

本研究では我々が保有する 3000 例以上の PD ゲノムバンクから新規 PD 原因遺伝子単離出来る可能性の高い上位 4 家系について解析を実施した。その結果、それぞれの家系から複数の候補遺伝子変異を同定することに成功した。今後これらの候補変異を検証し原因遺伝子単離を行うと同時に検査未実施の候補家系についても順次次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を推進し、同時に複数の PD 原因遺伝子単離を目指す。

E. 結論

大規模家族性 PD ゲノムリソースを用いて、連鎖解析と次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を組み合わせることで、同時に複数の PD 新規原因遺伝子を単離可能である。

F. 研究発表

1. 論文発表

研究代表者 服部信孝

1) 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's disease. *Mov Disord* 27: 1413-7, 2012

2) Hattori N, Fujimoto K, Kondo T, Murata M, Stacy M. Patient perspectives on Parkinson's disease therapy in Japan and the United States: results of two patient surveys. *Patient Relat Outcome Meas*. 3: 31-8, 2012

2. 学会発表

研究代表者 服部信孝

1) 大垣光太郎、李元哲、今道洋子、吉野浩代、船山学、高梨雅史、本井ゆみ子、富山弘幸、服部信孝. 日本人患者 24 症例の Frontotemporal

dementia における PSEN1 遺伝子解析、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、2012. 5. 23

2) 李元哲、船山学、吉野浩代、富山弘幸、服部信孝. 日本人若年性パーキンソン病における FBXO7 遺伝子変異解析、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、2012. 5. 25

3) 吉野浩代、富山弘幸、舟辺さやか、山下力、李元哲、船山学、村山繁雄、服部信孝. Alpha-Synukureinopathy における PLA2G6 および PANK2 変異解析、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、2012. 5. 25

4) 山下力、李元哲、船山学、吉野浩代、富山弘幸、市川忠、江原義郎、石川欽也、水澤英洋、服部信孝. 日本人 Parkinson 病患者における polyglutamine (polyQ) 鎖リピート数の調査、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、2012. 5. 25

5) 船山学、李元哲、佐竹渉、吉野浩代、富山弘幸、松浦英治、野元三治、有村公良、戸田達史、高嶋博、服部信孝. 常染色体劣性遺伝性パーキンソン病家系の連鎖解析、第 53 回日本神経学会学術大会、東京、2012. 5. 25

6) 安藤真矢、船山学、李元哲、柏原健一、村上善勇、石津暢隆、豊田千純子、野口克彦、橋本貴司、中野直樹、佐々木良元、小久保康昌、葛原茂樹、大垣光太郎、山下力、吉野浩代、波田野琢、富山弘幸、服部信孝. 日本人パーキンソン病患者における VPS35 p. D620N 変異の解析、第 6 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (MDSJ)、京都、2012. 10. 12

7) Tomiyama H, Yoshino H, Ogaki K, Li L, Yamashita C, Li Y, Funayama M, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, and Hattori N. Mutation analysis for PLA2G6 in patients with Parkinson's

disease / frontotemporal type of dementia. Movement Disorders, Dublin, Ireland. 2012. 6. 17.

8) Tomiyama H, Ando M, Ogaki K, Li Y, Funayama M, Yoshino H, Hattori N. Genetic Analysis for Parkinson's Disease in Juntendo University, Tokyo, Japan. 7th Genetics Epidemiology of Parkinson's Disease Annual meeting, Seoul, Korea. 2012. 10. 8.

9) 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, Motoi Y, Tomiyama H, Hattori N. Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 mutations in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS. 7th Genetics Epidemiology of Parkinson's Disease Annual meeting, Seoul, Korea. 2012. 10. 10.

10) 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, Tomiyama H, and Hattori N. VPS35 Asp620Asn mutation in Japanese patients with Parkinson disease. 7th Genetics Epidemiology of Parkinson's Disease Annual meeting, Seoul, Korea. 2012. 10. 10.

11) Tomiyama H, Yamashita C, Sasaki R, Li Y, Funayama M, Hattori N, Kuzuhara S, and Y. Kokubo Y. No association between ATXN2 (SCA2) CAG repeat expansion and amyotrophic lateral sclerosis /parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan. The American Society of Human Genetics, ASHG 62nd Annual Meeting. San Francisco, USA. 2012. 11. 07.

12) 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, Tomiyama H, and Hattori N. The Asp620Asn mutation of VPS35 in Japanese patients with typical Parkinson disease. ASHG 2012 Meeting, San Francisco, U. S. A. 2012. 11. 08.

13) 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. Analysis of C9orf72 repeat expansion in Japanese patients with ALS. ASHG 2012 Meeting, San Francisco, U. S. A. 2012. 11. 09.

14) Li Y, Funayama M, Sekine T, Li L, Yoshino H, Nishioka K, Tomiyama H, Hattori N. Genetic analysis of the GBA gene in Japanese familial Parkinson's disease. ASHG 2012 Meeting, San Francisco, U. S. A. 2012. 11. 09.

G.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3.その他
なし

次世代シーケンサーを用いた筋萎縮性側索硬化症の遺伝子解析

研究分担者氏名：青木正志 東北大学大学院 神経内科教授

研究協力者 加藤昌昭¹⁾、割田 仁¹⁾、所属機関名：1) 東北大学神経内科

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症(ALS) は上位および下位運動ニューロンを侵す進行性の神経変性疾患であり、その原因の究明が求められている。発症者の10%程度に家族歴があり、家族性ALSと呼ばれる。これまで当科では継続して家族性ALS患者の遺伝子検査を行っており、Superoxide dismutase 1 (SOD1)および Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)の遺伝子変異を報告してきた。当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる家族性ALSの104家系においてSOD1, FUS/TLS, TDP43, VCP, C9ORF72, Profilin1 (PFN1)についての解析を行った。その結果26家系にSOD1遺伝子変異、10家系にFUS/TLS遺伝子変異を認めたが、TDP43, VCP, C9ORF72, PFN1遺伝子異常は認めなかった。現在、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析法を検討しつつある。さらには今回、原因遺伝子が同定できなかった約65%の家系については新たな原因遺伝子の検索を進めていく。

A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS) は上位および下位運動ニューロンを侵す進行性の神経変性疾患であり、その原因の究明が求められている。発症者の10%程度は家族歴を伴い、家族性ALSとよばれ、これまでにその一部の原因として遺伝子異常が報告されている。当科では1991年から家族性ALS患者の検体の収集および遺伝子検査を行っており、これまでにSuperoxide dismutase 1 (SOD1)およびFused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)の遺伝子変異を報告してきたが、次世代シーケンサーの登場にて新規遺伝子の報告が続いている。最近では欧米にて孤発例を含めた多数例でC9ORF72遺伝子異常が報告され注目されている。

B.研究方法

当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる家族性ALS 104家系について遺伝子解

析を行った。SOD1, FUS, TAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP43)、Valosin-containing protein (VCP)に加えてC9ORF72, Profilin1 (PFN1)についての解析を加えて行った。

(倫理面への配慮)

