

<経変性及び神経免疫疾患>

神経変性疾患（例えば、Alzheimer 病【AD】、Parkinson 病【PD】、Huntington 病【HD】、脊髄小脳変性症【SCD】、運動ニューロン病【MND】など）の研究については、1980年代までは病理形態学と病態生化学が中心であった。しかし、それ以降分子生物学および核医学的研究分野の画期的進展により、「神経変性疾患原因遺伝子の同定と機能解析」および「神経変性疾患における画像解析」という2つの大きな流れが生まれたのみならず、今や中心的ストラテジーとなっている。特に原因遺伝子解明は治療法の開発に結びつくものと期待が集まっている。一方、神経変性疾患を横断的に展望すると、神経変性疾患に共通の病理形態学的所見としての「神経細胞死」に新しい注目が集まっているし、臨床的には「不随意運動」の病態解明と治療法の開発研究が臨床家にとっては重要な課題である。

1) 遺伝子解析

特に、遺伝性家系の遺伝子同定を目指す研究が大きく進展した。この領域での我が国の研究者の活躍は極めて大きかった（ARJP、DRPLA、MJD、SCA1、SCA17 など）。今後もしばらくはこうした傾向は続くだろう（ALS2、運動失調+眼球失行など）が、遺伝子未同定で残された家系例は小さくなり解析は困難である。むしろ、最近では同定された遺伝子の機能解析を含む病態解析（HD、PD、AD、MJD など）のシフトしてき

ている。特に我が国で発見・同定した遺伝子については、その病態解析までやりとげ必要がある。さらに、一都の疾患ではそうした知見を踏まえて特異抗体による病態抑制（AD）や遺伝子発現抑制（HD、SCD）、あるいは最近の再生医学などの成果を応用した細胞移植や遺伝子治療（PD、HD）など治療法の開発にまで進んできている（AD、PD、SCD など）。特に、脊髄損傷に対する神経幹細胞移植においては、霊長類の一つであるマーモセットを用いて研究が進んでいる。このような臨床応用を目指したいいわゆるトランスレーショナル・リサーチの今後を考える時、これまでマウスで行ってきた遺伝子改変動物での知見をもとにして、その結果をそのまま直ちに人間に応用することには大きな抵抗がある。そこで、早急に霊長類での遺伝子改変疾患モデルを作成することに着手することが必要である。

残された問題は遺伝子異常によらない孤発性神経変性疾患の病態をいかに解明するかであろう。例えば上記の各種神経変性疾患の非家族性例（例えばAD、PD、SCD、NMDのなど）の他、進行性核上性麻痺、ジストニアなどがある（特にジストニアについては症例数が多い上に、病態解析が進まない内にポツリヌム毒素による対症的治療が行われようとしており、今後益々病態鮮明が行われなくなる危険性がある）。現在ヒトゲノムの解読がほぼ完了する中で一部の疾患（AD、PD、ALS など）についてはゲノムワイドのマикроサテライトあるいは SNPs

による解析を中心とした関連遺伝子のサーヴェイが進んでいる。有意な成果が得られるかどうかには疑問もあるが、少なくともあるところまでは進められるであろう。またこれとは、別に単一神経細胞の発現遺伝子解析法とディフアレンシアル・ディスプレイ法を組み合わせる個々の神経変性疾患の責任分子を同定する野心的な研究方向も出てきており期待できる。この方法はさらに進んで、神経変性疾患の細胞内に出現することの多い、いわゆる封入体の解析にも応用する方向が出てきている。

2) 機能解析・画像解析

脳が発する微小な磁気を検出し解析する脳磁図、放射性機能分子をリガンドとして導入することにより活動領域を同定するPETやSPECT、脳の活動領域をリガンドを用いずにBOLD法により同定するfMRIなど脳の機能を解析する技術の進展は著しい。これらの方法を用いて正常脳の機能を解析するばかりでなく、神経変性疾患脳における責任病巣をダイナミックに同定することが可能になっている(AD, PD, PSP, ジストニアなど)。特に最近では、遺伝子解析によりat risk carrierであることが分かっている人達の機能画像による追跡研究の結果も少しずつ出始めており、今後の成果の集積が期待される。さらにこのような機能画像研究の流れは、成人脳の可塑性の基礎研究と関連して脳損傷後のリハビリテーションや脳定位固定手術後の脳の機能マップの変動などにも応用されつつある。当然ながらこの方向は、神経変性疾患に対する機能回復を目指した治療に繋がることが期待される。また機能回復という点で言えば、深部

脳刺激あるいは脳磁気刺激などによる機能回復治療法の開発も今後進めるべき重要な研究である。

3) 神経細胞死

神経変性疾患に共通の神経細胞死のメカニズムの解明については、ユビキチン化を介してアソームでの蛋白分解過程の障害、蛋白のフォールディング障害を介しての小胞体ストレス、ポリグルタミン含有蛋白の核内移行による転写障害など様々な機構が考えられており、着実な成果が挙げられている。今後も推進すべき重要課題である。

4) 不随意運動の発現メカニズム

例えばハンチントン病における舞踏運動、パーキンソン病における振戦などのように、多くの神経変性疾患において様々な形の不随意運動が認められる。また多くの種類の神経変性疾患で認められるジストニア、ミオクローヌスなどのような不随意運動もある。これらの不随意運動は神経症状の中でもとりわけ不可思議なものであり、その発現メカニズムについては古くから様々な考えが提出されてきた。しかし、未だに完全な解決を見たものはないに等しい。特に舞踏運動の発現メカニズム解明のためには、ハンチントン病のモデル動物が最も重要であると考えられるが、マウスでは舞踏運動は再現できていない。それを解決するためには四肢の構造がヒトに近似している霊長類での遺伝子改変モデルを作成する必要がある。

