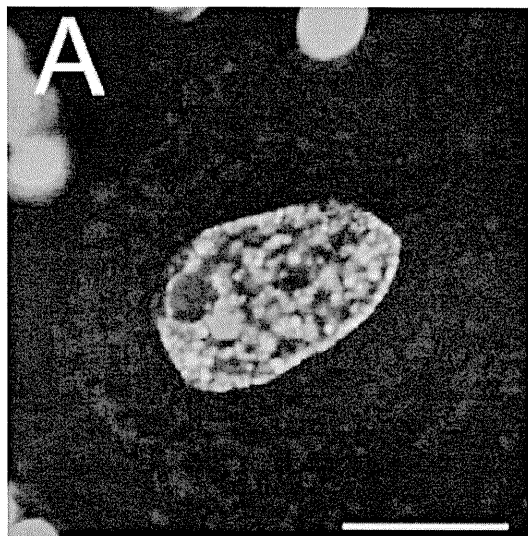


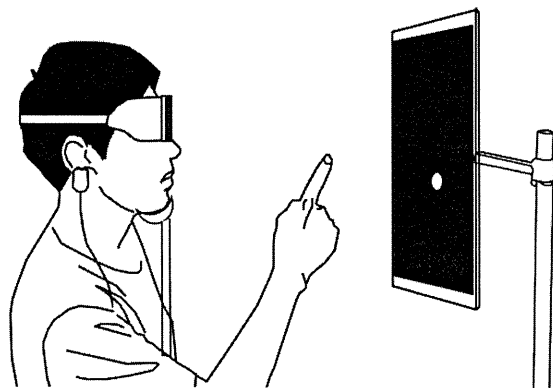
- Neurology. Melbourne. 2012. 6. 7.
- 14) Mizusawa H: Molecular pathology of neurological diseases: A cultured cell model of SCA31. The 2nd International Conference of Neural Tissue Culture / The 34th Meeting of the Japanese Association of Neural Tissue Culture, Tokyo, June 16, 2012
 - 15) Mizusawa H: Spinocerebellar ataxia type 31: A new RNA disease. ISP 2012 symposium “Brain and mind: Neuroscience up to date”, Tokyo, August 29, 2012
 - 16) Mizusawa H: Advance in neurodegenerative disease: Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA 6). The 15th National Conference of Neurology, Guangzhou, Sep 21, 2012
 - 17) Mizusawa H: Spinocerebellar ataxia type 31: A new RNA disease. 15th National Conference of Neurology, International Symposium on Cerebella. Hangzhou. 2012.9.23.
 - 18) Mizusawa H: The past and the future of SCAs. 2012 Korean Neurological Association, The 30th Anniversary Annual Meeting. Seoul. Nov 2, 2012
 - 19) Hashimoto Y, Ishikawa K, Honda T, Nagao S, Mizusawa H: A Novel System To Evaluate the Dynamic Cerebellar Motor Learning Capability and Its Application Identifies a Clinical Marker in Cerebellar Ataxias. 65th American Academy of Neurology Annual Meeting, 2013. 3. 19, San Diego, USA
 - 20) 橋本祐二, 石川欽也, 本多武尊, 中尾誠, 永雄総一, 水澤英洋: プリズム適応を用いた小脳運動学習の定量化. 第 54 回日本神経学会学術大会, 2013 年 5 月 30 日, 東京
 - 21) 本多武尊, 橋本祐二, 曾我一將, 石川欽也, 水澤英洋, 永雄総一: ヒトの手の到達運動の学習評価のための新しい実験パラダイム. 第 7 回 Motor control 研究会. 2013 年 9 月 6 日, 東京
- G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)
1. 特許取得
平成 24 年 9 月 7 日出願
平成 25 年 8 月 30 日出願 (拡大申請)
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

①SCA31の分子病態



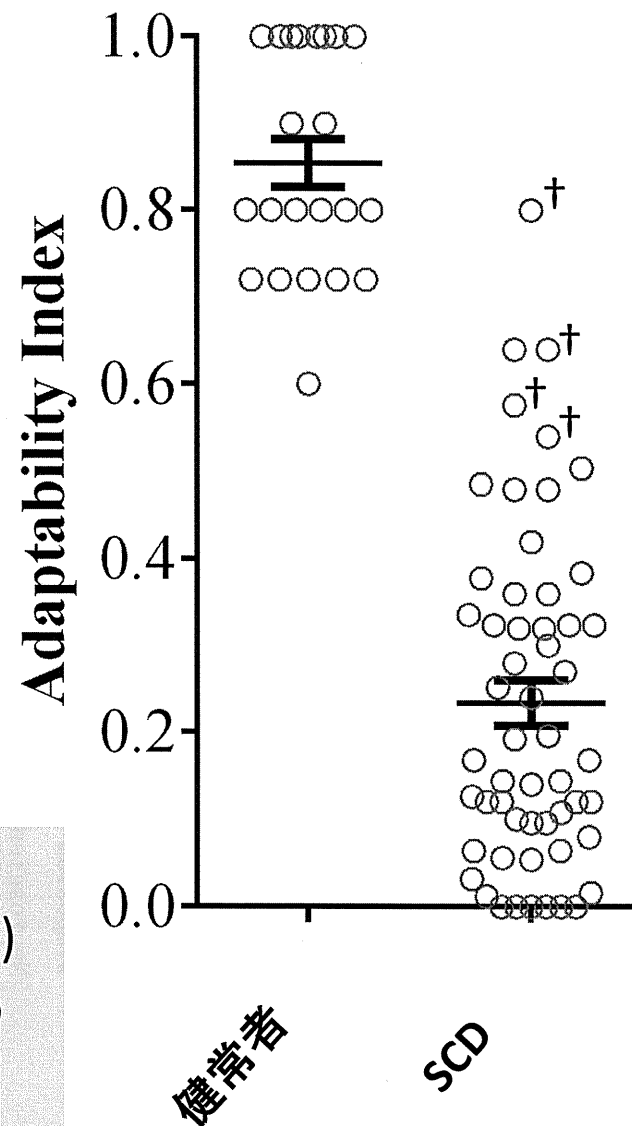
SCA31の原因遺伝子配列が転写されると、 $(UGGAA)_n$ となる。この配列が患者脳内で、異常構造をとることが示された(Neuropathology誌に発表)。

