

D. 考察

白木、八瀬らは、Guamanian 及び Kii ALS/PDC において、多核かつ異常局在を示すプルキンエ細胞が存在すると報告した。三室らは、Kii ALS/PDC では主として歯状核に NFT が出現すると報告している。今回の検討では、Kii ALS/PDC 患者小脳での広範な AT-8 陽性所見の分布を確認し、これまでに一部の進行性核上性麻痺症例にのみ報告のあるプルキンエ細胞におけるリン酸化タウの蓄積を認めた。また、多彩なグリア病変も合わせて存在することを確認した。

E. 結論

Kii ALS/PDC における特異な小脳病変を報告した。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kai H, Shin RW, Ogino K, Hatsuta H, Murayama S, Kitamoto T. Enhanced antigen retrieval of amyloid β immunohistochemistry: re-evaluation of amyloid β pathology in Alzheimer disease and its mouse model. *J Histochem Cytochem*. 2012 Oct;60(10):761-9.
2. Ishiura H, Sako W, Yoshida M, Kawarai T, Tanabe O, Goto J, Takahashi Y, Date H, Mitsui J, Ahsan B, Ichikawa Y, Iwata A, Yoshino H, Izumi Y, Fujita K, Maeda K, Goto S, Koizumi H, Morigaki R, Ikemura M, Yamauchi N, Murayama S, Nicholson GA, Ito H, Sobue G, Nakagawa M, Kaji R, Tsuji S. The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement. *Am J Hum Genet*. 2012 Aug 10;91(2):320-9.
3. Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, Murayama S, Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K, Suzuki T.

Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and A β generation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2012 Oct 3;7:50.

4. Tsuji H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, Murayama S, Akiyama H, Hasegawa M, Mann DM, Tamaoka A. Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain*. 2012 Nov;135(Pt 11):3380-91.
5. Kakuda N, Akazawa K, Hatsuta H, Murayama S, Ihara Y; The Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Suspected limited efficacy of γ -secretase modulators. *Neurobiol Aging*. 2013 Apr;34(4):1101-1104.
6. Murayama S, Saito Y. [Prognosis of amyotrophic lateral sclerosis in relation with pathological pattern of propagation]. *Rinsho Shinkeigaku*. 2012;52(11):1066-7.
7. Hasegawa M, Nonaka T, Suzukake M, Tsuji H, Tamaoka A, Yoshida M, Murayama S, Arai T, Akiyama H. [Prion-like protein propagation in neurodegenerative diseases]. *Rinsho Shinkeigaku*. 2012;52(11):1325-6.
8. Kokubo Y, Nomura Y, Morimoto S, Kuzuhara S. Cardiac ^{125}I -meta-iodobenzylguanidine scintigraphy in patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan. *Parkinsonism Relat Disord* 2012;18:306-8.
9. Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S. -Synuclein

pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex in the Kii Peninsula, Japan. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Jul;71(7):625-30.

10. Kamiya H, Murayama S, Funabe S, Saito Y, Fukuda T. [An 87-year-old Man with Mild Cognitive Impairment, Accompanying Possible Drug-induced Parkinsonism]. *Brain Nerve*. 2012 Dec;64(12):1435-42.
11. Tuiji H, Iguchi Y, Furuya A, Kataoka A, Hatsuta H, Atsuta N, Tanaka F, Hashizume Y, Akatsu H, Murayama S, Sobue G, Yamanaka K. Spliceosome Integrity is Defective in the Motor Neuron Diseases ALS and SMA. *EMBO Mol Med*. 2012 Dec 19.

2.学会発表

1. Morimoto S, Kokubo Y, Hasegawa M, Shigeki K, Murayama S:
Immunohistochemical study and western blotting of tauopathy in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/ parkinson dementia complex (PDC), Kii, Japan. *JNEN 2012* [Annual Meeting of the American Association for Neuropathologists, Cicago]
2. Murayama S, Morimoto S, Kokubo Y, Kihira T, Yoshida Y, Yoshida M, Takahashi H, Kuzuhara S: Establishment of pathology center for amyotrophic lateral sclerosis/ parkinson disease complex in Kii Peninsula. *The Journal of the Alzheimer's Association*, 2012 [Alzheimer's Association Internatinal Confernce 12th, Vanccouver].

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

特記事項なし

患者脳に蓄積する異常蛋白質の組織病理、生化学解析

研究分担者：長谷川成人¹⁾

研究協力者：村山繁雄²⁾、小久保康昌³⁾、葛原茂樹⁴⁾

¹⁾ 公益財団法人 東京都医学総合研究所 ²⁾ 東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク

³⁾ 三重大学 医学部 神経内科 ⁴⁾ 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部

研究要旨（10 ポイント程度）

2012年に剖検となった Kii-PDC 患者 2 例の凍結脳 から胸髄と大脳皮質の細胞内異常タンパク質の病変について免疫組織、生化学解析を行った。2012-2, 2012-3 のいずれの症例においても、大脳皮質および胸髄の神経細胞にリン酸化 α シヌクレインの蓄積が認められ、イムノブロット解析においても確認された。タウについては神経細胞やグリア細胞に陽性所見が認められたが、2012-2 例では血管周囲のグリア病変が目立っていたが、生化学解析から 6 種類のタウの蓄積の可能性が示唆された。一方、いずれの症例においても今回解析した組織においては TDP-43 の異常は検出できなかった。二例の症例については α シヌクレインとタウの病変が臨床症状に関係している可能性が考えられる。

以下すべて 10 ポイント程度

A.研究目的

三重県南部に多発する認知症・パーキンソン症候群の発症、病態形成機構を解明するため、2012年に剖検となった 2 例の患者脳、脊髄の細胞内異常タンパク質の病変を免疫組織、生化学解析に解析する。

B.研究方法

免疫組織染色は、凍結脳の一部をホルマリン固定後、ビブラトーム切片を作製し、免疫組織染色を行った。生化学解析は、凍結脳からサルコシル不溶性画分を調製し、電気泳動後、イムノブロット解析した。タウに関しては、不溶性画分の一部を 6M グアニジン塩酸に可溶化、透析後にアルカリホスファターゼ処理による脱リン酸化を行い、蓄積タウのアイソフォーム構成を調べた。用いた抗体は、リン酸化タウを検出する AT8 と pS396、非リン酸化タウを検出する HT7 と T46、リン酸化 α シヌクレインに対する抗体 mAb PS129、リ

ン酸化 TDP-43 を検出する抗体 mAb pS409/410 である。

(倫理面への配慮)

剖検脳の免疫組織、生化学解析については東京都医学総合研究所の倫理委員会に申請を提出して承認をうけ、実験指針に従って行った。

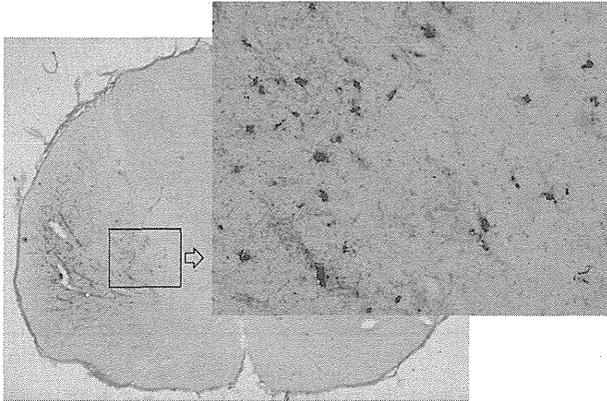
C.研究結果

1. 症例番号 2012-2 (PDC)の免疫組織染色

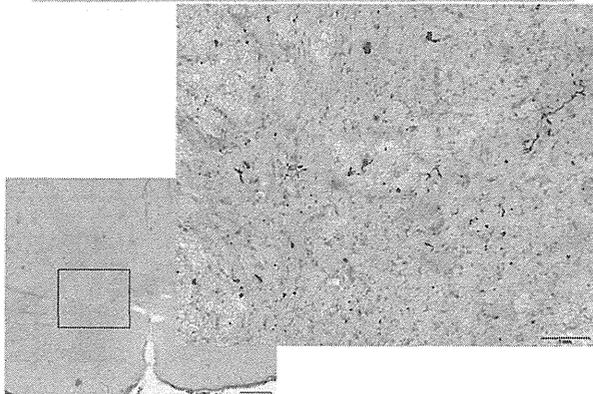
2012-2 例 (60 歳にパーキンソニズムで発症され、72 歳で亡くなられた女性、大家系の 1 員) について、側頭葉、胸髄の免疫組織染色を行った。側頭様、胸髄とも一部の血管周囲のグリア細胞が AT8 強陽性を示し、加えて白質に astrocytic plaque 様の病変が観察された。また灰白質には神経細胞内のタウ病変(NFT)も観察された。また、多数のリン酸化 α シヌクレイン陽性の皮質型レビー小体やレビー突起と思われる病変が皮質及び胸髄の灰白質に認められた。

