

clinicopathologic study. *Neurology*. 2004;63:2149-2152.

17) Tan C-F, Kakita A, Piao Y-S, Kikugawa K, Endo K, Tanaka M, Okamoto K, Takahashi H. Primary lateral sclerosis: a rare upper-motor-predominant form of amyotrophic lateral sclerosis often accompanied by frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated neuronal inclusions? Report of an autopsy case and a review of the literature. *Acta Neuropathol* 2003; 105: 615-620.

18) Nobuhara Y, Nakahara K, Higuchi I, Yoshida T, Fushiki S, Osame M, Arimura K, Nakagawa M. Juvenile form of Alexander disease with GFAP mutation and mitochondrial abnormality. *Neurology*. 2004; 63:1302-4.

19) Watanabe Y, Yasui K, Nakano T, Doi K, Fukada Y, Kitayama M, Ishimoto M, Kurihara S, Kawashima M, Fukuda H, Adachi Y, Inoue T, Nakashima K. Mouse motor neuron disease caused by truncated SOD1 with or without C-terminal modification. *Molecular Brain Research* (in press).

20) Tanaka M, Machida Y, Niu S, Ikeda T, Jana NR, Doi H, Kurosawa M, Nekooki M, Nukina N. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 2004;10:148-54.

21) Negoro K, Tada Y, Ogasawara J, Kawai M, Morimatsu M, Hashida M, Yamauchi U. Proton magnetic resonance spectroscopy in corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Geriatr Gerontol Internat* 2004; 4: 84-92.

22) Ohtani H, Nomoto M, Douchi T. Chronic estrogen treatment replaces striatal dopaminergic function in ovariectomized rats. *Brain Reserch* 2001;900:163-168.

23) Hashimoto T, Elder CM, Okun MS, Patrick SK, Vitek JL. Stimulation of the subthalamic nucleus changes the firing pattern of pallidal neurons. *J Neurosci* 2003; 23: 1916-1923.

24) Funayama M, Hasegawa K, Kowa H, Saito M, Tsuji S, Obata F. A new locus for Parkinson's disease (*PARK8*) maps to chromosome 12p11.2-q13.1. *Ann Neurol*. 2002;51:296-301.

25) Hayashi H, Oppenheimer EA: ALS patients on TPPV: totally locked-in state, neurologic findings and ethical implication. *Neurology* 2003; 61: 135- 137.

26) Yokota T, Miyagishi M, Hino T, Matsumura R, Andria T, Urushidani M, Rao RV, Takahashi R, Bredesen DE, Taira K, Mizusawa H: siRNA-based inhibition Specific for mutant SOD1 with single nucleotide alternation in mammalian cells, compared with ribozyme and DNA enzyme. Biochem Biophys Res Com. 2004;314:283-291.

27) 望月葉子, 水谷智彦, 中野亮一, 福島隆男, 本間 琢, 根本則道, 武井和夫: Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子変異 (H43R) をともなった家族性筋萎縮性側索硬化症の臨床病理像, 臨床神経学. 2003; 43 (8): 491-495.

28) 湯浅龍彦: 進行性核上性麻痺のかかえる臨床的問題点. 神経内科 2002;56(2):113-119.

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

- 1) Patent Application No. 10/096,723 entitled "Methods of Treating Parkinson's Disease Using Recombinant Adeno-Associated Virus Virions". (中野今治)
- 2) International Patent Application No. PCT/US02/41010 entitled "Adeno-Associated Virus-Mediated Delivery of GDNF to Skeletal Muscles". (中野今治)
- 3) 「変異MJD遺伝子の発現を特異的に抑制する siRNA」特願 2004-122475. (水澤英洋)
- 4) 「家族性筋萎縮性側索硬化症 (Leu126delTT) モデルマウスの作出 (仮)」申請予定 (中島健二)

2. 実用新案登録

特に無し

3. その他

- 1) パーキンソン病診断キットおよびパーキンソン病診断方法
発明者: 澤田秀幸、下濱 俊
出願人: 関西ティール・エル・オー株式会社
特願 2003-405942 (出願日 平成 15 年 12 月 4 日)

[別 紙]

分担研究者： 32 名

順天堂大学医学部神経学	水野 美邦
自治医科大学内科学講座神経内科学部門	中野 今治
名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学	祖父江 元
大阪大学大学院医学系研究科ポストゲノム疾患解析学講座	戸田 達史
北海道医療大学心理科学	森若 文雄
国立病院機構東埼玉病院	川井 充
東北大学病院神経内科	青木 正志
岡山大学大学院医歯学総合研究科神経病態内科学	阿部 康二
NTT東日本関東病院神経内科	荒崎 圭介
東邦大学医学部附属大森病院神経内科	岩崎 泰雄
群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学	岡本 幸市
東京大学大学院医学系研究科臨床神経精神医学講座神経内科学	郭 伸
徳島大学大学院ヘルスケア・バイオサイエンス研究部感覚情報医学講座神経情報医学分野	梶 龍児
国立長寿医療センター	加知 輝彦
九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科	吉良 潤一
国立精神・神経センター武蔵病院神経内科	久野 貞子
和歌山県立医科大学神経内科	近藤 智善
京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座臨床神経学	下濱 俊
新潟大学医歯学総合病院神経内科	高野 弘基
新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野	高橋 均
三重大学医学部附属病院神経内科	内藤 寛
京都府立医科大学神経病態制御学	中川 正法
鳥取大学医学部脳神経内科	中島 健二
理化学研究所脳科学総合研究センター病因遺伝子研究グループ	貫名 信行
山口大学医学部脳神経病態学講座	根来 清
愛媛大学医学部臨床薬理学講座	野元 正弘
信州大学医学部第三内科	橋本 隆男
国立病院機構相模原病院神経内科	長谷川一子
東京都立神経病院	林 秀明
東京医科歯科大学大学院医学総合研究科認知行動医学系脳行動病態学講座脳神経病態学分野	水澤 英洋
日本大学医学部内科学講座神経内科部門	水谷 智彦
国立精神・神経センター国府台病院神経内科	湯浅 龍彦

神経変性疾患に関する調査研究班 解説資料

主任研究者 葛原茂樹

対象の神経難病 9疾患

(赤は治療研究事業対象疾患)

- 筋萎縮性側索硬化症 (ALS)
- パーキンソン病
- ハンチントン舞踏病
- 進行性核上性麻痺
- 大脳皮質基底核変性症
- 線条体黒質変性症
 - H15年度から多系統萎縮症として失調班が担当
- 球脊髄性進行性筋萎縮症
- 脊髄空洞症
- ライゾーム病

主任研究者 葛原茂樹

分担研究者 32名

- 全体研究
 - ALS分科会
 - パーキンソン病分科会
 - 疫学・QOL分科会
- 個別研究
 - 全班員が症例・資料・検体収集に協力して研究促進

研究対象9疾患：原因不明で治療法が未確立の神経難病である神経変性疾患で、H14年度に再編発足した。

特定疾患の見直し(平成14年度末)：本研究班担当のパーキンソン病関連の3疾患(進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、線条体黒質変性症)が新たに治療研究事業に追加された。線条体黒質変性症は多系統萎縮症臨床個人調査票が設定されたことに伴い、運動失調症研究班の担当になった。

