

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 副腎白質ジストロフィー(ALD)治療薬の開発を目指して、ALD 患者線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、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-trimethyl etherは、極長鎖脂肪酸β酸化活性を濃度依存的に回復させるとともに、コレステロールへの極長鎖脂肪酸の取り込みを抑制し、極長鎖脂肪酸含量も正常化した。一方、ALD 患者において、ミスセンス変異をもつ ALDP の多くは発現量が低下している。そこで、7種のミスセンス変異 ALDP の細胞内運命を解析した。その結果、一部の変異型 ALDP は、プロテアソーム阻害剤存在下タンパク質が検出されようになり、ペルオキシソーム局在性が回復した。ALDP の局在化や機能ドメインが保持された変異 ALDP の場合、分解を抑制することにより ALDP の機能を保持させることが可能かもしれない。

A. 研究目的

現在、副腎白質ジストロフィー(ALD)に対する有効な治療薬はなく、リスクを伴う骨髄移植に頼らなければならないのが現状である。本研究では、ALD 治療薬の開発を目指して、ALD 患者線維芽細胞を用いて、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は、極長鎖脂肪酸蓄積に対する効果を検討した。一方、現在までに約 600 例の ALD 遺伝子変異が報告されている。そのうち6割がミスセンス変異であり、その多くは ALDP の発現量が低下している。そこで、ALDP 安定化の可能性を検討するため、ミスセンス ALDP の C 末端に GFP を融合させたタンパク質を ALD 患者線維芽細胞ならびに CHO 細胞に発現させ、その細胞内運命を解析した。

B. 研究方法

ALD 患者線維芽細胞を、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、[1-¹⁴C]lignoceric acid、[1-¹⁴C]palmitic acid を添加し、脂肪酸のβ酸化

活性を測定した。有効成分 baicalein-5, 6, 7-trimethyl ether (baicalein-tri-M)については、2週間細胞に添加し、その後各脂質画分への[1-¹⁴C]lignoceric acid、[1-¹⁴C]palmitic acid 取り込みを定量した。さらに細胞の極長鎖脂肪酸含量の変動は、ガスクロマトグラフにより分析した。

一方、変異型 ALDP の細胞内挙動については、C 末端に GFP を融合させた野生型ならびに7種のALD患者由来ミスセンス変異(R104C, G116R, Y174C, S342P, S606P, S606L, H667D)をもつ ALDP-GFP cDNA を構築した。これら cDNA を ALD 患者線維芽細胞ならびに CHO 細胞に発現させ、ALDP の局在を蛍光抗体法ならびにシヨ糖密度勾配遠心法により解析した。

(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 患者線維芽細胞は、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ならびに古谷博和助教授より供与していただいた。

C. 研究結果

ALD 患者線維芽細胞では、正常細胞に比べ極長鎖脂肪酸 β 酸化活性が約 30-40%まで低下していた。ALD 患者線維芽細胞を各種生薬成分等の存在下で培養し、極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を測定した。その結果、baicalein-tri-Me、diosmetin、quercetin、isorhamnetin、genistein、diosmetin-7-glucoside、5,7,3',4'-tetramethylquercetin などのフラボノイドが再現性よく β 酸化活性を回復させた。中でも baicalein-tri-Me 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。長鎖脂肪酸 β 酸化活性も促進させた。また ALD 患者線維芽細胞においては、コレステロールエステル画分への極長鎖脂肪酸の取り込みが正常細胞の約 4 倍に上昇しているが、baicalein-tri-Me(30 μ M)を 2 週間処理することにより、その取り込みは正常値まで減少した。

次に、極長鎖脂肪酸蓄積への効果を検討した。ALD 患者線維芽細胞では、正常細胞と比較し、アラキジン酸 C20:0、ベヘン酸 C22:0、リグノセリン酸 C24:0 の含量はほとんど差がないが、ヘキサコサノイン酸 C26:0 の含量は約 14 倍増加していた。ALD 患者線維芽細胞を baicalein-tri-Me(30 μ M)存在下、2 週間培養することにより、C20:0 含量は顕著に増加したが、C22:0、C24:0 含量は有意に減少し、C26:0 も減少傾向がみられた。さらに、ALDP ノックアウトマウスに 0.1% (w/w) baicalein-tri-Me を含む粉餌を 3 ヶ月間与え、脳や脊髄の極長鎖脂肪酸の含量をコントロール群と比較した。しかしながら、この条件では極長鎖脂肪酸の含量に有意の差は認められなかった。なお漢方方剤エキスに関しては、紫胡桂枝湯、小紫胡湯エキスに極長鎖脂肪酸 β 酸化活性を回復させる効果が認められた。

変異型 ALDP の細胞内挙動に関しては、野生型ならびに変異型 ALDP-GFP を ALD 患者線維芽細胞に導入し、その細胞内局在性を解析した。その結果、GFP の蛍光がペルオキシソームに局在する変異 (R104C, S342P, S606L) と細胞質に拡散する変異 (G116R, Y174C, S606P,

H667D) に分類された。後者の場合、Y174C と H667D では ALDP-GFP のバンドが全く検出されず、生合成後、急速に分解されている可能性が示唆された。

さらに変異 ALDP-GFP の細胞内動態を詳細に解析するため、変異 ALDP-GFP を安定発現する CHO 細胞株を取得し、ALDP-GFP の発現量とその局在性を細胞分画法で解析した。その結果、Y174C ならびに H667D においては患者線維芽細胞同様 ALDP-GFP のバンドが検出されなかった。一方、R104C においては、110 kDa の ALDP-GDP とともに約 45-80 kDa にわたって ALDP-GFP の分解産物がペルオキシソーム分画に検出された。プロテアソーム阻害剤 lactacystin 処理により、H667D では ALDP-GFP のバンドが検出され、R104C では増加した。

D. 考察

フラボノイド誘導体 baicalein-tri-Me が ALD 線維芽細胞において、極長鎖脂肪酸代謝を改善し、細胞内極長鎖脂肪酸量を低下させることを発見した。その作用機構の詳細は今後の課題であるが、長鎖脂肪酸の β 酸化を活性化することから、ミトコンドリアにおける脂肪酸 β 酸化の活性化により、脂肪酸の細胞質プールを減少させるなどして、ペルオキシソームの β 酸化活性を促進している可能性が考えられる。また副腎において、極長鎖脂肪酸コレステロールエステルの増加がステロイドホルモン産生を抑制しているとの報告がある。従って baicalein-tri-Me 処理によるコレステロールへの極長鎖脂肪酸の取り込みの減少は、ステロイドホルモン産生の正常化にも有効かもしれない。

フラボノイドの中には、血液脳関門を通過してその作用を示すものが報告されている。脳における極長鎖脂肪酸の蓄積が中枢神経系障害の直接の原因であるという証拠はないが、脳における極長鎖脂肪酸代謝の異常を改善する薬物は、ALD 治療薬としての可能性が期待される。今回 ALD ノックアウトマウスでの実験では、脳における極長鎖脂肪酸含量の低下

は認められなかったが、今後、baicalein-tri-Me をリード化合物としてさらに効果のある誘導体の探索をすることが必要である。

一方、ALDP は遊離型ポリソームで翻訳され、直接ペルオキシソームに輸送される。本研究では任意に7種のミスセンス変異を選び、変異ALDPの細胞内動態を解析した。一部の変異ALDP-GFPは線維芽細胞とCHO細胞で異なる挙動を示したが、ペルオキシソームに局在化するもの、細胞質に拡散するものに分類された。H667Dの場合、生合成後細胞質においてプロテアソームで急速に分解されている可能性が示唆された。R104Cはペルオキシソーム膜上で分解されたが、細胞質側からのプロテアソームの関与が推定された。現在、変異ALDPの選択的分解機構の詳細について解析しているが、機能ドメインを保持した変異ALDPをもつALD患者細胞では、ALDPの分解を抑制することにより、ALDPの機能を保持させることが可能かもしれない。