②プリズム適応を用いた小脳機能評価機器



プリズムをかけて、画面のターゲットを示指で触るだけの操作。簡単に、誰にでも検査を行えるのが利点。

Adaptability Indexの値が、脊髄小脳失調症患者(SCD)で低下し、病状を反映することを発見した。
+ 小脳症状を欠くMSA-P



脊髄小脳変性症に対するリハビリテーションの効果とその機序について

研究分担者 宮井 一郎（社会医療法人大道会 森之宮病院 院長代理）
共同研究者 服部 憲明
（社会医療法人大道会森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）
畠中めぐみ
（社会医療法人大道会森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）
矢倉 一
（社会医療法人大道会森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）
河野 悌司
（社会医療法人大道会森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）
藤本 宏明
（社会医療法人大道会森之宮病院 神経リハビリテーション研究部）
三原 雅史（大阪大学大学院医学系研究科 神経内科）
伊藤 瑞規（名古屋大学 神経内科）
祖父江 元（名古屋大学 神経内科）

研究要旨

脊髄小脳変性症に対する短期集中リハビリテーション（リハ）の効果が半年間にわたって持続することを報告した。そこで、リハ効果のマーカーとして平成 23 年度は手指タッピング、24 年度は小脳萎縮の程度の有用性を検討した。タッピングの周波数変動係数（CV）は、リハ前よりリハ後の小脳性運動失調の程度（SARA）の方がより強い相関を示した。小脳萎縮に関しては、同様にリハ後の SARA と小脳半球の萎縮の相関が強かった。一方、歩行速度は、小脳虫部の萎縮が強い程、歩行速度の改善率が高かった。SARA に関しては廃用などの因子によるばらつきが、リハ介入より補正され、本来の能力を引き出したと考えられた。歩行に関してはリハ介入がバランス能力により依存しないストラテジー獲得をもたらすことが示唆された。25 年度は、間歇的集中リハの意義を明らかにするため、集中リハを 1～2 年の間隔でおこなった患者の転帰を解析した。集中リハの効果は小脳性運動失調や歩行に対しては小さくなるが、ADL に対する効果が顕在化した。さらに集中リハの間隔や在宅でのリハ量が機能維持に関連していた。

- A. 研究目的 中リハビリテーション（リハ）の効果は約
脊髄小脳変性症（SCD）に対する短期集 半年持続した（CAR trial. Miyai et al.

Neurorehabil Neural Repair 2012;26:515-522)。23年度は対象例において手指タップ運動における変動が小脳失調の重症度やリハ転帰のバイオマーカーとなりうるか、24年度は、神経変性に関連した解剖学的な情報がこのリハ効果の機序を理解するのに役立つかを検討した。25年度は、対象例で繰り返し間歇的な集中リハ介入を行うことの意義を検討した。

B. 研究方法

CAR trial に参加した SCD42 名 (平均 63±11 歳、平均罹病期間 10±6 年) を対象とした。30 秒間の利き手、非利き手の手指(母指-示指)タップ運動を目視下、非目視下、暗算負荷下で測定した。タップ周波数と振幅の各変動係数(CV)を求め、転帰指標 (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia: SARA, Functional Independence Measure: FIM) との相関を解析した。次に小脳萎縮の指標として voxel-based morphometry (VBM) による形態学的変化と転帰指標との関連を検討した。間歇的集中リハに関しては SCD 患者 9 例。5 例は 2 回、4 例は 3 回の集中入院リハを行った。1、2、3 回目の平均入院日数はそれぞれ 32、46、43 日、1 回目と 2 回目、2 回目と 3 回目の入院間隔はそれぞれ 679、349 日であった。転帰を SARA, FIM など で評価した。

(倫理面への配慮)

研究は倫理委員会の承諾のもと、各被験者からは文書での同意を得た。データはすべて匿名化して解析した。

C. 研究結果

リハ前よりも集中リハ直後の SARA, FIM の方が、有意な相関を示すタップ指標が多かった。非目視下の非利き手タップ振幅 CV がリハ後 12 週、24 週の SARA 改善率と有意な相関を示した。一方、VBM の解析結果からは、小脳前葉の灰白質の萎縮と臨床評価項目に相関を認めた。有意な相関を認めたクラスターのサイズは、SARA と FIM は、リハ直後が最大であったが、歩行速度はリハ前が最大であった。歩行速度の改善は小脳虫部の灰白質の容積と負相関を示した。間歇的集中リハに関しては、入院を繰り返すと SARA の改善度が次第に低下したが、FIM の改善点数はむしろ大きくなり、運動失調の悪化に伴う ADL 低下の顕在化に対しては有意な効果を認めた。1 回目から 2 回目の入院にかけての在宅リハ量は 80~420 分/週と幅があったが、リハ量と SARA の変化量に相関が見られた。

D. 考察

タッピングは代償や経験による修飾が少ないと考えられ、日常生活経験に左右されるリハ前より、リハ後の引き出された患者本来の小脳性運動失調の程度をより反映することが示唆された。リハ介入前よりも介入直後の小脳萎縮が SARA や FIM との相関が強かったことは、廃用や非効率的な代償などの運動機能を阻害していた個人差のある諸因子が臨床的な重症度にばらつきを来していたのが、リハ介入より、これらの影響を取り除き、変性の程度に応じた本来の能力を引き出したと考えられた。また、小脳虫部の萎縮の

強かった患者の方が歩行速度の改善を認めたことから、歩行に関しては、リハ介入がバランス能力により依存しない新たなストラテジーの使用を促していると推察された。

病期の進行にしたがって複数回の集中リハリハのターゲットは impairment(運動失調)から disability (ADL)に変遷し、在宅における活動性の維持・向上が機能保持には重要であることが示唆された。間歇的集中リハと在宅における活動性の維持・向上のための介入・モニタリングがうまくカップルされれば、機能低下の防止がある程度可能であると考えられる。

