

2005,00845A

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業

運動失調症に関する調査研究班

平成17年度 研究報告書

Annual Report of the Research Committee on Ataxic Diseases
Research on Measures for Intractable Diseases

The Ministry of Health, Welfare and Labor, Japan

平成18年3月

主任研究者 西澤 正豊

目 次

I. 総括研究報告

運動失調症に関する調査研究

主任研究者 西澤正豊

II. 分担別報告

III. 分担研究報告

【ALD治療研究】

1. 副腎白質ジストロフィーおよびペルオキシソーム病の早期診断システム構築に関する研究..... 21
鈴木康之¹⁾、下澤伸行²⁾
¹⁾ 岐阜大学医学部医学教育開発研究センター
²⁾ 岐阜大学生命科学総合研究支援センターゲノム研究分野
2. DNA マイクロアレイを用いたハイスループット遺伝子解析システムを応用したALDの遺伝子診断と疾患修飾遺伝子の探索..... 24
辻 省次, 高橋祐二, 松川敬志, 後藤 順
東京大学神経内科
3. 小児副腎白質ジストロフィー症(ALD)前頭型の症状について..... 26
加我牧子¹⁾, 稲垣真澄¹⁾, 中村雅子^{1) 2)}, 軍司敦子¹⁾, 鈴木聖子¹⁾, 井上祐紀¹⁾
中山東城³⁾, 赤坂洋人³⁾, 石黒秋生¹⁾, 小久保奈緒美¹⁾, 堀口寿広¹⁾
加藤俊一⁴⁾, 加藤剛二⁵⁾
¹⁾ 国立精神・神経センター精神保健研究所、²⁾ 東京大学耳鼻咽喉科
³⁾ 国立精神・神経センター武蔵病院、⁴⁾ 東海大学小児科
⁵⁾ 名古屋第一赤十字病院小児科
4. 国内の副腎白質ジストロフィー症に対する造血幹細胞移植成績..... 31
加藤剛二¹⁾, 加藤俊一²⁾, 矢部普正³⁾
¹⁾ 名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科
²⁾ 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学
³⁾ 東海大学医学部小児科

5. 東海大学における副腎白質ジストロフィー (ALD) に対する造血幹細胞移植.....	34
加藤俊一 ¹⁾ , 矢部普正 ²⁾ , 矢部みはる ²⁾ , 松本正栄 ²⁾ , 服部欽哉 ²⁾ , 井上裕靖 ²⁾ , 浜之上聡 ²⁾ , 小池隆志 ²⁾ , 廣井愛子 ²⁾ , 柳町徳春 ³⁾ , 清水崇史 ⁴⁾ , 加我牧子 ⁵⁾	
¹⁾ 東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学	
²⁾ 東海大学医学部小児科	
³⁾ 同放射線科	
⁴⁾ 現・筑波大学小児科	
⁵⁾ 国立精神神経センター	

6. ALD の分子病態解析.....	36
今中常雄, 守田雅志	
富山大学薬学部分子細胞機能学研究室	

7. 小児大脳型 ALD の診断・治療システム、ガイドラインの構築についての問題点.....	40
小野寺 理 ¹⁾ , 西澤正豊 ²⁾	
¹⁾ 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター	
²⁾ 新潟大学脳研究所神経内科	

【SCD治療研究】

8. 脊髄小脳変性症の治療を目的とした基礎研究.....	42
矢澤 生, 中山貴美子, 鈴木康予	
国立長寿医療センター研究所研究資源有効利用室	

9. 熱ショック転写因子 (HSF) 活性化によるポリグルタミン病に対する治療法開発.....	44
永井義隆 ¹⁾ , 藤掛伸宏 ¹⁾ , ポピエル明子 ¹⁾ , 山口政光 ²⁾ , 戸田達史 ¹⁾	
¹⁾ 大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学	
²⁾ 京都工芸繊維大学繊維学部応用生物学科染色体工学	

10. Actin 結合蛋白 L-plastin はポリグルタミン病で増加する.....	48
小野寺 理 ⁵⁾ , 長谷川有香 ¹⁾ , 西澤正豊 ¹⁾ , 高橋俊昭 ²⁾ , 豊島靖子 ³⁾ 高橋 均 ³⁾ , 吉田 豊 ⁴⁾	
¹⁾ 新潟大学脳研究所神経内科	
²⁾ 新潟大学医学部保健学科	
³⁾ 新潟大学脳研究所病理学分野	
⁴⁾ 新潟大学腎研究施設構造病理学分野	
⁵⁾ 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター	

11. アデノ随伴ウイルスをもちいた shRNA 導入によるハンチントン病モデルマウス治療の試み.....	50
<p>貫名信行¹⁾, 町田陽子¹⁾, 岡田尚巳²⁾, 黒澤大¹⁾, 小山文隆¹⁾, 小澤敬也²⁾</p> <p>¹⁾独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター構造神経病理研究チーム</p> <p>²⁾自治医科大学分子病態治療研究センター遺伝子治療研究部</p>	
12. RNAi 法を用いたポリグルタミン病治療：ハンチントン病モデルマウスを用いた試み.....	54
<p>和田圭司, 劉万兆, 王玉来, 櫻井省花子, 金澤一郎</p> <p>国立精神・神経センター</p>	
13. パソコンソフトを用いた運動失調症状の定量的評価（第二報）.....	57
<p>黒岩義之, 波木井靖人, 鈴木ゆめ, 児矢野 繁, 西山毅彦, 戸田宏幸</p> <p>馬場泰尚, 岸田日帯, 中江啓晴, 工藤洋祐, 三富睦美, 渡辺大祐</p> <p>横浜市立大学大学院医学研究科・医学部神経内科</p>	
14. 脊髄小脳変性症におけるボツリヌス治療：そのスペクトラムと今後の展望.....	59
<p>湯浅龍彦¹⁾, 西宮仁¹⁾, 坂本崇¹⁾, 根本英明¹⁾, 岩村晃秀¹⁾, 山崎広子²⁾, 柴玉珠²⁾</p> <p>¹⁾ 国立精神神経センター国府台病院 神経内科</p> <p>²⁾ 国立精神神経センター国府台病院 眼科</p>	
15. ポリグルタミン病における筋エネルギー代謝測定を試み.....	61
<p>佐々木秀直¹⁾, 矢部一郎¹⁾, 相馬広幸¹⁾, 寺江 聡²⁾</p> <p>¹⁾ 北海道大学神経内科</p> <p>²⁾ 北海道大学放射線科</p>	
16. 経頭蓋磁気刺激時の脳糖代謝変化：正常人での検討.....	63
<p>糸山泰人¹⁾, 志賀裕正¹⁾, 宮澤康一²⁾, 清水 洋³⁾, 丹治宏明³⁾, 武田 篤¹⁾</p> <p>¹⁾ 東北大神経内科</p> <p>²⁾ 東北厚生年金病院神経内科</p> <p>³⁾ 仙台市立病院神経内科</p>	
17. 運動失調症の機能画像解析.....	66
<p>加知輝彦, 岩井克成, 鷺見幸彦, 新畑 豊, 武田章敬</p> <p>国立長寿医療センター</p>	
18. 遺伝性脊髄小脳変性症に対する分子標的治療薬の開発.....	69
<p>祖父江 元, 足立弘明, 和座雅浩, 勝野雅央, 南山 誠, 渡辺宏久, 熱田直樹</p> <p>伊藤瑞規, 田中章景, 道勇 学</p> <p>名古屋大学大学院医学系研究科神経内科</p>	