すべての遺伝子操作は東北大学DNA組換え実験指針に従い、個人を同定できない形で発表し、個人情報鍵のかかる戸棚に保管、DNAは連結可能匿名化で保存している。東北大学倫理委員会の承認を受けている。

C.研究結果

これまでに遺伝子解析を行った104家系において、26家系にSOD1異常、10家系にFUS/TLS遺伝子異常を認めた。TDP43, VCP, C9ORF72, PFN1遺伝子については104家系内では遺伝子変異は認めなかった。

当科にて検討を行った患者における平均年齢

は 50.0±15.2 歳、SOD1 変異を伴う例 52.0±12.9 歳、FUS/TLS 変異を伴う例 39.6±14.4 歳であった。

FUS/TLS 遺伝子変異を伴う家系の中で、10 家系の内訳は点変異が6種類9家系 (p.K510E, p.S513P, p.R514S, p.H517D, p.H517P, p.R521C), 挿入変異が1家系 (c.1420_1421insGT)であった。

その一方で、68 家系 (約 65%) の家系では検索した遺伝子には異常を認めなかった。現在、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析法を用いて、既報告の全ての遺伝子について遺伝子異常の有無を再確認中である。

D. 考察

次世代シーケンサーの登場にて新規 ALS の原因遺伝子の報告が続いている。私たちの解析で、特に欧米で頻度が高い C9ORF72 遺伝子変異を認めなかったことは人種差を示すものと考えられた。今回の 104 家系の解析のうち 68 家系では遺伝子異常を認めなかった。現在、次世代シーケンサーを用いた網羅的な解析法を用いて既知の全ての遺伝子異常を再確認中である。この作業が終わり次第、エクソームなどを用いて新たな原因遺伝子の同定を行う予定である。

E. 結論

東北大学にて遺伝子検査を行った 104 家系について検討した。今後も患者家系を増やしつつ、次世代シーケンサーを用いた解析を進めていく。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Takahashi T, Aoki M, Suzuki N, Tateyama M, Yaginuma C, Sato H, Hayasaka M, Sugawara H, Ito M, Abe-Kondo E, Shimakura N, Ibi T, Kuru S, Wakayama T, Sobue G, Fujii N, Saito T, Matsumura T, Funakawa I, Mukai E, Kawanami T, Morita

M, Yamazaki M, Hasegawa T, Shimizu J, Tsuji S, Kuzuhara S, Tanaka H, Yoshioka M, Konno H, Onodera H, Itoyama Y. Clinical features and a mutation with late onset of limb girdle muscular dystrophy 2B. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013; 84: 433-40

Izumi R, Niihori T, Aoki Y, Suzuki N, Kato M, Warita H, Takahashi T, Tateyama M, Nagashima T, Funayama R, Abe K, Nakayama K, Aoki M, Matsubara Y. Exome sequencing identifies a novel TTN mutation in a family with hereditary myopathy with early respiratory failure. *J Hum Genet*. in press

2. 学会発表

青木正志

ALS の遺伝学 Update

第 53 回日本神経学会総会 2012 年 5 月 22-25 日
東京

加藤昌昭、割田 仁、鈴木直輝、島倉奈緒子、青木正志

日本人家族性 ALS における遺伝子変異と臨床型の検討

第 53 回日本神経学会総会 2012 年 5 月 22-25 日
東京

H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化 研究事業）
分担研究報告書

次世代シーケンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関する研究

研究分担者 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
研究協力者 瀧川 洋史 鳥取大学医学部附属病院神経内科 助教

研究要旨

タウオパチーとされる進行性核上性麻痺（PSP）や大脳皮質基底核変性症（CBD）を含むパーキンソン症候群（PS）、前頭側頭葉変性症（FTLD）は、通常は孤発性であり、中年期以降に発症する緩徐進行性の変性疾患である。未だ有効な根治療法はなく、各疾患の関連や相違など疾患分類位置づけに関しても多くの議論がなされてきている。本研究では、各疾患の診断、病態解明、治療法の開発に寄与する臨床情報の整ったPS・FTLDの、遺伝子試料収集体制の整備を行うことを目的とし、鳥取県において地域での遺伝子試料収集体制の整備を進めると共に、全国多施設共同研究体制の整備を進めてきた。昨年までの進捗状況を踏まえ、共同研修施設の拡大、ならびに、診断基準や試料の取り扱いに関する整備を進めた。

A.研究目的

パーキンソン病（PD）は、振戦、筋強剛、無動、姿勢反射障害を四徴とした進行性の神経変性疾患である。パーキンソン症候群（PS）は、PDならびに、パーキンソンニズムとして四徴のいずれかを含めた神経徴候を呈する症候群であり、進行性核上性麻痺（PSP）、大脳皮質基底核変性症（CBD）などの神経変性疾患が含まれる。一方、前頭側頭葉変性症（FTLD）は、前頭・側頭葉に局限して進行性の変性を呈し、行動障害や言語障害を主徴とする非アルツハイマー型変性性認知症の一群を指す臨床概念であり、臨床的には、前頭側頭型認知症、意味性認知症、進行性非流暢性失語の3つのサブタイプに分類される。また、FTLDにPSPやCBDも含める考え方もある。さらに、PSP・CBDやFTLDの一部はタウオパチーとしても捉えられている。これらの疾患では、中年以降に発症し、通常は孤発例である。治療法、予後も異なり、鑑別診断が重要であるが、臨床的に鑑別が困難な場合が少なくない。各疾患の関連や相違など疾患分類位置づけに関しても多くの議論がなされてきており、

臨床的、遺伝学的、病理学的、生化学的な詳細な研究の推進が待たれている。

詳細な遺伝子解析を行うには、多数例の遺伝子試料が必要となるが、PS・FTLDは有病率が低く、遺伝子解析に活用できる多数例の収集は困難である。正確な臨床情報の整った遺伝子試料の収集とともに研究にすぐに活用できる遺伝子試料のバンク設立も求められている。

本研究では臨床調査個人票を活用して経時的変化も把握し、臨床情報を含めたPS・FTLD症例の遺伝子の収集を行う。本研究では、PSP・CBDなどのタウオパチーを中心に、タウオパチー以外のFTLD症例も含めて遺伝子試料収集を進める。収集した遺伝子試料を用いて、各疾患に影響を及ぼす遺伝的要因の候補を明らかにすることにより、病気の進行と共に変化する臨床症状と診断、病態解明、予後予測を可能とし、更に、治療法の開発に寄与し、臨床症状を改善することを目的としている。

B.研究方法

1) 鳥取県における患者登録体制の整備

鳥取県における特定疾患申請患者の把握、医療機関調査を鳥取県難病相談・支援センターと連携して研究を進め、患者登録体制を整備した。

2) 全国 PS・FTLD 遺伝子試料収集共同研究体制

収集は、臨床診断に基づく例のみならず、病理診断例における収集体制の構築についても検討を進めた。

a) 厚生労働省科学研究費補助金事業難治性疾克服事業“神経変性疾患に関する調査研究”班（以下，“神経変性班”）との連携による研究体制の整備

“神経変性班”に協力を依頼し、全国的ネットワークによる多施設共同による遺伝子収集研究体制の整備を進めた。

b) 個別参加による医療機関との連携

上記研究班には属さないが、PS や FTL D 研究を積極的に進めている施設にも協力を依頼し、広く研究協力が得られる研究体制の整備を開始した。

3) 診断基準と試料取り扱い方法の整備

本研究の収集対象である PS や FTL D は臨床的に鑑別が困難であることが少なくない。そこで、既報されている各疾患の診断基準を包括するかたちでひろく収集できるように診断基準の整備を進めた。また、試料の均一化を図るべく、試料の取り扱い方法の整備を進めた。