<神経免疫性疾患について>

神経系には免疫現象を基礎にした疾患が多い。例えば、多発性硬化症(MS)、

Guillain-Barre 症候群 (GBS) ,慢性炎症性脱髄性ニューロパチー (CIDP)、重症筋無力症 (MG)、Lambert-Eaton 症候群 (LES) などがこれにあたる。また傍悪性腫瘍症候群も免疫現象を基礎としている。この中で、MG や LES の病態は神経筋終板部に対する抗体が出現することによることがわかり胸腺摘出が治療法として確立しているし、MS についてはインターフェロン β が再発予防効果が認められて市販されている。さらに、最近開発された OCH と呼ばれる糖脂質が NKT 細胞を刺激してインターロイキン 4 を産生することによって新しい MS の治療法になりうる可能性が指摘されており期待できる。MS の基礎研究として、脳病変部の DNA マイクロアレイによる解析が行われた結果、MS の活性を抑制する分子がいくつか同定されており、将来治療に結びつく可能性が指摘されている。また、GBS の患者血清中に出現する抗ガングリオシド抗体が末梢神経に脱髄をきたすことが証明され、血漿交換や I VIG などによる治療法にすでに応用されている。今後は、ヒト型の HLA を有する上記の各種神経免疫疾患モデル動物作成などを通じて、さらに有効な治療法を求めることが必要である。

脳血管性障害研究の現状と将来計画に関する研究

柳原武彦

大阪大学

脳血管性障害研究の現状：脳血管障害はその6～7割が虚血性疾患であるため、研究の主眼も虚血性脳血管障害に向けられているが、くも膜下出血に関しては未破裂頭蓋内動脈瘤への対応が議論的となっており、欧米と日本で考え方の相違が存在する。虚血性脳血管障害の基礎的研究としては神経細胞死のメカニズムの解明が研究の焦点であるが、アポトーシスとネクローシスの関係、アポトーシスを誘導するカスパーゼ以外の経路の解明などが進められている。超急性期・急性期の薬物治療の臨床治験については、Tissue plasminogen activator (tPA) の静脈内投与が EU において Open trial として開始されており、他の血栓溶解療法については、Prourokinase の動脈内投与の Phase III が米国で再開され、他の薬物療法としては硫酸マグネシウムの静脈内投与が進行中であり YM872(AMPA 拮抗剤)、NXY059(ラジカル消去剤)、FK506(カルシニューリン阻害剤)などの臨床治験も進行している。血小板凝集抑制剤としては Abciximab (GPIIb/IIIa モノクローナル抗体)の治験が進行しており、これらの臨床治験が成功すれば、現在日本で急性期に用いられている抗血小板剤、抗凝固薬、ラジカル消去剤との効果の比較が必要となる。脳血管障害慢性期の治療としてはリハビリテーションが主流であり、日本では回復期リハビリテーションにより自宅復帰の促進を図っているが、系統だったシステムの評価はいまだなされていない。リハビリテーションの効果を促進させる手法として、最近トレッドミルやロボットの導入が試みられており、リハビリテーション

のモニタリング法の進歩と共に将来が期待される。米国では既に神経系細胞の脳内移植が臨床的に試みられているが、再生医療の研究の大勢はまだ動物実験レベルにある。この分野においては、ドナーES細胞の選択、脳内 Progenitor 細胞の賦活化法の確立などに目覚ましい発展が見られている。血管性痴呆は脳血管障害に伴い発症するが、日本では血管性痴呆とアルツハイマー病がほぼ同じ頻度で発症すると考えられ、またアルツハイマー病においても血管障害の要素が注目されており、その予防と治療法の確立が急がれている。最近、Acetylcholinesterase 抑制剤である Donepezil、Galantamine、Rivastigmine のいずれにおいてもアルツハイマー病以外に血管性痴呆に対する効果が報告されており、更なる治療薬の開発が期待される。

脳血管障害研究の将来の課題：虚血性脳血管障害の超急性期治療として tPA が普及しつつあるが、より効果的で安全な治療法の出現が望ましい。このためには tPA と相乗効果を有する薬物、血流再開後の脳組織の障害を防止する薬物などの開発が必要である。日本においては、ウロキナーゼの動脈内投与や再灌流を目的とした血管内手術が試みられているが、これらの治療法を確立させるには国際的に受け入れられるプロトコールによる臨床試験が必要である。特に頭蓋内血管の病変は日本で多く見られるため、日本がこの病態の治療法の確立にイニシアチブをとるべきである。慢性期の治療としては、再生医療として ES 細胞と

神経前駆細胞による神経細胞再生への研究が更に推進されると考えるが、最近これらの方法により神経機能の改善も見られている。また再発予防の面からは、より有効で安全な再発予防薬の開発が望まれ、血管再建術については血管内手術の適応範囲を確立することが必要である。日本の回復期リハビリテーション制度は北欧の脳卒中ユニット方式とは異なっており、類似点はあるが米国の方式とも異なっている。このため、日本の制度がどの様に運用されているか、どの様な利点があるのか、問題点はどこなのかなどを医療経済面も含めて第三者の立場から検証する必要がある。また日本で注目を浴びていないのが脳卒中の医療体制である。日本の救急医療体制では、脳血管障害超急性期の治療、急性期からの適切なリハビリテーションなどに適さない救急施設も少なくない。EU においては既に脳卒中医療体制を確立している国も存在し、米国においても外傷センターにならって脳卒中センターを制度化する動きが活発になっている。日本においても、脳卒中の超急性期治療、リハビリテーション、外来医療を包括的に提供出来る体制を確立することが急務であり、それにより脳卒中予防の啓蒙もより効果的になると考える。

頭部外傷による精神神経障害研究の現状と将来計画に関する研究

平川公義

東京医科歯科大学

I. 現状

不慮の事故による死亡のうち、頭部外傷の関与度は高い。交通事故統計によれば、ここ20年来、事故発生件数の増加に伴い、負傷者数は増加の一途をたどり、平成13年には118万を数えた。しかし一方では、死者数は減少しており、これは頭部外傷死の減少を反映しているとされる。

そこで医学的見地から、その現状を把握すべく、日本神経外傷学会において全国主要脳神経外科10施設の協力により、3年間で682例の重症頭部外傷の実態および治療成績について検討が行われた。結果は平成14年度中に出版され、次年度には、1000例に伸展して結果がまとめられる予定であるが、これによって、1991年に発表された米国のデータバンクの資料(1038例)と対比した本邦の基本的な医学データが得られる。