疾患概念、診断基準、調査個人票の大改定：全班員が協力して、国際標準を参考にして、重症度の臨床評価を加味し疫学的研究にも活用できるものに改定した。

研究組織：難治的で稀少な疾患が対象であるので、全国全地域を網羅し様々な研究手法で神経難病に取り組む研究者を網羅した。主要テーマは分科会が主導し併せて、研究者ごとの個人研究を相互連携して進めている。

関連の厚生労働省研究班との連携：特定疾患の質的評価研究班、地域支援体制研究班、ALSの画期的診断治療法研究班などと連携し、共同シンポジウムなどを開催している。

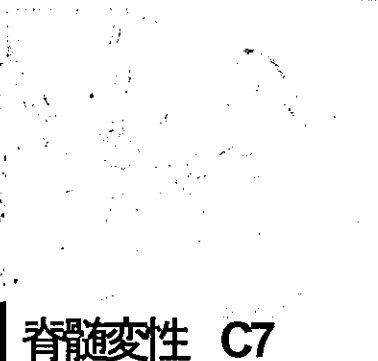
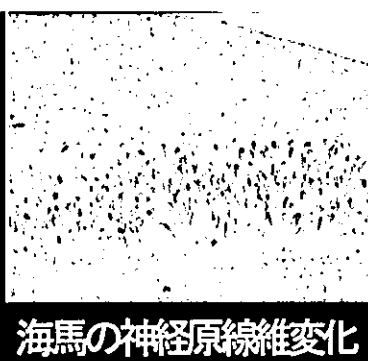
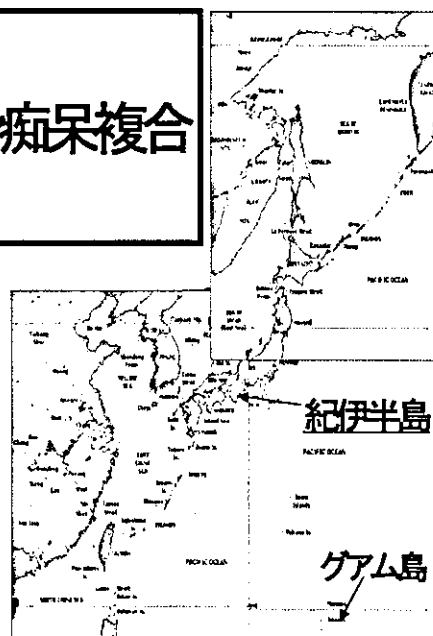
患者団体との交流：神経難病の各種患者団体(ALS、パーキンソン病、ハンチントン病)と交流や協力を推進している。

ここに紹介するのは、代表的な研究成果 10件である。

紀伊半島とグアム島に多発する 筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン痴呆複合 (ALS/PDC)

三重大学 葛原茂樹

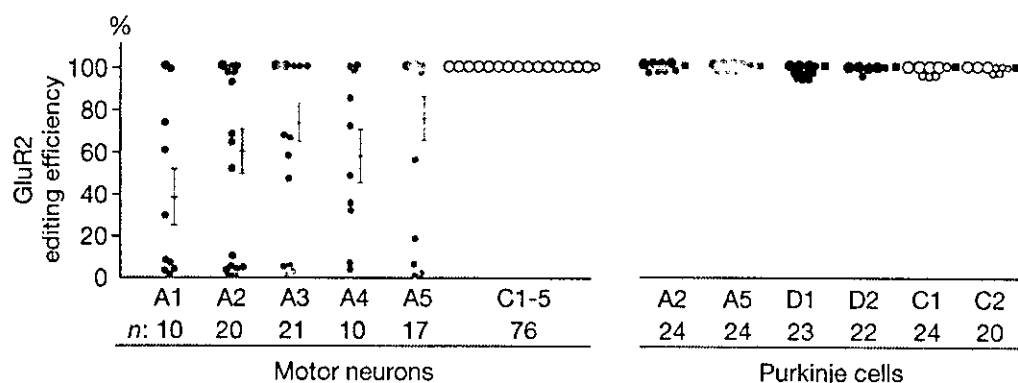
- 紀伊半島南部での有病率は、800/10万人以上と、今なお極めて高値。
(グアム島では、原因不明のまま消滅)
- 痴呆、パーキンソン症状、筋萎縮症状を併せもつ神経難病。
- 発症関連因子、発症機序の解明と、治療法の開発を推進中。



紀伊半島南部とグアム島は、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) とパーキンソン痴呆複合 (parkinsonism-dementia complex, PDC) の多発地域である。紀伊半島南部での粗有病率は881/10万人と今なお極めて高い。これまでの研究から、①痴呆、パーキンソン症状、筋萎縮症を合わせ持つこと、②濃厚な家族歴、③前頭側頭葉萎縮と血流低下、④脳内への過剰リン酸化タウ蛋白の蓄積といったことが判明し、家族性タウオパチーもしくは、前頭側頭型痴呆の一型と考えられる。遺伝素因を中心とした発症関連因子の究明、発症機序の解明およびそれらに基づく治療法の開発について、米国のグアム病研究と連携して研究を推進中である。

単一運動ニューロンのGluR2 RNA編集率

東京大学 郭 伸



Dept. Neurology, Univ. Tokyo

孤発性ALSの運動ニューロン死の原因解明に近づいた。

単一運動ニューロンを、レーザーマイクロディセクターで切り出し、その組織を用いて、AMPA受容体サブユニットGluR2Q/R部位のRNA editing効率を調べ、ALS運動ニューロンで、細胞選択的、疾患特異的に低下していることを明らかにした。この分子変化は細胞死の一次原因であり、ALSの病因に深く関わっている。

各点(大きな点は5細胞, 小さな点は1細胞)は、ALS群5例(A1-A5)、コントロール群5例(C1-C5)の単一脊髄運動ニューロンにおけるGluR2 Q/R部位のRNA編集率と、ALS群2例(A2, A5)、Dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA)群2例(D1, D2)、コントロール群2例(C1, C2)の単一小脳プルキンエ細胞の編集率を表している。平均値・標準誤差と解析した細胞数(n)も示した。運動ニューロンでは、正常コントロール群のすべての細胞において、例外なく編集率は100%であった。これに対して、ALS群では、解析した5ケースすべてにおいて、編集率は0%から100%まで大きくばらつき、正常コントロール群と比較し、有意に低下していた(Mann-Whitney U test, $p < 0.001$)。一方、小脳プルキンエ細胞における編集率については、ALS群、MSA群、DRPLA群とコントロール群の間には有意差はない(Mann-Whitney U test, $p > 0.05$)。

まとめ

◆孤発性ALSの脊椎運動ニューロンでは、AMPA受容体サブタイプであるGluR2にRNA編集が疾患特異的、部位選択的に低下していることを初めて明らかにした。

◆この分子変化は、ニューロンの細胞死の一次原因であり、ALSの病因と密接に関連すると考えられ、特異的治療法への道が開かれたといえる。

臨床的特徴のあるSOD1遺伝子変異を導入した トランスジェニック(Tg)マウスの作製

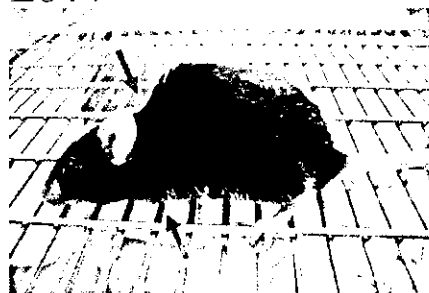
東北大学 青木正志

● 家族性ALS家系において急速な臨床経過を示したSOD1遺伝子L84V変異を導入したTgマウスを、緩徐な臨床経過のH46R変異導入Tgマウスと同一の遺伝的背景にて作製した。