E. 結論

手指タッピングの変動や小脳半球の萎縮の程度はリハ前より集中リハ後の小脳性運動失調の程度(SARA)の方がより強い正の相関を示した。一方、小脳虫部萎縮は歩行速度の改善と負の相関を示すため、リハによる機能改善には異なる学習機序、解剖学的基盤が含まれることが示唆された。経時的には集中リハの運動失調に対する効果は低下するが、ADLに対する効果は顕在化する。在宅でのリハ量や活動量も機能維持に関連すると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Miyai I, Sonoda S, Nagai S, Takayama Y, Inoue Y, Kakehi A, Kurihara M, Ishikawa M: Results of new policies for inpatient rehabilitation coverage in japan. Neurorehabil Neural Repair 2011;25:540-547
- 2) Higashimoto Y, Honda N, Yamagata T, Matsuoka T, Maeda K, Satoh R, Nishiyama O, Sano H, Iwanaga T, Miyara T, Muraki M, Tomita K, Kume H, Miyai I, Tohda Y, Fukuda K: Activation of the prefrontal cortex is associated with exertional dyspnea in chronic obstructive pulmonary disease. Respiration; international review of thoracic diseases 2011;82:492-500
- 3) Miyai I, Ito M, Hattori N, Mihara M, Hatakenaka M, Yagura H, Sobue G, Nishizawa M: Cerebellar ataxia rehabilitation trial in degenerative cerebellar diseases. Neurorehabil Neural Repair 2012;26(5):515-522
- 4) Mihara M, Miyai I, Hattori N, Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Okibayashi M, Danjo N, Ishikawa A, Inoue Y, Kubota K: Neurofeedback using real-time near-infrared spectroscopy enhances motor imagery related cortical activation. PLoSOne 2012;7(3):e32234
- 5) Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Yagura H, Hattori N: Impaired motor learning by a pursuit rotor test reduces functional outcomes during rehabilitation of poststroke ataxia. Neurorehabil Neural Repair 2012; 26(3):293-300
- 6) Miyai I: Challenge of Neurorehabilitation for Cerebellar Degenerative Diseases. The

- cerebellum 2012;11(2):436-7
- 7) Mihara M, Miyai I: Applications of Near Infrared Spectroscopy in Neurorehabilitation. Infrared Spectroscopy - Life and Biomedical Sciences. 41-56. InTech, 2012
 - 8) Mihara M, Hattori N, Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Hino T, Miyai I: NIRS-mediated neurofeedback enhances efficacy of motor imagery-based training in post-stroke victims: a pilot study. Stroke 2013;44:1091-1098
 - 9) Ilg W, Bastian AJ, Boesch S, Burciu RG, Celnik P, Claaßen J, Feil K, Kalla R, Miyai I, Nachbauer W, Schöls L, Strupp M, Synofzik M, Teufel J, Timmann D: Consensus Paper: Management of Degenerative Cerebellar Disorders. Cerebellum, In press, DOI 10.1007/s12311-013-0531-6
 - 10) Fujimoto H, Mihara M, Hattori N, Hatakenaka M, Kawano T, Yagura H, Miyai I, Mochizuki H: Cortical changes underlying balance recovery in patients with hemiplegic stroke. NeuroImage 2014;85:547-554
 - 11) Mihara M, Hattori N, Miyai I: Applications of Near-Infrared Spectroscopy in Movement Disorders. Neuroimaging of Movement Disorders. 93-104. Human Press. 2013
 - 12) 河野悌司, 畠中めぐみ, 三原雅史, 矢倉一, 服部憲明, 宮井一郎: 内科医のための脳卒中 Up date 脳卒中のリハビリテーション. 診断と治療 2011; 99(1):87-92
 - 13) 宮井一郎: 運動失調に対するリハビリテーション. 神経治療学 2011; 28(1):49-51
 - 14) 宮井一郎: 小脳性運動失調のリハビリテーション. 神経内科 2011; 74(3):275-280
 - 15) 宮井一郎: リハビリテーション療法の有効性のエビデンス. 日本医師会雑誌 2011;140(1):72
 - 16) 服部憲明, 宮井一郎: 機能回復と可塑性. Clinical Neuroscience. 2011; 29(7):839-841.
 - 17) 河野悌司, 畠中めぐみ, 三原雅史, 服部憲明, 日野太郎, 矢倉一, 宮井一郎: 神経リハビリテーション. 総合リハビリテーション 2011;39(12):1151-1156
 - 18) 畠中めぐみ, 三原雅史, 服部憲明, 宮井一郎: 神経変性疾患のリハビリテーション. 医薬ジャーナル. 2012; 45(5):115-119.
 - 19) 畠中めぐみ, 服部憲明, 三原雅史, 宮井一郎: 脊髄小脳変性症のリハビリテーション. 最新医学 2012;67(5):1155-1161
 - 20) 畠中めぐみ, 宮井一郎: 脳卒中片麻痺患者の上肢機能障害と機能予後. 理学療法 2012; 29(12):1323-1332
 - 21) 三原雅史: Real-time NIRS によるニューロフィードバックを用いたニューロリハ. 分子脳血管病 2012; 11(3):271-277
 - 22) 宮井一郎: 急性期およびリハビリテーション専門病院における機器・設備

- の充実化. 新医療 2013; 40(1):56-59
- 23) 宮井一郎: 脊髄小脳変性症のリハビリテーションの実際. 臨床神経 2013;53:931-933
- 24) 藤本宏明, 三原雅史, 宮井一郎: 神経リハビリテーションにおける NIRS の応用. 精神科 2013;23(4):437-442
- 25) 宮井一郎: ニューロリハビリテーションはヒトの生物学的運命を変えるか? 理学療法 2013 印刷中
- 26) 宮井一郎: 小脳障害の治療. リハビリテーションの進歩. 辻省次, 西澤正豊編. 小脳と運動失調. 小脳は何をしているのか. 239-248, 2013, 中山書店
- 27) 宮井一郎: 脳血管障害による失語症のリハビリテーション. 福井次矢, 高木誠, 小室一成編. 今日の治療指針. 906-7, 2014, 医学書院
- meeting of Society for Neuroscience, 11/15/2011, Washington, D.C.
- 4) Mihara M, Miyai I, Hattori N, Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Ishikawa A, Inoue Y, Kubota K: Neurofeedback using real-time near-infrared spectroscopy enhances motor imagery and related cortical activation. 41th meeting of Society for Neuroscience, 11/15/2011, Washington, D.C
- 5) Mihara M, Hattori N, M. Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Hino T, Miyai I: Neurofeedback enhances the efficacy of mental practice with motor imagery in post-acute stroke victims: A pilot study. AHA International Stroke Conference 2012, 2/1 to 2/3/2012, New Orleans.
- 6) Miyai I: Functional NIRS as a tool for neurorehabilitation. 2012 UK-Japan Workshop in Multimodal Imaging of the Brain. 2/27 to 2/29/2012, Kavli Centre, UK
- 7) Hatakenaka M, Miyai I, Hattori N, Mihara M, Yagura H, Kawano T, Hino T, Ito M, Sobue G, Kandori A, Sakoda S: Finger tapping variability as a marker for cerebellar ataxia and response to rehabilitation. 2012 ACRM-ASNR Annual Conference. Oct 11, 2012, Vancouver, Canada
- 8) Hattori N, Miyai I, Hatakenaka M, Mihara M, Yagura H, Kawano T, Hino T, Ito M, Sobue G: Discrete mechanism related to improvement by

