

201231030A

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患等克服研究事業（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

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐々木 秀直

平成25（2013）年3月

## 運動失調症に関する調査研究班 変遷一覧

年度	班 名	研究代表者	所 属	
1975 (昭和50)	脊髄小脳変性症調査研究班	祖父江逸郎	名古屋大学医学部第一内科	教授
1976 (昭和51)				
1977 (昭和52)				
1978 (昭和53)	脊髄小脳変性症調査研究班	祖父江逸郎	名古屋大学医学部第一内科	教授
1979 (昭和54)				
1980 (昭和55)				
1981 (昭和56)	運動失調症調査研究班	飯塚 禮二	順天堂大学医学部精神神経科	教授
1982 (昭和57)				
1983 (昭和58)				
1984 (昭和59)	運動失調症調査研究班	飯塚 禮二	順天堂大学医学部精神神経科	教授
1985 (昭和60)				
1986 (昭和61)				
1987 (昭和62)	運動失調症調査研究班	平山 恵造	千葉大学医学部神経内科	教授
1988 (昭和63)				
1989 (平成元)				
1990 (平成2)	運動失調症調査研究班	平山 恵造	千葉大学医学部神経内科	教授
1991 (平成3)				
1992 (平成4)	運動失調症調査研究班	金澤 一郎	東京大学医学部神経内科	教授
1993 (平成5)				
1994 (平成6)				
1995 (平成7)	運動失調症調査研究班	金澤 一郎	東京大学医学部神経内科	教授
1996 (平成8)				
1997 (平成9)				
1998 (平成10)				
1999 (平成11)	運動失調症に関する調査及び病態機序に関する研究班	辻 省次	新潟大学脳研究所神経内科	教授
2000 (平成12)				
2001 (平成13)				
2002 (平成14)	運動失調症に関する調査及び病態機序に関する研究班	辻 省次	東京大学医学系研究科神経内科	教授
2003 (平成15)				
2004 (平成16)				
2005 (平成17)	運動失調に関する調査研究班	西澤 正豊	新潟大学脳研究所神経内科	教授
2006 (平成18)				
2007 (平成19)				
2008 (平成20)	運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班	西澤 正豊	新潟大学脳研究所神経内科	教授
2009 (平成21)				
2010 (平成22)				
2011 (平成23)	運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班	佐々木秀直	北海道大学医学研究科神経内科	教授



運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究班名簿

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	佐々木秀直	北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野	教授
研究分担者	宇川義一	福島県立医科大学医学部神経内科学講座	教授
	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	教授
	小野寺 理	新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター	教授
	吉良潤一	九州大学大学院医学研究院神経内科	教授
	祖父江 元	名古屋大学大学院医学系研究科神経内科	教授
	高嶋 博	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科神経内科・老年病学	教授
	瀧山嘉久	山梨大学医学部神経内科学	教授
	武田 篤	東北大学大学院医学系研究科神経内科学分野	准教授
	田中真樹	北海道大学大学院医学研究科神経生理学分野	教授
	辻 省次	東京大学医学部附属病院神経内科	教授
	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	室長
	中島健二	鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野	教授
	中村和裕	群馬大学大学院医学系研究科神経生理学	准教授
	西澤正豊	新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野	教授
	貫名信行	独立行政法人理化学研究所構造神経病理研究チーム	チームリーダー
	水澤英洋	東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経病態学（神経内科学）分野	教授
	宮井一郎	社会医療法人大道会森之宮病院神経リハビリテーション研究部	大道会副理事長兼森之宮病院院長代理兼神経リハビリテーション研究部長
吉田邦広	信州大学医学部神経難病学講座	特任教授	
若林孝一	弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座	教授	
研究協力者	阿部康二	岡山大学大学院医歯学総合研究科脳神経内科学	教授
	内海 潤	(公財)がん研究会がん研究所次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム	部長
	加藤丈夫	山形大学医学部第3内科	教授
	金井数明	順天堂大学医学部附属順天堂医院脳神経内科	助教
	嶋崎晴雄	自治医科大学神経内科	講師
	中馬孝容	滋賀県立成人病センターリハビリテーションセンター医療部リハビリテーション科	部長
	森 満	札幌医科大学医学部公衆衛生学講座	教授
班 友	平井宏和	群馬大学大学院医学系研究科神経生理学	教授
	湯浅龍彦	鎌ヶ谷総合病院千葉神経難病医療センター難病脳内科	センター長
	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	部長
事務局	矢部一郎	北海道大学大学院医学研究科神経内科学 〒060-8638 北海道札幌市北区北15条西7丁目 TEL 011-706-6028 FAX 011-700-5356	准教授
		北海道大学医学系事務部会計課外部資金担当 TEL 011-706-5008 FAX 011-706-7873	
経理事務担当者	永井 潤	北海道大学医学系事務部会計課外部資金担当 TEL 011-706-5008 FAX 011-706-7873	

## 目 次

### I. 総括研究報告

- 運動失調症の病態解明と治療法開発に関する研究 ----- 1  
研究代表者：佐々木秀直（北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野）

