

顔認知時に誘発された160mFは紡錘状回及びその近傍から電源が推定され、仮現運動視の刺激時に誘発された160mMはMT/V5野及びその近傍から推定された。パーキンソン病において健常者に比べ160mF潜時は延長し、160mMは有意差がなかった。一方、一次視覚野から誘発された磁場反応の潜時は有意差を示さなかった。従って、パーキンソン病では、顔の認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの異常が示唆される一方、MT/V5野に至る視覚経路には明らかな異常は認められなかった。検討したパーキンソン病は痴呆や視覚障害がなく、160mFの異常は一般的な知的機能障害や視覚異常を反映したものではないが、subclinicalな異常としてパーキンソン病の症状に何等かの影響を与えている可能性もあると思われる。

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：吉良潤一 九州大学医学研究院神経内科

0. 分担研究者研究課題

大脳基底核運動回路と小脳-大脳運動回路のネットワーク解析

1. 研究目的

老年健常人、およびパーキンソン病患者の運動は遅く拙劣になり、大脳基底核運動回路や小脳-大脳運動回路での機能連関変化が予測されるが、*invivo* での回路機構全体の機能連関は検討されていなかった。これらの回路機能を検討するための方法の確立を目的とした。

2. 研究方法

1)若年年健常人12例を対象として、運動課題(自己ペースと外的ペースで行う手指複雑配列運動)を行いながら機能的MRI (fMRI)を撮像する。2)課題遂行中に活性化される部位を解析する。3)その部位で運動パラメーターと信号変化との相関を解明。4)ネットワーク回路モデルを作成。

(倫理面への配慮)

九州大学倫理委員会の承認を得ている。

3. 研究結果及び考察

自己ペースにて補足運動野-右被殻後部-淡蒼球-視床-1次感覚運動野に、外的ペースでは左小脳前葉-歯状核-右視床-運動前野-1次感覚運動野に機能連関を認め、自己ペース運動では大脳基底核運動回路が、外的ペースでは小脳-大脳運動回路が重要な役割を果たしていることが示唆された。

4. 評価

1) 達成度について

これまでに若年健常人のグループ解析を終了し、方法論を確立した。研究の達成度としては、比較的順調に進んでいると思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

過去の大脳基底核回路・小脳回路の研究は、各々の領域が断片的に検討されているのみで、本研究の目的とする *in vivo* での回路機構全体の生理・病態機序は捕らえられていない。本研究はパーキンソン病の病態のシステムの理解の上で重要である。

3) 今後の展望について

この方法をパーキンソン病患者に応用し、大脳基底核・小脳回路内の異常な運動処理過程を推定する。

4) 研究内容の効率性について

私どもの研究室では、古くから変性疾患に対して、PETなどの脳機能画像の研究に取り組んでおり、fMRIを用いても効率的にアプローチできる。

5. 結論

手指運動課題と機能的MRI、ネットワーク解析を用いて、大脳基底核運動回路と、小脳-大脳運動回路全体の機能解析法を確立した。今後はパーキンソン病の病態のシステムの解明を行う予定である。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表 17 件

原著論文による発表 0 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

谷脇考恭, 飛松省三. 大脳基底核運動回路の in vivo 機能イメージング.
脳機能の解明, 生命科学の主潮流, 赤池紀扶編, 365-369, ガイア出版会, 福岡, 2002

学会発表

谷脇考恭, 岡山 晶, 飛松省三, 吉良潤一. 大脳基底核運動回路のネットワーク解析. 第
44 回日本神経学会総会

谷脇考恭, 岡山 晶, 飛松省三, 吉良潤一. 小脳に対する運動ベースの影響: fMRI 解析.
第 45 回日本神経学会総会

2) 海外

口頭発表 2 件

原著論文による発表 2 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

Taniwaki T, Okayama A, Yoshiura T, Nakamura Y, Goto Y, Kira J, Tobimatsu S. Reappraisal of
the motor role of basal ganglia: a functional Magnetic Resonance Imaging study. Journal of
Neuroscience, 23(8): 3432-3438, 2003.

Taniwaki T, Nakagawa M, Yamada T, Yoshida T, Ohyagi Y, Sasaki M, Kuwabara M,
Tobimatsu S, Kira J. Cerebral metabolic changes in early multiple system atrophy: A
PET study. Journal of the Neurological Science, 200(1-2): 79-84, 2002.

学会発表

Taniwaki T, Okayama A, Yoshiura T, Nakamura Y, Tobimatsu S: In vivo neuroimaging of the
motor circuit of the basal ganglia. The 32th Annual Meeting for Society for Neuroscience.

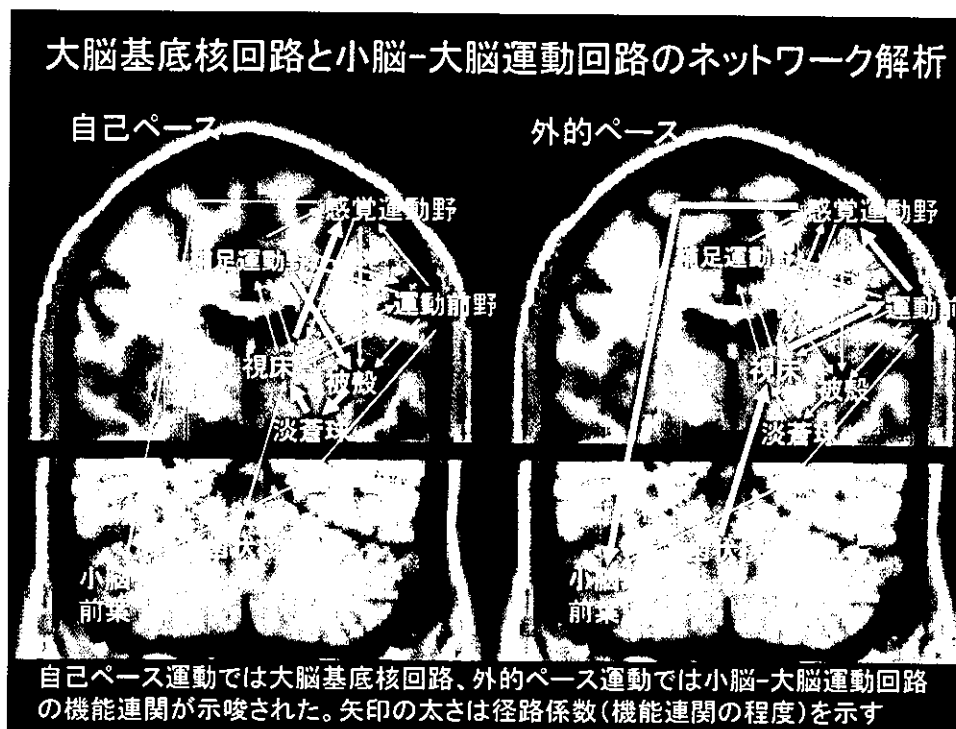
Taniwaki T, Okayama A, Yoshiura T, Nakamura Y, Goto Y, Tobimatsu S, Kira J. Different
activation patterns in the basal ganglia and cerebellar loops caused by self-initiated and
externally triggered movements. The 8th international Evoked Potentials Symposium

