

とも無効ともはっきり結論の出ていない薬剤もある(表-2)。

他方、SCDでは運動失調症状の外に、起立性低血圧あるいは食後性の低血圧、神経因性膀胱など様々な周辺症状を併発する。ことに多系統変性症(MSA)では、パー

キンソン症状などの錐体外路症状で初発することも多い。これらに対して多くの薬剤が試みられた(表-3)が、これらの殆どが経験的な域をせず、RCTが実施されたのはmidodrine hydrochloride メトリジン® だけである。

表-1：厚労省 SCD 研究班における治療薬開発の歴史

報告年度	研究班報告	備考	認可状況
S51年度	SCDの重心動揺に対するTRH	高柳ら	Hirtonin®
S53年度	フィソスチグミンによる治験	軽快傾向 中西ら	
S60年度	周期性方向交代眼振とbaclofen	30mgで緩徐々相 清水ら	
S62年度	SDSに対するL-threo-DOPS二重盲験	鈴木ら	Dops®
H1年度	・ 排尿障害の治療(指針) 蓄尿障害：抗コリン剤 (propantheline, terodiline, oxybutyrin) 排出障害：α bloker(prazosin, bunazosin,moxisylyte)	服部ら	
H3年度	TA0910の薬効試験	高橋ら 高柳ら	Ceredist®
H8年度	MJDに対するtrimethoprim-sulfamethoxazole	酒井ら	
H11年度	分岐鎖アミノ酸(BCAA)二重盲験交差試験	中島ら	
H12年度	MJDに対するBH4	二重盲験 酒井ら	
H13年度	クエン酸タンドスピロン	7例オープン試験 中島ら	buspirone/sedil
	MJDの痛性ジストニアとestazolam	8例オープン試験 長谷川ら	
	MJD痛性筋攣縮に塩酸メキシチール	10名オープン試験 服部ら	塩酸メキシチール
H14年度	ポリグルタミン病に対する分子治療	基礎研究 永井ら	
H16年度	RNAi法を用いたポリグルタミン病治療	基礎研究 金澤ら	
H17年度	熱ショック転写因子による治療開発	基礎研究 永井ら	
	17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin(17-AAG)	祖父江ら	(17-AAG)
	ポツリヌスによる治療のスペクトラム	坂本・山崎ら	ポツリヌス

表-2：運動失調の治療薬の現状

Ataxiaの薬物療法

- 1) GABAを動かす薬物：valproate,baclofen,gamma-vinyl-GABA(無効)
- 2) β blocker ,三環系抗うつ剤：(無効)
- 3) trimethaprim-sulfamethoxazole：(無効)
- 4) Isoniazid(GABA-transaminase 抑制):小脳性振戦を軽減 (conflicting)
- 5) セロトニン前駆体 (L-5HTP) :Freidreichの立位バランスに有効、皮質小脳変性の ataxia: (conflicting)
- 6) neuropeptid(TRH)：今後の検討
- 7) amantadine：今後の検討
- 8) Downbeat nystagmus:baclofen,clonazepam:(有効)
- 9) acetazolamide :Intermittent ataxia, markedly fluctuating ataxia; acetazolamide-responsible に有効
- 10) gabapentin:(構造がGABAに似る):運動失調に有効の可能性

(R Lewis :Current Therapy in Neurological Disease1997)

表- 3 SCD の合併症状に対する治療薬

For Akinesia-rigidity	L-DOPA Dopamine agonists Amantadine	<-----> <-----> <----->	empirical
For focal dystonia	Botulinum toxin A	<----->	
For OH	Fludrocortisone Ephedrine L-threo-DOPS Midodrine	<-----> <-----> <-----> (++)	two RCT
For postprandial hypotension	Octreotide	<----->	
For noctual polyuria	Desmopressin(spray)	<----->	
For detrusor hyperreflexia	Oxybutynum	<----->	
(GK Wenning et al: Movem Disord 18(suppl 6) :s34--s42,2003改変)			

(3)SCD 治療薬開発に向けて当班としてどう取り組むべきか

ここには SCD 治療薬開発に向けて今後当研究班でどう取り組むべきか、その短期的目標、中期的目標、長期的目標に分けて考察する(表- 4)。

まず、短期的な目標であるが、これは即ち既に薬剤が存在することを意味する。つまり経験的に語られてきてはいたが、未だ一定の評価を受けていないものである。このカテゴリーでは RCT を実施して evidence level を強化することが目標となる。これに該当するものとしては、MSA - P に対する L-DOPA の有効性の検証がまず挙げられる。MSA 症例に抗パーキンソン薬が日常的、経験的に使われている。この中に薬効の優れた群(responder)と無効群(non-responder)があるように思われる。薬効を評価すると共に responder と non-responder を区別する形質を明らかにすることは正に班研究で取り組むべき課題の一つである。

SCD の分子遺伝学的な研究が大きく進んだ今日 TRH の有効性についてもそれぞれの病型毎に検証して行く作業が必要である。例えば SCA6 の繰り返し TRH 療法などもよい評価対象であり、SCA6 の自然史を検討する中で判断して行くといよい。

薬剤の適応拡大という目的からも検討する価値のある薬剤が存在する。その例としては MJD の有痛性攣縮に対する塩酸メキシチール(千葉大から提案された)、眼振や痙縮に対するボツリヌスの治験(国府台病院から提案された)などがある。これらは本研究班でチームを組んで一定のプロトコール下に RCT として実施すべきであろう。

更に、CCA や中でも SCA6 の運動失調症に対する gabapentin の有用性が論じられている中、本邦にでも準備して広く治験を実施したらよろしかろうと考える。この薬剤はてんかんの薬として認可されているが、運動失

調症状に対しても非特異的効果が期待できるのみならず、SCA6 に関してはカルシウムチャンネル異常を通して特異的な作用が期待できるかもしれない。これは本班研究班を通して大規模に実施する価値のある研究となるであろう。

さて、本邦では未だまれな疾患であるが、グルテン感受性失調症という疾患がある。celiac 病の神経合併症との見方が出来る一方、SCD の様々な病型(孤発性、遺伝性 SCA を含む)にも抗 gliadin 抗体が陽性となる例があった(Ihara M et al2006)、そのような例に IVIG 療法が有効(Takeguchi2006)との報告がなされているのである。一種の免疫性小脳変性症であるが、緩徐進行性の小脳萎縮を来す点は特異的である。小児期からの gluten free ダイエットなどの食事療法も含めて今後の検討課題と考える。

次いで、中期的な構えでじっくり研究をしなければならない薬剤開発の見通しについて述べる。ここには、既存の薬剤(または試薬)が存在するも臨床治験の実績がなく、基礎研究から十分時間をかけて検討する必要のあるものをリストアップする。Memantine は NMDA 受容体拮抗薬であり、我が国では現在 Alzheimer 病に対しての第 3 相試験が実施されている。SCD についてはカナダで 30 例の OPCA に於いて塩酸 Amantadine の 2 重盲験試験がなされた。小脳の顆粒細胞のレベルで効果を発揮すると推測されている。

熱ショック転写因子が関わる治療研究に熱い期待が寄せられている。Geranylgeranylacetone ; Teprenone (Selbex®) は熱ショック蛋白 70(HSP-70)を誘導し、分子シャペロンとして遅発性神経細胞死を抑制する。これらを SCD に応用できるかどうか、本剤はすでに胃潰瘍に認可されて市販の薬が存在するので、その意味では有利である。但し、正常の血液脳関門を通過できるかどうかなど基礎的な検討が不足している。

表- 4 : SCD の治療薬開発目標

- (A) 既に日常でしばしば使われているもの (evidence level の強化)
 - ・ MSA-P の L-DOPA 効果 : responder と non-responder
 - ・ SCD の各病型ごとの TRH の効果 : SCA6 など CCA を対象とした試験など
- (B) 既存の薬剤があり、疾患特異的な効果 (適応拡大) が期待できるもの
 - ・ MJD の有痛性攣縮 : 塩酸メキシチール
 - ・ 痙縮や眼振 : ポツリヌス
 - ・ CCA/SCA6 の ataxia:Gabapentin
 - ・ Gluten sensitivity and anti-gliadin antibody 例 : IVIG 療法
- (C) 既存の薬剤があり、基礎的研究が必要
 - ・ Memantine
 - ・ 熱ショック転写因子に関連する治療薬の開発
geranylgeranylacetone Teprenone (Selbex®®)
17-allylamino-17-demethoxy geldanamycin (17-AAG)
- (d) 既存の試薬がある。SCD の薬剤開発の基礎研究が必要なもの
 - ・ トレハロース
- (E) 基礎研究センターで、臨床研究は今後の課題 (分子ターゲット療法)
 - ・ ポリグルタミンに対する分子標的
 - ・ siRNA を用いた遺伝子治療

