

上昇させることや、ラット肝臓由来セリンヒドロキシメチル基転移酵素の活性を抑制すること等が明らかになった。

D. 考察

初年度は、本研究事業開始前から検索を行ってきた *dsr-2* 遺伝子および *dsm-1* 遺伝子の、構造、分布等の関する研究が進展した。また、脳内 D-セリンとグリア細胞との関連ならびに D-サイクロセリンが D-セリン代謝に与える影響について新知見が得られた。

dsr-2 mRNA の発現分布と生後発達に伴う変化が、D-セリンおよび NMDA 受容体 R2B サブユニットと酷似してことから、*dsr-2* や産生蛋白は、NMDA 受容体、D-セリンの機能、代謝およびそれらの相互作用の調節に関与することが示唆された。また、*dsr-2* 遺伝子がゲノム上で *nrxn3 α* 遺伝子の反対鎖にマップされる特異な構造をもつことから、*dsr-2* が、NMDA 受容体の機能調節が報告されている *nrxn3 α* の遺伝子発現を制御する可能性がある。

dsm-1 を発現させたアフリカツメガエル卵母細胞では、D-セリンの細胞内濃度あるいは蓄積量を変化し、COS 細胞に強制発現させた標識 *Dsm-1* 蛋白が核周囲を中心として主に細胞質に認められること、この細胞内分布はクリスタリンとの類似点が多いこと等より、ゴルジ装置に多く存在し、D-セリンの細胞小器官への移行や代謝に関与する可能性が推測された。ただし、細胞膜に移動して D-セリン放出に関与する可能性も否定できない。

マイクロダイアリシスの実験では、選択的・可逆的グリア毒であるフルオロクエン酸の灌流によって、細胞外のグルタミンが著明に減少し、グリア細胞の活動性低下が支持された。したがって、フルオロクエン酸による細胞外 D-セリンの低下は、NMDA 受容体の活動性を維持するのに必要な D-セリン濃度の調節に、グリア細胞が関与することを示唆している。

さらに、本研究事業でも臨床応用試験を進めている D-サイクロセリンが、D-セリンの組織お

よび細胞外の濃度を増加させることを明らかにした。これらのデータは、本剤が内在性 D-セリンシグナルを強める可能性を初めて示唆したものであり、臨床用量の検討に有用と考えられる。

E. 結論

内在性 D-セリンの代謝および機能を調節する候補分子としてクローニングした *dsr-2* および *dsm-1* の脳内分布が、D-セリンと類似していることや、培養細胞では細胞質に多く存在することを見出した。また、グリア細胞の活動性低下によって D-セリンの細胞外放出が減少することが示唆された。NMDA 受容体機能促進薬として臨床応用が試みられている D-サイクロセリンに D-セリン量を増加させる作用があることがわかり、今後の高次脳機能障害の治療をめざした臨床応用試験における投与量設定に重要な情報を提供した。

F. 研究発表

1. 論文発表

(1) 原著

1. Fujii R, Okabe S, Urushido T, Inoue K, Yoshimura A, Tachibana T, Nishikawa T, Hicks GG, Takumi T: The RNA binding protein TLS is translocated to dendritic spines by mGluR5 activation and regulates spine morphology. *Curr Biol*, 15: 587-593, 2005.
2. Aoki-Suzuki M, Yamada K, Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Ohba H, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Suto Y, Nakatani N, Dean B, Nishimura S, Seki K, Kato T, Itoharu S, Nishikawa T, Yoshikawa T: A family-based association study and gene expression analyses of netrin-G1 and -G2 genes in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 57: 382-393, 2005
3. Inoue K, Yamada A, Fujii R, Nakatani J, Matsubara C, Ishii M, Aburatani H, Umino A, Nishikawa T, Takumi T: Fez1 is layer-specifically

- expressed in the adult mouse neocortex. *Eur J Neurosci* 20: 2909-2916, 2004.
4. Sakurai S, Ishii S, Umino A, Shimazu D, Yamamoto N, Nishikawa T: Effects of psychotomimetic and antipsychotic agents on neocortical and striatal concentrations of various amino acids in the rat. *J Neurochem* 90: 1378-1388, 2004.
 5. Fukasawa M, Aoki M, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Takao H, Meerabux J, Toyota T, Nishikawa T, Yoshikawa T: Case-control association study of human netrin G1 gene in Japanese schizophrenia. *J Med Dent Sci* 51: 121-8, 2004.
- (2) 著書
1. 西川 徹: 6. 神経化学から。(風祭元, 山下格編). 心の科学セレクション 統合失調症. pp.541-542. 日本評論社, 東京, 2005.
 2. 伊藤 卓, 西川 徹: 3. 最初期遺伝子と核内情報伝達系. 新規抗精神病薬のすべて (加藤進昌, 上島国利, 小山司編), 先端医学社, 東京, pp270-275, 2004.
 3. 大島一成, 西川 徹: 18. 精神科領域の救急. 第7章経験すべき症状・病態. ①緊急を要する疾患・病態. 臨床研修実践マニュアル (奈良信雄編), 南江堂, 東京, pp328-331, 2004.
 4. 西川 徹: 5. 統合失調症. 第8章 Common Diseases. ⑩精神疾患・心身医学. 臨床研修実践マニュアル (奈良信雄編), 南江堂, 東京, pp541-542, 2004.
 5. 西川 徹: Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 星和書店, 東京, 2004.
- (3) 総説
1. 古田 光, 西川 徹: 統合失調症 標準治療と最新治療—メリットとデメリット法. *Clin Neurosci* 23: 106-107, 2005.
 2. 嶋津 奈, 西川 徹: モノアミン障害・アンフェタミンモデル 統合失調症の仮説とそのモデル検. *分子精神医学* 5: 58-63, 2005.
 3. 西川 徹: 統合失調症の分子薬理的解析—ドーパミン受容体および NMDA 受容体作用薬を用いたアプローチ. 特集 1 統合失調症: 分子から治療まで. *脳* 21 8: 9-15, 2005.
 4. 西川 徹: Schizophrenia の分子病態—内在性 D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 第1回 Schizophrenia 研究会. *臨床精神薬理* 7: 87-112, 2004.
 5. 西川 徹: 統合失調症のグルタミン酸仮説. *生体の科学* 55: 544-545, 2004.
 6. 西川 徹: mrt1 をめぐって 統合失調症の神経生物学. mrt1; Possible implication in the pathophysiology of schizophrenia. *Schizophrenia Frontier* 5: 18-24, 2004.
 7. 西川 徹: Special Review 「脳内 D-セリンの代謝と生理作用」. *細胞工学* 23: 1180-1185, 2004.
- (4) その他
1. 村岡新一郎, 梶井 靖, 山本直樹, 海野麻未, 柏 淳, 伊藤 卓, 金子雄二郎, 西川 徹. 統合失調症の発症に関与する遺伝子の発達薬理学的研究. *精神薬療研究年報* 36: 49-52, 2004.
 2. 内匠 透, 藤井律子, 吉村 淳, 井上 浄, 渡辺康仁, 漆戸智恵, 岡部繁男, 西川 徹. 抗精神病薬標的分子としての RNA 結合蛋白の機能解析. *精神薬療研究年報* 36: 90-94, 2004.
 3. 新井 誠, 糸川昌成, 山田和男, 豊田倫子, 羽賀誠一, 氏家 寛, 曾良一郎, 池田和彦, 吉川武男. 統合失調症における神経細胞接着分子関連遺伝子の解析. *精神薬療研究年報* 36: 100-113, 2004.
2. 学会発表
- (1) 特別講演・シンポジウム
1. 西川 徹: 統合失調症の病態研究の現状と展望. 「脳疾患の病態研究と治療法開発の方向性」. 先端脳・脳科学総合研究センター病因遺伝子研究グループ合同ワークショップ, 和光, 4.3, 2004.