治療成績の向上は、長期的には、まず救急医療網の整備によってもたらされた。しかし、個々の治療法の寄与については分析は十分ではない。低体温治療や薬理的治療法の開発も将来への明快な方向性を出すには至っていない。先年、米国において臨床、基礎、薬理学の専門家によるワークショップが開かれ、外傷性脳損傷治療に関する過去の治験の分析や反省、将来への展望が議論された。内容は、対象となる脳の細胞損傷の機序、基礎実験のモデルとなる臨床像や対象、脳への薬剤移行、臨床例の取り扱い、転帰の把握、統計処理、患者の承諾、計画法、行政的見地など多岐にわたった。米国における問題の所在は、本邦とも

相通じるものがあり、興味深く、参考になるが、このような企画の存在は画期的な新しい治療法の開発がないことを示すものだとも云えよう。

本邦では、頭部外傷死が減少したとは云え、重症後遺障害者が増加しているのではないかとの懸念がある。しかし、これに回答できる資料はなく、実態の把握は大きな課題である。障害程度の判定に関して、X線CTによる基本的な画像診断法はすでに確立しており、早期診断と治療成績向上に役立っているが、その後の画像診断法の進歩を分析すると、重症脳損傷に対する機能予後を推定するに必要な形態的、機能的画像診断がすでに確立し、実地医療に応用されているとは言い難い。分子的診断法(Molecular imaging)なる概念があるように、最近の画像診断は神経損傷の生化学ないしは分子情報を捉え得るものであるが、現状は、新しい技術の開発が実地医療に反映され、普及するには至っていない。次に、脳損傷の初期治療が終わった後に、重度障害者がどのような経過をたどるかについて、初療医の関心は薄く、また高次脳機能障害の認識あるいは外傷性てんかんに対する理解も十分ではない。今後、境界領域との連携による対処が必要である。また小児の場合には、多数の新鮮重症例を同一施設で経験することは困難で、外傷後の回復過程ないしは後遺障害を長年追跡調査できるシステム作りが必要となろう。従来は、社会問題として、外傷後の植物状態に関心が持たれていたかの感があるが、重度障害による社会復帰困難例に対する神

経学的ないし精神心理的評価や小児の発達の問題、さらに介護の関与の実態など医療環境に未解決の課題が残っている。

重度脳損傷に対する医学的な解決策として、神経再生は第1のトピックである。昨年来、損傷された脳脊髄組織の機能回復を目指して、幹細胞を用いた基礎研究は急速にその数を増している。骨髄細胞も利用されている。しかし研究の大勢は、幹細胞の活性を高め、かつ維持するための周辺技術の習得とその応用に留まるものが多く、脳機能の回復を試みる段階には至っていない。しかし神経再生のモデルとして、脊髄損傷については、幹細胞の利用により機能回復を得たとの報告が得られている。

II. 課題

当面の課題は、以下の如きものである。

1. 本邦における脳(脊髄)外傷の現状に関わる医学的見地からみた統計の確立
2. 重度脳損傷後遺障害者の実態の把握と医療環境
3. 将来的には、重度脳障害を後遺した小児の障害評価と発達ならびに社会適応
4. 重症脳(脊髄)外傷、とくにび慢性軸索損傷の画像診断法を用いた障害評価
5. 難治性てんかんにおける外傷の関与
6. 脳損傷に対する従来の治療に対する評価
7. 画期的な治療法の開発
8. とくに幹細胞を用いた神経再生と機能の回復

高次脳機能障害研究の現状と将来計画に関する研究

柳澤信夫

関東労災病院

I. 研究の現状

1970年代から開発されたサルの脳内ニューロン活動の記録、MRI、fMRI、PET、MEG、光 Topography、などを用いた正常人、局所脳障害患者における言語、認知、記憶、運動に関する脳局所の賦活状況の把握などにより、脳の機能局在に関する知見が重ねられつつある。一方認知、感情、行為・行動における大脳機能の評価法の確立は、充分に開発されていない。また“こころ”の諸問題の脳内機序に関する研究はほとんど手つかずの状況にある。

II. 本年度の状況

本邦で高次脳機能障害研究を中心に扱う学会には日本神経心理学会と日本失語症学会がある。両学会は、神経内科学、精神医学、リハビリテーション医学を専攻する医師に加えて、リハビリテーションを実施する言語聴覚士、理学・作業療法士、臨床心理士などコメディカルのメンバーも含む。日本失語症学会は1977年の設立以来、高次脳機能障害の中で主として失語症の病態研究を扱う学会であったが、最近では失語以外の記憶・認知・感情・行為・行動障害、さらに痴呆などの各種の高次脳機能障害をあつかう研究の発表が急激に増加している。これを受けて、「日本失語症学会」は2003年1月から「日本高次脳機能障害学会」と改名することが決定された。

これは、高次脳機能障害研究・治療法の開発が失語症を中心になされていた従来の様相が変化し、多方面に拡大していることを象徴的に示している。

III. 将来計画

高次脳機能は、ヒトで高度に発達した大

脳機能であり、動物実験による基礎データから演繹出来る内容には限界がある。一方ヒトを対象とする非侵襲的検索には方法上の限界がある。その中で、病態の解明に基づく疾患の治療法の確立を第一の目標とし、さらに病態の検討を通じて正常の高次脳機能の解明に資する研究として、以下のものを昨年指摘した。すなわち、1)脳外傷、脳血管障害の局在と評価法の確立、2)感覚刺激の脳内過程の解明、3)認知-運動連関の脳内過程の解明、4)記憶、認知、行動決定にかかわる脳モデルの開発である。

これらの中で特に高次視覚刺激(顔、風景、文字、物体)の脳内過程についての知見が病変例の検討および賦活化研究の両面から平行して解明されつつある。また失行に加えて、前頭葉病変による行為・行動障害の内容が明らかにされつつあり、認知-運動連関の脳内過程の解明が進みつつある。

