

難治性疾患克服研究事業
 神経変性疾患に関する調査研究班
 名古屋大学 祖父江 元

特定疾患治療研究事業におけるALS臨床調査個人票の解析により、多数例での横断像描出および症候学的解析を行うことができた。2005年度4202例のALS患者重症度および換気補助、経管栄養を実施している患者の割合、2003～2006年度3428例の新規登録ALS患者の初発症状と発症年齢の関係を示す。我が国のALS患者は人工換気や経管栄養を実施している割合が高いこと、発症年齢が若いほど四肢筋力低下で発症する割合が高く、高齢発症ほど球症状で発症する割合が高いことが示された。

ALSの多施設共同前向き臨床データベースと遺伝子リソースを図に示す体制により構築した。平成19年11月の段階で193例のALS患者を登録した。

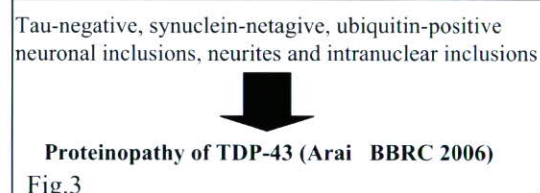
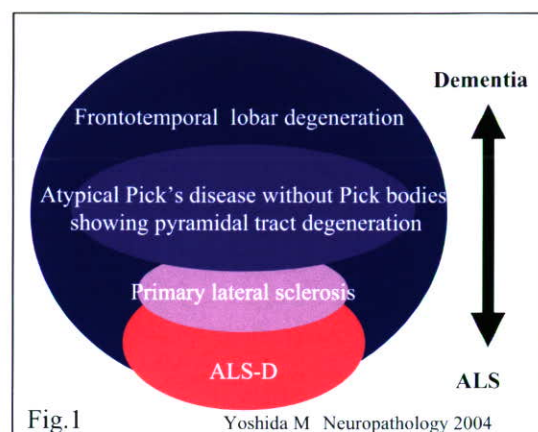
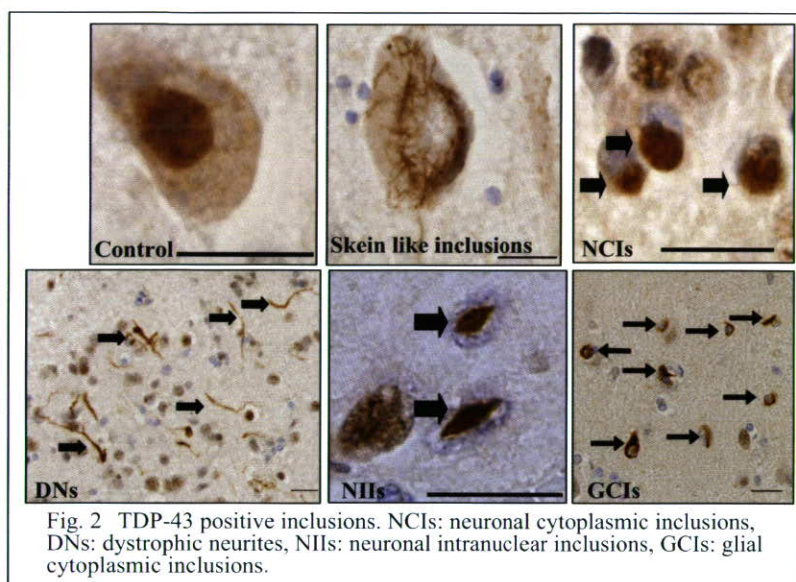
筋萎縮性側索硬化症と前頭側頭葉変性症のユビキチンとTDP-43による再評価

難治性疾患克服研究事業

神経変性疾患に関する調査研究班

所属:愛知医科大学加齢医学研究所 氏名:橋詰良夫

筋萎縮性側索硬化症、認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症、原発性側索硬化症、前頭側頭葉変性症のユビキチン陽性封入体はTDP-43陽性を示し、TDP-43の凝集を共通基盤とする広いスペクトラムの疾患である可能性が示唆され、ALS解明の新たな手懸かりが生まれた。

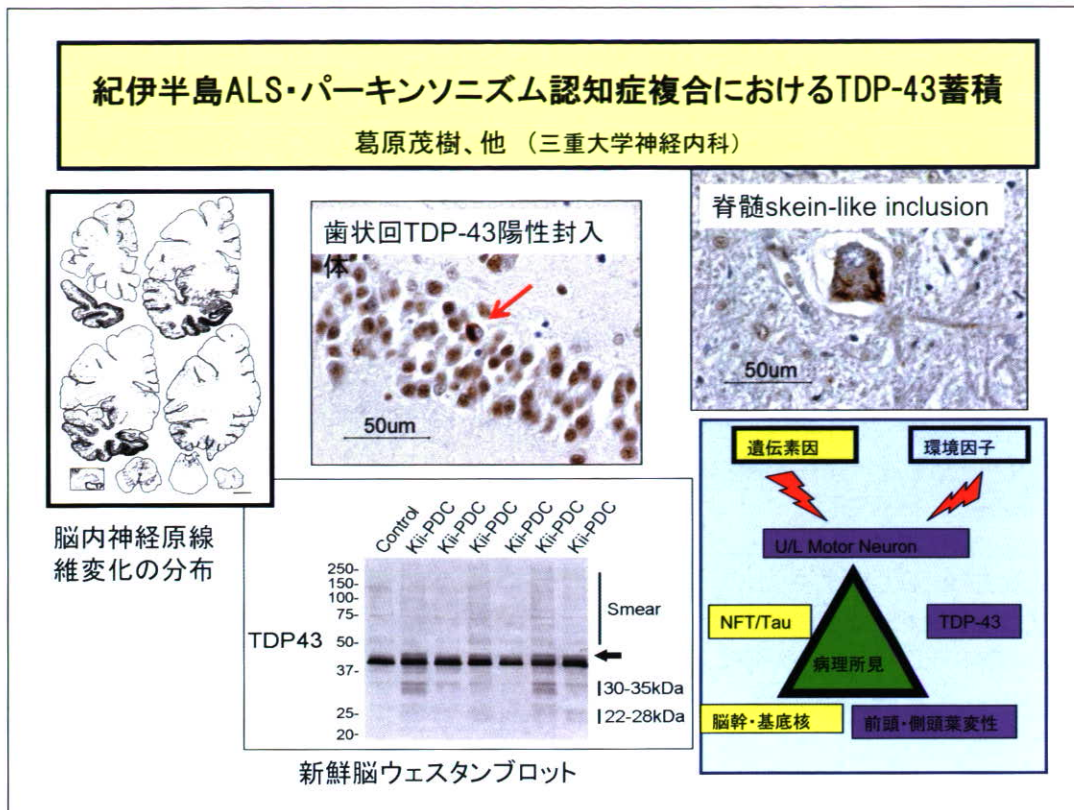


解説

Fig.1 筋萎縮性側索硬化症(ALS)、認知症示す湯浅三山型ALS ALS-D、原発性側索硬化症の一部、tau陽性のPick嗜銀球を伴わないいわゆる非定型Pick病、そして認知症を前景とした前頭側頭葉変性症、これらの疾患は、病理学的にタウ陰性、シヌクレイン陰性でユビキチンにのみ陽性を示す神経細胞内封入体や神経突起を示すことからFTLD-Uと総称して、共通した分子生物学的基盤を持つ疾患のスペクトラムではないかとわれわれは推測していた、ユビキチン化された蛋白の本体は長い間未解明であった。昨年本邦のAraiら、Neumannらによってユビキチン化された蛋白がTDP-43であることが同定された。

Fig.2 ALS、ALS-D、PLS、FTLDまでの疾患におけるTDP-43蛋白の凝集を免疫組織学的に検討した。TDP-43は核たんぱくであり正常では核内に微細顆粒状に陽性に染色される。ALSやALS-Dの下位運動ニューロンのskein-like inclusions、ALS-DやFTLDの脳皮質にみられる神経細胞胞体内封入体(NCIs)、変性神経突起(DNs)、神経細胞核内封入体(NIs)、オリゴデンドログリア内封入体(GCIs)はすべてTDP-43陽性を示した。

Fig.3 TDP-43陽性封入体はALS、ALS-D、PLS、FTLD-Uなど広いスペクトラムの疾患に形成されており、これらの疾患はTDP-43蛋白の変性を共通基盤とするTDP-43 proteinopathyととらえられる。TDP-43蛋白の同定はALS解明への新たな手懸かりになると考えられる。



難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班
国立精神・神経センター 武蔵病院
(三重大学 神経内科) 葛原茂樹

紀伊半島ALS・パーキンソニズム認知症複合におけるTDP-43蓄積

葛原茂樹¹⁾、小久保康昌¹⁾、村山繁雄²⁾、斉藤裕子²⁾、長谷川成人³⁾

1) 三重大学神経内科、2) 東京都老人研神経病理、3) 東京都精神研

研究要旨

紀伊半島南岸地域には、世界有数の筋萎縮性側索硬化症(ALS)とパーキンソン認知症複合(PDC)の多発地がある。その原因については、遺伝素因説、環境因説(食事、飲用水中のミネラル含量など)の諸説があるが未だ不明である。また、何故に、ALSと認知症、パーキンソン症状が一緒に出てくるのかについても、不明である。昨年、ALSや前頭側頭葉萎縮症と関連のあるタンパクとして、TDP-43の異常蓄積が発見された。我々は、この地域風土病ともいべきALS/PDCの成因を解明することを目的に、患者脳におけるTDP-43の蓄積を検討した。

