それぞれ e, f の中心部付近の強拡大像。3 か月齢、12 か月齢とも、KI マウスで WT マウスに比べて線条体の VMAT2 の染色強度が低下していた。

(4) 12 か月齢における行動解析の結果

3 か月齢と同様の行動解析を 12 か月齢の WT マウスと KI マウスで行った。オープンフィールドテストにおけるマウスの移動距離 (図 11 a)、及びセンターゾーン内にいた時間 (図 11 b) には有意差を認めなかった。ローターロッドテストにおけるマウスがレーンから落下するまでの時間も有意差を認めなかった (図 11 c)。一方で、ホームケージ活動性テストにおけるマウスの回転かごを回転させた回数は、KI マウスにおいて WT マウスよりも有意に低下していた ($p < 0.05$ 、図 11 d-e)。Y 字迷路テスト (図 11 f-g) 及び新規物体認識テスト (図 11 h) の結果は有意差を認めなかった。

これらの結果からは、12 か月齢における KI マウスの自発行動の低下が示唆された。

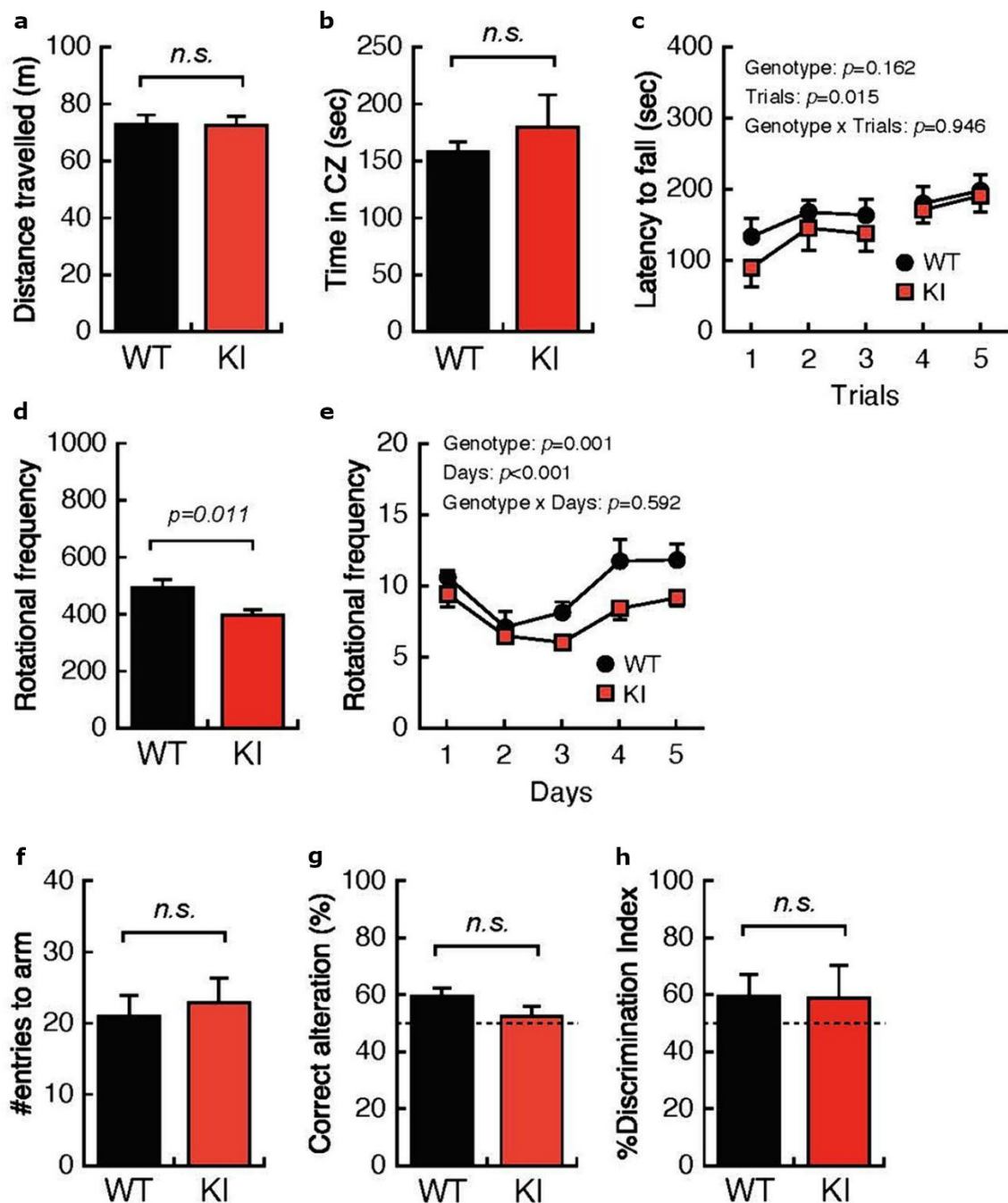


図 11. 12 か月齢のマウスの行動解析結果。

a-b: オープンフィールドテストでのマウスの移動距離 (a)、及びセンタースポットの滞在時間 (b) に有意差はなかった。c: ローターロッドテストでのマウスがレーンから落下するまでの時間にも、明らかな差はなかった。d-e: ホームケージ活動性テストでのマウスが回転かごを回転させた回数に関して、5 日間の合計 (d)、1 日ごとの平均 (e) のいずれも KI マウスで有意に減少していた。f-g: Y 字迷路テストでのアームに入った回

数 (f)、直前のアームとは異なるアームに入ることのできた回数の割合 (g) は同等であった。h: 新規物体認識テストでの弁別率も同等であった。CZ: center zone。

(5) 12 か月齢における病理解析の結果

WT マウス 8 匹と KI マウス 6 匹を比較した (表 6)。HE 染色では、マウスの線条体 (図 12 a-b)、海馬 (図 12 c-d)、小脳 (図 13 a-b)、脳幹 (図 13 c-d) において明らかな構造上の異常を認めなかった。リン酸化タウ抗体 (図 12 e-h)、シナプトフィジン抗体、 α シヌクレイン抗体 (図 6 e-h)、TH 抗体 (図 12 i-l) を用いた免疫染色では、大脳、小脳、脳幹のいずれの部位においても、KI マウスと WT マウスの間に明らかな差を認めなかった。ニューロンやグリアにおける封入体などの異常も認めなかった (図 14)。BSN 抗体を用いた免疫染色では、KI マウスの大脳皮質、線条体、及び海馬における免疫反応性が WT マウスのそれより強く (図 12 m-t)、定量解析でも線条体において有意差が確認された ($p < 0.01$ 、図 7 a)。中脳黒質における TH 陽性ニューロン数の計数では、KI マウスにおいて WT マウスより有意に少なかった ($p < 0.05$ 、図 7 f、図 9 c-d)。VMAT2 の免疫反応性は、KI マウスにおいて WT マウスより弱かった (図 10 e-h)。

