

201231031A

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)

## 神経変性疾患に関する調査研究

平成 24(2012)年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 中 野 今 治

平成 25(2013)年 3 月

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)

## 神経変性疾患に関する調査研究

2012 年度 総括・分担研究報告書

ANNUAL REPORT 2012 OF THE RESEARCH COMMITTEE  
ON THE NEURODEGENERATIVE DISEASES  
OF  
THE MINISTRY OF HEALTH, LABOUR AND WELFARE, JAPAN

研究代表者 中野 今治

自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門

Chairman: IMAHARU NAKANO, M.D.

Division of Neurology, Department of Medicine,  
Jichi Medical University School of Medicine

平成 25(2013)年 3 月

March 2013

# 神経変性疾患に関する調査研究班 変遷一覧

西暦	(邦暦)	班名	研究代表者(所属)
1972年度	(昭和47年度)		
1973年度	(昭和48年度)	筋萎縮性側索硬化症	樺 忠雄(新潟大・脳神経内科教授)
1974年度	(昭和49年度)		
1975年度	(昭和50年度)		
1976年度	(昭和51年度)	運動ニューロン疾患	樺 忠雄(新潟大・脳神経内科教授)
1977年度	(昭和52年度)		
1978年度	(昭和53年度)		
1979年度	(昭和54年度)	変性性神経疾患	豊倉康夫(東京大学臨床部門教授)
1980年度	(昭和55年度)		
1981年度	(昭和56年度)		
1982年度	(昭和57年度)	神経変性疾患	中西孝雄(筑波大学神経内科教授)
1983年度	(昭和58年度)		
1984年度	(昭和59年度)		
1985年度	(昭和60年度)	神経変性疾患	中西孝雄(筑波大学神経内科教授)
1986年度	(昭和61年度)		
1987年度	(昭和62年度)		
1988年度	(昭和63年度)	神経変性疾患	萬年 徹(東京大学神経内科教授)
1989年度	(平成元年度)		
1990年度	(平成2年度)		
1991年度	(平成3年度)	神経変性疾患	萬年 徹(東京大学神経内科教授)
1992年度	(平成4年度)		
1993年度	(平成5年度)	神経変性疾患	柳澤信夫(信州大学大三内科教授)
1994年度	(平成6年度)		
1995年度	(平成7年度)		
1996年度	(平成8年度)	神経変性疾患	田代邦雄(北海道大学神経内科教授)
1997年度	(平成9年度)		
1998年度	(平成10年度)		
1999年度	(平成11年度)	神経変性疾患	田代邦雄(北海道大学神経内科教授)
2000年度	(平成12年度)		
2001年度	(平成13年度)		
2002年度	(平成14年度)	神経変性疾患	葛原茂樹(三重大学神経内科教授)
2003年度	(平成15年度)		
2004年度	(平成16年度)		
2005年度	(平成17年度)	神経変性疾患	葛原茂樹(三重大学神経内科教授)
2006年度	(平成18年度)		
2007年度	(平成19年度)		
2008年度	(平成20年度)	神経変性疾患	中野今治(自治医科大学神経内科教授)
2009年度	(平成21年度)		
2010年度	(平成22年度)		
2011年度	(平成23年度)	神経変性疾患	中野今治(自治医科大学神経内科教授)
2012年度	(平成24年度)		<div style="display: flex; justify-content: space-between; font-size: small;"> <span>【分科班:筋萎縮側索硬化症 分科班代表者 祖父江 元(名古屋大学神経内科教授)】</span> <span>【分科班:筋萎縮側索硬化症 分科班代表者 青木正志(名古屋大学神経内科教授)】</span> </div>

平成24年度 神経変性疾患に関する調査研究班 班員名簿

(平成24年12月現在)

区分	氏名	所属等	職名
研究代表者	中野 今治	自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	教授
研究分担者	祖父 江元	名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科学	教授
	戸田 達史	神戸大学大学院医学研究科 神経内科学	教授
	中島 健二	鳥取大学医学部医学科脳神経医学講座 脳神経内科学分野	教授
	長谷川 一子	独立行政法人国立病院機構 相模原病院 神経内科	神経内科医長
	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	教授
	饒場 郁子	独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院 神経内科	第1神経内科医長
	青木 正志	東北大学大学院医学系研究科 神経内科学	教授
	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	教授
	漆谷 真	滋賀医科大学 分子神経科学研究センター	准教授
	岡本 幸市	群馬大学大学院医学系研究科 脳神経内科学	教授
	小野 寺理	新潟大学脳研究所 分子神経疾患資源解析	教授
	郭 伸	東京大学大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター臨床医工学部門	客員研究員
	梶 龍兒	徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床神経科学分野	教授
	柏原 健一	財団法人操風会 岡山旭東病院 神経内科	神経内科部長
	川上 秀史	広島大学原爆放射線医科学研究所・分子疫学研究分野	教授
	吉良 潤一	九州大学大学院医学研究院 神経内科学分野	教授
	桑原 聡	千葉大学大学院医学研究院 神経内科学	教授
	小久保 康昌	三重大学大学院医学系研究科 神経病態内科学講座	講師
	斎藤 加代子	東京女子医科大学附属遺伝子医療センター	所長・教授
	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 神経内科学	教授
	佐野 輝	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 社会・行動医学講座 精神機能病学	教授
	園生 雅弘	帝京大学医学部 神経内科	教授
	高橋 均	新潟大学脳研究所病態神経科学部門 病理学分野	教授
	高橋 良輔	京都大学大学院医学研究科 臨床神経学(神経内科)	教授
	辻 省次	東京大学医学部附属病院 神経内科学	教授
	土井 由利子	国立保健医療科学院 疫学調査研究分野	統括研究官
	徳田 隆彦	京都府立医科大学分子脳病態解析学(神経内科)	准教授
	野元 正弘	愛媛大学大学院医学系研究科 病態治療内科学	教授
	長谷川 成人	公益財団法人東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能分野	参事研究員
	服部 信孝	順天堂大学医学部 神経学講座	教授
藤本 健一	自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	准教授	
船越 洋	旭川医科大学 教育研究推進センター	センター長・教授	
三輪 英人	順天堂大学医学部附属練馬病院・脳神経内科	准教授	
村田 美徳	独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科診療部	副院長・部長	
村山 繁雄	地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所 老年病理学研究チーム・神経病理学(高齢者ブレインバンク)	研究部長	
望月 秀樹	大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学	教授	
山中 宏二	独立行政法人理化学研究所 運動ニューロン変性研究チーム	チームリーダー	
吉田 眞理	愛知医科大学加齢医科学研究所 神経病理部門	教授	

研究協力者	岡野 栄之	慶應義塾大学医学部 生理学教室	教授
	加藤 信介	鳥取大学医学部医学科脳神経病理学講座 脳病態医科学分野	准教授
	加藤 丈夫	山形大学医学部 第三内科	教授
	葛原 茂樹	鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療福祉学科	教授
	清水 俊夫	東京都立神経病院 脳神経内科	脳神経内科医長
	瀧山 嘉久	山梨大学医学部 神経内科学講座	教授
	田中 啓二	東京都医学総合研究所 蛋白質代謝研究室	所長
	村松 慎一	自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	教授
事務局	森田 光哉	自治医科大学内科学講座 神経内科学部門 〒329-0498 栃木県下野市薬師寺3311-1 TEL : 0285-58-7352 FAX : 0285-44-5118 E-mail: neuropro@jichi.ac.jp	講師
経理事務担当者	砂岡 京子	自治医科大学 総務部 経理課 TEL :0285-58-7022 FAX :0285-40-8014 e-mail keiri3@jichi.ac.jp	

# 目 次

神経変性疾患に関する調査研究班 変遷一覧	i
班構成員名簿	ii
<b>I. 神経変性疾患に関する研究班ワークショップ</b>	
平成 24 年 7 月 20 日 於：東京，都市センターホテル	
・プログラム	1
・ワークショップ報告集	
1. 細胞間の異常蛋白 propagation と蛋白癌仮説	3
長谷川成人 公益財団法人東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能分野	
2. $\alpha$ -synuclein の細胞間 propagation の機序	7
長谷川隆文 東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野	
3. ALS の臨床的進展様式	10
木村 文治 大阪医科大学内科学講座（I）神経内科	
4. ALS における multifocal hit and local propagation 仮説	13
横田 隆徳 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	
5. <i>C9ORF72</i> ：わが国の孤発性 ALS での状況と臨床的特徴- JaCALS における解析から	16
富山 弘幸 順天堂大学 脳神経内科/神経変性疾患病態治療探索講座	
6. <i>C9orf72</i> 遺伝子異常を有し phenotype が異なった ALS/FTD の同胞例	19
内藤 寛 伊勢赤十字病院 神経内科、三重大学 神経内科	
7. 本邦における <i>C9ORF72</i> 変異の創始者効果と紀伊半島における集積について	22
石浦 浩之 東京大学医学部附属病院 神経内科学	
8. <i>C9ORF72</i> 変異を有する ALS の 1 剖検例	25
高橋 均 新潟大学脳研究所病態神経科学部門 病理学分野	
9. 本邦の c9FTD/ALS のまとめと展望	
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	28

10. ALS 遺伝子治療の展望-経血管的 ADAR2 遺伝子の導入-	32
郭 伸 東京大学大学院医学系研究科疾患生命工学センター臨床医工学部門	
11. DLB に対するドネペジルのランダム化対照試験	35
森 悦朗 東北大学大学院医学系研究科 高次機能障害学	
12. パーキンソン病の細胞移植治療 細胞移植の歴史 ブリーフレビュー	39
藤本 健一 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
13. iPS 細胞移植による治療の展望	41
森実 飛鳥 京都大学再生医科学研究所 生体修復応用分野、 京都大学 iPS 細胞研究所 CiRA 増殖分化機構研究部門	

## II. 研究報告

班会議 平成 24 年 12 月 16 日～17 日 於：東京，都市センターホテル

・班会議 プログラム	45
・総括研究報告	47
中野 今治 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
・研究報告集	
1. $\alpha$ -synuclein 3' -flankig SNP の孤発性パーキンソン病感受性への機序に関する研究	56
戸田 達史 神戸大学大学院医学研究科 神経内科学	
2. $\alpha$ -synuclein の凝集機構の解析	59
望月 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学	
3. p62/SQSTM1 依存的な $\alpha$ -シヌクレイン封入体のオートファジークリアランス	62
徳田 隆彦 京都府立医科大学分子脳病態解析学 (神経内科)	
4. パーキンと ChPF ファミリーの機能連関	66
梶 龍兒 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床神経科学分野	
5. 日本人パーキンソン病患者における VPS35 変異の頻度と臨床的特徴	69
服部 信孝 順天堂大学医学部 脳神経内科	
6. パーキンソン病のモデルマウスに対する $\gamma$ グロブリン大量腹腔内投与の効果	73
三輪 英人 順天堂大学医学部附属練馬病院 神経内科	

7. ショウジョウバエにおいてNitric oxide シグナルはFoxO を介してドーパミン神経細胞の生存性に影響する -----	77
服部 信孝 順天堂大学医学部 神経学講座	
8. Park8 患者脳脊髄液におけるビオプテリン代謝- その2 -----	81
長谷川一子 独立行政法人国立病院機構 相模原病院 神経内科	
9. パーキンソン病における血中 Neuregulin-1 SMDF の検討 -----	84
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 神経内科学	
10. レビー小体型認知症の血清バイオマーカーの検討 -----	86
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	
11. パーキンソン病患者の姿勢について；一般住民との対比から -----	89
藤本 健一 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
12. STN-DBS 後に生じた構音障害の病態と治療への展開 -----	93
祖父江 元 名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科学	
13. 遅延聴覚フィードバック法を使った神経変性疾患の構音障害治療 -----	96
村田 美穂 独立行政法人国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科診療部	
14. パーキンソン病の早期診断における胃電図の有用性：MIBG 心筋シンチグラフィ・嗅覚試験との比較 -----	100
桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院 神経内科学	
15. 発汗異常のあるパーキンソン病患者における皮膚交感神経活動と効果器反応性について -----	104
中野 今治 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
瀧山 嘉久 (研究協力者) 山梨大学医学部 神経内科学講座	
16. パーキンソン病患者の幻覚、妄想に対するアリピプラゾールの効果 -----	107
柏原 健一 財団法人操風会 岡山旭東病院 神経内科	
17. パーキンソン病遺伝子治療における AADC 遺伝子の長期発現 -----	110
中野 今治 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
村松 慎一 (研究協力者) 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	



18. 日常診療時の Levodopa、アゴニストの血中動態の検討 一併用薬、剤型、食事についての検討	113
野元 正弘 愛媛大学大学院医学系研究科 病態治療内科学	
19. 尿酸と神経保護作用—イノシンを用いた実験的研究	116
野元 正弘 愛媛大学大学院医学系研究科 病態治療内科学	
20. Lewy 小体病における生命予後と機能予後	118
饗場 郁子 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院 神経内科	
21. 既往外科材料を用いたレビー小体病診断に関する臨床病理学的検討	122
村山 繁雄 地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター研究所老年病理学 研究チーム・神経病理学（高齢者ブレインバンク）	
22. PSP-PNLA：自験 3 例の臨床病理学的および生化学的検討	126
高橋 均 新潟大学脳研究所病態神経科学部門 病理学分野	
23. 進行性核上性麻痺および大脳皮質基底核変性症剖検例における臨床像の検討	130
饗場 郁子 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院 神経内科	
24. CBD 35 例における側頭葉病変の病理学的検討：側頭葉における嗜銀製顆粒	134
吉田 眞理 愛知医科大学加齢医科学研究所 神経病理部門	
25. <i>DNAJB6</i> 遺伝子変異による肢帯型筋ジストロフィー (LGMD1D) に伴った前頭側頭型認知症の 病理学的検討	137
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 神経内科学	
26. ハンチントン病の自然史-自験例から	140
長谷川一子 独立行政法人国立病院機構相模原病院 神経内科	
27. 有棘赤血球舞踏病における神経変性の分子機構	144
佐野 輝 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科社会・行動医学講座精神機能病学	
28. 筋萎縮性側索硬化症と前頭側頭葉変性症における脊髄病変の連続性	147
祖父江 元 名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科学	
29. FUS 関連 ALS 症例における FUS, TDP-43, ADAR2 病理の免疫組織化学的検討	149
郭 伸 東京大学大学院医学系研究科 附属疾患生命工学センター 臨床医工学部門	

30. hypothenar MUNE への遠隔電場電位の混入：SBMA での検討 -----	152
園生 雅弘 帝京大学医学部 神経内科	
31. hypothenar MUNE の表面 MUP の起源 -----	156
園生 雅弘 帝京大学医学部 神経内科	
32. 筋萎縮性側索硬化症における fasciculation potential ; その出現様式および生命予後との関連 -----	159
中野 今治 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
清水 俊夫 (研究協力者) 東京都立神経病院 脳神経内科	
33. ALS における酸化ストレスセンサーの機能不全 -----	163
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	
34. 新しい ALS/SCA crossroad mutation Asidan の新しい嚙下評価 -----	166
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	
35. 成人発症の脊髄性筋萎縮症における SMN 遺伝子 copy 数の解析 -----	169
斎藤加代子 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター	
36. 東北大学における家族性 ALS 遺伝子解析について -----	173
青木 正志 東北大学大学院医学系研究科 神経内科学	
37. 近位筋優位運動感覚ニューロパチー (HMSN-P) の原因遺伝子同定 -----	176
辻 省次 東京大学医学部附属病院 神経内科学	
38. HMSN-P 原因遺伝子である TFG の培養細胞を用いた機能解析 -----	178
梶 龍兒 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床神経科学分野	
39. FOSMN 症候群の 3 症例および TDP43 を伴う病理所見 -----	182
吉良 潤一 九州大学大学院医学研究院 神経内科学分野	
40. 原発性側索硬化症：2 剖検例の神経病理と生化学的所見について -----	186
高橋 均 新潟大学脳研究所病態神経科学部門 病理学分野	
41. ALS における BTBD10 蛋白発現についての病理学的検討 -----	190
岡本 幸市 群馬大学大学院医学系研究科 脳神経内科学	

42. パーキンソン病が先行した筋萎縮性側索硬化症の3例 -----	193
梶 龍兒 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 臨床神経科学分野	
43. 紀伊半島 ALS-parkinsonism-dementia 家系症例の臨床と病理像の対比 -----	195
中野 今治 自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
葛原 茂樹 (研究協力者) 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 医療福祉学科	
44. 筋萎縮性側索硬化症における髄液 microRNA プロファイリング解析 -----	200
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	
45. ALS における GEM 小体の異常: SMN との関連 -----	204
小野寺 理 新潟大学脳研究所 分子神経疾患資源解析	
46. ALS および mSOD1 (G93A)-Tg マウスの前角細胞における hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ の 細胞質核輸送障害 -----	207
吉良 潤一 九州大学大学院医学研究院 神経内科学分野	
47. ALS-FUS モデルショウジョウバエの解析 -----	210
徳田 隆彦 京都府立医科大学大学院医学研究科 分子脳病態解析学 (神経内科)	
48. 軸索イオンチャネル機能からみた ALS の病態: チャネル調整剤の臨床試験に向けて -----	215
桑原 聡 千葉大学大学院医学研究院 神経内科学	
49. 紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合におけるエダラボンを用いた臨床研究 -----	218
小久保康昌 三重大学大学院医学系研究科 神経病態内科学講座	
50. 転写を標的とした家族性筋萎縮性側索硬化症新規治療法の開発 -----	222
高橋 良輔 京都大学大学院医学研究科 臨床神経学 (神経内科)	
51. 骨髄間葉系幹細胞と人工染色体による複数神経栄養因子の中枢神経デリバリー -----	226
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	
52. 臨床調査個人票を用いた筋萎縮性側索硬化症に関する記述疫学研究 -----	230
土井由利子 国立保健医療科学院疫学調査研究分野	

53. 進行期筋萎縮性側索硬化症における意思伝達障害の予測因子に関する検討-----	234
中野 今治    自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	
清水 俊夫    (研究協力者) 東京都立神経病院 脳神経内科	

54. ZNF512B 遺伝子は ALS の予後規定因子である -----	237
中野 今治    自治医科大学内科学講座 神経内科学部門	

55. ALS における馬尾神経造影 MRI についての検討-----	241
戸田 達史    神戸大学大学院医学研究科 神経内科学	

III. 研究成果に関する一覧表 -----	245
------------------------	-----

I. 神経変性疾患に関する調査  
研究班ワークショップ

# 神経変性疾患に関する調査研究班 平成24年度ワークショップ プログラム

**日程** 平成24年7月20日（金） 10：00～16：45

**会場** 都市センターホテル 5F オリオン

10：00～10：05

開会挨拶

研究代表者 中野 今治

（敬称略）

10：05～10：10

厚生労働省御挨拶

厚生労働省健康局疾病対策課

## セッションⅠ：Propagation仮説最前線—分子から細胞、細胞から個体へ—

座長：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）

座長：戸田 達史（神戸大学大学院医学研究科 神経内科学）

10：10～10：40

### 1. 分子間propagationの機序とタンパク癌仮説

演者：長谷川成人（公益財団法人 東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能分野）

10：40～11：10

### 2. $\alpha$ -synucleinの細胞間propagationの機序

演者：長谷川隆文（東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野）

11：10～11：40

### 3. ALSの臨床的進展様式

演者：木村 文治（大阪医科大学附属病院 神経内科）

11：40～12：10

### 4. ALSにおけるmultifocal hit and local propagation仮説

演者：横田 隆徳（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）

12：10～12：30

### 総合討論

12：30～13：30

## 昼食、事務連絡

## セッションⅡ：ALSの遺伝子変異最前線

座長：辻 省次（東京大学医学部附属病院 神経内科学）

13：30～13：45

### 1. C9ORF72：わが国の孤発性ALSでの状況と臨床的特徴 — JaCALSにおける解析から —

演者：富山 弘幸（順天堂大学 脳神経内科/神経変性疾患病態治療探索講座脳神経内科）

13：45～14：00

### 2. C9ORF72遺伝子異常を有しphenotypeが異なったALS/FTDの同胞例

演者：内藤 寛（伊勢赤十字病院 神経内科、三重大学 神経内科）

14：00～14：15

### 3. 本邦におけるC9ORF72変異とその創始者効果と紀伊半島における集積について

演者：石浦 浩之（東京大学医学部附属病院 神経内科学）

14：15～14：25

### 4. C9ORF72変異を有するALSの1剖検例

演者：高橋 均（新潟大学脳研究所病態神経科学部門 病理学分野）

14：25～14：40

### 5. 本邦のC9ORF72のまとめと今後の研究への展望

演者：小野寺 理（新潟大学脳研究所 分子神経疾患資源解析）

14：40～15：00

## coffee break

## セッションⅢ：治療最前線

座長：祖父江 元（名古屋大学大学院医学系研究科 神経内科学）

15：00～15：30

### 1. ALS遺伝子治療の展望：経血管的ADAR2遺伝子導入による治療

演者：郭 伸（東京大学大学院医学系研究科疾患生命科学センター 臨床医工学部門）

15：30～16：00

### 2. DLBIに対するドネペジルのランダム化対照試験

演者：森 悦朗（東北大学大学院医学系研究科 高次機能障害学）

座長：望月 秀樹（大阪大学大学院医学系研究科 神経内科学）

16：00～16：10

### 3. パーキンソン病の細胞移植治療

#### 1) 細胞移植の歴史：ブリープレビュー

演者：藤本 健一（自治医科大学内科学講座 神経内科学）

16：10～16：40

#### 2) iPS細胞移植による治療の展望

演者：森実 飛鳥（京都大学再生医科学研究所 生体修復応用分野、京都大学iPS細胞研究所CiRA増殖分化機構研究部門）

16：40～16：45

閉会挨拶

研究代表者 中野 今治

## 細胞間の異常蛋白 propagation と蛋白癌仮説

長谷川成人<sup>1)</sup>

1) 東京都医学総合研究所 認知症・高次脳機能分野

### 研究要旨

神経変性疾患はその症状、病態が時間経過に伴って徐々に悪化する「進行性」であるが、その意味やメカニズムについては議論されてこなかった。変性疾患の多くは細胞内異常蛋白病変を伴う。細胞内異常分子がプリオン様の性質から細胞間を伝播することにより、シナプスなどを介して病変が広がると考えると変性疾患の「進行性」や「部位特異性」が説明しやすい。この「蛋白癌」「プリオン様異常蛋白質伝播」の新しい考え方を紹介し、それを支持する証拠を提示して仮説の検証を試みる。

### A. 研究目的

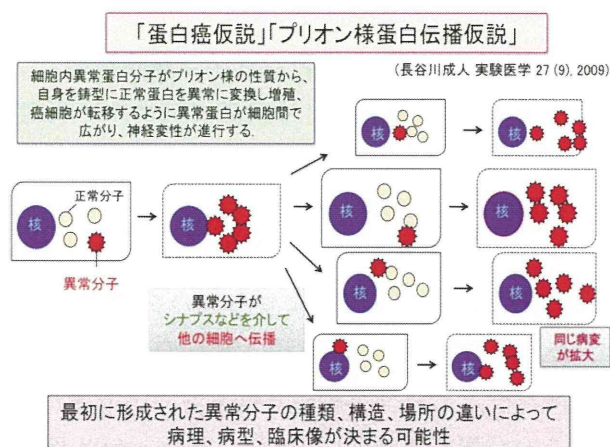
神経変性疾患は特定の神経細胞群が変性、脱落する疾患であるが、その症状、病態が時間経過に伴って徐々に悪化する「進行性」であることが重要な特徴である。しかしながら、この「進行性」の意味やメカニズムについてはこれまでほとんど議論されてこなかった。治療を考える場合、病気の進行原因の解明とその制御が重要となる。私は細胞内に生じた異常蛋白質が、異常プリオンと同様の構造、性質から自身を鋳型に正常蛋白を異常蛋白に変換、増殖し、癌が転移するかのようになり、他の細胞に広がることで、系統的、回路選択的な神経変性が進行するという「蛋白癌」「プリオン様蛋白伝播」仮説 (図 1)<sup>1,2)</sup>を提唱し、その検証を行う。

### B. 研究方法

主要な神経変性疾患の細胞内異常蛋白質であるタウ、 $\alpha$ シヌクレイン( $\alpha$ Syn)、TDP-43 を中心に、神経病理学的解析や理論的背景を説明した後、試験管モデル、細胞モデル、さらには動物モデルの解析を用いた検証を提示する。異常蛋白質分子が

正常分子を異常に変換する実験例を示し、細胞からの放出、細胞への取り込みなど、細胞間の異常蛋白分子の移動のメカニズムと、その制御の治療における重要性について考察する。

図 1. 「蛋白癌」仮説の模式図



(倫理面への配慮)

剖検脳の生化学解析は、東京都医学総合研究所の倫理委員会に研究の申請を提出して承認をうけ、実験指針に従って行った。ヒトタウ、 $\alpha$ Syn、TDP-43 の cDNA の組換え実験は、東京都医学総合研究所の遺伝子組換え生物等安全管理・病原体等安全管理委員会に実験計画書を提出し承認を受けると共に、実験指針に従って行った。

## C. 研究結果

### 1. 神経病理学的解析から

Braak ら<sup>3)</sup>や Saito ら<sup>4)</sup>の多数例の患者剖検脳の神経病理解析から、リン酸化タウ病変やリン酸化  $\alpha$ Syn 病変の進展様式が示されている。アルツハイマー病におけるタウの蓄積は、海馬傍回からはじまり、徐々に辺縁系に広がり、さらに皮質連合に広がることが示されている。またパーキンソン病 (PD) やレビー小体型認知症におけるリン酸化  $\alpha$ Syn は、延髄、嗅球・扁桃核などから蓄積病変が始まり、中脳、大脳新皮質に広がる進展様式が示されている。

### 2. 移植実験の解析から

2008 年、PD 患者に移植された組織にレビー小体様の  $\alpha$ Syn の異常蓄積が認められたことが Nat Med に報告された<sup>5,6)</sup>。正常組織がレビー小体をつくりやすい環境に長期間置かれたために形成されたと考える考え方もあるが、実際の患者脳において、異常  $\alpha$ Syn が正常組織へ伝播したことを強く示唆する所見である。

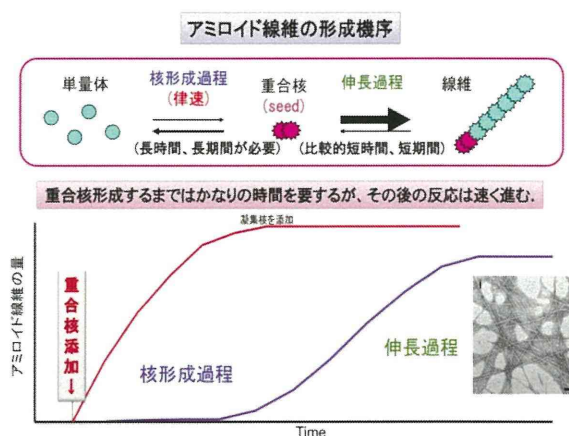
### 3. 重合核(シード)依存性アミロイド線維形成

タウや  $\alpha$ Syn の蓄積は、無構造、無秩序に細胞内に溜まるのではなく、規則正しい線維構造をとって蓄積することが知られている。アルツハイマー病のタウは PHF という 10-20nm の特徴的な線維<sup>7)</sup>、PD の  $\alpha$ Syn は PHF よりも細い 5-10nm の線維<sup>8)</sup>として蓄積する。さらにこれらの線維は異常プリオンやアミロイド線維と同じクロス  $\beta$  構造をとることが報告されている<sup>9,10)</sup>。また、ALS 患者の脊髄に蓄積する TDP-43 も線維構造をとることが免疫電顕で観察されている<sup>11)</sup>。

アミロイド線維の形成機序は、最初に正常蛋白質が変化して重合核(シード)が形成され、その重合核に正常分子が結合し、構造変化がおこることによって重合が進行する核依存性線維形成の機序が提唱されている(図 2)。最初に重合核が形成されるまで長時間かかり、この核形成過程が律速

段階とされる。一旦重合核が形成されると伸長反応は比較的速く進行する。重合核を添加すると律速段階の核形成過程がスキップされるため、短期間でアミロイド線維が形成される。

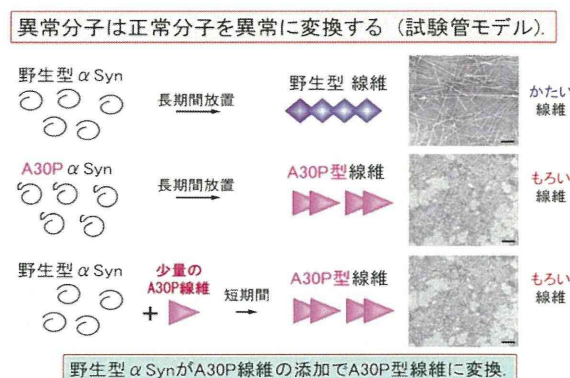
図 2. アミロイド線維の形成機序の模式図



### 4. 試験管モデルによる検証

精製リコンビナントタウ、あるいは  $\alpha$ Syn の線維化が、このシード依存性であることが示されている<sup>12,13)</sup>。野生型  $\alpha$ Syn、家族性 PD 変異を導入した A30P 変異  $\alpha$ Syn のいずれもがアミロイド線維を形成するが、形成された線維の性質が少し異なる。A30P  $\alpha$ Syn は野生型  $\alpha$ Syn に比べ、物理的な力に対して弱い、断片化しやすい線維を形成する<sup>13)</sup>。興味深いことに、野生型  $\alpha$ Syn に A30P  $\alpha$ Syn 線維を少量添加すると野生型  $\alpha$ Syn から A30P  $\alpha$ Syn 線維と同じ性質の断片化しやすい線維が形成される(図 4)<sup>13)</sup>。このことは A30P  $\alpha$ Syn 線維が野生型  $\alpha$ Syn を自身と同じ A30P 型  $\alpha$ Syn 線維に変換したことを示唆する。

図 3.  $\alpha$ Syn の重合核依存性線維形成



Yonetani et al, J Biol Chem, 2009.



## 5. 細胞モデルを用いての検証

シード依存性蛋白凝集過程は、細胞モデルにおいても実証されている。培養細胞にヒト  $\alpha$ Syn の cDNA を導入して過剰発現させても、レビー小体様の凝集体は形成されない。しかし、ここに試験管の中で重合した  $\alpha$ Syn 線維を遺伝子導入補助試薬と共に細胞にふりかけると、線維は細胞内に導入され、リン酸化、ユビキチン化された  $\alpha$ Syn の凝集体が多数形成される<sup>14)</sup>。このことは条件が整えばアミロイド様線維が細胞内に入り、患者脳と同じ細胞病理が再現されることを意味する。

タウについても同様で、タウを細胞に発現させても線維化はみられないが、そこへシードとして線維化したタウを導入すると細胞内でリン酸化タウの凝集体が形成される<sup>14)</sup>。ヒト脳では微小管結合領域の繰り返し配列が3回の3R タウと4回の4R タウのアイソフォームが発現するが、疾患によって蓄積するタウのアイソフォームが異なる。興味深いことに細胞に発現させたタウと添加するタウ線維のアイソフォームが同じ場合に限って線維化、凝集が観察された<sup>14)</sup>。

TDP-43 についても同様の検討を行っている。野生型の全長 TDP-43 は細胞に発現させた場合、TDP-43 が本来局在する核に観察され、患者脳脊髄にみられるような異常封入体は認められない。ところが、この細胞に ALS 患者脳の不溶性画分を導入すると、発現させた TDP-43 がリン酸化、ユビキチン化されて細胞質に蓄積する病変が観察された。TDP-43 蓄積のない患者脳の同じ画分で処理してもこのような変化は起こらない。この結果は、TDP-43 も重合核依存的に線維形成、蓄積がおこることを強く示唆する。

## 6. 動物モデルでの検証

2009 年、Goedert らはタウの蓄積がおこらない野生型 4R タウのトランスジェニック(Tg)マウスに、線維性タウが蓄積する P301S-4R タウ Tg マウスの脳抽出物を注入したところ、半年以上後に、野生

型タウの蓄積が観察されることを報告した<sup>15)</sup>。

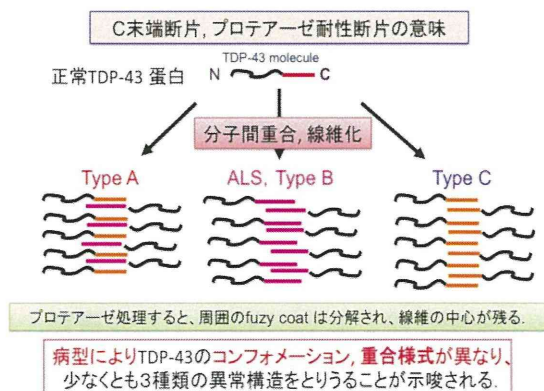
P301S タウの線維がシードとなって野生型タウの線維化がマウス脳内でおこることを実証したことになる。

また最近、Lee らのグループは、A53T  $\alpha$ Syn Tg マウス(M83)を用いて、 $\alpha$ Syn の伝播について報告した。このマウスの線条体、皮質にリコンビナント  $\alpha$ Syn 線維、あるいは 12 ヶ月齢の M83 マウスの抽出物を接種する実験を行った結果、3 ヶ月後にリン酸化  $\alpha$ Syn の病変が出現することを報告した<sup>16)</sup>。

## 7. 患者脳の病理生化学解析から

患者脳に蓄積する異常蛋白質の解析からも仮説を支持する証拠が提示できる。TDP-43 が蓄積する疾患(TDP-43 proteinopathy)は、封入体の病理学的特徴から4つのタイプに分類され、その病理型は臨床像とのよく対応がする<sup>11,17)</sup>。さらに蓄積する TDP-43 の 18-26kDa の C 末端断片のバンドパターンが少なくとも3つに関してはこの病理型とよく一致する<sup>2,17)</sup>。不溶性画分を各種プロテアーゼ処理し、その耐性断片のバンドを調べるとその違いがより明瞭になることから、バンドパターンの違いは異常蛋白質の構造中心の違い(すなわち重合状態の違い)を反映すると考えられる。

図 4. TDP-43 重合様式の違いの模式図



これと同様のプロテアーゼ耐性バンドの違いと病理型の違いがプリオン病で示されている。TDP-43 の C 末端はプリオンとの相同性が非常に

高いことが示されており、プリオンの変異もこの領域に集中している。また先のプロテアーゼ耐性領域がまさにこの相同性の高い領域に一致した<sup>17)</sup>。異常プリオンの“株”と同じように、病型により TDP-43 のコンフォメーション、重合様式が異なり、TDP-43 は少なくとも 3 種類の異常構造(重合様式)をとりうることを示唆される。

#### D. 考察

細胞内異常蛋白質が、細胞から細胞へ伝わるメカニズムについて考察する。現時点では、異常蛋白質がマルチベジキュラーボディに取り込まれ、エクソソームとして分泌、近傍の受容細胞にエンドサイトーシスあるいは膜融合によって取り込まれる可能性と、細胞が死んだ後に細胞外に放出された異常蛋白質がエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、取り込まれた分子が、tunneling nanotubule を介して他の細胞に運搬される可能性が想定されている<sup>18)</sup>。いずれの場合についても、実際の患者脳、あるいは実験モデルでの証拠は乏しく、今後の研究が重要である。

#### E. 結論

多くの神経変性疾患は、細胞内に生じた異常蛋白質分子が異常プリオンと同じように、正常分子を異常に変換し増殖しながら、細胞間を伝わって広がることにより、病気が進行すると考えられる。

この「蛋白癌」仮説の考え方に基づいて患者脳の病態に非常に近い細胞モデル、動物モデルが構築されつつある。最初に形成された異常蛋白質分子の種類、構造、場所の違いによって変性疾患の病理、病型、臨床像が決まる可能性が考えられる。この新しい考え方は、神経変性疾患の進行メカニズムの解明だけでなく、病態モデルの構築、さらにはそのモデルを用いての治療薬、治療法の開発に大きく貢献すると考えられる。

#### F. 文献

- 1) 長谷川成人. 実験医学 27:1318-1323, 2009.
- 2) Hasegawa M, et al. J Mol Neurosci 45:480-85, 2011.
- 3) Braak H, Braak E. Acta Neuropathol 82:239-59, 1991.
- 4) Saito Y, et al, J Neuropathol Exp Neurol 62:644-54, 2003.
- 5) Li JY, et al, Nat Med 14. 501-3, 2008.
- 6) Kordower JH, Nat Med 14. 504-6, 2008.
- 7) Kidd M. Nature 197:192-3, 1963.
- 8) Spillantini MG, et al, Proc Natl Acad Sci USA 95:6469-73, 1998.
- 9) Berriman J, et al. Proc Natl Acad Sci USA. 100:9034-8, 2003.
- 10) Serpell LC, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 97, 4897-4902, 2000.
- 11) Hasegawa M, et al, Ann Neurol. 64: 60-70, 2008.
- 12) Aoyagi H, et al, J Biol Chem 282:20309-18, 2007.
- 13) Yonetani M, et al, J Biol Chem 284:7940-50, 2009.
- 14) Nonaka T, et al. J Biol Chem 285:34885-98, 2010.
- 15) Clavaguera F, et al. Nat Cell Biol 11: 909-13. 2009.
- 16) Luk KC, et al, J Exp Med 209:975-86. 2012.
- 17) Tsuji H, et al, Brain in press.
- 18) Goedert M, et al, Trends Neurosci 33:317-25, 2010.

## $\alpha$ -synuclein の細胞間 propagation の機序

長谷川隆文<sup>1)</sup>

1) 東北大学大学院医学系研究科 神経・感覚器病態学講座 神経内科学分野

### 研究要旨

近年パーキンソン病 (PD) などに代表される神経変性疾患において、異常凝集タンパクが細胞間を伝播し周辺細胞に変性をもたらす可能性が相次いで報告され注目を集めている。病原性タンパク伝播により病理変化が周辺組織へ拡大するというプリオン仮説は新たな病態パラダイムとして興味もたれる一方、そのメカニズムについては今だ未知の点が多い。本項では PD とその関連疾患におけるプリオン仮説の背景にある分子機構ならびに異常タンパク伝播阻止を基軸とした新たな治療介入の可能性について言及する。

### A. 研究目的

胎児ドパミン神経移植を受けたパーキンソン病 (PD) 患者のドナー由来神経細胞に  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ S) 陽性の Lewy 小体様封入体が確認されたという報告以来、多くの変性疾患において異常タンパクが細胞間を伝播する現象が相次いで示され、所謂プリオン仮説として注目を集めている。Lewy body disease の病理変化については Braak らが提唱する脳幹上行仮説に加え、Murayama らは嗅球扁桃体進展説を提唱しているが、我々も後者の説を支持する証拠として、PD 患者における嗅覚障害が将来の認知機能低下の予後規定因子となる研究結果を報告している (文献 1)。さらにアミロイド PET イメージングを用いた多系統萎縮症患者の経時的観察においても、大脳白質や被殻におけるアミロイド沈着物が時間と共に周辺部位へ拡大する現象を確認している (文献 2)。本研究では  $\alpha$ S 細胞間伝播の背景にある  $\alpha$ S 取り込み・分泌を制御する分子機構を解明することを目的に細胞生物学的解析を行った。

### B. 研究方法

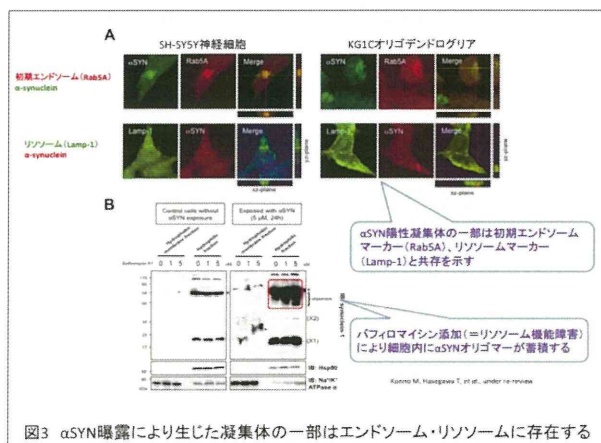
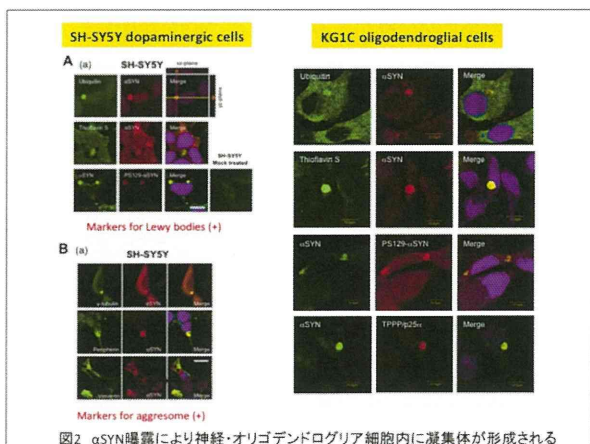
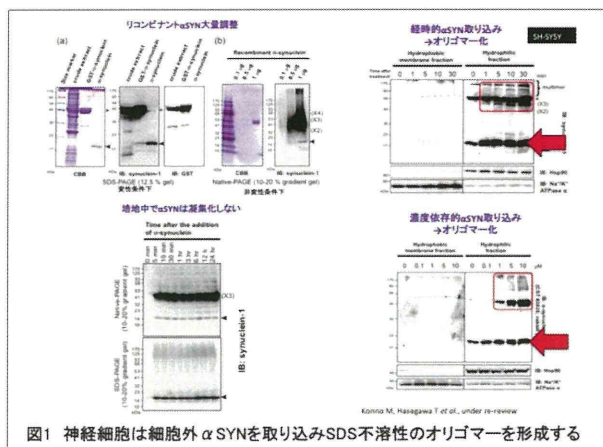
培養細胞 (HEK293T 細胞、SH-SY5Y 神経細胞、および KG1C オリゴデンドログリア (ODG) 細胞) の培地に野生型および A53T・A30P 変異

型組み換え  $\alpha$ S (1・10 $\mu$ M) を一定時間添加後、免疫組織染色法および細胞分画サンプルを用いたウェスタンブロット法 (WB) により細胞内  $\alpha$ S 取り込みを観察した。取り込まれた  $\alpha$ S の小胞輸送系における存在を確認するため、エンドソーム・リソソームマーカーとの共局在について共焦点レーザー顕微鏡を用い観察した。また  $\alpha$ S 取り込み過程におけるエンドサイトーシスの関与を確認するため、内因性ダイナミン 1 を K44A ドミナントネガティブ (DN) 変異体あるいは siRNA 発現により抑制すると共に、ダイナミン阻害剤 (sertraline) 投与の影響についても検討した。続いて細胞外エキソソーム中の  $\alpha$ S 存在を確認するため、神経細胞培地上清および PD 患者髄液よりシヨ糖密度勾配遠心法でエキソソーム画分を単離し、WB を実施した。また multivesicular body (MVB)・エキソソーム形成に必須な AAA 型 ATPase VPS4 の E228Q-DN 変異体を用い、 $\alpha$ S の細胞外分泌およびリソソーム移行への影響について検討した。

### C. 研究結果

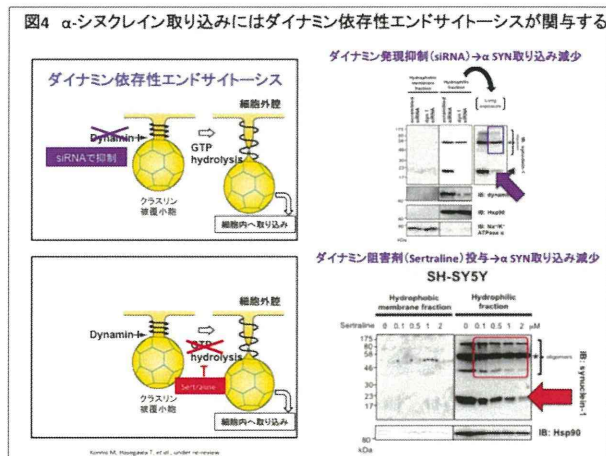
培地に添加した  $\alpha$ S は経時的かつ濃度依存的に神経・ODG 細胞へ取り込まれ、SDS 不溶性のオリゴマーを形成すると同時に (図 1) 患者脳内の

Lewy 小体・グリア細胞内封入体類似の細胞内凝集体を形成した (図 2)。

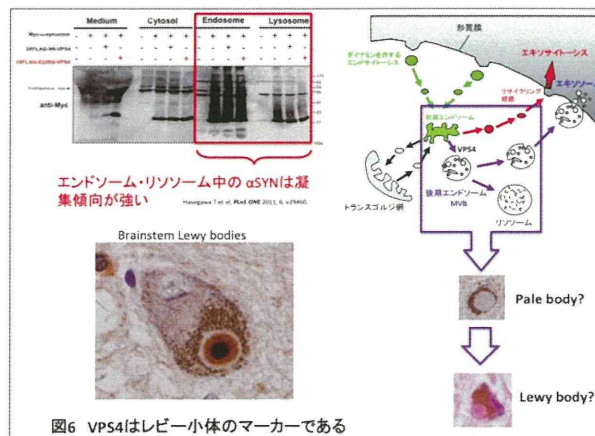
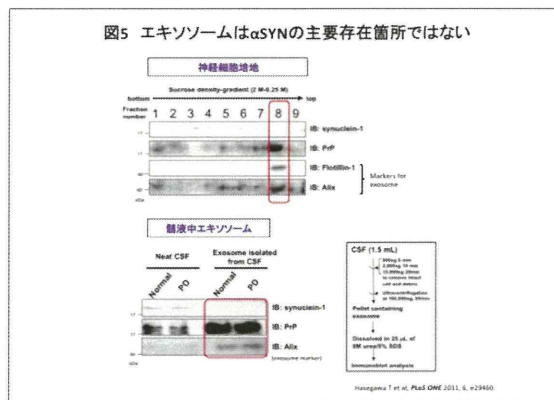


細胞内取り込みはシヌクレインファミリー分子の中で  $\alpha$ S に特異な現象であり、凝集傾向は PD 変異型  $\alpha$ S でより顕著であった。また N 末端欠損により  $\alpha$ S の細胞への取り込みが有意に減少することが確認された。取り込まれた  $\alpha$ S の一部はエンドソームマーカー Rab5A およびリソソームマーカー Lamp-1 と共局在を示し、リソソーム阻害

剤 bafilomycin 投与により細胞内  $\alpha$ S オリゴマー蓄積が誘導された (図 3)。さらに細胞内への  $\alpha$ S 取り込みは DN 変異体・siRNA による内因性ダイナミン 1 抑制ならびにダイナミン阻害剤投与により顕著に減少した (図 4)。



細胞外  $\alpha$ S 局在に関する検討では、プリオンタンパクとは異なり細胞外エキソソーム中に  $\alpha$ S は殆ど検出されなかった (図 5)。



また VPS4 機能障害による MVB・エキソソーム