

200807014A

厚生労働科学研究費補助金

創薬基盤推進研究事業：ヒトゲノムテーラーメイド研究事業

ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テーラーメイド研究

平成 20 年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 戸田 達史

大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学

平成 21 (2009) 3 月

目 次

I. 総括研究報告	
ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テーラーメイド研究-----	1
大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学	戸田 達史
II. 分担研究報告	
1. ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テーラーメイド研究---	7
大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学	戸田 達史
2. ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テーラーメイド研究---	9
順天堂大学脳神経内科	服部 信孝
3. ソニサミドの抗パーキンソン効果の個体差についての研究-----	12
国立精神・神経センター武蔵病院	村田 美穂
4. ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テーラーメイド研究---	14
香川県立中央病院神経内科	山本 光利
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	15
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	21

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
総括研究報告書

ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テラーメード研究

研究代表者 戸田達史 大阪大学院臨床遺伝学 教授

研究要旨

我々は多因子遺伝疾患である孤発性パーキンソン病（PD）感受性遺伝子を明らかにするために、種々のアプローチを進めてきた。孤発性PDの確実な感受性遺伝子としてSNCAに次いで、新規のPD感受性遺伝子*calbindin1*を同定し、論文報告した。イルミナHap550アレイを用いて、患者約1000人、対照2500人（最終計8296検体）のGenome wide association study (GWAS) や、 α -synuclein領域($P=3.5 \times 10^{-16}$)の他に、全く新規の遺伝子が3個明らかにできると考えている。またゾニサミド薬剤感受性SNPの同定を行った。またrare variantとしてゴーシェ遺伝子変異が確実なPDリスクであることを明らかにした。晩発性劣性遺伝性PD家系における連鎖解析により、新たな候補遺伝子領域を同定し、2個の原因遺伝子候補を見出した。ZNSの効果の個人差を検討し、ZNSは比較的若いL-dopa効果の明らかな症例で高い効果をえやすいが、そのような症例でも無効例はあり、また高齢でこれらの運動合併症のない患者でも著効例が存在する。PD長期経過を取り込む臨床データベースを構築し、これを加味したSNP解析が必要である。MIBG心筋シンチにて正常値群ではパーク2の患者の可能性が高く、遺伝子検索が必要と考えられた。

研究分担者

服部信孝 順天堂大学脳神経内科・主任教授

村田美穂 国立精神・神経センター武蔵病院・部長

山本 光利 香川県立中央病院神経内科・主任部長

しては唯一治療薬が豊富であるが、多くの薬剤はドパミンの補充が主体であり根本的な治療ではなく、真の原因や発症の引き金を突きとめることが重要である。

PDにおける遺伝子の重要性は意見が分かれていたが、近年になって一卵性双生児の疾患一致率が約60%もあり二卵性の約3倍、他などから、多因子遺伝性疾患と認知されるようになった。家族性PDでは α -synucleinやparkin遺伝子が発見されたが、患者の大部分を占める孤発性PDでは疾患感受性遺伝子はほとんど証明されていない。

一方で孤発例では、振戦を主体とする群、抗パ剤で副作用を起こしやすい

A. 研究目的

パーキンソン病(PD)は、中高年に発症し、ドパミンニューロンの変性により振戦、筋固縮など運動障害を主症状とするアルツハイマー病とともに多い神経変性疾患であり、我が国には現在約12万人以上の患者がいるが、加齢に伴い発症率が増すため今後の患者の増加が予想される。神経変性疾患と

群など、その経過・中心となる症状・薬剤の効果は患者により異なり、このことは従来 PD として一括して行われていた遺伝解析に階層化を可能にしそれには卓越した専門家の目が必要であり、また遺伝子多型によって患者個人個人に必要な薬剤を必要な量投与するテーラーメイド医療が可能であることを意味する。

本研究では、1) SNP chip による全ゲノム関連解析を行い、疾患感受性遺伝子を10個以上同定する、2) 同時に日本で発見された抗パーキンソン薬ゾニサミドを中心に抗パーキンソン薬の反応性、副作用と SNP の関連を明らかにしテーラーメイド治療法を確立する、3) 同定された疾患感受性遺伝子の機能解析、蛋白構造解析などに基づく網羅的薬剤候補化合物探索と日本発のパーキンソン病創薬、をめざす。

B. 研究方法、C. 研究結果

①候補遺伝子関連解析 (戸田)

