

症例2

43歳男性。36歳頃より徐々に下肢の突っ張りによる歩行障害が出現。また、同時に性格変化も進行し、虚言癖、暴言なども目立つようになったために、精神科で経過観察中に痙性対麻痺の精査のために神経内科を受診した。兄に同様の症状があるが、詳細は不明。神経学的に性格変化（易怒性、暴言・虚言癖）、知能低下を軽度認める。上下肢筋痙縮、四肢腱反射亢進と両側病的反射陽性。歩行は著明な痙性歩行。両下肢に振動覚の軽度低下を認めた。排尿障害などの自律神経症状なし。

MRI検査で大きな異常は認められなかった。WAIS-RIQ 65 (VIQ 67, PIQ 63)。血算、血液生化学検査で異常なし。髄液検査は被験者の協力が得られず、施行できなかった。特殊生化学検査では、 β -D-galactosidase 174.6 nmol/mg/hr, β -D-N-acetylglucosaminidase 897.6 nmol/mg/hr, β -D-N-acetylglucosaminidase A% 88.2%, Arylsulfatase A 68.7 nmol/mg/hr, galactosylceramidase (GALC) 2.73 nmol/mg/hrと、全てに異常を認めなかった。

脳波で軽度びまん性的大脑機能低下を認めた。末梢神経伝導速度、SEP 検査で異常なし。VEP 検査で両側潜時の延長、ABR で両側潜時の延長を認め、軽度の白質機能低下と脳幹機能障害の所見であった。

2. VLCFA 測定と ALD-P 遺伝子解析

pVLCFA は両症例とも正常範囲内であったが、rVLCFA は症例1で C24/C22: 2.992 (n. 2.131-2.769)、C25/C22: 0.072 (n. 0.033-0.057)、C26/C22: 0.211 (n. 0.110-0.166)と、rVLCFA で高値を呈した。また、症例2も pVLCFA は正常値であったが、rVLCFA は、C24/C22: 3.209、C25/C22: 0.083、C26/C22: 0.267 と、高値を呈した。

一方、ALD-P 遺伝子の解析では、症例1では 685Asp(D)→Gly(G)、712Arg(R)→His(H)のアミノ酸置換が認められたが、エクソン10にはゲノム中に100%近いホモロジーを有する領域が数カ所存在しており、今後これがポリモルフィズムや他の領域の変異でなく、ALD-P に特異的な変

異かどうかの検討が必要である。

D. 考察

rVLCFA は pVLCFA より感度が高く、低栄養状態や長期臥床状態では、pVLCFA 正常で、rVLCFA のみ高値を呈す例のあることが報告されている。また、ALD 症例では、一般的に両者共に高値を呈す。

また、赤血球膜 ghost cell を用いた実験では、血漿中の free fatty acid の膜内への移行には、単純拡散がその多くを占めると考えられているが、それ以外に受容体を介した移行、キャリアーを介した膜内への移行などの機序も考えられている。

ここで報告した2症例に低栄養状態や長期臥床状態は存在せず、採血時期を変えた3度の測定でも pVLCFA は正常で、rVLCFA のみ上昇が認められたことより、rVLCFA の上昇と白質ジストロフィーの相関についてはさらに検討する必要があるものの、ALD-R など ALD-P 以外の因子が赤血球膜の脂質代謝に影響を及ぼす可能性も考えられた。

E. 結論

pVLCFA 正常で、rVLCFA のみ高値を呈す例の存在する可能性が考えられた。本症例は、ALD の病態を考える上でも、不明な点が多い赤血球膜の脂肪酸代謝機序を解析する上でも、貴重な症例と考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
平成15年日本神経学会総会で発表予定

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

副腎白質ジストロフィー遺伝子の欠損を認め、Zellweger 症候群類似の
臨床像を呈した症例に関する研究

分担研究者 鈴木康之（岐阜大学医学部医学教育開発研究センター）
研究協力者 下澤伸行（岐阜大学医学部小児病態学）
竹本靖彦（岐阜大学医学部小児病態学）
長瀬朋子（岐阜大学医学部小児病態学）

研究要旨

出生直後から呼吸障害、顔貌異常、黄疸、肝腫大など Zellweger 症候群様の臨床像を呈し、既存の新生児型 ALD やペルオキシソームβ酸化酵素単独欠損症でない、新たな疾患単位と考えられる症例を経験したので報告する。症例は 37 週 3 日、1780g で出生した低出生体重児で、極長鎖脂肪酸の蓄積を認めたため、当初 Zellweger 症候群を疑ったが、蛍光抗体染色でペルオキシソームの存在が確認され、β酸化酵素の解析でも異常を検出できなかった。しかし Western blot で ALDP の欠損を認め、ALD gene 全体を含む large deletion が存在することが明らかとなった。本症例の解析は ALDP の機能を考える上で極めて重要と考えられた。

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィーには小児型、AMN、成人大脳型、小脳脳幹型、Addison 病など多彩な臨床病型が存在するが、新生児期発症のタイプは PEX 遺伝子異常に基づくペルオキシソーム形成異常症としての新生児型 ALD 以外には知られていない。今年度我々は Zellweger 症候群様の臨床像を呈し、既存のペルオキシソーム病とは異なる ALD 遺伝子欠損を伴う新たな疾患単位と考えられる症例を経験したので報告する。本症例の解析は ALDP の機能を考える上で極めて重要と考えられた。

B. 研究方法

症例：症例は37週3日、1780gで出生した低出生体重児で、生後早期から呼吸障害、筋力低下、顔貌異常、黄疸、肝腫大などを認めた。極長鎖脂肪酸の蓄積、尿中長鎖ジカルボン酸排泄を認めたため、Zellweger症候群などのペルオキシソーム病を疑って、検査を進めた。胆汁酸に異常はなかった。生後8か月に死亡した。

解析方法：培養皮膚線維芽細胞の蛍光

抗体染色、ペルオキシソームβ酸化系酵素のWestern blot、β酸化系酵素遺伝子の解析などを定法に基づいておこなった。

倫理面での配慮：患者個人名が特定されないように充分配慮した。

C. 研究結果

蛍光抗体染色：各種のペルオキシソーム蛋白質（カタラーゼ、PMP70、Acyl-CoA oxidase、D-bifunctional protein、3-ketoacyl-CoA thiolase）に対する抗体を用いて解析したところ、いずれもペルオキシソームが染色され、Zellweger 症候群などのペルオキシソーム形成異常症は否定された。

Western blot：同様にカタラーゼ、Acyl-CoA oxidase、D-bifunctional protein、3-ketoacyl-CoA thiolaseのいずれも酵素蛋白質を検出した。

遺伝子解析：β酸化系酵素の単独欠損症を疑い、Acyl-CoA oxidase、D-bifunctional protein、3-ketoacyl-CoA thiolase遺伝子を解析したが、いずれも

病因と考えられる変異は同定できなかった。

ALDPに関する解析：ALDPに対する抗体を用いてWestern blot および蛍光抗体染色を行ったところ、患者ではいずれもALDPを検出できなかった（図1）。

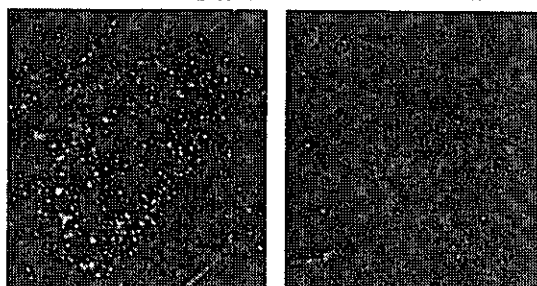


図1 control patient

次いでALD geneの解析をPCR法を用いて行ったところ、すべてのexonが増幅されず、ALD geneの広汎なdeletionがあると推測された。現在、さらに隣接遺伝子の解析を行っている。

D. 考察

上記の結果より、本症例は ALD gene の広汎な欠損があり、極長鎖脂肪酸の代謝異常をきたしたと考えられた。生後早期からの Zellweger 症候群類似の重度神経症状などは隣接遺伝子の影響も考えられるが、ALD gene および極長鎖脂肪酸代謝異常がこれらの症候をもたらした可能性もあり、ALD gene の機能を考える上で極めて示唆に富む症例である。今後、遺伝子欠失の範囲の確定、両親の解析、隣接遺伝子の解析などを進め、臨床・病理所見との関連を解明してゆきたい。これらは ALD における genotype と phenotype の関連解明の手がかりにもなりうると考えられた。

