

Takahashi H. Neuropathology with clinical correlations of sporadic amyotrophic lateral sclerosis: 102 autopsy cases examined between 1962 and 2000. *Brain Pathol* 12: 10-22, 2003

- (2) 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* 105: 615-620, 2003
- (3) Toyoshima Y, Piao Y-S, Tan C-F, Morita M, Tanaka M, Oyanagi K, Okamoto K, Takahashi H. Pathological involvement of the motor neuron system and hippocampal formation in motor neuron disease-inclusion dementia. *Acta Neuropathol* 106: 50-56, 2003
- (4) Tan C-F, Piao Y-S, Hayashi S, Obata H, Umeda Y, Sato M, Fukushima T, Nakano R, Tsuji S, Takahashi H. Familial amyotrophic lateral sclerosis with bulbar onset and a novel Asp101Tyr Cu/Zn superoxide dismutase gene mutation. *Acta Neuropathol* 108: 332-336, 2004
- (5) Tan C-F, Piao Y-S, Kakita A, Yamada M, Takano H, Tanaka M, Mano A, Makino K, Nishizawa M, Wakabayashi K, Takahashi H. Frontotemporal dementia with co-occurrence of astrocytic plaques and tufted astrocytes, and severe degeneration of the cerebral white matter: a variant of corticobasal degeneration? *Acta Neuropathol* (in press)
- (6) Ishikawa A, Piao Y-S, Miyashita A, Kuwano R, Onodera O, Ohtake H, Suzuki M, Nishizawa M, Takahashi H. A novel C-terminal in-frame deletion of *PSEN1* causes combined DLB and variant AD. *Ann Neurol* (in press)

#### 学会発表

- (1) Takahashi H. Neuropathology of primary lateral sclerosis. The First Primary Lateral Sclerosis Conference (PLS Diagnostic Criteria Conference), Santa Cruz, CA, June 5, 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

## 原発性側索硬化症とは？

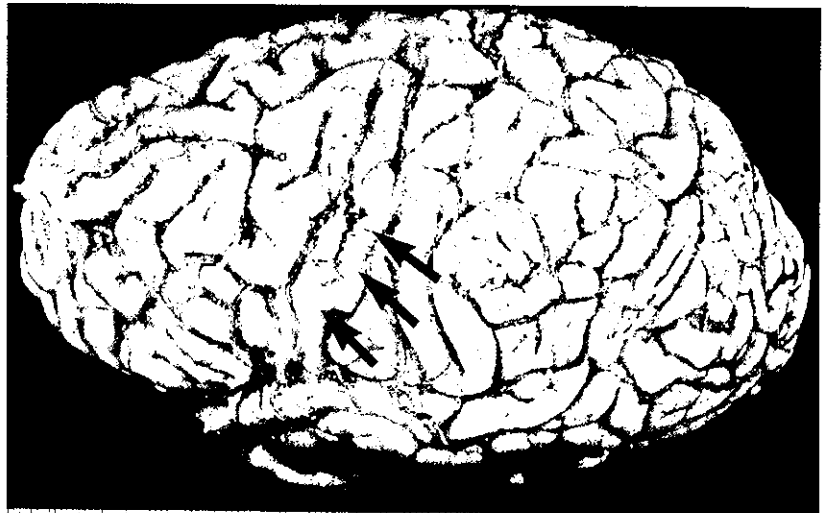
●原発性側索硬化症（PLS）は上位運動ニューロンを選択的に侵す疾患とされるが、その概念は確立されていない。

●進行性の上位運動ニューロン徴候で発症、経過とともに進行性の前頭側頭葉痴呆を認めた症例を神経病理学的に検討した。

●前頭側頭葉変性（運動野に最も強い神経細胞脱落とユビキチン陽性の封入体の出現）に加え、下位運動ニューロンでは、脱落は明らかでないもののALSに特徴的なユビキチン陽性封入体が認められた。

●PLSは上位運動ニューロン優位の変性を示すまれなALSの1亜型であり、しばしば前頭側頭葉痴呆を続発する疾患である

<難治性疾患克服研究事業>



前頭側頭葉の萎縮が明らかで、それは運動野（中心前回）の腹側（矢印）でもっとも高度である。



大脳運動野皮質2-3層の小型神経細胞（左）および脊髄前角細胞内に認められたユビキチン陽性封入体（右）。

### （解説）

上位運動ニューロン徴候と前頭側頭葉萎縮を示した1剖検例をについて、その臨床病理を示すとともに、既報の類似例を文献考察し、原発性側索硬化症とはいかなる疾患かを検討した。その結果、本症はまれな神経変性疾患であり、上位運動ニューロン優位の筋萎縮性側索硬化症とみなされること、さらに、しばしばユビキチン陽性神経細胞内封入体の出現を伴う前頭側頭葉変性（痴呆）を続発する疾患と考えられた。

研究課題:神経変性疾患に関する調査研究班

課題番号:II14-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:内藤 寛 三重大学医学部附属病院

## 0.分担研究者研究課題

Spike-triggered averaging 法によるMUNEの臨床応用

### 1.研究目的

運動単位数を生理学的に推定する Motor Unit Number Estimation (MUNE)の目的は、機能している運動単位数を推定することであり、筋萎縮性側索硬化症 (ALS)などの疾患に応用され、経過中に運動単位数が変化してゆくことが観察されている。MUNE の手法の一つに Spike-triggered averaging (STA)法がある。STA 法は、手技が簡便で検査の所要時間が短く、通常の針筋電図検査と同時に施行することが可能である。我々は、本法を用いて筋萎縮性側索硬化症の経過を追った。