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



- ・パーキンソン病では、大脳基底核回路と小脳-大脳運動回路の機能連関の変化が予想されるが、in vivoでは検討されていなかった。
- ・サルの研究より、自己運動には基底核運動路、外的運動には小脳-大脳運動回路が関与しているため、この種の運動を用いて、両回路の機能連関をヒトで解析する方法の確立を目的とした。
- ・若年健常人を対象に、自己ペースまたは外的ペースの手指配列運動を課題とし、機能的MRIを行い、運動頻度との相関の高い部位でネットワーク解析を加えた。
- ・自己ペースでは補足運動野-被殻-淡蒼球-視床-感覚運動野間に、外的ペースでは、小脳前野-歯状核-視床-運動前野-感覚運動野-小脳前野間に機能連関を認め自己ペース運動では大脳基底核回路、外的ペース運動では小脳-大脳運動回路の活動が示唆された。
- ・両回路の機能変化を捕らえることが可能となり、パーキンソン病の病態生理解明に有用と考えられる。

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：久野貞子 国立精神・神経センター武蔵病院

0. 分担研究者研究課題

神経変性疾患克服のための調査研究

1. 研究目的：神経変性疾患の克服を目的にパーキンソン病(PD)、筋萎縮性側索硬化症(ALS)を対象に基礎的臨床的研究を行った。

2. 研究方法：①ドパミン神経毒 MPTP をサルに静脈注射し PD モデルを作成し、心交感神経機能を調べるためにMIBG心筋シンチグラムを測定した。②グリア細胞培養系に ALS 治療薬リルゾールを添加し神経栄養因子産生亢進の有無を調べた。③京都府4町のPD戸別疫学調査を1978年時の第1回調査と同一地域で行い23年間の有病率の変動を検討した。④PDにおける痴呆、睡眠障害、幻覚に関する臨床的研究を施行した。

(倫理面への配慮)：疫学研究および睡眠調査研究は、国立療養所宇多野病院倫理委員会の許可を受けて行った。

3. 研究結果及び考察：PDと異なりPDモデルサルではMIBG心筋シンチでの取り込み低下は見られなかった。この結果はPDではレビー小体が存在しこれとシンチの異常が対応するが、モデルサルではレビー小体が存在しないことが関与していると解釈した。②ALSの運動神経細胞保護を目的にグリア細胞培養系にグルタメート阻害薬のリルゾールを添加する実験系を作り、培養24時間後の培養液中のNGF, GDNF, BDNF等の神経栄養因子蛋白を測定したところ、産生の亢進とグリア細胞でのmRNAの増加が認められた。Neurosci Letters 310(2001)117-120に

発表した。③PDの粗有病率は156.9と23年前に同一地域で行った値の約3倍に増加し、訂正有病率も1.8倍であった。1978年の調査時は男性が多く重度例が多かったが、今回は女性が多く中等症が増えていた。神経内科 57(2002)478-484④進行期患者の非運動障害の臨床研究は、国内、国外の学会で発表し論文作成中である。

4. 評価：1) 達成度について；②，③の課題は部分的に達成し、論文も作成した。

①と②は、現在研究を続行中である。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について；②リルゾールが神経栄養因子の産生を遺伝子および蛋白レベルで亢進させたとの実験結果は世界的にも新知見でその意義は大きい。③PDの疫学調査として、戸別に同一地域で悉皆調査し、23年間に粗有病率が50から157と約3倍に増加したという結果は今後door to door調査が困難視されている現状では大変意義深い研究成果である。

3) 今後の展望について：①に関しては論文を完成させたい。②ALSの神経保護に関して他の薬剤についても検討する。③現在、国際誌に投稿中である。④進行期PDの治療阻害因子の解決のため、更なる検討を多数例で行う。国際誌または国内誌へ投稿準備中である。

4) 研究内容の効率性について：基礎的研究は実験計画から論文作成まで研究期間内に完成でき効率は良いが、臨床研究は患者を対象とするため効率は良いとはいえない。

5. 結論：パーキンソン病(PD)、ALS等神経変性疾患を克服するためにモデルサルやグリア細胞培養系で基礎研究を行い、ALS治療薬リゾールを培養液中に添加するとNGF, GDNF, BDNFの産生が著しく亢進した。この結果は世界的にも新知見であり、今後他の薬物を用いた検討を行いたい。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	51件
原著論文による発表	16件
それ以外(ビュー等)の発表	13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

久野貞子 パーキンソン病と鑑別すべき変性疾患 多系統萎縮症- 線条体黒質変性症を中心に- 診断と治療

92(5) : 772-776, 2004

久野貞子 脳深部刺激法の患者選択と術後経過 脳21 7(3) : 65(287)-67(289), 2004

久野貞子 パーキンソン病の疾患概念・病因・診断基準 日本臨牀 62(9) : 1603-1607, 2004

学会発表

久野貞子 第44回日本神経学会総会 2003年5月17日

アストロサイト培養系における神経栄養因子産生は、カベゴリンによって最も亢進した

久野貞子 第21回日本神経治療学会総会 2003年6月11-13日 郡山

パーキンソン病に対する塩酸セレギリンの有効性と安全性の評価

2) 海外

口頭発表	4件
原著論文による発表	20件
それ以外(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

Ohta K, Fujinami A, Kuno S, Sakakimoto A, Matsui H, Kawahara Y, Ohta M

Cabergoline stimulates synthesis and secretion of nerve growth factor, brain-derived neurotrophic factor and glial cell line-derived neurotrophic factor by mouse astrocytes in primary culture.