E. 結論

ALD gene の欠損により Zellweger 症候群類似の重度精神発達遅滞を示した症例を見いだした。ALD gene の機能解明に有用な材料になると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Raas-Rothschild A, Wanders RJ, Mooijer PA, Gootjes J, Waterham HR, Gutman A, Suzuki Y, Shimozawa N, Kondo N, Eshel G, Espeel M, Roels F, Korman SH. A PEX6-defective peroxisomal biogenesis disorder with severe phenotype in an infant, versus mild phenotype resembling Usher syndrome in the affected parents. *Am J Hum Genet.* 2002;70:1062-8.
- 2) Shimozawa N, Nagase T, Takemoto Y, Suzuki Y, Fujiki Y, Wanders RJ, Kondo. A novel aberrant splicing mutation of the PEX16 gene in two patients with Zellweger syndrome. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002;292:109-12.
- 3) Suzuki Y, Iai M, Kamei A, Tanabe Y, Chida S, Yamaguchi S, Zhang Z, Takemoto Y, Shimozawa N, Kondo N. Peroxisomal acyl CoA oxidase deficiency. *J Pediatr.* 2002;140:128-30.
- 4) Takemoto Y, Suzuki Y, Shimozawa N, Tamakoshi A, Onodera O, Tsuji S, Kondo N. Epidemiology of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *J Hum Genet* 47:590-593, 2002

2. 学会発表

- 1) 長瀬朋子、下澤伸行、堀部亮子、竹本靖彦、鈴木康之、近藤直実：脳の発達におけるペルオキシソームの役割—マウス小脳における局在の検討。第105回日本小児科学会学術集会、2002. 4. 19-21、名古屋
- 2) 鈴木康之、竹本靖彦、下澤伸行、近藤直実：副腎白質ジストロフィーの全国疫学調査（第2報）。第44回日本小児神経学会総会、2002. 6. 27-29、仙台
- 3) 竹本靖彦、鈴木康之、長瀬朋子、下澤伸行、近藤直実：濾紙血を用いたペルオキシソーム病スクリーニング。第44回日本小児神経学会総会、2002. 6. 27-29、仙台
- 4) 下澤伸行、鈴木康之、長瀬朋子、竹

- 本靖彦、大浦敏博、近藤直実：日本人ペルオキシソーム欠損症 common mutation における haplotype の検討. 第 45 回日本先天代謝異常学会、2002. 11. 7-9、神戸
- 5) 鈴木康之、竹本靖彦、下澤伸行、近藤直実：本邦における副腎白質ジストロフィーの疫学的特徴. 第 45 回日本先天代謝異常学会、2002. 11. 7-9、神戸
- 6) 竹本靖彦、鈴木康之、下澤伸行、近藤直実：GC/MS を用いた一斉分析システムによる極長鎖脂肪酸の基準値について. 第 47 回日本人類遺伝学会、2002. 11. 13-15、名古屋
- 7) Shimozawa N, Suzuki Y, Nagase T, Takemoto Y, Kondo N: Genetic Heterogeneity In Japanese Patients With Peroxisome Biogenesis Disorders And Evidence For A Founder Haplotype For The Most Common Mutation In PEX10 Gene. International Symposium: Peroxisomal Disorders and regulation of Genes, Sep 25-28, 2002, Gent, Belgium
- 8) Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, Kondo N: Epidemiology Of X-Linked Adrenoleukodystrophy In Japan. International Symposium: Peroxisomal Disorders and regulation of Genes, Sep 25-28, 2002, Gent, Belgium

G. 知的所有権の取得状況 なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

ALD 治療薬開発のための生化学的研究

分担研究者 今中 常雄 富山医科薬科大学・薬学部・教授
協力研究者 守田 雅志 富山医科薬科大学・薬学部・助手

研究要旨 ALD 治療薬開発を目的として、約 100 種の生薬成分について ALD 患者繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸β酸化活性を正常化させる化合物の検索を行った。その結果、極長鎖脂肪酸β酸化活性を回復させる複数のフラボノイドを見出した。特に、baicalein-5, 6, 7-trimethylether (BTM) は、細胞の増殖には影響を与えず、極長鎖脂肪酸β酸化活性を濃度依存的に回復させた。BTM の作用には、5、6、7位がメトキシ基であることが重要であった。BTM 処理した細胞では、ALDP などのペルオキシソーム ABC タンパク質の増加は認められなかった。よって、BTM は ALDP 非依存性の極長鎖脂肪酸β酸化経路を活性化している可能性が考えられる。また、各種フラボノイドを含む漢方方剤エキスの中にも、ALD 患者繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸β酸化活性を回復させるものが見出された。

A. 研究目的

ALD 患者においては、脳、副腎、血漿中などに極長鎖脂肪酸が蓄積する。この原因は、ペルオキシソーム膜上に存在する ABC タンパク質 ALDP の異常により、極長鎖脂肪酸β酸化活性が低下することによると考えられている。因に、ALD 患者繊維芽細胞においても、極長鎖脂肪酸β酸化活性が約 30%まで低下し、細胞膜などのリン脂質中の極長鎖脂肪酸含量が増加している。本研究では、ALD 治療薬の開発を目的として、ALD 患者繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸β酸化活性の回復を指標に、生薬成分ならびに漢方方剤エキスのスクリーニングを行った。さらに有効物質について、その作用機構を検討した。

B. 研究方法

培養 ALD 患者繊維芽細胞を、生薬成分 (20 μM)、漢方処方エキス (20 μg/ml) を含む培養液で 3 日間培養した。その後、細胞に [1-¹⁴C]lignoceric acid、[1-¹⁴C]palmitic acid を添加し、一定時間後、生成する酸可溶性代謝物を定量することにより、脂肪酸β酸化活性を求めた。有効成分のペルオキシソーム ABC タンパク質

発現に対する影響は、各抗体を用いた immunoblotting ならびに RT-PCR 法により検討した。

(倫理面での配慮)

提供者（幼児の場合は両親）の同意を得て採取した ALD 患者繊維芽細胞を、岐阜大医学部鈴木康之教授、九州大学医学部山田猛助教授より供与していただいた。

C. 研究結果

ALD 患者繊維芽細胞を各種生薬成分存在下で培養し、極長鎖脂肪酸β酸化活性を測定した。その結果、17 種類の有効化合物を見出した。これら化合物について、最近 ALD 治療薬としての可能性が指摘されている lovastatin (5 μM) を対照として、2次スクリーニングを行った。その結果、kaempferol、genistein、BTM、diosmetin-7-glucoside、isorhamnetin、5, 7, 3', 4'-tetramethylquercetin などのフラボノイドに再現性よく有効性が確認された。効果があったフラボノイドの多くは、20 μM の濃度で細胞の増殖を 40~60%程度阻害が、BTM は細胞の増殖をほとんど阻害せず、濃度依存的に極長鎖脂肪酸β酸化活性を回復させた。BTM の最大

効果は 30 μM であった。その効果は lovastatin よりも高く、細胞毒性も低いことが明らかになった。

BTM に有効性が認められたので、類似化合物である baicalein (BTM の 5、6、7 位のメトキシ基が水酸基に置換された化合物)、baicalin (baicalein の 7 位の水酸基がグルクロン酸抱合された化合物) の作用を検討したが、効果がなく、細胞の増殖を阻害した。また BTM はミスセンス変異した ALDP をもつ ALD 患者繊維芽細胞や ALD mRNA の発現が認められない ALD 患者繊維芽細胞においても有効であった。

現在、ヒトペルオキシソーム膜上には 4 種の ABC タンパク質 (ALDP、PMP70、ALDRP、P70R) の存在が報告されている。そこで、BTM がこれらのタンパク質の発現誘導を介して、効果を示す可能性を検討した。しかしながら各 ABC タンパク質の発現量の変化は認められなかった。

一方、漢方方剤 8 種のエキスについても、ALD 繊維芽細胞における極長鎖脂肪酸 β 酸化活性回復能を検討した。その結果、紫胡桂枝湯、小紫胡湯エキスに有効性が認められた。これらのエキスは、細胞との incubation 時間に依存し、lignoceric acid の β 酸化活性を回復させた。Lignoceric acid β 酸化に対する palmitic acid β 酸化の比でみると、3 日間の処理で細胞内 β 酸化比を正常レベルに回復させた。