E. 結論

ALD患者繊維芽細胞において極長鎖脂肪酸 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baicalein-tri-Me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、紫胡桂枝湯、小紫胡湯エキスにも有効性が認められた。Baicalein-tri-Meの分子メカニズムを解明すること、これをリード化合物として様々な誘導体を合成し、その効果を検討することは治療薬開発の観点から重要である。ミスセンス変異をもつALDPは、生合成後、多様な運命をたどることが明らかになった。またそのパターンは、ペルオキシソームへ局在化する変異、分解される変異に分類された。ALDPは遊離型ポリソームで生合成されることより、分解される部位は細胞質とペルオキシソーム膜上である可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanaka, A. R., Tanabe, K., Morita, M., Kurisu, M., Kashiwayama, Y., Matsuo, M., Kikuka, 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., Kanijjo, 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 β -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 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.
- 6) Une, M., Iguchi, Y., Sakamoto, T., Tomita, T., Suzuki, Y., Morita, M., and Imanaka, T.: ATP-dependent transport of bile acid intermediates across rat liver peroxisomal membranes. *J. Biochem. (Tokyo)* (2003) 134, 225-230.
- 7) Kurisu, M., Morita, M., Kashiwayama, Y., Yokota, S., Hayashi, H., Sakai, Y., Ohkuma, S., Nishimura M., and Imanaka, T.: Existence of catalase-less peroxisomes in Sf21 insect cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (2003) 306, 169-176.
- 8) 柏山恭範, 今中常雄: ペルオキシソーム ABC タンパク質と脂肪酸代謝. *膜* (2002) 28, 263-

- 270.
- 9) Kikuchi, M., Hatan,o N., Yokota, S., Shimozawa, N., Imanaka, T., and Taniguchi, H.: Proteomic analysis of rat liver peroxisome. Presence of peroxisome-specific isozyme of lon protease. *J. Biol. Chem.* (2004) 279: 421-428.
 - 10) Fujino, T., Une, M., Imanaka, T., Inoue, K., and Nishimaki-Mogami, T.: Structure-activity relationship of bile acids and bile acid analogs in regard to FXR activation. *J. Lipid Res.* (2004) 45, 132-138.
 - 11) Shibata, H., Kashiwayama, Y., Imanaka, T., and Kato, H.: Domain architecture and activity of human Pex19p, a chaperone-like protein for intracellular trafficking of peroxisomal membrane proteins. *J. Biol. Chem.* 279, (2004) 38486-38494.
 - 12) Morita, M., Takahashi, I., Kanai, M., Okafuji, F., Iwashima, M., Hayashi, T., Watanabe, S., Hamazaki, T., Shimozawa, N., Suzuki, Y., Furuya, H., Yamada, T., Imanaka, T.:Baicalein 5,6,7-trimethyl ether, a flavonoid derivative, stimulates fatty acid beta-oxidation in skin fibroblasts of X-linked adrenoleukodystrophy. *FEBS Lett.* (2005) 579:409-414.
 - 13) 守田雅志, 今中常雄: 脂質代謝異常と神経変性疾患. *実験医学* (2005) 印刷中.
2. 学会発表 (主たるもの)
- 1) Imanaka, T., Kashiwayama, Y., and Morita, M.: Peroxisomal ABC proteins and adrenoleukodystrophy. 1st JBS Symposium, 2002, 6, Yufuin.
 - 2) 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.
 - 3) Imanaka, T.: Targeting of PMP70 to peroxisomes and its molecular properties on the membranes. 2002 Symposium on Peroxisome Biogenesis, 2002, 12, San Francisco.
 - 4) Imanaka, T.: Targeting, assembly and function of peroxisomal ABC proteins. Symposium on ABC proteins and The 5th conference on ABC proteins and ion channels -from gene to disease-, 2003, 1. Kyoto.
 - 5) 今中常雄: ベルオキシソーム ABC タンパク質と脂肪酸代謝. (ミニシンポジウム) 日本膜学会第 25 年会, 2003, 5, 東京.
 - 6) Imanaka, T.: Functional expression of PMP70, a peroxisomal ABC protein on peroxisomal membrane. (シンポジウム) 第 76 回日本生化学会大会, 2003, 10, 横浜.
 - 7) Maiguel, D., Morita, M., Jia, Z., and Watkins, P. A.: Cloning and initial characterization of a new medium-chain acyl-CoA synthetase. American Society for Biochemistry & Molecular Biology (ASBMB) meeting. 2004, 6, Boston, USA.
 - 8) 柏山恭範, 朝比奈幸太, 柴田洋之, 加藤博章, 守田雅志, 今中常雄: ベルオキシソーム ABC タンパク質 PMP70 の局在化機構 - シャペロン様タンパク質 Pex19p の役割-. 第 26 回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 2004, 11, 東京.
- G. 知的所有権の取得状況
1. 特許出願
 - 特願 2003-72125
 - 「ベルオキシソーム脂肪酸 β 酸化系活性化剤及びベルオキシソーム脂肪酸 β 酸化系活性物質のスクリーニング方法」

運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究

分担研究者 吉良潤一 九州大学大学院医学研究院附属脳神経病研究施設神経内科学教室

研究要旨：副腎白質ジストロフィー(ALD)の鑑別診断上問題となった症例についての報告を行うとともに、ALDモデルマウス線維芽細胞を用いて、bioflavonoid(BF)の有効性について検討した。その結果、ALDの鑑別疾患として、成人発症の vanishing white matter disease(VWM)や、赤血球膜のみで極長鎖脂肪酸(VLCFA)高値を呈する進行性痙性対麻痺症例がある事が判明した。BFの有効性に関しては、ALD患者線維芽細胞の極長鎖脂肪酸(VLCFA)値とβ酸化活性を正常化すると報告されているBFが、ABCD-1ノックアウトマウス線維芽細胞においても効果を発揮するかどうかを *in vitro* で解析した。その結果、ALD患者培養線維芽細胞と同じ条件では ABCD-1 ノックアウトマウス培養線維芽細胞で効果は認められなかった。この原因として、種による代謝の差などが考えられ、今後培養条件、薬剤濃度などを変えてさらに検討する必要があると考えられた。

副腎白質ジストロフィーの診断、治療に関する研究

分担研究者：吉良潤一

協力研究者：古谷博和¹⁾、新納信江、山田猛²⁾、
今中恒雄³⁾、林利光⁴⁾

所属：九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科
独立行政法人国立病院機構 大牟田病院 神経内科¹⁾
麻生飯塚病院 神経内科²⁾
富山大学 薬学部分子細胞機能学研究室³⁾、薬用資源学講座⁴⁾

A. 研究目的

副腎白質ジストロフィー(ALD)は、ABCD1の欠損で起こる伴性劣性の白質脳症で、有効な治療方法はまだ見いだされていない。その中で、近年症例によっては骨髄移植(BMT)が行われるようになってきているが、その作用機序に関して詳細不明であり、効果も不十分な例が多い。一方、ある種の bioflavonoid(BF)が患者線維芽細胞の VLCFA の改善に有効であるとの報告もある。そこで、ALDモデルマウスである ABCD1 ノックアウトマウスの線維芽細胞に同様の実験を行い、その有効性に関して検討を行った。また、これと同時に、ALDとの鑑別診断上問題となった症例についての報告を行った。

B. 対象・研究方法

(1) ALD 症例との鑑別が問題となった症例に関する検討

(a) 思春期以降に小脳症状で発症し、MRI 上後頭葉と小脳の白質の脱落を伴った vanishing white matter 病(VWM)の1例に関して、剖検臓器を病的に解析するとともに、この臓器からゲノム DNA を抽出し、ダイレクトシーケンス法で eukaryotic initiation factor 2B サブユニット 1, 2, 3, 4, 5 遺伝子(eIF2B1-5)の変異の有無を調べた。

(b) 血清極長鎖脂肪酸値(pVLCFA)正常で、赤血球膜極長鎖脂肪酸(rVLCFA)のみ高値を呈した白質脳症の2例に関して、症例の末梢血白血球から抽出したゲノム DNA より、ABCD1 遺伝子のエクソン・イントロンジャンクションを含むエクソン領域を PCR 後、ダイレクトシーケンスにて ABCD1 遺伝子を解析した。