Pharmacology 71: 162-168, 2004.

Kuno S, Mizuta E, Yamasaki S, Araki I

Effects of pergolide on nocturia in Parkinson's disease : three female cases selected from over 400 patients.

Parkinsonism and Related Disorders 10 : 181-187, 2004

Yoshimura N, Kuno S, Michael B.Chancellor ,Willian C.de Groat, Seki S

Dopaminergic mechanisms underlying bladder hyperactivity in rats with a unilateral 6-hydroxydopamine(6-OHDA) lesion of the nigrostriatal pathway

British Journal of Pharmacology 139 : 1425-1432, 2003

学会発表

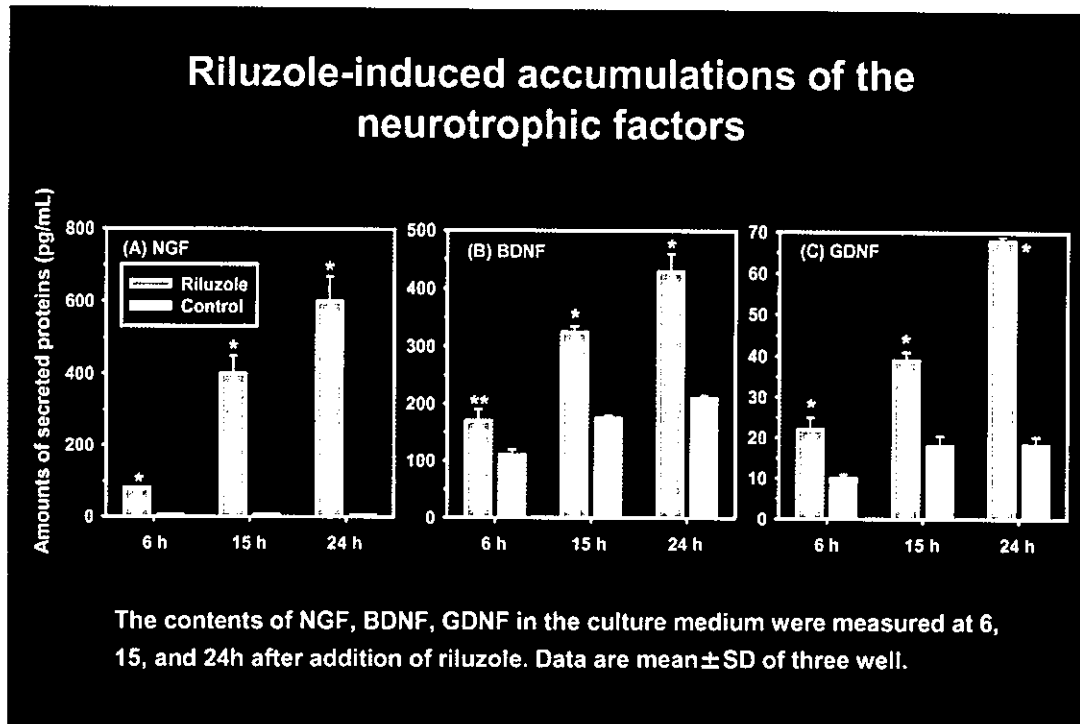
Third International Workshop on Dementia with Lewy Bodies and Parkinson' s Disease dementia, 17-20 September 2003, Newcastle upon Tyne U.K

Clinical examinations of dementia with Lewy bodies and Parkinson' s disease with dementia.

Oeda T, Kuno S, Mizuta E, Kitagawa N, Hayashi K

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治療薬リルゾールのマウス培養

アストロサイトにおける神経栄養因子産生促進作用

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の治療薬リルゾールは、運動神経と線条体神経の細胞死を軽減することや、MPTPで惹起されるパーキンソン病マウスに対して、ドパミン神経細胞への神経保護効果を示すことなどの報告がある。一方、神経栄養因子の低下が神経変性に関与している可能性があることや、神経栄養因子によって神経細胞死を免れることなどが報告されている。そこで本研究では、培養グリア細胞を用いて、リルゾールが神経栄養因子の合成促進作用を有するか否かをmRNAおよび蛋白レベルで検討した。方法は8日齢ICRマウス全脳由来培養アストロサイトを10%血清DMEM培養液にてdishに $2 \times 10^4/cm^2$ の密度でまき、細胞がconfluentになるまで培養後、無血清DMEM培養液中で1週間培養し細胞を静止期に導入する。その後、リルゾールを加え、経時的に細胞中のmRNAと、培養上清中の神経栄養因子の蛋白量を測定した。NGF, BDNF, GDNF蛋白量の測定には、我々が最近確立したELISA系を用いた。結果:リルゾールを添加24時間後の培養上清中に分泌される神経栄養因子は、コントロールに比べ、NGFでは109倍、BDNFでは2倍、GDNFでは3.1倍に上昇し、それらの蛋白発現は、mRNA発現により誘導されていた。リルゾールがもつグルタミン酸遊離阻害作用、グルタミン酸受容体の非拮抗的阻害以外に、神経栄養因子賦活作用を持つことを明らかにした。