【ゲノム解析によるアプローチ】未同定SCD

19. 「脊髄小脳失調症16型の病因遺伝子同定」に関する研究…………… 72
吉良潤一¹⁾, 三浦史郎^{1) 2)}, 柴田弘紀²⁾, 古谷博和¹⁾, 三好安¹⁾, 小副川学¹⁾
松永宏美²⁾, 大八木保政¹⁾, 柴田篤志²⁾, 松本直樹²⁾, 岩城明子²⁾, 谷脇考恭¹⁾
山田 猛¹⁾, 菊池仁志¹⁾, 服巻保幸²⁾
¹⁾九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科
²⁾九州大学生体防御医学研究所遺伝情報実験センターゲノム機能学分野
20. 16番染色体に連鎖する常染色体優性脊髄小脳変性症の原因同定の試み…………… 75
高嶋 博, 平野隆城, 岡本裕嗣, 大窪隆一, 荒田 仁, 有里敬代, 田島圭子
納 光弘, 有村公良
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学、老年病学
21. 長野県における原因遺伝子未同定のADCA家系の分子遺伝学的解析…………… 77
吉田邦広^{1), 2)}, 清水雄策³⁾, 岡野友美¹⁾, 大畑尚子⁴⁾, 堺温哉⁴⁾, 松本直通⁴⁾
福嶋義光²⁾, 池田修一¹⁾
¹⁾信州大学神経内科、リウマチ・膠原病内科
²⁾信州大学遺伝子診療部
³⁾伊那中央病院神経内科
⁴⁾横浜市立大学環境分子医科学
22. 16番染色体に連鎖する常染色体優性小脳失調症原因遺伝子解明の試み…………… 80
水澤英洋, 石川欽也, 融 衆太, 網野猛志, 常深泰司
東京医科歯科大学大学院脳神経病態学
23. 病理組織学的にポリグルタミン病であると考えられた2家系2剖検例…………… 83
山田光則¹⁾, 豊島靖子¹⁾, 岩永圭介²⁾, 辻畑光宏²⁾, 長谷川有香³⁾, 小野寺 理³⁾
西澤正豊³⁾, 高橋 均¹⁾
¹⁾新潟大学脳研究所 病理学分野
²⁾長崎北病院 神経内科
³⁾新潟大学脳研究所 神経内科学分野

【自然史研究】

24. 多系統萎縮症における頸動脈小体…………… 87
磯崎英治¹⁾, 飛澤晋介¹⁾, 川田明広¹⁾, 神田武政¹⁾, 林 秀明¹⁾, 水谷俊雄²⁾
¹⁾都立神経病院脳神経内科
²⁾都立神経病院病理

25. 多系統萎縮症 (MSA) における自律神経症状の retrospective 解析 91
服部孝道, 金井数明, 榊原隆次, 朝比奈正人, 新井公人, 平野成樹, 赤荻悠一
千葉大学医学研究院神経内科

26. 多系統萎縮症における睡眠時声門閉鎖率解析 95
西澤正豊¹⁾, 小澤鉄太郎¹⁾, 下畑享良¹⁾, 寺島健史¹⁾, 他田真理¹⁾
他田正義¹⁾, 横関明男¹⁾, 新保淳輔¹⁾, 金澤雅人¹⁾, 五十嵐修一¹⁾
小野寺理⁴⁾, 田中恵子¹⁾, 篠田秀夫²⁾, 中山秀章³⁾
¹⁾新潟大学脳研究所神経内科
²⁾新潟大学医歯学総合病院耳鼻咽喉科
³⁾新潟大学医歯学総合病院第2内科
⁴⁾新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター

【MJD, SCA6, MSA, SPG の自然歴研究について】

27. Machado-Joseph 病の自然史に関する多施設共同研究 96
中島健二, 足立芳樹, 安井建一
鳥取大学脳神経内科

【臨床調査個人票の活用研究について】

28. 全国集計研究について 98
辻 省次
東京大学大学院医学系研究科神経内科

29. 臨床調査個人票の修正案ならびに SCA6 自然歴多施設共同研究 100
中島健二, 安井建一, 足立芳樹,
鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科部門

【ゲノム解析によるアプローチ】〈痙性対麻痺〉

30. 劣性遺伝性痙性対麻痺にみられるニューロパチー 101
小牟禮 修, 村瀬永子, 村田佳子, 齊田孝彦
国立病院機構宇多野病院神経内科)

31. 本邦の Chairlevoix-Saguenay 型痙性失調症6家系9名における臨床・分子遺伝学的検討 104
瀧山嘉久¹⁾, 嶋崎晴雄¹⁾, 迫江公己¹⁾, 欧陽 嶷¹⁾, 小川朋子¹⁾, 中野今治¹⁾
平岡宏太良²⁾, 長野清一²⁾, 山本洋一²⁾
¹⁾自治医科大学内科学講座神経内科学部門
²⁾大阪大学神経内科・脳卒中科

32. Spastin 蛋白の機能解析	108
瀧山嘉久, 迫江公己, 嶋崎晴雄, 本多純子, 中野今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門	
33. DNA マイクロアレイを用いた痙性対麻痺遺伝子の網羅的解析	112
辻 省次, 石浦浩之, 高橋祐二, 後藤 順 東京大学神経内科	
34. 痙性対麻痺全国共同研究の提案-JASPAC (Japan Spastic Paraplegia Research Consortium)- JASPAC (Japan Spastic Paraplegia Research Consortium) 委員会	115
瀧山嘉久 ⁷⁾ , 辻 省次 ¹⁾ , 佐々木秀直 ²⁾ , 服部孝道 ³⁾ , 湯浅龍彦 ⁴⁾ , 小野寺 理 ⁵⁾ 西澤正豊 ⁶⁾	
¹⁾ 東京大学医学部神経内科	
²⁾ 北海道大学医学部神経内科	
³⁾ 千葉大学医学部神経内科	
⁴⁾ 国立精神・神経センター国府台病院	
⁵⁾ 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター	
⁶⁾ 新潟大学脳研究所神経内科	
⁷⁾ 自治医科大学内科学講座神経内科学部門	

【多系統萎縮症の自然歴および分子遺伝学に関する多施設共同研究】

35. 多施設共同研究体制 (JAMSAC) を基盤とする多系統萎縮症の自然歴および分子遺伝学 に関する共同研究	117
JAMSAC 事務局 (辻 省次, 百瀬義雄, 中原康夫, 後藤 順) 東京大学神経内科	

IV. 分担研究ポンチ絵	119
--------------------	-----

V. 研究成果の刊行に関する一覧表	155
-------------------------	-----

VI. 班構成員名簿	171
------------------	-----

I 総括研究報告

運動失調症に関する調査研究

西澤 正豊 (新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野)

A. 研究目的

本研究班は、運動失調を主症状とする脊髄小脳変性症、多系統萎縮症、および副腎白質ジストロフィー、ペルオキシソーム病を対象として、わが国における実態を明らかにし、その病態を解明して、病態機序に基づいた新たな治療法を確立することにより、これらの難治性疾患を克服することを目的としている。

脊髄小脳変性症 (spinocerebellar degeneration: SCD) は現在、孤発性と遺伝性の2群に大別されている。孤発性 SCD はさらに、変性が小脳に限局する小脳皮質萎縮症 (CCA) と、変性が小脳系以外の多系統に及ぶ多系統萎縮症 (MSA) に分けられる。CCA の病態については依然ほとんど未解明であるが、MSA については α -シヌクレインに関する基礎研究が進歩し、病態の進行阻止による新たな治療法の開発が視野に入ってきている。

遺伝性 SCD は遺伝形式から優性遺伝性と劣性遺伝性 SCD に分けられるが、本研究班ではさらに家族性痙性対麻痺 (FSP) を対象として加えている。優性遺伝性 SCD に関しては、CAG リピートの異常伸長に基づくポリグルタミン病の分子病態が解明されてきた結果、伸長ポリグルタミン鎖を含む異常蛋白質の凝集を抑制する、核内移行を阻止する、あるいは発現自体を抑制することによって、病態の進行を阻止できることが培養細胞系やモデル動物において証明され、残された課題はその成果の臨床への応用である。