2. 西川 徹: 統合失調症の分子病態と新しい治療法開発. 第 100 回日本精神神経学会総会. 札幌, 5.22, 2004.
 3. 西川 徹, 山本直樹, 柏 淳, 櫻井新一郎, 嶋津 奈, 谷口 豪, 金子雄一郎, 竹林裕直: 幻覚・妄想状態の発症・再発モデルとしての長期持続性行動感作現象の分子機構. 「シナプス可塑性の分子機構研究と精神神経疾患研究の接点を探る」. シナプス可塑性研究会, 5.28, 2004.
 4. 西川 徹: グルタミン酸—D-セリンシステムと統合失調症. 神経科学会議. 宮崎, 6.12, 2004.
 5. 西川 徹, 山本直樹, 海野麻未, 櫻井新一郎, 嶋津 奈, 谷口 豪, 石井澄和, 岩間久行: D-セリンと統合失調症. 第 47 回日本神経化学会大会. 大阪, 9.23, 2004.
 6. 西川 徹: 動物モデルによる統合失調症関連遺伝子への発達薬理学的アプローチ. 第 49 回日本人類遺伝学会大会, 第 4 回東アジア人類遺伝学会連合会大会. 東京, 10.13, 2004.
 7. 西川 徹: 統合失調症の分子薬理学的解析: ドーパミン受容体および NMDA 受容体作用薬を用いたアプローチ. 「統合失調症: 分子から治療まで」. 第 17 回ブレインサイエンスシリーズ. 千里, 10.19, 2004.
 8. 西川 徹: メトアンフェタミンに発達依存的応答を示す遺伝子 *mrt1* と統合失調症の逆耐性モデル. 第 27 回日本分子生物学会年会. 神戸, 12.8, 2004.
 9. 西川 徹: 分子生物 — 統合失調症. 東京大学医学部 M1 基礎統合講義 精神疾患の基礎医学. 東京, 2.8, 2005.
 10. Nishikawa T: Glutamate dysregulation in schizophrenia. *Recent Progress in Basic and Clinical Research of Neuropsychiatric Diseases*, Seoul, 2.25, 2005.
 11. 西川 徹: 「統合失調症治療と NMDA 受容体グリシン結合部位作動薬」, 第 78 回日本薬理学会年会, 横浜, 3.24, 2005.
- (2) 国際学会
1. Sakurai S, Ishii S, Umino A, Yamamoto N, Nishikawa T: Effects of Psychotomimetic And Antipsychotic Agents On Neocortical And Striatum Concentration Of Various Free Amino Acids In The Rat. *The International Journal Of Neuropsychopharmacology*, XXIV, CINP Congress. Paris, 6.23, 2004
 2. Yamamoto N, Shimazu D, Umino A, Sakurai S, Taniguchi G, Nishikawa T: Regulation Of Endogenous D-Serin In The Cerebral Neocortex. *The International Journal Of Neuropsychopharmacology*, XXIV, CINP Congress. Paris, 6.23, 2004
 3. Nishikawa T, Kajii Y, Muraoka S, Fujiyama K, Hiraoka S, Umino A, Kashiwa A, Ito T, Kaneko Y, Yamamoto N: MRT1: Possible Involvement In The Molecular Basis Of Behavioral Sensitization, A Model For Stimulant-Induced Psychosis. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, XXIV, CINP Congress. Paris, 6.23, 2004
 4. Sakurai S, Ishii S, Umino A, Shimazu D, Yamamoto N, Nishikawa T: Effects of psychotropic agents on the net contents of various amino acids in the rat neocortex and striatum. *Society for Neuroscience 34th Annual Meeting*. San Diego, 10.24, 2004.
 5. Ito T, Hiraoka S, Kashiwa A, Kaneko Y, Kurumaji A, Nishikawa T: Developmentally regulated induction of CCN1(CYR61) by NMDA antagonists in the rat neocortex. *Society for Neuroscience 34th Annual Meeting*. San Diego, 10.27, 2004.

