

200936192A

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

牟婁病の実態の把握と治療指針作成

平成21年度 総括・分担研究報告書

平成22年(2010年)3月

研究代表者 小久保康昌

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業

牟婁病の実態の把握と治療指針作成班

2009年度研究報告書

ANNUAL REPORT 2009 OF THE RESEARCH COMMITTEE
ON THE MURO DISEASE (KII AMYOTROPHIC LATERAL
SCLEROSIS/PARKINSONISM-DEMENTIA COMPLEX)
OF
THE MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE, JAPAN

2010年3月

March 2010

研究代表者 小久保康昌

三重大学大学院医学系研究科 神経病態内科学講座

Chairman: YASUMASA KOKUBO, M.D., Ph.D.

Department of Neurology, Mie University School of Medicine

ごあいさつ

今年度、厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業により牟婁病の実態の把握と治療指針作成班を立ち上げることができました。これも、ひとえに研究分担や研究協力の先生方ならびに関係の方々によるこれまでのご理解とご協力のお陰と感謝申し上げます。

牟婁病は、紀伊半島とグアム島にしか存在しない地域特異性の高い神経難病です。臨床神経学的には、筋萎縮症、パーキンソン症状、認知症を併発し、中枢神経系には、タウ、 α シヌクレイン、TDP-43 が共存するという極めて特徴的な病態を呈します。このような点から、本疾患は、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、前頭側頭型脳変性症といった代表的な神経変性疾患に深く関連しています。

ここに平成 21 年度の研究成果をご報告させていただきます。ご高覧いただければ幸甚です。

今後も、本疾患の原因解明と治療法の確立にむけて地道な努力を継続して参りたいと考えております。この研究が、紀伊半島の難病に苦しむ患者さんに光明をもたらし、さらには、その他の関連する神経変性疾患解決の一助となることを切に望んでおります。皆様のご指導、ご鞭撻をよろしくお願い申し上げます。

平成 22 年 3 月

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
牟婁病の実態の把握と治療指針作成班

研究代表者 小久保 康昌

牟婁病の実態の把握と治療指針作成班 班員名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
研究代表者	小久保康昌	三重大学大学院医学系研究科、神経病態内科学講座	講 師
研究分担者	岡本和士	愛知県立大学看護学部、公衆衛生学・疫学	教 授
	紀平為子	関西医療大学保健医療学部、神経内科	教 授
	高島明彦	理化学研究所、アルツハイマー病研究チーム	チームリーダー
	辻 省次	東京大学大学院医学系研究科、神経内科	教 授
	富山弘幸	順天堂大学医学部、脳神経内科	助 教
	長谷川成人	東京都医学研究機構東京都精神医学総合研究所 分子神経生物学研究チーム	チームリーダー
	富本秀和	三重大学大学院医学系研究科、神経病態内科学講座	教 授
	広川佳史	三重大学大学院医学系研究科、腫瘍病態解明学講座	講 師
	村山繁雄	東京都健康長寿医療センター、高齢者ブレインバンク	研究部長
研究協力者	葛原茂樹	国立精神・神経センター病院	院 長
	服部信孝	順天堂大学医学部、脳神経内科	教 授
事務局	苅田順子	三重大学大学院医学系研究科、神経病態内科学講座 〒514-8507 三重県津市江戸橋 2 丁目 174 番地 Tel:059-231-5107 Fax:059-231-5082 E-Mail :kii-project@clin.medic.mie-u. ac. jp	秘 書
経理事務担 当者	谷辻正徳	三重大学財務部財務管理チーム Tel:059-231-5457 Fax:059-231-5341 E-Mail: z-kanril@ab.medic.mie-u. ac. jp	チーフ

平成21年度 研究班カレンダー (敬称略)

平成 21 年

- 6 月 3 日 平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金新規公募申請採択通知
(専門・学術 : 5.60 全研究班平均 : 5.93 行政 : 6.00 全研究班平均 : 5.77)
- 15 日 平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金交付基準額通知 (6/18 受け取り)
1700 万円 (間接経費 200 万円)
- 7 月 3 日 平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金申請書提出
研究班名簿作成提出
- 9 月 9 日 平成 21 年度厚生労働科学研究費補助金交付決定通知
1700 万円 (間接経費 200 万円)
- 25 日 難治性疾患克服研究事業に関する説明会に研究代表者出席
(東京 : 砂防会館)
- 30 日 厚労省から平成 21 年度研究費入金 総額 1700 万円 (間接経費 200 万円)
- 12 月 14 日 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金研究計画書 (新規申請) 提出

平成 22 年

- 1 月 9 日 牟婁病の実態の把握と治療指針作成班 H21 年度班会議開催
(名古屋 : 愛知県産業労働センター)
- 2 月 4 日 厚労省へ「厚生労働科学研究費補助金事後評価資料」提出
- 3 月 12 日 平成 21 年度難治性疾患克服研究事業 研究成果発表会に研究代表者出席
(東京 : 学術センター)
- 3 月 「牟婁病の実態の把握と治療指針作成班」2009 年度研究報告書 発行