一方、TDP-43 の異常病変は今回調べた組織においては検出できなかった。

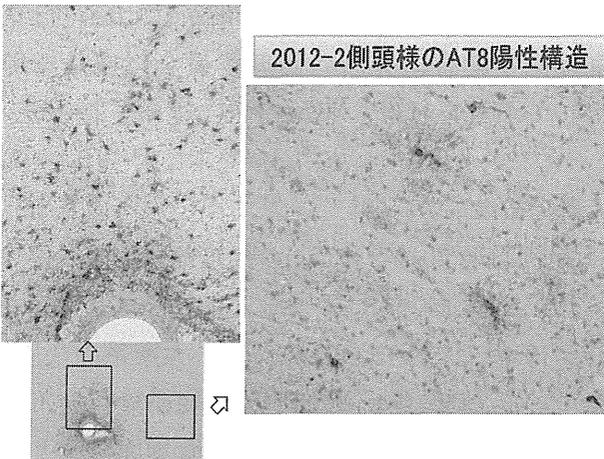
2012-2胸髄のAT8陽性構造物



2012-2胸髄のリン酸化αシヌクレイン陽性構造物

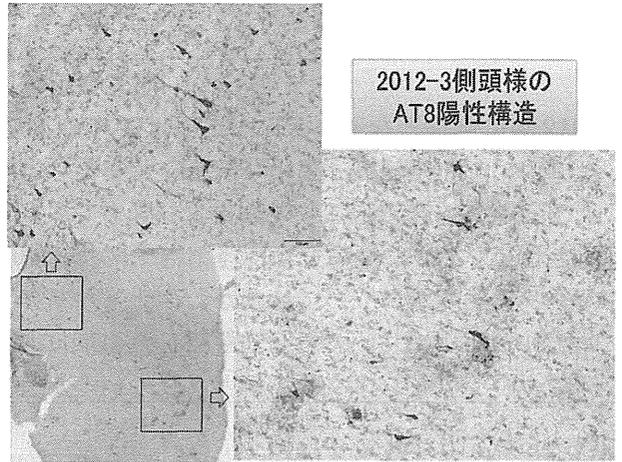


2012-2側頭様のAT8陽性構造物

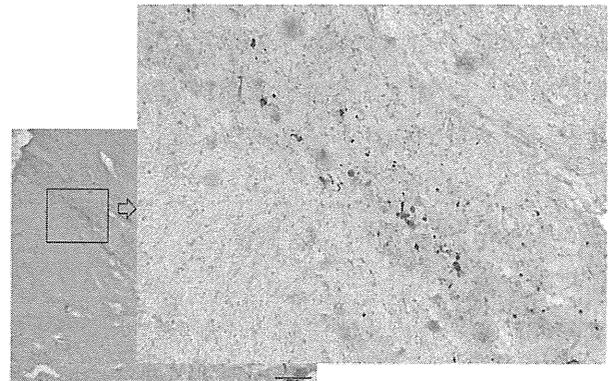


2012-2 例のような血管周囲のグリアのタウ病変は明らかではないが、側頭様の白質に astrocytic plaque 様のタウ陽性構造物が多数認められ、また神経細胞にも多数の NFT が観察された。胸髄のタウ病変はごく少数の神経細胞に認められるのみであった。一方、リン酸化αシヌクレインの病変は側頭様だけでなく、胸髄の神経細胞においても強く認められた。TDP-43 の異常所見は側頭様、胸髄のいずれにおいても検出できなかった。

2012-3側頭様のAT8陽性構造物



2012-3 胸髄のpSyn (PS129)陽性構造物



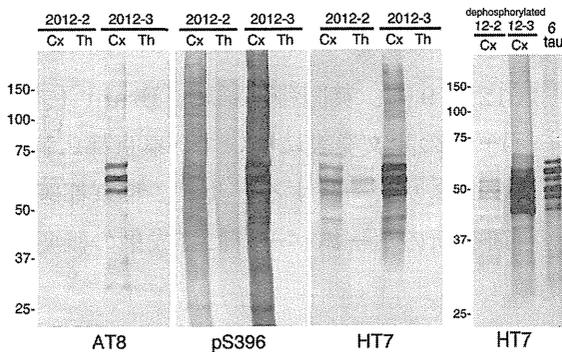
2. 症例番号 2012-3 (PDC)の免疫組織染色

2012-3 例 (60歳にパーキンソニズムで発症され、75歳で亡くなられた男性)について、同様に側頭葉、胸髄の免疫組織染色を行った。

3. 蓄積タンパク質の生化学解析

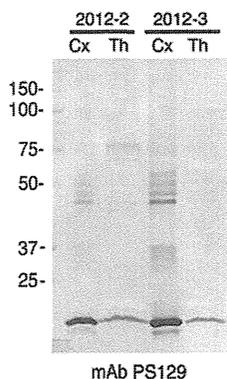
2012-2, 3 の凍結組織より、サルコシル不溶性画分を調製し、電気泳動後、抗タウ抗体、あるいは抗リン酸化αシヌクレイン、抗 TDP-43 抗体にてイムノブロット解析を行った。その結果、2012-3 の側頭葉に AT8, HT7 で強い AD-type のリン酸化タウバンド(60, 64, 68kD のトリプレッ

ト)が観察され、2012-2 の側頭様でも HT7 で類似のバンドが検出された。また 2012-2 胸髄にも弱いながら pS396, HT7 で陽性所見が観察された。2012-2, 3 の側頭様のタウに関してはアルカリホスファターゼ処理による脱リン酸化を行ったところ、HT7 にて 3 リPEAT タウ及び 4 リPEAT タウと同じ移動度のタウバンドが検出された。



一方、リン酸化 α シヌクレイン抗体によるイムノブロットでは、2012-2, 2012-3 のいずれの症例においても皮質に強い陽性バンドが検出され、胸髄にも弱いながら同様の陽性所見が検出された。高分子側にユビキチン化 α シヌクレインと思われるバンドも検出され、そのバンドパターンは DLB のそれと似ていると思われた

不溶性 α Syn のイムノブロット解析



一方、リン酸化 TDP-43 のバンドは検出されなかった。

D. 考察

今回解析した 2 例の PDC 症例(2012-2, 2012-3)

には、タウと α Syn の病変が確認されたが、TDP-43 の病変は検出できなかった。いずれの症例も神経細胞だけでなく、グリア細胞、特にアストロサイト内の蓄積と思われるタウ病変が共通に観察された。一方、 α Syn の蓄積は神経細胞内に限られているように見えた。