紀伊ALS/PDCの剖検6例(ALS、PDCの3例ずつ)において、TDP-43の存在をホルマリン固定の脳と脊髄標本において免疫組織学的染色を施し、未固定凍結保存脳においては生化学的に検討した。全例において大脳側頭葉歯状回と脊髄の運動ニューロン内にTDP-43陽性構造物を認め、生化学的にも脳への蓄積を確認した。

紀伊ALSとPDCは病態生化学的にも一連のスペクトル上にある疾患で、combined tauopathy and TDP-43 tauopathyと考えられる。両方の蛋白に異常を生じさせる原因が、更に上流に存在することが推定される。この原因は、おそらく遺伝素因を有する個体に何らかの外因が作用して発症すると推定される。

症例	脳重 (g)	ALS 病変 上位/下位	NFT	Aβ LB	TDP-43 海馬/脊髄
1ALS	1190	3+/3+	1+	- -	2+/2+
2ALS	1275	1+/1+	3+	- -	2+/2+
3D+ALS	1300	-/2+	3+	- -	3+/1+
4PDC	935	1+/2+	3+	- -	3+/2+
5PDC	1085	1+/2+	3+	- -	1+/1+
6PDC+ALS	960	2+/3+	3+	- -	3+/1+

家族性筋萎縮性側索硬化症と TDP-43

難治性疾患克服研究事業
 神経変性疾患に関する調査研究班
 新潟大学脳研究所 病理学分野 高橋 均

●家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS)においては、病理学的に、後索変性を伴う後索型(SOD1変異を有する例が多い)と孤発性ALSと同様の所見を示す古典型の少なくとも2型が存在する。

●最近、孤発性ALSで認められるユビキチン陽性封入体の構成タンパクとして43-kDa TAR DNA-binding protein (TDP-43)が同定された。

●FALS剖検例について、この病的タンパクとして同定されたTDP-43の発現の有無を免疫組織化学的に検討した。

●後索型(SOD1変異を伴うFALS)例においては、TDP-43の異常発現は全く認められず、古典型例においては、孤発性ALSと全く同様のTDP-43陽性所見が得られた。

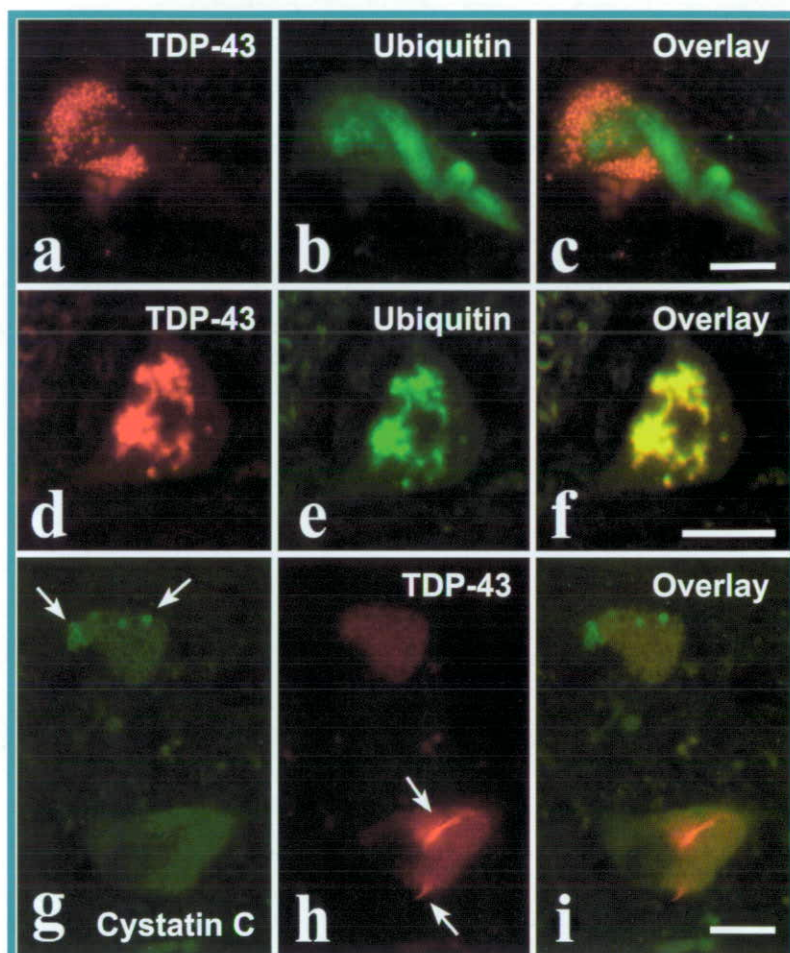
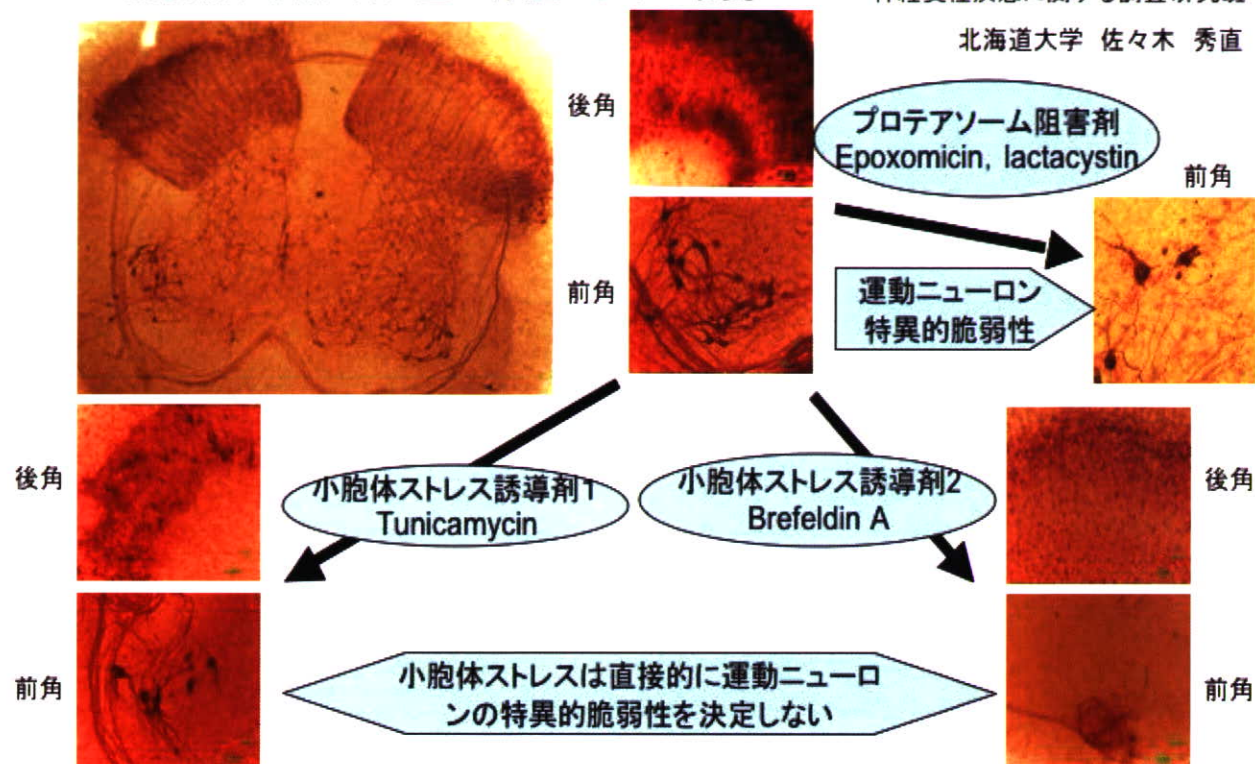


図 a-c: SOD1 変異を伴う家族性 ALS. ユビキチン陽性のレビー小体様封入体は TDP-43 陰性 (a リポフスチン顆粒の自家蛍光). d-f: SOD1 変異を伴わない家族性 ALS. ユビキチン陽性のスケイン様封入体は TDP-43 陽性. g-i: 孤発性 ALS. Cystatin C 陽性のブニナ小体 (矢印) は TDP-43 陰性で、TDP-43 陽性のスケイン様封入体 (矢印) は cystatin c 陰性.