我々は121個の候補遺伝子上の268個のSNPsを用いた大規模な関連解析により、*α-synuclein*を確実なパーキンソン病(PD)感受性遺伝子として同定し、報告した。またさらに候補遺伝子を増やして、遺伝子型タイピングは患者1403人、対照1938人を対象にTaqMan法で行った。合計137個の候補遺伝子上の302個のSNPsの関連解析、および連鎖不平衡解析により、*α-synuclein*に続く第2のPD遺伝子として、*calbindin1*を同定し($P = 7.1 \times 10^{-5}$, オッズ比 1.34)、論文報告した。

②500K SNP チップを用いた全ゲノム

関連解析 (GWAS) (戸田)

今回、Illumina社 HumanHap550 アレイを用いて、PD患者1012検体、コントロール2573検体のSNP型を判定した。IBS検定、Multidimensional scalingにより、血縁者や非アジア人検体を除外し、患者988検体、コントロール2521検体で438,886SNPの関連解析を行った結果、最も有意であったのは、*α-synuclein*領域のSNP($P = 6.2 \times 10^{-13}$ (trend model))であった。関連を認めた上位384SNPについて、別の患者894検体、コントロール3893検体(計8296検体)でreplication実験を行った。まだ解析途中であるが、*α-synuclein*領域($P = 3.5 \times 10^{-16}$)の他に、全く新規の遺伝子が3個明らかにできると考えている。

③ゾニサミドの薬効に関連するSNP (戸田)

また、ゾニサミド有効例・無効例間(110例)で同様のSNP chipによる関連解析を行い、効果判定マーカーとなる多型を同定することを試みた。内22個以上のSNPが $P = 10^{-5}$ 以下を示し、例えばCYP20A1はCアレルをもつと無効例が多いなど、明らかに偏りがあった。

④rare variant とゴーシェ病 (戸田)

リピドーシスのひとつゴーシェ病患者でPDを合併する例が報告されたことから、PDにおけるGBA遺伝子変異の保因者頻度を調べた研究が世界中で行われている。GBA遺伝子の全11エクソンとその近傍をPD患者534人、対照544人リシーケンスして塩基配列変化の有無を調べ、11種類の疾患原性点変異が同定された。ヘテロで持つ保因者はPD患者534人中50人(9.4%)、対照544人中2人(0.37%)であり、PDとGBA変異は強く関連していた($p =$

6.9×10^{-14} , オッズ比 28.0)。PD 患者で同定された変異は、日本人ゴーシェ病で見られる変異の分布とはかなり異なっていた。GBA 変異をもつ PD 患者の発症年齢 (52.5 ± 7.4) は変異を持たない PD 患者の発症年齢 (58.8 ± 10.7) よりも有意に低かった ($p < 0.001$)。親子または同胞で PD を発症している 34 家系について、GBA 変異を調べたところ、5 家系 (14.7%) において、家系内の患者で共通の変異がみられた。

⑤原因遺伝子が未知の常染色体劣性晩発性 PD 家系遺伝子 (服部)

複数の遺伝性パーキンソン病 (FPD) 家系および SPD 症例からマーカー及び SNP アレイ、直接シーケンス法を用い連鎖解析、遺伝子解析を行った。劣性遺伝性でかつ晩発性の FPD の連鎖解析により、20 番染色体に連鎖することが判明した。そして候補領域から 2 個の原因遺伝子候補を見出した。

⑥ゾニサミドの抗パーキンソン効果の個体差について (村田)

ZNS を服用中の患者で投与前投与後 12 週の臨床症状を評価でき、同意を得られた PD 患者 110 名について、投与前の臨床症状の特徴、ZNS 投与による症状の変化について統一パーキンソン病評価スケール (UPDRS) にて評価し、振戦型、固縮無動型、混合型にわけ、その効果の違いについて検討した。さらに、その効果の持続を評価するために、5-9 年間観察した 8 例について長期効果を評価した。

1) ZNS の効果の個人差

平均発症年齢は著効例 (52.0 歳、22-77 歳)、有効例 (55.1 歳、28-76 歳)、無効例 (58.6 歳、46-74 歳)、採血時平均年齢は著効例 (61.6 歳、28-82 歳)、有効例 (64.8 歳、42-84 歳)、無効例 (65.9 歳、49-78 歳) と、著効例

で平均発症年齢、平均採血時年齢が低い傾向にあったが、これは、40 歳未満発症の若年性パーキンソニズムが前例有効-著効群であったことにより、若年発症者で効果が高いとはいえるが、高齢者では著効例が少ないわけではなかった。

初発症状が振戦である割合が有効、著効群では 70%前後であるが無効群では 58.3%とやや低く、無動、歩行障害がやや多い傾向はあった。

Wearing-off 現象 (+) の割合は有効、著効群では 33%前後であるが無効群では 21.4%とやや低く、特に著効群では中等度以上の Wearing-off 現象を認める割合が高かった。