一方、祖父江らは異常伸長ポリグルタミンをターゲットとして、平成 17 年度の本研究班報告に 17-allylamino-17-demethoxy geldanamycin (17-AAG) による治療戦略を報告した。この薬剤は熱ショック蛋白 90 (HSP-90) の阻害剤として作用し、このものは HSF-1 を介して HSP-70 や HSP-40 を増加する働きがあり、結果的に神経保護作用が期待できる。

トレハロースはすでに食品添加試薬として日常的に使用されている。このものが神経変性に保護的に作用するかも知れないと期待を抱かせるのは、本剤が Huntington 病などの異常伸長ポリグルタミンによる凝集体を溶かして神経保護的作用を発揮する可能性が論じられているからである。SCD の薬剤としてのトレハロースは今の所基礎研究が不十分であり、まずもって Tg マウスなどのモデル動物における治験に期待する段階である。

最後に siRNA を用いた遺伝子治療分子標的治療に関しては基礎研究が進められている段階であり、幾つかの技術的難問がクリアできれば今後大きな進展が望まれる領域である。

E. 結論 (まとめ)

難病である SCD の治療法の開発は皆が大いに期待し、待ち望んでいる分野である。過去には TRH の開発という大きな成果があったものの最近の治療研究はやや低調である。しかし、過去 10 年間の分子生物学の進歩は SCD の概念を変え、疾患分類もより詳細になった。その進歩に裏打ちされた治療法の開発の時代によりやく到達した。

治療薬の開発は、製薬業界の理解と協力なくしては進まない面も多々ある。既存の薬剤の見直しや、適応拡大についても積極的な意識を持つべきと考える。

今後の治療薬開発は、既存の薬剤の見直しと再評価という作業も含めて考慮すべきである。その意味でわが国で開発され、現在我が国で使用されている薬を世界のスタンダードに持ち上げる努力、よりエビデンスレベルの高いものにして行く努力をすべきである。効果のはっきりしないものにあっては、病型ごとの検討や有効群と非有効群の違いの理由の検証など治療研究が必要である。

既存の薬剤の適応拡大という意味では、幾つかの薬が候補になる。特に gabapentin は大いに期待される面がある。本研究班を通して実証してゆくべきであろう。既存の薬剤が存在するという点からは、Memantine、Geranylgeranylacetone は検討の余地が大いにある。

毒性のない点からもトレハロースには期待する。いずれにしても今後の分子標的療法を目指して基礎研究を継続発展させなければならないし、全く新しい視点から薬剤開発の芽を育てなければならない。

F. 健康被害報告 : 該当事項なし

G. 参考文献 : 該当事項なし

H. 論文発表 : 該当事項なし

学会発表 : 該当事項なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 : 該当事項なし

運動失調症に対するリハの方法論の確立にむけて

- 失調性歩行時の脳活動について -

分担研究者 宮井一郎

特定医療法人大道会森之宮病院院長代理 神経リハビリテーション研究部長

研究協力者 三原雅史、畠中めぐみ、矢倉一

特定医療法人大道会森之宮病院神経リハビリテーション研究部

研究要旨 小脳失調患者のトレッドミル歩行時の大脳活動を近赤外線スペクトロスコピーを用いた脳機能画像（fNIRS: functional near-infrared spectroscopy）で測定し、健常人と比較検討した。対象は天幕下の初回脳卒中により失調を呈した右利き患者8例(53±10才; 出血4例, 梗塞4例; 小脳半球6, 脳幹2, 延髄1; 男7, 女1)と健常右利き対照8例(45±13才; 男7, 女1)である。課題構成はトレッドミル上で歩行と休憩を交互に3回繰り返すブロックデザインとした。大脳皮質活動の指標には酸素化ヘモグロビンの濃度変化を用いた。健常人ではトレッドミルの加速相に内側感覚運動野、運動前野、前頭前野活動が増加したが、歩行継続と共に低下した。運動失調患者では定速歩行時にも、特に前頭前野の活動が持続した。天幕下病変による失調性歩行は大脳皮質の代償的調節で維持されていることが示唆された。

A. 研究目的

脳卒中などの単相性の脳損傷に運動機能障害の改善には、リハビリテーションにおける練習量や介入量に依存した効果がある。特に運動麻痺の機能回復に関してはその神経基盤として use-dependent plasticity (使用に依存した脳の可塑性) と vicariation (脳の機能代行, 機能的再構築) が大きな役割をもつことが、近年の脳機能画像や神経生理学的手法の発達により、明らかになってきた。

機能回復の神経基盤の検討に fMRI, PET, fNIRS などの脳機能画像が貢献してきた。歩行活動は大脳皮質、脳幹、小脳、脊髄などの多くの中枢神経領域によって階層的に制御されている。特にヒトの2足歩行は複雑なバランスの制御を必要とする運動であり、その障害は脳卒中患者における日常生活動作の低下に深く関与している。これまで脳卒中後

の機能回復機序を調べるために主に用いられてきた fMRI、PET では、動きの制約が多く歩行中の脳活動を測定することは難しかったが、私たちは近赤外線スペクトロスコピーを用いた脳機能画像（fNIRS: functional near-infrared spectroscopy）を利用することで、健常人の歩行時の大脳皮質活動をリアルタイムで測定することに成功した(Miyai et al. Neuroimage 2001;14:1186-92; Suzuki et al. NeuroImage 2004;23:1020-26)。歩行時には内側一次感覚運動野や補足運動野が活動し、特に速い速度で歩行を継続するとそれらの活動は次第に低下することも明らかになった(Suzuki et al. NeuroImage 2004;23:1020-26)。

次に私たちは大脳病変に伴う片麻痺患者における歩行機能の改善と脳活動の変化との関連を検討し、脳卒中患者の歩行改善には一次感覚運動野の対称的な賦活と病変側の

運動前野賦活の増加が関与することを示した(Miyai et al. Ann Neurol 2002;52:188-194; Miyai et al. Stroke 2003;34:2866-2870)。また、歩行訓練としても用いられる体重免荷(BWS)下のトレッドミル歩行では、感覚運動野の活動がむしろ低下した(Miyai et al. Exp Brain Res 2006;169:85-91)。すなわち、大脳病変が比較的小さく、残存錐体路で代償できる場合は感覚運動野の対称化が機能回復の主な機序であり、病変が大きい場合は運動前野のような他の運動関連領域の役割が大きくなること、またBWSなどにより相対的に歩行への努力が減少する場合は、階層的に下位(脳幹・小脳・脊髄など)に歩行制御の中心が移行することが示唆された。

さて、運動機能回復に伴う神経機構はこのように運動麻痺に関しては次第に明らかになってきたが、小脳や脳幹損傷による運動失調患者の機能回復に関連した神経機構に関してはほとんど検討されていない。上述のように、歩行が定常状態となり、自動的に行われる場合は、小脳・脳幹を含めた皮質下の役割が相対的に増加することが示唆されている。そこで私たちは同部位に損傷や機能障害が存在する場合は大脳皮質の役割が代償的に増加するという仮説をたてた。その仮説の検証のため、小脳失調患者の歩行時の大脳活動をfNIRSで測定し健常人と比較した。

B. 研究方法

対象は少なくとも監視下で歩行可能な初回テント下脳卒中患者幕下の脳卒中により失調を呈した右利き患者8例(53±10才; 出血4例, 梗塞4例; 小脳半球6, 脳幹2, 延髄1; 男7, 女1)および年齢に有意差のない健常右利き対照8例(45±13才; 男7, 女1)である(表1)。患者においては通常の歩行練習で行っている安定して歩行できる速度を、健常