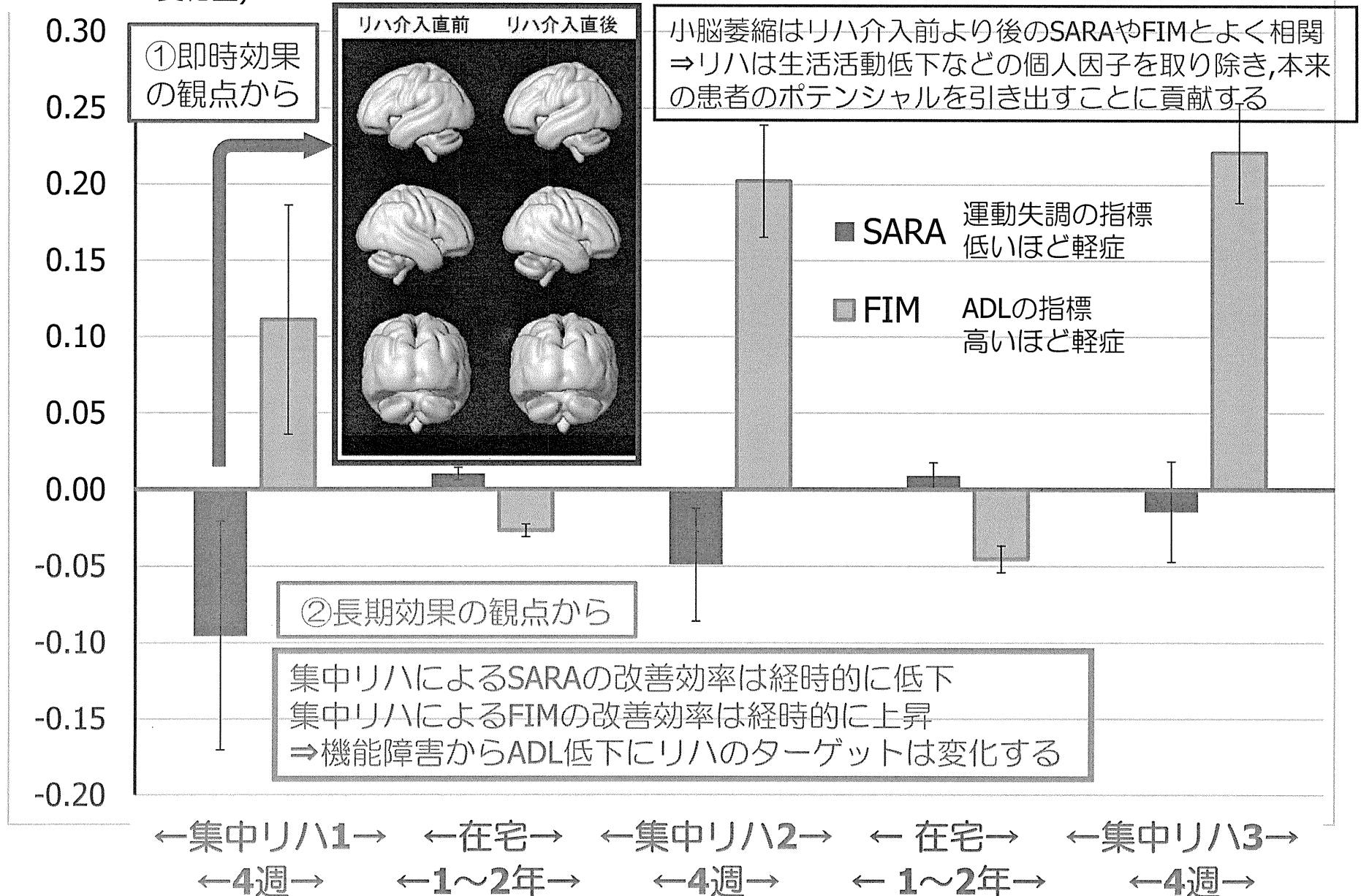
2. 学会発表

- 1) Miyai I: fNIRS monitoring of neurorehabilitation. International Neurorehabilitation Symposium 6/7 to 7/1/2011, Zurich
- 2) Miyai I: Challenge of neurorehabilitation for cerebellar degenerative diseases. 4th International Symposium of Society for Research on the Cerebellum. 9/8/2011. Tokyo
- 3) Hattori N, Mihara M, Hatakenaka M, Kawano T, Hino T, Yagura H, Miyai I: Different characteristics of activation in the motor areas associated with hemiparetic hand movement in stroke patients. 41th

- rehabilitation in cerebellar degenerative disease. 18th Meeting of the Organization for Human Brain Mapping. 6/13/2012, Beijing, China
- 9) Fujimoto H, Mihara M, Hattori N, Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Miyai I: Cortical mechanisms underlying balance recovery in patients with hemiplegic stroke. 42th meeting of Society for Neuroscience, Oct 14, 2012, New Orleans, USA.
- 10) Miyai I: Neurofeedback for enhancing functional recovery after stroke. BMI Osaka 2012. Oct 21, 2012, Osaka
- 11) Miyai I: Clinical Application of fNIRS for stroke rehabilitation. International Conference Stroke Update 2012, Nov 17, 2012, Jeju, Korea.
- 12) Miyai I: Enhancing functional recovery after stroke. 7th international meeting of ISPRM, June 19, 2013. Beijing, China
- 13) Mihara M, Fujimoto H, Hattori N, Hatakenaka M, Yagura H, Kawano T, Miyai I, Mochizuki H: Cortical reorganization after intensive rehabilitation in degenerative cerebellar ataxia. The Movement Disorder Society's 17th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Sydney, Australia, June 16-20, 2013
- 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

脊髄小脳変性症に対する間歇的集中リハビリテーションの転帰

改善効率(1日あたりの
SARA・FIM変化量)



脊髄小脳失調症 31 型（SCA31）の分子病態の解明と自然史調査

研究分担者 吉田邦広（信州大学神経難病学講座分子遺伝学部門）
共同研究者 中村勝哉、池田修一（信州大学脳神経内科、リウマチ・膠原病内科）
小柳清光（信州大学神経難病学講座分子病理学部門）

