

者が1名しか指摘できない家系が3家系あった。

本邦の c9FTD/ALS 患者の疫学的・遺伝学的特徴を欧米例と比較すると、次の様な特徴がある。まず、本邦での好発地域である紀伊半島の症例を除くと、FALS 患者中の 3.6% (4/108 例)、SALS の 0.1% (1/878 例)、FTD の 0% (0/93 例)であった。これは、欧米 FALS の 27.46%、SALS の 2.8% に比して 1/10 以下の頻度であり、圧倒的に少なかった。また、本邦の c9FTD/ALS の FALS 例は、同胞例が多く、親子での発症例を認めなかった。

遺伝学的には、発症者でハプロタイプ解析を行われたものは全員、いわゆる北欧に由来する本疾患のリスクハプロタイプを持つと考えて矛盾はなかった。

また正常者内でのリスクハプロタイプの頻度は約 10%であり欧米の 20%の半数であった。またリスクハプロタイプを持つ正常者のリピート数は本邦でも長い傾向があった。しかし、13 リピートを超えるようなものは本邦の正常者には認めなかった。

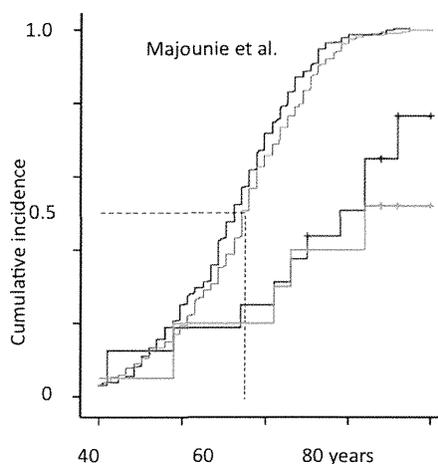
本症のリピート数増大の発症機序に関しては、次の3つの仮説が考えられる。1) 増大リピートをもった変異アレルが世界に広がった。2) 増大リピートを起こす可能性ある中間型アレルが世界に広がった。3) どのアレルであっても増大アレルが発症する。しかし、本症の頻度に極めて大きな人種差が存在すること、発症者間で欧米と本邦の患者間でハプロタイプが共通していると考えて矛盾しないことから、3) は否定的であると考えた。

次に2) の可能性であるが、正常者内での、いわゆるリスクアレルの頻度は低いが、約半分であり、これだけでは頻度の差を説明するのは困難である。一方、本邦でも、このリスクアレル保有者

のリピート数は長い傾向があったが、しかし、欧米の正常者で認められるような 13 リピート以上のアレルを持つ者が少なかった。このことは、本邦ではリスクアレルを背景とした中間型アレル保有者が少ない可能性を示唆し、興味深い⁴。今後、より多くの正常者で解析を加えることで、明らかとなる可能性がある。

最後に1) 増大リピートをもった変異アレルが日本に伝わった可能性については、現時点で、否定も肯定もする根拠はない。紀伊半島の例ではかなりの領域でハプロタイプが共通していることが推察されるが、他の本邦例は必ずしも、保存領域が広範囲に渡っているわけではない。欧米では約 1500 年前に創始者は遡ると推定されている⁵。

本邦では家系調査でも、いくつかの特徴が見いだされる。まず第一に FALS で親子例が一例も報告されていない。欧米の報告では FALS 66 家系中 55 家系で親子間が示されている⁶。本邦で親子例が少ないのは、*de novo* 変異の可能性、浸透率が関与している可能性が考えられる。本疾患での浸透率には、リピート長も関与すると考えられる。しかし、現時点で、そのような解析の報告はない。Majounie らは、212 例の FALS, 234 例の SALS, 99 例の家族例の FTD, 53 例の孤発性 FTD の臨床型を示した c9FTD/ALS の解析から、本症は 80 才までに 100%発症すると報告している⁵。次の図は、彼らの解析による累積発症率曲線である。最も上が孤発性、その下の線が家族性を示す。ここに、本邦の c9FTD/ALS 患者のうち、親の年齢が判明している 5 家系について同様の解析を加えた。便宜的に、より若い年齢の親が、増大リピートを保有し、まだ発症していないと仮定し解析した累積発症率曲線（最も下）と、親の年齢が不明な者も含めた全ての本邦例をいれて解析した累積発症率曲線を示す（その上）。本邦の累積発症率は、欧米人よりも低いことが示唆される。



本症では、レポート数と発症年齢との相関や、浸透率との関係はまだ明確に示されていない。しかし、欧米例では世代間での発症年齢の若年化が疑われており、親の代に比して子では7・10年若年発症の傾向があるという報告もある⁷。この事実は世代間でレポート数の変化が起こっている可能性を示唆する。しかし、一方で、父方由来、母方由来で子の代の発症年齢の若年化に差がないとする報告がある⁶。一般に、世代間のレポートの増大は父方由来で増悪することが多く、この点は、本症で世代間でのレポートの増大があることに反するものである。しかし、いずれにしても、親子間でのサザン解析がなされている症例が少なく、今後の検討が必要である

一般にレポート関連疾患は、レポート長と発症年齢や疾患の重症度との間に密接な関係があると考えられる。本邦の累積発症率曲線が、欧米例より低いのは、本邦の患者におけるレポート数が欧米例より短い可能性、アジア人種における遺伝学的背景による可能性があげられる。一方、Majounieらの解析は、非発症者を十分に入れていないため、実際の累積発症率より、高めに算出されている可能性も考えられる⁵。今後、より多くの症例が蓄積されることにより、この問題が解決されることが期待される。

本邦のc9FTD/ALSの発症年齢は平均60歳(40から76歳)であり、罹病期間は約3年半であった。臨床症状ではALSを示すものが11人、ALS-FTDが2人、FTDのみは家系内調査で見つかった2例のみであった。同一家系内ではALSのみの臨床症状を示す家系が多かった。一方、欧米例の報告では、同一家系内でFTD、ALSが混在する家系が最多であり(58%)、次にFTDのみ(33%)、ALSのみは8%と最も少ないとされる⁷。この相違の背景は明らかではないが、本邦で、FTDを見逃している可能性も考えられる。

9FTD/ALSの表現型としてFTDとALSがあるが、この表現型の違いは、何で規定されるのだろうか。一つの可能性として、レポート長により決定される可能性がある。つまり、ALD-FTDは最もレポート長が長く重症型であるとするような考え方である。実際、親がALS-FTDの臨床系を示すと、子もALS-FTDになる傾向がある⁶。さらに、病型間の移行、つまりALSから広がってFTDに、もしくはその逆の進行形式をとることは少ないとされる⁸。これらの事実は、この仮説を支持する。一方c9FTD/ALSではALS、FTDの臨床型で、発症年齢、病状の進行速度には明確な差がない。また、同一家系内でも、症状、病理所見、発症年齢は様々であることも知られている。これらの事実から、現時点では、レポート長が特定の臨床型と相関する可能性は低いと考えられる。

加えて、本邦のc9FTD/ALSの臨床症状での特徴として、ALSで、球症状での初発の例は7例中2例と、欧米の25・44%比して少ない。またALSの中で認知症の合併例も8例中2例であり、欧米の31・50%に比して少ない。

D. 考察

本邦のc9FTD/ALSは、その頻度が極めてまれ

である。しかし、現在までに同定された患者は、いわゆる欧米の c9FTD/ALS 患者と同一のリスクハプロタイプを持っている可能性がある。このことは、本症が極めて強い創始者効果を持つ疾患である可能性を示唆している。

臨床面では、欧米に比して ALS の臨床型を示すものが多く、また親子間での伝達が認められないのが特徴的である。本邦のこの特徴が、人種差によるものか、それともリピート長や、周辺配列によるものか、今後の検討が必要である。

E. 結論

C9FTD/ALS は本邦では極めて希であるが存在する。本邦では親子例が少なく、また FTD の臨床型を示すものが少ない特徴がある。遺伝学的には、本邦例は、本症の強い創始者効果を示す上で意義がある