者でも安定して歩行可能な速度を設定し、各速度でのトレッドミル歩行時の大脳皮質活動をfNIRS(OMM-3000, 島津製作所)装置で測定した。780, 805, 830 nmの近赤外線光の送光用光ファイバー12本、受光用光ファイバー16本からなる42チャンネルのプローブペアを前頭頭頂部にプローブ間距離3cmで配置し、歩行時の酸素化ヘモグロビン(oxyHb)、脱酸素化ヘモグロビン(deoxyHb)、総ヘモグロビン(totalHb)の変化を42点で同時記録した。プローブ位置と皮質部位の関係はMRIで確認し、一次感覚運動野、運動前野(PMC)、補足運動野、前補足運動野(内側前頭前野)、背外側前頭前野がカバーされていた(図1)。

タスクとしてトレッドミル歩行を患者では30秒、健常者では60秒行い、休憩(立位)を30秒それぞれ3回繰り返した。患者での測定では転倒予防のためパラシュートベストを着用して測定を行った。

この測定システムを用いた歩行時の脳賦活のマッピングは既報の通りdeoxyHbの変化がほとんどみられないため、oxyHbの変化に基づいておこなった。マッピングは42チャンネルのタスク時の Δ oxyHbを線形補完し、ファイバー位置に基づいて脳表に重ね合わせた。定量的解析には、“タスク時 Δ oxyHb - 休憩時 Δ oxyHb”を各チャンネルで計算し、歩行開始直後の加速中の脳活動は歩行開始後4秒~10秒をタスク時間として計算し(加速中脳活動)、定常歩行中の脳活動は歩行開始後24~30秒をタスク時間として計算した(定常時脳活動)(図2)。各脳領域(内側感覚運動野m-SMC、補足運動野SMA、内側前頭前野m-PFC、背外側前頭前野l-PFC)に含まれる4チャンネルずつの結果を平均し、領域毎に歩行相(加速中 vs 定常時)を被検者内因子に、対象(患者 vs 健常者)を被検者間因

子とし、repeated-measures ANOVA で解析した。

(倫理面への配慮)

当院の倫理委員会で承認後、被検者に検査方法や、安全性について説明し、書面で Informed consent を得た。

C. 研究結果

患者群における歩行速度は 0.4-2.0 km/h、平均 0.95 km/h、健常対照では 3.0-5.0 km/h、平均 3.5 km/h であった。fNIRS では、健常者・失調患者ともに加速中は内側一次運動野、補足運動野を中心に運動前野、前頭前野に oxyHb 上昇が認められた。健常者では定常歩行時に脳活動が低下したが、失調患者では定常歩行時にもこれらの領域の脳活動が持続した(図 3,4)。

定量的解析では、対象と歩行相との有意な交互作用が左 I-PFC ($F_{1,13}=4.797$, $p=0.0473$) と右 I-PFC ($F_{1,13}=7.259$, $p=0.0184$) でみられた。一方、m-PFC, SMA and m-SMC では交互作用は有意でなかった(図 5)。すなわち健常者では、定速での歩行時に前頭前野領域の活動が低下するが、失調患者においては持続して活動がみられることが示された。以上のことより、健常者と失調患者との歩行時脳活動を比較した場合、下肢を制御する脊髄運動ニューロンへ直接投射する内側一次感覚運動野では明らかな活動パターンの変化は認められなかったが、失調患者で運動の選択、注意などにかかわる前頭前野で持続する脳活動が認められた。

D. 考察

歩行制御には脊髄、脳幹、小脳、基底核、大脳皮質などの中枢神経系の各領域がネットワークを形成し、階層的な調節が行われている。4 足歩行を行う動物の脊髄には、電気

刺激を行うことで歩行運動と同様の四肢の協調運動を誘発することのできる Central pattern generator (CPG) と呼ばれる機構が存在し、脳幹や小脳にも電気刺激を行うことで歩行活動を惹起することのできる“歩行中枢”が存在する (Diez V. Clin Neurophysiol 2003;114:1379-1389、Mori S et al. Prog Brain Res 2004;143:341-351、Takakusaki K et al. Prog Brain Res 2004;143:231-237)。これらの領域は主に自動的な歩行活動において重要な役割を果たすことが示唆されてきている。一方、大脳皮質は環境に適応した歩行活動の調整の際に活動が亢進することが知られている (Drew T et al. Progress in Brain Res 2004;143:251-261)。ヒトにおける 2 足歩行においても大脳皮質の活動は重要である。私たちは fNIRS 研究で歩行中に大脳皮質一次感覚運動野の内側(足の領域)および補足運動野の賦活が認められることを示した (Miyai I, et al. Ann Neurol 2002;52:188-194)。歩行中に経頭蓋磁気刺激を行った実験でも大脳皮質一次感覚運動野が歩行制御にたずさわることが示されている (Capaday et al. J Neurophysiol 1999;81:129-139)。

また、大脳皮質の中でも、運動前野、前頭前野などの領域は、運動学習の初期、新しい出来事などへの注意、集中を必要とする課題などに関与する領域であるが、私たちは歩行においてこれらの領域の活動が速度調節と関連している可能性を示した (Suzuki M et al. 2004;23:1020-1026)。健常者では、これらの領域の活動は歩行開始直後に顕著であるものの定常歩行時には低下する傾向があり、今回の結果も同様であった。健常者では定常歩行時に自動的な歩行調節機構が優位になることを反映している可能性が考えられる。

一方、小脳失調患者においては私たちの仮説のとおり、大脳皮質、特に前頭前野活動が

定常歩行時にも持続して認められた。症例は、いずれも錐体路障害による運動麻痺は軽度であるが脳幹および小脳病変による失調性歩行を呈した（表1）。前頭前野を中心とした持続する大脳皮質活動は、脳幹・小脳による自動的な歩行調節機構の障害の代償機転を反映している可能性が示唆される。片麻痺患者における歩行時脳賦活の研究からも、歩行回復の過程で前頭前野、運動前野が代償性に賦活する傾向が示されており（Miyai I et al. Stroke 2003;34: 2866-2870）、失調歩行からの回復過程においてもこれらの領域が重要な役割を果たす可能性も示唆された。

さて、今回の結果が小脳失調に対するリハの方法論確立の過程についてどのような役割を果たすのであろうか。今後確認すべき問題は、失調性歩行が改善したときに前頭前野活動の持続的活動の低下がみられるかどうかである。もしそうであるならば、同部位の活動を測定することが小脳失調に対するリハ介入の検証のマーカーの一つになると考えられる。

次に、1) どのようなリハ行うにせよ小脳失調患者は課題の繰り返しにより運動遂行能力が改善するか？（小脳失調の改善に運動麻痺と同様に練習量依存性の効果があるか？）2) 患者は改善した運動機能がどの位の間維持できるかという点を明確にするべきである。もし維持できないのであれば、さらに練習量増加により維持できるようになるか、あるいは練習方法の違いにより維持できるようになるかを検討する必要があるからである。

さらに変性疾患においては、1) 運動学習の首座である小脳が障害されていること、2) 錐体路や錐体外路の障害も合併している、3) 進行性であることから、上記のリハ効果の保持と病状の進行のトレードがどの位の

強度でどの位の期間介入すれば成立するかを検証することが重要であろう。

E. 結論

1. 健常人ではトレッドミルの加速相に内側感覚運動野、運動前野、前頭前野活動が増加したが、歩行継続と共に低下した。
2. 運動失調患者では定速歩行時にも前頭前野の活動が持続した。
3. テント下病変による失調性歩行は大脳皮質の代償的調節で維持されていることが示唆される。
4. 失調歩行改善に伴い、定常歩行時の皮質活動が低下するかどうか検証する必要がある。

F. 健康危険情報

総括研究報告参照。

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Miyai I, Suzuki M, Hatakenaka M, Kubota K. Effect of body weight support on cortical activation during gait in patients with stroke. *Exp Brain Res* 2006; 169(1):85-91.
2. Yagura H, Hatakenaka M, Miyai I. Does therapeutic facilitation add to locomotor outcome of BWSTT in nonambulatory patients with stroke? A randomized controlled trial, *Arch Phys Med Rehab* 2006;87(4):529-535.
3. Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Kubota K. Motor skill learning in patients with stroke -A functional NIRS study-. Program No. 559.12. 2006 Neuroscience Meeting Planner. Atlanta, GA: Society for Neuroscience, 2006. CD-ROM.
4. Mihara M, Miyai I, Hatakenaka M, Seki Y, Kubota K. Neural mechanisms associated with the efficacy of mirror therapy – a functional NIRS study. Program No. 364.22. 2006 Neuroscience Meeting Planner. Atlanta, GA: Society for Neuroscience, 2006. CD-ROM

5. Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Sakoda S, Kubota K. Frontal regions involved in learning of motor skill -A functional NIRS study-. *NeuroImage* 2007;34(1):109-116.
6. Miyai I. Longitudinal optical imaging study for locomotor recovery after ischemic stroke. *State-of-the-art-imaging in stroke. The present state and implication on future.* Schaller B ed., Nova Science Publisher, New York, 2007, in press
7. 宮井一郎. 脳卒中患者の歩行障害への対応. *リハ医学* 2006;43(1):33-39.
8. 三原雅史、畠中めぐみ、宮井一郎. 運動時の大脳皮質活動. *体育の科学* 2006;56(1):13-17.
9. 畠中めぐみ、三原雅史、矢倉一、宮井一郎. 脳卒中後の歩行の再獲得と転倒. *バイオメカニズム学会誌* 2006;30(3):128-131.
10. 宮井一郎. 回復期リハビリテーション病棟の転倒と転機. *総合リハ* 2006;34(4):309.
11. 宮井一郎. 神経科学的知見に立脚した脳卒中リハビリテーションの方法論. *日本臨牀* 2006;64(増刊号 7):778-782.
12. 宮井一郎. 神経内科の医療・介護 -現状と課題-. *神経疾患のリハビリテーション*. *神経内科* 2006;65(6):560-565
13. 宮井一郎. 神経疾患のリハビリテーション. 小林祥泰, 水澤英洋編. *運動療法. 神経疾患再診の治療* 2006-2008. p. 295-299, 南江堂, 2006.
14. 宮井一郎. 光脳機能イメージング. 鳥羽研二編. *日常診療に生かす老年病ガイドブック 7. 高齢者への包括的アプローチとリハビリテーション*. p.252-253, メジカルビュー社, 2006.
3. Hatakenaka M, Mihara M, Miyai I. Defining optimal duration for poststroke rehabilitation. 4th World Congress for Neurorehabilitation (Hong Kong). Feb 12-16, 2006.
4. Miyai I. Neural mechanisms underlying functional recovery after stroke. 1st Conference for Advanced Medical Engineering and Informatics (Osaka). June 5, 2006
5. Arai H, Miyai I. Effect of Facilitation Technique on Cortical Activity During Gait in Children with Spastic Diplegia : an Optical Imaging Study. 10th International conference of pediatric neurology (Toronto), June 11-17, 2006.
6. Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Kubota K. Motor skill learning in patients with stroke -A functional NIRS study-. The Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta). Oct 14-18, 2006
7. Mihara M, Miyai I, Hatakenaka M, Seki Y, Kubota K. Neural mechanisms associated with the efficacy of mirror therapy – a functional NIRS study. The Society for Neuroscience 36th Annual Meeting (Atlanta). Oct 14-18, 2006

国内学会

2. 学会発表 国際学会

1. Miyai I. Neural mechanisms underlying locomotor recovery after stroke. 4th World Congress for Neurorehabilitation (Hong Kong). Feb 12-16, 2006.
2. Mihara M, Hatakenaka M, Miyai I. Factors affecting dose-dependent effect of impairment-oriented exercise therapy in patients with subacute stroke. 4th World Congress for Neurorehabilitation (Hong Kong). Feb 12-16, 2006.
1. Miyai I. Optimizing electric medical record system for renewal of a private hospital focusing on acute care and postacute rehabilitation. オランダ大使館主催厚生労働スポーツ大臣講演会（東京）, 6月13日, 2006.
2. 宮井一郎. 神経リハビリテーション入門. 第18回大阪府理学療法学会大会モーニングセミナー（大阪）, 7月16日, 2006.
3. 宮井一郎. 脳卒中に対する神経リハビリテーションの進歩. 大阪整形外科・リハビリテーション研究会（大阪）7月20日, 2006

4. 宮井一郎. 脳機能光イメージングによる脳機能計測の利点と問題点 Clinical application of NIRS to neurorehabilitation. 第26回神経科学大会(京都). 7月19-21日, 2006
5. 宮井一郎. 神経リハビリテーションの進歩. 第36回新潟神経学夏期セミナー(新潟). 7月29-30日, 2006.
6. 宮井一郎. 脳卒中後の機能回復と神経リハビリテーション. 第24回日本ロボット学会学術講演会. 人間支援型ロボットシンポジウム(岡山). 9月16日, 2006.
7. 宮井一郎. 脳卒中リハビリテーションと脳の機能的再構築第2回産業医科大学リハビリテーション医療研究会. 9月30日, 2006.
8. 宮井一郎. 神経リハビリテーションで脳は変わる; fNIRS 研究を中心に. 特定非常営利活動法人日本せきずい基金脊髄損傷者支援イベント「Walk Again 2006」(横浜). 10月9日, 2006.
9. 宮井一郎. 神経リハビリテーションと損傷脳の機能的再構成. 脳を活かす研究会「脳を繋ぐ」分科会(京都). 11月6日, 2006.
10. 宮井一郎. 光脳機能イメージングの可能性 - リハビリテーションの立場から. 第6回日本光脳機能イメージング研究会(大阪), 11月25日, 2006.
11. 宮井一郎. 歩行運動時の大脳活動. 第36回日本臨床神経生理学会学術大会(横浜), 2006年11月29~12月1日, 2006.
12. 宮井一郎. 脳卒中に対するリハビリテーションの現状. Post Stroke を考える(大阪), 2月17日, 2007.
13. 三原雅史, 宮井一郎, 畠中めぐみ, 小山隆. 脳卒中リハにおける訓練量増加の運動機能改善効果を規定する因子. 第31回日本脳卒中学会総会(横浜) 3月19, 20日, 2006
14. 清家裕次郎, 宮井一郎. 動脈硬化を反映する頸部超音波検査測定項目の検討. 第31回日本脳卒中学会総会(横浜) 3月19, 20日, 2006
15. 畠中めぐみ, 宮井一郎, 三原雅史, 柳原武彦. 運動学習の保持と脳活動変化の関連. 第47回日本神経学会(東京) 5月11~13日, 2006.
16. 三原雅史, 宮井一郎, 畠中めぐみ, 久保田競. 加齢および後頭蓋窩病変が歩行中の脳活動変化に与える影響. 第47回日本神経学会(東京) 5月11~13日, 2006.
17. 矢倉一, 宮井一郎, 畠中めぐみ, 三原雅史, 柳原武彦. 抗てんかん剤が脳出血後の機能回復に及ぼす影響. 第47回日本神経学会(東京) 5月11~13日, 2006.
18. 長廻倫子, 宮井一郎, 畠中めぐみ, 三原雅史, 柳原武彦. 脳卒中患者の動作イメージ練習に関する予備的検討. 第47回日本神経学会(東京) 5月11~13日, 2006.
19. 関有香子, 三原雅史, 長廻倫子, 小山隆, 畠中めぐみ, 宮井一郎. 脳血管障害後のしびれ・疼痛に対する Mirror Therapy の試み. 第43回日本リハビリテーション医学会学術集会(東京), 6月1-3日, 2006.
20. 畠中めぐみ, 関有香子, 三原雅史, 長廻倫子, 小山隆, 宮井一郎. 脳卒中片麻痺患者への上肢免荷訓練(Arm weight support training; AWST)の試み. 第43回日本リハビリテーション医学会学術集会(東京), 6月1-3日, 2006.
21. 矢倉一, 宮井一郎. 全身振動刺激トレー