D. 考察

ALD は進行性の神経疾患であり、現在造血幹細胞移植が唯一の有効な治療法である。最近、スタチン系薬物 lovastatin が ALD 患者血漿中の極長鎖脂肪酸を低下させるとの報告がなされた。しかしながら、効果がないとの報告もあり、一定の見解が得られていない。また尿素サイクル欠損症の患者に使用されていた 4-phenylbutyric acid やヒストン脱アセチル化酵素阻害薬 trichostatin A に極長鎖脂肪酸 β 酸化活性上昇作用があるとの報告があるが、臨床応用に関する知見はない。

本研究では生薬成分に着目し、ALD 患者繊

維芽細胞の極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を回復させることを指標に、有効化合物 BTM を見出した。BTM の極長鎖脂肪酸活性化能は lovastatin より強く、しかも細胞増殖への影響は少ないことが示された。また baicalein、baicalin との比較により、BTM の効果には、フラボン骨格の 5、6、7 位にメトキシ基を有することが重要と考えられた。また BTM の作用機構に関しては、①ALD 繊維芽細胞は、ALDP が機能しないにも関わらず、正常の約 30% の極長鎖脂肪酸 β 酸化活性をもつこと、②極長鎖脂肪酸はペルオキシソームで選択的に β 酸化されることを考慮すると、ALDP 非依存性の代謝経路が存在し、その活性化を介して作用していると推定された。

今回、数種の漢方方剤エキスにも BTM と同様な効果が認められた。漢方方剤は実際にヒトにも処方されていることから、治療薬として使用できる可能性がある。今後、BTM や漢方方剤エキスについて、ALD 繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸含量の低下、ALD ノックアウトマウスでの効果を検討するとともに、その作用機構を解析する予定である。

E. 結論

ALD 患者繊維芽細胞の極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を正常化する複数のフラボノイドを見出した。特に BTM は、細胞の増殖には影響を与えず、極長鎖脂肪酸の β 酸化活性を濃度依存的に改善した。また BTM の作用には、5、6、7 位にメトキシ基をもつことが重要である。BTM 処理した細胞では、ALDP などのペルオキシソーム ABC タンパク質ならびにその mRNA の増加は認められなかったことより、BTM は ALDP 非依存性の極長鎖脂肪酸代謝経路を活性化して作用している可能性が予測される。また、紫胡桂枝湯、小紫胡湯エキスにも有効性が認められた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Tanaka, A. R., Tanabe, K., Morita, M., Kurisu,

M., Kashiwayama, Y., Matsuo, M., Kioka, N., Amachi, T., Imanaka, T., and Ueda, K.: ATP binding/hydrolysis by and phosphorylation of peroxisomal ABC proteins PMP70 (ABCD3) and adrenoleukodystrophy protein (ABCD1). *J. Biol. Chem.* (2002) 277, 40142-40147.

2) Kashiwayama, Y., Morita, M., Kamijo, K., and Imanaka, T.: Nucleotide-induced conformational changes of PMP70, an ATP binding cassette transporter on rat liver peroxisomal membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2002) 291, 1245-1251.

3) Hashiguchi, N., Kojidani, T., Imanaka, T., Haraguchi, T., Hiraoka, Y., Baumgart, E., Yokota, S., Tsukamoto, T., and Osumi T.: Peroxisomes are formed from complex membrane structures in PEX6-deficient CHO cells upon genetic complementation. *Mol. Biol. Cell* (2002) 13, 711-722.

4) Huang, Y., Ito, R., Imanaka, T., Usuda, N., and Ito, M.: Different accumulations of 3-ketoacyl-CoA thiolase precursor in peroxisomes of Chinese hamster ovary cells harboring a dysfunction in the PEX2 protein. *Biochim. Biophys. Acta* (2002) 1589, 273-284.

5) 守田雅志, 今中常雄: ペルオキシソーム膜 ABC タンパク質と副腎白質ジストロフィー. *生化学* (2002) 74, 1166-1169.

2. 学会発表

1) 守田雅志, 栗栖幹典, 柏山恭範, 林潤, 西村幹夫, 今中常雄: 昆虫細胞発現系を利用したペルオキシソーム膜 ABC タンパク質の機能解析. 日本薬学会第 122 年会, 2002, 3, 千葉.

2) Imanaka, T., Kashiwayama, Y., and Morita,

M.: Peroxisomal ABC proteins and adrenoleukodystrophy. 1st JBS Symposium, 2002, 6, Yufuin.

3) 柏山恭範, 守田雅志, 柴田洋之, 加藤博章, 今中常雄: PMP70 のペルオキシソーム局在化における Pex19p の役割. 第 75 回日本生化学会大会, 2002, 10, 京都.

4) 栗栖幹典, 守田雅志, 林潤, 西村幹夫, 今中常雄: 昆虫細胞 Sf21 とペルオキシソーム. 第 75 回日本生化学会大会, 2002, 10 京都.

5) 富本大介, 守田雅志, 今中常雄: ラット肝ペルオキシソーム膜上における ABC タンパク質 PMP70 の特性. 日本分子生物学会第 25 回年会, 2002, 12, 横浜.

6) 前田尚敬, 守田雅志, 今中常雄: ミセンス変異によるペルオキシソーム膜 ABC タンパク質 (ALDP) の機能と細胞内動態の変化. 日本分子生物学会第 25 回年会, 2002, 12, 横浜.

7) Kashiwayama, Y., Morita, M., Shibata, H., Kato, H., and Imanaka T.: Role of Pex19p in the targeting of PMP70 to peroxisome. 42th Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, 2002, 12, San Francisco.

8) Imanaka, T.: Targeting of PMP70 to peroxisomes and its molecular properties on the membranes. 2002 Symposium on Peroxisome Biogenesis, 2002, 12, San Francisco.

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

「副腎脳白質ジストロフィー (ALD) に対する治療薬」に関して、特許出願中である。

分担研究報告書

運動失調に関する長鎖及び病態機序に関する研究班

(ALDの発症における新規遺伝子リビドーシンの機能解析)

分担研究者 橋本 有弘 三菱化学生命科学研究所 主任研究員

協力研究者 宋時榮 三菱化学生命科学研究所 主任研究員

I研究要旨 ヒト副腎白質ジストロフィー(X-ALD)における組織特異的障害の発症には未知の介在因子の関与が想定されている。リビドーシン(lipidosin, lpd)はX-ALDにおいて障害を受ける組織で特異的に発現する、長鎖脂肪酸アシルCoシンターゼ活性を有するタンパク質である。LpdはALDにおける組織特異的障害発症機序に関わる介在因子の有力な候補分子である。私たちは免疫電子顕微鏡によってlpdのアストロサイトにおける細胞内局在性を検討した。その結果、lpdは特定の細胞小器官に局在することではなく、細胞質中に広く分布していることが明らかになった。特に、毛細血管との接触部位およびシナプス近傍の突起部分にはlpdが密に分布しており、血液-脳関門およびシナプスの機能とlpdの機能との関連性が考えられる。

A. 研究目的

ヒト副腎白質ジストロフィー(ALD)は、副腎白質ジストロフィー・タンパク質(ALDP)遺伝子の変異を原因とする遺伝性疾患であることが明らかにされている。

ALDにおいては、主に脳白質、脊髄、副腎、精巣に障害が現われるが、原因遺伝子ALDPの発現はこれらの組織に限定されるわけではなく、様々な組織で広範に認められる。したがって、ALDPの機能欠損とALDにおける組織特異的障害との間をつなぐ組織特異的な介在因子の存在が予想され、探索されてきた。しかし、有力な候補因子は見いだされておらず、ALDにおける障害発症機序は明らかではない。

私達はマウスおよびヒトより新規遺伝子リビドーシン(lipidosin, Lpd)をクローニングした。Lpdのショウジョウバエ・ホモログは、神経変性および超長鎖脂肪酸の蓄積という、ALDに類似の表現型を示すことが報告され、lpdがヒトALD発症機序に関わっている可能性が考えられる。本研究は、マウスおよびヒトの新規遺伝子lpdの生理機能を解明し、ALD発症機構におけるlpdの役割を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

1. イムノプロット解析によるラットLpdの組織分布の検討

成体ラットの各組織を摘出し、wet weight の10倍量の[1% SDS, 10 mM Hepes-NaOH (pH

7.4), 150 mM NaCl] 中でホモゲナイズした。ホモジェネートを沸騰水中で10分間加熱し、総タンパク質を抽出した。得られたタンパク質 20 μ g を 12.5% SDS-ポリアクリルアミド電気泳動にて分離した後、セミドライプロットング装置を用いてタンパク質を電氣的にPVDF膜に転写した。抗lpdモノクローナル抗体と膜を反応させた後、ペルオキシダーゼ標識抗マウスIgG抗体によってLpd抗体を検出した。