F. 文献

1. Konno T, et al. Japanese amyotrophic lateral sclerosis patients with GGGGCC hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72. JNNP. 2012;in press.
2. Ishiura H, et al. C9ORF72 Repeat Expansion in Amyotrophic Lateral Sclerosis in the Kii Peninsula of Japan C9ORF72 Repeat Expansion in ALS. Arch Neurol. 2012 Jun 4; 1-5.
3. Ogaki K, et al. Analysis of C9orf72 repeat expansion in 563 Japanese patients with amyotrophic lateral sclerosis. Neurobiol Aging. 2012 Oct;33(10):2527 e11-6.
4. DeJesus-Hernandez M, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. Neuron. 2011 Oct 20;72(2):245-56.
5. Majounie E, et al. Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. Lancet Neurol. 2012 Apr;11(4):323-30.
6. Chio A, et al. Clinical characteristics of patients with familial amyotrophic lateral sclerosis carrying the pathogenic GGGGCC hexanucleotide repeat expansion of C9ORF72. Brain. 2012;135(3):784-93.
7. Boeve BF, et al. Characterization of frontotemporal dementia and/or amyotrophic lateral sclerosis associated with the GGGGCC repeat expansion in C9ORF72. Brain. 2012;135(3):765-83.
8. Hsiung GYR, et al. Clinical and pathological features of familial frontotemporal dementia caused by C9ORF72 mutation on chromosome 9p. Brain. 2012;135(3):709-22.

ALS 遺伝子治療の展望 -経血管的 ADAR2 遺伝子の導入-

郭 伸^{1) 2)}

- 1) 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
- 2) 国際医療福祉大学 臨床医学研究センター

研究要旨

孤発性 ALS の運動ニューロンでは、グルタミン酸受容体サブタイプ AMPA 受容体のサブユニットである GluA2 Q/R 部位に RNA 編集が起こらず、未編集型の GluA2 が発現している。この分子異常は、神経細胞疾患特異的な分子異常であり、運動ニューロン死を引き起こすことがコンディショナル ADAR2 ノックアウトマウス (AR2) により明らかにされている。GluA2 Q/R 部位の RNA 編集は、RNA 編集酵素 adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2) により触媒され、孤発性 ALS 運動ニューロンでは ADAR2 遺伝子の発現低下に依り活性が低下しているため、この分子変化は孤発性 ALS 運動ニューロン死に直結したものであると考えられる。したがって、ADAR2 活性の賦活により GluA2 Q/R 部位の RNA 編集を正常化することができれば、孤発性 ALS の神経細胞死が抑制できると期待される。本研究では、野生型マウスを用いて遺伝子治療に向けた ADAR2 遺伝子導入ベクターの経静脈的脊髄運動ニューロンへの遺伝子導入に成功し、ADAR2 遺伝子が発現、機能することを確認した。さらに、孤発性 ALS の分子病態モデルである AR2 マウスを用い、ADAR2 欠損運動ニューロンの細胞死を抑制し、運動機能を保持することが可能であることが示された。

A. 研究目的

我々は孤発性 ALS 脊髄運動ニューロンに発現する、グルタミン酸受容体である AMPA 受容体の GluA2 サブユニットに、本来生ずべき Q/R 部位における RNA 編集が行われない未編集型 GluA2 mRNA が含まれていること、この分子異常は ALS 運動ニューロンに疾患特異的かつ細胞選択的な変化であることを報告した(1-3)。AMPA 受容体の大多数はサブユニットに編集型 GluA2 (グルタミン・アルギニン (Q/R) 部位がアルギニン) を含むため、Ca²⁺透過性が低い。他方、未編集型 GluA2 (Q/R 部位がグルタミン)を含む AMPA 受容体は、GluA2 を含まない AMPA 受容体同様 Ca²⁺透過性が高い(4)。AMPA 受容体の大多数は GluA2 をサブユニットに含み、正常のニューロンは編集型 GluA2 のみを発現するので、AMPA 受容体の大多

数は Ca²⁺非透過性である。これに対し、孤発性 ALS では未編集型 GluA2 の発現により Ca²⁺透過性 AMPA 受容体が増加している。GluA2 mRNA の Q/R 部位は、RNA 編集酵素 ADAR2 (adenosine deaminase acting on RNA 2) により特異的に編集され、アデノシンがイノシンに変換する(5, 6)。イノシンは翻訳時にグアノシンとして認識されるため、ゲノムの Q コドン (CAG) が R コドン (CGG) に変換され、アミノ酸置換が起こる。ADAR2 の全身的ノックアウト動物は幼弱期にけいれん重積で死亡し(6)、コンディショナルノックアウトマウスの ADAR2 を発現しない運動ニューロンは緩徐な死に至る(7)。いずれも、編集型 GluA2 を発現することで阻止できるので(6, 7)、未編集型 GluA2 の発現による AMPA 受容体の Ca²⁺透過性亢進が神経細胞死の直接原因であると考え

られる。実際、正常のニューロンは編集型 GluA2 のみを発現するのに対し、孤発性 ALS では脊髄運動ニューロンの ADAR2 mRNA 発現レベルが低下しており(8, 9)、ADAR2 活性が進行性に低下するために未編集型 GluA2 を発現させていると考えられる。この分子変化は孤発性 ALS ではほぼ例外なく認められる(8)。この仮説が正しければ、ADAR2 活性を上げ、運動ニューロンに発現する全ての GluA2 を編集型にすることが出来れば、孤発性 ALS における運動ニューロン死を阻止し、病状の進行を抑止する治療法の開発が可能であると考えられる。本研究では、ADAR2 活性賦活による孤発性 ALS の特異治療法(2, 10, 11)の開発のため、ADAR2 遺伝子導入による治療技術基盤の確立を目的とする。

B. 研究方法

血管内投与型アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターによる神経細胞への ADAR2 遺伝子導入技術の確立のため、ヒト ADAR2、不活性型 ADAR2^{E396A}、Flag-ADAR2 cDNA を組み込んだベクターを作成した。

培養細胞 (TetHeLaG2m (12) と Neuro2a 細胞) に感染させ、AAV-ADAR2 の発現と活性を RT-PCR、ウエスタンブロット、ADAR2 基質である GluA2 mRNA Q/R 部位、GluA2 pre-mRNA Q/R 部位、cytoplasmic fragile X mental retardation protein interacting protein 2 (CYFIP2) K/E 部位の編集率変化で、ADAR2 活性の変化を検討した(11, 13)。

不活性型 AAV-ADAR2^{E396A} を野生型マウス大脳皮質 (前頭葉) に投与し、ADAR2 の発現と活性を上記と同様の方法で検討した。投与反対側脳の同一部位、投与部位からの遠隔部位 (後頭葉)、および AAV-GFP を投与した部位を対照とした。

さらに経静脈的投与による脊髄運動ニューロンへの送達効果を AAV-ADAR2 と AAV-Flag-ADAR2 を用いて検討した。対照としては ADAR2 遺伝子を組み込まない AAV-GFP を用いた。

(倫理面への配慮)

遺伝子操作に関しては、第二種使用等拡散防止措置における承認を得、全ての遺伝子操作は本学 DNA 組換え実験指針に従った。また動物実験については、東京大学医学部動物委員会の承認を得、実験方法については同動物実験指針に従い動物愛護面に十分配慮した。

C. 研究結果

1. 培養細胞に AAV-ADAR2, AAV-不活性型 ADAR2^{E396A} を感染させた。ADAR2 に特異的な発現を RT-PCR、ウエスタンブロット解析により確認した。また、ADAR2 活性を ADAR2 特異的基質の RNA 編集率により解析し、AAV-ADAR2 が *in vitro* で機能し、ADAR2 の導入により特異的基質の RNA 編集率が上昇し、不活性型 ADAR2^{E396A} では変化しないことを確認した。

