

**厚生科学研究研究費補助金
(ヒトゲノム・再生医療等研究事業)**

**ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン病
原因遺伝子の同定とオーダーメイド医療の
確立に関する研究**

平成 13 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 戸田 達史

目次

I. 総括研究報告書

ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン
病原因遺伝子の同定とオーダーメイド医療の
確立に関する研究

戸田達史 _____ 1

II. 分担研究報告

1. ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン
病原因遺伝子の同定とオーダーメイド医療の
確立に関する研究

村田美穂 _____ 8

2. 常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の
新規遺伝子座の同定と原因遺伝子の単離を目指して

服部信孝 _____ 9

3. ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン
病原因遺伝子の同定とオーダーメイド医療の
確立に関する研究

山本光利 _____ 13

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総括研究報告書

ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン病原因遺伝子の同定と
オーダーメイド医療の確立に関する研究

主任研究者 戸田 達史 大阪大学大学院医学系研究科・教授

研究要旨：本研究ではパーキンソン病(PD)疾患感受性遺伝子を同定し、またSNPと各薬剤への反応性、副作用との関連を明らかにしオーダーメイド治療法を確立することを目的として今年度は以下の結果を得た。大人数の対象を効率的にタイピングできる方法を決定するため、Pyrosequencing法、SnapShot法、TaqMan法などを試用検討し、384個同時に測定できるTaqMan法が一番有用であるとの結論を得た。効率的な階層化を目的に臨床情報収集のための質問表及びチェックシートを作成し、特異な病型、特徴的な症状を抽出することが可能となった。PD患者、正常対照そ約250名を対象にし、PDの疾患関連候補遺伝子の翻訳領域に存在しかつアミノ酸の変化を伴うもの数十遺伝子選択しタイピングを行い、BDNF遺伝子480G/AのAAホモ接合体がPD患者では正常対照に比し有意に多いこと、UCH-L1遺伝子S18YのCアレルに関してPDで有意に多いことを見出した。ハプロタイプ解析にて日本にもpark 6, 7, 9が存在していることが分かり、劣性遺伝形式を呈する家族性パーキンソン病もまた複数の遺伝子異常に伴うことが予想される。我が国で開発された抗けいれん薬Zonisamideが低用量で著明な抗パーキンソン効果を示すことを確認し、作用機序としてTH活性亢進を介したドパミン産生亢進が考えられた。MIBG心筋シンチグラムにて、若年発症では明らかに障害度が、中年期以降発症群よりも低いことが判明した。共通チェックシートを使用し、これまでに患者の詳細な臨床データのあるDNAサンプルを約550収集した。平成14年度早期には患者1,000人のDNAに到達できることが期待される。連鎖のある領域も発表されつつあり、今後は患者1000人をもとに、そこにも重点をおき関連解析を大規模に行っていく。

分担研究者氏名

村田 美穂（東京大学大学院医学系研究科・助手）

服部 信孝（順天堂大学医学部・講師）

山本 光利（香川県立中央病院・主任部長）

イマー病とともに多い神経変性疾患であり、我が国には現在約10万人以上の患者がいるが、加齢に伴い発症率が増すため今後の患者の増加が予想される。神経変性疾患としては唯一治療薬が豊富であるが、多くの薬剤はドパミンの補充が主体であり根本的な治療ではなく、真の原因や発症の引き金を突きとめることが重要である。

A. 研究目的

パーキンソン病(PD)は、中高年に発症し、ドパミンニューロンの変性により振戦、筋固縮など運動障害を主症状とするアルツハ

PDにおける遺伝子の重要性は意見が分かれていたが、最近になって一卵性双生児

の疾患一致率が約60%もあり二卵性の約3倍、他などから、多因子遺伝性疾患と認知されるようになった。家族性PDでは *a-synuclein* や *parkin* 遺伝子が発見されたが、患者の大部分を占める孤発性PDでは疾患感受性遺伝子は証明されていない。

一方で孤発例では、振戦を主体とする群、抗パ剤で副作用を起こしやすい群など、その経過・中心となる症状・薬剤の効果は患者により異なり、このことは従来PDとして一括して行われていた遺伝解析に階層化を可能にしそれには卓越した専門家の目が必要であり、また遺伝子多型によって患者個人個人に必要な薬剤を必要な量投与するオーダーメイド医療が可能であることを意味する。これまでパーキンソン病(PD)疾患感受性遺伝子探索は多数なされてきたが明らかかなものは見出されていない。この最大の原因はPDの多様性を無視してPDであるかないかのみを指標にDNA解析が行われてきたことにある。従って患者の階層化をいかに行うかがカギとなる。

本研究では1) 神経伝達物質関連など候補遺伝子から、続いて全ゲノムから未知のSNPを探索する2) 効率的な患者の階層化を行うための臨床データ取得のチェックシートを作成する。3) 多数のSNPをもとに約1000人の患者群と正常群で階層化も考慮した関連解析を行い疾患感受性遺伝子を同定する。4) 同時にSNPと各薬剤への反応性、副作用との関連を明らかにしオーダーメイド治療法を確立する、ことを行う。