目 次

ごあいさつ	i
班構成員名簿	iii
平成 21 年度研究班カレンダー	iv
I. 総括研究報告	
小久保康昌 三重大学	1
II. 分担研究報告	
班会議 平成 22 年 1 月 9 日 於：愛知県産業労働センター	
・班会議 プログラム	7
・班会議 議事録	8
・研究報告	
1. 紀伊 ALS/PDC Overview＝歴史、概念、疫学、到達点と課題＝ 葛原茂樹(研究協力者) 国立精神・神経センター病院	9
2. ALS 多発地における栄養摂取状況の解明に関する疫学的研究 岡本和士 愛知県立大学	13
3. 古座川地区の生活習慣と環境要因に関する調査-特に最近の変化に ついて 紀平為子 関西医療大学	17
4. 牟婁病の候補遺伝子解析 富山弘幸、服部信孝(研究協力者) 順天堂大学	21
5. 紀伊筋萎縮性側索硬化症・パーキンソニズム認知症複合 (ALS/PDC) に関する分子遺伝学的検討 辻 省次、石浦浩之 東京大学	24
6. Multiple phosphorylated proteinopathy としての牟婁病の神経病理 村山繁雄 東京都健康長寿医療センター	27

7. 牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の解析 長谷川成人 東京都精神医学総合研究所	30
8. 紀伊 ALS/PDC におけるタウ凝集体の解析 高島明彦 理化学研究所	33
9. 牟婁病患者由来 iPS 細胞作製 広川佳史 三重大学	35
10. 海馬、脳幹に多数の ghost tangle を伴った牟婁病の 1 例 富本秀和 三重大学	38
11. 牟婁病の診断基準と治療指針の作成 小久保康昌 三重大学	41
Ⅲ. 研究成果に関する一覧表	45
Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷	49

I. 総括研究報告

牟婁病の実態の把握と治療指針作成

研究代表者：小久保康昌 三重大学神経内科

研究要旨

牟婁病（紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合:紀伊 ALS/PDC）についてこれまでの臨床神経学、神経放射線、神経病理学的所見を総括し、今年度の新たな研究成果についてまとめた。さらに、2010年版の診断基準を提唱し、その上で、現時点で行いうる治療の方針と今後の根治療法にむけての研究の方向性について検討した。今年度は、1)研究の経緯とまとめ 2)生活習慣と環境要因に関する実態調査、3)原因遺伝子解析、4)神経病理学的検索、5)異常凝集蛋白質解析、6)治療指針の作成と今後の治療に向けての展望、について新たな研究成果を得ることができた。

A.研究目的

牟婁病（紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合：紀伊 ALS/PDC (Amyotrophic Lateral Sclerosis /Parkinsonism-dementia complex :ALS/PDC)) は、紀伊半島南部に多発する神経変性疾患で、グアム島とインドネシア国パプア州に類似疾患が存在する。本研究では、牟婁病の実態の把握と治療指針の作成にむけて、これまでの 1) 研究の経緯とまとめ (①牟婁病 Overview=歴史、概念、疫学、到達点と課題=)、2)生活習慣と環境要因に関する実態調査 (②牟婁病多発地における栄養摂取状況の解明に関する疫学的研究、③牟婁病多発 K 地区の生活習慣と環境要因に関する調査-特に最近の変化について)、3)原因遺伝子解析 (④牟婁病の候補遺伝子解析、⑤牟婁病に関する分子遺伝学的検討)、4)神経病理学的検索 (⑥海馬、脳幹に多数の ghost tangle を伴った牟婁病の 1 例)、⑦Multiple phosphorylated proteinopathy としての牟婁病の神経病理)、5)異常凝集蛋白質解析 (⑧牟婁病におけるタウ凝集体の解析、⑨

牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の解析)、6)治療指針の作成と今後の治療に向けての展望 (⑩牟婁病患者由来 iPS 細胞作製、⑪牟婁病の診断基準と治療指針について)、検討する。

B.研究方法

①牟婁病 Overview

＝歴史、概念、疫学、到達点と課題＝： 1. 牟婁病研究の歴史的歩み、近年の分子生物学的成果、原因仮説をレビューする。2. 牟婁病集積地の H 地区の疫学と病気の変遷を検討する。3. 病態・病理・原因について、類似疾患であるグアムとニューギニアの ALS/PDC と比較検討し、今後の研究の方向を探る。

②牟婁病多発地における栄養摂取状況の解明に関する疫学的研究：牟婁病の多発地である和歌山県 K 地区と三重県 H 地区に居住する 20 歳以上の全住民を対象に郵送法によるアンケート調査を行い、食習慣および栄養摂取状況を把握する。

③牟婁病多発 KZ 地区と近隣の KM 地区、O 地区の生活習慣と環境要因に関する調査-特に最近の変化について： 1) ALS 発症率の変化につき、

KZ 町と KM 町で、1967-1971 年間 (I 期)、1989-1999 年間 (II 期)、2000-2008 年間 (III 期) の年齢性調整発症率を検討した。2) KZ 町住民と、対照地区住民 (県内山間部 HZ 地区、1975-2009 年まで ALS 症例を認めない) を対象に住民検診に際し文書による同意を得て、食習慣アンケート調査と、血清生化学検査を実施した。3) KZ 町、O 地区、HZ 地区の河川、水道水、井戸水の Ca, Mg などの元素を ICP 発光分析と ICP 質量分析で測定した。4) 住民の認知症スクリーニングを目的としたアンケート調査を、KZ 地区、H 地区(紀伊半島のもう一つの牟婁病多発地)、HZ 地区の 20 歳以上の全住民を対象に行った。

