

200907001B

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

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

総合研究報告書

(平成19年度～平成21年度)

研究代表者 戸田 達史

神戸大学大学院医学研究科神経内科

平成22(2010)年 10月

目 次

I. 総合 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・テラーメード研究-----	1
神戸大学大学院医学研究科神経内科	戸田 達史
II. 総合 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・テラーメード研究---	7
神戸大学大学院医学研究科神経内科	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・テラーメード研究---	10
順天堂大学医学部脳神経内科	服部 信孝
3. 抗パーキンソン病薬の個体差に関する研究-----	15
国立精神・神経医療研究センター神経内科診療部	
	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・テラーメード研究---	18
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 -----	21
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----	35

1. 総合 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・テラーメード研究

研究代表者 戸田達史 神戸大学大学院医学研究科神経内科 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。日本人のPD 2,011検体、対照18,381検体を用いて、ゲノムワイド関連解析と2つの再現研究を行い、1q32 ($P = 1.52 \times 10^{-12}$, *PARK16*) と、4p15 ($P = 3.94 \times 10^{-9}$) に、新しいPD感受性遺伝子座を同定した。さらに、 α -synuclein (4q22, $P = 7.35 \times 10^{-17}$) と *LRRK2* (12q12, $P = 2.72 \times 10^{-8}$) の領域に疾患感受性を検出した。白人集団の関連解析の結果と比較することにより、我々は、人種間で共通したPDリスク遺伝子座として、*PARK16*、*SNCA*、*LRRK2*、人種差を示す遺伝子座として、*BST1*と*MAPT*を見出した (Nat Genet 2009)。候補遺伝子関連解析から*calbindin1*を同定した。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複数同定し、原因遺伝子候補を見出した。抗パーキンソン病薬の効果はいずれも個体差があるが、特に個体差が大きいとされるゾニサミドとエンタカポン (COMT阻害薬) の効果予測を行った。心エコーでは麦角系ドパミンアゴニストで用量依存性に心臓弁膜症の増加を確認した。

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・神経医療研究センター神経内科診療部・部長
山本 光利 香川県立中央病院神経内科・主任部長

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16万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)

戸田は日本人のPD 2,011検体、対

照 18,381検体を用いて、ゲノムワイド関連解析と2つの再現研究を行った。我々は、新しいPD感受性遺伝子座を、1q32 ($P = 1.52 \times 10^{-12}$)と4p15 ($P = 3.94 \times 10^{-9}$)に同定した。さらに、疾患との強い関連を、*SNCA*(4q22, $P = 7.35 \times 10^{-17}$)と*LRRK2*(12q12, $P = 2.72 \times 10^{-8}$)の領域に検出した。白人集団の関連解析の結果と比較することにより、我々は、人種間で共通したPDリスク遺伝子座として、*PARK16*、*SNCA*、*LRRK2*、人種差を示す遺伝子座として、*BST1*と*MAPT*を見出した。すなわちPD発症に関わる、2つの新しい遺伝子座を同定した。また、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子の、典型的PDへの関与を証明した。さらに、人種差が、PDの遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。

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)

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。晩発性および血族婚のある劣性遺伝性 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複数同定し、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。

⑥抗パーキンソン病薬の個体差に関する研究 (村田)

抗パーキンソン病薬の効果はいずれも個体差があるが、特に個体差が大きいとされるゾニサミドとエンタカポン (COMT 阻害薬) の効果予測を行った。ゾニサミドは著効例・有効例では無効例に比較して振戦発症例および wearing off 現象出現例が多い傾向にあったが、臨床的に著効例、有効例と無効例を判別する特徴は抽出できず、SNP 検索等を進める必要があると考えられた。エンタカポンは COMT 活性が低い症例では効果は期待できないことから、L-dopa 服用時の L-dopa, 30MD

濃度から、無効例を抽出する推測式を得た。COMT 阻害薬併用時と非併用時の L-dopa 動態測定から、COMT 阻害により L-dopa 半減期が延長しても、必ずしも自覚的な on 時間延長には結びつかない例があることから、効果の程度の予測は困難と考えられた。