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：近藤智善 和歌山県立医科大学神経内科

0. 分担研究者研究課題

1) パーキンソン病 (PD) の病態解析と治療法の開発

2) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の疫学的研究

1. 研究目的

1) パーキンソン病の病態生理を解明と新しい薬物的、非薬物的新治療法の開発。

2) 弧発型 ALS 発症要因の究明。

2. 研究方法

1) PD 及び Park 2 パーキンソニズム (ARJP) 剖検脳の catecholamine (CA) 合成酵素活性測定。すくみ足症例の脳血流シンチグラム (SPECT) による検討、薬物治療および下肢筋力増強訓練、QOL 測定。

2) 和歌山県内 ALS 発症関連要因の case control study と、多発・非多発地域住民を対象にした発症リスクの疫学調査。

(倫理面への配慮)

和歌山県立医科大学倫理委員会の承認。

3. 研究結果及び考察

1) ARJP 脳の CA 合成酵素は PD と比べ比較的保存されており、なんらかの代償機転の存在が示唆された。すくみ足評価尺度の信頼性・妥当性を検証し、下肢筋力増強訓練の有効性を明らかにした。脳血流 SPECT の検討から、後頭葉視覚連合野の機能低下がすくみ足に関与することを明らかにした。

2) 和歌山県の ALS 多発地域では男性の発症率が依然として高く生活環境要因の関

与が考えられた。和歌山県 ALS 患者では、二次産業就労者と脊椎疾患合併・手術歴のあることが発症リスクを高める。

4. 評価

1) 達成度について

1), 2) いずれも現在継続進行中の研究であり、達成半ばと考える。学術雑誌への投稿準備中。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

1) ARJP 脳の CA 合成酵素研究はこれまで報告が皆無で重要である。すくみ足の病態解析は国際的にも少なく、すくみ足の治療法もほとんど皆無であり、それらの研究は国際的に学術的、社会的意義が極めて大きい。

2) ALS 弧発例の病因は未だ明かではなく、国内・外の学術的積み重ねのひとつと位置付けられる。

3) 今後の展望について

1) パーキンソン病の難知性症状の治療法開発、予後改善へと進む。

2) 弧発型 ALS の発症要因を解明する。

4) 研究内容の効率性について

研究規模を勘案して比較的効率性はよいと考えられる。

5. 結論

1) パーキンソニズムの難知性症状の発現機序解明と治療に資する成果と考える。

2) 和歌山県における ALS 発症要因の解明の一助となる成果を得た。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	36	件
原著論文による発表	9	件
それ以外 (レビュー等) の発表	60	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) 近藤智善, 河本純子: パーキンソン病と QOL. パーキンソン病, 認知と精神医学的側面, 山本光利 編著, 中外医学社, 2003, pp296-306
- 2) 河本純子, 大生定義, 長岡正範, 鈴鴨よしみ, 紀平為子, 水野美邦, 伊藤陽一, 山口拓洋, 大橋靖雄, 福原俊一, 近藤智善: 日本人における Parkinson's disease Questionnaire-39 (PDQ-39) の信頼性評価. 臨床神経 43:71-76, 2003
- 3) 中西一郎, 河本純子, 三輪英人, 近藤智善: パーキンソン病の治療抵抗性振戦に対する zonisamide の効果. 脳と神経 55 (8): 685-689, 2003
- 4) 紀平為子, 広西昌也, 河本純子, 三輪英人, 近藤智善: 和歌山県における筋萎縮性側索硬化症の疫学調査—従来の調査特に 1989-1993 年調査と 1998-2001 年調査との比較—. 神経内科 59:526-532, 2003
- 5) 近藤智善, 広西昌也: 抗パーキンソン病薬による精神症状. 老年精神医学雑誌 15::833-839, 2004

学会発表

- 1) 近藤智善, 紀平為子, 三輪英人, 水谷喜彦, 服部信孝, 水野美邦: 若年性パーキンソニズム脳のドパミン (DA) 合成能の検討. 臨床神経学 42: 1295, 2002
- 2) 檜皮谷泰寛, 梶本賀義, 神吉しづか, 児玉理恵子, 森田修平, 中西一郎, 河本純子, 三輪英人, 前島伸一郎, 近藤智善: パーキンソン病における下肢筋力増強訓練: 転倒・すくみ足に対する効果. 臨床神経学 43:1077, 2003
- 3) 児玉理恵子, 檜皮谷泰寛, 神吉しづか, 森田修平, 中西一郎, 河本純子, 三輪英人, 前島伸一郎, 近藤智善: パーキンソン病の非薬物治療—下肢筋力増強訓練の試み. 臨床神経学 43: 1077, 2003
- 4) 河本純子, 中西一郎, 森田修平, 児玉理恵子, 紀平為子, 三輪英人, 近藤智善: パーキンソニズム症例における下肢筋力増強訓練 運動能力と心理的影響. 臨床神経学 43:1077, 2003
- 5) 中西一郎, 三輪英人, 近藤智善: ドパミンアゴニストによる治療底上げ効果の検討. 臨床神経学 43:1074, 2003

2) 海外

口頭発表	7	件
原著論文による発表	12	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) Kondo T: Neuroprotection by dopamine agonists and application of immunophilin ligands. Mizuno Y, Fisher A and Hanin I, (eds), In: Advances in Behavioral Biology Vol 51, Mapping the Progress of Alzheimer's and Parkinson's disease. Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2002, pp391-396
- 2) Kondo T: Initial therapy for Parkinson's disease:levodopa vs. dopamine receptor agonists. J Neurol 249 (Suppl 2):II/25-II29, 2002
- 3) Kondo T, Kodama R, Kohmoto J, Nakanishi I, Morita S, Hiwatani Y, Miwa H, Maeshima S: Effects of leg muscle training on Parkinson's disease. In New Trends in Alzheimer and Parkinson Related Disorders, Hanin I, Fisher A and Cacabelos R (eds), Monduzzi Editore, Medimond, 2003, pp39-43
- 4) Kihira T, Yoshida S, Yase Y, Ono S, Kondo T: Chronic low-Ca/Mg high-Al diet induces neuronal loss. Neuropathology 22:171-179, 2002
- 5) Miwa H, Kubo T, Morita S, Nakanishi I, Kondo T:Oxidative stress and microglial activation in substantia nigra following striatal MPP+. Neuroreport 15:1039-1044, 2004

