

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

〔目的〕牟婁病，紀伊半島の amyotrophic lateral sclerosis / parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)への候補遺伝子異常の関与について検討する。

〔方法〕病理診断された3例の紀伊半島 ALS/PDC (牟婁病)患者を対象とし，ALS / frontotemporal lobar degeneration (FTLD)関連遺伝子，タウオパチー関連遺伝子，パーキンソニズム関連遺伝子の，計20の候補遺伝子解析を行った。また，SCA2のCAGリピートの間伸長が，家族性パーキンソン病の発症要因となるのみでなく，amyotrophic lateral sclerosis (ALS)の危険因子となることが最近新たに報告されたため，病理学的に確定診断された12例の紀伊半島 ALS/PDC患者において，PCR産物をフラグメント解析し，SCA2のCAGリピートの伸長の長さを解析した。

〔結果及び考察〕病理診断された3例において，計20の候補遺伝子には関与が疑われる遺伝子変異を認めなかった。SCA2のCAGリピートについては，12例全例で正常であった。以前の解析も合わせ，これまでの候補遺伝子解析で26遺伝子が解析済みであるが，主要なALS，frontotemporal lobar degeneration (FTLD)，パーキンソニズム，シヌクレイノパチー，TDP-43プロテインパチー，タウオパチーの原因および感受性遺伝子で異常を特定できていない。しかしながら，牟婁病は家系図上メンデル遺伝にきれいに従わないものの，家族例が多く発症者の家系内集積が強いこと，環境因子として確立したものはないことから，未知の遺伝的因子が強く発症に関わっている可能性が高いと考えられた。また，環境，食品栄養などの劇的な変化とほぼ時期を同じくしてALSが激減し，高齢化の中でALS/PDCの臨床病型もやや変遷してきていることより，遺伝的因子と環境因子，加齢因子の相互作用について今後も検討していく必要がある。

〔結論〕これまでの紀伊半島 ALS/PDC (牟婁病)の候補遺伝子解析では，関与が疑われる遺伝子，遺伝子変異は特定できていない。次世代シーケンサーをはじめとするテクノロジーの進歩もあり，新しい原因遺伝子が次々に報告されてきているが，候補遺伝子領域だけでなく，全エクソン，全ゲノムの解析の結果などから本疾患の遺伝的因子の全貌が明らかにされていくことが期待される。さらには，グアム島やパプアニューギニアにみられるALS/PDCともあわせ，診断基準に基づく疫学調査から，民族や地域特異性，人類遺伝学も考慮した今後のより大規模な解析の成果が期待される。

研究分担者氏名：富山 弘幸

所属機関名：

順天堂大学医学部脳神経内科/
神経変性疾患病態治療探索講座

A.研究目的

amyotrophic lateral sclerosis (ALS)は原因不

明で有効な治療法がなく、運動障害の進行から呼吸不全により死に至る予後不良の疾患であり、長期間人工呼吸管理下で医療や介護を受けている患者も多く存在する。一方、Parkinson 病も原因不明で根本治療も未だ確立していない、運動障害を中心とした疾患であり、加齢を危険因子として有病率も高く、数多くの患者が存在する。牟婁病すなわち紀伊半島の amyotrophic lateral sclerosis / parkinsonism-dementia complex (ALS/PDC)は、双方の疾患の病態の特徴を併せ持ち、家族内発症も認める疾患である。そのため、牟婁病の研究は、ALS や Parkinson 病の根本の病態解明・治療法開発に繋がる可能性があり、高齢化社会において厚生労働行政の課題の解決の一助になることが期待される。このような背景の中、本疾患の発症機序を明らかにするため、候補遺伝子異常の関与について検討することを目的とした。

B.研究方法

病理診断された 3 例の紀伊半島 ALS/PDC (牟婁病) 患者を対象とし、直接塩基配列決定法で 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*, *p62/SQSTM1*), 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*)のさらに計 20 の候補遺伝子解析を行った。 *MAPT*, *alpha-synuclein*, *TDP-43/TARDBP*, *GSK3β*, *parkin* の欠損や重複の有無についても、TaqMan プローブを用いた定量的 PCR 法により解析した。

また、*SCA2* の CAG リピートの間伸長が、家族性 Parkinson 病の発症要因となるのみでなく、ALS の危険因子となることが最近新たに報告されたため、病理学的に確定診断された 12 例の

紀伊半島 ALS/PDC 患者において、PCR 産物をフラグメント解析し、*SCA2* の CAG リピートの伸長の長さを解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、三重大学、順天堂大学の倫理委員会の承認に基づき行った。個人の遺伝情報の扱いに関し配慮を行い、十分な説明と同意を得た上、各試料は匿名化、ランダムイズして解析を行った。