### 2.研究方法

対象は健常対照 5 例(平均年齢 60 歳)と ALS 7 例(男性 4 例, 女性 3 例, 平均年齢 67 歳)である。被検筋は第一背側骨間筋(FDI)で、筋腹上の皮膚に小型表面電極を貼付し、同時に極細同心針電極 (Medelec DFC-25: 25mm×0.3φ 記録面積 0.019mm<sup>2</sup>) を刺入して 2ch で同時記録した。

(倫理面への配慮)

研究に当たっては、三重大学倫理委員会の承認のもと、個人情報の管理に十分配慮した。

### 3.研究結果及び考察

STA 法 MUNE では、健常者の FDI の運動単位数は 161±45 個と推定された。ALS 群の

全例で単一運動単位振幅が増大していることが観察された。経時的に観察し得た例では、経過とともに急速な運動単位数の減少が観察され、握力の低下などの臨床症状との関連が見られた。ALS 群では運動単位数が減少するとともに CMAP が低下した。本法では、運動単位数が数個にまで減少した場合でも計測が可能であった。すでに小手筋の萎縮や脱力が始まっている ALS 患者では、診断確定時には患肢の FDI の運動単位数は 20 個以下になっていることが多かった。症状に左右差がある症例で調べると、健側であっても運動単位数は 120～80 個程度に低下していた。それらを経時的に観察し得た例では、その後約 1 年で急速に運動単位数が減少していた。

### 4.評価

1)達成度について

研究目的を十分達成できた。

2)研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

ALS の病期・進行度診断に有用で、治療薬の薬効評価、健常肢の発症前評価に貢献できる。

3)今後の展望について

欧米における MUNE は、多点刺激法と Daube 法が主流であり、それらとの比較ならびに検査結果精度と再現性の検討が必要である。

4)研究内容の効率性について

研究は、効率よく行えた。

## 5.結論

ALS に対して STA 法 MUNE の有用性を検討した。STA 法は簡便で、ALS に応用した場合、運動単位数が数個にまで減少した末期でも計

測が可能である。ALS では臨床症状が発現する約 1 年前から、急速な運動単位数の低下があり、MUNE は ALS において臨床症状が顕在化するまでの有力な診断の手段となりうる。

## 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
シンポジストの発表	2 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

日本神経学会総会

日本臨床神経生理学会総会

### 2)海外

一般演題	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	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)

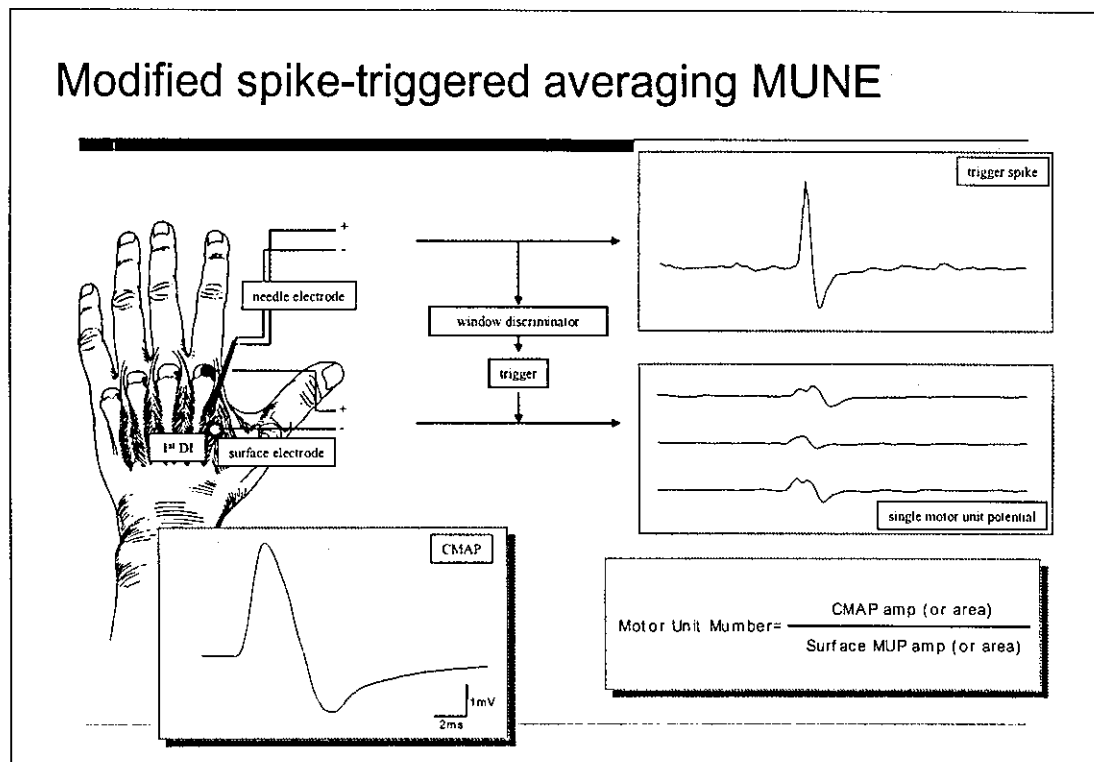
論文発表

学会発表

International symposium of ALS/MND 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



神経筋単位を構成する運動単位数を電気生理学的に推定する試みがなされており、Motor Unit Number Estimation (MUNE) と呼ばれている。MUNEは筋萎縮性側索硬化症 (ALS)や、脳血管障害などの疾患に応用され、上位および下位運動ニューロン障害の経過中に運動単位数が変化してゆくことが観察されている。MUNEにはいくつかの方法が実用化されている。