(2) Bioflavonoid(BF)による ABCD1 ノックアウトマウス

線維芽細胞の治療効果の検討

ABCD1 ノックアウトマウスの線維芽細胞を 24 ウェルプレートで培養後、ALD 患者培養細胞で極長鎖脂肪酸のβ酸化活性を改善することが報告されている bioflavonoid 3 種類 (baicalein, isorhamnetin, baicalein tri-O-methylate それぞれ 20μM) と、その構造類似化合物 (DHEA-S(27.2μM), 4-phenylbutyric acid (PBA) (5mM), lovastatin(5μM) を培地に加えて 3 日間培養した。コントロールとしては、ノックアウトマウスの線維芽細胞に薬剤を溶解する DMSO のみを加えたものを用い、3 日間培養後、培養細胞の VLCFA を測定しコントロールと比較した。

(倫理面への配慮)

ABCD1 遺伝子解析、VLCFA の測定に関しては、事前に被験者に検査内容に関して説明を行い、文書で承諾を得た。また GFAP, eIF2B1-5 遺伝子の解析に関しては、剖検検体を用いたが、剖検およびその後の研究解析に関して御家族から承諾を文書で得ており、倫理面で問題は無いと考えられる。

C. 研究結果

(1) ALD 症例との鑑別が問題となった症例に関する検討

(a) vanishing white matter 病(VWM)の1例

37 歳男性。主訴は歩行時のふらつきと、構音障害。家族歴に異常無し。16 歳頃より歩行時のふらつき、ろれつが回らないなどの症状で発症。徐々に症状は進行し、24 歳で歩行困難、尿失禁が出現。この時、神経学的には視力低下、失調性構音障害と嚥下障害、両側錐体路徴候、両側体幹失調、四肢失調を認めた。頭部 MRI 検査で、大脳、小脳、脳幹のほぼ全ての白質にびまん性に T1W1 で低信号、T2W1 で高信号の高度の白質脳症を認めた。その後、痙性が進行し、除皮質硬直状態となり 37 歳で死亡。

病理所見では脳幹と小脳の萎縮が著明で、皮質はほぼ正常であるものの、大脳白質、小脳白質、脳幹はびまん性に軟化し、空洞を形成していた。副腎に異常は認められなかった。組織学的には、萎縮した白質には著明な囊胞性変性が認められ、逆に oligodendrocyte が異常に増殖していた。これに対して、U-fiber でのミエリンは比較的保たれており、明らかに ALD とは異なる所見で、VWM に典型的な所見であった。

ダイレクトシーケンスによる GFAP 遺伝子と eIF2B1-5 遺伝子の解析では、GFAP 遺伝子に異常は認められなかった。また、VWM で異常が報告されてい

る eIF2B の 5 つのサブユニット (eIF2B1, B2, B3, B4, B5) の解析では、eIF2B5 で既知のポリモルフィズム (A587V) が認められた以外に変異は認められなかった。

(b) 血清極長鎖脂肪酸値 (pVLCFA) 正常で、赤血球膜極長鎖脂肪酸 (rVLCFA) のみ高値を呈した白質脳症の 2 例

症例 1. 42 歳男性。偶然撮影された頭部 MRI で、白質ジストロフィーを発見され、精査のために来院。知能低下、性格変化、痙性対麻痺などの神経学的異常なし。家族歴なし。頭部 MRI 検査で両側後頭葉から頭頂部の白質に、T2 強調画像および FLAIR 画像で高吸収域、T1 強調画像で低吸収域、ガドリニウム造影法で病変周辺が淡く造影される領域を認めた。血算、血液生化学検査で異常なし。髄液検査正常。特殊生化学検査で、ライソゾーム酵素など全てに異常を認めなかった。下肢記録の MEP 検査で下肢 scalp 刺激の amplitude に左右差を認めた。

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。兄に同様の症状あり。神経学的に性格変化、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-R IQ 65 (VIQ 67, PIQ 63)。血算、血液生化学検査で異常なしライソゾーム酵素など全てに異常を認めなかった。VEP 検査で両側潜時の延長、ABR で両側潜時の延長を認め、軽度の白質と脳幹機能障害の所見であった。

pVLCFA は両症例とも正常範囲内であったが、rVLCFA で両症例とも高値を呈した。一方、ABCD1 遺伝子の解析では、症例 1 では D685G、R712H 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 ABCD1 遺伝子以外にも数カ所存在しており、今後これが ABCD1 遺伝子に特異的な変異かどうかの検討が必要であると考えられた。

(2) BF による ABCD1 ノックアウトマウス線維芽細胞の治療効果の検討

VLCFA 値は C24/22, C25/22, C26/22 の比と、C26 $\mu\text{g}/\text{mg}$ protein 絶対値を測定した。しかし、DHEA-S を除いて、bioflavonoid のいずれにおいても、コントロールとの間に明らかな統計学的有意差は認められなかった。

D. 考察

ALD と鑑別を要する疾患として、1. 思春期以降に発症した VWM と考えられる症例、2. 精神症状と痙性対麻痺もしくは白質脳症のみを呈し、pVLCFA は正常で、rVLCFA のみ高値を呈した症例を報告した。

これまで VWM と診断された症例では eIF2B 遺伝子 5 つのサブユニットのうちのいずれかに遺伝子変異が報告されているが、本症例では eIF2B1-5 遺伝子に変異を認めず、既知の症例と異なる機序で VWM が発症している可能性が考えられた。

また、一般的に 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。ここで報告した pVLCFA は正常で、rVLCFA のみ高値を呈した 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、ABCD1 遺伝子に明らかな変異を認めなかった事より、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、ABCD1 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。

ALD 患者培養線維芽細胞で認められた bioflavonoid の効果が、ABCD1 ノックアウトマウス線維芽細胞で認められなかった理由として、(1) 培養条件のわずかな違いによって細胞の状態が大きく変化するために、効果のある至適薬剤濃度に変化が出たこと、(2) ABCD1 ノックアウトマウスでは、VLCFA の高値が認められるものの臨床症状が認められないなど、ABCD1 と VLCFA 値、VLCFA の β 酸化活性などの代謝系には、種による違いが存在することなどが考えられた。また、一般的には VLCFA 値と VLCFA の β 酸化活性は相関すると考えられているが、最近それを否定する説もあり、今後は VLCFA の β 酸化活性も併せて検討する必要があると考えられた。

E. 結論

ALD など、成人発症の白質ジストロフィーや脊髄小脳変性症の原因として鑑別を要する疾患として、思春期以降に発症した VWM 症例 1 例と、pVLCFA 正常で、rVLCFA のみ高値を呈する症例 2 例を経験し、その臨床症状、病理所見、遺伝子解析について報告した。VWM では、通常認められる eIF2B 遺伝子の変異は認めなかった。また、pVLCFA 正常で、rVLCFA のみ高値を呈し、ALD 類似の臨床所見を呈する症例の存在する可能性が考えられた。

ALD 患者培養線維芽細胞で認められた BF の効果は、全く同じ条件では ABCD1 ノックアウトマウス培養線維芽細胞では認められなかった。今後、培養条件、薬剤濃度を変えて、さらに効果を検討してゆく必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yamada T *et al.* Therapeutic effects of normal cells on ABCD1 deficient cells in vitro and hematopoietic cell transplantation in the X-ALD mouse model. *J Neurol Sci.* 2004 ; 218 : 91-97.
2. Morita M *et al.* Baicalein 5,6,7-trimethyl ether, a flavonoid derivative, stimulates fatty acid β -oxidation in skin fibroblasts of X-linked adrenoleukodystrophy. *FEBS Letters.* 2005 ; 579 : 409-414.