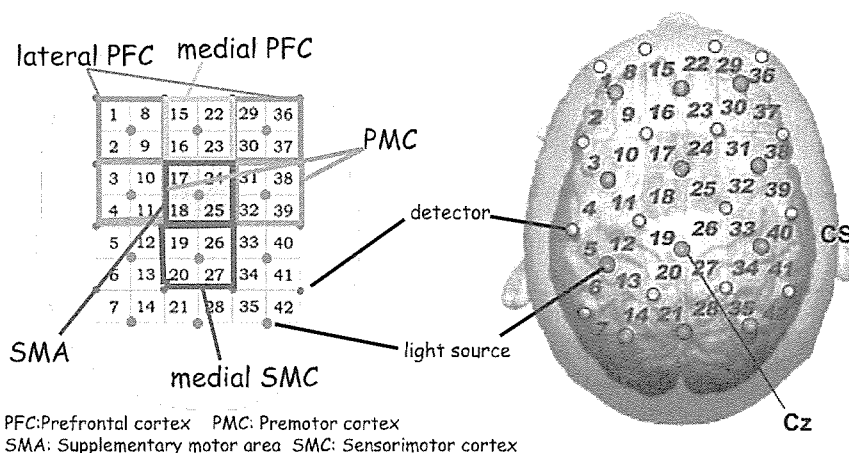
- ニング(WBV)のパーキンソン病患者への有効性. 第43回日本リハビリテーション医学会学術集会(東京),6月1-3日,2006.
22. 三原雅史,宮井一郎,畠中めぐみ. 一般線形モデル(GLM)を用いたNIRSデータの解析 ~従来法との比較~. 第5回光脳機能イメージング研究会(東京).7月22日,2006.
23. 田中恵子,日浦祐子,宮井一郎. 身体部位の指示・呼称に困難を示した一例. 第36回近畿高次神経機能研究会(大阪),8月5日,2006.
24. 小久保香江,矢倉一,宮井一郎. 脳幹病変により遂行機能障害を呈した一例. 第36回近畿高次神経機能研究会(大阪),8月5日,2006.
25. 小久保香枝,鈴木匡子,日浦裕子,宮井一郎,森悦朗. 左脳梁膨大後域から楔前部の病変により前向き健忘と道順障害を呈した一例.第30回日本神経心理学会総会(名古屋),9月22,23日,2006.
26. 小久保香江,鈴木匡子,矢倉一,宮井一郎,森悦朗. 中脳・橋病変により「前頭葉症状」を呈した一例.第30回日本高次脳機能障害学会(福岡),11月16,17日,2006.
27. 小久保香江,鈴木匡子,矢倉一,宮井一郎,森悦朗. 中脳・橋病変により「前頭葉症状」を呈した一例.第30回日本高次脳機能障害学会(福岡),11月16,17日,2006.
28. 田中恵子,日浦祐子,宮井一郎,博野信次. 身体部位の指示・呼称に困難を示した一例.第30回日本高次脳機能障害学会(福岡),11月16,17日,2006.
29. 田中尚,矢倉一,畠中めぐみ,三原雅史,長廻倫子,関有香子,日浦裕子,小山隆,宮井一郎,柳原武彦. 特異な両側性hypertrophic olivary degeneration(HOD)を呈した脳血管障害の2例. 第85回日本神経学会近畿地方会(大阪),12月9日,2006.
30. 宮井一郎,三原雅史,畠中めぐみ,矢倉一. 運動失調症に対するリハの方法論の確立にむけて - 失調性歩行時の脳活動について - 平成18年度厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業運動失調症に関する調査研究班会議(東京),1月11日,12日,2007.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

表 1 小脳失調を呈した天幕下脳卒中例の臨床的特徴

Case	Age	M/F	Gait speed (km/h)	Lesion	Stroke type	Symptoms	F-M scale (UE/LE)	Days after onset	MMSE
	37	M	2.0	L CH, L MCP	CI	L LA/TA, Dysarthria	63/26	83	30
	43	F	0.4	B CH, Midbrain, Pons	CI	B LA/TA, L HP, R numbness	60/29	80	29
	46	M	1.0	L Lateral Medulla	CI	L LA, Vertigo, L numbness	60/31	70	30
	53	M	1.0	R CH	ICH	R LA/TA, Dysarthria, Diplopia, L HP, R numbness	58/26	157	28
	55	M	1.0	L CH	ICH	L LA/TA, Dysarthria, Diplopia	62/32	42	30
	58	M	0.4	R Pons	ICH	R LA/TA, Nystugmus, Dysarthria	54/26	86	29
	63	M	1.0	L CH	CI	L LA/TA	66/29	70	30
	67	M	0.8	L CH	ICH	R LA/TA, Vertigo	66/28	21	30
Mean ±SD	53 ±10	M7 F1	0.95 ±0.5	CH6/Pons2/ Medulla1	CI4 /ICH4	LA/TA8	61±4/ 28±2	76± 40	30±1

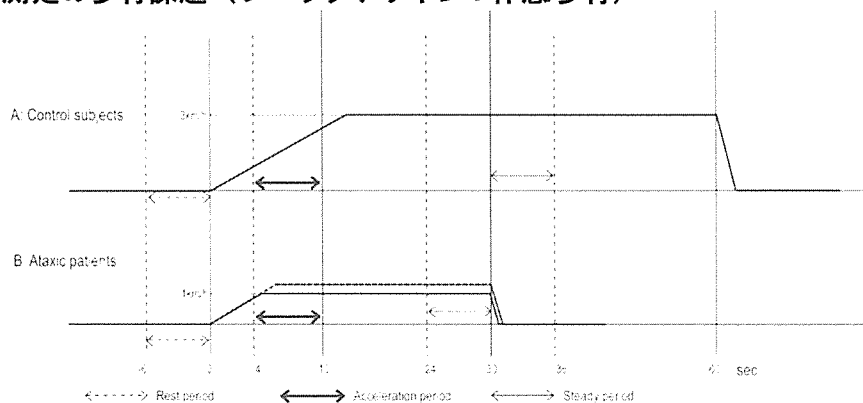
M: male, F: female, R: right, L: left, B: bilateral, CI: cerebral infarction, ICH: cerebral hemorrhage, CH: cerebellar hemisphere, MCP: middle cerebellar peduncle, LA: limb ataxia, TA: truncal ataxia HP: hemiparesis, F-M: Fugl-Meyer, UE : upper extremity, LE: lower extremity, MMSE: mini-mental status examination

図 1 : 脳表上のチャンネル配置と各脳領域



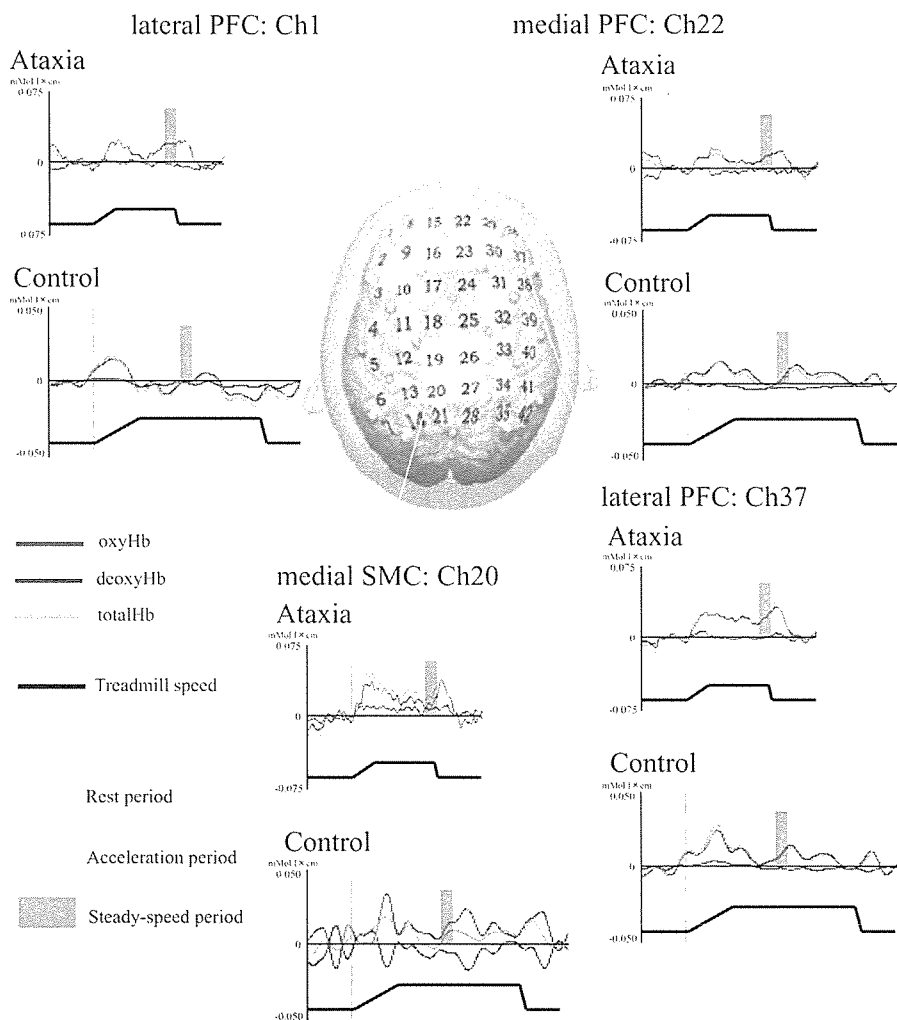
頭表上に配置した各プローブと大脳皮質各領域との位置関係。入光（赤）と受光（青）プローブを示す。プローブ間距離は3cmとし、各脳領域を4チャンネルがカバーしている。PFC : 前頭前野 PMC : 運動前野 SMA : 補足運動野 SMC : 一次感覚運動野

