

3. Wang L-J, Lu Y-Y, Muramatsu S, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Matsushita T, Hanazono Y, Kume A, Nagatsu T, Ozawa K, Nakano I: Neuroprotective effects of glial cell line-derived neurotrophic factor mediated by an adeno-associated virus vector in a transgenic animal model of amyotrophic lateral sclerosis. *The Journal of Neuroscience* 22: 6920-6928, 2002.
4. Okada T, Nomoto T, Shimazaki K, Wang L-J, Lu Y-Y, Matsushita T, Mizukami H, Urabe M, Hanazono Y, Kume A, Muramatsu S, Nakano I, Ozawa K: Adeno-associated virus vectors for gene transfer to the brain. *METHODS* 28: 237-247, 2002.
5. Shin-ichi Muramatsu, Lijun Wang, Kunihiko Ikeguchi, Ken-ichi Fujimoto, Imaharu Nakano, Keiya Ozawa: Recombinant adeno-associated viral vectors bring gene therapy for Parkinson's disease closer to reality. *J Neurol* 249, (Suppl 2) II/36- II/40, 2002.
6. Ozawa K, Muramatsu S, Fujimoto K, Ikeguchi K, Shen Y, Wang L, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Ichinose H, Nagatsu T, Terao K, Nakano I: Gene therapy for Parkinson's disease using AAV vectors. *Mapping the Progress of Alzheimer's and Parkinson's disease*. Edt by Mizuno et al. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002, p459-462. (総ページ 565)
7. Muramatsu S, Wang L-J, Ikeguchi K, Fujimoto K, Okada T, Mizukami H, Hanazono Y, Kume A, Nakano I, Ozawa K: Adeno-associated viral vectors for Parkinson's disease. *International Review of Neurobiology* 55: 205-222. 2003.

学会発表

1. Nakano Imaharu: Gene therapy for neurodegenerative diseases- preclinical studies on animal models involving adeno-associated virus (AAV) vectors. *The 21st Century Centre of Excellence (COE) Program First International Symposium on Molecular Medicine for Neurological Disorders, Neural Development and Differentiation*. Nagoya, March 25-26, 2004.
2. Muramatsu Shin-ichi, Li Xiao-gang, Okada Takashi, Kodera Mika, Nara Yuko, Takino Naomi, Ikeguchi Kunihiko, Urano Fumi, Ichinose Hiroshi, Nakano Imaharu, Ozawa Keiya: A fail-safe system for gene therapy of Parkinson's disease; Application of removable expression cassette to prevent overproduction of dopamine in a rat model. *The American society of gene therapy's 7th annual meeting*. Minneapolis, June 2-6, 2004.
3. Xiao-gan Li, Shin-ichi Muramatsu, Takashi Okada, Mika Kodera, Yuko Nara, Naomi Takino, Kunihiko Ikeguchi, Fumi Urano, Hiroshi Ichinose, Imaharu Nakano, Keiya Ozawa: Inducible reduction of transgene expression as a Fail-Safe System for Gene Therapy of Neurodegenerative Diseases. *The 10th Annual Meeting 2004 THE JAPAN SOCIETY OF GENE THERAPY*. Tokyo, August 5-6, 2004.

4. Shin-ichi Muramatsu, Takeharu Kakiuchi, Fumiko Ono, Yuko Nara, Mika Kodera, Naomi Takino, Shingo Nishiyama, Norihiro Harada, Dai Fukuyama, Junko Tshuchida, Kunihiro Ikeguchi, Ken-ichi Fujimoto, Keiji Terao, Hideo Tsukada, Imaharu Nakano, Keiya Ozawa: *In Vivo* Monitoring of transgene expression in a primate model of Parkinson's disease; Potential application of positron emission tomography in gene therapy. The 10th Annual Meeting 2004 THE JAPAN SOCIETY OF GENE THERAPY. Tokyo, August 5-6, 2004.

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".
2. International Patent Application No. PCT/US02/41010 entitled "Adeno-Associated Virus-Mediated Delivery of GDNF to Skeletal Muscles".

2. 実用新案登録

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8）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：祖父江元 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科

0. 分担研究者研究課題

筋萎縮性側索硬化症、球脊髄性筋萎縮症
の分子生物学的研究

1. 研究目的

近年、神経細胞に対して毒性を有する不溶性タンパク質の蓄積が、様々な神経変性疾患の原因として注目されている。筋萎縮性側索硬化症(ALS)やパーキンソン病(PD)などの神経変性疾患においては、ユビキタスに存在する蛋白質が特定の神経部位に選択的に蓄積し障害する特徴があるが、その機序は全く不明である。

我々が同定した新規ユビキチンリガーゼ Dorfin は、*in vitro* において異常蛋白質を認識し、神経細胞保護活性を有している。本研究では、ALS や PD などの神経変性疾患において、病変特異的に出現するユビキチン化蛋白質凝集体形成への Dorfin の関与や Dorfin 蛋白質複合体の構成成分の同定などを行った。

2. 研究方法

ALS, PD ヒト剖検脳・脊髄および変異 SOD1 トランスジェニックマウス脊髄を用いて、免疫組織化学的、生化学的分析を行った。Dorfin を発現させた培養神経細胞モデルを用いて、Dorfin の神経細胞保護メカニズムの解析および、Dorfin 蛋白質複合体のマススペクトロメトリー解析を行い Dorfin 結合蛋白質の探索を行った。

