

図1 年齢別分布

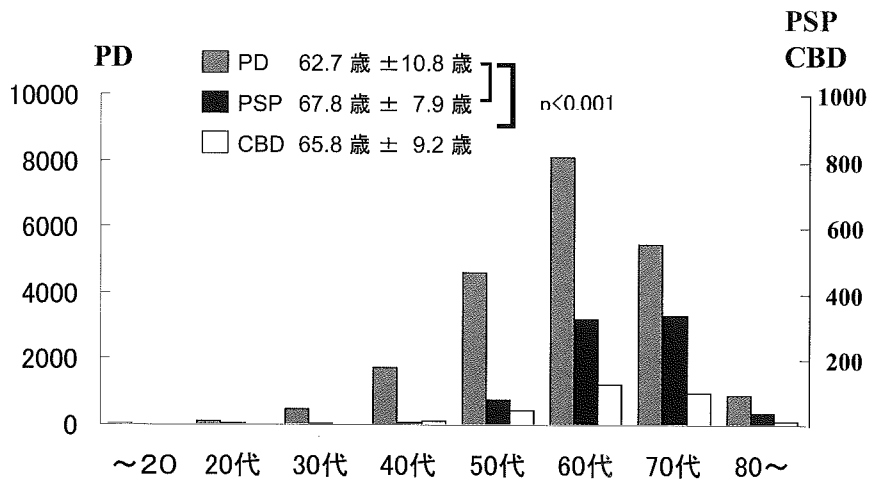


図2 発症年齢

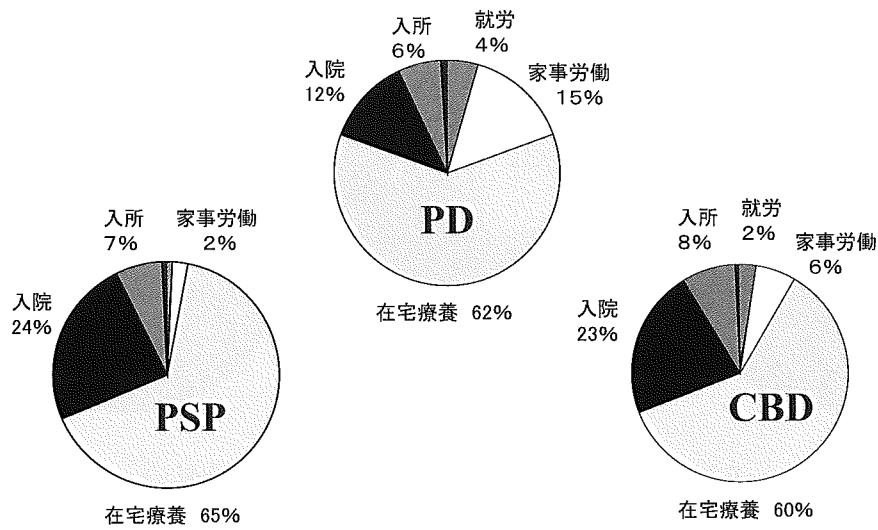


図3 社会活動

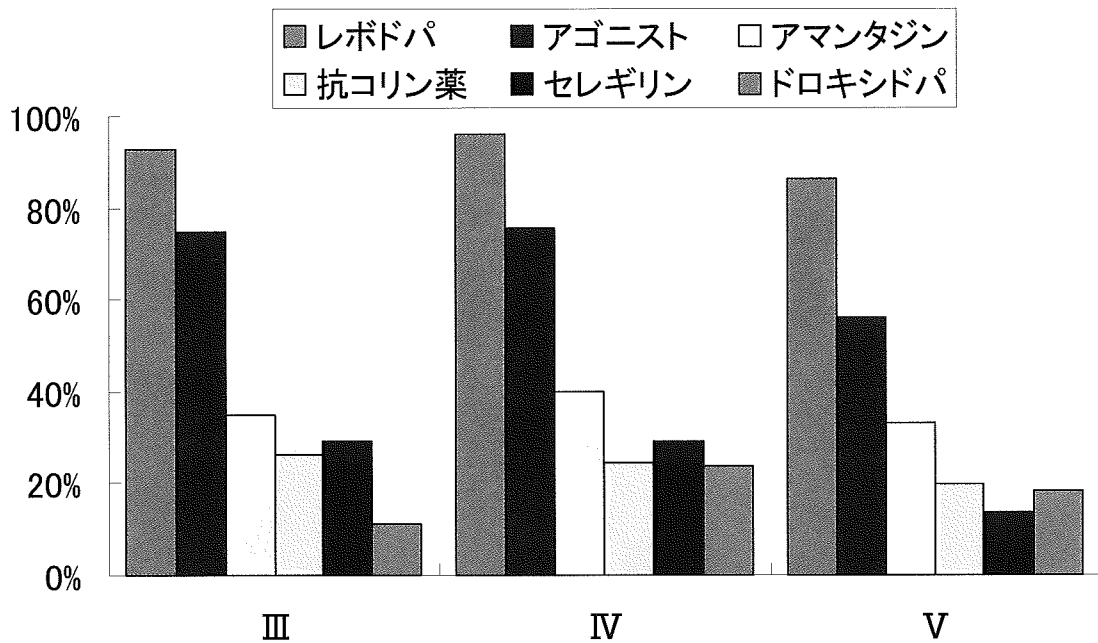
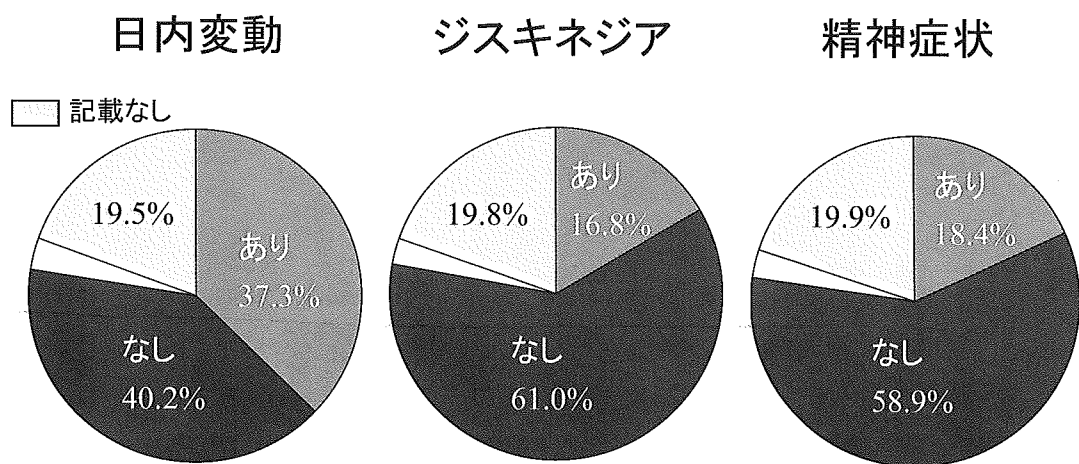