2. 免疫電子顕微鏡による組織学的解析

8週齢ラットをネブタール麻酔下に開胸し、Zamboni液 (0.1M リン酸緩衝液4% パラホルムアルデヒド、0.2% ピクリン酸,pH 7.4) で灌流後、固定液でさらに4時間浸漬固定した。組織ブロックを水溶性包埋剤 (O.C.T. compound 4583) に包埋し、クリオスタット切片を作成した。切片を抗Lipidosin monoclonal 抗体と4 $^{\circ}$ C 2-3日間反応させた。ビオチン化抗マウスIgGを載せて室温60分反応させた後、ABC試薬 (avidin- biotin- HRP 複合体) を載せてさらに室温 45分反応させた。切片を洗浄し、0.2%タンニン酸、2.5% グルタルアルデヒドを含む0.1M PB (pH 7.2) で30分固定した後、0.1M PB (pH 7.4) で5分x3回洗浄した。切片をペルオキシダーゼ基質液 (0.3% ニッケルアンモニウム、0.2mg/ml DAB、0.05M Tris-HCl Buffer, pH 7.6) に10-30分、次いで0.0045% 過酸化水素を含む同基質液に2-7分発色させた。切片を1% OsO₄を含む0.1M PB (pH 7.2) で30分浸漬した後、0.5% 酢酸ウラニウム

液と 4℃ 終夜浸漬した。1% チト酸塗布した後、2.5% グルタルアルデヒド水溶液で室温30分固定した。切片をエポン樹脂に包埋後、超薄切片を作成し、酢酸ウラニウム、クエン酸鉛で染色した後、電子顕微鏡（日本電子 JEOL JEM 1030, JEOL Co.Ltd Tokyo）で観察した。

動物実験については三菱化学生命科学研究所動物飼育センターの定める規定にもとづき、動物愛護に配慮のうえ実施した。また、ヒト由来のRNAについてはクロンテック社より市販されている対象者不定のサンプルを用いており、倫理面の問題は無い。

C. 研究結果

1. ラットLpdタンパク質の組織特異性

成体ラットの各臓器におけるlpdタンパク質レベルを抗lpdモノクローナル抗体を用いたイムノブロット法によって検討した。その結果、lpdは精巣、卵巣、脳に比較的高レベルで存在することが明らかになった。Lpdは副腎にも存在するが、そのレベルは、脳、生殖腺に比べると低かった。Lpdは格筋、肝臓、肺、脾臓、心臓、腎臓には検出されなかった。

2. ラットアストロサイトにおけるlpdの細胞内局在性

ラット大脳皮質におけるlpdの発現を酵素抗体法によって検討したところ、毛細血管周囲のアストロサイトが陽性であることが明らかになった。免疫電子顕微鏡法により、細胞内の分布を検討したところ、血管内皮細胞を取り囲む基底膜に接するフットパッドと呼ばれる突起部分にまでlpdが密に分布していることが明らかになった。

ラット小脳皮質においてはlpdはパーグマンガリア細胞特異的に発現している。免疫電子顕微鏡法で検討すると、lpdは興奮性シナプス近傍の微細な突起部分にも密に存在していた。

D. 考察

LpdはアシルCoAシントラーゼ活性を有しており、アストロサイトにおける脂質代謝に関与しているものと考えられる。Lpdはアストロサイトの細胞質に存在し、毛細血管に接するフットパッド

およびシナプス近傍の微細突起にまで密に分布していた。一方、私たちは 強制発現させたlpdはアシルCoAシントラーゼ活性を示すものの、β酸化を促進しないことを明らかにしてきた。これらと免疫電子顕微鏡による結果を考え合わせると、lpdが脂肪酸の分解ではない細胞機能に関与しているのではないかと考えられる。

近年、アストロサイトにおける脂質代謝・輸送が神経機能あるいは神経細胞の生存維持に重要な役割を担っていることが報告されている。細胞内コレステロールの過剰な蓄積をとまなう遺伝性神経疾患、ニーマンピックC1の原因遺伝子NPC1は長鎖脂肪酸の輸送に関わることが示唆されている。NPC1は主にアストロサイトで発現していると報告されており、ニーマンピックC1における神経変性はアストロサイトの機能異常による可能性が考えられる。また、ApoEを介したアストロサイトから神経細胞へのコレステロール輸送が、シナプス形成を促すという結果も報告された。これらの研究成果から、「アストロサイトの脂質（特にコレステロール）の代謝・輸送の異常が神経変性を導く」という新しい仮説が想定される。アストロサイトの脂質代謝におけるlpdの役割の解明が望まれる。

E. 結論

ALDの原因遺伝子ALDPは広範な組織で発現しており、X-ALDにおける組織特異的障害の発症には未知の介在因子の関与が想定される。lipidosinはALDにおける標的細胞特異的障害の発症を規定する介在因子の有力な候補であると考えられる。Lipidosinはアストロサイトの細胞質に存在しており、脂質代謝・輸送の制御を介して神経細胞の維持に重要な役割を果たしているのではないかと私たちは考えている。今後、lpdの機能を明らかにするためには、遺伝子改変動物を作成し、個体レベルでの表現型を解明する必要がある。

F. 研究発表

なし。

G. 知的所有権の取得状況

なし。

IV 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

発表業績：

著者氏名・発表論文名・学協会誌名・発表年・(西暦)・巻号(最初と最後の頁)

(主任研究者)

辻 省次

○Funayama M. Hasegawa K. Kowa H. Saito M. Tsuji S. and Obata F.: A new locus for Parkinson's disease (PARK8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Annals of Neurology* 51(3): 296-301, 2002

○Takahashi T. Igarashi S. Kimura T. Hozumi I. Kawachi I. Onodera O. Takano H. Saito M. and Tsuji S.: Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 72: 675-680, 2002

○Toyoshima I. Sugawara M. Kato K. Wada C. Shimohata T. Koide R. Onodera O. and Tsuji S.: Time course of polyglutamine aggregate body formation and cell death: Enhanced growth in nucleus and an interval for cell death. *Journal of Neuroscience Research* 68: 442-448, 2002

○Shimohata T. Sato A. Burke J.R. Strittmatter W.J. Tsuji S. Onodera, O.: Expanded polyglutamine stretchers form an 'aggresome'. *Neuroscience letters* 323: 215-218, 2002

○Shimazaki H. Takiyama Y. Sakoe K. Ikeguchi K. Nijima K. Kaneko J. Namekawa M. Ogawa T. Date H. Tsuji S. Nakano I. And Nishizawa, M. early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia. *Neurology* 59: 590-595, 2002

○Arai A. Tanaka K. Igarashi S. Kobayashi H. Asaka T. Date H. Saito M. Tanaka H. Kawasaki S. Uyama E. Mizusawa H. Fukuhara N. and Tsuji S.: A novel mutation in the GNE gene and a linkage disequilibrium in Japanese pedigrees. *Ann Neurol* 52:516-519, 2002

○Silveria I. Miranda C. Guimarães L. Moreira M.-C. Alonso I. Mendonça P. Ferro A. Pinto-Basto J. Coelho J. Ferreira F. Poirier J. Parreira E. Vale J. Januário C. Barbot C. Tuna A. Barros J. Koide R. Tsuji S. Holmes S.E. Margolis R.L. Jardim L. Pandolfo M. Coutinho P. and Sequeiros J.: Trinucleotide repeats in 202 families with ataxia. A small expanded (CAG)_n allele at the SCA17 locus. *Arch Neurol* 59: 623-629, 2002

○Aida H. Takakuwa K. Nagata H. Tsuneki I. Takano M. Tsuji S. Takahashi T. Sonoda T. Hatae M. Takahashi K. Hasegawa K. Mizunuma H. Toyoda N. Kamata H. Torii Y. Saito N. Tanaka K. Yakushiji M. Araki T. and Tanaka K.: Clinical features of ovarian cancer in Japanese women with germline mutations of *BRCA1*. *Clin. Cancer Res.* (in press)

○Tanaka M. Tanaka K. Nakano R. Inuzuka T. Tsuji S. Shinozawa K. Kojo T. Matsui T. Kumamoto T. and Suzumura A.: HLA antigens in Japanese patients with anti-Hu antibodies. *Neurology* (in press)

○Yamada M. Tsuji S. and Takahashi H.: Involvement of lysosomes in the pathogenesis of CAG-repeat diseases. *Annals of Neurology* (in press)

○Takahashi T. Igarashi S. Kimura T. Hozumi I. Kawachi I. Onodera O. Takano H. Saito M. and Tsuji S.: Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. (in press)

○辻 省次: 脊髄小脳変性症。看護のための最新医学講座。中山書店、東京、pp. 313-319(646), 2002

○小野寺理、辻 省次: 副腎白質ジストロフィー (adrenoleukodystrophy:ALD) - 治療法研究の進歩。神経。中外医学社、東京、pp.197-208(352), 2002

(分担研究者)

佐々木秀直

○ Yabe, I., Sasaki, H., Kikuchi, S., Nonaka, M., Moriwaka, F., and Tashiro, K.: Late onset ataxia phenotype in dentatorubro-pallidoluysian atrophy (DRPLA). *J Neurol* 249, 432-436, 2002

○ Yabe, I., Sasaki, H., Tashiro, K., Matsuura, T., Takegami, T., and Satoh, T.: Spastin gene mutation in Japanese with hereditary spastic paraplegia. *J Med Genet* 39(8):E46, 2002.