学会発表

- 1) Kondo T, Kihira T: Community care in Japan. 4th International symposium of the Asian and Pacific Parkinson's disease association, Seoul, Korea, Oct 3-5, 2003
- 2) Kondo T, Nakanishi I, Miwa H: Subclinical doses of cabergoline enhance the potency of levodopa. 8th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Rome, Italy, June 13-17, 2004
- 3) Nakanishi I, Miwa H, Kondo T: A pilot cross over study of the effect of zonisamide and trihexyphenidyl on Parkinsonian tremor. 8th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Rome, Italy, June 13-17, 2004
- 4) Morita S, Miwa H, Kondo T: Effect of zonisamide on essential tremor: a pilot crossover study in comparison with arotinolol. 8th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Rome, Italy, June 13-17, 2004

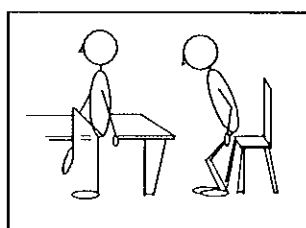
7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

すくみ足に対する下肢筋力増強訓練の効果

- ・パーキンソン病患者(16名)を対象に下肢筋力増強訓練(下図)を連日2ヶ月間行った。
- ・訓練後、下肢筋力は優位に増強し下肢拳上筋は有意に肥大した。また、パーキンソン病症状の有意な改善が認められたが、その効果は運動機能だけでなく精神機能(意欲)の改善も認められた(表)。すくみ足が改善した要因を検討した結果、すくみ足が改善した患者において筋力が顕著に改善していた。
- ・すくみ足は難治症状であるが、下肢の筋力を増強することによって改善したことから、下肢筋群の筋力不足が背景要因に関わっている可能性がある。
- ・下肢筋力増強訓練は、薬物抵抗性のすくみ転倒に対する有力な治療戦略と考えられる。下肢筋力増強訓練を行うことによって、薬物療法の効果が乏しいすくみ転倒が改善するだけでなく、精神的・心理的改善も期待でき、QOLの向上に寄与すると考えられる。

<難治性疾患克服研究事業>



上のような運動を1日3回、8週間毎日行った。
①腿あげ運動:左右100回ずつ計600回/1回
②立ち上がり運動:50回ずつ計150回/1日。

パーキンソン病スコア(UPDRS)

	訓練前	訓練後	P
合計スコア	24.3 ± 10.4	18.8 ± 8.6	0.0007
Part I (精神機能)	1.25 ± 1.1		0.56 ± 1.0
Part II (ADL)	10.9 ± 6.0		8.5 ± 5.2
Part III (運動機能)	12.2 ± 4.6	9.7 ± 3.6	0.005

(解説)

パーキンソン病患者における下肢筋力増強訓練の効果を検討した。16名のパーキンソン病患者を対象に①股あげ600回/日、②椅子からの立ち上がり150回/日、を連日2ヶ月間行った。下肢拳上筋の横断面積を計測では、訓練後、下肢拳上筋は有意に肥大していた。また、下肢筋力も優位に増強していた。訓練後、パーキンソン病症状も有意な改善が認められたが、その効果は下肢の運動機能だけでなくパーキンソン病症状の全般に及んでいた。さらに、精神機能(意欲)にも良い影響が認められた(表)。すくみ足が改善した要因を検討した結果、すくみ足が改善した患者において実質的に筋力の改善が顕著であった。すくみ足は難治症状であるが、下肢の筋力を増強することによって改善したことから、下肢筋群の筋力不足が背景要因の一部に関与している可能性がある。下肢筋力増強訓練を行うことによって、薬物療法の効果が乏しいすくみ転倒が改善するだけでなく、精神的・心理的改善も期待でき、QOLの向上に寄与すると考えられる。したがって、下肢筋力増強訓練は薬物抵抗性のすくみ転倒に対する有力な治療戦略と考えられる。

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：下濱 俊 京都大学大学院医学研究科臨床神経学

0. 分担研究者研究課題

ドーパミンニューロン死およびレビー小体形成とプロテアソームとの関係

1. 研究目的

パーキンソン病における中脳黒質ドーパミンニューロン死とレビー小体形成との関係についてプロテアソーム活性の点から検討した。

2. 研究方法

MPP⁺あるいは rotenone を用いた黒質を含む胎仔ラット腹側中脳初代培養 in vitro およびラット in vivo パーキンソン病モデルでドーパミンニューロン死ならびに α -シヌクレイン陽性封入体形成とプロテアソーム活性との関係について検討した。

（倫理面への配慮）

動物実験に関しては、京都大学医学部の内部規定にそって動物倫理を遵守して行なった。

3. 研究結果及び考察

MPP⁺あるいは rotenone 誘発ドーパミンニューロン死の過程でプロテアソーム活性の上昇がみられた。薬剤によりプロテアソーム活性を阻害するとドーパミンニューロン内に α -シヌクレイン陽性封入体が形成されたが、ドーパミンニューロン死は抑制された。ドーパミンニューロン死と封入体形成がプロテアソーム活性の点からは対極に位置する可能性が示唆された。また、プロテアソーム活性を阻害すると HSP70 が増大しており、細胞死抑制に関与している可能性が示唆された。

4. 評価

1) 達成度について

計画していた研究目的を達成できた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

従来、レビー小体形成はドーパミンニューロン変性の指標として捉えられてきたが、本研究からは、むしろ細胞が生存のために積極的に封入体を形成している可能性が示唆された。パーキンソン病の発症機序の解明ならびに今後の治療法の開発に新たな視点を提供したことに重要な意義がある。

3) 今後の展望について

パーキンソン病のドーパミンニューロン変性におけるミトコンドリア complex I 活性低下、プロテアソーム活性、封入体形成および内因性カテコールアミンの役割を明らかにし、パーキンソン病の発症メカニズムを解明し、新規治療法開発への道を開く。