さらに、パーキンソン病などの大脳基底核に病変の主座があり、従来運動症状のみが強調されていた疾患にも各種の認知機能障害や感情障害が指摘されつつある。このことは、従来高次脳機能の理解の中心にあった海馬-大脳連合野系の機能による「読み書きそろばん」を代表とする知性面の能力以外に、扁桃核-大脳基底核系が関係する感性面の能力がヒトの高次機能との関連で重視されることを示している。“こころ”には知性的な側面と感性的側面との両者が含まれるという観点から“こころ”の問題にも高次脳機能障害研究が貢献することが期待される。

プリオン病を含めた神経系感染性障害研究の現状と将来計画に関する研究

北本哲之 東北大学医学系研究科

神経系の感染症のなかで今年度も注目されたのは、BSE (Bovine Spongiform Encephalopathy、いわゆる狂牛病)であろう。わが国でも、食肉用のアクティブ・サーベイランスによって BSE の感染牛が5例見つかり、英国感染例が諸外国で報告されたり、自国感染例がイタリアで報告されるなどvCJD (バリエーション型クロイツフェルト・ヤコブ病)は全世界的な問題となっている。今年度は、特にvCJDの健康保因者の有病率を想定できうる報告がなされたり、また、vCJDと輸血治療・血液製剤治療に深く関連するBSEの輸血感染実験の再現性が得られたりとWHOでの伝搬性海綿状脳症特別部会でも今後の血液製剤について多くの議論がなされた。迅速な異常プリオン蛋白や感染性の評価方法の検討、血液からの感染因子の検出、除去などプリオン病に対する感染防御法を確立する重要性がますます強調され、このような研究を積極的にサポートし、スタンダードな方法を世界に広めるよう提言がなされた。また、将来的に応用可能なプリオン病の治療法の研究の推進を薦めている。WHOの提言を待つまでもなく、当面・緊急の課題としての診断法・治療法の開発研究の意義は大きい。将来計画として本当に必要な研究は、プリオン蛋白の異常化の分子機構の解明であるというのがWHO会議の参加者のコンセンサスであった。どのようにして、孤発例のクロイツフェルト・ヤコブ病でプリオン蛋白の異常化のスイッチが入るのか、また異常化したプリオン蛋白は脳内で本当に多量に存在するのか等、プリオン蛋白の異常化に関わる疑問点は数多くありいずれもいまだ明快な答えは得られていない。

その意味で、厚生科学研究としても正常プリオン蛋白の機能などの研究に終始するものでなく、異常プリオン蛋白に立脚した研究を推進すべきである。

A. 研究目的

本研究の目的は、プリオン病の予防、治療に貢献するための研究の方向性を探ることである。

B. 研究方法

本年度に発表された論文およびその関連論文に関して、専門家として分担研究者の解釈を加え、今後の厚生科学研究が積極的にサポートすべき研究の方向性を探るといふ方法を採用した。

(倫理面への配慮)

研究の方法論から考え、本研究では特に倫理面への配慮が必要な研究ではない。

C. 研究結果

以下のような6のテーマに関して、解釈を加えた。

1) 英国vCJDキャリアの実態

BMJ (1) に報告された論文である。英国で、1995年から1999年にかけて虫垂切除術を受けた10歳から50歳までの患者の虫垂を利用して、異常プリオン蛋白がどの程度の頻度で認められるかを検討した。採取した11, 228個のサンプルのうち、評価可能な8, 318個の虫垂のサンプル中、異常プリオン蛋白の集積を認めたのは1例であった。なおvCJD患者剖検

例20例の虫垂では、1例を除いて19例で虫垂に異常プリオン蛋白が陽性であった。解釈：1. 英国のvCJDで、リンパ組織の濾胞樹状細胞（FDC）に異常プリオン蛋白の沈着を認めること、2. その異常プリオン蛋白が発病前のvCJD患者でも見つかること、3. 従来からの動物実験でも、早期（発病前）から異常プリオン蛋白がFDCに認められることなどから、虫垂や扁桃などのリンパ組織の異常プリオン蛋白を検査することでvCJDのキャリアの頻度（キャリアとしての有病率）を明らかにしようとした英国のプロジェクト研究である。従来では、vCJDの総患者数は統計処理によって推定されていたにすぎないが、この研究によって10歳から50歳までの英国人100万人あたり120例のvCJDキャリアの存在が見積もられることが明らかになった。この研究での陽性例は1例と少ないが、今後のvCJD患者数の推移の想定には非常に役立つ。この頻度で、英国6000万人という人口が同じ危険に曝されていると考えると、vCJDは7200人発病することになり、現在までの発病者はその2%以内に過ぎないという結果となる。

2) vCJDのイタリア感染例

Lancet（2）に報告された論文である。英国滞在・旅行歴のないイタリアの25歳の女性がvCJDの臨床像を示し、vCJDに特徴的な異常プリオン蛋白を扁桃から検出したという報告。

解釈：英国感染例でなく、自国感染例としてvCJDが報告された国はフランス、アイルランドに続いてイタリアが含まれることになった。これは、イタリアで発病したBSE由来と考えるより、英国のBSEで汚染された食品が、ヨーロッパ各国に広がっていたと考えるほうが理解し易い。この論文の発表当時のイタリアのBSEは66頭

（うち2頭が英国輸入例）に過ぎないからであるが、こう結論するにはイタリアでのさらなるBSEとvCJDのサーベイランスが必要であると著者らは指摘している。

3) 感染例の海外での発病

MMWR（3）の論文である。22歳のフロリダ在住の女性でvCJDが確認された。確認方法は、vCJDに特徴的なMRI所見と扁桃のバイオプシーである。患者は1979年に英国に生まれ、フロリダに移住したのは1992年である。

解釈：ヨーロッパ以外での発病は今のところ、英国感染例が全てである。香港、米国など、いずれも英国に長く滞在歴が存在する症例である。今後、我が国でも英国感染例（もっと広くヨーロッパ感染例）が出現する可能性は十分存在することを示している。