MUNEの基本は、被検筋の最大筋活動電位(CMAP)を単一運動単位電位の平均値で除することで、単一運動単位電位を得る方法の一つにSpike-triggered averaging (STA)法がある。STA法は、表面電極を貼付した被検筋に筋電図用針電極を刺入し、針電極から導出されるMotor Unit Potentialをトリガー(spike-trigger)にして、表面電極から同時記録されるSurface Motor Unit Potentialを平均加算することで単一運動単位電位を得るものである。STA法は手技が簡便で検査の所要時間が短く、通常の針筋電図検査と同時に施行することが可能である。我々は、本法を用いて筋萎縮性側索硬化症の経過を追い、治療薬の効果判定を試みた。

今回の装置によるSTA法MUNEでは、健常者のFDIの運動単位数は $161 \pm 45$ 個と推定された。ALS群の全例で単一運動単位振幅が増大していることが観察された。経時的に観察し得た例では、経過とともに急速な運動単位数の減少が観察され、握力の低下などの臨床症状との関連が見られた。ALS群では運動単位数が減少するとともにCMAPが低下する傾向が見られた。本法では、運動単位数が数個にまで減少した場合でも計測が可能であった。すでに小手筋の萎縮や脱力が始まっているALS患者では、診断確定時には患肢のFDIの運動単位数は20個以下になっていることが多かった。症状に左右差がある症例で調べると、健側であっても運動単位数は120～80個程度に低下していた。それらを経時的に観察し得た例では、その後約1年で急速に運動単位数が減少していた。

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：中川正法 京都府立医科大学神経病態制御学

## 0. 分担研究課題

近位筋優位型遺伝性運動感覚ニューロパチー (HMSN P) の臨床的、遺伝学的検討と治療法の開発

### 1. 研究目的

われわれは沖縄県において、成人発症の近位筋優位の筋萎縮、運動感覚神経障害、脊髄前角細胞脱落と後索障害、常染色体優性遺伝などの臨床的、病理学的特徴を示す新しい遺伝性運動感覚神経症（以下HMSN P）（MIM\*604484）家系を見出し、本症の遺伝子座が第3染色体長腕セントロメア近傍にあることを明らかにした。最近、われわれは、この沖縄家系に臨床的、電気生理学的特徴が極めて類似している家系を滋賀県に見出した。本研究の目的は、HMSN Pの原因遺伝子を明らかにし、その分子病態を解明し治療法の開発を目指すものである。

### 2. 研究方法

対象は、沖縄型HMSN P 20家系71名、滋賀型HMSN P 3家系25名である。沖縄型HMSN Pについては、3q12.3領域の候補遺伝子の検索を行った。滋賀型HMSN Pについては、沖縄家系にみられるDNAハプロタイプをしめすDNAマーカーを用いて、滋賀家系のハプロタイプ解析を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は、京都府立医科大学および鹿児島大学医学部における倫理委員会での研究実施の承認を受けた上で実施し、対象者全員からインフォームドコンセントを得ている。

### 3. 研究結果及び考察

沖縄型は、第3染色体セントロメア近傍の1500kb領域にある候補遺伝子についてスクリーニングを行ったが、現在までのところ原因遺伝子は見つかっていない。滋賀型について、DNAマーカーD3S1603、D3S3716、550H20、433D21、447o17にて、lod score 2.98、2.37、2.94、3.25、3.32を示した（ $\theta=0.00$ ）。また、ハプロタイプ解析においても発症者は共通するハプロタイプを示した。

両病型ともに、家族性筋萎縮性側索硬化症や脊髄性筋萎縮症との鑑別を必要とする疾患であり、その分子病態の解明は、他の神経原性筋萎縮症の病態解明にも重要な知見を与えるものと考えられる。近い将来に両疾患の原因遺伝子を明らかにしたい。

### 4. 評価

#### 1) 達成度について

本症の原因遺伝子の同定に至っていない。

#### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義につ

いて

本症は沖縄県に多発しているが、本症の解明は他の神経原性筋萎縮症の病態解明にも重要な知見を与えるものであり、国際的にも意義深い。

#### 3) 今後の展望について

現在、3q12.3領域の候補遺伝子のスクリーニングを種々の方法で検討しており、出来るだけ早く遺伝子を解明したい。

#### 4) 研究内容の効率性について

候補遺伝子の検索を系統的に行っている。

### 5. 結論

沖縄型HMSN Pの原因遺伝子座を3q12.3に絞り込んだ。現在、精力的に候補遺伝子のスクリーニングを行っている。

### 6. 研究発表

#### 1) 国内

口頭発表 4件

原著論文による発表 2件

それ以外の発表 3件

#### 論文発表

1. 中川正法他. 神経内科 57:471-474, 2002
2. 中川正法他. 臨床病理 51:536-543, 2003
3. 栗山長門他. 自律神経 41:350-353, 2004
4. 吉川健治他. Progress in Medicine 24: 3011-3015, 2004
5. 中川正法他. 臨床神経 44:991-994, 2004

#### 学会発表

中川正法. 第45回日本神経学会総会教育講演、2004年5月14日；東京

#### 2) 海外

口頭発表 1件

原著論文による発表 18件

それ以外の発表 0件

#### 論文発表

1. Kinoshita T, et al. Neuroscience Letters 50:169-172, 2003
2. Yoshikawa K, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 74:1312-1314, 2003
3. Arisato T, et al. Acta Neuropathologica 106:561-568, 2003
4. Matsuyama W, et al. Acta Neuropathol

- (Berl) 103: 501-508, 2002
5. Okamoto Y, et al. J Neurol Sci 195: 71-76, 2002.
  6. Takashima H, et al. Nat Genet 32:267-72, 2002.
  7. Boerkoel CF, et al. Ann Neurol 53:400-405, 2003
  8. Yoshikawa K, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 75:481-484, 2004
  9. Nobuhara Y, et al. Neurology 63:1302-1304, 2004

10. Shiga K, et al. J Neurol (in press)

#### 学会発表

Mori S, et al. The Third International Workshop on Dementia with Lewy Bodies and Parkinson's Disease Dementia. Newcastle upon Tyne, Sep 17-20, 2003.

7. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 近位筋優位型遺伝性運動感覚ニューロパチー(HMSNP) の臨床的、遺伝学的検討

- 沖縄県および滋賀県にて見いだした成人発症の近位筋優位型運動感覚神経ニューロパチー(以下HMSNP)の原因遺伝子の検討を行った。
- 沖縄型は、第3染色体長腕セントロメア近傍の1500kb領域にある候補遺伝子についてスクリーニングを行った。
- 滋賀型について沖縄型に共通してみられるDNAハプロタイプをしめすDNAマーカを用いた2点連鎖解析およびDNAハプロタイプ解析を行い、滋賀型の原因遺伝子も第3染色体上にマッピングされる可能性が示唆された。
- 本症は、家族性筋萎縮性側索硬化症や脊髄性筋萎縮症との鑑別を必要とする疾患であり、その分子病態の解明は、他の神経原性筋萎縮症の病態解明にも重要な知見を与えるものと考える。

<神経変性疾患に関する研究>

### 著明な後索障害



HMSNP沖縄型の特徴

- ①常染色体優性遺伝
- ②成人発症の四肢近位筋筋力低下
- ③筋痙攣、fasciculation
- ④感覚障害
- ⑤脊髄前角、後根神経節、後索の障害

沖縄県および滋賀県にて見いだした成人発症の近位筋優位型運動感覚神経ニューロパチー(以下HMSNP)の原因遺伝子を明らかにし、その病態解明と治療法の開発を目指す。沖縄型は、第3染色体長腕セントロメア近傍の1500kb領域にある候補遺伝子についてスクリーニングを行ったが、現在までのところ原因遺伝子は見つかっていない。滋賀型について沖縄型に共通してみられるDNAハプロタイプをしめすDNAマーカを用いた2点連鎖解析およびDNAハプロタイプ解析を行い、沖縄型と滋賀型の原因遺伝子は、第3染色体上にある共通の遺伝子座にマッピングされる可能性が示唆された。

高嶋 博<sup>2)</sup> 末原雅人<sup>3)</sup> 小牟禮 修<sup>4)</sup> 梶 龍兒<sup>5)</sup> 出雲周二<sup>6)</sup> 高橋光雄<sup>7)</sup> 納 光弘<sup>2)</sup> 中川正法<sup>1)</sup>

1) 京都府立医科大学神経内科, 2) 鹿児島大学医学部第三内科, 3) 国立療養所沖縄病院神経内科, 4) 国立療養所宇多野病院神経内科, 5) 徳島大学医学部神経内科, 6) 鹿児島大学医学部附属難治性ウイルス疾患研究センター, 7) 近畿大学医学部神経内科



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：中島健二 鳥取大学医学部脳神経内科

## 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  
分子病態と治療に関する研究

### 1. 研究目的

パーキンソン病，筋萎縮性側索硬化症の  
分子病態を明らかにし，難病治療法を開  
発することを目的とする。

### 2. 研究方法

培養細胞モデルおよび疾患関連マウスを  
作製し，病態解明および治療に関する研  
究を分子生物学的，形態学的，薬理学的  
など多角的に行う。

#### （倫理面への配慮）

動物モデルの使用に際しては，  
鳥取大学において定められた規則を遵守  
し，動物愛護の面に十分配慮しながら研  
究を行う。

### 3. 研究結果及び考察

パーキンソン病研究に関連して，培養細  
胞を用いた凝集体形成モデルを確立し，  
レビー小体に代表される細胞内凝集体の  
生成機序の一部を明らかにした。

筋萎縮性側索硬化症研究においては，疾  
患モデル（変異 SOD1 遺伝子トランスジェ  
ニックマウス）を作製し，病態解明およ  
び治療研究に有用なツールを得た。

### 4. 評価

#### 1) 達成度について

約 70%

#### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

細胞，動物モデルを用いた基礎研究から，  
実際の臨床研究へつながる多くの結果を  
得た。

#### 3) 今後の展望について

確立した疾患モデルを用いて，さらなる  
病態解明，治療研究を行っていく予定で  
ある。

#### 4) 研究内容の効率性について

定められた期間，助成金額からは十分な  
成果が得られたと考えられるが，治療に  
関する知見をもう少し得る必要がある。

#### 5) 結論

パーキンソン病，筋萎縮性側索硬化症の  
病態解析モデルを確立した。さらなる病  
態解明，治療研究を今後も継続していく  
必要がある。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表 20 件

原著論文による発表 3 件

それ以外 (レビュー等) の発表 12 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

鳥取県における Parkinson 病の疫学調査.

楠見公義, 中島健二. 神経内科 57, 475-477, 2002.

#### 学会発表

鳥取県米子市における進行性核上性麻痺の疫学的検討.

鞍島美佳, 中島健二ほか. 第 44 回日本神経学会総会 (横浜)

### 2) 海外

口頭発表 7 件

原著論文による発表 13 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

Mouse Motor Neuron Disease Caused by Truncated SOD1 with or without C-Terminal Modification. Yasuhiro Watanabe, Kenichi Yasui, Toshiya Nakano, Koji Doi, Yasuyo Fukada, Michio Kitayama, Miho Ishimoto, Saiko Kurihara, Mika Kawashima, Hiroki Fukuda, Yoshiki Adachi, Takao Inoue, and Kenji Nakashima

Molecular Brain Research (in press)

#### 学会発表

Expression of ubiquitin-binding protein p62 in ubiquitin-immunoreactive intraneuronal inclusions in amyotrophic lateral sclerosis with dementia.