2) ZNS の長期効果

① ZNS 投与にて、3ヶ月以内に明らかな効果を認めた患者は 3 年程度はほぼ同様の状態を維持でき、その後他の抗 PD 薬を増量することはあるが、長期にわたり比較的良い状態を維持できる。

② 上記有効例では投与開始数年後であっても ZNS を中止すると明らかな症状の悪化を認める。

⑦パーキンソン病と心臓交感神経機能 (山本)

パーキンソン病患者背景の調査と DNA 採取、心臓交感神経検査のための MIBG 心筋シンチ検査の実施を行った。209 名のパーキンソン病患者において MIBG 心筋シンチ検査とパーキンソン遺伝子の検索を行った。

MIBG 心筋シンチにて正常値群の 1/3 はパーク 2 患者であることが判明した。これは対象としたパーキンソン病全患者の 5%であった。

D. 考察

SNP チップでは、同規模のプロジェクトが米国、ドイツで進行中であり、関連を認めた SNP に関しては、ドイツ人、米国人で再現性を検討し、PD 感受性 SNP を同定する。

また、ゾニサミド有効例・無効例間で効果判定マーカーとなる多型を組み合わせて検証する。

GBA 変異は確実な PD リスク因子であり、common disease multiple rare variant 仮説によるものである。

晩発性劣性遺伝性の FPD の連鎖解析により、20 番染色体に連鎖することが判明したことから、新たな遺伝子座、遺伝子の存在が示唆される。候補領域から 2 個の原因遺伝子候補を見出したが、原因遺伝子であるとするには更なる解析が必要で、今後機能解析も並行して進めていく。

ZNS の効果の個人差では、L-dopa 効果の高い比較的若い患者で効果が高い傾向は示しているが、高齢者での有効例と無効例の違いや W-O が明らかでも無効である患者の特徴抽出は困難であり、これらを規定する因子を明らかにする必要がある。

Wearing-off, dyskinesia の有無や、中心症状などは薬剤の影響も大きく PD の長い経過の中で変化していくが、一方で ZNS の効果は比較的長期に継続している。これらのことから、臨床特徴の抽出には、患者の長期にわたっての経過観察が不可欠で、これも加味した SNP 解析が必要である。

パーク 2 患者では MIBG 心筋シンチが正常を呈することが多い。このために早期パーキンソン病患者の診断はしばしば困難である。

E. 結論

孤発性 PD の確実な感受性遺伝子として SNCA に次いで、新規の PD 感受性遺伝子 *calbindin1* を同定し、論文報告した。イルミナ Hap550 アレイを用いて、患者約 1000 人、対照 2500 人（最終計 8296 検体）の Genome wide association study (GWAS) や、 α -synuclein 領域 ($P = 3.5 \times 10^{-16}$) の他に、全く新規の遺伝子が 3 個明らかにできると考えている。またゾニサミド薬剤感受性 SNP の同定を行った。また rare variant としてゴーシェ遺伝子変異が確実な PD リスクであることを明らかにした。

晩発性劣性遺伝性 PD 家系における連鎖解析により、新たな候補遺伝子領域を同定し、2 個の原因遺伝子候補を見出した。この新たな知見から PD の原因の究明、治療法の開発につながる可能性がある。

ZNS は比較的若い L-dopa 効果の明らかな症例で高い効果をえやすい。しかし、そのような症例でも無効例はあり、また高齢でこれらの運動合併症のない患者でも著効例が存在する。これらについて今後遺伝子多型での検索を進める。PD 長期経過を取り込む臨床データベースを構築し、これを加味した SNP 解析が必要である。

MIBG 心筋シンチにて正常値群ではパーク 2 の患者の可能性が高く、遺伝子検索が必要と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

(研究分担者の項参照)

2. 学会発表
(研究分担者の項参照)

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
特になし

11. 分担研究報告

ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テラーメード研究

研究代表者 戸田達史 大阪大学院臨床遺伝学 教授

（研究要旨）

我々は多因子遺伝疾患である孤発性パーキンソン病（PD）感受性遺伝子を明らかにするために、種々のアプローチを進めてきた。孤発性PDの確実な感受性遺伝子として *SNCA* に次いで、新規のPD感受性遺伝子 *calbindin1* を同定し、論文報告した。イルミナ Hap550 アレイを用いて、患者約 1000 人、対照 2500 人（最終計 8296 検体）の Genome wide association study (GWAS) や、 α -synuclein 領域 ($P=3.5 \times 10^{-16}$) の他に、全く新規の遺伝子が 3 個明らかにできると考えている。またゾニサミド薬剤感受性 SNP の同定を行った。また rare variant としてゴーシェ遺伝子変異が確実な PD リスクであることを明らかにした。