優性遺伝性 SCD ではその約30%の原因遺伝子が未解明のままであるが、これらはポリグルタミン病ではなく、連鎖解析と遺伝子クローニングによる原因遺伝子の同定が必要である。優性遺伝性 SCD に比べて病態の解明が遅れてきた劣性遺伝性 SCD に関しては、DNA 損傷修復機構の異常による疾患群が次々に明らかになっている。FSP に関しては、わが国ではこれまで系統的な実態調査が行われていないが、海外では原因遺伝子座が現在32座同定され、病因遺伝子も次々と解明されている。

副腎白質ジストロフィー (ALD) に関しては、小児大脳型に対する造血幹細胞移植治療 (HSCT) の有効性が確認され、早期診断と治療法の普及が急務となっている。ペルオキシソーム病に関する

早期診断システムも近く稼働を開始する。

このような研究の進捗状況に基づいて、本研究班は班研究として班員が有機的に連携し、共同して上記の目的を達成するために、研究プロジェクトを以下の通り設定し、班員はいずれかのプロジェクト・チームに所属して研究を推進する体制を採用することとした。平成17年度に幹事会で採用された研究プロジェクトは、

- 1) 臨床調査個人票等に基づく SCD の自然歴研究
 - 2) 病態の進行抑制治療に関する臨床研究
 - 3) 大規模ゲノム解析による遺伝子未同定 SCD の病態解明
 - 4) ALD の臨床研究、およびペルオキシソーム病の病態解明
- であり、各プロジェクトのリーダーとチーム名簿は別紙の通りである。

B. 各プロジェクトの研究手法と結果

1) SCD の自然歴研究

【方法】

前研究班が行ってきた臨床調査個人票に基づく SCD の自然歴に関する前向き研究を継続し、完成させるとともに、臨床調査個人票を調査研究に利用する上での問題点を検証し、必要な改訂を行う。これらのデータは近く予定されている臨床試験の基盤としても、重要な役割を果たすものとなる。

わが国で最も頻度が高い優性遺伝性 SCD である Machado-Joseph 病 (MJD) と脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) については、個別の自然歴調査を新たに調査票を作成して実施する。

【結果】

臨床調査個人票は前研究班において、population-based の前向き研究の基盤と位置付けられ、臨床像、疫学、自然歴を明らかにし、将来の治療研究にも役立てられるように再設計されて、電子データとして集計されることとなった。このような研究は海外では皆無であり、その意義は非常に大きい。自治体による入力率は約50%に留まり、誤入力も多く、地域によって入りに偏りがみられている。年度を超えた連結調査による縦断的な解析も可能なシステムではあるが、

年度により評価者が異なる場合には評価がばらつき、個々の症例ではノイズが大きくなる。このため、精度の高い解析を必要とする臨床試験には現在の臨床調査個人票は適さないことが示された。集計中のデータでは、MSAの中でMSA-Pが11%と少ないこと、劣性遺伝性群でFriedreich失調症が38%を占めることなど、実態とは乖離したデータもみられた。また死亡イベントが捉えられていないので、予後調査が可能な形に改訂する必要性が指摘された。

頻度が高い臨床病型について、治験を前提として臨床経過を把握するためには、それぞれの病型毎に詳細な調査票が必要であると判断されたことから、今年度はMJDとSCA6について個別に調査票を作成し、本研究班のコア班員による自然歴研究チームを組織することとした。MJDについては調査票が示され、その問題点を検討した。今後60例を目標に症例の登録を開始する。SCA6については経過が緩徐であることから、臨床調査個人票に必要な修正を加え、同じくコア班員を中心として調査を行うこととした。

2) 病態の進行抑制治療に関する臨床研究

(1) SCDの分子病態に関する基礎的研究

【方法】

SCDの分子病態に関する基礎研究と臨床試験に向けた候補物質の探索を行う。伸長ポリグルタミン鎖を含む蛋白質の凝集抑制作用を有する化合物や核内輸送を阻止する化合物を広くスクリーニングし、培養細胞系やポリグルタミン病のトランスジェニックマウスを用いてその効果を検証する。

また、近年急速に進歩しているRNA干渉による異常蛋白質の発現抑制を、SCDの治療法として臨床応用することを目的とした基礎研究を行う。

【結果】

MSAに対するモデルマウスを作成することを目的として、 α -シヌクレインをマウス脳オリゴドンドログリアに過剰発現するトランスジェニックマウスが作成され、線維状の不溶性蛋白質が蓄積することが確かめられた。今後MSAの病態・治療研究に有用なモデル系になるものと期待される。

ポリグルタミン鎖を含む異常蛋白質の凝集抑制作用を有する物質の大規模スクリーニングが大阪大学で継続され、複数の有効物質が同定された。現在、培養細胞系、ショウジョウバエ複眼形成モデル系、およびトランスジェニックマウスで効果が検証されている。既に凝集抑制効果が確認されている熱ショック蛋白HSPに関連して、分子シャペロン誘導による治療効果が検討された。

RNA干渉の臨床応用に向けて、AAVベクターに組み込んだsiRNAを片側線条体へ直接注入する方

法によって、Huntington病モデルマウスに対する治療効果が検証され、凝集体形成の抑制とマウスの延命効果が確認された。RNA干渉をポリグルタミン病や神経変性疾患の治療に応用するには、siRNAを標的神経にいかにも到達させるかなど、未解決の課題も多く残されている。

またポリグルタミン病の培養系および剖検脳組織では、L-プラスチンが増加していることが明らかにされた。L-プラスチンはクラスリン依存性エンドサイトーシスに関与することが知られており、ポリグルタミン病の病態に関与する可能性が示された。

(2) 病態の進行抑制治療に関する臨床研究

【方法】

これまでの基礎研究からポリグルタミン病の進行を抑制する効果が確認された候補物質について、治療前研究、臨床試験を推進し、臨床応用を目指す。特に、ハンチントン病モデルマウスで進行抑制効果が確認されているトレハロース、球脊髄性筋萎縮症モデルマウスで進行抑制効果が確認されているHSP誘導物質(ゲラニルゲラニルアセトン、ゲルダナマイシン誘導体)について、治療前研究として他のモデル系での効果の検証を行うと同時に、多施設共同研究チームを組織し、臨床試験に向けた体制を整備する。

また、SCDのような慢性進行性疾患を対象とした治験を行うのに適したプロトコールのデザイン、エンドポイントや代理マーカーの設定などについて検討する。

【結果】

基礎研究から明らかになった治療候補物質の臨床試験に向けて、今年度は、(A)バイオマーカーの開発、(B)治療前研究としてのモデル系による病態解析と治療効果の検証、(C)候補薬剤の選定と臨床試験に向けたプロトコールの策定、を行った。

バイオマーカーとしては、横浜市大では運動失調症状をモニターするコンピュータープログラムが開発され、北海道大学では1.5テスラMRIを用いて運動負荷からの回復過程のモニタリングが試みられた。

モデル系における治療効果の検証としては、分子病態に関する基礎的研究チームと並行して、名古屋大学でHSP90の阻害剤であるゲルダナマイシン誘導体17-AAGの効果がMJDの培養細胞モデルで検討され、病態の進行抑制治療の有効性が示された。

臨床試験のプロトコールデザインは本研究班の最も重要な課題であるが、研究班として医師主導治験を推進することは困難と判断した。今後も病態抑止治療の臨床応用に向けて、候補薬剤の選定とプロトコールの策定に継続して取り組む。

SCD に対する新たな治療法として、眼振、痙性対麻痺、声帯筋の spasmodic dysphonia などを対象としたボツリヌス治療や、経頭蓋磁気刺激治療が検討された。

3) 大規模ゲノム解析による原因遺伝子未同定 SCD の病態解明

(1) MSA 研究

【方法】

前研究班を母体として、大規模ゲノム解析による MSA の病因・病態解明を目的とした縦断的なプロジェクト・チームである Japan MSA Research Consortium (JAMSAC) が東京大学の辻教授をリーダーとして既に組織されているので、本研究班はこれをサポートし、症例の登録を進める。

