

women.Geriatr Gerontolnt 11:2011.

7. 神崎恒一:薬剤起因生歩行障害. Geriatr. Med 49:473-476, 2011.

2. 学会発表

1. 神崎恒一: (パネルディスカッション 介護予防:現状・課題と新たな方向性) 虚弱の概念と転倒予防, 第 27 回日本老年学会総会 2011.6.15. 東京.
2. 神崎恒一: シンポジウム 老年症候群と総合的機能評価, 第 53 回日本老年医学会学術集会 2011.6.16. 東京.
3. 秋下雅弘、江頭正人、荒井秀典、神崎恒一、葛谷雅文、荒井啓行、高橋龍太郎、江澤和彦、川合秀治、鳥羽研二: 高齢者医療の優先順位に関する意識調査, 第 53 回日本老年医学会学術集会 2011.6.17. 東京.
4. 田中政道、井上慎一郎、長谷川浩、神崎恒一: 高齢者における虚弱 (frailty) の評価, 第 53 回日本老年医学会学術集会 2011.6.17. 東京.
5. Koichi Kozaki, Hitomi Koshiba, Satoru Mochizuki, Kumiko Nagai: Evidence of the association of arterial stiffness and inflammation with cognitive dysfunction in older adults, 第 43 回日本動脈硬化学会学術集会 2011.7.16. 札幌.
6. 神崎恒一: 高齢患者における筋肉減少症 (サルコペニア) と転倒予防, 転倒予防医学研究会「第 8 回研究集会」 2011.10.2. 東京.
7. Koichi Kozaki: Current Status of Medical Treatment in Long-term Care Facilities in Japan, 9th Asia/ Oceania Regional

Congress of Geriatrics and Gerontology, Melbourne, AUSTRALIA, 2011.10.26.

8. 中居龍平, 山田如子, 木村紗矢香, 小林義雄, 長谷川浩, 神崎恒一: ハンカチテスト陽性の認知症患者における機能的近赤外スペクトロスコピー (fNIRS) による脳血流分布の検討, 第 30 回日本認知症学会学術集会, 2011.11.11. 東京.
9. 木村紗矢香, 山田如子, 町田綾子, 鳥羽研二, 神崎恒一: もの忘れ教室の効果—周辺症状と介護負担の検討—, 第 30 回日本認知症学会学術集会, 2011.11.11. 東京.
10. 山田如子, 木村紗矢香, 小林義雄, 中居龍平, 鳥羽研二, 神崎恒一: 認知症高齢者における抑うつ因子として家族構成と介護保険サービスが及ぼす影響の検討, 第 30 回日本認知症学会学術集会, 2011.11.11. 東京.
11. 神崎恒一: (シンポジウム) サルコペニアの疫学・予防と対策, 第 18 回日本未病システム学会学術集会, 2011.11.19. 名古屋.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

分担研究報告書

漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果の検証

—プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験—

荒木信夫

埼玉医科大学神経内科 教授

研究要旨:アルツハイマー型認知症患者の周辺症状(BPSD)に対する抑肝散の有効性について,認知機能評価法のNPI-Qを主要評価項目、MMSEを副次評価項目としてプラセボ群に対する抑肝散 7.5g/日実薬群の優越性を検討する。

共同研究者

山元 敏正 (埼玉医科大学神経内科)

中里 良彦 (埼玉医科大学神経内科)

佐々木貴浩 (埼玉医科大学神経内科)

A. 研究目的

認知機能障害を有する患者が周囲の環境や人々とのかかわり合いのなかで示すさまざまな症状が周辺症状(BPSD)であり、具体的には抑うつ、意欲障害、不安、焦燥、幻覚、妄想、脱抑制、昼夜逆転、徘徊、易怒、介護への抵抗、暴言などである。

抑肝散はこれまでのオープンラベル試験等でアルツハイマー病を初めとする認知症のBPSDに対しての有効性が報告され、我が国では保険適応と認められているが、プラセボを用いたRCTは行われていないため、国際的には使用されていない。そのため、今回プラセボ群に対する抑肝散の優越性を検討することになった。

B. 研究方法

NINCDS-ADRDA の診断基準で「ほぼ確実

なアルツハイマー型認知症」とされている患者を対象とし、4週間の二重盲検と引き続き8週間の非二重盲検の計12週間の多施設共同無作為化並行群間二重盲検比較試験を実施する。目標症例数は140例(実薬投与群:70例、プラセボ投与群:70例)で全国16施設で行う。埼玉医科大学では約10例の参加者を予定。

(倫理面への配慮)

本試験の実施にあたっては、ヘルシンキ宣言(2008年10月)の精神を遵守し、かつ本試験実施計画書ならびに「臨床研究に関する倫理指針」(平成21年4月1日施行)に遵守して実施する。対象となる被験者ならびに代諾者に対し、試験内容について、別に定める同意説明文書に基づいて十分に説明し、被験者ならびに代諾者が内容をよく理解したことを確認したうえで本試験への参加について、被験者ならびに代諾者の自由意思による同意を文書で得るものとする。

C. 研究結果

現在対象患者のエントリーを進めている。

D. 考察

研究遂行中。

E. 結論

研究遂行中。

F. 健康危険情報

現時点で自験例からの有害情報は認められない。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(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

厚生労働科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

分担研究報告書

漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果の検証

—プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験—

松原 悦朗

弘前大学大学院医学研究科・脳神経内科学講座准教授

研究要旨:弘前大学認知症関連疾患外来もしくは物忘れ外来にて BPSD を有するアルツハイマー病患者に対して、プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験を実施する。比較的早期の認知症患者の診療と軽度認知障害がその受診患者の主体をしめる大学における外来診療の特殊性なため、BPSD を有する対象患者のリクルートが困難であった。

A. 研究目的

漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果は臨床の間ではその有効性が実感されているが、客観的エビデンスの提示には至っていない。今回、BPSD を有するアルツハイマー病患者に対して、プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験を実施し、この客観的エビデンス取得を目標とする。