4) BSE(vCJD)と輸血

J. Gen. Virol（4）に発表された論文である。この論文は、2000年にLancet（Houston F et al. Lancet 356:999-1000）で報告された、BSEの脳をヒツジに経口投与し、その潜伏期間中（発病前）のヒツジの血液を、別のヒツジに輸血することで一頭のヒツジがBSEを発病したという報告の後の経過を報告したものである。輸血を受けたヒツジ24頭中、新たに1頭（合計2頭）のBSE発病を確認し、さらに2頭の臨床的発病を認めているという報告である。さらに全血輸血したヒツジに発病を認め、いまだバフィーコートに投与例での発病を見ないことより、従来予想されているよりもっと広く血液中の感染因子は血漿や赤血球にも存在する可能性を示唆している。

解釈：2000年のLancetの報告では、BSEとBSEに関連するプリオン病（v

CJD やヒツジ BSE) において、輸血は感染源となることを指摘したものの、1頭だけの発病であったため、再現性の有無が問題となった。今回の発表では、輸血による BSE 感染がほぼ確定されたと考えて良い。スクレピーのヒツジを使った輸血感染でも、21頭中4頭(19%)のヒツジが感染しているが、BSE では24頭中4頭(2頭は臨床的に認めたのみ)と17%のヒツジに BSE 感染を認めている。従来、血液を用いた感染実験が脳内投与という非現実的な投与方法であったのに比較して、この報告では輸血と全く同じ血管内に潜伏期間中のヒツジの血液を投与するという方法が採用され、感染が成立したという事実は重要である。今後の vCJD と輸血・血液製剤にも大きく影響を及ぼす報告である。なお、脳内投与方法という感染方法であるが、霊長類を用いて BSE に感染させたキツネザルのバフィーコートに感染性があることが証明されている(5)。

5) プリオン病の感染ルート

生体内でのプリオン病の感染ルートを示す報告がなされた。これは、2001年と2002年の報告である(6, 7)。プリオン病における異常プリオン蛋白の神経系への侵入において重要な役割をもたらす経路として、1. 循環系 2. 神経系が挙げられるが、1として CD11c (+) 樹状細胞が候補として報告された。2. として直接坐骨神経にプリオンを接種することによってプリオン病が FDC に関係なく発病することがとらえられた。

解釈：プリオンの神経系への経路を解明することは、治療方法を考える上で重要な項目である。循環系ルートとして、FDC からどの細胞が CNS への浸潤を助けるのか注目されており、最初 B 細胞と考えられていたが現在は否定的である。今回 CD11c 陽

性の樹状細胞が候補として報告された(6)。しかしながら、CD11c 陽性の樹状細胞に感染するウイルスを用いた研究では潜伏期間に変化なく、否定的との報告もある(8)ので、さらなるキャリア細胞の同定が必要となろう。もう一つの経路として、末梢神経系が候補にあがっている。今回の論文ではハムスターを用いて直接片側の坐骨神経にプリオンを投与することによってスクレピーの発病を報告している(7)。しかしこれも手術的に坐骨神経に直接プリオンを投与したもので、生理的な条件下でこの末梢神経系が機能しているのかは疑問である。いずれにしても、FDC に異常プリオン蛋白が沈着し、中枢神経系への浸潤を阻害すれば治療に繋がる方法の開発となりうるので、プリオンの体内での伝播がどのような機構によっておこるのか解明することは重要である。

6) プリオン病の治療

プリオン病の治療に向けた報告として2つの論文を紹介する(9, 10)。一つ目は、従来から報告されているプリオン蛋白に対する抗体(免疫)を用いた治療で、一定の効果が認められるという報告である。末梢投与方法でプリオンを接種する実験においては、レコンビナントプリオン蛋白で免疫することによって、潜伏期間を遅らせることが出来るという報告である。もう一つの報告は、プリオン病になりにくい正常多型のプリオン蛋白をトランスジェニック法でマウスに導入するとプリオン病の発病を抑えるという報告である。

解釈：レコンビナント・プリオン蛋白で免疫し、発病を抑えるという方法は抗体を用いた治療としての報告を発展させたものである。末梢感染ルートを抑えるには有効であることが示された。方法としては簡単であり、各種動物にも応用可能であるが、ア

ルツハイマー病でみられたように、副作用の問題など生じないか今後の検討が必要である。また、その潜伏期間の延長効果に限りがあるのも、今後問題となろう。正常多型のプリオン蛋白を導入したトランスジェニックで、潜伏期間の延長が見られたことは今後治療法としての期待が大きい。今後は、これらの正常多型のプリオン蛋白分子の導入方法の開発が重要な研究テーマであろう。

D. 考察

各テーマに関してそれぞれ考察を加えたので、特に考察として加える点はない。

E. 結論

主に今年度報告されたプリオン病に関する報告をそれぞれ解説し、考察を加えた。従来問題視はしていてもあくまで理論的だった血液を介するプリオン病の伝播が、実験動物レベルではあるが確実に輸血という手段で媒介されることが今年度再現性を持って示された。今後、健康保因者（ヒトおよび動物）の検査方法の開発など緊急の研究課題が明らかになったわけである。

F. 健康危機情報

2000年に *Lancet* で報告され、今年度再現性が確認された論文（4）報告や霊長類を用いた報告（5）がある。BSE由来の感染動物において、血液中に感染因子が確かに存在するというものである。おなじBSE由来と考えられるvCJDの輸血・血液製剤に関わる問題であり、英国感染症例が英国外でも発病している状態（3）を考えれば、我が国でも英国（および欧州）感染症例としてvCJDが出る可能性があり、vCJDのサーベイランスの強化が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Kitamoto T, Mohri S, Ironside JW, Miyoshi I, Tanaka T, Kitamoto N, Itohara S, Kasai N, Katsuki M, Higuchi J, Muramoto T, Shin RW. Follicular dendritic cell of the knock-in mouse provides a new bioassay for human prions. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002 Jun 7;294(2):280-6.

2) Yamamoto A, Shin RW, Hasegawa K, Naiki H, Sato H, Yoshimasu F, Kitamoto T. Iron (III) induces aggregation of hyperphosphorylated tau and its reduction to iron (II) reverses the aggregation: implications in the formation of neurofibrillary tangles of Alzheimer's disease. *J Neurochem*. 2002 Sep;82(5):1137-47.