2. 学会発表

1. Furuya H, *et al.* Effects of normal cells on ABCD1 deficient cells *in vitro* and hematopoietic cell transplantation on the X-ALD mouse model. 128th Annual Meeting of the American Neurological Association, Tronto Sheraton Hotel, Tronto, Ontario, Canada, Oct. 5, 2004.
2. 古谷博和 他. X-ALD モデルマウスの骨髄移植による治療効果と ABCD1 欠損細胞に対する正常細胞による治療効果の解析. 第 27 回日本分子生物学学会総会. 神戸 2004 年 12 月 10 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

ALDにおける造血幹細胞移植ガイドライン

副腎白質ジストロフィー（ALD）における造血幹細胞移植ガイドライン

厚生科学研究補助金難治性疾患克服研究事業

「運動失調に関する調査及び病態機序に関する研究」

主任研究者 辻 省次

分担研究者 加藤俊一、加藤剛二、鈴木康之、加我牧子、小野寺理

I. 適応

1. 発症後のALD

幼児期から学童期に発症した大脳型ALDではできるだけ早い移植が必要となる。MRIにて側頭後頭葉主体の白質病変の症例ではとくに進行が早いので、診断後速やかに造血幹細胞移植のための準備を開始することが望まれる。

2. 発症前のALD

同胞発症例などで診断された「ALD発症の可能性のある症例」では、定期的な診察と検査（MRI、視力・視野、IQなど）により、①MRIで脱髄所見を認め、②IQ低下、視覚障害、聴覚障害、精神・行動異常などのいずれか、を認めれば移植の適応がある。IQは80以上あることが望ましい。

II. ドナーならびに移植細胞源の選択

同種造血幹細胞移植におけるドナーは患者とのHLA適合性（DNAレベル）と保因者であるかどうか、移植までの時間的余裕があるかどうかなどを考慮して選択される。

家族（両親と同胞）のHLAタイピングと保因者診断を行いながら、まず家族内にドナー候補者が存在するかどうかを検索する。家族内に適切なドナー候補者が存在せず、移植までに時間的余裕がある場合には骨髄バンクからHLA遺伝子型一致非血縁者を、時間的余裕がない場合には臍帯血バンクからHLA遺伝子型一致または部分一致非血縁者をドナーとして選択する。

時間的余裕を考慮しない場合のドナーとしての概ねの優先順位は、①>②≒③≥④>⑤とすることができる。

なお、移植細胞源として骨髄の代わりに末梢血幹細胞を選択することは可能であるが、10歳未満の小児ドナーへのG-CSF投与の安全性が確立していないことから、現時点では骨髄を移植することが一般的である。

また、特殊な事例として同胞からの臍帯血移植を考慮する場合には、その同胞が遺伝子解析等で変異がないことを確認しておく必要がある。

- ① HLA遺伝子型一致同胞（非保因者）骨髄ドナー
- ② HLA遺伝子型一致同胞（保因者）骨髄ドナー
- ③ HLA遺伝子型一致非血縁者骨髄ドナー

V. 治療効果の評価方法

1. 生着の評価

移植された骨髄や臍帯血の生着の判定は好中球（500/ μ l以上）や血小板（2万/ μ lあるいは5万/ μ l以上）の数が安定的に維持される状態をもって判定する。また、永続的な造血が維持されているかどうかを評価するためには、血液細胞の定量的な評価とともに造血細胞の起源についての評価（キメリズム解析）が必要となる。

キメリズム解析はドナーとレシピエントを識別できるマーカーによって行われるが、従来用いられていた性別や血液型では識別できない組合せも多いことから、最近ではVNT R（variable number of tandem repeat）による個人識別が頻用されるようになっている。

以下に述べる移植による治療効果はドナー由来の造血細胞が安定的に維持されていることに依存するものである。

2. MRIによる評価

移植前、移植後3カ月、6カ月、1年、以後1年毎にMRI検査を行う。

FLAIR、Gd-enhanceによる評価が推奨され、Loes score¹⁾により定量化して経時的に評価を行うことが望ましい。

これまでの研究において以下のような知見がえられている。

- ・ 前頭葉型では知能低下が主症状であり、比較的緩徐に進行する傾向がある。
- ・ 頭頂後頭葉型では視力障害が主症状であり、急速に進行する傾向がある。
- ・ Enhance効果のある変化は急速に進行する傾向がある。
- ・ 移植後1～2年までは白質病変の進行が認められることがあるが、それ以降では進行が停止あるいは緩徐になることが多い。

3. 知能の評価

小児神経専門医がいる施設ではWISC-IIIによる評価をMRI検査と同時期に行うことが望ましい²⁾。

より詳細な神経心理・生理学的検査については、厚生労働省研究班事業の一環として国立精神神経センター*において実施しているので、紹介することが可能である。移植前、移植後6カ月、1年後、以後1年毎の検査が推奨される。

* 国立精神神経センター武蔵病院小児科 加我牧子部長

〒187-8551 小平市小川東町4-1-1

電話 042-341-2711 FAX 042-344-6745

** 以下のような検査が実施されている。

- | | |
|--------------------------------------|---------------|
| 1. WISC-III 知能検査 | 11. WAB 失語症検査 |
| 2. Raven 色彩マトリクス | 12. 純音・語音聴力検査 |
| 3. Rey Auditory Verbal Learning Test | 13. トークンテスト |
| 4. Rey-Osterrieth 複雑図形 | 14. 環境音認知検査 |

- | | |
|---------------------|-----------------------------|
| 5. Frostig 視覚認知発達検査 | 15. Dichotic Listening Test |
| 6. Benton 視覚記銘力検査 | 16. 音像定位検査 |
| 7. 線分2等分検査 | 17. 耳音響放射 |
| 8. Albert の線分抹消検査 | 18. 視聴覚知覚誘発電位 |
| 9. 立方体透視図の模写 | 19. 視聴覚事象関連電位 |
| 10. 語の列挙 | 20. ストループテストなど |

VI. その他

1. 副腎機能の評価

A L D 患児においては副腎機能不全を合併することがあるので、移植前から移植後の期間定期的に副腎機能の検査を行う必要がある。以下に検査項目と検査時期（◎は必須、○は必要に応じて）を示す。

- ・ 血中ホルモン：ACTH、コルチゾール、血漿レニン 活性、アルドステロン、DHEA/S
移植前◎、移植後3～6カ月毎◎
- ・ 尿中（24時間蓄尿）：遊離コルチゾール、17-OHCS,17KS
移植前◎
- ・ 迅速ACTH試験
移植前◎、副腎機能異常時あるいは1年毎○
- ・ コルチゾール日内変動 am8時、pm8時（or pm4～pm6時）
移植前◎
- ・ 画像検査（副腎CTまたはMRI）
移植前○、移植後2年毎○

[副腎機能不全の治療]

- ・ 診断基準
コルチゾール低値；午前採血で $<5\mu\text{g/dL}$
ACTH 高値； $\geq 200\text{pg/mL}$ （持続性なら 100pg/mL ）
尿中遊離コルチゾール,17-OHCS,17-KS 低下
- ・ 治療
初期投与量；コトリル $12\text{-}15\text{mg/m}^2/\text{day}$ （分2）
ストレス時；コトリルを増量
元気がない、発熱 38 度以下；維持量の2倍
 38 度以上、縫合を要する外傷；維持量の3倍

4. 甲状腺機能

A L D の移植症例では甲状腺機能の異常（機能亢進、機能低下）を認めることがあるので、移植前から定期的に甲状腺機能の評価を行う必要がある。

- ・ TSH、Free T3、Free T4 の測定；年1～2回

- ・ TRH 負荷試験；上記異常がある場合か、1～2年に1回
- ・ 甲状腺腫の合併も多い；超音波検査を1～2年に1回

参考文献

1. Loes DJ, Stillman AE, Hite S, Shapiro E, Lockman L, Latchaw RE, Moser H, Krivit W.: Childhood cerebral form of adrenoleukodystrophy: short-term effect of bone marrow transplantation on brain MR observations. *AJNR Am J Neuroradiol.* 1994;9:1767-71.
2. Shapiro E, Krivit W, Lockman L, Jambaque I, Peters C, Cowan M, Harris R, Blanche S, Bordigoni P, Loes D, Ziegler R, Crittenden M, Ris D, Berg B, Cox C, Moser H, Fischer A, Aubourg P.: Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet.* 2000;356:713-8.
3. Suzuki Y, Isogai K, Teramoto T, Tashita H, Shimosawa N, Nishimura M, Asano T, Oda M, Kamei A, Ishiguro H, Kato S, Ohashi T, Kobayashi H, Eto Y, Kondo N.: Bone marrow transplantation for the treatment of X-linked adrenoleukodystrophy. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23:453-8.
4. Peters C, Charnas LR, Tan Y, Ziegler RS, Shapiro EG, DeFor T, Grewal SS, Orchard PJ, Abel SL, Goldman AI, Ramsay NK, Dusenbery KE, Loes DJ, Lockman LA, Kato S, Aubourg PR, Moser HW, Krivit W.: Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood.* 2004;104:881-8.