(倫理面への配慮)

事前に名古屋大学大学院医学系研究科倫理委員会より承認を得、剖検病理標本

の収集および使用にあたっては十分な説明を行い文書により同意を得て行った。名古屋大学動物実験指針にもとづき、実験動物の苦痛の除去・軽減に注意しつつ実験を行った。

3. 研究結果及び考察

Dorfin は、ヒト脊髄より我々が同定した新規ユビキチンリガーゼであるが、孤発性および家族性 ALS や PD, DLB, MSA などの α -synucleinopathy の病変部位のニューロン内ユビキチン化封入体に局在していた。変異 SOD1-Tg マウスを用いた検討により、Dorfin は *in vivo* において病変選択的に変異 SOD1 と結合した。また、Dorfin の神経細胞保護効果が、細胞質内での変異蛋白質ユビキチン化分解により、変異蛋白質のミトコンドリアへの移行に伴うアポトーシス経路の活性化を抑制することによることや、Dorfin の活性に VCP/p97 蛋白質が必要であることを新たに見出した。Dorfin は、*in vivo* において神経毒性を有する異常蛋白質を病変特異的に認識・除去しうる活性を有することが明らかになった。

4. 評価

1) 達成度について

新規分子 Dorfin の機能解析を行うことにより、ALS や PD を始めとする神経変性疾患の病態に果たす Dorfin の役割を詳細に明らかにし、さらに Dorfin の機能制御に重要な蛋白質の同定を行うことができ、十分に本研究の目的を達成することがで

きた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

ALS や PD を始めとする α -synucleinopathy では、いずれも広汎に発現している原因タンパク質が、神経系の一部分のみに選択的な病変を引き起こしている。今後の ALS・PD 研究においては、病変選択性の分子機序の解明が中心的課題の一つとなるものと考えられる。本研究は、我々が世界に先駆けて同定した変異 SOD1 特異的なユビキチンリガーゼである Dornfin をツールとして、未解明の病変選択性の分子機序にアプローチし、さらに、Dornfin によるユビキチン・プロテアソーム系を標的とした新規治療戦略を開拓しようとする極めてオリジナリティーが高く、将来の神経難病の治療法開発にも重要な示唆を与える研究であると考えられる。

3) 今後の展望について

Dornfin を高発現するトランスジェニックマウスと神経変性疾患モデルマウスとを交配することにより、Dornfin の治療効果の解析が既に進行中である。今後、神経難病の治療に重要になると推測されるユビキチン・プロテアソーム系の活性化に基づいた新規神経変性疾患治療戦略の開発や神経変性疾患の病変選択性の分子機序の解明を行ってゆきたい。

4) 研究内容の効率性について

ヒト剖検組織より新規の神経変性疾患病態関連分子を同定し機能解析を行い、さらに培養細胞モデル・疾患モデル動物の開発から新規治療戦略の検討へと研究を進めてきた。国際的にも高い評価を受けている論文も多数発表しており、極めて効率的に広範囲に渡る研究を行うことができた。

5. 結論

Dornfin は、病変選択的な異常蓄積蛋白質の識別とユビキチン化封入体形成に関与することにより、神経組織の保護に関与している可能性が推測され、Dornfin の発現増強によるユビキチン・プロテアソーム系を標的とした、神経変性疾患の新規治療戦略は有望であると思われる。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 128 件

原著論文による発表 45 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

2) 海外

口頭発表 22 件

原著論文による発表 65 件

それ以外 (レビュー等) の発表 5 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) Ishigaki S et al. J Biol Chem. in press. (2004)

(2) Takeuchi H et al. J Neurochem. 89, 64-72 (2004)

(3) Hishikawa N et al. Am J Pathol. 163, 609-19. (2003)

(4) Ito T et al. J Biol Chem. 278, 29106-14. (2003)

(5) Ando Y et al. Neurochem Res. 28, 839-46. (2003)

(6) Niwa J et al. J Biol Chem. 277, 36793-8. (2002)

(7) Ishigaki S et al. FEBS Lett. 531,

354-8. (2002)

(8) Takeuchi H et al. Brain Res. 949, 11-22. (2002)

(9) Ishigaki S et al. J Neurochem. 82, 576-84. (2002)

(10) Yoshihara T et al. J Neurochem. 80, 158-67. (2002)

