

厚生科学研究費補助金

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 13 年度 総括研究報告書

主任研究者 有馬 邦正

平成 14 (2002) 年 3 月

目次

I. 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……………	1
有馬 邦正 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
II. 分担研究報告	
1. 生検バンクを使用したウールリッヒ型先天性筋ジストロフィー (ウールリッヒ病) の 病因に関する研究 ……………	15
桒中 征哉 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
2. 他施設にて筋生検された後に当院に入院精査した症例……………	17
川井 充 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
3. 精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究……………	19
後藤 雄一 (国立精神・神経センター 神経研究所)	
4. 国立精神・神経センター生検 RRN における筋芽細胞の保存状況と今後の課題……………	29
後藤 雄一 (国立精神・神経センター 神経研究所)	
5. 肺小細胞癌で抗 GM1 抗体が陽性だった、感覚運動ニューロパチーの1例 - 生検 腹神経の検討 - ……………	31
橋本 和季 (国立療養所 道北病院)	
6. 脊髄性筋萎縮症における Survival Motor Neuron gene コピー数の検索とその意義…	32
石川 幸辰 (国立療養所 八雲病院)	
7. 国立病院における脳バンクの多施設共同利用による成果の検証……………	33
木村 格 (国立療養所 山形病院)	
8. 筋ジストロフィー遺伝子に関する研究……………	34
川村 潤 (国立療養所 東埼玉病院)	
9. 近位筋障害優位の遺伝性運動感覚性ニューロパチー(滋賀県型)と考えられる1家系…	35
齋田 孝彦 (国立療養所 宇多野病院)	
10. ハンチントン病の1剖検例と遺伝子解析の問題点……………	38
高橋 桂一 (国立療養所 兵庫中央病院)	
11. 保存リンパ球を用いた免疫性神経疾患における末梢血 Th1/Th2 バランスの検討 およびT細胞レセプターβ鎖レパトアの特性解析……………	39
渋谷 統壽 (国立療養所 川棚病院)	
12. 脊髄小脳変性症の臨床遺伝子検査の現状と問題点……………	40
中島 孝 (国立療養所 犀潟病院)	
13. 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの遺伝子診断に関する研究……………	43
園田 至人 (国立療養所 南九州病院)	
14. 精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究……………	44
今野 秀彦 (国立療養所 西多賀病院)	
15. マルチプレックスウエスタンブロット解析による calpain3 蛋白異常の検出……………	45
南 成祐 (国立精神・神経センター 武蔵病院)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ……………	47
IV. 研究成果の刊行物・別刷 ……………	49

I. 総括研究報告書

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 有馬邦正 国立精神・神経センター
武蔵病院 臨床検査部長

研究要旨：

本研究は、(1) 神経・筋疾患の生検組織を研究資源として確保し登録すること（生検組織バンク事業）、(2) 登録組織を用いて神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する多施設共同研究を推進すること（研究事業）、の2つを目的とする。

神経・筋疾患の病態解明研究と治療法開発をめざす基礎的研究には、ヒトから得られた研究材料が必要不可欠である。神経・筋疾患研究資源ネットワークシステム（リサーチ・リソース・ネットワーク、RRN）は、生検等で得られた神経・筋疾患の組織および検体（筋・末梢神経、DNA、培養細胞）を、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、全国ネットワークで組織検体と情報を蓄積してきた。平成13年の検体の新規登録は225件であり、検体の総登録数は1400件を超えた。各種の先天性筋ジストロフィーを含めて、多様な疾患が研究使用のために提供される体制がとられており、内外の研究者に多数の検体が提供されている。

ヒト組織検体を研究使用する場合には、研究倫理の厳守が求められる。「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が平成13年4月から施行されたのを受けて、検体提供時のインフォームド・コンセントの書式を改め、「遺伝子診断使用」「遺伝子解析研究への使用」を明記した。

医学研究方法の多様化と、倫理規範の整備に伴い、登録されている生検組織検体の研究使用に関する承諾内容を明記する必要が生じた。そこで、個々の検体がどのような研究に使用可能かを、ネットワーク上で確認できるようにした。このネットワークを拡大して全国の研究者に公開し、共同研究を支援し発展させている。

平成13年度までに神経・筋疾患の遺伝子診断や蛋白発現レベルの診断など、診断方法の開発に関する研究や、病態解明に関する分子生物学的研究を多施設共同研究として実施してきた。また、遺伝子診断に付随する遺伝カウンセリングなどの医療上の問題についても包括的な研究を実施した。

分担研究者

埜中 征哉：国立精神・神経センター
武蔵病院 院長

川井 充：国立精神・神経センター
武蔵病院 第二病棟部 部長

後藤 雄一：国立精神・神経センター
神経研究所疾病研究第二部 部長

橋本 和幸：国立療養所 道北病院
神経内科 医長

石川 幸辰：国立療養所 八雲病院
副院長

木村 格：国立療養所 山形病院
院長

川村 潤：国立療養所 東埼玉病院
副院長

齊田 孝彦：国立療養所 宇多野病院
院長

高橋 桂一：国立療養所 兵庫中央病院
名誉院長

渋谷 統壽：国立療養所 川棚病院
院長

本吉 慶史：国立療養所 下志津病院
神経内科 医長

中島 孝：国立療養所 犀潟病院
神経内科 医長

園田 至人：国立療養所 南九州病院
神経内科 医長

今野 秀彦：国立療養所 西多賀病院
臨床検査科 科長

南 成祐：国立精神・神経センター
武蔵病院臨床検査部 医療技術員

A. 研究目的

分子遺伝学的・分子細胞生物学的研究は急速に進歩している。この基礎的成果を、ヒトの神経・筋疾患研究へ応用する際に、患者の脳・神経・筋組織等をもっとも重要な研究資源である。しかし、ヒトの脳・神経・筋組織の供給源は、診断を目的とする生検と、治療を目的とする手術切除組織に概ね限られる。神経・筋疾患の生検は、検査件数が限られ、検体が各施設に分散しているため、「神経・筋疾患の分子遺伝学および分子細胞生物学的」研究を実施する場合に、対象とする疾患の検体（研究試料）を入手することに非常に困難が生じている。