生化学解析から、蓄積タウのバンドパターンは AD 型を示し、3 リPEAT タウと 4 リPEAT タウの両方のアソフォームの蓄積が確認された。組織病理からはアストロサイトなどのグリア細胞内のタウ蓄積が目立つことから、4 リPEAT タウの蓄積が予想されたが、むしろ 3 リPEAT タウのバンドが強く検出された。グリア細胞内に蓄積するタウが 3 リPEAT タウを含むかどうかはアイソフォーム特異抗体などを用いて解析できれば明確になると思われるが、今回、3 リPEAT タウ特異抗体(RD3), 4 リPEAT タウ特異抗体(RD4)は、いずれもどの病変も染色せず、明らかにすることはできなかった。今後組織に様々な処理を施して、抗体のエピトープ露出した後で解析する必要があると思われる。

今回解析した組織には TDP-43 病変が認められなかった。一方、2 例とも α Syn 病変が側頭様皮質だけでなく、脊髄の神経細胞にも強く検出された。またタウ病変は 2 例とも皮質に強く検出されたが、2012-3 の脊髄には病変はごくわずかであった。以上のことは、解析部位の問題もあるかもしれないが、本症例に関しては、タウと α Syn の異常病変が臨床症状と関係していて、特にリン酸化 α シヌクレインの神経細胞内蓄積が脊髄の主要な病変である可能性が高いと考えられた。

E. 結論

今回解析した二例の PDC 患者(2012-2, 2012-3) の大脳皮質、胸髄にタウ、 α Syn の蓄積が検出されたが、TDP-43 の蓄積は確認できなかった。いずれの症例も神経細胞だけでなく、グリア細胞、特にアストロサイト内の蓄積と思われるタウ病変が共通に観察され、リン酸化 α Syn の蓄積も神

経細胞内に共通に観察された。生化学解析から、蓄積タウのバンドパターンはAD型を示し、6種類のアソフォームの蓄積が確認された。また、 α SynのバンドパターンはDLBのそれと同様と思われた。

F：健康危険情報

特になし

G：研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1：論文発表

1). Tsuji H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, Murayama M, Akiyama H, Hasegawa M, Mann DMA, Tamaoka A (2012). Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain* 135: 3380–3391.

2：学会発表

- 1) Hasegawa M, et al (2012) Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. The 8th International Conference on Frontotemporal Dementias, Manchester 2012/09/05.
- 2) Nonaka T, et al (2012) Intracellular seeding model reproduces characteristic feature of affected neurons in TDP-43 proteinopathy. The 8th International Conference on Frontotemporal Dementias, Manchester 2012/09/05.
- 3) Masuda-Suzukake M, Hosokawa M, Nonaka T, Hasegawa M (2012) Inoculation of recombinant alpha-synuclein fibrils can induce alpha-synuclein pathology in wild-type mice. The 8th International Conference on Frontotemporal Dementias, Manchester 2012/09/05.

H：知的所有権の取得状況（予定を含む）

1：特許取得

1) 神経変性疾患関連タンパク質の不溶性凝集体の増幅方法，野中隆，増田雅美，山下万喜子，秋山治彦，長谷川成人，
国際出願番号 PCT/JP2012/062794
国際出願日 2012/05/18

2：実用新案登録

なし

3：その他

2012年9月、英国科学雑誌「*Brain* (ブレイン)」での論文発表について、東京都広報部よりプレスリリースすると共に、東京都医学総合研究所のホームページにて成果の概要を掲載。
<http://www.igakuken.or.jp/research/topics/2012/0908.html>

三重県南部に多発する家族性認知症-パーキンソン症候群患者 からの iPS 細胞の樹立

研究分担者 江良 択実 熊本大学発生医学研究所 教授

研究要旨

人工多能性幹細胞(iPS細胞)は、皮膚由来の線維芽細胞に4つの初期化因子(Sox2, KLF4, Oct3/4, cMyc)を発現させ作製する。この細胞は試験管内で容易に増幅可能であり、さまざまな細胞を誘導し作り出すことができる。そこで解析に必要な細胞を作り出し研究することで、病気の発症機序や治療法の開発へ利用できると期待されている。皮膚生検サンプルから作製できるので、多くの疾患から作製可能である。iPS細胞樹立には、国内で開発されたセンダイウイルスベクター(SeVベクター)を用いる。この方法では、iPS細胞作製に用いる初期化因子が染色体に組み込まれないために、疾患研究により有用なiPS細胞を作製できる。本研究班の協力のもと、三重県南部に多発する家族性認知症-パーキンソン病4症例の皮膚生検サンプルを現在までに提供していただき、そのうちの3例から皮膚由来線維芽細胞を樹立した。このうちの2症例からiPS細胞を樹立した。

A.研究目的

人工多能性幹細胞(iPS細胞)は、皮膚由来の線維芽細胞や末梢血液細胞に4つの初期化因子(Sox2, KLF4, Oct3/4, cMyc)を発現させ作製した多能性幹細胞である。この細胞は試験管内で容易に増幅可能であり、さまざまな細胞を誘導し作り出すことができる。そこで患者由来のiPS細胞を樹立し、その細胞から病気の標的細胞を作り出して研究することで、病気の発症機序や治療法の開発へ利用できると期待されている。今回、難治性疾患の1つである三重県南部に多発する家族性認知症-パーキンソン病患者からiPS細胞の樹立を行った。

B.研究方法

1. iPS細胞樹立のための皮膚線維芽細胞の樹立

三重県南部に多発する家族性認知症-パーキンソン病患者の皮膚生検から、皮膚由来初代線維芽細胞

を樹立する。

2. SeVベクターを使ったiPS細胞の確立

SeVベクターによって患者由来線維芽細胞へ初期化因子(Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc)を一過性に発現させiPS細胞の樹立を行う。

樹立したiPS細胞については、1)アルカリフォスファターゼ染色 2)Nanog, Oct3/4, SSEA-4, TRA-1-60の免疫染色によるiPS細胞の確認を行う。さらに、未分化マーカーの発現をPCRにて確認する。

(倫理面への配慮)

1) 倫理審査

疾患由来のiPS細胞作製とその解析については倫理委員会ですでに承認済みである。また患者サンプルの提供については、提供機関の倫理審査委員会の承認があることを確認した後、研究を行う。

2) 人権擁護上の配慮

本研究は、個人ゲノムそのものの情報を得るわけではない。作製した iPS 細胞等を用いた病因解析・治療薬開発研究は本研究では行わない。また、研究の成果を学術雑誌に投稿することや、学会等で発表する場合、個人が特定される個人情報は公表されることはない。本研究のために特別に用意した番号によって管理し、人種・性別・年齢・診断名以外の患者情報はサンプル提供を行う臨床機関にて管理を行う。作製した iPS 細胞は所属機関において施錠できる研究室にて管理し、一般の人々やこの研究に関係ない他の研究者の目に触れることはない。したがって、iPS 細胞から個人の特定の情報につながることはない。また、ヒト iPS 細胞から個体を作製すること、ヒト胚への導入、ヒト胎児への導入、生殖細胞の作製は、行わない。

3) 不利益・危険性の排除や説明と同意

サンプル採取には、研究目的・予想される成果、患者情報の保護、予想される不利益等を同意書に記述している内容に準じて、担当医からの十分な説明の後(必要であれば代表申請者も同席して)、同意(インフォームド・コンセント)を得て行う。

皮膚由来線維芽細胞を得るための皮膚生検は通常の医学診療の範囲で行われている方法に準じて行う。痛みは、局所麻酔注射の時のみである。瘢痕は普通のけがの場合と同じである。以上より、危険性はほとんどない。

本研究による成果が知的財産権の対象になる場合もあるが、提供者に権利が帰属したり、利潤を得ることはない。サンプル提供者にご負担していただく必要経費はなく、また、サンプル提供による謝金・交通費の支給もない。研究にかかる費用については、研究費から支出する。

C. 研究結果

1. 皮膚由来線維芽細胞の樹立

患者からの同意が得られた 4 例の症例において皮膚生検を行い、うち 3 例から iPS 細胞作成に必要な皮膚由来の線維芽細胞を樹立した。残り 1 例は培養中に汚染があり破棄した。