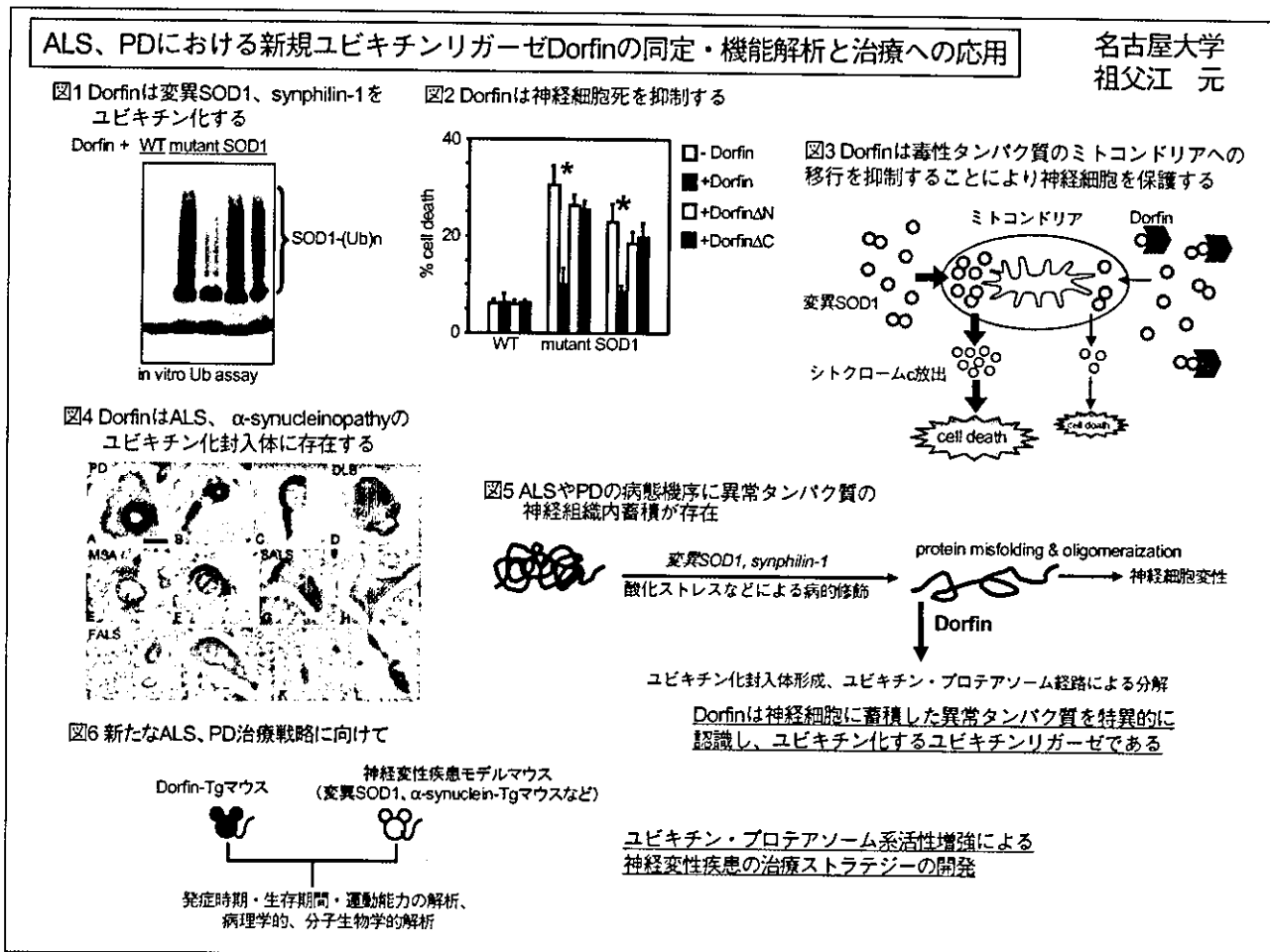
学会発表

7. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他



<ALS、PDにおける新規ユビキチンリガーゼDorfinの同定・機能解析と治療への応用>

我々が同定した新規ユビキチンリガーゼDorfinは、in vitroにおいて変異SOD1やsynphilin-1をユビキチン化してプロテアソームによる分解を促進する。Dorfinのin vitroにおける神経細胞保護効果は、細胞質内での変異蛋白質ユビキチン化分解により、変異蛋白質のミトコンドリアへの移行に伴うアポトーシス経路の活性化を抑制することによることを明らかにした。さらにDorfinは孤発性および家族性ALSやPD, DLB, MSAなどのα-synucleinopathyの病変部位のニューロン内ユビキチン化封入体に局在していた。Dorfinは、酸化ストレスなどによる病的修飾を受けた変異SOD1やsynphilin-1などの神経毒性を有する異常蛋白質を病変特異的に認識・除去する活性を有すると考えられる。Dorfinを高発現するトランスジェニックマウスと神経変性疾患モデルマウスとを交配することにより、Dorfinの治療効果の解析が既に進行中である。今後、神経難病の治療に重要になると推測されるユビキチン・プロテアソーム系の活性化に基づいた新規神経変性疾患治療戦略の開発や神経変性疾患の病変選択性の分子機序の解明を行っていきたい。

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：川井 充 国立病院機構東埼玉病院

0. 分担研究者研究課題

神経変性疾患における効用値 QOL 測定の妥当性

1. 研究目的

神経難病を対象に測定された効用値が、尺度間で乖離することが報告され、その妥当性が問題となっている。そこで神経変性疾患を対象に各種 QOL 尺度を測定し、効用値 QOL を評価に用いることの妥当性を検証した。

2. 研究方法

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 12 名、パーキンソン病 (PD) 93 名を対象に、受診時に臨床尺度、ADL 尺度を測定し、自己記入郵送回答で QOL 尺度を測定した。Spearman 順位相関係数 ρ を算出して尺度間の相関を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究の計画は当院倫理委員会に承認され、対象者からは同委員会承認の書面による説明に基づいて参加の同意を得た。