本研究の目的は、(1) 複数の施設で生検により入手された組織検体を、凍結保存し、リサーチ・リソース・ネットワーク（RRN）にデータベース登録し、研究資源として確保するシステムを維持発展させること（生検組織バンク事業）、(2) この登録組織検体を用いて各種神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する多施設共同研究を推進すること（研究事業）、の2つである。

神経・筋疾患の凍結組織を保存する理由は、DNA解析のほか、生化学的・タンパク化学的解析、免疫組織化学的解析などの多様な研究の資源としていつでも利用することができるからである。

進行性筋ジストロフィーや先天性ミオパチーなどの筋疾患や神経難病の患者は、長期入院や在宅介護を余儀なくされている。本研究事業により、慢性神経・筋疾患の発生機序解明と治療法開発が加速され、実現すれば、患者の福祉と国民の保健が向上し、更に医療費の削減もはかることができる。

B. 研究方法

平成13年度からは生検神経・筋組織を対象とする研究に組織機構の改変が行われた。

従来の生検組織ネットワークを更に充実させることを目標に生検組織バンク事業を行った。主任、分担および協力研究者が所属する施設において、それぞれ神経・筋疾患研究に必要な生検筋や検体等を積極的に入手して参加各施設に集積保存し、検体の情報をRRNの生検データベースに登録し、この組織検体を活用し、神経・筋疾患の発生機序と治療法に関する研究を行った。また、筋芽細胞の蓄積

をすすめた。RRNへの登録状況の公開はHOSPnet上の政策医療ネットワークのホームページを通して行っている。

生検により得られる組織検体の量は少量であるため、研究に使用するとなくなってしまう。このため、常時新しい生検組織を補充する必要があり、継続的な生検組織の入手に努めている。また診断精度の向上と診断を最新のものにする努力を継続している。

平成13年度は以下の2人の分担研究者が研究組織に加わった。園田至人は顔面肩甲上腕型（FSH）筋ジストロフィーの遺伝子解析研究を担当する。今野秀彦は東北地区の神経・筋疾患政策医療ネットワーク病院・療養所の神経難病を対象とする形態学的診断のネットワーク整備と研究試料蓄積作業に着手した。

研究事業では、病態解明と診断方法の確立を目的とした分子生物学的・細胞病理学的研究を重点的に実施した。また、遺伝子診断に伴う臨床的問題点について包括的な研究を行った。

倫理面への配慮

RRNでは、生検神経・筋組織の提供者（患者）からインフォームド・コンセントにもとづく「研究使用の同意」を得ている場合のみデータベース登録している。この目的で、主任研究者の所属する国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部DNA診断・治療室では、国立精神・神経センター倫理委員会で承認された、「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」を使用してきた。また、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が平成13年4月に施行されたのを受けて、検体の提供時に「遺伝子診断使用」「遺伝子解析研究への使用」を明記した改訂版承諾書を同センター倫理委員会に審査申請し、承認を得た後、平成13年8月から使用している。このインフォームド・コンセントでは遺伝カウンセリングの提供についても明記している。この新承諾書に類似する承諾書をネットワークに参加する分担研究者の施設でも整備するよう働きかけている。

更に、治療を目的とする手術により切除された組織を、病理組織診断終了後に研究に使用することを目的に、「外科手術組織の病理

検体の研究使用と保存についての同意書」を新たに作成し、国立精神・神経センター倫理委員会で承認を受けたうえで、平成13年10月から使用開始した（別添資料1）。

登録されている生検組織検体の研究使用に関する承諾内容を明記するデータベース修正を平成13年におこなった。これにより「遺伝子解析の特定をしない研究使用が可能」、「遺伝子解析研究に使用することが可能」が表示され、ネットワーク上で個々の検体が研究使用可能かどうかを確認できるようになった。

さらに、個人情報の保護には最大限の注意をはらう。データベース上は個人情報、臨床情報が判明しないシステムとする。DNA検査等について、倫理委員会で十分検討して承諾書を作成し、承認を受ける。使用申し込みを受け付ける審査会を作り、使用を認める際も必要最小限の情報に限定し（臨床情報保管施設の同意が得られる最小限の情報に限る）、個人の同定につながる情報は一切開示しない。試料提供者が不利益をこうむることがないよう最大限の努力をはらっている。

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)バンク組織の利用規約の作成を行い、ガイドラインを作成した。

RRNへの検体登録事業では、平成13年の検体の新規登録は225件であり、検体の総登録数は1400件を超えた（表1）。RRNには主要な筋疾患が多数登録されている。登録件数の上位20位を表2に示す。

また、筋疾患患者骨格筋の筋芽細胞の樹立は平成13年に新たに100検体を加え、総数298検体となった。これにより筋疾患の病態の細胞生物学的研究が可能となった。更に、患者の長期凍結保存リンパ球からその機能解析（Th1/Th2バランスおよびT細胞レセプターβ鎖レパトア）が可能であることが本研究で明らかにされた。これはRRN機能の将来の拡充の視点から重要である。

この生検組織を活用して、多数の研究が進行あるいは完結している。RRNの中核施設である国立精神・神経センターの生検バンクの他施設への検体の供与は平成13年は総計15件であり、供与検体数はのべ471件であった（表3）。この成果は国際誌に次々と発表されている。特に本邦における肢帯型筋ジストロフィーの研究の大きな進歩は本研究によるところが大きい（Chae J, et al. *Neuromuscul Disord*, 2001;11:547-555, Nonaka I, et al. *Acta Myolog* 2001;20:83-86）。