図4 Yahr 重症度別の使用中抗パーキンソン薬



	あり	なし	あり	なし	あり	なし
発症年齢	59.3 歳	< 65.2 歳	57.2 歳	< 63.8 歳	55.3 歳	< 64.6 歳
現年齢	69.8 歳	< 72.3 歳	69.6 歳	< 71.5 歳	68.1 歳	< 71.9 歳
罹病期間	10.4 年	> 7.0 年	12.4 年	> 7.6 年	12.7 年	> 7.4 年

(いずれも p < 0.01)

図5 日内変動, ジスキネジア, 精神症状

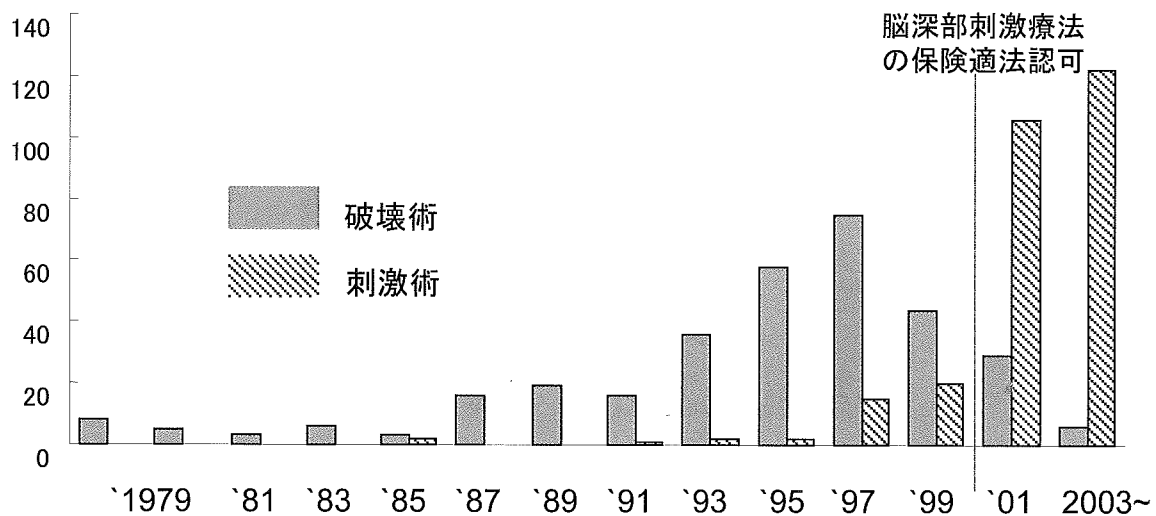


図6 定位脳手術を受けた年代

シンポジウム：臨床調査個人票から見た神経難病の疫学 多系統萎縮症，脊髄小脳変性症

辻 省次 東京大学医学部附属病院 神経内科

はじめに

運動失調班（平成 11 年度～16 年度）では，脊髄小脳変性症について，臨床調査個人票に基づく前向き自然歴を把握とする研究を進めてきた。ここでは，その概要を紹介し，あわせて，検討課題を示したい。

臨床調査個人票にもとづく自然歴の研究

平成 11 年度～16 年度の運動失調班では，平成 12 年度に，臨床調査個人票が改訂された機会に，わが国の脊髄小脳変性症の自然歴について，前向き研究として，臨床調査個人票を全面的に改訂し，電算処理を効率よく取り入れる形で，臨床調査個人票を改訂した。この際に，自然歴を明らかにすることを目的として，運動失調の評価基準である ICARS (International cooperative ataxia rating scale) を導入した。この臨床調査個人票については，膨大な記入項目があり，現場の負担は大きかったが，罹病期間と ICARS 各項目についての詳細な相関解析を行うことができ，歩行，四肢の失調に関する評価項目が強い相関を示すのに対して，眼球運動などについての項目は相関が弱いことが示された。この結果を，平成 15 年度からの改訂にあわせて活用し，簡略化した臨床調査個人票をデザインした。

多系統萎縮症については，これまでの特定疾患の分類では，オリブ橋小脳萎縮症，シャイ・ドレーガー症候群が別の分類で取り入れられており，線条体黒質変性症は含まれていなかった。このことから，多系統萎縮症全体についての疫学，自然歴の把握ができないという課題があった。多系統萎縮症の自然歴の把握を行うために，平成 15 年度より，シャイ・ドレーガー症候群の分類を多系統萎縮症として改め，ここに，オリブ橋小脳萎縮症，線条体黒質変性症を含め，多系統萎縮症の疫学調査，自然歴の把握を目的とした臨床調査個人票を定めた。

平成 15-16 年度の解析では，多系統萎縮症の中で，オリブ橋小脳萎縮症が 82.5%，線条体黒質変性症が 10.6%，シャイ・ドレーガー症候群が 1.8%，残りは分類が困難な例であった。この結果からは，オリブ橋小脳萎縮症が多いと考えられるが，線条体黒質変性症の一部はパーキンソン病関連疾患で登録されている可能性があり，今後の検討課題である。

平成 15 年からは、連結して縦断的な追跡が可能となったが、1 例 1 例の ICARS などの評価項目を解析すると、変動幅が大きく、記載者が変わったりすると、その評価項目がかなり変動することが示唆され、縦断的な自然歴の把握には検討課題が多いことが示された。

もう 1 つの検討課題としては、一部の都道府県において、データの入力が十分に行われておらず、全体としては 50% 程度の入力であり、地域別に詳細な解析を行うことができないという状況がある。この点については、背景を良く分析して、データの入力率の改善を目指すべきである。

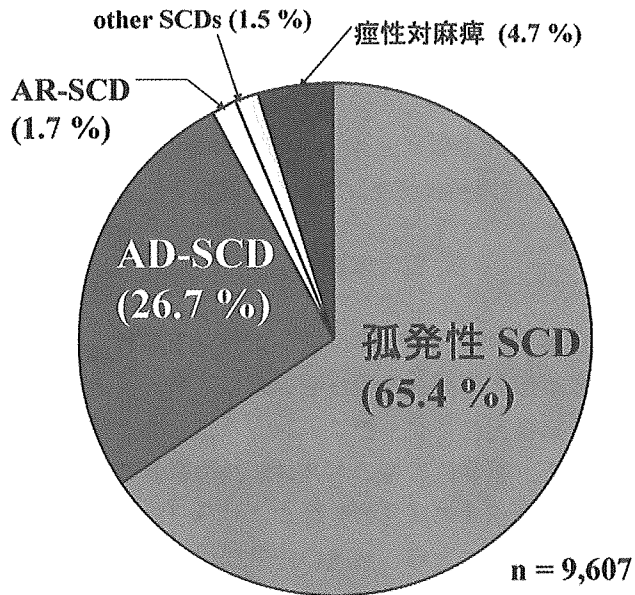
検討課題

臨床調査個人票に基づく疫学調査のように、全国規模で詳細な調査を実施できるシステムを有しているのはわが国だけである。この調査基盤を活用して、population-based の自然歴の把握は、さまざまな臨床研究をより積極的に追求していく必要がある。