解説

SOD1 変異を伴う家族性 ALS では、孤発性 ALS と異なる分子病態機序が関与していることが強く示唆される。また、今後の ALS 研究の進展のためにも、孤発性 ALS と同様の分子病理像を呈する家族性 ALS の原因遺伝子の早期同定が望まれる。

筋萎縮性側索硬化症研究 -細胞生物学的検討-

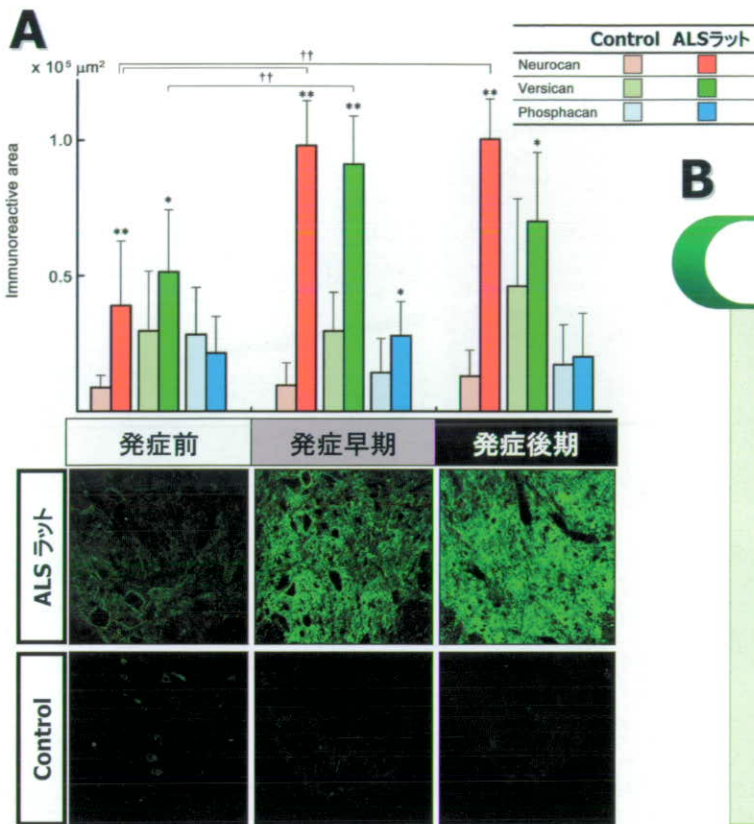
**
筋萎縮性側索硬化症 -脊髄スライス培養-難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班
北海道大学 佐々木 秀直

解説

運動ニューロンの選択的変性に関与している分子機構を明らかにする目的で、ラット脊髄スライスカルチャーを用いて以下の検討を行なった。

(上段右)培養組織を選択的プロテアソーム阻害剤であるepoxomicinとlactacystinに暴露すると、後角ニューロンは温存され、前角ニューロンのみ変性した。(下段左)一方、小胞体ストレス誘導剤Tunicamycinに暴露すると後角ニューロンが変性し、前角ニューロンは温存された。(下段右)同じく、小胞体ストレス誘導剤Brefeldin Aに暴露すると後角ニューロンは保たれ、前角ニューロンが変性した。以上の結果は、運動ニューロンの特異的脆弱性に関して、プロテアソーム障害の方が小胞体ストレスより深く関与している可能性を示唆している。

ALSモデルラット脊髄におけるコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CSPG) の沈着亢進と細胞外環境の重要性



難治性疾患克服研究事業
 神経変性疾患に関する調査研究班
 東北大学大学院神経内科学 青木正志

細胞外環境も治療の標的

再生阻害因子

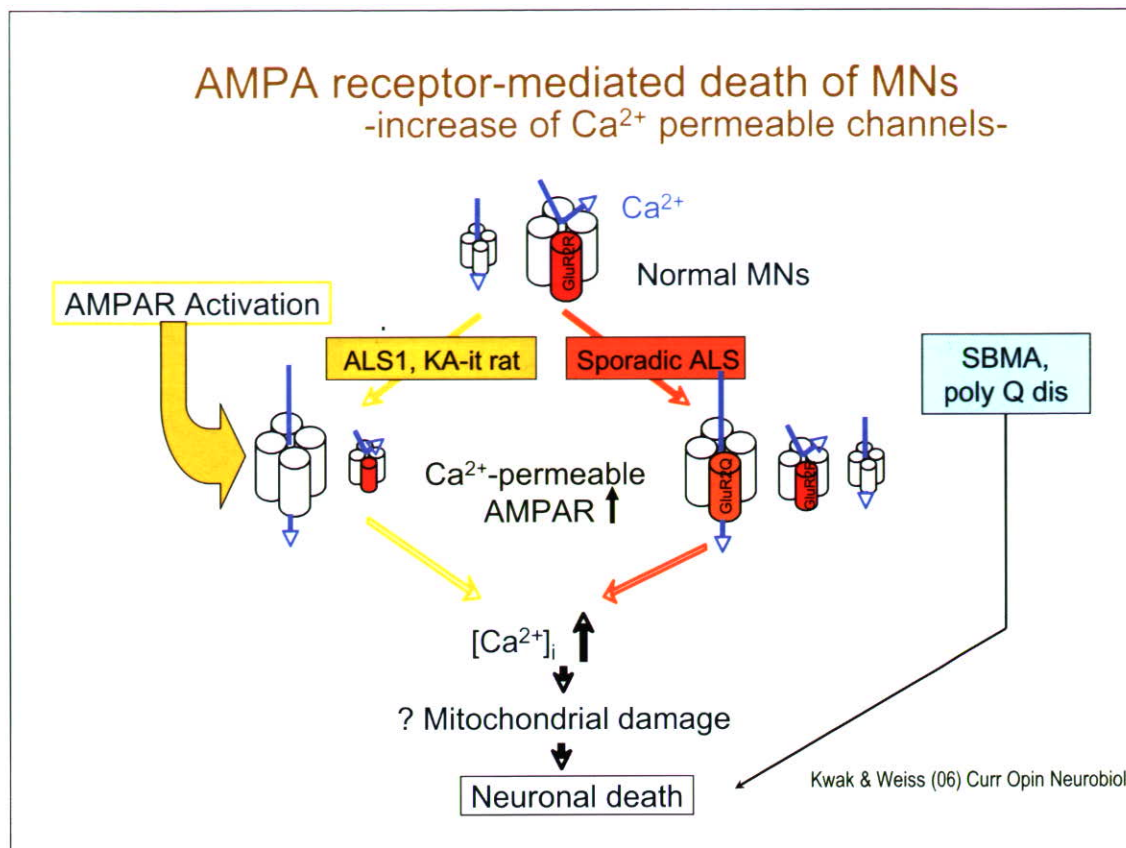
グリア瘢痕由来: CSPG
 線維瘢痕由来: Sema3A
 ミエリン関連蛋白: Nogo
 MAG
 OMgp
 RGMa

グリオースिस

図: ALSモデルラット脊髄におけるコンドロイチン硫酸プロテオグリカン(CSPG)の沈着亢進と細胞外環境の重要性

A: 脊髄前角における主要なCSPG (neurocan, versican, phosphacan) の免疫組織化学とその陽性面積の半定量解析。上段のグラフに示すように、control (週齢一致正常同腹仔) と比較してALSラットではいずれのCSPGも有意な沈着亢進がみられる (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, †† $p < 0.01$)。なかでもneurocanはもっとも顕著かつ進行性の沈着を示す(中段パネル: ALSラット、下段パネル: control、左から右へ発症前、発症早期、発症後期)。一方でversicanとphosphacanの沈着ピークは発症早期にみられ、発症後期にはその程度を減じることが分かる。

B: ALSにおける変性脊髄では運動ニューロンの選択的・系統的変性が病態の中核をなすが、本研究で明らかになったCSPG沈着のように運動ニューロンをとりまく細胞外環境もまた重要と考えられ、治療の標的となり得る。CSPGは細胞外基質の主要構成成分であるとともに損傷脊髄では発現が亢進して軸索伸展阻害や細胞遊走阻害にはたらく代表的な再生阻害因子(矢印)である。とりわけ細胞補充を含めた再生誘導の観点からは、CSPG沈着亢進はグリオースिसとともに神経再生に対して非許容的な環境形成につながっている可能性がある。したがって、再生阻害因子の抑制やグリオースिसのコントロールが将来的な神経再生誘導療法開発に役立つかもしれない。