2. 不活性型 AAV-ADAR2^{E396A} をマウス大脳実質に投与し、対照と比較して ADAR2 の発現が増えるものの活性が低下した。このことにより *in vivo* において AAV ベクターにより ADAR2 遺伝子が発現し、機能することを確認した。

3. AAV-ADAR2 と AAV-Flag-ADAR2 を ALS モデルマウス (AR2 マウス) に経静脈的投与を行った。脊髄運動ニューロンへの送達を ADAR2 抗体と Flag 抗体を用いた免疫組織化学により確認した。ADAR2 および Flag の発現は主にニューロンであり、グリア細胞には有意な発現を示さなかった。

4. AAV-ADAR2 投与した AR2 マウスでは非投与群に比し、残存ニューロン数、軸索数が優位に多かった。

D. 考察

ADAR2 遺伝子の経静脈的ルートによる脊髄運動ニューロンへの送達による遺伝子治療の基盤技術が得られた。ALS は運動ニューロンが進行性に変性脱落していくので、出来る限り多くの運動ニューロンに遺伝子を送達することが遺伝子治療の理想である。経静脈的ルートはその目的に合致しているが、神経細胞に遺伝子導入することは極めて困難であった。今回の検討で、血管内投与型 AAV ベクターを用いることにより、運動ニューロンに ADAR2 遺伝子を発現させ得ることが明らかになった。

今後、AR2 マウス(7, 14)を用い、運動ニューロン死を抑制するために必要な遺伝子量及び運動ニューロンへの送達効率を上げるための検討を含め、孤発性 ALS の遺伝子治療のための技術的基盤を確立していきたいと考える。

E. 結論

培養細胞、野生型マウス、孤発性 ALS モデルマウスを用いて ADAR2 遺伝子の運動ニューロンへの経静脈的送達による ADAR2 活性の賦活に成功し、孤発性 ALS の遺伝子治療技術の基盤を固めた。

(文献)

1. Kawahara Y, et al: *Nature* 427, 801, 2004.
2. Kwak S, et al: *J Mol Med* 83, 110-120, 2005.
3. Takuma H, et al: *Ann Neurol* 46, 806-815, 1999.
4. Seeburg PH: *Neuron* 35, 17-20, 2002.
5. Higuchi M, et al: *Cell* 75, 1361-1370, 1993.
6. Higuchi M, et al: *Nature* 406, 78-81, 2000.
7. Hideyama T, et al: *J Neurosci* 30, 11917-11925, 2010.
8. Hideyama T, et al: *Neurobiology of disease* 45, 1121-1128, 2012.
9. Kawahara Y, et al: *Amyotroph Lateral Sclerosis Other Motor Neuron Disord* 6, 131-144, 2005.
10. Kwak S, et al: *Neuropathology* 30, 182-188, 2010.
11. Kwak S, et al: *RNA Biol* 5, 193-197, 2008.
12. Sawada J, et al: *Neurosci Res* 64, 251-258, 2009.
13. Nishimoto Y, et al: *Neurosci Res* 61, 201-206, 2008.
14. Hideyama T, et al: *Frontiers in molecular neuroscience* 4, 33, 2011.

DLB に対するドネペジルのランダム化対照試験

森 悦朗¹⁾

1) 東北大学大学院医学系研究科 高次機能障害学

研究要旨

Lewy 小体型認知症（DLB）に対するドネペジルの効果を多施設共同偽薬対照無作為化比較試験で検討した。CDLB 診断基準の probable DLB に合致する患者を偽薬，あるいはドネペジル 1 日量 3，5，または 10mg（それぞれ N = 35，35，33，37 例）に無作為に割り付け，12 週後の症候の変化を検討した。偽薬群に比べて，ドネペジル 5 および 10 mg/日群は認知面および全般的機能の変化の点で有意に良好であった。5 および 10 mg/日群で行動面，および 10 mg/日群で介護者負担に有意な改善が認められた。安全性はこれまでに知られているドネペジルの副作用と同程度であり各群間で同等であった。この試験によりドネペジル 5 および 10 mg/日は少なくとも 12 週の間，DLB 患者の認知面，行動面，および全般的に改善をもたらし，10 mg/日では介護者の負担を軽減する。ドネペジルの安全性と忍容性は良好であることが示された。

A. 研究目的

Lewy 小体型認知症（Dementia with Lewy bodies DLB）は，脳幹と大脳皮質に Lewy 小体の出現を特徴とした変性性認知症である。臨床的には，早期には重篤な記憶障害を欠く進行性認知症があり，具体的な反復する幻視，認知障害の大きな変動，パーキンソニズムを伴うことを特徴とする。1996 年に Consortium on Dementia with Lewy Body (CDLB) ガイドラインの臨床・病理診断基準¹⁾が提唱されたことにより臨床診断が可能となり，アルツハイマー病に次いで多い変性性認知症として認識されるようになった。認知症に加え，認知機能の動揺，パーキンソニズム，幻視の中核症状のうちの 2 つがあれば probable DLB と診断できる（2005 年の改訂²⁾では REM 睡眠行動異常，高度の抗精神病薬に対する過敏性，SPECT または PET での大脳基底核のドパミン・トランスポーターの取込み低下が示唆的徴候として加えられている）。DLB では認知機能障害のみならず，幻視や認知機能変動といった精神症状・行動障害に該当する症状が臨床症状の核心部分を占めていること，またその他にも多彩な精神症状・行動障害を呈

することが特徴である。精神症状・行動障害は患者本人を深刻に苦しめるだけでなく，介護者の身体的，精神的，社会的負担を増大させ，病院あるいは介護施設への早期入院・入所を招いている。加えて，運動障害と自律神経障害もさらに ADL を損なっている。

DLB では，コリン作動性神経がアルツハイマー病以上に脱落し，コリン神経系の障害が幻覚等の臨床症状と関連していることから³⁾，アセチルコリンエステラーゼ（AChE）阻害剤が DLB に対して高い有効性を示すのではないかと考えられている⁴⁾。実際，ドネペジル⁴⁾，リバスチグミン⁵⁾等の AChE 阻害剤が DLB の認知機能障害のみならず精神症状・行動障害に効果を有することがいくつかの臨床試験で示されている。AChE 阻害剤治の問題点としては，DLB 患者におけるコリン神経系の賦活がアセチルコリン・ドパミンのバランスに影響してドパミンの相対的な低下をもたらす，錐体外路症状（パーキンソニズム）増悪が懸念されることである。また DLB には自律神経障害を伴うことが多いが，それに対する AChE 阻害薬の影響も危惧される。

現在国内外で AD の効能で承認されている AChE 阻

害剤はいずれも DLB に対する効能は承認されていない。そこで我々は研究グループを組織し、1 日投与量 3mg, 5mg, 10mg のドネペジルの有用性を多施設共同偽薬対照無作為化比較試験で検討した⁶⁾。

B. 研究方法

この試験はドネペジルの短期 (12 週間) の効果を探索的に検討した phase II 試験である。2007 年 10 月から 2010 年 2 月に行われた。

対象: 日本国内の 48 の施設から募った 140 例の 1996 年 CDLB 診断基準の probable DLB1) に合致する患者を無作為に 12 週間のプラセボ, あるいは塩酸ドネペジル 1 日量 3, 5, または 10mg 服用群 (それぞれ N = 35, 35, 33, 37 例) に割り付けた。選択基準は, 年齢 ≥ 50 歳, 中等度から重度軽度の認知症

(Mini-Mental State Examination (MMSE) が 10 から 26 および Clinical Dementia Scale 0.5 以上) および一定以上の行動異常を有する (Neuropsychiatric Inventory (NPI)-plus, すなわちオリジナル版の 10 項目に睡眠関連および認知機能の動揺のドメインを加えた 12 項目版が 8 以上⁴⁾) の外来患者である。受診に付き添って情報を提供し, また服薬規定を守るために, 患者と週に 3 日間以上, 一日あたり 4 時間以上いっしょに過ごす介護者が居ることも条件である。

除外基準は, 認知症の発症の 1 年以上前からパーキンソン病と診断されているもの, 認知障害を引き起こす可能性のある局所血管性病変が MRI や CT で認められるもの, 他の神経疾患や精神疾患を合併するもの, 重篤な全身性疾患の合併, 重度の消化管潰瘍, 重度の喘息や閉塞性肺疾患の合併または病歴を有するもの, 低血圧 (収縮期 < 90 mmHg), 徐脈 (< 50/分), 洞不全症候群, 房室ブロック, または QT 延長 (≥ 450 ミリ秒) を有するもの, ドネペジルまたはピペリジン誘導体に対する過敏症を有するもの, および重度のパーキンソニズム (Hoehn and Yahr score ≥ IV) を有するものである。ChEIs, 抗精神病薬, レボドパとドパミンアゴニスト以外の抗パーキンソン薬は併用禁止とし, それらを服用している患者は対象から

除外した。

方法: 対象患者は朝食後に同じ外観を持つ 3mg, 5 mg あるいは偽薬からなる錠剤を組み合わせ 12 週にわたって服用した。5 mg のグループでは, 3 mg で開始し, 2 週間後 5 mg に増加した。10 mg のグループでは 3 mg で開始し, 2 週間後に 5mg, 6 週間後に 10mg にした。

本研究では, 主たるエンドポイントを正式には設定していなかったが, 研究開始前に認知, 行動, 全般的改善, および介護者負担を有効性の指標としていた。認知機能への影響は MMSE と複数の神経心理学的テストを用いて評価し, 行動異常・精神症状は NPI-plus, 全般的機能の変化は Clinician's Interview-Based Impression of Change plus Caregiver Input (CIBIC-plus), 介護者負担は Zarit Caregiver Burden Interview (ZBI) を用いて評価した。安全性は有害事象の調査に加えて, パーキンソニズムに関して Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) part III による評価を加えた。

安全性の分析は, 1 回以上試験薬を服用し, 安全性評価を受けた全ての患者に基づいて行った。有効性の分析は, いずれかの有効性の尺度で 1 回以上評価が行われた全ての患者からなる full-analysis set (FAS) に基づいて行い, 脱落例に対しては最終評価をその後の評価に外挿 (last observation carried forward: LOCF) して処理し, mixed-effect model for repeated measures (MMRM) によっても確認した。結果は各実薬群と偽薬群間で比較した。有意水準は Bonferroni 法による多重比較補正を行って両側 0.0167 とした。CIBIC-plus 以外の指標については, 初期値からの変化を t 検定, および性, 体重, 各尺度の初期値を共変量とした analysis of covariance (ANCOVA) で, CIBIC-plus については, Wilcoxon の順位和検定で解析した。さらに, MMSE で 3 点以上の改善, CIBIC-plus の軽度改善以上の比率を Fisher の正確確率検定で検討した。二次的解析として, MMSE および NPI-plus に対する用量反応関係を Cochran-Armitage 傾向性検定で検討した (有意水準 = 両側 0.05)。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントは患者（可能な場合すべて）および介護者から書面で得た。研究はヘルシンキ宣言に従って実施され、プロトコルは各施設の倫理審査委員会によって承認を得た。

C. 研究結果

図1に割り付けと転帰を示す。偽薬群に割り付けられた1例が治験薬投与前に同意を撤回しSASから除外された。probable DLBの診断基準を満たしていなかった2例（偽薬群, 10 mg 群各1例, および治療後の評価が1度もなされなかった2例（偽薬群, 5mg 群各1例）がFASから除外された。従ってSASは139例（偽薬, 3mg, 5mg, 10mg 群でそれぞれ34, 35, 33, 37例), およびFASは135例（それぞれ32, 35, 32, 36）であった。16例（それぞれ4, 4, 2, 6例）が試験途中で脱落しLOCF, MMRMを適用した。

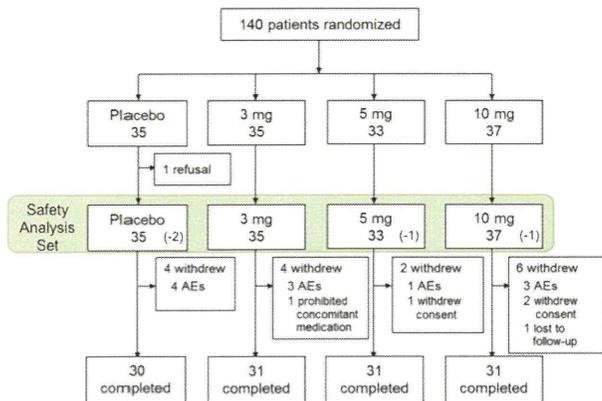


図1. 患者の割り付けと転帰。

10mg 群で女性が多く、平均体重は低かったことと、5 mg 群で平均NPI-10スコアが低く、偽薬群でWAIS-III symbol digitのスコアが低かったが、それ以外の背景や疾患関連の特性の点で4つの群はほぼ同等であった。

偽薬群に比べて、ドネペジル5および10 mg/日群は、MMSE（平均変化量, 95%CI, p値; 5 mg, 3.8, 2.3-5.3, $p < 0.001$; 10 mg, 2.4, 0.9-3.9, $p = 0.001$) およびCIBIC-plus（それぞれ $p < 0.001$ ）で良好であった（図2~6）。3 mg/日群はCIBIC-plusで有意に良

好 ($p < 0.001$) だったが MMSE では有意ではなかった ($p = 0.017$)。5mg/日群および10 mg/日群でNPI ($p < 0.001$), および10 mg/日群でZBI ($p = 0.004$) に有意な改善が認められた。いずれの実薬群でもWMS-Rの注意/集中とWAIS-III symbol digitで有意な改善が示された。傾向性分析では、MMSE およびCIBIC-plus に関して用量依存性は示されなかったが、NPI-2（幻覚および認知機能の動揺）では有意な用量依存性が認められた。安全性はこれまでに知られているドネペジルの副作用と同程度であり、有害事象の頻度および重篤な有害事象の頻度の頻度は各群間で差がなかった。有害事象のために試験中止に至った例は偽薬, 3mg, 5mg, 10mg 群で11.8%, 8.6%, 3.0%, 8.1%であった。パーキンソン病関連の有害事象は、それぞれの群で2.9%, 8.6%, 12.1%および2.7%にみられたが、その差は有意ではなかった。その差異は有意水準に達しなかったが、むしろ平均UPDRS part IIIのスコアは偽薬群で悪化したのに対し、実薬群では幾分改善を示していた（図7）。

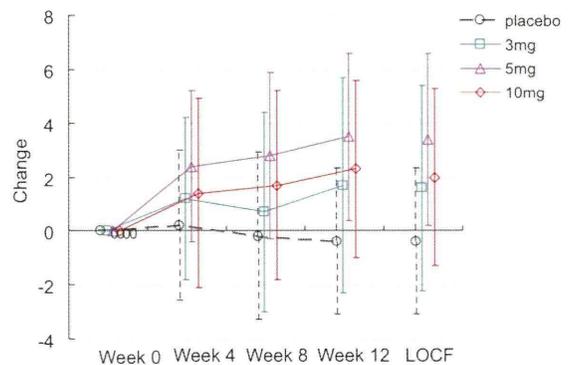


図2. MMSE の変化。

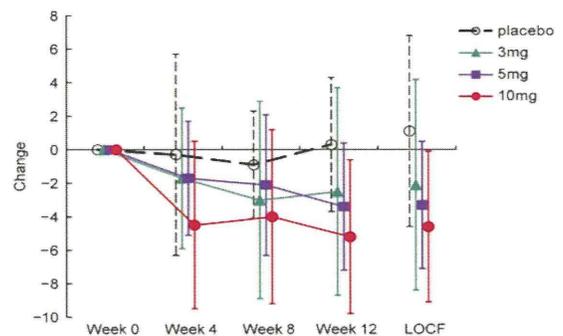


図3. NPI-10 の変化。

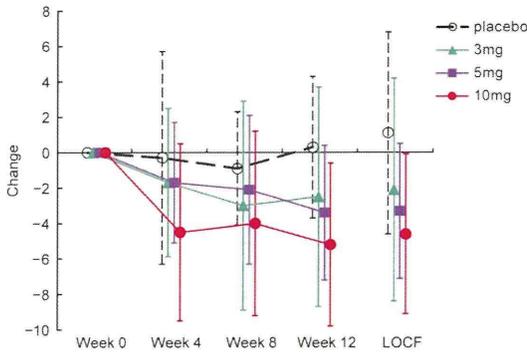


図 4. NPI-2 (C) の変化.

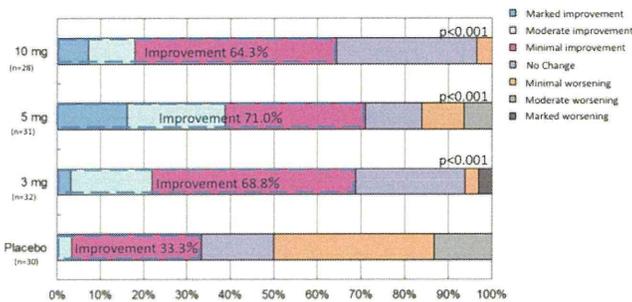


図 5. CIBIC-plus の分布.

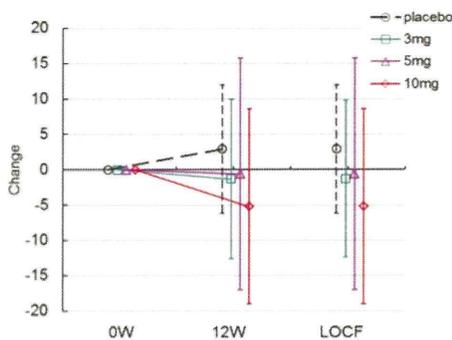


図 6. ZBI の変化.

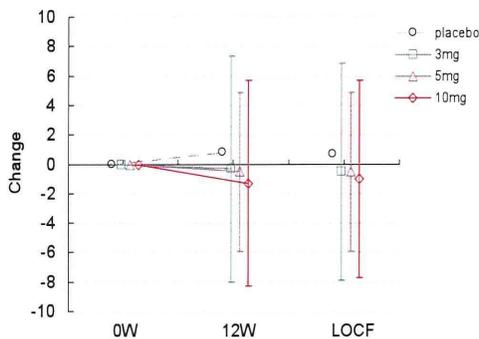


図 7. UPDRS part III の変化.

D. 考察

本研究はエンドポイントを正式には設定していない探索的なものであったものの、幅広いドメインの複数の評価尺度に一貫した改善が示したことから、これらの結果はDLB患者に対するドネペジルの有効性を強く示唆している。また、有害事象は偽薬群と各実薬群に差が無かったこと、脱落率は全体で約8%と比較的低かったこと、理論上危惧されていたパーキンソニズムに対する悪影響も認められなかったことから、ドネペジルの安全性と忍容性は良好であると考えられる。

E. 結論

ドネペジル5および10 mg /日は少なくとも12週の間、DLB患者の認知面、行動面、および全般的に改善をもたらし、10 mg /日では介護者の負担を軽減することが示された。この試験で示された有効性と安全性に関して検証試験および長期間の試験で確認する必要がある。

F. 文献

- 1) McKeith IG, et al. Neurology 47:1113-1124, 1996
- 2) McKeith IG, et al. Neurology 65:1863-1872, 2005
- 3) Ballard C, et al. Ann Neurol 48:868-876, 2000
- 4) Mori S, et al. Psychiatry Clin Neurosci 60:190-195, 2006
- 5) McKeith IG, et al. Lancet 356:2031-2036, 2000
- 6) Mori E, et al. Ann Neurol 72:41-52, 2012

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

藤本健一¹⁾

1) 自治医科大学 内科学講座 神経内科学部門

研究要旨

パーキンソン病に対する細胞移植治療は 1970 年代から試みられてきた。自己副腎や交感神経節の細胞、細胞工学で人工的に作成した細胞株、胎児の黒質ドパミン細胞など、様々な細胞の移植が試みられたが、十分な成果をあげられず現在に至っている。近年 ES 細胞や iPS 細胞が注目を集めているが、特定の種類の神経細胞への分化誘導や腫瘍化の問題など、解決が必要な課題が残されている。

A. 研究目的

パーキンソン病に対する細胞移植治療は 1970 年代から試みられてきたが、一般的な治療法として普及するだけの成果をあげられず現在に至っている。森守飛鳥先生の次の演題「iPS 細胞 (induced pluripotent stem cell) 移植によるパーキンソン病治療の展望」に先立ち、これまでのパーキンソン病に対する細胞移植治療の歴史を簡単に振り返る。

B. 研究方法

パーキンソン病の細胞移植治療に関する過去の原著論文、総説を検索し、現状をまとめた。

C. 研究結果

パーキンソン病では中脳黒質から線条体に投射するドパミン細胞が障害される結果、線条体においてドパミンが不足する。現在治療の主流は、薬によって不足しているドパミンを補う補充療法である。ドパミンは脳内の他の部位にも作用するため、精神症状や吐き気などの副作用を伴ったり、頻回の服薬を余儀なくされたりと、問題が多い。そこで線条体にドパミン産生細胞を移植することによって、持続的にドパミンを補う方法が考えられた。

動物実験で最初に細胞移植治療の有効性を報告したのは Björklund らである。彼らは 6-OHDA で作成したパーキンソン病のモデルラットに、胎児の黒質ドパミン細胞を移植することによって、パーキンソン症状が改善することを報告した¹⁾。この成功を受け、パーキンソン病患者への細胞移植治療が計画された。最初に注目されたのは、拒絶反応の心配のない患者自身のドパミン細胞の移植である。1982 年に副腎髄質細胞の線条体への移植が開始され、世界で 300 例以上の自己副腎移植が行われた。我が国では和歌山県立医大で交感神経節細胞の移植が行われた。しかし、副腎髄質にしても交感神経節にしても、その中に含まれるドパミン細胞の数は僅かであり、十分な治療効果を得ることは出来なかった。

次に注目されたのは、人間の胎児の黒質ドパミン細胞である。1987 年にメキシコの Madrazo がその有効性を報告した²⁾。問題は胎児をどうやって用意するかであった。治療効果を得るためには約 8 万個のドパミン細胞が必要である。非自己である胎児の細胞は生着率が 10%以下と低いため、1 人のパーキンソン病患者の治療には週齢の揃った 5 体の胎児が

必要になる。必要なときに必要なだけの移植細胞を確保するのは難しい。また、倫理的な観点から人工妊娠中絶に反対する世論もあり、1988年に米国NIHは胎児脳の移植研究に対する研究費の支出を停止した。

次に考えられたのは、細胞工学により人工的に作った細胞株の移植である。利点は、供給源として無限であり、遺伝子操作が容易な点である。一方で欠点は、異種由来の細胞株なので、免疫抑制剤の併用が必要であり、腫瘍化のリスクを伴う点である。岡山大学では、この問題点を克服するため、半透膜性のカプセルに細胞を封入して移植する方法を考案した。カプセル内への酸素、栄養素の供給は自由であり、移植細胞が作る神経伝達物質や神経栄養因子も膜を通過してカプセル外に出ることができる。その一方で、分子量の大きな抗体や免疫細胞は膜を通過しない。万一細胞が腫瘍化しても、脳内への浸潤を防ぐことができる。さらにカプセルには紐が付いており、これを引くことでカプセルを取り出すことも可能である。しかし、この方法は臨床応用には至らなかった。

1995年に、米国において胎児黒質ドパミン細胞の移植研究が再開され、二重盲検比較試験でその有効性が試された。その結果、60歳未満の若年症例では有効、60歳以上の症例では無効との結論が得られた。若年発症例は比較的少量のドパミン補充で効果が得られることから、細胞移植の効果も得やすかったのであろう。ところが、移植後1年目に有効性が確認された症例が、2年目には薬効の切れたOFFにおいてもジスキネジアで悩まされることになった³⁾。このgraft-induced dyskinesiaの原因として、移植片に含まれていたセロトニン細胞の影響が推察されている⁴⁾。さらに、2008年には、胎児黒質ドパミン細胞の移植を受けたパーキンソン病患者の剖検例が報告された。移植されたドパミン細胞は長期に渡って生存することが確認されたが、移植細胞にもLewy小体が出現していた⁵⁾。すなわち、移植された細胞

も、患者脳の環境下では、パーキンソン病変化を免れないことが明らかとなった。パーキンソン病のプリオン仮説の原点とも言える発見であった。

D. 考察

これまでのパーキンソン病の細胞移植治療は、線条体にどのような細胞を移植するかを模索し続けてきた。自己副腎や交感神経節の細胞、細胞工学で人工的に作った細胞株、胎児の黒質ドパミン細胞など、様々な細胞の移植が試みられたが、今のところ実用化された治療法はない。現在注目されているのは fetal brain neural stem cell, bone marrow-derived stromal cell や mesenchymal stem cell, embryonic stem cell (ES 細胞), iPS 細胞などの未分化細胞である。特に iPS 細胞は拒絶反応や倫理的問題を回避できるため、注目を集めている。

E. 結論

残念ながら、パーキンソン病に対する細胞移植治療は、これまでのところ有効な治療手段として臨床応用されるには至っていない。未分化細胞を用いる研究も進んでいるが、特定の種類の神経細胞への分化誘導や、腫瘍化の問題など、様々な問題が存在するのも事実である。これらの問題を乗り越えて、細胞移植が新たな治療法として確立することを期待したい。

F. 文献

- 1) Björklund A, et al: Brain Res 177, 555-560, 1979
- 2) Madrazo I, et al: N Engl J Med 318, 51, 1988
- 3) Olanow CW, et al: Ann Neurol 54, 403-414, 2003
- 4) Politis M, et al: Mov Disord 26, 1997-2003, 2011
- 5) Li, et al: Nat Med 14, 501-503, 2008

iPS 細胞移植による治療の展望

森実飛鳥¹⁾

土井大輔¹⁾, 菊地哲広¹⁾, 高橋 淳^{1) 2)}

1) 京都大学再生医科学研究所, 2) 京都大学 iPS 細胞研究所

ヒト由来 ES 細胞、iPS 細胞から分化誘導されたドーパミン (DA) 神経は、パーキンソン病に対する薬剤スクリーニングのツールや移植治療の細胞ソースとしての臨床応用が期待される。

本発表では iPS 細胞から DA 神経を高率に分化誘導する技術、動物モデルへの移植の研究について自験例を示すとともに、最近の研究動向の概説を行った。

A. 研究目的

パーキンソン病 (PD) に対する細胞移植治療では胎児組織を用いた臨床試験が行われた歴史があり、患者を選べば一定の効果がある事が示されてきた。ドナーソースとしての問題や一部の副作用のために胎児移植は一般化した治療となるには至っていない。一方でヒト多能性幹細胞 (ES細胞、iPS細胞) を用いたパーキンソン病に対する細胞移植治療が次世代の治療として期待されている (文献1)。我々は臨床応用を前提としてサルPDモデルを用いてES細胞、iPS細胞から誘導した神経細胞を移植し検討した。

B. 研究方法

多能性幹細胞からのドーパミン (DA) 神経誘導法には大きく 2 つの系がある。一つは PA6 などの feeder 細胞を用いた共培養系 (SDIA 法) である。もう一つは sphere 培養という細胞凝集体を浮遊培養し分化させていく系 (SFEBq 法) である (文献 2)。本研究では多能性幹細胞由来 DA 神経をカンクイザル PD モデルの線条体に移植した (文献 4, 5)。ドナー細胞は ES 細胞からは SDIA 法変法で、iPS 細胞からは SFEBq 法で DA 神経を誘導した。それぞれ分化誘導の日数を 28 日から 42 日まで数群に分けて移植した。サルの PD

モデルは MPTP を経静脈投与することにより作成した。移植前にサル脳の CT, MRI を撮影し、定量的に移植部位 (線条体) を決定し、ハミルトンシリンジを用いて細胞を注入した。行動解析 (スコア評価とビデオによる客観的評価) および画像解析 (MRI と PET) により経過観察を行い、半年~1 年後に組織学的検討を行った。

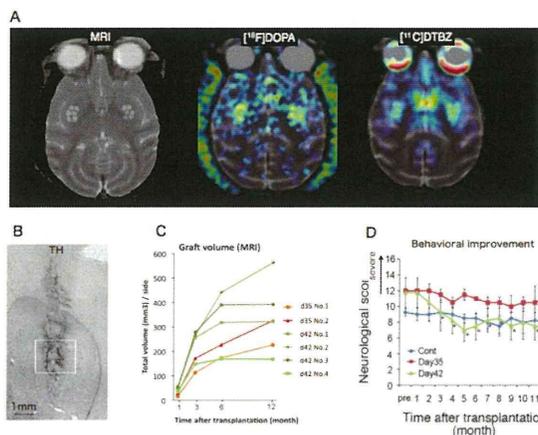
ヒト ES 細胞の使用に関しては、京都大学医の倫理委員会および文部科学省からの承認を得ている。また、iPS 細胞の遺伝子組換え実験および動物への細胞移植実験に関しては、それぞれ京都大学組換え DNA 実験安全委員会、iPS 細胞研究所動物実験委員会からの承認を得ている。それらの規則を遵守し、実験をおこなった。

C. 研究結果

1. ES 細胞からのドーパミン神経の移植 (文献 4)
MRI にて移植片は T2 高信号域として認識された。移植片は MRI 上、緩徐に増大したが、いずれも mass effect は認めず 1 年後にはほぼ安定化していた (図 1 A, C)。特に 42 日間の分化誘導を行ったドナー群では 6 ヶ月でほぼ増殖は停止した (図 1 C)。PET では移植片に一致して ¹⁸F-DOPA と ¹¹C-DTBZ の hot spot が確

認された(図 1 A)。組織学的検査では生着した移植片内にチロシン水酸化酵素 (TH) 陽性の DA 神経細胞が確認された(図 1 B)。スコア評価による機能評価では 42 日の分化誘導群で、移植後 3 ヶ月目から行動改善が認められ、少なくとも 1 年は効果が持続した(図 1 D)。

図 1

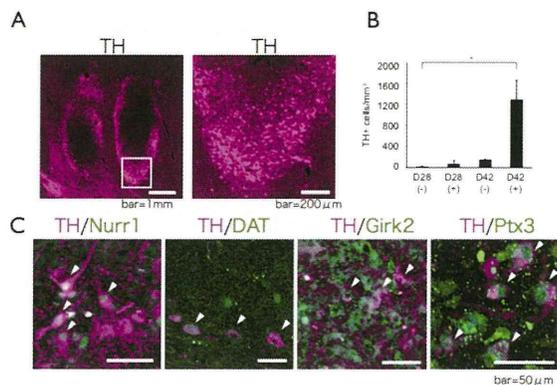


A) ES 細胞由来ドーパミン神経移植後 1 年の MRI, PET 像。B) TH 抗体による脳切片の免疫染色像。C) MRI 評価による移植片の大きさの時間経過。D) 神経スコアによる行動改善の経過。

2. iPS 細胞由来ドーパミン神経細胞の移植(文献 5)

ヒト iPS 細胞から SFEBq 法で 28 日、42 日間の分化誘導を行い DA 神経を誘導した。移植後 6 ヶ月の評価を行ったところ、42 日間の誘導のものでは多数(1200 個/mm³)の TH 陽性細胞が生着していた。生着した TH 陽性細胞は DA 神経の他のマーカーである Nurr1, DAT, Girk2, Ptx3 など共発現していた(図 2)。半年の観察では有意な行動改善のデータは得られていない。

図 2



A) 移植後半年の組織像 (TH 抗体による免疫染色像)。B) TH 陽性細胞の生着細胞数。C) 他の抗体による免疫染色 (二重染色)。

D. 考察

移植片の増大は分化誘導期間の長いものでは問題とはならなかった。良好な DA 神経の生着が認められれば、行動改善も期待出来る事が示唆された。移植後の行動改善の経時的な変化は、先に行われた胎児中脳細胞移植の臨床データと似たパターンを示した。臨床応用の前に解決すべき課題として、1. 安全な iPS 細胞の樹立、2. 腫瘍化の回避策の確立、3. 細胞ソース (自家移植か細胞バンク化による他家移植か)、4. その他の胎児移植からの課題がある。1. 安全な iPS 細胞の樹立法としてはオリジナルの山中 4 因子をレトロウイルスで繊維芽細胞に導入するという方法からだいぶ進歩が見られている。現在ではエピソーマルベクターを用いて、ゲノムへの挿入なしに iPS 細胞を樹立することができ、さらに使用する遺伝子も癌遺伝子である c-Myc を使わずに、しかも効率良く樹立できる遺伝子の組み合わせが見つかっている(文献 3)。皮膚の繊維芽細胞だけではなく、最近では末梢血から iPS 細胞を樹立する技術が確立されつつある。さらに臨床応用を目指して、培養方法や培養液も工夫され、ヒト以外の動物種成分を用いない(xeno-free)方法で iPS 細胞の樹立、維持の方法が確立されつつある。2. 腫瘍化については癌、奇形腫、神経系の overgrowth 等の様々なタイプの腫瘍化がある。我々は FACS を用いたソーティング技術を

用いる事で、より純度の高い細胞集団を移植することで腫瘍化を抑制することに成功しつつある。3. 細胞ソースについては患者の HLA に適合した移植細胞を準備できるようにマスターストックを作る方向で考えられている。ただし、感染などのリスクを考えると、臨床応用の始めの数例では自家移植の方が実現化のハードルが低いと考えられる。一方で疾患感受性の高いであろうと考えられる自家細胞が移植に適するのかが、という議論もある(文献6)。4. 胎児組織を用いた細胞移植にまつわる問題点については TRANSEURO というヨーロッパを中心としたプロジェクトで以前よりも条件をしぼり、胎児細胞移植の臨床研究を再び行うという動きがある。こちらについてもポジティブな結果を期待したい。

我々はドナー細胞の質の改善、異種動物材料の排除、腫瘍化のリスク低減を含めた安全性の担保などの課題をクリアーしながら着実に臨床応用へと研究を進める予定である。

E. 結論

ES 細胞、iPS 細胞を用いた細胞移植治療は各分野で臨床応用目前の所まで来ている。パーキンソン病は胎児細胞移植の臨床実績があり、神経系の分野では第一の候補疾患と考えられる。

F. 文献

1. Morizane A et al. Cell Tissue Res 323-36, 2008
2. Morizaen A et al. J Neurosci Res 117-26, 2011
3. Okita K et al. Nat Methods 409-412, 2011
4. Kikuchi T et al. J Parkinson Dis 395-412, 2011
5. Doi D et al. Stem Cells 935-945, 2012
6. 森実ほか Brain Nerve 29-37, 2012

II. 研 究 報 告

2012年度 神経変性疾患に関する調査研究【班会議プログラム】

<< 12月14日(金)【1日目】 >>

時間	番号	演題名	演者・研究分担者
10:00		研究代表者挨拶	
10:05		厚生労働省疾病対策課御挨拶	
	A1		座長:服部信孝
10:10	1	α -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	水田 依久子・戸田 達史
10:25	2	α -synucleinの凝集機構の解析	望月 秀樹・望月 秀樹
10:40	3	p62/SQSTM1依存的な α -シヌクレイン封入体のオートファジークリアランス	渡邊 義久・徳田 隆彦
10:55	4	パーキンとChPFファミリーの機能連関	三ツ井 貴夫・梶 龍児
11:10	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	安藤 真矢・服部 信孝
	A2		座長:戸田達史
11:25	6	パーキンソン病(PD)のモデルマウスに対する γ グロブリン大量腹腔内投与(IPIG)の効果について	中西 一郎・三輪 英人
11:40	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	金尾 智子・服部 信孝
11:55	8	Park8患者脳脊髄液におけるビオプテリン代謝-その2	一瀬 宏・長谷川 一子
12:10	9	パーキンソン病における血中Neuregulin-1 SMDFの検討	濱 結香・佐々木 秀直
12:25	10	レビー小体型認知症の血清バイオマーカーの検討	中下 聡子・中島 健二
12:40~13:25		昼食、事務連絡	
	A3		座長:饗場郁子
13:25	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	藤本 健一・藤本 健一
13:40	12	STN-DBS後に生じた構音障害の病態と治療への展開	坪井 崇・祖父江 元
13:55	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	山本 敏之・村田 美穂
14:10	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および嗅覚試験との比較	山中 義崇・桑原 聡
14:25	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	新藤 和雅・瀧山 嘉久
	A4		座長:長谷川一子
14:40	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—多施設臨床試験、中間報告	柏原 健一・柏原 健一
14:55	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	村松 慎一・村松 慎一
15:10	18	日常診療時のlevodopa、アゴニストの血中動態の検討—併用薬、剤型、食事についての検討—	西川 典子・野元 正弘
15:25	19	尿酸と神経保護作用—イノシンを用いた実験的研究—	久保 円・野元 正弘
15:40	20	Lewy小体病における生命予後と機能予後	横川 ゆき・饗場 郁子
15:55~16:10		コーヒーブレイク	
	A5		座長:村山繁雄
16:10	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	伊藤 慎治・村山 繁雄
16:25	22	PSP-PNLA:自験3例の臨床病理学および生化学的検討	豊島 靖子・高橋 均
16:40	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	饗場 郁子・饗場 郁子
16:55	24	CBD 35例における側頭葉病変の病理学的検討	辰己 新水・吉田 眞理
17:10	25	DNAJB6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	矢部 一郎・佐々木 秀直
	A6		座長:祖父江 元
17:25	26	ハンチントン病の自然史-自験例から	長谷川 一子・長谷川 一子
17:40	27	有棘赤血球舞踏病における神経変性の分子機構	中村 雅之・佐野 輝
17:55	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	陸 雄一・祖父江 元
18:10	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	相澤 仁志・郭 伸

2012年度 神経変性疾患に関する調査研究【班会議プログラム】

<< 12月15日(土)【2日目】 >>

時間	番号	演 題 名	演 者	研 究 分 担 者 研 究 協 力 者
	B1		座長:桑原 聡	
9:00	30	hypothenar MUNEへの遠隔電場電位の混入:SBMAでの検討	東 原 真 奈・園 生 雅 弘	
9:15	31	hypothenar MUNEの表面MUPの起源	河 村 保 臣・園 生 雅 弘	
9:30	32	筋萎縮性側索硬化症におけるfasciculation potential(第2報);その出現様式および生命予後との関連	清 水 俊 夫・清 水 俊 夫	
9:45	33	ALSにおける酸化ストレスセンサーの機能不全	佐 藤 恒 太・阿 部 康 二	
10:00	34	新しいALS/SCA crossroad mutation Asidanの新しい嚙下評価	山 下 徹・阿 部 康 二	
	B2		座長:青木正志	
10:15	35	成人発症の脊髄性筋萎縮症におけるSMN遺伝子コピー数の解析	久 保 祐 二・斎 藤 加 代 子	
10:30	36	東北大学における家族性ALS遺伝子解析について	加 藤 昌 昭・青 木 正 志	
10:45	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	石 浦 浩 之・辻 省 次	
11:00	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	瓦 井 俊 孝・梶 龍 兒	
11:15~11:25		ブレイク		
	B3		座長:水澤英洋	
11:25	39	FOSMN症候群の3症例およびTDP43を伴う病理所見	園 田 啓 太・吉 良 潤 一	
11:40	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	小 阪 崇 幸・高 橋 均	
11:55	41	ALSにおけるBTBD10蛋白発現についての病理学的検討	古 田 夏 海・岡 本 幸 市	
12:10	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	和 泉 唯 信・梶 龍 兒	
12:25	43	紀伊半島 ALS-parkinsonism-dementia家系症例の臨床と病理像の対比	葛 原 茂 樹・葛 原 茂 樹	
12:40~13:25		昼食、事務連絡		
	B4		座長:小野寺 理	
13:25	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	町 田 明・水 澤 英 洋	
13:40	45	ALSにおけるGEM小体の異常:SMNとの関連	石 原 智 彦・小 野 寺 理	
13:55	46	ALSおよびmSOD1(G93A)-Tgマウスの前角細胞におけるhypoxia-inducible factor-1 α の核細胞質輸送障害	長 柄 祐 子・吉 良 潤 一	
14:10	47	ALS-FUSモデルショウジョウバエの解析	東 裕 美 子・徳 田 隆 彦	
	B5		座長:園生雅弘	
14:25	48	軸索イオンチャネル機能からみたALSの病態:チャンネル調整薬の臨床試験に向けて	澁 谷 和 幹・桑 原 聡	
14:40	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を用いた臨床研究	小 久 保 康 昌・小 久 保 康 昌	
14:55	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	村 上 学・高 橋 良 輔	
15:10	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	渡 辺 保 裕・中 島 健 二	
15:25~15:40		コーヒーブレイク		
	B6		座長:中島健二	
15:40	52	臨床調査個人票を用いたALSの疫学研究	土 井 由 利 子・土 井 由 利 子	
15:55	53	進行期筋萎縮性側索硬化症患者における意志伝達障害の予測因子に関する検討	中 山 優 季・清 水 俊 夫	
16:10	54	ZNF512B遺伝子はALSの予後規定因子である	手 塚 修 一・中 野 今 治	
16:25	55	ALSにおける馬尾神経造影MRIについての検討	関 口 兼 司・戸 田 達 史	
16:40		研究代表者挨拶		

1演題:発表10分+討論5分(時間厳守でお願いします) *両日とも昼食をご用意しております

総括研究報告

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

研究分担者：38 名 研究協力者：8 名

I. はじめに

「神経変性疾患に関する調査研究班」（変性班）は、難治性疾患克服研究事業（厚生労働省）において、運動ニューロン病 MND の 4 疾患（筋萎縮性側索硬化症 ALS、球脊髄性筋萎縮症 SBMA、脊髄性筋萎縮症 SMA、原発性側索硬化症 PLS）、Parkinson 病関連の 3 疾患（Parkinson 病 PD、進行性核上性麻痺 PSP、大脳皮質基底核変性症 CBD）、舞踏運動の 2 疾患（Huntington 病 HD、有棘赤血球舞踏病 ChA）および脊髄空洞症 SM の 10 疾患の調査・研究活動を行っている。このうち、ALS、SBMA、SMA、PD、PSP、CBD、HD の 7 疾患が特定疾患治療研究事業対象疾患（公費対象疾患）である。

2011 年度に続いて、「病態に根ざした ALS の新規治療法開発」分科班（ALS 分科班：青木正志分科班研究代表者）と連携して研究を行った。

II. 研究目標

- 【1】治療法の開発：最大目標である神経変性疾患の根治療法を開発を目指す。原因遺伝子が見出された疾患に於いてさえ、発病のメカニズムは未だ不明である。このような現況下、疾患を見据えた基礎研究を積み上げて行くのが、地道ではあるが正攻法と思われ、基礎的研究を続行した。その一方で、現に難病に侵された患者・家族に対しては、その苦痛を少しでも緩和できるような対症療法の改善・開発を目指した。PD では、数多くの有効薬物が開発され、外科治療も保険適応になっているものの進行自体は抑えることが出来ず、ついには臥床状態になる。一方、PSP と CBD に奏効する薬物は見出されておらず、このような患者・介護者には ADL/QOL の視点からの支援が必要である。HD では、当班班員による評価基準日本語版のバリデーションを基にテトラベナジンの治験が実施され、商品名コレアジンで承認された。Riluzole が唯一の承認薬である ALS に対しても治験が行われており、班員の多くが貢献している。
- 【2】調査研究：疫学調査から得られる種々のデータ（発症年齢、発症様式、進行状況、重症度、経過、予後規定因子）は、疾患の原因・病態の解明に貢献し、患者の実態把握に必須であり、疫学研究は当班の大きな柱である。この資料は医療施策に生かすことが可能で、ひいては患者の福祉向上へとつながる。当班班員を主要構成員とする Japanese

Consortium of Amyotrophic Lateral Sclerosis (JaCALS) (事務局 名古屋大学医学部神経内科) により行われている ALS の前向き試料収集は世界にも類のない貴重なコホート研究である。JaCALS では経時的臨床情報収集と遺伝子試料を集積しており、その活用は全ての研究者に開かれている。さらに、鳥取大学神経内科を中心にして独立行政法人医薬基盤研究所と連携して、パーキンソニズム (PSP と CBD が主目標) の生体試料収集を開始した。今年度は本件に関する追加交付金も付与され、2月24日に更に推進するための会合を東京で開催した。また、ALS の臨床調査個人票を用いた疫学研究も実施した。

- 【3】 診断・認定基準、機能評価方法の改善：実現性の高い治療法は病態抑止療法である。神経疾患は運動機能が損なわれる疾患であるので、治療効果判定には運動機能障害の進行を抑制することの証明が必要であり、正しい機能評価法の確立が求められる。日常生活での動作は欧米と日本人では大きな違いがあることから、欧米の機能評価方法をそのまま日本人に適用することは出来ず、日本人の生活に適した評価法を作成する必要がある。Huntington 病評価法 (Unified Huntington Disease Rating Scale: UHDRS) 日本語版の validation を実施し、テトラベナジン治験につなげた。治験薬の効果を正しく見極めるには、均一な症例を選ぶ必要があり、特に進行の速い ALS では正確な早期診断法の開発が不可欠である。そのためには、客観的な判定に使えるサロゲートマーカーの発見が重要であり、この方面の研究にも力を入れた。
- 【4】 疾患マニュアル、ガイドライン作成：PSP マニュアル第三版を発刊し、班員、患者会に配布した。Huntington 病マニュアルもほぼ完成し、近々出版予定である。また、変性班班員が数多く参加して、「ALS 診療ガイドライン」の作成に貢献した。この原稿はほぼ集まり、来年度中には発刊の予定である。

III. 今年度の研究成果

【I】 Parkinson 病 (PD) と関連疾患

1. 基礎

1) 遺伝子

- (1) *SNCA* 感受性遺伝子の発現解析：PD の感受性遺伝子である *SNCA* の重複回数が増えると PD 症状が重篤になることから、孤発性 PD でも *SNCA* の高発現が疾患感受性をもたらすと考えられる。PD 剖検脳と、*SNCA*3' -flanking SNP rs356219 の protective allele の転写因子を強制発現させた培養細胞にて *SNCA* 発現を検索した。rs356219 の位置は antisense ncRNA の intron であることから、この ncRNA についても解析した。培養細胞では ncRNA 発現は著明に増強したものの *SNCA* 発現には影響しなかった。剖検脳では rs356219 の disease allele と ncRNA 発現とは関連しなかったが、*SNCA* と ncRNA 発現レベルは強い正の相関を示し、両者の関連が示唆された。
- (2) 日本人の *VPS35* 変異：常染色体性優性遺伝性 PD (ADPD) の新規原因遺伝子である *VPS35*