3) Ishizawa K, Komori T, Shimazu T, Yamamoto T, Kitamoto T, Shimazu K, Hirose T. Hyperphosphorylated tau deposition parallels prion protein burden in a case of Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome P102L mutation complicated with dementia. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2002 Oct;104(4):342-50.

引用参考文献

1. Hilton DA, Ghani AC, Conyers L, Edwards P, McCardle L, Penney M, Ritchie D, Ironside JW. Accumulation of prion protein in tonsil and appendix: review of tissue sample. *Brit. Med. J*. 325:633-634. 2002
2. La Bella V, Piccoli F, Collinge J, Pocchiari M. Variant Creutzfeldt-Jakob disease in an Italian woman. *Lancet* 360:997-998. 2002
3. Wiresma S, Knight R, Kennedy AM, Belay E, Schonberger LB. Probable

- variant Creutzfeldt-Jakob disease in a U.S. resident. *J. Gen. Virol.* 83: 927-929, 2002
4. Hunter N, Foster J, Chong A, McCutcheon S, Parham D, Eaton S, MacKenzie C, Houston F. Transmission of prion disease by blood transfusion. *J. Gen. Virol.* 83: 2897-2905, 2002
 5. Bons N, Lehmann S, Mestre-Frances N, Dormont D, Brown P. Brain and buffy coat transmission of bovine spongiform encephalopathy to the primate *Microcebus murinus*. *Transfusion* 42: 513-516, 2002
 6. Aucouturier P, Geissmann F, Damotte D, Saborio GP, Meeker HC, Kascsak R, Kascsak R, Carp RI, Wisniewski T. Infected splenic dendritic cells are sufficient for prion transmission to the CNS in mouse scrapie. *J. Clin. Invest.* 108:703-708, 2001
 7. Bartz JC, Kincaid AE, Bessen RA. Retrograde transport of transmissible mink encephalopathy within descending motor tracts. *J. Virol.* 76: 5759-5768, 2002
 8. Oldstone MB, Race R, Thomas D, Lewicki H, Homann D, Smelt S, Holz A, Koni P, Lo D, Chesebro B, Flavell R. Lymphotoxin- α - and lymphotoxin- β -deficient mice differ in susceptibility to scrapie: evidence against dendritic cell involvement in neuroinvasion. *J. Virol.* 76: 4357-4363, 2002
 9. Sigurdsson MM, Brown DR, Daniels M, Kascsak RJ, Kascsak R, Carp R, Meeker HC, Frangione B, Wisniewski T. Immunization delays the onset of prion disease in mice. *Am. J. Pathol.* 161:13-17, 2002
 10. Perrier V, Kaneko K, Safar J, Vergara J, Tremblay P, DeArmond SJ, Cohen FE, Prusiner SB, Wallace AC. Dominant-negative inhibition of prion replication in transgenic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 13079-13084, 2002

糖鎖と筋ジストロフィー

杉田秀夫 国立精神・神経センター

最近筋ジストロフィー研究で注目されている問題は、糖鎖と筋ジストロフィーとの病的関連である。

Glycosylation は post-translational protein modification としては最もポピュラーなものである。これらの糖鎖結合は蛋白の安定性、conformation または cell-adhesion、分化、発達に関係する蛋白との interaction において重要な役割を果たしている。糖鎖結合には2種類あり、N-glycan は asparagine と link している。一方、o-glycan は serine、または threonine residue を介して結合する。

最も普通にみられる o-linked glycan は N-acetylgalactosamine が serine または asparagine に結合しているものであり、他の o-linked 糖は mannose を含んでいる。

過去1年半ぐらいの間に既知、または未知の glycosyltransferase が4つの常染色体劣性先天性筋ジストロフィーの原因遺伝子であることが明らかになった。

重要なことは、これら4つの疾患において異常 glycosylation の target となっているのは α -dystroglycan であるということである。

(α -dystroglycan は dystrophin-glycoprotein complex の一つであり、細胞外にあり、骨格筋、心筋、脳・神経等多臓器に存在する。

骨格筋ではこの complex は筋線維の actin と associate した cytoskeleton と extracellular matrix を dystrophin、laminin α 2 chain を介して結合しているが、DGC は種々のジストロフィーにおいて切断されている。即ち、dystrophin の遺伝子異常で

DMD/BMD、sarcoglycan complex の遺伝子異常で常染色体劣性肢帯型筋ジストロフィー、laminin α 2 chain の mutation で先天性筋ジストロフィーとなる。

α -dystroglycan は高度に糖鎖修飾を受けた蛋白である。Core の分子量は 74kDa と想定されているが、糖鎖修飾を受けた結果、骨格筋では 156kDa、心筋では 140kDa、脳では 120kDa と考えられる。最近までの研究によると α -dystroglycan に結合する glycan は mannose を介した o-linked であるといわれている。脊椎動物では o-mannosylation は少ない。

α -dystroglycan とその ligand の一つである laminin α 2 chain の結合は糖を介して行われる。

1998年戸田らにより FCMD の遺伝子及び遺伝子産物 fukutin が同定され fukutin が α -dystroglycan の糖鎖修飾に重要な役割を果たしていることが明らかとなったが、muscle-eye-brain (MEB) 病も CMD の一つであり lissencephaly 及び眼球異常を主症状としている。

MEB の骨格筋は glycosylate された epitope を認識する α -dystroglycan 抗体とは免疫組織、Western blot 共反応しない。

FCMD でも同じであって、fukutin の機能は不明であるが sequence analysis から glycoprotein や glycolipid のような細胞表面分子を modify している酵素 family の一つである。

fukutin の homologue である FKR の遺伝子異常が MDC1C や LGMD11 I の原因であることが明らかになった。MGMD11 I はしばしば cardiomyopathy を伴い、UK では最も頻度の

多い LGMD と考えられている。 α -dystroglycan は MEB、FCMD では欠損しているが、FKRP では減少しているが存在し疾患の重症度と相関している。