図2 : fNIRS測定のための歩行課題 (ブロックデザイン: 休憩/歩行)



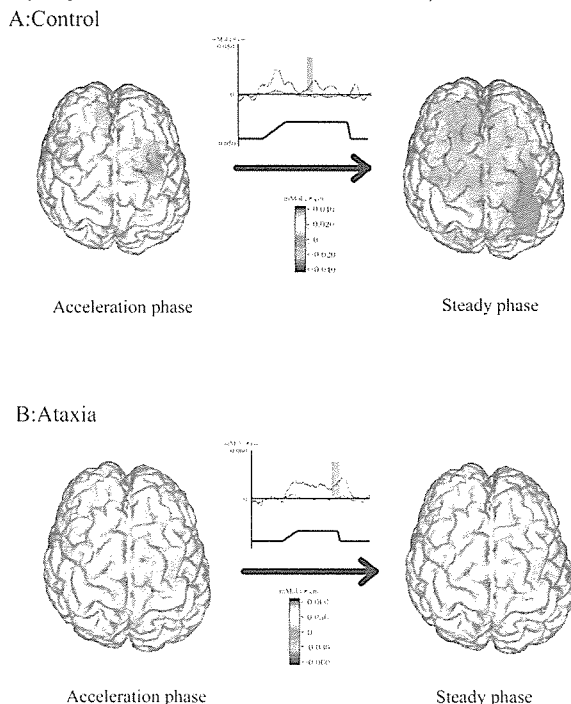
健常者(a)と失調患者(b)における歩行課題。それぞれ歩行開始後4~9秒の脳活動を加速中の脳活動とし、25~30秒の脳活動を定常歩行中の脳活動として測定した。

図3 各脳領域における歩行継続時のoxyHb, deoxyHb, totalHb変化



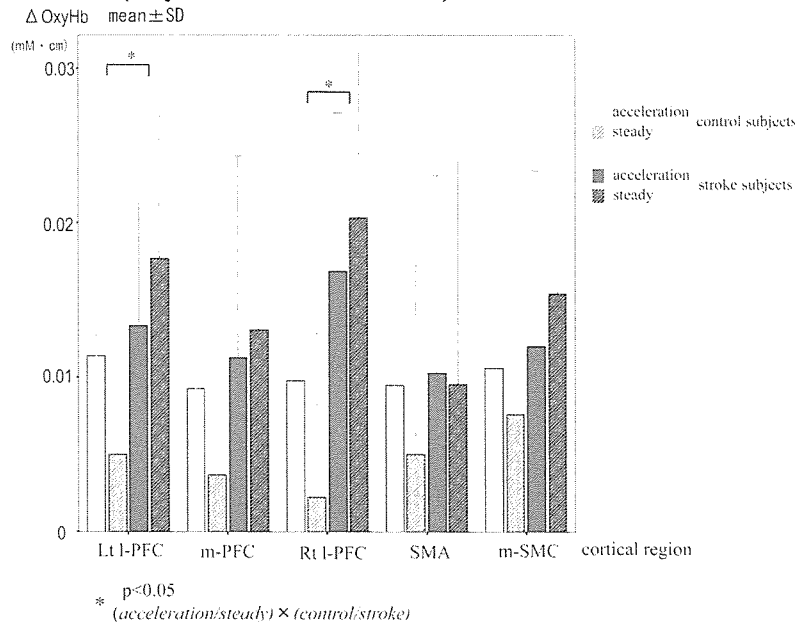
健常者(上段)、失調患者(下段)ともに加速歩行時には前頭前野、運動前野、補足運動野などの脳活動が認められるが、健常者において定常歩行時にこれらの活動が低下しているのに対し、失調患者では持続した脳活動が認められる。

図4：歩行継続時の脳活動(OxyHb変化に基づくマッピング)



健常者(A)、失調患者(B)ともに加速中は内側一次運動野、補足運動野、運動前野、前頭前野にoxyHb上昇が認められた。健常者では定常歩行時にこれらの脳活動が低下したが、失調患者においては定常歩行時にもこれらの領域の脳活動が持続した。

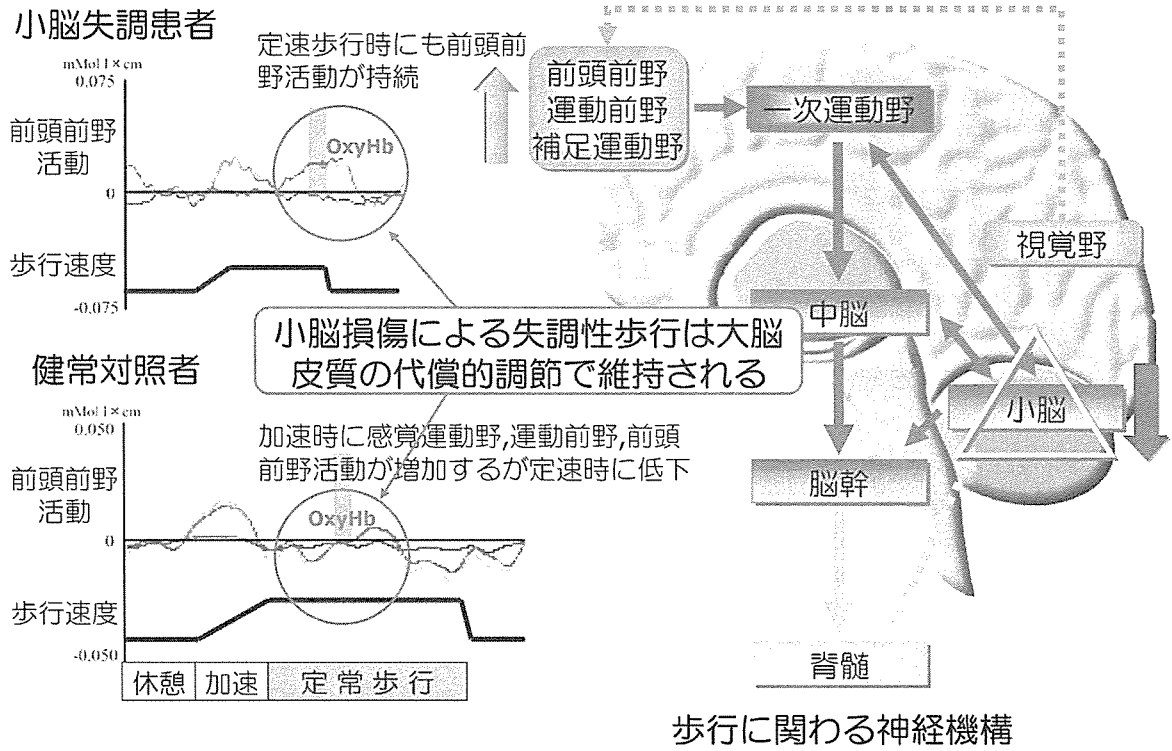
図5 歩行継続時の脳活動(OxyHb変化の定量的解析)



各脳領域における歩行継続中のoxyHb変化。健常者では左運動前野を除く6領域で加速中に比べて定常歩行時の脳活動が有意に低下していた。失調患者では、定常歩行時に脳活動が低下する領域は認めず、左前頭前野ではむしろ定常歩行時に脳活動の亢進が認められた。速度の変化による有意な脳活動の変化は認めなかった。加速期/定常期と健常者/患者との間の有意な交互作用を左右の前頭前野において認め、これらの領域では健常者と比較して有意に脳活動の持続が持続することが示唆された。