研究成果の刊行に関する一覧表

辻省次
論文発表

1. 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
2. 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
3. Silveria, I., Miranda, C., Guimarães, L., Moreira, M.-C., Alonso, I., Mendonça, P., Ferro, A., Pinto-Basto, J., Coelho, J., Ferreirinha, 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
4. Ishikawa A, Yamada M, Makino K, Aida I, Idezuka J, Ikeuchi T et al. Dementia and delirium in 4 patients with Machado-Joseph disease. *Arch Neurol* **59**:1804-1808, 2002.
5. Tsuji S. Dentatorubral-pallidoluysian atrophy: clinical aspects and molecular genetics. *Adv Neurol*. **89**:231-239, 2002.
6. Yamada M, Sato T, Tsuji S, Takahashi H. Oligodendrocytic polyglutamine pathology in dentatorubral-pallidoluysian atrophy. *Ann Neurol*. **52**:670-674, 2002.
7. Yamada M, Tsuji S, Takahashi H. Involvement of lysosomes in the pathogenesis of CAG repeat diseases. *Ann Neurol* **52**:498-503, 2002.
8. Yamada M, Tsuji S, Takahashi H. Genotype-phenotype correlation in CAG-repeat diseases. *Neuropathology* **22**:317-322, 2002.
9. Sanpei K, Ikeuchi T, Tsuji S. DIRECT technologies for molecular cloning of genes containing expanded CAG repeats. *Methods in Molecular Biology* **217**:73-81, 2003.
10. Sekijima, Y., Hashimoto, T., Onodera, O., Date, H., Okano, T., Naito, K., Tsuji, S. & Ikeda, S. Severe generalized dystonia as a presentation of a patient with aprataxin gene mutation. *Mov Disord* **18**, 1198-1200, 2003
11. Yabe, I., Sasaki, H., Chen, D.H., Raskind, W.H., Bird, T.D., Yamashita, I., Tsuji, S., Kikuchi, S. & Tashiro, K. Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a mutation in protein kinase C gamma. *Arch Neurol* **60**, 1749-1751, 2003
12. Shimohata T, Kimura T, Nishizawa M, Onodera O, Tsuji S. Five year follow up of a patient with spinal and bulbar muscular atrophy treated with leuprorelin. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **75**:1206-7, 2004.
13. Toyoshima Y, Yamada M, Onodera O, Shimohata M, Inenaga C, Fujita N, Morita M, Tsuji S, Takahashi H. SCA17 homozygote showing Huntington's disease-like phenotype. *Ann Neurol*. 2004 **55**:281-6, 2004.
14. Sano, Y., Date, H., Igarashi, S., Onodera, O., Oyake, M., Takahashi, T., Hayashi, S., Morimatsu, M., Takahashi, H., Makifuchi, T., Fukuhara, N and Tsuji, S. Aprataxin, the causative protein for early-onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminemia, is a nuclear protein with a potential role as a nucleotide repair protein. *Ann. Neurol.* **55**:241-249. 2004
15. Hara, K, Fukushima, T, Suzuki, T, Shimohata, T, Oyake, M, Ishiguro, H, Hirota, K, Miyashita, A, Kuwano, R, Kurisaki, H, Yomono, H, Goto, J, Kanazawa, I and Tsuji, S. Japanese SCA families with a distinct phenotype linked to a locus overlapping with SCA15 locus *Neurol.* **62**:648-651, 2004
16. Tsuji, S. Spinocerebellar ataxia type 17 (SCA17) –latest member of polyglutamine diseases highlights unanswered questions- *Arch. Neurol.* **61**: 183-184, 2004
17. Toyoshima Y, Yamada M, Onodera O, Shimohata M, Inenaga C, Fujita N, Morita, M, Tsuji S, Takahashi H. Reply. *Ann Neurol.* **56**:163-164, 2004.
18. Toyoshima Y, Yamada M, Onodera O, Shimohata M, Inenaga C, Fujita N, Morita, M, Tsuji S, Takahashi H. SCA17 homozygote showing Huntington's disease-like phenotype. *Ann Neurol*.

- 55:281-6, 2004.
19. Margolis RL, Holmes, S E. Rosenblatt, A. Gourley, L. O'Hearn, E. Ross, C A. Seltzer, W K. Walker, R H. Ashizawa, T. Rasmussen, A. Hayden, M. Almqvist, E W. Harris, J. Fahn, S. MacDonald, M E. Mysore, J. Shimohata, T. Tsuji, S. Potter, N. Nakaso, K. Adachi, Y. Nakashima, K. Bird, T. Krause, A. Greenstein, P. Huntington's Disease-like 2 (HDL2) in North America and Japan. *Ann Neurol* 56:670-4, 2004.
 20. Yamada, M, Tan, S-H, Inenaga, C, Tsuji, S, Takahashi, H. Sharing of polyglutamine transport by the neuronal nucleus and cytoplasm in CAG-repeat diseases. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* 30:665-75, 2004
 21. Shimohata, M, Shimohata, T, Igarashi, S, Naruse, S, and Tsuji, S. Interference of CREB-dependent transcriptional activation by expanded polyglutamine stretches - Augmentation of transcriptional activation as a potential therapeutic strategy for polyglutamine diseases/ *J. Neurochem* 93: 654-663, 2005
 22. Date, H, Igarashi, S, Sano, Y, Takahashi, T, Takahashi, T, Takano, H, Tsuji, S, Nishizawa, S, Onodera, O. The FHA domain of aprataxin (APT-X) interacts with the C terminal region of XRCC1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 325:1279-1285, 2004
 23. Gardner RJ, Knight MA, Hara K, Tsuji S, Forrest SM, Storey E. Spinocerebellar ataxia type 15. *Cerebellum* 2005;4(1):47-50.
 24. Miyashita T, Tabuchi A, Fukuchi M, Hara D, Kisukeda T, Shimohata T, Tsuji S, Tsuda M. Interference with activity-dependent transcriptional activation of BDNF gene depending upon the expanded polyglutamines in neurons. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;333(4):1241-8.
 25. Suzuki Y, Takemoto Y, Shimozawa N, Imanaka T, Kato S, Furuya H, Kaga M, Kato K, Hashimoto N, Onodera O, Tsuji S. Natural history of X-linked adrenoleukodystrophy in Japan. *Brain and Development* 2005;27(5):353-7.
 26. Takahashi T, Nozaki K, Tsuji S, Nishizawa M, Onodera O. Polyglutamine represses cAMP-responsive-element-mediated transcription without aggregate formation. *Neuroreport* 2005;16(3):295-9.

佐々木秀直

論文発表

1. 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.
2. 佐々木秀直、田代邦雄: ミトコンドリア病(狭義)における症候論的考察? 1) 神経・筋関係 a. 運動失調. 「ミトコンドリアとミトコンドリア病」 *日本臨床* 2002 年増刊号, p511-514
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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, 1374-1375, 2002.
7. 佐々木秀直、田代邦雄: 協調運動の診かた. *Clinical Neuroscience* 21, 288-289, 2003.
8. 佐々木秀直、矢部一郎、田代邦雄: 脊髄小脳変性症の臨書像と鑑別診断. *日本医事新報* 4119, 16-24, 2003.
9. 矢部一郎、佐々木秀直、田代邦雄: Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) の臨床像についての再考. *脳神経* 55, 299-306, 2003.
10. 矢部一郎、佐々木秀直: フリードライヒ病. *総合リハビリテーション* 31, 445-450, 2003.
11. 佐々木秀直: 運動失調の診察—鑑別診断は問診から. *Modern Physician* 23, 1534, 2003.
12. 佐々木秀直、田代邦雄: ベッドサイドにおける情報収集法-協調運動の診かた. *Clinical Neuroscience 別冊 Vol 21*, 288-289, 2003.