一方パーキンソン病を疾患概念が確立した疾患単位であるが、実際には各種の抗パーキンソン病薬に対する効果や副作用の出現の仕方は患者により様々である。患者により個体差が大きくかつパーキンソン病治療中の最も大きな問題点の一つにwearing-off現象がある。抗けいれん薬として我が国で

開発された *zonisamide* が著明な抗パーキンソン効果を持つことを見出したのでオープン研究を行い、さらに動物実験により作用機序を明らかにする。

また常染色体劣性若年性パーキンソンニズム (AR-JP) の原因遺伝子であるパーキンソン遺伝子は若年発症の家族性パーキンソン病において頻度の高い原因遺伝子として認識されつつある。しかしながら、パーキンソン遺伝子の変異を全く持ち得ない家系や症例が存在することが分かってきており、劣性遺伝に伴う若年発症のパーキンソン病もまた別の遺伝子による可能性が検討されている。最近になり、ヨーロッパを中心に常染色体1番に連鎖する家系の報告があった。新規遺伝子座に連鎖する家系の存在有無を検討すると伴に新しい原因遺伝子単離を目指すことを目的とした。

B. 研究方法・研究結果・考察

(1) 大量高速SNPタイピング法の検討

大人数の対象を数多くのSNPでタイピングするには、時間、労力、費用などの面で効率的なタイピング法を決定することが重要である。

古典的な Allele Specific Oligonucleotide Hybridization (ASO) 法でタイピングを行うと共に、Pyrosequencing 法、SnapShot 法、TaqMan法などを試用検討した結果、384個同時に測定できるTaqMan法が一番有用であり、この方法だと2000検体同時に先にPCRし、測定も1時間以内に終了し、コンピューター内でデータ処理されることがわかった。

(2) 効率的な階層化を目的としたチェックシートの作成

村田、山本らは患者の主たる病像、副作

用出現のしやすさ、随伴症状などが、特徴として抽出できること、また、特異な病型を抽出できること、比較的短時間の診察で十分な情報をえられることなどを考慮して、チェックシート及び質問表を作成した。

特異な病型としては、1) 振戦型 2) 固縮無動型 3) 動作緩慢型 4) 姿勢調節障害型 5) 重症痴呆合併例 を抽出した。

(3) 患者対照関連解析

PD患者、正常対照それぞれ約250名を対象にし、PDの疾患関連候補遺伝子の翻訳領域に存在しかつアミノ酸の変化を伴うもの数十遺伝子選択しタイピングを行い、BDNF 遺伝子480G/AのAAホモ接合体がPD患者では正常対照に比し有意に多いこと、UCH-L1 遺伝子S18YのCアレルに関してPDで有意に多いことを見出した。

さらには、平成13年秋はじめて孤発性PDで連鎖のある領域が発表されたので、そこに重点をおき関連解析を行い得るし、またpool DNAによるゲノムワイドマイクロサテライト関連解析も同時に行う。

また、患者の階層化を行いそれぞれのSNPについてwearing-off 易出現群、dyskinesia易出現群、悪性症候群及びCK高値群などとの関連について検討したが、現時点では有意な差を生じるものは見つからない。今後さらに症例と検討するSNPを増やしていく必要がある。

(4) 常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の新規遺伝子座の同定と原因遺伝子の単離

服部らはパーキンソン遺伝子変異も持たない症例30家系について既報されているpark6、park7についてハプロタイプ解析を行った。lod scoreはparametric Two-point解析で行った。

7家系についてハプロタイプからは

park6に連鎖している可能性があった。parametric two-point linkageでは $\theta = 0$ でD1S478をピークにlod score = 3.04を示した。

Park6, 7に連鎖する家系が我が国も存在しうることが判明した。park7については現在マイクロサテライトマーカーの日本人頻度を検討中であり、lod scoreは算出していないが、ハプロタイプからは存在している可能性がある。またpark6,7と両遺伝子領域に連鎖する家系も存在していた。park7に連鎖する家系で発症年齢が10歳代で痴呆を伴う家系も存在していた。このpark7というよりpark9の臨床型に類似していた。現在park6, 7, 9は全て常染色体1番に連鎖しているが、それぞれの遺伝子座は十分に離れており、別の遺伝子であることが推測されているが、単一遺伝子である可能性も完全には否定できない。特にpark7とpark9はマーカーに重なりがあり、allelic disorderの可能性も否定できない。