表 6. 12 か月齢マウスにおける、線条体のシナプス関連蛋白の免疫染色性と黒質における TH 陽性細胞数。NA: not available。

マウス	BSN	リン酸化 タウ	TH	シナプト フィジン	α シヌク レイン	TH 陽性 細胞数
WT #1	27.2	23.1	44.5	40.1	57.4	143
WT #2	28.0	25.8	54.5	30.8	53.6	94
WT #3	35.2	26.0	58.1	47.2	62.8	104
WT #4	27.6	24.4	56.3	35.6	51.2	101
WT #5	31.2	27.8	59.7	43.7	62.0	136
WT #6	34.6	34.3	61.3	49.9	57.9	104
WT #7	32.2	31.6	45.9	38.0	58.0	126
WT #8	27.7	21.0	48.0	36.7	48.4	NA
WT 平均	30.5	26.7	53.5	40.3	56.4	115
KI #9	42.8	23.4	58.0	44.1	60.0	74
KI #10	50.2	23.4	64.1	47.0	65.4	93
KI #11	45.9	23.9	62.4	48.7	63.4	NA
KI #12	46.3	27.1	67.8	49.0	57.9	101
KI #13	46.2	28.1	45.6	39.0	64.7	87
KI #14	42.1	24.3	65.7	36.4	48.8	89
KI 平均	45.6	25.0	60.6	44.0	60.0	89
統計学的 有意差	p<0.01	なし	なし	なし	なし	p<0.05

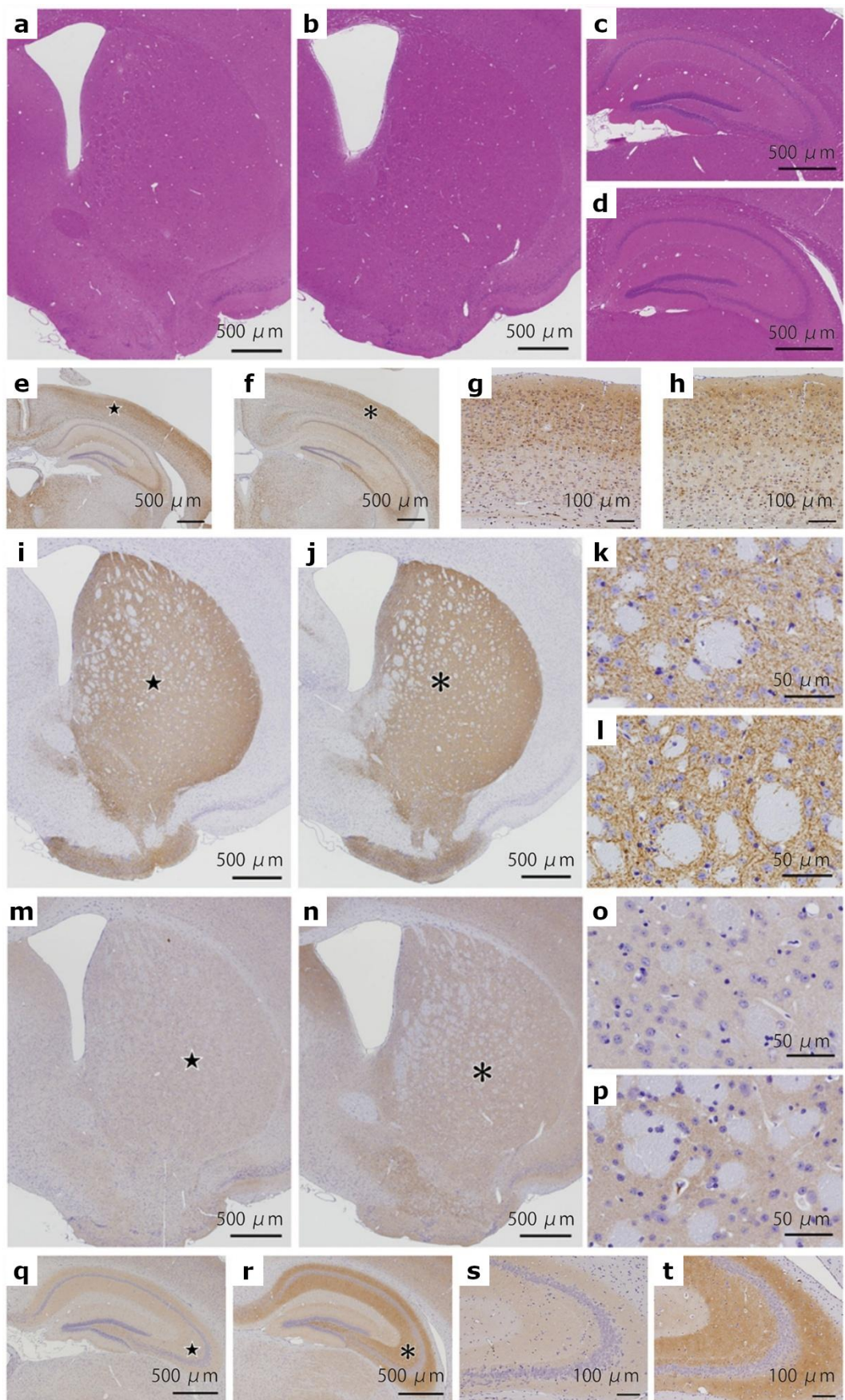


図 12. 12 か月齢のマウスの組織学的解析。

a-d: WT マウスの線条体 (a)、KI マウスの線条体 (b)、WT マウスの海馬 (c)、KI マウスの海馬 (d) における HE 染色像。明らかな構造異常は認めなかった。e-h: WT マウスの海馬 (e, g)、KI マウスの海馬 (f, h) における、リン酸化タウ抗体による免疫染色像。g, h: それぞれ e, f の★印、*印付近の強拡大像。i-l: WT マウスの線条体 (i, k)、KI マウスの線条体 (j, l) における TH-16 抗体による免疫染色像。k, l: それぞれ i, j の★印、*印付近の強拡大像。リン酸化タウ抗体と TH-16 抗体による染色では、WT マウスと KI マウスとで染色性の差は認めなかった。m-p: WT マウスの線条体 (m, o)、KI マウスの線条体 (n, p) における、BSN 抗体による免疫染色像。o, p: それぞれ m, n の★印、*印付近の強拡大像。q-t: WT マウスの海馬 (q, s)、KI マウスの海馬 (r, t) における、BSN 抗体による免疫染色像。s, t: それぞれ q, r の★印、*印付近の強拡大像。KI マウスにおいて、BSN 抗体による染色性は WT マウスと比べて線条体と海馬で増強していた。

