

厚生科学研究研究費補助金

脳科学研究事業

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究  
平成12年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高 嶋 幸 男

平成13年4月

## 目 次

### 総括研究報告書

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究	高嶋 幸男	1
分担研究報告書		
1. 当院における剖検脳組織の保存の現状と課題	卷淵 隆夫	10
2. 人の脳組織を用いたてんかん脳に関する研究ーてんかん 原性病変としての Focal Cortical Dysplasia の形態および 組織化学的検索ー1. 難治部分てんかんの手術摘出標本に おける結節性硬化症遺伝子蛋白 tuberin 発現に関する検討	松田 一巳	11
3. ALS および免疫性神経疾患における髄液中 3-nitrotyrosine の検討	吉野 英	15
4. 精神分裂病ロボトミー脳にみられた老年性変化(1)	織田 辰郎	17
5. レビー小体を伴う痴呆およびアルツハイマー病の臨床病 理学的検討	樋口 進	18
6. 長期経過のパーキンソン病にみられる神経病理学的特徴	加知 輝彦	24
7. 進行性核上性麻痺における脊髄病変の検討に関する研究	饗場 郁子	26
8. 精神分裂病死後脳におけるシナプス蛋白に関する研究	杠 岳文	28
9. 筋萎縮性側索硬化症における Cu,Zn-SOD 遺伝子変異の 研究	井原 雄悦	29
10. 生検・剖検バンクの倫理的問題の研究	後藤 雄一	33
11. 生検神経筋バンクの総括に関する研究	埜中 征哉	36
12. らい性末梢神経障害における神経周膜の形態学的検討	橋本 和季	38

13. 重症型 Keams-Sayre 症候群の進行における変異ミトコン ドリア DNA の推移—Quantitative competitive PCR による 解析—	石川 幸辰……………	39
14. 国立 Research Resource Bank (Brain Bank)の整備とそのネ ットワークを利用した神経・筋疾患の臨床研究の推進	木村 格……………	40
15. 筋ジストロフィー遺伝子に関する研究	石原 傳幸……………	41
16. Marinesco-Shögren 症候群の長期フォロー中に繰り返し 施行した筋生検組織像の変化に関する研究	宮内 潤……………	42
17. 部分発作重積で発症し、遺伝子解析にて複合ヘテロ変 異 (R370W/T409I) を認めた成人型異染性白質ジス トロフィーの1剖検例	齋田 孝彦……………	46
18. 精神・神経・筋疾患の研究資源の活用に関する研究	高橋 桂一……………	50
19. 神経・筋疾患リサーチ・リソース・ネットワーク (RRN) の運用上の問題と今後の課題	渋谷 統寿……………	51
20. 先天性アセチルコリンエステラーゼ欠損症 (AChE 欠損症)	渋谷 統寿……………	52
21. 眼咽頭筋ジストロフィー (OPMD) における DNA 傷害 の検出および病態への関与について	岩崎 祐三……………	53
22. RRN 資源の活用を目的とした診療情報データベース構 築に関する研究	本吉 慶史……………	55
23. 特発性炎症性筋疾患の診断における筋生検の役割	川井 充……………	56
24. 精神疾患 DNA バンク設立の意義と問題点についての検討	樋口 輝彦……………	58

25. 精神疾患 DNA バンク設立に関する研究：参加施設の課題とセンター機能へ期待	齋藤 治……………	61
26. 精神分裂病の発症脆弱性に関連する遺伝子関連研究：精神疾患 DNA バンク設立の意義と問題点についての検討	稲田 俊也……………	64
27. 重症心身障害者の病因について分子遺伝学的研究	澁谷 治男……………	67
28. ゲノム解析による精神分裂病の関連遺伝子の解明	有波 忠雄……………	68
29. 日本人における精神分裂病の連鎖研究（JSSLG の一部として）－第 9,14,22,X,Y 染色体について－	辻田 高宏……………	70
30. 精神疾患 DNA バンクに関する研究	吉川 武男……………	72
31. 精神分裂病の関連遺伝子の検索による病因解明	丹羽 真一……………	75
32. 精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究	新野 秀人……………	76
33. 双極性感情障害発症脆弱性関連遺伝子についての研究	三國 雅彦……………	78
34. 双極性障害の連鎖領域 21q22.3 における候補遺伝子の探索	神庭 重信……………	82

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
（総括）研究報告書

精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究

主任研究者 高嶋幸男 国立精神・神経センター神経研究所長

研究要旨：精神・神経・筋疾患のリサーチ・リソース・ネットワーク（RRN）による研究は生検神経筋組織ネットワーク、剖検脳組織ネットワークおよび精神疾患検体ネットワークから構成される。精神・神経・筋疾患の研究には、ヒトから得られた研究試料が必要不可欠であるので、患者又は代諾者から承諾を得て、剖検、生検および検体検査で採取された脳や神経筋組織を直ちに急速凍結し、超低温に保存し、また検体を保存し、難病の病態と治療の基礎的研究に有効利用する。ヒト検体はポストゲノムの疾病の病態研究を推進するために極めて重要な研究資源である。

1) 剖検及び手術脳組織は遺族代表者又は患者から診断と病因追求のために保存する承諾を得て、同施設に保存し、施設間のコンピューターネットワークで、データベース化し、900例以上の登録を得たので、今後、試料の精度を向上させつつ拡大する必要がある。その際のインフォームドコンセント等の倫理的な問題に関して、研究使用を含む承諾書、そのガイドラインを作製したが、更に遺伝子解析研究を含む承諾書を、本年5月にでた「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」に沿って新たに作成した。剖検試料を国立精神・神経センターへの移動し収集する試料の共有を、死体解剖保存法を配慮しつつ、検討した。試料をセンター保存することは迅速な共同研究推進に必要ではあるが、法的な縛りがあり、法の解釈又は改正などの検討が必要である。試料の収集は必要であるので、遺族からの承諾はいただいて剖検施設に保存し、匿名化してプライバシーを厳守し、昨年度までと同様に、情報の共有を行う。その試料を利用して、遺伝子診断のみならず、蛋白発現による病態解明等、多くの研究が進んでおり、精神・神経・筋疾患の予防と治療法に関する共同研究を行う。ポストゲノムの時期には、ヒトの組織は益々重要となる。

2) 生検組織ネットワークでも、診断と研究に関する承諾を得た試料の保存情報を1100例以上登録したので、更に蓄積を増やし、共同研究者が広く利用できるシステムとする。試料の管理を行いつつ、ネットワークを充実させ、共同研究を支援し発展させる。平成12年度には、15研究課題に対し合計157検体が供与された。研究結果は現在5つの一流国際誌に投稿され、Danon病の病因解明はNatureに掲載された。生検組織のRRNの意義は大きく、事業化を目指す。