⑦パーキンソン病と心臓交感神経機能 (山本)

山本は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、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った。心エコーでは麦角系ドパミンアゴニストで用量依存性に心臓弁膜症の増加を確認した。MIBG 検査では初期パーキンソン病患者での正常者が 10-15% 存在したがこれらが全てパーキンソン病であるかは今後の検討を要する。今後の観察が必要である。

D. 考察

新規の PD 感受性遺伝子 *calbindin1* を同定した。*Calbindin1* はカルシウム結合蛋白であり、PD 患者の黒質で *calbindin1* 陰性神経の脱落が陽性神経の脱落よりも強いことから、神経保護作用を持つと考えられている。組み合わせ解析から、*calbindin1* は α -synuclein とは独立に、一方、*FGF20* は α -synuclein と相互的に、PD 発症に関与していることが示唆される。

SNP チップでは、*PARK16* の発現量的形質座解析より、この領域の責任遺伝子として、*NUCKS1* が最も有力と考えた。

また、*BST1*の発見は、細胞内のカルシウム恒常性の重要性を示唆した。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。

晩発性および血族婚のある劣性遺伝性の FPD の連鎖解析により、新たな遺伝子座、遺伝子の存在が示唆された。候補領域から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 においては著効例と無効例で臨床的な特徴を抽出することは困難で、SNP 解析と遺伝素因を明らかにする必要がある。COMT 阻害薬 (エンタカポン) では、L-dopa 動態の改善が必ずしも自覚的な wearing-off 現象の改善に結びつかないことから、有効性を L-dopa 及びその代謝産物から正確に予測するのは困難であった。しかし、もともと、COMT 活性が低い群では COMT 阻害薬の効果は期待できないことから、COMT 活性の指標として、L-dopa Cmax 及び $\Delta 30MD$ 値からの推測式、 $(\Delta 30MD - 0.42) / L-dopa Cmax < 0.165$ 無効 は有用と考えられた。

心エコーでは麦角系ドパミンアゴニストで用量依存性に心臓弁膜症の増加を確認したことは新知見でありドパミンアゴニストの安全な使用に寄与すると考える。

E. 結論

PD発症に関わる、2つの新しい遺伝子座を同定した。また、常染色体優性遺伝性PDの原因遺伝子の、典型的PD

への関与を証明した。さらに、人種差が、PDの遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。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複数同定し、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。

抗パーキンソン病薬の効果はいずれも個体差があるが、特に個体差が大きいとされるゾニサミドとエンタカポン (COMT 阻害薬) の効果予測を行った。ゾニサミドは著効例・有効例では無効例に比較して振戦発症例およびwearing off 現象出現例が多い傾向にあったが、臨床的に著効例、有効例と無効例を判別する特徴は抽出できず、SNP検索等を進める必要があると考えられた。

麦角系ドパミンアゴニストで用量依存性に心臓弁膜症の増加があり、高用量の使用は危険があるので注意を要する。

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。)

パーキンソン病発症リスクマーカー
出願番号：特願2010-112507
出願日：2010年5月14日

II. 総合 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 神戸大学大学院医学研究科神経内科 教授
研究協力者 佐竹 渉 神戸大学大学院医学研究科神経内科 助教

（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。日本人の PD 2,011 検体、対照 18,381 検体を用いて、ゲノムワイド関連解析と2つの再現研究を行い、1q32 ($P=1.52 \times 10^{-12}$, *PARK16*) と、4p15 ($P=3.94 \times 10^{-9}$) に、新しい PD 感受性遺伝子座を同定した。さらに、 α -synuclein (4q22, $P=7.35 \times 10^{-17}$) と *LRRK2* (12q12, $P=2.72 \times 10^{-8}$) の領域に疾患感受性を検出した。白人集団の関連解析の結果と比較することにより、我々は、人種間で共通した PD リスク遺伝子座として、*PARK16*、*SNCA*、*LRRK2*、人種差を示す遺伝子座として、*BST1* と *MAPT* を見出した (Nat Genet 2009)。候補遺伝子関連解析から *calbindin1* を同定した。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)