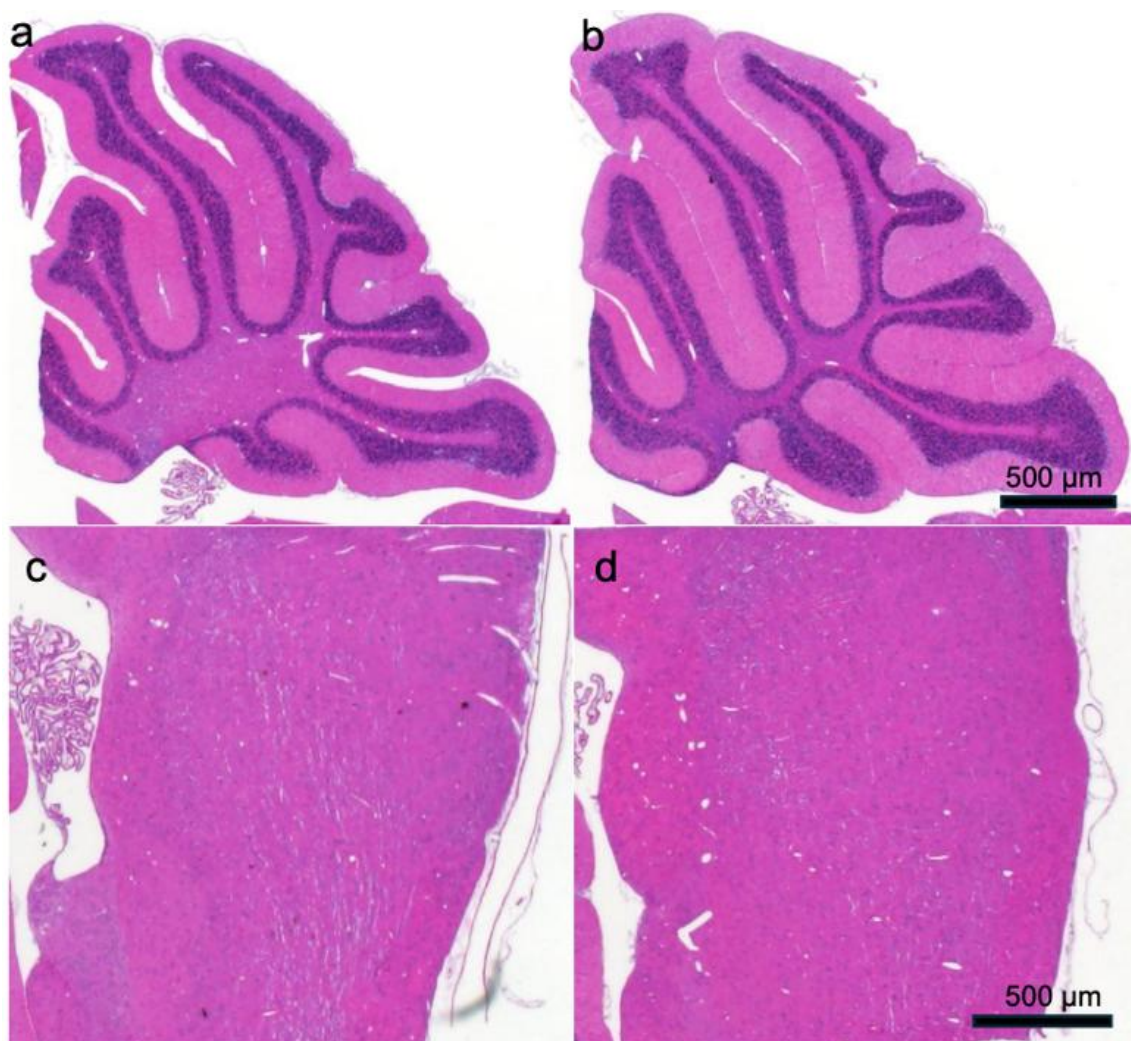


図 13. 12 か月齢の WT マウスと KI マウスの HE 染色像。

a-b: WT マウス (a) と KI マウス (b) の小脳における HE 染色像。c-d: WT マウス (c) と KI マウス (d) の脳幹における HE 染色像。それぞれのマウスで明らかな構造異常は認めない。

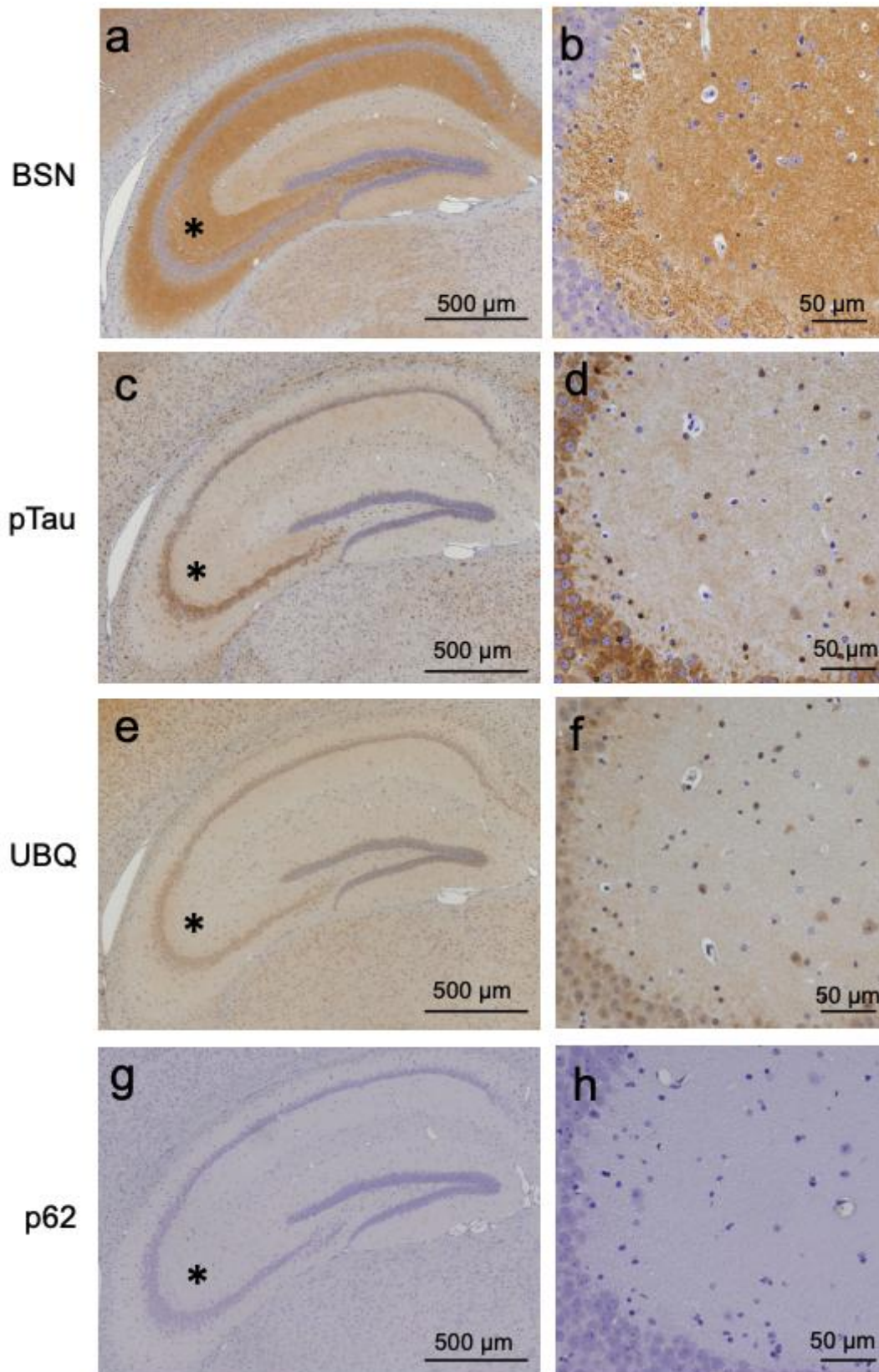


図 14. 12 か月齢の KI マウスの海馬における BSN、リン酸化タウ、ユビキチン、p62 に対する免疫染色像。

a-b: BSN 抗体を用いた染色。c-d: リン酸化タウ抗体を用いた染色。e-f: ユビキチン抗体を用いた染色。g-h: p62 抗体を用いた染色。b, d, f, h はそれぞれ、a, c, e, g の*印付近の強拡大像である。神経細胞やグリア細胞に封入体を含む病的変化を認めなかった。