(3) 国内学会

一般学会

1. 宮崎 美里, 大島 一成, 車地 暁生, 西川 徹. 大学病院精神科開放病棟における抑うつ状態を呈した患者に対する小集団精神療法—障害受容の初期過程における攻撃性の表現とグループのコンテイン機能について—. 第21回日本集団精神療法学会大会, 静岡, 2004年3月.
 2. 花村誠一, 大島一成, 安宅勝弘, 行実知昭, 岩脇 淳, 西川 徹. 統合失調症疑診群および確診群における基底症状, 陽性症状, 陰性症状間の相関. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004年5月.
 3. 行実知昭, 花村誠一, 中村元昭, 岩間久行, 松田博史, 大島一成, 新垣 浩, 西川 徹. 統合失調症の陰性症状と脳血流の関連. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004年5月.
 4. 竹内 崇, 古田 光, 平沢俊行, 行実知昭, 熱田英範, 武田充弘, 新垣 浩, 本橋伸高, 西川 徹. せん妄に対する非定型抗精神病薬の使用経験. 第100回日本精神神経学会総会, 札幌, 2004年5月.
 5. 平沢俊行, 新垣 浩, 車地暁生, 本橋伸高, 西川 徹. 遷延性のうつ状態に donepezil, 1-dopa が有効であった1例. 東京精神医学会, 第71回学術集会, 東京, 2004年7月.
 6. 櫻井新一郎, 石井澄和, 海野麻未, 嶋津 奈, 山本直樹, 西川 徹. 統合失調症様異常発現薬および抗精神病薬のラット脳内遊離アミノ酸含有量に対する影響. 第34回日本神経精神薬理学会, 東京, 2004年7月.
 7. 青木美佳, 山田和男, 茂野佳美, Joanne Meerabux, 岩本和也, 大羽尚子, 鷹雄 瞳, 豊田倫子, 深澤正幸, 中谷紀章, 西村幸子, 関健二郎, Brian Dean, 加藤忠史, 糸原重美. 西川 徹, 吉川武男. ネットリン G1 遺伝子およびネットリン G2 遺伝子の統合失調症発症に及ぼす影響. 第34回日本神経精神薬理学会, 東京, 2004年7月.
 8. 車地暁生, 伊藤 卓, 石井澄和, 西川 徹. 不安惹起物質 (FG7142) により生後発達依存性に発現するマウス脳内遺伝子に関する研究. 第34回日本神経精神薬理学会, 東京, 2004年7月.
 9. 堀川英起, 田口裕佳子, 竹内崇, 大島一成, 西川 徹, 宮本めぐみ. 利用者から見たデイケア、スタッフからみたデイケア—大学病院デイケアにおける利用者およびスタッフの視点の比較—. 日本デイケア学会第9回年次大会, 東京, 2004年9月.
 10. 谷口 豪, 山本直樹, 土田英人, 海野麻未, 嶋津 奈, 櫻井新一郎, 西川 徹. ラット大脳皮質においてD-セリンによって発現が誘導される遺伝子 *dsr-2* の研究. 第47回日本神経化学学会大会, 大阪, 2004年9月.
 11. 嶋津 奈, 山本直樹, 海野麻未, 櫻井新一郎, 西川 徹. D-セリン制御分子 *dsm-1* の発現クローニング. 第47回日本神経化学学会大会, 大阪, 2004年9月.
 12. Kurumaji A, Ito T, Ishii S, Nishikawa T. Effects of anxiogenic drugs on BTG2 mRNA in the mouse brain. 第47回日本神経化学学会大会, 大阪, 2004年9月.
 13. 山本直樹, 谷口豪, 海野麻未, 石井澄和, 櫻井新一郎, 嶋津奈, 竹内崇, 竹林裕直, 柏 淳, 新垣浩, 車地暁生, 西川徹. 脳のD-セリンシステムを標的とした統合失調症の新規薬物治療法開発に関する研究. 第37回精神神経系薬物治療研究報告会, 2004年12月.
- #### その他
1. 西川 徹, 車地暁生, 伊藤 卓, 海野麻未, 柏 淳, 金子雄二郎. ストレスに年齢依存的応答を示す遺伝子. 科学技術振興調整費「ストレス性脳機能障害とその修復課程の分子機構解明および治療法の開発」研究班平成15年度研究報告会, 東京, 2004年1月.
 2. 西川 徹, 柏 淳, 伊藤 卓, 金子雄二郎, 山本直樹, 石井澄和, 海野麻未. 覚せい剤・麻薬によるラット大脳新皮質の発達依存的遺伝子応答およびアミノ酸の変化. 厚生労働

科学研究費補助金（医薬安全総合研究事業）

「規制薬物の依存及び神経毒性の発現に係わる仕組みの分子生物学的解明に関する研究」班平成15年度研究報告会，普及啓発事業，東京，2004年1月。

3. 山本直樹，櫻井新一郎，嶋津 奈，谷口 豪，竹林裕直，石井澄和，海野麻未，兼松宗太郎，金子雄二郎，竹内崇，柏淳，車地暁生，西川徹．脳内D-セリンシステムの分子機構とその統合失調症の病態および治療法開発における意義に関する研究．厚生労働省精神・神経疾患研究委託費「精神疾患の分子病態解明による新しい治療・予防法の開発に関する研究」班平成16年度研究成果報告会，東京，2004年12月。

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

本分担課題と直接関係するものはない

2. 実用新案登録

なし

3. その他

特記すべきことなし

神経・グリア細胞死における D-セリンシステムの役割の解明

分担研究者 福井 清

徳島大学分子酵素学研究センター・教授

研究要旨 本研究では D-アミノ酸酸化酵素を、中枢神経内在性の遊離 D-セリンの代謝と動態を制御する因子であるとの作業仮説に基づき、本酵素に関する分子酵素学的研究を基盤として、神経系を構成する細胞レベルにおける、本酵素の構造と活性制御の解析を行い、神経・グリア細胞死における D-セリンシステムの役割の解明と、統合失調症や脳虚血後神経細胞死の克服に向けた医学応用を目指す。

A. 研究目的

本研究は『中枢神経系において D-アミノ酸酸化酵素が、脳内 D-セリンの代謝を司るキーエンザイムであり、NMDA 受容体のコアゴニストである D-セリンの代謝調節を介して、統合失調症の発症とその病態並びに脳虚血後神経細胞死に密接に関与する』との仮説の検証を行う。D-アミノ酸酸化酵素(DAO)と統合失調症の発症・病態との関連は、ゲノム解析のみから示唆されたものであり、タンパク質レベルでのプロテオーム解析並びにヒト酵素の活性に関する構造機能相関の解析は未だなされておらず、本研究は神経・グリア細胞死における D-セリンシステムの役割の解明に重要な意義を有すると考えられる。

B. 研究方法

本研究では、D-アミノ酸酸化酵素に関する分子酵素学的研究を基盤として、分子のレベルから、中枢神経組織を構成する細胞・組織レベル、さらに個体レベルに至る解析を行い、脳の発生・分化及び老化の過程や病態における D-セリンとその代謝酵素の生理的・病態生理学的意義の解明を目指す。

(倫理面への配慮)

本研究の動物実験に関しては、動物愛護上のガイドラインに沿って行い、実施施設である徳

島大学の動物実験委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

我々は既に新生ラット脳から初代グリア分離培養を行い、タイプ 1 アストロサイトにおける DAO 遺伝子の発現を報告している。そこで、D-セリンが実際にアストログリア細胞で発現されている D-アミノ酸酸化酵素によって代謝されるのか否か、またその代謝の結果細胞がどのような影響を受けるかについて検討した。まずラットの C6 細胞(glioma cell line)およびラット初代培養アストロサイトを用いて、D-アミノ酸添加後の細胞の変化を解析した。C6 細胞の DAO 発現量を Western blot 法を用いて観察したところ、かなり低い発現量でしか検出されなかった。次に、mouse DAO 遺伝子を組み込んだ mammalian expression vector を用い恒常的に発現が認められる細胞(stable transformant)を作製し、D-セリンを添加したところ、濃度依存的に細胞死が誘導されるのが観察された。このことは、DAO 遺伝子発現量が比較的高い小脳由来の初代培養アストロサイトでの観察結果と一致し、DAO 遺伝子の発現量が高い細胞では、D-セリンがアストログリア細胞で代謝された結果、細胞死が誘導されることを示唆するものであった。この現象は、D-セリンの代謝により生成された過酸化水素の

作用であると考えられ、この細胞死は DAO の阻害剤である安息香酸の添加によって抑制された。

D. 考察

以上から、観察された細胞死が D-セリンの D-アミノ酸酸化酵素による代謝の結果引き起こされた現象であることが予想され、脳においては、D-セリンの代謝にアストログリア細胞に存在する DAO が積極的に関与することが示唆された。