A. 研究目的

本研究では、1) SNP chip による全ゲノム関連解析を行い、疾患感受性遺伝子を 10 個以上同定、2) 抗パーキンソン薬の反応性、副作用と SNP の関連によるテラーメード治療法確立、3) 同定された疾患感受性遺伝子の機能解析、蛋白構造解析などに基づく日本発のパーキンソン病創薬、をめざす。

B. 研究方法、C. 研究結果

①候補遺伝子関連解析

我々は 121 個の候補遺伝子上の 268 個の SNPs を用いた大規模な関連解析により、 α -synuclein を確実なパーキンソン病 (PD) 感受性遺伝子として同定し、報告した。またさらに候補遺伝子を増やして、遺伝子型タイピングは患者 1403 人、対照 1938 人を対象に TaqMan 法で行った。合計 137 個の候補遺伝子上の 302 個の SNPs の関連解析、および連鎖不平衡解析により、 α -synuclein に続く第 2 の PD 遺伝子として、*calbindin1* を同定し ($P=7.1 \times 10^{-5}$, オッズ比 1.34)、論文報告した。

②500K SNP チップを用いた全ゲノム関連解析 (GWAS)

今回、Illumina 社 HumanHap550 アレイを用いて、PD 患者 1012 検体、コントロール 2573 検体の SNP 型を判定した。IBS 検定、Multidimensional scaling により、血縁者や非アジア人検体を除外し、患者 988

検体、コントロール 2521 検体で 438,886 SNP の関連解析を行った結果、最も有意であったのは、 α -synuclein 領域の SNP ($P=6.2 \times 10^{-13}$ (trend model)) であった。関連を認めた上位 384 SNP について、別の患者 894 検体、コントロール 3893 検体 (計 8296 検体) で replication 実験を行った。まだ解析途中であるが、 α -synuclein 領域 ($P=3.5 \times 10^{-16}$) の他に、全く新規の遺伝子が 3 個明らかにできると考えている。

③ゾニサミドの薬効に関連する SNP

また、ゾニサミド有効例・無効例間 (110 例) で同様の SNP chip による関連解析を行い、効果判定マーカーとなる多型を同定することを試みた。内 22 個以上の SNP が $P=10^{-5}$ 以下を示し、例えば CYP20A1 は C アレルをもつと無効例が多いなど、明らかに偏りがあった。

④rare variant とゴーシェ病

リポドーシスのひとつゴーシェ病患者で PD を合併する例が報告されたことから、PD における GBA 遺伝子変異の保因者頻度を調べた研究が世界中で行われている。GBA 遺伝子の全 11 エクソンとその近傍を PD 患者 534 人、対照 544 人リシーケンスして塩基配列変化の有無を調べ、11 種類の疾患原性点変異が同定された。ヘテロで持つ保因者は PD 患者 534 人中 50 人 (9.4%)、対照 544 人中 2 人 (0.37%) であり、PD と GBA 変異は強く関連していた

($p = 6.9 \times 10^{-14}$, オッズ比 28.0)。PD 患者で同定された変異は、日本人ゴーシェ病でみられる変異の分布とはかなり異なっていた。GBA 変異をもつ PD 患者の発症年齢 (52.5 ± 7.4) は変異を持たない PD 患者の発症年齢 (58.8 ± 10.7) よりも有意に低かった ($p < 0.001$)。親子または同胞で PD を発症している 34 家系について、GBA 変異を調べたところ、5 家系 (14.7%) において、家系内の患者で共通の変異がみられた。

D. 考察、E. 結論

SNP チップでは、同規模のプロジェクトが米国、ドイツで進行中であり、関連を認めた SNP に関しては、ドイツ人、米国人で再現性を検討し、PD 感受性 SNP を同定する。

また、ゾニサミド有効例・無効例間で効果判定マーカーとなる多型を組み合わせて検証する。

GBA 変異は確実な PD リスク因子であり、common disease multiple rare variant 仮説によるものである。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Mizuta I et al. *Hum Genet* 124:89-94, 2008

Tomiya H et al. *J Hum Genet* 53:1012-1015, 2008

Kumazawa R et al. *Arch Neurol* 65:802-808, 2008

Mitsui J et al. *Arch Neurol* (in press)