B. 研究方法

弘前大学神経内科認知症関連疾患外来もしくは物忘れ外来を受診もしくは経過観察中で BPSD を有するアルツハイマー病患者を対象とした。選択基準は、信頼できるスタディパートナーを伴っていること、エントリー時点までにCT/MRIが施行されていることがあげられ、神経心理検査でNPI-Q-J が4点以上(サブスコアで興奮・攻撃性、被刺激性・不安定の2項目が2点以上、MMSE が10-26点のほぼ確実なアルツハイマー病患

者である。治療期間は12週間、投与方法はプラセボ群、抑肝散群7.5g/日である。

(倫理面への配慮)

本研究は、当該施設の倫理委員会の承認を受けて行った(平成23年3月28日付けで承認)。

C. 研究結果と考察

3名のリクルートを試みたが、1例目は MMSE が9点で適応外、2例目はリクルートと施設入所が重なり、週10時間のスタディパートナーの観察に支障が出て適応外、3例目はスタディパートナー自身が膝関節手術を受けるためリクルート延期となり、現時点でまだエントリーが成されていない。現在3例目の症例のリクルートを準備中である。比較的早期の認知症患者の診療と軽度認知障害がその受診患者の主体をしめる弘前大学における外来診療の特殊

性なため、BPSD を有する対象患者のリクルートが困難である問題を有するが、鋭意リクルート準備中である。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Takamura A, Okamoto Y, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Mouri A, Nabeshima T, Sun H, Abe K, Shoji M, Yanagisawa K, Michikawa M, Matsubara E. Extracellular and Intraneuronal HMW-AβOs Represent a Molecular Basis of Memory Loss in Alzheimer's Disease Model Mouse. Mol Neurodegener. 2011;20: 6.

Takamura A, Kawarabayashi T, Yokoseki T, Shibata M, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Murayama S, Ihara Y, Abe K, Shoji M, Michikawa M, Matsubara E. The Dissociation of Aβ from Lipoprotein in Cerebrospinal Fluid from Alzheimer's Disease accelerates Aβ42 assembly. J Neurosci Res. 2011;89(6):815-821.

2. 学会発表

松原 悦朗. アルツハイマー病モデルマウスに対するメラトニンの効果, 第 11 回日本抗加齢医学会分科会共催シンポジウム(脳の老化とメラトニン), 京都, 2011

松原 悦朗. 抗体医療開発の現状, 第 48 回日本老年医学会学術集会 Aging Science Forum「アルツハイマー病研究の up-to-date」, 東京, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(認知症対策総合研究事業)

分担研究報告書

漢方方剤(抑肝散)によるアルツハイマー病BPSD軽減効果の検証

—プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験—

—アルツハイマー病BPSDに対する介護者の初期対応について—

池田将樹

群馬大学医学部神経内科、(財)老年病研究所附属病院神経内科

研究要旨:アルツハイマー病にみられる BPSD は家族をはじめとした介護者に精神的肉体的負担を課すものであるが、その対応が不十分である場合には患者だけでなく介護者にも日常生活に大きな影響がみられることがある。したがって長期におよぶ BPSD の対応には適切な薬物療法と介護・ケアの双方が有機的に行われることが重要であると考えられる。また、介護者が BPSD に気付かずに過ごしていて、無意識のうちに精神的肉体的負担がかかっている場合も少なくない。BPSD のみられたアルツハイマー病症例の介護者においてどの症状が負担に感じ、またその初期にはどのように対応したかを検討した。

A. 研究目的

認知症にみられる中核症状に加えて、妄想、幻覚、興奮、異常行動などの精神症状や問題行動 (BPSD : behavioral and psychological symptoms of dementia)は、認知症の症状のなかで家族などの介護者の精神的肉体的負担を大いに強いるものであり、診断が下されて認知症が進行し、死にいたるまでの長い罹病期間において BPSD への治療も含めた介護・ケアの対応が必要とされる。患者に接する介護者についても実際、どのような対応をしているかを理解することが重要であると考え、検討を行った。

B. 研究方法

対象:BPSD を示すアルツハイマー病の 6 症例について介護者からの聞き取りにおいて、最も負担に思われた BPSD の症状について NPI-J の項目を選んでもらい、集計した。BPSD の初期に介護者が気づいた BPSD の症状と対応について聞き取りを行った。

C. 研究結果

NPI-J の項目では、(項目 3)興奮・攻撃性と(項目 9)被刺激性・不安定性(6 症例)が最も多くみられた(6 症例)。このほか、(項目 1)妄想(4 症例)、(項目 5)不安(4 症例)、(項目 7)アパシー・無関心(4 症例)、(項目 2)幻覚(2 症例)、(項目 8)脱抑制(2 症例)、(項目 4)憂鬱・不快(2 症例)、

(項目 11)睡眠(1 症例)が挙げられた。初期の BPSD として介護者が気付いた症状としては、易怒性が最も多く、介護者からの介入(誤りを指摘される)の際にみられることが多かった(6 症例)。これに対して介護者は我慢する、無視するなどの対応がほとんどであり、改善の方法をとらなかったのが全例であった。被刺激性・不安定性がみられた症例においても同様である。すなわち、BPSD がみられていても、担当医にも相談せず、どのように対応すればよいか分からずに過ごしており、認知症全般の進行にともない、BPSD も重度化して行った症例がほとんどである。介護者は BPSD がみられていても、認知症だからやむを得ない、我慢する、様子を見るしかない、刺激せずに離れて過ごすなど適切な対応をとっていなかったのは、BPSD という臨床症候の概念を知らずにアルツハイマー型認知症の患者を接していたことが原因であると思われる。またそのような場合、ケアマネージャーと相談せずに自分だけで悩んでいたり、自らが不安になったり、気分の落ち込みがみられる症例もあった。認知症の場合、中核症状である記憶障害、実行機能障害による症状は理解できても、BPSD の介護者の認識がまだ不十分であることが多く、疾患の説明や治療を進めるにあたっては、患者への接し方や対応方法についてわかり易く丁寧にかつ具体的に理解してもらい、介護者だけで抱え込まずに、関係者を含めて種々の方法・手段を用いて適切な対応を行うことが望ましいと考えられる。

