

201024180A

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22年度 総括・分担研究報告書

平成23年(2011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
2010年度研究報告書

ANNUAL REPORT 2010 OF THE RESEARCH COMMITTEE
ON THE MURO DISEASE (KII AMYOTROPHIC LATERAL
SCLEROSIS/PARKINSONISM-DEMENTIA COMPLEX)
OF
THE MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE, JAPAN

2011 年 3 月

March 2011

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

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の2年目の研究活動をご報告いたします。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ご理解とご協力のお陰で、疫学、環境、遺伝子、蛋白、病理、iPSの各分野におきまして着実な研究の進展がありました。疫学分野では、最新の有病率調査、和歌山県でのあらたなALS多発、環境分野では、栄養調査の報告と飲料水の水質調査、遺伝子分野では、全ゲノムシーケンスへの取り組みとミトコンドリアDNAハプロタイプ研究、蛋白分野では、タウ蛋白のウエスタンブロット解析とオリゴマー解析、病理分野では、OPTN蛋白発現およびtauとTDP-43の相互関係、そしてiPS細胞樹立と運動神経分化への取り組みが報告されました。詳細につきましては、本文をご覧くださいましたら幸いです。

一方、症状の緩和や根治療法については、まだまだ道遠し、といわざるを得ません。病態解明の進捗とともに、今後は、既存あるいは新規治療薬の臨床研究が待ち望まれます。微力ではありますが、まずは可能性のある既存薬での臨床研究を進めて参りたいと考えております。

今後も、本疾患の原因解明にむけて、さらなる新知見が得られるものと期待しております。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。皆様の引き続きのご指導、ご鞭撻をよろしくお願い申し上げます。

平成23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	教 授
	紀平 為子	関西医療大学 保健医療学部	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	(財)東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所	副参事研究員
	広川 佳史	三重大学大学院医学系研究科 腫瘍病理学講座	講 師
	村山 繁雄	東京都健康長寿医療センター研究所 老年病理学研究チーム	研究部長
研究協力者	葛原 茂樹	鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療福祉学科	特任教授
	後藤 雄一	国立精神・神経センター神経研究所 疾病研究第2部	部 長
	服部 信孝	順天堂大学医学部 脳神経内科	教 授

平成22年度 研究班カレンダー（敬称略）

平成 22 年

- 3 月 30 日 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金新規公募申請採択通知
（専門的・学術的評価：3.83 全研究班平均：3.43 行政的评价：3.67
全研究班平均：3.40 総合的评价：3.50 全研究班平均：3.28）
- 4 月 1 日 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金交付基準額通知（4/5 受け取り）
1800 万円（間接経費 300 万円）
- 4 月 19 日 平成 22 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
- 5 月 23 日 難治性疾患克服研究事業説明会に研究代表者出席
（東京：星陵会館）
- 6 月 10 日 平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金交付決定通知
1800 万円（間接経費 300 万円）
- 21 日 厚労省より平成 22 年度研究費入金 総額 1800 万円（間接経費 300 万円）
- 12 月 16 日 平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金研究計画書（継続申請）提出

平成 23 年

- 1 月 8 日 牟婁病の実態の把握と治療指針作成班 H22 年度班会議開催
（名古屋：愛知県産業労働センター）
- 3 月 「牟婁病の実態の把握と治療指針作成」2010 年度研究報告書 発行

《 平成 22 年度 年中行事 》

- | | | |
|---------|--------------------|-------------------------|
| 平成 22 年 | 7 月 31 日-8 月 1 日 | 大島地区住民健診 |
| | 9 月 | 栄養アンケート調査 |
| | 11 月 14 日 | 穂原地区 地域住民講演会 |
| | 12 月 30 日 | 神経病理検討会（津） |
| 平成 23 年 | 1 月 8 日 | 牟婁病班 班会議、神経病理検討会（名古屋、津） |
| | 1 月 10 日、14 日-16 日 | 栄養陰膳調査 |
| | 1 月 30 日 | 第 1 回 患者データベース作成会議 |
| | 2 月上旬 | 牟婁病研究 ホームページ完成 |
| | 2 月 22 日-3 月 7 日 | パプアフィールド調査、水質・栄養調査 |

目 次

ごあいさつ	i
班構成員名簿	iii
平成 22 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 23 年 1 月 8 日 於：愛知県産業労働センター	
・班会議 プログラム	15
・班会議 議事録	16
・研究報告	
1. 牟婁病（紀伊 ALS・パーキンソニズム・認知症症候群）の Historical Review 葛原茂樹(研究協力者) 鈴鹿医療科学大学	17
2. ALS 多発地における栄養学的特性の解明に関する疫学的研究 岡本和士 愛知県立大学	21
3. 有病率と飲料水中ミネラルの変遷 ―三重県H地区からの報告― 小久保康昌 三重大学	25
4. 古座川串本地域の ALS 発症頻度と生活・環境要因に関する検討 ―和歌県K地域からの報告― 紀平為子 関西医療大学	29
5. 牟婁病からの iPS 細胞の作製 江良沢実(研究協力者) 熊本大学	33
6. 紀伊 ALS/PDC 患者由来 iPS 細胞樹立と運動ニューロンへの分化誘導 広川佳史 三重大学	36

7. 全ゲノム配列解析の紀伊 ALS/PDC への応用と展望	
辻 省次 東京大学	38
8. 牟婁病の地域集積性に対するミトコンドリア DNA ハプロタイプを用いた研究	
後藤雄一(研究協力者) 国立精神・神経医療研究センター	40
9. 紀伊 ALS/PDC における OPTN 蛋白の神経病理学的検討	
森本 悟(研究協力者) 東京都健康長寿医療センター	42
10. 紀伊 ALS/PDC 患者脳に蓄積するタウの解析	
長谷川成人 東京都精神医学総合研究所	45
11. tau oligomer の解析	
高島明彦 理化学研究所	49
12. 牟呂病の神経病理学的検討 ータウと TDP43	
村山繁雄 東京都健康長寿医療センター	52
 III. 研究成果に関する一覧表	55
 IV. 研究成果の刊行物・別刷	61