平成13年度の研究成果のうち、筋疾患の診断方法の確立に関する研究は以下の通りである。

(1) 常染色体劣性遺伝を示す先天性筋ジストロフィーの1病型であるUllrich病が、コラゲンVIタンパクの欠損症であり、筋細胞の基底膜においてコラゲンVIの免疫反応性が欠如していることを明らかにした。また、遺伝子解析により第21染色体上のCOL6A2遺伝子の新しい変異を見いだした。これにより、本疾患の生検筋組織の免疫組織化学による診断が可能となった。また、コラゲンVIは生理的には基底膜とコラゲンI/III線維の接着因子として機能することから、本疾患の病態が明らかになってきた。

(2) Duchenne型筋ジストロフィーでは、*dystrophin* 遺伝子の微小変異が原因となっている場合にはその変異の検出が困難である。しかし、直接塩基配列決定法を用いることにより多数例で微小変異を同定した。

(3) 顔面肩甲上腕型（FSH）筋ジストロフィー106例を遺伝子解析し、第4染色体上のEcoR1でのshort fragmentationを85%に認めた。今後はこのshort fragmentationと臨床症状との関連性を検討する。

(4) 肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）2A型（calpain 3異常症）の筋組織における蛋白発現の変化がミニマルチプレックスウエスタンプロット（MMW）法により検出できることを明らかにした。これにより効率的なスクリーニングが可能となった。

(5) 筋生検診断に際しては、十分な臨床情報が必須であり、また生検部位の選択と検体処理方法に留意する必要がある、これらがみとされない場合、診断に至らないことがあることが明らかにされた。

次に、神経疾患領域では、以下の研究成果を上げた。

(1) 脊髄性筋萎縮症 (SMA) の原因遺伝子 survival motor neuron (SMN) gene のコピー数を同定するアッセイ系を作成した。これは患者の診断のみでなく、保因者診断にも使用できる。

(2) 抗 GM1 抗体陽性の肺小細胞癌に伴う感覚運動ニューロパチーの 1 症例では、末梢神経の T 細胞浸潤を伴う microvasculitis が特徴となっていた。

(3) 遺伝性運動感覚性ニューロパチー (滋賀県型) の 1 家系を新たに見出し、病態解析を行った。

(4) 神経難病の遺伝子診断の実施と、それに伴う倫理的課題、遺伝カウンセリングなどの医療の実際的課題を検討した。

(5) 東北地域で多施設にわたる神経筋・疾患診断ネットワークの構築が行われている。

D. 考察

研究の結果をまとめると、国立精神・神経センターと国立療養所 13 施設が共同して、生検神経・筋組織を研究目的で保存し、HOSPnet 上に RRN という全国ネットワークを構築し、検体情報のデータベース登録を行っている。生検組織の研究使用の条件であるインフォームド・コンセントは「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」

(平成 13 年 4 月施行) を遵守するために、修正を加えた。また、研究使用の承諾の内容を RRN の検索画面で確認できるようデータベースの改善を行った。

このシステムを用いて、多施設共同研究が推進されている。また、まれな疾患の DNA 診断についてはネットワーク内での診断業務の分担が可能となった。更に、RRN を契機として地域の病理診断ネットワークが構築された。従って、RRN は神経・筋疾患の診断と病態解明研究において多大な貢献をしてきたといえることができる。

今後は以下の問題を継続的に解決し、神経・筋疾患の治療法開発にむけて研究を実施する必要がある。

1. 生検組織検体は元来小さな検体であるので、研究使用により無くなってしまふ。従って、新しい検体を常時補給する必要がある。また、臨床医学の進歩により、疾患の診断が大

幅に変更されてきている。生検組織バンクとして機能するためには、保存検体の診断を常時更新していく必要がある。また、RRN データベースの疾患分類も更新する必要がある。

2. 脳腫瘍やてんかんなど外科手術に際して切除された病理組織の診断終了後の余剰検体は、該当疾患の病態解明にとって貴重な資源である。インフォームド・コンセントを得た上で RRN に登録をする必要がある。

3. 研究倫理の遵守とインフォームド・コンセントの徹底は、RRN システム管理上の重要な課題である。検体提供者の個人情報データベースには最小限しか登録されない仕様となっており、ネットワーク上からの個人情報の漏洩はおこらない。

4. 多施設共同研究は現在相当数実施されている。しかし、今後は更に大規模な共同研究の実施が望まれる。

5. 神経・筋疾患の診断法開発に関する研究には飛躍的な進歩があった。今後は治療法開発を視野に入れた研究が推進される必要がある。

6. 生検組織登録数の 65% は国立精神・神経センターに保存されている筋組織であり、研究活動でも、同センターが主導的役割を果たしている。同センターの生検バンクは事業化などの方策により、効率的な運営を図る必要がある。

E. 結論

1. 生検組織の登録事業では、「ヒトゲノム遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守するためにインフォームド・コンセントの書式を改善し、研究倫理の遵守と個人情報の保護を徹底するよう絶えず努力している。

2. RRN の生検組織の登録は平成 14 年 1 月では 1401 検体となった。筋組織は多様な疾患が網羅されており、研究資源 (生検筋バンク) として今後とも引き続き筋疾患研究に大きく寄与することは確実である。しかし、この機能を維持するためには、新しい検体の補充と、常に最新の診断を行う努力が必要である。