2. iPS 細胞の樹立

症例から樹立した皮膚由来線維芽細胞を用いて iPS 細胞の作製を行った。線維芽細胞に初期化因子 (Oct3/4, Sox2, KLF4, c-Myc) を持つセンダイ・ウイルスを感染させ、感染後 1 週間目にマイトマイシンで処理したマウス胎仔初代線維芽細胞(MEF)上へまきなおした。

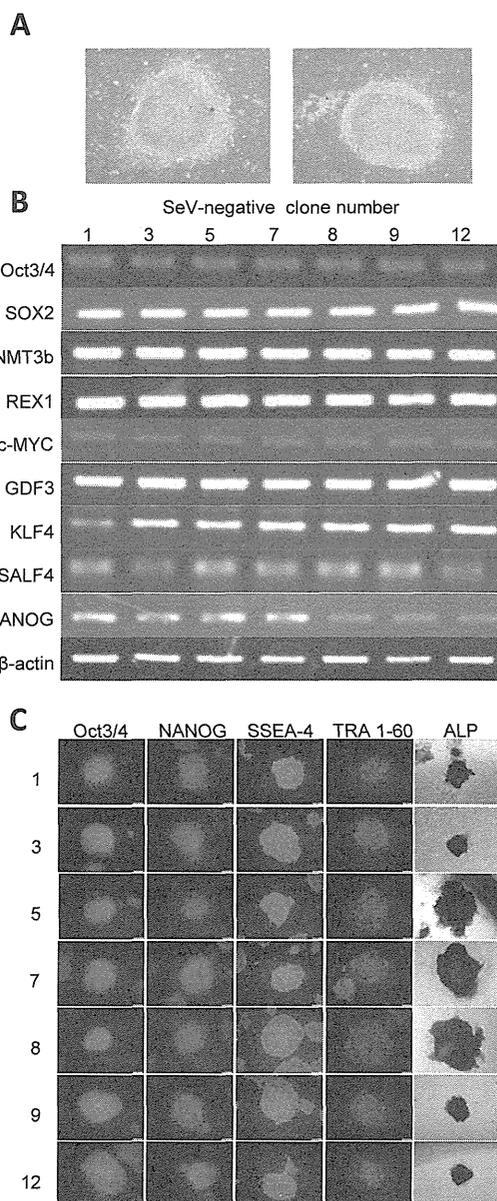


図1 樹立したiPS細胞

- A. iPS細胞のコロニー(明視野)、
B. 未分化マーカーの発現(RT-PCR)、
C. 未分化マーカーの発現(免疫染色)と
D. アルカリフォスファターゼ染色(ALP)

感染から14日後ぐらいからコロニーが出現した。感染から25日目にコロニーを顕微鏡下にてピックアップしそれぞれのクローンを培養、増幅した。その後、ウイルス除去のために培養の温度を38度へシフトさせた。用いたセンダイウイルスベクターは温度感受性株のために38度では増殖が停止し、結果としてウイルスベクターフリーのiPS細胞を得ることができる。PCRにてウイルス除去を確認した後、未分化マーカーの発現を免疫染色とRT-PCRにて調べ、iPS細胞であることを確認した。この研究で計2症例から10数株のウイルスベクターフリーのiPS細胞株を樹立した(図1)。

D. 考察

患者2例より皮膚由来の線維芽細胞を樹立し、その細胞を使ってiPS細胞樹立を行った。iPS細胞樹立の効率は特に健常者と変わりはなかった。この結果より、この疾患の異常はiPS細胞誘導や細胞のリプログラミングには影響を与えないことが示唆された。線維芽細胞樹立のためには生検が必要であり、樹立まで1ヶ月かかる。そこで、血液細胞あるいは血液細胞由来の細胞をiPS細胞作製のソースとすることで、生検を行わずに末梢血の採血でiPS細胞作製が可能となるために安全かつ容易に行える。

今後、作製したiPS細胞から神経細胞、特に運動神経を分化誘導し疾患の病態解析を行うで進めている。

E. 結論

患者3例より皮膚由来の線維芽細胞を樹立し、そのうち2例からiPS細胞を樹立した。樹立したiPS細胞は形態的にも、また、未分化マーカーの発現でもiPS細胞に矛盾することがなかった。したがって、iPS細胞が樹立されたと言える。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

1. 江良 択実 ES/iPS細胞の分化と臨床への応用 第115回 日本小児科学会学術集会 総合シンポジウム2 iPS細胞を利用した研究の展開 福岡 2012年4月20日
2. 江良 択実 iPS細胞研究の進展 第28回 日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会 特別講演 福岡 2012年4月21日
3. 江良 択実 初心者でも簡単。センダイウイルスベクターを使った外来因子フリー疾患由来iPS細胞の樹立とその応用 第11回 日本再生医療学会総会 ランチョンセミナー 横浜 2012年6月13日
4. Era, T. Study for iPS cells derived from intractable diseases 第18回日本遺伝子治療学会、Corporate Seminer II、熊本、2012年6月28日
5. Era, T. Studying the intractable diseases using pluripotent stem cells 第18回日本遺伝子治療学会、Symposium III、熊本、2012年6月29日

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし。

2. 実用新案登録

特になし。

3. その他

特になし。

牟婁病患者由来 iPS 細胞から運動ニューロンへの分化誘導

広川佳史¹⁾

¹⁾ 三重大学医学研究科腫瘍病理学講座

研究要旨

牟婁病患者由来 iPS から神経系の細胞に分化・誘導し、患者と同じ遺伝情報を持った神経系細胞を得る。iPS 細胞樹立は熊本大学発生医学研究所、江良拓実先生との共同研究により行う。それらの細胞を用いて病態の機序解明のため、現在までに神経変性疾患で提唱されている異常の検証を *in vitro* での実験により行う。

A.研究目的

牟婁病患者由来の iPS 細胞を分化誘導することで、運動神経やグリア細胞、ドパミン産生細胞を得ることができる。これらの分化誘導された細胞を用いれば、疾患モデルとして環境因子への脆弱性の検討や薬物の効果判定などが可能となる。本研究は病態解明の為の有効な材料を得ることが目的である。

B.研究方法

患者皮膚より線維芽細胞を採取、培養し、Yamanaka factor である 4 因子、Oct3/4、Sox2、Klf4、c-Myc をセンダイウイルスを用いて遺伝子導入して作製する。実際の作製作業は熊本大学発生医学研究所にて行う。

iPS 細胞から sonic hedgehog signal pathway の agonist と retinoic acid を用いて embryoid body を作成し、これが運動神経細胞の特徴を有することを確認する。得られた運動神経細胞を用いて、現在まで提唱されている ALS 発症機序が再現できるか検討する。

1) 疫学的環境因子の影響

グアムの類縁疾患の発症機序に、マグネシウムやカルシウム摂取の不足による異常タンパクの蓄積が指摘されている。患者由来と正常人由来の iPS より誘導された運動神経細胞を低マグネシウム、低カル

シウムの条件で長期培養し、タウ蛋白、 α -synuclein、TDP-43 蛋白の産生に差があるか検討する。

2) 小胞体ストレスのメカニズム

小胞体ストレスは、異常たんぱく質蓄積などにより、小胞体の機能に付加が生じ、神経変性疾患を引き起こすモデルと考えられている。

a) 小胞体ストレスを誘導する

N-glycosylation の阻害剤である、tunicamycin は古典的な小胞体ストレス誘導薬である。患者由来と正常人由来の iPS より誘導された運動神経細胞に、tunicamycin 処理を加えて小胞体ストレス関連因子である、Grp78 や XBP1 などの遺伝子発現に差があるか検討する。

小胞体のカルシウム恒常性の障害が、神経変性の病態として提唱されている。グルタミン酸受容体の過度の興奮が小胞体からのカルシウム放出を過剰にし、神経毒性を引き起こす。細胞をグルタミン酸で処理し、小胞体ストレス関連因子の発現差の有無を検討する。