【結果】

本研究班に引き継がれた JAMSAC が昨年秋より MSA 症例の登録と検体の収集を開始した。孤発性 MSA の大規模ゲノム解析 (association study) と家族性 MSA の連鎖解析を目的とする大規模ゲノムリソースの収集を行うとともに、高精度の縦断的臨床情報データベースを構築しつつある。

(2) 遺伝子未同定 SCD の原因遺伝子同定

【方法】

原因遺伝子が未同定である遺伝性 SCD に関して、家系を有する多施設が共同して、系統的な連鎖解析により原因遺伝子の同定を目指す。昨年遺伝子変異が同定された第 16 染色体に連鎖する優性遺伝性で純粋小脳型を呈する病型については、さらに分子病態の解明を進める。

【結果】

第 16 染色体長腕に連鎖する純粋小脳型優性遺伝性 SCD に関しては、昨年東京医科歯科大学において puratrophin-1 遺伝子の 5' UTR に C→T 変異が同定された。この遺伝子は脳に発現しており、puratrophin-1 の変異はこの蛋白質の発現低下をもたらしている可能性が示唆された。一方、南九州地域における鹿児島大学による解析では、この C→T 変異の homozygous mutation が見出され、その症状が重症ではないことから、蛋白質の発現低下による loss of function では説明が困難であると指摘された。またゲノム上の連鎖領域についても医科歯科大学の報告とはオーバーラップしていなかった。また、長野県における遺伝子未同定の優性遺伝性 SCD のほとんどがこの C→T 変異を有しており、長野県全体でもこの病型が約半数を占めていることが信州大学から明らかにされた。

九州大学から報告された SCA16 は、その後の解析により 3p26.2-pter に連鎖することが明らかになり、既に同領域にマップされている SCA15 と遺伝学的に同一疾患である可能性が高まった。発症

者に特異的な点変異が非翻訳領域に見出され、責任遺伝子であるか否か検証が進められた。

(3) FSP 研究

【方法】

SCD に含まれながら、従来系統的な全国調査が行われてきていない FSP に関して、全国調査とゲノム解析をリンクさせたプロジェクトチーム Japan Spastic Paraplegia Research Consortium: JASPAC を JAMSAC に習って立ち上げ、臨床情報データベースを構築するとともに、大規模ゲノム解析に向けてゲノムリソースの収集を行う。

【結果】

FSP に関しては、DNA マイクロアレイを用いた原因遺伝子の網羅的解析システムが東京大学により構築され、新たな変異が見出された。そこで本研究班を母体として、JAMSAC と同様の多施設共同研究組織 JASPAC が自治医大の滝山らを中心として構築された。原因遺伝子未同定 FSP の大規模ゲノム解析を目的とする大規模ゲノムリソースの収集を行うとともに、高精度の縦断的臨床情報データベースの構築を始める。

わが国で最も頻度が高い優性遺伝性 FSP である SPG4 の責任遺伝子 spastin の機能解析が自治医大で進められ、spastin は微小管と結合し、微小管経路による細胞内輸送に関与することが示唆された。

FSP の 1 病型である Charlevoix-Saguenay 型優性失調症 (ARSACS) はわが国でも家系例が集積されてきて、その臨床症状の多様性が自治医大から明らかにされた。また saccin 遺伝子の巨大エクソンの上流に新たに 8 個のエクソンが同定され、上流領域が検索された結果、エクソン 7 のフレームシフト変異による ARSACS が新たに見出された。

4) ALD とペルオキシソーム病の臨床研究

【方法】

前研究班による前向き調査研究から、小児大脳型 ALD における HSCT の有効性が明らかになってきたので、本プロジェクトでは早期治療に向けて、早期診断と HSCT が速やかに施行できる診療体制の整備を進める。前研究班による HSCT 治療効果の追跡調査を継続するとともに、ALD に関する知識の普及と啓蒙、および新規治療薬の開発を行う。他のペルオキシソーム病についても、病態の解明を目指した基礎研究を進める。

【結果】

ペルオキシソーム病を対象とした診断・予後追跡システムが岐阜大学で構築され、本年 6 月から運用を開始される。ALD を除いたペルオキシソーム病の年間発症者は約 20 名と推定されるので、限られた診断施設を入り口とする患者追跡シス

テムとして有効に機能することが期待される。

ALD では DNA マイクロアレイを応用したハイスループット遺伝子解析システムが東京大学で構築され、ALD の病因遺伝子 ABCD1 と関連遺伝子 ABCD2 の変異解析を迅速に行うことが可能となった。

ALD に対する HSCT は名古屋第一赤十字病院と東海大学を中心に施行されているが、白血病と異なり正常骨髄に前処置して移植するために、臍帯血では生着率が約 50% と低いこと、および前処置に使用される busulfan の中枢神経毒性が課題となった。小児大脳型は 60% に家族歴があるが、この情報は有効利用されておらず、診断から移植までに平均 6 ヶ月を要していた。ALD は進行抑制のために、緊急に HSCT を要する病態であるという認識が必要である。また、HSCT が有効である機序は、髄鞘の再生はないことから、炎症機転の抑制が主と考えられた。

今後さらに、保険適応、骨髄移植ネットワークへの周知、小児科医・神経内科医への周知などの課題を検討する必要がある。Lorenzo オイルは MRI 上異常がない場合の発症リスクを低下させるという報告があり、前向き研究として調査すべきか、検討を要する。

5) 倫理面への配慮

臨床調査個人票を用いた解析は同意を得た場合に限り行い、集計結果についてのみ報告する。臨床研究は十分なインフォームド・コンセントに基づき、3 省合同の倫理指針に従い、各施設の倫理委員会の承認の下に遂行する。

C. まとめ

本研究班は共同研究体制の有効性を最大限発揮できるように、プロジェクト・チーム制を採用して組織された。1 年目の今年度は各プロジェクト・チームとも順調に研究をスタートすることができたと考える。今後の有効な班研究に向けて、本研究班としては以下の課題を検討する必要がある。

1) 臨床調査個人票の有効利用

臨床調査個人票は前向き研究のデータベースとして世界的にも貴重なリソースとなり得るが、実際の運用面では自治体による入力率を向上させなければ、有効活用は難しい。いかに入力率を向上させるか、行政面からも検討を要する。

2) モデルマウスの作成と普及

蛋白質の凝集抑制や細胞内移行阻止による神経変性疾患の治療が現実のものとなりながら、培養系に続いて候補物質の治療効果を検証するためのモデルマウス系が不足している。東京大学で維持されている DRPLA のモデルマウスが辻教授の

好意により提供可能となり、今後の共同研究が期待される。

3) 臨床試験のプロトコル策定

わが国で医師主導による臨床試験を実施することは極めて困難である。加えて SCD のような慢性進行性神経変性疾患を対象とした臨床試験は、従来のパラダイムによるエンドポイント評価では、5 年～10 年以上の追跡調査が必要となり、一個人や製薬会社の能力を遙かに超えたものになってしまう。短期的に結論を得にくい進行抑制治療に対する新たな試験パラダイムを早急に確立しなければ、基礎研究の成果を患者さんに還元する道は開かれない。