○ Yabe I, Sasaki H, Takeichi N, Takei A, Hamada T, Fukushima K, Tashiro K. Positional Vertigo and Macroscopic Downbeat Positioning Nystagmus in Spinocerebellar Ataxia Type 6 (SCA6). *J Neurol* 249: (in press).

佐々木秀直, 田代邦雄: 脊髄小脳変性症, 1589項-1598項(池田康夫, 伊藤貞嘉, 沖田 極, 春日雅人, 西元寺克禮, 齋藤 厚, 辻 省次, 中尾一和, 貫和敏博, 福井次矢, 堀 正二, 山本一彦, 和田 攻 編: 新臨床内科学 8版, 医学書院, 東京) 2002

矢部一郎, 佐々木秀直, 田代邦雄: 遺伝性脊髄小脳変性症, 307項-311項(田村 晃, 松谷雅生, 清水輝夫 編: EBMに基づく脳神経疾患の基本治療指針, Medical View社, 東京) 2002

佐々木秀直, 田代邦雄: CAGリピート病の発症機序. *細胞培養工学*28, 56-58, 2002

佐々木秀直, 田代邦雄: 運動失調. *日本臨床 増刊号*
「ミトコンドリアとミトコンドリア病」, 511-514, 2002

田代邦雄, 佐々木秀直: 新しい遺伝子異常 -トリプレットリピート病.
日内会誌 特集 - 内科100年のあゆみ (神経), 39-43, 2002

佐々木秀直, 矢部一郎. 家族性発作性小脳失調症 a. ミオキミアを伴う発作性小脳失調症. *日本臨床2002年別冊「神経症候群VI」*, pp318-321, 2002

矢部一郎, 佐々木秀直. 家族性発作性小脳失調症 a. ミオキミアを伴わない発作性小脳失調症. *日本臨床 2002年別冊「神経症候群VI」*, pp322-325, 2002

佐々木秀直. 不随意運動のすべて (2) - 脊髄小脳変性症.
Clinical Neuroscience 20 (12) :1374-1375, 2002

佐々木秀直, 田代邦雄. 協調運動の診かた. *Clinical Neuroscience* 21 (3) (印刷中)

水澤英洋

○ T. Tsunemi, H. Saegusa, K. Ishikawa, S. Nagayama, T. Murakoshi, H. Mizusawa, T. Tanabe: Novel Cav2.1 splice variants isolated from purkinje cells do not generate P-type Ca²⁺ current. *J. Biological Chemistry* 277(9): 7214-7221, 2002

A. Inaba, T. Yokota, A. Otagiri, T. Nishimura, Y. Saito, T. Ichikawa, H. Mizusawa: Electrophysiological evaluation of conduction in the most proximal motor root segment. *Muscle and Nerve* 25: 608-611, 2002

M. Yamada, N. Sodeyama, Y. Itoh, E. Otomo, M. Matsushita, H. Mizusawa: No association of paraoxonase genotype or atherosclerosis with cerebral amyloid angiopathy. *Stroke* 33: 896-900, 2002

○ H. Miake, H. Mizusawa, T. Iwatsubo, M. Hasegawa: Biochemical characterization of the core structure of α -synuclein filaments. *J. Biological Chemistry* 277(21): 19213-19219, 2002

○S. Ohara, T. Iwahashi, T. Oide, R. Hayashi, T. Nakajima, K. Ishikawa, H. Mizusawa: Spinocerebellar ataxia type6 with motor neuron loss: A follow-up autopsy report. *J. Neurol* 294: 633-635, 2002

A. Inaba, T. Yokota, A. Otagiri, T. Nishimura, Y. Saito, T. Kanouchi, H. Mizusawa: High voltage electrical stimulation of the proximal hypoglossal nerve in normal subjects. *Clinical Neurophysiology* 113: 925-929, 2002

H. Tomimitsu, K. Ishikawa, J. Shimizu, N. Ohkoshi, I. Kanazawa, H. Mizusawa: Distal myopathy with rimmed vacuoles: Novel mutations in the GNE gene. *Neurology* 59: 451-454, 2002

A. Arai, K. Tanaka, T. Ikeuchi, S. Igarashi, H. Kobayashi, T. Asaka, H. Date, M. Saito, H. Tanaka, S. Kawasaki, E. Uyama, H. Mizusawa, N. Fukuhara, S. Tsuji : A novel mutation in the GNE gene and a linkage disequilibrium in Japanese pedigrees. *Ann Neurol* 52: 516-519, 2002

金澤一郎

"Fukutake T, Shinotoh H, Nishino H, Ichikawa Y, Goto J, Kanazawa I, Hattori T" : Homozygous Machado-Joseph disease presenting as REM sleep behaviour disorder and prominent psychiatric symptoms. *European Journal of Neurology*, 9:97-100, 2002"

"Tachikawa M, Nagai Y, Nakamura K, Kobayashi K, Fujiwara T, Hye-Jung Han, 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 disease. *Journal of Human Genetics*;47:275-278, 2002"

"Yoshida H, Yoshizawa T, Shibasaki F, Shoji S, Kanazawa I" : Chemical chaperones Reduce aggregate formation and cell death caused by the truncated Machado-Joseph disease gene product with an expanded polyglutamine stretch. *Neurobiology of Disease*;10:88-99, 2002"

"Hazeki N, Tukamoto T, Yazawa I, Koyama M, Hattori S, Someki I, Iwatsubo T, Nakamura K, Goto J, Kanazawa I" : Ultrastructure of nuclear aggregates formed by expressing an expanded polyglutamine *Bio Biophys Res Com* 294:429-440, 2002"

"Okazawa H, Rich T, Chang A, Lin X, Waragai M, Kajikawa M, Enokido Y, Komuro A, Kato S, Shibata M, Hatanaka H, Mouradian M, Sudol M, Kanazawa I" : Interaction between Mutant Ataxin-1 and PQBP-1 Affects Transcription and Cell Death *Neuron* 34:701-713, 2002"

Kanazawa I : Molecular pathology of dentatorubral-pallidoluysian atrophy" in *Glutamine Repeats and Neurodegenerative Diseases** Molecular Aspects, edited by Harper P & Perutz M, pp. 249-260, Oxford University Press Inc, New York"

服部孝道

○"Fukutake T, Kamitsukasa I, Arai K, Hattori T, Nakajima T": A patient homozygous for the SCA6 gene with retinitis pigmentosa *Clin Genet* 2002;61:375-379

"Mori M, Kuwabara S, Yoshiyama M, Kanesaka T, Ogata T, Hattori T": Successful immune treatment for non-paraneoplastic limbic encephalitis *J Neurol Sci* 2002;201:85-88

"Sakakibara R, Nakazawa K, Shiba K, Nakajima Y, Uchiyama T, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T" : Firing patterns of micturition-related neurons in the pontine storage centre in cats *Auton Neurosci: Basic and Clinical* 2002;99:24-30

榊原隆次、内山智之、服部孝道:神経因性膀胱 (1)
～内科的基礎疾患～排尿障害プラクティス

2002;10(2):130-137

○榊原隆次、内山智之、服部孝道:シャイドレーガー症候群の排泄コントロール。
難病と在宅ケア 2002;8(6):7-11

○榊原隆次、内山智之、芳山充晴、服部孝道:大脳基底核と排尿機能 自律神経
2002;39(1):75-79

○"Fukutake T, Shinotoh H, Nishino H, Ichikawa Y, Goto J, Kanazawa I, Hattori T":Homozygous Machado-Joseph disease presenting as REM sleep behaviour disorder and prominent psychiatric symptoms Eur J Neurol 2002;9:97-100

祖父江元

○Adachi H, Katsuno M, Minamiyama M, Sang C, Pagoulatos G, Kobayashi Y, Doyu M, Sobue G: HSP70 chaperone over-expression ameliorates phenotypes of the SBMA transgenic mouse model by reducing nuclear-localized mutant AR protein. **J Neurosci**, in press.

