

研究者氏名：田中恵子

研究課題名：精神・神経・筋疾患に対する画期的な治療法に関する研究

継続年数：1 年

1. 研究成果の概要

傍腫瘍性神経症候群では癌と神経症候および抗体の種類との間に一定の関連があり、神経症候と抗体出現が癌の発見に先立つことが多いことから、抗体は癌早期発見のマーカーとなる一方、本症の診断にも強力な根拠を与える。本症に特異的な抗体を検出することで腫瘍および神経傷害の早期治療を行うため、これまで作成が完了していた Yo 抗原・Hu 抗原に対する抗体を有する抗 Yo 抗体陽性亜急性小脳変性症、抗 Hu 抗体陽性感覚性ニューロパチー/辺縁系脳炎に加えて、同様の小脳失調を生じる一群の抗原となる Ri、Ma、CRMP-5 のリコンビナント蛋白を作製して診断範囲を広げることができた。

一方、本症の神経傷害は進行性・難治性であり、腫瘍の治療と並行して神経傷害に対する治療が必要である。本症の神経傷害は我々のこれまでの研究により細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が関与する機序が考えられる。抗原特異的 CTL が病因として証明されれば、T 細胞受容体の抗体によるブロックや補助刺激分子のブロックなど病態特異的な治療が可能になる。また、標的として認識される抗原ペプチドを明らかにすることは、ペプチドワクチン療法への道を開くものである。本研究では本症患者の HLA を解析し、HLA に結合しうる候補ペプチドを reverse immunogenetics 法によりスクリーニングし、候補ペプチドで患者リンパ球を刺激して自己細胞への傷害活性を調べることにより、候補ペプチドの免疫原性を解析した。その結果、HLA A*2402 に提示されうるペプチドが B27 supertype にも共通に存在して標的となること、これまで共通の HLA がないとされていた Hu 抗体陽性例でも B7 supertype のなかで共有するペプチドに反応する CTL 活性を見出した。今後これらのペプチドの神経傷害への関与について動物モデルを用いての解析を行い、ペプチドワクチン療法開発に向け、治療に用いるアナログペプチドの同定、神経組織への効率よい到達法の開発など、基礎的研究を行う。

2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)

傍腫瘍性神経症候群は、1) 高度の神経障害が急性・亜急性に進行して寝たきりになる頻度が高い疾患であること、2) 悪性腫瘍の発見に先立って神経症状が出現する場合が多く、本症の診断が悪性腫瘍の早期発見に大きく貢献すること、3) しかしながら神経症状のみから本症の診断に至ることはきわめて困難であり、申請者が作成している融合蛋白を用いた特異的抗体検出が診断確定に大きく貢献すること、4) 本症の病因は不明であるが、神経傷害の機序を明らかにできれば重篤な神経障害に対して早期に治療導入ができる可能性があること、などが本研究の背景である。

特異的抗体診断が極めて重要であることから、多数の抗体が診断できるシステムを作成したことで、全国諸施設からの依頼を受けてこれまで約 3000 症例の抗体解析を無償で施行してきたことは、神経系の臨床の場に大きな福音をもたらしたと考える。

また、本症の病因が癌と神経組織に共通に存在するペプチドを抗原とした CTL によることを reverse immunogenetics の手法を用いて世界に先駆けて発表したことで、多数の免疫性神経疾患の病因に CTL の関与を考えるきっかけを作ったと考えている。CTL による疾患の再現には至っていないため、現時点では治療への貢献は不十分であるが、現在もモデル再現に向けての工夫を重ねた研究を継続している。

3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)

傍腫瘍性神経症候群の診断は難しいことから、神経障害の原因のみならず、背景に潜む悪性腫瘍を早期に特

異的に診断できるシステムを構築した。これにより全国諸施設から本症診断のための抗体解析依頼を引き受けていることで、医療経済上にも貢献が大きいと考えられる。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

傍腫瘍性神経症候群の神経症状そのものは、他の多くの神経変性疾患、炎症性神経疾患、代謝性疾患、中毒性疾患に伴う神経症状と特異的に鑑別できる点は乏しい。神経症状出現時には約60%の例で悪性腫瘍の発見に至っていない。そのため神経内科の臨床現場では、多くの鑑別を要するため、膨大な時間と経費と患者様の苦痛を伴うことになる。これを少量の血清で特異的な抗体診断ができるシステムを作成したことは、本症の早期診断、悪性腫瘍の早期発見に多大な貢献をもたらしていると考えられる。

研究者氏名：飯沼一字
研究課題名：乳幼児期に生じるけいれん発作の病態と治療に関する研究
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>幼弱期に生じるけいれんはてんかんが主たるものであるが、それらは治療に抵抗するものが少なくない。そこで、幼弱期の易けいれん性を検討するために、①グリシン脳症モデルマウスの作製、②カイニン酸微量注入によるけいれんモデルの作製、③幼若動物における興奮-抑制系の発達の3点について研究した。グリシン脱炭酸酵素のドミナントネガティブ (DN) 変異酵素を過剰に発現させることによってグリシン脳症モデルマウスを作製した。これらのマウスでは電撃によるけいれん持続時間と脳内グリシン濃度に正の相関が認められた。また、新生児期からけいれんを発症し、新生児けいれんのモデルとなりうると考えられた。カイニン酸を生後0-2日のラット脳皮質に微量注入すると、注入部位周囲とやや離れた部位に皮質の層構造の異常が認められ、皮質形成異常を作成することができた。発達期ラット神経細胞でのクロライドコトランスポーターの発現を検討したところ、幼弱期ではクロライドの汲み出しに関わる KCC2 mRNA の発現が遅れており、細胞内クロライド濃度が高く保たれていることが分かった。また、幼若細胞に GABA を投与すると、細胞内 Ca²⁺が上昇し、GABA が興奮性に働いていることが確認された。このように、幼弱期では興奮系が抑制系を大きく上回っており、これが易けいれん性に関与していると推定された。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</p> <p>幼弱期での興奮性の高まりを確認することができた。しかし、3種の研究の相互の関係について、たとえば、グリシン脳症モデルやカイニン酸モデルでのクロライドコトランスポーターの発現などについてまで3年間では研究を進めることができなかった。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</p> <p>本研究が行政的に資することを考えるとすれば、幼弱期に生じるけいれんの治療にまで踏み込んだ研究により、重度脳障害などの後遺症を生じやすい早期発症の重症てんかんへの対策などにつながると考えられるが、今回の研究ではそこまでには至らなかった。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>本研究により、新生児期からけいれんを生じ、重度の脳障害や脳痙性障害を生じるグリシン脳症のモデルを作製することができたことは、本疾患の発症メカニズムを解明する上で極めて有用な研究であった。また、カイニン酸注入モデルでは、局所の皮質形成異常を作製することができた。これは、現在難治てんかんの重要な原因の一つとして皮質形成障害が注目されており、このモデルを作製できたことは今後の研究に資することが大であると考えられる。幼弱期の神経細胞が興奮系優位であることが証明され、これが細胞増殖や細胞同士の情報伝達などへポジティブ優位で働いていることを推定させ、脳形成のメカニズムの解明への一助となりうると考えられた。</p>

研究者氏名：武田伸一

研究課題名：幹細胞を用いた筋ジストロフィーに対する治療に関する基盤的研究

継続年数：3 年

1. 研究成果の概要

- 1) 骨髄に見出される幹細胞(SP 細胞)は、in vitro では、骨格筋衛星細胞あるいは筋芽細胞と共培養することによって始めて筋細胞に分化する。
- 2) 骨髄のみならず胎児肝臓中にも筋前駆細胞が存在する (J Cell Sci 115:1285-93, 2002)。
- 3) Cardiotoxin の局所投与による筋変性・再生モデルを用い、発現の変化するサイトカイン遺伝子を cDNA array を用いて調べたところ、Cardiotoxin 投与 48、96 時間後の筋では osteopontin (OPN) が最も増加し、OPN 抗体による免疫組織化学でも、単核球とその浸潤を受けた筋線維で強い免疫染色性がみられた。(Am J Pathol 163:203-15, 2003)。
- 4) 骨髄幹細胞由来細胞に対するモノクローナル抗体産生細胞を樹立、さらに胸腺筋幹細胞からは造血性バイグリカンが産生されており、胸腺内 B 細胞の増殖に重要であることが判明した (J Neuroimmunol 118: 156-56, 2001)。
- 5) 先天性筋ジストロフィーの発症機序に細胞表面膜蛋白質 α -DG の糖鎖修飾が重要な役割を担っていることを示した (Neurology 57: 115-21, 2001)。

2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)

研究期間終了後、次のような特筆すべき研究成果を得た。

- 1) 静止期にある筋衛星細胞を fresh な状態で選択的に単離することが可能になった (Exp Cell Res 296(2):245-55, 2004)
- 2) 骨格筋以外の臓器から骨格筋の幹細胞を検出し、特に骨髄由来の幹細胞が再生筋に遊走することを明らかにした (BBRC 321(4): 1050-61, 2004)。
- 3) 再生筋中に、骨格筋の新たな幹細胞のクラスターを見出し、それが間葉系細胞としての性質を有することを明らかにした (論文未発表)。

これらの研究はいずれも、平成12～14年度に開始した研究を、同時期に整備された機器を用いて更に進めることにより、達成されたものである。これらの研究成果は非常に高く評価され、一流国際誌に発表を行った他、内外の多くの学会に招待されたが、特に2005年9月フランスで開かれる筋の発生と再生を巡る EMBO workshop にヨーロッパとアメリカ以外からただ一人講演するべく招待を受けていることが特記される。

3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)

本研究は、筋ジストロフィーに対する治療法を確立することを究極の目的としている。頻度が最も多く、最重症の病型である Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) では、療養等の進歩により、10 年近く寿命が延長しているものの、本質的な治療法はない。本研究の成果を直ちに DMD に対する治療法に応用できる訳ではないが、細胞移植治療法の移植源として最も有力な筋衛星細胞ないし、骨髄に骨格筋に分化し得る幹細胞を見出したことは、治療の実現を待ちわびている筋ジストロフィー患者・家族にとって朗報であり、福音である。本研究費による研究の成果は、筋ジストロフィー協会の会報、一般のメディアを通じて報道されたのみならず、筋ジストロフィー協会の全国大会で発表したほか、筋ジス病棟のある国内の代表的な病院、西多賀病院 (02 年 10 月)、道川病院 (03 年 1 月)、八雲病院 (04 年 11 月) などにおいて、講演会

を開催して、成果の伝達に努めている。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

本研究は、筋ジストロフィーに対する治療を開発するための研究と位置付けることができる。特に、将来、細胞移植治療を行う上で、重要な細胞の供給源を明らかにしたところにその意義がある。筋衛星細胞のみを単離することは、これまで世界のどの研究グループもできなかった仕事であり、実際に、世界中の多くの研究者から抗体供与の請求を受けている。今後、この細胞が実際の細胞移植に用いることができるのか検討を進める必要がある。ただ、平成12～14年度に研究費を受けてから、研究成果の主要部分が論文となり、一般に公開されるまで、研究期間終了後更に1～2年を要している。研究費の継続性と共に、研究期間終了後の育成活動が極めて重要と考える所以である。

研究者氏名：木戸博
研究課題名：インフルエンザ脳炎・脳症発症機序の解析と治療法の開発
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>我が国で多発すると言われている「インフルエンザ脳炎・脳症」はその原因と治療法が確立されておらず、毎年 100 名に近い乳幼児がこの疾患で死亡している現状にある。研究班では、患者の同意の基に得られた臨床検体の解析から特に重症に推移して死に至るケースではほぼ全例で、中枢神経症状の激しい時点で血液中のアシールカルニチンの増加が認められる事、遺伝子解析から carnitine palmitoyltransferase II (CPT II) の遺伝子多型の中で、日本人種でしか報告のない遺伝子多型が原因であることを示唆するデータを得た。</p> <p>アミノ酸変異を伴うこの CPT II は、酵素活性の低下以外に特に蛋白質が熱に不安定になっている事が突きとめられた。これらのデータから、本疾患はミトコンドリアでの脂肪酸代謝に関する酵素の遺伝子多型の中で、ボーダーラインの酵素活性障害を示す遺伝子多型を背景とする患者が、インフルエンザ感染と高熱で誘発される急激な酵素活性低下による全身のエネルギー危機が原因となっている事を明らかにした。このようなエネルギー危機—Voltage dependent Anion Channel の高発現—Mini-plasmin の脳血管内皮細胞蓄積—脳浮腫の仮説が提唱された。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</p> <p>「インフルエンザ脳炎・脳症」の発症機序はこれまで不明で、従来「サイトカインストーム」仮説が提唱されていたが IL-6、TNF-alpha、IL-10 が数倍上昇するケースはインフルエンザ脳炎・脳症に特徴的な所見ではなく、病状の一断面ではあるが発症原因とは考えにくい現状にあった。本研究では日本人種に特異的な遺伝子多型を背景として、重症に推移する患者群ではほぼ全例で血液中のアシールカルニチンの増加を伴うミトコンドリアのエネルギー危機状態が発病原因である事を見いだしてその発症機序を明らかにしており、医学における貢献度において極めて高い評価と言える。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</p> <p>本研究の成果は、インフルエンザ脳炎・脳症を発症する危険性の高い乳幼児をあらかじめ診断して、ワクチンを投与したり発症と共にミトコンドリアでのエネルギー危機を回避する治療が重症化を防止する事を示しており、「インフルエンザ脳炎・脳症」が予防できる事を示唆している事、治療しうる事を示唆している事から、社会的に与える影響は大きくその評価は高いと考える。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>本研究をきっかけとして、わが国の「インフルエンザ脳炎・脳症」に対する小児科医療を見直そうという視点が広がりつつあり、今後臨床の現場での評価が待たれる現状にある。それまで有効な予防法、治療法のないと言われていた「インフルエンザ脳炎・脳症」が、具体的なEvidenceを基盤に予防と治療法を考えることに大いに貢献したと考える。</p>

研究者氏名：和田圭司

研究課題名：神経変性疾患におけるユビキチンシステムの分子病態解明と治療法開発への応用

継続年数：3 年

1. 研究成果の概要

有効な治療法の乏しい難治性の神経変性疾患に対して、ユビキチンシステムの制御というこれまでとは全く異なった新しい視点から神経変性の予防・治療法を開発することをめざした。3年間の研究期間中に特筆すべきものとして1) 新たなパーキンソン病モデルマウス (I93M UCH-L1 発現マウス) を開発、2) 神経変性に伴う酸化修飾 UCH-L1 の増加を発見、3) UCH-L1 のユビキチン安定化作用の発見と多機能分子として位置づけ、の成果をあげた。新たなパーキンソン病モデルマウスを開発した意義は発症機序解明・治療法開発の点から極めて大きく、当初計画を上回る成果であった。既存のモデルに比べても優れた点を多々有しており、特許出願を行った。また、UCH-L1 の *in vivo* における生理機能を同定し、かつ UCH-L1 自身が酸化修飾を受け、その酵素活性と発症との間に密接な相関があることを確認できたことはユビキチンシステムの動態把握による発症前診断の可能性やユビキチンシステムの補正による神経変性疾患治療法の実用化を促すと期待される。

2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)

- 1) これまで遺伝子改変動物で加齢依存的に、かつ黒質ニューロン選択的に変性を示し臨床症状も伴うパーキンソン病モデルは存在しなかった。本研究で作成された I93MUCH-L1 発現マウスは前記条件を満たす世界初のモデルである。
- 2) 神経変性疾患の成立において酸化による細胞障害性は重大な危険因子であり、そのモニタリングは発症前診断や予防法の開発に、その克服は変性した細胞の治療に貢献する。本研究の成果は新たな酸化感受性分子として UCH-L1 を発見・確立した。
- 3) 酵素としてこれまで認知されていた UCH-L1 が実はユビキチン結合蛋白質として機能するなど UCH-L1 の多機能性に関する報告を世界に先駆けて行った。

以上の3点は医学研究としてトップ5%以内に位置づけられる成果であったと自己評価する。本研究の推進により主任研究者は総説や講演の依頼が増加し、UCH-L1 研究の世界的ラボの一つに位置づけられるに至った。

3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)

パーキンソン病など神経変性疾患の克服は高齢化社会を迎えた我が国にあっては医療費の軽減などにも寄与する社会的事業である。本研究により従前よりも優れたパーキンソン病モデル動物が開発された意義は大きく、パーキンソン病克服に向けた医療の進展に貢献する。また、神経細胞の変性における UCH-L1 の病態生理的役割の重大性を解明できたことは神経変性疾患の先端的診断・予防法や根本的治療法の開発に貢献する。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

前々項、前項にも記したように従来よりも優れたパーキンソン病モデル動物が開発されたことで、ヒトへの実用化を目指した治療法の実践・改良が動物でより確度高く行いうるようになった。また当該モデルを用いて発症前の遺伝子・蛋白質レベルの変動を検出することは可能になった。これは予防・診断法の開発に貢献する。また、UCH-L1 を利用した神経変性モニタリングや治療法の開発がパーキンソン病だけでなく広く神経変性疾患において展望できるようになった。現時点での医療上の直接的貢献は少ないが、神

経変性疾患の克服という長期的展望に立った場合将来的に必ず医療に還元できる成果であったと考える。

研究者氏名：貫名信行
研究課題名：CAG リPEAT 病に対する治療法の開発に関する研究
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>1) ポリグルタミンによる凝集体形成過程の解明とその抑制、2) ポリグルタミンによる細胞死、あるいは細胞機能障害機構の解明とその抑制、3) 動物モデルを用いた神経細胞死、神経細胞機能障害の抑制の試みを中心的な課題として研究を行ったが、「分子安定化治療法の開発」「SBMA 治療法の開発」などにおいて、十分な成果をあげたと考える。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</p> <p>治療に関連した研究成果は Nat Med 2 報, Neuron 1 報となっており、国際的にも評価されている。その他の成果についても本研究領域の高水準のものが発表される J Biol Chem, Hum Mol Genet, J Neurosci などに発表されている。以上のことから満足できるものであったと考える。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</p> <p>今回動物レベルであるが直接治療、発症予防につながる結果がでたことから、今後ヒトでの治験を通して安全性と効果が確認されれば、これらの難病治療、発症予防が可能となり、厚生行政的にも評価できると思われる。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>ポリグルタミン病における治療法の開発を目指し、可能性のある物質として、分子安定化療法としてトレハロース、球脊髄性筋萎縮症特異療法としてリュウプロレリンの可能性を示すという貢献ができた。その他にもポリグルタミン病の病態に関して様々な研究上の貢献ができた（文献参考）。</p>

研究者氏名：若松延昭
研究課題名：SIP1 欠損症：神経堤障害とてんかんを呈する知的障害患者の病態解明と治療法の開発
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>知的障害は全人口の数%を占め、その病因遺伝子は 1000 個以上と言われているが、そのほとんどは未同定である。我々はその中で特に重度の知的障害を呈する症例に注目し、病因遺伝子の同定を行った。同定した遺伝子は <i>ZFHX1B</i> であり、スマッド結合蛋白質 1 をコードしている。3 年間の研究で、本邦より 34 例の遺伝子異常を同定し、内 27 例は誌上にて発表した。本症例は、突然変異(片側の染色体の <i>ZFHX1B</i> の異常あるいは欠損)で発症し、症例には重度知的障害と特異顔貌、小頭症、てんかん、先天性心疾患、脳梁欠損、ヒルシュスプルング病(HSCR)など多様な症状が見られた。マウス <i>Zf hx1b</i> をノックアウトして作成したモデルマウスは、ホモの欠損で胎生 9.5~10.5 日(E9.5~10.5)で致死となった。ヘテロ欠失マウスでは一部のマウスでヒトと同じく脳梁欠損と HSCR と類似の腸管所見が出現した。ヘテロマウスの E15.5 の終脳を用いた初代脳神経培養では、神経細胞の著しい軸索の伸長障害を認めた。現在も <i>ZFHX1B</i> に対する siRNA を用いて本症の病態解明を続けている。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)</p> <p>同定した <i>ZFHX1B</i> は、ヒルシュスプルング病と重度知的障害の病因遺伝子である。特に前者は小児外科の主要疾患であり、インパクトがあった。胎生期の <i>ZFHX1B</i> が半減すると重度の知的障害が出現するので、<i>ZFHX1B</i> は正常の脳形成に必須であることを示した。従って、本症の病態解明は脳の再生医学を含めて重要な研究課題である。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)</p> <p>本症は病因遺伝子の同定により、多くの臨床研究者の注目を得、最近、Mowat-Wilson 症候群として疾患概念が確立した。今まで同定が困難とされていた、優性遺伝形式の重度知的障害症例の病因解明が本邦でも可能であることを示し、これらの疾患への関心を高めた。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>今まで重度の知的障害は診断が確定されないまま加療が行われてきたが、本症の疾患概念と診断法が確立した現在、本症への関心も高まり、多くの小児科医あるいは小児外科医から遺伝子検査の依頼がある。その結果、早期診断が可能となり、現在はまだ対処療法しかないが、治療方針の確立に貢献した。</p>

研究者氏名：久保田健夫
研究課題名：ゲノム不活化機構の異常に基づく脳発達障害の病態解明と治療法開発の研究
継続年数：1 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>ゲノム不活化機構の異常に基づく脳発達障害疾患としてメチル化 DNA 結合蛋白異常症 (Rett 症候群) とゲノムメチル化酵素欠損症 (ICF 症候群) の2つを対象として研究を進めた。その結果、</p> <p>1) Rett 症候群のメチル化 DNA 結合蛋白 (MeCP2) はヒトリンパ球においてゲノム上の多数の箇所に結合している可能性が示唆された (2001 年米国人類遺伝学会発表)。</p> <p>2) MeCP2 蛋白は、発達期のマウス神経細胞とともに神経膠細胞に発現し、その増殖を制御している可能性が示唆された (現在、論文投稿中)。</p> <p>3) ゲノムの低メチル化所見を有する ICF 症候群の遺伝学的発症原因にゲノムメチル化酵素 (DNMT3B) の遺伝子異常 (Am J Med Genet 2002) と非遺伝子異常 (Am J Med Genet 2004) があることを明らかにした。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)</p> <p>従来からの、ゲノム上の重要な遺伝子の欠落が疾患の原因となるとの考え方に加え、近年、ゲノムには、本来働いてはいけない遺伝子領域や働いてはいけない時期があり、その調節が正しくなされない時に身体に異常をきたす (ゲノム不活化異常) という考え方がなされるようになった。このようなゲノム不活化異常の病態を自閉症を主徴とする Rett 症候群を例に、明らかにすることが本研究の医学研究的目的であった。遺伝子発現調節を司り本症の責任蛋白 MeCP の調節メカニズムあきらかにすることであったが、実際はまだ特定にいたっていない。そこで現在は、当初の手法を変更して、蛋白発現面からその特定を目指した研究を行っている。また平行して MeCP2 蛋白の脳内発現パターンについて解析を行い、こちらは成果をあげることができた (現在、論文投稿中)。</p> <p>以上をまとめると、当初の計画期間 (1年間) では計画通りの成果をあげることができなかったが、その後も研究を継続した結果、ようやくいくつかの成果があげられるようになったというところである。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)</p> <p>本研究の医療行政的観点に立った場合の目的は、ゲノム不活化異常疾患の治療法開発への足掛かりをつくることであった。こちらも当初の計画期間 (1年間) では計画通りの成果をあげることができなかったが、現在、ゲノム不活化異常細胞モデルを用いて、異常所見を是正する天然化合物の候補を得ることができるようになり、こちらもようやく成果があげられるようになってきたところである。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>本研究の知見は小児の発達障害疾患の新しい病態理解に貢献した。さらに本知見から広く精神障害疾患の病態もまたゲノム不活化異常が要因であることを示唆され、今後の精神疾患研究に貢献するものと考えられる。</p>

研究者氏名：水野美邦

研究課題名：パーキンソン蛋白の機能解析と黒質変性及びその防御

継続年数：3 年

1. 研究成果の概要

常染色体性劣性遺伝の家族性パーキンソン病の原因遺伝子であるパーキンの変異分析とパーキン蛋白の機能解析を研究し、本症における黒質神経細胞の変性機構を分子レベルで研究した。最初に同定されたパーキン結合蛋白 CDCrel-1, α -synuclein-22, Pael 受容体のうち、後 2 者はユビキチン化され、患者前頭葉での蓄積が証明された。更に Yeast two hybrid 法で 13 種のパーキン結合分子を単離し、PDCD-2, LMO4 につきパーキン蛋白によるユビキチン化を証明した。更にパーキンの N 末端にあるユビキチン様ドメインが 26S プロテアソームのユビキチンリセプターに結合し、この相互作用の破綻で AR-JP が発症することを示唆した。またパーキンのユビキチンリガーゼ活性を正負に調節する分子 (14-3-3 及び α シヌクレイン) の同定に成功した。

ラット脳でパーキン mRNA は胎生 19 日から発現が見られ、広く脳に発現していた。パーキン蛋白の細胞内分布は、ゴルジ装置、細胞質、シナプス小胞に存在する。パーキン蛋白の機能解析の方法としてパーキン蛋白ノックダウン細胞を樹立し、これがアポトーシスで死亡することを示した。またこの細胞で α -シヌクレインの抗アポトーシス作用を証明した。更に、パーキン遺伝子のノックアウトマウスを作製したが、現在の所臨床症候や病理学的異常は観察されていない。また変異パーキン (T415N) 遺伝子とを用いて、Cre-loxP 制御によるパーキントランスジェニックマウスの作製に成功した。現在のところ行動に目立った変化は認められない。

ついでマンガン毒性とパーキンの関連を解析した。マンガン暴露によりドパミン神経細胞において小胞体シャペロンの発現増加とともにゴルジ体に一致したパーキン蛋白の著明な誘導と集積が認められたが、非ドパミン神経細胞ではみられなかった。マンガンによるドパミン神経細胞死は野生型パーキン遺伝子導入により有意に抑制された。ドパミン神経細胞へのマンガン暴露あるいはアンチセンスパーキンの遺伝子導入により、ドパミン・DOPA クロムおよびキノプロテインは有意に増加し、アポトーシスが惹起された。パーキン蛋白はキノン体によるドパミン神経毒性に対し保護的に作用している可能性が考えられる。

孤発型パーキンソン病の発症機序に関連し、サイトカインや神経栄養因子の変化を、グリアとニューロンの細胞レベルで検索した。孤発型パーキンソン病の初期の剖検脳において神経変性による神経脱落に相関したミクログリアの活性化を黒質線条体部位に特異的に見出した。更にパーキン蛋白、 α -シヌクレインの高感度 Eliser assay 法を確立した。

ユビキチンプロテアソーム系に関する基礎研究としては、品質管理ユビキチンリガーゼ CHIP の機能解析：CHIP のノックアウトマウスを作製し、CHIP 欠損マウスが失調性歩行異常の症状を呈することを解明した。オートファジー (自食作用) の遺伝学的機能解析：オートファゴソーム (自食胞) 形成の条件的ノックアウトマウスを作製し、オートファジーを欠失させるとユビキチン陽性の封入体が蓄積することを見出した。

2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)

本研究において ARJP の原因遺伝子である E3 としてのパーキン結合蛋白を同定し、細胞死の機序をパーキンノックダウン細胞で明らかにできたことは、大きな成果であるが、一方パーキントランスジェニック

マウスの作成とノックダウンマウスの作成とその解析を目標としていたが、解析までには至らなかったことは残念であった。これは現在解析可能となり、解析を進めているが、ノックダウンでは、症状も発現せず、黒質の変性も起きていない。この点は、パーキン蛋白とヒト黒質の関係を考える上で大変示唆に富む所見であり、次の段階での重要な研究テーマとなっている。

3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）

パーキンソン病は頻度の高い疾患であり、家族性パーキンソン病は国際的にも極めて関心の高い領域である。この領域で、本邦の研究者により遺伝子の発見から、原因蛋白の機能解析、黒質変性機序まで一連の研究を行えたことは、行政的にみてもインパクトの高い研究であったと考えている。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

神経変性にユビキチンプロテアソームの異常が関与することを示した点が、科学的貢献の最も大きなもの1つで、関連領域にも大きなインパクトを与えている。またパーキンソン病の細胞保護的治療法の1つとして、ユビキチンプロテアソーム系に作用する創薬的研究の重要性が指摘出来た点でも、医療面への貢献があったと考えている。

研究者氏名：西野一三
研究課題名：ライソゾーム性筋疾患の病態究明と治療法開発に関する研究
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>Danon 病がライソゾーム膜蛋白質 LAMP-2 の欠損によることを明らかにし、さらに、従来 Danon 病として報告されてきた疾患の中に、似て非なる疾患が存在することを明らかにした。これらの成果により、Danon 病のみならず、ライソゾーム性筋疾患全般に関する疾患概念が確立された。本邦から世界に先駆けて報告された、ライソゾーム性筋疾患の一つ、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー (DMRV) がシアル酸合成経路の律速酵素 UDP-GlcNAc 2-epimerase/ManNAc kinase をコードする GNE 遺伝子の機能喪失型変異によることを明らかにし、患者細胞においては、シアリル化が低下していること、この低シアリル化は GNE 代謝産物あるいはシアル酸の投与により回復出来ることを明らかにし、治療法開発の可能性を示した。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</p> <p>ライソゾーム性筋疾患の研究は立ち遅れており、「ライソゾーム性筋疾患」という言葉に対する定義すら定まっていなかった。疾患概念を確立し、治療法開発への手掛かりを得たことは大きな意義があると考ええる。また、本邦の国際的リーダーシップを確固たるものとした。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</p> <p>ライソゾーム性筋疾患は多くが、本邦から世界に先駆けて報告されたものである。多くの患者が存在する本邦において治療法開発への手掛かりが得られたことは、患者にとって福音となる。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>DMRV において、in vitro で、治療法開発の可能性を示したことで大きな貢献をしたと考える。今後更に、モデル動物を作製し、治療実験を行っていくことで、今まで全く治療法の無かった難治性筋疾患の1つが治療可能となると考えている。</p>

研究者氏名：堂浦克美

研究課題名：即戦力的クロイツフェルト・ヤコブ病治療法の確立に関する研究

継続年数：3 年

1. 研究成果の概要

ヤコブ病の発症予防と発症患者の生命予後改善をめざし、(1) 臨床薬や化合物の中で抗プリオン活性を持つものを探索し、臨床に即に応用できるもの(キナクリン、キニーネ、ペントサンポリサルフェート)の他に、130種を超える新規な有効化合物・薬物を発見した。(2) 抗プリオン薬物(キナクリン、キニーネ、ペントサンポリサルフェート)による臨床研究を行い、有効な治療法であることを検証した。特にペントサンポリサルフェート脳室内投与療法はかなり期待できる治療法であることを発見した。(3) より強力な脳移行の良い医薬分子を得るため、in silico スクリーニング法とハイスループット・スクリーニング法を開発した。

2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)

プリオン産生の分子メカニズム解明は当該分野でもっともホットな研究トピックであるが、本研究で得られた以下のような成果は、この分子メカニズム解明に直接結びつくものであり、研究成果の学術的意義は高く評価できる。

①有効化合物の構造活性相関から、リガンド側の共通した構造を抽出し得た。その結果、銅イオンの関与を示唆した。

②抗プリオン化合物と正常型プリオン蛋白との関係を反応力学的に解明し、より強力な抗プリオン化合物はプリオン蛋白との親和性が極めて高いことを明らかにした。

③計算科学的にプリオン蛋白の高次構造と抗プリオン化合物の共通構造を分析し、プリオン産生に重要な機能を果たすプリオン蛋白上のポケット構造を発見した。

④驚異的効果を持つ硫酸多糖のプリオン蛋白作用部位に関して相互の分子構造を明らかにした。

⑤当該分野の研究の方向性を大きく変える可能性のある学術的成果として、抗ウイルス製剤によるCJD治療効果を発見した。

3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)

硬膜移植による医原性ヤコブ病は日本で最も多発しており、かつBSEによる変異型ヤコブ病の発生が危惧されている現状において、本研究の成果はヤコブ病患者の生命予後やQOLの改善だけでなく、硬膜移植歴やプリオン蛋白遺伝子変異を持つハイリスク患者の予防にも容易に応用できる実際的なものであり、国民の医療の向上に直結しており、研究成果の行政的意義は極めて高い。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

本研究は「抗プリオン作用を持つ化合物・薬物の探索」「抗プリオン薬物による臨床研究の実施」「最新技術を駆使した次世代型治療薬候補の開発」を研究の柱とした極めて実用的な研究であったため、研究成果は発症予防や患者の治療・予後改善と言った医療の向上に直結していた。本研究は日本だけでなく世界のヤコブ病の医療にも大きく貢献した。特に、ペントサンポリサルフェート脳室内投与療法は、日本発の研究成果として最初に英国の若い変異型ヤコブ病患者に応用したものであり、英国では患者・患者家族および新進の研究者からきわめて高い評価を得た。本治療法は、Nature(426:487, 2003)やLancet, BMJなどの学術誌でも取り上げられ、BBC, Guardian, New York Timesなどのマスコミでもたびたび報道され、現在も世界で最も注目されている治療法である。

研究者氏名：納光弘
研究課題名：成人T細胞白血病ウイルス関連ミエロパチーの病態の解明及び治療法の開発に関する研究
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>新しい HTLV-I 特異的プロテアーゼ阻害剤開発を行い、ペンタペプチドないしテトラペプチド型のプロテアーゼ阻害剤である KNI-10247、KNI-10252 を開発した。開発後の新薬効果判定のためのウイルス阻害活性測定系を確立した。HTLV-I 感染モデル動物で HAM 発症系 WKAH ラットモデルを開発し治療実験系も目標達成に近づいた。発症予防、発症予測、治療開始時期選定のための HAM 病態解明、HAM 発症関連ウイルス要因、宿主要因研究も 7～8 割方達成された。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</p> <p>HAM の病態解明のために発病へのウイルス側要因、宿主側要因を検討し、多数の発症促進因子および発症抑制因子を明らかにした。これらをもとに HAM 発症を 80%の精度で予測することができるようになったことは大きな成果である。また、HTLV-I 特異的プロテアーゼ阻害剤の開発を行い、強い活性を持つペンタないしはテトラペプチド型阻害剤 KNI-10247、KNI-10252 を得た。今後天然型構造との相関からより強い酵素阻害活性を有し、より望ましい物性を持つプロテアーゼ阻害剤が創製できるめどが付き、目標の 6 割は達成できた。今後天然型プロテアーゼ阻害剤の構造解析が必要である。これらの研究成果は Science 等の科学雑誌に掲載され、国内外から大きな反響があった。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</p> <p>HAM 発症のウイルス要因、宿主要因の研究により、80%の確率で HTLV-I 感染者からの HAM 発症を予測できるようになった。HTLV-I 感染者より HAM 発症の高リスク群を同定し予防措置を行えば、新たな HAM 患者の発症予防および長期の医療費軽減に有用である。</p> <p>また根治治療法のない HAM に対する、ウイルスを減少ないしは除去するための新規抗ウイルス剤の開発は、患者への研究の還元および医療費軽減にも資するものと考えられる。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>HAM は慢性難治性ウイルス疾患であり、これらの研究は、他の慢性難治性のウイルス感染疾患および神経疾患研究のモデルとなる形で発展している。また、HTLV-I は世界中に広がっており、新規抗ウイルス剤の開発により世界の HTLV-I 感染者の治療に貢献できる。</p>

研究者氏名：三國雅彦

研究課題名：感情障害の発症脆弱性としての神経発達・神経再生機能障害に関する基礎的並びに臨床的研究

感情障害の発症脆弱性としての神経発達・神経再生機能障害に関する基礎的並びに臨床的研究

継続年数：4 年（継続中）

1. 研究成果の概要

1) 感情障害の PET を用いた脳画像解析と死後脳の解析：

平成 13 年度フィージビリティースタディで、PET 画像解析によりうつ状態依存的な機能的変化を示す脳部位の一つである左前頭前野 BA9 野の皮質厚が薄いことを死後脳研究で明らかにし、感情障害にも脳器質的な病変が存在する可能性を示唆する成績を得た。平成 14 年度以降の研究で BA9 野の細胞構築学的検索を行い、BA9 野には、神経発達期の障害の可能性を示唆する微小な器質的変異が存在することを見出した。従来感情障害の神経病理ではグリア細胞数の減少や密度の減少、グリア細胞の膨大化が知られ、神経細胞には変化がないか、グリア細胞の変化に伴う二次的变化があるといわれていたが、本研究での知見は BA9 野の皮質第二層における小型神経細胞密度の低下はグリア細胞の増加を伴ってはならず、神経発達期の障害の可能性が考えられ、これまで報告されたことのない知見である。この微小な器質的変異は若年初発の感情障害発症脆弱性因子の一つと考えられる。しかも、その BA9 野第二層においてのみセロトニン 2A 受容体の陽性細胞が増加していることを明らかにし、うつ病における 5-HT 伝達機能異常という病態生理形成にとっても、BA9 野第二層が重要であることを明らかにした。一方、高齢初発うつ病の死後脳の前頭前野における白質細動脈ではマクロファージを伴っている頻度が有意に高く、炎症性の血管病変が存在することを示唆する知見を得た。したがって、高齢初発感情障害では動脈硬化が発症脆弱性因子の一つとなっていると考えられる。本研究で用いた死後脳は感情障害治療中に病死した方々の病理解剖脳であるが、これまで報告されている感情障害の死後脳解析は自殺既遂者の死後脳を用いたものが多く、自殺時点でのうつ症状の有無を心理学的剖検によって推定するという限界を包含した研究であり、しかも、自殺手段の影響を排除する対照が無いという研究上の限界を有している。

(2) 高齢初発うつ病の発症脆弱性に関する前方視的研究：

われわれは 120 名以上のがん患者の精神症状を評価し、PET 検査時点ではうつ病などの精神症状を認めず、うつ病の既往もない平均年齢 60 歳の協力者についてその後 3 ヶ月ごとに半年以上にわたって前方視的に調査した。うつ病発症を含めた精神症状の悪化群では、うつ病発症で著明に機能が低下する左 BA9 野や右 BA6 野の一部が精神症状を認めない初回の PET 検査時にすでに機能低下していたことを見出した。この発症脆弱性の本態が動脈硬化であるか、否かを明らかにすることが今後の課題であることはいままでのない。

(3) 躁うつ病の発症に関連する遺伝子の検索：

感情障害の合併の多い遺伝性疾患である Wolfram 症候群の原因遺伝子 (WFS1) の単離に成功し、Nat Genet (20:143-148, 1998) に報告したが、その後、多数の WFS1 のエクソンやイントロンにある SNP を明らかにした。WFS1 のエクソンにある SNP については他施設の研究と同様に躁うつ病

発症との関連性は否定されたが、イントロンにある複数の SNP の組み合わせが躁うつ病発症に関連する可能性を示唆する結果を報告できた。多数症例で再度検討し、その知見を確認する必要があるが、WFS1 タンパク質は大脳皮質では第二層でのみ出現する特徴が知られているので、感情障害死後脳での検索が次の研究課題となっている。

(4) うつ病や躁うつ病の動物モデルの作成：

独自に開発した 7000 の DNA からなるチップを用いて、胎生期や新生児期にストレスを負荷して作成したストレス脆弱性の動物モデルの分子病態を解明する研究を進めたが、まだ関連遺伝子を特定するには至っていない。平成 13 年度フィージビリティースタディで、躁うつ病の病態として明らかになったミトコンドリア遺伝子の編集機能に関連する遺伝子の欠失マウスを作成することに成功した。その後、その欠失マウスにおける行動周期異常や行動変異を明らかにし、躁うつ病態モデルの可能性を示唆する成績を得た。

(5) 神経新生や神経保護に関する基礎的研究：

平成 13 年度フィージビリティースタディで、ラット海馬にコレステロールからステロイドを合成する第一ステップの酵素 P450scc の陽性細胞がグリアではなく神経細胞であることを免疫組織学的に証明し、海馬切片に NMDA 刺激を加えることによりプレグネロンが合成されることを証明した。その後の研究で神経保護作用を有するエストロゲンがラット海馬で合成されていることを HPLC で明らかにするとともに、CA1 領域の神経細胞に合成酵素系がすべて存在することを免疫組織化学的に明らかにした。また、平成 13 年度フィージビリティースタディで細胞分裂期にのみ核内に発現する Ki67 タンパク質に対する抗体を用いた免疫組織化学的解析によりヒト死後脳海馬歯状回における神経細胞の新生能を測定する方法を確立した。その後の研究では、側脳室周囲に Ki67 タンパク質陽性神経細胞が存在することや神経新生後の移動神経細胞に胎児型ドレブリンが発現することを証明した。また、ラット側脳室周囲で新生し嗅球へ移動中の神経細胞を胎児型ドレブリンの抗体で染色することに成功し、損傷後の修復に関与するか、否かを現在検討している。

2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

自然死した感情障害患者の死後脳研究で、神経発達障害を示唆する微小な脳器質性障害と、高齢初発うつ病では微小脳血管障害を示唆する微小な脳器質性障害とが存在することを明らかにすることができ、それらの微小な器質性障害が感情障害の発症脆弱性となっている可能性を示唆する知見を得ることができた。

神経新生や神経生存維持に関与するタンパク質や神経ステロイドの合成酵素の免疫組織化学的解析法を確立することができた。

3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）

政府は平成 16 年 6 月に今後 10 ヶ年の健康フロンティア戦略としての健康寿命の延長計画を策定したが、生活習慣病対策とメンタルヘルス対策とは密接に関連している。がんや心血管障害などにうつ病が合併することにより ADL や QOL の悪化を招き、健康寿命に影響するので、うつ病の根治的治療法を確立して早期にうつ病治療に導入すること、並びにうつ病発症の予測因子を解明してうつ病発症の一次予防法を確立することがこの計画を達成する有力な方策である。また、平成 10 年以降、年間の自殺者が 32000 人を超えているが、うつ病は約 15%の方が自殺する致死性の高い疾患であるので、再発の防止法や一次予防法を開発することは自殺防止の有力な解決策となる。

本研究の成果として、感情障害の発症脆弱性の病態が明らかになりつつあるので、一次予防法や根治的

修復療法の確立への目途をつけることが可能となりつつある。

4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか

感情障害はうつ状態や躁状態を繰り返すものの、抗うつ薬や抗躁薬で治療すると正常化する機能的な疾患と考えられてきたが、微細な脳器質的变化が存在することを明らかにした。その異常は現在までのところ神経発達の異常と動脈硬化に関連する血管病変との二つがあり、左 BA9 野などの共通する脳部位に存在し、感情障害の病因の異質性と病態の共通性とを明らかにした。

従来の抗うつ薬ではこれらの微細な脳器質的な変化を修復することは困難であるが、高齢初発の感情障害の再発予防や一次予防については血管内皮の保護剤などにより可能となるかもしれないという道筋を示唆できた。

神経保護作用が知られる神経ステロイドはグリア細胞がつくる可能性が指摘されていたが、本研究により海馬 CA1 の神経細胞に合成酵素が存在することを明らかにした。

感情障害の動物モデルは専らストレス不応を示すことを条件に作成されてきたため、躁状態の動物モデルといえるものはほとんどなかった。本研究では、躁うつ病の発症にミトコンドリア遺伝子の多型が関連し、ミトコンドリアにおける細胞内カルシウムの処理能の低下と細胞障害・細胞死とが関連していることに着目し、そのミトコンドリア遺伝子の編集機能に関連する遺伝子のノックアウトマウスを作成した。行動周期の異常の存在を明らかにしつつあるので、躁うつ病の新たな動物モデルができる可能性がある。

研究者氏名：柳澤勝彦
研究課題名：アルツハイマー病発症の分子機構に関する研究
継続年数：6 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>アルツハイマー病 (AD) 発症分子機構を、その病的過程の物質的基盤であるアミロイドβ蛋白 (Aβ) の産生、重合、そして生物作用の3本の柱を軸として研究を進めた。その結果、特筆すべき成果としてAβの重合には神経細胞膜構成脂質が重要な役割を果たすことをはじめて明らかにすることができた。</p>
<p>2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)</p> <p>中枢神経系の脂質化学はその技術的困難さからこれまで十分な研究がなされていなかったなかで、本研究班においては積極的に神経細胞を対象に、AD発症危険因子であるアポリポ蛋白Eの生物作用にも踏み込んで研究を進め、Aβ重合の基盤にこれらの神経細胞構成脂質が関わることを系統的に明らかにした。このことは、AD研究のなかで十分に評価に値すると考えられる。</p>
<p>3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)</p> <p>本研究班により、AD発症に生体内の脂質代謝 (とりわけコレステロール代謝) が関わることを示したことは、今後のAD発症予防への取り組みに一つの示唆を与えたといえる。AD患者数は増加の一途を辿っており、発症予防ならびに進行抑止の医学的方策の構築へと繋がり得る本研究成果は行政的観点からも評価に値すると考えられる。</p>
<p>4. この研究が具体的にどのような点で医学・医療に貢献したか</p> <p>主任研究者は、本研究班の活動終了後、本研究により得られた成果をもとにさらに研究を発展させ、Aβ重合開始時に「種分子」として働いている特異なAβ分子を特定し、またそれに対する抗体作製にも成功した。現在、本抗体のAD治療薬への展開を動物モデルを対象に検討中であり、ADをめぐる医学・医療の両面で今後大きな貢献が期待される。</p>