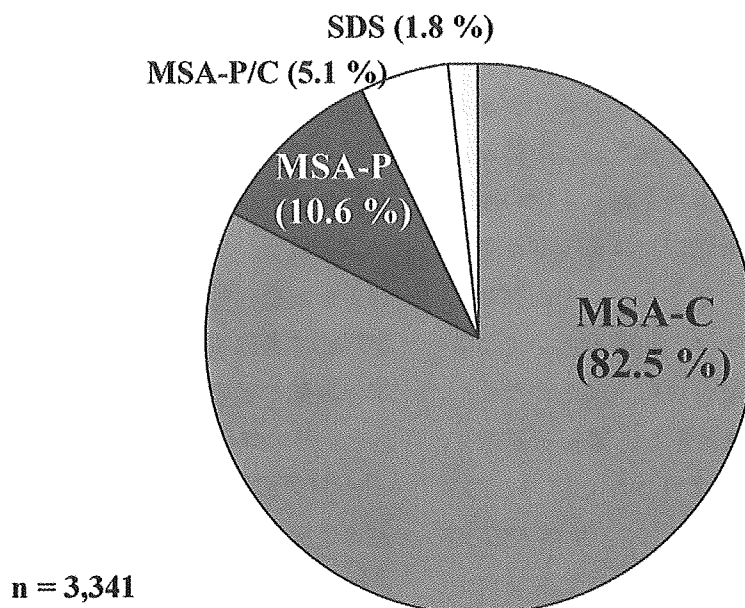
そのためには、このような全国規模の調査において有効に把握できる調査項目などについてはより吟味を重ねて、より簡潔な調査項目で、より信頼度の高い調査を目指す必要がある。また、縦断的な調査については、記入者による変動が無視できない要素となり、一定の限界があることを認識した上で調査研究を進めていく必要がある。

最後に、都道府県レベルでの入力率に大きなばらつきがある点は検討課題である。各都道府県の段階での入力の作業が膨大となっており、特定疾患治療研究事業全体のシステムとしても、より実現性の高いものとしての検討を進めていく必要がある。

わが国における脊髄小脳変性症の疫学(平成15-16年)



多系統萎縮症の疫学(平成15-16年)



ポストゲノム時代の分子神経遺伝学

戸田達史¹、佐竹渉¹、水田依久子¹、猪子英俊²
山本光利³、服部信孝⁴、村田美穂⁵

¹大阪大学臨床遺伝、⁴東海大学分子生命科学2、⁵香川県立中央病院神経内科、⁶順天堂大学神経内科、⁷国立精神神経センター武蔵病院神経内科

研究趣旨

分子遺伝学、ゲノム解析の進展により、ジストロフィン発見を端緒に、従来全く手がかりのなかった多くの単一遺伝性神経疾患の原因遺伝子が明らかにされた。神経疾患には、単一遺伝子の異常によるものと、大部分は孤発性だが一部にメンデル遺伝をとるものがあり、後者は多因子遺伝性疾患と考えられている。孤発性のももメンデル遺伝性のもも、一部共通の発症メカニズムが存在しており、単一遺伝子の異常の発見により分子病態の解明が進み、異常蛋白質の凝集・蓄積が神経変性を引き起こすという共通の分子機構が考えられている。多因子神経疾患の感受性遺伝子としてはアルツハイマー病における ApoE4 が有名だが、我々は孤発性パーキンソン病疾患感受性遺伝子として α シヌクレインを同定した。現在世界的に多因子疾患遺伝子同定のプロジェクトが進行している。

はじめに

2000年6月に「生命の設計図」であるヒトゲノムの塩基概要配を明らかにしたと共同声明が発表された。また2001年2月にNature誌、Science誌が大々的な特集を組んだ。さらに2004年10月にはヒトゲノムの全塩基配列が明らかにされた。ヒトのみならず他の生物ゲノムも解析され、生物の機能の全体像の解明に向けたワンステップが完了した。それによれば、ヒトゲノムの配列は、約30億塩基対からなり、mRNA しいては蛋白質になるエクソン部分は約1%しかなく、約45%は反復配列であった。遺伝子総数は当初予想の5~10万より少なく約32000個で、さらに2004年には22000-25000と減らされ1)、ショウジョウバエの2倍位しかないという予想外の結果であった。また多数のnon-coding RNAの存在2)や、1000万以上のSNPが存在する。

しかしながら塩基配列が明らかにされた

といっても、それは象形文字の並びがわかったというものであり、遺伝暗号の意味つまり遺伝子産物の機能がわかっているのは3万のうちわずか10%にすぎない。ほとんどの遺伝子産物の機能は未知である。すなわちポストゲノム(シーケンス)時代のヒトゲノム研究は、遺伝子産物の相互作用を含めた機能解析や、DNAチップやなどの体系的遺伝子発現解析、SNP(一塩基多型)などの体系的多型解析、他種の生物との比較ゲノム学、網羅的に蛋白質構造を解析する構造ゲノム科学、糖鎖などの翻訳後修飾、生物情報学などへと、その焦点が移行しつつある。

一方で疾患に目を転じると、単一遺伝病だけでなく、糖尿病、高血圧、アレルギーなどのいわゆるあるふれた病気も遺伝的要因が関与するし、癌も今や遺伝子病であると考えられているように、我々が遭遇する疾患のほとんどは遺伝子の影響を受けている、と言っても過言ではない。

単一遺伝性神経疾患原因遺伝子の同定

1990年代以降ポジショナルクローニングによって、単一遺伝性疾患としての遺伝性神経変性疾患の病因遺伝子の解明は急速に進んだ。例をあげると、家族性アルツハイマー病、前頭側頭型痴呆、ハンチントン病、家族性パーキンソン病、脊髄小脳変性症、筋萎縮性側索硬化症など枚挙にいとまがない。我々も日本に特異的に多い福山型先天性筋ジストロフィーの原因遺伝子フクチンを同定し、本症が約100世代前の1人の祖先に起きたレトロトランスポゾン変異が広がった初めての疾患であることを見出した。