pTau: phosphorylated tau、UBQ: ubiquitin。

考察

今回の研究では、ヒトの *BSN* p.P3866A に相当する *Bsn* p.P3882A 変異を有する KI マウスをモデル動物として作成し、実際にそのモデル動物での行動解析と病理解析を行った。結果、生体内での *Bsn* 変異の KI マウスにおいては 3 か月齢、12 か月齢の両方で行動異常を認め、12 か月齢では黒質、線条体のドーパミン産生神経細胞が WT マウスと比べて有意に減少し、*Bsn* p.P3882A 変異がドーパミン神経の機能に影響する可能性が示唆された。加えて、線条体における *BSN* 蛋白の染色性が増加しており、*BSN* の機能異常が生じている可能性も示唆された。

行動解析では 3 か月齢及び 12 か月齢の両方で、HCA テストの結果に有意差を認めていた。また 3 か月齢で YMZ テストの結果に有意差を認めていた。行動解析ののちに行った病理解析では、3 か月齢の KI マウスで TH の発現亢進、12 か月齢の KI マウスで *BSN* の発現亢進を認めていた。加えて、12 か月齢の KI マウスでは中脳黒質における TH 陽性ニューロンの脱落も確認された。これらの結果から、ドーパミン作動性ニューロンによる神経支配と *BSN* 蛋白の発現に関して WT マウスと KI マウスに差があることが示唆されていると考えた。

Bsn 遺伝子に関する既存のモデル動物としては、前シナプスに発現する *Bsn* 蛋白をノックアウトしたマウス (mutants lacking Bassoon solely in excitatory forebrain neurons) がてんかんモデルとして挙げられる。また *Bsn* 蛋白の大半を欠損させた同遺伝子変異マウスは 2003 年から報告されている。そのようなマウスは重度のてんかん発作を呈すること、発作には長期にわたる脳由来神経栄養因子の増強が関与すること、そしてその結果として海馬や線条体におけるシナプス機能の低下をもたらすことが報告されている (Blondiaux et al, 2023)。このようなモデル動物実験の背景と、矢部らによる先行報告 (Yabe et al, 2018) を踏まえ、Martinez らはタウオパチーの動物モデルであるヒト 4 リピータータウを過剰発現させた PS19 トランスジェニックマウスを用いて、免疫沈降により PS19 トランスジェニックマウスでタウと *Bsn* 蛋白が複合体を形成していることを示し、かつ免疫染色でも PS19 トランスジェニックマウスでタウと *Bsn* 蛋白が共局在していることを示した (Martinez et al, 2022)。同じく Martinez らは、ヒトの PSP 及び AD の患者の脳検体を健常対照と比較し、免疫沈降においてタウと *BSN* 蛋白が複合体を形成することを示し、組織染色において PSP 及び AD の患者の脳検体でタウと *BSN* 蛋白が共局在することを示した。この報告では、タウオパチーのモデル動物で *Bsn* 蛋白がタウとの複合体を形成していること、そして同様の結果がヒトの PSP 及び AD の患者の脳検体でも示されたことにより、*Bsn* 蛋白と *BSN* 蛋白がタウオパチーの病態に重要な蛋白群であることを示している。さらには、タウの拡散が *Bsn* 蛋白のノックダウ

ンによって抑制されることを示し、このことはBSN 蛋白もしくは *BSN* 遺伝子がタウオパチーの治療ターゲットとなりうる可能性を示唆している (Martinez et al, 2022)。これらの報告を踏まえ、2025 年の *The American Journal of Pathology* 誌の総論においても、BSN 蛋白がタウオパチーの治療ターゲットとなりうる可能性につき言及されている (Djurovic-Topalovic et al, 2025)。

(1) 行動解析の結果に関して

実臨床から同定した変異を用いた KI マウスの解析を行った。その結果、3 か月齢の行動解析では、KI マウスにおいて、YMZ テストでの適切な方向転換の割合が有意に低下していた。YMZ テストは空間作業記憶を評価するテストであり、この結果からは 3 か月齢における空間作業記憶の低下を示唆していると考えられる。一方で、YMZ テストの結果は 12 か月齢では有意差を認めなかった。現時点において詳細な蛋白の解析は未施行であるが、今回の行動解析の結果と病理解析結果を鑑み、KI マウスの 3 か月齢での空間作業記憶は同月齢における TH の免疫反応性の亢進が関与している可能性を考えた。なお、TH の染色性に関しては、2 種類の抗体を用いて検討を行った。既報によると、過度のドーパミンにより空間作業記憶は低下するとされる (Zahrt et al, 1997; Vijayraghavan et al, 2007)。このため、適切なドーパミン作用のバランスの欠如が空間作業記憶の維持困難に関連した可能性を考えた。

また、KI マウスは、3 か月齢、12 か月齢ともに HCA テストでの有意差を認めていた。HCA テストはマウスの自発性を評価するテストであり、KI マウスにおける若齢からの自発性低下が示唆されていると考えられる。本研究では生化学的解析を施行しておらず、免疫染色のみの評価であるという点は課題として残っているものの、前述の通りドーパミンの過度の作用による認知機能低下が一因としてある可能性を考えた。

これらの結果は、3 か月齢の KI マウスでドーパミンの適切な調節が障害されたことで認知機能障害を引き起こした可能性を示唆するものと考えた。12 か月齢の KI マウスでは、3 か月齢と同様、野生型マウスと比べて TH の免疫反応性が増強している傾向が観察されたものの、統計学的有意差には至らなかった。この点から、今後蛋白質レベルでの解析が必須であると考えている。

(2) 病理解析の結果に関して

本研究で用いた KI マウスでは、HE 染色において明瞭な構造異常の指摘には至らなかった。また、てんかん発作を生じた個体も認めなかった。KI マウスでは 3 か月齢において、野生型マウスに比べ線条体における TH の染色性が亢進していた一方で、12 か月齢では野生型マウスに比べ黒質における TH 陽性細胞の減少を認めていた。ま