Nakano-T, Nakaso-K, Ohama-E, Nakashima-K.

XVth Congress of the International Society of Neuropathology (2003, Italy)

## 7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得「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

2. 実用新案登録

3. その他

厚生労働科学研究費補助金 (特定疾患研究事業)  
神経変性疾患に関する研究班 研究報告書

L-dopa/dopamine は細胞内凝集体形成を  
促進する

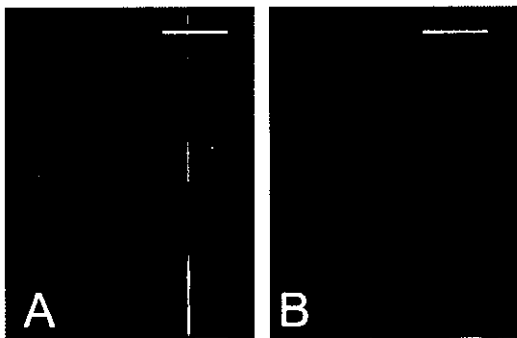
中島健二<sup>1)</sup>, 中曾一裕<sup>1)</sup>, 吉本祐子<sup>1)</sup>

1) 鳥取大学医学部脳神経内科

**研究要旨** NGFで神経様に分化させたPC12細胞にプロテアソーム阻害薬を投与して,凝集体モデルを作製し, L-dopa/dipamineの凝集体形成に関する作用を検討した. チロシン水酸化酵素 (TH) 阻害で凝集体形成は抑制された. L-dopa/dopamineはプロテアソーム活性を低下させる作用があり,かつユビキチンを重合化させる作用があることを示した.

**結果:**プロテアソーム阻害剤MG132の投与により,ユビキチン,  $\alpha$ シヌクレイン陽性の凝集体が形成されるが, TH阻害剤  $\alpha$ メチルチロシン( $\alpha$ MT)の共投与で,凝集体形成は著しく抑制された(図1).

図1



deprenyl (100  $\mu$ M)投与6時間

図1 MG132(250nM, 24h)投与で細胞内凝集体が観察される(A).  $\alpha$ MTの共投与をすると凝集体形成は著しく抑制される(B). Scale bar=10 $\mu$ m.

$\alpha$ MTはPC12細胞においてプロテアソーム活性を濃度依存的に上昇させ, MG132によるプロテアソーム活性低下をわずかに上昇へと導いた. カテプシンB活性はプロテアソームと相反する挙動を示した.(図2). L-dopa/dopamineの存在がプロテアソーム活性に影響している可能性を示唆する.

また, L-dopa/dopamineはin vitroの系でユビキチン重合を促進した(図3). この反応には, 酵素, エネルギーを必要としなかった.

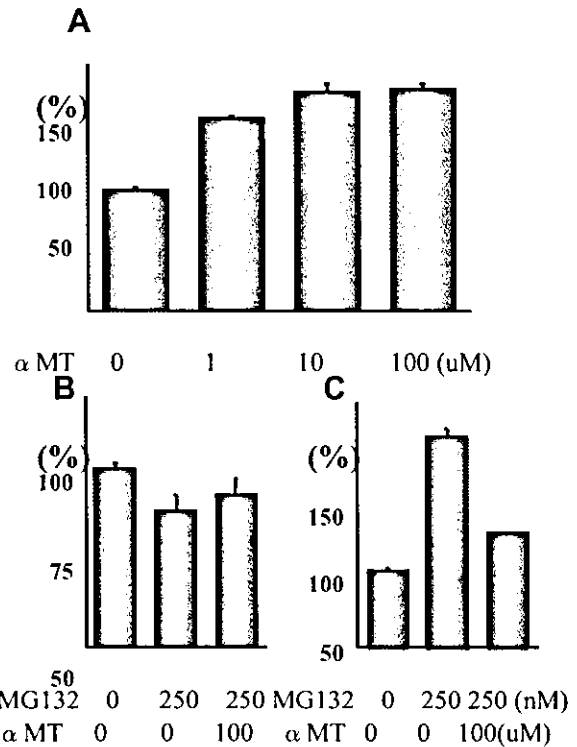


図2 (A)  $\alpha$ MTは濃度依存的にプロテアソーム活性を低下させる. (B)  $\alpha$ MTはMG132により抑制されたプロテアソーム活性を上昇させる. (C) カテプシン活性. カテプシン活性はプロテアソーム活性と相反する挙動を示す.

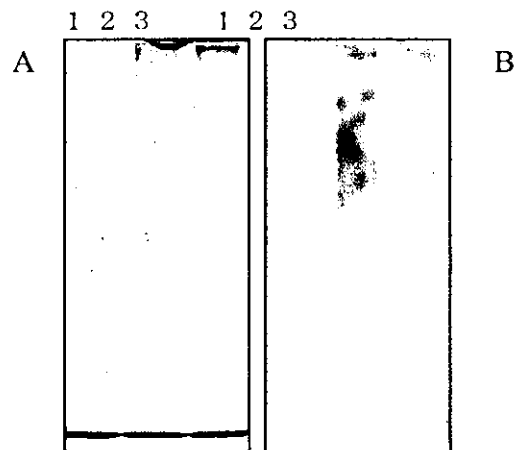


図3 (A) CBB染色(B)FK1抗体(ポリユビキチン). 1: ユビキチン, 2: ユビキチン+L-dopa, 3: ユビキチン+dopamine.

ドパミン系細胞は潜在的に蛋白凝集を来しやすい細胞であると考えられる. その機序として, プロテアソーム活性の低下と, ユビキチン重合化が関与していると考えられる. これらの知見はパーキンソン病の病態解明にも有用と考えられる.