3. RRN の保存検体は凍結組織のみでなく、培養筋細胞、凍結リンパ球、凍結外科手術組織など、検体の種類や保存条件の点でも、更新を重ねる必要がある。

F. 健康危険情報

1. 検体提供者の個人情報の保護に引き続き留意する必要がある。RRNの登録情報には最小限の個人情報しか含まれてはいない。しかし、嚴重なRRNサーバー管理を励行する。
2. 平成13年に本邦でもウシ海綿状脳症(BSE)に罹患したウシが確認された。このため、BSEとの関連が疑われているヒトの新変異型Creutzfeldt-Jakob病(CJD)が、本邦において将来発生する可能性が皆無ではなくなった。そこで、生検神経・筋組織におけるCJDの感染防御についてここに略記する。通常みられる孤発性、遺伝性、医原性のCJDあるいはプリオン病では高感染性組織は脳・脊髄・眼球・下垂体後葉に限られる。末梢神経では、三叉神経節と後根神経節の神経細胞にプリオンの蓄積が証明されている。骨格筋は感染性が証明されていない。新変異型CJDでは神経系外組織であるリンパ組織に感染性が認められる。将来、新変異型CJDが本邦で実際に発症した場合には、リンパ組織を扱う際には注意が必要である。
3. その他、通常の細菌やウイルス感染症の防御のためには、十分な臨床情報の入手が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- Alim MA, Hossain SH, Arima K, et al:
Tubulin seeds alpha-synuclein fibril formation. *J Biol Chem* 277:2112-2117, 2002
- Yanagisawa S, Ito N, Arima K, Ikeda S:
Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Neurology* 58:817-20, 2002
- Mizuguchi M, Sugitani J, Maeda T, Momoi T, Arima K, Takashima S, Takeda T, Miwa M: Cerebrovascular damage in young rabbits after intravenous administration of Shiga toxin 2. *Acta Neuropathol* 102: 306-312, 2001
- Kosel S, Grasbon-Frodl EM, Arima K, Chimelli M, Harn M, Hashizume Y, Hulette C, Ikeda K, Jakobsen PF, Jones M,

Kobayashi M, Love S, Mizutani YT, Rosemberg S, Sasaki A, Smith TW, Takahashi H, Voltmeyer AO, Graeber MB
Inter-laboratory comparison of DNA preservation in archival paraffin-embedded human brain tissue from participating centers on four continents. *Neurogenetics* 3:163-170, 2001

Saito Y, Oka A, Mizuguchi M, Motonaga K, Mori Y, Becker LE, 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, 2001

Kowalska A, Asada T, Arima K, Kumakiri C, Kuzubski W, Takahashi K, Tabira T: Genetic analysis in patients with familial and sporadic frontotemporal dementia: two tau mutations in only familial cases and no association with Apolipoprotein e4. *Dement Geriatr Cogn Disord* 12: 387-392, 2001

Nonaka I, et al: Limb-girdle muscular dystrophy research in Japan. *Acta Myologica* 20: 83-86, 2001

Chae J, Minami N, Jin Y, Nakagawa M, Murayama K, Igarashi F, Nonaka I: Calpain 3 gene mutations: genetic and clinico-pathologic findings in limb-girdle muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord* 11:547-555, 2001

Akagi M, Inui K, Tsukamoto H, Sakai N, Muramatsu T, Yamada M, Matsuzaki K, Goto Y, Nonaka I, Okada S: A point mutation of mitochondrial ATPase 6 gene in Leigh syndrome. *Neuromuscul Disord* 12:53-55, 2002

大矢寧, 當山潤, 小川雅文, 埜中征哉, 川井充: 顔面・肩甲・上腕に強い筋罹患を示し、致命的な心筋障害を伴った皮膚筋炎・強皮症の合併例. *臨床神経* 41:289-295, 2001

Yasuda M, Takamatsu J, Komure O, Kuno S, Souza LD, Kawamata T, Hasegawa M, Iwatubo T, Poorkaj P, Goedert M, Schellenger GD, Tanaka C: Tau mutation altering splicing of tau exon 10 in Japanese frontotemporal dementia. *Neuroscientific Basis of Dementia* 84-84, 2001

Kuroki S, Saida T, Nukina M, Yoshioka M, Seino J: Three patients with ophthalmoplegia associated with *Campylobacter jejuni*. *Pediatr Neurol* 25:71-74, 2001

Hao Q, Saida T, Matsui M et al: Mycoplasma pneumoniae infection in Japanese patients with multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis* (in press)

齋田孝彦: 多発性硬化症免疫病態. *Medical Academy News* 6:791, 2001

齋田孝彦, 糸山泰人, 深澤俊行: 多発性硬化症における新しい治療戦略: IFN β -1b療法. *Medical Tribune* 21-24, 2001

中島孝: 実用モデル「愛言葉」の誕生-視線入力意思伝達装置の科学と哲学. *難病と在宅ケア* 7:15-19, 2001

湯浅龍彦, 西宮仁, 中島孝他: 神経ネットワークで実施されるべき共同研究について. *医療* 55:65-72, 2001

林恒美, 中島孝, 福原信義: マシャドジョセフ病における臨床症状と 123I-IMP SPECT 所見の評価について. *臨床神経学* 41:9 2001

渡部弘美, 大野清, 中島孝: 制限酵素活性に及ぼすフェノールの影響. *医学検査* 50:669-672, 2001

今野秀彦: SMON 長期例における病理像. *脳と神経* 53:875-880, 2001

今野秀彦: 多発性後下における軸索変性. 別冊・医学のあゆみ 21 世紀の神経免疫学 73-73, 2001

2. 学会発表

Nonaka I, et al: Clinical and pathologic aspects of congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy (Ullrich). 100th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherland, November 23 and 24, 2001

村上泰生, 大矢寧, 川井充, 古和久朋, 宮地三千代: 心不全を伴い、筋生検所見が一見神経原性変化と見誤る、遺伝性ネマリンミオパチーの 39 例男性例. 第 158 回日本神経学会関東地方会, 2001.11.24

Matsui m, Wang H-Y, Araya S, Saida T: Potential difference in the roles of surface CCR5 and CXCR3 molecules between CD4+ and CD8+ lymphocytes in multiple Sclerosis. Vth International Congress of Neuroimmunology Edinburgh, September 4-7, 2001

Saida T: Interferon-beta treatment in Japanese patients with relapsing multiple sclerosis. European Committee for Treatment and Research for Multiple Sclerosis 2001, Dublin Ireland, September 12-15, 2001

Saida T: Characteristics of multiple sclerosis in Japanese and treatment effect of interferon-beta 1b. Symposium: 15th International Congress of Neurology, London, June 15, 2001

Saida T: Immunoglobulin treatment trial in Japanese patients with multiple sclerosis. MS Forum 13th Modern Management Workshop, Oxford, UK, April 1, 2001

