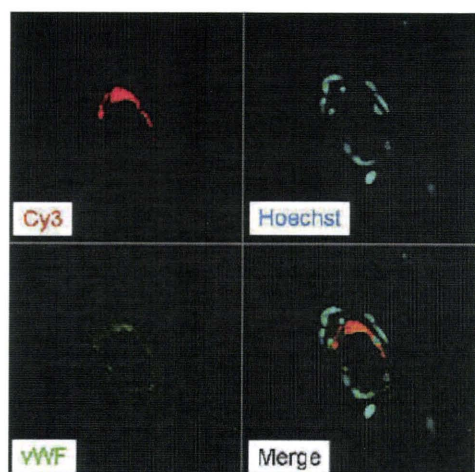


て脳のすべての部位において脳血管に沿った脳血管内皮細胞の細胞質内にシグナルが観察された(下図)。全脳を用いた OAT3 mRNA の qRT-PCR による評価では、50%の OAT3 発現抑制が観察された。LDL 受容体ノックアウトマウスに chol-siOAT3/HDL を脳室内投与すると野生型マウスに投与した場合と比べて取り込みは減少した。



chol-siOAT3/HDLを静脈内投与後Cy(赤)3シグナルは脳血管内皮細胞(vWFの染色部位と共局在していた。

#### D. 考察

今回、アルツハイマー病の遺伝子治療を目的に $\beta$ セクレターゼである BACE を標的にし、60%程度遺伝子抑制効果が得られた。BACE1 のヘテロノックアウトマウスでは APP トランスジェニックマウスとの掛け合わせにより A $\beta$  プラークが 80%程度減少することや、ウイルスベクターによる shRNA を用いた系では BACE1 の 40%の抑制により同様に AD 様病理変化を著明に改善させること、常染色体優性遺伝性家族性 AD で APP 遺伝子は 1 アリルの重複で発症することなどから、60%前後の遺伝子抑制効果は神経疾患の病理を改善することが期待できる。

脳血管内皮細胞は、アルツハイマー病や筋萎縮性側索硬化症といった神経変性疾患における病態形成の場として、重要な役割を果たしていることが知られている。アルツハイマー病は脳血管関門での A $\beta$  輸送が A $\beta$  の脳内の蓄積に重要な役割を果たしており、脳血管関門で血液から脳へのトランスポーターである RAGE を抑制できればアルツハイマー病の治療法として応用が期待される。

siRNA の本法による siRNA の新規遺伝子治療が可能となれば、アルツハイマー病の症状改善や、進行の予

防が可能となって、寝たきり患者を減らして社会的、医療経済的効果をもたらすと期待される

#### E. 結論

HDL をベクターとして Toc-siRNA を脳室内投与で中枢神経系に、chol-siRNA を静脈内投与で脳血管内皮細胞投与することにより、標的遺伝子の発現抑制に成功し、中枢神経系への siRNA の新規デリバリー方法を開発した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Nishina, K., Unno, T., Uno, Y., Kubodera, T., Kanouchi, T., Mizusawa, H. & Yokota, T. Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by conjugation of alpha-tocopherol. *Mol. Ther.* 4. 734-740 (2008).
2. Uno Y, Piao W, Nishina K, Miyata K, Mizusawa H, Yokota T. HDL Facilitates In vivo delivery of alpha-tocopherol-conjugated siRNA to the brain. *Hum Gene Ther* (in press).

##### 2. 学会発表

- 1) 朴 文英, 宇野佳孝, 仁科一隆, 水澤英洋, 横田隆徳. 神経細胞への siRNA の in vivo デリバリー方法の開発. 第 51 回日本神経学会総会. 2010. 5. 20-22. 東京
- 2) 桑原宏哉, 仁科一隆, 吉田規恵, 宇野佳孝, 朴 文英, 水澤英洋, 横田隆徳. リポ蛋白ベクターを用いた脳血管内皮細胞への siRNA の in vivo デリバリー法の開発. 第 51 回日本神経学会総会. 2010. 5. 20-22. 東京

#### G. 知的所有権の取得状況

##### 1. 特許申請

Yokota T, Mizusawa H. System for delivering nucleic acids for suppressing target gene by utilizing endogenous chylomicron. 2008 年 11 月 28 日 (米国特許出願番号 60/990, 79: PCT/JP2008/003523)

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

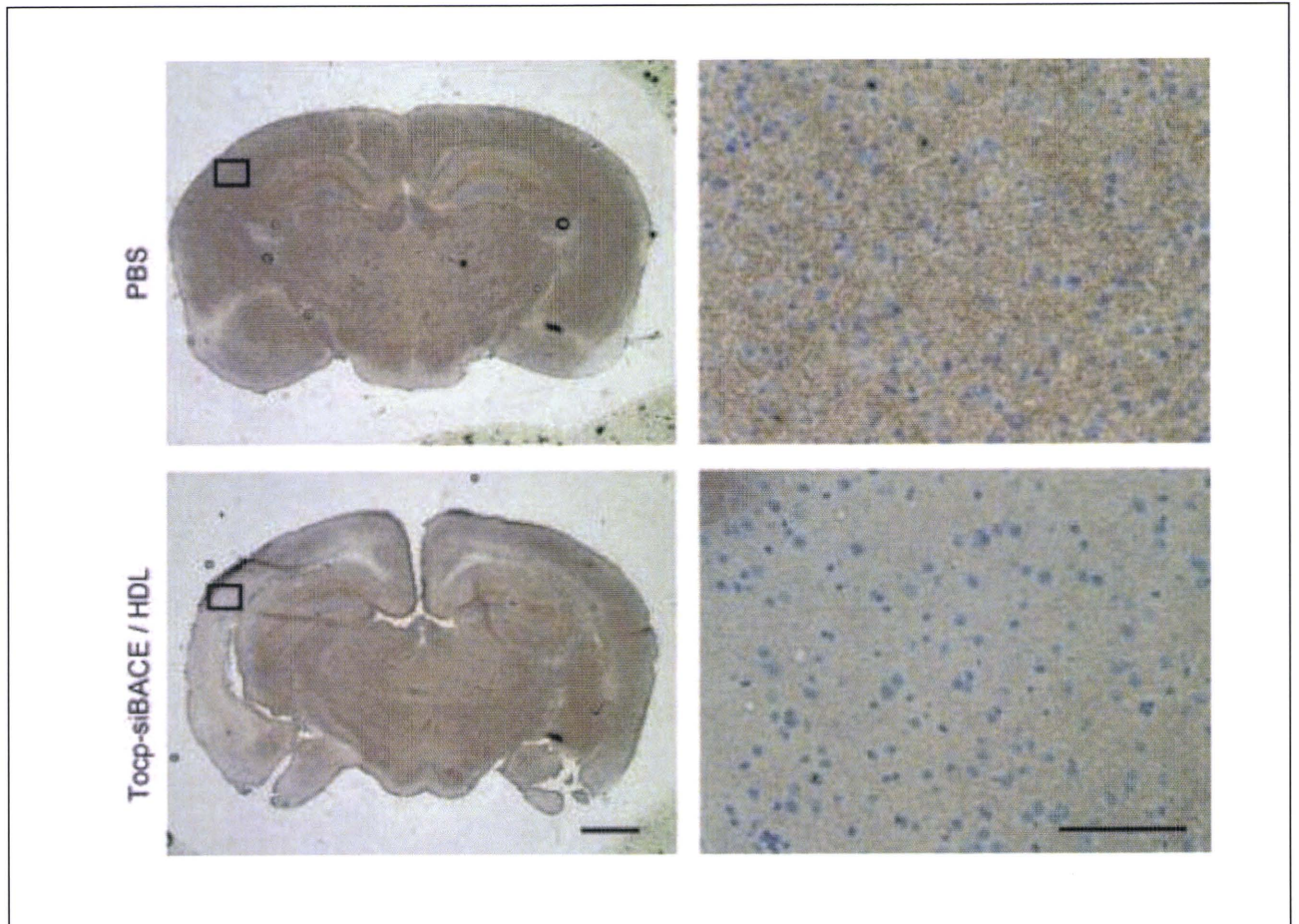
# アルツハイマー病マウスモデルにおける

## siRNA による BACE1 の発現抑制

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

水澤英洋

東京医科歯科大学



(解説)