3. 研究結果及び考察

臨床尺度および ADL 尺度は相互に有意に相関した。異なる効用値 QOL 尺度である EQ-5D および HUI の結果は ALS および PD のいずれでも有意に相関したが、算出された効用値に乖離がみられた。効用値 QOL 尺度と疾患特異的 QOL 尺度、臨床尺度および ADL 尺度には有意な相関がみられた。視覚評価法による「主観的健康度」は他の QOL 尺度、臨床尺度および ADL 尺度との相関が乏しかった。

4. 評価

1) 達成度について

当研究班の主たる研究対象疾患である ALS および PD について効用値 QOL 測定の妥当性を検証し、課題を達成した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

神経変性疾患を対象に臨床尺度、ADL 尺度および各種 QOL 尺度を同時測定し相関を検討した報告はなく、本邦から当該疾患のエビデンスを発信できた。

3) 今後の展望について

神経変性疾患患者の QOL と、本邦の療養環境の向上のために、神経変性疾患患者の QOL を左右する因子は何か、それをいかに把握するか、という課題を解決する必要がある。

4) 研究内容の効率性について

神経難病に対して一意的に算出された効用値を医療政策決定に利用することが必ずしも妥当でないことを本研究で明らかにした。

5. 結論

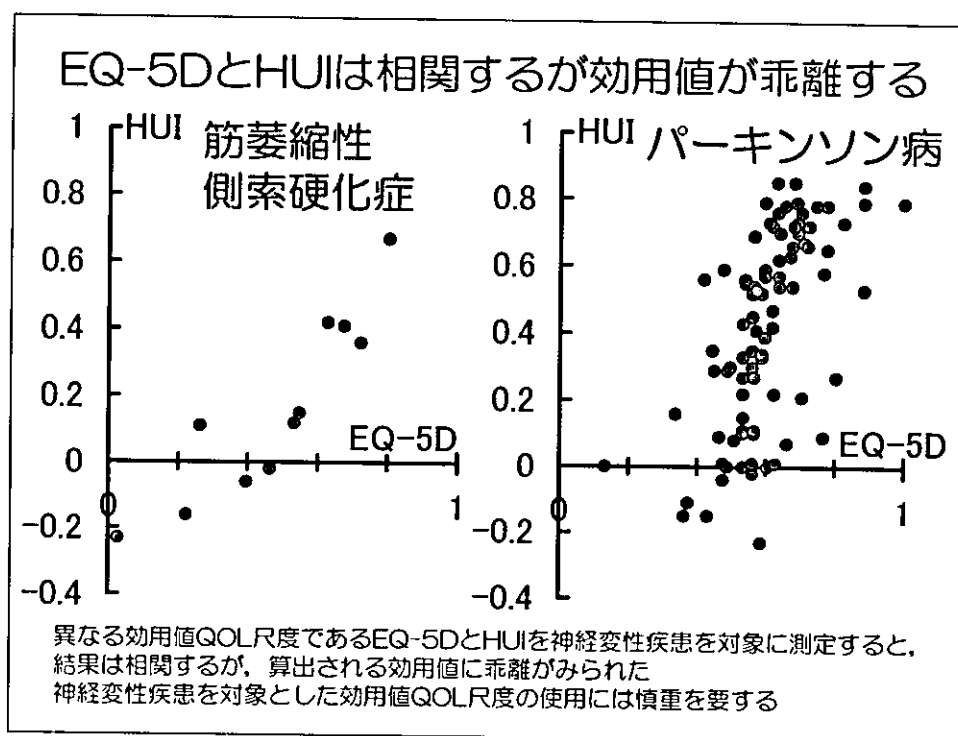
神経変性疾患患者で測定した効用値は臨床尺度や ADL 尺度と相関し、異なる尺度では算出される効用値は相互に相関するが、値に乖離がみられた。また視覚評価法による「主観的健康度」は効用値との相関が乏しかった。神経変性疾患に対する効用値 QOL 尺度の使用と解釈は、以上をふまえた慎重な取扱いを要する。

6. 研究発表

この研究内容に関しては論文を準備中ですが、学会発表、論文公表はおこなっておりません。

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 | なし |



QOL尺度は疫学研究や医療評価研究、医療政策決定に用いられるようになり、QOL尺度で算出された効用値から質調整生存年を計算する試みがなされている。効用値QOL尺度を神経変性疾患の評価に用いることの妥当性を検証するために、各種QOL尺度の同時測定を行なった。筋萎縮性側索硬化症およびパーキンソン病において、効用値QOL尺度EQ-5DおよびHUIの結果は相関し、重症度やADLレベルとも相関したが、2種類の尺度で算出された効用値には乖離がみられた。神経変性疾患を対象とした効用値QOL尺度の使用には慎重を要することが明らかとなった。

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：森若文雄 北海道医療大学心理科学部

0. 分担研究者研究課題

パーキンソン病の QOL 評価

1. 研究目的

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することを目的とした。

2. 研究方法

パーキンソン病友の会・北海道支部の協力を得て、PD 患者に自己記入質問紙を郵送し、調査した。満足度、生きがい、幸福感などの主観的 QOL を、①Mishel の病気の不確かさの尺度・コミュニティ版、②尾関のコピーング尺度、③川南らの難病患者者に共通の主観的 QOL 尺度を用い、総合的に評価した。