日本人の PD 2,011 検体、対照 18,381 検体を用いて、ゲノムワイド関連解析と2つの再現研究を行った。我々は、新しい PD 感受性遺伝子座を、1q32 ($P=1.52 \times 10^{-12}$) と 4p15 ($P=3.94 \times 10^{-9}$) に同定した。さらに、疾患との強い関連を、*SNCA* (4q22, $P=7.35 \times 10^{-17}$) と *LRRK2* (12q12, $P=2.72 \times 10^{-8}$) の領域に検出した。白人集団の関連解析の結果と比較することにより、我々は、人種間で共通した PD リスク遺伝子座として、*PARK16*、*SNCA*、*LRRK2*、人種差を示す遺伝子座として、*BST1* と *MAPT* を見出した。すなわち PD 発症に関わる、2つの新しい遺伝子座を同定した。また、常染色体優性遺伝性 PD の原因遺伝子の、典型的 PD への関与を証明した。さらに、人種差が、PD の遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。

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 ($p = 6.9 \times 10^{-14}$, 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

新規の PD 感受性遺伝子 *calbindin1* を同定した。Calbindin1 はカルシウム結合蛋白であり、PD 患者の黒質で *calbindin1* 陰性神経の脱落が陽性神経の脱落よりも強いことから、神経保護作用を持つと考えられている。組み合わせ解析から、*calbindin1* は α -synuclein とは独立に、一方、*FGF20* は α -synuclein と相互的に、PD 発症に関与していることが示唆される。

SNP チップでは、*PARK16* の発現量的形質座解析より、この領域の責任遺伝子として、*NUCKS1* が最も有力と考えた。

また、*BST1* の発見は、細胞内のカルシウム恒常性の重要性を示唆した。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で検証する。

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。

E. 結論

PD 発症に関わる、2 つの新しい遺伝子座を同定した。また、常染色体優性遺伝性 PD の原因遺伝子の、典型的 PD への関与を証明した。さらに、人種差が、PD の遺伝的不均一性に、寄与していることを示唆した。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。

F. 健康危険情報 特になし

G. 研究発表

1. 論文発表
1. Funayama M et al. *Neuroreport* 18:273-275, 2007
2. Satake W et al. *Neuroreport* 18:937-940, 2007
3. Nagai Y et al. *Nature Struct Mol Biol* 14:332-340, 2007
4. Kano H et al. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:19034-19039, 2007
5. Mizuta I et al. *Hum Genet* 124:89-94, 2008
6. Tomiyama H et al. *J Hum Genet* 53:1012-1015, 2008

7. Kumazawa R et al. *Arch Neurol* 65:802-808, 2008
8. Satake W et al. *Nature Genetics*. 41:1303-1307, 2009
9. Sidransky E et al. *New England Journal of Medicine*. 361: 1651-1661, 2009
10. Krüger R et al. *Neurobiol Aging* in press.
11. Mitsui J et al. *Arch Neurol*. 66:571-576, 2009
12. Tomiyama H et al. *Neurosci Lett*. 455:159-161, 2009

日本人類遺伝学会 2007
 アメリカ人類遺伝学会 2007
 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
 アメリカ人類遺伝学会 2009
 国際運動障害学会 2009

H. 知的財産権の出願・登録状況
 (予定を含む。)

パーキンソン病発症リスクマーカー
 出願番号：特願2010-112507
 出願日：2010年5月14日

2. 学会発表

日本神経学会 2007

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

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。晩発性および血族婚のある劣性遺伝性 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複数同定し、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、新たな候補遺伝子領域を複数同定した。そして候補領域から原因遺伝子候補を見出した。

D.考察

晩発性および血族婚のある劣性遺伝性の FPD の連鎖解析により、新たな遺伝子座、遺伝子の存在が示唆された。候補領域から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複数同定し、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