④ 牟婁病の候補遺伝子解析: 病理学的に確定診断された 3 例の紀伊半島牟婁病患者において、関連が推定される候補遺伝子につき変異解析を行った。直接塩基配列決定法で、以前解析した *MAPT* や *SOD1* の他に、*amyotrophic lateral sclerosis (ALS)* / *frontotemporal lobar degeneration (FTLD)* 関連遺伝子 (*SOD2*, *SOD3*, *ALS2/alsin*, *SMN1*, *PGRN*, *ANG*, *VEGF*, *VCP*, *VAPB*, *DCTN1*, *CHMP2B*, *TARDBP/TDP-43*), タウオパチー関連遺伝子 (*GSK3β*), パーキンソニズム関連遺伝子 (*alpha-synuclein*, *LRRK2*, *parkin*, *DJ-1*, *PINK1*, *ATP13A2*, *PLA2G6*) のさらに計 20 の候補遺伝子解析を行った。Gene dosage study として、*MAPT*, *APP*, *alpha-synuclein*, *TDP-43/TARDBP*, *GSK3β*, *parkin* の欠損や重複の有無についても TaqMan 法, SYBR Green 法を用いて解析した。

⑤ 牟婁病に関する分子遺伝学的検討: コントロールも合わせて 144 名のゲノムリソースを収集した。またその中から、グアム ALS/PDC で報告された *TRPM7* 遺伝子の関与を調べた。

⑥ 海馬、脳幹に多数の ghost tangle を伴った牟婁病の 1 例: 牟婁病の 1 例について、臨床神経学的所見および神経病理所見を明らかにした。

⑦ Multiple phosphorylated proteinopathy としての牟婁病の神経病理: 牟婁病は、タウ、 α シヌクレイン、TDP43 の三種の蛋白が蓄積するが、いずれもリン酸化を受けている。前二者が蓄積する疾患として、石灰化を伴うびまん性神経原

線維変化病 (DNTC) との比較を行った。

⑧ 牟婁病におけるタウ凝集体の解析: タウオパチーとしての観点から牟婁病を捉えられるかどうかを、アルツハイマー病脳由来のタウ凝集体と比較することで明らかにする。更に、TDP-43、シヌクレインの凝集とタウ凝集との関係も同時に検討することを目的とする。本年度は、正常ヒト脳を用いてタウ、TDP43、シヌクレインの凝集体を蔗糖密度勾配遠心法によって分離した。

⑨ 牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の解析: 前頭側頭葉変性症 (FTLD) や筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者脳に出現するユビキチン陽性の細胞内凝集体の主要構成成分として TDP-43 が同定され、運動神経変性病態への関与が注目されている。そこで牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の免疫組織化学、生化学解析を行った。

⑩ 牟婁病患者由来 iPS 細胞作製: 患者皮膚より線維芽細胞を採取、培養し、Yamanaka factor である 4 因子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) をレトロウイルスを用いて遺伝子導入して作製する。

⑪ 牟婁病の診断基準と治療指針の作成: これまでの研究成果に今年度の研究結果を加え、診断基準と治療指針について検討する。

(倫理面への配慮を含む)

本研究は、三重大学、東京大学、順天堂大学、理化学研究所、健康長寿医療センター、東京都精神医学総合研究所、愛知県立大学、関西医療大学の各倫理委員会の承認に基づき行った。

C. 研究結果

① 牟婁病 Overview

＝歴史、概念、疫学、到達点と課題＝: 牟婁病は運動ニューロン変性に加えて、NFT 多発と TDP-43 陽性封入体 が出現し、 α -synucleinopathy も加わる疾患である。疫学的研究では、1950-2005 年の間に主要病型が ALS から PDC に変化した。

② 牟婁病多発地における栄養摂取状況の解明

に関する疫学的研究：栄養摂取量ではK地区とH地区に顕著な差は認められなかった。しかし全国に比べ、糖質摂取割合は高く、脂質及びタンパク質摂取割合、抗酸化に関連するミネラル（亜鉛、マンガンなど）やビタミン諸量の摂取量は少なかった。食品摂取量に関して、魚類及び砂糖類の摂取量以外全国に比べその摂取量は少なかった。

③牟婁病多発 KZ 地区の生活習慣と環境要因に関する調査-特に最近の変化について：筋萎縮性側索硬化症(ALS)の多発地である和歌山県 KZ 地域では、2000 年代には 1960 年代に比し ALS 発症率が約 1/3 に減少した。しかし、女性では 2000 年代に逆に年齢性調整発症率が高値となった。また従来発症がなかった近隣の O 地区で 2000 年代に新規に ALS 例が発症した。KZ 地区では、飲用水中 Ca 含量は 1960 年代と同様に低値を示し、住民の血中 Ca 値も対照に比し低値を示した。O 地区でも水道水の Ca 低値が明らかになった。

④牟婁病の候補遺伝子解析：計 20 を超える候補遺伝子解析を行ったが、病的変異は特定できなかった。

⑤牟婁病に関する分子遺伝学的検討：牟婁病検体を用いて塩基配列解析、二点連鎖解析を行った結果、牟婁病においては *TRPM7* が関与していないことを示すことができた。

⑥海馬、脳幹に多数の ghost tangle を伴った牟婁病の 1 例：ghost tangle と α -synuclein 病理が顕著であった牟婁病剖検例を報告した。

⑦Multiple phosphorylated proteinopathy としての牟婁病の神経病理：DNTC でも、免疫組織化学的に、TDP43 神経細胞内沈着を、側頭葉・海馬に確認できたが、脊髄に陽性所見は認めなかった。

⑧牟婁病におけるタウ凝集体の解析：正常ヒト脳を用いてタウ、TDP 43、シヌクレインの凝集体を蔗糖密度勾配遠心法によって分離を試みた結果、凝集体の大きさに従ってそれぞれの蛋白質

を分離できる事がわかった。

⑨牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の解析：形態的にも生化学的にもグアム ALS/PDC 症例とよく似た TDP-43 の病変が観察され、生化学的には FTLD と ALS の中間的な特徴を示した。また、異常リン酸化タウの蓄積と TDP-43 の蓄積に相関があることが示唆された。