(5) Zonisamideの著明な抗パーキンソン効果

村田らはパーキンソン病患者10名に現在の治療に加えzonisamide 50-200 mgを投与し、症状の変化及び副作用についてUnified Parkinson Disease Rating scale (UPDRS)により評価した。またラットにzonisamideを経口投与し、線条体のドパミン含量及びtyrosine hydroxylase (TH) 活性を測定した。

zonisamideは50-100mg(抗けいれん薬での常用量は300-400mg)で明らかな抗パーキンソン効果を示し、得にwearing-offには著効を呈した。副作用は軽い口渇のみで、極めて安全と考えられた。zonisamide投与によりラット線条体内でドパミン含量及びTH活性は有意に上

昇していた。

Zonisamideは低用量で著明な抗パーキンソン効果を示すことを確認した。作用機序としてTH活性亢進を介したドパミン産生亢進が考えられた。現在村田らが中心になりzonisamideのパーキンソン病への適応拡大のための治験を進めている。

(6) MIBG心筋シンチグラムによる検討

山本らは特異的な検査としてMIBG心筋シンチグラムを実施している。若年発症では明らかに障害度が、中年期以降発症群よりも低いことが判明した。何らかのゲノム機能の背景との関連が想定される。

(7) DNAサンプル収集と次年度への期待

効率的な階層化を目的に臨床情報収集のための質問表及びチェックシートを作成し、特異な病型、特徴的な症状を抽出することが可能となった。

本報告書時点で臨床分類、臨床評価シート作成、UPDRSでのscore化、文書によるインフォームド ConsentのあるDNAサンプルを約550収集した。特に順天堂大学はパーキンソン病患者は多く未採血700例が存在すると考えている。毎週drug controlなどで入院する患者が10例ほどいる。また香川ではパーキンソン病友の会の協力が得られることになり、100名の追加症例が期待できる。平成14年度早期には患者1,000人のDNAに到達できることが期待される。

(倫理面への配慮)

本研究は上に述べたように個々の患者の臨床情報が極めて重要であることから連結可能匿名化の検体として扱う。文部科学省、厚生労働省及び経済産業省合同「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に

準拠した大阪大学、東京大学、順天堂大学、香川県立中央病院の各倫理審査委員会、および東京大学医学部附属病院治験審査委員会の承認を受け、これにのっとり施行している。

C. 結論

大量高速にSNPタイピングする方法を検討し決定した。効率的な階層化のために臨床情報収集のための質問表及びチェックシートを作成した。BDNF遺伝子480G/AのAAホモ接合体がPD患者では正常対照に比し有意に多いこと、UCH-L1遺伝子S18YのCアレルに関してPDで有意に多いことを見出した。日本にもpark 6, 7, 9がハプロタイプ解析で存在していることが分かった。劣性遺伝形式を呈する家族性パーキンソン病もまた複数の遺伝子異常に伴うことが予想される。Zonisamideは低用量で著明な抗パーキンソン効果を示すことを確認した。作用機序としてTH活性亢進を介したドパミン産生亢進が考えられた。MIBG心筋シンチグラムにて、若年発症では明らかに障害度が、中年期以降発症群よりも低いことが判明した。共通チェックシートを使用し、DNAサンプル及び臨床情報を収集しており、平成14年度早期には患者1,000人のDNAに到達できることが期待される。連鎖のある領域も発表されつつあり、今後は患者1000人をもとに、そこにも重点をおき関連解析を大規模に行っていく。

D. 研究発表

1. Momose Y, Murata M, Kobayashi K, Tachikawa M, Nakabayashi Y, Kanazawa I, Toda T. Association studies of multiple candidate genes for Parkinson's disease using single nucleotide polymorphisms. Ann

- Neurol 51:133-136, 2002
2. Murata M, Horiuchi E, Kanazawa I. Zonisamide has beneficial effects on Parkinson's disease patients. *Neurosci Res* 41:397-399, 2001
 3. Imai Y, Soda M, Inoue H, Hattori N, Mizuno Y, Takahashi R. An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of parkin. *Cell* 105: 891-902, 2001
 4. Jeon BS, Kim JM, Lee DS, Hattori N, Mizuno Y. An apparently sporadic case with parkin gene mutation in a Korean woman. *Arch Neurol* 58: 988-989, 2001
 5. Kubo S, Kitami T, Noda S, Shimura H, Uchiyama Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y, Hattori N. Parkin is associated with cellular vesicles. *J Neurochem* 78: 42-54, 2001
 6. Lu CS, Wu JC, Tsai CH, Chen RS, Chou WYH, Hattori N, Yoshino H, Mizuno Y. Clinical and genetic studies on familial parkinsonism: The first report on a parkin gene mutation in a Taiwanese family. *Mov Disord* 16:164-166, 2001
 7. Nisipeanu P, Inzelberg R, Mouch A, Carasso RL, Blumen SC, Zhang J, Matsumine H, Hattori N, Mizuno Y. Parkin gene causing benign autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Neurology* 56:1573-1575, 2001
 8. Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, Frosch MP, Trockenbacher A, Schneider R, Mizuno Y, Kosik KS, Selkoe DJ. Ubiquitination of a new form of α -synuclein by parkin from human brain: Implications for Parkinson's disease. *Science* 293: 263-269, 2001
 9. Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, Watanabe Y, Nagao T, Yokochi M, Hamamoto M, Mizuno Y. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke* 32:1481-1486, 2001
 10. Takanashi M, Mochizuki H, Yokomizo K, Hattori N, Mori H, Yamamura Y, Mizuno Y. Iron accumulation in the substantia nigra of autosomal recessive juvenile parkinsonism (ARJP). *Parkinsonism Related Disord* 7: 311-314, 2001
 11. Wang M, Suzuki T, Kitada T, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Tanaka K, Mizuno Y, Hattori N. Developmental changes in the expression of parkin and UbcR7, a parkin-interacting and ubiquitin-conjugating enzyme, in rat brain. *J Neurochem* 77:

- 1561-1568, 2001
12. Mizuno Y, Hattori N, Mori H, Suzuki T, Tanaka K. Parkin and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 14: 477-482, 2001
13. Tanaka K, Suzuki T, Chiba T, Shimura H, Hattori N, Mizuno Y. Parkin is linked to the ubiquitin pathway. *J Mol Med* 79: 482-494, 2001
14. Mizuno Y, Hattori N, Kitada T, Matsumine H, Mori H, Shimura H, Kubo S, Kobayashi H, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N. Familial Parkinson's disease α -synuclein and parkin. *Parkinson' Disease: Advanced in Neurology* vol. 86, Calne D, Clane S, eds, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, pp 13-21
15. Yamamoto M. Depression in Parkinson's disease: its prevalence, diagnosis, and neurochemical background. *J Neurol* 48 Suppl 3:5-11, 2001
16. Ujike H, Yamamoto M, Kanzaki A, Okumura K, Takaki M, Kuroda S. Prevalence of homozygous deletions of the parkin gene in a cohort of patients with sporadic and familial Parkinson's disease. *Mov Disord* 16:111-113, 2001
17. Kobayashi K, Sasaki J, Kondo-Iida E, Fukuda Y, Kinoshita M, Sunada Y, Nakamura Y, Toda T. Structural organization, complete genomic sequences, and mutational analyses of the Fukuyama-type congenital muscular dystrophy gene, fukutin. *FEBS Lett* 489:192-196, 2001
18. Togo M, Toda T, Nguyen LA, Kubota S, Tsukamoto K, Satoh H, Hara M, Iso-o N, Noto H, Kimura S, Nakahara K, Seyama Y, Hashimoto Y. Genetic analysis of phytosterolaemia. *J Inherit Metab Dis* 24:43-50, 2001
19. Trana TD, Kroepfla T, Saito M, Nagura M, Ichiseki H, Kubota M, Toda T, Sakakihara Y. The gene copy ratios of SMN1/SMN2 in Japanese carriers with type I spinal muscular atrophy. *Brain Dev* 23:321-326, 2001
20. Toda T, Sasaki J, Tachikawa M, Kano H, Kobayashi K. Molecular genetics of Fukuyama CMD and fukutin. *Acta Myologica* 20:92-95, 2001
21. Yoshida A, Kobayashi K, Many H, Taniguchi K, Kano H, Mizuno M, Inazu T, Mitsuhashi H, Takahashi S, Takeuchi M, Herrmann R, Straub V, Talim B, Voit T, Topaloglu H, Toda T, Endo T. Muscular dystrophy and neuronal migration disorder caused by mutations in a novel glycosyltransferase, POMGnT1. *Dev*

- Cell 1:717-724, 2001
22. Yoshioka M, Kuroki S, Sasaki H, Baba K, Toda T. A variant of congenital muscular dystrophy. Brain Dev 24:24-29, 2002
23. Chiyonobu T, Yoshihara T, Fukushima Y, Yamamoto Y, Tsunamoto K, Nishimura Y, Ishida H, Toda T, Kasabuchi Y. Sister and brother with Vici syndrome: agenesis of the corpus callosum, albinism, and recurrent infections. Am J Med Genet 109:61-66, 2002
24. Kano H, Kobayashi K, Herrmann R, Tachikawa M, Manya H, Nishino I, Nonaka I, Straub V, Talim B, Voit T, Topaloglu H, Endo T, Yoshikawa H, Toda T. Deficiency of α -dystroglycan in muscle-eye-brain disease. Biochem Biophys Res Commun 291:1283-1286, 2002
25. Zanoteli E, Rocha JCC, Narumia LK, Fireman MAT, Moura LS, Oliveira ASB, Gabbai AA, Fukuda Y, Kinoshita M, Toda T. Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: a case report in the Japanese population living in Brazil. Acta Neurol Scand (in press)
26. Tachikawa M, Nagai Y, Nakamura K, Kobayashi K, Fujiwara T, Han H-J, Nakabayashi Y, Ichikawa Y, Goto J, Kanazawa I, Nakamura Y, Toda T. Identification of CAG repeat-containing genes expressed in human brain as candidate genes for autosomal dominant spinocerebellar ataxias and other neurodegenerative diseases. J Hum Genet (in press)