● 2種類の変異を導入したTgマウスの作製に成功した。

● 2種類の変異で比較した結果、L84V変異のほうが経過が短く、しかもヒトと同様に前肢からの発症も認められた。ヒトALS患者の臨床型を非常によく反映している。

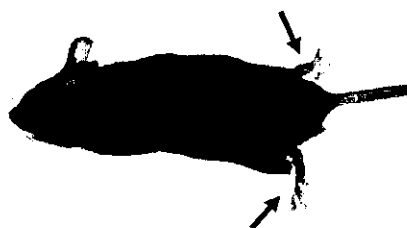
L84V



経過(日)

 8.6 ± 6.5

H46R

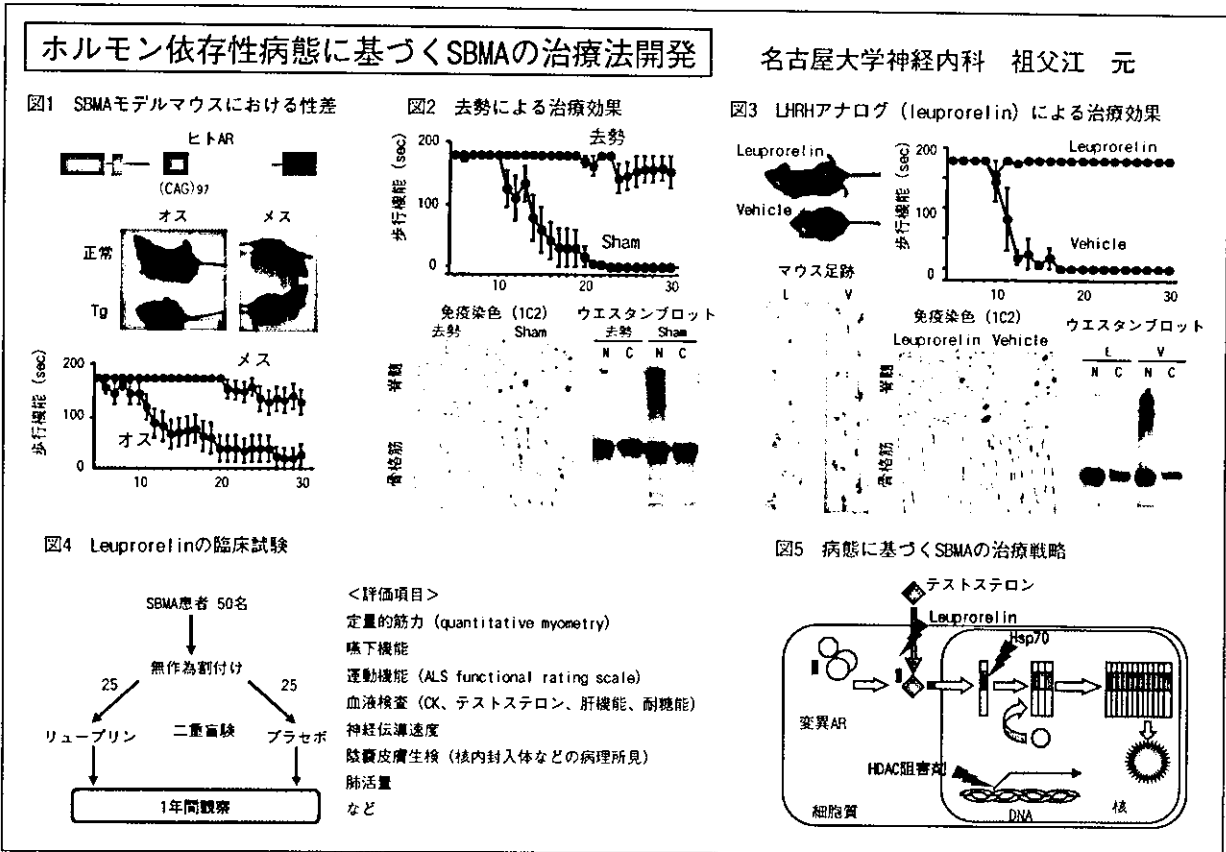
 27.5 ± 8.2

マウスによるSOD1遺伝子変異による臨床型の違いの再現に成功した

本調査研究班の班員を中心とした多くの症例の蓄積により、同じSOD1遺伝子異常による家族性ALSでありながら、その遺伝子変異の種類により臨床経過が大きく異なることが明らかになった。SOD1遺伝子変異による運動ニューロンに対する傷害性の違いの機序を検討することを目標に臨床経過が大きく異なるL84VおよびH46R変異を導入したトランスジェニック(Tg)マウスを同一の遺伝的背景にて作製した。

H46R変異を導入したマウスはすべて後肢からの発症であるのに対して、L84V変異を導入したマウスは一部ではあるが前肢からの発症が認められた(→)。このことはヒト家族性ALSにおいてH46R変異を伴う家系は全て下肢から発症が認められるのに対して、L84V変異を伴う家系では上肢から発症が認められることを良く再現している。さらには全生存期間がほぼ同等の系統でH46R変異とL84V変異を比較すると、発症から死亡までの経過はL84V変異が8.6日とH46R変異の27.5日と比較して急速であった。このことは各点突然変異によるヒトALSの罹病期間の違いも良く再現している。

今後は、本研究で作成された動物モデルの解析を通じて、臨床経過を規定する因子を明らかにし、その知見に基づく治療法の開発を行う予定である。



遺伝性運動ニューロン疾患である球脊髄性筋萎縮症(SBMA)の病態に基づく治療法の開発についてこれまでの研究結果を示す。SBMAは、アンドロゲン受容体(AR)におけるCAG繰り返し配列の異常延長を原因とする神経変性疾患であり、男性のみに発症することが特徴である。延長ポリグルタミンを含有する変異タンパク質の核内集積が病態の根幹をなすと考えられている。

図1はSBMAのモデルマウスにおける性差を示したものである。我々はSBMAのモデル動物として、CAG繰り返し配列が97に異常延長した全長のヒトアンドロゲン受容体(AR)を導入したトランスジェニックマウス(Tg)を作製した。その結果、メスに比べオスで症状は重症化し、本疾患が男性のみに生じることと合致する所見が得られた。

図2はオスマウスに対する去勢の治療効果を示したものである。去勢の結果マウスの運動機能は著明に改善した。抗ポリグルタミン抗体である1C2を用いた免疫染色では、変異ARタンパク質の核内集積が去勢により著しく減少した。ウエスタンブロットでは、核分画における変異タンパク質の凝集が去勢により抑制された。以上より、テストステロン依存性の変異ARの核内移行が病態の性差の原因であり、テストステロン分泌抑制により変異ARの核内集積を抑制することで治療効果が得られたと考えられた。