2. 学会発表

日本神経学会 2008

日本人類遺伝学会 2008

アメリカ人類遺伝学会 2008

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

特になし

ゲノム解析によるパーキンソン病遺伝子同定と創薬・テラーメード研究
研究分担者 服部 信孝 順天堂大学医学部脳神経内科

研究要旨

単一遺伝子異常が疑われる遺伝性パーキンソン病（FPD）につき、原因遺伝子の同定を目的とし、連鎖解析の手法でマーカー及び SNP アレイを用い解析を行った。晩発性劣性遺伝性 PD 家系における連鎖解析により、新たな候補遺伝子領域を同定し、2 個の原因遺伝子候補を見出した。この新たな知見から PD の原因の究明、治療法の開発につながる可能性がある。

A. 研究目的

単一遺伝子異常が疑われる遺伝性パーキンソン病（FPD）の解析を行う。原因遺伝子が次々に単離・同定されているが、FPD の半分以上は原因遺伝子が同定されていない。パーキンソン病の原因を解明し、治療に役立てるため、連鎖解析の手法で原因遺伝子を同定することを目的とする。

B. 研究方法

複数の FPD 家系および SPD 症例からマーカー及び SNP アレイ、直接シーケンス法を用い連鎖解析、遺伝子解析を行う。

（倫理面への配慮）

本研究は、大阪大学、順天堂大学の倫理委員会の承認に基づき行った。

C. 研究結果

劣性遺伝性でかつ晩発性の FPD の連鎖解析により、20 番染色体に連鎖することが判明した。そして候補領域から 2 個の原因遺伝子候補を見出した。

D. 考察

晩発性劣性遺伝性の FPD の連鎖解析により、20 番染色体に連鎖することが判明したことから、新たな遺伝子座、遺伝子の存在が示唆される。候補領域から 2 個の原因遺伝子候補を見出したが、原

因遺伝子であるとするには更なる解析が必要で、今後機能解析も並行して進めていく。

E. 結論

晩発性劣性遺伝性 PD 家系における連鎖解析により、新たな候補遺伝子領域を同定し、2 個の原因遺伝子候補を見出した。この新たな知見から PD の原因の究明、治療法の開発につながる可能性がある。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表
（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）
1. Ning Y, Kanai K, Tomiyama H, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Sato S, Asahina M, Kuwabara S, Takeda A, Hattori T, Mizuno Y, Hattori N, PARK9-linked parkinsonism in Eastern Asia: Mutation detection in ATP13A2 and clinical phenotype. *Neurology* 2008;70:1491-1493.
2. Ross OA, Wu YR, Lee MC, Funayama M, Chen ML, Soto AI, Mata IF, Lee-Chen GJ, Chen CM, Tang M, Zhao Y, Hattori N, Farrer MJ, Tan EK, Wu RM. Analysis of Lrrk2 R1628P as a risk factor for Parkinson's disease. *Ann Neurol*.

2008;64:88-92.

3. Kumazawa R, Tomiyama H, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Yoshino H, Yokochi F, Fukusako T, Takehisa Y, Kashihara K, Kondo T, Elibol B, Bostantjopoulou S, Toda T, Takahashi H, Yoshii F, Mizuno Y, Hattori N. Mutation analysis of the *PINK1* gene in 391 patients with Parkinson's disease. *Arch Neurol*. 2008;65:802-828.
4. Funayama M, Li Y, Tsoi TH, Lam CW, Ohi T, Yazawa S, Uyama E, Djaldetti R, Melamed E, Yoshino H, Imamichi Y, Takashima H, Nishioka K, Sato K, Tomiyama H, Kubo S, MD, Mizuno Y, Hattori N. Familial parkinsonism with digenic *parkin* and *PINK1* mutations. *Mov Disord*. 2008;23:1461-1465.
5. Tomiyama H, Kokubo Y, Sasaki R, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Mizuno Y, Hattori N, Kuzuhara S. Mutation analyses in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of Kii, Japan. *Mov Disord*. 2008;23:2344-2348.
6. Mellick GD, Siebert GA, Funayama M, Buchanan DD, Li Y, Imamichi Y, Yoshino H, Silburn PA, Hattori N. Screening PARK Genes for Mutations in Early Onset Parkinson's Disease Patients from Queensland, Australia. *Parkinsonism & Related Disorders* 2008 May 15. [Epub ahead of print].
7. Momma K, Funayama M, Li Y, Ichinose H, Motoyoshi K, Hattori N, Mizuno Y, Kamakura K. A new mutation in the *GCH1* gene presents as early-onset Parkinsonism. *Parkinsonism & Related Disorders* 2008 May 27. [Epub ahead of print].
8. Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo S, Mizuno Y, Toda T, Hattori N. *LRRK2 P755L* variant in sporadic Parkinson's disease. *J Hum*

Genet 2008; 53:1012-1015.