E. 結論

中枢神経系において、D-アミノ酸酸化酵素は、脳内在性 D-セリンの代謝を司るキーエンザイムとして、D-セリンシステムの生理的また病態生理学意義に寄与すると考えられた。本研究が NMDA 受容体の機能異常に基づく統合失調症などの難治性精神疾患の病態に対する新規治療薬としての酵素阻害剤開発の基盤研究となる展開が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) T. Sakai, L. Liu, X. Teng, R. Mukai-Sakai, H. Shimada, R. Kaji, T. Mitani, M. Matsumoto, K. Toida, K. Ishimura, Y. Shishido, T. W. Mak and K. Fukui: Nucling Recruits Apaf-1/Pro-caspase-9 Complex for the Induction of Stress-Induced Apoptosis. *J. Biol. Chem.* 279 (34), 41131-41140 (2004)
- 2) 川添 僚也, 小野 公嗣, 朴 煥埼, 頼田 和子, 富田 優美子, 福井 清: D-アミノ酸バイオシステムによる哺乳類の中枢神経機能の制御, -- 脳内在性 D-セリンと D-アミノ酸酸化酵素の役割 ---. *化学と生物* 42 (7), 426-428 (2004)
- 3) L. Liu, T. Sakai, N. Sano and K. Fukui: Nucling mediates apoptosis by inhibiting expression of galectin-3 through interference with nuclear factor κ B signalling. *Biochem. J.* 380(1), 31-41 (2004)

2. 学会発表

- 1) K. Fukui: Functional roles and pathophysiology of brain D-amino acid oxidase. Neuro2004 (2004 年 9 月大阪)
- 2) T. Kawazoe, K. Yorita, K. Ono, S. Iwana, H. W. Park, Y. Tomita and K. Fukui: Purification and characterization of recombinant human D-amino acid oxidase. 第 77 回日本生化学会大会(2004 年 10 月横浜)
- 3) K. Fukui: Astroglial D-amino acid oxidase is the key enzyme to metabolize extracellular D-serine, a neuromodulator of NMDA receptor. 韓国生化学・分子生物学会第 8 回 Bomun Conference (2005 年 1 月慶州)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許出願

「新規アポトーシス誘導タンパク質及びそれをコードする遺伝子」福井 清、坂井隆志
特願 2001-326784

脊髄小脳変性症に対するサイクロセリンの長期投与の検討

分担研究者 川井 充

国立病院機構東埼玉病院・副院長

研究要旨 グルタミン酸受容体である N-methyl-D-aspartate の glycine site への partial agonist の性質をもつサイクロセリンを脊髄小脳変性症(SCD)12例(小脳症状主体の多系統萎縮症(MSA-C)6例, 小脳皮質萎縮症(CCA)4例, SCA6 2例)に 50 ミリグラム経口で 12 ヶ月投与しその効果を検討した。最初のサイクロセリン 2 週間投与により有意に International co-operative ataxia rating scale で改善を認めた。投与 3 ヶ月後も効果は持続していたが、6 ヶ月後には International co-operative ataxia rating scale で投与前との有意差がなくなった。但し悪化した 7 例中 5 例は MSA-C で投与前から存在した錐体外路症状が悪化しており評価への影響も認められた。CCA や SCA6 では特に運動失調以外の神経徴候の発現はみなかった。今回は、偽薬群を設定しなかったため、検討は充分ではないが、サイクロセリンの SCD に対する効果は少なくとも 3 ヶ月程度は持続すると考えられる。

A. 研究目的

脊髄小脳変性症 (SCD) は、小脳性運動失調を主症状として様々な症状を呈する変性疾患の総称であり、遺伝性のものについては近年遺伝子異常が次々に明らかにされている。しかしその運動失調に対する治療については、酒石酸プロチレリン (TRH) やタルチレリン等があるのみでこれも必ずしも全例で著効があるものではない。サイクロセリン (D-cycloserine) は、抗結核薬として用いられてきたが、血液脳関門を容易に通過しグルタミン酸受容体のサブクラスの N-methyl-D-aspartate(NMDA)の glycine site の partial agonist の働きをもつことがわかっている。我々は以前にこの性質を利用し SCD にサイクロセリンを 2 週間投与しその有効性を報告した。しかし長期投与時の有効性や副作用の有無については明らかでない。そこで今回は、SCD に対してサイクロセリンを 1 日 50mg 経口で 12 ヶ月間投与しその有用性や副作用の有無について検討した。

B. 研究方法

歩行可能な SCD 患者を対象とした。同意を得るのに支障がある高次脳機能障害をみとめる例は除外した。さらにサイクロセリンはてんかん患者にたいしては禁忌であるとされているので、今回の対象から DRPLA 患者やてんかんの既往のある患者は除外した。診断については診断の内訳は、遺伝子診断を希望した方について施行したが、SCA6 患者以外は、全て CAG repeats 数は正常範囲であった。18 例で投与を開始したが本人が途中で中止を希望した 3 人、タルチレリンの併用を希望したため本研究からはドロップアウトした 2 人、途中で転医した 1 人は本検討から除外し最終的に 12 人で検討した。副作用により中止した例はなかった。最終的な診断の内訳は、多系統萎縮症(MSA-C)6 例, 小脳皮質萎縮症(CCA)4 例, SCA6 2 例であった。男性 7 例女性 5 例, 年齢は 56.3±8.5 歳であった。

実際の方法は、まずインフォームドコンセントを取り患者本人から文書で同意を得た。投与方法はサイクロセリン 1 日 50mg を 2 分割経口

投与とした。投与前, 投与2週間後, 3ヶ月後, 6ヶ月後, 9ヶ月後, 12ヶ月後に評価した。評価項目は, International co-operative ataxia rating scale (ICARS) (World Federation of Neurology 1997) を用いた。また問診, 神経学的診察, 血液生化学検査, 尿検査, 心電図検査, 脳波を同時に行い副作用の有無を検討した。すべて当施設の倫理委員会で承認されたプロトコールに従っておこなった。

統計方法は, ICARS の点数を Friedman の順位による分散分析 2 元配置を用い有意であればさらに 2 群間の差の有無を Wilcoxon の順位検定で検討した。すべて危険率 5%以下を有意と判定した。

C. 研究結果

サイクロセリン投与 2 週後, ICARS の総点と姿勢・歩行で投与前に比較して有意な改善を見た。3ヶ月後の結果も同様で ICARS の改善は有意に持続していた。投与6ヶ月後以降では ICARS の投与前との有意差はみられなくなったが悪化はしていなかった。(表)

自覚症状では副作用はなくまた検査結果も問題となるような有意な変化はなかったが運動失調そのものは少しずつ進行した。また MSA-C 6 例中 5 例で以前から存在していた錐体外路症状も次第に悪化しており ICARS のスコアへの影響も考えられた。CCA や SCA 6 では錐体外路症状を含め運動失調以外の神経徴候は投与中に出現しなかった。

D. 考察

今回の検討では, サイクロセリンの SCD への臨床効果は少なくとも 3ヶ月は持続することが示された。SCD へのグルタミン酸性ニューロン, グルタミン酸受容体の関与についてはこれまでにも様々な報告がある。小脳皮質の顆粒細胞から出るプルキンエ細胞を刺激する parallel fiber は, グルタミン酸がトランスミッターでありこの経路に障害がおきればプルキンエ細胞の興奮は抑制され小脳機能に障害がおこりうる。さらにこれまでに遺伝性のオリブ橋小脳萎縮症で, GDH の活性低下や小脳皮質のグルタミン酸の減少が報告されている。また動物実験では, NMDA 受容体の阻害剤が他の精神症状に加えて小脳失調も引き起こすことがみられている。また動物実験でサイクロセリンが SCD のモデル動物に有効であった報告もありサイクロセリンが SCD に対する有用性の根拠となりうると考えられる。