(倫理面への配慮)

患者調査等において、研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による不利益が起らないように十分に配慮し、実施した。

3. 研究結果及び考察

PD 患者 152 名 (回収率 42.7%) から回答を頂き、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、身体的な安定を実感できること、社会とのつながり、不確かさの軽減が重要で、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。

4. 評価

1) 達成度について

パーキンソン病患者の主観的 QOL に影響を与える社会心理学的な要因を明らかにすることができた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

PD の QOL 評価では身体的要因のみならず、精神心理社会的な要因も配慮する診療、支援の重要性を明らかにした。

3) 今後の展望について

PD の診療、支援に寄与するように、疾患特性と QOL に影響を与える要因を解明する。

4) 研究内容の効率性について

自己記入調査用紙を用いて、効率的に検討できた。

5. 結論

PD 患者の身体的要因のみならず社会心理的要因も主観的 QOL に大きな影響を与えていることが明らかとなった。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	2件
原著論文による発表	4件
それ以外 (レビュー等) の発表	10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

森若文雄、ほか：運動ニューロン疾患の現状と展望 (日本内科学誌 92 巻・1485・2003)

学会発表

2) 海外

口頭発表	0件
原著論文による発表	3件
それ以外 (レビュー等) の発表	0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

Sudo K, et al: Mexiletine on segmental hyperhidrosis (J Neurol Neurosurg Psychiatry · 73 · 351 · 2002)

学会発表

Moriwaka, F, et al: The diagnostic process in amyotrophic lateral sclerosis in Hokkaido, Japan, the 14th International Symposium on ALS/MND, Milan, Italy, 2003

Isonishi K, Moriwaka F, et al:

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得 : 特になし
2. 実用新案登録 : 特になし
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 10) 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：戸田達史 大阪大学大学院医学研究科

0. 分担研究者研究課題

パーキンソン病と関連疾患の遺伝子多型と発症リスクの研究

1. 研究目的

パーキンソン病疾患感受性遺伝子を同定するとともに、SNP と各薬剤への反応性、副作用との関連を明らかにしテラーメイド治療法を確立することをめざす。

2. 研究方法

ゲノムワイドマイクロサテライト関連解析、多数の候補遺伝子 SNP に基づく階層化を考慮した大規模関連解析、または罹患同胞対法などを行う。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、大阪大学をはじめ採血施設でも、指針にそった倫理委員会による承認を得ている。

3. 研究結果及び考察

pooled DNA 法によるゲノムワイドマイクロサテライト関連解析で約27,000マーカー全てに関して関連解析を行い、8%のマーカーで関連 ($p < 0.05$) を認めた。これらに関して2次3次スクリーニングを行い、候補領域を絞り込んでいる。

また患者・対照各190人で122個の候補遺伝子上の267個のSNPsを解析した結果、16個の遺伝子上の計22個のSNPs

が1次スクリーニングで残っている。

4. 評価

1) 達成度について

順調に進んでいるが、大規模なスタディなので、疾患感受性遺伝子同定まではいたっていない。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

2001-2002年にかけて、数施設から罹患同胞対法による連鎖領域の報告がはじめてなされた。米国、アイスランド、日本などの数施設がPDの疾患感受性遺伝子を同定すべくしのぎを削っているが、我々のグループでは系統だてて大規模に解析を進めている。

3) 今後の展望について

次の3年間には数個の疾患感受性遺伝子や薬剤効果に影響するSNPなどが、同定されると考えられる。

4) 研究内容の効率性について

pooled DNA法自体、時間費用を約100分の1に節約できるが、今後新たなテクノロジーが登場することが期待されている。

5. 結論

パーキンソン病疾患感受性遺伝子同定を目的として2通りの大規模な関連解析を行い、今後の有望な成果が期待される。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 36 件

原著論文による発表 0 件

それ以外 (レビュー等) の発表 33 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

佐竹渉、戸田達史 パーキンソン病の
分子遺伝学 神経進歩 48:741-749, 2004

学会発表

戸田達史、廣田勇士、佐竹渉、百瀬義雄、
村田美穂、水田依久子、田宮元、山本光
利、服部信孝、猪子英俊 ゲノムを基盤
とした孤発性パーキンソン病遺伝子同定
へのアプローチ 日本分子生物学会シン
ポジウム 2003 年 1 2 月

2) 海外

口頭発表 10 件

原著論文による発表 25 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

Momose Y, Murata M, Kobayashi K,
Tachikawa M, Nakabayashi Y, Kanazawa I,
Toda T. Association studies of multiple
candidate genes for Parkinson's
disease using single nucleotide
polymorphisms. Ann Neurol 51:133-136,
2002

Maraganore DM, Lesnick TG, Elbaz A,
Chartier-Harlin M-C, Gasser T, Kroeger
R, Hattori N, Mellick GD, Quattrone A,

Satoh J, Toda T, Wang J, Ioannidis JPA,
de Andrade M, Rocca WA, the UCHL1 Global
Genetics Consortium. UCHL1 is a
Parkinson's disease susceptibility
gene. Ann Neurol 55:512-521, 2004