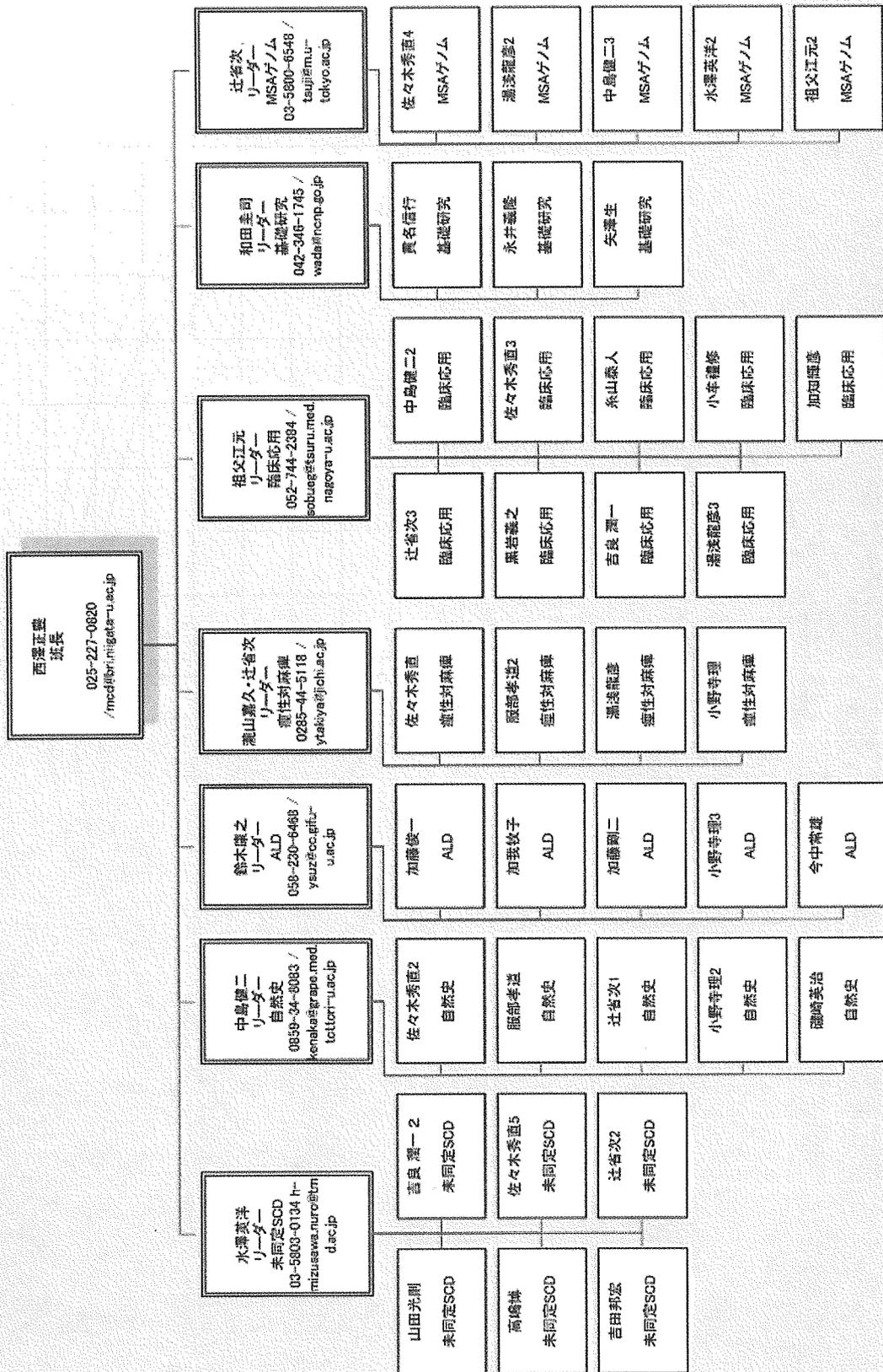
4) バイオバンクの構築

ゲノム解析を目的とした大規模ゲノムリソースの収集は、高精度の縦断的臨床情報データベースの構築とリンクさせ、得られたリソースを共有するバイオバンクとして利用できるように、班員による共同研究が活発に進められるように準備する必要がある。

5) 研究情報の公開

前研究班に引き続き、本研究班はホームページを立ち上げて、研究の進捗状況を公開している。本報告書もわかり易い報告書であることを目指して、各分担研究者による研究のまとめ図を最後に掲げることとした。

平成17年度運動失調班組織図



II 分担別報告

副腎白質ジストロフィーおよびペルオキシソーム病の早期診断システム構築に関する研究

鈴木康之
岐阜大学医学部医学教育開発研究センター

小児大脳型 ALD は早期の骨髄移植が今のところ唯一有効な治療法と考えられており、早期診断体制の整備は不可欠であるが、疾患の認知度は十分ではなく、診断システムも不十分である。今年度、研究者らは以下の調査研究を行った。

- 1) ホームページの作成：ALD 周知のため、昨年度、本研究班で編集した ALD ガイドブックの情報を基にしたホームページの原案を作成した。今後、内容を十分に検討し、情報提供、早期診断、早期治療に役立てゆく計画である。
- 2) ALD 家族への無記名アンケート調査：ALD 親の会の協力を仰ぎ、発症初期の症状と受療状況について無記名アンケートを実施し、具体的な初期症状に関する有力な情報を収集することができた。これを早期発見システムの構築に役立ててゆきたい
- 3) ALD/ペルオキシソーム病早期診断システム：極長鎖脂肪酸分析によるスクリーニングと、系統的なタンパク・遺伝子解析による ALD とペルオキシソーム病の診断システムの構築を進めた

DNA マイクロアレイを用いたハイスループット遺伝子解析システムを応用した ALD の遺伝子診断と疾患修飾遺伝子の探索

辻 省次
高橋 祐二, 松川 敬志, 後藤 順
東京大学医学部附属病院神経内科

DNA マイクロアレイを用いたハイスループット遺伝子解析システムを構築し、ALD の遺伝子診断及びその臨床応用と、ALD の修飾遺伝子の探索を行った。ALD 6 例の遺伝子診断を行い、全ての症例において変異を同定した。変異解析の結果を骨髄移植ドナーの選択及び遺伝カウンセリングにおけるキャリア診断に応用した。ALD の遺伝子診断は臨床に有用であることが示された。一方、ALD の病型を修飾する候補遺伝子として ABCD2 の解析を行い、新規多型を 2 つ同定した。これらの多型を有する例はいずれも大脳型の臨床像を呈した。今後さらに ALD の修飾遺伝子を同定する研究を推進する予定である。

小児副腎白質ジストロフィー症 (ALD) 前頭型の症状について

加我牧子
国立精神・神経センター精神保健研究所
知的障害部

幹細胞移植前後の評価目的で紹介された 19 症例を含む自験小児 ALD 28 症例のうち、病変が前頭葉から進展したと考えられる小児 5 症例について初発年齢、初発症状を含む臨床経過と検査所見につき検討した。前頭葉病変で初発する例は発症年齢平均 9.1 歳とやや高い傾向があり診断も遅れがちであった。診断には注意力低下、性格変化など前頭葉皮質症状が重要で、注意欠陥/多動性障害など「軽度」発達障害との鑑別が必須である。また小児の副腎機能不全の診断に際しては ALD の可能性を念頭に置いた十分な検査や観察が必要である。画像診断上前頭葉以外の病変が確認できなくても、視空間認知機能低下や構成障害・言語障害が明らかに存在している例が注目され、潜在的病変の存在の可能性を考慮する必要がある。幹細胞移植の臨床的有効性は明らかになってきており小児 ALD の早期症状の啓蒙活動と早期診断・早期治療の体制を構築する必要がある。

国内の副腎白質ジストロフィー症に対する造血幹細胞移植成績と今後の展望

加藤剛二
名古屋第一赤十字病院小児血液腫瘍科

国内では 1988 年 9 月から 2005 年 12 月までに 45 例の副腎白質ジストロフィー症に対し 48 回の造血幹細胞移植がなされ、ドナー別では血縁者間 24 例 (骨髄移植 23 例、臍帯血移植 1 例)、非血縁者間 21 例 (骨髄移植 11 例、臍帯血移植 10 例) であった。前者では 24 例に対して 26 回の移植がなされ 19 例が生着生存中であり、後者では 21 例に対して 23 回の移植がなされ 10 例が生着生存であった。今後は移植成績向上のためには 1) 発症後早期に移植する事、2) 生着を得る事、及び 3) 中枢神経系に対する副作用を少なくする事が重要である。そのためには移植の迅速性が要求されるため通常では拒絶や移植後の合併症が多いとされる HLA 不一致血縁者や非血縁者間臍帯血移植等の方法論の確立が重要であり、かつ同時に前処置薬としても中枢神経系への影響の少ない方法を選択すべきである。これら本症に特有な造血幹細胞移植の問題点の解決がその治療効果を発揮する上で極めて重要と考えられる。