⑩牟婁病患者由来 iPS 細胞作製：牟婁病患者由来の iPS 細胞を分化誘導することで、運動神経やグリア細胞、ドパミン産生細胞を得ることができる。

⑪牟婁病の診断基準と治療指針の作成：今回の検討から、牟婁病の診断基準として、
必須項目

1. 地域性：三重、和歌山両県の南部地域出身もしくは同地域に居住歴を有する。

2. 臨床症状：ALS、パーキンソニズム、認知症のいずれかで発症し、ひとつもしくは複数の症状を呈する。

3. 神経病理学、生化学的所見：古典的な ALS 病理かつ NFTs の広範な出現（脳幹諸核と内側側頭葉は必発、3+4 repeat tau）。

支持項目 A. 牟婁病の家族歴。B. 画像検査で前頭葉 and/or 側頭葉の萎縮または脳血流および糖代謝の低下。C. 特異な網膜症。

注意点：MIBG 心筋シンチは低下する例があり、除外検査にはならない。

確実 (definite)：1+2+3、臨床的にはほぼ確実

(probable)：1+2 に支持項目 A, B, C の 1 つを満たす。

可能性がある (possible)：1+2 or 2+3

を提案した。

D. 考察

牟婁病自体は遺伝素因の関与が大きいかもしれないが、高齢化や環境変化によって病像が大きく変わるものである可能性がある。従って、環境の変化と牟婁病発症および病型変化との関連を検討する必要がある。今回、多発地住民の食事調査の結果から、神経細胞に対する攻撃因子

(ストレス)である高糖質摂取と防御因子(抗酸化力)であるミネラルやビタミン諸量の低摂取が明らかになった。攻撃因子が優位な状態が示唆されたことから、多発地に対する発症予防を目的とした栄養学的な介入の必要性が考えられた。また、飲用水中のCa低値が牟婁病多発地であるKZ地区の特徴であり、同じ水源を飲用水とするO地区でも牟婁病の新規発症がみられたことは、今後さらに環境因子に関する調査を継続する必要がある。

牟婁病とDNTCの神経病理学的検討から、ともに過剰リン酸化されたタウとTDP-43が蓄積しmultiple phosphorylated proteinopathyには分類可能と思われた。脳と脊髄の両方に、この病態が生じることが牟婁病の独自な点であり、脊髄の解析が病態解明に貢献する可能性が示唆された。

20以上の候補遺伝子解析とグアムALS/PDCで関連が報告されたTRPM-7遺伝子に関連は認めなかった。牟婁病では、高い家族集積性から未知の遺伝的因子が関わっている可能性が高いと考えられ、候補遺伝子解析とともに、より大規模な多型解析や連鎖解析の成果が期待される。今後、原因遺伝子同定の検討のため、ゲノムワイド連鎖解析を行うことが必要と考えられ、牟婁病大家系について、マイクロサテライト、一塩基多型(SNP)を用いたタイピングを行い、ゲノムワイド連鎖解析を行っていく予定である。

リン酸化タウの蓄積とTDP-43の蓄積に相関があることが示唆された。牟婁病患者脳の前頭葉、側頭葉にリン酸化TDP-43の蓄積を免疫組織化学的、生化学的に認め、その蓄積様式はFTLDとALS、両疾患の特徴を有すると考えられ、形態的にも生化学的にもグアムALS/PDC症例とよく類似していた。今後、牟婁病中枢神経内に蓄積するタウ、TDP-43、 α -シヌクレインの凝集体を蔗糖密度勾配遠心法によって分離し、神経細胞毒性を有するオリゴマーの性状を解析する予定である。

これらの分化誘導された細胞を用いれば、疾患モ

デルとして環境因子への脆弱性の検討や薬物の効果判定などが可能となる。診断基準の改定について、今後、高次機能や神経生理、髄液を用いたバイオマーカーの検討などをおこない、より精度の高い診断基準に改訂していく必要がある。また、新しい治療法の可能性として、1) 環境要因の改善：① 食事や飲料水中の高Mn, 低Caの是正 ② 酸化ストレスの軽減 2) 新規治療薬 1. ディメボン：ロシアの抗ヒスタミン薬。ミトコンドリア保護など複合作用。2. メチレンブルー：ミトコンドリア保護？ 3. Rember：タウ凝集抑制、について提唱した。今後これらの新規治療薬の臨床治験に取り組む必要がある。

E. 結論

2010年版の牟婁病診断基準を提案した。また、今後の新しい治療法の開発に向けての方向性についてまとめた。今後、さらに環境因子、遺伝素因を含めた病態解明が急がれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kenju Hara, Yasumasa Kokubo, Hiroyuki Ishiura, Yuko Fukuda, Akinori Miyashita, Ryozo Kuwano, Ryogen Sasaki, Jun Goto, Masatoyo Nishizawa, Shigeki Kuzuhara, and Shoji Tsuji. TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2010 Jan 5;153B(1):310-3.
2. Kihira T, S Yoshida, K Okamoto, et al. Survival rate of patients with amyotrophic lateral sclerosis in Wakayama Prefecture, Japan, 1966 to 2005. *J Neurol Sci* 2008; 268: 95-101.
3. Okamoto K, Kihira T, Kobashi G, et al. Fruit and vegetable intake and risk of amyotrophic lateral sclerosis in Japan. *Neuroepidemiology* 2009; 32: 251-256.
4. Kihira T, Suzuki A, Kondo T., et al.