た、VMAT2 の染色性も、KI マウスでは野生型マウスに比べ、3 か月齢、12 か月齢の両方で低下を認めた。

既報によると、ヒトにおいては VMAT2 の免疫反応性の低下は TH の免疫反応性低下に引き続いて起こるとされる (Kang et al, 2021)。加えて、マウスにおいても高齢の個体で VMAT2 の減少が線条体における神経脱落を引き起こし、その原因となるのが細胞質基質におけるドーパミン代謝産物の増加による酸化ストレスであると言われている (Caudle et al, 2007 ; Guillot and Miller, 2009)。このため、VMAT2 は神経保護において重要であると考えられる。BSN 蛋白は、前シナプスのアクティブゾーンでシナプス小胞を制御することが報告されており (Kaladiyil and Kukkle, 2025)、BSN 変異によりシナプス小胞におけるドーパミンの取り込み、放出が障害される可能性が考えられる。KI マウスにおける 3 か月齢と 12 か月齢の変化に関して、3 か月齢の KI マウスの TH 免疫反応性亢進は、ドーパミン放出障害によるものと思われる。その後 12 か月齢までにドーパミンの取り込み及び放出の障害による細胞内ストレスが蓄積し、神経毒性及び神経脱落が確認されたものと考えた。本研究を踏まえた上で想定される、BSN 変異がもたらす病態機序を図 15 に示す。KI マウスでは Bsn 蛋白の変異によりシナプス小胞の制御が障害され、かつ VMAT2 の発現量も低下し、シナプス小胞内へのドーパミンの取り込みが低下し、これによる細胞質内のドーパミンが過剰となり、その後ドーパミン代謝産物の増加による酸化ストレスで神経細胞の変性、機能障害に至る、という機序が想定される。この過程においてタウ蛋白の蓄積が生じることも想定されるものの、12 か月齢までのマウスでは、タウオパチーの所見を確認することができなかった。また、BSN 変異と VMAT2 の関係性についての具体的な検討も未施行であり、今後組織を用いた RNA シーケンスや空間オミクスを予定している。

また、12 か月齢の KI マウスでは野生型マウスに比べ Bsn 蛋白の発現が増加していた。これは Bsn 遺伝子変異に伴って Bsn 蛋白の機能異常が生じていることが想定される。本研究では、12 か月齢の KI マウスにおいてタウオパチーを伴わずに TH 陽性細胞の脱落を認めていた。一方で α シヌクレインの蓄積は認めなかった。ドーパミン産生ニューロンの脱落を伴う神経変性疾患のうち最も多くの研究がなされているもののひとつといえる PD においては、患者の運動症状は発症の数年ないし 20 年以上あとになってから発症すると言われている (Kalia and Lang, 2015)。運動症状を伴わない PD は診断が困難であり、そのため同疾患の初期段階の病理学的変化は未だ知られていない。ほかの神経変性疾患においても同様のことがいえる。また、BSN 遺伝子のレアバリエントが若年発症の PD におけるリスク因子であるといった報告もあり、BSN が神経変性疾患に何らかの影響を与えている可能性は高い (Andrews et al, 2023)。緒言で示したように、2022 年には北米の研究グループから、BSN 蛋白がタウ蛋白のシード化を促進し神経毒性を呈することが報告されている (Martinez et al, 2022)。この報告では、

ショウジョウバエによるモデル動物の使用以外にも、タウオパチーモデルマウスにおいて、タウの蓄積と BSN 蛋白が共局在し、タウの発現量を低下させることによってタウのシード化が改善することを示している (Martinez et al, 2022)。さらに、PSP のヒトの死後脳検体を用いて、タウ抗体で免疫沈降し BSN 抗体でブロットすることで、コントロールに比べ PSP でタウと BSN 蛋白が複合体を形成していることを示している (Martinez et al, 2022)。当教室からの過去の報告では、不死化細胞株に *Bsn* 変異遺伝子と 4 リピータウを過剰発現させることで不溶化タウの蓄積が生じることを示しており (Yabe et al, 2018)、今回の研究で用いたマウスよりも高齢のマウスであれば、タウオパチーを生じる可能性が否定できない。しかし、12 か月齢のモデルマウスではタウオパチーを認めておらず、生理的な条件下においてタウ蓄積の有意差を同定することが困難な可能性も考えられる。また、生物の寿命と細胞周期、代謝速度に必ずしも比例ないし反比例の関係があるとは限らず、タウの蓄積や神経変性をきたす前にマウスの寿命がきてしまう可能性も考えられる。一方、病初期の変化を調べる上では、過剰発現系を用いた解析よりも KI 個体を用いた解析のほうが優れており、KI 個体を用いた生理的条件下での解析を若齢マウスも含めて実施することができた点は意義があったものと考ええる。

このほか、蛋白質の凝集以外の機序が神経脱落を引き起こしている可能性も考えられる。事実、*BSN* 変異は蛋白質の凝集とは関係のない神経疾患・精神疾患とも関連することが報告されている。緒言で記載したとおり、統合失調症 (Chen et al, 2021)、多発性硬化症 (Schattling et al, 2019)、てんかん (Ye T et al, 2023) などが該当する。これらの報告から示唆されるのは、*BSN* 変異が中枢神経におけるニューロンの脆弱性と関連している可能性である。機序に関するさらなる解析には、電気生理学的解析ないし生化学的解析、そしてより長期間にわたる観察が今後必要になると考える。

近年、神経疾患と関連遺伝子解析研究は、治療ターゲットとなる蛋白の同定という側面からもさらに重要性が増すものと思われる。今後の研究は、上記のようなさらなるモデルマウス解析に加え、臨床検体を用いての新規パーキンソン症候群関連遺伝子の同定やその機能解析などへの発展が望まれ、その際には本研究によって得られた経験と知見を応用していきたいと考える。