3) 精神疾患検体ネットワークを作り、インフォームドコンセント等の倫理面を配慮した承諾書とそのガイドラインを作製し、検体を収集し、精神疾患の分子生物学的、遺伝生化学的な研究を進展させる。精神分裂病および気分障害（躁うつ病）の病因、病態を解明し、有効な治療法・予防法を開発することは患者、家族、精神医療従事者の切なる願いである。近年、ヒトゲノム解析が進展するにつれ、精神疾患の病因遺伝子解明に向けての努力が世界的に行われており、全ゲノムを対象とした連鎖解析が欧米から報告されている。しかし、精神疾患は遺伝的に複雑な疾患であり、遺伝的異質性の存在が予測されるため、人種差、民族差も考慮した連鎖遺伝子座の同定が必要と考えられる。そこで、日本人における精神分裂病および気分障害を対象としたDNA標本を集積し、罹患同胞対法による連鎖解析に参加する研究者が広く利用できる検体収集ネットワークを確立する。

## 分担研究者

### 1) 脳組織ネットワーク

高嶋幸男	国立精神・神経センター神経研究所	所長
巻淵隆夫	国療犀潟病院臨床研究部	部長
松田一己	国療静岡東病院第二脳神経外科	医長
吉野 英	国立精神・神経センター国府台病院 神経内科	医長
織田辰郎	国立下総療養所研究検査科	科長
樋口 進	国療久里浜病院	部長
加知輝彦	国療中部病院神経内科	医長
饗場郁子	国療東名古屋病院神経内科	医長
杠 岳文	国立肥前療養所神経科	医長
井原雄悦	国療南岡山病院神経内科	医長
後藤雄一	国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第2部	部長

### 2) 生検神経筋ネットワーク

埜中征哉	国立精神・神経センター武蔵病院	院長
橋本和季	国療道北病院神経内科	医長
石川幸辰	国療八雲病院	副院長
木村 格	国療山形病院	院長
石原傳幸	国療東埼玉病院	副院長
宮内 潤	国立小児病院研究検査科	科長
斉田孝彦	国療宇多野病院	院長
高橋桂一	国療兵庫中央病院	院長
渋谷統壽	国療川棚病院	院長
岩崎祐三	国療宮城病院	院長
本吉慶史	国療下志津病院神経内科	医長
川井 充	国立精神・神経センター武蔵病院 神経内科	部長

### 3) 精神疾患検体ネットワーク

樋口輝彦	国立精神・神経センター国府台病院	院長
斉藤 治	国立精神・神経センター武蔵病院 第一病棟部	部長
稲田俊也	国立精神・神経センター精神保健研 究所老人精神保健部	室長
渋谷治男	国立療養所南花巻病院	院長
有波忠雄	筑波大学基礎医学系遺伝科	助教授
辻田高宏	長崎大学精神科	講師
吉川武男	理化学研究所脳科学総合 研究センター	チームリーダー
丹羽真一	福島県立医科大学精神科	教授
新野秀人	国立呉病院精神科	医長
三国雅彦	群馬大学精神科	教授
神庭重信	山梨医科大学精神科	教授

## A. 研究目的

急速に進歩しつつある基礎的な遺伝子・分子生物学的研究からヒトの精神・神経疾患の研究への発展・促進の際に、ヒトの剖検脳組織、手術切除脳組織及び生検神経筋組織等は必要不可欠であるが、剖検・生検例に限られ、症例が分散しているため、「精神神経疾患の分子生物学的および分子遺伝学的」研究のヒトでの実施に非常な困難が生じている。そこで、複数の施設において剖検脳や手術脳及び生検組織等の入手、保管、相互利用等を図り、更に精神疾患のDNA保存と利用を行って、各種精神・神経疾患の発生機序と治療法に関する研究を行い、「脳を守る」疾病研究の大幅な進歩を図るものである。凍結組織の確保は研究基盤として不可欠であり、継続的に行い、システム化する必要がある。本リサーチリソースネットワークを継続することによって、年々試料は蓄積され、研究に用いられ、国立病院、療養所の活性化のみならず、難病の病態解明に役立つ。

神経・筋疾患の病態解明には患者からの凍結組織は不可欠である。凍結標本からはDNA分離、生化学的分析、免疫組織化学的アプローチが出来る。凍結保存してあれば過去の例にも診断が可能であるし、新しい病気の発見にもつながる。神経・筋疾患領域への研究に対する効果ははかりしれない。

日本人の精神分裂病、気分障害の病因としてかかわっている遺伝子を検出し、その遺伝子の相対的重要性を正確に評価することを目的とした研究組織がすでに活動を開始している(Japanese Schizophrenia Sib-pair Linkage Group; jsslg)。この研究により、両疾患の遺伝子あるいは遺伝子座が明らかになれば、両疾患の根治的治療法、さらには予防法の開発につながる事が期待され、精神疾患の克服に大きな一歩を踏み出すことになる。これらの研究を促進するためには大規模RRNシステムの確立と共同研究が必要である。このシステムの目標は罹患同胞対の400家系以上、また患者と両親を含む家系を同じく400家系以上の標本を集結することである。

## B. 研究方法

従来の生検組織グループと剖検脳組織グループは合同して研究する。また、精神疾

患の検体保存グループは大学病院を含めて症例を集積し、共同研究を行う。主任、分担および協力研究者が所属する施設において、それぞれ「脳を守る」ための研究に必要な剖検脳、手術組織、生検筋や検体等々を新承諾書で積極的に入手して各施設で保存し、これらを情報の共有として管理・活用し、精神・神経疾患の発生機序と治療法に関する研究を行う。この研究において倫理面の配慮は最も重要であり、匿名化して保存する。

### 1. 脳組織ネットワーク

①省庁の新指針に基づいて、診断使用に加えて、遺伝子解析を含む研究利用の承諾書を更新作製し倫理委員会(国立精神・神経センター)へ申請する。RRN登録、共同利用に関する承諾書を作成し、倫理委員会へ申請する。②当センターへの試料を収集する方策を探る。死体解剖保存法の解釈や改正などを含めて検討する。③コンピューターネットワークを用いた診断用画像の送信の整備等の診断サービス法を検討する。サーバー容量を向上させる必要がある。④神経病理診断や急速凍結等の試料精度を向上させつつ症例の収集を継続する。⑤個別研究でも多数の共同研究が進行中である。神経病理学的、生化学的及び遺伝学的診断を行い、精度の高い試料の継続的補充と管理を行う。利用価値の高い試料を集積し、分子生物学的、分子病理学的研究に有効活用する。

### 2. 生検組織ネットワーク

筋生検等生体資料で組織学的、免疫組織学的、分子遺伝学的に診断し、保存し、それをHOSPnetのRRNに登録する。研究参加施設は神経・筋政策医療ネットワークの基幹病院や診断可能な専門病院も加える。登録状況、その公開は政策医療ネットワークのホームページを通して行い、研究者に供与する。倫理面はすでにインフォームドコンセントの書式が整っているため、それを利用し、倫理面をパスした例についてのみ保管、供与する。

### 3. 精神疾患の検体ネットワーク

平成12年度においてDNAバンクシステム化の準備がほぼ完了したので、平成13年度は以下のように計画を実行する。1)倫理委員会での承認がなされた施設から患者・家族へのインフォームド・コンセントを実施し、同意が得られた段階でサンプル