Hatano Y, Li Y, Sato K, Asakawa S,
Yamamura Y, Tomiyama H, Yoshino H,
Asahina M, Kobayashi S, Hassin-Baer S,
Lu CS, Ng AR, Rosales RL, Shimizu N,
Toda T, Mizuno Y, Hattori N. Novel PINK1
mutations in early-onset parkinsonism.
Ann Neurol 56:424-427, 2004

学会発表

Toda T, Momose Y, Murata M, Tamiya G,
Hattori N, Yamamoto M, Mizuno Y, Inoko
H. Genome-wide microsatellite
association studies for Parkinson's
disease by using the pooled DNA method.
HGM 2003, Cancun, Mexico, April, 2003

Toda T, Satake W, Mizuta I, Hirota
Y, Momose Y, Tamiya G, Inoko H
Yamamoto M, Hattori N, Murata M.
Genome-wide microsatellite
association studies for sporadic
Parkinson's disease by using the
pooled DNA method. International
Conference on Parkinson Disease and
Movement Disorders, Roma, June,
2004

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を 含む)

1. 特許取得

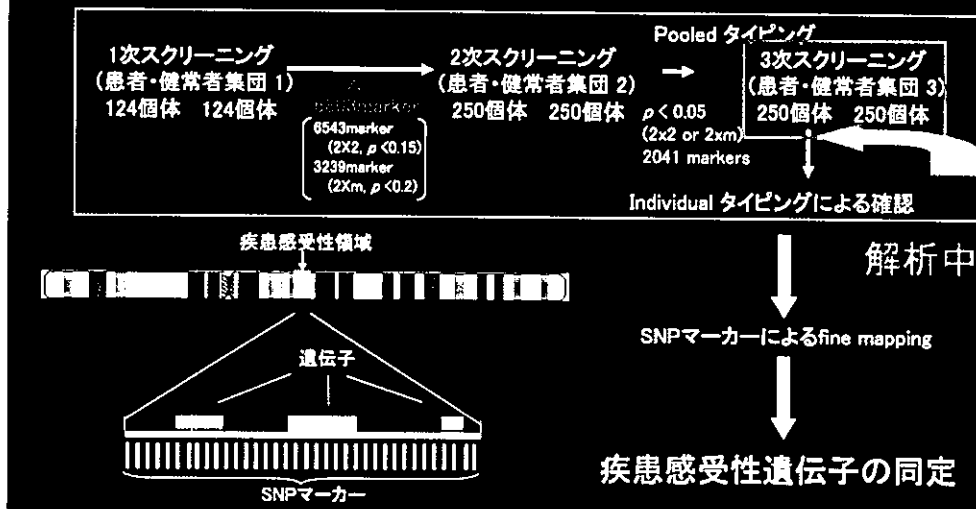
2. 実用新案登録

3. その他

なし

パーキンソン病と関連疾患の遺伝子多型と発症リスクの研究

<pooled DNAによるゲノムワイドマイクロサテライト関連解析 (27,000個)>
 全染色体上の約27,000マーカーの1次スクリーニングを終了し、約8%のマーカーで、 $p < 0.05$ を認めた。これらは別の集団でさらに2次3次スクリーニングを行っている。最終的に10箇所前後が残る可能性があり、残ったマーカーのごく近くの遺伝子がPD発症に関与している。



ゲノムワイドマイクロサテライト関連解析では、全染色体上の約27,000マーカーの1次スクリーニングを終了し、約8%のマーカーで、 $p < 0.05$ を認めた。これらは別の集団でさらに2次3次スクリーニングを行っている。最終的に10箇所前後が残る可能性があり、残ったマーカーのごく近くの遺伝子がPD発症に関与している。

パーキンソン病と関連疾患の遺伝子多型と発症リスクの研究

候補遺伝子SNPによる関連解析

現在の進行状況

267 SNPs (122 candidate genes)

190人対190人

一次スクリーニング
 カイ二乗検定

$p < 0.05$

22 SNPs (16 genes)

患者対照各900人以上二次スクリーニング中

多数の候補遺伝子SNPによる関連解析では、267個のSNPの一次スクリーニングにて22個のSNPが $p < 0.05$ で残った。これらは900人まで検体を増やして2次スクリーニング解析中である。これで残ったものが疾患感受性遺伝子であると考えられる。

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：青木正志 東北大学病院神経内科

0. 分担研究者研究課題

臨床的特徴のある変異 SOD1 を導入したトランスジェニックマウスによる ALS モデルの作製とその病態の解析

1. 研究目的

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により、臨床経過を規定する因子の同定を目標とする。

2. 研究方法

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、その病態を解析する。

(倫理面への配慮)

東北大学医学部の動物実験倫理規定に基づいた

3. 研究結果及び考察

臨床経過が大きく異なる L84V および H46R 変異を導入した Tg マウスを同一の遺伝的背景にて作製することにより、マウスにおいてもその臨床型違いを再現させることに成功した。さらには同マウスに