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

分担研究報告書

ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン病原因遺伝子の同定と
オーダーメイド医療の確立に関する研究

分担研究者 村田美穂 東京大学大学院医学系研究科 助手

研究要旨 抗てんかん薬として開発された zonisamide に著明な抗パーキンソン効果のあることを発見し、オープン研究を行った。作用機序の一つとして TH 活性亢進を介するドパミン合成促進作用を明らかにした。

総括研究者 戸田達史
大阪大学大学院医学系研究科
教授

A. 研究目的

パーキンソン病を疾患概念が確立した疾患単位であるが、実際には各種の抗パーキンソン病薬に対する効果や副作用の出現の仕方は患者により様々であり、これこそが我々が本研究を企画した理由である。患者により個体差が大きくかつパーキンソン病治療中の最も大きな問題点の一つに wearing-off 現象がある。我々は今回抗けいれん薬として我が国で開発された zonisamide が著明な抗パーキンソン効果を持つことを見い出したのでオープン研究を行い、さらに動物実験により作用機序を明らかにする。

B. 研究方法

1. 臨床研究：パーキンソン病患者 10 名に現在の治療に加え zonisamide 50-200 mg を投与し、症状の変化及び副作用について Unified Parkinson Disease Rating scale (UPDRS)により評価した。

(倫理面への配慮)

本研究はすでに抗てんかん薬として厚生省の認可を得て市販されている薬剤であり、安全性については確認されている。しかし、パーキンソン病においては未承認であるため、東京大学医学部附属病院治療審査委員会（未承認薬・用具臨床使用）の承認のもと、患者より文書同意を得た上で施行した。

2. 動物実験：ラットに zonisamide を経口投与し、

線条体のドパミン含量及び tyrosine hydroxylase (TH) 活性を測定した。

C. 研究結果

zonisamide は 50-100mg(抗けいれん薬での常用量は 300-400mg)で明らかな抗パーキンソン効果を示し、得に wearing-off には著効を呈した。副作用は軽い口渇のみで、極めて安全と考えられた。

zonisamide 投与によりラット線条体内でドパミン含量及び TH 活性は有意に上昇していた。

D. 結論

Zonisamide は低用量で著明な抗パーキンソン効果を示すことを確認した。作用機序として TH 活性亢進を介したドパミン産生亢進が考えられた。現在我々が中心になり zonisamide のパーキンソン病への適応拡大のための治験を進めている。

E. 研究発表

1. 論文発表

Murata M, Horiuchi E, Kanazawa I: Zonisamide has beneficial effects on Parkinson's disease patients. *Neurosci Res.* 41:397-399, 2001

2. 学会発表

村田美穂, 堀内恵美子, 金澤一郎: 抗てんかん薬 zonisamide の抗パーキンソン作用. 第 42 回日本神経学会総会 2002, 東京。

堀内恵美子, 村田美穂, 金澤一郎: Zonisamide の抗パーキンソン作用発現機序. 第 42 回日本神経学会総会 2002, 東京。

厚生科学研究補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書
常染色体劣性遺伝性パーキンソン病の新規遺伝子座の同定と
原因遺伝子の単離を目指して
分担研究者 服部信孝 順天堂大学医学部脳神経内科

研究要旨 研究要旨：単一遺伝子異常でおこる若年性パーキンソン病の多くはパーキン遺伝子変異によることが我々の研究グループにより明らかにされた。しかしながら、一部の症例では若年性パーキンソン病の臨床型を持ちながらパーキン遺伝子変異を持たない患者が存在する。最近になり、常染色体劣性であり、パーキン遺伝子による park2 ではない park6, park7 ないし park9 が新規遺伝子座として同定された。何れも外国症例であり、我が国に同じ遺伝子座に連鎖する家系が存在するのことは明らかにされていない。本研究テーマは新規遺伝子座に連鎖する家系の存在有無を検討すると共に新しい原因遺伝子単離を目指すことを目的とした。更に単一遺伝子異常に伴う遺伝性パーキンソン病のみならず common form としてのパーキンソン病についても感受性遺伝子の関与を想定し、候補遺伝子の遺伝子多型を中心に解析し、感受性遺伝子の同定を目指す。

A. 研究目的

常染色体劣性若年性パーキンソンニズム (AR-JP) の原因遺伝子であるパーキン遺伝子は若年発症の家族性パーキンソン病において頻度の高い原因遺伝子として認識されつつある。しかしながら、パーキン遺伝子の変異を全く持ち得ない家系や症例が存在することが分かってきており、劣性遺伝に伴う若年発症のパーキンソン病もまた別の遺伝子による可能性が検討されている。最近になり、ヨーロッパを中心に常染色体 1 番に連鎖する家系の報告があった。そこで我々もパーキン遺伝子に変異を持たない家系について報告されているマイクロサテライトマーカーを用いてハプロタイプ解析を行った。

