

厚生労働科学研究研究費補助金

こころの健康科学研究事業

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：
運動ニューロンにおける
蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 小柳 清光

平成19年（2007年）3月

目次

I. 総括研究報告

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：運動ニューロンにおける
蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

小柳 清光 -----3

II. 分担研究報告

1. 筋萎縮性側索硬化症(ALS)前角細胞リボソーム RNA 遺伝子
転写活性と細胞変性/ヌクレオリン、分子シャペロンの変化

小柳 清光 -----9

2. 剖検とリソース、臨床病理学的検索、ALSにおける認知症の
責任病巣

水谷 俊雄 -----15

3. 変性モデルラットの解析および治療法の開発

渡部 和彦 -----17

4. ALS 脊髄で増殖する細胞の有無と細胞種の同定

山崎 峰雄 -----23

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----26

IV. 研究成果の刊行物・別刷り -----29

I. 総括研究報告書

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：
運動ニューロンにおける蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

主任研究者 小柳清光 東京都神経科学総合研究所
運動・感覚システム研究分野長・参事研究員

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の脊髄・脳幹の運動ニューロンの最早期変化、特にその蛋白合成系に焦点を合わせ、病的メカニズムの解明と新規治療法を開発する目的で研究を進め、18年度下記の成果を得た。

1. 運動ニューロンにおける細胞内蛋白合成系の最上流に位置する、と考えられるリボソーム(r)RNA 遺伝子転写であるが、その活性化因子の一つと報告されているヌクレオリンを脊髄運動ニューロンにおいて定量的に検討し、対照例に比較してALSでは有意に減少していることを見出した。
2. 運動ニューロン生存蛋白 (survival motor neuron (SMN) protein, the product of the spinal muscular atrophy-determining gene) は、遺伝性脊髄性筋萎縮症の原因遺伝子産物であり、軸索の伸長や神経筋結合の成熟に必要な蛋白である、と報告されている。今年度、SMN蛋白を検索し、対照例の脊髄運動ニューロンでは、その殆どがSMN蛋白を有していたにも関わらず、孤発性ALS症例の脊髄ではSMN蛋白が有意に減少していることを確認した。
3. 家族性ALSの一型とされるALS2の原因遺伝子産物であるALS2/ALSIN蛋白の発現と役割を明らかにする目的から、若年ラットから老齢ラットまでの中枢神経系を免疫組織学的に検索し、ALS2/ALSIN蛋白が小脳顆粒細胞軸索の維持に関連していることを見出した。
4. 平成18年度、11症例のリソースを受けた。
5. 変性モデルラットの解析および治療法の開発

ALS運動ニューロンの変性メカニズムの解明と、ALSの新規治療法を開発する目的で研究を続けた。

(1) 成体ラット顔面神経引き抜き損傷における顔面神経核運動ニューロン死に伴って内在性神経前駆細胞が出現増殖することを見出し、FGF2組換えアデノウイルス投与によって神経前駆細胞の増殖を誘導

しえた。また、顔面神経核を含む成体ラット腹側脳幹組織から神経前駆細胞を継代培養しうることがわかった。

(2) 成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、組換えヘルペスウイルスベクター、組換えレンチウイルスベクターに関する検討を加えた。

(3) 成体マウス顔面神経切断後の運動ニューロン死に対し、ラジカルスカベンジャーMCI-186 の経口投与を行いその保護効果を見出した。

(4) ラット顔面神経引き抜き損傷部位にラット株化シュワン細胞を移植し、神経栄養因子産生による傷害運動ニューロンの保護効果を検討した。また、移植のためのラット神経前駆細胞を樹立し解析した。

6. ALS 脊髄で増殖する細胞の有無と細胞腫の同定に関し、ミクログリアは分裂することによって活性化ミクログリアに変化することを見出した。

分担研究者

水谷俊雄 東京都立神経病院部長

渡部和彦 東京都神経科学総合研究所副参事研究員

山崎峰雄 日本医科大学第二内科講師

A. 研究目的

ALS 脊髄・脳幹運動ニューロンの蛋白合成系に焦点を合わせ、新たな視点から弧発性および家族性 ALS の病態究明と治療法の開発を目指す。

1. ALS 運動ニューロンにおける最早期変化、特に運動ニューロンにおける蛋白合成系の異常と細胞脱落との関連の解明。

2. 剖検材料のリソースと ALS で観察される認知症状の形態学的責任病巣の検討。

3. 新規の神経栄養因子および組み換えウイルス、移植による細胞治療法の開発。

4. ALS 脊髄で増殖する細胞の同定と病巣修復への関与の解析。

B. 研究方法

1. ALS 運動ニューロン

蛋白合成系の解析：

(1) ALS 前角細胞における、蛋白合成系の「最上流」と考えられるリボソーム(r)RNA 遺伝子の転写活性減少メカニズムと原因物質、蛋白合成系全般への関与を解明する。

(2) 家族性ALSの運動ニューロン変性メカニズムを解析する。

2. リソースと ALS-認知症の責任病巣：

大脳皮質、基底核を免疫組織学的に解析し、認知症の発症機構を追求する。

3. モデル動物を用いた新規治療法の開発：

成体ラット顔面神経引き抜き損傷モデルと前角細胞軸索損傷モデルを用いて、脱落を阻止する有効な新規組み換えウイルス、栄養因子を見出す。

4. ALS 脊髄で増殖する細胞種の同定と修復機構への関与の解析：

ヒト ALS 解剖例脊髄のホルマリン固定、パラフィン包埋材料を用いて増殖中の全細胞を染める分裂細胞マーカー MIB-1 と、各種細胞マーカー、との二重免疫染色を行って増殖する細胞種を

同定し修復への関与を検討する。

C. 研究結果と考察

1. 運動ニューロンにおけるリボソーム(r)RNA 遺伝子転写活性と細胞死との関係：転写活性化因子ヌクレオリンの定量的検討

細胞内蛋白合成系の最上流に位置する、と考えられる rRNA 遺伝子転写であるが、その活性が、孤発性 ALS の脊髄運動ニューロンと、ALS モデルと考えられている顔面神経損傷ラットの顔面神経核運動ニューロンでは減少していたことより、ニューロン死に直結した変化である可能性を昨年度までに報告した。今年度、rRNA 遺伝子転写の活性化因子の一つと報告されているヌクレオリンを ALS 脊髄運動ニューロンにおいて定量的に検討し、対照例と比較して有意に減少していることを見出した。この所見は、ALS 脊髄運動ニューロンの rRNA 遺伝子転写活性の減少がヌクレオリンの減少によって引き起こされている可能性を示唆している。

2. 運動ニューロン生存蛋白 (survival motor neuron (SMN) protein, the product of the spinal muscular atrophy-determining gene) の孤発性 ALS における検討

survival motor neuron (SMN) protein は、遺伝性脊髄性筋萎縮症の原因遺伝子産物であり、軸索の伸長や神経筋結合の成熟に必要な蛋白である、と報告されている。今年度、SMN 蛋白を検索し、対照例の脊髄運動ニューロンでは、その殆どが SMN 蛋白を有していたにも係わらず、孤発性 ALS 症例の脊髄では SMN 蛋白が減少した運動ニューロンの混在を認めた。すなわち ALS 脊髄における SMN 蛋白は有意に

減少しており、それは運動ニューロン変性と密接に関連している可能性を指摘した。

3. 家族性 ALS の一型とされる ALS2 の原因遺伝子に由来する ALS2/ALSIN 蛋白の解析

ALS2 は若年発症の家族性 ALS の一型と言われており、今年度、この原因遺伝子産物である ALS2/ALSIN 蛋白の発現と役割を明らかにする目的から、若年ラットから老齢ラットまでの中枢神経系を免疫組織学的、および免疫学的に検索した。結果は、ALS2/ALSIN 蛋白が小脳顆粒細胞軸索の伸張と萎縮に関連していることを見出した。すなわち ALS2/ALSIN 蛋白は軸索の維持に密接に関連していることを指摘した。

4. 剖検とリソース、臨床病理学的検索、ALS における認知症の責任病巣

(1) 平成 18 年度、11 例のリソースを受けた。

(2) 孤発型 ALS60 剖検例における運動神経系以外への病変の広がりや臨床徴候について検討した。淡蒼球・視床下核・黒質に高度な変性を伴った症例から、軽度な病変呈する症例まで認められた。しかしこれらの症例の中には錐体外路徴候を呈した症例はなかった。認知症を呈した症例の多くは病理学的に三山型であった。一方、扁桃体病変を示したにもかかわらず、軽度の性格変化を呈したのみの症例が存在した。

5. 変性モデルラットの解析および治療法の開発

ALS 運動ニューロンの変性メカニズムの解明と、ALS の新規治療法を開発する目的で研究を続けた。

(1) 成体ラット顔面神経引き抜き損傷における顔面神経核運動ニューロン死に伴

って内在性神経前駆細胞が出現増殖することを見出し、FGF2 組換えアデノウイルス投与によって神経前駆細胞の増殖を誘導しえた。また、顔面神経核を含む成体ラット腹側脳幹組織から神経前駆細胞を継代培養しうることがわかった。

(2) 成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、組換えヘルペスウイルスベクター、組換えレンチウイルスベクターに関する検討を加えた。

(3) 成体マウス顔面神経切断後の運動ニューロン死に対し、ラジカルスカベンジャーMCI-186 の経口投与を行いその保護効果を見出した。

(4) ラット顔面神経引き抜き損傷部位にラット株化シュワン細胞を移植し、神経栄養因子産生による傷害運動ニューロンの保護効果を検討した。また、移植のためのラット神経前駆細胞を樹立し解析した。

6. ALS 脊髄で増殖する細胞の有無と細胞腫の同定

平成17年度に報告したALS脊髄でのミクログリアの分裂に関連し、今年度、抗MHC classII抗体に属する抗CR3.43抗体を用いた検索を行った結果、活性型ミクログリアがALS脊髄で増加していることを確認した。すなわち、ミクログリアは分裂することによって活性化ミクログリアに変化することを見出した。またその局在は脊髄前角よりも脊髄側索で顕著であることを観察した。

D. 結論

1. ALS 運動ニューロンの変性脱落機序、特にその最早期病変の解明：

ALS 剖検例の病理学的検索とALSモデル動物の実験的検索から、運動ニューロンにおけるリボゾームRNA遺

伝子の転写活性の減少が、ニューロン脱落の極めて早期の変化すなわち病変の「引き金」である可能性を本研究で指摘した。しかもこの活性減少は、転写活性化因子の一つであるヌクレオリンの減少によって惹起されている可能性を見出した。またニューロン軸索の伸長に参与する、といわれる運動ニューロン生存(SMN)蛋白の減少も見出した。ヌクレオリンおよびSMN蛋白減少の因果の解明はALSの新規治療法開発、およびALSの予防に直結していると考えられる。

2. ALS-認知症の発症メカニズムの解析：

認知症を呈したALS症例の多くは病理学的に三山型であることを確認した。一方、扁桃体病変を示したにもかかわらず、軽度の性格変化を呈したのみの症例が存在した。すなわちALSにおける認知症状の発現には、側頭葉のみならず前頭葉の障害が必要条件と思われた。一方扁桃体だけの障害では認知症状は満たさないことが考えられた。

3. 運動ニューロン障害モデル動物におけるニューロン変性メカニズムの解明と新規治療法の開発：

本研究により運動ニューロン変性阻止に有効な種々の栄養因子組み換えウイルスを得た。これらの臨床応用を隣接する都立神経病院と準備中である。

4. ALS 脊髄で増殖する細胞の組織修復への関与：

私たちは本研究課題において、世界でも初めてALS脊髄でミクログリア、血管構成細胞を主体とする細胞増殖の存在を明らかにした。さらに本年度、活性型ミクログリアはミクログリアの

分裂によって生じていることを見出した。これらの増殖細胞が ALS 脊髄の修復メカニズムへどのように関与しているかを解析することにより、内在性細胞による ALS 脊髄病変の修復、という新しい治療戦略を樹立できる。

E. 健康危険情報

特になし。

F. 研究発表

1. 論文発表 原著論文 計 17 編。

そのうちの主なもの

- 1) Oyanagi K, Yamazaki M, Kawakami E, Morita T, Makifuchi T, Takahashi H. On the origin of the degenerated fibers in the white matter of the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. Amyotrophic lateral sclerosis: New Research. Ed. Murray CA. Nova Science Publishers. Pp.179-196, 2006
- 2) Hayashi Y, Kawazoe Y, Sakamoto T, Ojima M, Wang W, Takazawa T, Miyazawa D, Ohya W, Funakoshi H, Nakamura T, Watabe K. Adenoviral gene transfer of hepatocyte growth factor prevents death of injured adult motoneurons after peripheral nerve avulsion. Brain Res 2006;1111:187-195.
- 3) Hashimoto T, Matsubara S, Mochizuki Y, Tsuji S, Mizutani T, Oyanagi K. Forme fruste or incipient form of widespread-type ALS, or MND with PNLA? An autopsy case report. Neuropathology, In press.
- 4) Hasegawa M, Arai T, Akiyama H, Nonaka T,

Mori H, Hashimoto T, Yamazaki M, Oyanagi K. TDP-43 is deposited in the Guam parkinsonism-dementia complex brains. Brain, In press.

- 5) Marubuchi S, Okuda T, Tagawa K, Enokido Y, Horiuchi D, Shimokawa R, Tamura T, Qi M-L, Eishi Y, Watabe K, Shibata M, Nakagawa M, Okazawa H. Hepatoma-derived growth factor, a new trophic factor for motor neurons, is up-regulated in the spinal cord of PQBP-1 transgenic mice before onset of degeneration. J Neurochem 2006;99:70-83.
- 6) Shintaku M, Oyanagi K, Kaneda D. Amyotrophic lateral sclerosis-dementia with severe degeneration of the substantia nigra and clinical parkinsonism. Report of an autopsy case. Neuropathology, In press.

2. 学会発表

国内 計 42 編、国外 計 17 編。

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1 件：発明者・渡部和彦、権利者・(財) 東京都医学研究機構。(出願公開前につき報告を差し控えさせていただきます。)

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

II. 分担研究報告書

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：運動ニューロンにおける
蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

1. ALS 前角細胞リボソーム RNA 遺伝子転写活性と 細胞変性/ヌクレオリン、分子シャペロンの変化

分担研究者 小柳清光 東京都神経科学総合研究所
運動・感覚システム研究分野長・参事研究員

研究要旨

ALS 前角細胞の変性脱落機序を解明するため、蛋白合成系の「最上流」にあると考えられるリボソーム(r)RNA 遺伝子の転写活性減少のメカニズムを明らかにすることを目標に研究を進めた。17年度、ALS 脊髄運動ニューロンで報告した rRNA 遺伝子転写活性の減少がニューロン死の最早期のサインでありニューロン死に直結している事を見出した。18年度、

1. rRNA 遺伝子転写の制御に関し、その活性化因子の一つと報告されているヌクレオリンを脊髄運動ニューロンにおいて定量的に検討し、対照例に比較して ALS では有意に減少していることを見出した。

2. 運動ニューロン生存蛋白 (survival motor neuron (SMN) protein, the product of the spinal muscular atrophy-determining gene) は、遺伝性脊髄性筋萎縮症の原因遺伝子産物であり、軸索の伸長や神経筋結合の成熟に必要な蛋白である、と報告されている。今年度、SMN 蛋白を検索し、対照例の脊髄運動ニューロンでは、その殆どが SMN 蛋白を有していたにも関わらず、孤発性 ALS 症例の脊髄では SMN 蛋白が有意に減少していることを確認した。

3. 家族性 ALS の一型とされる ALS2 の原因遺伝子産物である ALS2/ALSIN 蛋白の発現と役割を明らかにする目的から、若年ラットから老齢ラットまでの中枢神経系を免疫組織学的に検索し、ALS2/ALSIN 蛋白が小脳顆粒細胞軸索の維持に関連していることを見出した。

A. 研究目的

(1) ALS 脊髄運動ニューロンにおける、

蛋白合成系の「最上流」と考えられるリボソーム(r)RNA 遺伝子の転写活性減少

メカニズムと原因物質、蛋白合成系全般への関与を解明する。

(2) 家族性ALSの運動ニューロン変性メカニズムを解析する。

B. 研究方法

1. 運動ニューロンにおけるリボソーム(r)RNA 遺伝子転写活性と細胞死との関係：転写活性化因子ヌクレオリンの定量的検討

細胞内蛋白合成系の最上流に位置すると考えられる rRNA 遺伝子の転写活性が、孤発性 ALS の脊髄運動ニューロンで減少していることを先に報告した。昨年度さらにこの意義を解明するために行った運動ニューロン変性モデルである顔面神経「引き抜き損傷」と「軸索切断」ラットにおける顔面神経核運動ニューロンでは、障害後わずか 30 分で rRNA 遺伝子転写活性が減少し、これは運動ニューロン死に直接結びつく最早期の変化である可能性を見出し報告した。今年度、rRNA 遺伝子転写活性減少のメカニズムを解明する目的から、その活性化因子であるヌクレオリンを ALS 脊髄運動ニューロンにおいて定量的に検討した。

【方法】孤発性 ALS のうち、脊髄運動ニューロン脱落が軽度の 4 症例、脱落が高度の 3 症例、および対照 3 例をもちいて、パラホルムアルデヒド固定パラフィン包埋された脊髄を用い、サンタクルツ社のモノクロナル抗ヌクレオリン抗体によって免疫染色し、陽性領域を画像解析装置を用いて定量的に計測した。

2. 運動ニューロン生存蛋白 (survival motor neuron (SMN) protein, the product of the spinal muscular atrophy-determining gene) の孤発

性 ALS における検討

survival motor neuron (SMN) protein は、脊髄運動ニューロンの変性と脱落を示す脊髄性筋萎縮症 (spinal muscular atrophy) の責任遺伝子産物であり、軸索の伸長や神経筋結合の成熟に必要な蛋白である、と報告されている。ALS 脊髄運動ニューロンにおけるこの蛋白の発現の有無と変化に関する報告は、これまで認められない。今年度、われわれは ALS 運動ニューロン変性と SMN 蛋白との関連を知る目的から、孤発性 ALS 脊髄において SMN 蛋白の発現とその変化を検討した。

【材料と方法】日本人孤発性 ALS 6 例、対照日本人 7 例を用いた。ホルマリン固定、パラフィン包埋脊髄を用いて 6 ミクロン厚切片を作成し、サンタクルツ社製ウサギポリクロナル抗体を用いて ABC 法による免疫染色を行い、脊髄の Rexed 第 8 層、9 層に位置し、細胞核を有する短径 25 ミクロン以上のニューロンの総数と、その中で胞体が SMN 免疫染色陽性を示すニューロン数、との比率を求めた。

3. 家族性 ALS の一型とされる ALS2 の原因遺伝子に由来する ALS2/ALSIN 蛋白の解析

ALS2 は上位運動ニューロン障害が目立つ若年発症の家族性 ALS で、チュニジアの家系で発見され常染色体劣性遺伝形式を示す。原因遺伝子は ALS2 とされ、今年度私どもはこの遺伝子産物である ALS2/ALSIN 蛋白に対するポリクロナル抗体 (ウサギ、研究協力者：三澤日出巳 [共立薬科大学] 作成) を用いて、ラット中枢神経系における ALS2/ALSIN 蛋白の局在と役割に関して免疫組織化学的、免疫学的に検討した。

【材料と方法】ウイスターラットを用い

た。免疫組織化学的検索には、生後7日(2匹)、14日(2匹)、1ヵ月(3匹)、3ヵ月(3匹)、6ヵ月(3匹)、1年(3匹)、2年5ヵ月(3匹)の計19匹を4%パラフォルムアルデヒドにて還流固定し、中枢神経系をパラフィン包埋して切片を作成し、ABC法により免疫染色を行った。免疫学的検索(ウェスタンブロッティング)には、生後1ヵ月(2匹)、3ヵ月(2匹)、6ヵ月(2匹)、1年(2匹)、2年5ヵ月(2匹)の計10匹の凍結脳を用いた。

C. 研究結果と考察・結論

1. 運動ニューロンにおけるリボソーム(r)RNA 遺伝子転写活性と細胞死との関係：活性化因子ヌクレオリンの定量的検討

【結果】ALS 脊髄運動ニューロンにおけるヌクレオリンは、脊髄運動ニューロン脱落高度の症例の、残存ニューロンが極めて萎縮したものでは明らかに減少していたのみならず、脱落軽度の症例の、大きさがほぼ保たれた運動ニューロンにおいても有意に減少していた。

【考察】ALS 脊髄運動ニューロンに見られる rRNA 遺伝子転写活性の減少は、ヌクレオリンの減少により惹起されている可能性が考えられた。

2. 運動ニューロン生存蛋白 (survival motor neuron protein, the product of the spinal muscular atrophy-determining gene) の孤発性 ALS における検討

【結果】短径 25 ミクロン以上の脊髄運動ニューロンの内、SMN 蛋白を有するものは、対照 7 例では 81% から 97% であった。一方 ALS 6 例では 42% から

91% であった。すなわち ALS では、SMN 蛋白を有する脊髄運動ニューロンの比率は有意に減少していた。

【考察】対照脊髄運動ニューロンでは、その殆どが SMN 蛋白を有していた。しかし孤発性 ALS の脊髄では SMN 蛋白が減少した運動ニューロンが混在していた。上記したように SMN 蛋白はニューロン活動の維持には重要な働きを果たしていることが指摘されている。ALS 脊髄における SMN 蛋白の減少は運動ニューロン変性と密接に関連している可能性がある。

3. 家族性 ALS の一型とされる ALS2 の原因遺伝子に由来する ALS2/ALSIN 蛋白の解析

【結果】ALS2/ALSIN 蛋白は小脳分子層に明瞭に認められ、一部の顆粒細胞胞体にも陽性に認められた。これら以外の部には、免疫染色性は明瞭には認められなかった。小脳分子層における免疫染色性は、生後 14 日に発現し始め、生後 6 ヶ月に最も強く認められ、また生後 2 年 5 ヶ月ではやや減弱して認められた。小脳のウェスタンブロッティングでも、ALS2/ALSIN 蛋白のバンドの濃さは、ほぼ同様の推移を示した。

【考察】ALS2/ALSIN のメッセージ(mRNA)は、中枢神経系では小脳顆粒細胞にほぼ限局していることが、上記三澤らにより既に見出されている。今回の免疫染色所見と併せ、ALS2/ALSIN 蛋白は小脳顆粒細胞に於いて作られ、軸索である平行線維へ軸索流により送られていることが考えられた。若年ラット(生後 14 日)では ALS2/ALSIN 蛋白の出現は弱く、成長に従って増強し、老齢(生後 2 年 5 ヶ月)で減少することは、顆粒細胞の軸索の発達

および衰退と、ALS2/ALSIN 蛋白の発現が関連していることを示唆している。すなわち、ALS2/ALSIN 蛋白は、小脳顆粒細胞の軸索の維持に密接に関連していることが考えられた。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hasegawa M, Arai T, Akiyama H, Nonaka T, Mori H, Hashimoto T, Yamazaki M, Oyanagi K. TDP-43 is deposited in the Guam parkinsonism-dementia complex brains. *Brain*, In press.
- 2) Shintaku M, Oyanagi K, Kaneda D. Amyotrophic lateral sclerosis-dementia with severe degeneration of the substantia nigra and clinical parkinsonism. Report of an autopsy case. *Neuropathology*, In press.
- 3) Hashimoto T, Matsubara S, Mochizuki Y, Tsuji S, Mizutani T, Oyanagi K. Forme fruste or incipient form of widespread-type ALS, or MND with PNLA? An autopsy case report. *Neuropathology*, In press.
- 4) Ito U, Nagasao J, Kawakami E, Oyanagi K. Fate of disseminated dead neurons in the cortical ischemic penumbra: Ultrastructure indicating novel scavenger mechanisms by microglia and astrocytes, *Stroke*, In press.
- 5) Sundar PD, Yu C -E, Sieh W, Steinbart E, Garruto RM, Oyanagi K, Craig U-K, Bird T D, Wijsman EM, Galasko DR, Schellenberg GD, Two sites in the MAPT region confer genetic risk for Guam ALS/PDC and dementia, *Hum Mol Genet*, 16(3), 295-306, 2007
- 6) Ito U, Kuroiwa T, Nagasao J, Kawakami E, Oyanagi K. Temporal profiles of axon terminals, synapses and spines in the ischemic penumbra of the cerebral cortex. *Ultrastructure of neuronal remodeling, Stroke*, 37, 2134-2139, 2006
- 7) Ito U, Kawakami E, Nagasao J, Kuroiwa T, Nakano I, Oyanagi K. Restitution of ischemic injuries in penumbra of cerebral cortex after temporary ischemia, *Acta Neurochir.*, 96(Suppl), 239-243, 2006
- 8) Oyanagi K, Yamazaki M, Kawakami E, Morita T, Makifuchi T, Takahashi H. On the origin of the degenerated fibers in the white matter of the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic lateral sclerosis: New Research*. Ed. Murray CA. Nova Science Publishers. pp.179-196, 2006
- 9) 小柳清光. パーキンソン病・パーキンソン痴呆症とマグネシウム -世代にまたがる長期欠乏実験-, 文月会誌, 0(2), 48-53, 2007
- 10) 小柳清光. ミネラルと神経変性疾患, 日本医事新報, (4316), 93-94, 2007

2. 学会発表

- 1) Oyanagi K, Hashimoto T. Magnesium as the candidate of pathogenesis and therapeutics of the parkinsonism in humans. The 9th International Symposium of aromatherapy and medical plants. Grasse, France (2007年3月18日発表)
- 2) 小柳清光、渡部和彦、長竿淳、河上江美子、シュワン細胞の分裂・遊走促進による脊髄損傷新規治療法の開発, 平成18年度東京都医学研究機構「研究交流フォーラム」, 東京都文京区駒込 駒込病院講堂(2007年03月16日発表)
- 3) 橋本智代、長竿淳、西克典、辻貞俊、小柳清光. MPP+毒性に対するマグネシウム(Mg)の「治療」効果, 第47回日本神経学会, 東京都(2006年5月12日発表)
- 4) 山崎峰雄、橋本智代、長竿淳、森修、片山

- 泰朗、小柳清光. 3/4 リピートタウ：パーキンソン病痴呆症では同一グリア細胞内に共存する, 第 47 回日本神経学会, 東京都 (2006 年 5 月 13 日発表)
- 5) 小柳清光、橋本智代、河上江美子、緒方謙太郎、高濱祥子、辻貞俊、紀平為子、安井昌之, 世代にまたがる長期アルミニウム (Al) 投与ラット脳神経細胞内リン酸化タウの沈着, 第 47 回日本神経学会, 東京都 (2006 年 5 月 13 日発表)
- 6) 鈴木仁、尾野精一、石田康生、小柳清光. 著明な錐体路変性と前頭側頭葉萎縮を呈し脊髄にブニナ小体を認めた 1 剖検例：原発性側索硬化症 (PLS) に関する 1 考察, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 26 日)
- 7) 若山幸示、鈴木仁、石田康生、野本順子、原論吉、尾野精一、小柳清光. レビー小体様硝子様封入体の広範な出現を認め、SOD1 遺伝子 cys111tyr 変異を伴った家族性筋萎縮性側索硬化症の 1 剖検例, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 26 日発表)
- 8) 小柳清光、橋本智代、大藤高志、巻渕隆夫. 神経原線維変化の発現ステージング：グアム島パーキンソン痴呆症での検討, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 26 日発表)
- 9) 新宅雅幸、小柳清光、金田大太, Parkinsonism を主徴とし黒質の強い変性を伴った ALS-dementia の 1 剖検例, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 25 日発表)
- 10) 平井健、長竿淳、森田俊、高橋均、水谷俊雄、林秀明、小柳清光. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 脊髄における細胞増殖：ミクログリアの活性化について, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日発表)
- 11) 小柳清光、橋本智代、河上江美子、緒方謙太郎、高濱祥子、紀平為子、辻貞俊、安井昌之. 世代にまたがる長期アルミニウム (Al) 投与ラットに認められたリン酸化タウの沈着, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日発表)
- 12) 橋本智代、長竿淳、西克典、辻貞俊、小柳清光. MPP+ 毒性に対するマグネシウム (Mg) の治療実験：ラット培養黒質神経細胞を用いて, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日発表)
- 13) 入江東吾、鈴木仁、山崎寿洋、尾野精一、石田康生、小柳清光. 人工呼吸器による延命後、古典型 ALS の病変に加えて、軽度ながら広範な変性所見を認めた孤発性 ALS の 1 剖検例, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日発表)
- 14) 山崎峰雄、橋本智代、長竿淳、森修、片山泰朗、小柳清光. タウオパチーでは 3/4 リピートタウが同一グリア細胞内に共存する, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日)
- 15) 長竿淳、林祐一、川添陽子、河上江美子、渡部和彦、小柳清光. 成体ラット顔面神経引き抜き損傷後のリボゾーム (r)RNA 遺伝子転写活性と運動ニューロン脱落の相関：軸索切断との比較, 第 47 回日本神経病理学会, 岡山市 (2006 年 5 月 24 日発表)
- 16) 橋本智代、小柳清光、松原四郎、望月葉子、水谷俊雄. ブニナ小体と著明な前側索変性を呈し、視床下核グリオーシスと黒質内側部鉄沈着、脊髄神経節変性を伴った筋萎縮性側索硬化症の 1 例, 第 84 回 関東臨床神経病理懇話会, 東京都板橋区 日本大学医学部 (2006 年 7 月 22 日発表)
- 17) Oyanagi K, Kawakami E, Nagasao J, Watabe K. Remyelination by Schwann cells in the spinal cord of a newly developed model for

- transverse myelopathy in rats., 第 16 回 国際神経病理学会, サンフランシスコ (2006 年 9 月 12 日発表)
- 18) Nagasao J, Hayashi Y, Kawazoe Y, Kawakami E, Watabe K, Oyanagi K. Ribosomal RNA gene transcription activity and motoneuron loss: Comparison between facial nerve avulsion and axotomy., 第 16 回国際神経病理学会, 米国サンフランシスコ (2006 年 9 月 12 日発表)
- 19) Oyanagi K, Hashimoto T, Ohto T, Makifuchi T. Staging of neurofibrillary tangle formation in the parkinsonism-dementia complex and amyotrophic lateral sclerosis of Guam., 第 16 回国際神経病理学会, 米国サンフランシスコ (2006 年 9 月 12 日発表)
- 20) Hashimoto T, Nishi K, Nagasao J, Tsuji S, Oyanagi K. Magnesium (Mg) effect for MPP+ toxicity on cultured rat nigral neurons: Aiming to treat Parkinson disease., 第 16 回国際神経病理学会, 米国サンフランシスコ (2006 年 9 月 12 日発表)
- 21) Yamazaki M, Hashimoto T, Nagasao J, Mori O, Tsuchiya K, Katayama Y, Oyanagi K. Coexistence of both 3- and 4-repeat tau isoforms in glia among tauopathies., 第 16 回国際神経病理学会, 米国サンフランシスコ (2006 年 9 月 12 日発表)
- 22) Oyanagi K, Nagasao J, Yamazaki M, Okamoto K, Aoki M, Watabe K, Wada M, Morita T, Takahashi H, Mizutani T, Hayashi H. Protein synthesizing system in the motor neurons in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis: pursuing the beginning of the alterations, 17th International Symposium on ALS/MND, パシフィコ横浜、横浜市、神奈川 (2006 年 12 月 1 日発表)
- 23) 小柳清光. ラット二世代にまたがるマグネシウム欠乏実験で認められた選択的黒質ドパミン神経細胞脱落, 第 24 回神経組織培養研究会, 東京都文京区本郷 順天堂大学, (2006 年 3 月 11 日発表)
- 24) Oyanagi K. Critical periods of the neurodegenerative diseases and malignant tumors, 第 29 回日本神経科学大会, 京都市 国立京都国際会館 (2006 年 7 月 19 日発表)
- 25) Oyanagi K, Hashimoto T. Magnesium in the parkinsonism-dementia complex: as the pathogenesis and therapeutics., 第 11 回国際マグネシウムシンポジウム, 三重県志摩賢島 (2006 年 10 月 26 日発表)
- 26) 小柳清光, 壮・老年期神経疾患の発症の切っ掛け: 臨界期に関する胎生期からの観察, 第 29 回神経研シンポジウム「神経変性と癌の統合的戦略」, 東京都新宿区新宿明治安田生命ホール (2006 年 10 月 6 日発表)
- 27) 小柳清光, ALS:Up-date., 都立神経病院臨床病理カンファレンス, 府中市武蔵台東京都立神経病院 (2006 年 6 月 15 日発表)

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

II. 分担研究報告書

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：運動ニューロンにおける
蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

2. 剖検とリソース、臨床病理学的検索、 ALS における認知症の責任病巣

分担研究者 水谷俊雄 東京都立神経病院・部長

研究要旨

平成 18 年度中に孤発性筋萎縮性側索硬化症（ALS）の新規剖検 8 症例および新規対照剖検 3 例のリソースを行って本研究課題を推進した。分担研究課題のうち ALS で観察される認知症状の形態学的責任病巣を明らかにする研究では、18 年度、ALS60 症例を検索し、認知症を呈した ALS 症例の多くは病理学的に三山型であったことを確認した。一方、扁桃体病変を示したにもかかわらず、軽度の性格変化を呈したのみの症例が存在した。すなわち ALS における認知症状の発現には、側頭葉のみならず前頭葉の障害が必要条件と思われた。一方扁桃体のみ障害では、認知症状は満たさないことが考えられた。

A. 研究目的

本研究課題の推進のために筋萎縮性側索硬化症（ALS）の新規剖検症例および既剖検標本のリソースを行う。さらに ALS 患者で観察される痴呆症状の形態学的責任病巣を検討する。

を含む側頭葉（吻側および尾側）および側頭葉、基底核などをパラフィン包埋し、薄切後、Hematosylin-Eosin 染色、Klüver-Barrera 染色、Methenamine-Bodian 染色、抗リン酸化 tau 抗体、抗 ubiquitin 抗体による免疫染色を施し、病理学的に検索した。

B. 研究方法

平成 18 年度、都立神経病院で剖検された ALS 60 症例について、フォルマリン固定後、大脳を前額断し、海馬支脚

C. 研究結果と考察・結論

剖検 ALS60 症例を調べた結果、認知症を呈した ALS 症例の多くは病理学

的に三山型であったことを確認した。一方、扁桃体病変を示したにもかかわらず、軽度の性格変化を呈したのみの症例が存在した。すなわち ALS における認知症状の発現には、側頭葉のみならず前頭葉の障害が必要条件と思われた。一方扁桃体のみ障害では、認知症状は満たさないことが考えられた。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

- 1) Oyanagi K, Nagasao J, Yamazaki M, Okamoto K, Aoki M, Watabe K, Wada M, Morita T, Takahashi H, Mizutain T, Hayashi H. Protein synthesizing system in the motor neurons in the spinal cord in amyotrophic lateral sclerosis: pursuing the beginning of the alterations. 17th International symposium ofn ALS/MND (2006 年 12 月発表)
- 2) 平井 健、長竿 淳、森田 俊、高橋 均、水谷俊雄、林 秀明、小柳清光. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 脊髄における細胞増殖: ミクログリアの活性化について. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2006 年 5 月発表)
- 3) 小森隆司、新井信隆、石澤圭介、廣瀬隆則、水谷俊雄. Dysembryoplastic neuroepithelial tumor の形状解析. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2006

年 5 月発表)

- 4) 望月葉子、清水俊夫、田口崇人、水谷俊雄、林 秀明. 緩徐進行性経過をとり高度細道脈硬化に伴う虚血性変化を呈した 1 例. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2006 年 5 月発表)
- 5) 宮本和人、水谷俊雄、内藤清香、松原四郎、林 秀明、菅谷慶三. 血管炎と神経筋病変の検討. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2006 年 5 月発表)
- 6) 松原四郎、菅谷慶三、宮本和人、本木純子、水谷俊雄. いわゆる本態性高 CK 血症に対する筋病理学的アプローチ. 第 47 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2006 年 5 月発表)
- 7) 磯崎英治、飛澤晋介、水谷俊雄、林 秀明. 多系統萎縮症における頸動脈小体. 第 47 回日本神経学会総会 (2006 年 5 月発表)
- 8) 高橋竜哉、新井信隆、小森隆司、水谷俊雄、島村めぐみ、黒岩義之. パーキンソン病における縫線核. 第 47 回日本神経学会総会 (2006 年 5 月発表)
- 9) 宮本和人、水谷俊雄、林 秀明、阿倍達也. 通常パラフィン切片による small fiber neuropathy の観察. 第 47 回日本神経学会 (2006 年 5 月発表)

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

II. 分担研究報告書

筋萎縮性側索硬化症の最早期病変を求めて：運動ニューロンにおける
蛋白合成系の異常と治療法開発の試み

3. 変性モデルラットの解析および治療法の開発

分担研究者 渡部和彦 東京都神経科学総合研究所・副参事研究員

研究要旨

ALS 運動ニューロンの変性メカニズムの解明と、ALS の新規治療法を開発する目的で研究を続けた。本年度、

1. 成体ラット顔面神経引き抜き損傷における顔面神経核運動ニューロン死に伴って内在性神経前駆細胞が出現増殖することを見出し、FGF2 組換えアデノウイルス投与によって神経前駆細胞の増殖を誘導しえた。また、顔面神経核を含む成体ラット腹側脳幹組織から神経前駆細胞を継代培養しうることがわかった。
2. 成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、組換えヘルペスウイルスベクター、組換えレンチウイルスベクターに関する検討を加えた。
3. 成体マウス顔面神経切断後の運動ニューロン死に対し、ラジカルスカベンジャーMCI-186 の経口投与を行いその保護効果を見出した。
4. ラット顔面神経引き抜き損傷部位にラット株化シュワン細胞を移植し、神経栄養因子産生による傷害運動ニューロンの保護効果を検討した。また、移植のためのラット神経前駆細胞を樹立し解析した。

えウイルスを開発しシュワン細胞・神経前駆細胞の移植治療を試みる。

A. 研究目的

ALS モデルとして成体ラット顔面神経の損傷モデルを使用し、損傷運動ニューロンの病態解析を行い、それに対する神経栄養因子の遺伝子導入治療、低分子薬物投与の効果进行分析し、更に有効な新規組み換

B. 研究方法

1. 顔面神経損傷後に出現する神経前駆細胞の検討：成体ラット顔面神経引き抜き損傷後の顔面神経核における nestin 陽

性神経前駆細胞の出現増殖について検討した。また、成体ラット顔面神経核の初代培養を行い、神経前駆細胞の増殖分化について解析した。

2. 組換えウイルスに関する検討：成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、我々の作製した各種の神経栄養因子組換えアデノウイルスベクターを損傷部に局所接種しその保護効果を検討した。また、組換えヘルペスウイルスベクター、組換えレンチウイルスベクターの作製に関して検討を加えた。

3. 低分子薬剤投与による保護効果の検討：成体マウス顔面神経切断後の運動ニューロン死に対し、ラジカルスカベンジャーMCI-18の経口投与を行ってその効果を検討した。

4. シュワン細胞、神経幹細胞の移植による細胞治療の試み：成体ラット顔面神経引き抜き損傷部位にラット株化シュワン細胞を移植し、神経栄養因子産生による傷害運動ニューロンの保護効果を検討した。また、移植のための成体ラット神経前駆細胞を樹立し解析した。

C. 研究結果と考察・結論

1. 顔面神経損傷後に出現する神経前駆細胞の検討：近年の脳室周囲・嗅神経系および海馬歯状回における内在性神経幹細胞の解析により、成熟した脳でも神経再生が起こる可能性が指摘されている。一方、脳病変に伴ってそれ以外の部位、たとえば大脳新皮質や線条体でも神経幹細胞が出現増殖することが知られている。我々は成体ラットに顔面神経引き抜き損傷を加えると、顔面神経核の運動ニューロン死がおこり、4-6週間の経過で運動ニューロン数が20%にまで減少することをこれまで

で報告してきた。今年度は、成体ラット顔面神経引き抜き損傷における顔面神経核運動ニューロン死に伴って内在性神経幹・前駆細胞が出現増殖することを見出した。3ヶ月齢雄ラット右顔面神経を引き抜き除去2週間から運動ニューロン死が明らかとなり、nestin陽性の神経前駆細胞が出現増殖した。運動ニューロン死の明らかでない神経切断ではnestin陽性細胞の出現はみられなかった。一方、正常顔面神経核を含む腹側脳幹組織から塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF2)、上皮増殖因子(EGF)存在下でneurosphereを増殖させ、6ヶ月以上にわたり神経前駆細胞を継代培養しうることを見出した。また、顔面神経引き抜き損傷を加えた組織からはより大量の神経前駆細胞培養が得られることがわかった。この神経幹細胞はレンチノイン酸存在下でニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトに分化した。一方、引き抜き損傷後のFGF2組換えアデノウイルス接種により残存運動ニューロン数に変化はみられないが、nestin陽性細胞が約1.8倍増加した。本実験モデルは成体脳における内因性神経幹細胞増殖分化の解析に有用であり、in vitro、in vivo両面での神経幹細胞の増殖分化を促進する薬剤などのスクリーニングに応用することにより神経変性疾患に対する再生医療の開発に寄与しうると考えられる。

2. 組換えウイルスに関する検討：成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、我々の作製した各種の神経栄養因子組換えアデノウイルスベクターを損傷部に局所接種し、これまでグリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)、脳由来神経栄養因子(BDNF)、トランスフォーミング増殖因子(TGF)β2、神経成長抑制因子(GIF、

metallothionein-III)、肝細胞増殖因子(HGF)組換えウイルスの保護効果を明らかにしてきた。本年度は、上記の損傷後に出現する神経幹細胞の増殖分化を促進する目的で、FGF2、noggin の各組換えアデノウイルスベクターを作製しその生物活性と神経幹細胞に対する効果を *in vitro*、*in vivo* で検討している。また一方、大脳外傷モデル (Hozumi et al., 2006) や、迷走神経・喉頭神経の挫滅または引き抜き損傷における疑核運動ニューロンの変性 (Shiotani et al., 2007; Moro et al., 2006; Araki et al., 2006) に対する組換えウイルスの保護効果も検討を重ねている。さらに、バキュロウイルス (Kobayashi et al., 2006)、ヘルペスウイルス、レンチウイルスなど他の組換えウイルスの作製を試み、これらによって導入された神経栄養因子の効果などについて検討を重ねていく予定である。

3. 低分子薬剤投与による保護効果の

検討: ラジカルスカベンジャーMCI-186の経口投与による末梢神経損傷後の運動ニューロン死に対する抑制効果を検討した。マウスの顔面神経切断後の運動ニューロン死モデルに対して、MCI-186を経口投与(3mg/g 混餌投与)し、損傷4週後の顔面神経核運動ニューロン死が有意に抑制されることを見出した。また、現在、ラットの顔面神経圧挫による軸索損傷モデルに対する MCI-186 経口投与の効果について検討中である。

4. シュワン細胞、神経前駆細胞の移植による細胞治療の試み: 引き抜き損傷により、運動ニューロン死とともに傷害部近位の軸索・ミエリンの崩壊が観察されるが、シュワン細胞を移植することによって、神経栄養因子産生による傷害運動ニューロンの保護およびミエリンの再生を期待

しうる。これまで、移植に用いる細胞として、LacZ 標識ラット・シュワン細胞不活化培養株を樹立し、脳および末梢神経に移植後生着することが確かめられ、少数ながらもミエリンを再生しうることがわかった。

また現在、神経移植に用いる担体としてキトサン・ナノ繊維がシュワン細胞や後根神経節移植片の良好な接着と増殖成長促進効果を有することを見出しており、シュワン細胞を充填したキトサン・ナノ繊維からなるチューブを末梢神経架橋移植に使用することで神経再生の向上が期待できると考えられ研究をすすめている。

加えて、培養シュワン細胞に関する基礎的な検討を加え、シュワン細胞における毛様体神経栄養因子(CNTF)の発現調節 (Ito et al, 2006)とグルコース代謝 (Sango et al., 2006)、ファブリー病モデルマウスよりのシュワン細胞株の樹立 (桜庭・渡部、日本小児神経学会, 2006) に関する研究をまとめた。

一方、上記1項で得られた神経幹細胞を継代により大量に増やすことが出来るようになった。現在、移植のための細胞としてマーカー標識された神経幹細胞を作製中である。

D. 健康危険情報

特になし。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Sakuraba H, Chiba Y, Kotani M, Kawashima I, Ohsawa M, Tajima Y, Takaoka Y, Jigami Y, Takahashi H, Hirai Y, Shimada T, Hashimoto Y, Ishii K, Kobayashi T, Watabe K, Fukushige T,

- Kanzaki T. Corrective effect on Fabry mice of yeast recombinant human alpha-galactosidase with N-linked sugar chains suitable for lysosomal delivery. *J Hum Genet* 2006;51:341-352.
2. Ito Y, Wiese S, Funk N, Chittka A, Rossoll W, Boemmel H, Watabe K, Wegner M, Sendtner M. Sox10 regulates ciliary neurotrophic factor (Cnrf) gene expression in Schwann cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:7871-7876.
3. Sango K, Kato N, Hirooka H, Tanuma M, Watabe K. High glucose-induced activation of the polyol pathway and changes of gene expression profiles in immortalized adult mouse Schwann cell IMS32: a novel in vitro model for the study of diabetic neuropathy. *J Neurochem* 2006;98:446-458.
4. Kobayashi H, Watabe K, Izuka S, Tani H, Matsuura Y, Barsoum J, Kaynor C, Ohashi T, Etoh Y. Successful transduction of mammalian astrocytes and oligodendrocytes by "pseudotyped" baculovirus vector in vitro and in vivo. *Jikeikai Med J* 2006;53:55-62.
5. Hayashi Y, Kawazoe Y, Sakamoto T, Ojima M, Wang W, Takazawa T, Miyazawa D, Ohya W, Funakoshi H, Nakamura T, Watabe K. Adenoviral gene transfer of hepatocyte growth factor prevents death of injured adult motoneurons after peripheral nerve avulsion. *Brain Res* 2006;1111:187-195.
6. Marubuchi S, Okuda T, Tagawa K, Enokido Y, Horiuchi D, Shimokawa R, Tamura T, Qi M-L, Eishi Y, Watabe K, Shibata M, Nakagawa M, Okazawa H. Hepatoma-derived growth factor, a new trophic factor for motor neurons, is up-regulated in the spinal cord of PQBP-1 transgenic mice before onset of degeneration. *J Neurochem* 2006;99:70-83.
7. Shiotani A, Saito K, Araki K, Moro K, Watabe K. Gene Therapy for Laryngeal Paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2007;116:115-122.
8. Mori Y, Shiotani A, Saito K, Araki K, Ikeda K, Nakagawa M, Watabe K, Ogawa K. A novel drug therapy for recurrent laryngeal nerve injury using T-588. *Laryngoscope* (in press).
9. 渡部和彦. 先天代謝異常症—日常診療で必須の知識—病理診断の進歩. *小児科診療* 2006;69:1602-1606.
- 2. 学会発表**
1. 渡部和彦, 林祐一, 川添陽子, 尾島美代子, 成体ラット運動ニューロン損傷後に出現増殖する内在性神経幹細胞の検討, 第47回日本神経学会総会, 東京, 2006年5月11日.
2. 長竿淳, 林祐一, 川添陽子, 河上江美子, 渡部和彦, 小柳清光. 成体ラット顔面神経引き抜き損傷後のリボゾーム(r)RNA 遺伝子転写活性と運動ニューロン脱落の相関: 軸索切断との比較, 第47回日本神経病理学会総会学術研究会, 岡山, 2006年5月26日.
3. 渡部和彦, 林祐一, 川添陽子, 尾島美代子, 王巍. 成体ラット運動ニューロン損傷後に出現増殖する内在性神経幹細胞の検討, 第47回日本神経病理学会総会学術研究会, 岡山, 2006年5月26日.
4. 桜庭均, 渡部和彦. ファブリー病マウス由来シユワン細胞株の樹立とその組み換えヒト α -ガラクトシダーゼの取り込み効果, 第48回日本小児神経学会総会, 東京, (2006-06-01) 2006年5月26日.
5. Sango K, Watabe K, Takano M, Yamanaka S. Impairment of survival of dorsal root ganglion neurons and retinal neurite outgrowth in culture from a mouse model of Sandhoff disease. The 10th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Chiba, September 13, 2006.
6. Nagasao J, Hayashi Y, Kawazoe Y, Kawakami

- E, Watabe K, Oyanagi K. Ribosomal RNA gene transcription activity and motoneuron loss: Comparison between facial nerve avulsion and axotomy. 16th International Congress of Neuropathology, San Francisco, CA, USA, September 12, 2006.
7. Oyanagi K, Kawakami E, Nagasao J, Watabe K. Remyelination by Schwann cells in the spinal cord of a newly developed model for transverse myelopathy in rats. 16th International Congress of Neuropathology, San Francisco, CA, USA, September 12, 2006.
8. Watabe K, Hayashi Y, Kawazoe Y, Ojima M, Wang W, Takazawa T. Proliferation of neural stem/progenitor cells in adult rats after facial nerve avulsion. 16th International Congress of Neuropathology, San Francisco, CA, USA, September 13, 2006.
9. 三五一憲, 柳澤比呂子, 渡部和彦. 高グルコースならびに糖化物負荷シュワン細胞株における酸化ストレス亢進. 第20回日本糖尿病合併症学会, 弘前, 2006年10月6日.
10. Watabe K, Kawazoe Y, Ojima M, Hayashi Y, Wang W, Takazawa T. Proliferation of neural stem/progenitor cells in adult rats after facial nerve avulsion. 17th International Symposium on ALS/MND, Yokohama, Japan, December 1, 2006.

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

1件：発明者・渡部和彦、権利者・(財)東京都医学研究機構。(出願公開前につき報告を差し控えさせていただきます。)

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。