研究の概要図

運動失調症に対するリハビリの方法論の確立にむけて
 - 失調性歩行時の脳活動について -



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症に関する調査研究班

ハイスループット連鎖解析システムの構築と家族性 MSA の連鎖解析

分担研究者	辻 省次	東京大学・神経内科
研究協力者	福田 陽子	東京大学・神経内科
	中原 康雄	東京大学・神経内科
	百瀬 義雄	東京大学・神経内科
	伊達 英俊	東京大学・神経内科
	高橋 祐二	東京大学・神経内科
	後藤 順	東京大学・神経内科
	原 賢寿	新潟大学脳研究所神経内科
	西澤 正豊	新潟大学脳研究所神経内科
	中村 英二	ダイナコム
	安達 宏紀	ダイナコム

研究要旨

DNA マイクロアレイを用いた大規模 SNP タイピングを用いたハイスループット連鎖解析システムを構築し、家族性多系統萎縮症の連鎖解析への応用を試みた。このシステムを用いることにより、約 10 万の locus について parametric lod score、NPL、allele sharing lod score の計算が効率よく実行でき、家族性多系統萎縮症の連鎖解析では、多点解析を含め、通常のパーソナルコンピュータを用いて短時間で実行可能であった。一方、連鎖解析の結果からは、いくつかの興味深い locus が存在することが示唆されたものの、全家系を通じて有意に lod score の高い領域は現在のところ確認されておらず、更なる検体の収集や、解析手法の検討などが必要と思われる。

A. 研究目的

DNA マイクロアレイを用いた大規模 SNP タイピングは、マーカー数が非常に多いことや、時間的・物理的コストが小さいことから、連鎖解析において強力なツールとなり得る。しかし同時に、膨大なマーカーを手作業で解析するのは困難なため、ハイスループットな連鎖解析システムの構築が不可欠であった。特に、チップデータから genotype データへの変換、genotype データから連鎖解析ソフトに使用されるフォーマットへの変換は煩雑であり、大規模解析においては大きなネックといえる。そこで我々は、100K/500K SNP のアレイデータを直接インポートし、様々な連鎖解析へ持ち込むためのシステムの構築を行った。またこのシステムのテストケースとして、家族性多系統萎縮症の解析を試みた。多系統萎縮症 (MSA) は基本的には孤発性疾患であるが、稀に家族性と見られる症例があり、これまでに 8 家系の SNP データが収集されている。このデ

ータを用い、今回開発したシステムによって、パラメトリック連鎖解析・ノンパラメトリック連鎖解析を行った。

B. 研究方法

家族性多系統萎縮症の 8 家系 28 名 (罹患患者 16 名) について、Affymetrix 100K SNP チップを用いたマイクロアレイ解析を行った。

連鎖解析システムは、100K/500K SNP データを直接インポートできるものとし、その他に家系構造や疾患の有無などを記述したファイル及び、SNP データと個人データをリンクするためのファイルとを準備するよう設計した。一方で、SNP データに関する基本情報を記述したファイルや allele frequency のデータファイルはあらかじめ別途用意するが、これらに必要なフォーマットへの変換プログラムも同時に開発した。これらファイルの準備から、連鎖解析一括実行ファイルの作成までを、Windows OS 上で実行できるようにし、実際の一括実行は、

Unix 系 OS で行う。連鎖解析ソフトとしては、mlink 及び allegro が実行できるよう構築されており、ソフトに含まれている様々なオプションは、ほぼすべて実装した。また、SNP 間隔を自由に設定する機能や、情報量の多いマーカーの選択を行う機能を付け加えた。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学遺伝子研究倫理審査委員会の承認を得て行われた。

C. 研究結果

これまでに、mlink 及び allegro を実装した連鎖解析一括実行システムの構築が終了している。これを用い、現在までに得られている8家系の家族性多系統萎縮症についての解析も、一次的な解析を終了した。1家系においては、親子のデータが収集されているが、親子間での genotype の矛盾が、1対の親子ペアにつき 0.08%程度見られた。このため我々のシステムには、genotype に矛盾があった場合にその locus をスキップし、一括実行のプロセスが停止しない機能を追加した。また、タイピングエラーに関与すると考えられる、call rate の低い locus についても、一定の基準を設定して排除できる機能を追加した。一括実行のための計算時間は、mlink によるパラメトリック・ペアワイズ解析で2-3時間程度、allegroによるノンパラメトリック・多点解析では、マーカー間隔を約 100kbp に設定した場合で数十分-1時間半程度であった。解析結果については、マイクロサテライト 800 マーカーを用いた場合と同程度かそれ以上の解像度・lod score が得られることが分かった。Lod score の値からは、個々の家系ごとには、比較的興味深い領域も見出されているものの、全家系を投入した結果では、score が有意に高い領域は見出されていない。

D. 考察

連鎖解析一括実行システムの構築と、家族性多系統萎縮症への応用から、いくつかの課題が示唆された。まず SNP データからの一括実行の際に留意する点として挙げられるのは、タイピングエラーである。本研究で見られた genotype の矛盾する確率は、通常起きるとされる genotyping エラー率の範囲内であり、こうしたタイピングエラーは、稀ではあるが一定の

確率で生じることが示された。このため我々は call rate によるマーカー選択機能を搭載したが、より正確な解析へ向けては、確実なタイピングエラー排除の方法の探索とシステムへの導入が望まれる。また、多点解析には、適切なマーカー間隔の設定について、今後より多くの情報が得られることが望ましい。

家族性多系統萎縮症の解析結果からは、比較的 lod score の高い領域が家系によっても異なることなどから、家族性多系統萎縮症の家系における遺伝的な異質性が示唆された。疾患原因遺伝子の探索に向けては、更なる検体・家系の収集が必要であると考えられる。

E. 結論

DNA マイクロアレイを用いた SNP データを直接インポートし、網羅的に連鎖解析を行うことのできる一括実行システムを構築した。このシステムでは、パラメトリック解析・ノンパラメトリック解析、ペアワイズ解析・多点解析のいずれも行うことができ、mlink・allegro に備わっているほぼすべての機能が実装されている。また解析時間も数時間以内と高速であり、マイクロサテライトと比較しても同程度以上の解析結果が得られることが分かった。このことから、様々な疾患遺伝子探索に応用でき、ハイスループットな解析が実現可能といえる。一方で、タイピングエラーやパラメータの選択、マーカー間隔の設定などについては、今後も情報を収集し、さらに最適化をしていくことが望まれる。同様に家族性多系統萎縮症の疾患遺伝子探索についても、より多くのデータが必要であり、検体・家系の収集につとめている。

F. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業)
分担研究報告書

MSA 疾患感受性遺伝子の関連解析

分担研究者 佐々木秀直 北海道大学医学研究科神経内科学分野

共同研究者:相馬広幸, 矢部一郎 北海道大学医学研究科神経内科学分野

研究要旨: α -synucleinopathy の発症や進行に nitric oxide (NO) や superoxide の関与が示唆されることから, oxidative stress や nitrate stress に対し細胞保護効果作用を有する遺伝子は multiple system atrophy (MSA) の発症や進行に関与することが示唆されている。最近, 培養神経細胞に stress 誘導物質である 6-hydroxydopamine (6-OHDA) 又は 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP⁺) を暴露した際の遺伝子発現量の変化が報告されている。発現量が増加した遺伝子の一部は細胞保護効果作用を有する可能性があり, 同時に MSA 疾患感受性遺伝子である可能性も持つ。今回我々は, それらを候補遺伝子として関連解析を行った。対象患者群は 119 名, 正常対照群は 123 名。計 8 遺伝子から各々 4 ないし 7 箇所の SNP を解析し, genotype を決定し haplotype を推定した。その結果, SLC1A4 (Solute Carrier Family 1A4) の SNP +28833 (V398I, rs759458) の genotype 頻度に有意な差を認めた (Pc = 0.0093, Pc; Bonferroni 補正後 p 値)。SLC1A4 は MSA 疾患感受性遺伝子である可能性があり, 更なる検討が必要である。