図3はLHRHアナログであるLeuporelinの治療効果を示したものである。LHRHアナログは下垂体に作用し精巣からのテストステロン分泌を抑制する薬剤であり、前立腺癌などの治療に広く用いられている。Leuporelinの皮下注により、マウスの筋萎縮、運動機能、病理所見は劇的に改善し、この治療効果はテストステロン分泌抑制による変異ARタンパク質の核内集積抑制に基づくものと考えられた。LeuporelinはSBMAの治療薬として有望な候補薬と考えられる。

図4は現在進行中のSBMAの臨床試験の概要である。50名のSBMA患者に対し、プラセボを用いた比較試験を二重盲験にて施行中である。1年間の治療前後の定量的筋力測定など評価している。

図5に病態に基づくSBMAの治療戦略を示す。Leuporelinの他、分子シャペロンである熱ショックタンパク質(Hsp70)や転写機能を改善するヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害薬による治療効果も我々のSBMAモデルマウスを用いた検討で明らかにされており、複数の薬剤による集約的治療の検討が重要と考えられる。

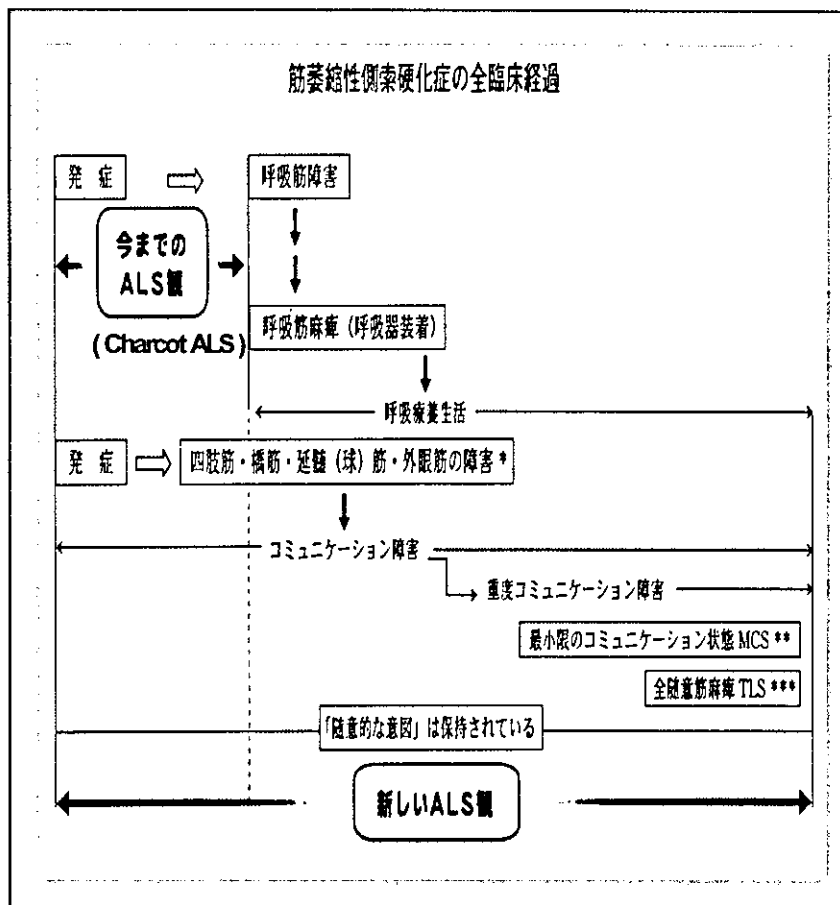
呼吸筋麻痺を通したALSの全経過

東京都立神経病院 林 秀明

(1) ALSの呼吸筋麻痺を越えた臨床病理像を検査し、呼吸筋麻痺麻痺迄の「今までのALS観」(Charcot ALS)、ALSの一部でALSの全体像を明らかにした。

(2) ALSでは全ての随意筋が障害され、重度コミュニケーションとして、全随意筋麻痺(TLS)と最小限のコミュニケーション状態(MCS)も起りうる。TLS、MCSはALSの一部である。

(3) TLS、MCSの臨床病理像から、ALSではCharcot ALSを越え、随意運動や姿勢に関与する運動に関与する全ての構造が障害されることが明らかとなった。



呼吸筋麻痺迄の「今までのALS観」は、呼吸筋麻痺を越えた全随意筋麻痺 (totally locked-in state : TLS)を含む ALSの全体像の一部であることが明らかになってきた。このALSの全体像を新しく捉え直した臨床・病理像で、呼吸筋麻痺後の患者・家族の医療・福祉の療養環境も含めて考えていくのが、「新しいALS観」である。

この視点での取組みは、在宅呼吸療養も含めて呼吸筋麻痺後の患者と家族が増加している現状での問題解決には極めて重要と考えられる。

相模原パーキンソニスムの原因遺伝子の同定

国立病院機構相模原病院 長谷川一子



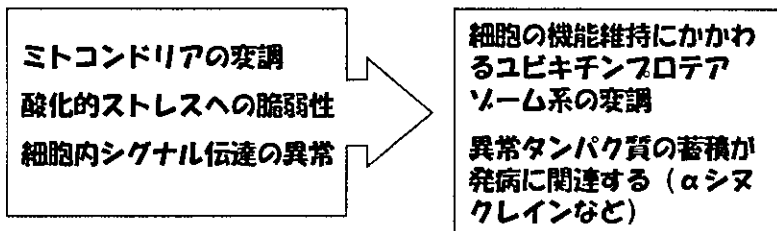
相模原パーキンソニスム=PARK 8 家族性パーキンソニスムの特徴

- 常染色体優性遺伝 5世代27人の発症者
- 発症年齢や経過は孤発性パーキンソン病と類似. L-DOPA有効
- 病理所見は様々
- 病因遺伝子 LRRK2/dardarin (機能は今のところ全く不明!)

なぜ家族性パーキンソン病の病因遺伝子を解明することが必要か?

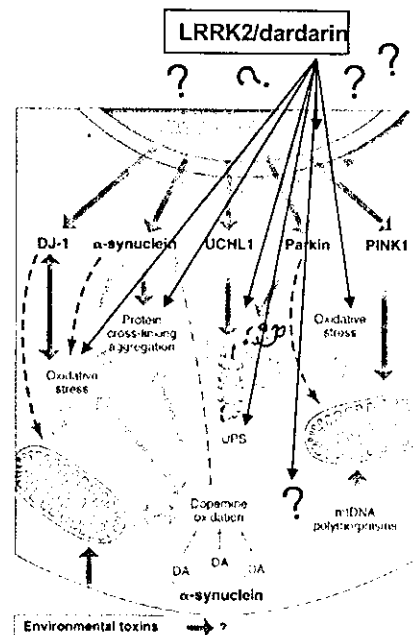
- パーキンソン病の発症のメカニズムを解明する
- 疾患モデル動物を作って, 治療法や治療薬物の開発ができる