B. 方法

パーキン遺伝子変異も持たない症例 30 家系について既報されている park6, park7 についてハプロタイプ解析を行った。lod score は parametric Two-point 解析で行った。

倫理面の配慮：

i) 遺伝子結果については研究対象者の不利益について説明を十分し、インフォームドコンセントに基づきプライバシーの保護を

徹底した。遺伝子解析結果については患者本人の希望があれば、情報として提供した。

この際においても個人のプライバシーの保護は遵守した。他施設からの遺伝子検索依頼についても、同様にインフォームドコンセントに基づき行われるよう指導した。

C. 研究結果：

7 家系についてハプロタイプからは park6 に連鎖している可能性があった。parametric two-point linkage では $\theta=0$ で D1S478 をピークに lod score = 3.04 を示した。

D. 考察

Park6, 7 に連鎖する家系が我が国も存在していることが判明した。park7 については現在マイクロサテライトマーカーの日本人頻度を検討中であり、lod score は算出していないが、ハプロタイプからは存在している可能性がある。また park6, 7 と両遺伝子領域に連鎖する家系も存在していた。park7 に連鎖する家系で発症年齢が 10 歳代で痴呆を伴う家系も存在していた。この park7 というより park9 の臨床型に類似していた。現在 park6, 7, 9 は全て常染色体 1 番に連

鎖しているが、それぞれの遺伝子座は十分に離れており、別の遺伝子であることが推測されているが、単一遺伝子である可能性も完全には否定できない。特に park7 と park9 はマーカーに重なりがあり、allelic disorder の可能性も否定できない。

E: 結論

park 6, 7, 9 がハプロタイプ解析で存在していることが分かった。park6, 7 は特に AR-JP に臨床型が類似しており、我々研究室では AR-JP に臨床型は類似しているがパーキン遺伝子変異をもたない症例が少なからず存在していることを確認している。このような背景から推定しても劣性遺伝形式を呈する家族性パーキンソン病もまた複数の遺伝子異常に伴うことが予想される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

(1) 論文発表

(英文原著)

[論文発表]

Imai Y, Soda M, Inoue H, Hattori N, Mizuno Y, Takahashi R. An unfolded putative transmembrane polypeptide, which can lead to endoplasmic reticulum stress, is a substrate of parkin. *Cell* 105: 891-902, 2001

Jeon BS, Kim JM, Lee DS, Hattori N, Mizuno Y. An apparently sporadic case with parkin gene mutation in a Korean woman. *Arch Neurol* 58: 988-989, 2001

Kubo S, Kitami T, Noda S, Shimura H, Uchiyama Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y, Hattori N. Parkin is associated with cellular vesicles. *J Neurochem* 78: 42-54, 2001

Lu CS, Wu JC, Tsai CH, Chen RS, Chou WYH, Hattori N, Yoshino H, Mizuno Y. Clinical and genetic studies on familial parkinsonism: The first report on a parkin gene mutation in a Taiwanese family. *Mov Disord* 16: 164-166, 2001

Nisipeanu P, Inzelberg R, Mouch A, Carasso RL, Blumen SC, Zhang J, Matsumine H, Hattori N, Mizuno Y. Parkin gene causing benign autosomal recessive juvenile parkinsonism. *Neurology* 56:1573-1575, 2001

Shimura H, Schlossmacher MG, Hattori N, Frosch MP, Trockenbacher A, Schneider R, Mizuno Y, Kosik KS, Selkoe DJ. Ubiquitination of a new form of α -synuclein by parkin from human brain: Implications for Parkinson's disease. *Science* 293: 263-269, 2001

Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, Watanabe Y, Nagao T, Yokochi M, Hamamoto M, Mizuno Y. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke* 32: 1481-1486, 2001

Takanashi M, Mochizuki H, Yokomizo K, Hattori N, Mori H, Yamamura Y, Mizuno Y. Iron accumulation in the substantia nigra of autosomal recessive juvenile parkinsonism (ARJP). *Parkinsonism Related Disord* 7: 311-314, 2001

Wang M, Suzuki T, Kitada T, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Tanaka K, Mizuno Y, Hattori N. Developmental changes in the expression of parkin and UbcR7, a parkin-interacting and ubiquitin-conjugating enzyme,

in rat brain. *J Neurochem* 77: 1561-1568, 2001

[総説]

Mizuno Y, Hattori N, Mori H, Suzuki T, Tanaka K. Parkin and Parkinson's disease. *Curr Opin Neurol* 14: 477-482, 2001

Tanaka K, Suzuki T, Chiba T, Shimura H, Hattori N, Mizuno Y. Parkin is linked to the ubiquitin pathway. *J Mol Med* 79: 482-494, 2001