Toc-siBACE/HDL の脳室内投与後、BACE1 に対する抗体を用

いた免疫組織染色では蛍光観察で見られた Toc-siRNA 取り込

み陽性部位である頭頂側頭葉皮質および海馬において BACE1

タンパク発現減少による染色性の低下が認められた。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

進行性核上性麻痺(PSP)および大脳皮質基底核変性症(CBD)の臨床像を把握するため、病理で確定診断のついた症例の臨床像を後方視的に解析し、臨床上のスペクトラムおよび診断に寄与する所見を検討した。PSPは、古典的なRS(Richardson's syndrome)に合致する症例が多かったのに対し、CBDでは典型的な臨床像を呈する例はなく、全例が従来の臨床診断基準に該当せず、診断基準の改訂が必要と思われた。

研究分担者：饗場 郁子

所属機関名：国立病院機構東名古屋病院

A.研究目的

パーキンソン病および関連疾患の調査研究を進めるには、臨床診断を正確に行うことが重要である。パーキンソンニズムを呈する神経変性疾患病理診断例の臨床像を解析し、臨床上のスペクトラムを検討する。

B.研究方法

対象は国立病院機構東名古屋病院にて1996～2009年に病理診断された進行性核上性麻痺PSP11例(死亡時年齢 $75.8 \pm 4.9$ 歳)、大脳皮質基底核変性症CBD4例(死亡時年齢 $63.5 \pm 7.2$ 歳)の臨床像を後方視的に検討した。また生前動画が保存されていたPSP11例、Lewy小体病16剖検例( $72.4 \pm 14.9$ 歳)、多系統萎縮症MSA9剖検例( $69.3 \pm 7.8$ 歳)において、動画から肢位、顔貌、姿勢、歩行などの臨床症候を解析し、感度(sensitivity)=所見あり/疾患あり、特異度(specificity)=所見なし/疾患なし、陽性的中率(positive predictive value:PPV)=疾患あり/所見ありを疾患毎に検討した。

(倫理面への配慮)

剖検時に研究利用についての説明を行い、国立

病院機構東名古屋病院倫理委員会にて承認された文書にて同意を得た上、研究を行った。また、研究会議における動画の公開については、遺族の同意を得た。

C.研究結果

PSPは、9例が発症初期からの易転倒性や垂直性注視麻痺などの臨床特徴を有する古典的なRichardson's syndrome(RS)に合致する症例が多かったが、パーキンソニズムが長く先行し、PSP-parkinsonism(PSP-P)に準ずる例、小脳失調が目立つ例が各々1例ずつ存在した。

CBD4例中2例は、PSPの臨床特徴を呈したが、2例とも臨床上の左右差(1例は頸部の回旋性ジストニア・肢位、もう1例は固縮・把握反射・肢位で左右差)がみられ、MRI、SPECT上も左右差を認めた。DLBと診断された1例は、進行性の認知症およびパーキンソニズムを中核とし、意識清明度の変動や鮮明な幻視、自律神経障害などDLBの臨床像を呈し、臨床・画像ともに左右差は明らかでなかった。CBD全例で、Boeveらのcorticobasal syndrome診断基準(2003)およびBakらのCBD診断基準(2008)に該当する症例はなかった。今後臨床診断基準の改訂が必要である。

生前の動画の検討より、PSPでは、'手で顔に触る' '手で足をつかむ' '足を組む' '足趾でベッド柵をはさむ' '臥床状態における眼球の開散位' '肩以下のまっすぐな姿勢'、レビー小体病で

は、‘前傾姿勢’‘眉間の皺’MSAでは、‘軽度の眼瞼下垂’であり、これらの所見は、主要症候ではないが、PPVが高く疾患を示唆する所見であった。

#### D.考察

PSPは近年、古典的なRSに加え、PSP-P、PAGF(pure akinesia with gait freezing)など様々な臨床亜型が報告されるようになった。PSPの中でこれらの頻度がどの程度であるのか、まだ本邦では検討されていない。今回の検討では、RS以外の病型は少なかったが、症例数を増やして検討したい。

CBDは4例全例で、典型的な症候を呈さず、PSPやDLBなどの特徴を呈する例も存在し、現在の診断基準には該当しなかった。今後診断基準の改訂が必要であると考えられる。CBDの臨床診断は容易ではないが、臨床のみならず画像所見の左右差にも着目することが重要である。今後多数例で、画像も含め他疾患と比較検討していくことが必要である。

PSP、レビー小体病、MSAでは、各々臨床診断基準が作られているが、今回動画の検討で注目した所見は、必須項目や支持項目には含まれていない。今回の検討でPPVが高かった所見の中には感度が低いものもあるが、その所見が存在すれば、臨床診断する上で有用な手がかりとなることが示唆された。

#### E.結論

PSPは、古典的なRS(Richardson's syndrome)に合致する症例が多かったが、パーキンソニズムが長く先行する例、小脳失調が目立つ例が存在した。

CBDでは、典型的な臨床像を呈する例はなく、全例が従来の診断基準に該当せず、今後臨床診断基準の改訂が必要である。

臨床診断の精度を上げるには、陽性的中率の高い主要症候以外の所見にも注目していく必要がある。

#### F.研究発表

##### 1.論文発表

- ・饗場郁子. 高齢期のパーキンソン病の類縁疾患 4) 進行性核上性麻痺. Geriatr. Med.47:981-985, 2009.
- ・饗場郁子, 村井敦子, 村田祐子. パーキンソン病と認知症の実地診療. 神経疾患にみられる転倒・転落と徘徊. Medical Practice 26:2057-2062, 2009.

##### 2.学会発表

- ・横川ゆき, 饗場郁子ほか. 経過中MIBGの集積低下が目立たなかったLewy小体型認知症の1剖検例. 第50回日本神経病理学会総会. 2009.6.6 (高松)
- ・見城昌邦, 吉田眞理, 饗場郁子ほか. 特異な頸部ジストニアを呈した大脳皮質基底核変性症の1剖検例. 第50回日本神経病理学会総会. 2009.6.6 (高松)
- ・饗場郁子, 齋藤由扶子ほか. パーキンソニズムを呈する神経変性疾患剖検例における臨床像の解析. 第51回日本神経学会総会. 2010.5.20(東京)

#### G.知的所有権の取得状況

##### 1.特許取得 なし

##### 2.実用新案登録 なし

##### 3.その他

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

〔目的〕筋萎縮性側索硬化症(ALS)は上位および下位運動ニューロンを侵す神経変性疾患であり、一部は superoxide dismutase 1 (SOD1), TAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP43) などの遺伝子変異による家族性 ALS であることが知られている。近年 *Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)* 遺伝子の変異がアフリカ、ヨーロッパ、アメリカの各人種において家族性 ALS の原因として報告された。日本人における *FUS/TLS* 遺伝子異常に伴う家族性 ALS の検討を行う。〔方法〕当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる 92 家系について遺伝子解析を行った。自験の大家系について各症例の臨床像を詳細に調査し臨床経過を検討した。本家系での貴重な剖検例について形態学的・免疫組織化学的に検討した。

〔結果および考察〕20 家系に *SOD1* 異常、9 家系に *FUS/TLS* 遺伝子異常を認めた。9 家系の内訳は点変異が 8 家系 (p. K510E, p. S513P, p. R514S, p. H517D, p. H517P, p. R521C), 挿入変異が 1 家系 (c. 1420\_1421insGT) であった。5 世代にわたって臨床像の詳細を知ることができた *FUS/TLS* 遺伝子の R521C 変異に伴う大家系では 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100%と非常に高く見積もられる。35.3 歳で筋力低下を発症し、構音障害、嚥下障害、筋痙縮や筋萎縮を呈する。平均死亡年齢は 37.2 歳であり病期の進行も急速であった。典型例の剖検所見では運動ニューロンの変性のみならず脳幹被蓋部の著明な萎縮を認めた。脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体を認め、*FUS/TLS* 陽性、ユビキチン陽性、TDP-43 陰性であった。同一家系内の異なる時期(発症後 1 年と 9 年)の剖検例の比較では *FUS/TLS* 陽性の neuronal cytoplasmic inclusion と glial cytoplasmic inclusion の分布の拡大が観察された。〔結論〕R521C 変異は世界で共通する重要な変異である。病期が進むにつれ運動ニューロン系以外にも広範な神経変性所見が見られた。

研究分担者：青木 正志

所属機関名：東北大学 神経内科

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の 10%前後が superoxide dismutase 1 (SOD1) など 10 以上の遺伝子変異による家族性 ALS であることが知られている。最近 *Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)* 遺伝子の変異がアフリカ、ヨーロッパ、アメリカの各人種において家族性 ALS の原因として報告された。*FUS/TLS* は TDP43 と同様 DNA/RNA 代謝に関与する蛋白であり、病態解明の点でブレークスルーになるものと期待されている。本研究では日本人における *FUS* 異常に伴う家族性 ALS の検討を行った。