- Immunohistochemical expression of IGF-I and GSK in the spinal cord of Kii and Guamanian ALS patients. *Neuropathology*, 2009; 29: 548-558.
5. 葛原茂樹：紀伊半島グアム・ニューギニアのALS・パーキンソン・認知症候群. *神経心理学(学会セミナー2)* 25:182-191, 2009
6. 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 the Kii peninsula, Japan. *Mov disord* 23;2344-2348,2008.
- Tokumar A, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Sakiyama Y, Toyoda M, Yamakawa H, Terada H: Imaging-Pathologic Correlation in Corticobasal Degeneration. *Am J Neuroradiol* 2009; 30: 1884-1892
7. Takashima, A. Tauopathy and tau oligomer. *Acta Neuropath.. (in press)*
8. Takashima, A. Tauopathy and brain aging. *Handbook of neurochemistry and molecular neurobiology (Springer, NY) (in press)*
9. Takashima A. Amyloid-beta, Tau, and Dementia. *J Alzheimers Dis.* 2009 (in press)
10. Kitamura N, Araya R, Kudoh M, Kishida H, Kimura T, Murayama M, Takashima A, Sakamaki Y, Hashikawa T, Ito S, Ohtsuki S, Terasaki T, Wess J, Yamada M. Beneficial effects of estrogen in a mouse model of cerebrovascular insufficiency. *PLoS One.* 2009;4(4):e5159
11. Tokumar A, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Sakiyama Y, Toyoda M, Yamakawa H, Terada H: Imaging-Pathologic Correlation in Corticobasal Degeneration. *Am J Neuroradiol* 2009; 30: 1884-1892
12. Nonaka T, Arai T, Buratti E, Baralle FE, Akiyama H, Hasegawa M. Phosphorylated and ubiquitinated TDP-43 pathological inclusions in ALS and FTL-D-U are recapitulated in SH-SY5Y cells. *FEBS Lett* 583: 394-400, 2009.
12. 2). Arai T Mackenzie IR, Hasegawa M, Nonaka T, Niizato K, Tsuchiya K, Iritani S, Onaya M, Akiyama H, Phosphorylated TDP-43 in Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies *Acta Neuropathol.* Online Jan 13, 2009.
13. Fujishiro H, Uchikado H, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Yokota O, Tsuchiya K, Togo T, Iseki E, Hirayasu Y. Accumulation of phosphorylated TDP-43 in brains of patients with argyrophilic grain disease. *Acta Neuropathol* 117: 151-158, 2009.
14. Kametani F, Nonaka T, Suzuki T, Arai T, Dohmae N, Akiyama H, Hasegawa M. Identification of casein kinase-1 phosphorylation sites on TDP-43. *Biochem Biophys Res Commun* 382: 405-9, 2009.
15. Nonaka T, Hasegawa M. A Cellular Model To Monitor Proteasome Dysfunction by alpha-Synuclein. *Biochemistry* 48: 8014-22, 2009.
16. Yamashita M, Nonaka T, Arai T, Kametani F, Buchman VL, Ninkina N, Bachurin SO, Akiyama H, Goedert M, Hasegawa M. Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Lett* 583: 2419-24, 2009.
17. Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Hasegawa M. Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. *Hum Mol Genet* 18: 3353-3364, 2009.
18. Davidson Y, Amin H, Kelley T, Shi J, Tian J, Kumaran R, Lashley T, Lees AJ, Duplessis D, Neary D, Snowden J, Akiyama H, Arai T, Hasegawa M, Bandopadhyay R, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM TDP-43 in ubiquitinated inclusions in the inferior olives in frontotemporal lobar degeneration and in other neurodegenerative diseases: a degenerative process distinct from normal ageing. *Acta Neuropathol* 118: 359-69, 2009.
19. Yonetani M, Nonaka T, Masuda M, Inukai Y, Oikawa T, Hisanaga SI, Hasegawa M. Conversion of wild-type alpha -synuclein into mutant-type fibrils and its propagation in the presence of A30P mutant. *J Biol Chem* 284: 7940 -7950, 2009.
20. Masuda M, Hasegawa M#, Nonaka T, Oikawa T, Yonetani M, Yamaguchi Y, Kato K, Hisanaga S, Goedert M. (# corresponding author) Inhibition of

alpha-synuclein fibril assembly by small molecules: Analysis using epitope-specific antibodies. FEBS Lett 583:787-791, 2009.

21. 長谷川成人. 企画/編集, 概論-因子から解明される神経変性疾患の分子基盤. 実験医学 27: 1318-1323, 2009.

22. 新井哲明, 長谷川成人, 野中隆, 藤城弘樹, 内門大丈, 秋山治彦. 神経変性疾患の新規原因分子: TDP-43. 実験医学 27: 1324-1332, 2009.

23. 野中隆, 新井哲明, 長谷川成人. 神経変性疾患の細胞病理学. 細胞工学 28: 437-442, 2009.

2. 学会発表

1. Y. Kokubo, S. Kuzuhara. FDG-PET study in amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. 20th International Symposium on ALS/MND. Berlin, Germany, 8-10 December.

2. Adachi T, Saito Y, Hatsuta H, Funabe S, Murayam S: Laterality in argyrophilic grain disease. 2009 Annual Meeting of the American Association for Neuropathologists, 2009.7. 13, San Antonio, U.S.A, JNEN 2009; 68: 573

3. Kuzuhara S : ALS/PD complex in Kii peninsula. Third International Research Workshop on Frontotemporal Dementia and Amyotrophic Lateral Sclerosis. London, Ontario, Canada, June 22, 2009

4. 近藤智善、紀平為子、榎本紗耶香、吉野孝、石口宏、廣西昌也、入江真行. PCによる在宅医療支援体制構築の研究-問題点の検討. 厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業 重症難病患者の地域医療体制の構築に関する研究班 平成20年度 班会議、平成21年1月、東京.