3) 酸化ストレスのメカニズム

家族性 ALS には酸化ストレスの原因であるスーパーオキシドを消去する酵素、SOD1 遺伝子変異のあるものが報告されている。スーパーオキシドによる神経細胞死が ALS 発症の機序として提唱されている。

患者由来と正常人由来の運動神経細胞を過酸化水素で処理し、アポトーシスなどの細胞死に差があるか検討する。また低濃度の過酸化水素で細胞を長期間培養し、タウ蛋白、 α -synuclein、TDP-43蛋白の産生に差があるか検討する。

4) さらに、運動神経、グリア細胞、ドーパミン産生細胞のマーカーを用いて、embryoid bodyから、それぞれの分化細胞を得る。

最近では、ALS 発症機序に神経細胞単独ではなく、グリア細胞を含めた微小環境の関与が提唱されている。この仮説の検証のため、グリア細胞と運動神経細胞を共培養し、上記であげた項目について検討を行う。

(倫理面への配慮)

本研究では、患者からの試料の提供を受けるにあたって十分な informed consent を得る。研究計画は、事前に三重大学医学研究科の倫理委員会の承認を得ている。得られた個人情報については、法令等を遵守のうえ厳重に管理し、漏洩等のないように十分注意して研究を遂行する。

C.研究結果

4例の患者線維芽細胞から iPS 細胞が樹立された。iPS 細胞から運動ニューロンへの分化誘導は、理化学研究所より譲渡された正常ヒト iPS 細胞を用いて、*Nat Protoc.* 2009 ; 4(9): 1295-1304.にあるプロトコールに沿って行い、形態的および分化マーカーの発現から運動ニューロンへの分化が確認された。しかし患者由来の iPS 細胞からは神経細胞様の形態を持つものが誘導されたが、運動ニューロンの分化マーカー発現は認められなかった。

D.考察

牟婁病患者 iPS 細胞から運動ニューロンへの分化誘導の過程では正常 iPS 細胞とは異なる培養条件設定が必要と考える。

また別の方法による神経細胞分化について考察する。皮膚組織にも存在する幹細胞である Muse

細胞は iPS 細胞ほどではないが多分化能を有している。牟婁病患者の皮膚生検組織内にも少ないながらこの Muse 細胞は存在しているはずである。論文報告に従って患者皮膚線維芽細胞培養より Muse 細胞を単離し、神経細胞への分化誘導を試みることも検討する。

E.結論

運動ニューロンへの分化誘導が困難な場合、誘導がより容易なドーパミン産生ニューロンを用いて実験を行う必要がある。

Muse 細胞の培養系の確立が必要である。

F.健康危険情報

特になし。

G.研究発表

1. 論文発表

α -Synuclein pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex in the Kii Peninsula, Japan.

Kokubo Y, Hirokawa Y, Shiraishi T, Kuzuhara S. ほか

J Neuropathol Exp Neurol. 2012 Jul;71(7):625-30.

2.学会発表

本年度はなし。

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1.特許取得 本年度はなし。

2.実用新案登録 本年度はなし。

3.その他 特になし。

紀伊半島の家族性認知症-パーキンソン症候群における

エダラボンをを用いた臨床研究

主任研究者 小久保康昌¹⁾

研究協力者 森本 悟²⁾、中川十夢³⁾、宮崎光一³⁾、葛原茂樹⁴⁾

¹⁾三重大学神経内科、²⁾健康長寿医療センター、³⁾町立南伊勢病院、

⁴⁾鈴鹿医療科学大学

研究要旨

〔目的〕 紀伊半島の家族性認知症-パーキンソン症候群 (ALS/PDC) では、病態に酸化ストレスの関与が想定されている。フリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンの臨床効果について報告する。

〔対象と方法〕 対象は、紀伊 ALS/PDC 5 例（男性 4 名、女性 1 名、平均年齢 68.4 歳、全例 PDC、平均罹病期間 9.4 年）に対するオープンラベル試験。方法は、エダラボン (1A, 30mg/回) を適当量の生食液等で用時希釈し、30 分かけて 1 日 1 回点滴静注する。週 2 日間点滴投与を 1 クールとし、24 クールを連続して行う。（併用薬）ビタミン E（酢酸トコフェロール）300mg/日とビタミン C（アスコルビン酸）2000mg/日を連日内服併用する。開始時と終了時に MMSE、ALSFRS-R、UPDRS、FAB、やる気スコア、CAS を評価し効果を検討する。なお、本研究は、町立南伊勢病院倫理委員会で承認を得ている。

〔結果および考察〕 5 例中病状が軽度の 2 例で意欲や活動性に改善が見られた。特に最も病状の軽かった 1 例では、UPDRS、CAS やる気スコアであきらかな改善がみられた。他の 1 例では著変なく、高度認知症の残り 2 例では易怒性、暴力行為が出現し投与 3 ヶ月で中止した。

〔結論〕 牟婁病の病態に酸化ストレス、ニトロ化ストレスが関与しているという前提で、フリーラジカルスカベンジャーの投与研究を行った。病状が軽度の症例ではエダラボンが有効であったが、一方、重症例では興奮性などの陽性症状が出現した。病期による薬剤の使い分けが必要である。

A.研究目的

我々は、紀伊半島の家族性認知症-パーキンソン症候群 (ALS/PDC) では、尿中 OHdG が高値であることを報告しており (Morimoto et al. Mov. Disord. 2008)、病態に酸化ストレスの関与が想定されている。現在、common ALS において、エダラボンの臨床治験第Ⅲ相が行われており、診断確実で軽症例ではプラセボとの群間差をもってピンチ力が改善することが報告されている。紀伊 ALS/PDC におけるフリーラジカルスカベンジャーであるエダラボンの臨床効果

について報告する。

B.研究方法

対象は、紀伊 ALS/PDC 5 例（男性 4 名、女性 1 名、平均年齢 68.4 歳、全例 PDC、平均罹病期間 9.4 年）に対するオープンラベル試験。方法は、エダラボン (1A, 30mg/回) を適当量の生食液等で用時希釈し、30 分かけて 1 日 1 回点滴静注する。週 2 日間点滴投与を 1 クールとし、24 クールを連続して行う。併用薬として ビタミン E（酢酸トコフェロール）300mg/日とビタミン C（アスコルビン酸）2000mg/日を連日内服併

用する。開始時と終了時に MMSE、ALSFRS-R、UPDRS、FAB、やる気スコア、CAS を評価し効果を検討する。期間は、2011年11月から2012年月まで。

(倫理面への配慮) 本研究は、町立南伊勢病院倫理委員会で承認を得ている。

表 1 対象患者

	Pheno type	Age	Sex	Duration of illness (years)	MMSE	Yahr
1	PDC	72	F	11	5/8 (mute)	IV
2	PDC	69	M	2	27/30	II
3	PDC	56	M	10	8/30	IV
4	PDC	73	M	8	12/30	V
5	PDC	72	M	16	0/30	V

C.研究結果

5例中病状が軽度の2例で意欲や活動性に改善が見られた。特に最も病状の軽かった1例では、UPDRS、CAS やる気スコアであきらかな改善がみられた。他の1例では著変なく、高度認知症の残り2例では易怒性、暴力行為が出現し投与3ヵ月で中止した。