2007 年度

1. 論文発表

1. Funayama M, Li Y, Tomiyama H, Yoshino H, Imamichi Y, Yamamoto M, Murata M, Toda T, Mizuno Y, Hattori N: LRRK2 G2385R variant is a risk factor for Parkinson disease in Asian population NeuroReport 18:273-275, 2007
2. Ishihara L, Gibson RA, Warren L, Amouri R, Lyons K, Wielinski C, Hunter C, Swartz JE, Elango R, Akkari PA, Leppert D, Surh L, Reeves KH, Thomas S, Ragone L, Hattori N, Pahwa R, Jankovic J, Nance M, Freeman A, Guider-Khouja N, Kefi M, Zouari M, Ben Sassi

- S, Ben Yahmed S, El Euch-Fayeche G, Middleton L, Burn DJ, Watts RL, Hentati F. Screening for Lrrk2 G2019S and clinical comparison of Tunisian and North American Caucasian Parkinson's disease families. *Mov Disord.* 2007;22:55-61, 2007
3. Ihara M, Yamasaki N, Hagiwara A, Tanigaki A, Kitano A, Hikawa R, Tomimoto H, Noda M, Takanashi M, Mori H, Hattori N, Miyakawa T, Kinoshita M. Sept4, a Component of Presynaptic Scaffold and Lewy Bodies, Is Required for the Suppression of alpha-Synuclein Neurotoxicity. *Neuron* 53:519-33, 2007
4. Ephraty L, Porat O, Israeli D, Cohen OS, Tunkel O, Yael S, Hatano Y, Hattori N, Hassin-Baer S. Neuropsychiatric and cognitive features in autosomal-recessive early parkinsonism due to PINK1 mutations. *Mov Disord.* 22: 566-569, 2007
5. Kono S, Shirakawa K, Ouchi Y, Sakamoto M, Ida H, Sugiura T, Tomiyama H, Suzuki H, Takahashi Y, Miyajima H, Hattori N, Mizuno Y. Dopaminergic neuronal dysfunction associated with parkinsonism in both a Gaucher disease patient and a carrier. *J Neurol Sci.* 252:181-184, 2007
6. Hatano T, Kubo S, Imai S, Maeda M, Ishikawa K, Mizuno Y, Hattori N. Leucine-rich repeat kinase 2 associates with lipid rafts. *Hum Mol Genet.* 16:678-690, 2007
7. Obi T, Nishioka K, Owen A, Ross OA, Terada T, Yamazaki K, Sugiura A, Takanashi M, Mizoguchi K, Mori H, Mizuno Y, Hattori N. Clinicopathological study of a SNCA gene duplication patient with Parkinson disease and dementia *Neurology.* 70: 238-241, 2008
2. 学会発表
服部信孝、ミトコンドリア機能障害と神経変性、合同年会 第29回日本生物学的精神医学
会 第37回日本神経精神薬理学会、札幌、2007年7月12日
服部信孝、ミトコンドリア異常と精神疾患、Neuro2007 (第30回日本神経科学大会・第50回日本神経化学学会大会・第17回日本神経回路学会大会)、パシフィコ横浜、2007年9月11日
服部信孝、遺伝性パーキンソン病の発症メカニズム。「病態脳」平成19年度夏の班会議。2007年8月21日、札幌
Nobutaka Hattori, Clinical Features and Molecular mechanisms of Nigral Neuronal Death in Parkinsonism with parkin Gene Mutation (PARK2), Taiwan Movement disorders, Taiwan, 2007. 4. 7
Nobutaka Hattori, Pathogenesis of PD: insight obtained from inherited PD, ADPD Korea Japan Joint Meeting, Korea, 2007. 4. 14
Nobutaka Hattori, Protein Degradation System in Parkinson's disease, the 19th Annual Meeting of KSMCB, Korea, 2007. 10. 19
Nobutaka Hattori, The role of ubiquitin - proteasome system in Parkinson's Disease Duration of Lecture, 1st Asian and Oceania Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress, Singapore, 2007. 10. 21
Nobutaka Hattori, Molecular Genetics & Biology in Parkinson's Disease: Concepts, Approach & Methodology, 1st Asian and Oceania Parkinson's Disease and Movement Disorders Congress, Singapore, 2007. 10. 22