研究要旨

SCA31 患者剖検脳を検討し、特徴的なプルキンエ細胞周囲の halo 構造を有する変性過程ではプルキンエ細胞の核の変形が見られ、高率に Golgi 装置の断片化が見られることを明らかにした。このことは halo 構造の成因としてプルキンエ細胞の内在性要因を強く示唆するものである。SCA31 患者 44 名を 2 年間にわたって前向きに調査した結果、SARA で平均 1.2/年、BI で平均 2.1/年増悪していた。罹病期間や SARA を他病型と同程度に揃えた SCA31 サブグループで比較すると SCA31 では言語障害、踵脛試験の拙劣さが目立つ傾向があった。SCA31 群全体で見た場合、長期経過例（罹病期間の長い高齢者）における歩行の悪化が SARA 歩行スコアを押し上げており、起立・歩行障害の悪化要因として、原疾患による体幹動揺に加えて加齢、あるいは廃用の影響が強く関与している可能性が考えられた。

A. 研究目的と背景

脊髄小脳失調症 31 型（SCA31）の神経病理学的所見として、変性したプルキンエ細胞周囲の halo-like 構造が特徴的とされる。過去の報告では、この構造物はプルキンエ細胞の突起（somatic sprouting）とシナプス顆粒が混在したものとされる。本研究では SCA31 剖検脳 2 症例を用いて、小脳プルキンエ細胞の変性過程を考察した。

また、長野県には SCA31 が国内他地域より高頻度に見られる（ADCA199 家系中 83 家系、42%）という背景をもとに多施設共同の前向き調査を行い、その自然史を明らかにした。

B. 研究方法

神経病理学的検討には遺伝学的検査により確定された SCA31 患者 2 例（死亡時年齢 77 歳男性および 81 歳男性）と年齢相応の対照 4 例の剖検脳を用いた。小脳のホルマリン固定パラフィン薄切切片を用いて、hematoxylin-eosin 染色、Klüver-Barrera 染色、Bodian 染色など通常の組織染色を行った。また、抗 calbindin-D28K 抗体、抗 parvalbumin 抗体、抗 synaptophysin 抗体、抗 glial fibrillary acidic protein 抗体、抗リン酸化 neurofilament 抗体などを用いた免疫染色、種々の組み合わせによる二重免疫染色検索（明視野光顕、共焦点顕微鏡

観察)を行った。Golgi 装置の断片化の評価は抗 Trans-Golgi network protein 2 (TGOLN2) 抗体を用いた免疫染色下で行った。

自然史調査は県内 10 施設の協力を得て、44 名の SCA31 患者を対象とした。調査期間は 2011 年～2013 年、調査は年 1 回特定疾患臨床調査個人票の更新に合わせて Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)、Barthel index (BI) を評価した。

C. 研究結果

SCA31 の 2 症例において、halo 構造を持つ細胞と持たない細胞 (非特異的な変性) の内部構造に注目して比較検討した。比率的には 2 例とも前者の割合が少なかった (症例 1 : 42.3% ; 症例 2 : 26.4%)。前者では核の変形 (陥凹、伸長、屈曲など) とゴルジ装置の断片化が高率に見られた (表)。

表 Golgi 断片化の見られたプルキンエ細胞の割合

	halo (+)	halo (-)
症例 1	46/58 (79.3%)	17/79 (21.5%)
症例 2	28/28 (100.0%)	10/78 (12.8%)

自然史調査では 44 名の登録時年齢は 73.6 ± 8.5 歳 (mean ± SD)、発症年齢 58.5 ± 10.3 歳、罹病期間 15.1 ± 9.6 年であった。2 年間の経過観察中に死亡、転居などで 4 名が脱落した。40 名の SARA スコアは、登録時に 16.6 ± 6.9、1 年後に 17.8 ± 7.7、2 年後に 18.65 ± 7.4 と平均値で 1.2/年増悪した。他の ADCA 病型の既報告¹⁾ (SCA1、SCA2、SCA3/MJD、

SCA6 の 4 病型の平均登録時年齢 52.9 ± 13.4 歳、平均罹病期間 11.3 ± 8.3 年、平均登録時 SARA 15.1 ± 8.2) と比較すると、SCA31 では登録時年齢が高く、かつ罹病期間が長かった。SARA スコアは他病型とは大きな差異はないものの、下位項目で歩行、言語障害、踵脛試験でのスコアが高い傾向が見られた。罹病期間 20 年以上の長期経過例を削除した 31 名 (罹病期間平均 10.1 年) で比較すると、歩行スコアは他病型と同等、あるいは低くなり、一方、言語障害、踵脛試験のスコアは依然として高い傾向にあった。BI は登録時 82.5 ± 21.4、1 年後には 79.9 ± 22.8、2 年後には 78.6 ± 24.2 と平均値で 2.1/年増悪した。

D. 考察

プルキンエ細胞周囲の halo 構造の有無により 2 つの変性過程を考えた。SCA31 に特異的と考えられる halo 構造を伴う変性過程では、halo 構造の形成に併行して核の変形が見られること、Golgi 装置の断片化を高率に伴うこと、が確認された。このことは halo 構造の形成にはプルキンエ細胞の内在性要因として核および Golgi 装置の異常が関与している可能性が示唆される。

SCA31 の自然史に関しては、年間の失調症状の悪化率は他病型と大きな変化はないと思われた。年齢の違いがあるため一概に他病型と比較はできないが、同程度の罹病期間で比較すると、体幹失調の項目 (歩行、立位、座位) は他病型よりスコアが低く、言語障害と踵脛試験ではスコアが高い傾向が見られた。他病型に比

べて加齢変化の影響を受けやすいことを考慮すると、SCA31 では概して体幹機能はよく維持されるが、罹病期間が20年以上になると急速に体幹失調が目立ってくる事が推察される。

(参考文献) 1) Ashizawa T, et al. Orphanet J Rare Dis 8:177, 2013.