4) 研究内容の効率性について

研究は、班員および共同研究者の連携のもとに極めて効率的に実施された。

5. 結論

MPP⁺あるいは rotenone 誘発パーキンソン病モデルでは、ドーパミンニューロン死の過程でプロテアソーム活性の上昇がみられた。プロテアソーム活性を阻害するとドーパミンニューロン死は抑制されるが、封入体形成が生じた。その際、分社シャペロン HSP70 の増大が観察された。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	4 件
原著論文による発表	0 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

澤田秀幸、下濱 俊：Lewy 小体型痴呆の生化学、Cognition and Dementia、4 巻、2005 年発行
予定

学会発表

パーキンソン病シンポジウム高松 2004 「パーキンソン病と痴呆」、2004 年、高松

第 32 回薬物活性シンポジウム、2004 年、大阪

第 12 回カテコールアミンと神経疾患研究会、2004 年、東京

第 44 回日本神経学会、2003 年、横浜

2) 海外

口頭発表	2 件
原著論文による発表	14 件
それ以外 (レビュー等) の発表	3 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

Sawada H, Kohno R, et al: Proteasome mediates dopaminergic neuronal degeneration, and its inhibition causes α -synuclein inclusions. J Biol Chem 279:10710-10719, 2004

Sakka N, Sawada H, et al: Dopamine is involved in selectivity of dopaminergic neuronal death by rotenone. Neuroreport 14:2425-2428, 2003

Shimohama S, Sawada H, et al: Disease model: Parkinson's disease. Trends Mol Med 9:360-365, 2003

学会発表

Ist International Symposium on Dopaminergic and Nondopaminergic Mechanisms in Parkinson's Disease, 2004, Osaka

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

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

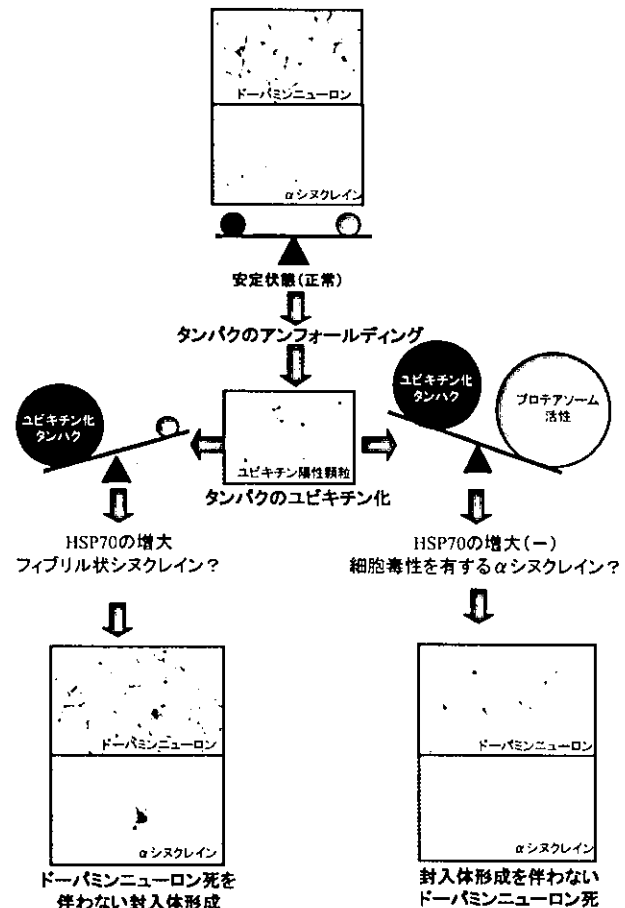
発明者：澤田秀幸、下濱 俊

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)

パーキンソン病モデルにおけるレビー小体形成と神経変性との関係

- ヒトで進行性のドーパミンニューロン変性を引き起こす神経毒であるMPP⁺を用いたパーキンソン病モデルで、ドーパミンニューロン変性と α シヌクレイン封入体形成との関係を検討した。
- MPP⁺モデルでは、プロテアソーム活性が軽度増大し、封入体を形成しないドーパミンニューロン死が生じる。一方、プロテアソーム活性を阻害すると α シヌクレイン陽性封入体出現するが、ドーパミンニューロン死は抑制された。
- プロテアソームを部分的に阻害することにより小胞体ストレスを生じず、分子シャペロンであるHSP70が増大することが観察された。
- MPP⁺と同様にミトコンドリア複合体I活性を抑制するロテノン誘発ドーパミンニューロン死もプロテアソーム阻害によりドーパミンニューロン死が拮抗された。ロテノン誘発ドーパミンニューロン死には内因性カテコラミンが重要な役割を果たすことがあきらかとなった。



(解説)パーキンソン病は中脳黒質ドーパミンニューロンの選択的細胞死とLewy小体と呼ばれる α シヌクレイン陽性封入体によって特徴づけられる。家族性パーキンソン病では、ユビキチン・プロテアソームの機能不全の関与が示唆されているが、孤発例パーキンソン病の成因は不明である。孤発型パーキンソン病では、脳、肝、血小板などでミトコンドリア複合体I活性が部分的に抑制されている。MPP⁺はMPTPの活性型毒素で、ヒトで進行性のパーキンソン病様症候と進行性のドーパミンニューロン変性を引き起こすことが明らかになっている唯一の物質である。MPP⁺はミトコンドリアに蓄積し複合体I活性を低下させ、ドーパミンニューロンの選択的細胞死を引き起こす。本研究では、MPP⁺によるドーパミンニューロン死と α シヌクレイン封入体形成との関係をプロテアソーム活性の点から検討した。MPP⁺によるドーパミンニューロン死では、軽度ながら有意にプロテアソーム活性が増大すること、その際には、 α シヌクレイン陽性封入体は形成されなかった。一方、プロテアソーム活性を抑制した場合には、 α シヌクレイン陽性封入体が少数のドーパミンニューロンに観察されたが、ドーパミンニューロン死そのものは抑制されることが示された。MPP⁺モデルでは、 α シヌクレイン封入体形成とドーパミンニューロン死との関係が、プロテアソーム活性の点からは必ずしも平行しておらず、むしろ対極的な現象である可能性が示された。従来、Lewy小体形成はドーパミンニューロン変性の指標ととらえられてきたが、本研究からは、むしろ細胞が生存のために積極的に形成している可能性が示唆される。また、孤発型パーキンソン病は、家族性パーキンソン病とは異なり、ユビキチン・プロテアソームの機能不全は関与していない可能性もできた。