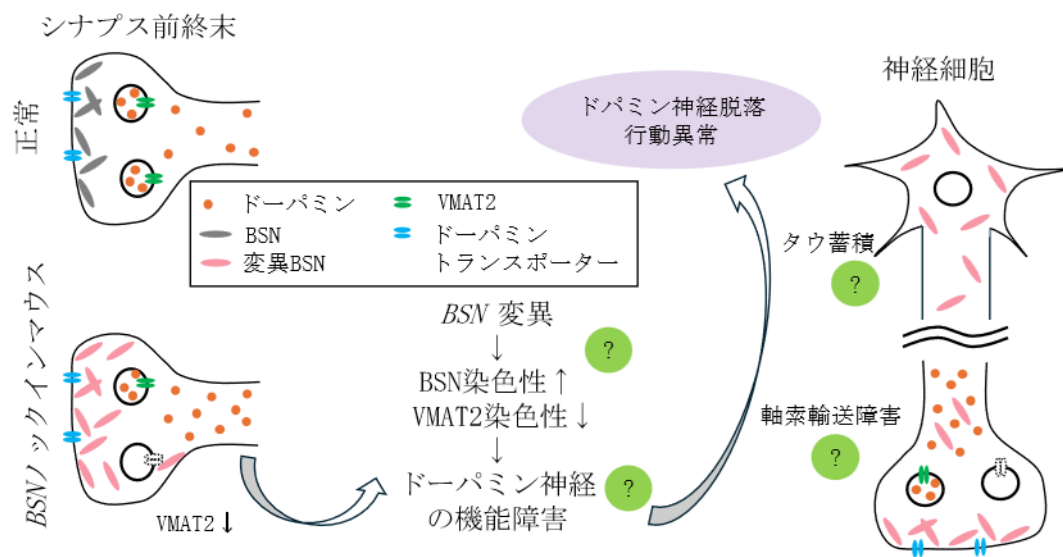


図 15. *BSN* 変異によりもたらされる病態機序の想定図。

正常例 (WT マウス) においては、シナプス前終末のアクティブゾーンに正常な *Bsn* 蛋白が発現し、ドーパミンを含んだシナプス小胞を制御している。一方、*KI* マウスにおいては、*Bsn* 蛋白の変異によりシナプス小胞の制御が障害されるのに加え、*VMAT2* の発現量が低下し、シナプス小胞内へのドーパミンの取り込みが低下する。これにより細胞質内のドーパミンが過剰となり、その後ドーパミン代謝産物の増加による酸化ストレスで神経細胞の変性、機能障害に至る。以上が、本研究から想定される病態機序である。この過程においてタウ蓄積も生じると思われるが、12 か月齢までのマウスではその具体的な確認ができていない。

結論

当教室で同定したヒトの *BSN* p.P3866A 変異に相当する、*Bsn* p.P3882A 変異を有する KI マウスを作成した。そして 3 か月齢及び 12 か月齢での行動解析、病理組織学的解析を行い、WT マウスと比較した結果、以下の知見を得た。

- ・ 行動解析
 - ・ 3 か月齢において、HCA テストにおけるマウスの回転かごを回転させた回数が KI マウスにおいて有意に低下していた。また同月齢において、YMZ テストにおける適切な方向転換を行った回数が、KI マウスにおいて有意に低下していた。OFT、RRT、NORT の結果は、有意差を認めなかった。
 - ・ 12 か月齢において、HCA テストにおけるマウスの回転かごを回転させた回数は、KI マウスにおいて WT マウスよりも有意に低下していた。OFT、RRT、YMZ、NORT の結果は、有意差を認めなかった。
- ・ 病理組織学的解析
 - ・ 3 か月齢において、KI マウスの線条体における TH の免疫反応性が WT マウスのそれより強く、定量解析でも有意差を認め、発現亢進が示唆された。一方で KI マウスの線条体における VMAT2 の免疫反応性は、WT マウスのそれより弱く、発現低下が示唆された。HE 染色における KI マウスの脳の構造上の異常は確認されず、またリン酸化タウ、シナプトフィジン、 α シヌクレイン、ユビキチン、p62 における、KI、WT マウス間の免疫反応性の違いは認めず、TH 陽性ニューロン数にも有意差を認めなかった。
 - ・ 12 か月齢において、KI マウス的大脑皮質、線条体、及び海馬における *BSN* の免疫反応性が WT マウスのそれより強く、定量解析においても有意差が確認され、発現亢進が示唆された。KI マウスの中脳黒質における TH 陽性ニューロン数は有意に少なかった。VMAT2 の免疫反応性は、KI マウスにおいて WT マウスより弱かった。HE 染色における KI マウスの脳の構造上の異常は確認されず、またリン酸化タウ抗体、シナプトフィジン抗体、 α シヌクレイン抗体、TH における、KI、WT マウス間の免疫反応性の違いは認めなかった。

現時点の研究において、*BSN* 遺伝子の変異が引き起こす病態生理をすべて解明できているわけではないが、本研究におけるモデルマウスの作成、行動及び組織の解析は、今後の *BSN* 変異に関連した研究の第一段階であると考ええる。

問題点としては、12 か月齢までしか追跡できていないことが挙げられる。マウスの平均寿命はおよそ2 年程度と言われている。ヒトの神経変性疾患も高齢で発症することが多く、12 か月齢以降の病態についても今後追跡していく必要があるものと考えられる。過去に矢部らが同定した *BSN* 変異を有する症例で確認されていたタウオパチーについても、本研究では明らかとなっていなかった。中脳黒質のドーパミン産生ニューロンの減少は12 か月齢の時点で確認されており、タウオパチーとの関連についてより高齢のマウスでの検討が必要である。

また、TH、*BSN*、リン酸化タウを含む蛋白の発現の評価は脳組織の染色でしか評価しておらず、免疫ブロット法などを用いた生化学的解析は未試行である。この点についても今後の課題であると考えられ、引き続きの研究が必要であると考えられる。

本研究のまとめとして、現在の研究では、*BSN* 遺伝子もしくは *BSN* 蛋白とタウオパチーの直接的な変化は *KI* マウスで示すことができなかった。今後はさらに、*BSN* 遺伝子とタウオパチーの関係を、直接的な要因と神経疾患の増悪因子という双方の立場から検討を行う必要がある。

謝辞

本論文を終えるにあたり、研究の機会を与えていただき、ご指導・ご鞭撻をいただきました北海道大学大学院医学研究院神経病態学分野神経内科学教室教授 矢部一郎先生、同准教授 矢口裕章先生に深謝いたします。また、本研究を実施するにあたり、マウスの行動解析および病理解析において多大なご協力を賜りました、山梨大学医学部解剖学講座システム生物学教室 吉崎嘉一先生、弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座 三木康生先生、同 森文秋先生、同 若林孝一先生、横浜市立大学大学院医学研究科分子生物学教室 高橋秀尚先生、早稲田大学人間科学学術院食品生命科学研究室 原太一先生に深謝申し上げます。

利益相反

開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Agrawal M and Biswas A (2015) Molecular diagnostics of neurodegenerative disorders. *Front Mol Biosci* 2, 54.

Andrews SV, Kukkle PL, Menon R, Geetha TS, Goyal V, Kandadai RM, Kumar H, Borgohain R, Mukherjee A, Wadia PM, et al (2023) The genetic drivers of juvenile, young, and early-onset Parkinson's disease in India. *Mov Disord* 39, 339–349.

Bellenguez C, Küçükali F, Jansen IE, Kleindan L, Moreno-Grau S, Amin N, Naj AC, Campos-Martin R, Grenier-Boley B, Andrade V, et al (2022) New insights into the genetic etiology of Alzheimer's disease and related dementias. *Nat Genet* 54, 412–436.

Blondiaux A, Jia S, Annamneedi A, Çalışkan G, Nebel J, Montenegro-Venegas C, Wykes RC, Fejtova A, Walker MC, Stork O, et al (2023) Linking epileptic phenotypes and neural extracellular matrix remodeling signatures in mouse models of epilepsy. *Neurobiol Dis* 188, 106324.

Borghammer P, Okkels N and Weintraub D (2024) Jellinger K, "Parkinson's Disease and Dementia with Lewy Bodies: One and the Same". *J Parkinsons Dis* 14, 1073–1074.