単一遺伝性疾患については、数多くの病因遺伝子が同定されたことを受けて、研究の焦点は、①変異タンパクを培養細胞系で発現させる、②トランスジェニックマウスを作製する、③ノックアウトマウスを作製する、などによりその病態機序を解明することに移ってきており、原因療法の開発が射程距離に入ったものも多い。筋萎縮性側索硬化症、ポリグルタミン病などにおいてはヒトの病態機序をよく反映すると考えられる動物モデルの作製が進んでいる。

またポリグルタミン病では異常伸長ポリグルタミン鎖はコンフォメーション変化を生じた結果、異常伸長鎖特異的な蛋白質間相互作用を獲得したり、あるいは難容性のポリグルタミン蛋白質凝集体からなる細胞内封入体を形成することが明らかにされている。この現象は、凝集体の構成成分は異なるが、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、プリオン病などで共通しており、異常蛋白質の凝集・蓄積が神経変性を引き起こすという共通の分子機構が考えられている。

多因子遺伝性神経疾患

神経疾患には、ポリグルタミン病、各種

筋ジストロフィーなどのように単一遺伝子の異常によるものと、アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などのように、患者の大部分は孤発性だが一部にメンデル遺伝をとる家系が存在するものがあり、後者は生活習慣病などと同様に多因子遺伝性疾患と考えられている。多因子遺伝性のももの、メンデル遺伝性のももの、一部共通の発症メカニズムが存在していると考えられ、このうちメンデル遺伝を示すものの原因遺伝子を切り口にして病態解明、治療法開発が進んでいる。例えば、家族性アルツハイマー病、優性遺伝性パーキンソン病において、それぞれアミロイド前駆体タンパク遺伝子、 α シヌクレインが病因遺伝子として見出されたが、その結果アミロイド β タンパク ($A\beta$) や α シヌクレインの沈着という現象が、家族性アルツハイマー病、孤発性アルツハイマー病または孤発性パーキンソン病に共通する病態機序であることが解明されたのである。

現在生活習慣病を含めた多因子遺伝性疾患に遺伝学的研究の焦点が移行し、全世界的に研究が行われているが、多因子神経変性疾患の疾患感受性遺伝子としてはアルツハイマー病における ApoE4、またこの報告書にあるパーキンソン病における α シヌクレイン以外に確実なものはない。

多因子遺伝性疾患へのアプローチ

単一遺伝性疾患に関しては、連鎖解析により原因遺伝子の存在場所が決定され、その領域に存在する遺伝子で患者家系の変異解析が行われる手法で、多数の原因遺伝子が同定されてきたが、多因子遺伝性疾患における遺伝子解析はやや手法が異なる。具体的には数百・数千人単位の患者集団と健康者集団の間で遺伝子型分布の違いを検討し、患者集団中に有意に頻度の高い遺伝マーカー（主に SNP）を検索するものである。このようなア

アプローチは関連 (association) 解析と呼ばれる。

よく用いられる有意水準 $P < 0.05$ では 20 個調べたら 1 個はエラーであるので、関連があるといってもエラーを検出しているだけのことが多い。たいていの場合は検体数を増やせば関連は消失する。かりに全遺伝子 30000 個調べても 5% エラーにおさえるために、有意水準を $p < 10^{-6}$ ($5\%/30,000$) 位とするのが最近のコンセンサスである。さらに注意すべきは、ここで見られる関連は、関連を示す SNP と本物の変異とがごく近いことによる連鎖不平衡をみているにすぎないことがほとんどで、その近傍から本物の SNP を検索することになる。実際に本物であるかは生物学的に検証しなければならない。

近年示されたデータでは、ゲノム上には 30-50kb の連鎖不平衡の強い領域があり、組み換えのホットスポットにて分断されている。この連鎖不平衡 (LD) ブロック内では、多くの人種でも少ない数のハプロタイプしか存在していない。それぞれのハプロタイプを代表する SNP (tag-SNP と呼ぶ) を同定して効率良くタイピングすることが可能である。これを全ゲノム的に網羅するハプロタイプデータベースが完成した (HapMap 計画) 3)。

孤発性パーキンソン病へのアプローチ

そのような状況下で我々は、孤発性パーキンソン病の疾患感受性遺伝子同定による、病態解析と創薬、抗パ剤の効果・副作用と SNP との関係に基づいたテーラーメイド医療の確立を目標にして、①27,000 個のマイクロサテライトマーカーのバンクを用いた pooled DNA 法によるゲノムワイド関連解析、②多数の候補遺伝子 SNP による関連解析、③罹患同胞対解析を 3 つの柱にして、研究を行っており、はじめての孤発性パーキンソン病疾患感受性遺伝子として α シヌクレインを同定

した (本報告書別項参照)。

今後の展開

近年、連鎖領域で関連解析を行いながら連鎖不平衡の強い領域を探る方法で、多因子遺伝病における初めてのポジショナルクローニングの方法で、2 型糖尿病の原因遺伝子としてプロテアーゼの 1 種カルパイン 10 が同定された。またクローン病の原因遺伝子としてアポトーシス調節因子 NOD2 なども見出された。重要なことは、これらは従来の疾患病態ストーリーからは思いもよらなかったものであり、これらから新たな病態解析が進み、創薬の方向性が出てくることである。

ところで難治神経疾患のうち唯一治療薬のあるパーキンソン病では、振戦を主体とする群、抗パ剤で副作用を起こしやすい群など、その経過・中心となる症状・薬剤の効果は患者により異なる。このことは PD において、遺伝子多型によって患者個人個人に、必要な薬剤を必要な量投与するオーダーメイド医療が可能であることを意味する。今後は、「遺伝子多型と疾患感受性」以外に「遺伝子多型と薬剤効果・副作用」の研究も展開されるであろう。

文献

- 1) International Human Genome Sequencing Consortium. Nature 431:931-945, 2004
- 2) FANTOM Consortium. Science 2309:1559-1563, 2005
- 3) International HapMap Consortium. Nature 437:1299-1320, 2005