PS や FTL D では、臨床診断が難しいことがあり、病理診断がなければ診断できないとの指摘もある。しかし臨床診断の精度を高める必要があり、その目的で生化学的診断マーカーの検討も必要であり、本研究においては、生化学的マーカーの開発も行った。

4) 遺伝子試料の収集

同意が得られた患者から臨床情報と共にゲノム DNA を収集した。

（倫理面への配慮）

「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、
「疫学研究に関する倫理指針」を遵守して研究を実施した。本研究について鳥取大学医学部倫理委員会

の承認を得、本研究への参加者には、文書により研究内容や倫理的配慮について詳細に説明した後、書面にて同意を得て研究を実施した。

C.研究結果

1) 遺伝子試料の収集

PS・FTLD の患者登録を行なうとともに、2013 年 2 月までに、PSP 26 例、CBD 11 例、FTLD 6 例について臨床情報と共にゲノム DNA を収集した。

2) 全国共同研究体制の整備

2012 年に本研究計画について、鳥取大学医学部倫理委員会に申請し、承認を受け、“神経変性班”所属施設や、その他の PS・FTLD などの神経変性疾患の診療・研究に積極的に取り組んでいる施設に本研究協力を依頼した。

2013 年 2 月の時点で、15 施設について共同研究機関として承認を得た。参加各施設の倫理委員会で本研究の承認を進めており、3 施設において倫理委員会での承認を得ている。なお、臨床診断に基づく収集を進めたが、病理診断例における収集についても、その体制の構築について検討を進めている。

3) 診断基準と試料取り扱い方法の整備

既往の PS や FTL D の診断基準を包括する本研究における収集対象の診断基準の作成、ならびに、試料の取り扱いに関する整備を進めている。

遺伝子試料収集においては、正確な診断例を収集することが重要であるが、PS や FTL D のなかには、臨床診断が困難である場合がある。そこで、血液や脳脊髄液を用いた臨床診断に有用な診断マーカーの開発を進めている。

D.考察

鳥取県においては鳥取県難病相談・支援センターと連携し、地域における生体試料収集研究体制を整備した。PS・FTLD 患者の遺伝子試料収集が進めば国際的にも意義ある研究が可能となることが期待される。本研究を継続することにより一層の遺伝子試料収集が進み、国際的研究に発展するものと考える。

今後、“神経変性班”の構成班員施設などの PS・

FTLD の診療・研究に積極的に関与してきている施設に本研究への協力を依頼し、各施設で倫理委員会の承諾を得て頂き、多施設での収集を進める。

PS や FTL D は、臨床診断が困難である場合も少なくなく、病理診断例の収集を行うことが望ましい。

現在、PS や FTL D 症例を広く収集し、剖検によって診断を確定していく。あるいは、病理によって診断が確定した症例の剖検脳から遺伝子を収集することによって、病理診断例の遺伝子試料を収集する体制を構築中である。

E. 結論

PS・FTLD の遺伝子試料収集研究体制の整備を行った。今後、本研究をさらに推進することにより、多数例での遺伝子試料収集が望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- 1) Nomura T, et al. Comparison of REM sleep behaviour disorder variables between patients with progressive supranuclear palsy and those with Parkinson's disease. *Parkinsonism and Related Disorders* 18: 394-396, 2012.
- 2) Wada-Isoe K, et al. Epidemiological Survey of Frontotemporal Lobar Degeneration in Tottori Prefecture, Japan. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra* 2: 381-386, 2012.
- 3) 野村哲志, ほか. Restless legs syndrome の病態. *神経内科* 76: 19-23, 2012.
- 4) 野村哲志, ほか. Restless legs syndrome の疫学. *神経治療* 29: 81-84, 2012.
- 5) 中島健二. 歩行失行とすくみ足歩行. *Clinical Neuroscience* 30: 544-548, 2012.
- 6) 田中健一郎, ほか. 長期間のせん望状態により多様な精神症状を呈したと考えられた若年発症 Parkinson 病の 1 例. *神経治療学* 29: 441-444, 2012.

- 7) 中島健二. 多彩な症状を示すパーキンソン病. *Medical Practice* 29: 2160, 2012.
 - 8) 和田健二, ほか. パーキンソン病における軽度認知障害. *BRAIN and NERVE* 64: 1365-1375, 2012.
 - 9) 和田健二, ほか. パーキンソン病および同症候群の疫学. 山本光利 編著. *GP・レジデントのためのパーキンソン病テキストブック*. 東京: アルタ出版; 2012. p. 58-65.
 - 10) 古和久典, ほか. パーキンソン病における認知症の治療とケア. 山本光利 編著. *GP・レジデントのためのパーキンソン病テキストブック*. 東京: アルタ出版; 2012. p. 186-191.
 - 11) 中島健二. パーキンソン病の身体症状と認知症状. *Modern physician* 33: 86-88, 2013.
 - 12) 中島健二, ほか. 進行性核上性麻痺 (PSP) およびその亜型. *Modern Practice* 30: 60-63, 2013.
- ### 2. 学会発表
- 1) Nomura T, et al. Comparison of clinical characteristics and prognosis between PD with and without RBD. *International congress of Parkinson's disease and movement disorders*
 - 2) Nakashita S, et al. Clinical assessment of subjects with idiopathic normal pressure hydrocephalus with MRI findings in a community-dwelling elderly population sample in Japan. *2nd International Conference on Neurology and epidemiology*
 - 3) 古和久典, 他. Parkinson 病患者の転倒および骨折関連因子の検討
第 54 回日本老年医学会学術集会
 - 4) 瀧川洋史, 他. パーキンソン病における推算糸球体濾過量 (eGFR) 低下に関する検討
第 54 回日本老年医学会学術集会
 - 5) 中下聡子, 他. レビー小体型認知症の血清バイ

オマーカーの検討

第 53 回日本神経学会学術大会

3.その他
なし

- 6) 田中健一郎, 他. パーキンソン病における衝動制御障害のスクリーニングアンケートの有用性の検討

第 53 回日本神経学会学術大会

- 7) 野村哲志, 他. REM sleep behavior disorder と神経変性疾患の共通する病態機序—神経変性疾患について

第 37 回日本睡眠学会学術集会

- 8) 中下聡子, 他. パーキンソン症候群における脳脊髄液アミロイドβおよびリン酸化タウの検討

第 6 回パーキンソン病・運動障害疾患コンGRESS (MDSJ)

- 9) 野村哲志, 他. パーキンソン病における嗅覚障害とレム睡眠行動異常症の関連

第 6 回パーキンソン病・運動障害疾患コンGRESS (MDSJ)