E. 結論

SCA31 に特徴的な halo 構造が見られるプルキンエ細胞では核の変形、Golgi 装置の断片化が目立った。このことから halo 構造の成因として、核および Golgi 装置の異常の関与が考えられた。

SARA スコアによる SCA31 の年間悪化率は約 1.2 であり、他病型と大差はなかった。罹病期間をある程度揃えた SCA31 サブグループと他病型を比較すると、SCA31 では言語障害、下肢の失調が相対的に目立った。一方、体幹失調は軽度であった。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Doi H, Yoshida K, Yasuda T, Fukuda M, Fukuda Y, Morita H, Ikeda S, Kato R, Tsurusaki Y, Miyake N, Saito H, Sakai H, Miyatake S, Shiina M, Nukina N, Koyano S, Tsuji S, Kuroiwa Y, Matsumoto N: Exome sequencing reveals a homozygous *SYT14* mutation in adult-onset, autosomal-recessive spinocerebellar ataxia with psychomotor retardation. Am J Hum Genet 2011; 89: 320-327
- 2) Yoshida K, Asakawa M, Suzuki-Kouyama

E, Tabata K, Shintaku M, Ikeda S, Oyanagi K: Distinctive features of degenerating Purkinje cells in spinocerebellar ataxia type 31. Neuropathology (in press)

- 3) 吉田邦広, 大畑尚子, 武藤香織, 土屋 敦, 澤田甚一, 狭間敬憲, 池田修一, 戸田達史: 神経内科専門医の遺伝子診断に対する意識調査. 臨床神経 2013; 53: 337-344

2. 学会発表

- 1) 吉田邦広, 宮崎大吾, 日根野晃代, 涌井敬子, 小柳清光, 松本直通, 池田修一: 脊髄小脳失調症 31 型 (SCA31) 患者の末梢血白血球を用いた網羅的遺伝子発現解析. 第 52 回日本神経学会学術大会, 2011. 5. 18, 名古屋
- 2) 土井宏, 吉田邦広, 三宅紀子, 鶴崎美德, 黒岩義之, 松本直通: 次世代シーケンサーを用いた常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症責任遺伝子の単離研究. 第 52 回日本神経学会学術大会, 2011. 5. 19, 名古屋
- 3) 土井宏, 吉田邦広, 三宅紀子, 鶴崎美德, 黒岩義之, 松本直通: 次世代シーケンサーを用いた常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症の責任遺伝子単離. 日本人類遺伝学会第 56 回大会, 2011. 11. 10, 千葉
- 4) 吉田邦広, 鈴木佳代, 石川えり, 小柳清光, 池田修一: 脊髄小脳失調症 31 型における (TGGAA)_n・(UGGAA)_n 結合蛋白の探索. 第 53 回日本神経学会学術大会, 2012. 5. 25, 東京
- 5) 吉田邦広, 浅川美果, 鈴木絵美, 田

畑賢一，新宅雅幸，池田修一，小柳清光：脊髄小脳失調症 31 型小脳病変の神経病理学的再検討．第 54 回日本神経学会学術大会，2013. 5. 29-6. 1，東京

- 6) 中村勝哉，吉田邦広，宮崎大吾，兼子一真，清水雄策，佐藤俊一，矢彦沢裕之，森田洋，大原慎司，矢沢正信，牛山雅夫，池田修一：脊髄小脳失調症 31 型の自然史 一多施設共同前向き調査一．第 54 回日本神経学会学術大会，2013. 5. 29，東京

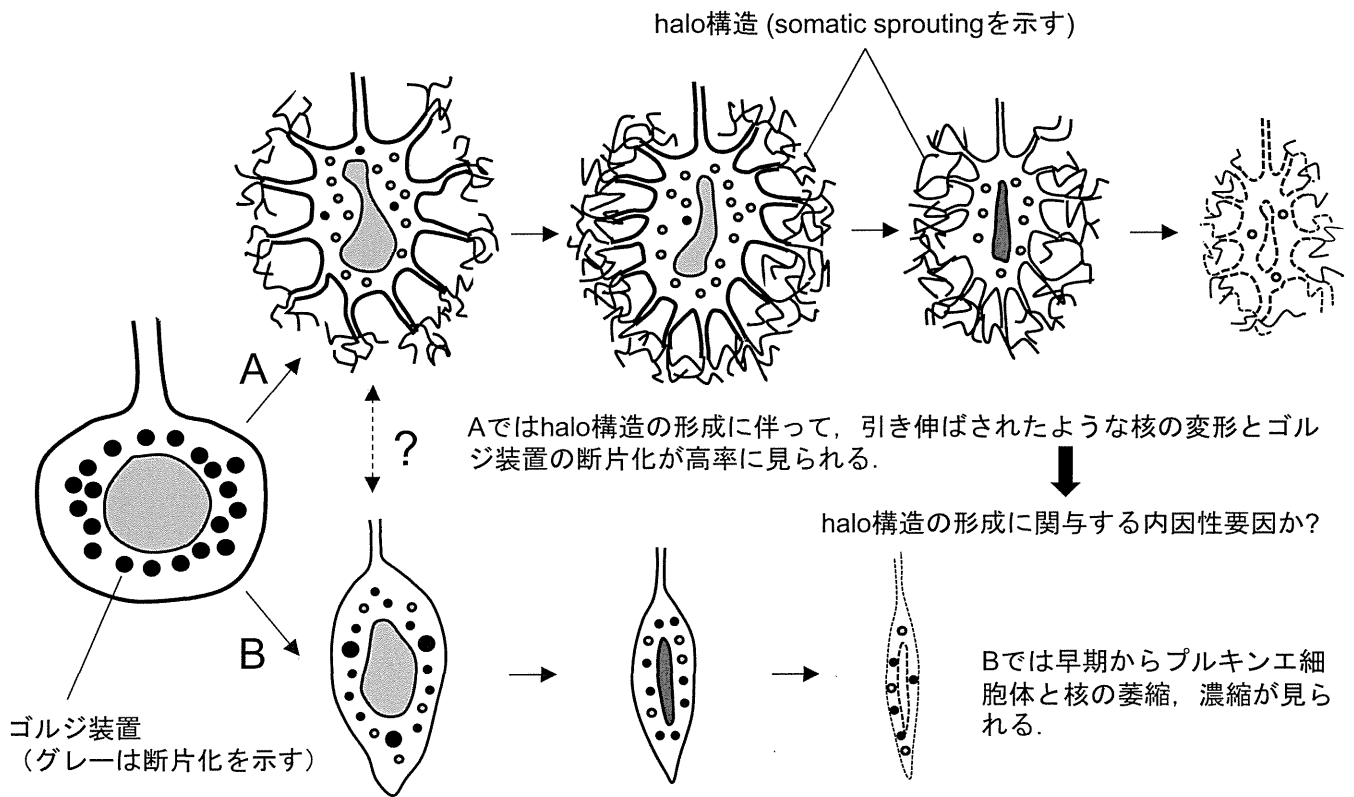
G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