表 2 MMSE

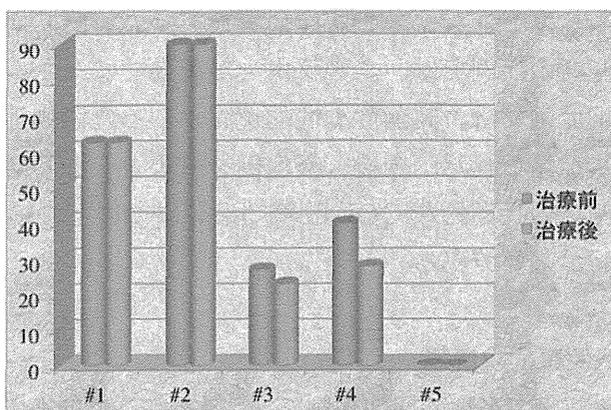


表 3 FAB

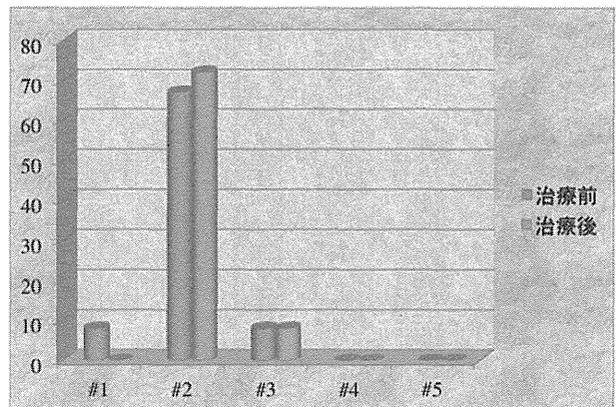


表 4 やる気スコア

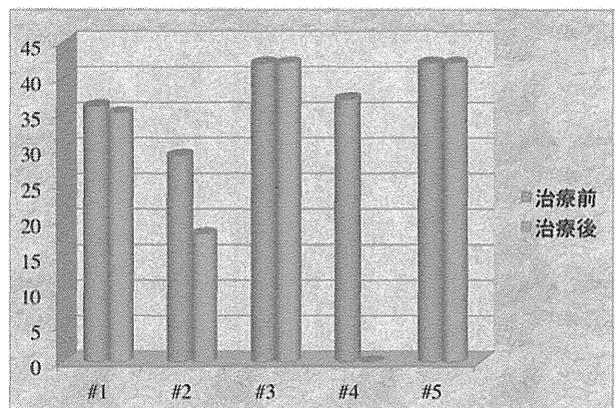


表 5 CAS:面接

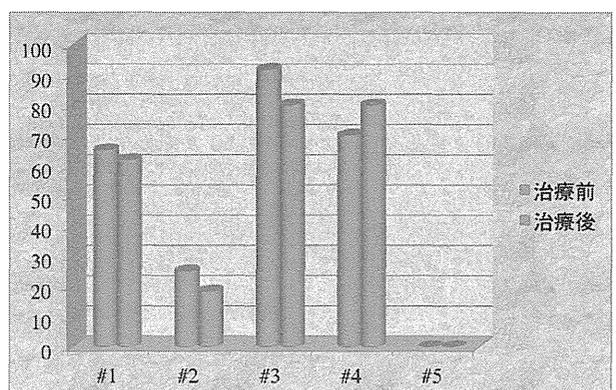


表 6 CAS: 質問紙

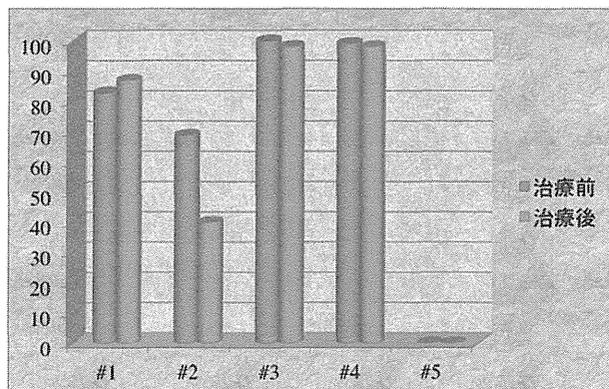


表 7 CAS: 日常生活行動

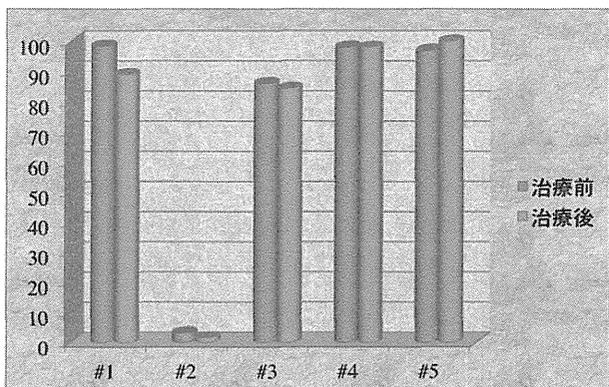
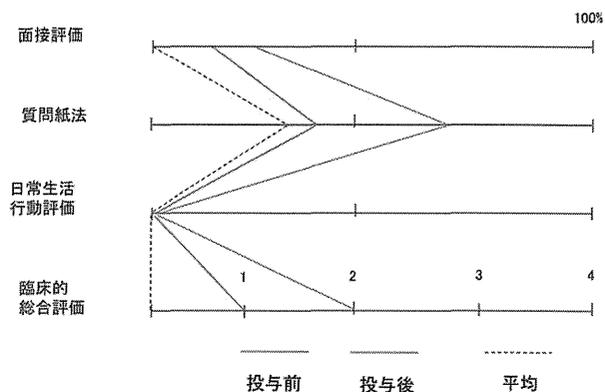


表 8 やる気スコア：自由時間観察

Yahr		
1	IV	目つきがしっかりした、自分で食事を食べる、立ち上がるとうする、掃除をしようとする、会話が聞きやすい、ほとんどmuteだが、ありがとうという発語あり、昼夜のメリハリ
2	II	犬の散歩が長くなった、家の補修を2時間した、歩くのが速くなった、意欲が出た、動きやすい、走れるような気がする
3	IV	不変
4	V	易怒性、暴力、昼夜逆転
5	V	自分で食事をしなくなった、易怒性、暴力、性的逸脱

表 9 症例 2 有効例: CAS



D. 考察

エダラボンは、神経疾患に対しては脳梗塞と ALS のほかには投与されたデータはない。今回、紀伊 ALS/PDC の、とくに意欲低下を主体とする認知症症状に対する効果について注目した。症例 2 で歩行や動作、意欲の改善、症例 1 で発語量の増加や受け答えの改善と言った反応が見られた。症例 3 は不変、症例 4, 5 は、易怒性、性的逸脱等があり投与、約 3 ヶ月で中止した。少数例での検討ではあるが、比較的軽症の患者ではある程度の効果が期待できる可能性がある。

E. 結論

牟婁病の病態に酸化ストレス、ニトロ化ストレスが関与しているという前提で、フリーラジカスカベンジャーの臨床研究を行った。病状が軽度の症例では、エダラボンが有効であったが、重症例では、興奮性や性的逸脱といった陽性症状が見られた。今後、軽症例を対象とした多数例での長期的な QOL 改善効果等についての検討が必要である。

F. 健康危険情報

進行例で高度の認知症例では、易怒性や性的逸脱といった興奮症状を認めた。

G.研究発表

1. 論文発表

1. Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S. α -Synuclein Pathology in Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism Dementia Complex in the Kii Peninsula, Japan. *J Neuropathol Exp Neurol.* 2012;71:625-30.

2. Kokubo Y, Nomura Y, Morimoto S, Kuzuhara S. Cardiac (123)I-meta-iodobenzylguanidine scintigraphy in patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan. *Parkinsonism and Related Disorders* 18 (2012) 306–308

3. Naruse H, Takahashi Y, Kihira T, Yoshida S, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ishiura H, Amagasa M, Murayama S, Tsuji S, Goto J. Mutational analysis of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis with OPTN mutations in Japanese population. *Amyotroph Lateral Scler.* 13:562-566, 2012

4. Tameko Kihira, S Yoshida, T Kondo, K Iwai, S Wada, S Morinaga, Y Kazimoto, T Kondo, K Okamoto, Y Kokubo, S Kuzuhara. An increase in ALS incidence on the Kii Peninsula, 1960-2009: A possible link to change in drinking water source. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, 2012; 13: 347-350

5. Kuzuhara S, Kokubo Y. Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism Dementia Complex in the Kii Peninsula of Japan (Muro disease): a review w on recent research and new concept. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and the frontotemporal dementias.* Oxford University Press, Ed. By Michael J. Strong 2012, pp39-54.