- 10) 北山通朗, 他. パーキンソン病と多系統萎縮症に対する定量的腸音解析による検討

第 6 回パーキンソン病・運動障害疾患コンGRESS (MDSJ)

- 11) 北山通朗, 他. パーキンソン病における尿酸値と脳血管病変との関連について

第 65 回 日本自律神経学会総会

- 12) 野村哲志, 他. パーキンソン病, 多系統萎縮症における REM 睡眠行動異常症の経過

第 65 回 日本自律神経学会総会

- 13) 瀧川洋史, 他. パーキンソン症候群における 1, 25-(OH)₂ ビタミン D に関する検討

第 28 回日本静脈経腸栄養学会

G.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化 研究事業（難病関係研究分野）「次世代シーケンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関する研究」班
厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化 研究事業）
分担研究報告書

タウオパチーのゲノム解析の意義と、その目的を達成するための効果的な収集方法についての研究
研究分担者 西澤正豊 新潟大学 脳研究所 神経内科教授
小野寺理 新潟大学 脳研究所 分子神経疾患資源解析

研究要旨

タウオパチーのゲノム解析の意義と、その目的を達成するための効果的な収集方法について明らかにする。文献的に現在のタウオパチーのゲノム研究の現状とそれを本邦で行うことの意義について検討し、有意義な結果を出すための試料収集方法について考察した。まず、タウオパチーノ一種である進行性核上性麻痺（PSP）、皮質基底核変性症（CBD）は、特定のタウ遺伝子領域のハプロタイプ（H1）が危険因子となる事が知られている。さらにPSPに関しては極めて相関の高い一塩基多型が知られている。この欧米の報告ではすでに1000例以上の病理にて診断されたPSPを用いてこの解析が行われており、本邦で世界に寄与する研究成果をあげるためには、同等の症例数を集める必要がある。しかし、症例数だけであれば、これをクリアすることは困難である。それでは本邦での活路はどこになるのでしょうか。それは同領域の構造の相違にあると考える。欧米人と日本人ではH1ハプロタイプの頻度が異なる。欧米人では一定の割合でH2ハプロタイプが存在するが、日本人をはじめとするアジア系人種ではほとんどがH1ハプロタイプである。さらにH1は複数のサブハプロタイプに分類されるが、このサブハプロタイプの頻度も異なる。欧米人と日本人のPSP,CBD患者で共通して認められる構造多型が疾患の危険因子となっている可能性が推察される。両者を詳細に比較することにより、この共通した遺伝子配列、ゲノム構造が同定できる可能性がある。今後、病理診断で確定診断のついた症例について、タウ遺伝子領域の詳細な構造解析を行うことの意義はある。この研究の為には病理診断例のゲノムを全国レベルで集積する必要がある。

A.研究目的

タウオパチーのゲノム解析の意義と、その目的を達成するための効果的な収集方法について明らかにする。

B.研究方法

文献的に現在のタウオパチーのゲノム研究の現状とそれを本邦で行うことの意義について検討し、有意義な結果を出すための試料収集方法について考察した。

(倫理面への配慮)

本研究では特に記すべき倫理的問題はない。

C,D.研究結果および考察

本研究班における新潟大学のミッションは次の3点にあると考える。タウオパチーのゲノム解析、認知症のゲノム解析、パーキンソニズムのゲノム解析に対し寄与することである。また本研究班の共通の最大のミッションは、ゲノム解析により、タウオパチーの生前診断に寄与できるかどうか、疾患の進行程度を期待する遺伝要因を同定できるかどうか、病態機序に迫ることができるかどうかの3点にある。タウオパチーは特に生前の確定診断が困難である。この事実は、本症での介入研究、治療方法確立が困難であることを意味する。

ゲノム解析が、タウオパチーの抱える問題に道筋を示すことができれば、その意義は極めて大きい。本研究にて、本国がいかに貢献しうるか、タウオパチーのゲノム研究の国際的現状を俯瞰し、本研究班の取り得る道を模索した。

タウオパチーは、タウのエクソン 10 のスプライシング多様体の存在比の相違により疾患単位が分類される。認知症を主体とする前頭側頭葉変性症 (FTD)、パーキンソニズムと認知症を主体とする進行性核上性麻痺 (PSP)、皮質基底核変性症 (CBD) に病理学的に分類される。前者は 3 リPEAT タウ (3R) と呼ばれるエクソン 10 を欠いたタウの蓄積を主体とする。後者はエクソン 10 を含む 4 リPEAT タウ (4R) と呼ばれるタウの蓄積を主体とする。

興味深い事は、どちらか一方のスプライシング多様体に病原性があるわけではなく、これらはいずれも、正常な状態でもある一定の割合で存在し、その構成比の変化が重要であると推察される。タウオパチーがスプライシングの構成比以上であることを示唆する事実として、タウ遺伝子に変異をもつ FTL17 の存在がある。本症では、タウの遺伝子変異によって、3R、4R の構成比が変化する。本症が示唆することは、タウ遺伝子のスプライシング多様体の構成比は、ある一定の範囲に保たれていることが重要であり、それを逸脱すると 3R であっても 4R であっても疾患の引き金になる事が推察される。

もしタウのスプライシングが遺伝子の配列レベルで制御されているのであれば、末梢血のゲノムを解析することにより、我々は、本症の発症に対して一定の見解を得ることができる。しかし、スプライシング制御機構の詳細はまだ十分には解明されていない。しかし、その一端がクロマチン構造が関係していることが推定されている。もしクロマチン構造が関係しているとなると、末梢血のゲノム解析では我々はこの謎に迫ることは

できない。今回の主目的はタウオパチーの末梢血ゲノムを集積し、解析することにある。FTD-17 の存在は、DNA の配列がこの配分比を規定する可能性を明確に指示する。それでは大多数をしめる孤発性のタウオパチーに関して、これを示唆する物はあるのだろうか？

PSP/CBD は、特定のタウ遺伝子領域のハプロタイプ (H1) が危険因子となる事が知られている。この H1 ハプロタイプは構造多型であり、ある特定の領域の複数の遺伝子の配列が逆向になっている。それに加えて一部の遺伝子領域が繰り返され、極めて多様性に富む構造多型を持っている。さらに PSP に関しては極めて相関の高い一塩基多型が知られている。しかし、この多型と、構造多型との関連は不明である。これらの事実は、4R タウを規定する特定の遺伝子配列もしくは従来の考え方を越えた長い領域の遺伝子構造の多型が寄与する可能性を示唆する。特にクロマチン構造を考える場合、このような構造多型の存在は極めて理にかなっている。欧米の報告ではすでに 1000 例以上の病理にて診断された PSP を用いてこの解析が行われた (Gunter U Hoglinger et al. Nature Genetics 2011) 。この事実は、少なくとも世界に寄与する研究成果をあげるためには、同等の症例数を集める必要がある。