### II. ワークショップ報告

- ワークショッププログラム ----- 11

#### 【MSA 再考（1）】

1. 臨床診断基準：第3回コンセンサス声明へ向けた日本発の提言を考える ----- 12  
渡辺宏久、祖父江 元（名古屋大学神経内科）
2. MSA 欧米と日本の違い ----- 15  
小澤鉄太郎（新潟大学脳研究所神経内科）

#### 【MSA 再考（2）】

1. 多系統萎縮症の神経病理 ----- 19  
若林孝一（弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学）
2. MSA 画像診断の課題と今後の可能性 ----- 22  
佐々木真理  
（岩手医科大学医歯薬総合研究所 超高磁場 MRI 診断・病態研究部門）
3. 多系統萎縮症における自然歴とリファンピシン内服療法 ----- 25  
石川欽也、水澤英洋（東京医科歯科大学大学院脳神経病態学（神経内科））

#### 【トピックス】

1. 新しい SCA/ALS crossroad mutation Asidan の臨床的特徴 ----- 31  
阿部康二、池田佳生（岡山大学脳神経内科）
2. ゲノム構造多型と神経変性疾患 ----- 33  
佐々木秀直（北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野）
3. 脊髄小脳変性症および遺伝性痙性対麻痺の病態解明に向けたシーケンス拠点の整備 ----- 36  
辻 省次（東京大学医学部附属病院 神経内科・ゲノム医学センター）

#### 【特別講演】

1. 神経変性疾患の創薬に向けてー知財戦略と薬事戦略の考え方ー ----- 38  
内海 潤  
（(公財) がん研究会 がん研究所 次世代研究シーズ戦略的育成プログラム）

### III. 分担研究報告

班会議プログラム	39
1. Machado-Joseph 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 (2012 年度報告)	49
中島健二 (鳥取大学脳神経内科)	
2. MSA-P の自然史	53
金井数明 (順天堂大学医学部 脳神経内科)	
3. 多系統萎縮症における症状評価スケールの比較 (中間報告)	58
佐々木秀直 (北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野)	
4. 脊髄小脳変性症に対する集中リハビリテーションによる運動機能改善と小脳萎縮との関連についての検討	63
宮井一郎 (社会医療法人大道会 森之宮病院)	
5. 脊髄小脳変性症に対するホームエクササイズ用パンフレットの検討	68
中馬孝容 (滋賀県立成人病センターリハビリテーション科)	
6. ボイスレコーダーを用いた失調症のリズム解析の試み	79
中島健二 (鳥取大学脳神経内科)	
7. 小脳機能の評価のための新しい心理物理検査法の開発	82
田中真樹 (北海道大学大学院医学研究科神経生理学分野)	
8. 等速反復運動の速度変動に着目した小脳性運動失調の新たな定量評価法	87
西澤正豊 (新潟大学脳研究所 神経内科)	
9. 脊髄小脳変性症の失調の背景にある視床ニューロン活動—生理学的機序に基づく失調治療への展望—	92
吉田邦広 (信州大学医学部神経難病学講座)	
10. 「純粋小脳型脊髄小脳変性症における外乱導入法の違いによるプリズム順応の変化」に関する研究	96
宇川義一 (福島県立医大神経内科)	

11.	運動機能障害を認めない多系統萎縮症の臨床病理学的検討 -----	100
	祖父江 元 (名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科)	
12.	Propagation 仮説の背景となる $\alpha$ -synuclein の細胞内取り込み機構の解析 -----	104
	武田 篤 (東北大学大学院医学系研究科神経内科学分野)	
13.	神経変性疾患における autophagic adapter protein (NBR1) の免疫組織化学的・生化学的 検討 -----	109
	若林孝一 (弘前大学医学研究科脳神経病理学講座)	
14.	神経変性疾患における家族性 ALS 関連蛋白の免疫組織化学的検討 -----	113
	若林孝一 (弘前大学医学研究科脳神経病理学講座)	
15.	Machado-Joseph 病における $^1\text{H}$ -MRS および $^{31}\text{P}$ -MRS 所見 -----	117
	佐々木秀直 (北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野)	
16.	脊髄小脳変性症における髄液サイトカインのサロゲートマーカーとしての意義 -----	122
	吉良潤一 (九州大学大学院医学研究院 神経内科学)	
17.	6 種の神経変性疾患患者脳脊髄液における共通の変動因子と個別の変動因子の探索的 プロテオーム解析 -----	127
	内海 潤 (北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野/がん研究会がん研究所)	
18.	MSA と ALS における患者試料由来の microRNA 解析—共通性と個別性— -----	131
	佐々木秀直 (北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野)	
19.	本邦の SCA19/22 症例の臨床遺伝学的検討. —海外の報告例との比較— -----	135
	辻 省次 (東京大学神経内科)	
20.	脊髄小脳失調症 31 型小脳病変の神経病理学的再検討 -----	139
	吉田邦広 (信州大学医学部神経難病学講座)	
21.	新しい SCA/ALS crossroad mutation Asidan の臨床的特徴と病態 -----	143
	阿部康二 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 脳神経内科学)	

22. Action Myoclonus-Renal Failure syndrome (AMRF)とライソゾーム異常：新規 SCARB2 遺伝子変異を認めた2剖検例の臨床・病理・遺伝学的解析 ----- 147  
小野寺 理 (新潟大学脳研究所 分子神経疾患資源解析学分野)
23. カロリー制限によりプロテオスターシスが改善し、ポリグルタミン病モデルの神経変性は抑制される ----- 151  
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)
24. 異常タンパク質蓄積をオートファジーによって制御するための標的探索 ----- 157  
貫名信行 (順天堂大学大学院医学研究科 神経変性疾患病態治療探索講座、理化学研究所製造神経病理研究チーム)
25. 遺伝性脊髄小脳変性症1型ノックインマウスにおける末梢神経障害 ----- 161  
中村和裕 (群馬大学大学院医学系研究科神経生理学分野)
26. 『ポリグルタミン病の核機能病態に基づく治療開発』に関する研究 ----- 165  
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)
27. SCA3 モデルマウスの電気生理学的解析と AAV9 経静脈投与による神経機能回復の検討 ----- 171  
中村和裕 (群馬大学大学院医学系研究科神経生理学分野)
28. Exome 解析による多系統萎縮症の疾患関連遺伝子の探索 ----- 175  
辻 省次 (東京大学医学部附属病院神経内科)
29. 南九州地域の脊髄小脳変性症－臨床的、遺伝学的検討－ ----- 179  
高嶋 博 (鹿児島大学大学院 神経内科・老年病学)
30. 原因未同定 SCA の遺伝子探索 ----- 185  
水澤英洋 (東京医科歯科大学大学院脳神経病態学 (神経内科))
31. エクソーム解析を用いた ATL1 の新規 de novo 変異の検出 ----- 191  
瀧山嘉久 (山梨大学医学工学総合研究部神経内科学講座)
32. 劣性遺伝性パーキンソニズム－瘧性対麻痺家系の新規原因遺伝子探索 ----- 196  
瀧山嘉久 (山梨大学医学工学総合研究部神経内科学講座)

33. 小脳失調, 末梢神経障害を伴った遺伝性対麻痺家系の遺伝子解析 -----	201
嶋崎晴雄 (自治医科大学内科学講座神経内科学分野)	
IV. 小脳研究会 -----	207
V. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----	209



# I . 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患等克服研究事業（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班  
総括研究報告書

研究代表者 佐々木秀直

北海道大学大学院医学研究科神経病態学講座神経内科学分野

#### A. 本研究班の目的

脊髄小脳変性症は、慢性進行性の運動失調もしくは痙縮を中核症状とする難治性疾患の一群である。当研究班の対象疾患は脊髄小脳変性症（SCD）及び多系統萎縮症（MSA）である。平成 23 年度の統計によると全国の特定疾患交付患者数は SCD が 25,047 人、MSA が 11,797 人であり、毎年微増している。未受給者のいることから、患者実数はこれより多いと推定される。本研究班の長年に亘る研究活動により原因の解明された遺伝性疾患も多いが、MSA を含めて SCD の根治的治療法に確立されているものはなく、原因や病態機序の不明な疾患も残されている。

本研究班は、現時点では根治的療法の無いこれら SCD・MSA について、原因と病態機序解明に関する研究を促進し、その延長として創薬標的分子の同定、創薬シーズの探索、そして鑑別診断もしくは臨床治験において有効性評価に貢献できる客観的指標の開発を目指している。さらに、慢性疾患である SCD・MSA においてリハビリテーションはもう一つの重要な治療手段である。リハビリテーションの有効性を科学的に検証し、特に在宅療養中の患者と医療関係者にも解り易い指導書の作成も計画している。

研究班でこれらの課題についてワーク

ショップを開催して分担研究者及び研究協力者で討議した。今年度の企画では、プログラムに示したように、課題の一つは MSA である。具体的には診断基準、神経病理、MRI の画像診断、及び進行中の臨床治験に関する最新の話題である。その他の課題としては、本研究班により世界で始めて報告された SCA36、MSA 発病素因としてのゲノム構造多型、次世代シーケンサーによる解析拠点について担当者より最新情報の報告があった。最後に、研究の推進と臨床治験を考慮して知財と薬事戦略について講演いただいた。さらに研究活動の活発化を期待して、関係者の協力により、小脳研究会を共催し臨床医と基礎系研究者の交流の機会とした。

#### B. 研究方法と方針

##### 1) 遺伝性 SCD の遺伝子診断と起変異探索

遺伝性 SCD の約 10%は起変異が未同定と推定されている。その一方で、起変異の解明された疾患が増え続けている。次世代シーケンサーやアレイ解析技術などにより、効率的な解析体制で、その機能を網羅的な遺伝子診断と原因不明の家系集積を進めることにより、起変異同定の研究を促進させる。

## 2) MSA の原因解析

MSA 素因遺伝子について次世代シーケンサーを用いたゲノム解析とゲノムインフォマティクスの導入を推進し、関連解析により素因遺伝子同定を推進する。それに加えて、ゲノム構造多型に特化したアレイ CGH 解析など新しい解析技術を用いて素因遺伝子探索を促進する。

## 3) 病態機序・創薬候補

MSA、ポリグルタミン病、SCA31 の発症機序、その他の遺伝性疾患につて、*in vitro* 系およびブレインバンクの剖検組織を用いて引き続き、発症機序の分子機構解明の研究を継続する。さらに、頻度の高いポリグルタミン病については、*in vitro* モデルによる治療候補化合物のスクリーニング系の推進など、創薬の可能性を多方面から検討する。

## 4) 調査研究

遺伝性痙性対麻痺 (FSP) と MSA の全国多施設共同研究 (JASPAC、JAMSAC) を継続する。自然歴調査については前班より継続する。

## 5) 重症度・治療評価系

治療の有効性評価には定量可能な手段が必要とされている。病態評価、重症度判定に役立つ生理学的検査法、画像検査、症候学的指標、生化学的指標など多角的に開発を継続する。

## 6) リハビリテーション

リハビリテーションは慢性疾患医療を支える基盤分野である。本研究班ではリ

ハビリテーション効果の科学的検証を行うと共に、在宅療養に役立つリハビリテーションプログラムとパンフレットを製作し、その有効性についても検証を行う。

## C. 研究成果

以下は、本年度における研究成果の概要である。

### 1) MSA の診断基準

現在、臨床研究で国際標準とされている診断基準においては、小脳性運動失調もしくはパーキンソン症候などの運動機能障害に加えて自律神経機能障害を同時に認めることにより初めて MSA と診断できる。しかし、病初期に自律神経障害のみを呈し、運動機能障害を認めない症例に対する認識が不十分である。確定診断された MSA 連続剖検例の臨床と病理所見を再検討したところ、運動機能障害に関与する部位での病理変化が極めて軽いが、自律神経障害に関与する部位では著明な病理学的異常所見を呈する例が認められた。MSA の中には運動機能障害を認めないため欧米の臨床診断基準を満たさない一群のあることを明らかにした (分担研究者 祖父江)。

### 2) MSA 素因遺伝子

MSA の発症機構の解明については、コンソーシアム JAMSAC を組織し、自然歴研究とゲノムリソース収集・蓄積を継続して推進している。次世代シーケンサーを用いた大規模ゲノム配列解析拠点が整備されたことから、これまでに MSA232 例とコントロール 326 例についてエクソーム解析を終了し、疾患発症に関連するゲノム

要因の探索を進めている(分担研究者 辻)。これとは別に、片方のみ MSA を発症した一卵性双生児について全国調査を行い、自験例を加えて、合計 3 組を集積した。これを中心に、素因遺伝子の探索を進めている(代表研究者 佐々木)。異なった研究手法を組み合わせる事により、素因遺伝子の同定が期待される。

### 3) 重症度評価スケール

小脳性運動失調の評価尺度である SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) は、鋭敏性に乏しく、評価者内・評価者間に誤差がある。そこで、小脳性運動失調における等速反復運動の速度変動を測定する定量的検査プログラムを開発し、この有用性を検証した。その結果、このプログラムによる速度の変動係数 (CV) は SARA と強い相関を示した。本方法は日内変動・日差変動、評価者内誤差、評価者間誤差は小さかった(分担研究者 西澤)。本検査方法は、従来の臨床重症度 SARA と非常に高い相関性を示すばかりでなく、簡便性、機動性、安定性、鋭敏性が高い点で優れている。評価者内・評価者間誤差も小さいことから、運動失調の定量評価法として有用性は高い。

MSA の臨床治験において最も有用な評価スケールを選択にすることを目的に、既存の 5 種類のスケール(UMSARS、SARA、BBS、MSA-QoL、SCOPA-AUT) 評価を、6 ヶ月間隔で 49 名について行った。その結果、評価点数の変化の大きさを表す指標である SRM は、UMSARS part4>BBS>SARA>UMSARS part2>UMSARS part3>MSA-QoL>UMSARS part1>SCOPA-AUT の順に大きか

った。これは層別解析でも同様であった(代表研究者 佐々木)。この結果は既存のスケールでは、UMSARS と BBS (Berg Balance Scale) が鋭敏な指標であることを示している。今後は症例数を増やすと共に、各スケールの項目毎に解析を行い、早期に進行度を反映する鋭敏な指標を見いだす作業が必要である。今後に必要なのは例えば 6 ヶ月間~1 年間の短い期間で症状の進行を評価できる指標の開発である。

### 3) 分子マーカー/サロゲートマーカー

MSA は孤発性 SCD の 7 割を占める単一疾患であるが、病初期の症状からは他の SCD と臨床的な区別が困難である。さらに、MSA は重症化しやすいので、両者を区別する代用マーカーの開発が急務である。MSA、SCD と診断された患者髄液中のサイトカインを解析したところ、MSA 群でインターロイキン(IL)-6、8、13 およびケモカイン IP-10 が SCD 群と比較し高値であった。本研究は SCD と MSA の簡便・確実な鑑別診断に貢献できる可能性があるため、症例数を増やして検証を進めている(分担研究者 吉良)。またこの結果は MSA の病態に何らかの炎症機序が関与している事を示唆している。

マイクロ RNA (miRNA) はゲノムの転写と翻訳を調節する機能を担っていることから、病態解明に重要な因子として注目を集めている。そこで、血漿、髄液、ホルマリン固定標本 (FFPE) より miRNA のプロファイリングを MSA と筋萎縮性側索硬化症 (ALS) で解析した。検出された miRNA プロフィールは FFPE、髄液、血漿の三試料

間で動態が異なっていた(代表研究者 佐々木)。これらの結果は、血漿は全身状態を反映することから、髄液と FFPE が病態を反映している可能性が高い。本研究で、従来には生化学的解析が困難とされてきた FFPE より miRNA 解析可能であることを示した事は、今後の神経変性疾患の病態解明に貢献する基盤技術として期待される。

MSA、アルツハイマー病、MCI、パーキンソン病、ALS、多発性硬化症、非神経疾患対象群について、高分子の過剰タンパク質を除去した髄液について LC/MS によるプロテオミクス解析を行い、疾患に共通因子と個別因子を検討した。検出された 158 種のタンパク質について検討したところ、炎症と神経組織リモデリングに関するイベントは共通し、神経網再構成に関するタンパク質は疾患個別であることが示された。これをもとにバイオマーカー候補の検討を進める(研究協力者内海)。

優性遺伝性 SCA の代表的疾患であるジョセフ病(MJD)を対象に、脳の  $^1\text{H}$ -および  $^{31}\text{P}$ -MRS を検討した。その結果、橋における  $^{31}\text{P}$ -MRS の V/Vmax および小脳における  $^1\text{H}$ -MRS の NAA/Cr が病状悪化に反比例して低下していることを見出した。特に後者は対照群との比較でも有意に低下していた。これらの結果は、MRS が MJD のバイオマーカー候補となり得ることを示唆している(代表研究者 佐々木)。

#### 4) 起因変異未同定疾患

自験例の SCA には遺伝子異常不明なものが約 20%残されている。この原因を発

見することは、根本的な治療法開発のために不可欠であり非常に重要である。本年度は、20~30 歳代と比較的若年に発症する緩徐に悪化する純粋小脳型の家系を集積し、マイクロアレイと次世代シーケンサーを用いて原因探索を進めた。その結果、有力な遺伝子変化を見出した。現在、類似家系を集積して同様な変異を探索している(分担研究者 水澤)。

SCA18/22 の病因遺伝子の同定を行った。これまでに、台湾、オランダから、1p21-q21 に連鎖する常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症の存在が知られていた。台湾との国際共同研究で、候補領域から見出された当該遺伝子である電位依存性カリウムチャネル KCND3 に起因変異(p. G345V, p. T377M)を有する日本人 2 家系を見出した。その臨床的特徴は、緩徐進行性の小脳性運動失調が主症状であった(分担研究者 辻)。

詳細な遺伝子診断を目的とした包括的な遺伝子診断システムの構築を進めた。既知の優性遺伝性 SCA の起因リピート伸長を確認できなかった「原因未同定」症例について、SCA5, 11, 13, 14, 15, 23, 27, 28, 35 の原因遺伝子を次世代シーケンス法により網羅的に解析し、低コストで迅速な診断システムを完成した。また、SCA31 においては従来の (TGGAA) $n$  伸張とは異なり、(TAAAA) $n$  及び (TAAAATAGAA) $n$  伸張によると推定される家系が報告された。SCA31 のリピート伸長の多様性に関する新知見である。また、最近原因が同定された SCA36 が当初報告された以外の地域でも確認されたことから、SCA36 は西日本に広く分布している可能性が示唆され

た(分担研究者 高嶋)。

遺伝性痙性対麻痺(HSP)は進行性の歩行障害を呈する疾患群であり、病態解明と根治療法の開発が急務である。本研究班では、平成17年度より全国多施設共同研究体制(Japan Spastic Paraplegia Research Consortium: JASPAC)を構築し、本年度も全国の患者に、継続して網羅的遺伝子解析サービスを提供している(平成25年1月の時点で、全国から485家系が登録)。HSPの新規当該遺伝子と起因変異について、①SPG3AにおいてATL1遺伝子の新規 *de novo* 変異の特定したこと(分担研究者 滝山); ②パーキンソニズムを伴う痙性対麻痺において新規原因遺伝子を同定した(分担研究者 滝山); ③Chediak-Higashi 症候群の当該遺伝子であるLYST遺伝子の新規変異に起因する痙性対麻痺例のあること(研究協力者 嶋崎)、などを明らかにした。

#### 5) 新規変異同定疾患の臨床病理学的検討

Asidan (SCA36)は昨年、当研究班によりNOP56遺伝子イントロン1におけるGGCCTGリピート異常延長に起因する疾患であることが世界で始めて明らかにされた優性遺伝性SCAである。SCA36は緩徐進行性の小脳失調症を主症状として、舌や四肢・体幹の筋萎縮や線維束性収縮などの運動ニューロン徴候を高率に合併することが特徴である。電気生理学的検査、画像所見、剖検例の神経病理所見なども併せて詳細な検討結果が報告された(研究協力者 阿部)。

Action myoclonus-renal failure syndrome (AMRF)は、思春期に発症する

進行性ミオクローヌスてんかん、小脳性運動失調、腎不全を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患であり、原因遺伝子としてSCARB2が同定されている。しかし、SCARB2変異の確認された剖検例の報告は極めて少なく、臨床・病理像の全貌は明らかでない。本研究ではSCARB2遺伝子に新規変異を認めた2剖検例の臨床と病理所見を検討した。その結果、AMRFでは認知症を呈し得ること、40歳代の中年発症もあり得ること、病理学的に細胞内褐色顆粒のみならず系統的神経変性も生じうることを明らかにした。さらに、SCARB2蛋白の減少、mRNAの減少、 $\beta$ -GC蛋白の減少と糖鎖修飾異常の存在を確認した。これらの成果は、全てヒト脳組織において初め確認されたものであり、本症の病態解明に寄与するものである(分担研究者 小野寺)。

日本に多いSCA31は小脳に限局した変性を呈する優性遺伝性SCAである。プルキニエ細胞周囲のcoat-like構造が特徴的である。2剖検例の検討により、この構造はプルキニエ細胞自体の樹状突起の増生(somatic sprouting)とシナプス終末、アストロサイトの突起の絡み合った構造部であることが示された(研究協力者 吉田)。

#### 6) 自然歴研究

SCDの自然史研究として2008年より開始したMJD/SCA3、SCA6の多施設共同研究は6年目を迎え5年間の追跡を行った。自然史の前向き研究はヨーロッパでは大規模に行われているが、本邦では同様の研究報告がなく、本研究班では厚労省特



定疾患調査個人票（個票）を活用して行なってきた。本研究により本邦の MJD/SCA3、SCA6 の自然史を把握し、海外の研究結果と比較することができた。また、個票の有用性、信頼性も評価することができ、個票内の評価結果は国際的な評価法と高い相関を示した（分担研究者 中島）。

MSA の病型は運動失調が前景となる MSA-C と、パーキンソン症状が前景となる MSA-P と二分類されている。本邦では MSA-C の頻度が高く、欧米では MSA-P が高い。MSA-P はパーキンソン病（PD）と鑑別を要するが、両者の早期鑑別は難しい。このため MSA-P の臨床像・自然史を明確にすることは重要である。そこで、本年度より本邦 MSA-P の臨床像の欧米との差異について検討を開始した（研究協力者 金井）。

#### 7) 分子病態機構の解明

オートファジーは、細胞にとって有害な分子や不必要となった小器官を膜で取り囲んだ後、リソソームと融合し膜内の物質を分解する細胞内分解システムである。本年度は、選択的オートファジーに関与している p62 と NBR1 に着目し、神経変性疾患の剖検脳を用いて検討した。病理組織学的に p62 と NBR1 は MSA 及びレビー小体病に出現する封入体に局在していた。MSA 凍結脳組織を用いた生化学的解析では、オートファジーで分解される NBR1 と p62 の量が正常対照例と比較し、それぞれ 2.5 倍、2.7 倍に増加していた。以上より、MSA では封入体形成にオートファジーが関与していること、さらにオートフ

ァジーの機能が障害されていることが示唆された。今後、オートファジーの機能を制御することが MSA の治療戦略となる可能性がある（分担研究者 若林）。

$\alpha$ シヌクレイン (SNCA) が脳内に蓄積し、細胞間を伝播して行くことが、MSA などシヌクレイノパチーの分子病態の中心と考えられつつある。本研究では脳内 SNCA 蓄積の程度を、画像化・定量を目指して分子イメージング技術を確立すること、また細胞間伝播メカニズムを解明することを目的としている。これまでの成果として、特異的プローブを用いた PET により、MSA 患者脳内の SNCA 蓄積の様子を世界で初めて画像化することに成功した。さらに SNCA の細胞外排出には Rab11 が関連した小胞輸送のシステムの関連、他方、細胞内取り込みにはダイナミンの関与、そしてセルトラリンの投与によるダイナミンの阻害により細胞内取り込みの阻害を明らかとした。これはシヌクレイノパチーの新規治療戦略の可能性を示唆するものとして注目を集めた（分担研究者 武田）。

遺伝性 ALS で同定された当該遺伝子産物（家族性 ALS 関連蛋白）について神経変性疾患での免疫組織学的検討結果が報告された。それによるとポリグルタミン病および MSA においては、これらの関連丹波区の幾つかは核内もしくは細胞質ない封入体に局在していた。このことは、これらの蛋白が本来果たすべき役割が損なわれている可能性を示唆するものであり、今後の病態機序解明の手がかりとなると考えられる（分担研究者 若林）。

#### 8) 遺伝性 SCA の病態機序、モデル動物、

## 治療法

SCA1 では末梢神経機能に異常あり、SCA1 ノックインマウスを用いて末梢神経機能を解析した。老齢 SCA1 型ノックインマウスの脊髄運動神経の数には大きな違いはなかったが、脊髄運動神経内部に神経変性時に見られるポリグルタミン鎖凝集体を認め、運動神経の神経線維は細くなっていた。また、神経線維を覆う髄鞘に脱落が認められた。髄鞘の脱落により影響は、電気生理学的に下肢筋肉収縮開始時間遅延および収縮持続時間延長として確認できた。更に行動解析ではマウスの立ち上がり回数と時間が減少していた。以上より、SCA1 の末梢神経障害に対する治療効果を検討するモデル動物として SCA1 ノックインマウスが有用であることを示した(分担研究者 中村)。

CRAG 遺伝子はユビキチンプロテアソーム系を賦活する作用がある。この遺伝子を導入したウイルス AAV9 を新生時期に MJD モデルマウスに静脈投与すると、小脳プルキニエ細胞の機能が回復することが示された。遺伝子治療の有効性を示唆する報告である(分担研究者 中村)。

SCA1 ならびにハンチントン病の病態関連分子を、トランスクリプトーム解析、プロテオーム解析、インタラクトーム解析などの網羅的手法を用いて検索してきた。この結果、SCA1 については HMGB1/2、ハンチントン病については Ku70, HMGB1 という病態関連分子を同定し、さらに未発表の数種の分子を同定した。これらの病態関連分子の機能失調に対して、1) トランスジェニックマウスの掛け合わせにより機能補充する、2) ウィルスベク

ターに組み込み機能補充する、3) 低分子を用いて疾患タンパクと病態関連分子の結合を阻害する、という3通りの手法で新規治療法を開発中である。SCA1 に関しては、HMGB1 を用いて1)と2)の両手法が従来の報告を上回る顕著な有効性を示すことを確認した。現在、この技術を進展させた臨床応用に向けて研究を進めている(分担研究者 岡澤)。

ショウジョウバエを用いたポリグルタミン病モデルを用いて、カロリー制限の効果を検討した。その結果、カロリー制限により運動障害、寿命短縮、複眼変性などが抑制された。この効果は insulin receptor substrate (IRS) 遺伝子の変異導入により消失したことから、カロリー制限の治療効果はインシュリンシグナルを介してプロテオスターシスを改善することを明らかにした(分担研究者 永井)。

運動失調症を含む神経変性疾患の多くに共通する病変はタンパク質凝集体の蓄積である。今までの研究で遺伝性 SCA の多くに認められるポリグルタミンを含むタンパク質凝集の除去により、病気の進展を抑えられる可能性のあることを報告してきた。本年度の研究ではユビキチンによってラベルされた異常タンパク質を除去する分解系である選択的オートファジーに着目し、これを制御する可能性を検討している。既に選択的オートファジーを制御するタンパク質 p62 に見出し、翻訳後修飾 p62S403 リン酸化についてその分解制御における意義を明らかにした。本研究課題ではこの S403 リン酸化 p62 特異モノクローン抗体を用いて様々な神経変性疾患の封入体染色を行いその病態意

義を検討している。さらに p62 のノックアウトマウスやオートファジーノックアウトマウスをポリグルタミン病モデルマウスと掛け合わせ、その病態への影響を検討している(分担研究者 貫名)。

#### 9) 失調症の神経生理学

小脳半球は霊長類でよく発達し、大脳連合野と強い連絡をもち、脳機能画像研究では運動を伴わない予測や注意といった高次機能に関与している。本研究では、小脳変性症と対照群に様々な心理物理検査を行い、小脳機能の新たな評価法の開発を目指している。また、類似の行動課題を訓練したサルを用いてその脳内メカニズムを調べている。現在までに Windows 上で走る 8 種類の検査を開発し、SCD では時間予測に基づいた行動制御に困難があることが示された。サルの小脳、視床、大脳などの神経活動を調べると共に、同部の不活化によって SCD と同様の障害を再現させることを試みている。より精度の高い検査方法を開発して、臨床所見や画像の変性程度と検査成績との相関を検討する(分担研究者 田中)。

小脳機能の一つは、外界に適応した運動のプログラムを作る機能があるが、臨床的にはこの機能がほとんど評価されていない。そこで、プリズム眼鏡により視覚に偏移与えた場合の運動の順応過程が、臨床現場でも簡単に用いられる小脳の順応機能の評価法として使用できるか検討した。本年度は、急に 20 度のプリズム眼鏡をかけた場合と、少しずつ度数を変えた場合で、順応過程が異なるかを検討した。健常者では、両方の場合で、プリズ

ム眼鏡をかけた当初は標的からずれた場所を指さしてしまうが、回数を重ねると眼鏡をかけた状態でも的に指を当てることができるようになる(プリズム順応)。その後、眼鏡を外すと逆に指を反対側にずれた場所を指す現象(after effect)がみられた。SCD ではこの順応がどちらでもおこらず、両方とも小脳順応機能を評価できることを示唆している(分担研究者 宇川)。

単音を繰り返す、手掌で足をたたく、足そこで床を踏み鳴らすなどの運動課題でリズム障害を検討したところ、運動速度の変動係数(CV)が SARA などの重症度と高い相関性を示したことから、重症度判定の新たな検査法として報告された(分担研究者 中島)。

#### 10) 治療の臨床応用

小脳失調症に著しい企図振戦を呈した例に視床 Vim 核を深部脳刺激(DBS)することにより、運動失調そのものは変わらないが振戦が消失することを明らかにした。結果として、患者の ADL は改善し、新たな治療法として注目を集めた(研究分担者 吉田)。

#### 11) リハビリテーション

前回、SCD に対する短期集中リハビリテーション(リハ)の効果が 6 カ月以上維持されることを示した。より有効なリハ介入を確立するためには、どのような神経機能解剖学的基盤がリハ効果に結びつか解明する必要がある。本年度はリハ前後の小脳性運動失調に対する臨床評価項目と 3 次元 MRI で得られた小脳萎縮の程

度との関連について検討した。予想に反して小脳萎縮はリハ前よりも直後の運動失調と相関が強いため、リハは廃用や非効率的代償など運動機能を阻害していた因子の影響を取り除くことで、変性程度に応じた本来の能力を引き出したと考えられた。一方、歩行速度は小脳虫部萎縮の強い方が改善したことから、リハ介入は体幹バランスに依存しない新たな歩行ストラテジー獲得に寄与したと推定された。よって廃用を防ぐ日常的なリハ介入や短期ブーストとしての集中リハ両方に患者がアクセスできる環境整備が機能維持に重要と考えられた(分担研究者 宮井)。

SCD および MSA 患者外来通院などによりリハビリテーションを十分に提供できている医療施設は少なくいので、患者自身が普段から訓練や体操を行い、廃用予防および日常生活動作の機能維持を図ることが重要である。そこで、歩行器歩行もしくは車椅子レベルの患者を対象に、安全に在宅で行えるホームエクササイズ用パンフレットを作成した。日常的に行うことを目的とし、座位でできるものを検討した。昨年度の検討により、患者自身が困っている症状は多岐に亘るが、それらは体幹筋の協調性や筋力向上を図る必要があるものが多かった。そこで、座位にて体幹筋協調性や筋力の向上を図るものを重点的に検討した。また、このパンフレットの効果について検討中である(研究協力者 中馬)。

## D&E. 考察

本年度の研究により MSA に関しては、欧米の診断基準をそのまま踏襲するには問題が多い事が指摘された。その一方で、現在用いられている我が国の診断基準は欧米の診断基準と異なるので、特定疾患申請資料が疫学データとして欧米には通用しない問題点が残る。そこで、本研究班では国際的整合性を考慮して、従来の臨床診断基準を改訂することになった。MSA 診断基準の改訂は、国際的に通用する疫学データの取得のみに留まらず、正確な臨床診断に基づいた生体試料の収集、並びに将来に可能となる事が期待される臨床治験の立案に必要な事である。診断基準案は次年度のワークショップで論議することを予定している。

また次世代シーケンサーの活用により、MSA 素因遺伝子の探索、遺伝子未同定疾患の遺伝子解析に威力を発揮している。特に全エクソーム解析によりミスセンス変異の同定が迅速にできるようになった。一見、孤発性である患者にも両親には認めない新規変異例のあり得る事が明らかになった。また、稀な変異については、疾患の発病に関与している変異であるのか否か、判断に苦慮する場合も稀でない。いずれも、結果を判断する上で今後、考慮すべき課題である。海外より報告されていた SCA18/22 が我が国にも存在する事が明らかにされた。SCA31, SCA36 ならびに痙性対麻痺については、我が国より新規当該遺伝子と変異が同定され、臨床と病理所見についても明らかにされていることは、特筆すべき成果である。SCA36 伸張モチーフの多様性は、挿入配列の由来が

均一ではない事を示唆している。

ところで、感度に優れた重症度の定量的評価法の開発は、今後の臨床治験に重要である。バイオマーカー開発については複数の試みがなされているが、単一の分子/蛋白には指標として確立したものはない。開発は今後の課題であり、継続して取り組む必要がある。その一方で、神経生理学にもとらづいて、様々に定量的評価法が開発されてきているし。その輪郭が見え始めたものが多いので、検証の後には、臨床的に実用化できるものが登場するものと期待される。

疾患の病態機序の面では、in vitor 系のモデルで治療効果を期待させる探索的研究の成果が幾つか報告されている点に注目される。今後、これらの成果が、創薬標的分子の同定と繋がることを期待したい。これら新規治療法開発と平行して、リハビリテーションを含めて在宅療養患者とそれに関わる医療者を対象にパンフレットを作製できた。この有効性を検証しながら、より良いものへと改訂して、診療に貢献するものを作成することも当研究班の目的の一つである。

以上、2年間の研究活動の概要として、課題に応じて、当初の目的に沿って成果を挙げたもの、見通しが見えつつあるもの、基盤技術の開発に取り組んでいるものなど、幾つかの段階があるが、着実に進展している様子が見える。

#### F. 健康危険情報

特記すべき事無し。

#### G. 研究成果発表

各分担研究者の報告書参照。

論文は巻末にまとめて記載。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

各分担研究者報告書参照。

## Ⅱ. ワークショップ報告