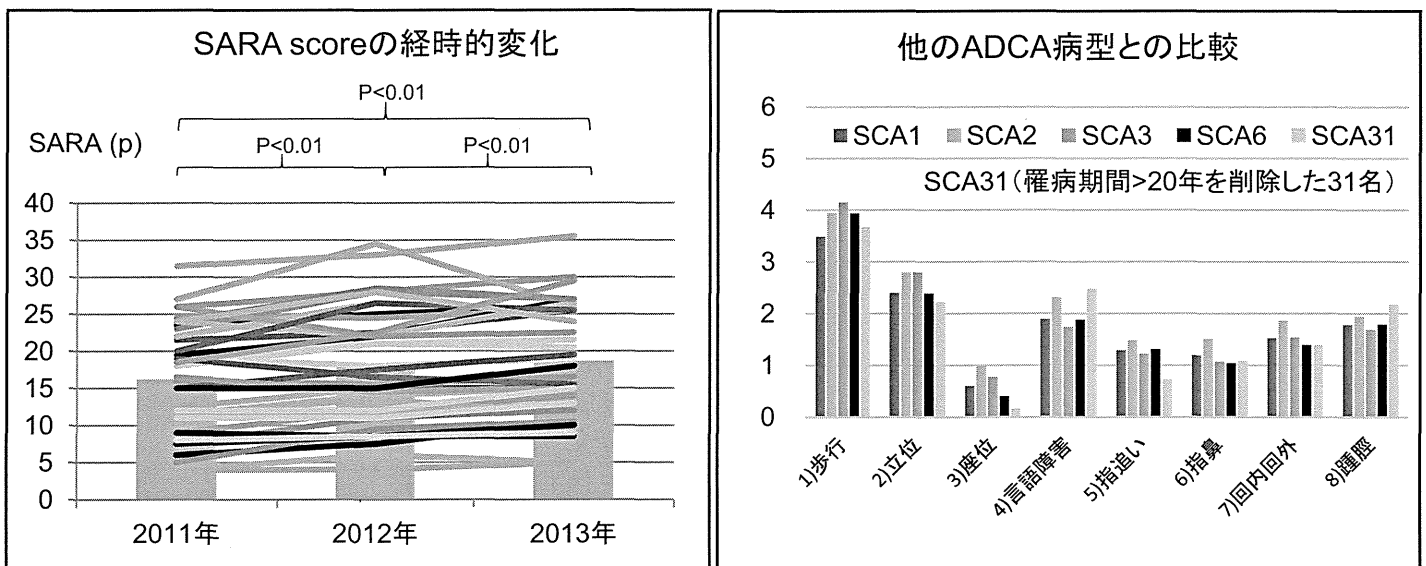
脊髄小脳失調症31型 (SCA31) の分子病態の解明と自然史調査

1) 脊髄小脳失調症31型 (SCA31) の2つの変性過程

Purkinje細胞周囲のhalo構造を伴う変性過程 (A) とhalo構造を伴わない変性過程 (B)



2) 脊髄小脳失調症31型 (SCA31) の自然史



2年間の前向き調査では、SARA scoreは1.2p/年、BIIは2.1p/年増悪した。SARA下位項目の検討では、歩行 (0.31p/年)、回内・回外 (0.30p/年) の項目でより顕著な経時的変化が見られた。他のADCA病型との比較では、言語障害・踵脛試験のスコアが高い傾向が見られた (SCA1、SCA2、SCA3、SCA6のデータはAshizawa T, et al. Orphanet J Rare Dis 8:177, 2013. より引用)。

神経変性疾患における細胞内蛋白分解系の異常

研究分担者 若林孝一（弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座）
共同研究者 三木康生、森 文秋、今 智矢、丹治邦和
（弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座）
豊島靖子、高橋 均（新潟大学脳研究所病理学分野）
柿田明美（同 生命科学リソース研究センター）
吉田眞理（愛知医科大学加齢医科学研究所）
佐々木秀直（北海道大学大学院医学研究科神経内科学分野）

研究要旨

運動失調症を含む種々の神経変性疾患の剖検脳組織を用いた検討から、レビー小体病および多系統萎縮症では封入体形成にオートファジーが関与していること、特に、多系統萎縮症の病変部位では NBR1 および p62 の発現量が増加していたことから、オートファジーの機能が障害されていることが示唆された。これら病態の改善を考えるうえで、オートファジーの活性化は有効な方法である可能性が示唆された。

A. 研究目的

神経変性疾患の多くは「蛋白蓄積病」であり、その病態機序の一つとして「蛋白分解系の異常」が示唆されている。そこで、オートファゴソーム関連蛋白 (LC3、GABARAP、GABARAPL1、GATE-16)、選択的オートファジーに関与している NBR1、小胞体関連分解に関与する SIGMAR1 の発現、変動を明らかにすることを目的に、運動失調症を含む種々の変性疾患を対象に以下の検討を行った。

B. 研究方法

1. オートファゴソーム関連蛋白の変化
パーキンソン病 (PD)、レビー小体型認知症 (DLB) 多系統萎縮症 (MSA)、正常対

照のホルマリン固定パラフィン切片を用い、オートファゴソーム関連蛋白に対する抗体を用い免疫染色した。ウェスタンブロット解析には、DLB、MSA、正常対照の凍結脳組織を用いた。

2. NBR1 の変化

免疫染色には、PD、DLB、MSA、アルツハイマー病 (AD)、ピック病、進行性核上性麻痺 (PSP)、皮質基底核変性症 (CBD)、嗜銀顆粒性認知症、筋萎縮性側索硬化症、前頭側頭葉変性症、正常対照の脳を用いた。NBR1 の定量には、DLB、AD、MSA、正常対照の凍結脳組織を用い、ウェスタンブロット解析を行った。

3. SIGMAR1 の変化

免疫染色には上記の疾患に加え、ポリ

グルタミン病 (Huntington 病、DRPLA、SCA1-3) と核内封入体病の剖検脳組織を用いた。さらに、培養 Hela 細胞に exportin 1 (核から細胞質への移行に関与) 阻害剤である leptomycin B と ER ストレスラーの thapsigargin を投与した。

(倫理面への配慮)

本研究で使用した剖検脳組織は、研究に用いることに関し文書により家族の同意が得られたものである。また、他施設からの脳組織は書類による審査を経て譲渡されたものであり、倫理上問題はない。

C. 研究結果

1. オートファゴソーム関連蛋白の変化

正常対照では LC3、GABARAP/L1、GATE-16 ともに神経細胞の胞体がびまん性に淡く染色された。一方、PD/DLB では脳幹型および皮質型レビー小体が LC3、GABARAP/L1、GATE-16 陽性であった。MSA では、ほとんどのグリア細胞質内封入体 (GCI) が LC3 強陽性、一方、GABARAP/L1 は陰性、GATE-16 は弱陽性であった。凍結組織を用いた解析の結果、DLB の大脳皮質では GABARAP/L1 が正常対照と比較し有意に減少していた ($p < 0.05$)。MSA の小脳では、成熟型 LC3、GABARAP/L1 および GATE-16 の蛋白量が正常対照と比較し有意に減少していた。一方、膜結合型 LC3 および GABARAP/L1 の蛋白量は MSA で有意に増加していた ($p < 0.05$)。