しかし、今の日本の現状では、症例数の面、システムの面でかなり悲観的にならざるを得ない。それでは日本で今からこれらの研究に参入するに当たっての勝算はあるのであろうか？我々は決してないとは思わない。このリスクハプロタイプの人種差に我々の勝算があると考えている。欧米人と日本人では H1 ハプロタイプの頻度が異なる。欧米人では一定の割合で H2 ハプロタイプが存在するが、日本人をはじめとするアジア系人種ではほとんどが H1 ハプロタイプである。さらに H1 は複数のサブハプロタイプに分類されるが、このサブハプロタイプの頻度が異なることも判明している (Steinberg et al Nature Genetics

2012)。日本人でも特定の一塩基多型が疾患の発症と相関していることが推察されている。このことは、欧米人と日本人の PSP,CBD 患者で共通して認められる構造多型が疾患の危険因子となっている可能性を示唆する。両者を詳細に比較することにより、この共通した遺伝子配列、ゲノム構造が同定できる可能性がある。その意味で、病理診断で確定診断のついた症例について、タウ遺伝子領域の詳細な構造解析を行うことの意義はあるかもしれない。この研究の為には病理診断例のゲノムを全国レベルで集積する必要があることを強く訴えたい。

E. 結論

1. 本研究班における新潟大学のミッションは次の3点にあると考える。タウオパチーのゲノム解析、認知症のゲノム解析、パーキンソニズムのゲノム解析である。
2. 本研究班の共通の最大のミッションは、ゲノム解析により、タウオパチーの生前診断に寄与できるかどうか、疾患の進行程度を期待する遺伝要因を同定できるかどうか、病態機序に迫ることができるかどうかにある。
3. PSP/CBD は、特定のタウ遺伝子領域のハプロタイプ (H1) が危険因子となる事が知られている。さらに PSP に関しては極

F. 研究発表

1. 論文発表

Hoshi A, Yamamoto T, Shimizu K, Ugawa Y, Nishizawa M, Takahashi H, Kakita A. Characteristics of aquaporin expression surrounding senile plaques and cerebral amyloid angiopathy in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2012 Aug;71(8):750-9.

Kanazawa M, Shimohata T, Endo K, Koike R, Takahashi H, Nishizawa M. A serial MRI study in a patient with progressive supranuclear palsy with cerebellar ataxia. *Parkinsonism Relat Disord*. 2012 Jun;18(5):677-9.

めて相関の高い一塩基多型が知られている。

4. 欧米の報告ではすでに 1000 例以上の病理にて診断された PSP を用いてこの解析が行われており、本邦で世界に寄与する研究成果をあげるためには、同等の症例数を集める必要がある。
5. 欧米人と日本人では H1 ハプロタイプの頻度が異なる。欧米人では一定の割合で H2 ハプロタイプが存在するが、日本人をはじめとするアジア系人種ではほとんどが H1 ハプロタイプである。さらに H1 は複数のサブハプロタイプに分類されるが、このサブハプロタイプの頻度も異なる。
6. 欧米人と日本人の PSP,CBD 患者で共通して認められる構造多型が疾患の危険因子となっている可能性を示唆する。両者を詳細に比較することにより、この共通した遺伝子配列、ゲノム構造が同定できる可能性がある。
7. 病理診断で確定診断のついた症例について、タウ遺伝子領域の詳細な構造解析を行うことの意義はある。この研究の為には病理診断例のゲノムを全国レベルで集積する必要がある。

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化 研究事業）
分担研究報告書

次世代シークエンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関する研究
研究分担者 村山 繁雄 東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク 研究部長

研究要旨

高齢者ブレインバンクは、高齢者在宅支援総合救急病院連続開頭剖検例と、他施設稀少神経変性疾患剖検例中、ブレインバンク登録同意を得た症例により構成されている。本研究の協力のため、ブレインバンクリソース提供のかたちで、倫理委員会承認を得た。

DNA が保存された症例中、孤発性特定疾患例を提供することで、研究協力していく予定である

A.研究目的

次世代シークエンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関し、神経病理学的に確定診断された神経難病と、変性型所見を有さない厳密なコントロールを提供することで、本研究に講演する。

B.研究方法

高齢者在宅支援総合救急病院連続開頭剖検例と、高齢者ブレインバンクが診断に最終責任をとっている高齢者ブレインネットワーク施設難病剖検例中、登録同意が得られた症例について、半脳凍結、半脳固定を原則とするリソース構築を行う。神経病理診断は国際標準免疫染色の組み合わせに基づき行う。DNA 品質は、apoE 遺伝子型決定により担保する。

(倫理面への配慮)

高齢者ブレインバンクについては、施設倫理委員会承認済みである。高齢者ブレインバンクプロジェクトについては、ネットワーク加入施設倫理委員会に承認済みである。

C.研究結果

本研究に関する枠組みと、高齢者ブレインバンクが協力できる体制について協議の上、主任研究者施設の倫理委員会承認がおりた後、それを前提に、本施設倫理委員会承認を得た。内容としては、ブレインバンクリソースを共同研究として提供するかたちでの承認である。

遺伝子研究としては、アルツハイマー病、パー

キンソン病に関しては発現解析を含めた共同研究を進行させており、本研究においては、進行性核上性麻痺 (PSP)・皮質基底核変性症 (CBD) を中核として、貢献していく予定である。

D.考察

CBD/PSP については、臨床診断の信頼性が低いことが知られている。剖検診断確定 PSP バンクとしては、Cure PSP による生前同意登録制に基づく PSP バンクが Mayo Clinic Jacksonvil に設置されており、900 例以上の症例が存在する。

日本人はタウの PSP の危険因子である H1 ハプロタイプよりなっており、高齢者ブレインバンク登録例でのパーキンソン病 (PD) との相対比率は 1:10 であり、施設バイアスを考慮しても、PSP-P が PD として剖検されない結果、頻度が低く評価されている可能性が高い。