難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班
東京大学 郭 伸

孤発性ALSに特異的な神経細胞死のメカニズム：

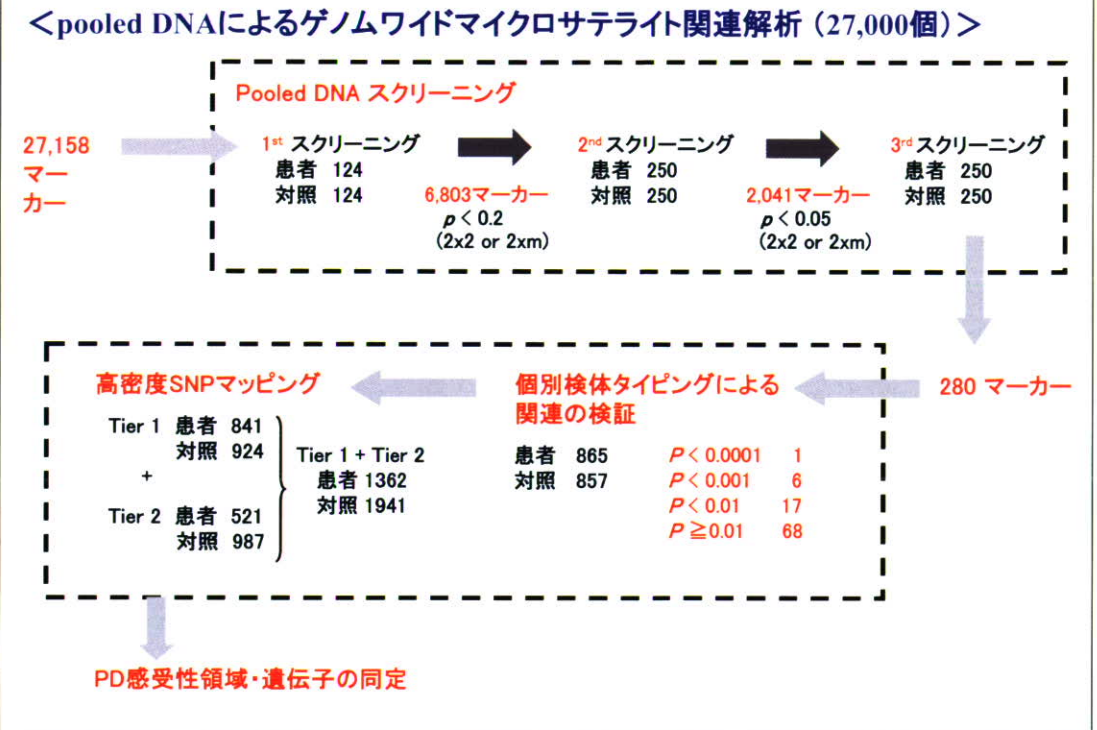
正常の神経細胞では殆どのAMPA受容体は編集型GluR2を含みCa²⁺非透過性である。運動ニューロンなどではGluR2 を含まないCa²⁺透過性のAMPA受容体が少数ながら存在していることが示されている。

孤発性ALS、変異SOD1関連家族性ALS (ALS 1) のいずれにもAMPA受容体を介する細胞死のメカニズムが働いている証拠があるが、両者の分子機構は異なり、ALS 1 ではGluR2 の割合の減少により編集型GluR2 を含まないAMPA受容体の割合が増えることにより (左)、孤発性ALS では未編集型GluR2 を含むAMPA受容体が増えることにより (中)、Ca²⁺透過性のAMPA受容体が増加し、細胞内Ca²⁺濃度が上昇することが神経細胞死を引き起こす。但し、後者が単獨で神経細胞死を引き起こしうるのに対し、前者には変異SOD1の細胞毒性などの因子が更に加わる必要がある。

これに対して、球脊髄性筋萎縮症 (SBMA) の運動ニューロン死には、AMPA受容体を介するメカニズムは働いていない。

運動ニューロン死には様々なメカニズムが働いているなかで、GluR2 Q/R 部位のRNA編集異常は孤発性ALSに特異的な、神経細胞死の直接原因である。

パーキンソン病と関連疾患の遺伝子多型と発症リスクの研究

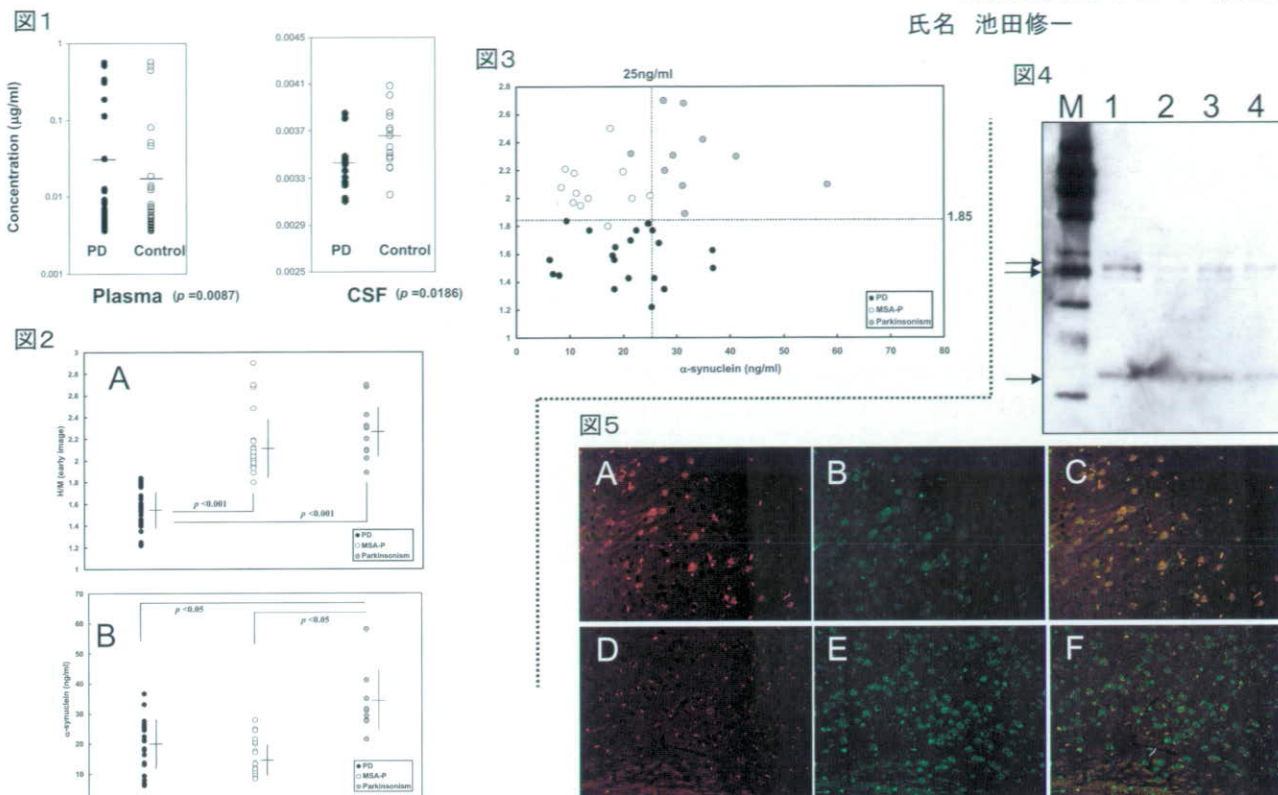


難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班
大阪大学 戸田達史

マイクロサテライトDNA多型を用いたゲノムワイド関連解析では、27,158個のマイクロサテライトと、プールDNA法を用いた、ゲノムワイドの3段階のスクリーニングにより、候補領域280ヶ所を抽出した。うち164マーカーに関して、個別DNA検体を用いたタイピングを行い、 $P < 0.001$ のマイクロサテライトマーカーを7箇所同定した。1個のマイクロサテライトはSNPとしても 10^{-8} の有意な領域である。

パーキンソン病における α -synucleinの生体内動態と診断的利用に関する研究

難治性疾患克服研究事業
神経変性疾患に関する調査研究班
所属 信州大学医学部内科
(脳神経内科, リウマチ・膠原病内科)
氏名 池田修一



解説

図1 パーキンソン病患者(PD)と対照(control)で血漿(plasma)および脳脊髄液(CSF)中 α -synuclein濃度を定量した。血漿中では患者と対照で有意な差は認められなかったが、脳脊髄液中ではPD患者で有意に低下していた。

図2 多系統萎縮症(MSA)を含め、パーキンソニズムを来した患者脳脊髄液で α -synuclein濃度を定量し、MIBG心筋シンチグラムの結果と対比した。A: MIBGの心筋への集積(H/M比)は従来の報告と同様、PD群で低下し、MSAおよびその他のパーキンソン症候群(PS)では低下を認めなかった。B: 脳脊髄液 α -synuclein濃度はPDおよびMSA群はPS群に対し、有意に低下していた。

図3 PD群、MSA群、PS群をH/M比、 α -synucleinの2つのパラメーターで分類した。H/M比のcut-off値を1.85、 α -synuclein濃度のcut-off値を25ng/mlとすると、敏感度、特異度ともに約90%の確立で、PD、MSA、PSを区別する事が可能であり、診断的利用の可能性が見いだされた。

パーキンソン病における α -synuclein濃度変化のメカニズムについて、セルロプラスミン欠損(Cp-/-)マウスを用いた新しいモデルを作成し検討を開始した。セルロプラスミンは強力なフェロキシダーゼ活性を有し、その欠損患者脳では鉄の過剰沈着により酸化ストレスが亢進し、著しい組織障害が起こる事が知られている。Cp-/-マウスは臨床的症候、組織学的変化ともに認めないが、一定の負荷を加える事により、正常マウスに比して強い変化を生じると考えられている。今回、比較的少量のロテノンにCp-/-マウスに投与し、パーキンソン病モデルを作成した。

図4 ロテノン投与4週後のマウス脳をホモジネイトし、抗 α -synuclein抗体を用いたイムノブロットングにより評価した。M: molecular weight marker. 1: Cp-/-, ロテノン+. 2: Cp-/-, ロテノン-. 3: Cp+/+, ロテノン+. 4: Cp+/+, ロテノン-. 1-4すべてに α -synuclein単量体の明瞭なバンドを認める(1本矢印)。1で2量体の強いバンドを認める(2本矢印)が、2-3では弱い。ロテノン投与されたCp-/-マウスで α -synucleinの凝集傾向が強い事が示唆された。