RNAi の原理と臨床医学への応用

宮岸 真^{1), 3)}
多比良 和誠^{2), 3)}

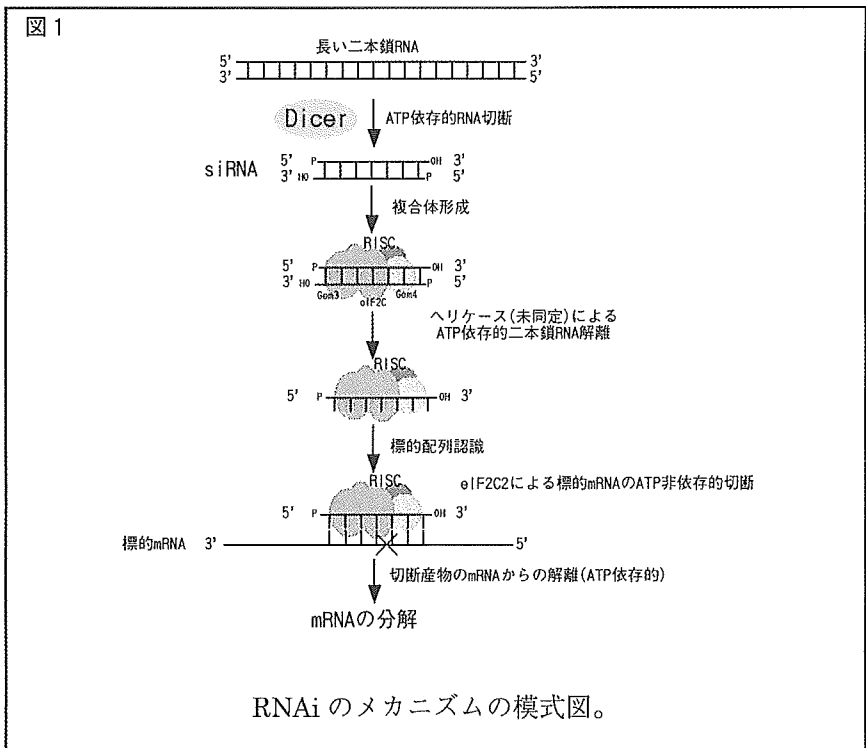
- 1) 東京大学大学院医学系研究科 21 世紀 COE プログラム
- 2) 東京大学大学院工学系研究科化学生命工学専攻
- 3) 産業技術総合研究所ジーンファンクションセンター

はじめに

RNA 干渉 (RNA interference, RNAi) を用いた遺伝子のノックダウン法は短鎖抑制 RNA (small interfering RNA, siRNA) を用いることにより、哺乳類細胞にも適用可能であることが明らかになってから、遺伝子解析の一般的なツールとして広く使用されはじめるとともに、医薬への応用の可能性が広がっている。本ワークショップでは、siRNA 発現ベクター系、siRNA 発現ライブラリーを中心に、RNAi の遺伝子解析への応用例、および、今後の展開に関して、概説したい。

RNA 干渉とは

RNAi は二本鎖 RNA によって、配列特異的に遺伝子をノックダウンする方法であり、その高い効果と特異性の高さから、遺伝子解析の有力な方法として、線虫、植物、ショウジョウバエなどでの遺伝子機能の解析に使用されてきた。哺乳動物細胞においては、二本鎖 RNA がインターフェロン反応による非特異的な阻害反応を引き起こすため、RNAi によるノックダウンは難しいと考えられていた。しかし 2001 年に Tuschl のグループが中間体である 21 塩基の短い二本鎖 RNA (siRNA) を用いることにより、この経路を回避して、非常に低濃度で阻害することが可能であることが明らかになった。RNAi による遺伝子サイレンシングのメカニズムは、いくつかの重要な因子が同定されたことによりかなり明らかになってきた(図 1)。2002 年に発見

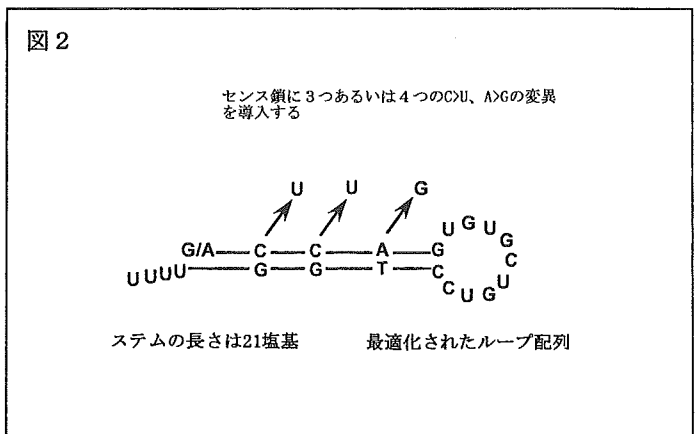


されたダイサー (Dicer) は二本鎖RNA特異的ナリボヌクレアーゼ III (RNase III) であり、長い2本鎖RNAを切断し、2塩基の3'端突出の21塩基から23塩基の短いRNA (siRNA) 生成する²⁾。siRNAはヘリケースによって1本鎖となり、片方の鎖がRISC複合体と呼ばれるタンパク質複合体に取り込まれ、ガイド配列として、ターゲットmRNAを認識し、切断する。この切断を行っている分子は、2005年に、eIF2C2であることが明らかになった。eIF2C2はPIWIドメインと呼ばれる保存領域があり、それがナリボヌクレアーゼH活性を持っていること、また、siRNAを抱え込んで、ターゲットを切断していることが、結晶解析の結果から推測された。^{3,4)}

この様に、RNAiは生体内のメカニズムを使用しているため、これまでアンチセンスDNAなどの人工的な遺伝子抑制法に比べて、非常に効率よく、また、高い特性で、遺伝子を抑制することができるのである。

siRNA 発現ベクターの開発

合成siRNAを直接細胞に導入する方法は、ノックダウン効果が一過的であり、また、ノックダウン細胞株やノックダウン動物の作製ができないなどの問題があることから、発現ベクターを用いて、細胞内でsiRNAを産生するシステムが待望された。この研究はまれにみる激しい競争になり、2002年前半に我々のグループを含む7つのグループが、ほぼ同時に、哺乳類細胞内でsiRNAを発現させ、RNAiを引き起こすシステムを発表した^{5,6)}。現在に至るまで、様々な改良を行い、図2のような発現系に最適化されている。



まず、プロモーターとしては、転写量の多い、ポリメラーゼ III (polymerase III, pol III)系であるU6プロモーターを用いる。また、RNAは21塩基のステム部分を持つ、ヘアピンRNAを発現させる。このステム部分のセンス鎖にC>Uあるいは、A>Gの変異を入れることにより、プラスミドの安定性が飛躍的に向上できることが分かった。また、ループ配列は、マイクロRNAのループの中で、最も活性の高いものを選択している。このベクター系を用いることにより、非常に効率よく遺伝子を抑制することが可能になった⁷⁾。また、ノックダウン細胞株、ノックダウンマウスの作製にも成功している。

siRNA のターゲットサイトの選択法

RNAiの実験において、最も重要な因子は、siRNAのターゲットサイトをどこにするかということであろう。任意にターゲットサイトを選んで、siRNAを作成した場合、効果があるsiRNAは約20-30%程度であり、効果の高いsiRNA配列を選択する方法を調べる必要があった。我々は、レポーター遺伝子に対して、数百個におよびsiRNAを合成し、siRNA活性を測定し、siRNAの配列と、活性の間の関係を解析し、ターゲットサイトを予測するアルゴリズムを作製した。特に相関があったのは、二本鎖RNAのGC含量、および、特定の位置のいくつかの塩基である。siRNA活性は、GC含量が低いほうが、また、アンチセンス鎖の5'側の塩基がAあるいはUであると高くなるという傾向があった。さらに数多くの因子を見出し、これらの情報に基づいて作製したアルゴリズムにより、約80%の確率で非常に効果の高いサイトが選択できるようになった。また、我々は、siRNAとsiRNA発現ベクターの間の相関を数百のターゲットサイトで比較したデータからsiRNA発現ベクター用のアルゴリズムも作製している⁸⁾。