の収集を行う。2) DNA バンク中央センター(精神・神経センターを予定)を開発しDNA および株化したリンパ球の保管、管理を行う。3) 臨床心理士のDIGS 使用トレーニングを引き続き行う。4) すでに各施設において集積された精神分裂病家系のDNA サンプルについてはバンクへの提供が承認されているものについては非連結匿名化した上で、施設の研究者の了承が得られる場合については中央センターで管理する。

#### (倫理面への配慮)

診断、検体保存と研究利用に関するインフォームドコンセント書式とガイドラインを完成させ、倫理委員会で審議する。さらに、研究面への供与に関しても個人の非特定化などに留意した倫理規定を作製した。遺伝子解析等について、倫理委員会で十分検討して承諾書を作成し、各施設の倫理委員会で、承認を受ける。

#### C. 研究結果

平成9年度より厚生科学研究費で、生検班と剖検班の国立病院・療養所が合同して、RRNの基盤を作り、1) 組織の迅速凍結と凍結保存の方法の確立、2) 研究保存のインフォームドコンセントを考慮した承諾書等の作成、3) HOSPnetを利用したコンピューターネットワークの構築、4) ネットワークシステムの運用規定の作成、5) 保存組織の利用規約の作成を行い、ガイドラインを作成した。6) この試料を活用して、剖検班と生検班で、30件以上の研究が進行あるいは完結し、国際誌に次々と発表されてきた。特に本邦における肢体型筋ジストロフィーの研究や稀少疾患の原因遺伝子発見等の大きな進歩は本研究によるところが大きい。

精神分裂病の共同研究が平成12年度から参加したが、この研究は既に平成9年に開始されており、現在サンプルの収集が継続され、連鎖解析する全ゲノムの施設分担も決まり、一部、解析も始まった。

【精神・神経・筋疾患RRNの更新と問題点】

研究資源として、生検及び剖検組織を扱うにあたっては、1) 医療行為としての診断後の検体保存及びその診断使用や研究使用に対するインフォームド・コンセントなどの倫理

問題、2) 試料保存及び個人情報管理に対する法律的問題、及び3) ネットワーク構築と研究の推進に関わる問題の、少なくとも3点からの問題解決が必要であることが分かった。

平成12年度には、生検及び剖検組織ネットワークでは、①インフォームドコンセントを配慮した倫理面の更新を行った。省庁の新指針に基づいて、診断使用に加えて、遺伝子解析を含む研究利用の承諾書を作製し倫理委員会(国立精神・神経センター)へ申請した。委員会の意見に従い修正中である。更に、研究使用については保存及びその使用目的に沿った承諾書とガイドラインを作成し倫理委員会へ追加申請する。また、遺伝子解析研究へ利用する際には、各施設の倫理委員会へ諮る必要がある。②試料の共有のために、当センターへの収集保存を検討したが、死体解剖保存法上で縛りがあることが分かった。そのために、試料を国立精神・神経センターや分担研究施設へ集めることはできないが、連結可能匿名化した試料を剖検施設に保存し、情報を共有することを継続することは可能であり、且つリサーチ・リソースとしては重要であるので、情報の共有を継続することとした。ナショナルセンターへの研究試料の保存は神経難病の迅速な研究遂行上、必要であり、死体解剖保存法第17条の解釈や改正を含めて検討することが極めて重要である。ナショナルセンターとしての機能の明確化が必要である。③コンピューターネットワークに画像の転送を加えて、診断サービスすることを試みた。画像や組織写真の転送にはサーバー容量を増大させる必要がある。一方、本年10月に「個人情報保護基本法に関する大綱案」が示されており、これに沿って慎重に各施設における体制を整備する必要がある。④本年度に新たに登録された症例は、21全施設の合計で、生検筋組織122例、剖検脳組織176例であった。昨年度までの集積と合わせると、一部の更新削除例を減じて、生検1100例以上、剖検900例以上となった。これらは情報の共有ではあるが、研究試料を確保して研究を推進するのに極めて有益である。

#### 【生検筋組織研究の活用】

⑤生検筋組織のRRNで、倫理面をクリアした検体がつぎつぎと保管されるようになった。その保管された検体は、多くの研究者の研究に供与され、大きな成果が上



っている。平成12年度には、15研究課題に対し合計157検体が供与された。研究結果は現在5つの一流国際誌に投稿され、Danon病の病因解明はNatureに掲載された。研究者への供与は昨年から広く開始されたが、その成果が実り、2000年には更に3つの論文が発表された。RRNの意義は大きい。

個別研究でも保存試料が活用され、重症型Keams-Sayre症候群の変異ミトコンドリアDNA、筋ジストロフィーの遺伝子の微小変異、先天性アセチルコリンエステラーゼ欠損症の酵素欠損、眼咽頭筋ジストロフィーにおけるDNA障害等の発見、変性や炎症性筋疾患における保存・反復筋生検の重要性、RRNの活用を目的とした診療情報データベース構築に関する研究が行われ、生検組織のRRNの重要性が確認された。

#### 【剖検脳組織研究の活用】

⑥剖検脳組織では、毎年150例以上の脳が登録されており、1施設では到底収集不可能な症例が登録された。この試料を利用してfronto-temporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17のN279K変異では無名質大脳皮質コリン神経やドーパミン神経に障害があること、福山型先天性筋ジストロフィー脳の神経細胞移動障害は原因遺伝子fukutinが局在する神経細胞に基づくこと等、多くの新知見がNeurologyやAnn Neurol等の一流臨床雑誌に掲載された。その他の個別研究でも、成人型異染性白質ジストロフィーの複合遺伝子変異や筋萎縮性側索硬化症におけるCu,Zn-SOD遺伝子変異が発見され、レビー小体を伴う痴呆及びアルツハイマー病における糖代謝と病変、長期経過のパーキンソン病の神経病理学的特徴、進行性核上麻痺の特異的脊髄病変、皮質形成異常におけるてんかん脳病巣の解析や分裂病におけるシナプス蛋白等の研究によって病変形成機序が解明されてきた。施設における脳組織保存の課題を検討しつつ、多数の共同研究が進行中である。

#### 【精神疾患DNA研究の成果】

⑦精神疾患DNAバンクの目的は精神疾患の病因・病態を解明するための遺伝子研究に有効利用するためのDNA保存を行うことにあり、そのためのシステムを作ることにある。平成12年度はこの計画の初年度に当たり、主にシステム立ち上げのための準備を行った。研究実績は以下の通りで

ある。1) 気分障害の家系DNAサンプルを全国規模で収集し、これをDNAバンクで保存・管理するために参加施設毎に計画書を倫理委員会に提出し、承認を得る必要がある。倫理委員会に提出する計画書、同意書、同意を得るための説明書などの見本を作成(稲田担当)し、参加施設に配布した。参加施設はこの見本をもとに計画書を作成し、それぞれ所属施設の倫理委員会(ミレニアム対応あるいはこれに準ずる倫理委員会)に申請する。2) 罹患者および家族の診断を厳密に行うことが必要である。このためにNIHの分子遺伝学研究グループが作成した「遺伝研究のための精神科診断面接(DIGS)」の翻訳を行った(星和書店より出版)。3) 上記DIGSを用いて診断を行うためには多大の時間(1例につき2-3時間)を必要とする。家族を含めて行うためには、専門家を養成する必要がある。このため、DIGSのトレーニングを行う準備を行い、現時点で2名の臨床心理士を確保した。4) DNA収集・管理の方法を決定した。