東海大学における副腎白質ジストロフィー (ALD) に対する造血幹細胞移植

加藤 俊一

東海大学医学部基盤診療学系再生医療科学
矢部 普正, 矢部 みはる, 松本 正栄, 服部 欽哉
井上 裕靖, 浜之上 聡, 小池 隆志, 廣井 愛子
(東海大学医学部小児科),
柳町 徳春 (同放射線科)
清水 崇史 (現・筑波大学小児科)
加我 牧子 (国立精神神経センター)

東海大学において 1996 年～2005 年に造血幹細胞移植を施行した副腎白質ジストロフィーの患者 17 例について、その臨床的特徴、移植方法、移植結果、治療効果を検討した。

前処置に用いられる薬剤のうちブスルファンは、免疫抑制という観点では優れているものの、中枢神経毒性がある点が問題である。そこで、メルファランやフルダラビンを中心とした前処置を検討したところ、中枢神経毒性がなく、今後の移植前処置として使用できる可能性が示唆された。

移植による効果は、これまで指摘されているように、移植直前の進行度によるところが大きく、早期あるいは中期に移植を実施できた症例ほど臨床的な効果が大きいことが確認された。

ALD の分子病態解析

今中 常雄

富山大学・薬学部

守田 雅志 富山大学・薬学部

植物フラボノイド baicalein 5,6,7-trimethyl ether (BTM) が ALD 患者由来線維芽細胞の極長鎖脂肪酸代謝を正常化することを報告した。本研究ではさらに ALD に対する有効な化合物を見出すため、ヒト ALD 標的細胞株での ALDP ノックダウン細胞の作製、ALD ノックアウトマウス由来ミクログリア、アストロサイト培養系の確立を試みた。さらに BMT をリード化合物する誘導体の効果について検討した。その結果、ヒト ALD ノックダウン細胞ならびに ALD ノックアウトマウスグリア細胞では極長鎖脂肪酸代謝ならびにコレステロールの生合成に障害をもつことが確認され、ALD 治療薬スクリーニングに有用であることが示唆された。一方、baicalein 誘導体については有用な化合物が見出されなかったが、BTM の効果に必要とされる立体構造と官能基が推定された。

小児大脳型 ALD の診断・治療システム、ガイドラインの構築についての問題点

小野 寺理

新潟大学脳研究所生命科学リソースセンター

西澤 正豊

新潟大学脳研究所神経内科

近年小児大脳型 ALD (CCALD) に対して、造血幹細胞移植 (HSCT) の有用性が唱えられ、本邦でも有効性が確認された。しかし、HSCT 施行後 1.5 年程度は緩やかに悪化するためできるだけ早期の移植が推奨される。本邦では、発病から専門医療機関に受診するのが遅い。まず、本症が頻度の高い疾患であることを認識し、早期に専門医受診を勧めることが必要である。次ぎに、発端者が見つかった場合は、倫理面に配慮しながら、積極的に本症の保因者である可能性と、気をつけるべき点について伝えるべきである。最後に、本症が緊急に HSCT を必要とする疾患であるという認識をもち、早急に移植医に相談することが重要である。未発症時に対しては、最低半年に一回の MRI と神経心理検査を行い、症状の進行が疑われた場合は、HSCT を考慮する。食事療法 Lorenzo's oil については、勧められるだけの証拠がなく慎重であるべきである。

脊髄小脳変性症の治療を目的とした基礎的研究

矢澤 生

国立長寿医療センター研究所

研究資源有効利用室

脊髄小脳変性症 (SCD) は運動失調を呈する複数の疾患の集合である。遺伝性の SCD の多くはポリグルタミン病として解明されたが、非遺伝性の SCD の発病機序は不明である。本研究では遺伝性と非遺伝性の 2 つの SCD に関する研究を行うが、本年度は非遺伝性の多系統萎縮症 (MSA) の発病機序を検討した。MSA では中枢神経系のオリゴデンドロサイト (OLG) に a-synuclein (Syn) が凝集し、GCI (glial cytoplasmic inclusion) が白質に出現する。GCI の病的な意義を解明するために、ヒト Syn を OLG に強制発現するトランスジェニック (TG) マウスを MSA モデルとして開発した。TG マウス脳では、OLG の Syn の過剰発現により神経細胞の変性が誘導された。変性した神経終末には Syn の蓄積を認め、OLG の変性と同様に神経変性でも Syn の過剰発現が重要な病的プロセスであることを示した。

熱ショック転写因子 (HSF) 活性化によるポリグルタミン病に対する治療法開発

永井 義隆
大阪大学医学系研究科臨床遺伝学

ポリグルタミン (PolyQ) 病では共通の発症分子機構として、PolyQ 鎖の異常伸長により原因蛋白質のミスフォールディングが生じ、その結果原因蛋白質の凝集・蓄積を引き起こし、神経変性を来すと考えられている。本研究では①蛋白質のフォールディングを助ける Hsp70 や Hsp40 などの分子シャペロン群を誘導する薬剤の投与、あるいは②熱ショック転写因子 (HSF) の遺伝子発現によって分子シャペロン群の同調的発現誘導を試み、PolyQ 病モデルショウジョウバエに対する治療効果を検討した。その結果、HSF 活性化剤である 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) は濃度依存的に PolyQ 蛋白質の封入体形成、複眼変性を抑制することを明らかにした。一方、HSF dsRNA による内在性 HSF の発現抑制では PolyQ 蛋白質の封入体形成、複眼変性は増悪したことから、HSF は PolyQ 病に対する防御機構として重要であると考えられた。しかし野生型もしくは常時活性型 HSF 変異体の遺伝子発現では、予想に反して PolyQ 蛋白質の封入体形成、複眼変性の増悪を認めた。以上の結果から HSF 活性化剤 17-AAG の PolyQ 病治療薬としての可能性が明らかになったが、HSF の遺伝子発現では発現誘導される遺伝子群が異なる可能性があり、この点を十分留意する必要があると結論した。

Actin 結合蛋白 L-plastin は、ポリグルタミン病で増加する

小野寺理
新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター
長谷川有香, 西澤正豊
新潟大学 脳研究所神経内科
高橋俊昭 新潟大学医学部保健学科
豊島靖子, 高橋均 新潟大学脳研究所病理学
吉田豊 新潟大学腎研究施設構造病理学

ポリグルタミン鎖安定発現細胞において、伸長ポリグルタミン鎖の発現に伴う蛋白発現量の変化について、蛍光標識二次元ディフェレンシャル電気泳動 (2D-DIGE) 法を用いて網羅的に検討した。その結果、伸長ポリグルタミン鎖発現細胞において、L-plastin が増加していることを見出した。加えて、一部のポリグルタミン病患者の剖検脳でも L-plastin の増加を認めた。L-plastin はアクチン結合蛋白で、アクチンの調節を介してシナプス機能やエンドサイトーシスに関与する。本症における初期変化として、L-plastin 増加に伴うアクチン機能異常の存在が推察された。今後、L-plastin の増加が、実際にシナプス機能異常やエンドサイトーシスの障害を起すか、また、L-plastin は広く発現するため、サロゲートマーカーとしての応用も期待され、エンドサイトーシス機能や他の臓器についての検討が必要と考える。