B. 研究方法

当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる 92 家系について遺伝子解析を行った。この中で SOD1 変異が見つかった 14 家系を除き、常染色体優性遺伝の遺伝形式を持つ 54 家系について *FUS/TLS*

の全エクソンのスクリーニングを行った。自験の大家系について各症例の臨床像を検査・画像所見を含めて詳細に調査し臨床経過を検討した。本家系での貴重な剖検例について形態学的・免疫組織化学的に検討した。

(倫理面への配慮)

個人を同定できない形で発表し、個人情報には鍵のかかる戸棚に保管、DNA は連結可能匿名化で保存している。東北大学倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果 (図表を 1~2 点添付)

遺伝子解析を行ったところ 20 家系に *SOD1* 異常、9 家系に *FUS/TLS* 遺伝子異常を認めた。9 家系の内訳は点変異が 8 家系 (p. K510E, p. S513P, p. R514S, p. H517D, p. H517P, p. R521C), 挿入変異が 1 家系 (c. 1420\_1421insGT) であった。5 世代にわたって臨床像の詳細を知ることができた *FUS/TLS* 遺伝子の

R521C 変異に伴う大家系 (図 1) では 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100% と非常に高く見積られる。35.3 歳で筋力低下を発症し、構音障害、嚥下障害、筋痙縮や筋萎縮を呈する。平均死亡年齢は 37.2 歳であり人工呼吸器を必要とするまで平均 23 ヶ月と若年発症・急速進行性の経過を取ることがわかった。

index case: 発症から 1 年 4 ヶ月で人工呼吸器管理となった方。剖検時 40 歳、全経過は 9 年 2 ヶ月。脳重量は 1170g で、肉眼所見では脊髄・錐体路の萎縮は対称性に高度に見られた。中脳被蓋の萎縮も顕著であった。組織学的には、通常の ALS の所見に加え、中脳被蓋の萎縮、黒質、青斑核、視床下核、淡蒼球 (特に内節) にも広範に変性脱落の所見が見られた。脊髄でも運動ニューロンの著明な減少に加え、後索は淡明化し、中でも middle root zone の脱落が高度であった。多系統にわたる神経変性が特徴であると考えられた。さらに脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体を認め、ユビキチン陽性、TDP-43 陰性であった。FUS/TLS の染色性は細胞質により強く認められた (図 2)。同一家系内の異なる時期 (発症後 1 年と 9 年) の剖検例の比較では FUS/TLS 陽性の neuronal cytoplasmic inclusion と glial cytoplasmic inclusion の分布の拡大が観察された。

#### D. 考察

FUS/TLS 変異を持つ ALS は若年発症でレスピレーターが必要となるまでの disease duration は 2 年弱と病気の進行が非常に早いことが特徴である。変異部位は FUS/TLS の C 末端部分に集中しており、R521C は全世界で共通してみられる重要な変異である。一方で p. S513P の家系に関しては 50 代後半の発症と遅く FUS/TLS 変異を持つ家族性 ALS の表現型には幅がある。さらに下位運動ニューロン障害が主体である点も臨床上的重要な特徴である。中脳被蓋で見られた basophilic inclusion は TDP43 陰性であり basophilic inclusion body disease (BIBD) という病理学的疾患概念にも含まれる。

家族性 ALS 症例での変異は FUS/TLS の C 末端の高度に保存された領域に変異は集中しており、一部が

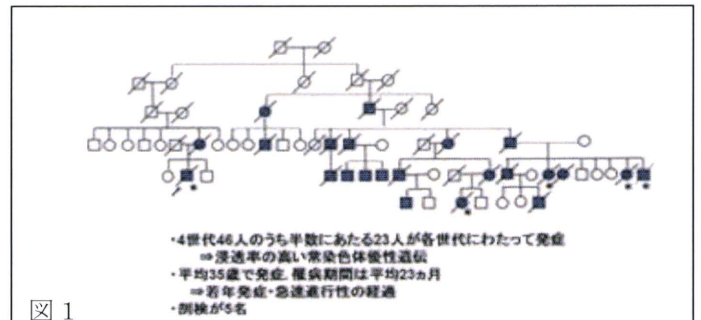


図 1

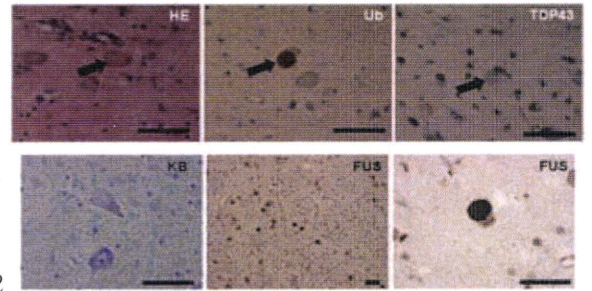


図 2

glycine-rich region など存在する。構造上 FUS/TLS と類似しているとされる TDP43 も変異部位は C 末端に集中しており、これらの hotspot の存在からは核内蛋白の分解能の低下が封入体形成に関わり motor neuron death を引き起こすという病態仮説が考えられる。FUS/TLS 関連疾患と TDP43 関連疾患との関係性の解明も今後の重要な課題である。

#### E. 結論

FUS/TLS 遺伝子異常を伴う家族性 ALS では若年発症・急速進行性の経過が特徴で下位運動ニューロン障害が前景に立つ。RNA 代謝異常や蛋白分解異常の視点からの病態解明が課題である。

#### F. 研究発表

1. Suzuki N, Aoki M, Warita H, et. al. FALS with FUS mutation in Japan with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet* 55 (2010) 252-4.
2. Suzuki N, Mizuno H, Warita H, Takeda S, Itoyama Y, Aoki M. Neuronal NOS is dislocated during muscle atrophy in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 294 (2010) 95-101.
3. Sasaki S, Aoki M, Nagai M, Kobayashi M, Itoyama Y: Mitochondrial alterations in transgenic mice with an H46R mutant SOD1 gene. *J Neuropathol Exp Neurol*. 68 (2009) 365-73.

## 日本人家族性 ALS における遺伝子異常の頻度と FUS/TLS 遺伝子変異を持つ家族性 ALS の臨床・病理学的検討

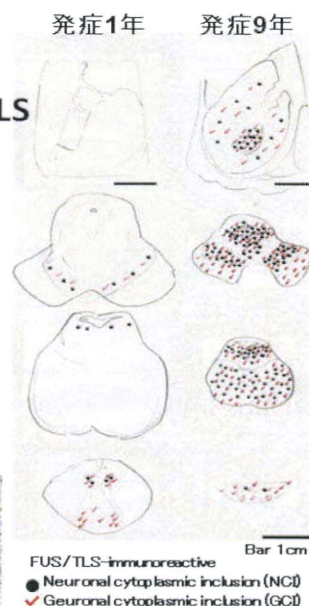
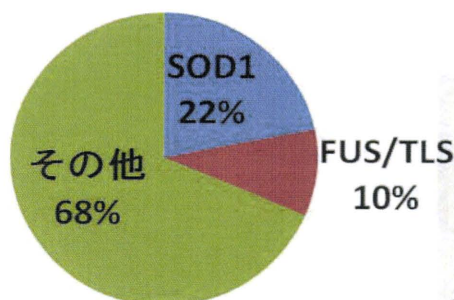
難治性疾患克服研究事業

神経変性疾患に関する調査研究班

氏名 青木正志

所属 東北大学神経内科

| FALS<br>全91家系中 (1991年から) |      |
|--------------------------|------|
| <i>SOD1</i> 変異           | 20家系 |
| <i>FUS/TLS</i> 変異        | 9家系  |
| <i>TDP43</i> 変異はなし       |      |



(解説)

ALS 全体の 10%前後が家族性であり、もっとも多いのが SOD1 変異です。ALS の病態研究は SOD1 変異 ALS モデル動物を用いて大きく進んできましたが最近報告された新しい家族性 ALS の原因遺伝子 FUS/TLS は TDP43 と同様 DNA/RNA 代謝に関与する蛋白であり、病態解明の点で大きな進展になりました。

東北大学では SOD1 変異の検索を中心とした家族性 ALS の遺伝子診断を行っており、1991 年以来、91 の家族性 ALS が疑われる家系を検討しています。この中で SOD1 変異が見つかったものが 20 家系あります。SOD1 変異が見つからなかった家系について FUS/TLS 遺伝子のスクリーニングを行い、現在までのところ C 端領域を中心に 9 家系に FUS/TLS の変異を見出しています。