2008 年度

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, GEOPD 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, Chicaga, 2008. 6. 25
- 2009 年度
1. 論文発表
 - 1) 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*. 2009; 105-109
 - 2) Fukae J, Sato S, Shiba K, Sato K, Mori H, Sharp PA, Mizuno Y, & Hattori N. Programmed cell death-2 isoform1 is ubiquitinated by parkin and increased in the substantia nigra of patients with autosomal recessive Parkinson's disease. *FEBS Lett*. 2009; **583**: 521-5.
 - 3) Sasaki K, Shimura H, Itaya M, Tanaka R, Mori H, Mizuno Y, Kosik KS, Tanaka S, &

Hattori N. Excitatory amino acid transporter 2 associates with phosphorylated tau and is localized in neurofibrillary tangles of tauopathic brains. *FEBS Lett.* 2009;**583**:2194-200.

- 4) Satake W, Nakabayashi Y, Mizuta I, Hirota Y, Ito C, Kubo M, Kawaguchi T, Tsunoda T, Watanabe M, Takeda A, Tomiyama H, Nakashima K, Hasegawa K, Obata F, Yoshikawa T, Kawakami H, Sakoda S, Yamamoto M, Hattori N., Murata M, Nakamura Y, & Toda T. Genome-wide association study identifies common variants at four loci as genetic risk factors for Parkinson's disease. *Nat Genet.* 2009 ;**41**:1303-7
- 5) Tomiyama H, Li Y, Yoshino H, Mizuno Y, Kubo S, Toda T, & Hattori N. Mutation analysis for DJ-1 in sporadic and familial parkinsonism: Screening strategy in parkinsonism. *Neurosci Lett* 2009;**455**:159-61.
- 6) Kawajiri S, Saiki S, Sato S, Sato F, Hatano T, Eguchi H, & Hattori N. PINK1 is recruited to mitochondria with parkin and associates with LC3 in mitophagy *FEBS Lett.* 2010 **584**:1073-9.

G.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

抗パーキンソン病薬の個体差に関する研究

研究分担者 村田美穂 国立精神・神経医療研究センター神経内科診療部 部長

研究要旨

抗パーキンソン病薬の効果はいずれも個体差があるが、特に個体差が大きいとされるゾニサミドとエンタカポン(COMT 阻害薬)の効果予測を行った。ゾニサミドは著効例・有効例では無効例に比較して振戦発症例および wearing off 現象出現例が多い傾向にあったが、臨床的に著効例、有効例と無効例を判別する特徴は抽出できず、SNP 検索等を進める必要があると考えられた。エンタカポンは COMT 活性が低い症例では効果は期待できないことから、L-dopa 服用時の L-dopa, 30MD 濃度から、無効例を抽出する推測式を得た。COMT 阻害薬併用時と非併用時の L-dopa 動態測定から、COMT 阻害により L-dopa 半減期が延長しても、必ずしも自覚的な on 時間延長には結びつかない例があることから、効果の程度の予測は困難と考えられた。

A.研究目的

パーキンソン病においては、抗パーキンソン病薬は一定の効果を示すが、効果の程度は個体差が大きい。とくに、COMT 阻害薬やゾニサミド(ZNS)など付加薬に相当する薬剤はすでにL-dopa やドパミンアゴニストが投与されており、それに加えて処方されているため、効果がわかりにくかったり、効果がはっきりしないのに、漫然と投与されていたりすることがあり、これらの薬剤の効果を実測することは、医療上も医療経済上も極めて重要である。本研究では、ZNS と COMT 阻害薬について薬物効果予測方法を作成することを目的とした。

B.研究方法

1) ZNS

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。

2) COMT 阻害薬

2008 年 9 月より 2010 年 3 月までに当院で診療目的で L-dopa 濃度測定を施行した 100 例のうち、空腹時 L-dopa+DCI 100mg にて検査を行った、パーキンソン病患者 51 例(L-dopa 初回服用者 10 例、L-dopa 1 年以上服用したもののうち、COMT 阻害薬未服用 21 例、COMT 阻害薬 6ヶ月以上服用 20 例)の結果を後方視的に解析した。L-dopa 濃度測定はすでに報告されている我々の方法(Murata M, et al. J Neural Transm. 1996;103:1177-1185)により施行し、HPLC-ECD にて L-dopa, 30MD, DA, DOPAC, HVA を測定した。