(英文・単行本)

Mizuno Y, Hattori N, Kitada T, Matsumine H, Mori H, Shimura H, Kubo S, Kobayashi H, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N. Familial Parkinson's disease α -synuclein and parkin. *Parkinson' Disease: Advanced in Neurology* vol. 86, Calne D, Clane S, eds, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001, pp 13-21

和文総説・著書

服部信孝. II 基礎編 2.家族性パーキンソン病 A. 分類. パーキンソン病ハンドブック, 水野美邦編, 中外医学社, 東京, 2001, pp 303-309

服部信孝. II 基礎編 2.家族性パーキンソン病 C. 常染色体劣性若年性パーキンソニズム. パーキンソン病ハンドブック, 水野美邦編, 中外医学社, 東京, 2001, pp 317-326

服部信孝, 志村秀樹: ユビキチンリガーゼとしての Parkin と Parkinson 病と家族性 Parkinson 病から孤発型 Parkinson 病へ. *実験医学* 19:162-167, 2001.

服部信孝, 久保紳一郎, 北見聡章, 王 梅, 佐藤健一, 水野美邦. parkin 遺伝子と

その異常. *Clinical Neuroscience* 別刷 19: 656-659, 2001

服部信孝, 水野美邦. 遺伝性パーキンソン病の発症機構. 先端医療シリーズ 14 神経・筋疾患 神経・筋疾患の最新医療, 杉田秀夫・福内靖男・柴崎 浩監修, 糸山泰人・小林祥泰・祖父江元編集, (株)寺田国際事務所/先端医療技術研究所, 東京, 2001, pp 23-28

服部信孝, 水野美邦. パーキンソン病の病態解明に向けて今ここまで原因がわかった. *Molecular Medicine* 38: 1236-1246, 2001

服部信孝, 鈴木俊顕, 高橋良輔. ユビキチンリガーゼとしての parkin と Parkinson 病-家族性 Parkinson 病から孤発型 Parkinson 病へ-. *医学のあゆみ* 198: 383-388, 2001

服部信孝. 若年性パーキンソン病原因遺伝子産物パーキン蛋白の細胞内局在. *生体の科学* 52: 613, 2001

服部信孝, 水野美邦. ミトコンドリア機能異常と神経変性疾患-パーキンソン病におけるミトコンドリア機能異常を中心に-*内分泌・糖尿病科* 13: 478-485, 2001

久保紳一郎, 服部信孝, 水野美邦. パーキンソン病の研究の方向と進歩. *老年医学* 14: 55-61, 2001

今居謙, 服部信孝, 高橋良輔. パーキンソン病: 異常タンパク質蓄積による神経細胞死病. *実験医学* 19: 2277-2282, 2001

久保紳一郎, 服部信孝, 水野美邦. Parkinson 病最前線. *最新医学* 56:1588-1594,

2001

Tanaka K, Suzuki T, Chiba T, Shimura H, Hattori N, Mizuno Y: Parkin is linked to the ubiquitin pathway. *J Mol Med.* 2001 79:482-94, 2001

2. 学会発表

Hattori N: Parkin as a ubiquitin ligase. 9th IWCN meeting, Sundance, Utah, March 12-14, 2001

Hattori N: Autosomal recessive juvenile parkinsonism: A key to the understanding of nigral degeneration in sporadic Parkinson's disease. *NeuroGenes Closing Symposium*, Vancouver, Canada, March 26-27, 2001

Hattori N, Kubo S, Sato K, Kitami T, Shimura H, Schlossmacher M, Kitada T, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Suzuki T, Tanaka K, Mizuno Y. Autosomal recessive juvenile parkinsonism: A key to the understanding of nigral degeneration in sporadic Parkinson's disease. 5th International conference on progress in Alzheimer's disease and Parkinson's disease, Kyoto, Japan, March 31-April 5, 2001

Hattori N, Asakawa S, Yoshino H, Imamichi Y, Kitada T, Minoshima S, Shimizu N, Mizuno Y. Parkin mutations in young-onset Parkinson's disease. XIV International Congress on Parkinson's Disease, Helsinki, Finland, July 28-August 1, 2001

Hattori N. Introduction: Inclusion bodies in neurodegenerative disorders: A key to the understanding the mechanism of cell death? 8th CGGH Symposium "New paradigms of molecular chaperones in the

postgenome era", Sapporo, August 6-9, 2001

Hattori N. Abnormal proteins and Parkinson disease. Xth International Symposium, The New Frontiers of Neurochemistry and Biophysics on Diagnosis and Treatment of Neurological Diseases, Firenze, Italy, October 11-13, 2001