図5 マウス嗅内野組織免疫組織化学像。A-C: Cp+/+, ロテノン+マウス。D-F: Cp-/-, ロテノン-マウス。A, D: 抗tyrosine hydroxylase (TH)抗体による染色。B, E: 抗リン酸化 α -synuclein抗体による染色。C, F: それぞれA+B, D+Eの融合像。A-Fすべて倍率200倍。Cp-/-マウスではロテノン負荷によりTH陽性細胞が減少し、リン酸化 α -synucleinの発現が増加している。

以上からPD患者髄液における α -synuclein減少のメカニズムとして、本蛋白の凝集変性の関与が示唆された。

ヒト髄液における α -synucleinの動態の解明

難治性疾患克服事業
神経変性疾患に関する調査研究
京都府立医科大学神経内科 中川正法

研究の概要と成果

パーキンソン病の発症機序の解明と正確な診断法及び有効な治療法の開発は、高齢化社会を迎えつつある我が国の厚生労働行政において重要な課題である。本研究では、パーキンソン病の発症機序に重要な分子である α -synucleinが、パーキンソン病を始めとする α -synucleinopathy患者の髄液中で、病態別にどの様に変化しているかを検討した。ヒトの髄液および血液中の α -synucleinを定量することができる高感度なELISA系を開発した。パーキンソン病患者群では、age-matchedさせた対照群と比較して、髄液中 α -synuclein濃度が有意に減少していた(パーキンソン病患者群 18.2 ± 9.6 ng/ml vs. 対照群 38.7 ± 19.0 ng/ml, $p < 0.0001$)。またパーキンソン病患者群においては、重症度が高い患者では髄液中 α -synuclein濃度が低い傾向があった。一方、対照患者群でも、髄液中 α -synuclein濃度は加齢とともに減少した。

今回、パーキンソン病患者群で髄液中 α -synuclein濃度が有意に減少していたことは、髄液中 α -synucleinはパーキンソン病の臨床診断マーカーおよび重症度のマーカーとして利用できる可能性があることを示している。

研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

ヒト体液中の α -synucleinを正確に定量できるELISA系を開発した。その系を用いて、パーキンソン病患者群では髄液中 α -synuclein濃度が有意に減少しており、また重症度と並行的に低下する傾向があることを世界で初めて明らかにした。髄液中 α -synucleinはパーキンソン病の診断および重症度マーカーとして利用できる可能性がある。

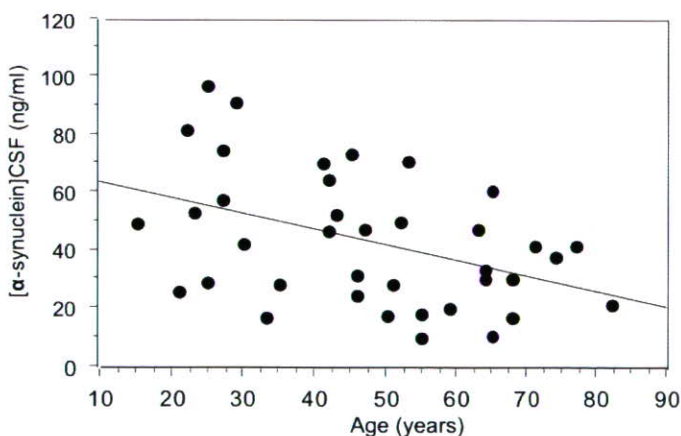


図1. 対照患者群における髄液中 α -synuclein濃度と年齢の関係。
年齢が高い対照患者では髄液中の α -synuclein濃度が低い傾向があった
($n = 38$, $r = -0.429$, $p = 0.0073$)。

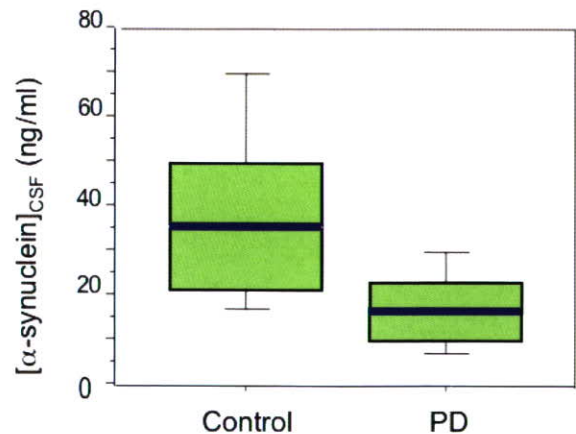


図2. パーキンソン病患者群 (PD) と対照群 (age-matched) の髄液中 α -synuclein濃度の比較。
髄液中 α -synuclein濃度はパーキンソン病患者群 (18.2 ± 9.6 ng/ml, $n = 33$) では対照群 (38.7 ± 19.0 ng/ml, $n = 26$) と比較して有意に減少していた ($p < 0.0001$, Mann-Whitney U test)。