(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、個人情報管理には十分な注意を払って行った。

C.研究結果・考察

1)ZNS

PD 患者 110 例のうち、著効例(UPDRS III で 30%以上改善)56 例)、有効例(UPDRS III で 10%以上改善)39 例、無効(その他)16 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ンズムが全例有効—著効群であったことによる。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であった。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。

ゾニサミドでは、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臨床的には困難で、SNP 解析等の検索が重要と考えられた。

2)COMT 阻害薬

①L-dopa 初回服用例では平均 3OMD Cmax は 3.9nmol/ml(2.1-5.7)であった。

②COMT 阻害薬非服用患者(平均年齢 63.3 歳)

3OMD の前値は L-dopa 投与量とよく相関した($y=0.0569x -5.3946$, $R^2=0.6547$, $p<0.001$)し、L-dopa Cmax と delta 3OMD は $y=0.3326x+0.4226$, $R^2=0.3919$ と弱い相関 Delta 3OMD は COMT 活性とともに L-dopa の吸収量にも依存する。L-dopa 吸収量は L-dopa Cmax より推定可能であるため、L-dopa Cmax が非常に高いが delata 3OMD が低値である場合には、COMT 活性が低いと考えられるが、L-dopa Cmax, delta 3OMD とともに低い場合は L-dopa 吸収効率が低いと考えられ、COMT 活性についての評価は困難である。

以上より、 $y=0.3326x+0.4226$ から 50%以上外れて、L-dopa Cmax に比較して delta 3OMD が低い場合を COMT 阻害薬効果不良例及び 50%以上高い場合を

高い効果を期待できる例と推定した。

(delta 3OMD-0.42)/L-dopa Cmax <0.165 無効例
(delta 3OMD-0.42)/L-dopa Cmax >0.495 著効例

③COMT 阻害薬服用例(平均年齢 62.3 歳)

検査時は COMT 阻害薬を併用していないが、前日まで併用しているため、3OMD 前値は COMT 阻害薬非併用例に比較して低く、L-dopa 投与量とは相関しない。L-dopa Cmax と delta 3OMD との関連は弱いが 50%以上外れる症例を除くと COMT 阻害薬非併用例とほぼ同じになった。

そのため、上記式にあてはめたところ、(delta 3OMD-0.42)/L-dopa Cmax <0.165 に該当するのは 2 例、(delta 3OMD-0.42)/L-dopa Cmax >0.495 は 2 例であった。

上記式から無効例と推定された 2 例はいずれも、前医から COMT 阻害薬を投与されていたが、効果の自覚はなく、当院入院後中止しても変化は認めなかった。一方、著効例と推定された 2 例はある程度の効果を認めたが、著効ではなかった。

COMT 阻害薬併用中の 20 例中 4 例は COMT 阻害薬併用での L-dopa test も施行した。4 例はいずれも上記式では平均的な値であったが、うち 1 例は COMTI 併用時と非併用時で L-dopa 動態の変化を認めなかった。一方残り 3 例はいずれも半減期の延長を認めたが、1 例は on 時間の明らかな改善は認めなかった。

以上より、L-dopa の半減期が長くなることが必ずしも on 時間の延長に一致せず、その結果、COMT 阻害薬の効果は COMT 活性の変化のみでは説明できないことが示された。

E. 結論

ZNS においては著効例と無効例で臨床的な特徴を抽出することは困難で、SNP 解析と遺伝素因を明らかにする必要がある。

COMT 阻害薬(エンタカポン)では、L-dopa 動態の改善が必ずしも自覚的な wearing-off 現象の改善に結びつかないことから、有効性を L-dopa 及びその代謝産物から正確に予測するのは困難であった。しか

し、もともと、COMT 活性が低い群では COMT 阻害薬の効果は期待できないことから、COMT 活性の指標として、L-dopa Cmax 及び delta 3OMD 値からの推測式、 $(\text{delta 3OMD}-0.42)/\text{L-dopa Cmax} < 0.165$ 無効は有用と考えられた。

E.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

なし