・同意が得られた患者・家族より25mlの採血を行う。

・このうち、10mlはDNAを抽出しDNAバンクに保管、管理する。バンクに保管されるDNAは非連結匿名化されたものである。

・5mlの血液からリンパ球を分離し、株化してDNAバンクで保存する。

・残る10mlは採取した施設で独自の研究のために使用する。

#### D. 考察

研究の成果をまとめると、国立病院・療養所21施設における全国ネットワークの構築、倫理を考慮した承諾書の作成—これは本邦初のものである。全疾患、全年齢の脳組織、筋組織のネットワークであり、外国に比して特異的である。集積は脳で900例、筋で1100例を越えた。班員内外との共同研究も多数進化した。ネットワークの構築と症例集積の目的はほぼ達したが、平成12年度以降には倫理的観点をも含めたプロトコール及びデータベース等基礎的整備を進め、研究試料をより精度の高いものに更新しつつ、ネットワーク間で相互利用を進め、良い共同研究成果をあげることことが最大の目的である。

しかしながら、研究資源として、生検及び

剖検組織を扱うにあたっては、医療行為としての診断後の検体保存及びその診断使用や研究使用に対するインフォームド・コンセント等倫理的問題、試料保存に対する法律的問題、及びネットワークを利用した研究の推進に関わる問題等の整理が必要である。RRNの事業化に向けて、今後の研究方針は社会的状況等への配慮もなされた上で、3分野の具体的な設定が必要となる。

1. インフォームド・コンセントなどの倫理問題。「指針に準拠した保存及び各々の目的に応じた承諾書とガイドラインの作成」

試料の研究使用については、保存及び使用目的に沿った文書の承諾書が必要である。前回の新しい承諾書では、診断と研究使用を含んだ承諾書を作成したが、更に、本年度は、今までの診断と研究使用を含んだ承諾書を、更に遺伝子解析を含んだ承諾書とガイドラインに更新し、当センターの倫理委員会へ諮るところである。完成したら各施設へ参考として配布する。各施設では、病院の倫理委員会に諮って使用することになる。班会議の中では、「各病院で倫理委員会を作るのは困難もあり、不合理もある。国立病院・療養所では中央での高いレベルの倫理委員会を通すことで良いという解釈を厚生省で出すように働きかけてほしい」という意見もあった。

2. 試料保存に対する法律的問題

剖検の試料保存については、死体解剖保存法（以下、「法」）が適用され、法17条によると保存可能な施設が特定されており、国立精神・神経センターはこれに該当していない。このため、本センターでの試料の共有保存はできない。但し、法18条によると、法2条の有資格者が剖検した場合、有資格者が検体を本センターに保存することはできる。これに対して、ナショナルセンターでの剖検の試料保存は疾病を撲滅する研究を遂行する上で必要であるので、死体解剖保存法17条の改正又は解釈の追加を希望する。班会議での研究者の意見でもセンター保存が要望されており、また、センターの役目でもある。

3. 個人情報管理に関する問題

生検、剖検共に患者（ヒト検体）の個人情報保護については人権擁護の観点から留意すべきであり、そのための枠組みを検討する必要がある。「個人

情報保護基本法に関する大綱」は現在議論中であるので、注目して検討する。すでに、疫学研究等はこの法からはずされている。

4. ネットワーク構築と研究の推進。情報の共有化による研究利用の有用性、必要性（目的）について

「ネットワークの構築は稀少疾患を蓄積し研究するのに、特に有益である。稀な疾患は多数の施設で集めないと研究は進まない。情報のみの共有でも役立つ」という意見が多数を占めた。研究計画のスタートに際して、RRNの情報は重要である。症例が集まるということが分からないと研究計画ができない。情報発信はナショナルセンターの役目である。

5. ネットワークを活用した研究成果の実証について

筋疾患では、新しい病態の解明、遺伝子の発見等に貢献している。当センターでは、筋組織を用いた共同研究が多数推進されている。本年度もNatureに掲載されたDanon病の遺伝子発見の報告がある。各施設間でも保存試料の共同利用が行われ、遺伝子診断の進展、反復生検の意義が強調された。

脳疾患でも、脳組織の利用は新しい疾患の遺伝子の発見や新しい病態の解明に大きく貢献している。DRPLA、アルツハイマー病、封入体病等は神経病理学者による丹念な研究の成果である。セロイドリポフスチン代謝異常や脳回形成異常等の多くの遺伝性疾患における遺伝子発見に伴い、保存試料が活用されて遺伝子診断のみならず、蛋白発現による病態解明等、多くの研究が進んでおり、治療法の開発への発展が期待できる。ポストゲノムの時期には、ヒトの組織は益々貴重となる。

また、「ヤコブ・クロイツヘルド病は国立病院でケアしなければならないので、病態解明と治療法開発の共同研究のネットワークを作り、病態解明にも成果を上げるべきである」という意見も強い。

以上のように、本研究班は生検、剖検、精神疾患DNAの3グループがあり、生検、剖検は共通の研究班員を持ってネットワークを構成しているが、精神疾患DNAグループは別の研究班との共同研究が推進されている。研究資源を収集するという点では、共通しているが、生検と剖検のRRNは事業化を目指している。

生検のRRNでは、生検試料が当センタ

一と東埼玉病院へ集中しており、当センターでの事業化も可能であると判断される。

剖検のRRNでは、法的縛りがあり、国立精神・神経センターへ脳組織を集める共有化はできないので、情報のみを共有としてネットワークを長期継続することが研究推進に重要である。現在のネットワークがHOSPnetであり、国立療養所の神経専門施設が主要メンバーあることを考えると、神経疾患の政策医療ネットワーク等の研究あるいは事業として発展させ、更に全国的規模に発展させることが望ましいと考える。

3グループとも研究資源の逐次更新と長期継続は極めて重要である。

#### E. 結論

1) 剖検脳と生検筋では、如何なる遺伝子解析の進歩にも対応できるように広範囲の疾患、広範囲の年齢を収集し、情報を共有化した。このネットワークは外国の脳バンクに勝る点である。

2) 診断と研究を目的とする文面を入れて承諾書を作成し、それを用いて集積中である。これは従来の承諾より倫理面を文章で表現したものである。遺伝子解析を含めた承諾書は申請中である。

3) HOSPnetを使って、情報のネットワークを構築し、生検筋例は1100例以上、剖検脳は900例以上を蓄積した。目的をほぼ達成したが、登録を充実させ、逐次、試料の更新が必要である。更に、年々新たな稀少疾患が蓄積される。てんかん等では、承諾を得て、外科切除組織を多数集積した。

4) 今までの研究支援として、剖検脳では15課題が共同研究で進行または終結した。遺伝子発見に伴い、保存試料が活用されて遺伝子診断のみならず、蛋白発見による病態解明等、多くの研究が進んでおり、ポストゲノムの時期には、ヒトの組織は益々重要となる。