パーキンソン病の中脳超音波エコー検査

難治性疾患克服研究事業

神経変性疾患に関する調査研究班

公立大学法人和歌山県立医科大学神経内科 近藤智善

研究の概要と成果

日本人パーキンソン病患者を対象に中脳超音波検査を行いその黒質の高輝度変化について、他のパーキンソニズム患者、正常対照と比較した。

パーキンソン病では、90% の頻度で黒質の高輝度変化が確認された。他のパーキンソニズム患者や正常対照では高輝度変化は 15% 以下であった。

この検査は非侵襲的であり、臨床徴候に依存した従来の診断法を画像所見から支える検査法として、画期的で、極めて有用と考えられた。

図 1

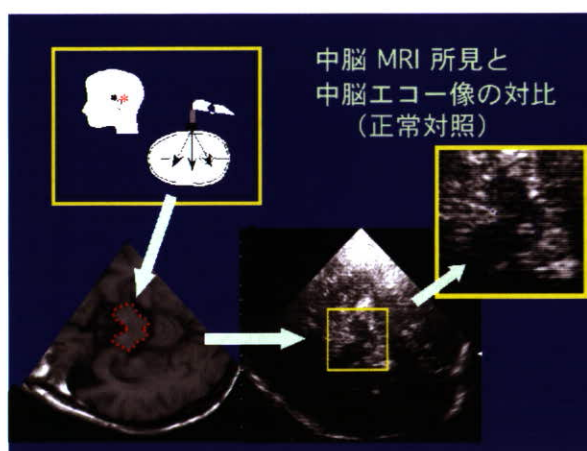


図 2

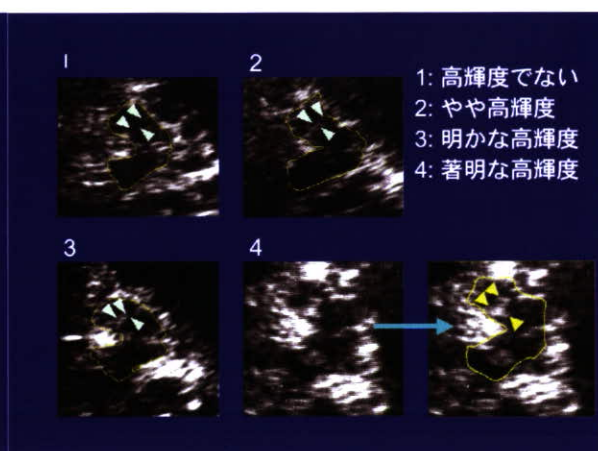


図 3

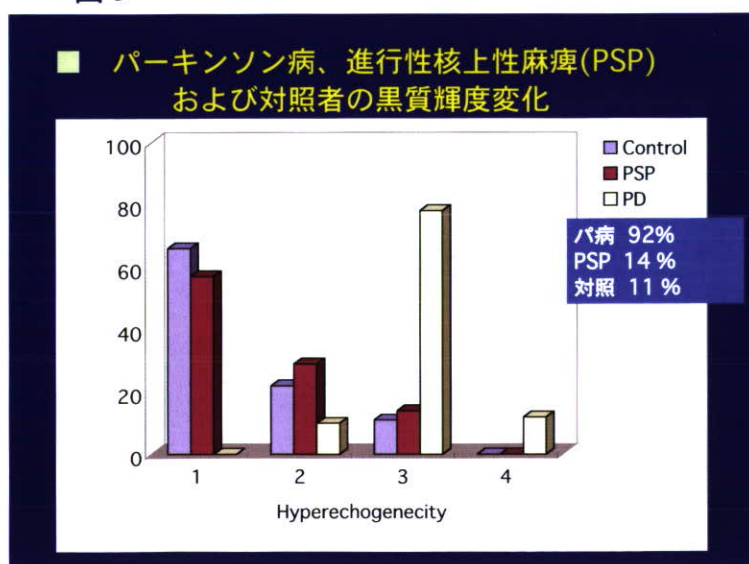


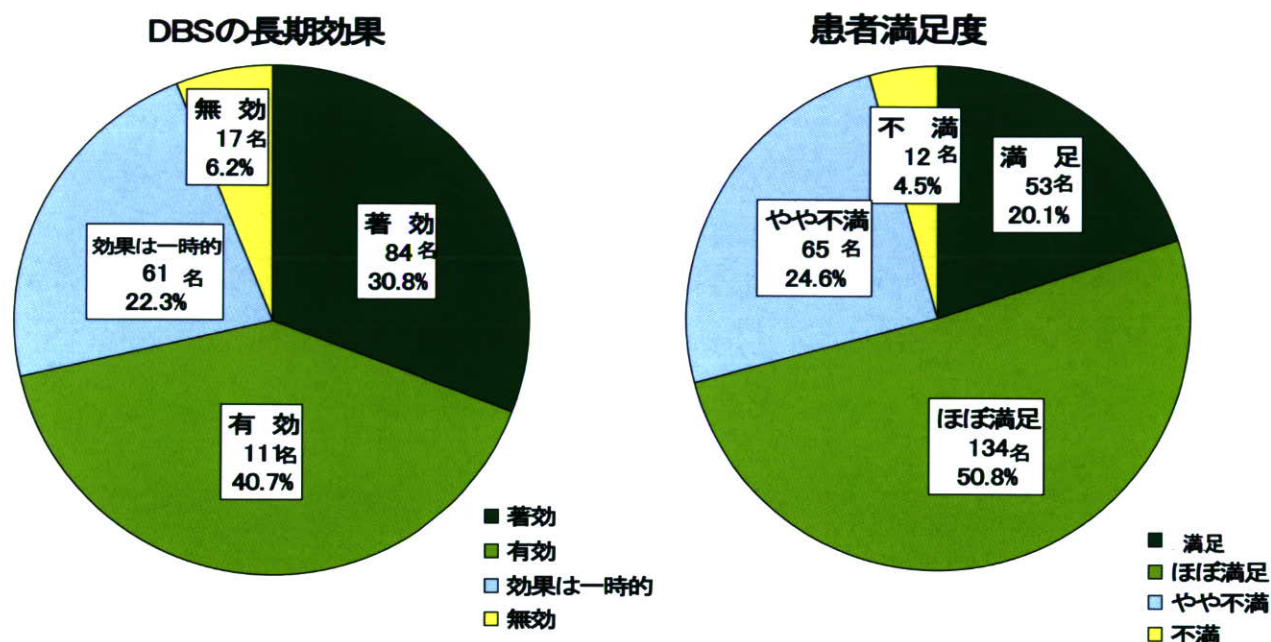
図 1 : 健常人の中脳 MRI 像と中脳超音波検査所見の対比

図 2 : 中脳黒質超音波検査における高輝度変化の定性的比較のための grading

図 3 : パーキンソン病では 92% で 3 度以上の高輝度を示すが、他のパーキンソニズム例や正常対照では高輝度変化は 15% 未満であった。

パーキンソン病における外科治療の有効性と患者満足度調査

難治性疾患克服研究事業神経変性疾患に関する調査研究班
 国立精神・神経センター武蔵病院 久野 貞子



進行期パーキンソン病の治療として深部脳刺激術(DBS)があるが、わが国ではDBSの有用性、長期効果、問題点等について十分に認知されていない。今回は患者の立場からのDBSの長期効果と満足度について、全国アンケート調査を行った。方法は、患者が気兼ねなく返答出来るよう、主治医が患者に調査票を手渡し、記載後患者会に郵送し、会で匿名処理後研究者が解析した。回答は287名から得られ、平均年齢は62.8歳、男性145名、女性136名、無記載5名であった。患者背景は発症年齢48.4歳、罹病期間14.1年、DBS術後期間は1年未満23.3%、1-3年42.5%、3-5年20.9%、5年以上が8.7%であった。手術部位は視床下核146名、淡蒼球22名、視床15名、残り不明。結果：振戦、筋固縮、ジスキネシアは術後著明改善し、効果も持続したが、書字、易転倒性、発声への効果は低かった。総合的な満足度は約70%であり、患者会のみでの調査結果と主治医の結果の間であり、今後更に継続的な調査が必要と考えた。不満足の原因のうち、術前の説明が不十分なためと推定されるものが多く、今後施術者はDBSの説明に一層の工夫が必要と思われた。

Comparison of mean valve scores between CNT and DAs

	CNT	PRG	CAB	<i>Dunnett's test</i>	
				CNT vs PRG	CNT vs CAB
Aortic	0.4	0.8	1.2	N.S.	P<0.05
Mitral	0.3	1.0	0.8	P<0.01	P<0.05
Tricuspid	0.7	1.0	0.8	N.S.	N.S.
Composite	1.5	2.7	2.8	P<0.05	N.S.

難治性疾患克服研究事業
 神経変性疾患に関する調査研究班
 愛媛大学 野元正弘

パーキンソン病症例における心臓弁の逆流スコア

CNT:control アゴニストを服用していないパーキンソン病症例

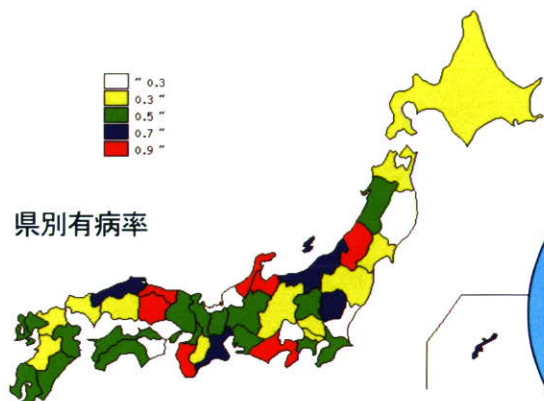
PRG: pergolide ペルゴリド群

CAB: cabergoline カベルゴリン群

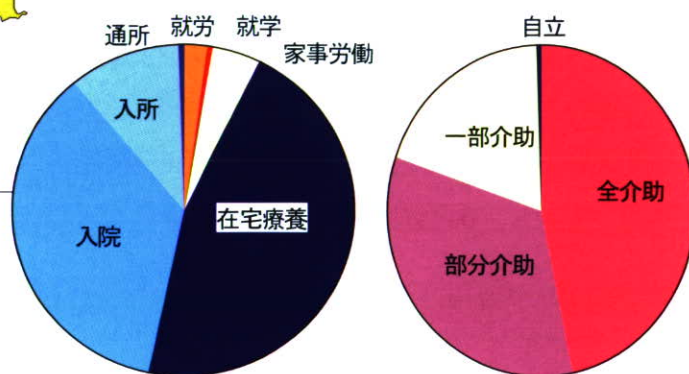
ハンチントン病の現状

難治性疾患克服研究事業
 神経変性疾患に関する調査研究班
 所属 NHO相模原病院神経内科
 氏名 長谷川一子

ハンチントン病の有病率：0.58/10万人



生活状況



- ・ハンチントン病の現状について特定疾患個人票をもとに調査した。
- ・有病率は人口10万人当たり0.58人で、図のように地域差がある。
- ・機能障害が高度で、在宅療養、入院、入所がほとんどで、自立している症例は少ない。
- ・未受診の症例も散見し、早期の臨床症状のコントロールが必要である。

解説

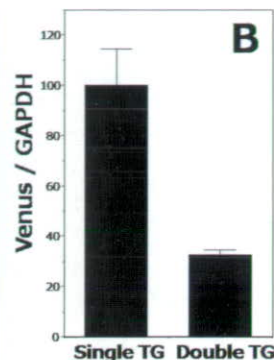
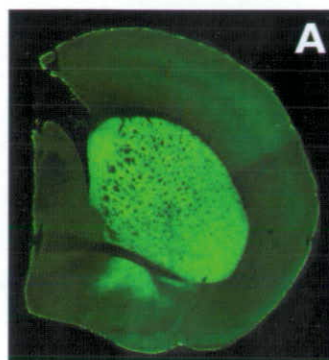
- ハンチントン病は昭和56年に特定疾患の指定をうけ、調査対象となった疾患である。しかし、有病率の低さも相まって、全国規模の調査は行われてこなかった。今回、特定疾患個人票をもとに実態を調査した。その結果、ハンチントン病の有病率は0.58人/10万人と算出できた。なお、図に示すように、地域差が認められた。
- 临床上は舞踏運動のほかに、様々な不随意運動を示す症例が多い。調査票からは明らかとされないが、巧緻障害を呈することが多く、早期から書字などが不能となり、就労不能となる。精神症状では、従来、認知症、性格変化などが指摘されていたが、衝動性行動や強迫行動がみられ、社会生活を阻害する因子となる傾向がみられる。
- 患者会から得られた情報によれば、医療拒否の症例や家庭内暴力を呈することもまま見受けられ、これらの根底には医療不信も見受けられる。今後、「ハンチントン病療養の手引き」を作成し、患者および介護者を支援していく予定である。

ハンチントン病の病態解析

難治性疾患克服研究事業神経変性疾患に関する調査研究班

独立行政法人理化学研究所脳科学総合研究センター

構造神経病理研究チーム 貫名信行



ナトリウムチャンネルβ4サブユニット(β4)は線条体で強く発現し、ハンチントン病トランスジェニックマウス(TG)では発現が抑制される



A: β4プロモーター制御下で蛍光タンパク質を線条体で強く発現するトランスジェニックマウスを作製した。

B: ハンチントン病トランスジェニックマウスと交配すると蛍光タンパク質の発現は顕著に低下した。



ハンチントン病トランスジェニックマウスでの β4 の発現抑制はそのプロモーターに依存している。新規に開発したトランスジェニックマウスはハンチントン病治療薬の指標に使用できる。