2. 学会発表

1. Shigeki Kuzuhara, Yasumasa Kokubo. Changing patterns of amyotrophic lateral sclerosis (ALS) and parkinsonism-dementia complex (PDC) of the Kii peninsula in Japan. 13th Asian Oceanian Congress of

Neurology.2012.6.4-8. Melbourne, Australia

2. Satoru Morimoto, Yasumasa Kokubo, Masato Hasegawa, Shigeki Kuzuhara, Shigeo Murayama. Immunochemical Study Western blotting of tauopathy in ALS/ Parkinson Dementia Complex (PDC), Kii, Japan. AANP.2012.6.21-24. Chicago, USA

3. Yasumasa Kokubo, Akira Taniguchi, Masato Hasegawa, Yuma Hayakawa, Satoru Morimoto, Misao Yoneda, Yoshihumi Hirokawa, Taizo Shiraishi, Yuko Saito, Shigeo Murayama, Shigeki Kuzuhara.

Alfa-Synuclein pathology of amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex in the Kii Peninsula, Japan. The 8th International Conference on Frontotemporal dementias, Manchester, UK, 2012.

H.知的所有権の取得状況（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

Ⅲ. 研究成果に関する一覧表

英文單行本

著者名	論文題名	書名	(編集者名)	出版社名	出版西曆年
Shigeki Kuzuhara, Yasumasa Kokubo	Amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism-dementia complex in the Kii peninsula of Japan(Muro disease):a review on recent research and new concept	Amyotrophic Lateral Sclerosis and the Frontotemporal Dementias	Michael J. Strong	Oxford University Press	2012

英文原著・症例報告

著者名	論文題名	雜誌名	卷	頁	出版西曆年
Tameko Kihira, S Yoshida, T Kondo, K Iwai, S Wada, S Morinaga, Y Kazimoto, T Kondo, K Okamoto, Y Kokubo, S Kuzuhara.	An increase in ALS incidence on the Kii Peninsula, 1960-2009: A possible link to change in drinking water source.	Amyotrophic Lateral Sclerosis	13	347-350	2012
Ishiura H, Takahashi Y, Mitsui J, Yoshida S, Kihira T, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ranum LP, Tamaoki T, Ichikawa Y, Date H, Goto J, Tsuji S.	C9ORF72 repeat expansion in amyotrophic lateral sclerosis in the Kii peninsula of Japan.	Arch Neurol	69	1154-8	2012
Majounie E, Renton AE, Mok K, Dopper EG, Waite A, Rollinson S, Chiò A, Restagno G, Nicolaou N, Simon-Sanchez J, van Swieten JC, Abramzon Y, Johnson JO, Sendtner M, Pamphlett R, Orrell RW, Mead S, Sidle KC, Houlden H, Rohrer JD, Morrison KE, Pall H, Talbot K, Ansorge O; Chromosome 9-ALS/FTD Consortium; French research network on FTL/FTLD/ALS; ITALSGEN Consortium, Hernandez DG, Arepalli S, Sabatelli M, Mora G, Corbo M, Giannini F, Calvo A, Englund E, Borghero G, Floris GL, Remes AM, Laaksovirta H, McCluskey L, Trojanowski JQ, Van Deerlin VM, Schellenberg GD, Nalls MA, Drory VE, Lu CS, Yeh TH, Ishiura H, Takahashi Y, Tsuji S, Le Ber I, Brice A, Drepper C, Williams N, Kirby J, Shaw P, Hardy J, Tienari PJ, Heutink P, Morris HR, Pickering-Brown S, Traynor BJ.	Frequency of the C9orf72 hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study.	Lancet Neurol	11	323-30	2012
Naruse H, Takahashi Y, Kihira T, Yoshida S, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ishiura H, Amagasa M, Murayama S, Tsuji S, Goto J.	Mutational analysis of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis with OPTN mutations in Japanese population.	Amyotroph Lateral Scler	13	562-6	2012
Ogaki K, et al.	Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL/FTD, PSP, and CBS.	Parkinsonism & Related Disorders	19	15-20	2013
Tsuji H, et al.	Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy.	Brain	135	3380-3391	2012
Egawa N, Kitaoka S, et al.	Drug-Screening Platform for ALS Using Patient-Specific Induced Pluripotent Stem Cells.	Sci Transl Med	4	145ra104.	2012
Parker SJ, et al.	Inhibition of TDP-43 accumulation by bis(thiosemicarbazone)-copper complexes.	PLoS One	7	e42277.	2012
Wang Y, et al.	Phosphorylated α -Synuclein in Parkinson's Disease.	Sci Transl Med.	4	121ra20	2012
Shahpasand K, et al	Regulation of mitochondrial transport and inter-microtubule spacing by Tau phosphorylation at the sites hyperphosphorylated in Alzheimer's disease.	J Neurosci	32	2430-2441	2012

著 者 名	論 文 題 名	雜 誌 名	卷	頁	出版西曆年
Ogaki K, Li Y, Atsuta N, Tomiyama H, Funayama M, Watanabe H, Nakamura R, Yoshino H, Yato S, Tamura A, Naito Y, Taniguchi A, Fujita K, Izumi Y, Kaji R, Hattori N, Sobue G; Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS).	Analysis of C9orf72 repeat expansion in 563 Japanese patients with amyotrophic lateral sclerosis.	Neurobiol Aging	33	2527.e11-6.	2012
Ando M, Funayama M, Li Y, Kashihara K, Murakami Y, Ishizu N, Toyoda C, Noguchi K, Hashimoto T, Nakano N, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ogaki K, Yamashita C, Yoshino H, Hatano T, Tomiyama H, Hattori N.	VPS35 mutation in Japanese patients with typical Parkinson disease.	Mov Disord	27	1413-7.	2012
Ogaki K, Li Y, Takanashi M, Ishikawa K, Kobayashi T, Nonaka T, Hasegawa M, Kishi M, Yoshino H, Funayama M, Tsukamoto T, Shioya K, Yokochi M, Imai H, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Tomiyama H, Hattori N.	Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS.	Parkinsonism Relat Disord	19	15-20.	2013
Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, <u>Murayama S</u> , Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K, Suzuki T.	Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and Abeta generation in Alzheimer's disease.	Mol Neurodegener.	7	50	2012
Naruse H, Takahashi Y, Kihira T, Yoshida S, Kokubo Y, Kuzuhara S, Ishiura H, Amagasa M, <u>Murayama S</u> , Tsuji S, Goto J	Mutational analysis of familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis with OPTN mutations in Japanese population.	Amyotroph Laterl Scler	13 (6)	562-6	2012
Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, <u>Murayama S</u> , Kuzuhara S	α -Synuclein Pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/Parkinsonism demtia complex in the Kii Peninsula, Japan.	J Neuropath Exp Neurol	71 (7)	625-30	2012
Kai H, Shin RW, Ogino K, Hatsuta H, <u>Murayama S</u> , Kitamoto T	Enhanced antigen retrieval of amyloid β immunohistochemistry: re-evaluation of amyloid β pathology in Alzheimer disease and its mouse model.	J Histochem Cytochem	60 (10)	761-9.	2012
Ishiura H, Sako W, Yoshida M, Kawarai T, Tanabe O, Goto J, Takahashi Y, Date H, Mitsui J, Ahsan B, Ichikawa Y, Iwata A, Yoshino H, Izumi Y, Fujita K, Maeda K, Goto S, Koizumi H, Morigaki R, Ikemura M, Yamauchi N, <u>Murayama S</u> , Nicholson GA, Ito H, Sobue G, Nakagawa M, Kaji R, Tsuji S.	The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement.	Am J Hum Genet.	91 (2)	320-9	2012
Kakuda N, Shoji M, Arai H, Furukawa K, Ikeuchi T, Akazawa K, Takami M, Hatsuta H, <u>Murayama S</u> , Hashimoto Y, Miyajima M, Arai H, Nagashima Y, Yamaguchi H, Kuwano R, Nagaïke K, Ihara Y and the Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative	Altered γ -secretase activity in mild cognitive impairment and Alzheimer's disease.	EMBO Molecular Medicine	4 (4)	344-352	2012
Tsuji H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, <u>Murayama S</u> , Akiyama H, Hasegawa M, David M. A. Mann, Tamaoka A	Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy	Brain	135 (11)	3380-91	2012
Takahashi M, Ishikawa K, Sato N, Obayashi M, Niimi Y, Ishiguro T, Yamada M, Toyoshima M, Takahashi H, Kato T, Takao M, <u>Murayama S</u> , Mori O, Eishi Y, Mizusawa H	Reduced brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA expression and presence of BDNF-immunoreactive granules in the spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) cerebellum.	Neuropathology	32 (6)	593-603	2012
Kakuda N, Akazawa K, Hatsuta H, <u>Murayama S</u> , Ihara Y	Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Suspected limited efficacy of γ -secretase modulators.	Neurobiol Aging	34	1101-1104	2013