小牟禮修, 小河秀郎, 齋田孝彦: Machado-Joseph 病における心血管系自律神経障害. 第 42 回日本神経学会総会, 東京, 2001.5

齋田孝彦, 田代邦夫, 糸山泰人, 佐藤猛, 大

橋靖：インターフェロンβ1bグループ。日本人多発性硬化症におけるインターフェロン療法。第42回日本神経学会総会、東京、2001.5

今野秀彦：脳損傷の長期例にみられた老人斑。第42回日本神経病理学会

今野秀彦：著名な大脳白質病変を示した多系統萎縮症の長期例。第69回日本神経学会東北地方会

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

表1 Research Resource Network (RRN)登録生検筋組織数（施設別）

	H14年 1月	H13年 1月	H12年 1月	H11年 1月	H13年 増
国立療養所 道北病院	14	14	9	2	0
国立療養所 八雲病院	16	16	15	1	0
国立療養所 山形病院	12	11	11	2	1
国立療養所 東埼玉病院	241	207	145	104	34
国立療養所 宇多野病院	108	92	98	0	16
国立療養所 兵庫中央病院	45	45	42	36	0
国立療養所 川棚病院	29	23	20	10	6
国立療養所 下志津病院	23	23	24	0	0
国立療養所 犀潟病院	0	0	0	0	0
国立精神・神経センター 神経研究所 微細構造研究部	736	745	543	448	-9
国立精神・神経センター 武蔵病院 臨床検査部	177	0	0	0	177
国立療養所 南九州病院（新）					0
国立療養所 西多賀病院（新）					0
合 計	1401	1176	907	603	225

表2 Research Resource Network (RRN)生検診断名別登録筋組織数

	病 名	H12.1	H13.1	H14.1
1	Polymyositis	112	128	151
2	Duchenne	70	75	85
3	Limb-girdle	54	59	85
4	Becker	54	60	67
5	Dermatomyositis	35	40	54
6	Other neurogenic muscular atrophies	21	39	45
7	Myotonic dystrophies	34	36	37
8	Amyotrophic lateral sclerosis	25	29	34
9	MMP-MELAS	22	24	32
10	Malignant hyperthermia	25	31	31
11	FSH	19	22	30
12	Spinal muscular atrophy type III	18	21	26
13	Fukuyama	18	19	24
14	MMP-CPEO	16	18	22
15	CMP-nemaline	19	21	21
16	Spinal muscular atrophy type II	13	15	18
16	Others (High CK)	17	17	17
18	Non-Fukuyama	15	16	17
19	MMP-Leigh	12	13	16
20	Other MMP	14	14	15

表3. 国立精神・神経センター 神経研究所 微細構造研究部/武蔵病院 臨床検査部
生検バンク 研究供与 一覧 平成13年1月-12月 (*:国立精神・神経センター)

供与先 (代表者名)	研究テーマ	供与検体	検体 数	成 果
1. 帝京大医 (長谷)	各種疾患筋における β -dystroglycanの 分化およびMMPの活性について(疾 患筋と正常筋)	凍結切片	8	
2. NCNP*疾 病研1(林)	肢帯型筋ジストロフィーにおける原 因タンパク質の発現解析(肢帯型筋 ジストロフィー生検筋)	凍結切片 ブロック DNA	47 47 47	微量組織でのジスフェル リン、ジストロフィン、カ ルパインの定量化に成 功。診断に活用。
3. NCNP*疾 病研1(林)	先天性筋ジストロフィーにおける α - dystroglycanの発現に関する研究(福 山型、WWSなど)	凍結切片	10	Hayashi YK, et al: <i>Neurology</i> 10:115-121, 2001 福山型で は α -dystroglycanが著減し ていることを証明
4. NCNP*疾 病研1(林)	三好型ミオパチーのジスフェルリン 発現解析、遺伝子解析	ブロック DNA	15 15	
5. NCNP*疾 病研7(田 中)	Rimmed vacuole型遠位型ミオパチー における rimmed vacuoleの構成成分 の検討(DMRV筋)	凍結切片	4	
6. 帝京大医 (長谷)	筋炎症例におけるMMP-2の発現と β - dystroglycanの分析(筋炎生検筋)	凍結切片 ブロック	22	
7. 帝京大医 (新井)	福山型先天性筋ジストロフィー筋に おける β -dystroglycanの発現(FCMD 筋)	凍結切片	10	
8. 関東中央 病院(田中)	1. 先天性筋強直性ジストロフィー 剖検筋におけるDMPK蛋白の発現・ 局在 2. ヒト幼若生検筋における VI/morphinの発現・局在	凍結切片	10	
9. 信州大学 医(中村)	ジストロフィン欠損骨格筋における シグナル伝達異常に関する研究 (DMD, BMD生検筋とDNA)	凍結切片	6	
10. 獨協医 大越谷(村 上)	種々の神経・筋疾患におけるTGF- β 2, BDHF および受容体の発現につい ての検討	凍結切片	40	
11. 島根医 大(田草)	VLCAD欠損症に関する研究	凍結切片 培養細胞	5 1	
12. 新潟大 脳研(河内)	炎症性筋疾患における樹状細胞の役 割	凍結切片	5	
13. NCNP* 微細構造 (石川)	ウールリッヒ型先天性筋ジストロフ イーの病態解明に関する研究	凍結切片 DNA	9 9	ウールリッヒ型ではコラ ゲンVIの完全欠損以外に 部分欠損があることを証 明(<i>Neurology</i> 投稿中)
14. NCNP* 微細構造 (杉江)	非福山型先天性筋ジストロフィーと コラゲンVI欠損の関係	凍結切片 DNA	80 15?	
15. NCNP* 微細構造 (大橋)	VLCADに関する病理学的、分子生物 学的研究	凍結切片 DNA	60 6	特発性ミオグロビン尿症 にVLCAD欠損例が12例 見いだされた。遺伝子変 異を検討中。
計			471	