(図左) 我々はハンチントン病モデルマウスが神経症状を示す前に顕著に発現が低下する遺伝子としてナトリウムチャンネル beta4 サブユニット (β4) を同定した。β4 は線条体で強く発現し、ハンチントン病トランスジェニックマウス (TG) では発現が抑制される

(部右) A: β4プロモーター制御下で蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックマウスを作製した。内在性のβ4と同様に線条体で強い発現を示すトランスジェニックマウス(single TG)を確立することができた。

B: このトランスジェニックマウス(single TG)をハンチントン病トランスジェニックマウスと交配しダブルトランスジェニックマウス(double TG)を作製した。このマウスの線条体では蛍光タンパク質 (Venus) の発現が強く抑制された。

結論 ハンチントン病トランスジェニックマウスにおける β4 の発現抑制はそのプロモーターに依存している。新規に開発したトランスジェニックマウスはハンチントン病治療薬の指標に使用できる。

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究

課題番号：H17-難治-一般-015

主任研究者：国立精神・神経センター武蔵病院 葛原茂樹

プロジェクト名：パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療、再生医療

プロジェクトリーダー：自治医科大学 神経内科 中野今治

研究課題

パーキンソン病の遺伝子治療臨床研究

1. 研究目的

芳香族 L アミノ酸脱炭酸酵素(AADC)を搭載したアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクター(AAV-AADC)を進行したパーキンソン病(PD)患者被殻に投与して本手法の安全性の確認と効果を調べる。

2. 研究方法

米国 Genzyme 社が供給する GMP レベルの AAV-AADC を使用し、進行期 PD 患者の両側被殻に定位脳手術的に注入する。

臨床研究の第 1 相として 3 例ずつ 2 群(計 6 例)の進行期 PD 患者を対象とする。投与後、レボドパを経口投与して、被殻において dopamine 合成を図る。

術後は手技の安全性を確認するとともに、治療効果を判定する。経時的に頭部画像を撮り、画像上の異常の有無を確認する。

FMT-PET の手法を確立して術前の PD 診断を強化し、かつ注入したベクターの発現を視覚的、経時的に追跡する。

(倫理面への配慮)

患者の個人情報厳重に秘匿する。治療前に患者データを外部委員を交えた安全・効果評価・適応判定部会に諮る。

3. 研究結果及び考察

2007 年年 5 月 7 日に最初の遺伝子治療手術を実施して無事に終了した。本例は特段の有害事象も無く、経過している。

2007 年 7 月 23 日、第 2 例に遺伝子治療を実施した。手術 4 日目の頭部 MRI にて右前頭葉皮質下白質に静脈性と思われる出血巣が観察された。左上下肢の運動無視と左上肢の強制把握が観察されたが現在は消失し、脳画像上もほぼ正常化した。

2 例目で右前頭葉皮質下白質に遅発性出血が生じたものの、2 例ともベクター注入部

位である被殻には脳画像上病変は検出できず、ベクター注入自体の安全性は確認された。

本治療法の効果や FMT-PET の判定は現在実施しているところである。

4. 評価

1) 達成度について

第 1、2 例では、ベクター注入そのものに関わる有害事象は認められず、本遺伝子治療そのものの安全性は確保され、初期の目標の 7 割くらいは達成できたと思われる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

神経変性疾患に対して国内で初めて遺伝子治療がほぼ安全に行われたという点で学術的意義が高い。AAV-AADC による PD の遺伝子治療は、自治医大と UCSF でのみ実施されており、その成果は国際的にも注目されている。進行期 PD に対しては有効な治療法がなく、新規治療法の開発が望まれているところから、遺伝子治療臨床研究を国内で実施したことの社会的意義は非常に大きいと思われる。

3) 今後の展望について

臨床研究の第 1 相(6 例)を慎重かつ速やかに終え、国内での多施設共同研究に着手する予定である。

4) 研究内容の効率性について

ベクター注入そのものに関わる有害事象は認められず、本遺伝子治療そのものの安全性は確保されたと考えられる。また、中間段階ではあるが、FMT-PET 上でのドパミン合成の改善や治療効果も期待できそうである。

5. 結論

PD の遺伝子治療を国内で初めて、そしてほぼ安全に開始した。将来は多施設共同研究を実施し、PD の治療法の一つとして確立する可能性が示された。

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究

課題番号：H17-難治-一般-015

主任研究者：国立精神・神経センター武蔵病院 葛原茂樹

プロジェクト名：特定疾患拡大のための全国疫学調査（球脊髄性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症）

プロジェクトリーダー：名古屋大学大学院医学系研究科神経内科 祖父江 元

研究課題

特定疾患拡大のための全国疫学調査（球脊髄性筋萎縮症、脊髄性筋萎縮症）

1. 研究目的

神経難病の領域で特定疾患治療研究事業の対象となっていない球脊髄性筋萎縮症（SBMA）、脊髄性筋萎縮症（SMA）について、全国の患者数および患者状況の調査を行い、事業対象の見直し、追加のための基礎資料とする。

2. 研究方法

（1）一次調査

我が国の神経内科および小児科を標榜する全病院に対して、2005年10月1日から2006年9月30日までに診療を行ったSBMAおよびSMAの患者数を問う調査票を送付した。過去に神経変性班において定めた診断基準の改訂を行い、同封した。

（2）二次調査

一次調査にて診療している患者が存在した施設に対して、生年月、重症度、診療状況、発症年月、病型、診断の根拠となる症候の有無、侵襲的処置の有無などを記す調査票記載を依頼した。

（倫理面への配慮）

疫学研究に関する倫理指針を遵守し、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得て実施した。

3. 研究結果及び考察

一次調査の回収率はSBMA64%、SMA57%であり、SBMAは2000人程度、SMAは1000人程度の患者数が推計されたが、希少疾患の有病率推定方法の問題点も示唆された。

二次調査ではSBMAの回収率は53%で全員男性であり、平均発症年齢は43.5歳、平均罹病期間は15.2年、重症度は、1度（家事・就労はおおむね可能）37.0%、2度（家事・就労は困難だが、日常生活はおおむね自立）27.7%、3度（自力で食事、排泄、移動のいずれか一つ以上ができず、一部介助を要す

る）23.0%、4度（日常生活の大部分に介助を要するか、呼吸困難、痰の喀出困難或いは高度嚥下障害を認める）6.2%、5度（完全に寝たきり、或いは気管切開、非経口的栄養摂取等を使用中）4.8%、未記載1.4%であった。

SMAの二次調査回収率は59%であり、男女比は1.3:1であった。平均発症年齢は16.8歳、平均罹病期間は13.5年で、臨床病型分類はI型（Werdnig-Hoffmann病）23.4%、II型（I型とIII型の中間型）25.3%、III型（Kugelberg-Welander病）19.4%、IV型（35歳以降発症、成人型）24.7%、その他・未記載など7.2%であった。重症度分類では、I型は80%以上が5度であり、全例で日常生活に介助を要した。II、III、IV型になるに従い軽症化する傾向を認めたが、介助を要する割合はII型94%、III型59%、IV型55%を占めていた。遺伝子解析施行例中、I型では91%、II型では92%、III型では77%で遺伝子変異陽性であった。

4. 評価

1) 達成度について

調査計画については完了した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

我が国におけるSBMAおよびSMAの疫学横断像を明らかにした。

3) 今後の展望について

特定疾患治療研究事業対象疾患拡大のための基礎資料とする。

4) 研究内容の効率性について

単年度の研究計画実施により上記結果を得ることができた。

5. 結論

SBMA、SMAともに根治療法のない稀少神経難病であり、適切な診断基準を有し、全国横断像で患者重症度が高く、高い介護度を要していた。

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究

課題番号：H17-難治-一般-015

主任研究者：国立精神・神経センター武蔵病院 葛原茂樹

プロジェクト名：パーキンソン病および関連疾患分科会

プロジェクトリーダー：国立精神・神経センター武蔵病院 久野貞子

研究課題

パーキンソン病(PD)および関連疾患の基礎的臨床的研究

1. 研究目的

PD および関連神経変性疾患の基礎的ならびに臨床的研究を進展させ、特定疾患に係る科学的根拠を集積・分析し、医療に役立てることを目的とする。

2. 研究方法

PD は神経変性疾患の中では、二番目に患者数が多い疾患である。そこで PD の原因と病態の研究に関して、臨床から分子遺伝学、神経性化学など多面的・学際的研究を推進する。また、平成 15 年度に PD から分離された関連疾患の進行性核上性麻痺(PSP)、大脳基底核変性症(CBD)については、臨床個人調査票を活用した患者実態や介護状況、予後等の調査を行う。

(倫理面への配慮)

個別の臨床研究成果には患者の個人情報が入っていないので倫理的に問題とはならない。アンケート調査による疫学研究では、連結可能匿名化した資料を解析しており、倫理的に問題とはならない。