9. Mizuta, I, Tsunoda, T, Satake, W, Nakabayashi, Y, Watanabe, M, Takeda, A et al., (2008) Calbindin 1, fibroblast growth factor 20, and alpha-synuclein in sporadic Parkinson's disease. *Hum Genet* 124: 89-94.
10. Ross, OA, Braithwaite, AT, Skipper, LM, Kachergus, J, Hulihan, MM, Middleton, FA et al., (2008) Genomic investigation of alpha-synuclein multiplication and parkinsonism. *Ann Neurol* 63: 743-50.

総説

1. Mizuno Y, Hattori N, Kubo SI, Sato S, Nishioka K, Hatano T, Tomiyama H, Funayama M, Machida Y, Mochizuki H. Review. Progress in the pathogenesis and genetics of Parkinson's disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2008;27;363:2215-2227.
2. 服部信孝、遺伝性パーキンソン病の遺伝子産物の機能解析から黒質神経変性のメカニズムを探る、*脳*2111巻3号 Page372-376
3. 服部信孝、久保紳一郎、ここまでわかったパーキンソン病 (PD) の成因 遺伝性PDの病態からわかったこと、*臨床神経学*、47巻11号 Page774-778
2. 学会発表
 1. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 水野美邦, 服部信孝. Autosomal recessive late onset parkinsonism の原因遺伝子探索. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5月16日, 2008.
 2. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝. *NDUFV2*^{+/+} マウスにおける MPTP 感受性の検討. 生体機能と創薬シンポジウム 2008 東京, 東京, 9月5日, 2008.

3. 船山学, 吉野浩代, 今道洋子, 李元哲, 李林, 増田浩美, 板谷昌子, 高梨雅史, 高嶋博, 松浦英治, 有村公良, 野元三治, 富山弘幸, 久保紳一郎, 水野美邦, 服部信孝. Autosomal recessive late onset parkinsonismの原因遺伝子探索. 第2回 Movement Disorder Society, Japan 学術集会, 京都, 10月4日, 2008.
4. 船山学, 大橋聡, 市川直樹, 今井哲司, 山本庄司, 日下弘道, 板谷昌子, 平澤恵理, 水野美邦, 服部信孝. NDUFV2^{+/+} マウスにおけるMPTP感受性の検討. 第8回日本ミトコンドリア学会年会, 東京, 12月20日, 2008.
5. 富山弘幸, 高橋祐二, 関尚美, 高橋裕秀, 村田美穂, 山本光利, 戸田達史, 後藤順, 服部信孝, 辻省次. 常染色体優性遺伝性パーキンソン病におけるLRRK2変異解析 (2008 日本神経学会総会, 横浜)
6. Tomiyama H, Hattori N. Genetic Epidemiology Of Parkinson's Disease Consortium 3rd annual meeting data blitz from Juntendo University, Japan (2008 3rd GEO-PD. Norway, Trondheim).
7. Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo S, Toda T, Mizuno Y, MD Nobutaka Hattori, LRRK2 P755L variant in Japanese sporadic Parkinson's disease. (2008 3rd GEO-PD. Norway, Trondheim).
8. 富山弘幸, 水田依久子, 李元哲, 船山学, 吉野浩代, 李林, 村田美穂, 山本光利, 久保紳一郎, 水野美邦, 戸田達史, 服部信孝 孤発性パーキンソン病における LRRK2 P755L (2008 MDSJ, 京都)
9. 富山弘幸, 小久保康昌, 佐々木良元, 李元哲, 今道洋子, 船山学, 水野美邦, 服部信孝, 葛原茂樹. 紀伊半島 Amyotrophic Lateral Sclerosis /parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)の候補遺伝子解析 (2008 平成20年度 神経変性疾患に関する調査研究班班会議, 東京)
10. Hattori N, Parkinson's Disease genetics in Asia, GEO-PD meeting, Norway, 2008. 6. 9
11. Hattori N, Chair. Parallel Session: Genetics of Parkinson's Disease: Dominant, recessive and complex associations including Gaucher's disease. MDS 12th International Congress Session, Chicago, 2008. 6. 25