本研究において、人種背景を元に、本邦独自の成果をあげるためには、本研究に加盟している各拠点の協力なしに対抗は不可能である。

本研究においても、各拠点間の協力の下に、ブレインバンク生前同意登録制度を促進することが、症例数の確保には必須である。

E.結論

CBD/PSP を対象とする場合、米・英と対抗するためには、ブレインバンクへの生前同意登録、各拠点の協力が不可欠である。高齢者ブレインバンクはその面で協力をしていく予定である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 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 Abeta generation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*. 2012; 7: 50
 2. 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 Laterl Scler* 2012; 13 (6) 562-6
 3. Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S: alpha- synuclein pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/ Parkinsonism demntia complex in the Kii Peninsula, Japan. *J Neuropath Exp Neurol* 2012; 71 (7): 625-30
 4. 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; 60 (10): 761-9.
 5. 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; 91(2): 320-9
 6. Kakuda N, Shoji M, Arai H, Furukawa K, Ikeuchi T, Akazawa K, Takami M, Hatsuta H, Murayama S, Hashimoto Y, Miyajima M, Arai H, Nagashima Y, Yamaguchi H, Kuwano R, Nagaike 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* 2012; 4 (4): 344-352
 7. 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, David M. A. Mann, Tamaoka A: Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy *Brain* 2012; 135 (11): 3380- 91
 8. Takahashi M, Ishikawa K, Sato N, Obayashi M, Niimi Y, Ishiguro T, Yamada M, Toyoshima M, Takahashi H, Kato T, Takao M, Murayama S, 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* 2012; 32 (6): 593- 603
 9. Funabe S, Takao M, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Ito S, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Hattori N, Murayama S: Neuropathologic analysis of Lewy- related alpha- synucleinopathy in olfactory mucosa. *Neuropathology* 2013; 33: 47-58
 10. Miyakawa S, Ogino M, Funabe S, Uchino A, Shimo Y, Hattori N, Ichinoe M, Mikami T, Saegusa M, Nishiyama K, Mori H, Mizuno Y, Murayama S, Mochizuki H: Lewy body pathology in a patient with a homozygous Parkin deletion. *Mov Disord* 2013: 28(3): 388-391.
 13. Uchida Y, Gomi F, Murayama S, Takahashi H: Calsyntenin-3 C-terminal fragment accumulates in dystrophic neurites surrounding A β plaques in Tg2576 mouse and Alzheimer's disease brains: its neurotoxic role in mediating dystrophic neurite formation. *Am J Patho* in press
- ### 2. 学会発表
1. Sabbagh M, Seibyl J, Akatsu H, Ouchi Y, Beach T, Charny A, Barthel H, Senda K, Murayama S, Ishii K, Leverenz J, Ghetti B, Ironside J, Roth K, Hoffmann A, Schulz- Schaeffer W, Reiningger C, Sabri O: Results of a multicentre phase 3 trial on florbetaben for β -amyloid brain PET in Alzheimer disease. 2012 AAN, Florida, April, 2012.
 2. Morimoto S, Kokubo Y, Kihira T, Saito Y, Takahashi H, Kuzuhara S, Murayama S: Immunochemical and immunocytochemical studies of tauopathy in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/ Parkinson dementia complex (PDC)- Kii. 2012 AANP Meeting, Chicago, June, 2012.
 3. Schulz-Schaeffer W, Hoffmann A, Sabri O, Seibyl J, Akatsu H, Takao M, Beach TG, Murayama S, Ghetti B, Ironside J, Leverenz J, Roth K, Reiningger C, Sabbagh M: Detection of β -amyloid by florbetaben PET: histopathological verification in a global phase 3 clinical trial. 2012 AANP Meeting, Chicago, June, 2012.
 4. Morimoto S, Kokubo Y, Saito Y, Hasegawa M, Kihira T, Yoshida S, Takahashi H, Yoshida M, Kuzuhara S, Murayama S: Establishment of pathology center for ALS/ PDC- Kii, Japan. 2012 AAIC, Vancouver, July 2012
 5. Nakamoto FK, Takao M, Maeda D, Ikemura K, Hayashi T, Ito S, Takahashi Y, Fukayama M, Tsuji S, Murayama S: FUS-immunopositive inclusions and compound Pick bodies in frontotemporal lobar degeneration with motor neuron disease (FTLD- MND- FUS). *FTD* 2012, Manchester, September 2012.

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

次世代シークエンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関する解析研究
研究分担者 望月 秀樹 大阪大学大学院医学系神経内科学 教授

研究要旨

大阪大学遺伝子診療部に家族性パーキンソン病外来設立、パーキンソン病の原因疾患である。 α -synuclein の機能解析を中心に、展開している。具体的には、 α -synuclein 凝集機序のひとつに SNAP-25 が関与していることを報告した (1)。また、現在標的分子をもとに網羅的薬剤候補化合物探索を開始し、幾つかの候補薬剤を見つけ、現在関連薬剤に関して検討中である (未発表)。

A.研究目的

次世代シークエンサーを用いた孤発性の神経難病の発症機構の解明に関する解析研究のため、家族性パーキンソン病外来を大阪大学遺伝子診療部（部長望月）に設立し、諸問題に対応できるように配備した。

一方 α Syn の凝集機構の解析を行った。過剰発現マウス線条体で、 α Syn の蓄積、SNAP-25、VAMP-2 及び syntaxin-1 の局在変化並びにドーパミン放出量の低下が観察されている。更に、パーキンソン病患者の剖検脳において SNARE 蛋白の凝集が報告されている。

これらのことから、SNARE 複合体の機能異常が α Syn の存在様式に影響を及ぼす可能性について検討した。

B.研究方法

本研究では PKC によるリン酸化を受けない *Snap25^{S187A/S187A}* マウス（変異マウス）の線条体を用いて、免疫組織化学的及び生化学的解析を行い、SNARE 複合体の機能異常が α Syn の存在様式に影響を及ぼす可能性について検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は前勤務地の北里大学動物実験倫理委員会の承認を得て実施した。

C.研究結果

11 及び 60 週齢のマウス線条体を対象として、 α Syn の免疫染色を実施した結果、変異マウスで

はいずれの週齢においても α Syn 陽性顆粒の出現が観察された。このことから、変異マウス線条体での α Syn の集積が示唆された。本所見は 11 週齢に比べて 60 週齢で顕著であったことから、加齢に伴い増悪する変化と考えられた。本結果を踏まえ、以降の検討では老齢（60～61 週齢）マウスを使用した。

α Syn の集積部位を特定するために、シナプス前部マーカーである synaptophysin との共染色を実施した結果、 α Syn 陽性顆粒との共局在がみられたことから、 α Syn の集積はシナプス前部での所見と考えられた。Ser129 リン酸化シヌクレイン (p- α Syn) の出現は DLB をはじめとするシヌクレイノパチーの病理学的特徴とされている。そこで、p- α Syn との共染色を実施した結果、集積した α Syn の一部がリン酸化されていることが明らかとなった。

変異マウスの線条体組織抽出液を用いたウェスタンブロットングでは、 α Syn 及び p- α Syn の発現量の増加がみられた。また、SNAP-25 の発現量の著しい低下がみられた。そこで、SNARE 複合体形成能を評価した結果、複合体形成により高分子量にシフトする SNAP-25 陽性バンドの減弱がみられたことから、SNARE 複合体形成能の低下が確認された。

電子顕微鏡による観察では、興奮性シナプス前部において、シナプス小胞の集積並びに α Syn の細胞内局在変化が観察された。線条体に投射する興奮性神経としては皮質及び視床由来の神経が

あるが、 α Syn 陽性顆粒は皮質由来神経マーカーである vesicular glutamate transporter (VGLUT) 1 とのみ共局在を示した。このことから、 α Syn の集積は皮質から線条体へ投射する神経終末部での所見と考えられた。また、VGLUT1 陽性神経終末部の著しい大型化がみられた。

次に、黒質線条体系に対する影響を評価した。黒質由来神経マーカーである tyrosine hydroxylase (TH) 又は dopamine transporter (DAT) との共染色を実施した結果、 α Syn 陽性顆粒は両分子ともほとんど共局在せず、電子顕微鏡による観察でも DAT 陽性終末部に形態的異常並びに α Syn の細胞内局在変化は認められなかった。また、黒質緻密部 TH 陽性細胞数並びに線条体ドーパミン及び代謝物含量に変化はみられず、黒質線条体系に対する異常は認められなかった。