一方, SCD を含む様々な変性疾患で NMDA 受容体を介した興奮刺激が過剰になり神経細胞が障害されるという仮説が提唱されており, OPCA についても同様の推定をする報告もある。グルタミン酸アゴニストは, 過度に投与した場合には細胞毒性を呈する可能性はあるが, サイクロセリンは partial agonist であり, もともと細胞毒性は低いと考えられる。またサイクロセリンは, これまでに抗結核薬として投与されているので, 人間への長期投与のデータがすでに存在する。副作用としては, 悪心等の軽度の消化

表 ICARS の結果

評価項目	投与前	2 週後	3 カ月後	6 カ月後	9 カ月後	12 カ月後
姿勢・歩行	19.8±9.2	16.0±8.9*	16.6±9.1*	19.3±8.7	19.6±8.9	19.8±9.7
動的機能	21.3±5.9	20.4±6.0	20.5±5.7	22.0±6.7	22.3±7.5	22.5±7.2
発語	3.5±1.2	3.4±1.3	3.6±1.3	3.5±1.3	3.5±1.2	3.5±1.2
眼球運動	3.5±1.5	3.5±1.5	3.5±1.2	3.5±1.5	3.5±1.5	3.5±1.4
総点	47.3±12.3	44.2±11.6*	44.7±12.0*	46.1±12.3	47.1±11.9	47.5±11.7

Mean±SD

* 投与前に対して有意 (危険率 5%以下)

器症状以外に精神神経系症状としてめまい、頭痛、まれに振戦、眠気、反射亢進、てんかん様発作が報告されている。これらの一部は、本剤のもつ NMDA の glycine site の partial agonist の作用によると考えられる。副作用の中で非可逆的なものは報告されていない。また今回の検討では、抗結核薬として投与する一日 500 ミリグラムよりはるかに少ない 1 日 50 ミリグラムで効果をえており、副作用もみられていない。MSA-C 症例でみられた錐体外路症状の投与中の悪化については、もともと投与前から錐体外路症状が存在しており、投与を終了した後も錐体外路症状は進行しているのもともとの MSA の症状によるものと考えた。ただし今回は対照群を設定していないため厳密な意味で運動失調症状を含めサイクロセリン投与群と偽薬群で SCD の症状の変化に差異がないかは検討できていない。今後は長期投与でも偽薬群を設定し二重盲検の必要性があると思われる。

今回の検討では少数例であるが、サイクロセリンは SCD の運動失調症状に対し少なくとも 3 ヶ月程度は効果が持続することがわかった。今後、二重盲検や、クロスオーバー試験による効果及び至適用量の検討がとくに重要であると考えられた。

E. 結論

サイクロセリンは SCD の治療に有効である可能性があり効果は少なくとも 3 ヶ月は持続する。

F. 研究発表

1. 論文発表

<英文>

1. K Oishi, M Ogawa, Y Oya, M Kawai: Whole-brain voxel-based correlation analysis between regional cerebral blood flow and intelligence quotient score in Parkinson's disease. *Eur Neurol*.52(3):151-155, 2004
2. Y Ohashi, Y Hasegawa, K Murayama, M Ogawa, T Hasegawa, M Kawai, N Sakata, K

Yoshida, H Yarita, K Imai, I Kumagai, K Murakami, H Hasegawa, S Noguchi, I Nonaka, S Yamaguchi, I Nishino: A new diagnostic test for VLCAD deficiency using. *Neurology* 22;62(12):2209-2213, 2004

<和文>

1. 山本敏之, 藤原由貴, 横田真知子, 中村治雅, 清水宏, 片岸美帆, 尾方克久, 竹嶋光代, 山村隆, 川井充: 多発性硬化症の interferon- β 1b 治療導入におけるクリティカルパスの検討. *神経治療学* 21(2):175-181, 2004
 2. 山本敏之, 菊池猛, 永江順子, 尾方克久, 小川雅文, 川井充: ディスプロンディを主徴とし環境音失認をともなった右側頭葉血流低下の 1 例. *臨床神経* 44(1):28-33, 2004
 3. 大矢寧, 小川雅文, 川井充: Proportional assist ventilation をもちいた、呼吸筋力低下患者の呼吸器系の elastance と resistance の測定. *臨床神経* 44(4/5):268-273, 2004
 4. 山本敏之, 大矢寧, 五十嵐修, 豊田千純子, 小川雅文, 川井充: 上眼瞼部に腫瘤の触知した慢性脱髄性多発ニューロパチーにおける多発性末梢神経腫脹の MRI、電気生理学的検査による検討. *臨床神経* 44(4/5):286-290, 2004
 5. 山本敏之, 尾方克久, 片岸美帆, 清水宏, 小川雅文, 山村隆, 川井充: 日本語版 Multiple Sclerosis Quality of Life-54 の信頼性の検討. *臨床神経* 44(7):417-421, 2004
 6. 豊田千純子, 小川雅文, 大矢寧, 川井充: 筋疾患における呼吸機能スクリーニングとしての最大発生時間. *脳と神経* 56(10):873-876, 2004
 7. 村上泰生, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 筋強直性ジストロフィーでの息こらえによる息苦しきの検討. *臨床神経* 45:117-120, 2005
- ### 2. 学会発表
- (1) 講演
1. 川井充: 筋生検を本当に役にたつ検査にするために. 第 13 回日本神経学会中国四国地方会生涯教育講演会, 岡山, 2004 年 6 月 19