「外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書」 のガイドライン

このガイドラインは、医師が外科手術終了後の適当な時期に、手術切除組織のうち、病理診断終了後に診断に要した部分を除いた病理検体を保存し医学研究に使用する依頼を、国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部病理検査室に行うにあたり、患者さん（または代理人）にそのことを説明して同意を得る際の手順と注意点について書かれています。担当医師は、必ずよく読んでから説明を行って下さい。

また、ここでいう代理人とは、原則として、患者さんご本人がこの同意書の趣旨や結果を十分に理解できないときに、患者さんご本人の利益のために代弁できる最近親者とします。担当医師が患者さんご本人の同意能力の有無を判断できない場合は、他の診療科の医師1名の判断を求めてください。

病理学的検査および病理診断に関する一般的説明

まず、以下のことを患者さんまたは代理人に説明してください。

- ① 病理診断の意義や限界、結果の解釈などの検査自体に関すること。たとえば、外科手術によって切除された組織（以下、病理検体と呼びます）は、病気を診断し治療方針を確定するために、通常は病理学的検査をうけ、病理診断を下されること。
- ② 病理学的検査に際しては、診断に用いる病理検体以外に余剰分の病理検体が生じることがあること。たとえば、厚さ2-3mmのパラフィン包埋組織ブロックを作成した場合に、病理学的診断に一般的に使用するの厚さ1-2mm分であり、診断終了後に病理検体が残されること。
- ③ 診断に用いた病理標本および診断終了後に残された病理検体は、病理診断終了後も、再検査の可能性を考慮し、病理検査室に一定の期間保存されること。それ以降もできるだけ長く保存するよう努力していること。ただし、不慮の事故（フリーザーの故障、天変地異など）で、保存している病理検体が検査に適さなくなった場合は、免責されること。また、病理診断後の保存は担当医師を通じて保存をいつでも中止できること。
- ④ 病理学的検査の過程では、病理検体は検体番号のみで処理され保存されること。患者さんの氏名や患者番号などの患者さんを特定できる情報は、検査実施者のみ知りうるようにしており、プライバシーは最大限守られること。
- ⑤ その他の必要事項。

病理診断終了後に残された病理検体を医学研究に使用すること

依然として未知の部分が多い脳外科疾患・神経疾患の病因・病態の全容が解明され、新しい治療薬や根本的治療法が開発される日を多くの患者さんが待ち望んでいます。このような目的を達成するためには、研究に患者さんの病理検体を用いることが不可欠です。是非、患者さんにご協力をお願いして下さい。以下の点を患者さん（または代理人）に説明し、同意を得た項目は にチェックをしてもらい、患者氏名欄に、署名・捺印をもらって下さい（印鑑のないときは自署のみで結構です）。

また、病理検体の混同を避けるために外科手術年月日と検体番号を必ず記入して下さい。

- ① 研究使用への同意は、患者さんの自由意志であること。
- ② 病理診断終了後に、病理検体のうち診断に要する部分を除いた病理検体が研究使用を目的に保存されること。

- ③ 病理検体の使用は、脳外科疾患・神経疾患の病因・病態解明と治療法開発目的の研究に限られること。
- ④ 病理検体使用は、生理学・生化学・病理学等の分野およびDNA解析の研究であること。
- ⑤ 検査実施者以外の研究者、たとえば他施設の共同研究者等が研究使用する際には、それら研究者に対して、患者さんを特定できる情報は提供しないこと。
- ⑥ 研究成果を学術論文や学会発表等を通じて公表することはあっても、患者さん（または代理人）に、個別かつ直接的に、その内容を知らせることができない場合のあること（プライバシー保護のために、完全に匿名化して、共同研究者に研究を依頼した場合には、患者さんを特定できなくなることもあること）。
- ⑦ 担当医師を通じて、検体の保存及び研究使用をいつでも中止できること。

病理検体の保存の中止、医学研究への使用許可の変更について

同意した内容は、「外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書」に署名した患者さん（または代理人）の希望により、その一部または全てについて、いつでも中止や変更をすることができます。同意書に署名した患者さん（または代理人）の要請があった際には、担当医師は文書で検査実施者に連絡して下さい。

文書の保管

必要事項の記入と署名・捺印を終えた「外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書」は3通作成し、「患者様保管用」を患者さん（または代理人）に渡し、「臨床検査部保管用」を臨床検査部に提出して下さい。担当医師は「診療録保管用」を診療録に保管して下さい。

その他

検査実施および病理検体管理責任者は、組織機構改編・人事異動等により、予告なく変更される場合があります。

〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1

国立精神・神経センター武蔵病院 臨床検査部 病理検査室

住所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1

電話042-341-2711（代表）

2001年5月29日 作成、2001年7月18日 倫理委員会承認

臨床検査部 病理書式 2-1

(臨床検査部保管用)

外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書

国立精神・神経センター武蔵病院

記入日 _____年 ____月 ____日

私 氏名 _____ (生年月日 _____年 ____月 ____日生 性別 ____)

住所 〒 _____ は、

国立精神・神経センター武蔵病院 (以下、当病院と呼びます) で、

手術担当科 _____科 手術日 _____年 ____月 ____日 手術の内容 _____

組織の採取部位：脳、脊髄、末梢神経、その他 (_____) 病理検体番号 _____

を内容とする手術を受けました。

その手術で切除された組織 (以下、病理検体と呼びます) が、病気を診断し、治療方針を確定するため、当病院臨床検査部病理検査室 (以下、当病理検査室と呼びます) に提出され、病理学的検査が行われるとともに、再検査などを目的として当病理検査室に一定の期間保存されることを承知していますが、この病理検体が、病理診断終了後、医学研究を目的として保存され、使用されることについて、担当医師から十分な説明を受け、