Koike H, Iijima M, Sugiura M, Mori K, Hattori N, Ito H, Hirayama M, Sobue G: Alcoholic neuropathy is clinicopathologically distinct from thiamine-deficiency neuropathy. **Ann Neurol**, in press

Hattori N, Yamamoto M, Yoshihara T, Koike H, Nakagawa N, Yoshikawa H, Ohnishi A, Hayasaka K, Onodera O, Baba M, Yasuda H, Saito T, Nakashima K, Kira J, Kaji R, Oka N, Sobue G and the Study Group for Hereditary Neuropathy in Japan: Demyelinating and axonal features of Charcot-Marie-Tooth disease with mutations of myelin-related proteins (PMP22, MPZ and Cx32): a clinicopathological study of 205 Japanese patients. **Brain**, 126(1): 134-151, 2003

Takeuchi H, Kobayashi Y, Ishigaki S, Doyu M, Sobue G: Mitochondrial localization of mutant superoxide dismutase 1 triggers caspase-dependent cell death in a cellular model of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Biol Chem**, 277(52): 50966-50972, 2002

Koike H, Misu K, Ikeda S, Ando Y, Nakazato M, Ando E, Yamamoto M, Hattori N, Sobue G: Type I (transthyretin Met30) familial amyloid polyneuropathy in Japan : early- vs late-onset form. **Arch Neurol**, 59(11): 1771-1776, 2002

Yoshihara T, Ishigaki S, Yamamoto M, Liang Y, Niwa J, Takeuchi H, Doyu M, Sobue G: Differential expression of inflammation-and apoptosis-related genes in spinal cords of a mutant SOD1 transgenic mouse model of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, 80: 158-167, 2002

Mori K, Hattori N, Sugiura M, Koike H, Misu K, Ichimura M, Hirayama M, Sobue G: Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy presenting with features of GBS. **Neurology**, 58: 979-982, 2002

Ikeda S, Nakazato M, Ando Y, Sobue G: Familial transthyretin-type amyloid polyneuropathy in Japan. **Neurology**, 58: 1001-1007, 2002

○Watanabe H, Saito Y, Terao S, Ando T, Kachi T, Mukai E, Aiba K, Abe Y, Tamakoshi A, Doyu M, Hirayama M, Sobue G: Progression and prognosis in multiple system atrophy. An analysis of 230 Japanese patients. **Brain**, 125: 1070-1083, 2002

Ishigaki S, Liang Y, Yamamoto M, Niwa J, Ando Y, Yoshihara T, Takeuchi H, Doyu M, Sobue G: X-linked inhibitor of apoptosis protein is involved in mutant SOD-1 mediated neuronal degeneration. **J Neurochem**, 82: 576-584, 2002

○Katsuno M, Adachi H, Kume A, Li M, Nakagomi Y, Niwa H, Sang C, Kobayashi Y, Doyu M, Sobue G: Testosterone reduction prevents phenotypic expression in a transgenic mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy. *Neuron*, 35: 843-854, 2002

Niwa J, Ishigaki S, Hishikawa N, Yamamoto M, Doyu M, Murata S, Tanaka K, Taniguchi N, Sobue G: Dofin ubiquitylates mutant SOD1 and prevents mutant SOD1-mediated neurotoxicity. *J Biol Chem*, 277(39): 36793-36798, 2002

西澤正豊

○Shimazaki H, Takiyama Y, Sakoe K, Ikeguchi K, Nijima K, Kaneko J, Namekawa M, Ogawa T, Date H, Tsuji S, Nakano I, Nishizawa M: Early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia: The aprataxin gene mutations. *Neurology* 59: 590-595, 2002

○Namekawa M, Takiyama Y, Sakoe K, Nagaki H, Shimazaki H, Yoshimura M, Ikeguchi K, Nakano I, Nishizawa M: A Japanese SPG4 family with a novel missense mutation of the SPG4 gene: intrafamilial variability in age at onset and clinical severity. *Acta Neurol Scand* 2002, (in press)

Namekawa M, Takiyama Y, Aoki Y, Takayashiki N, Sakoe K, Shimazaki H, Taguchi T, Tanaka Y, Nishizawa M, Saito K, Matsubara Y, Nakano I: Identification of the GFAP gene mutation in hereditary adult-onset Alexander disease (HAAD). *Ann Neurol* 52: 779-785, 2002

Takahashi T, Aoki M, Tateyama M, Kondo E, Mizuno T, Onodera R, Takano H, Kawai H, Kamakura K, Mochizuki H, Shizuka-Ikeda M, Nakagawa M, Yoshida Y, Akanuma J, Hoshino K, Saito H, Nishizawa M, Kuzuhara S, Ibi T, Sahashi K, Nakai H, Kohnosu T, Nonaka I, Arahata K, Brown RH Jr, Saito H, Itoyama Y: Common and novel mutations in Japanese cases of Miyoshi myopathy. *Neurology* 2002, (in press)

山田光則

Okamoto K, Ito J, Ishikawa K, Morii K, Yamada M, Takahashi N, Tokiguchi S, Furusawa T, Sakai K. Atrophy of the basal ganglia as the initial diagnostic sign of germinoma in the basal ganglia. *Neuroradiology*, 44: 389-394, 2002

Piao YS, Hayashi S, Wakabayashi K, Kakita A, Aida I, Yamada M, Takahashi H.: Cerebellar cortical tau pathology in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Acta Neuropathologica*. 103:469-474, 2002

Honda A, Yamada M, Saisu H, Takahashi H, Mori KJ, Abe T. Direct: Ca²⁺-dependent interaction between tubulin and synaptotagmin I: A possible mechanism for attaching synaptic vesicles to microtubules. *Journal of Biological Chemistry*. 277:20234-20242, 2002

○Yamada M, Tsuji S, Takahashi H. Involvement of lysosomes in the pathogenesis of CAG-repeat diseases. *Annals of Neurology*. 52:498-503, 2002

○Yamada M, Sato T, Tsuji S, Takahashi H. Oligodendrocytic polyglutamine pathology in dentatorubral-pallidoluysian atrophy. *Annals of Neurology*. 52:670-674, 2002

○Ishikawa A, Yamada M, Makino K, Aida I, Idezuka J, Ikeuchi T, Soma Y, Takahashi H, Tsuji S.: Dementia and delirium in four patients with Machado-Joseph disease. *Archives of Neurology*. 59:1804-1808, 2002

Piao YS, Wakabayashi K, Kakita A, Yamada M, Hayashi S, Morita T, Ikuta F, Oyanagi K, Takahashi H. Neuropathology with clinical correlations of sporadic amyotrophic lateral sclerosis: 102 autopsycases examined between 1962 and 2000. *Brain Pathology*. (in press)

○Yamada M, Tsuji S, Takahashi H. Genotype-phenotype correlation in CAG-repeat diseases. *Neuropathology* (in press)

黒岩義之

○Kamitani T, Kuroiwa Y, Wang L, Li M, Suzuki Y, Takahashi T, Ikegami T, Matsubara S: Visual event-related potential changes in two subtypes of multiple system atrophy, MSA-C and MSA-P. *J Neurol* 2002 249: 975-982.

Yamada H, Momose T, Okada M, Kuroiwa Y: Anticholinergic drugs: response of parkinsonism not responsive to levodopa. *J Neurol Neurosurg psychiatry* 2002 72:111-113.

Kamijo K, Yamazaki T, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa: Visual event-related potentials during movement imagery and the dipole analysis. *Brain Topography* 2002 14:279-292.

Yamazaki T, Kamijo K, Kinuya T, Takaki Y, Kuroiwa: Multiple-dipole analysis of visual event-related potential during oddball paradigm. *International Congress Series* 2002 1232:863-870.