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）について今年度の新たな研究成果についてまとめた。今年度は、1)疫学：有病率調査、2)環境要因：食事栄養調査と飲料水中の成分に関する実態調査、3)遺伝子：全ゲノム遺伝子解析にむけての取り組みとミトコンドリア DNA 解析、4)Proteinopathy：tau, TDP-43, OPTN の異常凝集蛋白質解析と神経病理学的検討、5) iPS 細胞：作成に向けての取り組み、について新たな研究成果を得ることができた。特に最新の疫学調査によって牟婁病の現時点での有病率を明らかにした。さらに、今後の新規治療薬の臨床研究に向けての展望と可能性について検討した。また今年度は、牟婁病のホームページを開設した。

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、1)疫学：有病率調査、2)環境要因：食事栄養調査と飲料水中の成分に関する実態調査、3)遺伝子：全ゲノム遺伝子解析にむけての取り組みとミトコンドリア DNA 解析、4)Proteinopathy：tau, TDP-43,OPTN の異常凝集蛋白質解析と神経病理学的検討、5)iPS 細胞：作成に向けての取り組み、および今後の新規治療薬の臨床研究に向けての展望と可能性について検討した。

B.研究方法

①牟婁病 Historical review

牟婁病研究の歴史的歩み、牟婁病の発見から近年の分子生物学的成果についてのまとめおよび原因仮説をレビューする。

② 疫学調査：多発地区である和歌山県 K 地区と三重県 H 地区の疫学調査を行った。K 地域では地域内の医療機関に郵送法と聴き取り法で ALS 発症率を明らかにし 1967 年以降の調査と比較した。H 地区では、区長、民生委員からの聞き取り調査を下に、認知症、ALS、パーキンソン症状を有する住民の一次スクリーニングを行った。疑い例について神経学的診察を行い ALS/PDC を抽出し、有病率を明らかにした。また、臨床診断例における phenotype を明らかにし、過去の報告と比較した。

③牟婁病多発地における食習慣と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、対象 Ha 地区との比較から多発地区の食習慣および栄養摂取状況の特徴を明らかにする。

④水質調査：和歌山県 K 地区と三重県 H 地区における飲料水の水質調査を ICP 発光分析と ICP 質量分析法によって行った。K 地区内 O 地区では、患者と住民の血清元素含量と尿中 OHdG の検討をあわせて行った。

⑤遺伝子解析：牟婁病の全ゲノム解析にむけて、今年度は次世代シーケンサーを用いて日本人ゲノムの全ゲノム配列再解析を行い、全ゲノム配列解析を行い、研究方法、解析アルゴリズムなどの整備を進めた。

酸化ストレスの関連などから牟婁病にミトコンドリア異常が関わっている可能性があるため多発地区住民のミトコンドリア DNA 解析を行った。

⑥ Multiple proteinopathy: 1) OPTN :

紀伊 ALS/PDC 症例 10 例（紀伊 ALS 5 例，紀伊 PDC 5 例：年齢 60～77 歳 平均 69.1 歳）におけるホルマリン固定，パラフィン包埋後脊髄を対象とした。抗体は，OPTN-C (Rabbit polyclonal, 1: 100 or 1:50) or OPTN-I (rabbit polyclonal, Cayman Chemical, 1:100 or 1:50)を用いた。また，遺伝子検索については本疾患の大家系に属する 1 症例を抽出し，PCR 法を用いて全 exon 塩基配列解析を行った。2) tau のオリゴマー解析：牟婁病におけるタウ凝集状態を明らかにすることを目的に生化学的に異なる大きさのタウ凝集体、また他の病理学的特徴である TDP43，シヌクレインについても同時に解析を行った。脳サンプルを 10 mM Tris (pH 7.4), 800 mM NaCl, 1 mM EGTA, 10% sucrose を含む TBS 中でホモゲナイズし 27,000 × g 遠心後、その上清を 50, 40, 30, and 20% の蔗糖密度勾配遠心法で分離する。その各フラクションを SDS-PAGE で分離後タウ、TDP 4 3、シヌクレインの抗体を用いてそれぞれのフラクションにあるタウ、TDP 4 3、シヌクレインの分布を調べる。顆粒状タウはフラクション 3 に回収されることは AFM 観察で確認されている。

3) tau の western blot 解析：不溶性タウの生化学解析と免疫組織化学解析を行い、紀伊 ALS/PDC 患者脳に蓄積するタウを再検討することを目的とする。

4) tauopathy の神経病理学的解析: : tauopathy を

中心に牟婁病と他の高齢者タウオパチーの神経病理像を比較検討した。また、4 優位症例と AD type 症例における病理像を明らかにした。

⑦牟婁病患者由来 iPS 細胞作製と運動神経細胞誘導：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) を導入したセンダイウイルスを用いて作製する。得られた iPS 細胞を神経神経系の細胞に分化・誘導し、患者と同じ遺伝情報を持った神経系細胞を得る。それらの細胞を用いて、病態の機序解明のため in vitro での実験を行う。iPS 細胞から sonic hedgehog signal pathway の agonist と retinoic acid を用いて embryoid body を作成し、これが運動神経細胞の特徴を有することを確認する。得られた運動神経細胞を用いて、現在まで提唱されている ALS 発症機序が再現できるか検討する。

⑧ 新規治療薬の開発に向けての臨床研究の展望

また今年度は、牟婁病のホームページを開設した。

（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、愛知県立看護大学、関西医療大学、独立行政法人国立精神・神経医療研究センター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 Historical review

牟婁病の歴史、概念、疫学、到達点と課題について概説した。

②疫学調査：和歌山県 K 地区の年齢性調整発症率 3.5/10 万人、O 地区に限ると 8.1/10 万人であった。O 地区では III 期に高発症率が確認された（第 I 期：1967 年～1971 年、第 II 期：1989 年～1999 年、第 III 期：2000 年～2009 年）

一方、三重県 H 地区では、12 名の ALS/PDC 症例が確認された。粗有病率は、1041.7/10 万人であった。ALS/PDC 12 名の内訳は、PDC6 例、認知症主体例が 5 例、パーキンソン症状に錐体路徴候が overlap した症例が 1 例で、純粋な ALS はなかった。