D. 考察

興味深いことに、本所見の発現の有無は神経細胞の種類によって異なっており、パーキンソン病で障害を受ける黒質由来のドーパミン作動性の神経終末部ではみられず、大脳皮質から投射したグルタミン酸作動性の神経終末部で観察された。このことは、同じように α Syn の集積・凝集が原因と考えられる疾患においても、各々で病態発現メカニズムに違いがある可能性を示唆するものと考えられる。

E. 結論

α シヌクレインの凝集過程について独自の視点から解析した。マウスの線条体において、SNAP-25 の変異に起因した SNARE 複合体の機能障害により、VGLUT1 陽性の神経終末部において α Syn の集積がみられた。その一部はリン酸化を受けており、これらの蛋白の発現量の増加もみられた。 α Syn の集積は DLB の初期病変として示唆されている神経終末部での α Syn 集積に SNARE 複合体の機能異常が関与する可能性を示唆するものであり、病態形成機序を考える上で新たな知見

を提示するものと考えられた。

また、現在標的分子をもとに網羅的薬剤候補化合物探索を開始し、幾つかの候補薬剤を見つけ、現在関連薬剤に関して検討中である(未発表)。

F. 健康危険情報

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

Nakata Y, Yasuda T, Fukaya M, Yamamori S, Itakura M, Nihira T, Hayakawa H, Kawanami A, Kataoka M, Nagai M, Sakagami H, Takahashi M, Mizuno Y, Mochizuki H. Accumulation of α -synuclein triggered by presynaptic dysfunction. J Neurosci. 2012;32(48):17186-96.

2. 学会発表 なし

3. その他

2012年12月7日日本経済産業新聞
本内容について掲載

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

相模原病院神経内科の現状

研究分担者 長谷川 一子 国立病院機構相模原病院 神経内科 医長

研究要旨

進行性核上性麻痺 progressive supranuclear palsy:PSP や大脳皮質基底核変性症 corticobasal ganglionic degeneration: CBD などのタウオパチーの診断、病態把握、病因の研究のためには、バイオリソースの整備が必要である。当院は変性性神経疾患の症例数が多く、かつ、神経病理学的検討により、病理診断による確定診断をもととしたバイオリソースの収集が可能な施設である。本年度は当院の現状と神経病理学的検討結果について報告した。現時点での患者実数は PSP 22 症例、CBD 8 症例で随時同意取得中である。剖検症例数は PSP3 名、CBD2 名でそれぞれ 1 症例ずつ、臨床的には典型的 CBD であったが、病理診断 PSP、臨床診断（他院）PSP、病理診断 CBD であった。生前でのバイオリソースを収集するためには、診断基準の整備が必要と思われた。

A.研究目的

進行性核上性麻痺 progressive supranuclear palsy:PSP や大脳皮質基底核変性症 corticobasal ganglionic degeneration: CBD、前頭葉側頭葉型認知症 frontotemporal lobar degeneration: FTD などタウオパチーのバイオリソースを構築するに当たり、当院の現状を分析した。また、バイオリソース収集にあたり、患者会「のぞみの会」との関連強化を行った。

B.研究方法

当院の外来患者の動向、剖検症例の分析を中心に研究を進めた。

(倫理面への配慮)

研究に当たっては個人情報保護法、臨床研究の指針を遵守した。また、本研究実施にあたり、国立病院機構相模原病院倫理委員会を受審し、本研究施行の承認を得た。

C.研究結果

1. 広報活動

タウオパチーのバイオリソースを構築するためには患者の確保が先ず先決となる。本年度は PSP の患者の会であるのぞみの会で「進行性核上性麻痺とは」「神経難病患者に対する言語療法」による広報活動を行った。その際、疾患の診断、病態の把握、病因の追求にはバイオリソースが必要である事を強調し、患者会の賛意を得ることができた。また、言語療法士による発声訓練の実技を加えることにより、参加者とも協調関係を築くことができた。言語療法士はのぞみの会の広報活動後も、会により講演を依頼され、広報活動の地域の拡大をもたらすことができた。広報活動を行う事により、来院患者数は増加した。

医師および看護師を対象とする広報活動としては PSP と CBD に関する病態に対する総説が「今日の診断指針」に掲載された。

2. 相模原病院におけるタウオパチーの現状

当院倫理委員会での本研究遂行の承認(平成 24 年 11 月)後に患者への本研究に関する説明と同意を開始した。平成 24 年 2 月の時点で、PSP は 22 名、CBD は 8 名、FTD は 10 名であった。研究に対する同意取得を行い、遺伝子と血漿、血清

の採取を実施したのはPSP2名,CBD2名である。今後も収集についての同意とバイオリソース構築を継続していく予定である。

剖検組織については平成12年4月の神経内科開設から平成24年12月末日までの神経疾患傍件数は97症例であった。すべての症例については相模原病院倫理審査委員会の承認の元、共同研究を前提とした半切脳の凍結と半切脳についての神経病理学的検索を行っている。凍結半切脳については村山班員のbrain bank方式に基づいて保存している。平成24年12月の時点でPSPは3症例,CBDは2症例剖検されている。臨床診断と病理診断との関連ではPSPと臨床診断し、病理学的にもPSPが2症例,典型的CBDと臨床診断したにもかかわらず、病理学的には典型的PSPが1症例であった。また、臨床も病理もCBDは1症例,某大学でPSPと臨床診断し、当院に転院時には失外套状態で診断確定不能であった1症例は病理学的にはCBDであった。

臨床診断と病理診断に乖離が見られた症例について以下に示す。

临床上は典型的CBDと思われた症例は60歳頃,左手の動きが悪いことで発症。左に強いジストニアと肢節体幹失行を認め、次第に無言となった。眼球運動は末期に疎通性が悪くなるまで明らかではなかった。

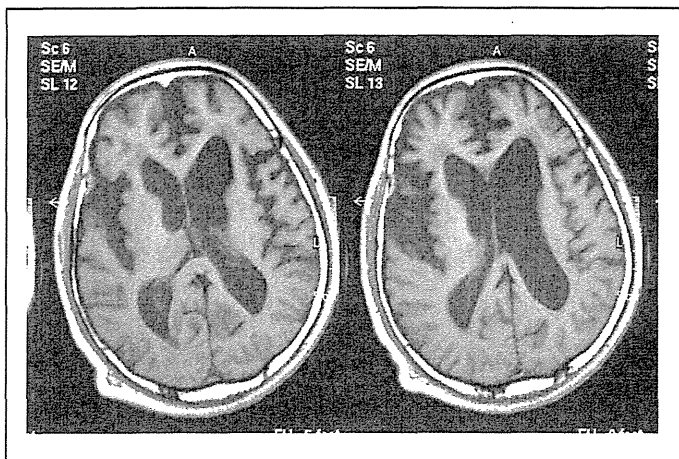


図1. 剖検でPSPとされた症例のMRI画像

MRI状は常時左右差を認め、右半球に協調される

大脳萎縮を認めた。脳幹も全長にわたり萎縮を認めたが、被蓋の萎縮はプロポーショナルであった。ECDスペクトロメトリーでも右に協調される血流低下を認めた。嚥下性肺炎のため死亡した。剖検では被蓋および視床下核、下オリーブ核にグロボース型神経原線維変化と神経細胞減少、グリオーシス、歯状核にグルモース変性を認めた。ガリアス・ブランク染色では図1に示す様なtufted astrogliosisを認め、典型的PSPと診断した。神経病理学的には純粋なPSPと診断でき、CBDの要素はみられなかった。