H.知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

ゾニサミドの抗パーキンソン効果の個体差についての研究

研究分担者 村田美穂 国立精神・神経センター病院 部長

研究要旨

分担研究者が抗パーキンソン作用を発見したゾニサミドについて、その効果の個体差を決定する因子を明らかにするために110例について効果と初発症状、運動合併症等との関連を検索した。ゾニサミドは比較的若年のL-dopa効果の明らかな患者に効果が高い傾向があったが、運動合併症のない高齢者でも多数の著効例を認め、今後、効果に関連するSNP解析を進める。臨床との関連では長期経過を加味した解析が必要であるので、長期効果を取り込む臨床データベースの構築が必要である。

A. 研究目的

分担研究者が抗パーキンソン作用を発見したゾニサミド(ZNS)は進行期患者でも著明な効果を示すことが多いが、中には効果が明らかでない患者もあり、その差が大きい。この個人差を明らかにして、パーキンソン病(PD)のオーダーメイド医療を確立する。

B. 研究方法

ZNSを服用中の患者で投与前投与後12週の臨床症状を評価でき、同意を得られたPD患者110名について、投与前の臨床症状の特徴、ZNS投与による症状の変化について統一パーキンソン病評価スケール(UPDRS)にて評価し、振戦型、固縮無動型、混合型にわけ、その効果の違いについて検討した。この110名については主任研究者がGWASを用いた効果に関する関連解析を行った。

さらに、その効果の持続を評価するために、5-9年間観察しえた8例について長期効果を評価した。

(倫理面への配慮)

国立精神・神経センター倫理委員会の承認のもと、個人情報の管理には十分な注意を払って行った。

C. 研究結果

1) ZNSの効果の個人差

PD患者110例(男性55例女性55例)のうち、著

効例(UPDRS IIIで30%以上改善)56例(男性25例、女性31例)、有効例(UPDRS IIIで10%以上改善)39例(男性21例、女性18例)、無効(その他)16例(男性9例、女性7例)であった。

平均発症年齢は著効例(52.0歳、22-77歳)、有効例(55.1歳、28-76歳)、無効例(58.6歳、46-74歳)、採血時平均年齢は著効例(61.6歳、28-82歳)、有効例(64.8歳、42-84歳)、無効例(65.9歳、49-78歳)と、著効例で平均発症年齢、平均採血時年齢が低い傾向にあったが、これは、40歳未満発症の若年性パーキンソニズムが前例有効—著効群であったことにより、若年発症者で効果が高いとはいえるが、高齢者では著効例が少ないわけではなかった。

初発症状が振戦である割合が有効、著効群では70%前後であるが無効群では58.3%とやや低く、無動、歩行障害がやや多い傾向はあった。

Wearing-off現象(+)の割合は有効、著効群では33%前後であるが無効群では21.4%とやや低く、特に著効群では中等度以上のWearing-off現象を認める割合が高かった。

2) ZNSの長期効果

① ZNS投与にて、3ヶ月以内に明らかな効果を経験した患者は3年程度はほぼ同様の状態を維持でき、その後他の抗PD薬を増量することはあるが、長期にわたり比較的良好な状態を維持できる。

② 上記有効例では投与開始数年後であってもZNSを中止すると明らかな症状の悪化を認める。

D. 考察

L-dopa 効果の高い比較的若い患者で効果が高い傾向は示しているが、高齢者での有効例と無効例の違いやW-Oが明らかでも無効である患者の特徴抽出は困難であり、これらを規定する因子を明らかにする必要がある。

Wearing-off, dyskinesiaの有無や、中心症状などは薬剤の影響も大きくPDの長い経過の中で変化していくが、一方でZNSの効果は比較的長期に継続している。これらのことから、臨床特徴の抽出には、患者の長期にわたっての経過観察が不可欠で、これも加味したSNP解析が必要である。

E. 結論

ZNSは比較的若いL-dopa効果の明らかな症例で高い効果をえやすい。しかし、そのような症例でも無効例はあり、また高齢でこれらの運動合併症のない

患者でも著効例が存在する。これらについて今後遺伝子多型での検索を進める。

PD長期経過を取り込む臨床データベースを構築し、これを加味したSNP解析が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

- | | |
|-----------|----|
| 1. 特許取得 | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし |

研究要旨

209名のパーキンソン病患者においてMIBG心筋シンチ検査とパーキン遺伝子の検索を行った。正常MIBG心筋シンチの値を呈した患者の1/3でパーク2患者であり、之は全パーキンソン病患者の5%を占めていた。MIBG心筋シンチ検査が正常なパーキンソン病患者ではパーキン遺伝子の検索が必要であると示唆された。

A.研究目的

当科通院中のパーキンソン病患者の症状解析（アンケート、診察、カルテ解析）を行うとともに、DNAの追加採取を行う。関連問題抽出するが、今年度はセロトニン受容体の遺伝子多型とドパミンアゴニストによる繊維症の関連、および、パーキンソン病における心臓交感神経機能の検索を行う。