siRNA ライブラリーの開発

最初に、siRNA 発現ベクターの開発に成功したときに、ヒトの遺伝子全てに対して、siRNA 発現ベクターを作製し、それをライブラリーとして使用することにより、機能遺伝子の探索ツールを作ることができるのではないかと考えた。しかし、siRNA ライブラリーを実現するためには、予算の問題以外にも、技術的な問題点が多く存在した。これらの問題を解決するために、前述した様々な検討を行いターゲットサイトの選択システムを構築し、また、効果が高く、安定性に優れたベクター系の開発を行った。これらの技術により、質の高いライブラリーの作製が可能になった訳である。また、数多くの siRNA 発現ベクターを早く、安く作製する方法を開発し、現在では、月に約 5,000 個のベクターの作製が可能になっている。siRNA 発現ライブラリーを作成する場合のもうひとつの重要な問題は、配列の特異性に関するものである。それぞれの siRNA 発現ベクターが自分の標的のみに活性があり、他の遺伝子に対して、効果を及ぼさないように設計する必要がある。これを実現するために、我々は、siRNA のどの位置の塩基が特異性に影響を与えているかを、変異を導入した siRNA の活性を測定することにより調べた。この情報に基づいて、siRNA 専用の Blast 検索を作製し、特定の siRNA が影響を与える可能性がある遺伝子を、cDNA データベースの中から検索することが可能になった。また、選択的スプライシング、マルチコピーを整理するシステムも作製した。これらのシステムにより、現在では、ヒト約 8,000 クローン、マウス約 4,000 クローンのライブラリーが作製できている。

siRNA ライブラリーを用いたアポトシスの網羅的解析

大規模な siRNA 発現ライブラリーを作製する前に、実際にライブラリーによるスクリーニングがワークするかどうかを調べるために、アポトシスに対する関連遺伝子に対して、スモールスケールのライブラリーを作製し、実際にどの程度、siRNA 発現ライブラリーを用いた機能的スクリーニングがうまく行くかを調べることにした。

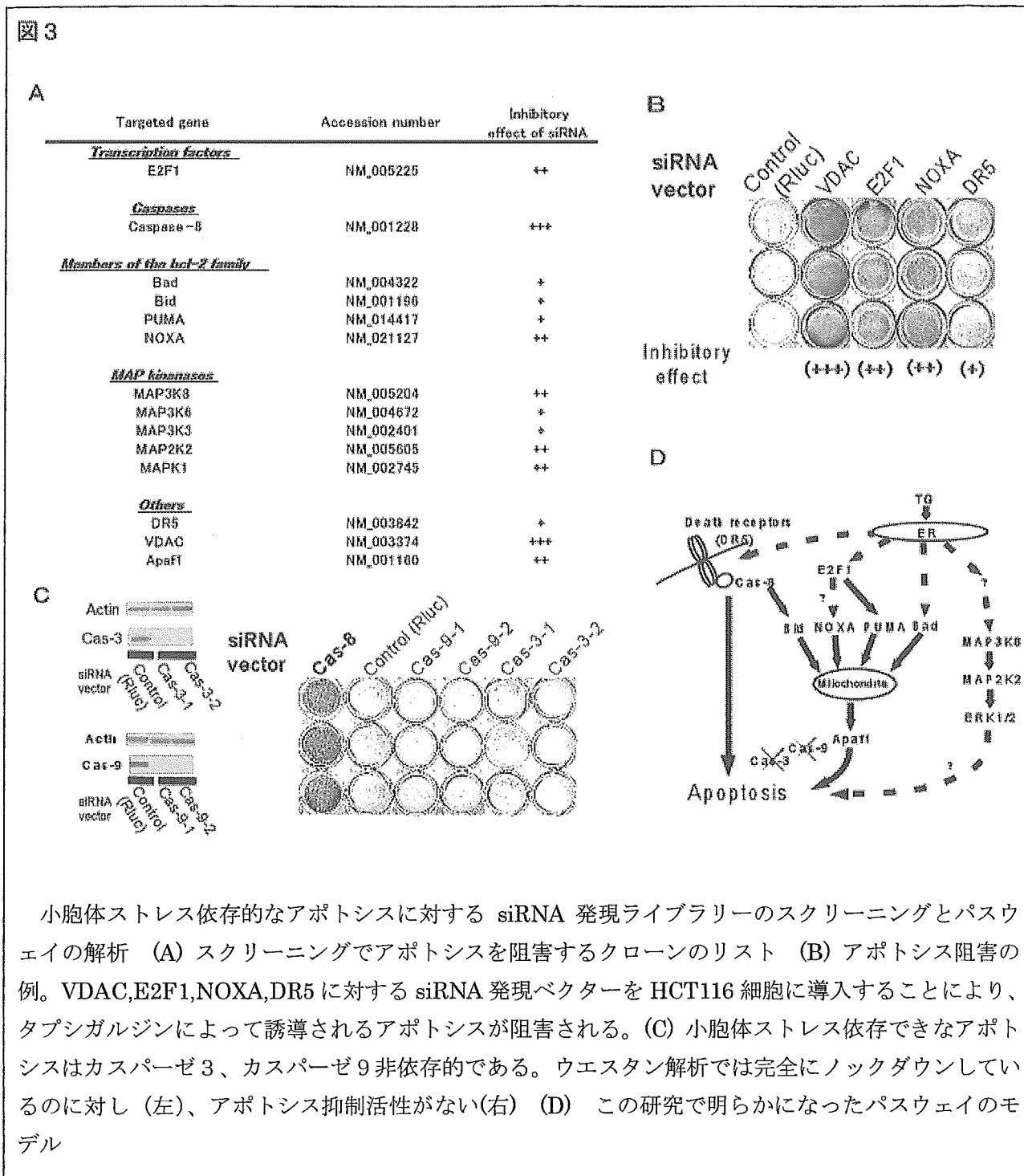
アポトシスに関連する遺伝子 241 遺伝子に対して、作製した約 500 クローンの siRNA 発現ライブラリーを、小胞体ストレス依存的なアポトシスに対して、ポジティブコントロールを用いた実験で設定した条件により、ファーストスクリーニングを行った。ファーストスクリーニングで陽性であったクローンに関して、タプシガルジンの濃度、および、細胞密度を振ったセカンドスクリーニングを行い、アポトシス抑制活性があるか否かの判定を行った。セカンドスクリーニングでポジティブと判定されたものは E2F1、Bad、Bid、PUMA、NOXA、MAPK1、MAP2K2、MAP3K2、MAP3K6、MAP3K8 およびポジティブコントロールとして使用したカスパーゼ 8 に対する siRNA 発現ベクターであった(図 3)。

さらに詳細な解析の結果、これまで知られていた DR5-カスパーゼ 8 の経路に加えて、E2F1-PUMA パスウェイ、MAP2K8-ERK パスウェイが関与していること、また、ミトコンドリアの上流に、これまで報告のある Bid 以外にも、PUMA、Bad など他の、BH3-only タンパクが関与していることが明らかになった。また、これまで関与していると考えられていたカスパーゼ 3、カスパーゼ 9 非依存的な経路の存在が示唆された⁹⁾(図 3)。

これらの結果からわかるように、siRNA 発現ライブラリーを用いたスクリーニングによって、その生理的現象に、関連する遺伝子を容易に同定できること、また、詳細なシグナル経路の解析においても、非常に効果的であることが示唆された。

この結果に基づき、現在では、約 10 種類程度のスクリーニング系に対して、転写因子に対する siRNA ライブラリーを中心に大規模なスクリーニングを進めている。いくつかのスクリーニング系において、既に新規関連遺伝子を同定しており、siRNA ライブラリーによる新規機能性遺伝子の探索が非常に有効であること

が明らかになってきている。



総括

RNAi の登場によって、生物学の研究のやり方も大きく変わってきている。新規の機能遺伝子を同定する方法として、これまでのタンパク質間の相互作用を指標にする方法や、チップのなどによる発現量の違いを指標にする方法に代わって、RNAi ライブラリーによって、先に表現系に影響を与える遺伝子をスクリーニングし、その後、相互作用、発現ネットワークを解析するといったストラテジー、あるいは、既存の方法から得た情報を基に、RNAi ライブラリーでスクリーニングをかけるといったように、RNAi によって遺伝子の発現を抑制することを中心にしたストラテジーが取られるようになってくると思われる。また、遺伝子治療

研究においても RNAi の登場は、非常に重要である。特に、RNAi テクノロジーは疾患の治療に直結する可能性が考えられるので、今後、疾患のターゲット遺伝子の同定、siRNA あるいは、siRNA 発現ベクターの導入法の研究がますます盛んに行われるだろう。

文献

- 1) Elbashir SM, et al. Nature 411: 494-8, 2001
- 2) Bernstein E, et al. Nature; 409: 363-6, 2001
- 3) Liu J, et al. Science 305: 1437-41, 2004
- 4) Ma JB, et al. Nature 434: 666-70, 2005
- 5) Mittal V. Nat Rev Genet. 5: 355-65, 2004
- 6) Miyagishi M, et al. Nat Biotechnol. 20: 497-500, 2002
- 7) Miyagishi M, et al. J Gene Med. 6: 715-23, 2004
- 8) Miyagishi M, et al. Nat Biotechnol. 23: 946-7, 2005
- 9) Futami T, et al. J Biol Chem. 280: 826-31, 2005

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班 平成 17 年度ワークショップ

平成 17 年度ワークショップ 開催報告

神経変性疾患に関する調査研究班による平成 17 年度ワークショップは、平成 17 年 8 月 26 日（金曜日）10:00 から、東京都千代田区平河町の都市センターホテル 7 階会議室 701 号室にて開催された。

当日の参加者数は 84 名で、そのうち厚生労働省から 2 名、患者団体等からは日本 ALS 協会より 6 名、日本ハンチントン病ネットワークより 4 名、パーキンソン友の会より 3 名であった。また、厚生労働省の野上様よりご挨拶をいただく。

人工呼吸器装着中の ALS 患者 1 名が出席され、入退室の便のため会議室最後列にて参加された。会議中、付添人による喀痰吸引も行われたが、特に支障はみられなかった。

活発な討論が行われプログラム通りに進行し、16:20 閉会した。

幹事会議事録 (H17.8.26)

平成 17 年度ワークショップ当日の昼食時間を利用して、都市センターホテル 703 号室にて開催した。葛原茂樹、中野今治、祖父江元、戸田達史、久野貞子、長谷川一子、野元正弘、内藤 寛の 8 班員（敬称略）とワークショップの演者、辻 省次、宮岸 真（敬称略）、および事務局から成田、谷口、小久保、佐々木が参加した。

- # 1 ワークショップ第一部で討論された神経変性疾患の臨床個人調査票に関して、都道府県によって電子入力されているケースの割合の差が大きいことから、班員がそれぞれ各都道府県の保健所などに確認することになった。
- # 2 『厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）総合研究報告書 難治性疾患克服研究の企画または評価に関する研究 「神経・筋疾患調査研究」および「スモン調査研究」班に関する検討』（平成 17 年 3 月発行）から抜粋された内容を検討した。

II. 研 究 報 告

平成 17 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

神経変性疾患に関する調査研究

総括研究報告

主任研究者 葛原茂樹 三重大学医学部教授

分担研究者 32 名 連絡班員 2 名

研究目的

本研究班は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）、パーキンソン病（PD）、ハンチントン舞踏病（HD）、球脊髄性筋萎縮症（SBMA；Kennedy-Alter-Sung病）、脊髄空洞症、進行性核上性麻痺（PSP）、大脳皮質基底核変性症（CBD）、ライゾソーム病の8疾患に代表される神経変性疾患に関して、基礎的ならびに臨床的研究を発展させ、特定疾患に係る科学的根拠を集積・分析し、医療に役立てることを目的とする。

研究方法と研究組織

神経変性疾患の大部分は、原因や病態が不明で診断法や治療法が確立されていない。神経変性疾患の中で最も患者数の多いパーキンソン病でさえ、対症的な薬物療法や手術療法が確立されてはいても、発症機序を目標とした根本的治療は全く確立されておらず、病気の進行を抑えることはできないのが現状である。

神経変性疾患は一部の疾患を除いて患者数が少なく、また地域により発生頻度が異なるものもあるため、原因究明および患者実態の把握には全国多施設における研究者の協力が不可欠である。さらに本研究班は、8種類にもおよぶ神経変性疾患を対象としているため、主任研究者1名のほかに、北海道から九州に至る全国の施設から協力を仰いだ分担研究者32名を加えた多人数から構成されている。

研究には6名の研究分担幹事を置き、それぞれがPD関連疾患分科会（水野、久野）、ALS関連疾患分科会（中野、祖父江）、遺伝素因と遺伝子多型検討分科会（戸田）、HD分科会（長谷川）を統括し、これらの総括は主任研究者が行った。

初年度にあたる本年度は次の項目を研究目標とした。

1. 原因と病態の研究（主として個別研究）

初年度と同様、患者数が多く、医療と介護の点で研究成果が期待されている ALS、PD、およびこれらの関連疾患を中心に、分子遺伝学、神経疫学、神経化学、神経薬理、神経生理、神経治療、神経病理など多方面からの研究を推進する。

2. 疫学的研究

全国規模のデータの集積と研究協力のもとに神経変性疾患研究を推進することにより、診断法と診断基準の確立、重症度に対応した治療指針の確立、そして新しい治療法および予防法の開発を目指す。

3. 特定疾患治療研究事業対策への取り組み（研究班全体のプロジェクト）

本研究班の研究対象である ALS、PD、HD は、特定疾患に指定されてから約 30 年が経過している。さらに平成 15 年度からは PD の中から PSP、SND、大脳皮質基底核変性症（CBD）が分離されて特定疾患治療研究事業対策疾患に編入された（SND は平成 16 年度から運動失調症研究班の多系統萎縮症に編入された）。臨床調査個人票を活用した患者の実態や介護の現状、予後などに関する調査を行う。また発症促進因子や予防因子の検討も行う。

研究成果

1. 全体プロジェクト

括弧内はプロジェクトリーダー。#はⅢの平成 17 年度班会議発表演題の演題番号

（1）神経変性疾患臨床調査個人票を活用した患者実態把握

8 月のワークショップにおいて、ALS、パーキンソン病、進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症、およびハンチントン病の結果を検討した（葛原主任研究者、疫学班 柴崎先生、祖父江班員、谷口、長谷川班員）。都道府県によって電子入力されている患者数の割合の差が大きいことが判明し、班員がそれぞれ各都道府県の保健所などに確認することになった。調査個人票の項目によっては記載漏れも見出されたため、これを解消するために医師に対する注意喚起とともに記載項目についての見直しも提案された。

（2）パーキンソン病（PD）の発症機序に関する研究（久野、野本）

2004 年に原因遺伝子 LRRK2 が決定された相模原地区の優性遺伝性家族性パーキンソン病（park 8）において、LRRK2 の機能解析が行われた（長谷川班員 #32）。一方、孤発性パーキンソン病のついては、ゲノムワイド解析を行い、疾患感受性遺伝子のひとつとして

α -synuclein を同定した (戸田班員 #34)。

(3) 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の治療に関する研究

ALS 動物モデルに対する神経栄養因子を含めた各種薬剤および遺伝子治療について多数の班員から研究成果が発表された (吉良班員#12、岩崎班員#13、佐々木班員#17、青木班員#18、阿部班員#19、内野班員#20、水澤班員#21)。さらに平成 16 年度の本研究班で効果が示された、ALS に対するビタミン B12 大量投与に関して、臨床治験に向けた協力依頼が行われた (梶班員)。また、ALS 患者の会からの協力を得て患者を前向きに登録し、臨床病型、薬物治療や人工呼吸の効果判定と遺伝子の収集を行うことを目的としたサブワーキンググループ (JaCALS) への登録症例数をより拡大するため、全国の施設の倫理委員会に掛けることが提案された (祖父江班員)。

(4) 運動単位数推定 (MUNE) を用いた ALS 機能障害度と進行の予測に関する客観的評価法が確立された (荒崎班員 #8、内藤班員 #9, 10)。これにより、脊髄前角細胞数と症状発現の関係が推測でき、また ALS での臨床治験に対照群として利用できる可能性が示唆された。

(5) 紀伊半島の ALS/パーキンソン痴呆複合 (PDC) 症例脳において α -synuclein 陽性構造の免疫組織学的検討がなされ、グアム島の PDC と同様に α -synuclein 陽性構造の出現は限局的かつ少数であり、二次的所見と考えられた (葛原主任研究者#25)。

(6) PD 動物モデルへの各種薬剤治療および幹細胞移植についての成果が発表された (下濱班員#48、水野班員#49、中野班員#50)。PD モデルサルにおけるヒト ES 細胞由来神経幹細胞移植では、近い将来のヒトでの応用も視野に入れ長期的な効果についても検討中である。

II. 個別研究

平成 17 年 12 月 16 日-17 日にわたって、東京・全共連ビルにおいて班会議を開催し、研究発表 50 演題と、昼食セミナーとして ALS 臨床個人調査票の解析結果が発表された。演題を疾患別に見ると、ALS 関連 23 演題、パーキンソン病関連 20 演題、進行性核上性麻痺・大脳皮質基底核変性症関連・その他 5 演題、ハンチントン病 2 演題という構成であった。内容を下に記すが、詳細については研究報告書の内容を参照されたい。

III. 平成 17 年度班会議発表演題

<疾患・課題別分類> #は演題番号

1. ALS 関連

- 1) 臨床・生理・病理：#1-10
- 2) 疾患モデル動物・治療：#11-21
- 3) 生化学・病理：#25、#26

2. ハンチントン病

- 1) 臨床：#29
- 2) モデル動物：#30

3. パーキンソン病関連

- 1) 臨床：#31、#35-37、#39、#42
- 2) 遺伝子：#32-34、#38
- 3) 生理学・生化学：#41、#43、#44
- 4) 病理：#45、#46
- 5) 動物モデル・治療：#40、#47-50

4. 進行性核上性麻痺・大脳皮質基底核変性症・その他

- 1) 臨床：#22、#23
- 2) 遺伝子：#24
- 3) 病理：#27、#28

<個別研究課題>

内容は本報告書の「研究発表」の項目に掲載

1. 梶 龍児：滋賀県西部で発見された遺伝性 MND または HMSN-P と考えられる家系群について
2. 近藤 智善：筋萎縮性側索硬化症の発症関連要因に関する疫学的検討-第2報-
3. 内野 誠：常染色体優性近位優位成人型脊髄性筋萎縮症の検討
4. 中野 今治：eZIS および SPM97 による筋萎縮性側索硬化症における脳血流の解析
5. 郭 伸：ALS に合併するパーキンソニズム：PET による検討
6. 葛原 茂樹：ALS データベース研究第3報：告知・治療内容を中心に
7. 林 秀明：神経変性疾患と気管切開 一都立神経病院の経験から一
8. 荒崎 圭介：ALS の進行を定量的に予測するための方法論について
9. 内藤 寛：自動化された運動単位数推定法 (MUNE) の検討(1)
Statistical 法と Multiple point stimulation 法の比較
10. 内藤 寛：自動化された運動単位数推定法 (MUNE) の検討(2)
Statistical 法と Multiple point stimulation 法における検者間誤差の比較
11. 中川 正法：Spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA) に対する Methylcobalamin 大量療法
12. 吉良 潤一：ALS における G-CSF の発現と治療へのアプローチ
13. 岩崎 泰雄：運動ニューロン障害モデルに対する Tacrolimus の効果：
in vitro と in vivo 実験系を用いた比較検討