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：貫名信行 理化学研究所脳科学総合研究センター

## 0. 分担研究者研究課題

ハンチントン病の病態解析

減少する遺伝子を検討したところ Na channel  $\beta 4$  subunit であることが判明した。

### 1. 研究目的

ハンチントン病の病態を解析し、カスケードの多様性から治療法を探る。そのために病変の可視化をめざして190Qを含むハンチンチンエクソン1+EGFPのトランスジェニックマウスを作成し、病変と遺伝子発現を検討した。

4) 考察：遺伝子発現変化検索によって病変と病態に関する新たな知見を得ることができた。

### 2. 研究方法

- 1) ハンチンチンエクソン1+EGFPトランスジェニックマウスの作成
- 2) GeneChipによる遺伝子発現の網羅的検索
- 3) その中で意味ありそうなものの集中的検索  
(倫理面への配慮)  
独立行政法人理化学研究所実験動物指針に従った。

### 4. 評価

#### 1) 達成度について

大体満足のいくものと考える。

#### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

国際的にもハンチントン病における病態の新たな側面を報告できたと考える。治療に関してこの病態をふまえる必要が考えられた点では社会的にも意義ある。

### 3. 研究結果及び考察

- 1) EGFP融合蛋白の凝集体が形成され、病変を全体として検索可能となった。
- 2) GeneChipの遺伝子発現変化においてoxytocinなど視床下部遺伝子異常を同定。病変もそれに対応していた。
- 3) GeneChipのESTで線条体に分布四、

#### 3) 今後の展望について

遺伝子発現を調節する因子の解析を行う基礎ができた。

#### 4) 研究内容の効率性について

効率的に成果を出せたと考える。

### 5. 結論

ハンチントン病の病態について遺伝子発現変化の観点から新たな知見を報告し、十分な貢献ができたと考える。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表	30 件
原著論文による発表	0 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

1. 貫名信行. ハンチントン病の治療戦略. *最新医学* 59, 1593-1598 (2004).

#### 学会発表

1. 貫名信行. ポリグルタミン病の分子構造病態 (S15-3). 第 77 回日本生化学会大会 (シンポジウム), 横浜 (2004 年 10 月). Structural basis for polyglutamine disease pathogenesis.
2. 貫名信行. 痴呆研究における不溶学. 第 23 回日本痴呆学会学術集会 (会長講演), 東京 (2004 年 9 月).
3. 小山文隆, 黒沢大, 宮崎晴子, 土井宏, 町田陽子, WONG Hon kit, 貫名信行. 伸長 polyglutamine-EGFP 蛍光凝集体を形成するハンチントン病トランスジェニックマウス脳における視床下部神経ペプチド類の発現低下 (II-B4). 第 23 回日本痴呆学会学術集会, 東京 (2004 年 9 月).
4. 小山文隆, 黒沢大, 宮崎晴子, 土井宏, 町田陽子, 貫名信行. 伸長 polyQ-EGFP 融合タンパク質凝集体を形成するハンチントン病トランスジェニックマウスにおける視床下部神経ペプチドの発現の低下. 第 27 回日本神経科学大会・第 47 回日本神経科学大会 (Neuro2004), 大阪 (2004 年 9 月). Decreased expression of hypothalamic neuropeptides in Huntington disease transgenic mice with expanded polyQ-EGFP fluorescent aggregates. *Neurosci Res* 50 Suppl 1, P2-219 (2004).
5. 小山文隆, 宮崎晴子, 貫名信行. ハンチントン病トランスジェニックマウスにおける領域特異的遺伝子発現変化. 第 26 回日本神経科学大会, 名古屋 (2003 年 7 月).

### 2) 海外

口頭発表	21 件
原著論文による発表	19 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. Nagaoka, U., Kim, K., Jana, N.R., Doi, H., Maruyama, M., Mitsui, K., Oyama, F. & Nukina, N. Increased expression of p62 in expanded

- polyglutamine-expressing cells and its association with polyglutamine inclusions. *J Neurochem* 91, 57-68 (2004).
2. Khan, L.A. & Nukina, N. Molecular and functional analysis of *Caenorhabditis elegans* CHIP, a homologue of Mammalian CHIP. *FEBS Lett* 565, 11-8 (2004).
  3. Jana, N.R., Dikshit, P., Goswami, A. & Nukina, N. Inhibition of proteasomal function by curcumin induces apoptosis through mitochondrial pathway. *J Biol Chem* 279, 11680-5 (2004).
  4. Doi, H., Mitsui, K., Kurosawa, M., Machida, Y., Kuroiwa, Y. & Nukina, N. Identification of ubiquitin-interacting proteins in purified polyglutamine aggregates. *FEBS Lett* 571, 171-6 (2004).
  5. Amano, K., Sago, H., Uchikawa, C., Suzuki, T., Kotliarova, S.E., Nukina, N., Epstein, C.J. & Yamakawa, K. Dosage-dependent over-expression of genes in the trisomic region of Ts1Cje mouse model for Down syndrome. *Hum Mol Genet* 13, 1333-40 (2004).
  6. Tanaka, M., Machida, Y., Niu, S., Ikeda, T., Jana, N.R., Doi, H., Kurosawa, M., Nekooki, M. & Nukina, N. Trehalose alleviates polyglutamine-mediated pathology in a mouse model of Huntington disease. *Nat Med* 10, 148-54 (2004).
  7. Venkatraman, P., Wetzel, R., Tanaka, M., Nukina, N. & Goldberg, A.L. Eukaryotic proteasomes cannot digest polyglutamine sequences and release them during degradation of polyglutamine-containing proteins. *Mol Cell* 14, 95-104 (2004).
  8. Tanaka, M., Machida, Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Hashikawa, T., Fujisawa, T. & Nukina, N. Expansion of polyglutamine induces the formation of quasi-aggregate in the early stage of protein fibrillization. *J Biol Chem* 278, 34717-24 (2003).
  9. Iwata, A., Maruyama, M., Akagi, T., Hashikawa, T., Kanazawa, I., Tsuji, S. & Nukina, N. Alpha-synuclein degradation by serine protease neurosin: implication for pathogenesis of synucleinopathies. *Hum Mol Genet* 12, 2625-35 (2003).
  10. Zemskov, E.A., Jana, N.R., Kurosawa, M., Miyazaki, H., Sakamoto, N., Nekooki, M. & Nukina, N. Pro-apoptotic protein kinase C delta is associated with intranuclear inclusions in a transgenic model of Huntington's disease. *J Neurochem* 87, 395-406 (2003).
  11. Wen, F.C., Li, Y.H., Tsai, H.F., Lin, C.H., Li, C., Liu, C.S., Lii, C.K., Nukina, N. & Hsieh, M. Down-regulation of heat shock protein 27 in neuronal cells and non-neuronal cells expressing mutant ataxin-3. *FEBS Lett* 546, 307-14 (2003).
  12. Zemskov, E.A. & Nukina, N. Impaired degradation of PKCalpha by proteasome in a cellular model of Huntington's disease. *Neuroreport* 14, 1435-8 (2003).
  13. Lee, J.A., Lim, C.S., Lee, S.H., Kim, H., Nukina, N. & Kaang, B.K. Aggregate formation and the impairment of long-term synaptic facilitation by ectopic