アデノ随伴ウイルスをもちいた shRNA 導入によるポリグルタミン病モデルマウス治療の試み

貫名 信行
理化学研究所脳科学総合研究センター
町田 陽子¹⁾、岡田 尚巳²⁾、黒沢 大¹⁾
小山 文隆¹⁾、小澤 敬也²⁾

- 1) 独立行政法人理化学研究所
脳科学総合研究センター構造神経病理研究チーム
- 2) 自治医科大学分子病態治療研究センター
遺伝子治療研究部

ポリグルタミン病の治療として蛋白発現の抑制、ミスフォールディングの阻害、分解の促進などの可能性が考えられる。本年度は遺伝子抑制による治療効果について検討した。ハンチンチンエクソン1 (190Q) と EGFP の融合蛋白を発現するトランスジェニックマウス 190QG を用いた。このマウスは核内、細胞質に封入体を形成し、細胞質封入体は蛍光を示すためその分布の同定が容易である。このマウスに EGFP に対する shRNA をアデノ随伴ウイルスを用いて線条体に導入し、凝集体形成に対する影響を検討した。ウイルスを 12 週に感染させ、その効果を 24 週において検討した。封入体形成は線条体において 12 週においてすでに明らかであるが、24 週においてはその数は非処理の 12 週時の封入体よりも減少していた。以上の結果から病変の可逆性が示唆された。今後この成果を他の治療法との比較検討に用いる予定である。用いた試料の提供は可能である。

RNAi 法を用いたポリグルタミン病治療 ハンチントン病モデルマウスを用いた試み

和田 圭司
国立精神・神経センター神経研究所

ポリグルタミン病の一つであるハンチントン病に関し、RNAi による治療をモデル動物で確立した。ハンチントン病原因遺伝子 CAG リピート部分の 5' 側近傍領域の配列を元に設定した shRNA はハンチントン病原因遺伝子発現を特異的に抑制し、生直後に同 shRNA 発現プラスミドを投与された個体は臨床症状の進行が対照に比べ軽減した。この進行抑制効果は昨年度報告した裸二重鎖 siRNA 投与の効果を上回った。以上より、RNAi を用いたポリグルタミン病治療は有望な治療手段であることが示唆された。

パソコンソフトを用いた運動失調症状の定量的評価 (第二報)

黒岩義之
横浜市立大学神経内科学

タッチパネル上にタブレットペンで描画可能なボードとノートパソコンを用い、標的図形から実際の運動軌跡がどれだけ外れたかを自動計算させるパソコン解析ソフトを作成した。検査時間は5分ほどで、外来でも施行可能な簡便な検査である。

検査内容は、点滅する指標のタッピング、円・渦巻き上を移動する指標の追跡、線分間を移動する指標の追跡を行い、打点のずれや軌跡長・ずれ面積などを計測した。脊髄小脳変性症患者で記録された結果を、健常人対照やパーキンソン病患者の結果と比較した。

結果は、① 打点のずれ平均、② 打点のずれ平均SD、③ 円周のずれ面積、④ 渦巻き軌跡長の4項目が小脳性運動失調の客観的評価に有用と考えられた。

治療効果の判定や臨床経過の客観的追跡に応用可能な、臨床現場で役立つ検査としての有用であると考えられた。

脊髄小脳変性症のボツリヌス治療 - そのスペクトラムと今後の展望

湯浅龍彦、坂本 崇
国立精神・神経センター国府台病院神経内科

脊髄小脳変性症にみられる筋過緊張緩和の手段としてボツリヌス神経毒素を用いた治療は有効である。現時点でSCA3・SCA6にみられる眼瞼痙攣・痙性斜頸に対して十分な効果がみられているが、他にも応用範囲は広く、今回治験として眼振・痙性対麻痺への応用を試みた。眼振によって著しいADLの制約を受けるSCA6の内直筋に少量のボツリヌス神経毒素製剤を注入することでその筋活動を抑制し、眼振の軽減を得た。効果は3ヶ月持続し、患者の満足度も高かった。痙性対麻痺については下肢内反尖足を来たす筋に使用、歩行の改善がみられた。ただし、下肢の大きな筋であるために効果不十分でもあり、安全性を確保しながら有効性を発揮するようモニターする必要がある、今後の課題と言える。他にも多系統萎縮症の声帯筋への注射など、ボツリヌス治療の活用を検討していきたい。

ポリグルタミン病における筋エネルギー代謝測定を試み

佐々木秀直
北海道大学医学研究科神経内科学分野
矢部一郎¹⁾、相馬広幸¹⁾、寺江 聡²⁾
¹⁾北海道大学医学研究科神経内科学分野
²⁾北海道大学医学研究科放射線医学分野

ポリグルタミン病の病態機序解明は進展しており、新規薬物療法の開発も期待されている。しかし新規薬剤が開発されたとしても、疾病の性質上、症候と重症度による効果の判定には時間がかかることが予想される。そのため、短期間で効果を評価できる指標の開発が急務である。そのような指標の候補として、我々は筋エネルギー代謝に注目した。今回6名の健常者を対象に、³¹P-MRSによる筋エネルギー代謝測定を行い、その妥当性および再現性につき検討した。その結果、PCr/Pi比の測定については再現性のある測定値を得ることができたが、Vmaxについては安定した値を得ることができなかった。その理由として、運動負荷によりPCr/Piが上昇する例を認めたことや、回復速度の指標(t_{1/2})の測定が困難であったことなどが上げられる。Vmaxは筋エネルギー代謝の最も重要な指標であり、方法論につき今後更なる検討が必要と考えられた。

経頭蓋磁気刺激によるの脳糖代謝変化：正常人での検討

糸山泰人
東北大学・大学院医・神経内科

[研究結果の概要]

経頭蓋磁気刺激時の脳糖代謝変化を正常人にて検討した。運動野刺激の対象は右利き健常男性7名(平均年齢25.4歳)。1 mCiの[¹⁸F]FDG投与後30分間右手運動野刺激では対側運動野・補足運動野、対側小脳半球に糖代謝亢進を認めた。後頭蓋刺激の対象は右利き健常男性5名(平均年齢33.4歳)。1 mCiの[¹⁸F]FDG投与後30分間後頭蓋刺激では後頭葉中心に糖代謝亢進は認められたものの、小脳の糖代謝亢進は認めなかった。この結果は脊髄小脳変性症に対する磁気刺激療法研究班の研究結果(後頭蓋刺激は効果がなく、前頭葉刺激が運動機能改善傾向有り)を説明できる可能性がある。

[研究により得られた成果の今後の活用・提供]

円形コイルを用いた後頭蓋への単発磁気刺激では小脳に糖代謝亢進を起こさせるような刺激効果を上げることは難しい。使用コイル、刺激頻度、刺激強度に関して更なる検討が必要である。

[研究の実施経過]

従来の円形コイルを用いた後頭蓋への単発磁気刺激では、脊髄小脳変性症に対して十分な治療効果をあげることは難しい。

運動失調症の機能画像解析

加知 輝彦
国立長寿医療センター

研究結果の概要

孤発性皮質性脊髄小脳変性症患者 13 例と正常対照 26 例で脳血流画像を統計学的に比較。疾患群の脳血流は両側小脳、特に皮質で低下、失調症状と直接関連していると考えた。また歩行障害の程度、罹病期間など臨床指標と比較、小脳の血流低下と歩行障害の進行速度が相関する可能性を示唆。

研究により得られた成果の今後の活用・提供

より広範な系統的障害が見られる遺伝性脊髄小脳変性症やオリブ橋小脳萎縮症、これらとは病態の違う孤発性の皮質性脊髄小脳変性症の一群があることは知られていたが、脳血流パターンによっても両群の違いが明らかになった。今後、臨床的・病理学的所見との対応を検討し、脊髄小脳変性症の評価診断方法・治療方法の開発に活用したい。

研究の実施経過

対象患者に 123I-IMP SPECT を施行。SPM 法を用い、正常対照と比べ脳血流パターンを解析。また、ROI を設定、そのカウントと臨床指標の相関とを検討。