Bourinaris T and Houlden H (2018) C9orf72 and its relevance in parkinsonism and movement disorders: a comprehensive review of the literature. *Mov Disord Clin Pract* 5, 575–585.

Caroppo P, Le Ber I, Clot F, Rivaud-Péchoix S, Camuzat A, De Septenville A, Boutoleau-Bretonnière C, Murlon V, Sauvé M, Lebouvier T, et al (2014) DCTN1 mutation analysis in families with progressive supranuclear palsy-like phenotypes. *JAMA Neurol* 71, 208–215.

Caudle WM, Richardson JR, Wang MZ, Taylor TN, Guillot TS, McCormack AL, Colebrooke RE, Di Monte DA, Emson PC and Miller GW (2007) Reduced vesicular storage of dopamine causes progressive nigrostriatal neurodegeneration. *J Neurosci* 27, 8138–8148.

Chen CH, Huang YS, Liao DL, Huang CY, Lin CH and Fang TH (2021) Identification of rare mutations of two presynaptic cytomatrix genes BSN and PCLO in schizophrenia and bipolar disorder. *J Pers Med* 11, 1057.

Constantinides VC, Paraskevas GP, Paraskevas PG, Stefanis L and Kapaki E (2019) Corticobasal degeneration and corticobasal syndrome: a review. *Clin Park Relat Disord* 1, 66–71.

Deng B, Zheng Z, Zheng J, Yang W, Huang Y, Luo Y, Jin D, Shen L, Jin K and Wang Q (2021) FTD-PSP is an unusual clinical phenotype in a frontotemporal dementia patient with a novel progranulin mutation. *Aging Dis* 12, 1741–1752.

Djurovic-Topalovic A, Horgan NG and Fortin JS (2025) Updates on tau-related drug targets and potential disease-modifying therapies for Alzheimer's disease. *Am J Pathol*, Published online June 19, 2025.

Goh YY, Saunders E, Pavey S, Rushton E, Quinn N, Houlden H and Chelban V (2023) Multiple system atrophy. *Pract Neurol* 23, 208–221.

Gomperts SN (2016) Lewy body dementias: dementia with Lewy bodies and Parkinson disease dementia. *Continuum (Minneap Minn)* 22, 435–463.

Guillot TS and Miller GW (2009) Protective actions of the vesicular monoamine transporter 2 (VMAT2) in monoaminergic neurons. *Mol Neurobiol* 39, 149–170.

Guzman SG, Ruggiero SM, Ganesan S, Ellis CA, Harrison AG, Sullivan KR, Stark Z, Brown NJ, Kana SL, Tuttle A, et al (2025) Variants in BSN, encoding the presynaptic protein Bassoon, result in a distinct neurodevelopmental disorder with a broad phenotypic range. *Am J Hum Genet* 112, 1415–1429.

Ham SJ, Lee D, Xu WJ, Cho E, Choi S, Min S, Park S and Chung J (2021) Loss of UCHL1 rescues the defects related to Parkinson's disease by suppressing glycolysis. *Sci Adv* 7, eabg4574.

Hashida H, Goto J, Zhao N, Takahashi N, Hirai M, Kanazawa I and Sakaki Y (1998) Cloning and mapping of ZNF231, a novel brain-specific gene encoding neuronal double zinc finger protein whose expression is enhanced in a neurodegenerative disorder, multiple system atrophy (MSA). *Genomics* 54, 50–58.

Higgins JJ, Litvan I, Pho LT, Li W and Nee LE (1998) Progressive supranuclear gaze palsy is in

linkage disequilibrium with the tau and not the alpha-synuclein gene. *Neurology* 50, 270–273.

Hoffmann-Conaway S, Brockmann MM, Schneider K, Annamneedi A, Rahman KA, Bruns C, Textoris-Taube K, Trimbuch T, Smalla KH, Rosenmund C, et al (2020) Parkin contributes to synaptic vesicle autophagy in Bassoon-deficient mice. *Elife* 9, e56590.

Höglinger GU, Respondek G, Stamelou M, Kurz C, Josephs KA, Lang AE, Mollenhauer B, Müller U, Nilsson C, Whitwell JL, et al (2017) Clinical diagnosis of progressive supranuclear palsy: the movement disorder society criteria. *Mov Disord* 32, 853–864.

Huang TT, Smith R, Bacos K, Song DY, Faull RM, Waldvogel HJ and Li JY (2020) No symphony without bassoon and piccolo: changes in synaptic active zone proteins in Huntington's disease. *Acta Neuropathol Commun* 8, 77.

Ikenaga C, Findlay AR, Seiffert M, Peck A, Peck N, Johnson NE, Statland JM and Weihl CC (2020) Phenotypic diversity in an international Cure VCP Disease registry. *Orphanet J Rare Dis* 15, 267.

Isaacs AM, Johannsen P, Holm I, Nielsen JE and FReJA consortium (2011) Frontotemporal dementia caused by CHMP2B mutations. *Curr Alzheimer Res* 8, 246–251.

Ivanova D, Dirks A and Fejtova A (2016) Bassoon and piccolo regulate ubiquitination and link presynaptic molecular dynamics with activity-regulated gene expression. *J Physiol* 594, 5441–5448.

Kaladiyil AP and Kukkle PL (2025) Bassoon, presynaptic scaffolding protein: narrative review in health and disease. *Eur J Neurosci* 61, e70066.

Kalia LV and Lang AE (2015) Parkinson's disease. *Lancet* 386, 896–912.

Kaneko T and Mashimo T (2015) Creating knockout and knockin rodents using engineered endonucleases via direct embryo injection. *Methods Mol Biol* 1239, 307–315.

Kang SS, Ahn EH, Liu X, Bryson M, Miller GW, Weinshenker D and Ye K (2021) ApoE4 inhibition of VMAT2 in the locus coeruleus exacerbates tau pathology in Alzheimer's disease.

Acta Neuropathol 142, 139–158.

Klockgether T (2004) Parkinson's disease: clinical aspects. Cell Tissue Res 318, 115–120.

Kobylecki C, Jones M, Thompson JC, Richardson AM, Neary D, Mann DM, Snowden JS and Gerhard A (2015) Cognitive-behavioural features of progressive supranuclear palsy syndrome overlap with frontotemporal dementia. J Neurol 262, 916–922.

Lesage S, Le Ber I, Condroyer C, Broussolle E, Gabelle A, Thobois S, Pasquier F, Mondon K, Dion PA, Rochefort D, et al (2013) C9orf72 repeat expansions are a rare genetic cause of parkinsonism. Brain 136, 385–391.

Lo RY (2021) Epidemiology of atypical parkinsonian syndromes. Tzu Chi Med J 34, 169–181.

Martinez P, Patel H, You Yanwen, Jury N, Perkins A, Lee-Gosselin A, Taylor X, You Yingjian, Viana Di Prisco G, Huang X, et al (2022) Bassoon contributes to tau-seed propagation and neurotoxicity. Nat Neurosci 25, 1597–1607.

Mizuno Y (2020) More than 20 years of the discovery of Park2. Neurosci Res 159, 3–8.