A. 研究目的と背景

背景; 複数の *in vitro* での実験結果から NO と superoxide が α -synuclein (α Syn) を凝集させることが示されている。また, MSA 患者剖検脳の glial cytoplasmic inclusions や neuronal cytoplasmic inclusions に nitrated α Syn が認められており, これは, 他の α -synucleinopathy である Parkinson 病, dementia with Lewy bodies や Lewy body variant of Alzheimer's disease にて Lewy bodies や Lewy neuritis に nitrated α -syn が認められることと共通している。近年のこれらの結果から, NO や superoxide が α -synucleinopathy の発症や進行に関与する可能性が示唆されている。そのため, oxidative stress や nitrate stress に対して細胞保護効果作用を有する遺伝子は MSA 疾患感受性遺伝子であると推測される。Holtz らは, oxidative stress を惹起する 6-OHDA 又は MPP⁺ を培養ドパミン神経細胞 (MN9D) に暴露した際の遺伝子の発現量の変化を報告している (*J Biol Chem.* 2003; 278: 19367-77)。これによると多くの遺伝子が up-regulate され, その一部は endoplasmic reticulum stress や unfolded protein response に関与する遺伝子であった。これらの遺伝子群の一部に MSA 疾患感受性遺伝子が存在していると推測された。

目的; 前述の遺伝子群から発現量の増加が強い順に選択した DDIT3 (DNA-Damage-Inducible Transcript 3), ATF3 (Activating Transcription Factor 3), CEBPB (CCAAT/Enhancer-Binding Protein-beta), SQSTM1 (Sequestosome 1), CARS (Cysteinyl-tRNA Synthetase), SLC1A4 (Solute Carrier Family 1A4), ATF4 (Activating Transcription Factor 4), EIF4EBP1 (Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E Binding Protein) の 8 遺伝子の MSA 疾患感受性について患者—対照比較研究により検討を行う。

B. 研究方法および対象

対象患者群は 119 名 (男性 59, 女性 60), 平均発症年齢 59.4 ± 8.5 (41-79) 歳 [\pm SD, (range)], MSA-C 93, MSA-P 26 名。正常対照群は 123 名 (男性 61, 女性 62), 平均年齢 58.7 ± 8.9 (41-83) 歳。上記 8 遺伝子からそれぞれ 4 から 7 箇所の SNP を解析し, genotype の決定及び haplotype の統計学的推定を行った。genotype は, 標的 SNP を含む領域を multiplex PCR 法にて増幅し, 次いで

SNaPshot[®] (Applied Biosystems) を用いて SNP 部位のプライマー-1塩基伸長・蛍光標識を行い、蛍光 DNA sequencer (ABI377) にて確認した。haplotype の推定には SNP Alyze[®] (ver5.0, DYNACOM) を用いた。また、統計学的検定には Bonferroni 補正 (Pc; 補正後 p 値) を用いた。
(倫理面での配慮)

本研究は北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得た。対象者には研究の趣旨を文書で説明し、文書にて同意を得た。

C. 研究結果及び考察

SLC1A4 の SNP +28833 (V398I, rs759458) の genotype 頻度には有意な差を認めた (Pc = 0.0093)。患者群では C/C 91.6; C/T 8.4; T/T 0%, 正常対照群では C/C 76.4; C/T 23.6; T/T 0%と、患者群では正常対照群と比較して genotype C/T の頻度が低かった。正常対照群の genotype 頻度は、International HapMap Project の 44 人の日本人を対象にした結果 (C/C 77.3; C/T 22.7; T/T 0%)と近似しており、日本人の genotype の分布をよく再現していると考えられた。有意な差を示す haplotype は推定されなかった。この他の遺伝子では、genotype, haplotype に有意差を示すものは認めなかった。

SLC1A4 は solute carrier family (SLC1 family) に属し、染色体 2q13-q15 に位置する中性アミノ酸 transporter を code する遺伝子である。SLC1 family は、5 つの構造的に類似した glutamate transporter と 2 つの中性アミノ酸 transporter から構成されている。SLC1A4 は細胞膜に存在し、Na⁺ 依存性に L-alanine, L-serine, L-cysteine, L-threonine を交換している。ヒトでの SLC1A4 の mRNA の発現は、脳、心臓、胎盤、肺、肝臓、骨格筋、腎臓、膵臓に幅広く認められている。脳では、運動野、前頭葉皮質、海馬、大脳基底核、小脳での発現が確認されている。このような幅広い分布から、SLC1A4 は細胞の維持に重要な役割を果たしていることが推測される。MSA との関連は明らかではないが、機能的な側面からも疾患感受性遺伝子の候補であると考えられる。

D. 結論

SLC1A4 は MSA 疾患感受性遺伝子の一つである可能性が高いと考えられた。対象数や解析 SNP を増やすことにより更なる検討が必要である。

E. 研究発表

論文発表

- 1) Soma, H., Yabe, I., Takei, A., Fujiki, N., Yanagihara, T., Sasaki, H.: Hereditary in multiple system atrophy. J Neurol Sci, 2006, 240, 107-110.
- 2) Basri, R., Yabe, I., Soma, H., Takei, A., Nishimura, H., Machino, Y., Kokubo, Y., Kosugi, M., Okada, R., Yukitake, M., Tachibana, H., Kuroda, Y., Kuzuhara, S., Sasaki, H.: Four mutations of the *spastin* gene in Japanese families with spastic paraplegia. J Hum Genet 2006, 51, 711-715.
- 3) Yabe, I., Soma, H., Takei, A., Fujiki, N., Yanagihara, T., Sasaki, H.: MSA-C is the predominant clinical phenotype of MSA in Japan: Analysis of 142 patients with probable MSA. J Neurol Sci 2006, 249, 115-121.

F. 知的所有権の取得状況

該当なし

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）

分担研究報告書

MSA疾患感受性遺伝子の関連解析

分担研究者 佐々木秀直 共同研究者：相馬広幸，矢部一郎
北海道大学医学研究科神経内科学分野

MSAの発症や進行にnitric oxideやsuperoxideの関与が示唆されている

Oxidative stressにより発現量が増加する遺伝子群が知られている

その中にMSA疾患感受性遺伝子が存在する可能性がある

患者一対照比較研究により検討

SLC1A4のSNP +28833 (V398I, rs759458) の genotype頻度に有意な差を認めた
(Bonferroni補正後 $p = 0.0093$)

SLC1A4はMSA疾患感受性遺伝子の一候補である

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症に関する調査研究班

多系統萎縮症の全ゲノム関連解析

分担研究者	辻 省次	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
研究協力者	中原 康雄	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	福田 陽子	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	百瀬 義雄	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	高橋 祐二	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	後藤 順	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科

研究要旨

多系統萎縮症において関連遺伝子の同定を目標に、全ゲノム関連解析によるアプローチを行ない、locus ごとの χ^2 検定をすべての locus において行ない p 値を算出した。2006 年度中に MSA 検体 220 例、コントロール検体 294 例の解析を完了する予定であり、有意差の得られた SNP に関して、家族性 MSA における連鎖解析の結果なども併せ、引き続き解析を行なっていく。

A. 研究目的

多系統萎縮症は成人発症の自律神経症状、パーキンソニズム、小脳症状、錐体路症状を呈する進行性神経変性疾患である。本疾患は従来、孤発性疾患と考えられてきており、家族発症例の検索は充分にはなされてこなかった。しかし、近年病理学的に診断された家族発症例が複数確認され、その発症における遺伝因子が注目されるに至っている。多系統萎縮症の病因解明へのアプローチとしては、1. まれに見られる家族性多系統萎縮症に焦点を絞った連鎖解析に基づくアプローチ、2. 孤発性多系統萎縮症および健常対照者の大規模ゲノム解析 (association study) という 2 つのアプローチを統合して進めている。本年度、孤発性多系統萎縮症について全ゲノム関連解析を行った。

B. 研究方法

国内 15 施設とともに多系統萎縮症における多施設共同研究体制 (Japan MSA research Consortium; 通称 JAMSAC) を構

築し、臨床情報およびゲノムリソースを収集。DNA Analysis Mapping 500K (Affymetrix^R)を用いて、MSA 検体 166 例、正常対照者検体 95 例について SNP タイピングを行なった。

C. 研究結果および考察

Locus ごとの call rate が MSA 群、正常対照者群共に 90%以上得られ、正常対照者群では Hardy-Weinberg 平衡を満たす SNP ($p > 0.01$) について関連解析を施行し、 χ^2 検定の p 値における有意差の認められる SNP 数は(総数 334,278 中 $p < 0.05$: 14,362, $p < 0.01$: 3,196, $p < 0.001$: 396, $p < 0.0001$: 46)であった。

D. 結論

2006 年度中に MSA 検体 220 例、正常対照者検体 294 例の解析を完了する予定である。有意差の得られた SNP に関しては、家族性 MSA における linkage analysis の結果などとも併せ、MSA の原因遺伝子、疾患関