おいて認められる Lewy-body like inclusion の病態における役割および神経細胞死における小胞体ストレスの関与を明らかにした。

4. 評価

1) 達成度について

初期の目標はほぼ達成された

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

SOD1 遺伝子を導入した Tg マウスを利用した研究は非常に多いが、遺伝子変異の種類により臨床経過が大きく異なることに注目した研究は皆無であり、貴重である。

3) 今後の展望について

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。

4) 研究内容の効率性について

問題なし

5. 結論

今回作成された動物モデルは、ALS の臨床型を良く再現しており、その解析により ALS の臨床経過を規定する因子を明らかにすることが期待される。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 25 件

原著論文による発表 0 件

それ以外 (レビュー等) の発表 9 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 (総説)

青木正志、糸山泰人 治療戦略に有用な
筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の動物モデル
の開発、神経治療学 20 (2003) 527-532

青木正志、新世代の筋萎縮性側索硬化症
(ALS) の動物モデル、細胞工学 23 (2004)
838-841 など

学会発表

青木正志、SOD1 変異と神経細胞死
第 45 回日本神経学会総会シンポジウム
2004 年 5 月 12 日 東京 など

2) 海外

口頭発表 4 件

原著論文による発表 8 件

それ以外 (レビュー等) の発表 0 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

Tobisawa S et al., Mutant SOD1 linked to
familial amyotrophic lateral sclerosis,
but not wild-type SOD1, induces ER
stress in COS7 cells and transgenic
mice, Biochem Biophys Res Commun
(2003) 303:496-503

Miyazaki K et al., NEDL1, a novel E3
Ubiquitin ligase for dishevelled1, targets
mutant superoxide dismutase 1, J Biol
Chem (2004) 279:11327-35

など

学会発表

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 3) 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：阿部康二 岡山大学大学院医歯学総合研究科神経病態内科学

0. 分担研究者研究課題

ALS の病態解明と治療法の開発

1. 研究目的

ALS は有効な治療法のない難病で、患者だけではなく介護に当たる家族の苦しみは計り知れない。本研究は、ALS に対して真に有効な治療法の開発を目的とする。

2. 研究方法

ALS のモデルマウスとして、G93A 変異型 SOD1 トランスジェニックマウスを用いて、腰部脊髄腔内へ神経栄養因子 IGF-1 を持続的に注入した。定期的に運動機能を測定し、発症と生命予後について調べた。さらに、腰部脊髄組織を取り出して運動ニューロンの状態を検討した。

（倫理面への配慮）

動物に対しては、苦痛などを極力避けるように努力している。また匹数も必要最小限に留めた。

3. 研究結果及び考察

IGF-1 髄注療法は、ALS モデルマウスにおいて、運動症状の発症を遅延させ、生命予後を 10%程度延長した。また、明らかな副作用は認められなかった。

運動ニューロン数についても対照より約 40%多かった。さらに、IGF-1 投与群において生存因子 p-Akt, p-ERK, bcl-2 の発現が運動ニューロンで上昇していた。

以上の結果から、IGF-1 髄注療法は安全であり、また臨床的に有効性の高い治療法である可能性が示唆された。

今後は、ALS 患者への応用が期待される。

4. 評価

1) 達成度について

十分に達成できたと思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

学術的、国際的には、IGF-1 の中枢神経系への移行を髄注という形式で改善したことが重要であり、また臨床効果が生存因子誘導による運動ニューロン死の抑制によることを示した点が新しい知見と考える。ALS 患者への応用を前提にしていることから社会的意義も高い。

3) 今後の展望について

今後は ALS 患者への応用を検討していく予定である。

4) 研究内容の効率性について

臨床応用が見込まれ、効率的である。

5. 結論

IGF-1 髄注は、安全で有効性があると推定された。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 12 件

原著論文による発表 6 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

永野 功、横山正尚、森田潔、阿部康二「筋萎縮性側索硬化症患者に対する IGF-1 髄腔内投与療法の実状」神経治療学 20;551-556:2003.

学会発表

1. 日本神経学会第 44 回総会「VEGF 受容体 Flk-1 発現阻害による運動ニューロン死」(平成 15 年 5 月横浜)

2. 日本神経学会第 45 回総会「ALS モデルマウスに対する神経栄養因子 IGF-1 髄注の有効性」(平成 16 年 5 月東京)

2) 海外

口頭発表 4 件

原著論文による発表 7 件

それ以外 (レビュー等) の発表 0 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. Nagano I, Murakami T, Shiote M, Manabe Y, Hadano S, Yanagisawa Y, Ikeda J-E, Abe K. Single-nucleotide polymorphisms in uncoding regions of ALS2 gene of Japanese patients with autosomal-recessive amyotrophic lateral sclerosis. *Neurol Res* 25; 505-509: 2003.

2. Nagano I, Murakami T, Shiote M, Abe K, Itoyama Y. Ventral root avulsion leads to downregulation of GluR2 subunit in spinal motoneurons in adult rats. *Neuroscience* 2003; 117; 139-146.

学会発表

The 33rd Annual Meeting of Society for Neuroscience (11/8-12, 2003, New Orleans, LA, USA) Antisense ablation of a VEGF receptor, Flk-1 induces death of spinal motor neurons in rats exposed to hypoxia. Nagano I, Shiote M, Ilieva H, Nagata T, Abe K.