13. 相馬広幸, 矢部一郎, 武井麻子, 佐々木秀直: 片頭痛発作を伴う常染色体優性遺伝性小脳皮質萎縮症. 神経内科 60, 483-486, 2004.
14. 矢部一郎, 佐々木秀直: Spinocerebellar ataxia type 14. 神経内科 60, 483-486, 2004
15. Yabe I, Sasaki H, Kikuchi S, Nonaka M, Moriwaka F, Tashiro K: Late onset ataxia phenotype in dentatorubro-pallidoluyian atrophy (DRPLA). J Neurol 249, 432-6, 2002.
16. Yabe I, Sasaki H, Tashiro K, Matsuura T, Takegami T, Satoh T: Spastin gene mutation in Japanese with hereditary spastic paraplegia. J Med Genet 39(8):E46, 2002.
17. Sasaki H, Yabe I, Tashiro K: The hereditary spinocerebellar ataxias in Japan. Cytogenetic and Genome Research 100, 198-205, 2003.
18. 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 250, 440-443, 2003.
19. Li M, Ishikawa K, Toru S, Tomimitsu H, Takashima M, Goto J, Takiyama Y, Sasaki H, Imoto I, Inazawa J, Toda T, Kanazawa I, Mizusawa H: Physical map and haplotype analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) type □ in Japan. J Hum Genet 48, 111-118, 2003.
20. Yabe I, Sasaki H, Chen D, Wendy H. Raskind, Thomas D. Bird, Yamashita I, Tsuji S, Kikuchi S, Tashiro K: Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a mutation in protein kinase C γ . Arch Neurol 60, 1749-1751, 2003.
21. Yabe I, Soma H, Takei A, Fujiki N, Sasaki H: No association between FMR1 premutations and multiple system atrophy. J Neurol 251, 1411-1412, 2004.
22. Takei A, Fukazawa T, Hamada T, Sohma H, Yabe I, Sasaki H, Tashiro K: Effects of Tando spirone on "5-HT1A Receptor-Associated Symptoms" in Patients with Machado-Joseph Disease. Clin Neuropharmacol 27, 9-13, 2004.

研究発表

1. 佐々木秀直: <教育講演 2> 脊髄小脳変性症の鑑別診断. 第 43 回日本神経学会総会. 平成 14 年 5 月 29-31 日、ロイトン札幌、札幌.
2. 佐々木秀直、矢部一郎: 脊髄小脳失調症 14 (SCA14) における protein kinase C 異常. 第 18 回日本大脳基底核研究会 平成 15 年 6 月 28 日? 29 日、富士教育研究所、静岡県裾野市.
3. 矢部一郎, 佐々木秀直, 武市紀人, 武井麻子, 濱田毅, 福島菊郎, 田代邦雄: SCA6 における頭位変換眼振. 第 44 回日本神経学会 (2003 年 5 月 15 日~17 日, パシフィコ横浜)
4. 矢部一郎, 山下功, 辻省次, 田代邦雄, 佐々木秀直: 脊髄小脳変性症 14 型(SCA14) における原因遺伝子の同定. 第 45 回日本神経学会総会 (2004 年 5 月 11 日~14 日, 新高輪プリンスホテル 国際館パミール)
5. 相馬広幸, 矢部一郎, 佐々木秀直, 武井麻子, 藤木直人: 北海道における多系統萎縮症家族歴の調査. 第 45 回日本神経学会総会 (2004 年 5 月 11 日~14 日, 新高輪プリンスホテル 国際館パミール)
6. 佐々木秀直: <モーニングレクチャー> 脊髄小脳変性症の薬物治療の試み. 第 22 回日本神経治療学会(2004 年 6 月 24 日~25 日, 北海道大学学術交流会館 百年記念会館, 札幌)
7. Yabe I, Sasaki H, Takeichi N, Takei A, Hamada T, Fukushima K, Tashiro K: Positional Vertigo and Macroscopic Down-beating Positioning Nystagmus in Spinocerebellar Ataxia Type 6 (SCA6). 127th Annual Meeting of the American Neurological Association. New York Marriott Marquis Hotel, Oct 13-16, 2002.
8. Takeichi N, Peterson BW, Sasaki H, Yabe I, Tashiro K, Fukuda S, Fukuchima J, Fukushima K: Eye-head- and gaze-movement during horizontal and vertical gaze pursuit in SCA6. Barany Society Meeting, Seattle, USA, 2002.
9. Yabe I, Sasaki H, Chen D-H, Raskind W, Bird TD, Yamashita I, Tsuji S, Tashiro K: Spinocerebellar ataxia type 14 is caused by a mutation in protein kinase C γ . American neurological Association 128th Annual Meeting and the 6th Annual Neurology Outcomes Symposim, San Francisco, Oct 19-22, 2003

水澤英洋

論文発表

1. 石川欽也, 融衆太, 大和田潔, 石田玄, 水澤英洋. 【遺伝性脊髄小脳変性症 遺伝子未解明の疾患を中心に】 第16番染色体長腕に連鎖する優性遺伝性純粋小脳失調症. 神経内科(0386-9709)60巻5号 Page462-468(2004.05)
2. Li M, Ishikawa K, Toru S, et al. Physical map and haplotype analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) type III in Japan. *J Hum Genet.* 2003;48(3):111-8.

学会発表

1. 融衆太, 石川欽也, 李明順, 水澤英洋. 第16番染色体長腕連鎖型優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の原因遺伝子探索. 第45回日本神経学会総会 (2004)
2. 石川欽也, 融衆太, 大和田潔, 石田玄, 李明順, 水澤英洋. 第16番染色体長腕連鎖型優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の臨床的・神経病理学的研究. 第45回日本神経学会総会 (2004)
3. 融衆太, 李明順, 石川欽也, 高橋博樹, 大和田潔, 水澤英洋. 第16番染色体に連鎖する優性遺伝性小脳失調症の頻度と臨床的特徴. 第44回日本神経学会総会 (2003)
4. 大和田潔, 石川欽也, 石田玄, 融衆太, 水澤英洋. 第16番染色体に連鎖する皮質性小脳萎縮症1家系の臨床・神経病理学的所見. 第167回日本神経学会関東地方会 (2003)
5. 李明順, 融衆太, 高島実, 富満弘之, 石川欽也, 水澤英洋. 第16番染色体に連鎖する常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症(ADCCA)の候補遺伝子の検討. 第43回日本神経学会総会 (2002)
6. 融衆太, 李明順, 石川欽也, 水澤英洋. 第16番染色体長腕に連鎖する優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の臨床学的検討. 第43回日本神経学会総会 (2002)
7. Mizusawa H, Ishikawa K, Owada K, Toru S, Ishida G, Gomyoda M, Sakurai N, Yoshida M, Hashizume Y: Unique purkinje cell degeneration in 16q-linked autosomal dominant cortical cerebellar atrophy. 80th Annual Meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc. Cleveland, Ohio, USA, 2004.6.24-27
8. Sato N, Toru S, Li M, et al. The clinical characteristics and MRI findings of autosomal dominant cerebellar ataxia linked to chromosome 16. *Neurology* 60: Suppl 1, A471. Ishikawa K, Toru S, Owada K, et al. The clinical, neuropathologic and genetic analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia type III. *Am J Hum Genet*