- 日
2. 川井充:筋ジストロフィー医療の現況. 平成 16 年度神経・筋疾患研修会(国立病院機構本部主催), 東京, 2004 年 9 月 16 日
 3. 川井充: 筋生検が本当に役にたつために. 第 4 回奈良神経内科セミナー, 奈良, 2004 年 10 月 2 日
 4. 川井充: 介入の効果判定のための QOL 評価尺度 MDQOL60 の開発. 平成 16 年度厚生労働省精神・神経疾患研究委託費 筋ジストロフィー総合班会議, 東京, 2005 年 1 月 21 日
 5. 川井充: 筋ジストロフィーの治療に関する最近の研究の進歩. 第 19 回筋ジストロフィー対策埼玉研修会, 埼玉, 2005 年 2 月 6 日
- (2) 国際学会
1. M Kawai: Clinical Management of Myotonic Dystrophy. The 4th Annual Scientific Meeting of Asian & Oceanian Myology Center Kaohsiung, Taiwan, March 3rd-4th, 2005
- (3) 国内学会
1. 磯部建夫, 尾方克久, 小川雅文, 大矢寧, 川井充: 約 15 年の経過で緩徐進行性の筋位筋筋力低下をきたした、C 型慢性肝炎に合併した多発性筋炎の 68 歳男性例. 第 52 回 Neuromuscular Conference, 東京, 2004 年 4 月 10 日
 2. 葛目大輔, 山本敏之, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: Machado-Joseph 病 (MJD) での耐糖能異常の検討. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 3. 片岸美帆, 山本敏之, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者における呼吸機能の経時変化. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 4. 磯部建夫, 山本敏之, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 神経疾患における姿勢による呼吸機能の変動. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 5. 中村治雅, 片岸美帆, 清水宏, 磯部建夫, 白藤俊彦, 葛目大輔, 山本敏之, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 呼吸筋力計を用いた神経筋疾患患者の呼吸機能評価. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 6. 小川雅文, 山本敏之, 尾方克久, 大矢寧, 川井充: パーキンソン病の脳血流低下は幻覚の危険因子か?. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 7. 尾方克久, 小川雅文, 中村治雅, 片岸美帆, 白藤俊彦, 川井充: 筋萎縮性側索硬化症における効用値 QOL 測定の妥当性. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 8. 清水宏, 山本敏之, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 骨格筋 CT による FSHD 及び MyD の筋萎縮の定量的解析. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 9. 大矢寧, 小川雅文, 川井充, 西野一三: 縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (DMRV, Nonaka) の筋罹患分布と GNE 遺伝子異常. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 11 日
 10. 大矢寧, 白藤俊彦, 尾方克久, 小川雅文, 川井充, 仲間秀幸, 大槻泰介: 生検で確認された多発性硬化症の初回補発作例の臨床画像病理の対応. 第 45 回日本神経病理学会総会, 群馬, 2004 年 5 月 26-28 日
 11. 大矢寧, 中村治雅, 尾方克久, 小川雅文, 川井充, 坂元綾子, 有馬邦正: 右上肢の運動障害が目立ち、姿勢反射障害が目立たずに、皮質基底核変性症との鑑別が問題になった、進行性核上性麻痺 (PSP) の一例. 第 45 回日本神経病理学会総会, 群馬, 2004 年 5 月 26-28 日
 12. 清水宏, 大矢寧, 小川雅文, 川井充, 大出貴士, 有馬邦正: 交換神経節に Lewy 小体を認めた他系統萎縮症の 70 歳男性例. 第 169 回日本神経学会関東地方会, 東京, 2004 年 6 月 5 日

13. 安東範明, 川井充: 筋ジストロフィーにおける脊柱側弯矯正手術の満足度. 第 41 回リハビリテーション医学会学術集会, 東京, 2004 年 6 月 4 日
14. 村上善勇, 中村治雅, 大矢寧, 川井充: 強直脊椎と左優位の下肢筋萎縮を呈した 28 歳男性例. 第 53 回 Neuromuscular Conference, 東京, 2004 年 7 月 31 日
15. 白藤俊彦, 鈴木幹也, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 村田美穂, 川井充: MRI で脳梁と両側前頭葉内側面に連続した病変を認めた多発性硬化症の 26 歳女性例. 第 170 回日本神経学会関東地方会, 東京, 2004 年 9 月 4 日
16. 宮武聡子, 大友学, 谷田部可奈, 岸林潤, 布施滋, 川井充: 進行性に両下肢筋力低下を来した 59 歳男性例. 第 24 回 Spinal Cord Club, 東京, 2004 年 11 月 5 日
17. 宮武聡子, 大友学, 谷田部可奈, 岸林潤, 布施滋, 川井充, 石原傳幸, 野中征哉: 進行性の両下肢筋力低下を来し、錐体路徴候、腱反射消失、深部覚障害、及び筋緊張低下を認めた 59 歳男性例. 第 54 回 Neuromuscular Conference, 東京, 2004 年 12 月 25 日
18. 中村治雅, 鈴木幹也, 尾方克久, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 小殿筋、腓腹筋・ヒラメ筋に高度の脂肪浸潤がみられ、一部に排尿障害も合併するミオパチーの家系. 第 54 回 Neuromuscular Conference, 東京, 2004 年 12 月 25 日
19. 宮武聡子, 谷田部可奈, 川井充, 石原傳幸, 野中征哉: ビタミン B12 の組織内欠乏によるミオパチーを合併した亜急性性連合性変性症の 59 歳男性例. 第 172 回日本神経学会関東地方会, 東京, 2005 年 3 月 5 日
20. 大友学, 布施滋, 尾方克久, 谷田部可奈, 宮武聡子, 川井充: 左上肢の進行性の筋萎縮と筋力低下で発症し、呼吸全を伴って NPPV を装着した 75 歳男性例. 第 25 回 Spinal Cord Club, 東京, 2005 年 3 月 25 日

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧

[西川 徹]

1. 論文発表

(1) 原著

1. Fujii R, Okabe S, Urushido T, Inoue K, Yoshimura A, Tachibana T, Nishikawa T, Hicks GG, Takumi T: The RNA binding protein TLS is translocated to dendritic spines by mGluR5 activation and regulates spine morphology. *Curr Biol*, 15: 587-593, 2005.
2. Aoki-Suzuki M, Yamada K, Meerabux J, Iwayama-Shigeno Y, Ohba H, Iwamoto K, Takao H, Toyota T, Suto Y, Nakatani N, Dean B, Nishimura S, Seki K, Kato T, Itohara S, Nishikawa T, Yoshikawa T: A family-based association study and gene expression analyses of netrin-G1 and -G2 genes in schizophrenia. *Biol Psychiatry*, 57: 382-393, 2005.
3. Inoue K, Yamada A, Fujii R, Nakatani J, Matsubara C, Ishii M, Aburatani H, Umino A, Nishikawa T, Takumi T: Fez1 is layer-specifically expressed in the adult mouse neocortex. *Eur J Neurosci* 20: 2909-2916, 2004.
4. Sakurai S, Ishii S, Umino A, Shimazu D, Yamamoto N, Nishikawa T: Effects of psychotomimetic and antipsychotic agents on neocortical and striatal concentrations of various amino acids in the rat. *J Neurochem* 90: 1378-1388, 2004.
5. Fukasawa M, Aoki M, Yamada K, Iwayama-Shigeno Y, Takao H, Meerabux J, Toyota T, Nishikawa T, Yoshikawa T: Case-control association study of human netrin G1 gene in Japanese schizophrenia. *J Med Dent Sci* 51: 121-8, 2004.

(2) 著書

1. 西川 徹: 6. 神経化学から. (風祭元, 山下格 編). 心の科学セレクション 統合失調症. pp.541-542. 日本評論社, 東京, 2005.
2. 伊藤 卓, 西川 徹: 3. 最初期遺伝子と核内情報伝達系. 新規抗精神病薬のすべて (加藤進昌, 上島国利, 小山司編), 先端医学社, 東京, pp270-275, 2004.
3. 大島一成, 西川 徹: 18. 精神科領域の救急. 第7章経験すべき症状・病態. ①緊急を要する疾患・病態. 臨床研修実践マニュアル (奈良信雄編), 南江堂, 東京, pp328-331, 2004.
4. 西川 徹: 5. 統合失調症. 第8章 Common Diseases. ①精神疾患・心身医学. 臨床研修実践マニュアル (奈良信雄編), 南江堂, 東京, pp541-542, 2004.
5. 西川 徹: Schizophrenia の分子病態—内在性D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 星和書店, 東京, 2004.