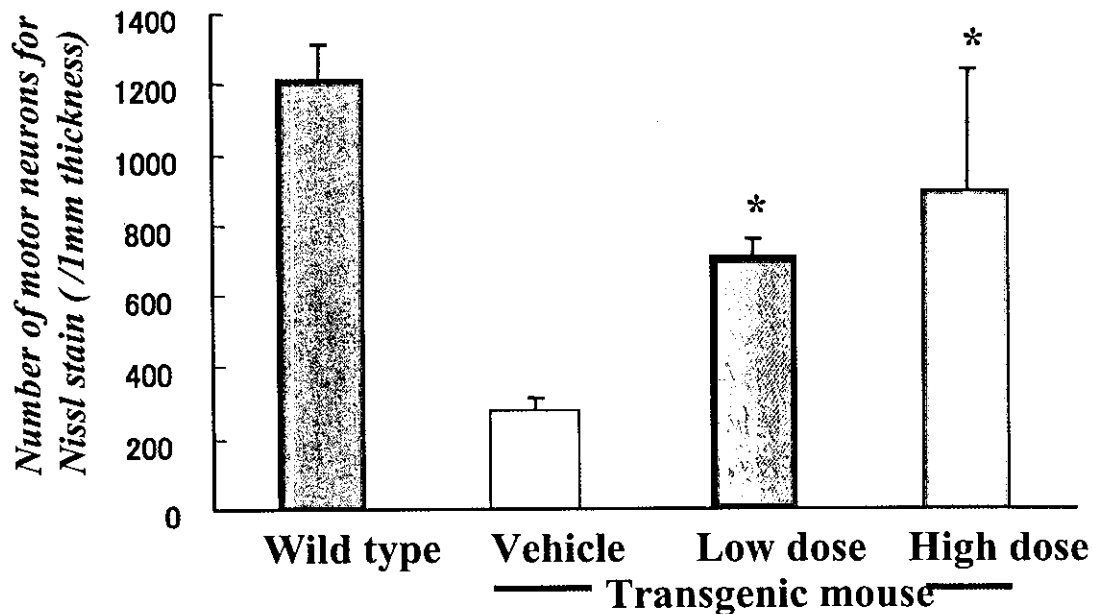
7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得：なし

2. 実用新案登録：なし

3. その他：なし

IGF-1髄注による運動ニューロン死の抑制



(解説) ALSモデルマウスとして、G93A変異型ヒトSOD1トランスジェニックマウス(G93A Tgマウス; low expressor)を用いた。140日齢よりIGF-1の腰髄腔内持続投与を、浸透圧(Alzet)ポンプにて、100 μ g/kg(low dose)または1 mg/kg(high dose)の用量で実施、対照としてはvehicleを注入した。定期的臨床的評価を行い、生命予後を調べた。さらに、動物を240日齢でsacrificeして、腰髄節を取り出し運動ニューロンの定量を行った。

その結果、IGF-1髄注にてG93A Tgマウスの生命予後は、low dose群で8.1%、high dose群で11.0%延長した。またrotarod法で調べた運動機能も、IGF-1投与群で有意に保持されていた。240日齢でL4髄節の運動ニューロン数は、図に示すように、vehicle投与群ではnon-transgenic littermates群に比べ、77.6%の減少を見たが、low dose群で40.7%、high dose群で20.9%の減少に留まり、IGF-1髄注によって、運動ニューロン死が有意に抑制されることが明らかになった。

* $p < 0.05$ versus vehicle treatment.

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：荒崎圭介 NTT 東日本関東病院神経内科

0. 分担研究者研究課題

運動単位推定数（MUNE）による ALS の症状の定量的解析

1. 研究目的

ALS の病態を定量的に把握するための臨床的マーカーとして運動単位推定数（MUNE）が有用か否かを明らかにすること。

2. 研究方法

特定の筋を支配する脊髄運動ニューロン数を算出する臨床神経生理学的手法により、ALS 患者からデータを得て解析した。

（倫理面への配慮）

検査に先立ち、ALS 患者にこの検査の方法、考え得る有害事象、結果の意義について十分に説明し、書面で同意を得た。

3. 研究結果及び考察

ALS 発症後、上位および下位運動ニューロンの変性のため MUNE は減少し、発症後 1 年で正常の約 30% になることが明らかとなった。さらにその減少過程は指数関数で近似しうることも明らかになった。このことは、MUNE が ALS の将来の進行度を予想するための手段となりうることを示唆している。

4. 評価

1) 達成度について

ALS の病態の定量的解析に留まらず、MUNE 検査法の確立とこの検査を容易にするためのソフトウェアの開発、ALS の進行度予想にまで研究成果を広げることができ、100%以上の達成度であった。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

MUNE の使用により、研究の場では世界中どこでも ALS の病態を定量的に解析でき、互いのデータを比較できる。さらに医療の場では、病状進行度を予測し placebo 群を省略することにより ALS の治験を簡便化できる可能性が高い。

3) 今後の展望について

ALS の自然経過を予想できればその治験において placebo 群を省略できる。したがって、ALS の新薬開発の手間を大幅に減らすことができる。

4) 研究内容の効率性について

本研究は、臨床医学研究者 1 名、工学系研究協力者 2 名で達成されたものであり、その効率性は極めて高いと考えられる。

5. 結論

わずか 3 名の研究者で、ALS の臨床病態の定量的解析を可能にしたのみならず、その進行予想を可能にする糸口を得ることができた。