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：高野弘基 新潟大学医歯学総合病院神経内科

0. 分担研究者研究課題

神経変性疾患の疾患感受性遺伝子の探索

1. 研究目的

進行性核上性麻痺(PSP)と皮質基底核変性症(CBD)は孤発性純粋タウパチであり、タウ遺伝子領域 H1 ハプロタイプ (H1)と相関する証拠が欧米白人で蓄積されてきている。本研究では、日本人の孤発性純粋タウパチでタウ遺伝子領域が関与するか否かを検討した。

2. 研究方法

PSP 32 人、CBD 9 人、前頭側頭葉型痴呆(FTD) 15 人のタウパチ群 56 人、65 歳以上の正常対照群 59 人のゲノム DNA を用いた。PSP は NINDS-SPSP 臨床診断基準、CBD は Gibbs の診断基準、FTD は Lund-Manchester 診断基準に従った。臨床診断であり、特に FTD は必ずしもタウパチとはいえない。

(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に従って、新潟大学医歯学総合病院遺伝子倫理委員会の承認を受けた。文書によりインフォームドコンセントを得た。

3. 研究結果及び考察

欧米白人と異なり、全例が H1 ハプロタイプであり、これを用いての相関解析はできなかった。さらに、日本人では本領域の連鎖不平衡構造が異なると予測された。rs242562 A/G とエクソン 4A C482T において、PSP と CBD に有意な相関がみられた。EM 法で推定した A - T ハプロタイプが危険ハプロタイプと考えられた。

4. 評価

1) 達成度について

タウ遺伝子領域で、日本人 PSP と CBD において相関する多型を見つけることが最小限必要と考えていた。しかし、研究途中では困難が予測された。最終的には発見でき、その意味で、十分な達成と考える。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

これまで、日本人 PSP と CBD はタウ遺伝子領域と相関する証拠がなかった。また、本研究を通じて、本領域の多型構造が、日本人と欧米白人で異なることが示唆された。この状況で、人種を越えた相関結果が得られたことは、遺伝学的に大変意義深い。

3) 今後の展望について

剖検例からのゲノム DNA は貴重ではあるが、今後は多数の剖検例検体を用い、検体の信頼性を高めた上で、相関領域の限定と原因 DNA 配列変化同定のため、解析を行う。

4) 研究内容の効率性について

多型解析の技術は進歩が著しく、研究効率は高い。また、タウ病理自体は比較的不変的な神経変性機構を代表していると考えられ、研究成果の応用効率は高いと想定される。

5. 結論

日本人においても、タウパチである PSP と CBD は、タウ遺伝子領域と相関することが示された。本領域にタウ病理を規定する遺伝因子が存在することが確信され、それを同定する必要がある。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	1件
原著論文による発表	0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

高野弘基、春日健作、小林央、西澤正豊：遺伝性痙性対麻痺の遺伝子的研究。脳と神経55(9):757-763, 2003

学会発表

高野弘基、西澤正豊、高橋均、柿田明美、小野寺理：進行性核上性麻痺とタウ遺伝子領域の関連。第45回日本神経学会総会 2004.5.14, 東京

2) 海外

口頭発表	0件
原著論文による発表	4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

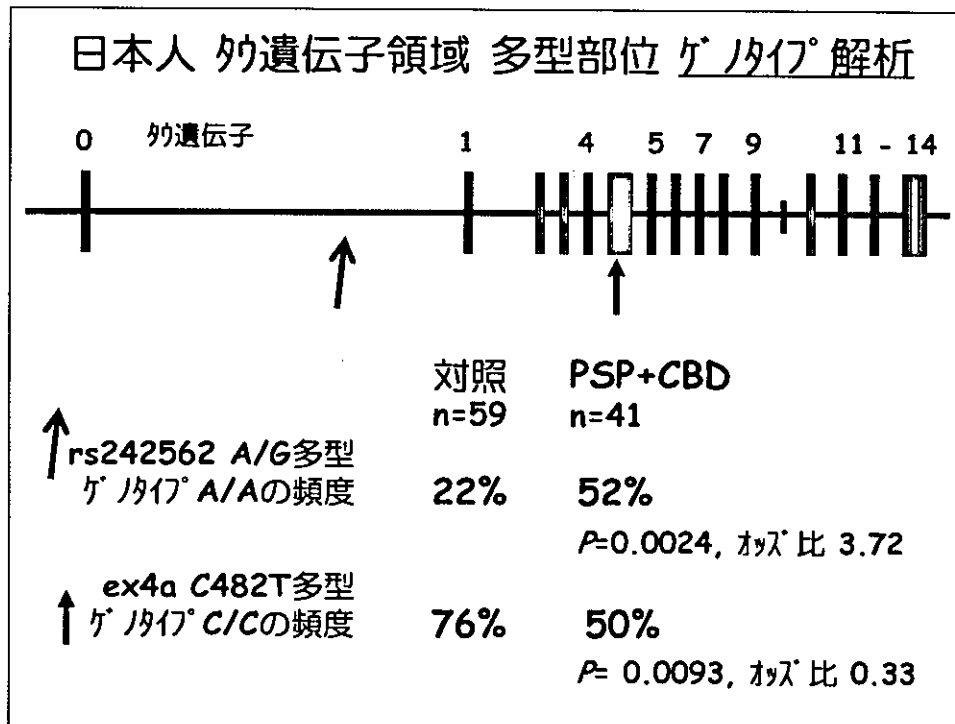
Yanase D, Komai K, Hamaguchi T, Okino S, Yokoji H, Makifuchi T, Takano H, Yamada M. Hereditary spastic paraplegia with frontal lobe dysfunction: A clinicopathologic study. Neurology. 63:2149-2152, 2004.