(3) 総説

1. 古田 光, 西川 徹: 統合失調症 標準治療と最新治療—メリットとデメリット法. *Clin Neurosci* 23: 106-107, 2005.

[西川 徹]

2. 嶋津 奈, 西川 徹: モノアミン障害・アンフェタミンモデル 統合失調症の仮説とそのモデル検証. 分子精神医学 5: 58-63, 2005.
3. 西川 徹: 統合失調症の分子薬理的解析—ドーパミン受容体および NMDA 受容体作用薬を用いたアプローチ. 特集 1 統合失調症: 分子から治療まで. 脳 21 8: 9-15, 2005.
4. 西川 徹: Schizophrenia の分子病態—内在性D-セリンおよび発達依存的発現制御を受ける遺伝子の意義—. 第1回 Schizophrenia 研究会. 臨床精神薬理 7: 87-112, 2004.
5. 西川 徹: 統合失調症のグルタミン酸仮説. 生体の科学 55: 544-545, 2004.
6. 西川 徹: mrt1 をめぐって 統合失調症の神経生物学. mrt1; Possible implication in the pathophysiology of schizophrenia. Schizophrenia Frontier 5: 18-24, 2004.
7. 西川 徹: Special Review 「脳内 D-セリンの代謝と生理作用」. 細胞工学 23: 1180-1185, 2004.

(4) その他

1. 村岡新一郎, 梶井 靖, 山本直樹, 海野麻未, 柏 淳, 伊藤 卓, 金子雄二郎, 西川 徹. 統合失調症の発症に関与する遺伝子の発達薬理学的研究. 精神薬療研究年報 36: 49-52, 2004.
2. 内匠 透, 藤井律子, 吉村 淳, 井上 浄, 渡辺康仁, 漆戸智恵, 岡部繁男, 西川 徹. 抗精神病薬標的分子としての RNA 結合蛋白の機能解析. 精神薬療研究年報 36: 90-94, 2004.
3. 新井 誠, 糸川昌成, 山田和男, 豊田倫子, 羽賀誠一, 氏家 寛, 曾良一郎, 池田和彦, 吉川武男. 統合失調症における神経細胞接着分子関連遺伝子の解析. 精神薬療研究年報 36: 100-113, 2004.

[福井 清]

1. 論文発表

(1) 原著

1. Sakai T, Liu L, Teng X, Mukai-Sakai R, Shimada H, Kaji R, Mitani T, Matsumoto M, Toida K, Ishimura K, Shishido Y, Mak TW, Fukui K: Nucling Recruits Apaf-1/Pro-caspase-9 Complex for the Induction of Stress-Induced Apoptosis. *J Biol Chem*, 279: 41131-41140, 2004.
2. Liu L, Sakai T, Sano N, Fukui K: Nucling mediates apoptosis by inhibiting expression of galectin-3 through interference with nuclear factor κ B signalling. *Biochem J*, 380: 31-41, 2004.
3. 川添 僚也, 小野 公嗣, 朴 煥埼, 頼田 和子, 富田 優美子, 福井 清: D-アミノ酸バイオシステムによる哺乳類の中樞神経機能の制御, --- 脳内在性 D-セリンと D-アミノ酸酸化酵素の役割 ---. *化学と生物*, 42: 426-428, 2004.

[川井 充]

1. 論文発表

(1) 原著

1. K Oishi, M Ogawa, Y Oya, M Kawai: Whole-brain voxel-based correlation analysis between regional cerebral blood flow and intelligence quotient score in Parkinson's disease. *Eur Neurol*.52(3):151-155, 2004.
2. Y Ohashi, Y Hasegawa, K Murayama, M Ogawa, T Hasegawa, M Kawai, N Sakata, K Yoshida, H Yarita, K Imai, I Kumagai, K Murakami, H Hasegawa, S Noguchi, I Nonaka, S Yamaguchi, I Nishino: A new diagnostic test for VLCAD deficiency using. *Neurology* 22;62(12):2209-2213, 2004.
3. 山本敏之, 藤原由貴, 横田真知子, 中村治雅, 清水宏, 片岸美帆, 尾方克久, 竹嶋光代, 山村隆, 川井充: 多発性硬化症の interferon- β 1b 治療導入におけるクリティカルパスの検討. *神経治療学* 21(2):175-181, 2004.
4. 山本敏之, 菊池猛, 永江順子, 尾方克久, 小川雅文, 川井充: ディスプロソディを主徴とし環境音失認をともなった右側頭葉血流低下の1例. *臨床神経* 44(1):28-33, 2004.
5. 大矢寧, 小川雅文, 川井充: Proportional assist ventilation をもちいた、呼吸筋力低下患者の呼吸器系の elastance と resistance の測定. *臨床神経* 44(4/5):268-273, 2004.
6. 山本敏之, 大矢寧, 五十嵐修, 豊田千純子, 小川雅文, 川井充: 上眼瞼部に腫瘤の触知した慢性脱髄性多発ニューロパチーにおける多発性末梢神経腫脹の MRI、電気生理学的検査による検討. *臨床神経* 44(4/5):286-290, 2004.
7. 山本敏之, 尾方克久, 片岸美帆, 清水宏, 小川雅文, 山村隆, 川井充: 日本語版 Multiple Sclerosis Quality of Life-54 の信頼性の検討. *臨床神経* 44(7):417-421, 2004.
8. 豊田千純子, 小川雅文, 大矢寧, 川井充: 筋疾患における呼吸機能スクリーニングとしての最大発生時間. *脳と神経* 56(10):873-876, 2004.
9. 村上泰生, 大矢寧, 小川雅文, 川井充: 筋強直性ジストロフィーでの息こらえによる息苦しきの検討. *臨床神経* 45:117-120, 2005.

(2) 著書

1. 川井充: 筋の画像診断. *神経内科学書*第2版症. pp310-314. 朝倉書店, 東京, 2004.
2. 大矢寧, 川井充: 筋生検. *神経内科学書*第2版症. pp315-320. 朝倉書店, 東京, 2004.
3. 大矢寧, 川井充: 皮膚生検. *神経内科学書*第2版症. pp327-320. 朝倉書店, 東京, 2004.
4. 大矢寧, 川井充: 脳生検. *神経内科学書*第2版症. pp329-330. 朝倉書店, 東京, 2004.
5. 大矢寧, 川井充: 直腸生検. *神経内科学書*第2版症. pp330. 朝倉書店, 東京, 2004.
6. 大矢寧, 川井充: リンパ節生検. *神経内科学書*第2版症. pp330-331. 朝倉書店, 東京, 2004.