生検筋では30課題が進行あるいは終結した。Danon病等、新しい筋疾患遺伝子発見や病態解明に貢献するのみならず、反復生検による病態の進行や治癒の判定にも有効である。

RRNを利用した個別研究も進行中。

5) 精神疾患DNA検体の集積は主にシステム立ち上げのための準備を行った。DNA保存の点でRRNとして共通点があり、重要である。

6) 試料保存に関して重大な問題があり、国立精神・神経センターへの試料集積はできない。ナショナルセンターでの剖検の試料保存は疾病を撲滅する上で極めて必要であるので、死体解剖保存法17条の改正又は解釈の追加を希望する。

#### F. 健康危険情報

生検、剖検共に患者（ヒト検体）の個人情報保護については人権擁護の観点から留意すべきであり、そのための体制を検討する必要がある。また、試料の安全性に関しても、臨床と病理の面から十分検査されているが、更に注意し監視する。

#### G. 研究発表

1) Meng SZ, Ohyu J, Itoh M, Takashima S: Dopamine transporter and nitric oxide synthase in hypoxic-ischemic brain.

*Pediatr Neurol* 22:115-121, 2000

2) Itoh M, Suzuki Y, Akaboshi S, Zhang Z, Miyabara S, Takashima S: Developmental and pathological expression of peroxisomal enzymes: their relationship of D-bifunctional protein deficiency and Zellweger syndrome. *Brain Res* 858:40-47, 2000

3) Hirabayashi S, Shigematsu H, Iai M, Takashima S: A neurodegenerative disorder with early myoclonic encephalopathy, retinal pigmentary degeneration and nephronophthisis *Brain Dev* 22:24-30, 2000

4) Mizuguchi M, Takashima S, Yamanouchi H, Nakazato Y, Mitani H, Hino O: Novel cerebral lesions in the Eker rat model of tuberous sclerosis: cortical tuber and anaplastic ganglioglioma. *J Neuropathol Exp Neurol* 59:188-196, 2000

5) Isumi H, Uchida Y, Hayashi T, Furukawa S, Takashima S: Neuron death and glial response in pontosubicular necrosis. the role of the growth inhibitory factor.

*Clin Neuropathol* 19:77-84, 2000

6) Inage W Y, Itho M, Takashima S: Correlation between cerebrovascular maturity and periventricular leukomalacia. *Pediatr Neurol* 22:204-208, 2000

7) Yamada M, Mizuguchi M, Nishimakio K, Takashima S, Ikedw K, ohta S, Takahashi H: Localization of Bcl-x  $\beta$  in the developing and adult rat central nervous system. *J Neurosci Res* 60:468-477, 2000

- 8) Kurachi Y, Oka A, Mizuguchi M, Ohkoshi Y, Sasaki M, Itoh M, Hayashi M, Goto Y, Takashima S: Rapid immunologic diagnosis of classic late infantile neuronal ceroid lipofuscinosis. *Neurology* 54:1676-1680, 2000
- 9) Tanaka F, Ozawa Y, Inage Y, Deguchi K, Itoh M, Imai Y, Kohsaka S, Takashima S: Association of osteopontin with ischemic axonal death in periventricular leukomalacia. *Acta Neuropathol* 100:69-74, 2000
- 10) Nishina M, Kato T, Ito M, Takashima S: In vitro high resolution proton magnetic resonance study of human cerebellar development during the period from the fetus to childhood. *Physiol Chem Phys & Med NMR* 31:103-108, 1999
- 11) Mizuguchi M, Ikeda K, Takashima S: Simultaneous loss of hamartin and tuberlin from the cerebrum, kidney and heart with tuberous sclerosis. *Acta Neuropathol* 99:503-510, 2000
- 12) Qin J, Mizuguchi M, Itoh M, Takashima S: Immunohistochemical expression of doublecortin in the human cerebrum: comparison of normal development and neuronal migration disorders. *Brain Res* 863:225-232, 2000
- 13) Yamanouchi H, Mizuguchi M, Oka A, Takashima S, Becker LE, Eguchi M, Nakazato Y: Enhanced GAP-43 gene expression in cortical dysplasia. *NeuroReport* 11:1815-1819, 2000
- 14) Tanaka F, Ozawa Y, Inage Y, Deguchi K, Itoh M, Imai Y, Kohsaka S, Takashima S: Association of osteopontin with ischemic axonal death in periventricular leukomalacia. *Acta Neuropathol* 100:69-74, 2000
- 15) Arai Y, Takashima S, Becker L.E.: CD44 expression in tuberous sclerosis. *Pathobiology* 68:87-92, 2000
- 16) Arai Y, Ackerley C.A., Becker L.E.: Tuberlin expression in ganglioglioma. *Ultrastructural Pathology* 24:93-98, 2000
- 17) Qin J, Mizuguchi M, Itoh M, Takashima S: A novel migration-related gene product, doublecortin, in neuronal migration disorder of fetuses and infants with Zellweger syndrome. *Acta Neuropathol* 100:168-173, 2000
- 18) Saito Y, Mizuguchi M, Oka A, Takashima S: Fukutin protein is expressed in neurons of the normal developing human brain but is reduced in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy brain. *Ann Neurol* 47:756-764, 2000
- 19) Inage Y.W, Itoh M, Wada K, Hoshika A, Takashima S: Glutamate transporters in neuronal cerebellar subarachnoid hemorrhage. *Pediatr Neurol* 23:42-48, 2000
- 20) Arai Y, Takashima S, Becker L.E.: Downregulation of glutamate receptor subunit 2(3) in subependymal giant-cell tumor. *Pediatr Neurol* 23:37-41, 2000
- 21) Saito Y, Takashima S: Neurotransmitter changes in the pathophysiology of Lesch-Nyhan syndrome. *Brain Dev* 22:S122-S131, 2000
- 22) Ohyu J, Endo A, Itoh M, Takashima S: Hypocapnia under hypotension induces apoptotic neuronal cell death in the hippocampus of newborn rabbits. *Pediatr Res* 48:24-29, 2000
- 23) Saito Y, Oka A, Mizuguchi M, Motonaga K, Mori Y, Becker L.E., Arima K, Miyauchi J, Takashima S: The developmental and aging changes of Down's syndrome cell adhesion molecule expression in normal and Down's syndrome brains. *Acta Neuropathol* 100:654-664, 2000.
- 24) Endo A, Motonaga K, Arahata K, Harada K, Yamada T, Takashima S: Developmental expression of myotonic dystrophy protein kinase in brain and its relevance to clinical phenotype. *Acta Neuropathol (Berl)* 100:513-520, 2000
- 25) Arai N, Mizuguchi M, Mori K, Takashima S: Ectopic expression of telencephalin in brains with holoprosencephaly. *Acta Neuropathol (Berl)* 100:506-512, 2000
- 26) 遺伝研究のための精神科診断面接 (DIGS) 日本版: 監訳 稲田俊也、伊豫雅臣、星和書店、2000
- 27) Nishino I, Fu J, Tanji K, Yamada T, et al.: Primary LAMP-2 deficiency causes X-linked vacuolar cardiomyopathy and myopathy (Danon disease). *Nature* 406:906-910, 2000.
- 28) Shen L, Tsuchida R, Miyauchi J, et al.: Differentiation-associated expression and intracellular localization of cyclin-dependent kinase inhibitor p27KIP1 and c-Jun co-activator JAB1 in neuroblastoma. *Int J Oncol* 17:749-750, 2000.
- 29) Yasuda M, Komure O, Kuno S, et al: A mutation in the microtubule-associated protein tau in pallido-nigro-luysian degeneration. *Neurology* 54:2028-2030, 2000.
- 30) Mogi M, Togari A, Kondo T, et al.: Caspase activities and tumor necrosis factor receptor R1