Montenegro-Venegas C, Annamneedi A, Hoffmann-Conaway S, Gundelfinger ED and Garner CC (2020) BSN (bassoon) and PRKN/parkin in concert control presynaptic vesicle autophagy. Autophagy 16, 1732–1733.

Montenegro-Venegas C, Fienko S, Anni D, Pina-Fernández E, Frischknecht R and Fejtova A (2021) Bassoon inhibits proteasome activity via interaction with PSMB4. Cell Mol Life Sci 78, 1545–1563.

Neumann M, Rademakers R, Roeber S, Baker M, Kretschmar HA and Mackenzie IR (2009) A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. Brain 132, 2922–2931.

Okerlund ND, Schneider K, Leal-Ortiz S, Montenegro-Venegas C, Kim SA, Garner LC, Waites CL, Gundelfinger ED, Reimer RJ and Garner CC (2017) Bassoon controls presynaptic autophagy through Atg5. Neuron 93, 897–913.e7.

Repici M and Giorgini F (2019) DJ-1 in Parkinson's disease: clinical insights and therapeutic perspectives. *J Clin Med* 8, 1377.

Ressler HW, Humphrey J, Vialle RA, Babrowicz B, Kandoi S, Raj T, Dickson DW, Ertekin-Taner N, Crary JF and Farrell K (2024) MAPT haplotype-associated transcriptomic changes in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol Commun* 12, 135.

Révész T, Lees AJ and Morris RH (2024) Corticobasal degeneration: an update. *Ideggyogy Sz* 77, 379–394.

Rifino N, Baratta S, Zacarias E, Canavero I, Storti B, Stanziano M, Maderna E, Marucci G, Taroni F and Bersano A (2025) Novel NOTCH3 mutation c.1564 T > A (p.Cys522Ser) presenting with early-onset Parkinsonism and white matter lesions. *Clin Park Relat Disord* 12, 100297.

Rowe JB, Holland N and Rittman T (2021) Progressive supranuclear palsy: diagnosis and management. *Pract Neurol* 21, 376–383.

Rui Q, Ni H, Li D, Gao R and Chen G (2018) The role of LRRK2 in neurodegeneration of Parkinson disease. *Curr Neuropharmacol* 16, 1348–1357.

Schattling B, Engler JB, Volkmann C, Rothhammer N, Woo MS, Petersen M, Winkler I, Kaufmann M, Rosenkranz SC, Fejtova A, et al (2019) Bassoon proteinopathy drives neurodegeneration in multiple sclerosis. *Nat Neurosci* 22, 887–896.

Stamelou M, Quinn NP and Bhatia KP (2013) "Atypical" atypical parkinsonism: new genetic conditions presenting with features of progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration, or multiple system atrophy—a diagnostic guide. *Mov Disord* 28, 1184–1199.

Tanaka MT, Tanji K, Miki Y, Ozaki T, Mori F, Hayashi H, Kakita A and Wakabayashi K (2022) Phosphorylation of tau at threonine 231 in patients with multiple system atrophy and in a mouse model. *J Neuropathol Exp Neurol* 81, 920–930.

Tiloca C, Goldwurm S, Calcagno N, Verde F, Peverelli S, Calini D, Zecchinelli AL, Sangalli D, Ratti A, Pezzoli G, et al (2022) TARDBP mutations in a cohort of Italian patients with Parkinson's disease and atypical parkinsonisms. *Front Aging Neurosci* 14, 1020948.

Tolosa E, Wenning G and Poewe W (2006) The diagnosis of Parkinson's disease. *Lancet Neurol* 5, 75–86.

Vijayraghavan S, Wang M, Birnbaum SG, Williams GV and Arnsten AF (2007) Inverted-U dopamine D1 receptor actions on prefrontal neurons engaged in working memory. *Nat Neurosci* 10, 376–384.

Vizziello M, Borellini L, Franco G and Ardolino G (2021) Disruption of mitochondrial homeostasis: the role of PINK1 in Parkinson's disease. *Cells* 10, 3022.

Williams DR and Lees AJ (2009) Progressive supranuclear palsy: clinicopathological concepts and diagnostic challenges. *Lancet Neurol* 8, 270–279.

Yabe I, Tanino M, Yaguchi H, Takiyama A, Cai H, Kanno H, Takahashi I, Hayashi YK, Watanabe M, Takahashi H, et al (2014) Pathology of frontotemporal dementia with limb girdle muscular dystrophy caused by a DNAJB6 mutation. *Clin Neurol Neurosurg* 127, 10–12.

Yabe I, Yaguchi H, Kato Y, Miki Y, Takahashi H, Tanikawa S, Shirai S, Takahashi I, Kimura M, Hama Y, et al (2018) Mutations in bassoon in individuals with familial and sporadic progressive supranuclear palsy-like syndrome. *Sci Rep* 8, 819.

Ye H, Robak LA, Yu M, Cykowski M and Shulman JM (2023) Genetics and pathogenesis of Parkinson's syndrome. *Annu Rev Pathol* 18, 95–121.

Ye T, Zhang J, Wang J, Lan S, Zeng T, Wang H, He X, Li BM, Deng W, Liao WP, et al (2023) Variants in BSN gene associated with epilepsy with favourable outcome. *J Med Genet* 60, 776–783.

Yoshida M, Akagi A, Miyahara H, Riku Y, Ando T, Ikeda T, Yabata H, Moriyoshi H, Koizumi R and Iwasaki Y (2022) Macroscopic diagnostic clue for parkinsonism. *Neuropathology* 42, 394–419.

Yoshizaki K, Asai M and Hara T (2020) High-fat diet enhances working memory in the Y-maze test in male C57BL/6J mice with less anxiety in the elevated plus maze test. *Nutrients* 12, 2036.

Yousaf A, Yousaf S, Shabbir AS, Yousaf R, Riazuddin S, Shaikh RS, Santos-Cortez RLP and Ahmed ZM (2024) Identification of rare missense variants in the BSN gene co-segregating with chronic otitis media in a consanguineous Pakistani family. *Mol Genet Genomic Med* 12, e2478.

Zahrt J, Taylor JR, Mathew RG and Arnsten AF (1997) Supranormal stimulation of D1 dopamine receptors in the rodent prefrontal cortex impairs spatial working memory performance. *J Neurosci* 17, 8528–8535.

尾崎浩一, 新飯田俊平 (2019) アルツハイマー病の遺伝的背景-GWAS から何がわかったか. *BRAIN and NERVE* 71, 1039–1051.

進行性核上性麻痺 (PSP) 診療ガイドライン 2020 作成委員会 (2020) 進行性核上性麻痺 (PSP) 診療ガイドライン. *神経治療学* 37, 435–493.

認知症に関する APOE 遺伝学的検査の適正使用ガイドライン作成委員会 (2025) 認知症に関する APOE 遺伝学的検査の適正使用ガイドライン. In 厚生労働省, <https://www.mhlw.go.jp/content/apoeguideline2025.pdf> (2025 年 10 月 19 日参照)