- 病理検体は、原則として匿名で検査・保存されるので、氏名等の個人を特定できる情報は、検査実施者および検査技師を除き、知られないこと
- 医学研究 (共同研究を含む) の実施および発表に際して、氏名等の個人を特定できる情報は一切明らかにされず、また、私および私の家族のプライバシーは完全に守られること
- DNA検索において、私および私の家族は何らの不利益を被らないこと
- 病理検体の研究使用に同意しなくとも、診療上何らの不利益も受けないこと
- 病理検体の研究使用に同意した後も、その同意はいつでも撤回できること

を確認したうえで、(病名) _____、および、それと関連する疾患 (該当しない場合は二重線で消す) の生理学・生化学・病理学・DNA解析等、病気の原因解明を目的とする医学研究のため、病理診断終了後、病理検体が、

- 当病理検査室に保存され、使用されること
- 当病院と共同研究を行う他の施設に送られ、使用されること

に同意いたします。

署名 (本人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

(患者さん本人が判断できず、代理人が説明を受け、同意する場合)

(代理人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

住所 〒 _____ 患者との続柄 _____

説明を行った医師

私は、このたびの同意を得るにあたり

- 上記の患者様 (または代理人) に対して、本同意書ガイドラインに添って、
- DNA解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して、

十分な説明を行いました。

医師 署名 _____ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

国立精神・神経センター武蔵病院 診療科 _____科

国立精神・神経センター武蔵病院長 殿

検査実施および病理検体管理責任者

国立精神・神経センター武蔵病院 臨床検査部 病理検査室
住所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1 電話042-341-2711 (代表)2001年5月29日作成、2001年7月18日倫理委員会承認
臨床検査部 病理書式 2-2

(診療録保管用)

外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書

国立精神・神経センター武蔵病院

記入日 _____年 ____月 ____日

私 氏名 _____ (生年月日 _____年 ____月 ____日生 性別 ____)

住所 〒 _____ は、
国立精神・神経センター武蔵病院 (以下、当病院と呼びます) で、

手術担当科 _____科 手術日 _____年 ____月 ____日 手術の内容 _____

組織の採取部位：脳、脊髄、末梢神経、その他 (_____) 病理検体番号 _____

を内容とする手術を受けました。

その手術で切除された組織 (以下、病理検体と呼びます) が、病気を診断し、治療方針を確定するため、当病院臨床検査部病理検査室 (以下、当病理検査室と呼びます) に提出され、病理学的検査が行われるとともに、再検査などを目的として当病理検査室に一定の期間保存されることを承知していますが、この病理検体が、病理診断終了後、医学研究を目的として保存され、使用されることについて、担当医師から十分な説明を受け、

- 病理検体は、原則として匿名で検査・保存されるので、氏名等の個人を特定できる情報は、検査実施者および検査技師を除き、知られないこと
- 医学研究 (共同研究を含む) の実施および発表に際して、氏名等の個人を特定できる情報は一切明らかにされず、また、私および私の家族のプライバシーは完全に守られること
- DNA検索において、私および私の家族は何らの不利益を被らないこと
- 病理検体の研究使用に同意しなくとも、診療上何らの不利益も受けないこと
- 病理検体の研究使用に同意した後も、その同意はいつでも撤回できること

を確認したうえで、(病名) _____、および、それと関連する疾患 (該当しない場合は二重線で消す) の生理学・生化学・病理学・DNA解析等、病気の原因解明を目的とする医学研究のため、病理診断終了後、病理検体が、

- 当病理検査室に保存され、使用されること
- 当病院と共同研究を行う他の施設に送られ、使用されること

に同意いたします。

署名 (本人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

(患者さん本人が判断できず、代理人が説明を受け、同意する場合)

(代理人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

住所 〒 _____ 患者との続柄 _____

説明を行った医師

私は、このたびの同意を得るにあたり

- 上記の患者様 (または代理人) に対して、本同意書ガイドラインに添って、
- DNA解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して、

十分な説明を行いました。

医師 署名 _____ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

国立精神・神経センター武蔵病院 診療科 _____科

国立精神・神経センター武蔵病院長 殿

検査実施および病理検体管理責任者

国立精神・神経センター武蔵病院 臨床検査部 病理検査室

住所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1 電話042-341-2711 (代表)

2001年5月29日作成、2001年7月18日倫理委員会承認
臨床検査部 病理書式 2-2

(患者様保管用)

外科手術組織の病理検体の研究使用と保存についての同意書

国立精神・神経センター武蔵病院

記入日 _____年 ____月 ____日

私 氏名 _____ (生年月日 _____年 ____月 ____日生 性別 _____)

住所 〒 _____ は、

国立精神・神経センター武蔵病院 (以下、当病院と呼びます) で、

手術担当科 _____科 手術日 _____年 ____月 ____日 手術の内容 _____

組織の採取部位：脳、脊髄、末梢神経、その他 (_____) 病理検体番号 _____

を内容とする手術を受けました。

その手術で切除された組織 (以下、病理検体と呼びます) が、病気を診断し、治療方針を確定するため、当病院臨床検査部病理検査室 (以下、当病理検査室と呼びます) に提出され、病理学的検査が行われるとともに、再検査などを目的として当病理検査室に一定の期間保存されることを承知していますが、この病理検体が、病理診断終了後、医学研究を目的として保存され、使用されることについて、担当医師から十分な説明を受け、

- 病理検体は、原則として匿名で検査・保存されるので、氏名等の個人を特定できる情報は、検査実施者および検査技師を除き、知られないこと
- 医学研究 (共同研究を含む) の実施および発表に際して、氏名等の個人を特定できる情報は一切明らかにされず、また、私および私の家族のプライバシーは完全に守られること
- DNA検索において、私および私の家族は何らの不利益を被らないこと
- 病理検体の研究使用に同意しなくとも、診療上何らの不利益も受けないこと
- 病理検体の研究使用に同意した後も、その同意はいつでも撤回できること

を確認したうえで、(病名) _____、および、それと関連する疾患 (該当しない場合は二重線で消す) の生理学・生化学・病理学・DNA解析等、病気の原因解明を目的とする医学研究のため、病理診断終了後、病理検体が、