D. 考察

アルツハイマー型認知症患者の BPSD では、NPI-J の項目における興奮・攻撃性、被刺激

性・不安定性が頻度として多く見られた。これらの BPSD の症状に対して介護者が気付いていても、具体的な対応策をとらず、また担当医にも積極的に相談せず、我慢、無視といった患者との距離をとってしまう場合が多く、その場合には、自らが悩んだり、不安や気分の落ち込みが介護者にみられることもあった。認知症にみられる BPSD についての認識を広める必要があり、治療も含めた適切な対応を医師やコメディカル・スタッフとともに考えていく必要がある。

E. 結論

アルツハイマー型認知症患者の BPSD では、介護者が自分から担当医などに相談せず、自分で抱え込んでいる場合があるため、BPSD の重要性について理解して、治療も含めた適切な対応を探る必要がある。

F. 研究発表

なし。

G. 論文発表

なし。

漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病BPSD軽減効果の検証
-プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験- (H22-認知症-一般-002)

布村 明彦

山梨大学医学工学総合研究部精神神経医学准教授

研究要旨 アルツハイマー型認知症患者のBPSDに対する抑肝散の有効性について、プラセボ群に対する抑肝散7.5g/日実薬群の優越性を検討する多施設共同ランダム化二重盲験比較試験に参画した。有効性の判定は本多施設共同研究の最終成果を俟たなければならないが、研究分担者らのアルツハイマー病脳研究から、抑肝散の作用機序として酸化ストレス抑制に着目すべきことが示唆された。

A. 研究目的

アルツハイマー型認知症患者のBPSDに対する抑肝散の有効性について、プラセボ群に対する抑肝散7.5g/日実薬群の優越性を検討する。

本試験は、ヘルシンキ宣言(2008年10月改訂)及び「臨床研究に関する倫理指針」(平成20年7月31日全部改訂)に従って実施した。また、試験計画は、山梨大学医学部倫理委員会の承認を得た(受付番号845)。

B. 研究方法

東北大学加齢医学研究所・荒井啓行教授を実施責任者とする多施設共同のプラセボ対照ランダム化二重盲験比較試験に研究分担者として参画する。対象は、山梨大学医学部附属病院精神科および医療法人財団加納岩日下部記念病院(山梨市)精神科の外来あるいは入院患者のうち、DSM-III R 診断基準で認知症とされ、NINCDS-ADRDAの診断基準で「ほぼ確実なアルツハイマー型認知症」とされた55歳以上84歳以下の患者である。

C. 研究結果

研究協力施設との調整や学内倫理委員会承認に時間を要した事情から、本年度内に本試験対象となる患者の登録を行うことができなかった。

他方、研究分担者らのアルツハイマー病脳研究からは、アルツハイマー病早期の病態に慢性炎症や血流障害の結果生じる酸化ストレスが関連することが示唆された。

D. 考察

抑肝散は、抗炎症作用(茯苓)や血流障害改

(倫理面への配慮)

善作用(当帰、柴胡、茯苓)を有することから、アルツハイマー病に対して、酸化ストレス抑制を介して作用する可能性がある。

E. 結論

アルツハイマー型認知症患者のBPSDに対する抑肝散の有効性については、本多施設共同研究の結果を俟たなければならない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

1) Nunomura A, Tamaoki T, Motohashi N, et al. The earliest stage of cognitive impairment in transition from normal aging to Alzheimer disease is marked by prominent RNA oxidation in vulnerable neurons. *J Neuropathol Exp Neurol* 71(3):233-241, 2012

2) 布村明彦, 玉置寿男. 認知症学(下)―その解明と治療の最新知見― Vascular cognitive impairment. *日本臨床* 69 巻 増刊号 10: 325-330, 2011

3) 布村明彦. アルツハイマー病根本治療薬の開発. *精神科* 19(5): 502-508, 2011

4) 布村明彦. アルツハイマー病: 予防診療の進歩. *最新医学* 66 巻 9 月増刊号: 2133-2145, 2011

5) Perry G, Mondragón-Rodríguez S, Nunomura A, et al. Oxidative stress and balance in neurodegenerative diseases. In: *Neurodegeneration: The Molecular Pathology of Dementia and Movement Disorders*, 2nd Edition.

Dickson DW, Weller RO (Eds) Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ, 2011, p. 10-12

2. 学会発表

1) 2nd Annual World Congress of NeuroTalk-2011 (22-25 May 2011, Dalian, China)

Nunomura A, Tamaoki T, Tanaka K, et al. Neuronal RNA oxidation in age-related neurodegenerative disorders. Abstracts p. 173, 2011

2) 第30回日本認知症学会(平成23年11月11日～13日、東京)

布村明彦. Preclinical AD脳とMCI脳を分ける変化:酸化傷害(Oxidative Damage). *Dementia Japan* 25(3):299, 2011

3) 第30回日本認知症学会(平成23年11月11日～13日、東京)

布村明彦、安田和幸、玉置寿男、ほか. 加齢、preclinical AD、およびMCI脳における神経細胞内RNAの酸化傷害. *Dementia Japan* 25(3):425, 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

(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 |

「漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果の検証
—プレセボ対照無作為化臨床第2相比較試験—」(H22-認知症-一般-002)

大阪市立大学老年科神経内科における抑肝散治験の経験

嶋田裕之

大阪市立大学 大阪市立大学老年内科・神経内科、

研究要旨

本年度は施設登録を行い、その後研究を開始し6例の症例登録を行った。本治験では症例登録はインターネットでの登録が必要であること、当院が電子カルテであり、症例報告書類のテンプレートを用意する必要があるなど準備には様々な問題があった。しかし当院では昨年からの医師主導型治験に関しても院内治験事務局の協力を得られるシステムが確立されたため、それらを利用することができ、その後研究は順調に行うことができた。