- (p55) level are elevated in the substantia nigra from parkinsonian brain. *J Neural Transm* 107: 335-341, 2000.
- 31) Morino H, Kawarai T, Izumi Y, et al.: A single nucleotide polymorphism of dopamine transporter gene is associated with Parkinson's disease. *Ann Neurol* 47:528-531, 2000.
- 32) Tateyama M, Tobita M, Iwasaki Y, et al.: DNA single strand breaks (SSBs) are increased in muscle diseases with rimmed vacuoles (RVs). *Brain Pathol* 10:541, 2000.
- 33) Kimura N, Kimura I, et al.: Immunohistochemical expression of chromogonins A and B, and prohormone convertase 2 and 3, and amidating enzyme in carcinoid tumors and pancreatic endocrine tumors. *Modern Pathol* 13:140-148, 2000.
- 34) Higuchi S, Ohta S, et al.: NOS3 polymorphism not associated with Alzheimer's disease in Japanese. *Ann Neurol* 47:685, 2000.
- 35) Yao H, Yuzuriba T, et al.: Cerebral blood flow in nondemented elderly subjects with extensive deep white matter lesions on magnetic resonance imaging. *J Stroke Cerebrovascular Dis* 172:175, 2000.
- 36) Yoshino H, Harukawa H, Asano A: IgG antigangliosides in Guillain-Barre syndrome with bulbar palsy. *J Neuroimmunol* 05:195-201, 2000.
- 37) Fujigasaki H, Uchihara T, Makifuchi T, et al.: Ataxin-3 is translocated into the nucleus for the formation of intranuclear inclusions in normal and Machado-Joseph disease brains. *Exper Neurol* 165:248-256, 2000.
- 38) Sato N, Imaizumi K, Makifuchi T, et al.: Increased production of beta-amyloid and vulnerability to ER stress by an aberrant spliced form of presenilin-2. *J Biol Chem*, in press.
- 39) Ihara Y, et al.: Relationship between oxidative stress and apoE phenotype in Alzheimer's disease. *Acta Neurol Scand* 102:346-349, 2000.
- 40) Takehisa Y, et al.: Familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel mutation Leu126Ser in the copper/zinc superoxide dismutase gene showing mild clinical features and Lewy body-like hyaline inclusions. *Arch Neurol*, in press.
- 41) Matsuda K, Mihara T, et al.: Neuroradiological findings in focal cortical dysplasia-histological correlation with surgically resected specimens. *Epilepsia (Suppl)*, in press.
- 42) 久保田裕子、松田一己、他：皮質形成異常の免疫組織学的研究—手術摘出標本による検索。 *神経進歩* 44:135-145, 2000.

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担 研究報告書

当院における剖検脳組織の保存の現状と課題

分担研究者 卷淵 隆夫 国立療養所犀潟病院臨床研究部長

研究要旨

当院での剖検脳組織の収集、標本処理の問題点を分析した。解剖時に標本処理のプロトコールが無い場合は、解剖時に最大公約数的に採取した標本を一箇所に移動し保管して共有する事は適当でなかった。- 20℃に一晚置いてから彫刻刀で削り出す方法は、解剖学的に正確な採取が可能であり、また後日の再切出しにも有効な方法であった。

A. 研究目的

脳の医学的研究には人脳組織を使わねばならない場合がある。当院では、遺族の承諾を得て剖検脳の一部を保存しているが、その現状を制度と標本処理の技術的側面から検討して、政策医療ネットワークの中の研究用資源に関する精神神経ネットワークの形成に資する事を目的とした。

B. 研究方法

1) 病院や制度に由来する問題を把握し問題提起を試みた。2) 標本処理の過程を分析し、標本を一箇所に集めて共有化する時の問題点を明らかにした。3) 新しい試料採取方法を検討した。MELAS の遺伝子診断は臨床的に確立した検査であり、患者本人の病変をより精細に検索することなので、倫理的には問題が無い。

C. 研究結果

1) 病院や制度に由来する問題。

病理解剖である故の問題として、疾患の種類の違い、症例数が少ない、正常対照例が少ない、等があった。

国立療養所の大部分は当院を含めて特定機能病院や地域医療支援病院でなく、採算性が求められる病院経営における病理解剖の意義の理解不足、死体解剖資格者が少なく、時には大学等に出張解剖を依頼する事もある、病理解剖に関する検査技師の業務範囲、等が問題点としてあった。

2) 標本処理の過程の分析

標本の採取と処理は、解剖時に全てなされる場合と、解剖時には解剖学的な位置関係を保って大きく採取し処理しておき、後

日必要に応じて再切出しをする場合があった。

解剖前に既に研究計画が承認され、標本処理のプロトコールが確定している場合には、研究者の手に渡る最終的な形で解剖時に試料を採取し処理する事が可能である。しかし、プロトコールが確定していない場合は、解剖学的な情報を保ちながら、考え得る最大公約数的な標本採取と処理をしておく以外には方法は無く、後日プロトコールに沿った再切出しが必要である。

3) 再切出しをする際の新しい方法の検討。

以前は- 80℃の冷凍庫から出して直ぐ再切出していたが、標本が非常に硬く凍結している為割れてしまい、解剖学的な位置関係を失い、再度の正確な切出しが不可能になっていた。今回 MELAS 剖検脳における mtDNA 変異の臓器別ヘテロプラスミーを研究する為に、解剖学的に多数の部位から正確に切出す方法を検討した。前日に- 80℃の冷凍庫から- 10℃～- 20℃の冷凍庫に移し一晚置くと少し軟らかくなり、丸型彫刻刀で削り出すのに丁度良い硬さになった。