Li M, Kuroiwa Y, Wang L, Kamitani T, Takahashi T, Suzuki Y, Omoto S: Early sensory information processes are enhanced on visual oddball and S1-S2 tasks in Parkinson's disease. A visual event-related potentials study. *Parkinsonism and Related Disorders* 2002 (in press).

貫名信行

Lee, J-A., Lim, C-S., Lee, S-H., Kim, H., Nukina, N., Kaang, B-K. Aggregate formation and the impairment of long-term synaptic facilitation by ectopic expression of mutant huntingtin in *Aplysia* neurons. *J. Neurochem.* (in press).

Mitsui, K., Nakayama, H., Akagi, T., Nekooki, M., Ohtawa, K., Takio, K., Hashikawa, T., Nukina, N. Purification of polyglutamine aggregates and identification of elongation factor-1a and heat shock protein 84 as aggregate-interacting proteins. *J. Neurosci.* 22, 9267-9277 (2002).

Tanaka, M., Machida, Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Morishima, I., Hashikawa, T., Fujisawa, T., Nukina, N. : The effects of aggregation-inducing motifs on amyloid formation of model proteins related to neurodegenerative diseases. *Biochemistry* 2002, 41:10277-10286.

○岩田 淳, 丸山美枝子, 貫名信行. α -シヌクレインによる神経細胞死... (1). *臨床神経科学* 2003, 21:6-7.

貫名信行, 田中元雅. ポリグルタミン含有蛋白の構造変化—マックス・ペルツ最後の挑戦—. *神経研究の進歩* 2002, 46:661-668.

垣塚 彰

○Kobayashi, T., Tanaka, K., Inoue, K. & Kakizuka, A. Functional ATPase activity of p97/VCP is required for the quality control of endoplasmic reticulum in neuronally differentiated mammalian PC12 cells. *J. Biol. Chem.* 277: 47358-47365, 2002.

○Kimura, Y., Koitabashi, S., Kakizuka, A., & Fujita, T. Circumvention of chaperone requirement for aggregate formation of a short polyglutamine tract by the co-expression of a long polyglutamine tract. *J. Biol. Chem.* 277:37536-37541, 2002.

○Nishitoh H, Matsuzawa A, Tobiume K, Saegusa K, Takeda K, Inoue K, Hori S, Kakizuka A, & Ichijo H. ASK1 is essential for endoplasmic reticulum stress-induced neuronal cell death triggered by expanded polyglutamine repeats. *Genes & Dev.* 16:1345-1355, 2002.

○ Nakamoto, M., Nakano, S., Kawashima, S., Ihara, M., Nishimura, Y., Shinde, A., & Kakizuka, A. Unequal crossing-over in unique PABP2 Mutations: a possible cause of oculopharyngeal muscular dystrophy. *Archives Neurology* 59: 474-477, 2002.

○ Higashiyama, H., Hirose, F., Yamaguchi, M., Inoue, Y., Fujikake, N., Matsukage, A., & Kakizuka, A. Identification of *ter94*, *Drosophila VCP*, as a modulator of polyglutamine-induced neurodegenerations in *Drosophila*. *Cell Death Differ.* 9: 264-273, 2002.

小野寺理

Hattori N, Yamamoto M, Yoshihara T, Koike H, Nakagawa M, Yoshikawa H, Ohnishi A, Hayasaka K, Onodera O, Baba M, Yasuda H, Saito T, Nakashima K, Kira J, Kaji R, Oka N, Sobue G. :Demyelinating and axonal features of Charcot-Marie-Tooth disease with mutations of myelin-related proteins (PMP22, MPZ and Cx32): a clinicopathological study of 205 Japanese patients. *Brain.* 2003Jan;126(Pt 1):134-51. PMID: 12477701 [PubMed - in process]

○ Takemoto Y, Suzuki Y, Tamakoshi A, Onodera O, Tsuji S, Hashimoto T, Shimozawa N, Orii T, Kondo N. :Epidemiology of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *J Hum Genet.* 2002;47(11):590-3. PMID: 12436195 [PubMed - in process]

○ Toyoshima I, Sugawara M, Kato K, Wada C, Shimohata T, Koide R, Onodera O, Tsuji S. :Time course of polyglutamine aggregate body formation and cell death: enhanced growth in nucleus and an interval for cell death. *J Neurosci Res.* 2002 May 15;68(4):442-8. PMID: 11992470 [PubMed - indexed for MEDLINE]

○ Takahashi T, Igarashi S, Kimura T, Hozumi I, Kawachi I, Onodera O, Takano H, Saito M, Tsuji S. :Japanese cases of familial hemiplegic migraine with cerebellar ataxia carrying a T666M mutation in the CACNA1A gene. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2002 May;72(5):676-7. No abstract available. PMID: 11971066 [PubMed - indexed for MEDLINE]

○ Shimohata T, Sato A, Burke JR, Strittmatter WJ, Tsuji S, Onodera O. :Expanded polyglutamine stretches form an 'aggresome'. *Neurosci Lett.* 2002 May 3;323(3):215-8. PMID: 11959423 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Oguma T, Kobayashi H, Katada S, Onodera O, Tanaka K, Tsuji S, Uno T, Ishida T, Kagamu H, Gejyo F, Motomura M. :Paraneoplastic striatal encephalitis. *Neurology.* 2001 Dec 26;57(12):2326. No abstract available. PMID: 11756629 [PubMed - in process]

武田 篤

Kikuchi A, Takeda A, Onodera H, Kimpara T, Hisanaga K, Sato N, Nunomura A, Castellani RJ, Perry G, Smith MA, Itoyama Y. :Systemic increase of oxidative nucleic acid damage in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Neurobiol. Dis.* 9 : 244-248, 2002.

Nunomura A, Chiba S, Kosaka K, Takeda A, Castellani RJ, Smith MA, Perry G. :Neuronal RNA oxidation is a prominent feature of dementia with Lewy bodies. *NeuroReport* 13 : 2035-2039, 2002.

Smith MA, Drew KL, Nunomura A, Takeda A, Hirai K, Zhu X, Atwood CS, Raina AK, Rottkamp CA, Sayre LM, Friedland RP, Perry G. :Amyloid-beta, tau alternations and mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease : chickens or the egg? *Neurochem. Intern.* 40: 527-531, 2002.

Raina AK, Sayre LM, Atwood CS, Rottkamp CA, Hochman A, Zhu X, Obrenovich ME, Shimohama S, Nunomura A, Takeda A, Perry G, Smith MA. :Apoptosis and oxidative indicators in Alzheimer's disease, *Neuromethods* 37 : 225-246, 2002.

Takeda A. Kimpara T. Itoyama Y. Perry G. Smith MA. : Possible roles of heme catabolism in neurodegeneration, Abraham NG (ed.); Heme Oxygenase in Biology and Medicine. , p135-143, 2002.

Castellani RJ. Hirai K. Aliev G. Drew KL. Nunomura A. Takeda A. Cash AD. Obrenovich ME. Perry G. Smith MA. Role of mitochondrial dysfunction in Alzheimer disease, *J. Neurosci. Res.* 70 : 357-360, 2002.

Perry G. Nunomura A. Hirai K. Zhu X. Prez M. Avila J. Castellani RJ. Atwood CS. Aliev G. Sayre LM. Takeda A. Smith MA. :Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free Radical Biology & Medicine.* 33 : 1475-1479, 2002.

長谷川一子

M Funayama, K Hasegawa, H Kowa, M Saito, S Tsuji, F Obata: A new locus for Parkinson's disease (Park8) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol* 51:296-301, 2002.

長谷川一子：パーキンソン病がわかる本。第4章薬による治療。p105-150, 法研 福永秀敏編集。2002

長谷川一子, 古和久幸：4. 家族性運動ニューロン病, 内科学書改訂6版。中山書店2270-2273, 2002

長谷川一子：その他の遺伝性パーキンソニズム。脳科学24：159-168, 2002.

長谷川一子：パーキンソン病ー運動症状を中心に。内科ー特集EBMのための内科疾患データファイルー治療方針決定のためにー89 (6) 1431-1436, 2002

長谷川一子：初期のパーキンソン病患者。今月の治療10：70-72, 2002

長谷川一子：高齢者パーキンソン病の治療薬ー抗コリン薬アママンタジン。Geriatric Medicine40：1228-32, 2002

長谷川一子, 服部優子, 河本純子, 近藤智善：パーキンソン病の非薬物療法ーQOLー改善のために。Geriatric Medicine40：1283-94, 2002

長谷川一子：Restless legs syndrome. *Clinical Neuroscience* 20:1366-1368, 2002.