鈴木康之

論文発表

1. 鈴木康之, 下澤伸行: 細胞内小器官の形成異常と病因遺伝子の解明. *医学のあゆみ* 206:561-564, 2003
2. 澤伸行, 長瀬朋子, 船戸道徳, 近藤直実, 鈴木康之: ペルオキシソーム病の臨床と病理. *臨床と病理* 2004;22(1):50-56
3. 今村 淳, 鈴木康之: X連鎖劣性遺伝性副腎白質ジストロフィー. *日本臨床* 62巻増刊号1 痴呆症学(2)—高齢社会と脳科学の進歩—389-392, 2004
4. 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.* 70: 1062-8, 2002
5. 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.* 292: 109-12, 2002
6. 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.* 140: 128-30, 2002
7. 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
8. Takemoto Y, Suzuki Y, Horibe R, Shimozawa N, Wanders RJA, Kondo N. Gas Chromatography /

Mass Spectrometry Analysis of Very Long Chain Fatty Acids, Docosahexaenoic acid, Phytanic Acid and Plasmalogen for the Screening of Peroxisomal Disorders. *Brain & Development* 27:481-487, 2003

9. Yuzhi Jia, Chao Qi, Zhongyi Zhang, Takashi Hashimoto, M. Sambasiva Rao, Steven Huyghe, Yasuyuki Suzuki, Paul P. Van Veldhoven, Myriam Baes, and Janardan K. Reddy. Overexpression of PPAR α regulated genes in liver in the absence of peroxisome proliferation in mice deficient in both L- and D- forms of enoyl-CoA hydratase / dehydrogenase enzymes of peroxisomal α -oxidation system. *J Biol Chem* 278:47232-9, 2003
10. Une M, Iguchi Y, Sakamoto T, Tomita T, Suzuki Y, Morita M, Imanaka T. ATP-Dependent Transport of Bile Acid Intermediates across Rat Liver Peroxisomal Membranes. *J Biochem.* 134:225-230, 2003
11. Shimozawa N, Nagase T, Takemoto Y, Ohura T, Suzuki, Kondo N. Genetic heterogeneity of peroxisome biogenesis disorders among Japanese patients: evidence for a founder haplotype for the most common PEX10 gene mutation. *Am J Med Genet* 120A:40-43, 2003
12. Matsumoto N, Tamura S, Furuki S, Miyata N, Moser A, Shimozawa N, Moser HW, Suzuki Y, Kondo N, Fujiki Y. Mutations in novel peroxin gene PEX26 that cause peroxisome-biogenesis disorders of complementation group 8 provide a genotype-phenotype correlation. *Am J Hum Genet.* 73:233-246, 2003
13. Gootjes J, Elpeleg O, Eyskens F, Mandel H, Mitanchez D, Shimozawa N, Suzuki Y, Waterham HR, Wanders RJ. Novel Mutations in the PEX2 Gene of Four Unrelated Patients with a Peroxisome Biogenesis Disorder. *Pediatr Res* 55:1-6, 2003
14. Shimozawa N, Tsukamoto T, Nagase T, Takemoto Y, Koyama N, Suzuki Y, Komori M, Osumi T, Jeannette G, Wanders RJ, Kondo N. Identification of a new complementation group of the peroxisome biogenesis disorders and PEX14 as the mutated gene. *Hum Mutat* 23:552-8, 2004
15. Nagase T, Shimozawa N, Takemoto Y, Suzuki Y, Komori M, Kondo N. Peroxisomal localization in the developing mouse cerebellum: implications for neuronal abnormalities related to deficiencies in peroxisomes. *Biochim Biophys Acta.* 1671:26-33, 2004

学会発表

1. 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
2. 長瀬朋子、下澤伸行、竹本靖彦、鈴木康之、近藤直実：マウス小脳における発達過程でのペルオキシソーム局在についての検討。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、近藤直実：ペルオキシソーム欠損症 PEX2 遺伝子異常における Genotype-Phenotype の関係について。第45回日本先天代謝異常学会、2002.11.7-9、神戸
5. 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
6. 長瀬朋子、下澤伸行、船戸道徳、竹本靖彦、鈴木康之、近藤直実：マウス小脳における発達過程でのペルオキシソーム局在についての検討。第45回日本先天代謝異常学会、2002.11.7-9、神戸
7. 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
8. 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
9. 下澤伸行、鈴木康之、長瀬朋子、竹本靖彦、近藤直実：ペルオキシソーム欠損症および類縁疾患の日本人症例における genotype の検討。第47回日本人類遺伝学会、2002.11.13-15、

- 名古屋
10. 船戸道徳、下澤伸行、長瀬朋子、竹本靖彦、鈴木康之、今村善彦、近藤直実：ペルオキシソーム β 酸化酵素単独欠損症日本人症例の検討。第 106 回日本小児科学会学術集会、2003.4.25-27, 福岡
 11. 長瀬朋子、下澤伸行、船戸道徳、竹本靖彦、鈴木康之、山形崇倫、桃井真理子、近藤直実：Zellweger 症候群様の臨床像を呈し、ALDP 遺伝子を含む遺伝子欠失を有した 1 例。第 48 回日本人類遺伝学会、2003.10.21-24, 長崎
 12. 下澤伸行、長瀬朋子、竹本靖彦、塚本利朗、鈴木康之、近藤直実：ペルオキシソーム欠損症新規相補性群の同定—PEX14 遺伝子異常。第 48 回日本人類遺伝学会、2003.10.21-24, 長崎
 13. 下澤伸行、長瀬朋子、竹本靖彦、鈴木康之、松本 正、藤木幸夫、近藤直実：ペルオキシソーム欠損症 A 群における病因遺伝子 PEX26 の解析。第 46 回日本先天代謝異常学会、2003.11.20-22, 松江
 14. 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
 15. 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
 16. Y Suzuki, Y Takemoto, N Shimozawa, RJA Wanders, N Kondo: GC/MS analysis of very long chain fatty acids, docosahexaenoic acid, phytanic acid and plasmalogen for the screening of peroxisomal disorders. Ixth International Congress of Inborn Error of Metabolism, Sep 2-6, 2003, Brisbane.
 17. Y Suzuki, Y Takemoto, N Shimozawa, and N Kondo: X-linked adrenoleukodystrophy in Japan: epidemiology and clinical aspects. Ixth International Congress of Inborn Error of Metabolism, Sep 2-6, 2003, Brisbane.
 18. N Shimozawa, T Nagase, M Funato, Y Takemoto, Y Suzuki, T Tsukamoto, Y Fujiki, RJA Wanders, N Kondo: Genetic analysis of peroxisome biogenesis disorders and their related disorders. Ixth International Congress of Inborn Error of Metabolism, Sep 2-6, 2003, Brisbane.

金澤一郎
論文発表

1. Hoshino M, Tagawa K, Okuda T, Oyanagi K, Arai N, Mizutani T, Kanazawa I, Wanker EE, Okazawa H. Histone deacetylase activity is retained in primary neurons expressing mutant huntingtin protein. *J Neurochem* 2003 Oct;87(1):257-67
2. Hitoshi S, Seaberg RM, Kosciuk C, Alexson T, Kusunoki S, Kanazawa I, Tsuji S, van der Kooy D. Primitive neural stem cells from the mammalian epiblast differentiate to definitive neural stem cells under the control of Notch signaling. *Genes Dev.* 2004 Aug 1;18(15):1806-11
3. Hazeki N, Kanazawa I. Solubilization of aggregates formed by expanded polyglutamine tract expression in cultured cells. *Methods in Molecular Biology* 277:129-137, 2004

学会発表

1. 星野将隆、田川一彦、奥田智博、植田弘子、村田美穂、小柳清光、新井信隆、水谷俊、金澤一郎、Wanker E.E, 岡澤均：ハンチントン病におけるヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)変化の検討。第 45 回日本神経学会総会・高輪 2004 年 5 月 12-14 日
2. 田川一彦、星野将隆、奥田智博、村田美穂、金澤一郎、Eric Wanker, 岡澤均：変異型ハンチントン(mhtt)による Hsp70 の小脳神経細胞に特異的な発現誘導。第 45 回日本神経学会総会・高輪 2004 年 5 月 12-14 日
3. W.Liu, Y. Wang, E. Wada, M Murata, K. Wada, I. Kanazawa Rescue of the HD model mouse by siRNA technology: Silencing the huntingtin expression in vitro and in vivo. The Society for