3. 研究結果及び考察

基礎的研究として、多数の候補遺伝子、SNP マーカーを用いた関連解析により孤発性 PD の確実な疾患感受性遺伝子は α -synuclein 遺伝子であることが判明した(戸田)。また、2 箇所の研究施設から PD および加齢により髄液 α -synuclein は有意に減少していることが報告された(中川、池田)。PD モデルサルへのヒト ES 細胞由来神経幹細胞移植(中野)、マウスの LPS 誘発黒質-線条体ドパミン神経細胞障害のメカニズムに関する検討(水野)など動物モデルを用いた画期的な病態治療の開発研究が行われた。経頭蓋超音波検査で PD の黒質は高輝度に描出されることが確認され診断的に有用と報告された(近藤)。PD の疫学研究では鳥取県大山町、米子市において継続的研究がなされ、粗有病率は 326.9、145.5 であった。いずれも 80 年、92 年に同地区での調査と比較すると、粗有病率は増加していたが訂正有病率には明らかな変化はなく、人口の高齢化に伴う患者数増と考えられた(中島)。臨床調査個人票から見た PD 関連疾患(PD, PSP, CBD)の現状について平成 15, 16 年度に各都道府県で電子入力(匿名化)された資料の解析を行った(葛原)。PD の治療研究では、麦角性ドパミンアゴニストの副作用の心弁膜障害に関連した臨床研究(全国調査および複数の個別研究)を行った(野元、久野)。深部脳刺激術(DBS)が薬物治療での運動合併症対策として、

3000 件以上施術されているが、有用性・患者満足度に関する全国調査はなかった。今回、客観的な検討を目的に、専門医と患者会と共同で調査票を作成し、主治医から依頼し、被験者は患者会にデータを送り、患者会で匿名化したデータ(287 症例)を分担研究者が解析した。この結果、約 70%の患者が有用で満足しているという回答を得た。この結果は、患者会単独の調査と主治医調査の中間であり、患者の本音を調べる事が出来たと解釈した(久野)。その他、数多くの個別研究が行われたが省略する。

4. 評価

1) 達成度について

PD に関しては、基礎研究・臨床研究共に、70%~80%程度は達成されたが、関連疾患の PSP, CBD は患者数も PD の 1/10 以下と少なく、いまだ臨床個人調査票の検討にとどまっている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

孤発性 PD の確実な疾患感受性遺伝子は α -synuclein 遺伝子であること、PD および加齢により髄液 α -synuclein は有意に減少していることおよびマウスの LPS 誘発黒質-線条体ドパミン神経細胞障害のメカニズムに関する検討等の課題は、学術的・国際的に意義ある研究であった。社会的意義に関しては、臨床個人調査票を用いた PSP, CBD の検討、鳥取県での疫学調査、DBS の全国患者満足度調査等の研究成果が妥当する。

3) 今後の展望について

PD の基礎研究が進展すれば、神経細胞死を抑制する根治療法に辿りつけるので、今後更なる研究継続が必要である。PSP/CBD 等の関連疾患研究は緒についたばかりであり、今後も PD と平行して積極的な検討が必要と考える。

4) 研究内容の効率性について

PD 関連疾患に関して、神経内科医、脳外科医、神経科学者など多方面の第一級研究者が共同で同一プロジェクトで画期的な研究がなされており、英文・邦文の研究報告も多い。費用対効果からいっても効率の良い班研究であった。

5. 結論

PD および関連神経変性疾患の原因と病態に関して、基礎的臨床的検討を行い患者の ADL/QOL 改善に有用な研究成果が得られた。

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究

課題番号：H17-難治-一般-015

主任研究者：国立精神・神経センター武蔵病院 葛原茂樹

プロジェクト名：ハンチントン病

プロジェクトリーダー： 国立病院機構相模原病院神経内科 長谷川一子

研究課題

1. ハンチントン病 Huntington's disease: HD の現状調査
2. 舞踏運動を来たす疾患群（chorea-acanthocytosis, McLeod 症候群、その他の疾患に伴う chorea-acanthocytosis, 良性遺伝性舞踏病, 老人性舞踏病など）の新規難病への追加を目指して

1. 研究目的

1. HD のわが国における有病率, 地域分布, 治療および療養状況を明らかとする.
2. 舞踏運動を来たす疾患群を一括して舞踏病症状群として新規難病への追加を目指すため, 現状を調査する.

2. 研究方法

1. 特定疾患受給者交付証数, および, 特定疾患診断書をもとに, 現状を調査した.
2. 郵送法による調査を行った.

（倫理面への配慮）

1, 2ともに疫学調査に関する倫理指針に則り, 個人情報管理に留意した. 郵送法による調査は, 名古屋大学神経内科で一括して倫理審査を受審し認可された.

3. 研究結果及び考察

1. HD の発症年齢は 30~50 歳代, 有病率は 0.58 人で, 地域による偏在がある.

臨床症状は舞踏運動が主体である. 痙攣発作を認める症例もある. 精神症状では性格変化, 知的機能障害を来たすことが多く, 反社会的行動などもみられる. 自殺企図, 衝動行為, 家庭内暴力もあり, 留意すべきである.

生活状況では就労率は極めて低く, 日常生活の身体的自立度, 認知障害による自立度も低い状況にある.

2. 郵送法による調査の結果, 全国で 93 症例が該当することが明らかとなった. 不随意運動では, ジストニアを認める症例が多い. 精神症状では強迫神経症を呈することが多く, 介護者の心理負担を増す傾向があった. 療養状況は就労可能な症例は無く, 部分介助から全介助の症例が大多数を占めた.

4. 評価

1) 達成度について

HD, 有棘赤血球症に伴う舞踏病の調査を行い, これらの疾患が重症であることを示した.

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

調査を通して HD の臨床像の問題点, 今後の HD をめぐる厚生行政のあり方について検討することができ, 社会的意義があったと評価する. 有棘赤血球を伴う舞踏病群についても, 基礎データを提出することができた.

3) 今後の展望について

HD については「ハンチントン病療養の手引き」を作成し, 臨床像, 遺伝子診断の手引き, 療養に関する指針を作成する. 有棘赤血球をともなう舞踏病群についてはさらに, 調査を進め, わが国での実態を調査する.

4) 研究内容の効率性について

HD, 舞踏病群ともに効率よく臨床像を調査することができた.

5. 結論

1. HD について: 有病率は人口 10 万人当たり 0.58 であった. 小児期発症の HD も散見する. 舞踏運動のみならず巧緻障害, 精神症状により, 他の神経難病に比較しても重症であった. 遺伝子診断をめぐる心的外傷による医療拒否, 家庭内暴力の症例も散見し, 医療行政の介入がさらに必要である.

2. 新規難病への追加をめざして: 実態を調査したところ, HD と同様に介護度の高い症例が多く, 難病としての追加が望ましい.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）総合研究報告書

研究課題：神経変性疾患に関する調査研究

課題番号：H17-難治-一般-015

主任研究者：国立精神・神経センター武蔵病院 葛原茂樹

分担研究者：自治医科大学 神経内科 中野今治

分担研究者研究課題

eZIS および SPM97 による筋萎縮性側索硬化症における脳血流の解析

1. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の脳血流変化を eZIS と SPM97 を用いて、客観的に評価し、その診断における有用性を検討する。

2. 研究方法

ALS 症例 16 例と認知症を伴った ALS (ALS-D) 症例 5 例を対象として、¹²³I-IMP-SPECT を施行し、eZIS および SPM97 を用いて、健常者 33 例と比較検討した。

3. 研究結果及び考察

ALS 症例では有意かつ特徴的な脳血流低下パターンを見出し得なかったが、ALS-D 症例では両側前頭葉の血流低下が顕著に認められ、その診断において有用であることが示された。

4. 評価

1) 達成度について

ALS-D の診断における有用性を確認し、その結果を論文として Acta Neurologica Scandinavica に投稿、受理された。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

SPECT を行うことにより ALS-D が客観的に ALS より区別されることを見だし、その診断への有用性を提唱した。

3) 今後の展望について

さらに多くの ALS および ALS-D 症例を長期間解析することで、ALS および ALS-D の病態の差異について解析を進める予定である。また、この方法は全国的に普及することが

予想され、本症診断の精度が高まることが期待される。

4) 研究内容の効率性について

研究対象となった ALS-D5 症例では、例外なく前頭葉の顕著な血流低下を認めた。

5. 結論

ALS の診断においてしばしば見逃されることがある認知症の合併を、SPECT を施行することで客観的に評価、診断することができる。

6. 研究発表

1) 国内

口頭発表	76 件
原著論文による発表	14 件
それ以外 (レビュー等) の発表	20 件

そのうち主なもの
(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

論文発表

・中野今治：パーキンソン病サルと ALS マウスにおける遺伝子治療. 特集第 40 回脳のシンポジウム動物モデルからみた神経変性の病態と治療開発、神経研究の進歩 49：905-913、2005.

・石川剛久、森田光哉、中野今治：認知症を伴う ALS の脳血流画像. BARAIN and NERVE 59(10)：1093-1098、2007.

・河又千鶴、森田光哉、柴田亮行、中野今治：新しい SOD1 遺伝子変異をみとめた家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) の症例：剖検結果をふまえて. 臨床神経学 47(5)：