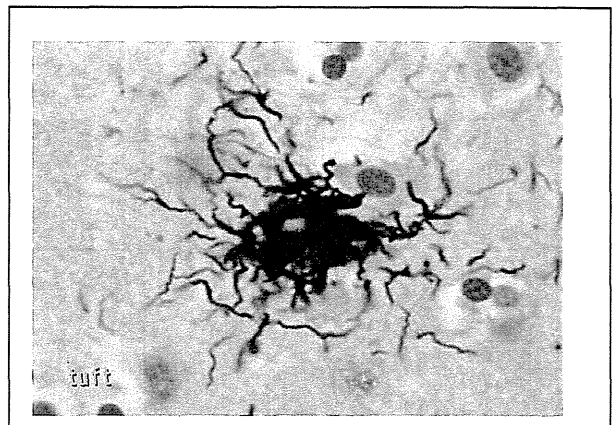


図2. Tuft body

他院でPSPと診断され、剖検診断でCBDとされた症例は、46歳時に垂直方向眼球運動障害で発症、50歳時に当院へPSPとして紹介され、入院となった。入院時には右上肢に強いジストニアを認めた、他の三肢は伸展位で拘縮していた。失外套状態にあり、詳細な神経所見は得ることができなかった。転院時のMRIでは左右差はなく、全脳萎縮と被蓋部に協調される脳幹萎縮を認めた。ECD血流シンチグラムでも左右差は明らかではなく前頭部に強い血流低下を認めた。嚥下性肺炎で死亡した。剖検所見では図に示す様に一部の皮質に空胞化を認め、組織学的には大脳皮質に散在性に空胞化した神経細胞 ballooned neuron と神経細胞の脱落、グリオーシスを認めた。ガリアス・ブランク染色では neuronal thread と astrocytic plaque を認め、CBDと診断した。本症例の神経病理像はCBDであって、PSPの要

素は無かった。

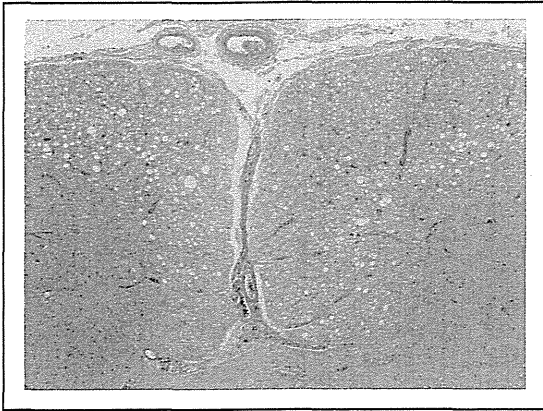


図2. 剖検で CBD と診断した症例の前頭葉

D. 考察

バイオリソースの構築には症例数の確保のみならず、正確な臨床診断が求められる。広報活動を行う事により、症例数は増加するが、正確な臨床診断には必要十分な診断指針が必要である。旧厚生省の PSP, CBD に関する診断指針は 1990 年代のものであり、その後の診断学的技法の刷新、病理診断の精度向上が得られたことに対して、十分な対応ができないことが明らかとなってきた。もとより、CBD と PSP は FTD も含むタウオパチーの範疇にあり、臨床上也病理学上也移行症例が見受けられるのも知られている。臨床上市誤診となった自験 2 症例についてもそれぞれの臨床診断指針、画像所見からは臨床診断についての矛盾点を見いだせずいたものの、病理学的には誤っていた。このような症例は文献上も散見し、また、神経病理学会でも時に話題となる¹⁾。CBD については最近の AAN の臨床診断指針にも記載されている様に、研究レベルではより診断指針を厳しくし、臨床レベルでは緩くしても、CBD についての診断指針は極めて曖昧となる²⁾。この論文は病理学的診断での確実例 267 症例の臨床像を分析したものであるが、わが国の神経専門医と神経病理施設を総合することでほぼ同数の患者数を得ることができると考えられ、画像診断などを加えた、臨床診断指針が策定できると思われる。今後のバイオリソースを収集するにあたり、診断

指針の再策定が望まれる。

E. 結論

1. タウオパチーのバイオリソースの構築にあたり、広報活動にを行った。
2. 相模原病院倫理審査委員会に本研究について受審し、研究遂行の承認を得た。
3. バイオリソースの採取を開始した。
4. 剖検例からみたタウオパチーについては臨床診断指針の整備が必要と思われた。

参考文献

- 1) Dickson DW et al: Neuropathology of frontotemporal lobar degeneration-Tau (FTLD-Tau)
- 2) Armstrong MJ et al: Criteria for the diagnosis of corticobasal degeneration. Neurology 80:496,2013.

F. 研究発表

1. 論文発表
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
 - 1) 長谷川一子編著：ジストニア 2012. 中外医学社 2012.
 - 2) Tomoko Kanao, ,, Kazuko Hasegawa, ,, Yuzuru Imai: The nitric oxide-cyclic GMP pathway regulates FoxO and alters dopaminergic neuron survival in drosophila. PLoS One 7e958.2012.
 - 3) Aasly JO, ,, Hasegawa K, ,, Armaly J,: Cerebrospinal fluid amyloid β and tau in LRRK2 mutation carriers. Neurology 78:55-61,2012.

2. 学会発表

なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
服部信孝	パーキンソン病の遺伝学と遺伝子診断の手順	山本光利	GPレジデントのためのパーキンソン病テキストブック	アルタ出版	東京	2012	74-84
今居 謙, 服部信孝	第1章 microRNA 診断 神経変性疾患に関与する miRNA とその臨床応用への可能性	尾崎 充彦, 黒田 雅彦, 落谷 孝広	臨床・創薬利用が見えてきた microRNA, 遺伝子医学 MOOK (1349-2527) 23号	メディカルドゥ	東京	2012	44-47
和田健二, ほか	パーキンソン病および同症候群の疫学.	山本光利	GP・レジデントのためのパーキンソン病テキストブック	アルタ出版	東京	2012	58-65
古和久典, ほか	パーキンソン病における認知症の治療とケア.	山本光利	GP・レジデントのためのパーキンソン病テキストブック	アルタ出版	東京	2012	186-191
長谷川一子 編著	ジストニア 2012			中外医学社	東京	2012	
長谷川一子, 金澤一郎	ジストニアの歴史－Oppenheim 以前－	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	4-6
長谷川一子	現在のジストニアの定義と分類	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	11-15
長谷川一子	まれなドパ反応性ジストニア	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	122-125
長谷川一子	Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	136-149
長谷川一子	ジストニアの疫学－神経内科専門医を対象とした全国調査	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	152-157
川嶋乃里子, 長谷川一子	一次性局所性ジストニアの SPECT	ジストニア 2012	長谷川一子	中外医学社	東京	2012	234-243