表 1. K 地域と O 地区の ALS 発症率の推移

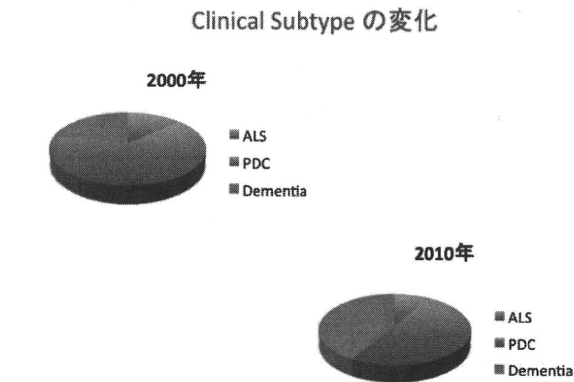
期 間	地域(人口)	粗発 症率	年齢性調整発症率
I	K (33,219)	6.0	4.7 (5.7, 2.8) [-2.7, 12.0]
II	K (26,405)	3.8	2.9 (4.8, 1.3) [-3.1,14.8]
III	K (23,357)	6.4	3.5 (2.6,3.3) [-4.1,11.1]
I	O (2,798)		0
II	O (1,667)		0
III	O (1,069)		8.1 (10.4, 6.7) [-45.8, 62.0]

臨床像の変化

In 2010

	臨床像	年齢	発症年齢	罹病期間
1	D with A	86	72	14
2	D	93	82	11
3	D	86	74	12
4	PDC	71	58	13
5	D with A	82	75	7
6	PDC	82	71	11
7	PDC	71	61	10
8	PDC	80	72	8
9	PDC	73	60	13
10	D	85	84	1
11	PDC	71	56	15
12	A with P	63	60	3
	平均 (Max-Min)	78.6 (63-93)	68.8 (56-84)	9.8 (1-15)

2000 年時点と今回調査での phenotype の変化を示す。



③ 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、対照 Ha 地区と比べて、多発地 K 地区と H 地区では、糖質、イモ類、野菜類の摂取割合は高く、油脂や肉類などの脂質割合が低かった。

	多発地区 vs. 対照地区	K 地区内 高率地区 vs. 低率地区
生活状況		
子どもの頃の飲水方法 (水道水以外)	高	高
現在における井戸水の利用割合	高	高
地元食材の利用割合	高	高
栄養摂取状況		
糖質摂取割合	高	高
脂質摂取割合	低	低
主食イモ摂取割合	高	高
肉類摂取割合	低	低

④ 水質調査：和歌山県 K 地区内 O 地区の水道水中 Ca 含量は平均 3ppm で、対照地区と比較し著明な低値を示した。古座川水道水、古座川河川水、古座川井戸水の Ca 含量も同様にきわめ

て低値を示した。一方 O 地区の井戸水、O 地区内の河川水 (大川)、山からの採り水 (天水) の Ca 含量は対照地区と差がなかった。血清 Ca 含量は、O 住民で有意な低下、K 地域 ALS で著明低下を示した。O 住民では、無機リン高値、intact PTH 高値を認めた。血清 Zn 値は、O 住民と K 地域 ALS とともに低値を示したが、血清 Cu 値に差を認めず、従って Cu/Zn 比が高値を示した。尿中 8-OHdG は K 地域 ALS で有意な高値、O 住民でも高値を認めた。

表 2. 血清 Ca, 無機リン、 intact PTH 値の比較

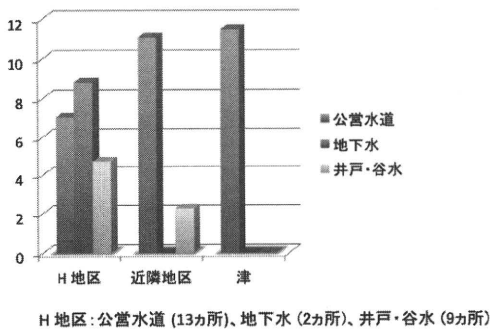
	Ca (mg/dl)	無機リン (mg/dl)	iPTH (pg/ml)
対照	9.38 (0.34)	3.28(0.48)	34.1(15.4)
O 住民	9.25 (0.36)*	3.60(0.43) #	49.2(19.2) #
K-ALS	8.94 (0.32)#	3.38 (0.73)	36.7(9.3)

K-ALS: K 地域 ALS, iPTH: intact PTH

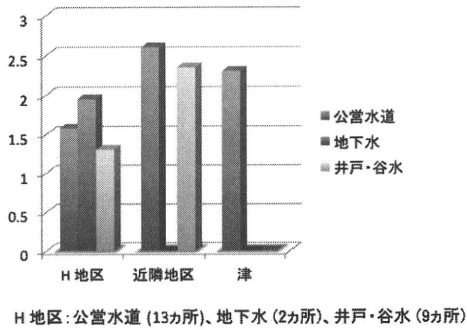
*: p < 0.05, #: p < 0.01, Mean (S.D)

三重県 H 地区では、かつての飲料水である井戸水、谷水での低 Ca、低 Mg を認めた。

カルシウム



マグネシウム



Ca, Mg 値とも、現在の上水道では上昇していた。

⑤遺伝子解析：次世代シーケンサーを用いた全ゲノム配列再解析のパイプラインの整備を進めた。紀伊 ALS/PDC について、今後全ゲノム再解析を進めていく。そこで数多くの変異が見出されると予測されるが、これまでの連鎖解析（パラメトリック解析および model-free（ノンパラメトリック解析）の結果を含め総合的に解析する事により、発症に関与するゲノム要因の同定が可能であると考える。

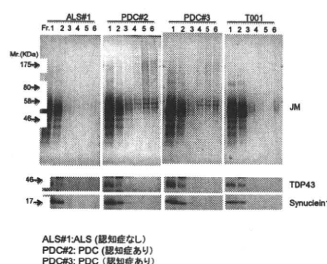
今回解析した 23 名のミトコンドリアはプログループの構成は以下の通り。 MITOMAP に掲載されている East Asia におけるハプログループの頻度（表中の既報告）とほぼ同じ結果であった。また、病因的とされている変異、新たな SNP は見いだされなかった。