家族性パーキンソニスムの原因遺伝子からわかってきたこと



LRRK2/dardarinに期待されること

- 新たなパーキンソン病発症のメカニズムの解明
- 新規治療薬の開発

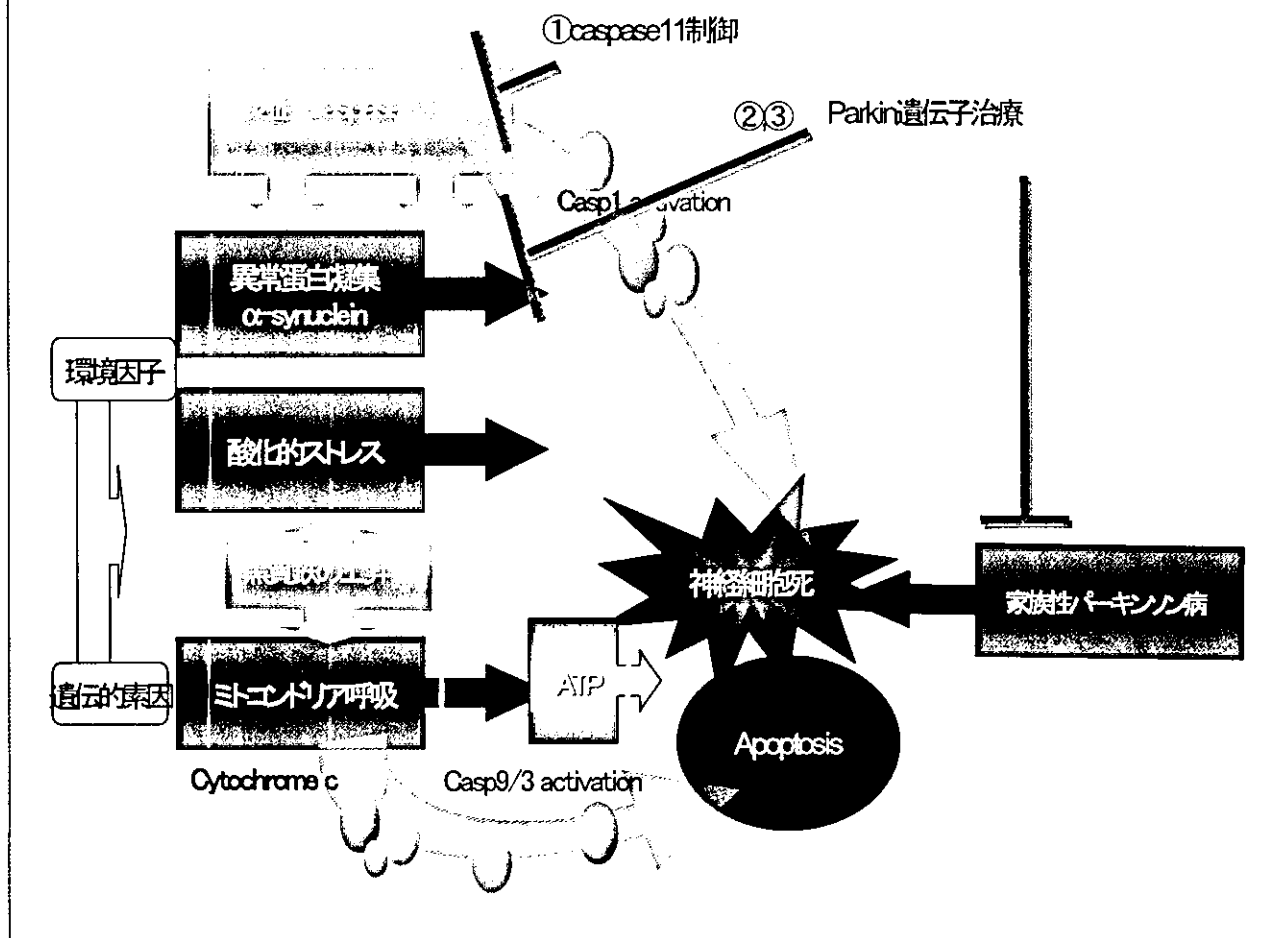


Greenaway JT and Hastings TG Science 304:1120, 2004改変

- 相模原パーキンソニスム(PARK8)は1970年代後半に見出された, 両性の経過を示す常染色体優性遺伝の家族性パーキンソニスムです.
- この家系は, 孤発性パーキンソン病と臨床的には全く区別ができず普通のパーキンソン病として治療させていただいておりました.
- その後, お亡くなりになった方の脳を検査させていただき, パーキンソン病で普通見られるレビー小体がないことが多いことがわかりました.
- PARK8パーキンソニスムは通常のパーキンソン病と区別がつかないため, たくさんのPARK8の患者様がいらっしゃる事が予想できます.
- 現在, 遺伝性パーキンソニスムの原因遺伝子が明らかとなり, 機能を研究した, 結果パーキンソン病の発症のメカニズムが解明されてきています.
- 今回のPARK8パーキンソン病の原因遺伝子の同定も, パーキンソン病の発病のメカニズムや新しい治療法の開発につながるものと期待されます.

パーキンソン病の発症機序と治療

順天堂大学 水野美邦



- 1) パーキンソン病は肺炎などに感染後それが軽快しても神経症状が増悪する。
マウスモデルで炎症関連のcaspase 11の増加を報告。その制御により治療が可能。
炎症による神経症状の増悪を抑制するためcaspase11の制御法を検討中である。
- 2) a-synucleinをラット黒質へ過剰発現することにより片側パーキンソン病モデルの作製し
リン酸化synuclein、caspase 9が関与したパーキンソン病に非常に類似したモデルを確立。
- 3) AAVvectorによるparkinの遺伝子治療により上記モデルの細胞死を制御した。
Parkin遺伝子治療は家族性、孤発型パーキンソン病治療になりうる。大型動物で安全性検討中。

パーキンソン病と筋萎縮性側索硬化症の 遺伝子治療と再生医療

自治医科大学 中野今治

(1) AAVベクターを使用した遺伝子治療

線条体の神経細胞に効率よく治療用の遺伝子を導入し長期間発現させることができるAAVベクターを使用して、ドパミン合成に必要なaromatic L-amino acid decarboxylase (AADC)の遺伝子を、選択的神経毒MPTPの慢性投与により作成したパーキンソン病モデルサル（被殻）で発現させた。遺伝子治療前にはL-dopaの大量 20 mg / kgを投与しても運動障害の改善は見られなかったが、遺伝子導入の2週間後には、L-dopa 5 mg/kgを投与すると1時間後にはAAV-AADC注入側と対側の四肢の動きが改善し、この効果は約3時間持続した。遺伝子導入側の被殻で、 $[^{11}\text{C}]$ L-dopaの取り込みの増加が12週間後にも認められた。現在、この方法による臨床試験を計画している。

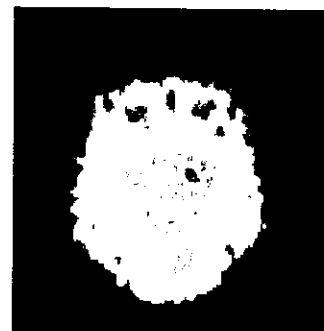


図1

(2) ES細胞を使用した細胞移植

カニクイサルのES細胞からグリア細胞の条件培地を使用したNeural Stem Sphere形成法により効率よく大量の神経幹細胞を分化誘導した。この神経幹細胞をMPTPモデルサル（被殻）に移植すると、移植側の被殻ではpositron emission tomography (PET)計測により、 $[^{11}\text{C}]$ L-DOPA、 $[^{11}\text{C}]\beta$ -CFTの取り込みの増加とmethamphetamine投与後に D_2 受容体拮抗薬 $[^{11}\text{C}]\text{-raclopride}$ 結合能の低下が認められ、ドパミン機能が回復することが明らかになった。現在、ヒトのES細胞を使用した移植実験を行っている 腫瘍形成や不随意運動の発現などの副作用を回避する基礎研究を継続するとともに。