SCD 治療臨床応用研究 遺伝性脊髄小脳変性症に対する分子標的治療薬の開発

祖父江 元
名古屋大学大学院医学系研究科神経内科
足立弘明,和座雅浩,勝野雅央,南山 誠
徳井啓介,坂野晴彦,鈴木啓介,渡辺 宏久
熱田直樹,伊藤瑞規,田中章景,道勇 学

遺伝性脊髄小脳変性症は、その一部の原因遺伝子が同定され、病因・病態が明らかになりつつあるが、病態に基づいた根本的な治療法は確立されていない。このうち、主に常染色体優性遺伝形式をとる疾患であるポリグルタミン病は、原因遺伝子の異常により変異した蛋白が、神経細胞内で不溶性の封入体を形成したり、あるいは蓄積する過程で神経毒性を発揮するとされている。有効な治療法として、異常延長ポリグルタミン鎖を有する病的蛋白質そのものの発現を、薬剤を用いて選択的に抑制することができれば、大きな効果を発揮すると考えられる。また、凝集体の形成抑制、病因蛋白質の分解促進、神経細胞死抑制などでも、一定の効果は期待できる。そこで、本研究ではポリグルタミン病をターゲットとし、培養細胞およびトランスジェニックマウスモデルを用いた実験により 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) の有効性を検討する。

「脊髄小脳失調症 16 型の病因遺伝子同定」に関する研究

吉良 潤一¹⁾
三浦史郎¹⁾²⁾,柴田弘紀²⁾,古谷博和¹⁾
三好安¹⁾,小副川学¹⁾,松永宏美²⁾,
大八木保政¹⁾,柴田篤志²⁾,松本直樹²⁾
岩城明子²⁾,谷脇考恭¹⁾,山田猛¹⁾,服巻保幸²⁾
1)九州大学大学院医学研究院
脳神経病研究施設神経内科
2)九州大学生体防御医学研究所
遺伝実験情報センターゲノム機能学分野

研究結果の概要

常染色体優性遺伝形式をとる脊髄小脳失調症 16 型 (SCA16) の病因遺伝子を同定するための遺伝解析を行った。従来と異なり、3p26.2-pter に locus があることが判明した。更に、遺伝子変異の検索をしたところ、1 つの遺伝子の非翻訳領域に点変異を発見した。

研究により得られた成果の今後の活用・提供

本変異は SCA16 と臨床症状が似ている脊髄小脳失調症 15 型 (SCA15) の locus 内に存在しており、SCA16 と SCA15 が遺伝学的に同一疾患である可能性が考えられた。今回見出した一塩基置換の病的意義を今後検討する必要がある。

研究の実施経過

SCA16 患者 13 名とその家族 11 名を対象に、ゲノム DNA を抽出し遺伝解析を行った。SCA16 の病因遺伝子は従来 8q22.1-24.1 に連鎖するとされていたが、今回の再解析の結果、3p26.2-pter に locus があることが判明した (最大 LOD 値 5.177)。更に、今回改めて同定した連鎖領域内の全遺伝子について変異の検索をした結果、1 つの遺伝子の非翻訳領域に家系内罹患者全員がもつ特異な一塩基置換を発見した。

16 番染色体に連鎖する常染色体優性脊髄小脳変性症の原因同定の試み

高嶋 博
平野隆城,岡本裕嗣,大窪隆一
有里敬代,荒田 仁,田島圭子
納 光弘,有村公良
鹿児島大学医歯学総合研究科
神経内科・老年病学

16 番染色体に連鎖する 16qADCA type III の原因として DKFZP434I216 (Puratrophin) の疾患との強い関連性が報告された。本遺伝子の異常が、南九州地域の小脳失調症についても疾患の原因になっているか検討した。南九州の 7 家系 29 例においても同様の変異が認められた。そのうち 4 例についてホモ接合体の遺伝子異常が認められたが、臨床型は重症ではなかった。南九州の症例は、完全には segregate していないこと、ホモ接合体が重症ではないことから、mRNA や蛋白の発現が低下する機能低下の発症機序の説明が難しく、Puratrophin の異常が本症の原因というには検討の余地があると考えられた。现阶段で一つの遺伝子異常に絞ることは危険であり、我々はアレイ技術や FISH なども用いて、本領域の遺伝子発現、遺伝子の欠失・重複の同定や、genome の組み換え異常などについて検討している。

長野県の原因遺伝子未同定の ADCA 家系の分子遺伝学的解析

吉田 邦広
信州大学神経内科

長野県に集積する原因遺伝子未同定の常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症の病因解明を目的とした。長野県南部出身の 3 家系の連鎖解析では有意な連鎖は確認できなかったが、16q22 領域の TAGA02 にて最大 LOD 値 2.4 を得た。同領域に同定された puratrophin-1 遺伝子-16C>T 置換の有無を検索したところ 3 家系 12 名の罹患者のうち 11 名で陽性であった。この 11 名は D16S421 ~ D16S3085 に関して同一のハプロタイプを共有している可能性が示唆されたが、-16C>T 置換陰性の 1 名では D16S421 近傍での組換えが想定された。他の未同定家系 64 家系の解析では 48 家系にて-16C>T 置換が見られた。長野県には puratrophin-1 異常症が多数集積していることが示唆されたが、上記塩基置換に関しては、真の病因ではない可能性も含めてその意義を検討すべきと考える。

16 番染色体に連鎖する常染色体優性小脳失調症原因遺伝子解明の試み

水澤英洋
石川欽也,融 衆太,網野猛志,常深泰司
東京医科歯科大学大学院脳神経病態学

我々は本邦に存在する原因未同定の優性遺伝型脊髄小脳変性症のうち、第 16 番染色体長腕に連鎖する病型 (16q22.1-linked ADCA) の原因探索を行ってきた。これまで本邦の 52 家系について候補領域内の遺伝子をすべて解析したところ、DKFZP434I216 として既に登録のみされ、我々が新しく puratrophin-1 (Purkinje cell atrophy associated protein-1) と命名した遺伝子の、翻訳開始点から 16 塩基上流のシトシンからチミンへの 1 塩基置換を見出した。この変化は健常者 500 名にはなく患者に特異的であった。本遺伝子変化を有すると *in vitro* luciferase assay では転写効率が下がることや、患者 Purkinje 細胞でこの蛋白が封入体を形成していることが判明した。以上の結果から、本 1 塩基置換は本疾患に強く関連する変化であると考えた。

病理組織学的にポリグルタミン病であると考えられた 2 家系、2 剖検例

山田光則¹⁾
豊島靖子¹⁾,岩永圭介²⁾,辻畑光宏²⁾
長谷川有香³⁾,小野寺 理³⁾,西澤正豊³⁾
高橋 均¹⁾

- 1)新潟大学脳研究所 病理学分野
- 2)長崎北病院神経内科
- 3)新潟大学脳研究所神経内科学分野

研究の概要：伸長ポリグルタミン鎖に対する特異抗体 1C2 を用いた免疫染色を用いることで、臨床的に診断未確定な脊髄小脳変性症剖検例から病理組織学的にポリグルタミン病を抽出することが可能である。我々は、運動失調、不随意運動、認知症を呈し、臨床的に確定診断が困難であった剖検例において、神経細胞の核内にポリグルタミンの蓄積を呈する 2 家系 2 剖検例を見出した。2 例とも既知のポリグルタミン病の遺伝子異常は否定され、遺伝子が未同定の新規ポリグルタミン病であることが示唆された。成果の今後の活用：今回提示した 2 症例のように組織学的にポリグルタミン病であることが確認されれば、1C2 を用いた western blotting で原因蛋白の同定を試み、そこからさらに進んで原因遺伝子を同定できるものと考えられる。今後、小脳失調、認知症、不随意運動などをともなった症例の剖検例の検索には 1C2 免疫染色も重要な検査項目と考えられる。