A.研究目的

アルツハイマー型認知症患者の BPSD に対して抑肝散の有効性を二重盲検試験にて評価する。

B.研究方法

本年度初めに施設登録を治験事務局に対して行い登録された。その後実際の症例登録に際しては、まずインターネットで行う必要があり、また当院が電子カルテシステムのため、症例記録などを電子カルテに残すため、治験の記録事項を記入できるテンプレートを作る必要があった。しかしその作業に入る直前に、当院で医師主導型治験に関しても、当院の治験事務局を利用することが可能となった。そのため事務局と契約を結び、その後は治験事務を代行してもらうことが可能となった。結果的に治験分担者としての仕事は軽減する事ができ、症例の entry がしやすくなり、また問題なく行うことが可能となった。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪市立大学倫理委員会の承認をうけた。

C.研究結果

患者の詳細を表1に示す。

本年度中に entry した症例は全部で 6 例である。その内 1 例目は同意取得後に、患者側からの辞退の申し出が有り、キャンセルとなったが、それ以降の症例は順調に行うことが可能であった。薬剤の効果に関しては二重盲検のため不明である。副作用に関しては 1 例で血清 K 値が低下を示したが、そのまま投薬に変更を加えることなく遂行できた。

D.考察

本研究は多施設共同による二重盲検試験であるため、今後の症例蓄積が重要と考える。班会議で活発な議論が行われており、今後予定症例まで entry を行う予定である。

E. 結論

症例	年齢	性別	MMSE	NPI-Q-J 合計(興奮、易刺激性)	血清 K	現状
1	83	女	17	12 (4)	3.6	割り付け後中止
2	75	女	27	9 (3)	4.8	3/12 終了
3	83	女	20			再エントリー後中止
4	73	女	20	8 (2)	3.9	3/5 8 週目
5	68	女	23	6 (3)	4.4	3/19 8 週目
6	80	男				3/30 開始予定

本年度も症例を蓄積する。

表1

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

1. Yamakawa Y, Shimada H, Ataka S, Tamura A, Masaki H, Naka H, Tsutada T, Nakanishi A, Shiomi S, Watanabe Y, Miki T: Two cases of dementias with motor neuron disease evaluated by Pittsburgh compound B-positron emission tomography. *Neurol Sci.* 2012 Feb;33(1):87-92. Epub 2011 Feb 5.
2. Shimada H, Ataka S, Tomiyama T, Takechi H, Mori H, Miki T: Clinical course of patients with familial early-onset Alzheimer's disease potentially lacking senile plaques bearing the E693Δ mutation in amyloid precursor protein. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2011;32(1):45-54. Epub 2011 Aug 13.
3. Shimada H, Ataka S, Takeuchi J, Mori H, Wada Y, Watanabe Y, Miki T: Pittsburgh compound B-negative dementia: a possibility of misdiagnosis of

patients with non-alzheimer disease-type dementia as having AD. *J Geriatr Psychiatry Neurol.* 2011 Sep;24(3):123-6.

2. 学会発表

1. 安宅鈴香、嶋田裕之、竹内潤、河邊譲治、高橋和弘、和田康弘、金本元勝、武田景敏、伊藤和博、蔦田強司、下西祥裕、塩見進、森啓、渡邊恭良、三木隆己: PiB 陰性認知症の臨床経過。第52回日本神経学会総会、2011、名古屋
2. 竹内潤、安宅鈴香、嶋田裕之、河邊譲治、高橋和弘、和田康弘、金本元勝、武田景敏、伊藤和博、蔦田強、下西祥裕、塩見進、森啓、渡邊恭良、三木隆己: 臨床的には AD の診断であった PiB 陰性認知症における ¹²³I-MIBG 心筋シンチグラフィ所見。第52回日本神経学会総会、2011、名古屋
3. 安宅鈴香、嶋田裕之、竹内潤、中弘志1、正木秀樹、中西亜紀、和田康弘、武地一、渡邊恭良、三木隆己: アルツハイマー病と診断されたが PiB-PET は陰性であった 12 症例の追跡結果。53回日本老年医学会学術集、2011、東京。
4. 安宅鈴香、嶋田裕之、竹内潤、和田康弘、下西祥裕、山永隆司、河邊譲治、三木隆己、塩見進、渡邊恭良: PiB-PET 陰性認知症の追跡結果: PiB-PET、FDG-PET、MRI、心理検査の比較、第51回日本核医学会学術総会、2011、筑波。
5. 安宅鈴香、嶋田裕之、竹内潤、河邊譲治、和田康弘、高橋和弘、武田景敏、正木秀樹、蔦田強司、塩見進、中西亜紀、森啓、渡邊恭良、三木隆己: 初期の前頭側頭型認知症の鑑別診断に PiB-PET は有用である。第30回認知症学会学術集会、2011、東京。
6. Suzuka Ataka, Hiroyuki Shimada, Jun Takeuchi, Akitoshi Takeda, Akiko Tamura, Motokatsu

Kanemoto, Kazuhiro Ito, YasuhiroWada,
Tsuyoshi Tsutada, Susumu Shiomi, Hiroshi Mori,
Yasuyoshi Watanabe, Takami Miki: Follow-up
study of PiB negative dementia. Alzheimer's
association international conference , 2011,paris,
France.

G.知的財産権の出願・登録状況(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

厚生労働科学研究費(認知症対策総合研究事業)

分担研究報告書

神経変性疾患由来 iPS 細胞の戦略的解析と再生医療への展開

-アルツハイマー病の根本治療を目指して-

伊東大介

慶應義塾大学医学部・神経内科

研究要旨

超高齢化社会に直面している我が国にとって、認知症ははじめとする神経変性疾患の医療と対策は 21 世紀の避けられない重大な課題である。2006 年に確立した iPS (induced pluripotent stem)細胞の技術は、その多能性を基に、疾患に関連した臓器を含む種々の組織を誘導することが可能となる。そのため、生体よりの入手が困難である中枢神経系の組織の作成も可能となり、従来になかった観点からの疾患研究が期待できる。我々は家族性 AD 由来 iPS 細胞樹立し報告した。さらに研究を特発性 AD に発展させるためには対象となる(高齢発症神経変性疾患が否定された)正常コントロールが必須である。本研究では、超高齢者まで認知症が否定できる百寿者 iPS 細胞を作成し、高齢発症神経変性疾患研究の正常コントロール iPS として利用可能であることを確認した。この iPS 細胞と疾患 iPS 細胞と比較することにより、疾患の分子病態の微細な差がより鮮明となるとともに脳の老化のメカニズムにも研究を展開できるものと考えられる。

A. 研究目的

超高齢化社会に直面している我が国にとって、認知症ははじめとする神経変性疾患の医療と対策は避けられない重大な課題である。分子生物学の発展により、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)は、原因遺伝子が同定されその分子機構病態の解明が進んでいる。しかし、その一方根本治療の確立は厳しい状況にある。疾患の原因解

明・治療法開発のためには、患者さん自身の障害組織を用いた研究が最も望ましいが、脳組織の場合その入手は倫理的に困難であり、特発性神経変性疾患の解析の大きな障壁となっている。2006 年、Takahashi らによる iPS (induced pluripotent stem)細胞の技法により、患者に由来する iPS 細胞を樹立することができれば、その多能性を基に、疾患

に関連した臓器を含む種々の組織を誘導することが可能となった。そのため、生体より入手が困難である中枢神経系の組織の作成も可能となり、従来にはない観点からの疾患研究が期待できる。我々はすでに家族性AD (PS1, PS2 変異) のiPS細胞に樹立に成功した。分化誘導後神経細胞の amyloid β ($A\beta$) の産生能を解析したところ毒性の高い $A\beta$ 42 が有意に亢進していることが示された。したがって、PS1と2変異が γ -secretase 活性に影響を与え毒性の高い $A\beta$ 42 の産生を亢進していることを患者由来神経細胞で初めて示した。さらに、この家族性 AD-iPS 細胞は γ -secretase 阻害薬 (compound E)、修飾薬 (compound W) による作用を検討したところ、 $A\beta$ 42 の産生などに十分に反応し iPS 細胞由来神経細胞が、AD の薬剤スクリーニングに強力なマテリアルとなりうることをしめした。次に AD-iPS 研究を、特発性 AD に発展させるため、対象となる正常コントロールが必須である。我々は、超高齢者まで認知症が否定できる百寿者 iPS 細胞をスーパーコントロールと用いることにより、疾患の分子病態の微細な差がより鮮明となるとともに脳の老化のメカニズムにも研究を展開できるものと考えられる。本研究では、百寿者 iPS 細胞 (106, 109 歳) 作製、解析し、高齢発症神経変性疾患研究の真の正常コントロール iPS への確立を目指す。

B. 研究方法

当院の患者もしくは代諾者の同意のもと、100 歳時まで神経疾患が否定できる百寿者から生体組織試料 (皮膚生検) または、剖検検体より組織試料を採取し、線維芽細胞を培養・増殖する。Takahashi らの方法に基づき、疾患由来線維芽細胞にレトロウイルスを用いて 4 遺伝子 (Oct3/4, Sox2, Klf4, c-Myc) を導入して iPS 細胞を作成

する。当研究室では、すでに多数の神経疾患 iPS 細胞の樹立を行っており、設備、技術において支障は見当たらない。

樹立した iPS 細胞は神経細胞に分化誘導し、マイクロアレイ、プロテオミクス解析により mRNA、蛋白質の発現を網羅的に解析し、AD-iPS 細胞と細胞生物学的に比較する。

(倫理面への配慮)

本研究に関連した研究は、すでに慶應義塾大学医学部倫理委員会で承認されている。その概略は、患者からの体組織試料、剖検試料の採取およびその組織の本研究への利用は、患者もしくは代諾者の自由意志による同意が得られた場合のみ行う。患者・高齢者/代諾者への説明に際しては説明書に基づき担当医師が説明を行う。特に、iPS 細胞研究は、現段階では治療目的に利用することはできないことを十分な時間をもって説明し、研究目的での利用に限定していること御了解していただく。同意書は 4 枚複写で作成し、患者・高齢者/代諾者・研究者・個人情報管理者・医学部各保管用として一通ずつ保存する。患者・高齢者/代諾者は一旦同意されても、不利益を受けることなく患者・高齢者側から文書により同意を撤回することができる。その場合、提供頂いた検体、それより樹立した iPS 細胞、それに付随する医療情報は破棄され、以降は研究に用いられることはない。

C, D. 研究結果及び考察

100 歳時まで神経疾患が否定できる百寿者 (106 歳、109 歳) から同意を得て、皮膚線維

芽細胞を採取した。上記方法にてリプログラミングを行った。免疫染色より ES 細胞のマーカーの発現、テラトーマテストから三胚葉への分化を観察し、樹立 iPS 細胞の多能性を確認し、百寿者 iPS 細胞の確立に成功した。

E. 結論

今後は、百寿者 iPS 細胞の A β の産生能、タウ蛋白、 α シヌクレインの発現を検討し疾患 iPS 細胞と比較する予定である。

G. 研究発表

1.論文発表

1) Yagi T, Ito D*, Okada Y, Akamatsu W, Nihei Y, Yoshizaki T, Yamanaka S, Okano H, Suzuki N. Modeling familial Alzheimer's disease with induced pluripotent stem cells. *Human Mol. Genet.* 2011;20(23):4530-9

2) Ito D*, Suzuki N. Conjoint pathological cascades mediated by the ALS/FTLD-U linked RNA-binding proteins TDP-43 and FUS. *Neurology* 2011;77:1636-43.

3) Ito D*, Yagi T, Ikawa M, Suzuki N. Characterization of inclusion bodies with cytoprotective properties formed by seipinopathy-linked mutant seipin. *Hum Mol Genet.* 2012; 21(3):635-46.

2.学会発表

1) 伊東大介、八木拓也、鈴木則宏. Seipinopathy/Seipin/BSCL2 関連運動ニューロン疾患—神経変性における小胞体ストレスの重要性—(シンポジウム) 第 52 回日本神経学会総会, 名古屋、2011. 5

2) Ito D, Seki M, Nihei Y, Suzuki N. Conjoint ALS/FTLD-U pathological cascade mediated by the RNA binding proteins TDP-43 and FUS. 第 52 回日本神経学会総会, 名古屋、2011. 5

3) 小泉健三、塚田唯子、伊東大介、岡本真一郎、鈴木則宏. 頭部 MRI で多彩な髄膜脳炎の所見を呈したウイルス関連血球貪食症候群の 17 歳女性例. 第 197 回日本神経学会関東・甲信越地方会、東京、2011.6

4) 伊澤良兼、鈴木重明、伊東大介、高尾昌樹、鈴木則宏. 記銘力低下とてんかんで発症し脳生検を施行した 63 歳女性例. 第 198 回日本神経学会関東地方会、東京、2011. 9

5) 荒木真知子、伊東大介、田渕肇、高野晴成、加藤隆、岡瑞紀、斎藤菜穂、三村將、鈴木則宏. 認知症病型診断における神経心理学的スクリーニングとしての ROCFT の有用性. 第 30 回日本認知症学会学術集会、東京、2011. 11

6) 伊東大介. 神経疾患における iPS 細胞研究の現状と展望. 第 23 回日本脳循環代謝学会総会 イブニングセミナー 東京、2011. 11

H. 知的所有権の出願・取得状況

現時点では、特になし

漢方方剤「抑肝散」によるアルツハイマー病 BPSD 軽減効果の検証

— プラセボ対照無作為化臨床第2相比較試験 —

— 基礎薬理学, プラセボ識別試験 —

鳥居塚和生

昭和大学 薬学部 教授

要旨 実薬とプラセボの識別試験を実施することを分担研究の主たる目的としているが、味覚識別の一つのファクターとなる嗅覚の寄与に関する検討を本年度は実施した。即ち、嗅覚障害モデルマウスを用いて、感覚器入力に対する行動薬理的検討を実施し、実薬およびプラセボ作成における生物学的評価基準の作成を目的として研究を行った。パイロット試験として既に分担研究者が抗不安作用を見出しデータの蓄積のある加味逍遙散(カシヨウヨウサン)、類似処方の温経湯(ウンケイトウ)について比較検討した。その結果、嗅覚障害モデル動物が記憶学習障害の評価モデルの一つとなり、抑肝散の実薬およびプラセボを投与したときの生物学的力価の評価法になる可能性を明確にした。またこのモデルは嗅球におけるドーパミンレベルの著しい低下とともに受動的回避課題の大幅な減衰を引き起こすことから、嗅球における神経伝達物質の機能を持つとされる L-カルノシンの関与について検討した。L-カルノシンの脳内投与により用量依存的にマウスの常同行動を惹起した。またこれらはドーパミン受容体拮抗剤のクロロプロマジン、ハロペリドールおよびドーパミン合成酵素阻害剤で抑制された。中枢におけるドーパミン神経系における制御に L-カルノシンが寄与することを示した。

A. 目的

実薬とプラセボの識別試験を実施することを分担研究の主たる目的としているが、平成 23 年度は味覚識別の一つのファクターとなる嗅覚の寄与に関する検討を継続実施した。即ち、実薬およびプラセボの識別に関わる因子として考えられる感覚として寄与するものは、味覚だけではなく視覚、嗅覚によるものの寄与も大きい。視覚においては剤型の形状や色調を調整することで対応が比較的たやすいが、嗅覚はその識別能力は味覚に比べて数段に高く、プラセボ投与の際に与えている影響は少ない。

既に当研究室では嗅覚障害モデル動物による基礎検討を行い、嗅覚障害により嗅球での dopamine(DA)、3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)量の低下を抑制することを見出している。そこで本年度は嗅覚障害モデルマウスを用いて、感覚器入力に対する行動薬理的検討を実施し、実薬およびプラセボ作成における生物学的評価基準の作成を目的として研究を行った。併せて嗅覚障害による記憶学習能への影響、およびそれに対する漢方処方の方の経口投与の効果、脳内モノアミン類への影響について検討した。漢方処方としてはパイロット試験であることから、既に分担研究者が抗不安作用を見出しデータの蓄積のある加

味逍遙散(カシヨウヨウサン)および類似処方(温経湯(ウンケイトウ))を対象とした検討を行った。またこの嗅覚障害モデルは嗅球におけるドーパミンレベルの著しい低下とともに受動的回避課題の大幅な減衰を引き起こすことから、嗅球における神経伝達物質の機能を持つとされる L-カルノシンの関与について検討した。

B. 研究方法

1. 嗅覚障害モデルマウスの作成・被験薬投与プロトコール

1-1. 被験薬の調製

加味逍遙散および温経湯は、生薬より常法に従い調製した。すなわち 1 日分の生薬を煎じ器(ウチダ和漢薬)に入れ、水 600 mL を加えて 40 分煎じた。熱時綿栓ろ過し、室温になってから遠心分離した。上清を吸引ろ過後、凍結乾燥を行いエキスを得た。

1-2. 投与実験

4-5 週齢雄性 ddY 系マウスを三協ラボあるいは日本 SLC より購入し実験に用いた。動物実験室にて 1 週間の馴化後、4 匹ごとに对照群(Control)、嗅覚障害(OBL)对照群、加味逍遙散投与群(OBL-KSS)、温経湯投与群(OBL-UKT)の 4 群に分けた。被験薬は 50mg/kg/day となるように水に溶解し、給水瓶にて自由摂取させた。对照群には蒸留水を自由摂取させた。

1-3. 嗅覚障害

被験薬投与 1 週間後に以下の操作を行った。マウスをエーテル麻酔下にて上に仰向けに寝かせ、両側の鼻腔内にマイクロシリンジを用いて 5% 硫酸亜鉛 20 μ L を点鼻し嗅覚障害を惹起した(OBL)。对照群には日本薬局方 注射用水 蒸留水(LOT.K0K83, 大塚製薬工業)を点鼻した。5% 硫酸亜鉛は、硫酸亜鉛 7 水和

物(SIGMA, LOT.113K0037)0.873g を蒸留水 10.0 mL に溶解して調整した。

なお別に、後投与実験として 5% 硫酸亜鉛点鼻後より温経湯(50mg/kg/day)を投与した実験も行った。

2. 記憶学習試験

OBL 処置 24 時間後に Step-through 型受動的回避学習試験装置を用い獲得試行を行った。電気刺激の強度は予備実験より 0.5mA, 3sec と設定した。獲得試行 24 時間, 48 時間, 96 時間後に記憶保持能の測定を行った。5 分間(300sec)を観察時間としてそれ以降はカットオフした。自発運動量は記憶学習試験終了 2 日後にオープンフィールドを用いて測定した。

3. 脳の摘出, 分画

オープンフィールド実験終了後、脳を摘出し直ちに液体窒素により凍結し、 -80°C にて冷凍保存した。脳分画は、ドライアイス存在下で脳アトラスに従って切り出しを行い、嗅球、大脳皮質、背側海馬、腹側海馬、中隔野、嗅内野、視床下部の 7 つに分画した。各組織切片は 1.5 mL の PP チューブに入れ凍結保存した。

4. 脳内モノアミンの抽出・測定

嗅球画分を試料として DA, DOPAC の抽出をエイコム社のモノアミン抽出方法に従い実施した。測定は ECD-HPLC (電気化学検出器-HPLC)を用いて DA, DOPAC の標準品を用いた検量線作成後、嗅球抽出液を測定した。

4. カルノシン投与による嗅覚障害モデルマウスへの影響

4-1. 被験薬の調製

L-Carnosine (カルノシン; β -alanyl-L-histidine), α -methyl-DL-p-tyrosine (α -MRT), chlorpromazine, haloperidol を用いた。これらの試薬は生理食塩液に溶解し、実験に供した。

4-2. 投与実験

4-5 週齢雄性 ddY 系マウスを日本 SLC より購入し実験に用いた。動物実験室にて1週間の馴化後、4匹ごとに対照群(Control), カルノシン投与群, カルノシン+chlorpromazine 投与群, カルノシン+ α -MRT 投与群, カルノシン+haloperidol 投与の4群に分けた。カルノシンの濃度依存性は 3-300 mg/kg で検討した。

4-3. 常同行動

常同行動は apomorphine 誘導常同行動スケールを利用し、45 秒の観察を 5 分間インターバルで 30 分実施しスコア化した。

C. 結果

1. 記憶学習試験結果

OBL-コントロールマウスは経日的に反応潜時の短縮傾向がみられた。一方、嗅覚障害マウスに KSS, UKT を投与した群では反応潜時の短縮が認められなかった。

24 時間後、96 時間後を群間で比較すると、96 時間後には OBL 群で対照群に捕獲して有意な反応潜時の短縮が認められ、これに対して KSS 投与群, UKT 投与群では短縮を抑制していることが示された。(図1)

なおオープンフィールドを用いた自発運動量を測定した結果では、群間での相違はなく、鎮静などによる影響ではないと考えられた。

2. 温経湯の後投与実験

嗅覚障害後に UKT を摂取させたマウスにおいても、嗅覚障害による反応潜時の低下を抑制した。この結果は、予防的な前投与だけでなく、治療的な意義も示唆する成績であった。

3. 嗅球 Dopamine (DA), DOPAC 測定結果 (**:p<0.01, Φ :p<0.1)

嗅球はドーパミン神経系が有意なことが分かっているため、DA, DOPAC 量の変動に着目し、検討した。図2に示すように、DA では漢方薬投与で含量の増加傾向が観察された。DOPAC では OBL で低下し、これに対して漢方薬投与で低下の抑制傾向が示された。

4. カルノシンによる常同行動の変容

L-カルノシンの投与による常同行動の惹起は投与後5分で最も強く現れた、またその作用は用量依存的であった。(図3, 4)

5. 各種阻害剤の投与によるカルノシン投与への影響

L-カルノシンの投与によりおこる常同行動はドーパミン受容体拮抗剤のクロロプロマジン、ハロペリドールおよびドーパミン合成酵素阻害剤 α -methyl-DL-p-tyrosine (α -MRT) で抑制された。(図5)

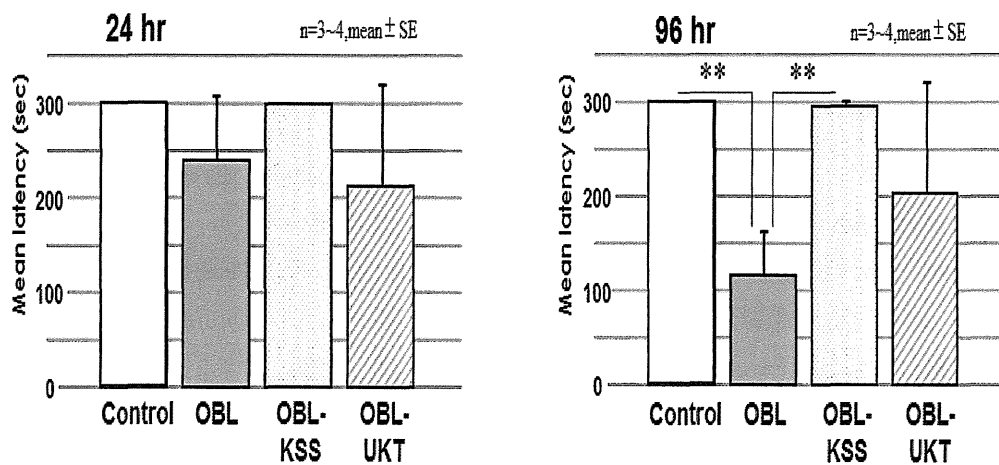


図1. 嗅覚障害モデルマウスの記憶保持能の変化および漢方薬投与の影響

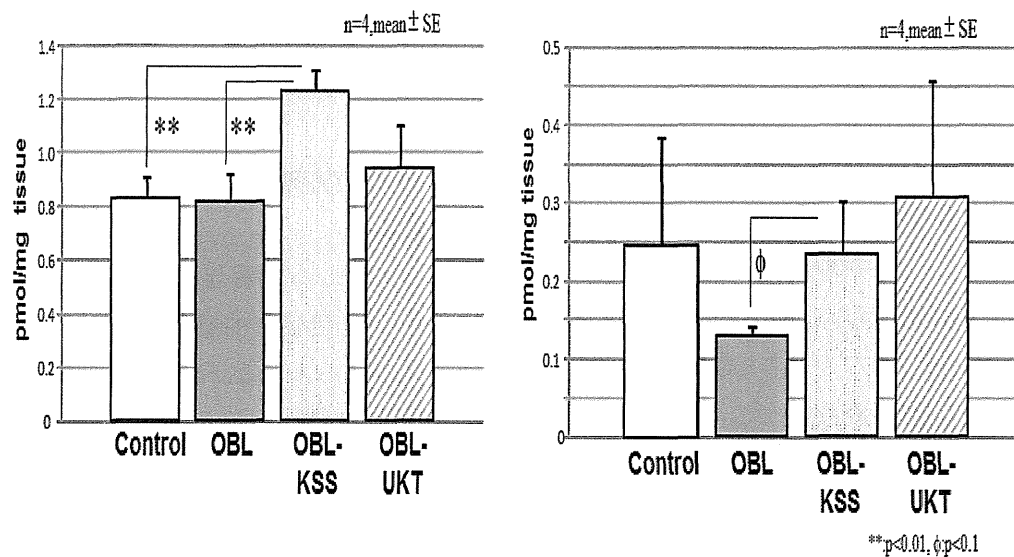


図2. 嗅球内 dopamine, DOPAC 含量への影響 (**:p<0.01, ϕ :p<0.1)

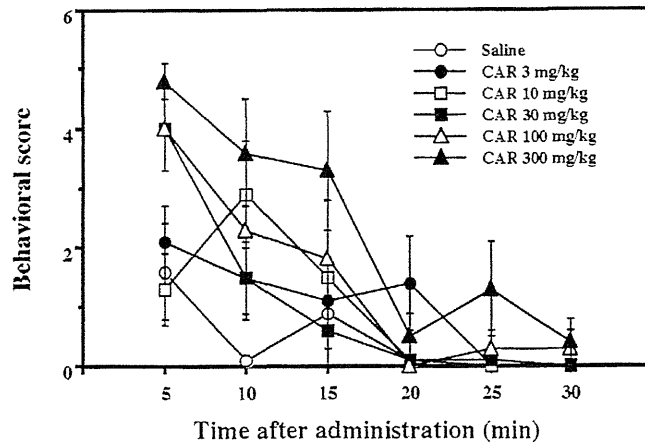


図3. L-カルノシンによる常同行動は投与後5分で最も強く現れた。

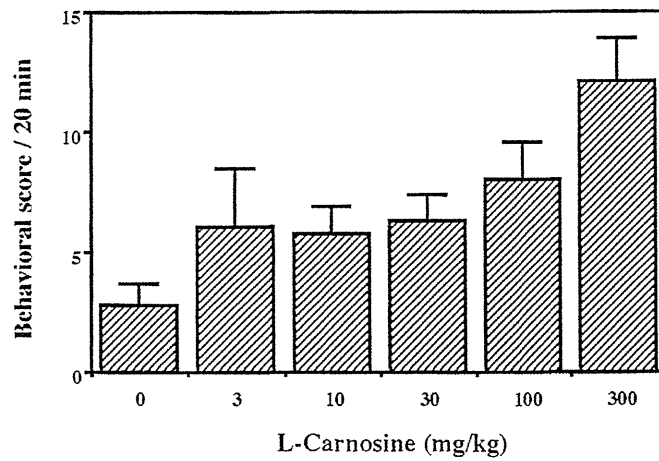


図4. L-カルノシンによる常同行動惹起の用量依存性

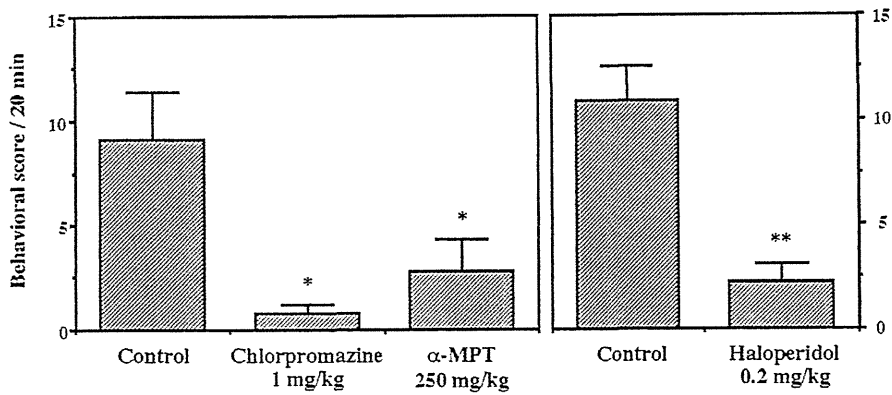


図5. L-カルノシンによる常同行動惹起に対する各種阻害剤による影響