- expression of mutant huntingtin in *Aplysia* neurons. *J Neurochem* 85, 160–9 (2003).
14. Mitsui, K., Nakayama, H., Akagi, T., Nekooki, M., Ohtawa, K., Takio, K., Hashikawa, T. & Nukina, N. Purification of polyglutamine aggregates and identification of elongation factor- $\alpha$  and heat shock protein 84 as aggregate-interacting proteins. *J Neurosci* 22, 9267–77 (2002).
  15. Tanaka, M., Machida, Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Morishima, I., Hashikawa, T., Fujisawa, T. & Nukina, N. The effects of aggregation-inducing motifs on amyloid formation of model proteins related to neurodegenerative diseases. *Biochemistry* 41, 10277–86 (2002).

#### 学会発表

1. Doi, H., Mitsui, K., Kurosawa, M., Machida, Y., Kuroiwa, Y. & Nukina, N. Identification of Ubiquitin - interacting proteins in the purified polyglutamine aggregates. Society for Neuroscience 34<sup>th</sup> Annual Meeting (Neuroscience 2004), San Diego, USA (October 2004).
2. Nukina, N. A molecule which might be related to AD pathogenesis and HD pathogenesis. 2<sup>nd</sup> International Workshop “Frontiers in Molecular Neuropathology” by RIKEN BSI Molecular Neuropathology Group, Tokyo, Japan (September 2004).
3. Nukina, N. Structural basis of polyglutamine disease pathogenesis. The Second Symposium at Genomen Research Center for Birth Defects and Genetic Disorders: Rare genetic disorders in Korea and new treatment modalities, Seoul, Korea (July 2004).
4. Nukina, N., Tanaka, M., Machida, Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Hashikawa, T. & Fujisawa, T. Structural basis for polyglutamine disease pathogenesis: therapeutic strategy. Cold Spring Harbor Laboratory 2004 Meeting on Molecular Chaperones & The Heat Shock Response, Cold Spring Harbor, USA (May 2004).
5. Nagaoka, U., Kim, K., Jana, N. R., Doi, H., Mitsui, K., Oyama, F. & Nukina, N. Identification of p62 as an increased protein in expanded polyglutamine expressing cells. The Society for Neuroscience 33<sup>rd</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA (November 2003).
6. Doi, H., Mitsui, K., Kurosawa, M., Kuroiwa, Y. & Nukina, N. Proteome analysis of interacting proteins with cytosolic and nuclear aggregates from Huntington’s disease model cell lines. The Society for Neuroscience 33<sup>rd</sup> Annual Meeting, New Orleans, USA (November 2003).
7. Oyama, F., Miyazaki, H., Sakamoto, N., Jana, N. R., Kotliarova, S. E. & Nukina, N. Region specific changes of gene expression in a transgenic mouse model for Huntington disease. The American Society of Human Genetics 53<sup>rd</sup> Annual Meeting,

Los Angeles, USA (November 2003).

8. Nukina, N., Tanaka, M., Machida Y., Nishikawa, Y., Akagi, T., Hashikawa, T., & Fujisawa, T. Structural basis for polyglutamine disease pathogenesis: therapeutic strategy. Gordon Conference on CAG triplet repeat disorders 2003, Barga, Italy (May 2003).
9. Nukina, N., Doi, H. & Mitsui, K. Systematic analysis of aggregates binding proteins in polyglutamine disease. Cold Spring Harbor Laboratory 2004 Meeting on the Ubiquitin Family, Cold Spring Harbor, USA (April 2003).
10. Nukina et al. Misfolding triggers the ubiquitination of polyglutamine-expanded ataxin-3, the defective gene product in SCA3/MJD. Society for Neuroscience 32<sup>nd</sup> Annual Meeting, Orlando, USA (November 2002).