- 当病理検査室に保存され、使用されること
- 当病院と共同研究を行う他の施設に送られ、使用されること

に同意いたします。

署名 (本人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

(患者さん本人が判断できず、代理人が説明を受け、同意する場合)

(代理人) _____ 印 (印鑑のない場合は、自署のみでも可)

住所 〒 _____ 患者との続柄 _____

説明を行った医師

私は、このたびの同意を得るにあたり

- 上記の患者様 (または代理人) に対して、本同意書ガイドラインに添って、
- DNA解析を依頼する場合は、特にその特殊性に配慮して、

十分な説明を行いました。

医師 署名 _____ 印 (印鑑のないときは、自署のみでも可)

国立精神・神経センター武蔵病院 診療科 _____科

国立精神・神経センター武蔵病院長 殿

検査実施および病理検体管理責任者

国立精神・神経センター武蔵病院 臨床検査部 病理検査室

住所 〒187-8551 東京都小平市小川東町4-1-1 電話042-341-2711 (代表)

2001年5月29日作成、2001年7月18日倫理委員会承認
臨床検査部 病理書式 2-2

II. 分担研究報告

分担研究報告書

生検バンクを使用したウールリッヒ病の病因に関する研究

分担研究者 埜中征哉 国立精神・神経センター
武蔵病院 院長

研究主旨：先天性筋ジストロフィーは中枢神経障害を伴う福山型と非福山型に2大別される。非福山型は多因性の疾患で、その中で特異な位置を占めるのはウールリッヒ型である。本症ではコラゲン VI 型の欠損であることが明らかにされている。われわれは生検バンクの中に9例の本症が存在することを確認した。全例に筋線維の壊死・再生のプロセスをみて、本症は筋ジストロフィーであることを確認した。さらに免疫組織化学的に1例に完全欠損、8例は部分欠損であった。完全欠損例ではコラゲン VI の遺伝子に変異をみつけた。生検バンクを利用して、ウールリッヒ型を1疾患単位であることを証明できた。

A. 研究目的

神経・筋疾患の診断には筋生検が診断、病因・病態解明に大きな情報を与えてくれる。研究が進むために、われわれは筋生検され診断に使用されたあとの筋標本を冷凍保存し、研究に役立っている。バンクを使用している研究成果はめざましいものがあり、数多くの論文が出版されている。今回は、今まで原因、病態が明らかにされていない非福山型先天性筋ジストロフィーの一型であるウールリッヒ型について、バンクを使用してその疾患を明らかにすることとした。

B. 研究方法

ウールリッヒ型と臨床的、病理学的に診断された生検バンクに保管された9例の凍結筋標本を選んだ。凍結切片にヘマトキシリン・エオジン、Gomori トリクローム変法染色など各種免疫組織化学的染色を行った。さらにジストロフィン、メロシンなど各種免疫組織化学的染色に加え、コラゲン VI 抗体を用いた免疫組織化学的染色も行った。生検筋から DNA を抽出し、コラゲン 6 遺伝子のシーケンスを行った。

(倫理面への配慮)

9例すべては、両親から検体を診断用、保存用、研究使用(遺伝子解析を含む)の許可を書式(国立精神・神経センター倫理委員会承認)にて得たものである。

C. 研究結果

(1) 生検バンク全体に関する成果：

平成13年に、我々の施設(DNA診断・治療室)の生検バンクから研究のため、8施設、13研究課題に182例の凍結切片の供与を行った。いずれも研究使用の許可を得たものである。

(2) ウールリッヒ型先天性筋ジストロフィーに関する成果：

ウールリッヒ病は近位関節の拘縮、遠位関節の過進展をみるユニークな先天性筋ジストロフィーで主に日本、ヨーロッパから報告されている。本症はコラゲン VI の欠損であることが、Higuchi I, et al: Ann Neurol 2001;50:261-265, Vanegas OC et al: PNAS 2001;98:7516-7521 によって明らかにされた。

我々は9例の本症の筋病理を解析し、それが筋の壊死・再生を主病変とする筋原性(筋ジス様)変化であること、1例は完全欠損で8例は部分欠損であることを明らかにした。また完全欠損例ではイントロン14の挿入とエクソン24のスキッピングの複合ヘテロであった。部分欠損では基底膜にコラゲン VI の染色性が著明に低下していた。

D. 考察

生検バンクは筋疾患研究の研究資源(Research Resource)として全国多くの大学及び研究施設に供与され、研究の発展に大きく寄与している。このネットワーク(RRN)

を利用して多くの疾患の原因、病態が明らかにされた。近年の代表的なものには Danon 病の遺伝子変異の発見がある (Nishino I, et al: Nature 406: 906-910, 2000)。平成 13 年もすでに 13 研究課題に検体が供与されているのは大きな成果である。

今回は先天型筋ジストロフィーの 1 型であるウールリッヒ型について病態が明らかにされたことに大きな意義がある。RRN がなければ不可能であった研究成果である。

E. 結論

本研究 (RRN) は本年も研究資源である生検材料を全国の大学、研究機関に供給し大きな研究成果をあげている。現在進行中の最大のテーマは本邦における肢帯型筋ジストロフィーの頻度、病因研究である。これはバンクを使用して東北大学、国立精神・神経センター神経研究所、国立療養所西多賀病院での共同研究が進行中であることは非常に意義深い。今回のウールリッヒ型研究の成果も RRN がなければ不可能であった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1) 論文発表

- Nonaka I, et al: Limb-girdle muscular dystrophy research in Japan. Acta Myologica, 20: 83-86, 2001.
- Chae G, Nonaka I, et al: Calpain 3 gene mutations: genetic and clinico-pathologic findings in limb-girdle muscular dystrophy. Neuromusc Disord 11: 547-555, 2001.

2) 学会発表

- Nonaka I, et al: Clinical and pathologic aspects of congenital atonic-sclerotic muscular dystrophy (Ullrich). 100th ENMC International Workshop, Naarden, The Netherland, November 23 and 24, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし