

マウスの LPS 誘発黒質-線条体ドパミン神経細胞障害のメカニズムに関する検討

分担研究者 水野 美邦

研究協力者 望月 秀樹、新井 裕幸

順天堂大学 脳神経内科

研究趣旨

【目的】 グラム陰性菌の細胞壁構成成分である lipopolysaccharide (LPS) の黒質内投与は、選択的にドパミン神経細胞障害を起こすため、パーキンソン病 (PD) モデルとして有用であることが報告されている。近年、ALS モデルマウスにおいて、LPS の全身投与は運動神経細胞の脱落を増強し、LPS は感染により体内に侵入することから、感染や炎症が ALS、PD をはじめ神経変性疾患の悪化因子のひとつに成り得ると考えられている。LPS はミクログリアに対する強い活性化作用を有し、PD 患者においてもミクログリアの活性化が認められることから、LPS のドパミン神経細胞に対する障害作用のメカニズムの解明及び治療への応用が注目されている。本研究ではマウスを用いて、LPS 誘発黒質-線条体ドパミン神経細胞障害のメカニズムを検討し、神経保護作用を有する薬物の効果及び作用機序を検討した。【方法】 LPS による黒質-線条体ドパミン神経細胞に対する障害作用、ミクログリアの活性化作用、サイトカイン産生促進作用、カスパーズ-11 発現誘導作用を免疫染色法、Western blotting 法、ELISA 法、HPLC 法及び RT-PCR 法により評価した。【結果および考察】 C57BL/6 マウスにおいて、LPS 1 及び 3 $\mu\text{g}/\mu\text{L}/\text{site}$ を片側黒質内に投与することにより、vehicle を投与した反対側と比較して投与 7 及び 14 日後に黒質における TH 陽性細胞（ドパミン神経細胞のマーカー）の減少及び Iba1 陽性細胞（ミクログリアのマーカー）の増加が認められた。また、LPS を黒質内に投与することにより、腹側中脳において投与 6~12 時間後に caspase-11 mRNA の発現増加、投与 8~12 時間後に caspase-11 蛋白の増加、投与 12~24 時間後に IL-1 β 量の増加が認められた。一方、caspase-11 knockout マウスは LPS によるこれらの反応に抵抗性を示した。IL-1 β の作用を抑制する anti-IL-1 β neutralizing antibody (2 $\mu\text{g}/\text{body}$) は LPS と黒質内に co-injection することにより、LPS によるミクログリアの活性化を軽度抑制し、黒質における TH 陽性細胞の減少、線条体におけるドパミン量の低下を抑制した。Minocycline (50 mg/kg) は腹腔内投与により、LPS による caspase-11 蛋白の増加、ミクログリアの活性化、IL-1 β 量の増加、TH 陽性細胞の減少、線条体におけるドパミン量の低下を抑制した。【結論】 マウスの LPS 誘発黒質ドパミン神経細胞障害において、ミクログリア、IL-1 β 及び caspase-11 が重要な役割を果たしており、anti-IL-1 β neutralizing antibody 及び minocycline は LPS によるドパミン神経細胞障害に対して保護作用を有することが示唆された。

はじめに

パーキンソン病は黒質-線条体におけるドパミン神経細胞の脱落を特徴とする神経変性疾患である。パーキンソン病の発症機序は十分に解明されていないが、パーキンソン病における主な病変部位で

ある線条体において、interleukin-1 β (IL-1 β)、tumor necrosis factor (TNF) などのサイトカイン量の増加が認められ¹⁾、一部のパーキンソン病患者で黒質-線条体におけるミクログリアの過剰な活性化が認められることから²⁾、パーキンソン病の病態に

炎症性のイベントが関与している可能性が示されている。グラム陰性菌の細胞壁構成成分である lipopolysaccharide (LPS) は、黒質内投与によりミクログリアの活性化を介して選択的にドパミン神経細胞障害を引き起こすことが知られており、パーキンソン病モデルとして用いられている³⁻⁵⁾。近年、マウスにおいてエンドトキシンである LPS を腹腔内投与することにより、血液脳関門 (BBB) が損傷を受けることが報告され⁶⁾、遺伝子改変による ALS モデルマウスに LPS を反復腹腔内投与することにより、運動神経細胞の脱落は増強されることが報告されている⁷⁾。これらの知見より、グラム陰性菌の感染による体内での LPS 量の増加は、神経変性疾患を増悪させる要因になり得ると考えられる。そこで本研究では、LPS のドパミン神経系への影響を調べる目的で、LPS の黒質内投与によるドパミン神経細胞障害のメカニズムを検討した。更に、LPS によるドパミン神経細胞障害に対する minocycline 及び anti-IL-1 β neutralizing antibody の神経保護作用を検討した。

方法

C57BL/6 マウス及び caspase-11 ノックアウト (KO) マウスを用いた。Caspase-11 KO マウスは Prof. Yuan より提供を受けた⁸⁾。マウスの片側黒質内に LPS (serotype O26:B6, *Escherichia Coli*) 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ の 1 μl を投与し、反対側に vehicle を投与した。LPS による黒質における tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞数、ミクログリア数、腹側中脳における IL-1 β 量、caspase-11 mRNA 及び caspase-11 蛋白発現レベル、線条体ドパミン量を免疫染色法、ELISA 法、Western blotting 法、HPLC 法、RT-PCR 法により検討した。Minocycline (50 mg/kg) は LPS 投与 1 時間前及び 16 時間後に腹腔内投与し、anti-IL-1 β antibody (2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$) は黒質内へ LPS と co-injection した。

結果

C57BL/6 マウスにおいて、LPS 0.1~3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}/\text{site}$ を片側黒質内に投与することにより、1~3

$\mu\text{g}/\mu\text{l}/\text{site}$ で vehicle を投与した反対側と比較して投与 7 及び 14 日後に黒質における TH 陽性細胞 (ドパミン神経細胞のマーカー) の減少が認められた⁹⁾。LPS による黒質 TH 陽性細胞数減少作用は用量依存的であった。LPS (1 及び 3 $\mu\text{g}/\mu\text{l}/\text{site}$) の黒質内投与により、投与 6 時間後~14 日後にかけて Iba1 陽性細胞 (ミクログリアのマーカー) の増加が認められた。また、LPS を黒質内に投与することにより、腹側中脳において投与 6~12 時間後に caspase-11 mRNA の発現増加、投与 8~12 時間後に caspase-11 蛋白の増加、投与 12~24 時間後に IL-1 β 量の増加が認められた。一方、caspase-11 KO マウスは LPS によるこれらの反応に抵抗性を示した。IL-1 β の作用を抑制する anti-IL-1 β neutralizing antibody (2 $\mu\text{g}/1 \mu\text{l}/\text{body}$) は LPS と黒質内に co-injection することにより、LPS によるミクログリアの活性化を軽度抑制し、黒質における TH 陽性細胞の減少、線条体におけるドパミン量の低下を抑制した。Minocycline (50 mg/kg) は腹腔内投与により、LPS による caspase-11 蛋白の増加、ミクログリアの活性化、IL-1 β 量の増加、TH 陽性細胞の減少、線条体におけるドパミン量の低下を抑制した。

考察

LPS の黒質内投与はミクログリアの活性化を介して選択的に黒質-線条体ドパミン神経細胞に障害を引き起こすことから、パーキンソン病モデルとして有用であると考えられている³⁻⁵⁾。LPS に対する黒質のドパミン神経細胞の脆弱性は、ミクログリアの密度が他の脳部位よりも高いことが関係していると推察されている¹⁰⁾。LPS は強力なミクログリア活性化作用を有し、パーキンソン病患者においても黒質におけるミクログリアの活性化が認められることから、LPS による黒質における炎症反応のメカニズム解明は、パーキンソン病の病態の解明及び治療ターゲットの探索に有用であると考えられる。

本研究において、LPS 誘発黒質-線条体ドパミン神経細胞障害に対し、minocycline は保護作用を示

した。Minocycline は BBB を通過することが知られており¹¹⁾、脳虚血¹²⁾、ダウン症候群¹³⁾、ALS¹⁴⁾、ハンチントン舞踏病¹⁵⁾、パーキンソン病¹⁶⁻¹⁹⁾のモデル動物において神経保護作用を示すことが報告されている。これらの実験で用いられている minocycline の用量は、抗生剤として臨床で用いられている用量と比較すると数十倍高く、minocycline の構造を化学的に修飾した化合物が神経保護薬として有用である可能性が考えられる。本研究において、anti-IL-1 β antibody は神経保護作用を示し、LPS による反応において、IL-1 β が重要な役割を果たしていることが示唆された。本研究では、免疫沈降法により IL-1 β と anti-IL-1 β antibody の複合体を除去した後に ELISA 法で free の IL-1 β 量を測定した結果、IL-1 β 量は低下したことから anti-IL-1 β antibody は IL-1 β と結合して活性を抑制することにより、神経保護作用を発揮したと推察された。

Caspase-11 は IL-1 β 前駆体から mature form への

変換に関与する IL-1 β converting enzyme (ICE、caspase-1) を活性化することが知られている⁸⁾。我々の以前の検討において、急性投与による MPTP 誘発パーキンソン病モデルマウスにおいて、caspase-11 が重要な役割を果たしていることが確認されており²⁰⁾、LPS 及び MPTP の両方のモデルにおいて、ドパミン神経細胞の脱落に caspase-11 が重要な役割を果たしていることが示唆された。LPS の腹腔内投与においても、ALS モデルマウスの症状進行は早まることから⁷⁾、体内の LPS レベルの増加やグラム陰性菌の感染は神経変性疾患において、病態悪化因子として無視できない要因になり得ると考えられる。

また、妊娠ラットへの LPS の膈内曝露は、生後ラットのドパミン神経の脱落を起こすことから、妊娠中の母体の膈内感染は、胎児に対してパーキンソン病の発症リスクを高めることが示唆されている²¹⁾。

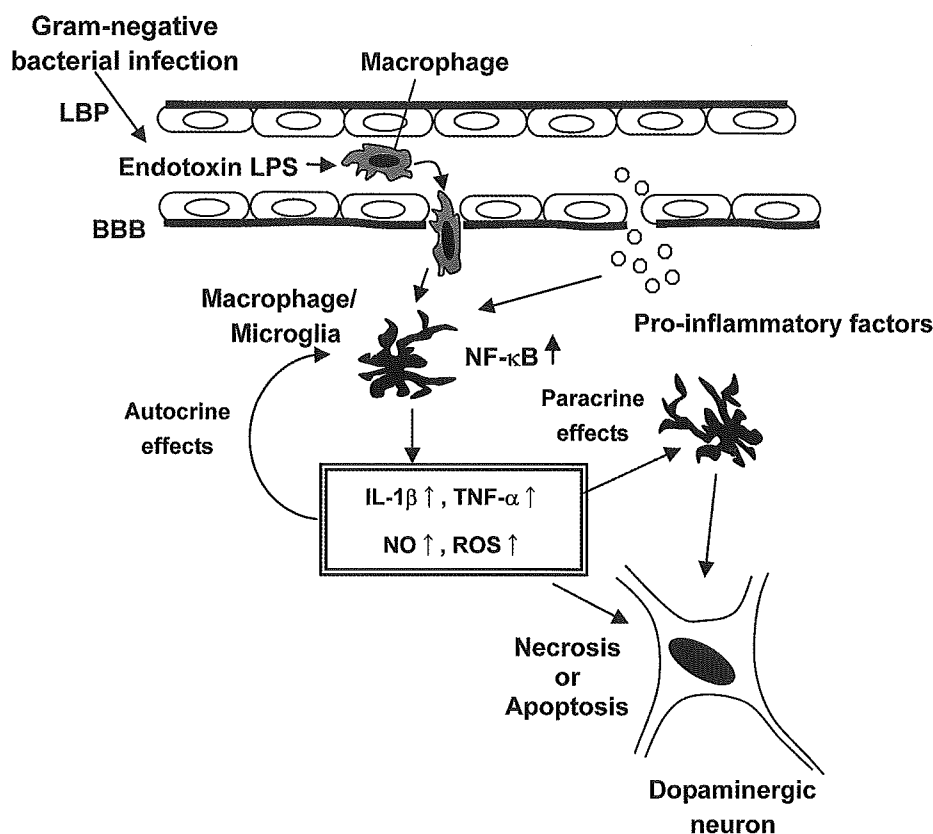


Figure 1 Neuron-microglia/macrophage interactions that may lead to neuronal death. LPS may be released from Gram-negative bacterial cell wall by LPS-binding protein (LBP) in blood. LPS may disrupt the blood brain barrier (BBB) with consequent extravasation of pro-inflammatory factors and macrophage. Parenchymal microglia and macrophage/microglia derived from peripheral macrophage may be activated by LPS and pro-inflammatory factors. Activated microglia/macrophage release cytokines, nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS), which may lead to neuronal death. Inhibition of the microglia activation would be important for the prevention of the neurodegenerative process.

まとめ

本研究により、C57BL/6 マウスにおいて、LPS は黒質内投与により腹側中脳における caspase-11 mRNA 発現増加、caspase-11 蛋白増加、IL-1 β 量増加、黒質におけるミクログリアの活性化、TH 陽性細胞数減少、線条体におけるドパミン量低下を誘発することが示唆された。LPS 誘発ドパミン神経細胞障害において、caspase-11 が重要な役割を果たしていることが示唆され、caspase-11 ノックアウトマウスは LPS による黒質-線条体での反応に対して抵抗性を示した。Minocycline 及び anti-IL-1 β neutralizing antibody は LPS 誘発ドパミン神経細胞障害に対して保護作用を有することが示唆された。

近年、感染が神経変性疾患を悪化させる要因になり得ることが示唆されており²²⁾、現在我々は、Green fluorescent protein でラベルした骨髄細胞を移植したマウス²³⁾に LPS を腹腔内投与すると、骨髄細胞は末梢から黒質実質へと浸潤することを確認した (Figure 1、未発表データ)。また、MPTP 誘発パーキンソン病モデルマウスに LPS を腹腔内投与すると、MPTP によるドパミン神経細胞脱落は増強されることを確認した。今後、我々はパーキンソン病患者におけるグラム陰性菌の感染による体内での LPS レベルの上昇が、パーキンソン症状の悪化の要因となっているかについて検討を行う予定である。

パーキンソン病患者において認められている黒質におけるミクログリアの活性化や線条体におけるサイトカインレベルの上昇は、炎症性のシグナルがパーキンソン病の病態に関与し得ることを示唆しており²⁴⁾、LPS はグラム陰性菌の感染により体内に侵入することを考え合わせると、炎症反応や感染は、長い期間をかけて進行する特に弧発性

パーキンソン病の症状悪化や病態発症において、より注目すべき要因であると考えられる。

文献

- 1) Mogi M et al.: *Neurosci Lett* 211, 13-16, 1996
- 2) McGeer PL et al.: *Neurol* 38, 1285-1291, 1988
- 3) Herrera AJ et al.: *Neurobiol Dis* 7, 429-447, 2000
- 4) Kim WG et al.: *J Neurosci* 20, 6309-6316, 2000
- 5) Iravani MM et al.: *Neurosci* 110, 49-58, 2002
- 6) Bohatschek M et al.: *Exp Neurol* 172, 137-152, 2001
- 7) Nguyen MD et al.: *J Neurosci* 24, 1340-1349, 2004
- 8) Wang S et al.: *Cell* 92, 501-509, 1998
- 9) Arai H et al.: *J Biol Chem* 279, 51647-51653, 2004
- 10) Lawson LJ et al.: *Neurosci* 39, 151-170, 1990
- 11) Brundula V et al.: *Brain* 125, 1297-1308, 2002
- 12) Yrjanheikki J et al.: *Proc Natl Acad Sci* 95, 15769-15774, 1998
- 13) Hunter CL et al.: *Ann Neurol* 56, 675-688, 2004
- 14) Zhu S et al.: *Nature* 417, 74-78, 2002
- 15) Chen M et al.: *Nature Med* 6, 797-801, 2000
- 16) Du Y et al.: *Proc Natl Acad Sci* 98, 14669-14674, 2001
- 17) He Y et al.: *Brain Res* 909, 187-193, 2001
- 18) Wu DC et al.: *J Neurosci* 22, 1763-1771, 2002
- 19) Tomas-Camardiel M et al.: *Neurobiol Dis* 16, 190-201, 2004
- 20) Furuya T et al.: *J Neurosci* 24, 1865-1872, 2004
- 21) Ling ZD et al.: *Move Dis* 17, 116-124, 2002
- 22) Rivest S et al.: *Brain Behavior Immunity* 17, 13-19, 2003
- 23) Furuya T et al.: *NeuroReport* 14, 629-631, 2003
- 24) Hunot S et al.: *Ann Neurol* 53, S49-60, 2003

ヒト ES 細胞を応用したパーキンソン病に対する移植治療法の開発

中野今治¹， 村松慎一¹

所属：自治医科大学内科学講座神経内科部門

[共同研究者]

滝野直美¹， 奈良優子¹， 古寺美加¹， 西田紘子¹（1 自治医科大学神経内科部門）

垣内岳春²， 福本大²， 原田典弘²， 西山新吾²， 塚田秀夫²（2 浜松ホトニクス中央研究所）

小野文子³， 土田順子³， 寺尾恵治³（3 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター）

奥野剛⁴， 小西奈依⁴， 道端英雄⁴， 鈴木豊⁴， 近藤靖⁴， 仁藤新治⁴（4 田辺製薬先端医学研究所）

要旨

現在のパーキンソン病移植治療に対するドナー細胞として、ES 細胞から誘導されるドパミン神経細胞への期待が高まっている。本研究では、ヒト胚性幹細胞(ES 細胞)から効率よくドパミン神経細胞を誘導する方法を探り、パーキンソン病モデルサルへの移植実験を行う。GFP 遺伝子を導入したヒト ES 細胞にラットグリア細胞の条件培地を使用して neural stem sphere を形成する方法により、神経幹細胞を分化誘導した。この方法によって、未分化な ES 細胞やフィーダー細胞の混入がほとんどない神経幹細胞を大量に調整できた。この神経幹細胞 $9 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^7$ をパーキンソン病モデルサルの片側の被殻へ移植し、3 か月後に作成した脳組織標本では、移植側の被殻に移植細胞由来の GFP 陽性細胞が多数観察され、tyrosine hydroxylase (TH)陽性細胞も認められた。ヒト ES 細胞は、パーキンソン病の細胞移植治療におけるドナー細胞として有望と考えられる。

はじめに

自己再生能と多分化能を持つ胚性幹細胞(embryonic stem cell : ES cell)は、従来、遺伝子改変マウスの作製などに使用され基礎研究の発展に貢献してきたが、1998年にヒト ES 細胞株が樹立されて以来、移植治療の細胞源(ドナー細胞)として、パーキンソン病、脊髄損傷、心筋症、糖尿病などに対する再生医療への応用が現実的な課題として注目されるようになった。パーキンソン病では、胎児脳細胞を使用した移植治療が欧米において既に実施されていることから、ドナー細胞の供給不足を解決できる ES 細胞への期待が高まり、ドパミン神経細胞を誘導する方法の開発が進められてきた。本研究では、ヒト胚性幹細胞(ES 細胞)を応用したパーキンソン病の細胞移植治療法を開発することを目標とする。

方法

カニクイサル 4 頭に選択的神経毒 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) を慢性的に投与することにより、振戦、無動・寡動、筋強剛、動作緩慢などヒトのパーキンソン病と同様の運動症状を示すモデル動物を作製した。Sweden より輸入したヒト ES 細胞を使用した。ラットグリア細胞の条件培地を使用して neural stem sphere(NSS)を形成する方法により、GFP 遺伝子を導入したヒト ES 細胞から神経幹細胞を分化誘導した。このヒト ES 細胞由来の神経幹細胞 $9 \times 10^4 \sim 1.5 \times 10^7$ をパーキンソン病モデルサル片側の被殻へ移植した。免疫抑制剤は FK506 を使用した。移植 3 か月後に脳組織標本作製し免疫組織化学を行い、生着細胞および tyrosine hydroxylase (TH) 陽性細胞の有無を検討した。なお、この研究計画は、文部科学省の「ヒト ES 細胞の樹立及び使用に関する指針」に従い、文部科学大臣の確認を得ている。

結果

NSS 形成法によって、未分化な ES 細胞やフィーダー細胞の混入がほとんどない神経幹細胞を大量に調整できた。移植に使用した神経幹細胞の残りを *in vitro* で培養すると、多数の TH 陽性神経細胞が分化誘導されることが確認できた(図 1)。モデルサルに移植 3 か月後の脳組織切片では移植側の被殻に移植細胞由来の GFP 陽性細胞が多数観察され、TH 陽性細胞も認められた(図 2)。

考察

グリア細胞の条件培地中で浮遊培養を行う NSS 形成法は、ヒト ES 細胞から神経幹細胞を誘導する方法として有力である。この方法で誘導された神経幹細胞からは *in vitro* および *in vivo* で TH 陽性細胞

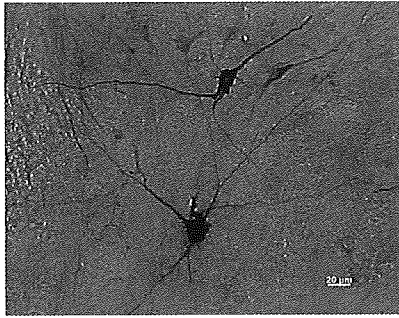
への分化が確認できた。行動学的な改善効果については、現在観察中および今後移植予定のモデルサルの結果が出た時点で判定する予定であるが、ヒト ES 細胞由来の TH 細胞がパーキンソン病モデルサルの被殻で生着することは、胎児細胞に代わるドナー細胞としてヒト ES 細胞を利用するための必要条件の一つを満たすものと考えられる。ES 細胞の移植では、未分化細胞の混入による奇形種の発生が問題となる。現在、自殺遺伝子導入および細胞表面マーカーを利用した未分化細胞の除去などによる安全なドナー細胞の開発を行っている。結論

ヒト ES 細胞から神経幹細胞を分化誘導しパーキンソン病モデルサル移植した。移植細胞は被殻で生着し TH 陽性細胞も認められた。ヒト ES 細胞は、パーキンソン病の細胞移植治療におけるドナー細胞として有望である。

図 1 : ヒト ES 細胞から分化した TH 陽性細胞



図 2 : モデルサル被殻の TH 陽性細胞



11. Nakai H., et al.: Unrestricted hepatocyte transduction with AAV serotype 8 vectors in mice. *J Virol*,79(1):214-224,2005.
12. Sasaki K., et al.: Efficient and stable Sendai virus-mediated gene transfer into primate embryonic stem cells with pluripotency preserved. *Gene Ther*, 12(3):203-210,2005.

文献

1. Muramatsu S, et al. : Behavioral recovery in a primate model of Parkinson's disease by triple transduction of striatal cells with adeno-associated viral vectors expressing dopamine-synthesizing enzymes. *Hum Gene Ther*, 13: 345-354, 2002.
2. Muramatsu S., et al.: Recombinant adeno-associated viral vectors bring gene therapy for Parkinson's disease closer to reality. *J Neurol*, 249 S(臨),36-40,2002.
3. Wang LJ., et al.: 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. *J Neurosci*, 22: 6920-6928, 2002.
4. Wang LJ., et al.: Delayed delivery of AAV-GDNF prevents nigral neurodegeneration and promotes functional recovery in a rat model of Parkinson's disease. *Gene Ther*, 9: 381-389, 2002.
5. Lu YY., et al.: Intramuscular injection of AAV-GDNF results in sustained expression of transgenic GDNF, and its delivery to spinal motoneurons by retrograde transport. *Neurosci Res*, 45: 33-40, 2003.
9. 奈良優子, 他: ES 細胞による治療. 特集 パーキンソン病 *日本臨床*, 62(9): 1643-1647, 2004.
10. 村松慎一: 遺伝子治療. 特集 パーキンソン病 *日本臨床*, 62(9): 1648-1652, 2004.

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年度班会議プログラム(敬称略)
 全共連ビル(東京都千代田区平河町) 4F大会議室

12月16日(金)

9:30	主任研究者挨拶		
9:35	厚生労働省疾病対策課御挨拶		
時間	演題番号	演題名	演者
9:40	A1	座長: 近藤 智善
	1	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	前田 耕司
	2	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-	紀平 為子
	3	常染色体優性近位優位成人型脊髄性筋萎縮症の検討	宇山 英一郎
10:25	A2	座長: 中野 今治
	4	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	石川 剛久
	5	ALSに合併するパーキンソニズム: PETによる検討	日出山 拓人
	6	ALSデータベース研究第3報: 告知・治療内容を中心に	大生 定義
	7	神経変性疾患と気管切開 ー都立神経病院の経験からー	平井 健
11:25	A3	座長: 内藤 寛
	8	ALSの進行を定量的に予測するための方法論について	荒崎 圭介
	9	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法における再現性の比較	朝日 理
	10	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	内藤 寛
12:10 ~13:10	ランチオン (JaALS報告 他)		
13:10	A4	座長: 岩崎 泰雄
	11	Spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA)に対するMethylcobalamin大量療法	高嶋 博
	12	ALSにおけるG-CSFの発現と治療へのアプローチ	菊池 仁志
	13	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	池田 憲
13:55	A5	座長: 中島 健二
	14	孤発性ALS運動ニューロン特異的病態関連分子: 単一運動ニューロンの検討	山本 正彦
	15	変異SOD1 (126TTdel)を有する家族性ALSおよびモデルマウス皮膚線維芽細胞におけるSOD1発現の検討	安井 建一
	16	Dorfinキメラタンパク質による変異SOD1-ALS治療の試み	丹羽 淳一
14:40	A6	座長: 佐々木 秀直
	17	ラット脊髄器官培養系における脊髄神経細胞に対する小胞体ストレス誘導薬剤の影響	田代 淳
	18	抗HGF抗体の髄腔内投与によるALSラット病態進行の促進	青木 正志
15:10 ~15:40	コーヒープレイク		
15:40	A7	座長: 阿部 康二
	19	ALSモデルマウスへのIGF-1髄腔内投与による脊髄前角運動ニューロン死の抑制	奈良井 恒
	20	逆行性軸索輸送を用いたBcl-2発現によるALSモデルマウスの運動神経変性に対する治療効果	山下 太郎
	21	siRNAを用いた遺伝子治療におけるin vivoデリバリーの現状	仁科 一隆
16:25	A8	座長: 湯浅 龍彦
	22	spinocerebellar ataxia type 2の一家系	西川 典子
	23	進行性核上性麻痺の特異な臨床徴候と治療戦略	松尾 秀徳
	24	進行性核上性麻痺とタウ遺伝子	高野 弘基
17:10	A9	座長: 橋詰 良夫
	25	紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン痴呆複合におけるαシヌクレインの検討	谷口 彰
	26	長期間、認知症のみで経過したALS with dementia の1剖検例: Motor neuron disease-inclusion dementia はALS-Dの不全型か?	豊島 靖子
	27	前頭側頭葉変性、パーキンソニズムおよび運動ニューロン変性を呈した孤発性4リピータウオパチーの1剖検例	譚 春鳳
	28	大脳皮質基底核変性症18例の病理学的スペクトラム	吉田 眞理
18:10	A10	座長: 長谷川 一子
	29	Huntington's diseaseのMIBGシンチグラフィ	堀内 恵美子
	30	ハンチントン病モデルマウスにおける伸長ポリグルタミンによるナトリウムチャンネルβ4サブユニットの転写抑制	小山 文隆

12月17日(土)

時間	演題番号	演題名	演者
9:00	B1	座長: 戸田 達史
	31	鳥取県大山町, 米子市におけるパーキンソン病の疫学	楠見 公義
	32	PARK 8 原因遺伝子であるLRRK2の機能解析	一瀬 宏
	33	マイクロサテライト多型による孤発性パーキンソン病のゲノムワイド関連解析	佐竹 渉
	34	α -synuclein は孤発性パーキンソン病の感受性遺伝子である	水田 依久子
10:00	B2	座長: 野元 正弘
	35	パーキンソン病患者における心臓弁膜異常の検討	大江田 知子
	36	パーキンソン病におけるドパミンアゴニストと心臓弁膜症との関連	永井 将弘
10:45	B3	座長: 郭 伸
	38	伴性劣性ジストニア・パーキンソニズムの発症機序	梶 龍兒
	39	経頭蓋超音波におけるパーキンソン病黒質の輝度変化	三輪 英人
	40	経皮的前庭電気刺激がパーキンソン病および多系統萎縮症患者の自律反応性および運動反応性に及ぼす影響	山本 義春
	41	パーキンソン病における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	谷脇 考恭
11:45 ~ 12:45	ランチオン (班員連絡会議)		
12:45	B4	座長: 久野 貞子
	42	Parkinson病の遂行機能障害の評価: 遂行機能障害症候群の行動評価 (BADS) 日本語版と前頭葉簡易機能検査法 (FAB) を用いた検討	石風呂 素子
	43	パーキンソン病および加齢により髄液中 α -synuclein濃度は減少する	徳田 隆彦
	44	ヒト血漿、脳脊髄液中における α -synucleinの定量化に関する研究	池田 修一
13:30	B5	座長: 村山 繁雄
	45	パーキンソン病剖検例の黒質メラニン含有細胞におけるGolgi装置の形態的变化	藤田 行雄
	46	パーキンソン病 (レヴィー小体病) が、全身疾患であるとする概念確立のための、末梢自律神経病理評価の一般化の試み	村山 繁雄
14:15	B6	座長: 下濱 俊
	47	変異タウトランスジェニックマウスの作成と解析	村上 哲郎
	48	プロテアソームとドーパミンニューロン死: <i>in vivo</i> モデルでの解析	下濱 俊
	49	マウスのLPS誘発黒質-線条体ドーパミン神経細胞障害のメカニズムに関する検討	新井 裕幸
15:00		50 パーキンソン病モデルサルへのヒトES細胞由来神経幹細胞移植	村松 慎一
	主任研究者挨拶		

1演題: 発表10分+討論5分

両日とも昼食をご用意しております

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 年度班会議

平成 17 年度班会議 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 年度班会議は、平成 17 年 12 月 16 日(金)と 17 日(土)の 2 日間にわたり、東京都千代田区平河町の全共連ビル 4 階会議室にて開催された。

総演題数は 50 で、参加者数は 16 日 114 名、17 日 110 名、であった。16 日には厚生労働省健康局の牧野様よりご挨拶があった。他に日本 ALS 協会事務局から 2 名参加があった。

16 日午前 9 時半から始まった班会議は、両日とも活発な討論が行われプログラム通りに進行し、17 日午後 3 時 10 分に閉会した。

班員連絡会議事録 (H17.12.16-17)

平成 17 年度班会議の昼食時間を利用して、班員連絡会議を全共連ビル会議室にて開催した。

討議事項

12 月 16 日 (金)

- # 1 厚労省健康局疾病対策課 牧野友彦氏より挨拶・最近の難病研究の説明と要望
- # 2 変性班サブグループとしての JaCALS の進捗状況の説明 (祖父江班員)
- # 3 ハンチントン病の実態調査について提案 (長谷川班員)
- # 4 ALS に対するメチコバル大量投与の治験に関してアンケート実施。また詳細は梶班員から説明
- # 5 2006 年横浜で開催される ALS/MND 国際会議についてのアナウンス (葛原主任研究員)
プログラム委員として同会議における各トピックス別に推薦した演者を紹介

12 月 17 日 (土曜日)

- # 1 パーキンソン病における脳深部刺激療法 (DBS) の実態調査の提案 (久野班員)
DBS の有効性について、医師のみならず患者からの意見も反映させていく。臨床個人調査票から再検討を行う。
- # 2 ドパミンアゴニストの副作用である心臓弁膜症について注意を喚起 (野本班員、葛原主任研究員)
数年前に海外から報告されていたが、今回の会議において本邦の複数の施設からも報告された。
- # 3 来年の ALS/MND 国際会議の JALSA のパンフレット(巻末資料参照)配布と
Oral 演題への応募依頼 (葛原主任研究員、祖父江班員)
来年の京都の The Movement Disorder Society のアナウンスを協力依頼 (水野班員)
- # 4 来年度の会議日程について報告
ワークショップ ; 平成 18 年 8 月 25 日 (金) 東京 ; 全共連ビル 4 階大会議室
班会議 ; 平成 18 年 12 月 15 日 (金)・16 日 (土) 東京 ; 全共連ビル 4 階大会議室

Ⅲ. その他（関連資料など）



難治性疾患克服研究事業・臨床調査研究班

神経変性疾患に関する調査研究班

主任研究者 葛原 茂樹 殿

平成17年4月26日
厚生労働省健康局疾病対策課
財団法人 難病医学研究財団

謹啓 時下貴職におかれましては、益々ご清祥の事とお慶び申し上げます。

さて、財団法人難病医学研究財団の難病情報センター業務運営につきましては、種々ご高配を賜り厚く御礼申し上げます。おかげさまで難病情報センターは多くのアクセスを記録（平成16年度1019万件、月々85万件アクセス）しております。

今般、厚生労働省難治性疾患克服研究事業の研究班の編成替え及び従来お願いしていた情報企画委員の任期が昨年度末で終了いたしましたので、あたためて各主任研究者の方々から、情報提供、関連メール問い合わせへの回答等のために下記疾患ごとに1名を班員の中から情報企画委員としてご推薦いただき、担当される方の研究班、所属施設、役職、メールアドレス、電話、ファックス番号について別紙のファックス返信用紙、または電子メールにて平成17年5月20日(金)までにお送りくださいますようお願い申し上げます。なお、電子メールをご利用の際は、operator-mail@nanbyou.or.jp までお願い申し上げます。

記

貴研究班ご担当疾患： 筋萎縮性側索硬化症
脊髄性進行性筋萎縮症
球脊髄性筋萎縮症 (Kennedy-Alter-Sung 病)
脊髄空洞症
ハンチントン病
進行性核上性麻痺
大脳皮質基底核変性症
パーキンソン病

連絡先

難病情報センター

オペレーター 松尾 紀子

TEL 03-3257-9021 FAX 03-3526-9075

メール：operator-mail@nanbyou.or.jp

難医研発 第 20 号
平成 17 年 6 月 14 日

厚生労働省特定疾患調査研究 主任研究者 殿

財団法人 難病医学研究財団
理事長 吉原 健二

平成 17 年度難病医学研究財団公募事業 申請者の推薦について (お願い)

平成 17 年度「医学研究奨励助成金」「海外派遣研究助成金」および、
平成 18 年度「国際シンポジウム並びに市民公開シンポジウム開催助成金」

時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

平素は、当財団の運営につきまして格別のご指導ご協力を賜り厚くお礼申し上げます。
平成 17 年度公募事業をインター・ネット上で行うことといたし、下記の難病情報センター
ホーム・ページ アドレスに応募要綱など詳細を掲載いたしております。先生方の研究班・
研究協力員に留まらず、幅広く標記助成金及びシンポジウムを開催するに相応しい候補の方々
のご推薦をお願いいたしております。

申請締切日を 8 月 5 日(金)と致しましたので、申請書に推薦理由を記述頂き、推薦者印
を捺印の上、当財団事務局宛郵送にてご送付いただきますよう協力頂きたくお願い申し上
げます。

記

難病情報センター ホーム・ページ アドレス

<http://www.nanbyou.or.jp/>

送付先：財団法人 難病医学研究財団

〒156-0052

東京都千代田区神田小川町 1-16-13

川新ビル 5階

以上

難病に関する調査研究班
専 門 医 各 位

「難病の雇用管理のための調査・研究」
難病患者の就業可能性に関する調査へのご協力をお願い

拝 啓

初秋の砌ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

当研究会は、厚生労働省認可の公益法人として厚生労働省及び関係諸団体等のご指導のもとに、広く衆知を集めて雇用問題に関する調査研究と知識の普及・宣伝に努めるため各種の事業を積極的に実施しております。

さて、当研究会では厚生労働省職業安定局高齢・障害者雇用対策部障害者雇用対策課の委託を受け、平成 16 年度より 3 カ年計画で「難病の雇用管理のための調査・研究」を実施しております。

初年度は「難病患者の雇用管理・就労支援」についての実態を調査するためのアンケート調査と、難病患者を雇用している事業主へのヒアリング調査を実施いたしました。2 年目に当たる本年度は、疾患別の職業上の課題と医学的な留意事項に関する調査を実施することとなり、各疾患のそれぞれの専門医の方々よりご教授いただきたいと考えております。

つきましては、就業可能性の判断に資する分類の方法、個別の事例に即した職務設計や職務配置、環境改善の雇用管理の方法の開発に資する基礎的情報のご提供をお願いいたします。

ご多用のところ種々お手数を煩わしまして申し訳ありませんが、本調査趣旨をご理解下さいまして、格別のご協力を賜りますよう衷心よりお願い申し上げます。

敬 具

平成 17 年 9 月

社団法人 雇用問題研究会
理事長 宮 内 正 義

平成17年6月25日

厚生労働科学研究費補助金
難治性疾患克服研究事業
主任研究者 殿

厚生労働省健康局
疾病対策課

**「難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査」の
予備調査について（協力依頼）**

特定疾患対策の推進につきましては、日頃よりご協力を賜り厚く御礼申し上げます。

さて、特定疾患対策については、平成16年度に開催された特定疾患対策懇談会における議論を踏まえ、厚生労働省健康局疾病対策課では、難治性疾患克服研究事業対象疾患すべてを対象とした「難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査」を計画しているところです。平成17年4月28日に開催予定であった説明会は諸般の事情により中止しましたが、調査の準備を先に進めることとしましたので、貴職におかれましては、本調査へのご理解とご協力の程宜しく申し上げます。

なお、本調査は特定疾患の疫学に関する研究班（主任研究者：埼玉医科大学公衆衛生学 永井正規）が担当することとしておりますので、ご承知おき下さい。

平成17年6月25日

神経変性疾患に関する調査研究班

主任研究者

葛原 茂樹 先生

特定疾患の疫学に関する研究班
主任研究者 永井正規

**「難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査」の
予備調査について（協力依頼）**

拝啓

時下益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。日頃より特定疾患の疫学に関する研究につきましては、ご協力いただき厚く御礼申し上げます。

さて、この度厚生労働省健康局疾病対策課より、本研究班に対して標記の件の調査依頼がありました。特定疾患を対象とする研究班の主任研究者の皆様にご調査票一式を送付させていただきますので、実施要領に従って、ご回答いただきたくお願い申し上げます。

なお、本予備調査に関して不明な点等ございましたら、下記宛ご連絡下さい。誠に忙しいところ恐縮ですが、何卒調査にご協力いただきたくお願い申し上げます。

敬具

添付資料

1. 「難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査」予備調査実施要領
2. 予備調査回答用紙
3. 研究班連絡票
4. 返信用封筒
5. 難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査（案）

連絡先

〒350-0495

埼玉県入間郡毛呂山町毛呂本郷 38

埼玉医科大学公衆衛生学

永井正規、柴崎智美

TEL:049-276-1171

FAX:049-295-9307

難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査 研究計画書

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
特定疾患の疫学に関する研究班
主任研究者 永井正規

「難治性疾患克服研究における治療法の有効性に関する調査」 研究計画書

厚生労働省科学研究補助金（難治性疾患克服研究事業）
特定疾患の疫学に関する研究班
主任研究者 永井正規

1. 研究の実施に当たる研究機関及び研究者等

- (1) 研究機関の名称：埼玉医科大学
- (2) 研究者等の氏名：永井正規他5名

2. 目的

難治性疾患克服研究事業対象疾患（121疾患）（表1）について、患者の予後に係る診療情報（生存率、ADL等）を収集・解析することにより、難治性疾患克服研究対象疾患の研究成果及び有効な治療法を統一的に把握し、難病対策の行政的資料として活用することを目的とする。なお、研究の意義については3.（3）5）を参照。

3. 調査方法

（1）対象施設

難治性疾患克服研究事業の39臨床調査研究班（表2）に参加する研究者（主任研究者・分担研究者・研究協力者。以下「研究班員等」という。）が所属する医療機関の診療科を対象として、調査を実施する。

（2）対象患者並びに調査方法

2005年4月1日から過去5年（2000年3月31日まで）にさかのぼって、この間受療したすべての難治性疾患克服研究事業対象疾患の患者について、患者の発症、死亡、年齢、ADL、受診状況、治療の有無及び治療内容に関する情報を、調査個票（書式1）に基づき収集する。すべての患者とは、現在受療している者だけでなく、当該期間に、入院した者、死亡した者、他院へ転院した者などを含むこの期間に1度でも当該医療機関において受療した患者すべてである。

1）対象患者の選出方法

研究班員等が所属する臨床研究班が研究対象とする疾患について、研究班員等が所属している診療科で受療した患者の中から、把握している患者を選出して情報を収集する（患者情報総括表、書式2）。

2）患者情報の記録

医療機関事務局・診療科が把握した患者について、病歴管理士等の協力を得つつ、各診療科、担当医師が、以下に掲げる患者情報を過去の診療記録より抽出し、調査個票に記載する。なお、この過程において、患者個々人の情報は匿名化されることとなる（詳細については、（3）2）を参照。）。

3）収集する情報の内容

疾患名、医療機関名、医師名、患者の生年月、性、医療機関内整理番号、対象疾患の（推定）発病年月

初診時の情報：当該医療機関初診年月、重症度、ADL、治療法、

最近診療時情報：最近診療年月、入院、通院の別、重症度、ADL、身体障害者手帳取得状況、その他、

最近診療時とは、調査時点に最も近い時点での当該医療機関（診療科）を受診した時点である。最近診療時以後継続診療予定であったにもかかわらず、1か月を超えて受診のない患者については、その理由（他医療機関を受診、軽快、死亡等）を確認して記載する。

4) 患者情報の提出

記入された患者情報総括票ならびに調査個票は、各研究者が所属する臨床調査研究班の主任研究者に送付し、主任研究者は患者情報総括票ならびに調査個票を医療機関毎にとりまとめ、調査事務局(特定疾患の疫学に関する研究班 主任研究者永井正規)まで送付する。

(3) 倫理面での配慮等

1) 研究の対象となる個人の人権の擁護

本研究は、「疫学研究に関する倫理指針（平成 14 年度文部科学省・厚生労働省告示第 2 号、平成 16 年 12 月 28 日、平成 17 年 4 月 1 日施行）」を遵守し、研究対象者個人の人権の尊重、個人情報の保護等倫理的観点から十分に配慮しながら研究を遂行する。

2) 個人情報保護の方法

本研究においては、対象となる患者の過去の診療記録（既存資料等）より、調査個票及び患者情報総括票に基づき情報を収集する（既存資料等を抽出加工）こととなるが、この過程において、患者個々人の情報は匿名化され、個人の識別は不可能となる（個人情報でなくなる）。

3) 対象者に理解を求め同意を得る方法

本研究は、後ろ向き研究であり、患者からの同意（研究協力についての同意、臨床班研究者から疫学研究班へ既存資料等から抽出加工した資料（以下「抽出加工既存資料等」という。）を提供することの同意）を得ることが難しい。

研究協力に関しては、「疫学研究に関する倫理指針（平成 14 年度文部科学省・厚生労働省告示第 2 号、平成 16 年 12 月 28 日、平成 17 年 4 月 1 日施行）」の「第 3 インフォームド・コンセント等」に準じると、本研究は「研究対象者からインフォームドコンセントを受けるとする等（2）観察研究を行う場合 ②人体から採取された資料を用いない場合 イ既存資料等のみを用いる観察研究の場合」に該当する。従って、研究対象者からインフォームドコンセントを受けなくても必ずしも要しない。そこで当該研究の目的を含む研究の実施についての情報の公開を埼玉医科大学ホームページ上に行う。

抽出加工既存資料等の提供に関しては、「疫学研究に関する倫理指針（平成 14 年度文部科学省・厚生労働省告示第 2 号、平成 16 年 12 月 28 日、平成 17 年 4 月 1 日施行）」の「第 4 個人情報の保護」、「11 他の機関等の資料の利用(2)既存資料等の提供にあたっての措置 ①当該資料が匿名化されていること」に該当する。そこで、情報を連結可能匿名化情報として収集し、研究資料とするものである。なお、提供を受ける資料の内容及び提供を受ける必要性について、提供を受ける資料の内容については、対象となる患者の過去の診療記録（既存資料等）より、調査個票及び患者情報総括票に基づき収集したもの、となる（調査個票及び患者情報総括表を参照のこと。）また、提供を受ける必要性については、難治性疾患克服研究事業の対象となっている 121 疾患は、対象疾患の数の多さ（121 疾患）及び患者の希少性等の理由から、複数の医療機関から資料の提供を受けることにより、有意な解析を行うための情報（量）を確保する必要がある。

4) 研究等によって生ずる個人への不利益及び危険性

本研究で用いる抽出加工既存資料等は、調査個票及び患者情報総括票に基づき抽出加工される過程において匿名化して調査を実施するため、患者のプライバシーは保護されており、不利益が発生する危険はない。また、人体から採取した資料を用いないため患者に対

する危険もない。

5) 医学上の貢献の予測

難治性疾患克服研究事業対象 121 疾患すべての患者の予後（生存率、ADL等）や、予後に影響する治療法については、現在、全般的、統一的に明らかにされていない。難治性疾患克服研究対象疾患の予後を把握し、それに影響する治療法を明らかにすることにより、患者の治療法の改善や予後の向上が期待され、臨床医学的、予防医学的に貢献が期待される。

<使用書式>

1. 調査個票（情報収集書式（疾患別））
2. 患者情報総括票