5. 紀平為子、浜喜和、吉田宗平、近藤智善、岡本和士、永井正規. 紀伊半島筋萎縮性側索硬化症の背景要因の検討. 第50回日本神経学会総会、2009、5月、仙台.

6. 紀平為子、村田顕也、森田修平、鈴木愛、中峯寛和、近藤智善. 封入体筋炎における TDP-43 陽性構

造物の検討. 第50回日本神経病理学会総会 2009、6月 高松.

7. Kihira T, Okamoto K, Yoshida S, Hama K, Kondo T, Nagai M. Essential minerals and risk of amyotrophic lateral sclerosis on the Kii Peninsula, Japan. 20th International Symposium on ALS/MND. Berlin, Germany, 8-10 December, 2009.

8. Murakami K, Horikoshi-Sakuraba Y, Murata N, Noda Y, Masuda Y, Kinoshita N, Murayama S, Shirasawa T, Shimizu T, Irie K. Development of a monoclonal antibody against the toxic conformer of the 42-mer amyloid β protein. 2009 Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2009.10.17-21, Chicago, U.S.A.

9. 長谷川成人 (2009) TDP-43 蓄積症の概念と病態解明への展望. 第50回日本神経学会総会, 教育講演, 仙台 [2009/05/22]

10. Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Hasegawa M (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. The 12th International Conference on Alzheimer's Disease 2009, Vienna, Austria [2009/07/12]

11. Arai T, Mackenzie IRA, Hasegawa M, Fujishiro H, Nonaka T, Niizato K, Tsuchiya K, Kobayashi Z, Iritani S, Onaya M, Akiyama H (2009) Phosphorylated TDP-43 in neurodegenerative disorders. The 12th International Conference on Alzheimer's Disease 2009, Vienna, Austria [2009/07/15]

H. 知的所有権の取得状況 (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

II. 分担研究報告

平成 21 年度 班会議 プログラム

○日程：平成 22 年 1 月 9 日（土）10：00～16：00

○会場：愛知県産業労働センター 9 階 904

（敬称略）

10：00～10：05 開会挨拶 研究代表者 小久保康昌

10：05～10：30 座長 小久保康昌

紀伊 ALS/PDC over view 葛原茂樹 国立精神・神経センター病院

10：30～12：00 座長 葛原茂樹

1. ALS 多発地における栄養摂取状況の解明に関する疫学的研究

岡本和士 愛知県立大学看護学部 公衆衛生学・疫学

2. 古座川地区での生活習慣と環境要因に関する調査—特に最近の変化について

紀平為子 関西医療大学 保健医療学部 神経内科

3. 牟婁病の候補遺伝子解析

富山弘幸 順天堂大学医学部 脳神経内科

12：00～13：00 < 昼食 > 事務連絡

13：00～15：00 座長 辻 省次

4. 紀伊筋萎縮性側索硬化症・パーキンソニズム認知症複合（ALS/PDC）に関する分子遺伝学的検討

石浦浩之、辻 省次 東京大学医学部 神経内科

5. Multiple phosphorylated proteinopathy としての牟婁病の神経病理

村山繁雄 東京都健康長寿医療センター 老年病理学研究チーム

6. 牟婁病患者脳に蓄積する TDP-43 の解析

長谷川成人 東京都精神医学総合研究所 分子神経生物学研究チーム

7. tau oligomer の解析

高島明彦 理化学研究所 アルツハイマー病研究チーム

8. 紀伊 ALS/PDC 患者由来 iPS 細胞樹立へ向けて

広川佳史 三重大学大学院医学系研究科 腫瘍病態解明学講座

15：00～15：15 < 休憩 >

15：15～15：55 座長 村山繁雄

牟婁病の診断基準と治療指針の作成 小久保康昌 三重大学神経内科

15：55～16：00 閉会挨拶 研究代表者 小久保康昌

牟婁病の実態の把握と治療指針作成班 研究代表者 小久保康昌
三重大学大学院医学系研究科生命医科学専攻神経感覚医学講座神経病態内科学分野
〒514-8507 三重県津市江戸橋 2-174 TEL: 059-231-5107 FAX: 059-231-5082
E-mail: kii-project@clin.mie-u.ac.jp

班会議議事録

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業
牟婁病の実態の把握と治療指針作成班

平成 21 年度班会議 開催報告

牟婁病の実態の把握と治療指針作成班による平成 21 年度班会議は、平成 22 年 1 月 9 日（土曜日）に、愛知県名古屋市中村区の愛知県産業労働センター9 階会議室にて開催された。

総演題数は、10 題で、参加者数は 26 名であった。9 日午前 10 時から始まった班会議は、活発な討論が行われプログラム通りに進行し、午後 4 時に閉会した。

研究代表者 小久保康昌 記

紀伊 ALS/PDC Overview

＝歴史、概念、疫学、到達点と課題＝

葛原茂樹¹⁾、小久保康昌²⁾

国立精神・神経センター病院神経内科¹⁾、三重大学神経内科²⁾

研究要旨：紀伊半島の牟婁地方に高集積地がある ALS・パーキンソン認知症複合（ALS/PDC）の疫学、病態、病因仮説について概観し、今後の研究の方向に付いての考えを述べた。ALS/PDC は運動ニューロン変性に加えて、NFT 多発と TDP-43 陽性封入体が出現し、 α -synucleinopathy も加わる疾患である。疫学的研究では、1950-2005 年の間に主要病型が ALS から PDC に変化した。疾患自体は遺伝素因の関与が大きいかもしれないが、高齢化や環境変化によって病像が大きく変わるものである可能性がある。遺伝素因と環境因からの原因解明が望まれる。