【川井 充】

7. 川井充, 大矢寧 (訳): 筋強直性ジストロフィー (ピーター・ハーパー著). 診断と治療社, 東京, 2005.
8. 川井充: 疾患別最新処方 (矢崎義雄, 菅野健太郎監修). pp660-661. メジカルビュー社, 東京, 2005.

(3) 総説

1. 川井充, 大矢寧, 本吉慶史: 筋ジストロフィーの MRI. 神経内科 60(3):230-232, 2004.
2. 川井充: 筋強直性ジストロフィー-最近の進歩と診療の課題-. 神経内科 60(4):339-342, 2004.
3. 川井充: 統合失調症の分子薬理学的解析—ドーパミン受容体および NMDA 受容体作用薬を用いたアプローチ. 特集 1 統合失調症: 分子から治療まで. 脳 21 8: 9-15, 2005.
4. 川井充: 内科医のための脳疾患講座 36: 炎症性筋疾患 その 1. BRAIN MEDICAL 16(2):174-178, 2004.
5. 川井充: 治療に反応するパーキンソニズム、反応しないパーキンソニズム—その鑑別と対策—. Medical Practice 21(7): 1111-1115, 2004.
6. 川井充: 筋および神経・筋疾患とその鑑別診: 断筋強直性ジストロフィー. 脊椎脊髄ジャーナル 17(9): 879-884, 2004.
7. 川井充: 内科医のための脳疾患講座 36: 炎症性筋疾患 その 2. BRAIN MEDICAL 16(3):256-261, 2004.
8. 川井充: 筋炎の基礎知識: 分類と定義. Clinical Neuroscience 22(10): 1129-1131, 2004.
9. 川井充: わかりやすい Parkinson 病 Parkinson 病関連の用語とその解説. 臨床医 30(11):1884-1887, 2004.
10. 川井充: 筋ジストロフィーの研究の進歩と臨床への応用. MEDICAL REHABILITATION 51:1-8, 2005.

IV. 研究成果の刊行物・別刷

The RNA Binding Protein TLS Is Translocated to Dendritic Spines by mGluR5 Activation and Regulates Spine Morphology

Ritsuko Fujii,^{1,7} Shigeo Okabe,^{2,4,7} Tomoe Urushido,² Kiyoshi Inoue,¹ Atsushi Yoshimura,¹ Taro Tachibana,⁵ Toru Nishikawa,³ Geoffrey G. Hicks,⁶ and Toru Takumi^{1,*}

¹Osaka Bioscience Institute
Suita, Osaka 565-0874

Japan

²Department of Cell Biology

³Psychiatry and Behavioral Science

Tokyo Medical and Dental University Graduate School
Tokyo 113-8519

Japan

⁴Core Research for Evolutional Science and
Technology

⁵Department of Applied and Bioapplied Chemistry
Graduate School of Engineering

Osaka City University

Osaka 558-8585

Japan

⁶Manitoba Institute of Cell Biology and University
of Manitoba

Winnipeg, Manitoba R3E0V9

Canada

Summary

Neuronal dendrites, together with dendritic spines, exhibit enormously diverse structure [1]. Selective targeting and local translation of mRNAs in dendritic spines have been implicated in synapse remodeling or synaptic plasticity [2, 3]. The mechanism of mRNA transport to the postsynaptic site is a fundamental question in local dendritic translation [4, 5]. TLS (translocated in liposarcoma), previously identified as a component of hnRNP complexes, unexpectedly showed somatodendritic localization in mature hippocampal pyramidal neurons. In the present study, TLS was translocated to dendrites and was recruited to dendrites not only via microtubules but also via actin filaments. In mature hippocampal pyramidal neurons, TLS accumulated in the spines at excitatory postsynapses upon mGluR5 activation, which was accompanied by an increased RNA content in dendrites. Consistent with the *in vitro* studies, TLS-null hippocampal pyramidal neurons exhibited abnormal spine morphology and lower spine density. Our results indicate that TLS participates in mRNA sorting to the dendritic spines induced by mGluR5 activation and regulates spine morphology to stabilize the synaptic structure.

Results

TLS, also called FUS, was first identified as a rearranged gene at a chromosomal translocation junction invariably linked to human myxoid liposarcomas [6].

*Correspondence: takumi@obi.or.jp

⁷These authors contributed equally to this work.

Recent structural study of TLS has identified 2-folded domains: a C4 zinc finger domain and RNA recognition motif (RRM) domain [7]. Consistent with its RNA binding properties, TLS is involved in rapid nuclear-cytoplasmic shuttling by binding mRNAs in the nucleus and exporting spliced mRNA as a ribonucleoprotein complex to the cytoplasm [8] and further in the initiation of cell spreading [9]. However, no neuronal function of TLS has been reported. Our initial observation that TLS is expressed in the mouse neocortex and hippocampus led us to investigate the neuronal functions of TLS.

TLS Localization in Mouse Neuronal Dendrites

TLS is expressed in the brain, and recent proteomic analysis revealed that TLS is included in an NMDA receptor complex [10] and an RNA-transporting granule as a binding partner of conventional kinesin (KIF5) [11]. We examined the subcellular distribution of TLS in hippocampal neurons in culture. Immunostaining with anti-TLS polyclonal antibody (TLS-C) exhibited a punctate distribution of TLS within dendrites and a clustering in the nucleus (Figure 1A, upper middle panel), whereas no specific signals were observed in the preadsorbed specimen (Figure 1A, upper right panel). Consistent with this endogenous expression of TLS, when expressed in the hippocampal neurons, TLS-fused to green fluorescent protein (TLS-GFP) exhibited a similar granular distribution within dendrites in addition to staining in the nucleus (Figure 1A, upper left panel). Furthermore, double-label immunocytochemistry with anti-TLS and anti-PSD95 antibodies revealed colocalization of TLS immunoreactivity with PSD95-positive spines (Figure 1A, arrows in lower panels) (the ratio of colocalization is 65%–73%, *n* = 50, dendritic segments from spiny neurons). This result suggests that TLS is localized in postsynapses and is consistent with further analysis described below (see Figure S1 in the Supplemental Data available with this article online). The hippocampal neurons expressing TLS-GFP were immunostained with anti-MAP2 antibody, a somatodendritic marker, to confirm that TLS was localized in the neuronal dendrites (Figure 1B, upper panels). The result clearly showed that TLS-GFP was colocalized with MAP2-immunopositive dendrites. In contrast, TLS-GFP was absent from long thin axonal projections of hippocampal pyramidal neurons marked by antibody against phosphorylated neurofilament protein (SMI31). The SMI31-positive projections were MAP2 negative, confirming their identity as axons (Figure 1B, lower panels). These results indicate that TLS is exclusively localized in the neuronal dendrites of polarized neurons.

TLS-GFP Moves toward Dendrites

TLS localization within dendrites was examined by using an adenovirus-mediated expression system to efficiently express TLS-GFP in cultured hippocampal neurons. Movement of TLS-GFP was assayed by time-lapse confocal microscopy 48 hr after infection with adenovirus expressing TLS-GFP (Figure 2 and Movies 1