D. 考察

症例数の少なさは、ネットワーク化により補う事が出来、逆に専門性の高さが標本の質を高くすることになる。

2段階で標本処理を行う場合、最初の段階での標本を一箇所に移動し保管して共有する事は、その後の再切出しが不適切になり、適当でない。

E. 結論

- 20℃してから彫刻刀で削り出す方法は、解剖学的に正確な採取が可能であり、また後日の再切出しにも有効な方法である。

血厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）  
分担研究報告書

人の脳組織を用いたてんかん脳に関する研究  
—てんかん原性病変としての Focal Cortical Dysplasia の形態および  
組織化学的検索—

1. 難治部分てんかんの手術摘出標本における  
結節性硬化症遺伝子蛋白 tuberin 発現に関する検討

分担研究者 松田一己 国立療養所静岡東病院（てんかんセンター）

研究要旨

難治部分てんかんの重要な責任病変である focal cortical dysplasia（以下 FCD）20 例と dysembryoplastic neuroepithelial tumor（以下 DNT）6 例の手術摘出標本について、結節性硬化症（以下 TS）の遺伝子蛋白 tuberin の発現を免疫組織化学法を用いて検討した。FCD では形態異常に乏しい神経細胞とグリアは対照と同程度に tuberin が発現しており、形態異常が著明な dysplastic neuron と ballooned eosinophilic cell については中等度から高度の発現を認めた。DNT では形成異常を背景とした腫瘍病変を構成する神経細胞とグリアに tuberin の発現が確認された。この結果、TS と類似する組織像を持ち合わせる両病変は tuberin 発現が低下している TS とは病因が異なる可能性が示唆された。

A. 研究目的

Focal cortical dysplasia（以下 FCD）は、MRI で高率に検出され、病変自体にてんかん原性が内在し外科治療が有効であることより、難治部分てんかんの責任病変として重要な位置を占めている。組織学的には、皮質にきわめて限局する層構造の乱れのみものから、起源不明の異常細胞が広範囲に出現するものまで多彩な所見を呈している。Palmini が 1994 年に提唱した分類によると、皮質の層構造の乱れのみを認める grade1 と、層構造の乱れに加え、不規則なニッスル小体を有する大型の異常神経細胞（dysplastic neuron、以下 DN）が出現する grade2、さらに細胞起源が不明な好酸性の胞体を有する大型細胞（ballooned eosinophilic cell、以下 EC）が特徴的に認められる grade3 に大別される。形成異常の程度が最も強い grade3 の組織像が、てんかんを高頻度に合併し常染色体優性

遺伝性疾患である結節性硬化症（tuberous sclerosis 以下 TS）の皮質病変と酷似する事から両者の相関が注目されている。一方、近年、TS の原因遺伝子として TSC1（産生蛋白は hamartin）と TSC2（産生蛋白は tuberin）が明らかにされ、TS の皮質病変において tuberin の発現が低下していることが報告された。本研究では、FCD の病因を解明する目的で、tuberin の FCD における発現の程度を調べ TS との病因上の関連を検討した。さらに胎生期由来の良性腫瘍で、皮質形成異常を背景にもち、神経細胞やグリア、髄膜細胞起源の細胞で構成され多彩な組織像を特徴とする DNT について tuberin の発現を検討した。なお、今回の検索対象とした試料は本研究班に登録された自施設のものを使用したが、これらの組織は稀少であり、今後、本研究班で集められる多施設の試料を有効に活用することを課題として検討した。

## B. 研究方法

外科治療が施行された難治部分てんかん患者のうち、摘出標本より FCD と診断された 20 例および DNT 6 例を対象とし、それぞれの切除部位は FCD が、前頭葉 12 例、側頭葉 2 例、側頭・後頭葉 2 例、後頭葉 4 例で、DNT が前頭葉 2 例、側頭葉 4 例であった。これと比較する目的で明らかな皮質病変を持たない内側側頭葉硬化 2 例を対照とした。

ホルマリン固定された摘出組織から、4 $\mu$ パラフィン切片を作成し、HE 染色および KB 染色をもとに Palmini の基準に従って形成異常の程度を評価した。次に tuberin の N 末 (anti-Tub-NT、1:200) および C 末 (anti-Tub-CT、1:400) に対する免疫組織化学染色をペルオキシダーゼ法および ABC 法を用いて行い、対照との比較ならびに形成異常の程度に応じた変化を検討した。

### (倫理面への配慮)

本研究班で作製された承諾書とその説明書を用いて、手術摘出標本に対する病理学的検索と登録・保存についての同意を事前に全例から得た。

## C. 研究結果

FCD における形成異常の程度は、grade 1 が 2 例、grade 2 が 3 例、grade 3 が 15 例であった。Tuberin に対する免疫組織化学法では、形態異常を欠く神経細胞およびグリアは、各 grade において弱陽性から中等度の陽性所見を呈しており、対照 2 例と同程度の染色性を認めた。それに対して、形態異常を有する DN および EC においては tuberin が陽性から強陽性に染色された。

DNT において、腫瘍周囲の形成異常の部位では、形態異常を欠く神経細胞およびグリアが弱陽性から中等度の陽性所見を呈した。腫瘍本体のうち、DNT の特徴とされる glioneuronal component と呼ばれる部位の異型性に乏しい神経細胞およびグリアの一部

が tuberin 陽性であった。

## D. 考察

従来の報告によると TS 脳では、tuberin 発現の低下が認められ、特に正常形態の神経細胞およびグリアで陰性であることが特徴的であるとされている。本研究では TS の自験例がなく、また本研究班の登録標本中にも 1 例のみであったことから TS 脳を十分に検索する機会にめぐまれず、直接の比較は困難であった。しかしながら今回の検索により FCD では正常形態の神経細胞およびグリアで tuberin が対照の皮質と同等の発現をしていることが確認され、TS 脳の病因とは異なっていることが示唆された。一方、TS にみられる形態異常を伴う cytomegalic neuron や ballooned cell における tuberin の発現については、弱陽性から陽性まで症例によりばらつきがあるとされる。FCD の DN と EC においては陽性から強陽性と、より強い染色性を示すものの、両者に陽性所見が得られることはこれらの異常細胞は基礎疾患に規定されずに TSC2 mRNA が多く発現しており、その細胞起源を考える上で興味ある所見と思われる。

また、この tuberin の発現様式の相違は次のような点で意味をもつ。すなわち実際の臨床では白斑などの皮膚所見を欠き、てんかん発作が唯一の症状で、特に神経画像上、多発性の病巣を認める例では、FCD と TS の鑑別診断が困難である。加えて、これら難治てんかんの手術摘出標本の組織像も酷似している様な例においては、摘出標本の tuberin の発現を検討することにより診断を確定することも可能となる。

一方、tuberin は tumor suppressor としての働きがあると考えられている。今回検討した DNT の例では、腫瘍本体において tuberin 発現を認めたが、この腫瘍が進行の緩徐な良性腫瘍であることとの関連性を示唆する所見とも推察される。しかし、この点については他の腫瘍における tuberin 発現を検討する必要がある、本研究班のネットワーク



を活用した検索が今後の重要な課題となる。

## E. 結論

FCD を構成する神経細胞およびグリアにおいて tuberin の発現が確認され、TS とは病因が異なっている可能性が示唆された。DNT においても腫瘍本体の神経細胞とグリアで発現が確認されたが、その意義については今後の検討が必要で、tuberin の機能を解明する上で意義のあるものと思われる。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

・久保田裕子、松田一己、影山三千世、西村成子、三原忠紘、八木和一、平野朝雄。皮質形成異常の免疫組織学的研究-手術摘出標本による検索-。神経研究の進歩 44(1):135-45, 2000