服部信孝: Parkin 遺伝子の変異および機能解析, [ヒトゲノム・ミレニアム研究への挑戦], 沖縄, 1月26-29日

服部信孝: Parkin の黒質神経変性における役割, 公開セミナー [ヒトゲノム解析の最前線と医療へのインパクト], 琉球大学, 沖縄, 1月29日
服部信孝, 吉野浩代, 浅川修一, 今道洋子, 蓑島伸生, 清水信義, 水野美邦. パーキン遺伝子の変異解析-続報-. 第42回日本神経学会総会, 東京, 5月11-13日, 2001

服部信孝, 久保紳一郎, 佐藤健一, 吉野浩代, 川村洋子, 水野美邦, 浅川修一, 蓑島伸生, 清水信義, 鈴木俊顕, 田中啓二, 今居謙, 高橋良輔, 志村秀樹, Selkoe D. パーキンソン病発症の分子機構: 家族性パーキンソン病から分かること. 第8回日本遺伝子診療学会大会, 東京, 9月6-7日, 2001

服部信孝. ユビキチンリガーゼパーキンは孤発型パーキンソン病病態解明のブレイクスルーになるか? 文部科学省特定領域研究(B)平成13年度公開シンポジウム, 京都, 12月20-21日, 2001

服部信孝. 同窓会学術奨励賞受賞記念講演, 家族性パーキンソン病の分子遺伝学. 第297回順天堂医学会学術集会 診療・研究の最前線, 11月17日, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
分担研究報告書

ゲノム多型情報を基盤としたパーキンソン病原因遺伝子の同定と
オーダーメイド医療の確立に関する研究

分担研究者 山本光利 香川県立中央病院神経内科主任部長

研究要旨 パーキンソン病患者において MIBG 心筋シンチグラムを行い有意な MIBG の取り込みの低下を認め、約 90% の患者で MIBG の取り込みが低下していることを明らかにした。本検査はパーキンソン病の補助診断法として有用である。

総括研究者 戸田達史
大阪大学大学院医学系研究科
教授

臨床研究 1.

A. 研究目的

パーキンソン病を疾患概念が確立した疾患単位であるが、近年パーキンソン病は単一の病気ではいとの立場から論じる一派もある (D.Calne,2001)。臨床的にパーキンソン病の亜型を明確にすることはオーダーメイド医療を行う上で重要な情報である。

B. 研究方法

臨床研究：MIBG 心筋シンチグラムがパーキンソン病患者で MIBG の取り込みが低下しているとの報告があるが、20-30 例と少数例での報告である。我々はより多数のパーキンソン病患者での本検査の意義を明らかにするために、パーキンソン病患者 150 名に現在の治療下で MIBG 心筋シンチグラムを実施した。神経学的、糖尿病がなく、抗うつ薬などの検査に影響のあることが知られている薬剤服薬中患者、および対照群(N=31)は検査から除外した。本検査は患者の同意を得て行った。MIBG 静脈注射後の 15 分（早期像）、4 時間後（後期像）の二回 MIBG の心臓交感神経への取り込みを測定した。

C. 研究結果

	早期像	後期像
パーキンソン病	1.67*	1.52*
対照群	2.19	2.30

数字：平均値。 *P<0.0001

D. 結論

パーキンソン病においては対照群と比較して早期、後期像共に有意に低下していた。重症度と MIBG の取り込み低下は有意な相関を示したが、パーキンソン病の約 10% は正常値を示した。これはパーキンソン病の中に亜型が存在することを示す。交感神経機能に関連したゲノム機能の解析により本検査法の意義が明らかにされる可能性がある。

研究発表

1. 論文発表

Yamamoto M.

Depression in Parkinson's disease: its prevalence, diagnosis, and neurochemical background.

J Neurol. 48 Suppl 3:5-11,2001

2. 山本光利. 疾患と薬物療法；パーキンソン病.

CLINICAL NEUROSCIENCE 19:162-165, 2001

2. 学会発表

Yamamoto M, Kamata H. 11Cardiac uptake of

123I-metaiodobenzylguanidine(MIBG) in

Parkinson's Disease.

第 14 回 International Congress on Parkinson's disease.

Helsinki, Finland, July 30,2001

臨床研究 2：ゲノム解析のための資料収集

1. オーダーメイド医療の基礎調査のために、パーキンソン病患者背景の調査票の作成を分担研究者の村田美穂、服部信孝と共同で行った。

2. 分担として、本年度においてパーキンソン病患者

者 150 名において文書同意を得た後に採血を行い、東京大学神経内科へ検体を送付した。また、共同作成した調査票を用いて、患者背景のカルテ調査および聞き取り調査を行った。この作業と平行して患者の現在の神経および精神症状の評価を行い、これらの結果をデータベースに入力作業を行った。

3.同意取得状況

当病院の倫理委員会より本研究に対して実施の許可承認を得た。倫理的配慮を十分に行うようにとのコメントが付与された。現在、この許可に基づき本人または許諾者（患者本人が書字困難な場合にのみ）の同意のもとに採血を行っている。