Neuroscience 34th Annual Meeting, San Diego, Oct 24, 2004

4. Murata M, Hasegawa K, Kanazawa I : Radmaized, double-blind study of zonisamide with placebo in advanced Parkinson's disease. 8th International Congress of Parkinson's Diseases and Movement Disorders (Rome, Italy) June 14-17, 2004

服部孝道
論文発表

1. 朝比奈正人、鈴木敦也、吉川由利子、服部孝道. 多系統萎縮症における皮膚交感神経機能. 自律神経 2004;41(2):155-160
2. 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.
3. 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
4. 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
5. 榊原隆次、内山智之、芳山充晴、服部孝道、市川智彦、山西友典. Parkinson 病と多系統萎縮症における性機能障害. 自律神経 2002;39(2):148-155
6. 服部孝道. シャイ-ドレーガー症候群. 看護のための最新医学講座 Vol.1 脳・神経系疾患 (日野原重明、井村裕夫監修、祖父江 元編集) 中山書店 (東京) 2002:446-447
7. 榊原隆次. 多系統萎縮症 MSA. 難病と在宅ケア 2004;10(5):11-15
8. 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.*2002; 99: 24-30.
9. Kanai K, Kuwabara S, Arai K, Sung JY, Ogawara K, Hattori T. Muscle cramp in Machado-Joseph disease: altered motor axonal excitability properties and mexiletine treatment. *Brain.* 2003; 126: 965-73.
10. Sakakibara R, Uchiyama T, Asahina M, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T. Amezinium metilsulfate, a sympathomimetic agent, may increase the risk of urinary retention in multiple system atrophy. *Clin Auton Res.* 2003; 13: 51-3.
11. Sakakibara R, Matsuda S, Uchiyama T, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T. The effect of intranasal desmopressin on nocturnal waking in urination in multiple system atrophy patients with nocturnal polyuria. *Clin Auton Res.* 2003; 13: 106-8.
12. Asahina M, Kikkawa Y, Suzuki A, Hattori T. Cutaneous sympathetic function in patients with multiple system atrophy. *Clin Auton Res.* 2003; 13: 91-5.
13. Yamaguchi M, Arai K, Asahina M, Hattori T. Laryngeal stridor in multiple system atrophy. *Eur Neurol.* 2003; 49: 154-9.
14. Uchihara T, Tanaka J, Funata N, Arai K, Hattori T. Influences of intranuclear inclusion on nuclear size morphometric study on pontine neurons of neuronal intranuclear inclusion disease cases. *Acta Neuropathol (Berl).* 2003; 105: 103-8.
15. Sakakibara R, Odaka T, Uchiyama T, Liu R, Asahina M, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Yamanishi T, Hattori T. Colonic transit time, sphincter EMG, and rectoanal videomanometry in multiple system atrophy. *Mov Disord.* 2004; 19: 924-9.
16. Sakakibara R, Uchida Y, Uchiyama T, Yamanishi T, Hattori T. Reduced cerebellar vermis activation during urinary storage and micturition in multiple system atrophy: 99mTc-labelled ECD SPECT study. *Eur J Neurol.* 2004; 11: 705-8.
17. Sakakibara R, Uchiyama T, Arai K, Yamanishi T, Hattori T. Lower urinary tract dysfunction in Machado-Joseph disease: a study of 11 clinical-urodynamic observations. *J Neurol Sci.* 2004; 218: 67-72.
18. Sakakibara R, Odaka T, Lui Z, Uchiyama T, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Asahina M, Yamamoto T, Ito T, Hattori T. Dietary herb extract Dai-kenchu-to ameliorates constipation in parkinsonian patients (Parkinson's disease and multiple system atrophy). *Mov Disord.* 2004 on line.

19. 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.
20. Fukutake T, Kamitsukasa I, Arai K, Hattori T, Nakajima T. A patient homozygous for the SCA6 gene with retinitis pigmentosa. *Clin Genet*. 2002; 61: 375-9.
21. Mori M, Kuwabara S, Yoshiyama M, Kanetsaka T, Ogata T, Hattori T. Successful immune treatment for non-paraneoplastic limbic encephalitis. *J Neurol Sci*. 2002; 201: 85-88.
22. Ito S, Kuwabara S, Sakakibara R, Oki T, Arai H, Oda S, Hattori T. Combined treatment with LDL-apheresis, chenodeoxycholic acid and HMG-CoA reductase inhibitor for cerebrotendinous xanthomatosis. *J Neurol Sci*. 2003; 216: 179-82.
23. Sakakibara R, Hiruma K, Arai K, Uchiyama T, Hattori T. Head-turning dizziness in multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord*. 2004; 10: 255-6.

祖父江元

論文発表

1. Jiang YM, Yamamoto M, Kobayashi Y, Yoshihara T, Liang Y, Terao S, Takeuchi H, Ishigaki S, Katsuno M, Adachi H, Niwa J, Tanaka F, Doyu M, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G: Gene expression profile of motor neurons in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **Ann Neurol**, 57: 236-251, 2005
2. Adachi H, Katsuno M, Minamiyama M, Waza M, Sang C, Nakagomi Y, Kobayashi Y, Tanaka F, Doyu M, Inukai A, Yoshida M, Hashizume Y, Sobue G: Widespread nuclear and cytoplasmic mutant androgen receptor accumulation in spinal and bulbar muscular atrophy. **Brain**, 128: 659-670, 2005
3. Ishigaki S, Hishikawa N, Niwa J, Iemura S, Natsume T, Hori S, Kakizuka A, Tanaka K, Sobue G: Physical and functional interaction between dorfin and valosin-containing protein that are colocalized in ubiquitylated inclusions in neurodegenerative disorders. **J Biol Chem**, on line ahead of print, 2004
4. Okada Y, Shimazaki T, Sobue G, Okano H: Retinoic-acid-concentration-dependent acquisition of neural cell identity during in vitro differentiation of mouse embryonic stem cells. **Dev Biol**, 275: 124-142, 2004
5. Takeuchi H, Niwa J, Hishikawa N, Ishigaki S, Tanaka F, Doyu M, Sobue G: Dorfin prevents cell death by reducing mitochondrial localiaing mutant superoxide dismutase 1 in a neuronal cell model of familial amyotrophic lateral sclerosis. **J Neurochem**, 89: 64-72, 2004
6. Katsuno M, Adachi H, Sobue G: Sweet relief for Huntington disease. **Nature Med**, 10: 123-124, 2004
7. Katsuno M, Sobue G: Polyglutamine diminishes VEGF: Passage to motor neuron death? **Neuron**, 41: 677-679, 2004
8. Minamiyama M, Katsuno M, Adachi H, Waza M, Sang C, Kobayashi Y, Tanaka F, Doyu M, Inukai A, Sobue G: Sodium butyrate ameliorates phenotypic expression in a transgenic mouse model of spinal and bulbar muscular atrophy. **Hum Mol Genet**, 13: 1183-1192, 2004
9. Nodera H, Bostock H, Kuwabara S, Sakamoto T, Asanuma K, Jia-Ying S, Ogawara K, Hattori N, Hirayama M, Sobue G, Kaji R: Nerve excitability properties in Charcot-Marie-Tooth disease type1A. **Brain**, 127: 203-211, 2003
10. Ishihara K, Yamagishi N, Saito Y, Adachi H, Kobayashi Y, Sobue G, Ohtsuka K, Hatayama T: Hsp105 suppresses the aggregation of truncated androgen receptor with expanded CAG repeats and cell toxicity. **J Biol Chem**, 278: 25143-25150, 2003
11. Ito T, Niwa J, Hishikawa N, Ishigaki S, Doyu M, Sobue G: Dorfin localizes to Lewy bodies and ubiquitylates synphilin-1. **J Biol Chem**, 278: 29106-29114, 2003
12. 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: