

- 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)
- 10) 大迫美穂、小出玲爾、望月葉子、水谷俊雄、林 秀明. 単純ヘルペス脳炎と非ヘルペス性辺縁系脳炎の MRI 所見の特徴. 第 10 回日本神経感染症学会総会 (2005 年 10 月発表)
- 11) 蕨 陽子、鏡原康裕、林 秀明、望月葉子、水谷俊雄. 脊髄円錐・馬尾障害を呈した intravascular malignant lymphomatosis の 1 剖検例. 第 174 回日本神経学会関東地方会 (2005 年 9 月発表)
- 12) 内原俊記、中村綾子、望月葉子、林 雅晴、磯崎英治、水谷俊雄.  $\alpha$ -シヌクレイン陽性構造物の嗜銀性の違い Lewy 小体と GCI の比較. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2005 年 5 月発表)
- 13) 望月葉子、山岡由美子、川田明広、磯崎英治、水谷俊雄、林 秀明. 中心前回の萎縮と多彩な組織所見を伴った多系統萎縮症. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2005 年 5 月発表)
- 14) 上釜和也、長尾雅裕、宮本和人、松原四郎、神田武政、林 秀明、望月葉子、水谷俊雄. 前角・前根に病変を認めた CIDP 一剖検例. 第 46 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2005 年 5 月発表)
- 15) 望月葉子、水谷俊雄、磯崎英治、川田明広、林 秀明. 多系統萎縮症における中心前回萎縮. 第 46 回日本神経学会総会 (2005 年 5 月発表)
- 16) 内藤清香、宮本和人、林 秀明、井出勝久、水谷俊雄. 失調を呈し、ステロイド単独投与が著効した Langerhans 細胞性組織球症の 78 歳男性例. 第 172 回日本神経学会関東地方会 (2005 年 3 月発表)
- 17) 宮本和人、阿部達哉、松原四郎、林 秀明、水谷俊雄. 免疫染色による交感神経節の検討. 第 45 回日本神経病理学会 (2004 年 5 月)
- 18) 高橋竜哉、新井信隆、小森隆司、水谷俊雄、黒岩義之. 進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症とパーキンソン病における縫線核. 第 45 回日本神経病理学会 (2004 年 5 月)
- 19) 阿部達哉、宮本和人、松原四郎、水谷俊雄、林 秀明. 皮膚汗腺組織における

synaptophysin 免疫染色の検討. 第45回日本神経病理学会(2004年5月)

- 20) 小柳清光、山崎峰雄、渡部和彦、河上江美子、和田 学、森田 俊、高橋 均、加藤修一、水谷俊雄、林 秀明. 筋萎縮性側索硬化症：小胞体で蛋白の折り畳みに関与すると言われるシャペロンからみた前角細胞の変化. 第45回日本神経病理学会(2004年5月)
- 21) 新井信隆、小森隆司、海津怜子、江口弘美、水谷俊雄、海馬硬化のない側頭葉てんかんの海馬歯状回の病理学的解析. 第45回日本神経病理学会.(2004年5月)
- 22) 小柳清光、山崎峰雄、渡部和彦、河上

江美子、和田 学、森田俊、高橋均、加藤修一、水谷俊雄、林 秀明, 筋萎縮性側索硬化症：折り畳みに関与する蛋白からみた前角細胞小胞体の変化, 第45回日本神経学会(2004年5月12日)

#### 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。

## 分担研究報告

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

### 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行った。

1. 家族性 ALS モデルである変異ヒト SOD1(G93A, H46R)トランスジェニック・ラットに顔面神経引き抜き損傷を加えた際、正常ラットに比べて傷害運動ニューロンの変性脱落が有意に促進されるが、傷害運動ニューロンのみに変異 SOD1 を発現させても変性脱落が促進されないことを見出した。
2. 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、塩基性線維芽細胞増殖因子(FGF2) 組換えアデノウイルス投与によって内在性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。
3. 成体ラット顔面神経引き抜き損傷に対して、肝細胞増殖因子(HGF)組換えウイルスが損傷運動ニューロンの変性脱落を有意に抑制することを確認した。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に関しても検討した。
4. 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。
5. ラット顔面神経引き抜き損傷部位にラット株化シユワン細胞を移植し、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株を樹立し解析した。

#### A. 研究目的

ALS モデルとして変異ヒト SOD1 ラ

ットや成体ラット顔面神経の損傷モデルを使用し、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。

## B. 研究方法

1. 変異ヒト SOD1 トランスジェニック・ラットに関する検討: 家族性 ALS のモデルである変異ヒト SOD1(G93A, H46R) トランスジェニック・ラットに顔面神経引き抜き損傷を加え、傷害運動ニューロンの変性脱落の性状と程度を正常ラットと比較した。

2. 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。

3. 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。

4. 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。

5. 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. 変異ヒト SOD1 トランスジェニック・ラットに関する検討: 家族性 ALS のモデルである変異ヒト SOD1(G93A, H46R) トランスジェニック・ラットに顔面神経引き抜き損傷を加えると、正常ラットに比べて傷害運動ニューロンの変性脱落が有意に促進された。一方、変異 SOD1 組換えアデノウイルスを正常ラット引き抜き損傷に局所接種し傷害運動ニューロンのみに変異 SOD1 を発現させても変性脱落が促進されないことがわかり、病変の増悪にはニューロン以外の細胞の関与が必要と考えられた。今後、病変部のグリア細胞の関与についての検討を重ねたい。

2. 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ことが指摘された。一方、脳病変に伴ってそれ以外の部位、たとえば大脳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報告してきた。本研究では、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。成体ラット顔面神経を引き抜き除去 2 週間後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。この神経前駆細胞はレ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前駆細胞増殖分化の解析に有用であり、in vitro、in vivo 両面での神経前駆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。

3. 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ている。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) $\beta$ 2、神経成長抑制因子(GIF、metallothionein-III)組換えウイルスの保護効果を明らかにしてきたが、新たに作製した肝細胞増殖因子(HGF)組換えウイルスも損傷運動ニューロンの変性脱落を有意に抑制することを見出した。現在、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によって導入された神経栄養因子の作用増強効果などについて検討を重ねている。

4. 低分子薬剤投与による保護効果: 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。

5. 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する。これまで、移植に用いる細胞として、LacZ 標識ラット・シュワン細胞不死化培養株を樹立し、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の良好な接着と増殖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。一方、上記2項で得られた神経前駆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前駆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 (Cntrf) 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 "peudotyped" 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.
- 10) Hayashi Y, Hashizume T, Wakida K, Satoh M, Uchida Y, Watabe K, Matsuyama Z, Kimura A, Inuzuka T, Hozumi I. Association between metallothionein genes polymorphisms and sporadic amyotrophic lateral sclerosis in a Japanese population. *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2006;7:22-26.
- 11) Araki K, Shiotani A, Watabe K, Saito K, Moro K, Ogawa K. Adenoviral GDNF gene transfer enhances neurofunctional recovery after recurrent laryngeal nerve crush injury. *Gene Ther* 2006;13:296-303.
- 12) Hozumi I, Uchida Y, Watabe K, Sakamoto T, Inuzuka T. Growth inhibitory factor (GIF) can protect brain damage after stab wounds in rat brain. *Neurosci Lett* 2006;395:220-223.
- 13) Moro K, Shiotani A, Watabe K, Takeda Y, Saito K, Mori Y, Ogawa K. Adenoviral gene transfer of BDNF and GDNF synergistically

- prevent motoneuron loss in the nucleus ambiguus. *Brain Res* 2006.
- 14) Shen J-S, Meng X-L, Yokoo T, Sakurai K, Watabe K, Ohashi T, Eto Y. Widespread and highly persistent gene transfer to the CNS by retrovirus vector *in utero*: Implication for gene therapy to Krabbe disease. *J Gene Med* 2005;7:540-551.
- 15) Watabe K, Hayashi Y, Kawazoe Y. Peripheral nerve avulsion injuries as experimental models for adult motoneuron degeneration. *Neuropathology* 2005;25:371-380.
- 16) Ikeda K, Aoki M, Kawazoe Y, Sakamoto Y, Hayashi Y, Ishigaki A, Nagai M, Kamii R, Kato S, Itoyama Y, Watabe K. Motoneuron degeneration after facial nerve avulsion is exacerbated in pre-symptomatic transgenic rats expressing human mutant Cu/Zn superoxide dismutase. *J Neurosci Res* 2005;82:63-70.
- 17) Murata M, Kotani M, Tajima Y, Tsuji D, Ishibashi Y, Kuroki A, Itoh K, Watabe K, Sango K, Shoji Y, Sakuraba H. Establishment of immortalized Schwann cells from a Sandhoff mouse and corrective effect of recombinant human beta-hexosaminidase A on the accumulated GM2 ganglioside. *J Hum Genet* 2005;50:460-467.
- 18) Sango K, Tokashiki A, Ajiki K, Horie M, Kawano H, Watabe K, Horie H, Kadoya T. Synthesis, localization and externalization of galectin-1 in mature dorsal root ganglion neurons and Schwann cells. *Eur J Neurosci* 2004;19:55-64.
- 19) Kikuchi-Horie K, Kawakami E, Kamata M, Wada M, Hu J-G, Nakagawa H, Ohara K, Watabe K, Oyanagi K. Distinctive expression of midkine in the repair period of rat brain during neurogenesis: immunohistochemical and immunoelectron microscopic observations. *J Neurosci Res* 2004;75:678-87.
- 20) Shirakura M, Inoue M, Fujikawa S, Washizawa K, Komaba S, Maeda M, Watabe K, Yoshikawa Y, Hasegawa M. Postischemic administration of Sendai virus vector carrying neurotrophic factor genes prevents delayed neuronal death in gerbils. *Gene Ther* 2004;11:784-790.
- 21) Meng X-L, Shen J-S, Watabe K, Ohashi T, Eto Y. GALC transduction leads to morphological improvement of the twitcher oligodendrocytes *in vivo*. *Mol Genet Metab* 2005;84:332-343.

## 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. フェブリー病マウス由来シュワン細胞株の樹立とその組み換えヒト $\alpha$ -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.
- 11) 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運動ニューロンにおけるリボゾーム(r)RNA 遺伝子転写活性. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮, 2005年5月12日.
- 12) 林祐一, 川添陽子, 坂本剛, 宮沢大介, 船越洋, 中村敏一, 渡部和彦. 成体ラット運動ニューロン死に対する肝細胞増殖因子(HGF)組換えアデノウイルスの保護効果. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮, 2005年5月12日.
- 13) 小柳清光, 河上江美子, 長竿淳, 穴水依人, 星地重都司, 渡部和彦. 脊髄損傷の修復機転における Schwann 細胞の役割. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮, 2005年5月12日.
- 14) 渡部和彦, 林祐一, 川添陽子, 青木正志, 糸山泰人. 成体ラット運動ニューロン損傷へのヒト変異 SOD1 の遺伝子導入. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮, 2005年5月13日.
- 15) 平井健, 長竿淳, 山崎峰雄, 渡部和彦, 河上江美子, 渋谷誠, 森田俊, 高橋均, 水谷俊雄, 林秀明, 小柳清光. 筋萎縮側索硬化症(ALS)の脊髄における細胞増殖: その局在について. 第46回日本神経病理学会総会学術研究会, 宇都宮, 2005年5月13日.
- 16) 藤田行雄, 岡本幸市, 渡部和彦, 池田憲. 顔面神経引き抜き損傷ラットにおける Golgi 装置の免疫組織学的検討. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005年5月26日.
- 17) 池田憲, 青柳丞, 市川靖充, 平野貴代子, 渡部和彦, 岩崎泰雄. 成体ラット運動ニューロン損傷に対する minocycline の治療効果. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005年5月27日.
- 18) 林祐一, 川添陽子, 坂本剛, 宮沢大介, 船越洋, 中村敏一, 渡部和彦. 成体ラット運動ニューロン死に対する HGF 組換えアデノウイルスの保護効果. 第46回日本神経学会総会, 鹿児島, 2005年5月27日.
- 19) 渡部和彦, 林祐一, 川添陽子, 坂本剛, 宮沢大介, 船越洋, 中村敏一. 成体ラット運動ニューロン死に対する肝細胞増殖因子(HGF)組換えアデノウイルスの保護効果. 第48回日本神経化学学会大会, 福岡, 2005年9月29日.
- 20) Watabe K. Peripheral nerve avulsion as an experimental model for adult motoneuron degeneration. The 6th Ajou Brain Conference, From Neuron To Brain. Yongin, Korea, April 24, 2004.
- 21) 三五一憲, 渡嘉敷晶子, 安食京子, 渡部和彦



- 彦. シュワン細胞株 IMS32 におけるポリオール代謝系酵素遺伝子の発現, 第 47 回日本糖尿病学会年次学術集会, 東京, 2004 年 5 月 15 日.
- 22) 伊藤泰広, Schweizer U, Chittka A, Rossoll W, 渡部和彦, Wegner M, Sendtner M. マウス毛様体神経節栄養因子 (CNTF) の発現調節, 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 12 日.
- 23) 渡部和彦, 坂本剛, 沈勁松, 川添陽子, 伊藤聡一郎, 江口和, 上野照剛. LacZ 標識マウス, ラット培養シュワン細胞株の樹立と移植の試み. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 12 日.
- 24) 林祐一, 橋爪龍磨, 松山善次郎, 内田洋子, 渡部和彦, 保住功. 筋萎縮性側索硬化症とメタロチオネイン遺伝子多型との関連性の検討. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 12 日.
- 25) 坂本剛, 渡部和彦, 川添陽子, 三五一憲, 桜庭均. Sandhoff 病, Fabry 病モデルマウスからの培養シュワン細胞株の樹立. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 12 日.
- 26) 小柳清光, 山崎峰雄, 渡部和彦, 河上江美子, 和田学, 森田俊, 高橋均, 加藤修一, 水谷俊雄, 林秀明. 筋萎縮性側索硬化症: 折り畳みに関与する蛋白からみた前角細胞小胞体の変化, 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 12 日.
- 27) 保住功, 内田洋子, 渡部和彦, 坂本剛, 犬塚貴. メタロチオネイン-3 (GIF) の脳外傷後の組織修復における作用機序の検討. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 13 日.
- 28) 池田憲, 坂本剛, 川添陽子, 渡部和彦, 成体ラット顔面神経引き抜き損傷後の運動ニューロン死に対する MCI-186 の保護効果. 第 45 回日本神経学会総会, 東京, 2004 年 5 月 14 日.
- 29) 渡部和彦, 沈勁松, 坂本剛, 川添陽子, 伊藤聡一郎, 江口和, 上野照剛. LacZ 標識マウス, ラット培養シュワン細胞株の樹立と移植に関する検討, 第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋, 2004 年 5 月 26 日.
- 30) 小柳清光, 河上江美子, 穴水依人, 星地亜都司, 渡部和彦. ヒト脊髄損傷の病態に近似し, 病変の強さをコントロールでき, 病変の再現性が確保できる新しい脊損モデルの開発. 第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋, 2004 年 5 月 26 日.
- 31) 小柳清光, 山崎峰雄, 渡部和彦, 河上江美子, 和田学, 森田俊, 高橋均, 加藤修一, 水谷俊雄, 林秀明. 筋萎縮性側索硬化症: 小胞体で蛋白の折り畳みに関与すると言われるシャペロンからみた前角細胞の変化. 第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会, 前橋, 2004 年 5 月 27 日.
- 32) 渡部和彦. 顔面神経引き抜き損傷における運動ニューロン死. 第 45 回日本神経病理学会総会学術研究会, ワークショップ 2: 運動ニューロン疾患: 最近の動向, 前橋, 2004 年 5 月 27 日.
- 33) 渡部和彦, 川添陽子, 林祐一, 坂本剛, 沈勁松, 池田憲, 船越洋, 中村敏一, 成体ラット顔面神経引き抜き損傷後の運動ニューロン死に対する HGF 組換えアデノウイルスの保護効果, ALS に関する研究打ち合わせ会, 仙台 (東北大学医学部), 2004 年 6 月 30 日.
- 34) 渡部和彦, 林祐一, 川添陽子, 伊藤聡一郎, LacZ 標識マウス, ラット培養シュワン細胞株の樹立と移植に関する検討, 第 27 回日本神経科学大会, 第 47 回日本神経化学会大会, 合同大会, 大阪, 2004 年 9 月 23 日.
- 35) Watabe K, Shen JS, Hayashi Y, Kawazoe Y, Itoh S. Establishment of LacZ-labeled mouse and rat Schwann cell lines for neural transplantation., 34th Annual Meeting of Society for Neuroscience, San Diego, CA, USA, October 23, 2004.

- 36) 三五一憲、渡嘉敷晶子、渡部和彦. 高グルコース負荷シュワン細胞株 IMS32 におけるポリオール代謝異常. 第 15 回日本病態生理学会大会, 岐阜, 2005 年 1 月 22 日.
- 37) 渡部和彦, 運動ニューロン損傷モデルの解析と治療法の開発, 「道産キトサンを用いた神経再生用生体材料の開発」第 4 回研究シーズ検討会, 筑波 (物質・材料研究機構, 生体材料研究センター), 2005 年 2 月 15 日.

## 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。

## II. 分担研究報告

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

### 4. 異常蛋白から追求する家族性 ALS の発症メカニズム

分担研究者 三澤日出巳 東京都神経科学総合研究所・主任研究員  
小柳清光 東京都神経科学総合研究所・参事研究員

#### 研究要旨

家族性 ALS の原因遺伝子（欠失）として新規同定された ALS2/ALSIN の病的役割を解明する目的で研究を進めた。

1. 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。
2. ALS2/ALSIN 蛋白と結合し運動ニューロン変性と係わると考えられる ALS2BP 蛋白の同定を試み、分子量約 120 kDa の特異的バンドを検出した。質量分析 (MS/MS) による解析から、この 120 kDa のタンパク質は微小管 (microtubule) 結合活性を持つ既知のタンパク質であることが判明した。
3. これらの解析から「ALS2 発症において、神経軸索の安定性の低下、およびそれに起因する軸索を介する物質輸送系の障害」が ALS 病態の形成へ関与する可能性を指摘した。

#### A. 研究目的

家族性 ALS の原因遺伝子（欠失）として新規同定された ALS2/ALSIN の病的役割を解明する。このための ALS2/ALSIN 蛋白特異抗体はすでに開発した。本研究によって ALS2/ALSIN 蛋白と結合し運動ニュー

ロン変性と係わると考えられる ALS2BP 蛋白を同定し家族性 ALS の新規原因遺伝子 ALS2/ALSIN 欠失がどんな機序で運動ニューロン脱落を惹起するか解析する。

#### B. 研究方法

## 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

(1) 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、免疫学的に検討する。材料と方法は、ウィ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 ヶ月 (3 匹)、3 ヶ月 (3 匹)、6 ヶ月 (3 匹)、1 年 (3 匹)、2 年 5 ヶ月 (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 ヶ月 (2 匹)、3 ヶ月 (2 匹)、6 ヶ月 (2 匹)、1 年 (2 匹)、2 年 5 ヶ月 (2 匹) の計 10 匹の凍結脳を用いた。

(2) ヒト ALS2/ALSIN と特異的に反応するポリクローナル抗体をカラムに固定したアフィニティーカラムを作製して、ALS2/ALSIN と結合するタンパク質の同定を試みる。その後質量分析 (MS/MS) による解析を行って、GST 融合タンパク質を用いた pull-down 法および特異抗体を用いた免疫沈降法にて、このタンパク質がどんなタンパク質と結合するか検討する。

## C. 研究結果と考察・結論

(1) 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。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局限していることが、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。

(2) 本カラムを用いて ALS2/ALSIN と共精製される分子量約 120 kDa の特異的バンドを検出した。質量分析 (MS/MS) による解析から、この 120 kDa のタンパク質は微小管 (microtubule) 結合活性を持つ既知のタンパク質であることが判明した。そこで、ALS2 が神経細胞内の細胞骨格系タンパク質、特に微小管構成タンパク質と結合する可能性を、GST 融合タンパク質を用いた pull-down 法および特異抗体を用いた免疫沈降法にて検討した。どちらの方法でも微弱な結合は観察されるものの、はっきりとした結論は得られなかった。このため、両者の結合は定常状態では極めて弱く、セカ

ンドメッセンジャーなどにより誘導される可能性を想定して実験を行っている。これらの解析から「ALS2 発症において、神経軸索の安定性の低下、およびそれに起因する軸索を介する物質輸送系の障害」が ALS 病態の形成へ関与する可能性が考えられた。

#### D. 健康危険情報

特になし。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Buccafusco, J.J., Beach, J.W., Terry, A.V., Doad, G.S., Sood, A., Arias, E., Misawa, H., Masai, M., Fujii, T. and Kawashima, K. Novel analogs of choline as potential neuroprotective agents. *J. Alzheimers Dis.* 6, 2004, S85-S92
- 2) Tateno, M., Sadakata, H., Tanaka, M., Itohara, S., Shin, R.M., Miura, M., Masuda, M., Aosaki, T., Urushitani, M., Misawa, H. and Takahashi, R. Calcium-permeable AMPA receptors promote misfolding of mutant SOD1 protein and development of amyotrophic lateral sclerosis in a transgenic mouse model. *Hum. Mol. Genet.* 2004, 13, 2183-2196
- 3) Oda, Y., Muroishi, Y., Misawa, H. and Suzuki, S. Comparative study of gene expression of cholinergic system-related molecules in the human spinal cord and term placenta. *Neuroscience*, 2004, 128, 39-49
- 4) Burau, K., Stenull, I., Huber, K., Misawa, H., Berse, B., Unsicker, K. and Ernsberger, U.

c-ret regulates cholinergic properties in mouse sympathetic neurons: evidence from mutant mice. *Eur. J. Neurosci.*, 2004, 20, 353-362

- 5) Mori, T., Yuxing, Z., Takai, H., Takeuchi, M., Iseki, K., Hagino, S., Kitanaka, J-i., Takemura, M., Misawa, H., Ikawa, M., Okabe, M. and Wanaka, A. The LIM homeobox gene, L3/Lhx8, is necessary for proper development of basal forebrain cholinergic neurons. *Eur. J. Neurosci.*, 2004, 19, 3129-3141
- 6) Nakata, K., Okuda, T. and Misawa, H. Ultrastructural localization of high-affinity choline transporter in the rat neuromuscular junction: Enrichment on synaptic vesicles. *Synapse*, 2004, 53, 53-56

##### 2. 学会発表

- 1) 中田和子、奥田隆志、三澤日出巳. 高親和性コリントランスポーターのシナプス小胞への局在：免疫電顕による検討. 第27回日本神経科学大会、第47回日本神経化学大会(合同大会)、大阪市

#### 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。

## 分担研究報告

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

### 5. ALS 脊髄で増殖する細胞の有無と細胞種の同定

分担研究者 山崎 峰雄 日本医科大学第二内科・講師

#### 研究要旨

ALS 脊髄における修復機転を明らかにし、神経幹細胞による治療法の開発の可能性を探る目的から、ALS 脊髄で分裂する細胞の研究を行った。

1. 本研究によって弧発型 ALS 患者脊髄で増殖する細胞が主としてミクログリアと血管構成細胞であることを世界でもはじめて見出した。その一方アストロサイトやシュワン細胞の増殖が顕著でないこと、増殖細胞の局在は、必ずしも病変の強さと一致しないことが分かった。
2. ミクログリアの分裂によって、活性型ミクログリアが生じている事を見出した。また ALS 脊髄では、ミクログリアの増殖は前角や側索などの変性部位で強く見られるものの、変性の程度との相関は認められなかった。

#### A. 研究目的

ALS 脊髄における増殖細胞と修復機構を明らかにし幹細胞移植治療の可能性を探る目的から、ALS 脊髄における増殖細胞の存在と局在を免疫組織学的に検討落を惹起するか解析する。

本研究は以下の事柄を背景として推進した。すなわち古典型 ALS の脊髄では一般に、側索、前索、前側索の変性と前角および中間帯の神経細胞脱落が見られる。一

方後索、後角は保たれることが多い。これらの変性および神経細胞脱落部位、特に前角では「グリオース」が見られる、と神経病理学的に記載されてきた。「グリオース」とは一般にアストロサイトの反応性の変化を指し、これはアストロサイトの分裂後の形態変化であり、組織修復に関与する、と報告されている (Ikuta F, Oyanagi K, et al. 1983)。ところがこれまで ALS の脊髄でアストロサイトを含め、どんな細胞がどこで分裂しているのか、という報告は見られない。また我々も含めて ALS に対す

る幹細胞治療の可能性を信じているにもかかわらず、ALS 脊髄で幹細胞が増殖して組織修復に関与しているのか、という報告も見られない。このようなことを背景として本研究を推進した。

## B. 研究方法

臨床病理学的に古典型 ALS と診断された日本人計 8 剖検例および日本人対照計 5 剖検例を用いた。ホルマリン固定、パラフィン包埋された頸髄および腰髄切片を、細胞増殖マーカーとされる MIB-1 抗体を用いて免疫染色し陽性細胞の局在と頻度を調べた。さらに MIB-1 と、各種細胞マーカー、即ち、GFAP(アストロサイト)、GST-pai(オリゴデンドログリア)、Iba1(ミクログリア)、LCA(リンパ球)、Schwann/2E(シュワン細胞)、Nestin(幹細胞)とで二重免疫染色を行って増殖している細胞種を検討した。LCS・AHC の一定範囲(56.25  $\mu$ m<sup>2</sup>)中に出現する陽性細胞数を計測し、さらに LCS・AHC の変性程度を 4 段階に分類し、これらの相関を検討した。

## C. 研究結果と考察・結論

(1) ALS 脊髄では、その病変が軽症例から重症例になるにつれ、MIB-1 陽性増殖細胞の数が多いうように見受けられる所見が得られた。さらに、MIB-1 陽性細胞は、対照脊髄では白質にごく少数認められ、ALS 症例では対照に比較して側索から前側索、前索などでやや数が多く、後索でも少数認められた。前角を含む灰白質では MIB-1 陽性細胞の数は一般に白質より少なく見えた。しかし前角の運動ニューロンがほとんど消失した症例では前角で MIB-1 陽性細

胞は若干多く見えた。一方、幹細胞が存在すると報告がなされている脊髄中心管の上皮細胞とその周囲には全く陽性所見は認められなかった。

また MIB-1 陽性の増殖細胞の相当数がミクログリア、および血管構成細胞であることを確認し、その一方アストロサイトやシュワン細胞の増殖が顕著でないことが分かった。

Iba-1 陽性細胞数は ALS が対照より多く、対照では ramified microglia が中心で、ALS では活性型ミクログリアが数多く見られた。また Iba-1 陽性細胞数は症例によりばらつきがあり、変性の程度との相関は認められなかった。Iba-1・MIB-1 二重陽性細胞は ALS で多い傾向にあったが、その proliferation index は 0-1%であった。

(3) ヒト ALS では、ミクログリアの増殖は脊髄変性部位で強く見られるものの、変性の程度との相関は認められなかった。活性型ミクログリアの増殖は単に変性を反映するのみではなく、他因子の関与にて種々の表現型を呈することが示唆される。また、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ることが示唆された。

## D. 健康危険情報

特になし。

## E. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 角南英子、永山寛、山崎峰雄、勝又俊弥、片山泰朗. 両側難聴で発症した脳幹・小脳梗塞の 1 例-聴性脳幹反応の経時的観察による難聴の責任病巣の考察. 脳と神経 58(9):791-795, 2006
- 2) Suda S, Komaba Y, Kumagai T, Yamazaki M,

- Katsumata T, Kamiya T, Katayama Y, Progression of the olivopontocerebellar form of adrenoleukodystrophy as shown by MRI, *Neurology*, 66: 144-145, 2006
- 3) Yamazaki M, Hasegawa M, Mori O, Murayama S, Tsuchiya K, Ikeda K, Katayama Y, Oyanagi K. Tau-positive fine granules in the cerebral white matter: a novel finding exclusive to parkinsonism-dementia complex of Guam among the tauopathies, *J Neuropathol Exp Neurol*, 64:839-846, 2005
- 4) Yamazaki M, Esumi E, Nakano I, Is motor neuronal cell death in amyotrophic lateral sclerosis apoptosis ?, *Neuropathology*, 25: 381-387, 2005
- 5) Miyasaka T, Watanabe A, Saito Y, Murayama S, David M.A. Mann, Yamazaki M, Ravid R, Morishima-Kawashima M, Nagashima K, Ihara Y, Visualization of newly deposited tau in neurofibrillary tangles and neuropil threads, *J Neuropathol Exp Neurol*, 64:665-674, 2005
- 6) Hachiya NS, Ohkubo T, Kozuka Y, Yamazaki M, Mori O, Mizusawa H, Sakasegawa Y, Kaneko K, More than a 100-fold increase in immunoblot signals of laser-microdissected inclusion bodies with an excessive aggregation property by oligomeric actin interacting protein 2/d-lactate dehydrogenase protein 2, *Anal Biochem*, 347(1):106-111, 2005
- 2. 学会発表**
- 1) Yamazaki M, Hashimoto T, Nagasao J, Mori O, Tsuchiya K, Murayama S, Katayama Y, Oyanagi K. Coexistence of both 3-repeat tau and 4-repeat tau in glia of tauopathies. XVIth Congress of the International Society of Neuropathology (San Francisco, September 10-15, 2006)
- 2) Sakiyama Y, Saito Y, Hasegawa M, Yamazaki M, Sengoku R, Ikemura M, Hatsuta H, Sawabe M, Kanemaru K, Mori H, Tsuji S, Murayama S. Accumulation of four-repeat tau precedes Alzheimer-type phosphorylation of tau in pigmented neurons of substantia nigra in progressive supranuclear palsy (PSP). Society for Neuroscience (2006, 10)
- 3) 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. *Amyotrophic lateral sclerosis*. 7 卷(Suppl.1) p.164-165 (Taylor & Francis). 17th International Symposium on ALS/MND (パシフィコ横浜、横浜市、神奈川, 2006-12-1)
- 4) 山崎峰雄、橋本智代、長竿 淳、森 修、土谷邦秋、片山泰朗、小柳清光. 3/4 リピートタウ：パーキンソンズム痴呆症では同一グリア細胞内に共存する. 第 47 回日本神経学会総会 (2006 年 5 月)
- 5) 齊藤祐子、崎山快夫、山崎峰雄、金丸和富、村上喜生、加藤貴行、石井賢二、村山繁雄. 小脳症状が前景となった進行性核上性麻痺の臨床病理学的特徴. 第 47 回日本神経学会総会 (2006 年 5 月)
- 6) 崎山快夫、齊藤祐子、山崎峰雄、金丸和富、沢辺元司、辻省次、村山繁雄. 進行性核上性麻痺 (PSP) の  $\tau$  isoform 病理. 第 47 回日本神経学会総会 (2006 年 5 月)
- 7) 山崎峰雄、橋本智代、長竿 淳、森 修、土谷邦秋、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学術研究会総会 (2006 年 5 月)
- 8) 崎山快夫、齊藤祐子、山崎峰雄、金丸和富、沢辺元司、辻省次、村山繁雄. 進行性核上性麻痺 (PSP) のスクリーニングに、 $\tau$  isoform 特異抗体を用いた黒質の評価は有用である. 第 47 回日本神経病理学会学術研究会総会 (2006 年 5 月)



- 9) 藤田有子, 内海甲一, 金子朋広, 高田大輔, 木嶋祥一郎, 上田佳恵, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 飯野靖彦, 片山泰朗. 自己免疫性膵炎治療後に発症した尿細管間質性腎炎の一例. 第535回日本内科学会関東地方会 (2006年5月13日)
- 10) 岡村正哉, 角南英子, 永山寛, 有井一正, 山崎峰雄, 坂本静樹, 片山泰朗. 頭部MRI拡散強調画像で左海馬に可逆的な高信号を認めた一過性全健忘の一例. 第536回日本内科学会関東地方会 (2006年6月10日)
- 11) 角南英子, 岡村正哉, 熊谷智昭, 永山寛, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 坂本静樹, 片山泰朗. 脊髄前根から馬尾に造影効果を認め、治療に難渋した抗GalNAc-GD1a抗体陽性のニューロパチーの1例. 第537回日本内科学会関東地方会 (2006年7月22日)
- 12) 中嶋信人, 塚本和久, 永山寛, 平間章郎, 鎌田有子, 上田雅之, 山崎峰雄, 駒場祐一, 飯野靖彦, 片山泰朗. PTHrP産生腫瘍に伴う高カルシウム血症により Reversible Posterior Leukoencephalopathy syndrome (RPLS)をきたした1例. 第539回日本内科学会関東地方会 (2006年10月14日)
- 13) 原 啓子, 金子朋広, 木嶋祥一郎, 上田佳恵, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 飯野靖彦, 片山泰朗, 発症早期に血漿交換が有用であったHELLP症候群の一例, 第534回日本内科学会関東地方会 (2006年3月11日発表)
- 14) 鶴見昌史, 山口博, 中村秀紀, 加藤健吾, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 桂研一郎, 片山泰朗, 内腸骨動脈血管奇形によるうっ血性ミエロパチーの一例, 第533回日本内科学会関東地方会 (2006年2月18日発表)
- 15) 原 啓子, 金子朋広, 木嶋祥一郎, 上田佳恵, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 飯野靖彦, 片山泰朗, 発症早期に血漿交換が有用であったHELLP症候群の一例, 第534回日本内科学会関東地方会 (2006年3月11日発表)
- 16) 山崎峰雄, 崎山快夫, 齊藤祐子, 文村優一, 森修, 山崎昌子, 山之内博, 片山泰朗, 村山繁雄, 進行性核上性麻痺では痴呆症状のみを呈するサブグループが存在する, 第46回日本神経学会総会 (2005年5月25-27日発表)
- 17) 山崎峰雄, 齊藤祐子, 文村優一, 森修, 山崎昌子, 山之内博, 片山泰朗, 村山繁雄, 進行性核上性麻痺の臨床病理学的検討-痴呆症状のみを呈するPSP亜群の存在, 第46回日本神経病理学会学術研究会総会 (2005年5月12-14日発表)
- 18) 山崎峰雄, 齊藤祐子, 村山繁雄, 片山泰朗, 小柳清光, グアム島パーキンソン痴呆症脳の神経突起:  $\alpha$ -synucleinも蓄積しにくい, 第46回日本神経病理学会学術研究会総会 (2005年5月12-14日発表)
- 19) 平井健, 長竿淳, 山崎峰雄, 渡部和彦, 河上江美子, 渋谷誠, 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)の脊髄における細胞増殖: その局在について, 第46回日本神経病理学会学術研究会総会 (2005年5月12-14日発表)
- 20) 新井裕至, 山崎峰雄, 山崎昌子, 森修, 大秋美治, 内藤善哉, 片山泰朗, 精神行動異常で発症し、前側頭葉の高度萎縮を呈したがタウ・ユビキチン蓄積を伴わなかった痴呆の一剖検例, 第46回日本神経病理学会学術研究会総会 (2005年5月12-14日発表)
- 21) Miyasaka T, Watanabe A, Saito Y, Murayama S, David M.A. Mann, Yamazaki M, Ravid R, Morishima-Kawashima M, Nagashima K, Ihara Y, Visualization of newly deposited tau in neurofibrillary tangles and neuropil threads, 第48回日本神経化学学会大会 (福岡) (2005年9月28-30日発表)
- 22) 水越元気, 菅野華子, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 坂本静樹, 片山泰朗, 診断に苦慮した脳結核腫の1例, 第10回日本神経感染症学会, (2005年10月20日-21日発表)
- 23) 石原力, 飯塚美穂, 高田大輔, 鎌野千佐子, 金子朋広, 山崎峰雄, 勝又俊弥, 飯野靖彦, 片山泰朗, 経過中にサイトメガロウ

ウイルス感染による重篤な消化管出血を伴った ANCA 関連腎炎の一例，第 526 回日本内科学会関東地方会（2005 年 5 月 14 日発表）

24) 藤田有子，金子朋広，町田佳恵，鎌野千佐子，高田大輔，内海甲一，山崎峰雄，勝又俊弥，飯野靖彦，片山泰朗，血栓性血管病変を伴う病理組織所見を呈した抗 GBM 抗体腎炎の一例，第 528 回日本内科学会関東地方会（2005 年 7 月 9 日発表）

25) 中嶋信人，岡村正哉，新井裕至，永山 寛，山口 博，山崎峰雄，勝又俊弥，坂本静樹，片山泰朗，西野一三，左縫工筋に限局して MRI 異常所見を呈し、多発筋炎との異同が問題となった糖原病の 1 例，第 531 回日本内科学会関東地方会（2005 年 11 月 12 日発表）

26) 上田佳恵，木嶋祥一郎，藤田恵美子，金子朋広，内海甲一，山崎峰雄，勝又俊弥，飯野靖彦，片山泰朗，心移植後慢性腎機能障害が出現した一例，第 532 回日本内科学会関東地方会（2005 年 12 月 11 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。

厚生労働科学研究費補助金（こころの健康科学研究事業）

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

発表者氏名	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
<u>Oyanagi K</u> , 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	Murray CA	Amyotrophic lateral sclerosis: New Research	Nova Science Publishers	New York	2006	179-196
<u>Oyanagi K</u>	The nature of neuropathological findings of PDC and ALS of Guam	Chen KM	The mysterious diseases of Guam	Micronesian Area Research Center, Guam University	Guam	2004	153-161
Ito U, Kuroiwa T, Hanyu S, Hakamata Y, Kawakami E, Nakano I, <u>Oyanagi K</u>	Ultrastructural temporal profile of the dying neuron and surrounding astrocytes in the ischemic penumbra: apoptosis or necrosis?	Buchan AM	Maturation Phenomenon in Cerebral Ischemia V	Springer-Verlag	Berlin	2004	189-196

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shintaku M, <u>Oyanagi K</u> , Kaneda D	Amyotrophic lateral sclerosis-dementia with severe degeneration of the substantia nigra and clinical parkinsonism. Report of an autopsy case.	Neuropathol.			印刷中
Hashimoto T, Matsubara S, Mochizuki Y, Tsuji S, Mizutani T, <u>Oyanagi K</u>	Forme fruste or incipient form of widespread-type ALS, or MND with PNLA? An autopsy case report.	Neuropathol.			印刷中
Hasegawa M, Arai T, Akiyama H, Nonaka T, Mori H, Hashimoto T, <u>Yamazaki M</u> , <u>Oyanagi K</u> .	TDP-43 is deposited in the Guam parkinsonism-dementia complex brains.	Brain			印刷中
Sundar PD, Yu C -E, Sieh W, Steinbart E, Garruto RM, <u>Oyanagi K</u> , 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	295-306	2007
<u>Oyanagi K</u> , Kawakami E, Kikuchi-Horie K, Ohara K, Ogata K, Takahama S, Wada M, Kihira T, Yasui M	Magnesium deficiency over generations in rats with special references to the pathogenesis of the parkinsonism-dementia complex and amyotrophic lateral sclerosis of Guam	Neuropathol.	22	115-128	2006
Ito U, Nagasao J, Kawakami E, <u>Oyanagi K</u>	Fate of disseminated dead neurons in the cortical ischemic penumbra: Ultrastructure indicating novel scavenger mechanisms by microglia and astrocytes	Stroke			印刷中
Ito U, Kuroiwa T, Nagasao J, Kawakami E, <u>Oyanagi K</u> .	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
Ito U, Kawakami E, Nagasao J, Kuroiwa T, Nakano I, <u>Oyanagi K</u>	Restitution of ischemic injuries in penumbra of cerebral cortex after temporary ischemia	Acta Neurochir.	96 (Suppl)	239-243	2006