A. 研究目的

紀伊半島南部の牟婁地方（図 1）には筋萎縮性側索硬化症（紀伊 ALS）の集積地があり、そのことを疫学的研究により実証した木村により牟婁病と命名された。その特徴は、通常の約 100 倍の高集積が見られること、アミロイド老人斑を伴わずにアルツハイマー神経原線維変化（NFT）のみが多発するパーキンソン認知症複合（PDC）が重複して出現すること、ALS 病変に加えて多数の NFT が認められることで、¹⁾²⁾ グアムに代表される西太平洋高集積地 ALS/PDC と類似している。ALS と PDC は同じ疾患スペクトル上の異なった病型と見なされ、ALS/PDC と呼ばれるので、それに倣い、牟婁病は紀伊 ALS/PDC を指すものとする。本研究では、紀伊 ALS/PDC の研究の歴史と到達点をレビューして、今後の研究方向について提言する。

B. 研究方法

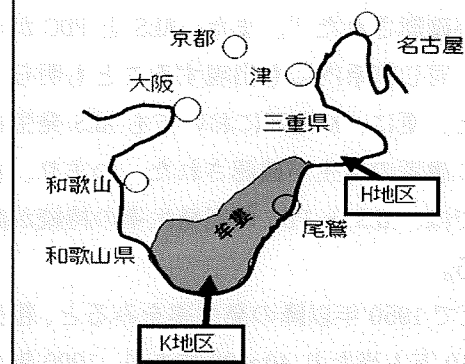
1. 紀伊 ALS/PDC についての記載と研究成果を歴史的に review する。
2. 原因について、環境因、遺伝素因の両面からのこれまでの成果を紹介し、今後の研究法について検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は、三重大学医学部倫理委員会の承認を

得て行われたものであり、特に患者と家族の個人情報に関しては、説明と同意、細心の注意をもって実施されている。

図 1 ALS/PDC 高集積地と牟婁地帯（緑色）



C. 研究結果と考察

1. 歴史、疫学

紀伊半島に ALS が多発することを、既に明治末期に我が国の神経学の創始者といわれる三浦謹之助によって記載されていたが、牟婁地方での ALS の高有病率と高発生率を実証したのは、1960 年代から開始された和歌山県立医大精神科の木村・八瀬らの疫学的調査によってであった¹⁾。ALS は紀伊半島南部一帯によって高集積であったが、特に和歌山県の K 地区と三重県の H 地区では、国内他地域の 50~100 倍という

高集積が認められ、グアムと並んで西太平洋 ALS 高集積地として注目された。グアムと紀伊の ALS では、神経病理学的に ALS 病変と共に PDC に出現する多数のアルツハイマー神経原線維変化 (NFT) が見られることが特徴である。

グアムでは 1950 年代をピークに ALS 発生の急減が始まり、1980 年までに高発生率は見られなくなった。一方、PDC は 1060 年代までは増加したが 1970 年代に減少に転じ、1980 年以降は再びやや増加傾向が見られた。グアムと歩調を合わせるように、紀伊半島高集積地でも 1980 年代初期を最後に ALS の新規発生が途絶えたことが報告され、西太平洋地域の ALS 高集積地は消滅したと考えられるに至った。

しかし、1900 年代になって、我々が H 地区での複数の ALS 患者出現を契機に再調査した結果、ALS 多発が持続しているだけでなく、それを上回る PDC 患者が存在し、神経病理学的検索によって NFT が多発するグアム PDC と同じ疾患であることが確認された³⁾。また、ALS と PDC が同じ患者、同じ家系内にも出現することも明らかになった。更に、K 地区においても ALS 発生持続と PDC 患者の発生が確認された。つまり、紀伊半島では、ALS と PDC の高発生率の持続が認められる。

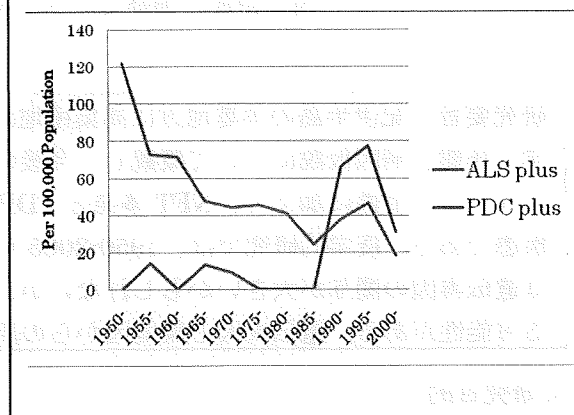
H 地区で 1950 年以降の発生率をみると、粗発生率は 10 万人当たり 40~80 であり、1990 年代から PDC が激増したように見えるが、1985 年の我が国人口に年齢補正すると、ALS は 120 から 20 へと激減し、代わって 1990 年代に PDC が 80 に急増していた。これは、グアムにおいて 1960 年代に起こった変化に似ている。

更に、近年になってグアムでは、臨床的にはアルツハイマー病 (AD) に似るが病理学的には老人斑を欠き NFT が多発する高齢発症グアム認知症が増加していることが報告されている⁴⁾。環境変化や高齢化によって、疾患が ALS→PDC→dementia と表現型を変えるのかもしれないという仮説も提唱されており、疾患の予防や治

療との関連かれも注目される。今後、紀伊半島集積地でも、認知症だけの症例が出現しているかどうかを調査する必要がある。

図 2 H 地区の ALS と PDC の発生率

(人口 10 万人当たり、日本の 1985 年人口に年齢補正)



2. 病態と病型

西太平洋 ALS/PDC の特徴は、運動ニューロン症状、パーキンソニズム、認知症は中核的 3 症状であり、その組合せにより、古典的 ALS、パーキンソン症状と認知症を呈する PDC、PDC と ALS の合併など様々な臨床表現型が出現する。

実際に、神経病理学的には、臨床的に ALS と診断された症例も PDC と診断された症例も、程度の差はあっても上位と下位の運動ニューロンの変性と多数の NFT の出現という共通所見が見られるので、同じ疾患の異なった臨床表現型と見なされる³⁾。更に、2006 年秋に ALS と前頭側頭葉変性症で特異的に出現することが発見された TDP-43 陽性封入体は、グアム⁵⁾と紀伊⁶⁾の ALS と PDC 双方の海馬歯状回、側頭葉皮質、被殻、脊髄運動神経に広範に認められ、ALS と PDC の間に病理学的には本質的な差はないように見える (図 3)。

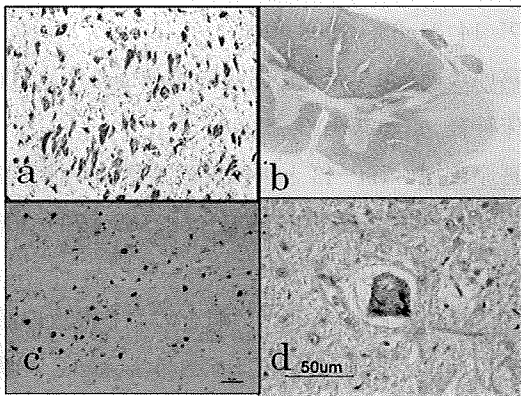
3. 原因

原因については、グアムでは NIH のプロジェクトとして大規模な取り組みが行われた。その中で、遺伝説、ウイルス説、遅発ウイルス説、無機栄養素欠乏説 (カルシウム、マンガンなど)、無機栄養素過剰説 (マンガン、アルミニウムなど)、植

物性神経毒摂取説（ソテツの実の BMA など）、その他の仮説が提唱された。特に有力視されたのは、八瀬ら⁷⁾が提唱した無機栄養素説（カルシウム欠乏とアルミニウム過剰により副甲状腺機能障害を介した神経傷害）とソテツの実の摂取による植物性神経毒 BMA による運動ニューロン傷害であったが、ヒトと動物実験の両方で実証されなかった。

図3 ALS/PDC の神経病理学的所見

a: 海馬の多数の NFT (Gallyas 染色, 原図 x80). b: 脊髄側索の変性 (Klüver-Barrera 染色). c: 側頭葉皮質のリン酸化 TDP-43 陽性封入体 (bar=50 μm). d: 脊髄前角細胞内の TDP-43 陽性 skein-like inclusion



家族性発症の頻度が高いが、メンデルの遺伝形式には従っておらず、遺伝子解析の結果では、これまでにアルツハイマー病、前頭側頭型認知症、ALS と運動ニューロン疾患 (MND)、家族性パーキンソン病、パーキンソニズムで確認されている既知の原因遺伝子やリスク遺伝子に異常は見つかっていない⁸⁾。紀伊半島やグアムの疾患集積地は、かつては他地域から隔絶されていたためもあり、近親婚率が高い¹⁾ことが遺伝子解析を困難にしている。

しかし、先に述べたように、グアムと紀伊の疾患集積地の疫学的研究によって示された、戦後の60年間の疾患の表現型や頻度の大きな変化は、ヒトの長寿化・高齢化と食生活を始めとする環境変化が、ある疾患の病像を大きく変化させる可能性

を示唆している。この仮説に立てば、ALS においても、栄養や薬物による介入によって治療や予防ができる可能性がある。

4. 今後の研究の方向

これまでの紀伊 ALS/PDC 研究の到達点とグアム研究などを参考にすると、今後は次のような取り組みが必要と思われる。

- ① ALS/PDC の表現型は運動ニューロン疾患、パーキンソニズム、認知症と多彩であることを考慮して、パーキンソニズムのみ、認知症のみを呈する症例についても登録し、剖検で ALS/PDC と連続性のある疾患かどうかを確認していく必要がある。
- ② 遺伝子解析を更に大規模に進める。そのためには、臨床的評価を厳密にすることと、剖検確定診断例を増やす必要がある。
- ③ H地区とK地区の疾患比較をする。また、紀伊半島南部に両地区以外にも集積地の広がりがあるかどうかを検討する。
- ④ 紀伊 ALS での環境因の変化を、飲用水、食物、嗜好品など広範囲に調査し、過去と比較する。
- ⑤ 類似疾患が集積しているグアムや西ニューギニアとの比較研究を進め、共通点と相違点を明らかにする。

D. 結論

紀伊 ALS/PDC の歴史、疫学、病態、原因仮説と現在の到達点について概説し、今後の研究の方向についての考えを述べた。紀伊半島とグアムの多発地では、数十年の単位で、疾患表現型と頻度が ALS→PDC→NFT 型認知症へと変化している可能性がある。これは、疾患への介入により疾患を制御できる可能性を示唆するもので、遺伝素因と環境因についての網羅的研究が必要である。

E. 結論

紀伊 ALS/PDC 研究の歴史と現況のまとめをし、今