C.研究結果

これら 20 候補遺伝子のエクソン、エクソン・イントロン境界には病的変異は認めなかった。3 例ともホモの *ALS2/alsin* V368M を持っていたが、正常者もほとんどが持っている一塩基多型 (SNP) であり疾患への関与は否定的と考えられた。 *MAPT*, *alpha-synuclein*, *TDP-43*, *GSK3β*, *parkin* の 5 個の遺伝子において、エクソンの欠損や重複を認めなかった。

SCA2 の CAG リピートについては、12 例全例で正常であった。

これら計 21 個の候補遺伝子に病的変異はなく、上記 5 個の候補遺伝子のエクソンの欠損や重複変異もないことが明らかになった。

D.考察

本解析およびこれまで行われた *MAPT* や *SOD1* などの候補遺伝子解析結果をまとめると、計 26 個の遺伝子解析で、主要な ALS, frontotemporal lobar degeneration (FTLD), パーキンソニズム, シヌクレイノパチー, TDP-43 プロテインパチー, タウオパチーの原因および感受性遺伝子の異常を特定できていない。しかしながら、牟婁病は家系図上メンデル遺伝にきれいに従わないものの、家族例が多く発症者の家系内集積が強いこと、これまで環境因子として確立したものはないことから、未知の遺伝的因子が強く

発症に関わっている可能性が考えられた。また、第二次世界大戦後、環境、食品栄養などの劇的な変化とほぼ時期を同じくして ALS が激減し、高齢化の中で ALS/PDC の臨床病型もやや変遷してきていることより、遺伝的因子と環境因子、加齢因子の相互作用について今後も検討していく必要がある。それらの相互作用に関し epigenetics の evidence も増えつつあるため、その一つのアプローチ法として、紀伊半島 ALS/PDC 症例においても Tau などの主要分子、主要遺伝子におけるメチル化、栄養障害特に葉酸欠乏によるメチル化の変化、発生から加齢におけるメチル化の変化などの検討が有用である可能性がある。

E. 結論

本解析結果により、ALS, FTL, パーキンソンズ、シヌクレイノパチー、TDP-43 プロテノパチー、タウオパチーの計 21 個の原因および感受性遺伝子のエクソン、エクソン・イントロン境界に病的変異はなく、5 個の候補遺伝子のエクソンの欠損や重複もないことが明らかになった。以前の 5 遺伝子の塩基配列の解析結果も加えると、これまで計 26 個の遺伝子に病的変異を認めていないことになった。

本候補遺伝子解析では特定できなかったものの、発症者の家系内集積が強いこと、これまで環境因子として確立したものはないことから、紀伊半島 ALS/PDC の発症には、未知の遺伝的因子が関わっている可能性が高い。ALS/PDC の研究が孤発性 ALS, TDP-43 プロテノパチー、タウオパチー、シヌクレイノパチーの病態解明に大きな役割を果たす可能性がある。

最近、次世代シーケンサーをはじめとするテクノロジーの進歩もあり、新しい原因遺伝子が次々に報告されてきているが、候補遺伝子領域だけでなく、全エクソン、全ゲノムの解析の結果などが

ら本疾患の遺伝的因子の全貌が明らかにされていくことが期待される。また今後も遺伝的因子と環境因子の相互作用について検討していく必要がある。さらには、グアム島やパプアニューギニアにみられる ALS/PDC ともあわせ、診断基準に基づく疫学調査から、民族や地域特異性、人類遺伝学も考慮した今後のより大規模な解析の成果が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

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.

2. 学会発表

なし

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

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

牟婁病患者の脳、脊髄に蓄積するタウ、 α シヌクレイン(α S), TDP-43 について生化学解析を行った。タウは、調べた9例のうち4例が4リピート(4R)タウと3リピート(3R)タウがほぼ同量、3例は4R タウが3R タウよりも多く検出された。 α S は検出される部位や症例が限定されるものの、蓄積の多い症例においてはDLBと類似のバンドパターンを示した。TDP-43は、type B (ALS type)あるいはtype A(AD type)のTDP-43C末端断片が検出された。複数の異常病変が混在している可能性が示唆された。

研究分担者氏名：長谷川成人

所属機関名：東京都精神医学総合研究所

A.研究目的

牟婁病患者の中樞神経系にはタウ、 α シヌクレイン(α S)、TDP-43が蓄積することが免疫組織染色により示されているが、生化学的解析は十分になされていない。また、ALSやFTLD患者脳に蓄積するTDP-43、あるいはレビー小体型認知症(DLB)やパーキンソン病(PD)患者に蓄積する α Sと生化学的特徴が同じかどうかについても不明である。そこでこれまでに剖検になった症例で、凍結組織が保存され、生化学解析が可能な牟婁病患者症例について、その不溶性を調製し、タウ、TDP-43、 α Sについて、生化学解析と免疫組織化学解析を行う。

B.研究方法

牟婁病患者剖検脳(9症例の前頭葉、あるいは側頭葉の凍結組織)を0.8M NaClを含むTris-HCl緩衝液、1% Sarkosylを含む緩衝液で順次可溶化し、1% Sarkosylに不溶性を示す画分を調製した。一部は灰白質と白質に分けて不溶性画分を調製した。一部は変性後、アルカリホスファターゼを添加し、67℃で2時間、脱リン酸化処理を行った。脱リン酸化前後の試料を電気泳動により分離後、PVDF膜に転写し、抗タウ抗体(HT7, BR133)、抗リン酸化タウ抗体(pS396)にてイムノブロット解

析を行った。一部の症例(2011-1, 2004-1, 2001-1, 2009-1)は、抗リン酸化TDP-43抗体(pS409/410)、抗 α シヌクレイン抗体にてイムノブロット解析を行った。また生化学解析に用いた組織の近傍をホルマリン固定後、ビブラトームにて厚さ50 μ の切片を作製し、抗リン酸化タウ抗体AT8で免疫組織染色を行い、タウの病変の有無、形態の違いなどを観察した。

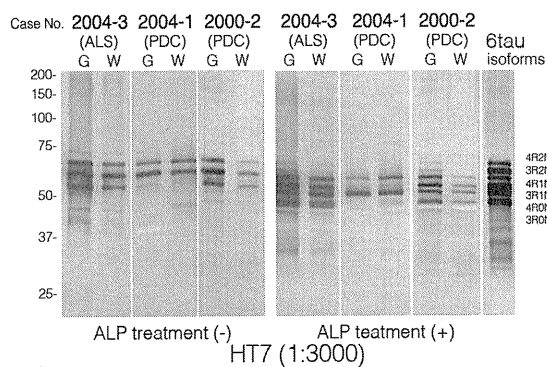
(倫理面への配慮)

剖検脳の生化学解析については当研究所の倫理委員会に申請を提出して承認を受け、実験指針に従って行った。

C.研究結果

1) 1998年から2010年までの9症例のタウ初期の2症例(1998-1, 2001-1)は、脱リン酸化前にはADの異常リン酸化タウに特徴的な60, 64, 68kDaのトリプレットバンドを示したが、脱リン酸化後は、ADと異なり、3Rタウより4Rタウのバンドがより強く検出された。別の3症例について、皮質と白質を分離して不溶性タウを調製し、蓄積タウのアイソフォームを解析した結果、皮質と白質で蓄積タウのアイソフォームの違いは見られなかったが、2004-3(臨床診断ALS)と2000-1(臨床診断PDC)はADと似た蓄積パターンを示したのに対し、2004-1(臨床診断PDC)は4Rタウ

ウアイソフォームが主に蓄積していた (図)。



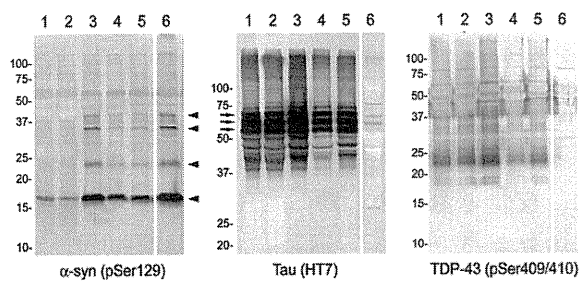
残り 4 症例については、2007-1, 2009-1 は AD に似たバンドパターン、2005-3 は 4R タウが多い傾向が観察され、2009-4 は不明であった。

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り、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。

2) 2001-1, 2009-1 例のタウ、 α S、TDP-43

3R タウよりも 4R タウの蓄積が多い 2001-1 例、AD type のタウ蓄積が認められた 2009-1 について、扁桃体、海馬、海馬傍回に蓄積する α S と TDP-43 の解析を行った。その結果、 α S は検出される部位や症例が限定されるものの、蓄積の多い 2009-1 例の海馬付近は、DLB と類似のバンドパターンを示した。TDP-43 の C 末端断片は、type A (AD type)様のバンドパターンが検出された。

紀伊ALS/PDC(2001-1, 2009-1)に蓄積する α Syn, tau, TDP-43



2001-1(3R<4R), 2009-1(3R)=4R)の扁桃体、海馬、海馬傍回に DLBと類似のバンドパターンを示す α Synが検出。
2001-1, 2009-1に蓄積する TDP-43は Type 3?

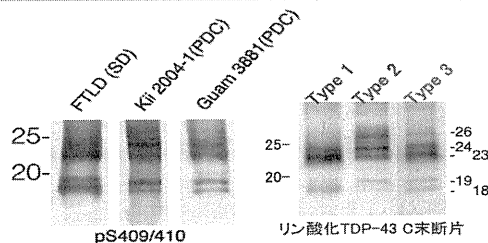
3) 2011-1 (ALS+D)例のタウ、TDP-43

最近剖検された 2011-1(72 歳、臨床診断: ALS+D) 例について、側頭葉、頸随、胸随、腰随からサルコシル不溶性画分を調製し、タウ、リン酸化 TDP-43 のそれぞれを T46 抗体、pS409/410 抗体にて検出した。その結果、側頭葉に強い AD type のタウ蓄積が観察された。また、脊髄にも弱いながら、同様の AD type のタウ蓄積が検出された。一方、TDP-43 については、type B (ALS type)の C 末端断片バンドパターンが側頭葉において検出された。脊髄には 45kDa の全長リン酸化 TDP-43 に加え、非常に弱いながら C 末端断片が検出され、そのバンドパターンは ALS type と推測された。

4) 2004-1 (臨床診断 PDC)例

CBD 様の 4R タウ蓄積がみとめられた 2004-1 例は、type B (ALS type)の TDP-43 C 末端断片バンドが検出された。同時に検討したグアム ALS/PDC の一例は、type A のバンドパターンを示した。

紀伊PDC2004-1(4R tau蓄積例)とGuam PDC例のTDP-43



これまでの生化学解析の結果のまとめを以下に示す。

紀伊ALS/PDC患者脳の不溶性画分のイムノブロット解析のまとめ

症例番号	年齢	性別	臨床診断	タウ	TDP-43	α S
1	1998-1	77歳	男性	ALS with D	3R<4R	
2	2001-1	60歳	女性	PDC with A	3R<4R	Type A (海馬)
3	2004-3	63歳	女性	ALS	3R)=4R	
4	2004-1	70歳	女性	PDC with ALS	3R<4R	Type B
5	2000-2	76歳	女性	PDC	3R)=4R	
6	2009-4	70歳	女性	ALS	?	
7	2005-3	70歳	女性	ALS	3R<4R ?	
8	2007-1	70歳	女性	PDC	3R)=4R	
9	2009-1	75歳	男性	PDC	3R)=4R	Type A (海馬) DLB型
10	2011-1			ALS+D	3R)=4R	Type B

D. 考察

神経疾患に蓄積する異常タンパク質は、疾患ごとに特徴的な構造をとる場合が多いが、牟婁病の場合、タウに関しては、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、症例ごとに異なっていた。

また、TDP-43 の異常蓄積病変も、疾患ごとにある程度特徴的で、生化学的にも少なくとも 3 つに分類されるが、牟婁病の場合、症例によって異なり、type B、あるいは type A のバンドパターンを示した。

このように、病理構造物の形態、生化学的特徴が一定の傾向を示さない理由については現時点で不明であるが、二つの疾患が混在している可能性や、はじめに出現する異常分子の種類によって異なる病理形態が生じる可能性が考えられる。

2001-1、及び 2009-1 例の TDP-43 については、海馬領域の結果を示しており、他の脳領域については未解析である。海馬については AD 型のタウ蓄積が早期から生じ、それに伴って TDP-43 が蓄積すると考えればつじつまがあうかもしれない。

E. 結論

牟婁病患者に蓄積するタウ、TDP-43、 α S の解析を行い、以下の結論を得た。

- 1) 3R タウと 4R タウがほぼ同程度蓄積する症例と、4R タウの割合が多く蓄積する症例の両方が認められ、症例によって蓄積タウの分子種が異なることが明らかとなった。
- 2) 異常リン酸化 TDP-43 の蓄積はほぼ前例に観察されるが、そのバンドパターンは type B(ALS 型)の場合と type A(AD 型)の場合があり、脳の部位によって異なる可能性が考えられる。
- 3) 症例数は少ないが、辺縁系に α S の蓄積がみられ、そのバンドパターンは DLB に類似し、ユビキチン化が検出された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Tsuji H, et al (2012) Epitope mapping of antibodies against TDP-43 and detection of protease-resistant fragments of pathological TDP-43 in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration. *Biochem Biophys Res Commun* 417: 116–121.
2. Foulds PG, et al (2011) Phosphorylated alpha-synuclein can be detected in blood plasma and is potentially a useful biomarker for Parkinson's disease. *FASEB J* 25: 4127-37.
3. Foulds PG, et al (2012) Post mortem cerebrospinal fluid α -synuclein levels are raised in multiple system atrophy and distinguish this from the other α -synucleinopathies, Parkinson's disease and Dementia with Lewy bodies. *Neurobiol Dis* 45:188-95.
4. Hasegawa M, et al (2011) Molecular Dissection of TDP-43 Proteinopathies. *J Mol Neurosci* 45:480-485.
5. Nonaka T and *Hasegawa M (2011) In vitro recapitulation of aberrant protein inclusions in neurodegenerative diseases, New cellular models of neurodegenerative diseases. *Commun & Integ Biol* 4, 501-502.
6. Meyerowitz J, et al (2011) C-Jun N-terminal kinase controls TDP-43 accumulation in stress granules induced by oxidative stress. *Mol Neurodegener* 6:57.
7. Habuchi C, et al (2011) Clinicopathological study of diffuse neurofibrillary tangles with calcification. With special reference to TDP-43 proteinopathy and alpha-synucleinopathy. *J Neurol Sci* 301, 77-85.
8. 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.

9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. Yamaguchi 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.
14. 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
15. 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
16. 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
17. 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

2.学会発表

1. Hasegawa M: Molecular pathology of TDP-43 proteinopathies. 3rd World Congress of Asian Psychiatry 2011, Melbourne [2011. 8. 2]
2. 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]
3. 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]
4. 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]
5. 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]
6. 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]
7. 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]
8. 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]

9. 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]
10. 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]
11. 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
12. 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
13. 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]

14. 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]

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

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

牟婁病患者由来 iPS から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。iPS 細胞樹立は熊本大学発生医学研究所、江良拓実先生との共同研究により行う。それらの細胞を用いて病態の機序解明のため、現在までに神経変性疾患で提唱されている異常の検証を *in vitro* での実験により行う。

研究分担者氏名：広川佳史

所属機関名：三重大学医学研究科腫瘍病理学

A.研究目的

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。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。本研究は病態解明の為の有効な材料を得ることが目的である。

B.研究方法

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 をセンダイウイルスを用いて遺伝子導入して作製する。実際の作製作業は熊本大学発生医学研究所にて行う。

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。

1) 疫学的環境因子の影響

グアムの類縁疾患の発症機序に、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。

a) 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、ドー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。

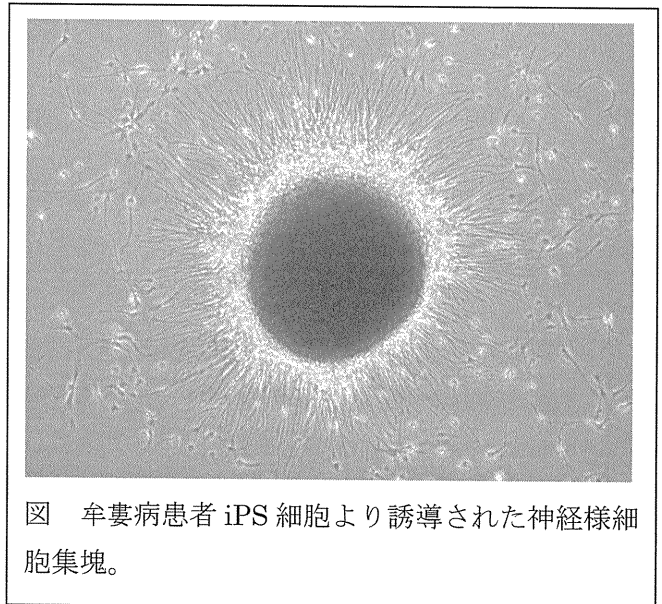
最近では、ALS 発症機序に神経細胞単独ではなく、グリア細胞を含めた微小環境の関与が提唱されている。この仮説の検証のため、グリア細胞と運動神経細胞を共培養し、上記であげた項目について検討を行う。

(倫理面への配慮)

本研究では、患者からの試料の提供を受けるにあたって十分な informed consent を得る。研究計画は、事前に三重大学医学研究科の倫理委員会の承認を得ている。得られた個人情報については、法令等を遵守のうえ厳重に管理し、漏洩等のないように十分注意して研究を遂行する。

C.研究結果

3例の患者線維芽細胞から iPS 細胞が樹立された。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い、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。しかし患者由来の iPS 細胞からは神経細胞様の形態を持つものが誘導されたが、運動ニューロンの分化マーカー発現は認められなかった。



D.考察

牟婁病患者 iPS 細胞から運動ニューロンへの分化誘導の過程では正常 iPS 細胞とは異なる培養条件設定が必要と考える。

E.結論

運動ニューロンへの分化誘導が困難な場合、誘導がより容易なドーパミン産生ニューロンを用いて実験を行う必要がある。

F.研究発表

1.論文発表

Kokubo Y, Hirokawa Y. et al. Cardiac 125 I-meta-iodobenzylguanidine scintigraphy and lewy body pathology in a patient with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of Kii, Japan. • *Mov Disord.* 2011 • 26 (2300–2301) 2.

2.学会発表

本年度はなし。

G.知的所有権の取得状況

- 1.特許取得 本年度はなし。
- 2.実用新案登録 本年度はなし。
- 3.その他 特になし。

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

牟婁病の神経病理学的再検討を行った。紀伊半島筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン病認知症複合（ALS/PDC-Kii）既往剖検例、グアム島同疾患（ALS/PDC-Guam）剖検例と比較した。ALSについては、古典的 ALS-TDP43 との差はなかった。タウオパチーに関しては、アルツハイマー型神経原線維変化（ADNFT）に加え、4 リピートタウオパチーとして、グリア病変の関与が重要と考えた。

研究分担者氏名：村山繁雄

研究協力者：森本悟

所属機関名：東京都健康長寿医療センター

高齢者ブレインバンク

A.研究目的

牟婁病は、牟婁の足萎病として記載されてきたが、八瀬博士らの ALS/PDC-Kii との位置付け、ALS/PDC-Guam との関連は明瞭でない。

我々は、本研究班に加え、ALS/PDC-Guam については、平野朝雄、小柳清光博士の協力を得、比較検討を試みた。

B.研究方法

主任研究者に牟婁病として診断された症例の免疫組織化学を含めた再検討を加え、免疫プロットとの比較を行った。また、和歌山医大・愛知医大蓄積例についても検討した。また、モンテフィオーレ蓄積例、小柳清光博士蓄積例との比較を行った。

(倫理面への配慮)

当施設倫理委員会承認済み。

C.研究結果（図表を1～2点添付）

牟婁病の ALS 病変については、古典的 ALS-TDP43 との差異は認めなかった。

平野例では、PDC は脊髄採取がされておらず、ALS の合併は不明であった。また、ALS 例において、免疫染色はされていないが、ALS 病変としては Bunina 小体を伴う孤発性古典的 ALS の病理像をとっており、タウ病変については ADNFT

のない例から高度の例まで認められた。

PDC については、黒質の著明な変性と、海馬・中脳水道周囲に高度の ghost tangle 出現が特徴だが、症例により程度に差があることは、既報通りであった。また、レビー小体は 30% に出現するが、細胞脱落との相関はない点も、既報通りであった。

小柳例は、脳・脊髄が全例で検索されていること、免疫組織科学的詳細な検討が加わっているが、神経病理所見の本質は、平野例との差はないと判断された。ただ、一例 PSP と判断せざるを得ない症例が存在した。

和歌山医大集積例は、ALS 例のみからなるが、孤発性古典的 ALS の病理像に、ADNFT の出現がやや強く、分布が非典型的である点が特徴であった。愛知医大加齢研の 2 症例は、ALS-TDP43 に PDC を合わせ持っている症例であった。牟婁病とされた穂原例は、ALS 病変は全て典型的 ALS-TDP43 所見であった。また、タウ病変としては、PDC 病理に加え、グリア病変と、嗜銀顆粒の存在が確認出来、これは小柳例との共通する点であった。一例 ALS/PDC-Kii に、皮質基底核変性症（CBD）の合併例が存在した。

D.考察

本研究により、ALS/PDC-Kii は、ALS/PDC-Guam と同様、発症頻度の高い古典的 ALS-TDP43 病変に、タウオパチーである PDC が加わっている病態と判断された。

PDC タウオパチーは、ADNFT が主体で、アミ

ロイドβ沈着を前提としないが、4R タウパチーである、グリア病変、嗜銀顆粒を高頻度に伴うと考えられた。また、ALS の合併に関しては、ないものから高度のものまでであると考えられた。CBD 合併例の存在は、PDC タウパチーの病因が、より上流に存在する可能性を示唆すると考えた。

以上のことから、ALS 発症頻度を上昇させる何らかの基盤が、PDC タウパチーを誘発していること、ALS が激減していることから、Guam と紀伊に共通する多因子が関与しており、ALS を増加させていた因子が両地域で消えつつあることを示している可能性が高い。

E. 結論

ALS/PDC Kii と ALS/PDC- Guam は同じ疾患である。該当地域に発症した ALS、PDC は全てこの名称で検討し、神経病理学的に検討の上蓄積していくことが、今後の疾患解明には重要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Sato N, Amino T, Kobayashi K, Asakawa S, Ishiguro T, Tsunemi T, Takahashi M, Matsuura T, Flanigan KM, Iwasaki S, Ishino F, Saito Y, Murayama S, Yoshida M, Hashizume Y, Takahashi Y, Tsuji S, Shimizu N, Toda T, Ishikawa K, Mizusawa H: Spinocerebellar ataxia type 31 is associated with “inserted” penta-nucleotide repeats containing (TGGAA)_n. *Am J Hum Gen* 2009; 85 (5): 544-557
2. Ishibashi K, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Oda M, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K: Validation of cardiac 123I-MIBG scintigraphy in patients with Parkinson’s disease who were diagnosed with dopamine PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37: 3- 11
3. 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
4. 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

5. 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

6. 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

7. Seki, N., Takahashi, Y., Tomiyama, H., Rogaeva, E., Murayama, S., Mizuno, Y., Hattori, N., Marras, C., Lang, A. E., George-Hyslop, P. S., Goto, J., & Tsuji, S. Comprehensive mutational analysis of LRRK2 reveals variants supporting association with autosomal dominant Parkinson's disease. *Journal of human genetics*, 2011; 56(9): 671-675.

8. Kakuda N, Shoji M, Arai H, Furukawa K, Ikeuchi T, Akazawa K, Takami M, Hatsuta H, Murayama S, Hashimoto Y, Miyajima M, Arai H, Nagashima Y, Yamaguchi H, Kuwano R, Nagaike K, Ihara Y and the Japanese Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative: Altered γ-secretase activity in mild cognitive impairment and Alzheimer’s disease. *EMBO Molecular Medicine* (in press)

2. 学会発表

なし

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。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

1. 平成 22 年度 (2010 年度)

英文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
Y Miyake, K Tanaka, et al. and <u>Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group</u>	Case-control study of risk of Parkinson's disease in relation to hypertension, hypercholesterolemia, and diabetes in Japan	J Neurol Sci	15	82-86	2010
Y. Miyake, W. Fukushima, et al. and <u>Fukuoka Kinki Parkinson's Disease Study Group</u>	Dietary intake of antioxidant vitamins and risk of Parkinson's disease: a case-control study in Japan	European Journal of Neurology	18	106-113	2011
Tomiya 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
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
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
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
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
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
Yamaguchi 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
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	32	251-256	2009

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版 西暦年
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	19		2009
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.	285(49)	38692- 9	2010
Peethumnongsin 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
Miyasaka T, Sato S, Tatebayashi Y, Takashima A	Microtubule destruction induces tau liberation and its subsequent phosphorylation.	FEBS Lett	584(14)	3227- 32	2010
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
Takashima A	Tau Aggregation is a Therapeutic Target for Alzheimer's Disease	Curr Alzheimer Res	7	665- 669	2010
Akasaka-Manyá K, Manyá 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 β -amyloid production in Alzheimer's disease.	Glycosilation	20	99-106	2010
Ishibashi K, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Oda M, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K	Validation of cardiac 123I- MIBG scintigraphy in patients with Parkinson's disease who were diagnosed with dopamine PET.	Eur J Nucl Med Mol Imaging	37	3-11	2010
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	122	46-51	2010
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	74	608- 610	2010
Kobayashi S, Saito Y, Maki T, Murayama S	Cortical propagation of Creutzfeldt-Jakob disease with codon 180 mutation.	Clin Neurol Neurosurg	112	520- 523	2010
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.	Neuropath Exp Neurol	69	737- 744	2010
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	121	127- 130	2010

著 者 名	論 文 題 名	雜 誌 名	卷	頁	出版 西曆年
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	133	3043- 3057	2010

英文総説

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版 西暦年
Arai T, Hasegawa M, Nonaka T, Kametani F, Yamashita M, Hosokawa M, Niizato K, Tsuchiya K, Kobayashi Z, Ikeda K, Yoshida M, Nonaya M, Fujishiro H, Akiyama H	Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS, FTLN and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy.	Neuropathol.	30	170-181	2010

邦文単行本

著者名	論文題名	書名	(編集者名)	出版社名	出版地	出版西暦年	頁
村山繁雄(分担)：厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」編集	プリオン病と遅発性ウイルス感染症.	プリオン病と遅発性ウイルス感染症	厚生労働科学研究費補助金難治性疾患克服研究事業「プリオン病及び遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班」	金原出版	東京	2010	1-333
葛原茂樹	パーキンソン症候群とその他の錐体外路性運動異常症	新老年医学第3版	大内尉義、秋山弘子	東京大学出版会	東京	2010	p807-820

邦文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版 西暦年
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	62	72-80	2010
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	73	507-512	2010
足立正、今福一郎、角田幸雄、村山繁雄	Neurological CPC 純粹自律神経不全症で発症, Parkinson症状と進行性の前頭側頭葉萎縮を示した83歳男性. BRAIN and NERVE	神経研究の進歩	62	1343-1351	2010
四茂野はるみ、栗崎博司、蛇沢晶、崎山快夫、齊藤祐子、村山繁雄	パーキンソニズムを主症状としたSCA2の1剖検例.	臨床神経学	50	156-162	2010
吉村菜穂子、本間琢、村山繁雄、織茂智之	Neurological CPC 認知症を伴ったParkinson病85歳男性例. BRAIN and NERVE	神経研究の進歩	62	635-642	2010

邦文総説

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
秋山治彦、新井哲明、長谷川成人.	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	2010
山下万貴子、野中隆、長谷川成人.	TDP-43凝集体形成阻害化合物の検索	最新医学	65	1597-1602	2010
野中隆、長谷川成人.	細胞内TDP-43蓄積のメカニズム	最新医学	65	1572-1578	2010
長谷川成人、新井哲明.	TDP-43蓄積症の発見	最新医学	65	1558-1565	2010
高島明彦、柳下聡介、添田義行	タウ蛋白を介したアルツハイマー病発症機構	Clinical Neuroscience	28 (9)	988-991	2010
高島明彦	認知症性疾患の遺伝子と病態	神経内科	72 (6)	66-71	2010
高島明彦	GSK-3 β と記憶・認知症	Clinical Neuroscience	28(6)	592-593	2010
高島明彦	アルツハイマー病発症におけるタウの意義	Brain and Nerve	62(7)	701-708	2010
村山繁雄、初田裕幸、足立正、舟辺さやか、杉山美紀子、齊藤祐子	前頭側頭型認知症の診断と病理	Cognition and Dementia	9	44-50	2010
村山繁雄、初田裕幸、足立正、舟辺さやか、杉山美紀子、坂田増弘、齊藤祐子	脳の老化の神経病理学	分子精神医学	10	16-19	2010
村山繁雄、初田裕幸、足立正、舟辺さやか、杉山美紀子、齊藤祐子	Braak脳幹上行仮説の検証	最新医学	65	30-36	2010
村山繁雄	【認知症 研究・臨床の最先端】 最新研究動向 認知症のブレインバンク	医学のあゆみ	235	647-654	2010
徳丸阿耶、村山繁雄	認知症 研究・臨床の最先端】 診断 認知症におけるMRI診断の可能性 背景病理を踏まえて.	医学のあゆみ	235	619-626	2010
村山繁雄、齊藤祐子	老化に伴う認知機能の動的神経病理 (臨床・画像・病理関連)	老年期認知症研究会誌	17	61-65	2010
村山繁雄、徳丸阿耶、石井賢二、金丸和富、齊藤祐子	【知っておきたい認知症の臨床と画像】 認知症総論 認知症の動的神経病理 前方視的臨床研究と後方視的病理研究の結合.	臨床放射線	55	1309-1318	2010
村山繁雄、齊藤祐子	【ブレインバンク】 ブレインバンクの現状と展望. BRAIN and NERVE	BRAIN and NERVE	62	1013-1018	2010
徳丸阿耶、村山繁雄、齊藤祐子	アルツハイマー病 update 臨床検査 CT, MRI.	Clinical Neuroscience	28	1011-1013	2010
齊藤祐子、仙石鍊平、村山繁雄	臨床医のための神経病理 Lewy小体・Lewy神経突起のスペクトラム(3).	Clinical Neuroscience	28	962-963	2010
齊藤祐子、池村雅子、村山繁雄	臨床医のための神経病理 Lewy小体・Lewy神経突起のスペクトラム(2).	Clinical Neuroscience	28	722-723	2010
齊藤祐子、村山繁雄	臨床医のための神経病理 Lewy小体・Lewy神経突起のスペクトラム(1).	Clinical Neuroscience	28	482-483	2010