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
Funabe S, Takao M, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Ito S, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Hattori N, <u>Murayama S</u>	Neuropathologic analysis of Lewy-related alpha-synucleinopathy in olfactory mucosa.	Neuropathology	in press		2013
Fujita K, I Harada M, Sasaki M, Yuasa T, Sakai K, Hamaguchi T, Sanjo N, Shiga Y, Satoh K, Atarashi R, Shirabe S, Nagata K, Maeda T, <u>Murayama S</u> , Izumi Y, Kaji R, Yamada M, Mizusawa H:	Multicentre multiobserver study of diffusion-weighted and fluid-attenuated inversion recovery MRI for the diagnosis of sporadic Creutzfeldt Jakob disease	BMJ Open Journal	in press		2013
Kokubo Y, Nomura Y, Morimoto S, Kuzuhara S.	Cardiac (123)I-meta-iodobenzylguanidine scintigraphy in patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan.	Parkinsonism and Related Disorders	18	306-308	2012
Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraiishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S.	α -Synuclein Pathology in the Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism Dementia Complex in the Kii Peninsula, Japan.	J Neuropathol Exp Neurol.	71(7)	625-630	2012
TAMEKO KIHARA, SOHEI YOSHIDA, TETSUYA KONDO, KEIKO IWAI, SACHIKO WADA, SATOMI MORINAGA, YOSHINORI KAZIMOTO, TOMOYOSHI KONDO, KAZUSI OKAMOTO, <u>YASUMASA KOKUBO</u> & SHIGEKI KUZUHARA	An increase in ALS incidence on the Kii Peninsula, 1960 - 2009: A possible link to change in drinking water source	Amyotrophic Lateral Sclerosis		In Press	
Kotaro Ogaki , Yuanzhe Li, Masashi Takanashi, Kei-Ichi Ishikawa, Tomonori Kobayashi, Takashi Nonaka, Masato Hasegawa, Masahiko Kishi , Hiroyo Yoshino, Manabu Funayama, Tetsuro Tsukamoto, Keiichi Shioya, Masayuki Yokochi, Hisamasa Imai, Ryogen Sasaki, <u>Yasumasa Kokubo</u> , Shigeki Kuzuhara, Hiroyuki Tomiyama, Nobutaka Hattori	Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS	Parkinsonism and Related Disorders		In Press	
Maya Ando, Manabu Funayama, Yuanzhe Li, Kenichi Kashihara, Yoshitake Murakami, Nobutaka Ishizu, Chizuko Toyoda, Katsuhiko Noguchi, Takashi Hashimoto, Naoki Nakano, Ryogen Sasaki, <u>Yasumasa Kokubo</u> , Shigeki Kuzuhara, Kotaro Ogaki, Chikara Yamashita, Hiroyo Yoshino, Taku Hatano, Hiroyuki Tomiyama, and Nobutaka Hattori,	VPS35 Mutation in Japanese Patients with Typical Parkinson's Disease	Movement Disorders Journal		In Press	

邦文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
Kokubo Y, Hirokawa Yほか	α-Synuclein pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex in the Kii Peninsula, Japan.	J Neuropathol Exp Neurol	71	625-30	2012
白井慎一, 高橋育子, 加納崇裕, 佐藤和則, 久保田佳奈子, 矢部一郎, 村山繁雄, 佐々木秀直	長大な脊髄病変を伴いmultiple biopsiesにて組織診断された血管内リンパ腫の1例	臨床神経	52(5)	336-343	2012
小久保康昌	The 22nd International Symposium on ALS/MND報告	神経治療学	29	174	

邦文総説

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
富山弘幸	パーキンソン病の発症に遺伝子の関与はあるのか? : あなたも名医! パーキンソン病Q&A version 2.	日本医事新報 jmed mook第23号	23	17-24.	2012
村山繁雄, Seung-Jae Lee, 武田篤, 鈴木則宏	パーキンソン病はプリオン病か? - シヌクレイノバチーの細胞間移行- (座談会)	Frontiers in Parkinson Disease.	5(1)	5-13	2012
村山繁雄, 齊藤祐子	【アルツハイマー病-先制医療に向けての展開】 アルツハイマー病と脳老化の病理学	カレントセラピー	30(4)	320-325	2012
村山繁雄, 齊藤祐子	アルツハイマー病と脳老化の病理学-特集 今, 認知症にどう向き合うか.	内科	109(5)	840-845	2012
村山繁雄, 高尾昌樹, 初田裕幸, 斎藤祐子	6.ブレインバンク 第1部 病理解剖の進め方, 切り出し方法など c. 特殊な部位, 手技, 検体保存	病理と臨床【臨時増刊号】	30	103-109	2012
村山繁雄, 齊藤祐子	第1部: 基礎編 パーキンソン病の神経病理up to date	Progress in Medicine	32(6)	1161-1165	2012
村山繁雄, 齊藤祐子	タウ蛋白と免疫染色	検査と技術	40(8)	749-751	2012
村山繁雄, 齊藤祐子, 丹羽真一	第II部4章新しい臨床研究の技術とプロジェクト展開 2. 精神・神経疾患研究のためのブレインバンク	実験医学	30(13)	146-155	2012
高尾昌樹, 村山繁雄, 美原盤, 吉田洋二	バイオバンク構築における病理の役割【共同研究の機転として機能する我が国のバイオバンクの実例】ブレインバンクの現状, 高齢者ブレインバンク, 美原記念病院ブレインバンクの経験から	病理と臨床	30(6)	635-645	2012
高橋英気, 望月英明, 井藤英喜, 筑井恵美子, 加藤貴行, 鄭仁熙, 徳丸阿耶, 山川通隆, 安藝良一, 沢辺元司, 高尾昌樹, 新井富生, 村山繁雄	膿瘍との鑑別が困難であった肺腫瘍・転移性脳腫瘍の1例	内科	110(3)	469-480	2012
沢辺元司, 新井富生, 村山繁雄, 清水孝彦, 戸田行総, 古田耕, 増井徹	バイオバンク構築における病理の役割【共同研究の起点として機能する我が国のバイオバンク】東京都健康長寿医療センターの病理由来組織バンクおよび日本における組織バンクの課題	病理と臨床	30(6)	624-628	2012
砂川昌子, 増田義重, 沢辺元司, 足立正, 徳丸阿耶, 井藤英喜, 川田真幹, 稲松孝思, 村山繁雄, 初田裕幸	-CPC-4年間, 経管栄養をした高度認知症の1例	Geriatric Medicine	50(5)	653-662	2012
神谷久雄, 村山繁雄, 舟邊さやか, 齊藤祐子, 福田隆浩	薬剤性パーキンソン症状との鑑別が問題となった軽度認知障害の87歳男性	BRAIN and NERVE	64(12)	1435-1442	2012