#### 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

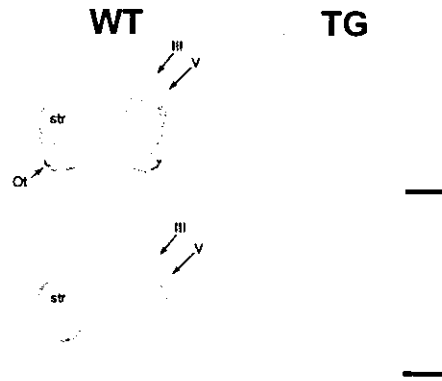
##### 3. その他

なし



## ハンチントン病の病態解析

- 1) htt exon1+EGFP融合蛋白を発現するトランスジェニックマウスを作成し、凝集体の形成を可視化し、病変を全体として検索可能とした。
  - 2) GeneChipの遺伝子発現変化においてoxytocinなど視床下部遺伝子異常を同定。病変もそれに対応していた。
  - 3) GeneChipのESTで線条体に分布する遺伝子で減少するものを検討したところNa channel beta4 subunitであることが判明した。
- ハンチントン病の新しい病態を見いだした。



<神経変性疾患に関する調査研究班>

- 1) htt exon1+EGFP融合蛋白を発現するトランスジェニックマウスを作成し、凝集体の形成を可視化し、病変を全体として検索可能とした。
- 2) GeneChipの遺伝子発現変化においてoxytocinなど視床下部遺伝子異常を同定。病変もそれに対応していた。
- 3) GeneChipのESTで線条体に分布する遺伝子で減少するものを検討したところNa channel beta4 subunitであることが判明した。

以上の結果、ハンチントン病の新しい病態を見いだした。

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：根来 清 山口大学医学部脳神経病態学神経内科

## 0. 分担研究者研究課題

皮質基底核変性症等のパーキンソン症候群の臨床研究・画像研究

### 1. 研究目的

パーキンソン症候群の中で皮質基底核変性症を、特に進行性核上性麻痺と対比させて、臨床的・神経画像的にその特徴を明らかにする。

### 2. 研究方法

臨床的観察，頭部 MRI・MRS・fMRI，脳血流 SPECT を用いて研究する。

#### （倫理面への配慮）

必要に応じて、患者・被験者からインフォームドコンセントを得ている。

### 3. 研究結果及び考察

皮質基底核変性症の臨床徴候は、進行性核上性麻痺と一部類似しており、臨床徴候からの鑑別は時に困難である。しかし、画像的特徴からの鑑別はある程度可能と考えられた。

## 4. 評価

### 1) 達成度について

稀な疾患であるため症例数が不十分であるが、現状においては満足できる達成度が得られたと思われる。

### 2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

皮質基底核変性症を、他のパーキンソン症候群から区別し、臨床調査個人票作成に貢献できたことで社会的に十分な意義があった。

### 3) 今後の展望について

新たな検査法の開発がより正確な診断、その後の治療に結びつくと考えられる。

### 4) 研究内容の効率性について

稀な疾患を研究する場合、いかに患者を集めるかが効率を高めるのに重要である。今後この点についての検討を要する。

## 5. 結論

3年間の研究期間で十分価値のある知見を得ることができた。

## 6. 研究発表

### 1) 国内

口頭発表 15 件

原著論文による発表 5 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

森松光紀：進行性核上性麻痺，大脳皮質基底核変性症（パーキンソニズムを呈する疾患の診断と治療）. 日内会誌 92：1485-1492, 2003

#### 学会発表

三隅俊吾，小笠原淳一，多田由紀子，根来 清，森松光紀：大脳皮質基底核変性症とパーキンソン病における運動負荷 fMRI の比較検討. 第 44 回日本神経学会総会，横浜，2003

(5)

### 2) 海外

口頭発表 1 件

原著論文による発表 1 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

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* 4: 84-92, 2004

#### 学会発表

Morimatsu M, Negoro K, Kawai M, Ogasawara J, Misumi S, Nakashima K: Provisional diagnostic criteria of corticobasal degeneration (CBD) in Japan. The 7th Asia / Oceania Regional Congress of Gerontology, Tokyo, 2003 (11); *Geriatr Gerontol Int* 3 (Suppl 1): S82, 2003

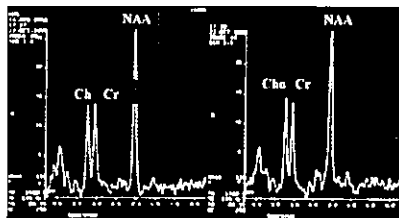
## 7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得: なし

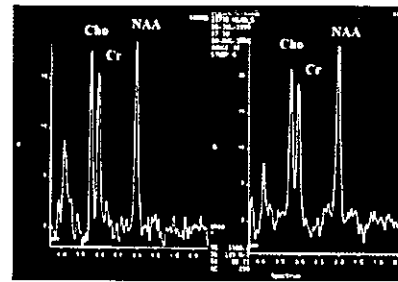
2. 実用新案登録: なし

3. その他: なし

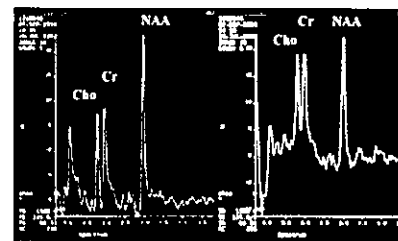
Proton magnetic resonance spectroscopy in corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy



正常



PSP



CBD

神経変性疾患に関する  
調査研究班

localized, single-voxel magnetic resonance spectroscopy を用いて10例の皮質基底核変性症corticobasal degeneration (CBD), 9例の進行性核上性麻痺progressive supranuclear palsy (PSP), 正常コントロールの3群でfrontoparietal cortex, lentiform nucleus で, N-acetylaspartate to choline-containing compounds (NAA/Cho), N-acetylaspartate to creatine and phosphocreatine (NAA/Cr), N-acetylaspartate to Cho and Cr (NAA/Cho+Cr) を測定した。PSPでは, lentiform nucleusで, CBD ではlentiform nucleusに加えて, frontoparietal cortex でNAAの低下が認められた。CBDとPSPの鑑別にlocalized, single-voxel magnetic resonance spectroscopy が有用である可能性が示された。