FUS/TLS 変異症例で特徴的な構造物は basophilic inclusion です。好塩基性の沈着物が神経細胞の細胞質に円形に存在しています。FUS/TLS の染色性は正常に近い核にのみ染色性を認めるものから、細胞質にも同程度の染色性があるもの、一部顆粒状に見えるもの、好塩基性封入体と同様に辺縁が平滑な円形を呈するものなど、様々な形態をとります。FUS/TLS 変異 ALS の病態に核・細胞質の局在異常が関与していることを示唆しています。

さらに FUS/TLS 遺伝子に R521C 変異を持つ同一家系の 3 症例について FUS/TLS 染色陽性封入体の空間的・時間的分布を検討しました。発症後 1 年目の剖検例では封入体の分布は脊髄前角および黒質の一部に限局しています。一方、発症 9 年目の剖検例では淡蒼球、黒質、中脳水道周囲、橋核などより広範に封入体が分布しています。同一家系で病期の異なる剖検標本を検討した研究は他に無く、病態解析の基礎となる重要なデータと考えています。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

ALS の病態解明、新規治療法開発に向けて①ニューロン細胞死のメカニズムの検討、② Neurovascular unit 異常の ALS 病態への関与の検討、③ニューロン再生環境の検討を行い、それぞれについて新たな知見を得た。今後これらの知見を臨床応用に繋げるための取り組みを行っていくことが重要と思われる。

研究分担者：阿部 康二

所属機関名：岡山大学大学院医歯薬学総合  
研究科 脳神経内科学

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は未だ原因不明の神経変性疾患であり、病態解明、新規治療法開発が急務である。これらの課題に対して病態解明という側面では①ニューロン細胞死のメカニズムの検討、② Neurovascular unit 異常の ALS 病態への関与の検討を行った。また、新規治療法の開発という側面においてはニューロンの再生医療とニューロンの再生環境をより再生に適したものに整える環境改善療法の併用を視野に③ニューロン再生環境の検討を行った。

B. 研究方法

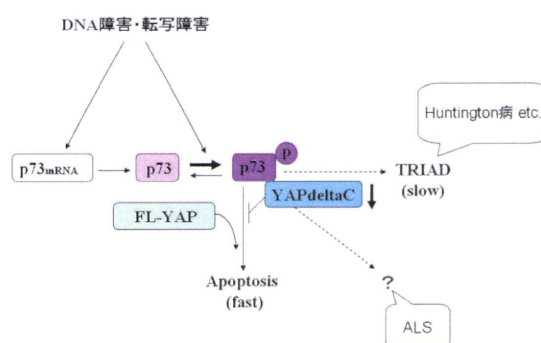
実験には G93A 変異 SOD1 遺伝子導入マウス (Tg) を用いた。週齢別に発症前、発症早期、発症末期のステージを設定し、コントロールとして同週同腹子の野生型 (WT) マウスを用いた。各個体から腰髄を採取し、免疫染色およびウェスタンブロット解析を行い、各々の実験系において重要と考えられるタンパクの変化を経時的に調べた。  
(倫理面への配慮) 岡山大学動物実験規則

に準拠して、動物の使用数および苦痛の低減に最大限に配慮した。

C. 研究結果

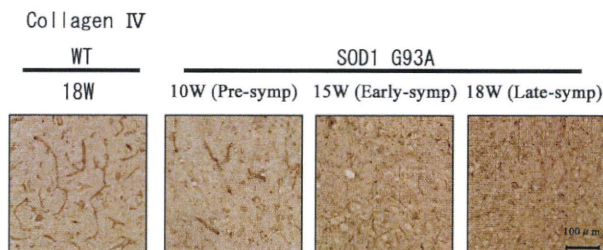
①近年細胞死の形態の一つとして注目されている TRIAD (transcriptional repression induced atypical death) の中で YAPdeltaC と p73 の働きが重要と考えられているが、ALS モデルマウス脊髄において YAPdeltaC は早期より減少していることが示され、またリン酸化 p73 と YAPdeltaC は共局在を示した。

G93A SOD1-Tgマウス脊髄におけるTRIAD関連分子の動態

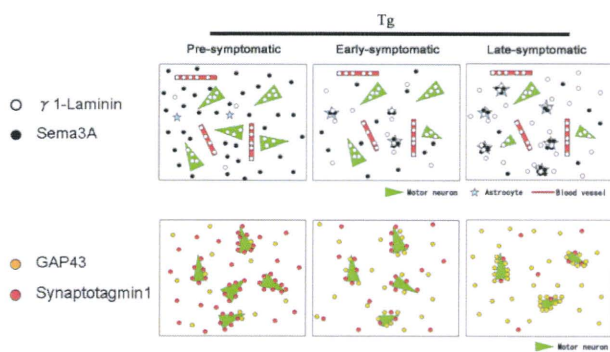


②Neurovascular unit の主要な構成成分 (PCAM-1、Occludin、Collagen IV) の異常は運動障害発症前からすでに起こっており、特に脊髄前角で顕著であった。また、neurovascular unit の外側の成分ほど早期

から著しく障害されており、これらの傾向は運動障害の進行に伴い増悪した。



③ALS モデルマウスの脊髄前角では再生促進因子( $\gamma$ 1Laminin)の増加と再生阻害因子(Sema3A)の減少が見られた。一方、シナプス部位では再生部位に発現する蛋白(GAP-43)は上昇したが、シナプス数(Synaptotagmin1)は減少し続けた。



#### D. 考察

①ALS モデルマウスの運動ニューロン死において、p73 のリン酸化と YAPdeltaC の早期からの減少が関係している可能性が示唆された。

②Neurovascular unit の異常と ALS 病態との強い関連が示唆され、ALS 病態における neurovascular unit の重要性が示唆された。

③ALS 脊髄運動ニューロン周囲の環境は軸索再生に不利ではない可能性が示唆された。また、シナプス部位では再生が誘導されていたが、効果的なシナプス形成には至って

いないことが示唆された。

#### E. 結論

ALS モデルマウスを用いて原因解明、新規治療法開発の両面からアプローチを行い、それぞれにおいて新たな知見が得られた。今後これらの知見を臨床応用に繋げるための取り組みを行っていくと共に、さらに ALS 病態の解明、新規治療法開発に向けた取り組みを継続していくことが重要と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Progressive decrease in the level of YAPdeltaCs, prosurvival isoforms of YAP, in the spinal cord of transgenic mouse carrying a mutant SOD1 gene. *J Neurosci Res.* 87(4):928-36. 2009

Spinal anterior horn has the capacity to self-regenerate in amyotrophic lateral sclerosis model mice. *J Neurosci Res.* 87(16):3639-48. 2009

##### 2. 学会発表

第 32 回日本神経科学大会

#### G. 知的所有権の取得状況

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

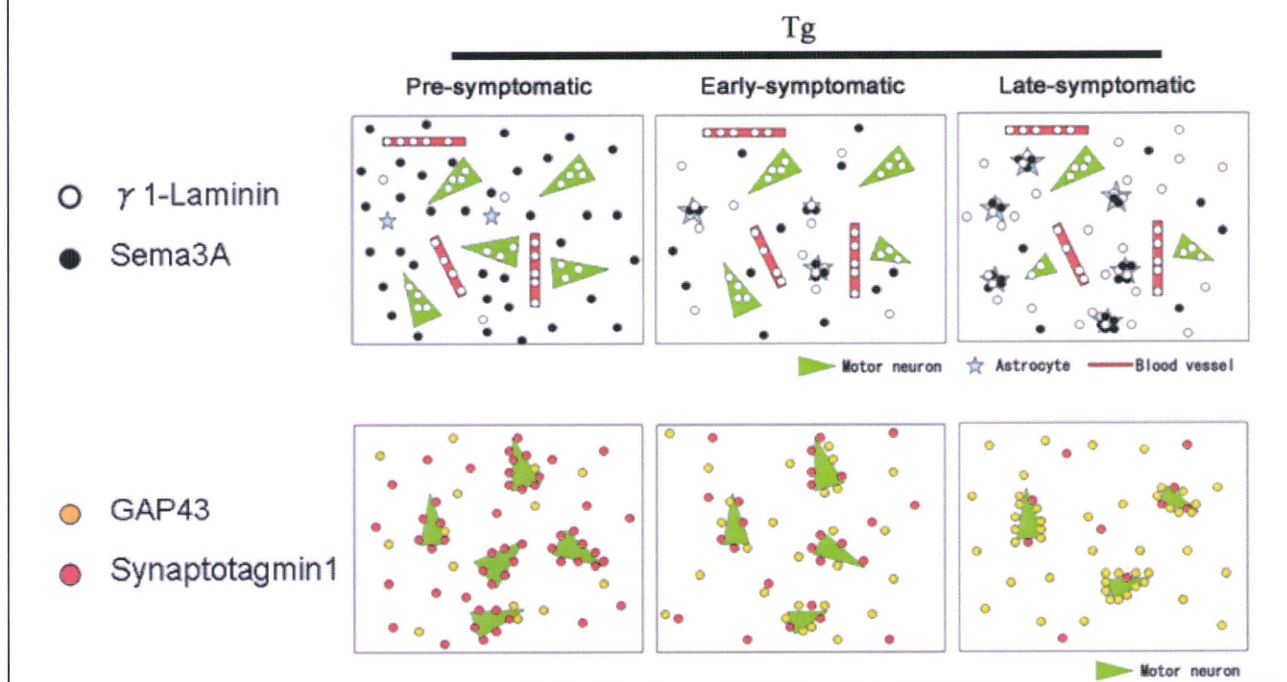
## < 脊髄前角におけるニューロン再生環境の検討 >

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

氏名 阿部康二

所属 岡山大学 脳神経内科学



(解説) 免疫組織化学的に検討を行ったところ、ALSモデル(Tg)マウスでは運動障害の進行に伴い脊髄前角のニューロピルで再生促進因子の $\gamma$ 1Lamininの上昇とSema3Aの減少が確認できた。また、軸索、シナプス再生部に発現するGAP43は運動障害の進行に伴い主に運動ニューロン周囲で発現増加が認められたが、実際のシナプス数を反映するSynaptotagmin1は同部位で減少した。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

致死的神経難病である筋萎縮性側索硬化症に対して、臨床的観点から病態を明らかにしつつ、基礎研究により根本的治療の探索を行った。*In vitro*での基礎研究によって変異 SOD1 による運動ニューロン変性に対して保護的に作用する可能性のある分子として、Derlin-1 と DJ-1 を明らかにした。今後 *in vivo*での治療効果について検討予定である。

研究分担者：内野 誠

所属機関名：熊本大学大学院  
神経内科学分野

（倫理面への配慮）

実験動物の使用に際しては、動物愛護、生命倫理に配慮し、熊本大学動物実験倫理委員会に承認されている。患者からの髄液提供に関しては倫理委員会承認された説明書により依頼し、文書で同意を得た。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は致死的な神経難病であり、社会的にも経済的にも著しいQOLの低下をもたらす。本研究は臨床的観点からALSの病態を明らかにしつつ、基礎研究による根本的治療の探索を目的とする。

B. 研究方法

1. 家族性および弧発性 ALS 患者の臨床的解析

(1) SOD1His46Arg 変異を有する家族性筋萎縮性側索硬化症（FALS）の一家系3症例を報告した。

(2) Kartagener 症候群を罹患する患者において、ALSを合併した一例を報告した。

2. 変異 SOD1 の小胞体内蓄積をターゲットとした家族性 ALS の治療法開発

小胞体（ER）への変異 SOD1 の選択的蓄積が、運動神経変性のトリガーである可能性に着目し、小胞体関連分解に関わる Derlin-1 が変異 SOD1 に及ぼす影響として、変異 SOD1 の小胞体内蓄積の軽減および毒性軽減効果について検討した。

3. 家族性および弧発性 ALS 病態における家族性パーキンソン病関連分子 DJ-1 の関与

家族性パーキンソン病 PARK7 の原因遺伝子である DJ-1 は、抗酸化ストレス作用などを介して神経保護効果を有する。弧発性および家族性 ALS の病態における DJ-1 の関与について検討した。

C. 研究結果（図表を1～2点添付）

1 (1). 3 症例とも発症初期には筋萎縮は一側下腿の屈筋群により顕著であり、一方伸筋群は比較的長期間保たれていた。進行期においても下腿伸筋群の障害は比較的軽度であった。さらに病初期に採取された筋病理組織では壊死・再生・炎症細胞浸潤の所見がみられ、炎症性ミオパチーに類似の所見を呈した。

1 (2). 約7ヶ月の経過で球麻痺と左上肢遠位優位の筋力低下・筋萎縮が進行し、腸瘻造設さらに喉頭気管分離術を施行した。

2. 培養神経細胞において Derlin-1 は野生型および変異型 SOD1 と共局在した。Derlin-1 は、野生型および変異型 SOD1 の一過性および安定発現細胞において細胞内 SOD1 蛋白量の低下をもたらしたが、SOD1 mRNA レベルに影響しなかった。さらに Derlin-1 は変異 SOD1 の毒性を軽減し、これらのマイクロゾーム分画で SOD1 含量が低下し、ER ストレスマーカーの軽減がみられた。

3. 変異 SOD1 マウス脊髄運動神経において、DJ-1 発現は発症前より経時的に増加した。DJ-1 を野生型および変異型 SOD1 発現細胞に共発現すると、DJ-1 は変異型 SOD1 と選択的に相互作用を示し、酸化ストレスの軽減やアポトーシスの抑制により、変異 SOD1

による神経細胞死を軽減した。弧発性 ALS 患者髄液中では、健常コントロールと比較して有意に DJ-1 が増加していた。

#### D. 考察

1 (1). 我々の知見は、SOD1 変異を伴う FALS の表現型のスペクトラムを拡げ、FALS の病態解明に寄与することが期待される。

1 (2). Kartagener 症候群の責任遺伝子の大部分は軸系ダイニンサブユニットをコードしている。ALS と Kartagener 症候群の合併報告例はなく因果関係は推測の域を出ないが、Kartagener 症候群における軸系ダイニン機能の破綻と、運動神経死の関連性について今後検討の必要性がある。

2. Derlin-1 は細胞質への逆行性輸送を促進することで変異蛋白の小胞体蓄積を軽減し、ER ストレスを緩和する可能性が示された。

3. 弧発性および家族性 ALS の病態において DJ-1 が保護的に作用している可能性が示唆された。

#### E. 結論

変異 SOD1 による運動ニューロン変性に対して保護的に作用する可能性のある分子として、Derlin-1 と DJ-1 を明らかにした。今後 *in vivo* での治療効果について検討する必要がある。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- (1) Yamashita S, et al. Flexor-dominant myopathic phenotype in patients with His46Arg substitution in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. J Neurol Sci 281:6-10, 2009.
- (2) Yamashita S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis in a patient with Kartagener syndrome. Amyotroph lateral scler 11: 402-404, 2010.
- (3) Yamashita S, et al. DJ-1 forms complexes with mutant SOD1 and ameliorates its toxicity. J Neurochem 113: 860-870, 2010.
- (4) Sakaguchi H, et al. A novel GJB1 frameshift

mutation produces a transient CNS symptom of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. J Neurol 2010 (in press).

- (5) Mori A, et al. Derlin-1 overexpression ameliorates mutant SOD1-induced endoplasmic reticulum stress by reducing mutant SOD1 accumulation. Neurochem Int. 2010 (in press).
- (6) 山下賢、内野誠. Pantothenate kinase 関連神経変性疾患 (Hallervorden-Spatz 病). 神経内科 73(2):117-123, 2010.

##### 2. 学会発表

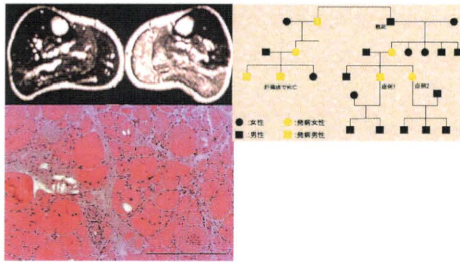
- (1) Yamashita S, et al. Flexor-dominant myopathic phenotype in patients with His46Arg substitution in the Cu/Zn superoxide dismutase gene. 14<sup>th</sup> International Congress of The World Muscle Society, G.P. 4.08, Geneva, Switzerland (September 10, 2009)
- (2) Yamashita S, et al. DJ-1 forms complexes with mutant SOD1 and ameliorates its toxicity. Neuro 2010, Kobe, Japan (September 2, 2010)
- (3) Yamashita S, et al. DJ-1 forms complexes with mutant SOD1 and ameliorates its toxicity. Society for Neuroscience 2010, 462.13, San Diego, USA (November 15, 2010)
- (4) Mori A, et al. Derlin-1 overexpression ameliorates mutant SOD1-induced endoplasmic reticulum stress by reducing mutant SOD1 accumulation. Society for Neuroscience 2010, 462.11, San Diego, USA (November 15, 2010)

#### G. 知的所有権の取得状況

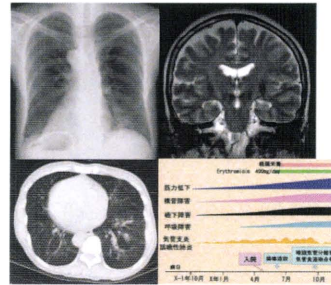
1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

1. 家族性および孤発性ALS患者の臨床的解析

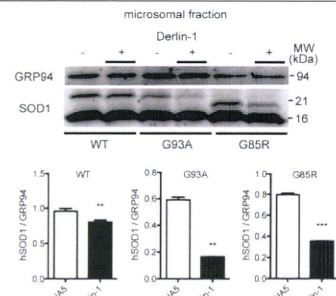
(1) 下肢屈筋群優位の筋萎縮・筋力低下を呈するSOD1His46Arg変異を有する家族性筋萎縮性側索硬化症の一家系



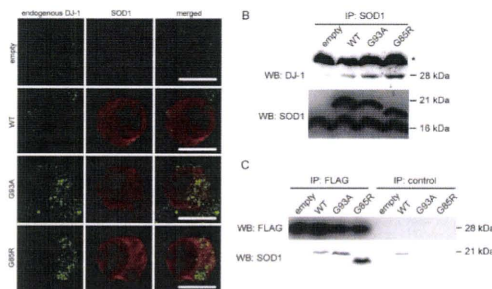
(2) Kartagener症候群を合併した筋萎縮性側索硬化症の一例



2. 変異SOD1の小胞体内蓄積をターゲットとした家族性ALSの治療法開発



3. 家族性および孤発性ALS病態における家族性パーキンソン病関連分子DJ-1の関与



(解説)

1. 家族性および孤発性ALS患者の臨床的解析 (1) 下肢屈筋群優位の筋萎縮・筋力低下を呈するSOD1His46Arg変異を有する家族性筋萎縮性側索硬化症の一家系

(左上) : 3症例とも発症初期には筋萎縮は一側下腿の屈筋群により顕著であり、一方伸筋群は比較的長期間保たれていた。進行期においても下腿伸筋群の障害は比較的軽度であった。さらに病初期に採取された筋病理組織では壊死・再生・炎症細胞浸潤の所見がみられ、炎症性ミオパシーに類似の所見を呈した。(2)

Kartagener症候群を合併した筋萎縮性側索硬化症の一例(右上) : ALSとKartagener症候群の合併報告例はなく因果関係は推測の域を出ないが、Kartagener症候群における軸系ダイニン機能の破綻と、運動神経死の関連性について今後検討の必要性がある。

2. 変異SOD1の小胞体内蓄積をターゲットとした家族性ALSの治療法開発(左下) : Derlin-1は変異SOD1の毒性を軽減し、マイクロソーム分画でのSOD1含量の低下とERストレスマーカーの軽減をもたらした。

3. 家族性および孤発性ALS病態における家族性パーキンソン病関連分子DJ-1の関与(右下) : DJ-1を野生型および変異型SOD1発現細胞に共発現すると、DJ-1は変異型SOD1と選択的に相互作用を示し、酸化ストレスの軽減やアポトーシスの抑制により、変異SOD1による神経細胞死を軽減した。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

新たに作成した抗リン酸化 TDP-43 (pTDP-43) 抗体を用いた孤発性 ALS の検討では、pTDP-43 陽性構造物は運動ニューロン系を越えて大脳や脳幹などに広範囲に分布し、膠細胞内にもみられた。好塩基性封入体は FUS 陽性であった。ラット顔面神経の引き抜き損傷では顔面神経核内の神経細胞数の減少と Golgi 装置の微細化がみられ、ALS の変性過程との類似性がみられた。

研究分担者：岡本 幸市

所属機関名：群馬大学大学院医学系研究科  
脳神経内科学

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)に関して、神経病理学的手法を用いて病態解明を行う。

B. 研究方法

1) ALS 剖検脳、脊髄に対して各種抗体を用いて免疫組織学的検索を行う。2) ラット顔面神経の引き抜き損傷時および切断時の顔面神経核に対して免疫組織学的検索を行う。

(倫理面への配慮)

剖検は御遺族の文書による同意を得て実施された。また、ラットを用いた動物実験は動物実験委員会の規定に基づいて行った。

C. 研究結果

1) 今回新たに作成した抗リン酸化 TDP-43 (pTDP-43) 抗体は正常な細胞核を認識せず、ALS でみられる異常構造物(skein-like inclusions と round inclusions)のみを認識した。ALS では運動神経細胞以外に大脳や脳幹などに広範囲に pTDP-43 陽性構造物がみられ、膠細胞内にもみられた。

2) 孤発性 ALS：抗 pTDP-43 抗体陽性封入体は抗 FUS 抗体で染色されなかった。好塩基性封入体(BIs)を有する運動ニューロン疾患：全ての BIs は抗 FUS 抗体



図1 FUS 陽性の好塩基性封入体。N:核

で明瞭に染色された(図1)。一部の BIs を有する神経細胞核では FUS の染色性は保たれていた。また、膠細胞内にも少数の FUS 陽性構造物がみられた。

家族性 ALS:FUS 遺伝子変異を有する例で神経細胞内および膠細胞に FUS 陽性構造物が認められた。

3) ラット顔面神経の引き抜き損傷時と切断時の顔面神経核内の神経細胞における Golgi 装置(GA)の形態的变化：引き抜き損傷では、神経細胞の数の減少と GA の微細化がみられた。顔面神経の切断では神経細胞数の減少はなく、GA の粗な微細化がみられた。

D. 考察

1) 孤発性 ALS では、pTDP-43 陽性構造物は運動ニューロン系を越えて広範囲に分布していた。

2) BIs を有する細胞の核の染色性は保たれているものもあり、FUS の封入体形成への関与には TDP-43 とは異なる機序が存在することが示唆された。さらに家族性 ALS の一部に FUS の関与する例が存在することが明らかとなった。

3) ラット顔面神経の引き抜き損傷では、ALS と同様の変性過程の存在が示唆され、さらに ALS との比較検討が必要である。

## E. 結論

- 1) 孤発性 ALS は運動神経系に限局しない TDP-43 proteinopathy の 1 型である。
- 2) BIs の形成機序に FUS が関与しているが、封入体形成の機序は TDP-43 とは異なることが示唆された。
- 3) 顔面神経の引き抜き損傷時の顔面神経核内の神経細胞の変化と ALS の病変との類似性がみられた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Okamoto K, et al (2010) Pathology of protein synthesis and degradation system in ALS. *Neuropathology* 30; 189-193
- 2) Yamamoto-Watanabe Y, Okamoto K, et al (2010) A Japanese ALS6 family with mutation R521C in the FUS/TLS gene: a clinical, pathological and genetic report. *J Neurol Sci* 296; 59-63
- 3) Ikeda M, Okamoto K, et al (2009) Motor impairment and aberrant production of neurochemicals in human alpha-synuclein A30P+A53T transgenic mice with alpha-synuclein pathology. *Brain Res* 1250; 232-241
- 4) Ishibashi S, Okamoto K, et al (2009) Association of autophagy with cholesterol-accumulated compartments in Niemann-Pick disease type C. *J Clin Neurosci* 16: 954-959
- 5) Kadokura A, Okamoto K, et al (2009) Phosphorylation-dependent TDP-43 antibody detects intraneuronal dot-like structures showing morphological characters of granulovacuolar degeneration. *Neurosci Lett* 463; 87-92
- 6) Kadokura A, Okamoto K, et al (2009) Regional distribution of TDP-43 inclusions in Alzheimer Disease (AD) brain: their relationship to AD common pathology. *Neuropathology* 29; 566-573

7) Fujita Y, Okamoto K, et al (2008) Anterior horn cells with abnormal TDP-43 immunoreactivities show fragmentation of the Golgi apparatus in ALS. *J Neurol Sci* 269; 30-34

8) Kogure T, Okamoto K, et al (2008) Rheumatoid arthritis accompanied by Parkinson disease. *J Clin Rheumatol* 14; 192-193

9) Okamoto K, et al (2008) Bunina bodies in amyotrophic lateral sclerosis. *Neuropathology* 28; 109-115

10) Yokoseki A, Okamoto K, et al (2008) TDP-43 mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 63; 538-542

### 2. 学会発表

- 1) Fujita Y, Fujita S, Takatama M, Aizawa H, Mihara B, Watanabe M, Ikeda M, Okamoto K. FUS pathology in patients with motor neuron disease. 17th International Congress of Neuropathology (Austria, Salzburg), 2010 □(Brain Pathology Suppl 1: 20: 31, 2010)
- 2) Fujita Y, Takatama M, Okamoto K. Relationship of alpha-synuclein pathology between epicardium and dorsal vagal nuclei. 19th IAGG World Congress of Gerontology and Geriatrics (France, Paris), 2009 □(JNHA 13 Suppl: S215; 2009)
- 3) Fujita Y, Mizuno Y, Takatama M, Okamoto K. Anterior horn cells with abnormal TDP-43 immunoreactivities show fragmentation of the Golgi apparatus in ALS. 9th European Congress of Neuropathology (Athens, Greece), 2008 □(Clin Neuropathol 27: 168; 2008)

## G. 知的所有権の取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

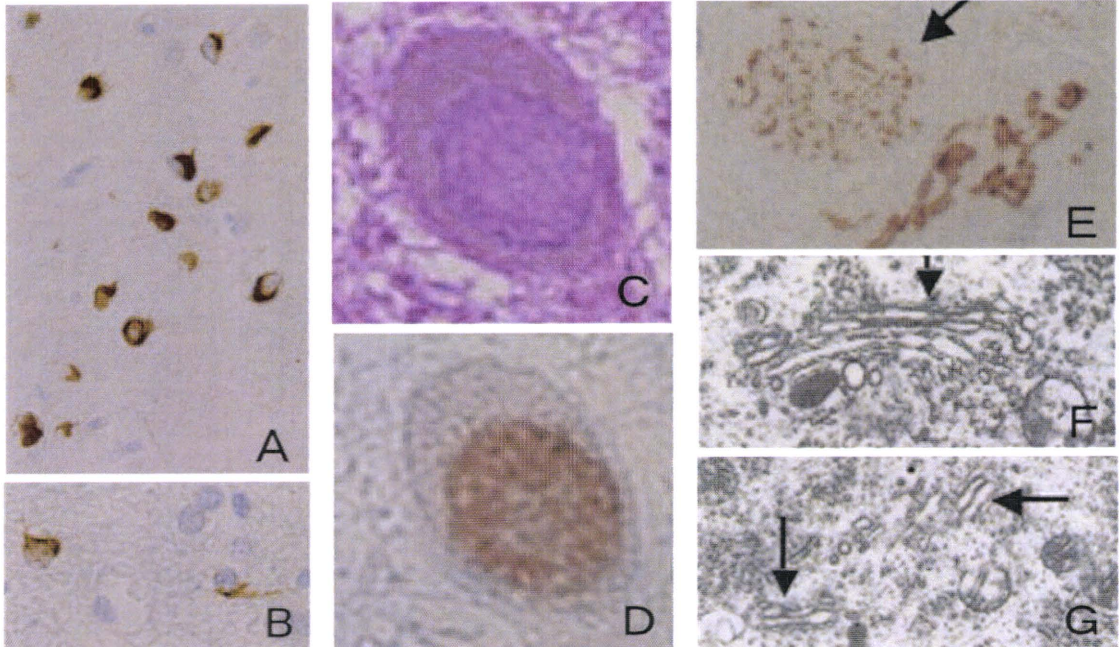
なし

## <ALS の病理学的検討>

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

氏名 岡本 幸市

所属 群馬大学脳神経内科学



孤発性 ALS では運動系を越えてリン酸化 TDP-43 陽性凝集物がみられる (A:側頭葉皮質, B: 脊髄前角グリア細胞内). 好塩基性封入体 (C: H-E 染色) を伴う運動ニューロン疾患で見られる好塩基性封入体は FUS 陽性である (D). ラット顔面神経引き抜き損傷では顔面神経核内の神経細胞の Golgi 装置 (GA) は微細化している (E: 矢印, 抗 MG160 抗体). F, G は GA の電顕像. F は正常 GA, G は微細化した GA で, ALS でみられる所見に類似している.

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

グルタミン酸受容体サブタイプである AMPA 受容体の GluR2 サブユニット Q/R 部位の RNA 編集低下、および TDP-43 タンパクの局在異常は孤発性 ALS 運動ニューロンに見られる疾患特異的分子変化である。本研究では、GluR2 の RNA 編集低下が ADAR2 活性低下により引き起こされること、ADAR2 発現低下と TDP-43 病理とは穴地 ALS 運動ニューロンに共在する分子変化であることを明らかにした。ADAR2 活性低下と TDP-43 病理とは共に運動ニューロン死の原因となる分子異常であることから、ALS の病因には両者の分子連関が関与していることを意味し、治療標的となり得ることを示唆する。

研究分担者氏名：郭 伸

所属機関名： 東京大学大学院 医学系研究科 神経内科学

A.研究目的

神経難病である孤発性 ALS の病因に直結する運動ニューロン死の分子メカニズムを解明するために、患者組織の解析から見出され、神経細胞死の直接原因となる分子異常である、AMPA 受容体サブユニット GluR2 の RNA 編集低下を引き起こす分子メカニズムを解析する。

B.研究方法

GluR2 Q/R 部位の RNA 編集を特異的に触媒する酵素 adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2)の活性低下の有無を ADAR2 mRNA 発現レベル、特異的基質における RNA 編集率から検討する。ALS の特異的分子変化である TDP-43 病理との分子連関を免疫組織化学的に検討する。

(倫理面への配慮)

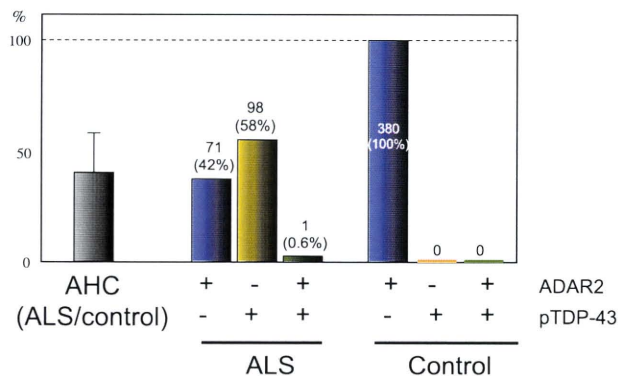
研究の方法について、東京大学研究倫理委員会、動物実験委員会の承認を得ている。

C.研究結果（図表を1～2点添付）

孤発性 ALS では、臨床病型の違いにかかわらず GluR2 Q/R 部位編集率が低下しており、これが ADAR2 活性低下に依ることを明らかにした。

全ての脊髓運動ニューロンは ADAR2 を発現してい

るが、孤発性 ALS 運動ニューロンでは ADAR2 免疫活性を有するものと有しないものが約半数ずつ見られ、ADAR2 免疫活性のない運動ニューロンは全てリン酸化 TDP-43 陽性封入体を有し、核の TDP-43 染色性を失っていた(図)。



図：孤発性 ALS6 例、正常対照例 7 例、脊髓前角細胞 (AHC) 数それぞれ 170, 380 細胞における検討。(Aizawa et al. Acta Neuropathol 120:75-84, 2010 より改変)

D.考察

孤発性 ALS 運動ニューロンでは ADAR2 活性が低下しており、それにより Q/R 部位未編集型 GluR2 が発現している。ADAR2 コンディショナルノックアウトマウスにおいて、ADAR2 を欠損した運動ニューロンが緩徐な細胞死に陥ること、孤発性 ALS 運動ニューロンに特異的な分子異常である

TDP-43 病理と共存すること、から、ADAR2 活性低下は孤発性 ALS の病因と密接に関連する分子異常で、TDP-43 病理との間に密接な分子連関があるといえる。

## E. 結論

孤発性 ALS では運動ニューロンにおける ADAR2 活性低下が、神経細胞死の原因と直結する分子異常であることが明らかになった。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- Aizawa H, Sawada J, Hideyama T, Yamashita T, Katayama T, Hasebe N, Kimura T, Yahara O, Kwak S: TDP-43 pathology in sporadic ALS occurs in motor neurons lacking RNA editing enzyme ADAR2. *Acta Neuropathol* 120:75-84, 2010.
- Hideyama T, Yamashita T, Suzuki T, Tsuji S, Higuchi M, Seeburg PH, Takahashi R, Misawa H, Kwak S: Induced loss of ADAR2 engenders slow death of motor neurons from Q/R site-unedited GluR2. *J Neurosci* 30:11917-11925, 2010.

他

### 2. 学会発表

- 郭 伸: 「Inefficient A-to-I RNA editing and ALS/ALS における RNA editing 異常の病因的意義」シンポジウム: Neurodegenerative diseases and RNA/神経疾患と RNA、第 51 回日本神経学会総会 東京 May 22, 2010.
- 日出山拓人、山下雄也、鈴木岳之、Higuchi Miyoko, Seeburg H Peter, 高橋良輔、辻省次、三澤日出巳、郭 伸: 孤発性筋萎縮性側索硬化症における RNA 編集酵素異常. RNA editing enzyme abnormality in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. 若手研究者が展開する筋萎縮性側索硬化症研究の将来展望. 第 33 回日本神経科学大会 September, 2-4, 2010.
- 郭 伸: Inefficient GluA2 RNA editing as a cause of slow death of motor neurons. Current understandings and future directions for ALS. First BRI International Symposium 2010 新潟大学脳研究所シンポジウム 新潟 November 22-23, 2010

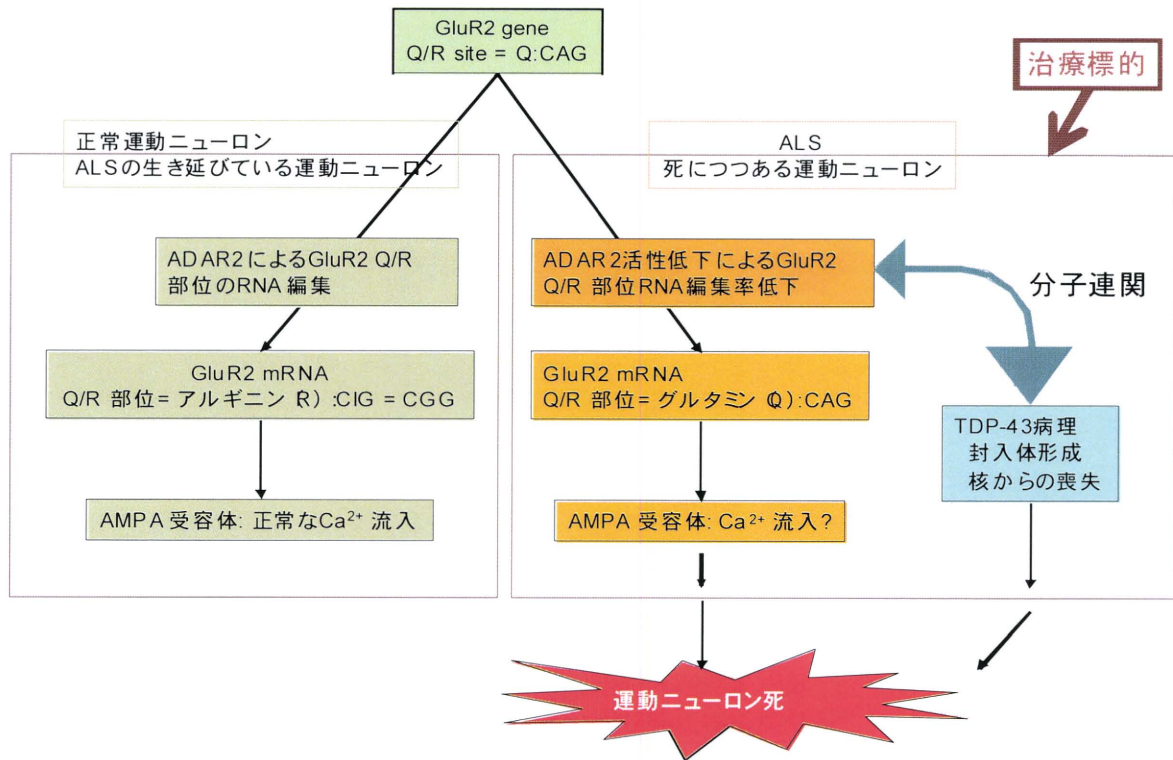
他

### G. 知的所有権の取得状況: なし

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

## 孤発性 ALS における運動ニューロン死のメカニズム

### RNA 編集異常と TDP-43 病理



#### (解説)

1. 正常の運動ニューロンは RNA 編集酵素 ADAR2 により Q/R 部位が RNA 編集された GluR2 のみを発現し、Ca<sup>2+</sup>非透過性の AMPA 受容体を発現する。
2. ALS 運動ニューロンでは、ADAR2 活性が低下し、未編集型 GluR2 を発現する運動ニューロンが増え (Kawahara et al, Nature 2004)、Ca<sup>2+</sup>透過性の AMPA 状態を発現することにより神経細胞死に陥ることが動物実験より示され、ADAR2 活性低下が孤発性 ALS の病因と密接に関連することが明らかになった (Hideyama et al, J Neurosci 2010)。
3. ADAR2 活性低下は孤発性 ALS 運動ニューロンに特異的に生ずる分子異常であり、もう一つの特異的分子異常である TDP-43 病理と同じニューロンに共存することから、両者の間には分子連関があることが明らかになった (Aizawa et al, Acta Neuropathol 2010)。
4. ADAR2 活性低下により引き起こされる分子異常が疾患特異的であることから、治療標的になり得ると考えられる。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

Threshold tracking 法では、通常 target amplitude を 40% とするが、ALS においては軸索間で障害の程度に差があると想定されるため、target amplitude を 10%、20%、40%、60% で検討した。ALS 群 (n=27) と NC 群 (n=23) の比較では、40% 以外でも K<sup>+</sup> channel の機能低下の傾向を認めた。

家族性 ALS および孤発性 ALS おける TARDBP 遺伝子の変異およびその頻度を検討したが、遺伝子変異の頻度は家族性の 3.3% であった。孤発性 ALS に関しては病的変異を見いだせなかった。

optineurin 遺伝子ホモ接合体変異を示した ALS 剖検例を得た。1) 細胞脱落と gliosis (高度：大脳皮質運動野、被殻；中等度：脊髓前角・舌下神経核・顔面神経核、淡蒼球；軽度：黒質)、2) 錐体路変性、3) 大脳皮質へのミクログリアの浸潤、4) 脊髓前角細胞細胞質内へのリン酸化 neurofilament の蓄積、を示したが Bunina 小体を認めなかった。

研究分担者：梶 龍兒

所属機関名：徳島大学医学部 臨床神経科学

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の早期診断、病因について検討する。

B. 研究方法

比較的早期で検査部位に fasciculation が認められる ALS 患者 27 名に対して、刺激電極の陰極を正中神経上に、陽極を神経から離れた近位におき、記録電極は通常の CMAP 記録部位上に設定し、threshold tracking 法を施行し、年齢を一致させた正常対象群 (n=23) と比較した。Target amplitude は 10%、20%、40%、60% とした。ALS の原因遺伝子として同定された TARDBP 遺伝子の変異とその頻度を家族性および孤発性 ALS で検討する。さらに新規 ALS 遺伝子 optineurin 変異 (劣性) による筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病理像を検討した。また、JaCALS 提供の検体で変異を測定し頻度を調べた。

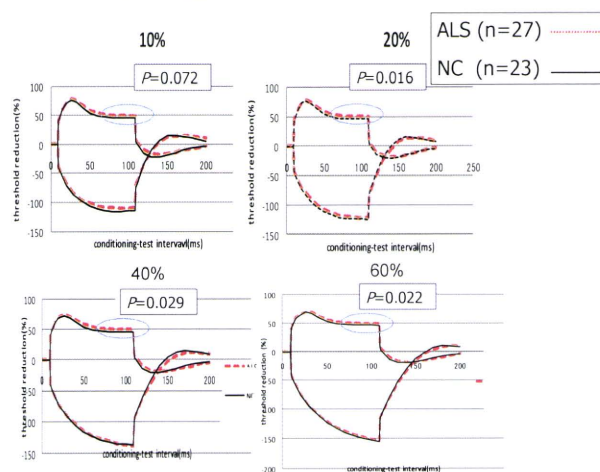
(倫理面への配慮)

末梢血に関しては対象者、凍結脳に関してはその家族に対しインフォームドコンセントを行い、文書での同意を得た上で採取した。また、それらか

ら抽出されたゲノム DNA はそれぞれに番号をつけ匿名化された状態で解析した。

C. 研究結果

ALS 患者群と年齢を一致させた NC 群の比較では、これまでの target amplitude 40% での報告と同様に ALS 群において、threshold electrotonus (TE) 法の脱分極側で上方への変位 (グラフ 1) 傾向および recovery cycle (RC) 法の supernormality 部分で下方への変位 (グラフ 2) 傾向を認め、slow K<sup>+</sup> channel の機能異常を示す傾向が得られた。



グラフ 1: TE 法 (ALS 27 例: 赤点線、NC 23 例: 黒実線)