・影山三千世、松田一己、佐田佳美、久保田裕子、西村成子、三原忠紘、藤原建樹、八木和一。難治部分てんかんの手術摘出標本における興奮性アミノ酸受容体に関する研究-Autoradiography 法を用いた定量的検討-。てんかん治療研究振興財団研究年報 12: 113-118, 2000

・松田一己、三原忠紘、鳥取孝安、大坪俊昭、馬場好一、松山望、八木和一。てんかんの画像診断。内側側頭葉硬化。画像診断 21:153-162, 2001

・松田一己、三原忠紘、鳥取孝安、大坪俊昭、馬場好一、松山望、渡辺裕貴、井上有史、八木和一。皮質形成異常とてんかん外科。MEDICO 32(1):19-23, 2001

・松田一己、久保田裕子、影山三千世、三原忠紘、八木和一。てんかんの病理-てんかん外科手術例の摘出標本の検討から。薬の知識 52:49-51, 2001

### 2. 学会発表

・松田一己、影山三千世、久保田裕子、三原忠紘、八木和一、平野朝雄：発作間欠期にもかかわらず脳血流増加および脳代謝亢進を

示した前頭葉てんかん例の神経受容体の検索。

—外科切除標本の autoradiography による定量解析— 第 41 回日本神経病理学会総会学術研究会（米子）2000.6.2

・久保田裕子、松田一己、三原忠紘、八木和一、平野朝雄：内側側頭葉硬化の摘出海馬におけるグルタミン酸受容体の変化。第 41 回日本神経病理学会総会学術研究会（米子）2000.6.2

・ Kageyama M, Matsuda K, Kubota Y, Nishimura S, Yagi K: In vitro autoradiography of peripheral benzodiazepine receptor in patients with focal cortical dysplasia. 11th International Cleveland Clinic - Bethel Epilepsy Symposium, (Cleveland, Ohio) 2000.6.26

・ Usui N, Matsuda K, Mihara T, Yagi K, Yoshida J: Abnormal signals on fluid attenuation inversion recovery (FLAIR) image of cortical dysplasia and its pathological correlation. 11th International Cleveland Clinic - Bethel Epilepsy Symposium, (Cleveland, Ohio) 2000.6.26

・ Matsuda K, Kubota Y, Kageyama M, Mihara T, Yagi K, Hirano A. Immunohistochemical study on excitatory and inhibitory neuronal systems of focal cortical dysplasia-Investigation of surgically resected specimens-. XIV International Congress of Neuro pathology (Birmingham), 2000.9.4

・ Kageyama M, Matsuda K, Kubota Y, Nishimura S, Mihara T, Fujiwara T, Yagi K. In vitro autoradiography of NMDA receptor, AMPA receptor, and central benzodiazepine receptor in patients with focal cortical dysplasia. XIV International Congress of Neuro pathology (Birmingham), 2000.9.4

・松田一己、三原忠紘、鳥取孝安、大坪俊昭、

馬場好一、松山 望、井上有史、久保田裕子、  
影山三千世、八木和一：難治部分てんかん例  
に認められた萎縮性変化を主体とする限局性  
の脳回異常について-画像所見ならびに手術  
摘出標本の組織所見による検討-。第 34 回  
日本てんかん学会（東京）2000.9.22

・久保田裕子、松田一己、影山三千世、大坪  
俊昭、鳥取孝安、三原忠紘、井上有史、藤原  
建樹、八木和一：皮質形成異常における代謝  
型グルタミン酸受容体の組織化学的検索。第  
34 回日本てんかん学会（東京）2000.9.22

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

ALS および免疫性神経疾患における髄液中 3-nitrotyrosine の検討

分担研究者 吉野 英 国立精神・神経センター国府台病院神経内科

研究要旨：Peroxinitrite による参加ストレスのマーカーである 3-nitrotyrosine を種々の神経疾患髄液中で測定した。ALS、ギランバレー症候群（GBS）、感覚障害優位の慢性多発神経炎（CIDP）、アルツハイマー病において高値を示す症例が認められた。これらの難治性神経疾患に対し、あらたな Anti-oxidant、Radical Scavenger 作用を有する新薬が有効となりうることが示唆された。

A. 研究目的

近年 ALS をはじめとする神経変性疾患において、酸化ストレスによる神経障害が大きな役割を果たしていることが知られてきた。NO と superoxide の反応物の peroxinitrite は、チロシン残基に結合し 3-nitrotyrosine (3-NT) を生成するが、ニューロフィラメントの L 鎖に結合しリン酸化を阻害し、ニューロフィラメントの assembly を障害することにより、神経変性をもたらす可能性が考えられている。3-NT は ALS 脊髄ホモジェネートでコントロールに比し高値であり、ALS 運動ニューロンに免疫反応性が認められるという報告がある。本研究では種々の変性疾患剖検組織において 3-NT 値を測定することを目的とするが、これに先立ち、ALS および免疫性神経疾患における髄液中 3-NT を測定した。

B. 対象及び方法：

対象は ALS 21 例、GBS 15 例、CIDP 16 例、Fisher 症候群 12 例、その他の疾患 13 例である。方法は、Competitive EIA 法を用いた。

C. 結果

ALS では  $1.6 \pm 4.2 \text{ ng/ml}$  であったが、上昇群 (N=10) と非上昇群 (N=11) に分かれたため、両者の臨床像を比較したところ、年齢、罹病期間、初発症状において大きな差はみられなかった。GBS では  $3.5 \pm 9.3 \text{ ng/ml}$  であったが、上昇群 (N=5) と非上昇群 (N=9) を比較したところ、上昇群では発病後平均 6 ヶ月を経過した時点でも全例において筋力低下の後遺症を有していることがわかった。CIDP では感覚障害優位型は、運動障害優位型よりも有意に 3-NT 値が高かった。フィッシャー症候群での 3-NT 値はほとんどの例で低値であった。その他の疾患の中では少数例であるが、アルツハイマー病で 3-NT が高値であった。

D. 考察

今回の研究で ALS のみならず、免疫性神経疾患やアルツハイマー病でも 3-NT 高値を示す症例が存在したことがわかった。このことは多くの神経疾患で神経細胞障害過程において peroxinitrite による酸化スト

レスが重要な役割を演じていることが示唆される。このことは、これらの難治性神経疾患に対し、あらたな Anti-oxidant、Radical Scavenger 作用を有する新薬が有効となる期待がなされる。今後さらに RRN のネットワークの共同研究により種々の神経疾患組織において検索する予定である。

#### E. 結論

ALS のみならず、免疫性神経疾患やアルツハイマー病でも 3-NT 高値を示す症例が存在した。このことは多くの神経疾患で神経細胞障害過程において peroxinitirite によ

る酸化ストレスが重要な役割を演じていることが示唆された。

#### F. 研究発表

1) Yoshino H, Harukawa H, Asano A.: IgG antiganglioside antibodies in Guillain-Barre syndrome with bulbar palsy. *J. Neuroimmunol* 105:195-201, 2000.

2) Yoshino H, Asano A, Yamada M, Miyatake T.: Localization of GalNAc-GD1a in large spinal motoneurons and peripheral motor neurons. *J. Neuroimmunol*, in press.