Aberrant α -dystroglycan glycosylation がこれらの疾患に共通していることは同時に laminin ($\alpha 2$ chain が著しく低下していることでも明らかである。同様の basal lamina の欠損が Walker-Warburg syndrome (WWS) でも認められる。WWS は筋ジストロフィーと中枢神経、及び眼球の形成異常を伴っており、POMT-1 という O-mannosyl glycan の生合成を initiate する酵素の欠損に由来すると考えられている。さらに、 α -dystroglycan の糖鎖異常は laminin $\alpha 2$ のみでなく、agrin や neurexin の結合も低下させる。つまり MEB、FCMD、WWS における neuronal migration defect も脳の α -dystroglycan が laminin や neurexin と結合できない結果と考えられる。

骨格筋、脳における α -dystroglycan の glycosylation の異常が脳には migration の異常を、骨格筋には筋ジストロフィーを生じると考えることができる。以上のことを考えると早急に“糖鎖と筋ジストロフィー”を新しい研究の柱とすることが必要と考える。

神経系の発達研究の現状と将来計画に関する研究

御子柴克彦

東京大学医科学研究所

高次脳機能発現の分子的基盤を明らかにするためには、脳がどのような過程を経て作られるのかについての理解が不可欠である。精子と卵の受精現象に始まり、神経外胚葉の形成、神経板の部位特異化、皮質層構造の形成、神経回路網の形成といったいくつかの決定的な事象の流れのなかで脳神経系は形づくられる。これらの事象に系統的に取り組み、それぞれの過程で重要な役割を果たす分子群の構造・機能、それらの細胞、組織、個体レベルでの役割を明らかにすることにより、脳神経系に特徴的な多様性と特異性をうみだすメカニズムを明らかにすることが必要である。

1. マウスの神経回路は生後三週間以内でスケジュール通りに起こる一連の細胞イベント（細胞の増殖と移動、樹状突起形成、軸形成、シナプス形成など）を経て発達する。これらのイベントを制御するため、特異的な遺伝子が各発達ステージでタイミングよく発現されなければならない。しかしながら、脳形成にかかわる遺伝子的システムはいまのところ十分には理解されていない。ポスト・シーケンス時代において、脳発達期にどのような種類の遺伝子が特異的に発現するのか、これらすべての機能は何か、をゲノムワイドに解明できる時といえる。マウス脳形成に特異的な遺伝子発現を時空間的に体系化してこれらすべての情報を「脳形成トランスクリプトームデータベース」として統合する計画は重要である。これらの研究で同定される新規の脳形成遺伝子を分子、細胞レベルで明らかにして、脳形成の理解を深めることが出来る。

2. ゼブラフィッシュは、脊椎動物の発生メカ

ニズムを研究するための優れたモデル実験動物として注目されている。胚は透明で比較的少数の細胞からできていること、世代時間も3ヶ月と短いなどの理由から、ゼブラフィッシュは細胞生物学や分子生物学における様々な研究に使われてきている。現在ゼブラフィッシュを用いて、個々の神経細胞を同定し操作を加えたり、系統的突然変異探索を行ったり、遺伝子導入技術を用いてトランスジェニック・フィッシュを作製したりすることが可能となってきた。このような技術を駆使することにより、脊椎動物の脳の発生を制御する仕組みを解明することが可能となってきた。

3. 発生段階の神経系において、軸索先端部（成長円錐）はその周囲環境に存在する様々なガイダンス分子を認識しつつ標的に向かって移動し、神経軸索回路網を形成する。成長円錐には細胞接着分子をはじめとする多くの膜蛋白が発現し、これらは軸索ガイダンス分子の受容体として成長円錐移動を制御し、神経軸索路の発生過程に重要な役割を担っている。例えば、免疫グロブリンスーパーファミリーに属する細胞接着分子 L1 の遺伝子変異は、ヒトおよびマウスにおいて脳梁・錐体路といった神経軸索路の形成不全の原因となることが知られている。細胞間接着あるいは細胞—細胞外基質間の接着により活性化された細胞接着分子は、細胞内シグナル伝達あるいは細胞骨格との相互作用を介して成長円錐の運動を制御する。さらに、成長円錐における細胞接着分子そのものの細胞内輸送も、成長円錐の接着性および運動性を決定する重要な因子であると考えられている。成長円錐における細胞接着分子・細胞骨格・シグナル分子の部位特異的機能を明らかに

し、軸索成長の分子機構の解明は重要である。

技術を融合するなどの技術開発も重要となる。

4. 最近の研究結果からは、細胞内骨格タンパク質の重要性が指摘されている。微小管は構造を支持するための単なる「細胞骨格」ではなく、ダイナミックに状態変化を行うことによって細胞内で情報を伝えている。微小管の状態変化にはATP依存性、長距離協同性、異方性、秒オーダーの履歴等、興味深い特徴がある。これらの特徴は、微小管を情報の媒体として考えた時に期待される特性と、非常によく一致している。今後微小管をはじめとして、細胞内骨格タンパク質の解析が「細胞の形づくりおよびその機能」の面から重要となっている。

5. 細胞内の様々な事象を、同時に生きたままリアルタイムで可視化する技術を開発することは脳の構造と機能に対応づける上で大切である。可視化は、主に蛍光（標識）分子などで作製した機能プローブを細胞内に送り込み、受け取った情報（例えば蛍光の強度）を画像化することで達成される。GFP（Green Fluorescent Protein）は自ら発色団を形成して蛍光を発する蛋白質である。遺伝子工学的手法により、蛍光分子を自由自在に細胞内に創り出すことが可能である。GFPの物理化学的特性を利用すれば、微小環境プローブが開発できる。また異なる色のGFPを組み合わせ、蛍光エネルギー移動（FRET）を実現すれば、タンパク質-タンパク質相互作用や、タンパク質構造変化を生きた細胞でリアルタイムで追跡することができる。GFPをベースにした指示薬の蛍光シグナルを最大限に検出するべき顕微鏡光学系の開発も重要である。近年の新しい遺伝子導入技術、画像処理技術を駆使することで、単一細胞内イメージング技術は飛躍的に進歩してきている。細胞内情報伝達機構を、より局所的に、より個体に近い生理的状況で解析することができる。こうした細胞内機能イメージング技術に、生物の形態をリアルタイムにイメージングする光干渉