B.研究方法

パーキンソン病患者背景の調査とDNA採取、心臓交感神経検査のためのMIBG心筋シンチ検査の実施を行った。

(倫理面への配慮)

原則として文書同意を得た（正常対照群にて）
院内倫理委員会承認済み

C.研究結果

MIBG心筋シンチにて正常値群の1/3はパーク2患者であることが判明した。これは対照としたパーキンソン病全患者の5%であった。

D.考察

パーク2患者ではMIBG心筋シンチが正常を呈することが多い。このために早期パーキンソン病

患者の診断はしばしば困難である。

E.結論

MIBG心筋シンチにて正常値群ではパーク2の患者の可能性が高く、遺伝子検索が必要と考えられた。

F.健康危険情報

なし。

G.研究発表

1. 論文発表
（発表誌名巻号・頁・発行年等も記入）
なし。

2. 学会発表

なし。

H.知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他

特記なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Kanagawa M, Toda T.	Fukutin and Fukuyama congenital muscular dystrophy.	Taniguchi. N, et.al. eds	Glycoscience Lab Manual	Elsevier Japan	Japan	2008	309-312

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
Kumazawa R, Tomiyama H, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Yoshino H, Yokochi F, Fukusako T, Takehisa Y, Kashiwara K, Kondo T, Elibol B, Bostantjopoulou S, Toda T, Takahashi H, Yoshii F, Mizuno Y, Hattori N.	Mutation analysis of the PINK1 gene in 391 patients with Parkinson disease.	Arch Neurol	65	802-808	2008
Mizuta I, Tsunoda T, Satake W, Nakabayashi Y, Watanabe M, Takeda A, Hasegawa K, Nakashima K, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T.	Calbindin 1, fibroblast growth factor 20, and α -synuclein in sporadic Parkinson's disease.	Hum Genet	124	89-94	2008
Sato S, Omori Y, Katoh K, Kondo M, Kanagawa M, Miyata K, Funabiki K, Koyasu T, Kajimura N, Miyoshi T, Sawai H, Kobayashi K, Tani A, Toda T, Usukura J, Tano Y, Fujikado T, Furukawa T.	Pikachurin, a dystroglycan ligand, is essential for photoreceptor ribbon synapse formation.	Nature Neurosci	11	923-931	2008

Fujikake N, Nagai Y, Popiel HA, Okamoto Y, Yamaguchi M, Toda T.	Heat shock transcription factor 1-activating compounds suppress polyglutamine-induced neurodegeneration through induction of multiple molecular chaperones.	J Biol Chem	283	26188-26197	2008
Wakayama Y, Inoue M, Kojima H, Yamashita S, Shibuya S, Jimi T, Hara H, Matsuzaki Y, Oniki H, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T.	Reduced expression of sarcospan in muscles of Fukuyama congenital muscular dystrophy.	Histol Histopathol	23	1425-1438	2008
Tomiyama H, Mizuta I, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Li L, Murata M, Yamamoto M, Kubo SI, Mizuno Y, Toda T, Hattori N.	LRRK2 P755L variant in sporadic Parkinson's disease.	J Hum Genet	53	1012-1015	2008
Popiel HA, Nagai Y, Fujikake N, Toda T.	Delivery of the aggregate inhibitor peptide QBP1 into the mouse brain using PTDs and its therapeutic effect on polyglutamine disease mice.	Neurosci Lett	449	87-92	2009
Kanagawa M, Nishimoto A, Chiyonobu T, Takeda S, Miyagoe-Suzuki Y, Wang F, Fujikake N, Taniguchi M, Lu Z, Tachikawa M, Nagai Y, Tashiro F, Miyazaki J, Tajima Y, Takeda S, Endo T, Kobayashi K, Campbell KP, Toda T.	Residual laminin-binding activity and enhanced dystroglycan glycosylation by LARGE in novel model mice to dystroglycanopathy.	Hum Mol Genet	18	621-631	2009
Okamoto Y, Nagai Y, Fujikake N, Popiel HA, Yoshioka T, Toda T, Inui T.	Surface plasmon resonance characterization of specific binding of polyglutamine aggregation inhibitors to the expanded polyglutamine stretch.	Biochem Biophys Res Commun	378	634-639	2009
Tomita K, Popiel HA, Nagai Y, Toda T, Yoshimitsu Y, Ohno H, Oishi S, Fujii N.	Structure-activity relationship study on polyglutamine binding peptide QBP1.	Bioorg Med Chem	17	1259-1263	2009