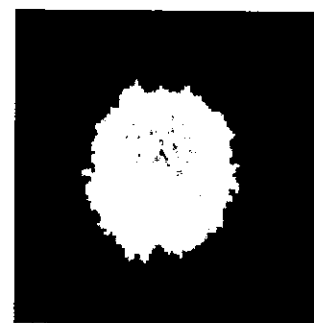


図2

「神経変性疾患に関する調査研究」班 研究報告

研究課題：パーキンソン病と筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療と再生医療

アデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターによる遺伝子導入技術と霊長類の胚性幹細胞(ES細胞)を応用し、神経変性疾患に対する新たな治療法を開発することを目標にして研究を行った。

図1： $[^{11}\text{C}]$ L-dopa によるPET画像

MPTPモデルサル（被殻）の左側（図の右側）の被殻にAADC 遺伝子を導入した。
12週間後にも $[^{11}\text{C}]$ L-dopaの取り込みが認められる。

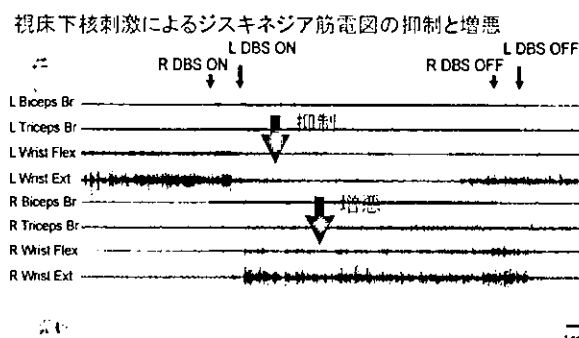
図2：移植4週間後の $[^{11}\text{C}]\beta$ -CFT画像

ES細胞由来神経幹細胞を片側（この図では右側）の被殻に移植した。
 $[^{11}\text{C}]\beta$ -CFTの取り込みの増加が認められる。

パーキンソン病のジスキネジアに対する 定位脳手術効果の問題点と対策

信州大学 橋本隆男

両側視床下核に刺入
した電極

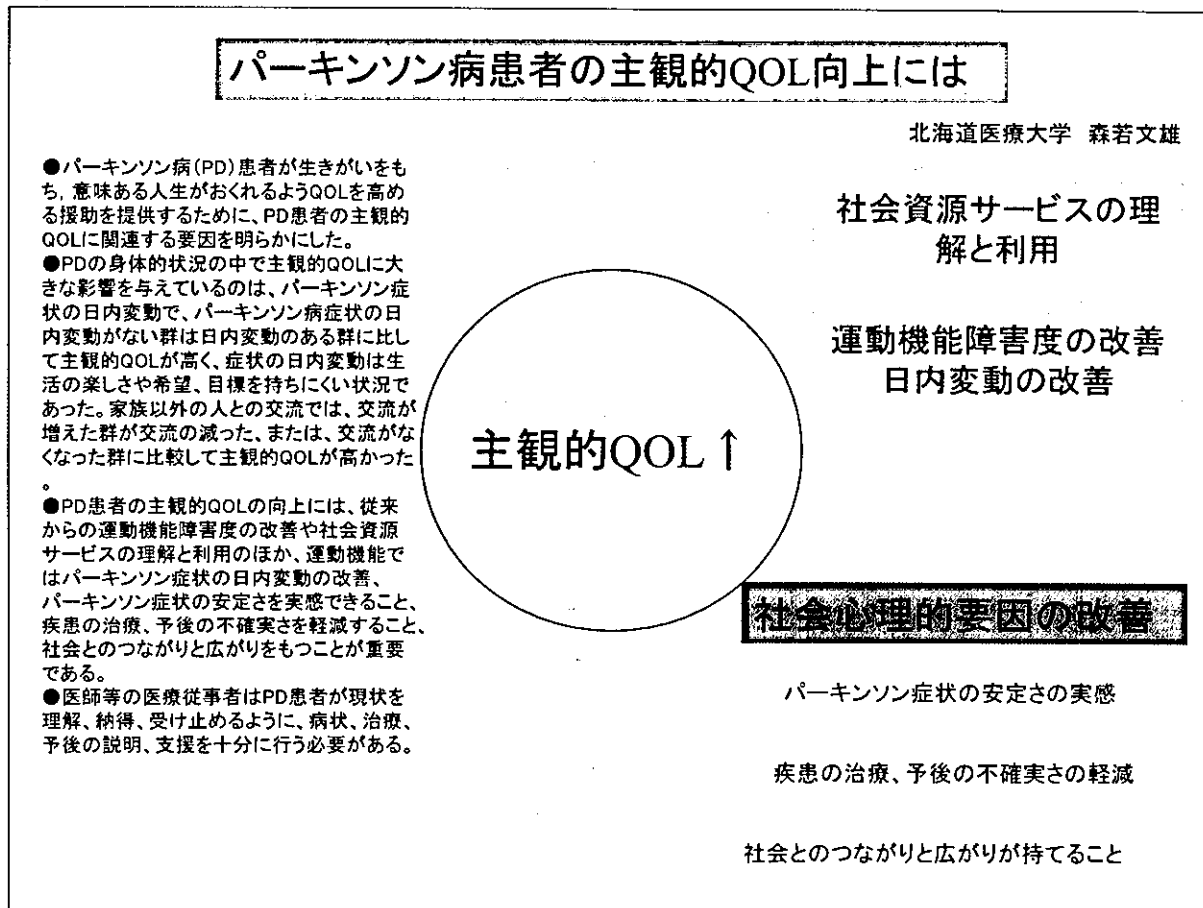


- 視床下核刺激術では、刺激によってジスキネジアが改善する場合、増悪する場合、変わらない場合とがある。ジスキネジアが増悪する症例では、術後の刺激と薬剤の調整が難しくなり、十分な手術効果が得られにくい。
- ジスキネジアを抑制するためには、術式による効果の違い、刺激部位による効果の違い、second surgeryの適応、などを明らかにし、ジスキネジア対策の指針を作成することが望ましい。

パーキンソン病に合併するジスキネジアは、重症の場合やジストニア型などの場合、患者のQOLを低下させる大きな要因となる。パーキンソン病の治療法である深部脳刺激(deep brain stimulation)のターゲット部位のうち、近年視床下核刺激術の施行件数が増加しているが、刺激によるジスキネジア誘発(peak-dose dyskinesia)が治療の妨げとなる例が散見される。我々は、視床下核刺激術と淡蒼球内節刺激術のジスキネジアに対する長期効果と急性効果を比較し、ジスキネジア抑制のストラテジーについて検討した。

5例の視床下核刺激術、2例の淡蒼球内節刺激術について、ジスキネジアに対する長期効果と急性効果を比較した。淡蒼球内節刺激術ではジスキネジア抑制効果は即時的であったのに対し、視床下核刺激術では、刺激の急性効果でジスキネジアが増悪する症例が2例あり、長期的に刺激と薬剤の調節が困難だった。1例では、ジスキネジアを抑制するために淡蒼球内節の追加手術が必要だった。

