

研究者氏名：今村道博
研究課題名：筋ジストロフィーにおける筋線維崩壊の本体の解明
継続年数：3 年
<p><b>1. 研究成果の概要</b></p> <p>我々はデュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 及びサルコグリカノパチー (SGP) の責任蛋白質が横紋筋細胞膜上で複合体を形成することに注目した。そしてサルコグリカノパチーの責任蛋白質 (サルコグリカン) により構成されるサルコグリカン複合体 (SGC) の消失が筋線維崩壊に及ぼす影響を解析し、上記2タイプの筋ジストロフィーの筋症状を改善する方策を検討した。</p> <p>その結果、我々は (1) <math>\beta</math>-SGP のモデルマウスに続いて <math>\gamma</math>-SGP のモデルマウスを作成した。(2) さらに、これら2種類のSGPモデルマウスとDMDのモデルであるmdxマウスを交配して重篤の筋症状を呈する新しいモデルマウスを作成した。このマウスは筋組織の線維化や脂肪化が著しいばかりでなく、運動障害も認められることから、筋病理解析や治療法評価のための有用な実験動物になると考えられた。さらに、(3) <math>\alpha</math> と <math>\gamma</math> SGP においてSGCの消失を防ぐ方法を開発してこれが両疾患のモデルマウスの筋症状を完全に回復することを示した。ただし、当初の目標であったmdxマウスでSGC上昇法の開発については技術的困難性により研究期間内に実現することはできなかった。そのためジストロフィン非存在下でSGCを上昇させた場合に生じる筋症状の変化については評価できなかった。</p>
<p><b>2. 研究成果の自己評価 (その医学研究としての評価)</b></p> <p>本研究の最も重要な部分はサルコグリカノパチー (肢帯型筋ジストロフィーのタイプ 2C-2F) のうちの2種類、すなわち<math>\alpha</math>-サルコグリカノパチーと<math>\gamma</math>-サルコグリカノパチーにおいてSGCの消失を抑制し、これらのモデル動物の筋症状を完全に回復させることに成功した点である。詳細は報告書に記述した通りであり、これは新しい発想によるものであった。筋疾患治療の目的のみならず、生物学的、進化学的にも重要な成果であると考えている。</p>
<p><b>3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)</b></p> <p>筋ジストロフィーモデル動物で示したサルコグリカン複合体の回復手法は明らかな筋症状の改善を示した。従って肢帯型筋ジストロフィー (タイプ 2C と 2D) の治療法においては、具体性を持つ新しい治療の観点を提出しており、行政的見知からも意義があると考えている。但し、現時点では審議会資料や予算要求策定の基礎資料となるようなレベルにあるとは言えない。</p>
<p><b>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</b></p> <p>既に上記 (2 及び 3) で述べているように、本研究結果から2つのタイプの肢帯型筋ジストロフィーの治療方法について効果的で且つ具体性がある方策を呈示した。</p>

研究者氏名：山脇成人

研究課題名：ストレスへの適応破綻の脳内分子機構の解明と予防法の開発

継続年数：3 年

## 1. 研究成果の概要

これまで下記のようなストレス性精神障害の成因に関する研究を行ってきた。

ストレス脆弱性の分子機構の研究に関しては、1) 母子分離(NI)によって、成熟期拘束ストレス曝露に対して高コルチコステロン血症・自発運動量低下を示す、ストレス脆弱ラットが作成される、2) NIラットは成熟期拘束ストレス負荷によって、正常飼育で拘束ストレスを受けたラットに比して、海馬の神経細胞新生が少なく、海馬でのJNK-2, 94 kDa glucose regulated protein遺伝子の発現も抑制されるなどを明らかにし、これらの変化がストレス脆弱性の形成に関与することを報告してきた。本研究事業初・2年度は、NIによって海馬のintegrin  $\beta$ 3, insulin-like growth factor receptor (IGFR) 1, IGFR binding protein 2発現が減少し、海馬依存性の記憶の障害されることや、Pax6遺伝子変異及び幼小児期の細胞増殖阻害剤(methylazoxymethanol acetate; MAM)投与による海馬神経新生の抑制によって、NI同様ストレス脆弱ラットが作成されることを明らかにした。

脳画像による研究では、1) 脳磁図を用いてうつ病では、ストレス負荷時に聴覚系を介した刺激に対しての馴化が減弱する、2) fMRIで健康者では快予測には左右前頭前野、不快予測には右前頭前野の機能が重要であり、うつ病では左前頭野の機能低下から快予測障害があることを報告してきた。初・2年度では、症例数を増やして上記2現象がうつ病で明らかであることを検証した。加えてストレス適応の強化機構としての心像生成に着目し、fMRIで心像生成時には左前頭前野・帯状回などが健常者で活性化され、アレキサイミアでは活性化されないことを明らかにした。

脳形態障害の研究では、1) 拘束ストレスによって、ラット海馬BDNF, Trk B発現が減少する・2) 細胞骨格系の動的変化を解明する目的から、actin動態可視化のためのGFP-actin分子や同分子を発現するトランスジェニックマウスの作成に成功した・3) 海馬培養細胞で過剰なシナプス刺激によってGFP-actinが樹状突起スパインに集積する、などの成果を得ている。初・2年度は海馬スライスでも、同様のGFP-actinの集積が起こり、集積機序にRho結合キナーゼなどが関与することを報告した。加えてストレスによる細胞内カルシウム流入亢進が、calcium/calmodulin dependent protein kinase 1活性化とRac活性化を引き起こして、アクチン集積を促すことも明らかにした。

乳幼児の認知・情動機能に関する研究では、母親と乳児の視線にシンクロナイズ・パターンがあり、乳幼児の対象認知の発達は養育者との相互作用に影響され、養育関係が視聴覚認知機能の発達に関与することを報告してきた。初・2年度は、NIRSを用いて脳血流反応を測定し、母親・見知らぬ女性の視覚認知によって右頭頂-側頭領域の活性化が異なることを発見し、脳血流レベルでは母親を乳児が区別していることを示した。加えて母乳・人工乳による嗅覚刺激でも、眼窩前頭領域の活性化が異なることを示し、嗅覚を介する母子の絆の形成の可能性を提唱した。

健診制度を用いた精神機能評価の研究に関しては、運動・言語・社会機能の面から3歳時健診で発達障害児をスクリーニングし、障害児の養育者のメンタルケアや保健婦の関わりについての検討を重ねており、初・2年度は3歳児健診で302名の家族に、簡便な3歳児健診スクリーニングチェックリストを用い、50名(16.6%)の子どもに支援・介入の必要性を認めた。ストレス性精神障害高リスク児のスクリ

ーニングやケアへの応用も継続中である。

## 2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

本研究では、乳幼児期の心的外傷体験とストレス脆弱性形成の関連性およびストレス性精神障害の成因に関して、分子レベルからのアプローチと、脳機能画像解析からのアプローチ、そして臨床に還元するための児童精神医学的アプローチを試みているが、前2者についての研究内容は国際的に高く評価されており、Nature Neuroscienceをはじめとする多くの国際誌に成果は掲載されている。児童精神医学的アプローチについては十分な成果を得られておらず、パイロット研究の域を超えていないが、予防精神医学の観点からすると重要なテーマであるので、母子保健を含む厚生行政施策に向けて貢献できるように残りの1年間努力していきたい。

## 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、最終的には急増する成人のストレス性精神障害の発症予防のみならず、児童・思春期の精神障害やその背景にある家族や母子関係、子育ての問題への対策など厚生行政施策に反映できることを目的とし、脳科学研究成果に基づいた3歳児健診における介入プログラムの開発を試みているが、地域保健所との連携の諸問題に加えて、分担研究者が所属を異動したことにより目に見える成果が出せていない。本研究成果を行政に生かすためにも、長期的視点な母子保健行政と連携した新たなプロジェクト研究の企画が望まれる。

## 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

乳幼児期の母子分離や虐待体験がストレス性精神障害の発症危険因子となることが疫学的研究で報告されている。本研究の動物実験において乳幼児期の母子分離が成熟後のストレス脆弱性を形成することを行動学的、神経内分泌的に確認し、さらに海馬において神経保護作用に関する数種類の遺伝子発現に異常を来すことを見出したことは高く評価されている。これまでのうつ病を中心とするストレス性精神障害の治療は発症後の対症的なものであったが、昨今の児童精神医学的諸問題ともあわせて予防医学的観点からの科学的アプローチの端緒となると考える。本研究の成果が直ちに現場医療に貢献するものではないが、新しい精神医療の在り方に一石を投じることになると思われる。

研究者氏名：糸山泰人
研究課題名：筋萎縮性側索硬化症の病態解明と治療法の開発に関する研究
継続年数：3 年
<p><b>1. 研究成果の概要</b></p> <p>本研究は神経難病のなかでも最も過酷とされる筋萎縮性側索硬化症（ALS）の病態解明を進め、その研究成果をふまえて、ALS に対する新規治療法の開発を目的として行われた。病態解明に関しては、SOD1 遺伝子変異による ALS の病態を臨床遺伝学的あるいは生化学的に詳細に解析した結果、変異 SOD1 蛋白質は糖化などの翻訳後修飾を受けやすいことを明らかにした。治療法の開発に関しては、ALS マウスモデルに対する肝細胞増殖因子の効果を明らかにした。さらには変異 SOD1 を導入したトランスジェニックラットによる動物モデルの開発に世界で初めて成功して、脊髄腔内投与による治療法の開発を可能とした。</p>
<p><b>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</b></p> <p>神経変性疾患に対する基礎研究およびその治療法の開発研究は非常に困難なテーマのひとつであり、短期的な成果が出難い分野である。そのなかでも本研究では、ALS の新規モデル動物の開発を行い、このモデル動物に対する肝細胞増殖因子の髄腔内投与による治療法の開発を成功させる具体的な成果を出しており、医学研究としても高く評価されるべきである。</p>
<p><b>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</b></p> <p>ALS に対する病態および治療法の開発研究は社会的な要請度も高く、厚生労働行政的な観点からも非常に重要なテーマのひとつである。この観点からも、本研究は新規治療法の開発にむけて確実な成果をあげており、評価に値すると考えられる。</p>
<p><b>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</b></p> <p>ALS マウスに対する肝細胞増殖因子の効果は、平成 15 年度から開始となった厚生労働科学研究費補助金こころの健康科学「筋萎縮性側索硬化症に対する肝細胞増殖因子（HGF）による挑戦的治療法の開発」に引き継がれ、臨床応用への準備が進められている。また、本研究で確立したラットによる ALS モデルは国内外の施設から多数の供与依頼があり、遺伝子治療を含めた新規治療法の開発研究に対する貢献が期待される。</p>

研究者氏名：杉山雄一
研究課題名：血液脳関門の機能特性を利用した脳内への薬物及び遺伝子輸送システムの開発
継続年数：3 年
<p><b>1. 研究成果の概要</b></p> <p>脳に医薬品あるいは遺伝子を送達させる場合、最大の障壁となるのが血液脳関門である。本研究課題では、関門を介した薬物送達法を開発することを目的として研究を行った。その結果、脳毛細血管内皮細胞には、複数の基質選択性の異なる有機アニオントランスポーターが発現し、脳内からの医薬品の排出に関与していることを明らかにした。このトランスポーターの機能を制御することで、医薬品の脳内移行性を改善することが期待される。トランスポーターの基質認識に基づいたドラッグデザインを実施するため、<i>in silico</i> niyuru Ligand-Based Drug Design の手法により得られた、3次元のファーマコフォア情報から、トランスポーターの基質結合部位の物理化学的な構造特徴を明らかとした。関門透過後、脳内での薬効評価法として、神経終末が付着した脳の単離神経を切片から摘出可能な新たな方法を駆使して、単一神経終末上のチャネルの機能的役割を明らかにした。</p>
<p><b>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</b></p> <p>血液脳関門における異物排泄システムを構成するトランスポーター群を解明し、中枢への薬物送達を可能にする分子標的を明確にした点は本研究課題で得られた重要な成果である。今回新たに見出した血管側膜のトランスポーターは、薬物の脳内送達への応用も期待される。更に、ファーマコフォアを用いた Ligand-Based Drug Design 法を用いた <i>in silico</i> 解析により、これまで広範な基質選択性のため統一して扱うことが困難であった薬物トランスポーターの基質に共通の立体配座を見出した点も大きい。今後、同様のアプローチで、<i>in silico</i> 解析が加速することが期待される。単一のシナプスの反応を記録できる実験系を確立した。本系は、より微細な環境での情報伝達およびそのメカニズム解析を可能とし、今後の神経ネットワークの解明ならびに新たな創薬ターゲットの探索に重要な役割を果たすことが期待される。</p>
<p><b>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</b></p> <p>血液脳関門における異物排泄システムは薬効を制限する障壁となっている。この障壁のメカニズムの一端を明らかにしたことで、トランスポーターに汲み出されない医薬品を選択することを通じて治療効果の改善に貢献できるものと期待している。更に、本研究課題は動物実験を中心にしたものではあるが、ヒト ortholog の解析を通じて遺伝子多型・薬物間相互作用解析など臨床で生じえる問題を解析するための分子基盤を構築することに成功した。</p>
<p><b>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</b></p> <p>関門機能の一つである異物排泄システムとして機能するトランスポーターを明らかにした。薬物間相互作用、遺伝子多型による関門機能の個人差を解析することにより、臨床医療における個人差の克服のための方法論の構築に貢献できるものと考えられる。また、<i>in silico</i>によるドラッグデザインにより、関門透過性を予測し、理想的な特性を有する化合物構造の最適化を図ることで創薬への展開も期待される。</p>

研究者氏名：清水輝夫
研究課題名：福山型先天性筋ジストロフィーの病態解明と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>福山型先天性筋ジストロフィーFCMD（常劣）の遺伝子解析が行われ、9q31-33 に局在する FCMD 遺伝子に 3 kb transposon 挿入が日本人祖先におこった結果であることを解明後に当研究が行われた。</p> <p>(ア) FCMD の原因遺伝子産物 fukutin の生理機能について。Fukutin の推定一次構造から新規の分泌蛋白質であろうとの当初予測（'98）を訂正し、N 端に膜貫通ドメインをもち、C 端に糖転移酵素活性（?）をもつゴルジ体膜蛋白質であることを確認した。抗 fukutin 抗体の作成に困難を極めた結果えられた成果で、抗 fukutin 抗体免疫染色では有意な細胞内染色はなく、強制的に過剰発現させた培養細胞にて確認できた。いかなる糖転移過程に関わるかが今後の最終課題である。</p> <p>(イ) FCMD 筋における fukutin message の発現病態について。100 kb FCMD 遺伝子より、胎児・成人のすべての臓器で約 7 kb の mRNA が発現し、脳ではすべての神経細胞と Cajal-Retzius 細胞に発現、グリア細胞には発現しない。FCMD の筋・脳では fukutin message の発現は null であり、従って、fukutin 発現もないと推量した。</p> <p>(ウ) fukutin に機能的連関する未説明物質 p180 について。筋基底膜に存在し FCMD 筋で欠損する成分 p180 の解析を行った結果、laminin <math>\beta 2</math> 鎖と判明した。筋膜と接着する筋基底層成分ラミニンは merosin (<math>\alpha 2</math> 鎖・<math>\beta 1</math> 鎖・<math>\beta 2</math> 鎖) であるが、FCMD では merosin とは異なるラミニンが発現していた。</p> <p>(エ) FCMD 動物モデルの作成。FCMD の動物モデルが自然界には存在せず、動物モデルの開発を行った。Fukutin ホモ欠損 ES 細胞から FCMD キメラマウスを作製し、形態的に FCMD に酷似するモデルをえた。</p> <p>(オ) FCMD 類縁疾患である Muscle-Eye-Brain 病 (MEB) の分子病態。当初の研究目的ではなかったが、FCMD 類縁疾患である MEB と Walker-Warburg 症候群 (WWS、常劣) のうち、MEB の責任遺伝子の同定とその分子病態が解明できた。MEB は 1q32-34 に連鎖すること、同部位には O-mannose glycan の合成酵素で、ser/thr-mannose に GlcNAc を添加する酵素の遺伝子 POMGnT1 があることから、MEB 患者 6 例の遺伝子解析を行ったところ 6 例からそれぞれ異なる点変異が同定され、組織での酵素活性がないことが判明し、MEB が POMGnT1 異常症であることを確立した。</p> <p>(カ) FCMD/MEB に共通する筋基底膜病態。MEB の知見から fukutin も O-mannose glycan 合成過程に関与する成分で、'98 に我々が解明したラミニンと結合する膜蛋白 <math>\alpha</math>-dystroglycan (<math>\alpha</math>DG) の糖鎖 ser/thr-mannose-GlcNAc-Gal-Sial (O-mannose glycan) の合成障害が FCMD と MEB の両者に共通する病態ではないかと考え、抗体 <math>\alpha</math>DG 糖鎖抗体と <math>\alpha</math>DG-laminin 結合能を疾患筋と fukutin キメラマウスで調べたところ、予想通りの結果が得られた。この結果、FCMD と MEB は <math>\alpha</math>DG の糖鎖形成障害により筋細胞膜とラミニンとの結合不全をきたし発病する <math>\alpha</math>-dystroglycanopathy と結論した。WWS も同様の疾患と思われる。</p> <p>(キ) 治療への試み。ジストロフィー筋の崩壊過程では <math>\alpha</math>、<math>\beta</math>-DG のうち <math>\beta</math>DG が膜結合型 matrix metalloproteinase により分解される系が亢進していることが判明し、その阻害薬 BPHA による治療の可能性がえられた。また、myc-tag をつけたマウス fukutin 遺伝子を電気穿孔法で fukutin 欠損キメラマウス前脛骨筋へ導入した所、fukutin 発現、抗 <math>\alpha</math>DG 糖鎖抗体染色・laminin 結合能の回復が少数線維にみられた。</p>

(ク)

## 2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

FCMDの原因蛋白質fukutinの生理機能解明に進歩が見られたが最終結論にはいたらなかった。しかし、類縁疾患MEBの遺伝子解析(1q32-34、POMGnT1点変異)に成功し、両者に共通する分子病態として $\alpha$ DGのO型糖鎖の形成障害を証明でき、fukutinがO-mannose glycanの生成に関与する成分であることは証明できた（生理機能、疾患の分子病態解明として90点）。Fukutinに機能関連するp180についてラミニン $\beta$ 2鎖であることを解明した（100点）。治療法の開発は不十分である（10点）。

## 3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）

行政的貢献は乏しい。今までの成果から、FCMDの治療の開発よりはトランスポゾン挿入の遺伝子診断を徹底することにより発症を予防する配慮が大切と考えている。

## 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

医学的にみて、最重症先天性筋ジストロフィーであるFCMDとMEBの分子病態解明、 $\alpha$ DG分子の機能の理解に大きな進歩をもたらしたことで学問的貢献は大きいと考えるが、医療的貢献は不十分である。日本独自でDMDについて多いFCMDでは、いとこ婚の排除、両親のレトロトランスポゾン挿入の遺伝子診断により発症がなくなることを今後行政・社会に訴えたい。

研究者氏名：西川徹

研究課題名：覚醒剤・麻薬依存の分子機構の解明と治療法開発に関する研究

継続年数：3 年

## 1. 研究成果の概要

近年、国内外で、強い依存性を示す覚醒剤・麻薬等の薬物の乱用が増加の一途をたどり、乱用がもたらす精神障害や各種犯罪・事故の誘発が深刻な事態を招いているため、薬物依存の克服は、医学的にも社会的にも急務となっている。また、覚醒剤・コカインなどのドーパミン作動薬や、麻薬のうち強力な NMDA 受容体遮断作用もつ薬物は統合失調症と酷似した異常を発現させることから、再発・慢性化し易い本症の病態を明らかにする上でも、これらの依存性薬物の研究が重視されている。そこで本研究では、覚醒剤や麻薬が引き起こす依存形成および精神病様状態の原因と病態にかかわる分子異常を明らかにし、診断や予後判定の生物学的マーカーや、画期的な治療・予防法の手がかりを得ることを目的としている。

このため、1)覚醒剤や麻薬を経験した実験動物やヒトにおいて、これら薬物に対する感受性が増大して異常が出現し易くなる変化である逆耐性現象は、薬物を渴望することや薬物による精神異常の発症・再燃のモデルと考えられていること、2)ヒトにおいて、思春期以前には覚醒剤や麻薬を経験しても依存形成や精神病様状態が生じ難く、齧歯類では生後3週以降に逆耐性現象が形成されるようになること、などの点に着目し、覚醒剤・麻薬依存に関連する候補遺伝子として、ラットの脳で、生後3週以降に覚醒剤(methamphetamine: MAP)またはフェンサイクリジン(phencyclidine: PCP)に応答するようになる未知および既知の遺伝子を検索した。その結果、MAP-responsive transcript 1-3 および PCP-responsive transcript 2-4 の候補遺伝子が検出され、新規遺伝子 mrt1 および mrt3 の解析が進んだ。特に mrt1 は、1)MAP やコカインに反応して増加するバリエーションが存在し逆耐性現象と同様の薬理学的性質を示すこと、2)MAP への応答をアンチセンス法で抑制すると逆耐性現象の成立が阻害されること、3)逆耐性が形成された条件下では MAP への応答が消失することなどから、逆耐性現象の形成や維持に関わる分子カスケードを構築する可能性が高く、薬物性の精神病状態または統合失調症の再燃・発症の治療・予防薬を開発するための標的分子として有用なことが示唆された。

さらに、従来から薬物依存あるいはその基盤にある脳の可塑的变化への関与が示唆されている情報処理系の中で、グルココルチコイド受容体の制御下にある DNA メチル化酵素遺伝子、新規の受容体型チロシナーゼ Eph 受容体遺伝子群、スピノフィリン遺伝子などの逆耐性現象への関与を支持する結果が新たに得られた。一方、ドーパミントランスポーター(DAT)とセロトニントランスポーター(SERT)の遺伝子操作マウスを用い、条件づけ場所嗜好試験でコカインの報酬効果を検討し、(甲)DAT または SERT の単独のノックアウトでは消失せず、(乙)DAT(-/-) SERT(-/-)(ダブルノックアウト)および DAT(-/-) SERT(+/-)では消失するが DAT(+/-) SERT (-/-)では保持されることがわかった。また、(丙)DAT の部分欠損マウスでは MAP 逆耐性の発症が抑制されていること、(丁)DAT または SERT の完全欠損は逆耐性形成を阻害することを見出した。これらの結果から、覚醒剤やコカインの報酬効果や逆耐性の形成には DAT と SERT が重要な役割を果たすことが明らかになった。以上の分子も、薬物依存あるいは統合失調症の治療薬開発の標的となる可能性があると考えられる。

## 2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

主任研究者は、本研究課題の発足以前から 精神障害の分子機構の研究に、発達神経科学的視点を導入した新しい考え方(仮説)で取り組んでいる。精神障害に関わる脳の情報処理が発達に伴って変化することは、覚醒剤、コカイン、PCP などの依存性のある統合失調症様異常発現薬による脳内の最初期遺伝子応答が生後発達に



従って著明に変動することにより実証した。続いて、本課題を含めた一連の研究を通じて、ヒトの統合失調症様異常のモデルとされるラットの異常行動が生じ始める時期から、覚醒剤、コカイン、PCP などの薬物への応答が明らかになる遺伝子をあいついで検出した。さらに、本研究では *mrt1* の詳細な検討を行い、こうした遺伝子が少なくとも、依存性薬物による統合失調症様の精神障害の動物モデルの病態形成に関与することを示した。

すなわち、従来知られていない薬理学的反応を持ち(発達依存性)、覚醒剤・麻薬依存や統合失調症に関係する候補となる、脳の新規分子を同定した点で、これらの精神障害の研究を進展させるのに貢献したと考えている。これらの分子は、薬物依存の分子遺伝学的解析の標的としても有用であり、現在まで検討を続けている。同時に、脳機能の発達の分子機構の新たな側面を明らかにした意義がある。

一方、ノックアウトマウスを用いた研究では、種々の遺伝子型のマウスを使って、ドーパミンおよびセロトニンのトランスポーターの依存または逆耐性の形成における役割を解析した。両者の相互作用の重要性を初めて示した意義は大きいと考えられる。

### 3. 研究成果の自己評価 (行政的観点に立った場合)

*mrt1* の MAP への応答を阻害することにより、MAP を反復投与しても逆耐性現象が生じなくなったことや、ドーパミントランスポーターだけでなくセロトニントランスポーターも逆耐性の形成に重要であることがわかった点は、依存性薬物による精神病状態あるいは依存形成の治療や予防について、新たな戦略を示唆している。つまり、*mrt1*、*Mrt1* 蛋白またはそれらを含む分子カスケードに作用する薬物が、新規治療・予防薬を開発する上での標的となる可能性を示唆した。また、ノックアウトマウスを使った実験結果から、覚醒剤・麻薬依存または統合失調症による精神病状態の再発を防ぐために、セロトニン系に影響する既存の薬物を利用する意義があると考えられる。精神症状の再発や急性増悪は、しばしば大きな社会的問題につながるため、本研究の成果は、こうした臨床的問題の解決にも有用な手がかりを与えることが期待される。

### 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

*mrt1* のコード蛋白は、特定のリン脂質と結合することが国内外の研究者によって注目されており、問い合わせや共同研究の申し出がある。このことは、細胞内シグナルカスケード研究の進歩に貢献し始めた可能性を示している。

また、*mrt1* およびコード蛋白については、新規抗精神病薬開発の標的分子として特許出願を行った。国内外の製薬企業から、これらの分子について、さらに詳しい説明を求める依頼が寄せられている。

本研究の成果に関しては、総説、講演(国際学会を含む)の依頼も多く、依存性薬物による精神病状態や統合失調症の病態および治療法の研究への理解と関心を増進させている可能性がある。さらに、主任研究者のグループでは、精神障害の発達による変化または発達依存的発症の分子生物学的研究が継続・発展しており、「最終報告書以後」の業績においてそれらの一部を公表した。

研究者氏名：松田博史
研究課題名：機能的 MRI、脳磁図、および PET/SPECT を用いた精神疾患の病態解明とそれに基づく治療法の開発、精神疾患に対する多重画像モダリティによる認知機能障害の解明とそれに基づく治療法の開発
継続年数：4 年
<p><b>1. 研究成果の概要</b></p> <p>統合失調症および感情障害を対象疾患として、PET, SPECT, fMRI, MEG, NIRS の多重画像モダリティを用いて神経画像および神経生理学的検索法によりこれら内因性精神疾患の認知障害を検出した。さらに治療法として、特に反復性経頭蓋磁気刺激療法に関連した基礎的および臨床的検討をおこなった。これらの画像所見は、至適な経頭蓋磁気刺激療法の確立および新たな治療法の開発に貢献しうる。</p>
<p><b>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</b></p> <p>脳機能解析の進歩は、特に形態学的手法では異常を検出することが極めて困難な内因性精神疾患において病態解明に必須の検査法となりつつある。これらの脳機能解析法はそれぞれ、長所、短所を有するため、一つの検査法のみではなく、お互いの欠点を補うように組み合わせる解析することが望ましい。本研究では、最新の PET/SPECT, fMRI および MEG 装置を、相補的に駆使することにより、精神疾患がどのような認知障害として捉えられ、脳のどの部位の障害か、どの領域間の機能統合（連結）の異常かを検索することにより、統合失調や感情障害を中心とする内因性精神疾患の認知機能障害の客観的定量化を行うことができた。さらに、その解明結果を参照して経頭蓋磁気刺激による適切な治療法の基礎を確立した。</p>
<p><b>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</b></p> <p>青壮年期に発症し、難治化、遷延化することの多い内因性精神疾患を早期に定量的に診断し、さらに脳の障害部位に選択的かつ効果的な治療法として、経頭蓋磁気刺激療法を検討した。本研究は、このような患者の予後の改善、社会復帰の促進につながると期待される。</p>
<p><b>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</b></p> <p>本研究では、外来でも安全に可能な経頭蓋磁気刺激療法の機序を解明することができた。また、実際の症例において、本治療法を実践し、脳代謝および神経伝達機能が改善することを証明した。本治療法が今後、特に難治性うつ病に対する治療法として用いられていく可能性を示した。</p>

研究者氏名：祖父江元
研究課題名：運動ニューロン疾患の病態関連分子の同定と治療法の開発
継続年数：3 年
<p>1. 研究成果の概要</p> <p>孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の運動ニューロンを単一細胞として抽出し、遺伝子発現プロファイルを正常運動ニューロンと比較することでALSの病態関連分子を探索同定した。</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>孤発性の神経変性疾患の病態関連分子を明らかにし、治療法の開発に向けた分子標的を探索・同定することが出来るという方向を示した。</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>治療法のない神経難病であるALSの病態関連分子を明らかにすることで治療法開発への方向性を示した。</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>①孤発性ALSの運動ニューロンの変性過程に関連する候補分子群を明らかにした。</p> <p>②神経変性疾患の病態解明に向けた方法論を呈示した。</p>

研究者氏名：大野耕策

研究課題名：神経回路網形成障害の分子機構に関する研究

継続年数：3 年

## 1. 研究成果の概要

発育期神経遺伝病は、神経回路が未熟なため神経変性は、精神発達の退行やてんかんなど非特異的な症状で表れることが多い。しかし、遺伝的原因によって特定の神経回路が選択的に障害されると考えられる。それぞれの遺伝病で選択的に障害される神経回路網を同定し、その変性の分子機構を明らかにすることが、その分子が神経系の発達と成熟に果たす役割の解明と治療に向けた戦略に重要と考え、このアプローチによる発育期神経遺伝病・神経障害の治療法の開発を目的とした。対象としたいいくつかのうち、ニーマン・ピック病 C 型について大きな進展が得られた。

【NPC1 蛋白質の機能】 NPC1 は後期エンドソーム／リソソームからの脂質小胞輸送に関与する分子で、この欠陥でコレステロールや糖脂質が後期エンドソーム／リソソームに蓄積する。我々はガングリオシッド GM1 は早期エンドソームに蓄積することを見いだし、NPC1 蛋白質は早期エンドソームから細胞膜への逆行性脂質輸送にも関与することを見いだした。

【ニーマン・ピック病 C 型患者における神経原線維性変化の出現】 C 型患者脳では若年成人期死亡例で神経原線維性変化を見ることがある。モデルマウスの脳では、MAPK シグナルの恒常的活性化により、部位特異的なタウのリン酸化がおこることを明らかにした。また、神経原線維性変化を示す場合、遺伝的背景として APOE ( $\epsilon 4$ ) が重要であることを明らかにした。

【ニーマン・ピック病 C 型モデルマウスの神経回路網変性】 C 型モデルマウスではプルキンエ細胞が脱落することが知られていたが、視床 VPL/VPM 神経細胞も症状と平行して脱落すること、この脱落は脂質の蓄積とは直接関係がないことを見いだした。その後の研究で、視床 VPL/VPM の変性は後根、後策核の変性に伴う順行性軸索変性による可能性を明らかにした。C 型患者で見られる嚥下障害は、後根、後策核、視床 VPL に至る感覚系ニューロンの変性による可能性がある。

【ニーマン・ピック病 C 型での STAT 系シグナルの恒常的活性化】 C 型患者細胞ではインターフェロンで誘導される一連の遺伝子の発現が増強し、この異常はひと細胞、モデルマウス臓器などで、STAT 系シグナルの増強によることを見いだした。さらに変性する神経細胞で STAT 系シグナルが増強し、このシグナル異常が神経変性と関係すると考えるに至った。このシグナル増強は C 型細胞が細胞外に放出する IL-6 などのサイトカインによることを明らかにした。さらにその後 NPC 細胞は細菌内毒素に過剰に反応して、MAPK、Nf $\kappa$ B を活性化し IL-6 を出すことを明らかにした。さらに、IL-6 ノックアウトマウスと C 型モデルマウスの交配で、脳内グリオシスが完全に抑制されモデルマウスの生存がわずかに伸びることを見出した。

## 2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

遺伝性神経疾患の医学的研究においては、なぜその分子の欠陥が特定の神経細胞障害を引き起こすか明らかにすることであり、そのアプローチなくして新しい治療法の開発はない。そのために、その分子の細胞内機能、その分子の欠陥によって特異的に障害される神経細胞の同定とその変性機構による脳内機能の解明が必須である。我々の研究結果は 1 つの分子の欠陥でおこる脳内の異常は細胞種によって異なる可能性があり、神経変性に至る過程でのメカニズムが複雑多様であること明らかにしつつある。特に臨床症状と関係する神経回路網変性が同定された点は研究の成果として大きい。

### 3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）

我々の目標とした1つはSTAT系シグナルを亢進させているIL-6を抑制した時のモデルマウスの治療効果であった。IL-6を抑制して脳内のグリオシスは抑制されたが、生存は1週間から10日しか延びず、ヒトに応用可能な治療にはならないと考えられた。治療法のない神経遺伝病であるかぎり、治療法の開発が行政的観点では重要である。我々の見出したいくつかの所見は将来の治療の標的であることには間違いないが、その具体的方法についてはさらに検討していく必要がある。

### 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

- 1) ニーマン・ピック病C型原因蛋白質は後期エンドソーム・リソソームからの脂質小胞輸送に関与しているだけでなく、早期エンドソームから細胞膜への逆行性輸送に関与していることを明らかにした点
- 2) アルツハイマー病以外ではニーマン・ピック病C型患者の脳で見られるタウの過剰リン酸化を示す神経原線維性変化は、MAPKの恒常的活性化と関係し、患者のApoEの遺伝子型が関係していることを明らかにした点
- 3) NPC1遺伝子の欠損でグリア系細胞では細菌内毒素への感受性が亢進し、この結果、細胞内STAT系シグナルの恒常的活性化がおこり、脳内のグリオシスにつながることを明らかにした点
- 4) ニーマン・ピック病C型患者で運動障害が進行する以前に嚥下障害が見られる原因として、後根・後策核・視床VPLにいたる感覚神経回路の選択的早期変性が関与していることを明らかにした点

研究者氏名：田平武
研究課題名：アルツハイマー病における神経細胞死促進機構の解明と抑止方法の開発
継続年数：3 年
<p><b>1. 研究成果の概要</b></p> <p>本研究はアルツハイマー病脳の免疫組織学的研究により神経細胞内 A<math>\beta</math>42 蓄積の重要性を示し、加えてシナプスへの A<math>\beta</math>42 の蓄積がシナプス変性を引き起こす可能性を示した。その機序を探るために A<math>\beta</math>42 と結合する蛋白質をスクリーニングし Glypican-1 および AB-DIP を見出した。AB-DIP は核移行シグナルを有し、A<math>\beta</math>42 は直接 p53 のプロモーター領域に結合しこれを活性化しアポトーシスを誘導した。また、A<math>\beta</math> は小胞体ストレスを誘導し、小胞体ストレスは A<math>\beta</math> 産生の増強をひき起こした。この研究により神経細胞死の抑止方法開発に大きく前進することができた。</p>
<p><b>2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）</b></p> <p>本研究では当初細胞死抑止法の開発も目指した。しかし、細胞死のメカニズム解明に留まった点は残念である。しかし、難しい研究テーマであり、その後、抑止法開発研究は進展しており、満足すべきであると考ええる。</p>
<p><b>3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）</b></p> <p>本研究の評価で行政点が著しく低かったが、私はそうは思わない。アルツハイマー病の神経細胞死を抑止することが可能になれば、その行政的意義は極めて大きい。その研究がうまく行ったときの行政的インパクトの大きさを評価すべきであり、それに向けてどれだけ進歩したかを評価すべきである。</p>
<p><b>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</b></p> <p>アルツハイマー病がワクチン療法ですべて解決するかどうかはまだ分らない。細胞内 A<math>\beta</math> による問題が残る可能性は十分ある。そうしたとき、研究を一步進めておくことは意義のあることだと思われ、その意味で医学・医療へ一定の貢献をしていると思われる。また、独創性の高い分子が発見されたことで、知的財産という面からも貢献が期待される。</p>

研究者氏名：内山真

研究課題名：ヒト睡眠・生体リズム障害の病態と治療予防法開発に関する基盤研究

継続年数：3 年

## 1. 研究成果の概要

わが国において、睡眠・生体リズム障害は頻度が高く、心身の保健に対し重大な脅威となっているばかりでなく、学業や就労上の問題や産業・交通事故の原因となり国民生活に大きな影響を与えている。したがって、睡眠・生体リズム障害の治療法・予防法の開発は急務である。近年、国内・国外で分子生物学的手法や新たな生理学的な指標を導入した睡眠・生体リズムに関する基礎研究の成果は目覚しいが、ヒト生体リズム異常についての研究は進展が遅れていた。

本研究プロジェクトにおいては、最新の基礎研究により開発された方法論を病態研究に導入して、睡眠・生体リズム異常の病態解明を進め、治療予防法を開発した。睡眠障害研究に脳機能画像解析を導入し、ヒトにおける睡眠発現に関わる神経回路網を明らかにし、ヒトにおけるベンゾジアゼピン系睡眠薬の機序部位を明らかにした。睡眠・覚醒リズム障害患者における恒常条件下内因性リズム測定の導入により、病態生理機構を明らかにしたとともに、朝型・夜型における体内時計機構の機能変化についても明らかにした。これに基づき、睡眠・覚醒リズム障害に対する時間生物学的治療法を開発した。睡眠・覚醒リズム障害患者および健常人における時計遺伝子解析の導入により、疾患の分子レベルでの脆弱性について明らかにした。昼夜逆転などの睡眠・覚醒リズムの異常を示す痴呆高齢者について、背景に生体リズムの変調があることを明らかにし、生体リズムに対する働きかけによる治療法を開発した。これらは、睡眠・生体リズム障害の治療予防法開発を通じて、身体・精神両面での国民保健の向上に貢献できる。健常人における生体リズムの多様性を生理学的および分子生物学的に解明することで、交代勤務など睡眠・生体リズム異常を来しやすいハイリスク状況における予防法開発が促され、産業事故防止や産業保健に波及効果をもたらすと考えられた。

## 2. 研究成果の自己評価（その医学研究としての評価）

本研究プロジェクトの医学研究としての評価は、以下に述べるように新たな医学的知見を得た点で非常に高いものと考えられる。

A. 睡眠障害研究に脳機能画像解析を導入し、ヒトにおける睡眠発現に関わる神経回路網を明らかにし、ヒトにおけるベンゾジアゼピン系睡眠薬の睡眠促進作用が辺縁系に対する抑制作用だけでなく、視床下部前部に存在することが考えられている睡眠中枢に対する作用によるものであることが明らかになった。これは、今後の睡眠薬開発に貢献する結果と思われる。

B. ヒトにおいて恒常条件下で内因性リズムおよび客観的睡眠傾向測定法を開発し、これまで先行する覚醒時間に応じて睡眠の前半に出現すると考えられていた深いノンレム睡眠に強い概日特性があることを明らかにした。これは、適切な時間帯に睡眠をとらないと睡眠が不足していても深い睡眠が得られないことを初めて示した。さらに、健常人の中で朝型・夜型について眠気の概日リズムを調べ、同一環境下においた場合においても、朝型では覚醒してから夜の眠気が出現するまでの時間が短いことを明らかにした。

C. 睡眠相後退症候群および非 24 時間睡眠覚醒症候群に対し恒常条件下で内因性リズムおよび客観的睡眠傾向測定を行い、概日リズムに対して遅い時刻にならないと睡眠がとれないこと、および断眠後の回復睡眠がおこりにくいことを明らかにした。これは、睡眠覚醒リズム障害患者では、睡眠スケジュールの変更に関する

る柔軟性が欠如していることを示す結果であり、高照度光療法を行う場合、これまで考えられていたよりも早い時刻に強制的に覚醒させて行うべき事を示す点で臨床的に重要な発見である。

D. 睡眠相後退症候群や非 24 時間睡眠覚醒症候群においては、睡眠に問題のない健常正常人と比べて、メラトニン受容体遺伝子および Per3 遺伝子ミスセンス多型が多いことを明らかにした。Clock 遺伝子については、差が認められなかった。さらに、季節性うつ病に関しても同様な時計遺伝子の変異があることを明らかにした。Per3 遺伝子の V647 多型については、Per3 蛋白のリン酸化と関連していることを明らかにした。これから、リン酸化に関連する Casein kinase I epsilon 遺伝子の多型を検索し、このミスセンス多型の保有率がリズム障害で低いことを明らかにした。これらは、睡眠覚醒リズム障害の発症に関しては、時計遺伝子の変化による脆弱性があることを明らかにした。

E. 昼夜逆転や夜間せん妄などの行動異常を示す痴呆老年者では、メラトニンや深部体温のリズムが異常をきたしていることを明らかにした。特に、メラトニンや深部体温のリズムの低振幅化が特徴であった。これらは体内時計機構の変調によるものと考えられたため、日中に高照度光療法を行い明暗サイクルのメリハリをつけたところ昼夜逆転や夜間せん妄が改善することを明らかにできた。この時、メラトニンのリズムが正常化することも同時に確かめた。これらは、痴呆老年者における睡眠覚醒障害が概日リズムの異常から起こっており、光により概日リズムの異常を矯正することで治療が可能であることを示した点で意義が大きい。

### 3. 研究成果の自己評価（行政的観点に立った場合）

睡眠や生体リズムに関して得られた基盤的成果については、健康日本 21 にも示されている、睡眠の問題を抱えている人の減少や睡眠補助品使用者の減少の目標値達成のための、睡眠保健に関する知識の普及啓発に大きく寄与する。

さらに、夜型・朝型やその極端な表現型である睡眠覚醒リズム障害に関して、時計遺伝子に関連した遺伝的脆弱性が関与している事を明らかにしたことは、今後交代勤務や夜勤などの保健対策を行う場合に、個人差を考えテーラーメイドの対策を行うべき事を示唆する点で重要である。

高齢者の介護は国家的な問題であり、特に痴呆老年者の昼夜逆転などは介護負担を大きくする要因として注目されている。これらに対して、睡眠・生体リズムの面からのアプローチが可能であることを明らかにした点で老年者の精神障害における介護負担の軽減という点で保健政策立案にも寄与できると考えられる。

### 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

具体的な貢献としては、本研究の成果は、厚生労働省による平成14年度の健康づくりのための睡眠指針作成にも大きく取り上げられた点が挙げられる。この指針における体内時計の機能を配慮した睡眠法についての項目は本研究の成果に基づくものである。

睡眠覚醒リズム障害や夜間異常行動を伴う痴呆老年者に対する高照度光療法の有用性について、医療者への認識が高まったことが挙げられる。近年、痴呆老年者を扱う施設において、高照度光療法施設を併設するところが増えていることや、日中の日光浴をプログラムに入れるところが増えているのは、本研究の波及効果と考えられる。

本研究プロジェクトに関連した論文が国際誌に多く掲載されたことにより、本研究参加者が国際学会におけるシンポジウムなどに招待されることが多くなった。我が国の研究がリーダーシップをとることになり、欧米にあまり活発でなかった睡眠覚醒リズムに関する研究を刺激し促進することになった。



研究者氏名：楠進
研究課題名：免疫性神経疾患の発症機構の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>われわれは、ギラン・バレー症候群(GBS)などの免疫性ニューロパチーにおいて、抗糖脂質抗体が特異的に上昇し、発症機序の解明と診断検査に有用であることを報告してきた。本研究では、さらに以下のような成果を得た。</p> <p>1)GBS にみられる抗糖脂質抗体は抗原となる糖脂質に特定のリン脂質が共存した場合に反応性が大きく影響されることがわかった。とくに phosphatidic acid (PA)を抗原に混合すると抗体陽性率が上昇する。一方 sphingomyelin (SM)の共存は活性を低下させた。</p> <p>2)抗 GQ1b 抗体陽性 GBS は人工呼吸器装着の頻度が高く、同抗体が重症化の有用な指標となることがわかった。</p> <p>3)抗 GalNAc-GD1a IgG 抗体は軸索型で純粋運動型 GBS にみられるが、免疫組織化学的に GalNAc-GD1a の運動神経軸索周囲膜への局在が確認された。</p> <p>4)抗 Gal-C 抗体とマイコプラズマ肺炎の先行、および抗 GQ1b 抗体と H. influenzae 感染の先行の関連が示され、それぞれ感染因子がもつ糖鎖構造に対する免疫反応として抗糖脂質抗体が産生されることが示された。</p> <p>5)GM1 でウサギを感作することにより運動麻痺優位の末梢神経障害動物モデルを確立した。</p> <p>6)このモデルの治療に免疫グロブリン静注療法(IVIg)が有効であることがわかった。</p> <p>これらはいずれもオリジナリティーの高い、世界に先駆けた研究成果である。</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>免疫性ニューロパチーにおける自己抗体としての抗糖脂質抗体が、抗原となる糖脂質の局在部位に特異的に結合して臨床像を決定することが確認された。また抗糖脂質抗体の発症機序への関与を考える上で、糖脂質をとりまく環境、とくにリン脂質の影響を考慮する必要があることが明らかになった。抗糖脂質抗体上昇の機序として、先行感染因子のもつ糖鎖に対する免疫反応として産生されるという「分子相同性仮説」が、<i>Campylobacter jejuni</i> 以外においても示された。作用機序に不明な点の多い IVIg について検証する有用なモデルが得られた。これらは、免疫性神経疾患における抗糖脂質抗体についての従来の疑問に答え、さらに新たな視点を与えるものであり、また新しい治療法開発の端緒となるものと考えられる。</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>GBS は早期に診断し治療開始することが最も重要であるが、そのための指標としての抗糖脂質抗体の有用性が高まったことは、治療効果の向上ひいては医療コストの削減に役立つと考えられる。重症化の有用な指標が得られたことも同様の意義がある。また IVIg の作用機序解明のためのモデルが得られたが、さらなる検討により治療メカニズムが解明されれば、日本発の免疫性神経疾患の画期的な治療法開発に結びつくと考えられる。</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>抗糖脂質抗体の産生メカニズムを解明し、その作用機序を明らかにすることにより、免疫性神経疾患の病態機序解明のプロトタイプを提供した。抗糖脂質抗体の神経障害メカニズム解明のために、リン脂</p>

質などの他の膜成分の影響を考慮すべきことを分子レベルで明らかにした。先に報告していた GD1b 感作による失調性ニューロパチーに加えて、GM1 感作による運動ニューロパチーが確立されたが、これらは世界各国の研究者が試みて成功していなかったものであり、世界的にもインパクトの高い成果である。今後これらのモデルを用いて、病態の解明、それに基づく治療法の開発、既存の治療法の有効性の検討などが可能となった。

#### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
久野貞子、 山村隆、功 刀浩、金吉 晴、杉田秀 夫、有馬邦 正、樋口輝 彦 他		久野貞子、 樋口輝彦	こころの健康 科学研究－現 状と課題－(仮 )		東京	2007	