

学部の倫理委員会の承認を得たのち、各共同研究施設での倫理委員会承認を経て研究を実施した。

C. 研究結果

[SCA6]

(1) 登録時

複数年調査を行えた有効な登録症例は 48 例であった。登録基本情報は年齢 62.3 ± 5.8 (mean \pm SD)、発症年齢 47.6 ± 9.3 、罹病期間 14.7 ± 8.4 、SARA 15.6 ± 6.8 、BI 79.5 ± 20.5 、リピート数 (ホモ接合体症例を除く既知症例 41 例) 23.2 ± 1.4 (21-27) であった。

登録時の SARA は罹病期間 ($R=0.46$, $p=0.002$)、年齢 ($R=0.35$, $p=0.025$) と相関があり、pICARS も同様に罹病期間 ($R=0.56$, $p=0.000$)、年齢 ($R=0.48$, $p=0.004$) と相関を認めた。

(2) 前向き調査

5 年間 (5 回) の継続追跡ができた症例は 48 例中 31 例 (64.6%) であった。3 例が死亡し、その他 14 例が追跡困難となった。それぞれの年度の追跡率は 2 年目 93.8%、3 年目 89.6%、4 年目 81.3%、5 年目 64.6% であった。SARA は 1.32 ポイント/年の割合で線形に変化し、BI は 2.2 ポイント/年の割合で変化した。リピート既知、5 年間追跡可能であった 26 例を対象とした統計解析では、SARA 変化値を規定する有意な因子はなかった。

(3) 個票評価

個票から収集した p-ICARS、pBI は登録時それぞれ 14.5 ± 5.6 、 38.0 ± 14.4 であった。調査した 9 年間前向き後ろ向きともにほぼ線形に推移していた。p-ICARS は全体で 0.73 ポイント/年、前向き調査で 0.78 ポイント/年、後ろ向き調査で 0.69 ポイント/年の変化で推移し、連続性があった。p-ICARS、p-BI とともに前向き調査

で用いた SARA、BI と良好な相関関係があった。

[MJD]

(1) 登録時

複数年調査を行えた有効な登録症例は 42 例であった。登録基本情報は年齢 54.3 ± 12.9 (mean \pm SD)、発症年齢 41.0 ± 11.1 、罹病期間 13.3 ± 6.5 、ICARS 47.1 ± 20.0 、BI 70.1 ± 29.8 、リピート数 (既知症例 34 例) 69.6 ± 5.2 (58-79) であった。

登録時の ICARS は罹病期間 ($R=0.48$, $p=0.005$) と有意な相関があり、pICARS も同様に罹病期間 ($R=0.62$, $p=0.000$) と有意な相関を認めた。

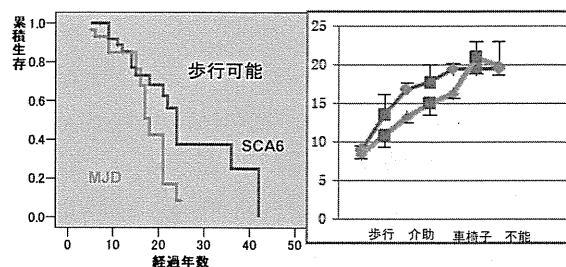
(2) 前向き調査

5 年間 (5 回) の継続追跡ができた症例は 42 例中 11 例 (26.2%) であった。2 例が死亡し、その他 31 例が追跡困難となった。それぞれの年度の追跡率は 2 年目 90.5%、3 年目 85.7%、4 年目 54.8%、5 年目 26.2% であった。ICARS は 4.1 ポイント/年の割合で線形に変化し、BI は 5.0 ポイント/年の割合で変化した。リピート既知、5 年間追跡可能であった 11 例を対象とした統計解析では、ICARS 変化値を規定する因子として登録時 ICARS が有意であった。これは進行期の ICARS スコア変化の鈍化に由来するものと考えられた。

(3) 個票評価

個票から収集した p-ICARS、pBI は登録時それぞれ 15.2 ± 7.0 、 35.8 ± 16.6 であった。調査した 9 年間前向き後ろ向きともにほぼ線形に推移していた。p-ICARS は全体で 0.94 ポイント/年、前向き調査で 1.06 ポイント/年、後ろ向き調査で 0.82 ポイント/年の変化であった。ある程度の連続性はあるが、前向き調査で変化は大きくなった。p-ICARS、p-BI とともに前向き調査で用いた ICARS、BI と良好な相関関係があった。

[移動能力の疾患比較]



MJD、SCA6 の移動能力の推移を比較すると MJD がより早く移動能力が低下する。

D/E. 考察と結論

5 年間行った MJD/SCA6 自然史調査をまとめ、報告した。登録時点の失調スコアが相関を持つ因子は年齢、罹病期間であり、欧州の先行研究である EUROSCA と類似の相関係数を持っていた。年単位の変化として、SCA6 は SARA で 1.3 ポイントの悪化を、MJD は ICARS で 4.2 ポイントの悪化を認めた。ADL の推移は歩行機能を中心に罹病期間に従い悪化した。歩行維持（車椅子移行）の生存曲線は MJD が悪い傾向があり、MJD の危険因子はリピートの長さ（HR：2.49）であった。個票調査における pICARS はわずか 5 項目であるが、自然史研究をする上で非常に有用で、後ろ向きと前向きの連続性を評価できた本邦独自のデータ収集法である。

個票の失調スコアである pICARS では MJD、SCA6 それぞれ 0.9-1.0/年、0.65-0.75/年悪化し、MJD がスコアの変化が大きく、進行が速いことが分かった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Nomura T, et al: Comparison of the

clinical features of rapid eye movement sleep behavior disorder in patients with Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2011; 65(3): 264-71.

2) 野村哲志ほか. 【睡眠時随伴症を考える】二次性 REM 睡眠行動障害 α -シヌクレイノパチーを中心に. *睡眠医療*, 2011;5(2):161-167

2. 学会発表

1) 安井建一ほか：特定疾患調査個人票を用いた脊髄小脳変性症 6 型の自然史調査. 第 52 回日本神経学会学術集会, 2011 年 5 月 18 日, 名古屋

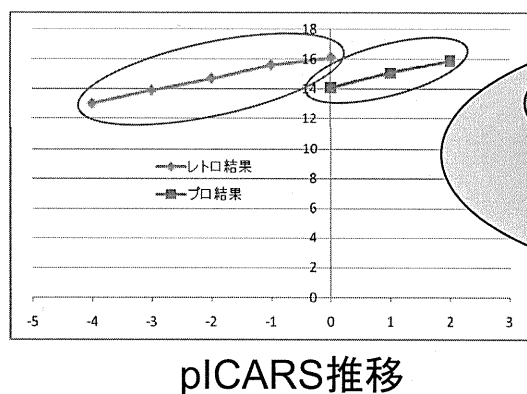
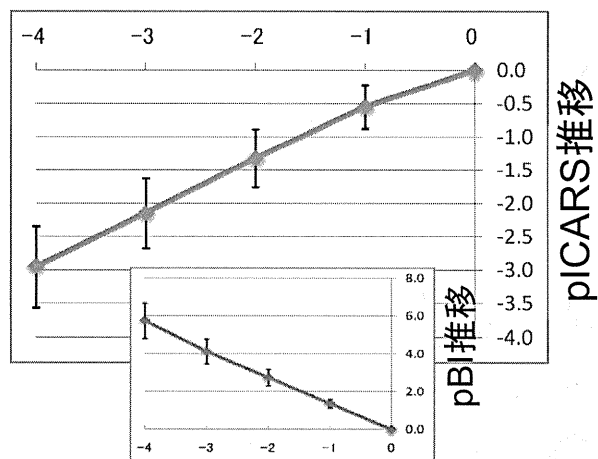
2) 野村哲志ほか：レム睡眠行動傷害合併多系統萎縮症とパーキンソン病での MIBG シンチの相違. 第 64 回日本自律神経学会, 2011 年 10 月 27 日, 秋田

3) 野村哲志ほか：パーキンソン病, 多系統萎縮症における REM 睡眠行動傷害の経過. 第 41 回日本臨床神経生理学学会, 2011 年 11 月 10 日, 静岡

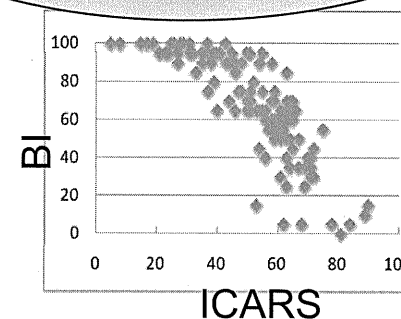
H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）なし

【MJD・SCA6の多施設共同自然史研究】

小脳変性症の自然経過を後向き、前向きに縦断的調査。

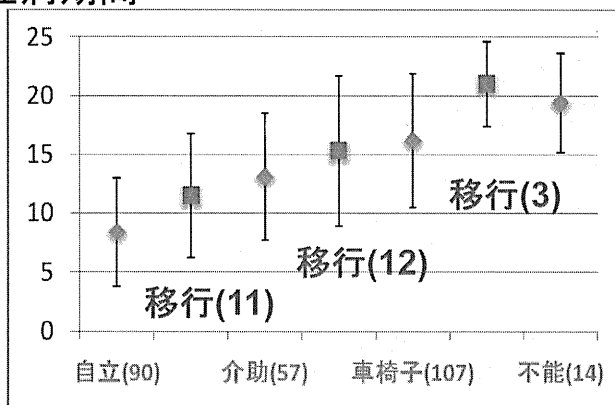


登録～
一年毎の調査
患者臨床情報



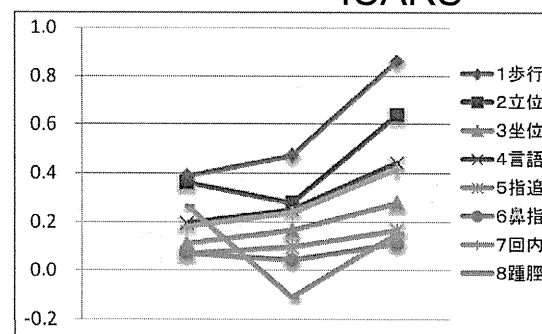
臨床情報データベース

罹病期間



歩行能力(BI)

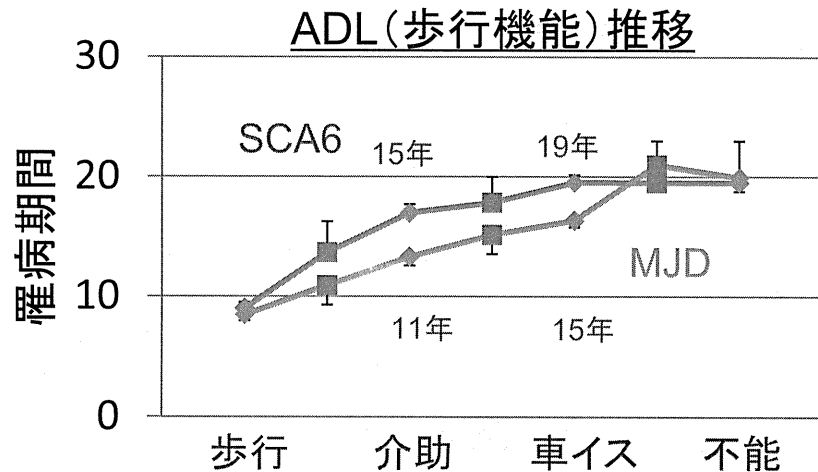
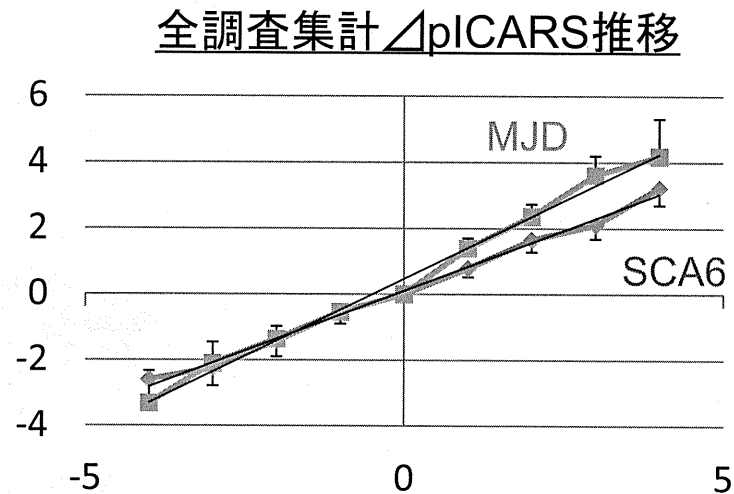
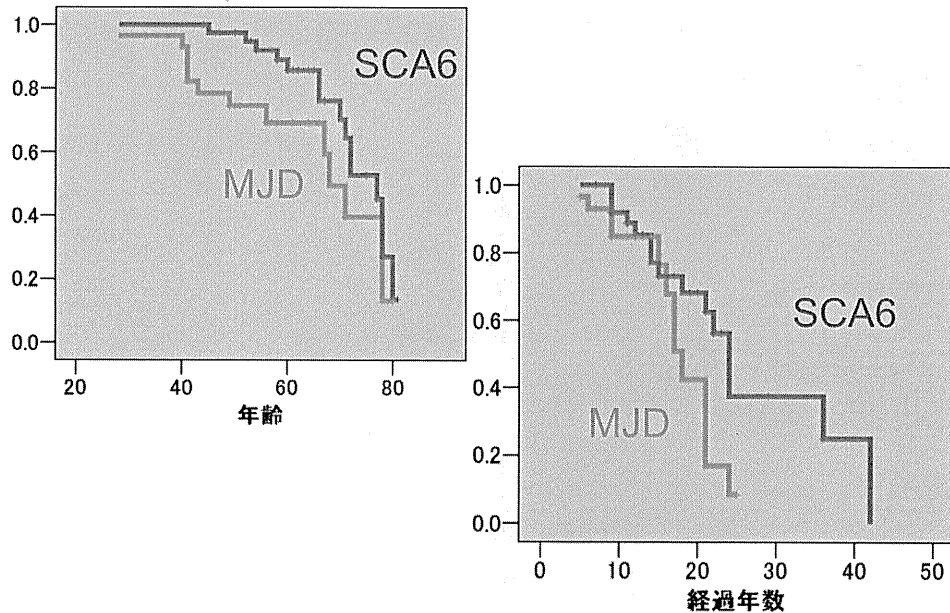
過去の調査票を利用し、症状予測データを解析。



疾患の実態把握に有用なデータを収集しました。

【 MJD・SCA6の多施設共同自然史研究】

小脳変性症の自然経過を後向き、前向きに縦断的調査。



過去の調査票を利用し、
症状予測データを解析。

疾患の実態把握に有用なデータを
収集しました。

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究
分担研究報告

Machado-Joseph 病におけるライフイベントの自然史

研究協力者 金井 数明 (千葉大学医学研究院 神経内科)
共同研究者 桑原 聡 (千葉大学医学研究院 神経内科)
新井 公人 (国立病院機構 千葉東病院)
山本 達也 (千葉大学医学研究院 神経内科)

研究要旨

Machado-Joseph 病 (MJD) の自然史におけるイベントは、治療・予防などの介入の余地のないイベント (小脳性運動失調の進行など) と、治療介入等によりある程度予防できる可能性のあるイベント (骨折・尿路感染症・誤嚥性肺炎など) とに大別できる。先年度の班会議で、MJD では ICARS 経時的評価により、患者毎のイベント (介入の余地のないもの) の発生時期が推定できる可能性を提示した。このことはまた、介入によりある程度予防できる可能性のあるイベントの発生時期の予見可能性を示している。このため MJD 患者を対象とし、治療介入により予防できる可能性のあるイベントの発生頻度と時期を調べ、これと ICARS スコアとの関連を調査した。その結果、尿路感染症や誤嚥性肺炎は MJD の病後期に認められるイベントであり、一定期間 ICARS の経時的評価を行うことにより患者毎のイベントの発生時期をある程度予見できる可能性が示された。一方外傷性骨折は MJD で高頻度に認められかつ病期を通じいつでも発症し得ることが示され、マネジメント上注意が必要であることが示唆された。

A. 研究目的

本邦の遺伝性脊髄小脳変性症 (SCD) のうちの多くをポリグルタミン病が占めている。ポリグルタミン病では疾患に関わらず CAG リピート長と発症年齢との間に強い負の相関関係を認めるが、疾患進行速度と CAG リピート長との相関では疾患によって報告が異なる。脊髄小脳変性症においては、かつて ADL の推移と CAG リピート長との間に弱い相関があることが報告されていた。しかしながら ICARS といった半定量的評価指標を用いた研究では、疾患進行速度と CAG リピート長との相関に関

し関連があるとするものとならないとするものという結論の異なる報告がされていた。そこで前年度の当研究班にて、本邦で最も頻度が高い SCD である Machado-Joseph 病 (MJD) 患者を対象として、これまで当院で評価された ICARS のスコアをレトロスペクティブにしかし長軸的に解析することにより、MJD において CAG リピート長が病勢進行に対して有意な関係を持つのか調査を行い、その結果、MJD においては疾患進行の速さと CAG リピート長との間に有意な正の相関関係があることを報告した。またその際、車いすレベルとなった際

の ICARS のスコアにばらつきが少ないことが示され、MDJ においては ICARS のスコアはかなり直線的に変化することから、一定期間の ICARS の経時的変化の評価により、各患者ごとに車いすレベルになる時期といった、ADL 上のイベントの発生時期を推定できる可能性が示された。

このことはまた新たな観点を我々に与えることになった。SCD の自然史においては様々なイベントが認められるが、これらは現時点では治療・予防などの介入の余地のないイベント（小脳性運動失調の進行など）と、治療介入等によりある程度予防できる可能性のあるイベント（骨折・尿路感染症・誤嚥性肺炎など）とに大別できる。前年の報告はまた、上で挙げた治療介入等によりある程度予防できる可能性のあるイベントの発生時期を相応の精度で予測できる可能性もあることを示している。

SCD では現時点では対症療法すら効果が限られるが、その中で、疾患の予後、特に治療介入等によりある程度予防できる可能性のあるイベントの発生時期をより正確に予想・把握することができれば、SCD の臨床マネジメントをより改善できる可能性がある。

このため、本邦で最も頻度が高い SCD である Machado-Joseph 病 (MJD) 患者を対象として、治療介入により予防できる可能性のあるイベントの発生頻度と時期を調べ、これと ICARS スコアとの関連を調査した。

B. 研究方法

対象は千葉大神経内科に平成 22 年から平成 23 年に当院外来通院歴がある MJD 患者 23 名（男性 11 名、女性 12 名；平均年齢 55.1 歳（25-77 歳））。当科ではほぼ半年おきに SCD 患者に対して臨床評価として ICARS の評価を

行っている。このため対象患者の医療記録から ICARS の評価記録ならびに外傷性骨折・薬物治療が必要な尿路感染症及び誤嚥性肺炎の有無とあった場合の出現時期と発症からの経過時間について診療録を調査し、当該イベントが発生する直前の ICARS スコア及び各サブスコアを調べた。

対照として同時期に通院歴のある SCA6 患者 12 名及び MSA 患者 18 名についても同様の調査を行った。

（倫理面への配慮）

当施設の生命倫理委員会に置いて承認を受けた「マチャド・ジョセフ病、脊髄小脳失調症 6 型の自然史に関する多施設共同研究」に準拠する形で研究を行った。

C. 研究結果

調査した MJD 患者群において、4 名に尿路感染症の発症を認め、2 名に誤嚥性肺炎の発症を認めた。発症から尿路感染症発症までの経過は平均 17.1 ± 1.5 年（ \pm SEM）であり、誤嚥性肺炎発症までの経過は平均 17.2 ± 3.0 年であり、両者はほぼ同様であった。一方イベント直前の ICARS スコアは尿路感染症発症直前値が平均 65.8 ± 2.2 （range : 61-70）であり、誤嚥性肺炎発症直前値が平均 76.0 ± 5.0 （range : 71-81）であった。また ADL に関しては、尿路感染症発症直前の ICARS の歩行サブスケールの値が 7（介助歩行）の者が 2 名、8（歩行不能）の者が 2 名であり、誤嚥性肺炎発症直前の ICARS 歩行サブスケールの値は 2 名とも 8 であった。

一方外傷性骨折に関しては 10 名の患者で 11 回のイベントが観察され、発症から外傷性骨折発生までの期間は平均 12.2 ± 2.1 年であり、ICARS 直前値は平均 44.4 ± 6.8 （range : 13-70）であった。また ADL に関して、骨折直

前の ICARS の歩行サブスケールの値は 1 から 8 と大きなばらつきを認めた。この外傷性骨折は対照群である SCA6 群では認められず、また MSA でも 3 例でのみ認められるのみであり、対照群に比べ MJD 群で有意に高頻度であった。

D. 考察

尿路感染症及び誤嚥性肺炎発症については、観測数が少ないために結論的に論じることが難しい。しかしながら、前年の発表で示したように MJD では ICARS のスコアが一次関数的に変化していくことを考えると、特に尿路感染症発症については一定期間 ICARS の経時的評価を行うことにより、患者毎の尿路感染症の発生時期を相応の精度で予測できる可能性があることを示すと考えられた。また、尿路感染症発症と誤嚥性肺炎発症に関し、発症からの経過年数にはほとんど差がないにも関わらず ICARS のスコアでは差があったことから、このようなイベントの予測に経過年数ではなく ICARS のスコア変化を利用することが有用である可能性も示された。また、こういった予測が可能になることにより、患者マネジメントの質の向上が図れる可能性が示唆された。

外傷性骨折に関しては、MJD では外傷性骨折は比較的高頻度に認められる症状であり、発症直前の ICARS のスコア及び歩行サブスケールのスコアがバラバラであることから、病期によらず発症するイベントである可能性が高いことが示唆された。また純粋小脳型である SCA6 群では外傷性骨折は認められないことから、外傷性骨折は小脳性運動失調にさらに前庭系障害やパーキンソニズムなど他の系統変性の影響が加わった時に生じやすいイベントである可能性が示唆された。

E. 結論

尿路感染症や誤嚥性肺炎は MJD の病後期に認められるイベントであり、またイベントが生じる際の ICARS スコアは比較的各患者間でばらつきが少なく、このため一定期間 ICARS の経時的評価を行うことにより患者毎のイベントの発生時期をある程度予測できる可能性があることが示唆された。一方外傷性骨折は MJD で高頻度に認められかつ病期を通じいつでも発症し得ることが示され、マネジメント上注意が必要であることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Makino T, Ito S, Kuwabara S: Involvement of pontine transverse and longitudinal fibers in multiple system atrophy: a tractography-based study. J Neurol Sci, 2011; 303: 61-6

2. 学会発表

- 1) 金井数明, 新井 公人, 安井 健一, 平野 成樹, 渋谷 和幹, 藤巻 由美, 能登 祐一, 野村 文男, 中島 健二, 桑原 聡: Machado-Joseph 病において CAG リピート数は疾患進行速度と相関する. 第 5 回パーキンソン病運動障害疾患コンGRESS, 2011 年 10 月 7 日, 東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含む)

(特許取得・実用新案登録・その他)

なし

MJDにおける外傷性骨折と他疾患との比較

●MJDにおける骨折

Patient No		CAGn	発症(yr)	骨折(yr)	部位	発症前ICARS	歩行サブスケール
1	F	73	30	44	上腕	43	4
5	M	73	43	52	肋骨	68	8
6	F	NE	58	66	肩	31	2
7	F	59	49	56	足指	13	1
8	F	72	50	53	手指	33	1
9	M	73	34	36	足首	NE	NE
10	M	70	31	42	足首	NE	NE
11	F	68	46	65	骨盤	52	7
				71	肋骨	70	8
12	M	75	25	42	足首	45	6
13	M	74	28	41	肋骨	NE	NE

10名の患者で11回の外傷性骨折が確認された

経過 平均12.2±2.1年(±SEM) 発症前ICARS 40.7

⇒発症前のICARSスコア及び歩行サブスケールに大きなばらつきを認めた

疾患	症例数	イベント数	平均罹病期間(yr)	平均最終ICARSスコア
MJD	23	11	14.1±1.5	54.4
SCA6	12	0	19.3±2.4	52.7
MSA	18	3	4.7±0.8	53.3

MJDで骨折を経験する症例の頻度は、他疾患での頻度よりも有意に高かった

特にMJDとSCA6の間では平均罹病期間も重症度(ICARSスコア)もほとんど差がないにも関わらず、骨折の頻度に大きな差を認めた

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)
運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究
分担研究報告

ロシア・ヤクート人との比較による SCA1 発症に関わる環境・遺伝学的要因の検討

研究分担者	西澤 正豊	(新潟大学脳研究所 神経内科)
共同研究者	他田 正義	(同 生命科学リソースセンター 分子神経疾患資源解析学分野)
	高橋 俊昭	(新潟大学医学部保健学科)
	徳永 純	(新潟大学脳研究所 神経内科)
	堅田 慎一	(新潟大学脳研究所 神経内科)
	土屋 美由紀	(同 生命科学リソースセンター 分子神経疾患資源解析学分野)
	池内 健	(新潟大学研究推進機構 超域学術院)
	小野寺 理	(同 生命科学リソースセンター 分子神経疾患資源解析学分野)
	Maksimova Nadezda	(Yakut Scientific Center of Complex Medical Diseases of RAMS)
	Varlamova M	(Yakut Scientific Center of Complex Medical Diseases of RAMS)
	Nikolaeva Irina	(Republican Hospital N1- National Center of Medicine)
	Sukhomyasova Aitalina	(Republican Hospital N1- National Center of Medicine)

研究要旨

ポリグルタミン病において、伸長 CAG リピート数は発症年齢を規定する最重要因子である。しかし、発症年齢の分散に対する伸長 CAG リピート数の寄与率は 40-80%と推定され、他の因子の関与も重要と考えられている。本研究では、遺伝性脊髄小脳失調症 1 型 (SCA1) の発症年齢に影響する環境・遺伝学的要因を明らかにするために、本邦 27 例および SCA1 の集積が多いロシア・サハ共和国のヤクート人 60 例の臨床遺伝学的比較検討を行った。その結果、同じ伸長 CAG リピート数であっても、ヤクート人 SCA1 症例の発症年齢が日本人症例に比べ 9 歳若年化していることを明らかにした。また、比較的環境要因が均一なヤクート人でも伸長 CAG リピート数の寄与率が 60%に留まり、他の遺伝学的要因の関与が示唆された。今後、より詳細な臨床情報の収集・解析および網羅的な遺伝子多型解析を行う。

A. 研究背景・目的

ポリグルタミン (polyQ) 病は、常染色体優性遺伝性の遅発性神経変性疾患で、原因遺伝子内の CAG リピートの異常伸長を原因とする。本症では、伸長 CAG リピート数と発症年齢、疾患重症度の間に関係が認められ、CAG リピート数が長いほど若年で発症し、重

症化する。複数のコホート研究において、polyQ 病の発症年齢の分散に対する伸長 CAG リピート数の寄与率 (決定係数) は 40~80%と推定され、伸長 CAG リピート数は発症年齢を規定する最重要因子である。しかし、発症年齢分散の 20~60%以上が他の因子に起因しており、伸長 CAG リピート数以外の規定因子

の関与も重要と考えられる。発症年齢を規定する環境または遺伝学的要因が明らかとなれば、未だ有効な治療法のない polyQ 病の新規治療法の開発に繋がる可能性があり、その意義は大きい。

我々は、遺伝性神経変性疾患の病態解明と治療法の開発を目的に、約 8 年前からロシア・サハ共和国（ヤクーチア共和国）の Yakut Scientific Center of Siberian Department of Russian Academy of Medical Sciences (RAMS) と共同研究を行ってきた。その中で、同共和国の人口（約 100 万人）の約 4 割を構成するヤクート人の中に遺伝性脊髄小脳失調症 1 型 (SCA1) が多く集積していること、さらに、同じ伸長 CAG リピート数であっても本邦の SCA1 に比べ発症年齢が若年化していることを見出した。

ヤクート人は、トルコ系遊牧民を祖先とするモンゴロイド系民族で、同人種に SCA1 が多いのは遺伝的隔離による創始者効果のためと考えられる。国土のほぼ全域が永久凍土で覆われたロシア北東の地で生活するヤクート人では、生活習慣の均一性も高く、疾患の遺伝学的要因を同定するのに優位性の高い人種である。

本研究では、ヤクート人および日本人 SCA1 症例の臨床遺伝学的比較検討を行い、発症年齢に影響する環境・遺伝学的要因を明らかにすることを目的とする。

B. 研究方法

対象は、1990 年 4 月～2011 年 3 月の過去 22 年間に、当研究室で遺伝子診断された SCA1 日本人患者 27 例、および Yakut Scientific Center で遺伝子診断されたヤクート人患者 60 例。DNA は、患者末梢血リンパ球から市販の DNA 抽出キットを用いて通常の方法で行っ

た。CAG リピート数の測定は、*ATXN1* 遺伝子の CAG リピート領域を挟むように設定した一組の蛍光標識 DNA プライマーを用いて増幅させた PCR 産物を検体とし、ABI377 を用いて行った。施設間の誤差を防ぐため、当施設に検体を集めて再測定した。発症年齢を規定する因子として、性別、家族内発症数、父方・母方遺伝、伸長 CAG リピート数、正常アレルの CAG リピート数を解析した。統計解析には、SPSS for Windows Ver. 12.0 を用いた。

(倫理面への配慮)

遺伝子検査は全て患者の同意を得た上で行った。また、各研究機関の遺伝子倫理委員会に研究計画を提出して承認を得た上で、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、研究機関で定めた倫理規定等を遵守して実施した。

C. 研究結果

日本人 27 例、ヤクート人 60 例の患者背景を表に示す。全例が正常アレルと伸長アレルのヘテロ接合体で、ホモ接合体例は 1 例も認めなかった。平均発症年齢は、日本人 44.4 歳±13.3、ヤクート人 36.8 歳±10.4 歳で、ヤクート人が若い傾向がみられた。男女比は、日本人では差はないが、ヤクート人では女性に多い傾向がみられた。伸長 CAG リピート数は日本人 46.9±6.51、ヤクート人 46.4±5.11、正常 CAG リピート数は日本人 28.5±1.55、ヤクート人 28.9±1.03 で差は認めなかった。

日本人、ヤクート人ともに、正常アレルは 25-32 リピートの範囲に分布し、異常アレルは 39-64 リピートの範囲に分布した (図 1)。日本人のアレル数が少なく単純比較はできないが、両群間でリピート数の分布に大きな差がないことがわかった。

ヤクート人および日本人の両群において、

伸長 CAG リピート数と発症年齢の間に有意な負の相関を認めた (ヤクート人 $r = -0.806$ ($P < 0.001$), 日本人 $r = -0.665$ ($P < 0.001$)). 発症年齢の分散に対する伸長 CAG リピート数の寄与率は, 日本人 42.0%, ヤクート人 64.4% であった.

興味深いことに, 近似直線から算出される発症年齢は, 39~64 リピートの範囲で, 日本人に比べヤクート人で平均 9.08 ± 1.69 歳若年化していた.

収集できた臨床・遺伝情報 (性別, 家族内発症数, 父方・母方遺伝, 正常アレルの CAG リピート数) の中で, 伸長 CAG リピート数以外に発症年齢と相関する項目はなかった.

D. 結論

ヤクート人 SCA1 患者の発症年齢が, 同じ伸長 CAG リピート数であっても, 日本人患者に比べて 9 歳若年化していることを明らかにした. 比較的環境要因が均一と考えられるヤクート人でも伸長 CAG リピート数の寄与率が 60% に留まることから, 他の遺伝学的要因が発症年齢に寄与していると推測される. SCA1 発症に関わる環境・遺伝学的要因を明らかにするために, 今後, より詳細な臨床情報の収集・解析および網羅的な遺伝子多型解析を行う計画である (図 3).

E. 健康危険情報

とくになし.

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kanazawa M, Shimohata T, Endo K, Koike R, Takahashi H, Nishizawa M: A serial MRI study in a patient with progressive supranuclear palsy with cerebellar ataxia. *Parkinsonism Relat Disord*, 2011

[Epub ahead of print]

- 2) Kasuga K, Ikeuchi T, Arakawa K, Yajima R, Tokutake T, Nishizawa M: A patient with fragile x-associated tremor/ataxia syndrome presenting with executive cognitive deficits and cerebral white matter lesions. *Case Rep Neurol*, 2011; 3:118-123
- 3) Miyai I, Ito M, Hattori N, Mihara M, Hatakenaka M, Yagura H, Sobue G, Nishizawa M: Cerebellar Ataxia Rehabilitation Trial in Degenerative Cerebellar Diseases. *Neurorehabil Neural Repair*, 2011 [Epub ahead of print]
- 4) Ozawa T, Saji E, Yajima R, Onodera O, Nishizawa M: Reduced bowel sounds in Parkinson's disease and multiple system atrophy patients. *Clin Auton Res*, 2011; 21: 181-184
- 5) Shimohata T, Tomita M, Nakayama H, Aizawa N, Ozawa T, Nishizawa M: Floppy epiglottis as a contraindication of CPAP in patients with multiple system atrophy. *Neurology*, 2011; 76: 1841-1842
- 6) Takado Y, Igarashi H, Terajima K, Shimohata T, Ozawa T, Okamoto K, Nishizawa M, Nakada T: Brainstem metabolites in multiple system atrophy of cerebellar type: 3.0-T magnetic resonance spectroscopy study. *Mov Disord*, 2011; 26: 1297-1302
- 7) Yamazaki H, Nozaki H, Onodera O, Michikawa T, Nishizawa M, Mikoshiba K: Functional characterization of the P1059L mutation in the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type 1 identified in a Japanese SCA15 family.

Biochem Biophys Res Commun, 2011; 410: 754-758

- 8) Yokoseki A, Ishihara T, Koyama A, Shiga A, Yamada M, Suzuki C, Sekijima Y, Maruta K, Tsuchiya M, Date H, Sato T, Tada M, Ikeuchi T, Tsuji S, Nishizawa M, Onodera O: Genotype-phenotype correlations in early onset ataxia with ocular motor apraxia and hypoalbuminaemia. Brain, 2011; 134: 1387-1399

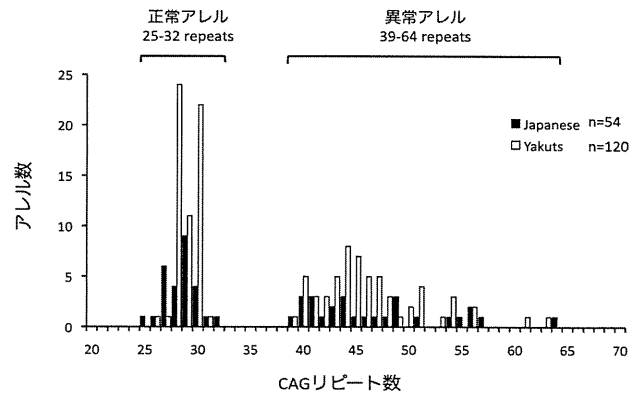
2. 学会発表

- 1) 高橋俊昭, 石平 悠, 堅田慎一, 他田正義, 他田真理, 佐藤俊哉, 柿田明美, 高橋均, 小野寺 理, 西澤正豊: ヒト疾患脳におけるポリグルタミン病重合体の検出. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月18日, 名古屋
- 2) 小澤鉄太郎, 徳永 純, 荒川武蔵, 竹内亮子, 小野寺 理, 西澤正豊: 多系統萎縮症におけるグレリン分泌異常: gut-brain axis 障害の可能性. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月17日, 名古屋
- 3) 徳永 純: 多系統萎縮症のQOLと影響因子に関する検討. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月18日, 名古屋
- 4) 他田正義, 高橋俊昭, 小野寺 理, 西澤正豊, Paulson HL: 重合体形成阻害を標的としたポリグルタミン病の新規治療法開発. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月18日, 名古屋
- 5) Ozawa T, Tokunaga J, Arakawa M, Takeuchi R, Onodera O, Nishizawa M: Plasma ghrelin levels are affected in patients with multiple system atrophy: Evidence of gut-brain axis dysfunction. 15th International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorders, Editorial Board Meeting, 2011.6.3, トロント (カナダ)
- 6) 下畑享良, 芹川武大, 明石真美, 横関明男, 土谷美和, 長谷川有香, 生野寿史, 小池亮子, 高桑好一, 田中恵子, 田中憲一, 西澤正豊: 常染色体劣性遺伝性若年生パーキンソニズム (ARJP/PARK2) 患者の妊娠・出産. 第5回日本パーキンソン病・運動障害疾患学会 (MDSJ), 2011年10月5日, 東京
- 7) 下畑享良: 睡眠医学と神経学「多系統萎縮症の睡眠障害について」. 36回日本須眠学会学術集会シンポジウム, 2011年10月14日, 京都
- 8) 小澤鉄太郎, 徳永 純, 荒川武蔵, 石川厚, 竹内亮子, 横関明男, 西澤正豊: パーキンソン病と多系統萎縮症に共通するグレリン分泌異常. 第63回日本自律神経学会総会, 2011年10月26日, 秋田
- 9) 下畑享良, 富田雅彦, 中山秀章, 相澤直孝, 小澤鉄太郎, 西澤正豊: 多系統萎縮症にみられる floppy epiglottis の検討. 第29回日本神経治療学会総会, 2011年11月16日, 福井

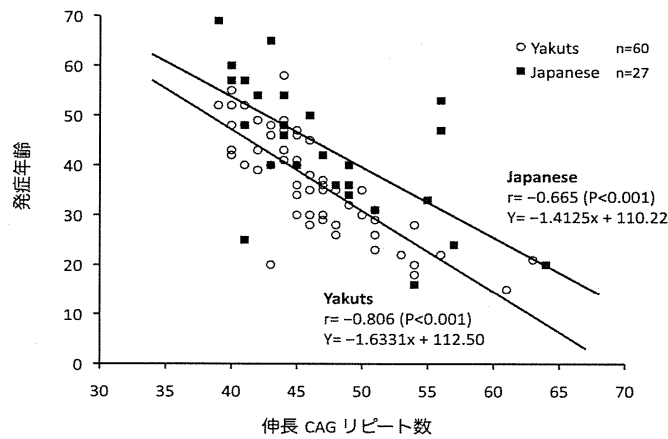
G. 知的財産権の出願・登録状況 とくになし.

特徴/項目	日本人	ヤクート人
患者数	27	60*
発症年齢 (範囲)	44.4 ± 13.3 (16-69)	36.8 ± 10.4 (15-58)
性別 (男性/女性/不明)	15/12/0	19/34/7
伸長CAGリピート数 (範囲)	46.9 ± 6.51 (39-64)	46.4 ± 5.11 (39-63)
正常CAGリピート数 (範囲)	28.5 ± 1.55 (25-32)	28.9 ± 1.03 (26-31)
遺伝 (父方/母方/不明)	10/10/7	ND
家族内発症数 (不明)	(0)	ND
1	4	
2	4	
3	4	
4	9	
5以上	6	

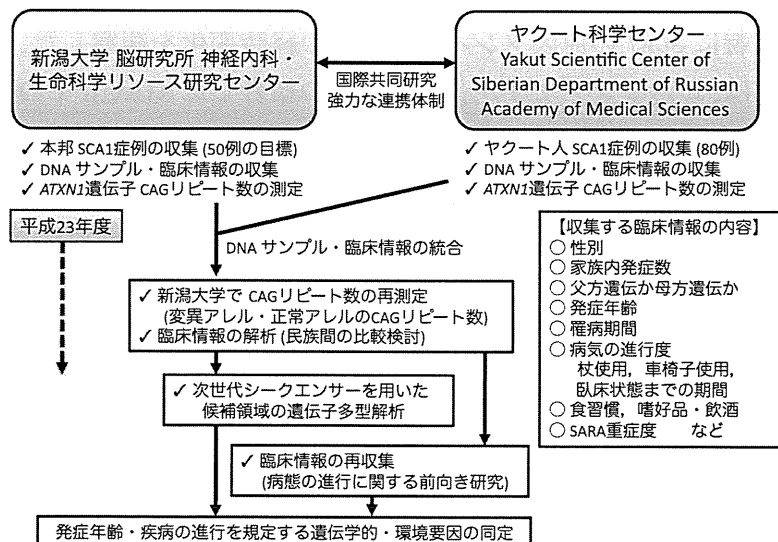
【表】患者背景



【図1】日本人とヤクート人 SCA1 患者の CAG リピート数



【図2】伸長 CAG リピート数と発症年齢の関係



【図3】研究計画の概要

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究

分担研究報告

Ataxin-7 は微小管に結合し、細胞骨格を安定化する

研究分担者 岡澤 均 (東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野)

共同研究者 田川一彦 (東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野)

田村拓也 (東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野)

伊藤日加瑠 (東京医科歯科大学難治疾患研究所神経病理学分野)

研究要旨

脊髄小脳変性症の病態機序解明は治療法解明の上で必須の過程であるが、正常型の疾患タンパクの生理機能についても未解明な点が多い。脊髄小脳変性症7型(SCA7)においても、生理機能は十分に明らかではない。本研究ではSCA7原因タンパク質である ataxin-7 の生理機能の一つが微小管安定化であることを明らかにした。凝集体形成により細胞質の ataxin-7 が不足すると、神経突起の不安定性につながる可能性があることを示した。

A. 研究目的

ポリグルタミン病では核内封入体の形成が病理学的特徴である。また、SCA1, 2, 7, 17などの原因タンパク質は正常な機能として転写、スプライシングなどの核機能に関与することが知られている。特にSCA7の原因タンパク質である Ataxin-7 は、ヒストンアセチルトランスフェラーゼ活性を持つクロマチンリモデリング複合体である STAGA および TFTC の構成因子であることが知られており、転写調節に関与する因子と考えられて来た。一方、SCA7 ヒト患者の病理標本染色では細胞質に染色性があるとの報告があり、さらには、培養細胞の Ataxin-7 発現において細胞質での存在が報告されている。これらは、Ataxin-7 の核外病態機序を示唆している。本年度の研究では、Ataxin-7 の細胞質における微小管安定化機

能の一端を明らかにした。

B. 研究方法

蛍光タンパクの結合した Ataxin-7 を発現させた細胞のライブイメージングを行い、局在の経時変化を観察した。また、tag タンパクの結合した Ataxin-7 の発現系で、免疫染色および免疫沈降法を用い、微小管との結合を示すとともに、結合サイトの推定も行った。結合が微小管の安定性に及ぼす影響を調べるため、重合阻害剤であるノコダゾールによる処理や siRNA による Ataxin-7 のノックダウンによる微小管の脱重合及び再構成も観察した。

更に、ラット大脳皮質神経細胞に Ataxin-7 のウイルスベクターでタンパクを発現させ、その局在を観察するとともに、Ataxin-7 トランスジェニックマウスの脳切片を Ataxin-7

と微小管の共染色を行い観察し、正常コントロールマウスの脳と比較した。

動物実験および組み替え DNA 実験は所轄官庁の指針に従って行い、また東京医科歯科大学の承認を得て行った。

C. 研究結果

蛍光タンパクを用いたライブイメージングの結果、Ataxin-7 は核、細胞質間でダイナミックにその局在を変化させることが分かった。また、その時に、一部細胞質に存在する Ataxin-7 がフィラメント状の構造を示すことも分かった。HeLa 細胞に Tag が結合した正常 (10Q) 及びポリグルタミン鎖の伸長した変異 (92Q) Ataxin-7 を発現させ、それぞれ微小管構成タンパクであるチューブリンと免疫共染色および免疫沈降による解析を行い、Ataxin-7 が微小管と結合することが示された。この際、正常、変異 Ataxin-7 の間で、その結合の程度に差は見られなかった。欠失変異体を用いた、細胞免疫染色、免疫沈降法による解析から、結合に必要なサイトは、ポリグルタミン鎖を含まない、比較的大きな領域にまたがること示唆されチューブリンとの結合が間接的であることが示唆された。

機能的には、Ataxin-7 強制発現によって微小管が重合阻害薬であるノコダゾール処理に対して抵抗性を増すことが確認された。一方、Ataxin-7 のノックダウンによって微小管の再構成が遅延し、安定性が低下することからも確認できた。これらの微小管の安定化は、正常 Ataxin-7 と変異 Ataxin-7 で差がないことも示された。

これらの結果より、Ataxin-7 が核のみならず細胞質においても機能を有し、その一つは微小管の安定化に関わる可能性が示唆され

た。今回の実験系では正常、変異 Ataxin-7 の間で微小管への結合や安定化の程度に差は見られなかったが、病態を反映したモデルマウスの小脳の染色においては、変異 Ataxin-7 が凝集体に取り込まれ、細胞体、樹状突起における染色性は有意に低下していた。したがって、凝集体に取り込まれることで、Ataxin-7 の本来の機能が低下することが SCA7 の病態に関わる可能性が考えられる。

(参考文献)

D. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Oka T, Tagawa K, Ito H, Okazawa H: Dynamic Changes of the Phosphoproteome in Postmortem Mouse Brains. PLoS One, 2011; 6: e21405.
doi:10.1371/journal.pone.0021405
- 2) Tamura T, Sone M, Iwatsubo T, Tagawa K, Wanker EE, Okazawa H: Ku70 alleviates neurodegeneration in Drosophila models of Huntington's disease. PLoS One, 2011; 6: e27408.
doi:10.1371/journal.pone.0027408
- 3) Nakamura Y, Tagawa K, Oka T, Sasabe T, Ito H, Shiwaku H, La Spada AR, Okazawa H: Ataxin-7 associates with microtubules and stabilizes the cytoskeletal network. Hum Mol Genet, November 18, 2011
doi: 10.1093/hmg/ddr539

2. 学会発表

[国際学会]

- 1) Shiwaku H, Okazawa H: Suppression of the novel ER protein Maxer by mutant ataxin-1 in Bergman glia contributes to

non-cell-autonomous toxicity. The 6th International Symposium of Institute Network and the 10th Surugadai International Symposium, Joint Usage/Research Program of Medical Research Institute International Symposium, 2011.6.9-10, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo

- 2) Okazawa H: Molecular Mechanisms of PQBP1-Linked MR and Microcephaly. 15th International Workshop on Fragile X and Other Early-Onset Cognitive Disorders, 2011.9.4-7, Harnack-House, Berlin, Germany
- 3) Okazawa H: PQBP1, a new major causative gene for mental retardation and microcephaly, regulates gene expression through mRNA splicing. RNA Binding Proteins in Neurological Disease, 2011.11.10-11, Sheraton National, Arlington, U. S. A.

[国内学会]

- 1) 阿部大数, 曾根雅紀, 田村拓也, 白石理紗, 岡澤 均: 神経変性疾患モデルショウジョウバエを用いた新規 *in vivo* スクリーニング系の開発. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月19日, 名古屋国際会議場, 名古屋
- 2) 曾根雅紀, 田村拓也, 岡澤 均: SCA1 病態における DNA 損傷修復機構の関与. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月19日, 名古屋国際会議場, 名古屋
- 3) 田村拓也, 曾根雅紀, 岡澤 均: PQBP-1 を介したポリグルタミン病の認知障害の分子メカニズム. 第52回日本神経学会学術大会, 2011年5月20日, 名古屋国際

会議場, 名古屋

- 4) Nakamura Y, Okazawa H: Cytoplasmic Ataxin-7 associates with microtubules and stabilizes the cytoskeletal network. 新学術領域「シナプス病態」班会議・後半ポスター 包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 2011年8月21日~22日, 神戸国際会議場, 神戸
- 5) 田村拓也, 曾根雅紀, 伊藤日加瑠, 塩飽裕紀, 田川一彦, 岡澤 均: ポリグルタミン病とDNAダメージ. 第4回分子高次機能研究会, 2011年8月27日~29日, かんぼの宿, 熊本
- 6) 田村拓也, 曾根雅紀, Barclay S, 伊藤日加瑠, 塩飽裕紀, 田川一彦, 岡澤 均: 脊髄小脳変性症I型におけるDNA損傷修復の関与, 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14日~17日, パシフィコ横浜, 横浜
- 7) 中村蓉子, 田村拓也, 岡澤 均: 精神発達遅滞原因遺伝子、PQBP1の発現量は寿命を制御する. 第34回日本神経科学大会, 2011年9月14日~17日, パシフィコ横浜, 横浜
- 8) 岡 努, 田川一彦, 伊藤日加瑠, 岡澤 均: マウス脳におけるリン酸化タンパク質死後変化の保存状態による差異の網羅的解析. 第30回日本認知症学会学術集会, 2011年11月11日~13日, タワーホール船堀
- 9) 中村蓉子, 田川一彦, 岡 努, 笹邊俊和, 伊藤日加瑠, 塩飽裕紀, Albert R. La Spada, 岡澤 均: Ataxin-7は微小管に結合し、細胞骨格を安定化する. 平成22年度厚生労働省科学研究費補助金「運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班」平成23年度研究班会議2012年1月12日~13日, 都市センターホテル, 東京

[招待講演・セミナー]

- 1) Okazawa H: Brain size control by PQBP1 in neural stem cells. iPS 細胞等の初期ステージ橋渡し研究振興に向けた JST-CIRM ワークショップ, 2011 年 5 月 16 日～17 日, 神戸ポートピアホテル, 神戸
 - 2) 岡澤 均: DNA 損傷修復からみた神経変性機序. 第 52 回日本神経学会学術大会, 2011 年 5 月 18 日～20 日, 名古屋国際会議場, 名古屋
 - 3) Okazawa H, Tamura T: Single strand annealing of DNA double strand breaks is involved in the SCA1 pathology. CAG Triplet Repeat Disorders, 2011. 6. 5-10, Il Ciocco Hotel and Resort Lucca, Barga, Italy,
 - 4) 水澤英洋, 西川 徹, 岡澤 均: 脳神経疾患の理解と治療に向けた戦略について. 第 28 回大学院医歯学総合研究科 大学院セミナー「脳神経疾患の理解と治療に向けた基礎研究の最前線」, 2011 年 6 月 27 日, 東京医科歯科大学, 東京
 - 5) 岡澤 均: 神経科学から臨床へ. MIC 医学の展望・多様な医師像 (第 2 学年講義), 2011 年 7 月 7 日, 東京医科歯科大学, 東京
 - 6) 岡澤 均: ポリグルタミン病の病態解明から治療開発へ. 京都大学 CREST 特別講演, 2011 年 7 月 13 日, 京都
 - 7) 岡澤 均: 神経変性疾患研究の最前線. オープンキャンパス 最新医歯学研究～研究者の話の聞こえ～, 2011 年 7 月 28 日, 東京医科歯科大学, 東京
 - 8) 岡澤 均: 発達障害・変性疾患のシナプスダイナミックパソロジーの解明. 新学術領域研究「シナプス・ニューロサーキットパソロジーの創成」班会議 包括脳ネットワーク夏のワークショップ, 2011 年 8 月 21 日～22 日, 神戸国際会議場, 神戸
 - 9) 岡澤 均: 凝集前タンパク質をターゲットとするハンチントン病の治療戦略. 新学術領域研究「脳内環境」班会議, 2012 年 1 月 28 日～29 日, KKR ホテル熱海, 静岡
 - 10) 岡澤 均: ポリグルタミン病の分子標的治療を目指して. 大阪大学蛋白質研究所セミナー「神経疾患の克服に向けて」, 2012 年 3 月 1 日～2 日, 大阪大学蛋白質研究所, 大阪
- E. 知的財産権の出願・登録状況 (予定含)
- 1) 特許登録 (European Patent Office)
Prophylactic/Therapeutic Agent for Neurodegenerative Disease.
Inventor: Hitoshi Okazawa
Application: National Corporation Tokyo Medical and Dental University
International Application Date: April 24, 2007
Application Number: 07742308.5
Issue Date: April 27, 2011
Patent Number: 2039367
 - 2) 特許登録 (US Patent and Trade Office)
Gene Encoding a Protein and Preventive/Remedy for Neurodegenerative Diseases such as Polyglutamine Diseases by Utilizing the Same
Inventor: Hitoshi Okazawa
Application: National Corporation Tokyo Medical and Dental University
International Application Date: November 16, 2005
Application Number: 11/791,053

Issue Date : May 31, 2011

Patent Number : 7951928

3) 特許登録 (European Patent Office)

Novel Protein and Preventive/Remedy for
Neurodegenerative Disease such as

Polyglutamine Disease Using the Same

Inventor : Hitoshi Okazawa

Application: National Corporation Tokyo

Medical and Dental University

International Application Date :

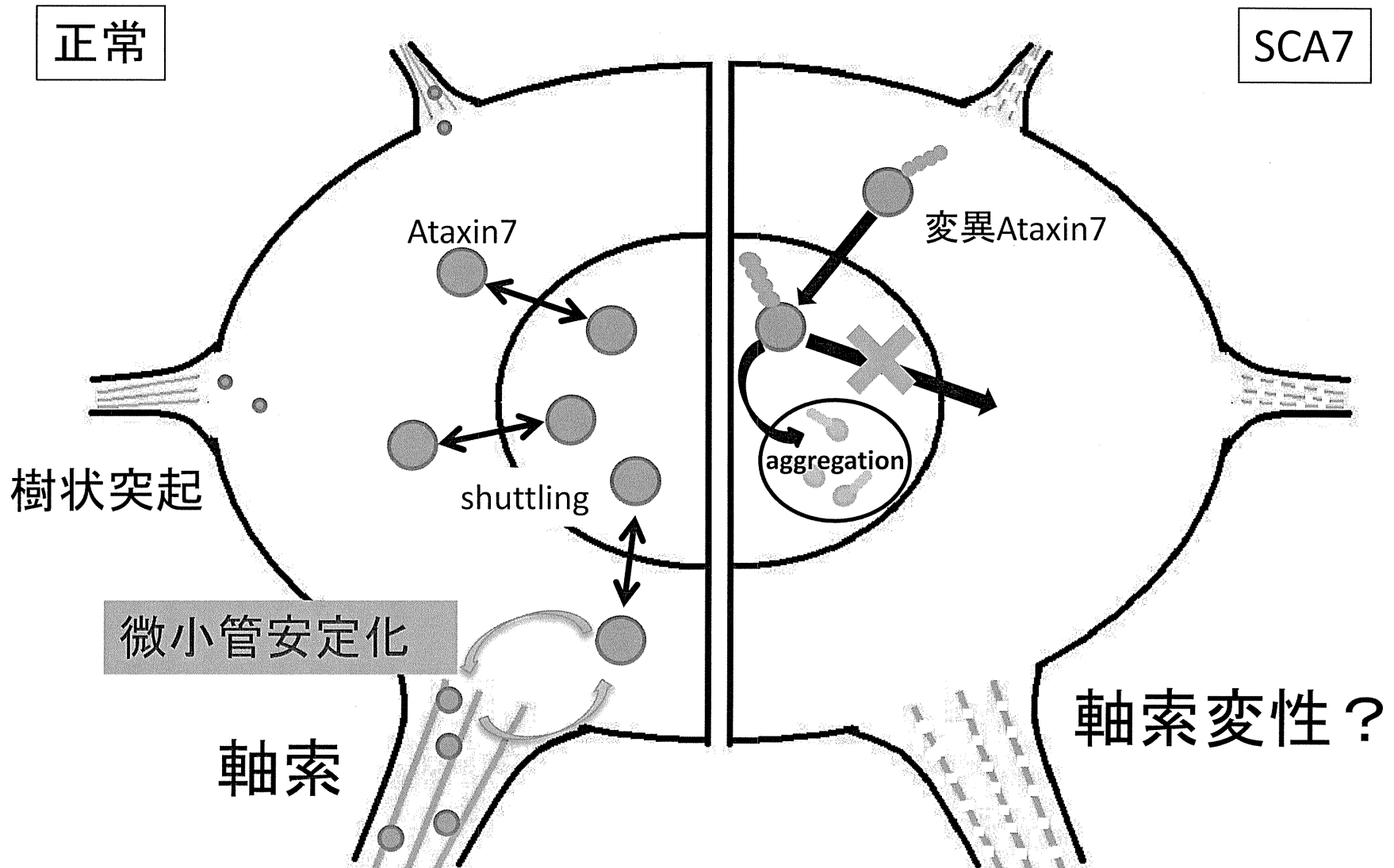
November 16, 2005

Application Number : 05807046.7

Issue Date : August 24, 2011

Patent Number : 1878793

ATX7-微小管結合から想定される病態機序



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究

分担研究報告

Hsp40 はエクソソーム分泌を介して ポリグルタミン病モデルに対する non-cell autonomous な治療効果を発揮する

研究分担者 永井 義隆 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)
共同研究者 武内 敏秀 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)
ポピエル 明子 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)
藤掛 伸宏 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)
和田 圭司 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部)

研究要旨

ポリグルタミン (PolyQ) 病を含む多くの神経変性疾患では、異常蛋白質のミスフォールディング・凝集が共通して神経変性を引き起こすと考えられている。我々は最近、ハンチントン病モデルマウスに対する分子シャペロン Hsp40 発現 AAV5 ベクターを用いた遺伝子治療の結果から、驚くべきことに、ウイルス感染細胞のみならず非感染細胞における non-cell autonomous な治療効果を見出した。本研究では培養細胞モデルを用いて、Hsp40 が細胞外に分泌されて周辺細胞に対する non-cell autonomous な生理活性を発揮する可能性を検討した。まず Neuro2A 細胞に Hsp40 を発現させたところ、その培養上清中に Hsp40 が経時的に検出されることを見出した。Hsp40 の細胞外分泌量は、ER-Golgi 間輸送阻害剤では変化せず、細胞内カルシウム濃度の上昇やリソソーム阻害剤により増加することから、Hsp40 は古典的分泌経路とは異なる機序により分泌される可能性が示唆された。実際に、培養液上清から超遠心分画により精製したエクソソーム画分にて Hsp40 が検出され、電子顕微鏡にて 50-100 nm の小胞内に Hsp40 を見出した。欠変異体を用いた検討から、Hsp40 のエクソソーム分泌には J ドメインが必要であると考えられた。さらに Hsp40 発現細胞由来のエクソソーム画分を、別の Q81-EGFP 発現細胞の培養液中に添加したところ、Q81-EGFP 封入体の有意な抑制を認めた。本研究の結果から、Hsp40 のエクソソーム経路を介する細胞外分泌が見出され、さらに PolyQ 病モデルに対する non-cell autonomous な治療効果が示されたことから、分子シャペロンのエクソソーム分泌が個体レベルでのプロテオスタシス維持に寄与する可能性が示唆された。

A. 研究目的

近年、アルツハイマー病、パーキンソン病、ポリグルタミン (PolyQ) 病などの多くの神経変性疾患において、異常蛋白質のミスフォールディング・凝集が神経変性を引き起こすと

いう共通の発症分子メカニズムが示唆されるようになった。PolyQ 病は、種々の脊髄小脳失調症やハンチントン病などを含む 9 疾患の総称で、PolyQ 鎖の異常伸長により原因蛋白質がミスフォールディング・凝集を生じ、そ