視床下核刺激術で術後にジスキネジアを抑制または増悪する要因として、患者の病状、刺激法、薬剤の投与方法の関与が考えられる。ジスキネジアの発現を抑制しつつパーキンソン症状の改善を得るには、ジスキネジア発現と抑制の機序を明らかにする必要がある。その上で、適切な術式、刺激方法、薬剤投与方法が明らかになると考えられる。



パーキンソン病(PD)では、慢性進行性に障害が拡大し、患者および家族の生活や人生に深刻な影響を与えている。PD患者が生きがいをもち、意味ある人生がおくれるようQOLを高める援助を提供するために、PD患者の主観的QOLに関連する要因を明らかにした。

PD患者に自己記入式質問紙を郵送し、PD患者152名(回収率42.7%)から回答を頂き、解析した。

PDの身体的状況の中で主観的QOLに大きな影響を与えているのは、パーキンソン症状の日内変動であった。パーキンソン病症状の日内変動がない群は日内変動のある群に比して主観的QOLが高く、症状の日内変動は生活の楽しさや希望、目標を持ちにくい状況を作り出していた。家族以外の人との交流では、交流が増えた群が交流の減った、または、交流がなくなった群に比較して主観的QOLが高かった。

PDの主観的QOLの向上には、従来からの運動機能障害度の改善や社会資源サービスの理解と利用のほか、運動機能ではパーキンソン症状の日内変動の改善、パーキンソン症状の安定さを実感できること、疾患の治療、予後の不確実さを軽減すること、社会とのつながりと広がりをもつことが重要で、医師等の医療従事者はPD患者が現状を理解、納得、受け止めるように、病状、治療、予後の説明、支援を十分に行う必要がある。

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究班

課題番号：H14-難治-15

主任研究者：葛原茂樹 三重大学医学部神経内科

分担研究者：水野美邦 順天堂大学脳神経内科

0. 分担研究者研究課題

パーキンソン病の発症機序と治療

1. 研究目的

パーキンソン病は原因不明の変性疾患で患者数も多く、補充療法が主体で未だ根治療法はない。そのためパーキンソン病の発症機序を解明することと細胞死に関わる要因について検討し、それらを制御するような新しい治療法を開発することを研究目的とする。

2. 研究方法

1) パーキンソン病患者さんが肺炎などの感染後に症状が悪化することから、炎症と神経変性に関しモデルマウスで検討し機構を解明する。2) synuclein 蛋白の異常が一部病因に関することが知られており解析のためのモデルマウスを、ウイルスベクターを用いて作製した。3) このモデルマウスの細胞死をウイルスベクターによる parkin 遺伝子投与により制御するかにつき検討した。

（倫理面への配慮）

動物モデル実験に関してはすべて動物実験委員会の承諾を受けている。

3. 研究結果及び考察

1) パーキンソン病モデルマウスでは caspase 11 が炎症を介した細胞死に重要でありその制御が治療上重要になると思われる。2) パーキンソン病類似のリン酸化シヌクレインが認められる動物モデルが完成した。3) そのモデルは parkin 投与

で治療効果を認めた。

4. 評価

1) 達成度について

予想以上の結果を得られることができた。論文発表も迅速にできさらに発展が可能であると強く信じている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

3年間当会にて発表した論文がすべて一流論文に掲載された。国際学会でも高く評価され、今後のパーキンソン病治療研究に多いに貢献すると期待される結果を得た。

3) 今後の展望について

パーキンソン病の進行を制御するための治療法が今回得られた結果よりすでに研究が始動している。またパーキンソン病の遺伝子治療も日本で世界に追従すべく発展する可能性がある。

4) 研究内容の効率性について

比較的短期間に世界と熾烈な競争のなかでこのような有用な結果が得られたことは非常に効率性が高いものと判断する。

5. 結論

パーキンソン病の発症機序と治療に関する研究で、臨床上重要な感染症と病気の進行が caspase 11 の動態と関連することを示した。またパーキンソン病の病態と非常に類似する動物モデルを作成した。さらに、その治療が parkin 蛋白発現にて改善することを報告した。それぞれ世界に先駆けた報告である。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 12件

原著論文による発表 0件

それ以外 (レビュー等) の発表 4件

そのうち主なもの

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

論文発表

学会発表

1) 古谷 剛, 望月秀樹, 三浦正幸, Juyning Yuan, 水野美邦. MPTP 急性及び慢性投与によるドパミン神経細胞死の比較検討, 第44回日本神経学会総会, 横浜, 5月15日-17日, 2003

2) 山田正典, 水野美邦, 望月秀樹. AAVベクターを用いた alpha-synuclein 誘発性黒質神経細胞死の解析. 第3回 Parkinson's Disease Forum 2003, 千葉, 8月30日, 2003

3) 望月秀樹, 山田正典, 横田隆徳, 島田 隆, 水澤英洋, 水野美邦. AAVを用いたパーキンソン病黒質神経細胞死メカニズムの解析. 第44回日本神経学会総会, 横浜, 5月15日-17日, 2003

2) 海外

口頭発表 10件

原著論文による発表 9件

それ以外 (レビュー等) の発表 1件

そのうち主なもの

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

論文発表

1). Furuya T, Hayakawa H, Yamada M, Yoshimi K, Hisahara S, Miura M, Mizuno Y, Mochizuki H. Caspase-11 mediates inflammatory dopaminergic cell death in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. J Neurosci. 2004 ;24(8):1865-1872.

2). Arai H, Furuya T, Miura M, Mizuno Y and Mochizuki H. Caspase-11 Mediates LPS-induced Substantia Nigral Dopaminergic neurodegeneration in Mice. The mechanism of LPS-induced Dopaminergic Cell Death. JBC 2004; 79(49): 51647-51653

3). Yamada M, Iwatubo T, Mizuno Y and Mochizuki H Overexpression of a-synuclein in rat substantia nigra results in loss of dopaminergic neurons, phosphorylation of a-synuclein and activation of caspase-9: resemblance to pathogenetic changes in Parkinson's disease. J Neurochem. 2004; 91: 451-461

4). Yamada M, Mizuno Y and Mochizuki H Parkin gene therapy for alpha-synucleinopathy, a rat model of Parkinson's disease. Human Gene Therapy 2004 in press

学会発表

- 1) Mochizuki H. Gene Therapy for Parkinson' s Disease. 10th International Winter Conference on Neurodegeneration. Berlin, Feb 17, 2002
- 2) Arai H, Mochizuki H, Mizuno Y. Mechanism of LPS-induced substantia nigral dopaminergic neurotoxicity in mice. 8th National Parkinson Foundation International Symposium on Parkinson' s Disease Research, New Orleans, Louisiana, USA, November 7-8, 2003
- 3) Furuya T, Mochizuki H, Miura M, Mizuno Y. Caspase-11 mediates inflammatory dopaminergic cell death in MPTP Mouse Model of Parkinson' s disease 8th National Parkinson Foundation International Symposium Parkinson' s Disease Research, New Orleans, LA, USA, November 7-8, 2003