神経系に発現する遺伝子研究の現状と将来計画に関する研究

鍋島陽一 京都大学医学研究科

本研究は「こころの健康科学」の基礎となる脳における遺伝子発現情報を広く解析、あるいは情報を収集して心の健康科学研究の新たな展開を促進することを目的としている。この目的を達成するために各種のデータベースより脳で発現する遺伝子の情報を解析する。また、遺伝子改変動物の情報収集と神経疾患モデル動物の開発により、神経疾患の発症にいたる分子機構解明への基盤を作る。

(1) 神経系で発現する遺伝子群の発現部位についての解析

神経系では多くの遺伝子が発現しているが、神経系は多彩な細胞によって構成されていることから、その発現部位、細胞、細胞内局在を詳細に検討することは機能解析のための重要な一歩であり、多くの情報をえることができる。今回は特に、神経系の形成と機能に重要な役割を担っている guanine nucleotide exchange factor (Dbl-GEFs) に注目し、データベースより該当分子をピックアップし、その神経系での発現を解析した。

Dbl ファミリーに属する guanine nucleotide exchange factors (Dbl-GEF) は Rho タイプの低分子量G蛋白質であり、それらは Rac1、Cdc42、RhoA、よりなっている。最近の知見により Dbl タイプの GEF の幾つかが 神経系の形成に重要な役割を担っていることが明らかになりつつあり、データベースを調べ、20個の Dbl-GEF ファミリー分子を拾い上げた。E13、E17 日胚の脳、および生後7日、親の脳より mRNAs を調整し、脳の形成に伴う発現パターンを解析した。また、In situ hybridization による解析を行い、発現部位、発現細胞を検討した。その結果、それぞれの GEF は固有の発現パターンを示し、増殖中の神経幹細胞で主に発現するもの、移動中の神経細胞で発現するもの、大脳皮質で神経突起を伸ばしている細胞で発現しているものなど、多彩な発現パターンが観察され、それぞれの GEF が固有の機能を担っていることが推

定された。一方、個々の細胞では複数の Dbl タイプの GEF が発現しており、機能の代償、重複も推定された。今回の解析により脳で発現する低分子量 GEF の全体像が明らかとなった。

(2) 疾患モデルの作成、解析

神経疾患に関連する遺伝子のノックアウトの変異表現型の情報収集、並びに遺伝子機能を改変したモデルマウスの作成を進めることで、神経疾患の病態解明と治療法開発の基盤を整備することを目的としている。

長寿社会に課せられた難題の一つが痴呆の問題であるが、その典型であるアルツハイマー病に関して近年展開がみられ、タンパク質の品質管理の異常という考え方がクローズアップされてきている。即ちアルツハイマーにおいては、amyloid precursor protein (APP) のプロセッシングの異常による amyloid β ($A\beta$) の産生とその細胞毒性が病因のひとつであることがほぼ確実となってきた。APP はどの細胞にも存在する膜一回貫通ドメインをもつ機能不明のタンパクである。このタンパクは、 α 、 β および γ セクレターゼによって切断され、約 750 アミノ酸残基からなる N 末フラグメントと膜貫通ドメイン付近の 30-40 アミノ酸残基程度のフラグメントと C 末フラグメントとに分解される。この時何らかの原因で 40-42 アミノ酸残基からなる amyloid β が大量に産生されるとアルツハイマー発症の原因となる。一方、家族性アルツハイマー病の原因遺伝子としてプレセニリンが同定され、40 種以上の変異が報告さ

れており、近年このプレセニリンこそが γ -セクレターゼであることが判明した。即ちプレセニリンがA β 40-42の産生に重要な役割を果たしているであろうと推察される。しかしながらここで問題となるのは、APPもプレセニリンもどの細胞にも存在するタンパクであり、アルツハイマー病変が脳に特異的であることが説明できない。

そこで我々は、Kashimaらが報告した、presenilin binding protein (PBP)に着目し、これが、プレセニリンと結合する上、大脳皮質および海馬で高発現することが、アルツハイマーの病変部位に合致することから、この遺伝子をノックアウトしてその表現型を解析し、機能を解明することとし、以下の実験を行った。まず、Kimuraらと共同してPBPのゲノムのクローニングをおこなった。この結果得られたクローンは、5'端メチオニンから約500base下流の部分より3'側のエクソンの配列のみであり、それより5'側を含むゲノムはクローニングできなかった。また、セレラのデータベースを検索した結果、この遺伝子は、クローニングによって得られた部分から3'側に200Kbase以上におよび、50個ものエクソンに分断されてコードされており、5'側の配列はセレラにおいても構造解析が困難であり、決定されていないことが判明した。

そこで、クローニングによって得られた最も5'側のエクソン、97baseを含む約1Kbの配列を欠失させ、ネオマイシン耐性の配列をくみこんだ約9Kbのターゲティングベクターを構築した。それを、マウスの胚性幹細胞(ES)にトランスフェクションし、相同組み換え細胞をクローニングして、マウス8細胞期胚(ICR)にインジェクションしてキメラマウスを作出した。その後のかけ合わせにより germline transmission を確認したので、現在、ヘテロマウスとおしをかけあわせ、ホモマウスの作製にあたっている。今のところ、ホモマウスも生まれてきていて、embryonic lethal ではない

と思われる。今後はホモマウスを使って、組織形態の異常の有無、および行動異常の有無等、表現型の解析を行い、PBPの機能について検討する。

神経細胞死の亢進はアルツハイマー病を始めとする各種の神経疾患に観察される。また、神経細胞死をめぐるユビキチン-プロテアソームシステムの関与など、新たな展開があり、疾病の成り立ちに関連する分子が増大しており、多数の遺伝子改変マウスが必要になると推定される。よって、更に関連する遺伝子改変モデル動物の情報収集と作成を目指すことが重要であると考えられる。