Takano H, Gusella JF. The predominantly HEAT-like motif structure of huntingtin and its association and coincident nuclear entry with dorsal, an NF-kB/Rel/dorsal family transcription factor. BMC Neurosci 3:15, 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



進行性核上性麻痺(PSP)と皮質基底核変性症(CBD)は、外遺伝子領域H1ハプロタイプ(H1)と相関する証拠が欧米白人で蓄積されてきている。しかしながら、日本人は正常対照を含め全例でH1ホモ接合であり、相関はみられていない。

日本人のPSPとCBDで外遺伝子領域が関与するか否かを検討した。PSP 32人、CBD 9人、65歳以上の正常対照群59人のゲノムDNAを用いた。この中 rs242562 A/G, IKV4A C482Tでのゲノム解析で相関が認められた。この中 rs242562 A/G多型で、A/Aのホモ接合のゲノムが、PSP+CBD群では、有意に多く、オッズ比は3.72であった。一方、IKV4A C482T多型のC/Cホモ接合のゲノムは、PSP+CBD群で有意に少なく、オッズ比は0.33であった。

スライドには示していないが、この二つの多型についてEM法によるハプロタイプ推定を行った。A - Tハプロタイプが有意に(P=0.01) 危険ハプロタイプと考えられた。本研究で、日本人PSPとCBDにおいても、外遺伝子領域の相関が示された。この相関が、人種を越えて示された意義は大きく、外遺伝子のPSPとCBD発病機構への関与が確信される。

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：高橋 均 新潟大学脳研究所病態神経科学部門病理学分野

0. 分担研究者研究課題

神経変性疾患の病理学的研究

1. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)およびパーキンソン病(PD)・その類縁疾患(進行性核上性麻痺 PSP、皮質基底核変性症 CBD 等)の新たな病理学的診断および分類基準を検討することと併せ、その分子病態機序を明らかにすることを目的とした。

2. 研究方法

当該疾患剖検例を対象に詳細な臨床病理学的、分子病理学的、生化学的、遺伝学的検索を行った。

(倫理面への配慮)

剖検例については、病理学的検索に関する同意書に従い、ご遺族の同意を得ており、また研究の内容に応じて、新潟大学医学部倫理委員会並びに同遺伝子倫理委員会の承認を得た上で実施した。

3. 研究結果及び考察

1) 原発性側索硬化症(PLS)並びに Motor neuron disease-inclusion dementia (MND-ID)の剖検例を検討し、それぞれが ALS にも見られる前頭側頭葉病変および運動ニューロン病変を有していることを明らかにした。このことは、ALS という疾患が前頭側頭葉痴呆(FTD)を含む広いスペクトルを有する変性疾患であることを強く示唆するものである。

2) 家族性 ALS の 1 剖検例において新たな SOD1 変異(Asp101Tyr)を見出し、その

臨床病理を考察した。

3) FTD において、PSP および CBD の双方の病理像を呈し、高度の白質変性を示す症例の存在することが示され、その分類上、CBD の亜型あるいは新たな FTD の 1 病型の可能性が考察された。

4) 家族性、若年発症、進行性のパーキンソニズムと痴呆を伴う 1 家系 1 剖検例において、新たなプレセニリン 1 遺伝子(*PSEN1*)異常(C-terminal in-frame three-base-pair deletion)を見出した。病理学的は、脳内、広範な Lewy filament の凝集と老人斑(cotton wool plaques)の沈着がその中核病変であった。*PSEN1*におけるこの C 末部位は、 α -synuclein および β -amyloid の脳内代謝に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

4. 評価

1) 達成度について

剖検例に立脚した病理学的研究として、実に多くの成果を得ることができ、かつその内容も重要で、意義のあるものであった。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

今後の ALS や FTD の病態の捉え方、ひいてはその新たな疾患概念の提唱に関する重要な新知見を提供した。新しい *PSEN1* 異常は、今後、PD/AD の発症機構の観点から極めて興味深い知見であり、今後、さらに国際的な規模で検討がなされていくはずである。いずれの研究成果もその意

義は大きい。

3) 今後の展望について

ALS の新しい病理学的疾患概念の確立に向けて、国内、国外との共同研究へと発展させたい。また、新しい *PSEN1* 異常については、今後モデル動物の作成等による解析が考慮されている。

4) 研究内容の効率性について

剖検例に基づく研究は、その剖検例標本の保存・管理状態に大きく左右される。本研究は研究目的に合致する症例の選択等、効率的に実施された。

5. 結論

神経変性疾患、とくに ALS および PD に

ついて神経病理学的研究を行なった。ALS については、今後のより包括的な研究が必要であるが、その新たな病理学的疾患概念の早急な確立が要望される。

また、今回見出された新たな *PSEN1* 異常はこれまで報告のあるなかで最も C 末側に存在するもので、その剖検脳が示す病理像は、PD および AD の共存であった。今後の *PSEN1* あるいはその産物である *PSEN1* と PD/AD 研究に更なる発展が期待される場所である。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	15 件
原著論文による発表	0 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) 若林孝一, 西江 信, 丹治邦和, 森 文秋, 高橋 均. α シヌクレイノパチーの神経病理. 神経進歩 48:385-397, 2004

学会発表

(1) 豊島靖子, 小坂井鐵夫, 田中政春, 高橋 均 「MND-ID は ALS (with dementia) の不全型である」ことを強く示唆する 1 剖検例. 第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋, May 26-28, 2004

2) 海外

口頭発表	9 件
原著論文による発表	22 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) Piao Y-S, Wakabayashi K, Kakita A, Yamada M, Hayashi S, Morita T, Ikuta F, Oyanagi K,