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録なし
3. その他

解説資料は主任研究者報告書資料（厚労省提出資料7）に掲載

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究班

課題番号：H14-難治-15

主任研究者：葛原茂樹 三重大学医学部神経内科

分担研究者：中野今治 自治医科大学神経内科

0. 分担研究者研究課題

パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療、再生治療

1. 研究目的

パーキンソン病（パ病）と筋萎縮性側索硬化症（ALS）のモデル動物に対して、アデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを用いて治療遺伝子を導入する遺伝子治療実験およびパ病サルへのサルES細胞から分化させた神経幹細胞移植実験を行い、臨床治療研究の基礎データを集積することを目的とする。

2. 研究方法

チロシン水酸化酵素、芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素、GTP シクロヒドロキシラーゼの酵素を搭載した AAV ベクターを我々の作成したパ病モデルサルの被殻に注入し、行動と病理組織を検索する。また、サルES細胞由来神経幹細胞をパ病サルの被殻に注入し、PET 解析、行動解析、組織検索を行う。ALS モデルマウスの四肢筋に GDNF 遺伝子を搭載した AAV ベクターを注入し、下位運動ニューロンの保護を目指す。

（倫理面への配慮）

小動物実験では動物実験指針規定に従う。サルの実験は国立感染症研究所「動物実験ガイドライン」および筑波霊長類センター「サルでの実験遂行指針」を遵守しておこなう。

3. 研究結果及び考察

パ病遺伝子治療実験では、治療遺伝子導

入側と体側の前肢の運動が明らかに改善し治療効果が見られた。Microdialysis では注入側被殻においてドパミンとその代謝産物の産生が明らかに増加していた。また、組織学的検索により、注入遺伝子が年余に渡って発現していた。サルES細胞由来神経幹細胞移植では、PETにて移植側被殻でのドパミン産生が確認され、組織学的にドパミン産生細胞の正嫡が認められた。また、ALS モデルマウス筋肉への GDNF 搭載 AAV ベクター注入実験では臨床効果が見られ、組織学的にも前角ニューロンが保護されていた。この様に、遺伝子治療、再生医療とも変性疾患の治療法として有望であると考えられる。

4. 評価

1) 達成度について

ほぼ初期の達成目標に到達したと思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

パ病と ALS の遺伝子治療実験では、国際的な雑誌に論文が掲載され、高い評価を受けている。また、パ病では新治療法の、ALS では有効な治療法の開発が囑望されており本研究はその可能性を示すものとして社会的意義が高い。

3) 今後の展望について

パ病の遺伝子治療については、米国 Avigen 社と協同で、まず芳香族Lアミノ酸脱炭酸酵素遺伝子搭載ベクターを進行期パ病患者の被殻に注入する臨床研究を

申請する予定である。ALS に関しても治療遺伝子の投与方法を改善しながら臨床研究に近づけていきたい。再生医療では、神経幹細胞の純化、ドパミン細胞への分化など、今後課題を残している。

4) 研究内容の効率性について

パ病遺伝子治療に関しては過去数年の研究で臨床研究を目前にしており、高い効率性を示している。また、ALS に関しても治療遺伝子やベクターの問題がクリアされれば臨床応用可能な状況であり、これも効率性は高い。

5. 結論

ALS、パ病とも動物モデルでの遺伝子治療実験では明らかな成果を挙げ、特にパ病に関しては臨床応用目前までに達した。パ病モデルサルでの再生医療でも、クリアすべき課題はあるもののかなりの成果を挙げた。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	50 件
原著論文による発表	9 件
それ以外 (レビュー等) の発表	23 件

そのうち主なもの

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

論文発表

関係論文 (国内)

1. 中野今治:筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療—モデル動物での治療実験—. 最新医学 57:1634-1639、2002.
2. 村松慎一、王立軍、池口邦彦、藤本健一、永田三保子、中野今治、小澤敬也:アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターによるパーキンソン病モデル動物の遺伝子治療. 日本炎症・再生医学会雑誌 23:218-222、2003.
3. 村松慎一:パーキンソン病に対する遺伝子治療. ゲノム医学 3:403-408、2003.
4. 村松慎一、池口邦彦、藤本健一、中野今治、小澤敬也:AAV-AADC によるパーキンソン病モデルサルの遺伝子治療. Progress in Medicine 23:2784-2786、2003.
5. 中野今治:ALS—最近の話題 (Introduction) 医学のあゆみ Vol.205 No.2 117-118、2003.
6. 村松慎一、池口邦彦、藤本健一、中野今治、小澤敬也:AAV-AADC によるパーキンソン病モデルサルの遺伝子治療. Progress in Medicine 23:2784-2786、2003.
7. 中野今治:Parkinson 病の遺伝子治療に向けて. 医学の歩み Vol. 208, No.6: 589-595、2004.
8. 中野今治:パーキンソン病の遺伝子治療. 最新医学 59 (No.7):1611-1619、2004.
9. 奈良優子、村松慎一、中野今治:ES 細胞による治療. 特集 パーキンソン病 日本臨床, 62(9):1643-1647、2004.

学会発表

1. 江隅英作、池口邦彦、森田光哉、小島 進、中野今治：筋萎縮性側索硬化症(ALS)におけるアポトーシス関連蛋白 Apaf-1 の発現解析. .第 43 回日本神経学会総会、札幌、2002 年 5 月 30 日 (プログラム・抄録集 p.170).
2. 江隅英作、小島進、池口邦彦、森田光哉、中野今治：筋萎縮性側索硬化症(ALS)におけるアポトーシス関連蛋白 Caspase-3 の発現解析. 第 44 回日本神経学会総会、横浜、2003 年 5 月 17 日. (プログラム抄録集：p.256)
3. 永田三保子、高橋将文、村松慎一、上田泰次、花園 豊、末盛博文、池田宇一、中野今治、小林英司、長谷川護、小澤敬也、中辻憲夫、島田和幸：サル ES 細胞由来心筋細胞への遺伝子導入. 第 2 回日本再生医療学会総会、神戸、2003 年 3 月 11-12 日. (日本再生医療学会雑誌 VOL.2 Suppl 2003 p105)
4. 中野今治：パーキンソン病の遺伝子治療－臨床応用を目指して (シンポジウム). 第 44 回日本組織細胞化学会、第 35 回日本臨床電子顕微鏡学会合同学術集会、東京、2003 年 10 月 31 日 (29 日-31 日) (講演プログラム・予稿集 P.37)
5. 永田三保子、嶋崎晴雄、澤田幹雄、森田光哉、中野今治：II 型呼吸不全で発症し、ステロイド治療で人工呼吸器を離脱できた PBC 合併ミオパチーの 1 例. 第 167 回日本神経学会関東地方会、東京、2003 年 11 月 29 日.
6. 中野今治：神経変性疾患と遺伝子治療. 第 24 回日本臨床薬理学会年会シンポジウム「再生医療と臨床薬理」、横浜、2003 年 12 月 12 日 (11-12 日).

2) 海外

口頭発表	7 件
原著論文による発表	21 件
それ以外 (レビュー等) の発表	4 件

そのうち主なもの

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

論文発表

1. Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shizuma N, Kawasaki K, Ono F., Shen Y, Wang LJ, Mizukami H, Kume A, Matsumura M, Nagatsu I, Urano F., Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I, and Ozawa K: Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesizing enzymes. Hum Gene Ther. 13:345-354. 2002.
2. Wang L, Muramatsu S, Lu Y, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada K, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Urano F, Ichinose H, Nagatsu T, Nakano I, and Ozawa K.: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. Gene Ther: 9(6) 381-389, 2002.