種類	A	B	C	D	F	G	H	J	M	N	R	Y	Z
既報告	7	16	5	26	11	4	1	1	15	3	2	1	2
本実験	13	9	0	26	17	0	0	0	9	9	0	0	4

(%)

⑥Multiple proteinopathy:

1) OPTN:前角細胞の大型ニューロンに陽性構造物を認めたのは半数程度 (C 末抗体がほとんど) であり, 多くは skein like inclusions の形であった。また小～中型ニューロンの胞体には, 大型ニューロンより高頻度で陽性構造物を認め, 一部には突起にも陽性所見を認めた (int 抗体が主)。また, 全 exon 配列における病的な遺伝子変異は認められなかった。2) tau のオリゴマー解析: 今回正常ヒト脳、牟婁病 ALS 発症 (認知症なし) 1 例、PDC 2 例 (高度の認知症) について検討を行った。ALS#1 ではタウ、TDP43, Synuclein はフラクション 1、2 に回収されており、凝集体は出来ていないと考えられた。PDC # 2、3 は顆粒状凝集体 (フラクション 3)、線維 (フラクション 5、6) のフラクションにタウのシグナルが観察された。 (図 1)。



更に、リン酸化タウ抗体を用いて可溶性画分 (フラクション 1)、不溶性画分 (フラクション 6) を比較検討した。PDC#2, PDC#3 から分離した線維画分にあるタウは AT8, PHF1 というリン酸化タウ抗体に反応し凝集物特有のスミアを呈した。リン酸化タウが凝集に関与することが考えられた。可溶性画分でも、ALS#1 に比較して AT8, PHF1 サイトのリン酸化亢進が観察された。AD 脳由来の可溶性画分サンプルと比較すると、トータルタウ量には変化がないが、PDC#2, PDC#3 サンプルに於ける、リン酸化程度は遥かに低かった。このことは、PDC に於けるタウ凝集はリン酸化以外の要因が関与する

ことを示唆している。

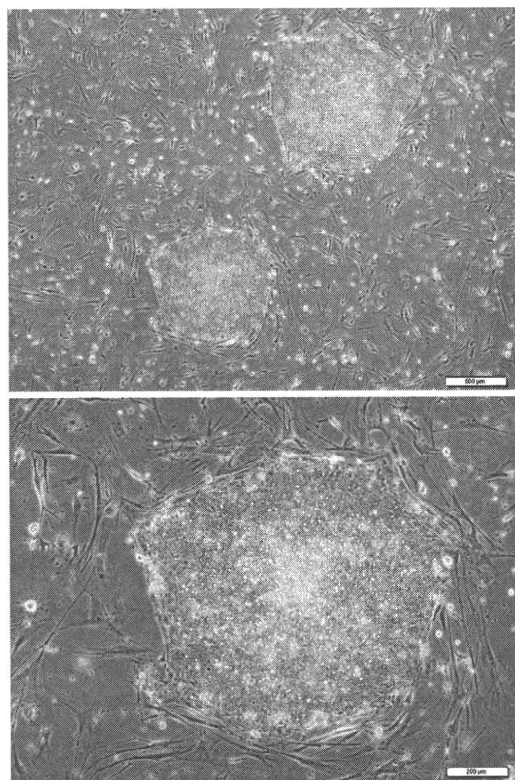
3) tau の western blot 解析: 今回解析した 9 症例のうち AD のタウに似た蓄積を示した症例が 4 例、4R タウアイソフォームの蓄積が認められた 2004-1 を含め、4R タウが 3R タウよりも多く蓄積している症例が 4 例、1 例が不明という結果となった。臨床診断と蓄積タウのアイソフォームに関連はないように思われた。

症例番号	年齢	性別	臨床診断	タウの生化学	タウの蓄積量	
1	1998-1	77歳	男性	ALS with D	3R<4R	Level 1~4
2	2001-1	80歳	女性	PDC with A	3R<4R	Level 2~4
3	2004-3	63歳	女性	ALS	3R>=4R	Level 4
4	2004-1	70歳	女性	PDC with ALS	3R<4R	Level 3~4
5	2000-2	76歳	女性	PDC	3R>=4R	Level 3
6	2009-4	70歳	女性	ALS	?	Level 1
7	2005-3	70歳	女性	ALS	3R<4R?	Level 2
8	2007-1	70歳	女性	PDC	3R>=4R	Level 4
9	2009-1	75歳	男性	PDC	3R>=4R	Level 3

4) tauopathy の神経病理学的解析: 4R 優位型症例では、Ghost tangle, astrocyte 病変 (thorn-shaped astrocyte, astrocytic plaque like glia)、Purkinje 細胞内 tau 蓄積、白質内に多量 threads、Betz 細胞内 tau、小脳 Golgi 細胞、Bergman glia に tau 蓄積、樹状突起内 tau 病理、granular hazy astrocytes。扁桃体や海馬支脚の変性。一方、AD 型症例では、glia 病変が軽く NFT 主体。

⑦iPS 細胞作成: 患者からの同意が得られた 4 例の症例において皮膚生検を行い、うち 3 例から iPS 細胞作成に必要な皮膚由来の線維芽細胞を樹立した。残り 1 例は培養中に真菌の汚染があり破棄した。症例から樹立した線維芽細胞を用いて iPS 細胞の作製を行った。線維芽細胞に初期化因子 (Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc) を持つセンダイ・ウイルスを感染させ、感染後 1 週間目にマイトマイシンで処理したマウス胎仔初代線維芽細胞 (MEF) 上へまきなおした。感染から 14 日後ぐらいからコロニーが出現した。現在クローニングしてコロニーを増幅中である (図)。

図 増幅中の iPS 細胞のコロニー



iPS 細胞から運動ニューロンへの分化誘導は、理化学研究所より譲渡された正常ヒト iPS 細胞を用いて、*Nat Protoc.* 2009 ; 4(9): 1295–1304.にあるプロトコールに沿って行っており、形態的および分化マーカーの発現から運動ニューロンへの分化が確認された。

附則：牟婁病の診断基準 2010

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

D. 考察

疫学調査と環境要因について：今回の疫学調査から有病率の減少、ALS の減少と認知症の増加といった臨床表現型の変化、男性優位から女性優位への性差の変化、発症年齢の高齢化といった特徴があきらかとなった。こういった傾向は、グアム ALS/PDC においても報告されている。一方、K 地区では家系内発症がなく大部分が ALS で H 地区とは病型や遺伝歴の違いがあることは紀伊 ALS/PDC の特異な点である。いずれにしても、数十年間にこれだけの劇的変化が生じている事実から、牟婁病発症には、遺伝素因のほかに環境要因が大きく関わっていることは疑いようがない。これまでに、飲料水中や食事中的ミネラルや微量金属の多寡、ソテツと神経毒 BMAA の存在などがクローズアップされてきたが、決定的な要因とはなっていない。今年度の岡本らの栄養学的調査から、多発地では①糖質摂取割合が高く、摂取割合が低い②主食いも摂取割合は高く、肉類摂取割合は低い③地元食材の利用頻度が高い、といった傾向が認められた。こういった傾向は、通常の ALS でも報告されており、高糖質摂取ではフリーラジカルの生成や superoxide や nitric oxide (NO-) の過剰産生を介し細胞のアポトーシスを誘発し、一方、脂質は神経保護作用を有することから、多発地では、神経細胞に対する攻撃因子（ストレス）と防御因子（抗酸化力）のバランスがより崩れているのかもしれない。小久保らは、三重県 H 地区での有病率と臨床表現型の変化、発病年齢の高齢化とかつての飲料水のミネラル低値を報告した。紀平らは、昨年度和歌山県

K 地区近隣の O 地区における新たな ALS 多発を報告した。O 地区では、1975 年から上水道を K 地区から引水しており、同地区住民の血清 Ca 値低値などを認めた。紀平らは、K 地区での患者と一般住民の尿中 OHdG 値の高値を報告し、水質中の Ca 欠乏により毒性金属元素の相対的增加による酸化的ストレス増大を介した神経細胞障害が当地域の ALS における一つの危険因子と推察している。小久保らは、以前 ALS/PDC 患者の尿中 OHdG 高値について報告しており (Morimoto et al. 2009)、今後、酸化ストレスやニトロ化ストレスの病態への関与に関するさらなる検討が必要と考えられる。数十年以上におよぶ長期間の飲料水中のミネラル異常などが ALS/PDC 発症や病態に及ぼす影響は重要な検討課題である。

原因遺伝子探索について：我々は、これまでに 100 名弱の患者および家族から DNA の提供を受けている。これらの検体を用いてこれまでに、候補遺伝子解析や連鎖解析を行ってきたが、候補領域の絞り込みは必ずしも十分でない。この理由として、発症年齢が高いために採血時に発症していない個人の扱いが難しいこと、近親婚の割合が高いこと、他の家系からの発症者の混入などがあり、発症者/非発症者の同定が困難なことが大きな要因である。次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析によって得られる情報によって、これまでの手法から明らかになったデータを補完することで原因遺伝子同定に結びつくことが期待される。

ミトコンドリア遺伝子解析では、23 例という少数の解析に止まっているために、牟婁病発生地区の住人と一般的な東アジア人との間の人類学的な差異を明確にすることはできていない。さらに母数を増やして見る必要がある。今後、牟婁病患者群や可能であればグアム島、パプアニューギニアの患者群のミトコンドリア DNA ハプログループの解析を行うことで

新たな変異やミトコンドリア DNA 量の減少などの共通所見が得られれば、病因解明の一助になる可能性がある。

Multiple proteinopathy: 1) OPTN: 全 exon 配列における病的な遺伝子変異は認められず、細胞脱落の程度を考慮しても、大型ニューロンへの集積が少ないことから、本疾患における OPTN の意義については、causative というよりも、二次的に集積している可能性がある。2) tau オリゴマー解析: リン酸化タウ、タウオリゴマーの形成はシナプス消失、顆粒状タウ凝集体形成は神経脱落に関与することがわかっている。ALS#1, 対照脳と比べて PDC#1, PDC#2 では顆粒状タウ凝集体、線維状凝集体が共に増大しており、神経脱落、神経原線維変化が起きていることが示唆された。これらのサンプルでシヌクレイン、TDP43 は凝集体形成は見出されていない。さらに、この患者では高度の認知症が認められておりタウ凝集が紀伊 ALS/PDC における認知症の原因であると考えられた。タウ凝集にはリン酸化以外の要因が関与する可能性が示唆された。3) tau の western blot 解析: 紀伊 ALS/PDC の場合、AD type の病理と 4R タウオパチーの病理の両方が別々、あるいは混在して認められ、症例ごと、あるいは部位によっても異なると考えられる。このメカニズムは不明だが、牟婁病では 2 種類の tau 蛋白がシードとして形成される可能性がある。

4) tauopathy の神経病理学的解析: western blot で認められたように牟婁病では、タウの isoform に 2 パターンあり、4R 優位型では、Ghost tangle と astrocyte 病変、白質の threads、樹状突起内にタウ病変を認めた。一方、AD 型では主として pretangle や NFT を認めた。

iPS細胞作成: 1) 環境因子の影響: 牟婁病の発症機序に、マグネシウムやカルシウム摂取の不足による異常タンパクの蓄積が指摘されている。患者由来と正常人由来の iPS より誘導さ

れた運動神経細胞を低マグネシウム、低カルシウムの条件で長期培養し、タウ蛋白、 α -synuclein、TDP-43蛋白の産生に差があるか検討する。

2) 小胞体ストレスのメカニズム：小胞体ストレスは、異常たんぱく質蓄積などにより、小胞体の機能に付加が生じ、神経変性疾患を引き起こすモデルと考えられている。小胞体ストレスを誘導するN-glycosylationの阻害剤である、tunicamycinは古典的な小胞体ストレス誘導薬である。患者由来と正常人由来のiPSより誘導された運動神経細胞に、tunicamycin処理を加えて小胞体ストレス関連因子である、Grp78やXBP1などの遺伝子発現に差があるか検討する。小胞体のカルシウム恒常性の障害が、神経変性の病態として提唱されている。グルタミン酸受容体の過度の興奮が小胞体からのカルシウム放出を過剰にし、神経毒性を引き起こす。細胞をグルタミン酸で処理し、小胞体ストレス関連因子の発現差の有無を検討する。

3) 酸化ストレスのメカニズム：家族性ALSには酸化ストレスの原因であるスーパーオキシドを消去する酵素、SOD1遺伝子変異のあるものが報告されている。スーパーオキシドによる神経細胞死がALS発症の機序として提唱されている。患者由来と正常人由来の運動神経細胞を過酸化水素で処理し、アポトーシスなどの細胞死に差があるか検討する。また低濃度の過酸化水素で細胞を長期間培養し、タウ蛋白、 α -synuclein、TDP-43蛋白の産生に差があるか検討する。

4) さらに、運動神経、グリア細胞、ドパミン産生細胞のマーカーを用いて、embryoid bodyから、それぞれの分化細胞を得る。

最近では、ALS発症機序に神経細胞単独ではなく、グリア細胞を含めた微小環境の関与が提唱されている。この仮説の検証のため、グリア細胞と運動神経細胞を共培養し、上記であげた項

目について検討を行う。

今後の治療介入の可能性について：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、臨床介入による効果判定のための評価基準の作成が必要である。今回の栄養、水質、尿中OHdGの検討から牟婁病の発症や病態進展に酸化ストレスの関与が疑われた。臨床研究の第一歩として酸化ストレス軽減を目的とした治療介入を予定している。

E. 結論

多発地区での疫学調査と環境因子、遺伝子解析、蛋白解析、iPS細胞作成の進展状況について報告した。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とともに、これまでの知見をもとにした治療介入研究が望まれる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Era T. Mesoderm cell development from ES cells. *Methods Mol Biol.* 636: 87-103, 2010.
2. Okamoto K, Kihira T, Kondo T, Kobashi G, Washio M, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Inaba Y, Nagai M, Nutritional status and risk of amyotrophic lateral sclerosis in Japan, *Amyotroph Lateral Scler.* 2007; 8 : 300-304.
3. Kihira T Kanno S, Miwa H, Okamoto K, Kondo T, The role of exogenous risk factors in amyotrophic lateral sclerosis in Wakayama, Japan, *Amyotroph Lateral Scler.* 2007; 8 :150-156
4. Okamoto K, Kihira T, Kondo T, Kobashi G, Washio M, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Inaba Y, Nagai M, Fruit and Vegetable Intake and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis in

- Japan, *Neuroepi.* 2009; 32 :251-256
5. Okamoto K, Kihira T, Kondo T, Kobashi G, Washio M, Sasaki S, Yokoyama T, Miyake Y, Sakamoto N, Inaba Y, Nagai M, Lifestyle Factors and Risk of Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Case-Control Study in Japan, *Ann Epidemiol.*2009; 19 : 359-364.
 6. 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.
 7. 紀平為子、吉田宗平、村田顕也、石口宏、近藤智善、河本純子、岡本和士、小久保康昌、葛原茂樹.紀伊半島南部地域における筋萎縮性側索硬化症—和歌山県内多発地における最近の発症率の推移と臨床像の変化— *BRAIN and NERVE* 2010, 62, 72-80.
 8. 紀平為子、岡本和士、吉田宗平、近藤智善、永井正規.和歌山県内筋萎縮性側索硬化症多発地における元素の特徴に関する疫学的検討. *神経内科* 2010, 73, 507-512.
 9. Y Miyake, K Tanaka, W Fukushima, S Sasaki, C Kiyohara, Y Tsuboi, T Yamada, T Oeda, T Miki, N Kawamura, N Sakae, H Fukuyama, Y Hirota, M Nagai, Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group. Case-control study of risk of Parkinson's disease in relation to hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes in Japan *J Neurol Sci* 2010, 15, 82-86.
 10. Mitsui J, Fukuda Y, Azuma K, Tozaki H, Ishiura H, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S. Multiplexed resequencing analysis to identify rare variants in pooled DNA with barcode indexing using next-generation sequencer. *J Hum Genet* 2010;55:448-55.
 11. Ishiura H, Fukuda Y, Mitsui J, Nakahara Y, Ahsan B, Takahashi Y, Ichikawa Y, Goto J, Sakai T, Tsuji S. Posterior column ataxia with retinitis pigmentosa in a Japanese family with a novel mutation in FLVCR1. *Neurogenetics* Epub ahead of print
 12. Nonaka T, Watanabe ST, Iwatsubo T, Hasegawa M. Seeded aggregation and toxicity of alpha-synuclein and tau: cellular models of neurodegenerative diseases. *J Biol Chem.* 285: 34885-98, 2010.
 13. Asaoka T, Tsuchiya K, Fujishiro H, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Iseki E, Oda T, Onaya M, Tominaga I. Argyrophilic grain disease with delusions and hallucinations: a pathological study. *Psychogeriatrics* 10: 69-76, 2010.
 14. Yokota O, Davidson Y, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ishizu H, Terada S, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM. Effect of topographical distribution of alpha-synuclein pathology on TDP-43 accumulation in Lewy body disease. *Acta Neuropathol.* 120: 789-801, 2010.
 15. Yokota O, Davidson Y, Bigio EH, Ishizu H, Terada S, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM. Phosphorylated TDP-43 pathology and hippocampal sclerosis in progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol.* 120: 55-66, 2010.
 16. Tamaoka A, Arai M, Itokawa M, Arai T, Hasegawa M, Tsuchiya K, Takuma H, Tsuji H, Ishii A, Watanabe M, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, Akiyama H. TDP-43 M337V mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis in Japan. *Intern Med.* 49: 331-4, 2010.
 17. amaguchi Y, Masuda M, Sasakawa H, Nonaka T, Hanashima S, Hisanaga SI, Kato K, Hasegawa M. Characterization of inhibitor-bound alpha-synuclein dimer: role of alpha-synuclein N-terminal region in dimerization and inhibitor binding. *J Mol Biol.* 395: 445-56, 2010.
 18. 秋山治彦、新井哲明、長谷川成人. (2010) アルツハイマー病およびレビー小体型認知症に

おけるリン酸化 TDP-43 最新医学 65:
1625-1631

19. 山下万貴子、野中隆、長谷川成人. (2010)
TDP-43 凝集体形成阻害化合物の検索 最新医学
65: 1597-1602

20. 野中隆、長谷川成人. (2010) 細胞内 TDP-43
蓄積のメカニズム 最新医学 65: 1572-1578

21. 長谷川成人、新井哲明. (2010) TDP-43 蓄積
症の発見 最新医学 65:1558-1565

22. Kimura T, Fukuda T, Sahara N, Yamashita S,
Murayama M, Mizoroki T, Yoshiike Y, Lee B,
Sotiropoulos I, Maeda S, Takashima A.,
Aggregation of detergent-insoluble tau is involved
in neuronal loss but not in synaptic loss. J. Biol
Chem. 2010 Oct 4. [Epub ahead of print]

23. Peethumongsin E, Yang L, Kallhoff-Muñoz V,
Hu L, Takashima A, Pautler RG, Zheng H.
Convergence of presenilin- and tau-mediated
pathways on axonal trafficking and neuronal
function. J Neurosci. 30(40):13409-18. 2010

24. Miyasaka T, Sato S, Tatebayashi Y, Takashima
A., Microtubule destruction induces tau liberation
and its subsequent phosphorylation. FEBS
Lett.584(14):3227-32. 2010

25. Naito AT, Okada S, Minamino T, Iwanaga K,
Liu ML, Sumida T, Nomura S, Sahara N, Mizoroki
T, Takashima A, et al. Promotion of
CHIP-mediated p53 degradation protects the heart
from ischemic injury. Circ Res.106(11):1692-702.
2010

26. Lin Li, Manabu Funayama, Hiroyuki
Tomiya, Yuanzhe Li, Hiroyo Yoshino, Ryogen
Sasaki, Yasumasa Kokubo, Shigeki
Kuzuhara, Yoshikuni Mizuno, Nobutaka Hattori. No
evidence for pathogenic role of GIGYF2 mutation
in Parkinson disease in Japanese patients
Neuroscience Letters 479(2010)245-248.

27. Naito Y, Matsuo K, Kokubo Y, Narita Y,
Tomimoto H. Higher-dose glutathione therapy for

Parkinson's disease in Japan: is it really safe? Mov
Disord. 2010 May 15;25(7):962; author reply
962-3.

28. 葛原茂樹. 紀伊半島の ALS/パーキンソン認
知症複合. 医学のあゆみ 2010;235 : 731-736.

29. 葛原茂樹. 続・日本人の発見した神経疾
患. 牟婁病—紀伊 ALS・パーキンソン・認知症
複合 Brain & Nerve 163:119-129, 2011

30. Akasaka-Manyu K, Manyu H, Sakurai Y,
Wojczyk B, Kozutsumi, Y, Saito Y, Taniguchi N,
Murayama S, Spitalnik S, Endo T: Protective effect
of *N*-glycan bisecting GlcNAc residues on
b-amyloid production in Alzheimer's disease.
Glycosilation 2010; 20: 99-106

31. Akasaka-Manyu K, Manyu H, Sakurai Y,
Wojczyk B, Kozutsumi, Y, Saito Y, Taniguchi N,
Murayama S, Spitalnik S, Endo T: Protective effect
of *N*-glycan bisecting GlcNAc residues on
b-amyloid production in Alzheimer's disease.
Glycosilation 2010; 20: 99-106

32. Ishibashi K, Kanemaru K, Saito Y, Murayama S,
Oda K, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K:
Cerebrospinal fluid metabolite and nigrostriatal
dopaminergic function in Parkinson's disease.
Acta Neurol Scand 2010; 122: 46- 51

33. Shishido T, Ikemura M, Obi T, Yamazaki K,
Terada T, Sugiura A, Saito Y, Murayama S,
Mizoguchi K: α -Synuclein accumulation in skin
nerve fibers revealed by skin biopsy in pure
autonomic failure. Neurology 2010; 74: 608-610

34. Kobayashi S, Saito Y, Maki T, Murayama S:
Cortical propagation of creutzfeldt- Jakob disease
with codon 180 mutation. Clin Neurol Neurosurg
2010; 112: 520- 52

35. Adachi T, Saito Y, Hatsuta H, Funabe S,
Tokumaru AM, Ishii K, Arai T, Sawabe M,
Kanemaru K, Miyashita A, Kusano R, Nakashima
K, Murayama S: Neuropathological asymmetry in
argyrophilic grain disease. J Neuropath Exp Neurol

2010; 69: 737-744

36. Terada T, Tsuboi Y, Obi T, Doh-ura K, Murayama S, Kitamoto T, Yamada T, Mizoguchi K: Less protease-resistant PrP in a patient with sporadic CJD treated with intraventricular pentosan polysulphate. *Acta Neurol Scand* 2010; 121: 127-130
37. Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe S, Harada M, Sadakane A, Yamada M: Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan *Brain* 2010; 133; 3043-3057

2 学会発表

1. 岡本 和士、紀平為子、近藤智善、阪本 尚正、小橋 元、鷺尾 昌一、三宅 吉博、横山 徹爾、佐々木 敏、稲葉 裕、永井正規. 筋萎縮性側索硬化症発症関連要因解明に関する疫学的研究. 日本疫学会. 2008、東京.
2. Okamoto K, Kihira T, Fruits and vegetable intake and risk of amyotrophic lateral sclerosis in Japan. 第19回 ALS/MND 国際シンポジウム. 2008. Birmingham
3. Okamoto K, Kihira T, Dietary pattern and risk of amyotrophic lateral sclerosis in Japan. 第20回 ALS/MND 国際シンポジウム. 2009. Berlin
4. Okamoto K, Kihira T, Gender differences in the relationship between lifestyle factors and risk of amyotrophic lateral sclerosis. 第21回 ALS/MND 国際シンポジウム. 2009. Orland.
5. 紀平為子、吉田宗平、石口宏、広西昌也、近藤智善、岡本和士、小久保康昌、葛原茂樹. W 県内筋萎縮性側索硬化症多発地における発症率の推移と環境要因の検討. 第51回日本神経学会総会、2010年、横浜.
6. T Kihira, S Yoshida, T Kondo, K Okamoto, Y Kokubo, S Kuzuhara. A follow-up study on ALS in the Koza/Kozagawa/Kushimoto focus area of the Kii Peninsula from the 1960s to the 2000s: A new cluster of ALS. 21st International Symposium on ALS/MND. Orlando, USA 11 - 13 December 2010
7. 紀平為子、村田顕也、近藤智善. 和歌山県における災害時難病患者支援計画および個別支援計画の策定状況. 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22年度 班会議、東京（都市センターホテル）平成23年1月
8. 江良 択実 iPS細胞バンク化事業 内分泌難病対策の今後と難病研究資源バンクの活用 第14回日本内分泌病理学会学術集会 公開サテライトシンポジウム 京都 2010年
9. 江良 択実 人工多能性幹細胞(iPS細胞)の委託作製とバンク化 今後の難病対策のあり方に関するシンポジウム 東京 2010年
10. 江良 択実 多能性幹細胞から組織幹細胞への分化 第12回 Circulation Forum in Hiroshima. 広島 2010年
11. 江良 択実 難治性疾患の診断と治療開発のためのiPS技術 シンポジウム iPS細胞を使った病気の研究 神戸 2010年
12. Ishiura H, Tsuji S. Massively parallel sequence analysis for revealing causes of neuromuscular disorders. 第51回日本神経学会総会（シンポジウム）、2010年5月、東京。
13. Ishiura H, Ahsan B, Mitsui J, Takahashi Y, Fukuda Y, Ichikawa Y, Nakahara Y, Hara K, Kakita A, Takahashi H, Onodera O, Nishizawa M, Goto J, Tsuji S. Siblings of pathologically proven multiple system atrophy: an application of whole genome analysis toward finding strong genetic factors for sporadic diseases. The 60th Annual meeting of American Society of Human Genetics.

November 2010. Washington, USA.

14. Hasegawa M (2010) Therapeutic approaches targeting tau protein for neurodegenerative diseases.

International Seminar Aging, Tau Protein and Dementias at French Embassy, Tokyo [2010/10/20]

15. Hasegawa M, Nonaka T, Tsuji H, Yamashita M, Kametani F, Tamaoka A, Arai T, Akiyama H (2010) Molecular dissection of TDP-43

proteinopathies. The 7th International Conference on Frontotemporal Dementias, Indianapolis, USA [2010/10/06]

16. Masuda M, Taniguchi S, Suzuki N, Hasegawa M (2010) Therapeutic approaches of targeting pathological tau protein for neurodegenerative diseases. Neuro2010 Joint Conference, The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan [2010/09/03]

17. Hasegawa M, Arai T, Nonaka T, Kametani F, Yoshida M, Ikeda K, Akiyama H (2010) Proteomic analyses of TDP-43 proteinopathy. Neuro2010 Joint Conference, The 33rd Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society, Kobe, Japan [2010/09/04]

18. 長谷川成人 (2010) ALS の分子病態解明と治療に向けて. 日本神経治療学会, シンポジウム 2, 神経治療学のブレークスルー: 神経疾患の新規治療, 横浜 [2010/07/21]

19. 長谷川成人 (2010) 生化学的方法と神経病理. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, シンポジウム 2 [神経病理の更なる発展に向けて②], 東京 [2010/04/24]

20. 長谷川成人 (2010) 筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭葉変性症を特徴づける封入体の構成タンパク質、TDP-43. 第 99 回日本病理学会総会, ワークショップ 12「神経変性疾患と封入体」, 東京 [2010/04/29]

21. 長谷川成人 (2010) TDP-43 の発見から動物モデルまで. 第 51 回日本神経学会総会, シンポジウム 13「筋萎縮性側索硬化症の病因 TDP-43

および FUS/TLS 研究の最前線」, 東京 [2010/05/22]

22. 辻浩史, 長谷川成人, 野中隆, 新井哲明, 山下万貴子, 亀谷富由樹, 秋山治彦, 宅間浩, 富所康志, 中馬越清隆, 石井亜紀子, 石井一弘, 渡邊雅彦, 玉岡晃 (2010) 筋萎縮性側索硬化症に蓄積する TDP-43 蛋白 C 末端断片に関する検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京 [2010/05/21]

23. 團彩帆, 野中隆, 村山繁雄, 初田裕幸, 新井孝夫, 長谷川成人, RD4 エピトープ内に起こっている翻訳後修飾によるタウの生理機能変化. Dementia Japan 24: 380

24. 鈴掛雅美, 野中隆, 久永真市, 長谷川成人, モデルマウスを用いたタウ凝集阻害薬、ペプチドワクチンの評価. Dementia Japan 24: 381

25. 野中隆 (2010) 細胞内異常タンパク質の蓄積機構とその制御. 第 29 回日本認知症学会学術集会, 名古屋 [2010/11/06]

26. Nonaka T, Watanabe ST, Iwatsubo T, Hasegawa M (2010) Seeded aggregation and toxicity of alpha-synuclein and tau: cellular models of neurodegenerative diseases. Society for Neuroscience 40th Annual Meeting, San Diego, USA [2010/11/13]

27. Invited speaker of plenary lecture, International Conference on Alzheimer's Disease (ICAD2010) (Hawaii, 2010/07/10-15)

28. Invited speaker of MRC center for synaptic plasticity and association for neuron and disease symposium (Bristol, 2010/06/29-07/01)

29. Invited speaker of Aging, Tau & Dementia workshop (French Embassy in Tokyo, 2010/10/19-20)

30. Invited speaker of minisymposium in Society for Neuroscience (San Diego, 2010/11/14-11/17)

31. Y Kokubo, Y Nakayama, S Kuzuhara. A Biological Marker of Amyotrophic Lateral Sclerosis / Parkinsonism-Dementia Complex of The Kii