長谷川一子：初期のパーキンソン病患者。今月の治療10：70-72, 2002

神田武政

○ Kazuta T, Hayashi M, Shimizu T, Iwasaki A, Nakamura S, Hirai S. : Autonomic dysfunction in Machado-Joseph disease assessed by iodine 123-labeled metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy. *Clin Auton Res*, 2001; 10(3) :111-115

○青木和子, 川田明広, 須田南美, 平井俊策：既知のトリプレットリピート病が否定された常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症の臨床像の解析 *臨床神経* 2001; 41(1): 18-23

○神田武政：家族性脊髄小脳変性症の排尿障害 *自律神経* 2001; 38(2): 82-83

川田明広, 林 秀明, 平井俊策：Machado-Joseph病の自然経過
第42回日本神経学会総会 2001年5月, 東京

川田明広, 加藤修一, 須田南美, 小出玲爾, 磯崎英治, 神田武政, 林 秀明, 平井俊策：多系統萎縮症の自然経過
第43回日本神経学会総会 2002年5月, 札幌

吉田邦広

Kaneko K, Nakamura A, Yoshida K, Kametani F, Higuchi K, Ikeda S. Glial fibrillary acidic protein is greatly modified by oxidative stress in aceruloplasminemia. *Free Rad. Res.* 36: 303-306, 2002.

Nakamura A, Yoshida K, Takeda S, Dohi N, Ikeda S. Progression of dystrophic features and activation of mitogen-activated protein kinases and calcineurin by physical exercise, in hearts of mdx mice. *FEBS Lett.* , 520: 18-24, 2002.

Lor^斬 O, Turlin B, Pigeon C, Moisan A, Ropert M, Morice P, Gandon Y, Jouanolle A-M, V^屍in M, Hider RC, Yoshida K, Brissot P: Aceruloplasminemia: new clinical, pathophysiological and therapeutic insights. *J Hepatol* 36: 851-856, 2002.

Yamamoto K, Yoshida K, Miyagoe Y, Ishikawa A, Hanaoka K, Nomoto S, Kanaeko K, Ikeda S, Takeda S. Quantitative Evaluation of Expression of Iron-Metabolism Genes in Ceruloplasmin-Deficient Mice. *Biochimica Biophysica Acta* 1588: 195-202, 2002.

Kaneko K, Yoshida K, Arima M, Ohara S, Miyajima H, Kato T, Ohta M, Ikeda S. Astrocytic deformity and globular structures are characteristic of the brains of patients with aceruloplasminemia. *J. Neuropathol Exp. Neurol.* 61: 1069-1077, 2002.

吉田邦広, 玉井真理子, 久保田健夫, 川目裕, 天野直二, 池田修一, 福嶋義光: 遺伝性神経筋疾患における発症前遺伝子診断の現状と課題 -当院遺伝子診療部の事例に基づく検討-. *臨床神経* 42: 113-117, 2002.

加知輝彦

Ito K, Nagano AS, Kato T, Arahata Y, Nakamura A, Kawasumi Y, Hatano K, Abe Y, Yamada T, Kachi T, Brooks DJ: Striatal and extrastriatal dysfunction in Parkinson's disease with dementia: a 6-[¹⁸F]fluoro-L-dopa PET study. *Brain* 2002; 125: 1358-1365

○Watanabe H, Saito Y, Terao S, Ando T, Kachi T, Mukai E, Aiba I, Abe Y, Tamakoshi A, Doyu M, Hirayama M, Sobue G: Progression and prognosis in multiple system atrophy; an analysis of 230 Japanese patients. *Brain* 2002; 125: 1070-1083

好永順二, 川村純一郎, 山下順章, 山田孝子, 加知輝彦, 柳澤信夫: Parkinson病における bromocriptine, pergolide から cabergoline への切替え - 切替え方法と用量について -. *神経内科治療* 2002; 19: 167-175

阿部祐士, 加知輝彦: EBMのための内科疾患データファイル; ジストニア, 眼瞼痙攣. *内科* 2002; 86: 1437-1440

Maruyama W, Yamada T, Washimi Y, Kachi T, Yanagisawa N, Ando F, Shimokata H, Naoi M: Neutral (R) salsolinol N-methyltransferase as a pathogenic factor of Parkinson's disease. *Mapping the Progress of Alzheimer's and Parkinson's Disease* (ed by Mizuno Y et al), Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 2002, p. 277-280

丹羽央佳, 加知輝彦: 食中毒. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p. 491-493

丹羽央佳, 加知輝彦: スモン. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p. 490-491

丹羽央佳, 加知輝彦: 麻薬・覚醒剤中毒. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p. 489-490

加知輝彦: ジストニア. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p. 331-333

鷺見幸彦, 加知輝彦: ハンチントン病. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p.329-331

加知輝彦: おもな症状とその診かた; 不随意運動. 看護のための最新医学講座 (日野原重明, 井村裕夫 監修), 1巻 脳・神経系疾患, 中山書店, 東京, 2002, p.57-62

Nagaya M, Kachi T, Yamada T: Examination of aspiration prevention in patients with dysphagia due to neurodegenerative disease. *Dysphagia*. (In press)

中島 孝

Hayakawa Y, Nakajima T, Takagi M, Fukuhara N, Abe H, : Human cerebellar activation in relation to saccadic eye movements: an fMRI study, *Ophthalmologica* (in press)

Nemoto H, Toda H, Nakajima T, Hosokawa S, Okada Y, Ymamaoto K, Horicuchi R, Endo K, Masahiko M, Goto, F, : Fluvoxamine modulates pain sensation and affective processing of pain in human brain, *NeuroReport* (in press)

Fukutake T, Kamitukasa I, Arai K, Hattori T, Nakajima T, : A patient homozygous for the SCA6 gene with retinitis pigmentosa. *Clin Genet* 61 (5) 375-379, 2002

亀井啓史, 中島孝, 福原信義: 錐体外路系疾患における脳血流SPECTの統計学的解析による検討, *脳と神経* 54 (8) 667-672, 2002

中島孝: 脊髄小脳変性症のクリニカルパスにむけて, *医療* 56 (7) 420-422, 2002

Koide T, Nakajima T, Makifuchi T, Nobuyoshi F, : Systemic mastocytosis and recurrent anaphylactic shock, *The Lancet* Vol. 359, 9323, p 2084, 2002

Koide T, Ohtake H, Nakajima T, Furukawa H, Sakai K, Kamei H, Makifuchi T, Nobuyoshi F, : A patient with dementia with Lewy bodies and codon 232 mutation of PRNP, *Neurology* 59:1619-1621, 2002

袖山千恵子, 村松林子, 平野美鈴, 二ノ宮正, 山岸恵美子, 山岸とし江, 黒崎みや子, 北沢真喜子, 小出隆司, 中島孝, 福原信義: プリオン遺伝子コドン232変異を持つ痴呆患者の看護と在宅指導についての経験, *医療* 56 (11) 664-667, 2002

納 光弘

Takashima H, Boerkoel CF, John J, Saifi GM, Salih MA, Armstrong D, Mao Y, Quijcho FA, Roa BB, Nakagawa M, Stockton DW, Lupski JR. Mutation of TDP1, encoding a topoisomerase I-dependent DNA damage repair enzyme, in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Nat Genet*. 2002; 32:267-72.

Matsuyama W, Nakagawa M, Takashima H, Osame M. Altered trafficking and adhesion function of MPZ mutations and phenotypes of Charcot-Marie-Tooth disease 1B. *Acta Neuropathol (Berl)* 2002; 103: 501-508.

Nakagawa M, Kodama T, Akiba S, Arimura K, Wakamiya J, Futatsuka M, Kitano T, Osame M. Logistic model analysis of neurological findings in Minamata Disease and the predicting index. *Intern Med* 2002; 41: 14-19.

Kodama T, Nakagawa M, Arimura K, Koriyama C, Akiba S, Osame M. Cross-sectional analysis of neurological findings among healthy elders: Study in a remote island in Kagoshima, Japan. *Neuroepidemiol* 2002; 21: 36-43.

Okamoto Y, Mitsuyama H, Jonosono M, Hirata K, Arimura K, Osame M, Nakagawa M. Autosomal dominant palatal myoclonus and spinal cord atrophy. *J Neurol Sci* 2002; 195: 71-76.