2. NBR1 の変化

正常対照では神経細胞の胞体が NBR1 抗体でごく淡く染色された。グリア細胞は染色されなかった。一方、PD および DLB のレビー小体、MSA の GCI は NBR1 強陽性

であった。タウオパチー (AD、PSP、CBD) に認められる神経原線維変化やグリア封入体のごく一部は NBR1 陽性であった。ウェスタンブロット解析により、DLB および AD の側頭葉皮質では正常対照と比較し NBR1 量に有意差は認められなかったが、MSA 小脳白質では NBR1 量が正常対照の約 2.5 倍に増加していた。

3. SIGMAR1 の変化

正常対照では神経細胞の胞体が淡く SIGMAR1 陽性を呈した。神経変性疾患ではポリグルタミン病と核内封入体病の核内封入体が SIGMAR1 陽性であった。さらに、TDP-43 陽性核内封入体、黒質神経細胞の核内に認められるマリネスコ小体も SIGMAR1 陽性であった。その他の疾患に認められる封入体は SIGMAR1 陰性。培養細胞では、無処理群で細胞質に微細顆粒状の SIGMAR1 陽性構造物を認めた。Leptomycin B 投与により SIGMAR1 は核内に移行し、p62 と共局在した。Thapsigargin 投与でも SIGMAR1 は核内に移行した。ウェスタンブロット解析では、leptomycin B および thapsigargin 投与ともに核内における SIGMAR1 量は同程度に増加した。ER ストレスマーカーである Bip は thapsigargin 投与群に比べ leptomycin B 投与群で発現量が少なかった。

D. 考察

今回の免疫組織化学の結果から、レビー小体病および MSA では神経細胞内およびグリア細胞内封入体の形成あるいは分解にオートファジーが関与していることが示唆された。さらに、MSA の小脳では膜

結合型 LC3 および GABARAP/L1 量が有意に増加していた。膜結合型 Atg8 ホモログはオートファゴソームの数と正の相関を示すことが知られていることから、MSA ではオートファゴソーム数が増加している可能性が示唆される。一方、成熟型 LC3、GABARAP/L1 および GATE-16 の蛋白量は MSA 小脳で減少しており、DLB の大脳皮質でも GABARAP/L1 が有意に減少していた。これらの結果から、MSA および DLB では、オートファゴソーム膜の形成に異常が生じている可能性が示唆される。特に MSA では異常なオートファゴソーム数が増加しており、結果的にオートファジーの機能を抑制している可能性がある。

NBR1 は特にシヌクレイノパチーに出現する細胞内封入体に高頻度に局在していた。ヒト培養細胞を用いた検討では、オートファゴソーム膜構成蛋白の障害により p62 および NBR1 の凝集体が形成される。つまり、シヌクレイノパチーではオートファゴソーム膜構成蛋白の変性により、p62 および NBR1 の凝集が起きやすい環境となっており、病態との関連が示唆される。

SIGMAR1 の免疫原性は神経変性疾患に認められる核内封入体に共通して認められた。また、核から細胞質への移行を抑制することにより SIGMAR1 が核内に蓄積すること、ER ストレスによって核内に SIGMAR1 が蓄積することが示された。

E. 結論

レビー小体病および MSA では封入体形成にオートファジーが関与していること、特に、MSA ではオートファジーの機能が障

害されている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tanji K, Odagiri S, Maruyama A, Mori F, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K: Alteration of autophagosomal proteins in multiple system atrophy. *Neurobiol Dis* 2012; 49: 190-198
- 2) Odagiri S, Tanji K, Mori F, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K. Autophagic adapter protein NBR1 is localized in Lewy bodies and glial cytoplasmic inclusions and is involved in aggregate formation in α -synucleinopathy. *Acta Neuropathol* 2012; 124: 173-186
- 3) Miki Y, Mori F, Kon T, Tanji K, Toyoshima Y, Yoshida M, Sasaki H, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K. Accumulation of the sigma-1 receptor is common to neuronal nuclear inclusions in various neurodegenerative diseases. *Neuropathology*, in press

2. 学会発表

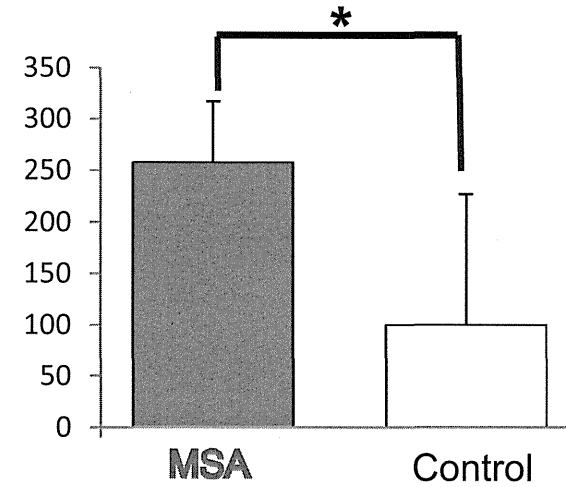
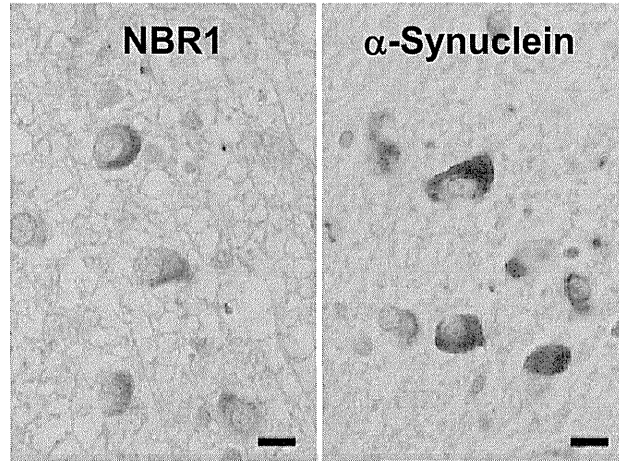
- 1) 丹治邦和, 森 文秋, 柿田明美, 高橋均, 若林孝一: 多系統萎縮症におけるオートファゴソーム関連タンパク質の変化. 第 53 回日本神経病理学会, 2012 年 6 月 28-30 日, 新潟

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

神経変性疾患における選択的オートファジーの異常

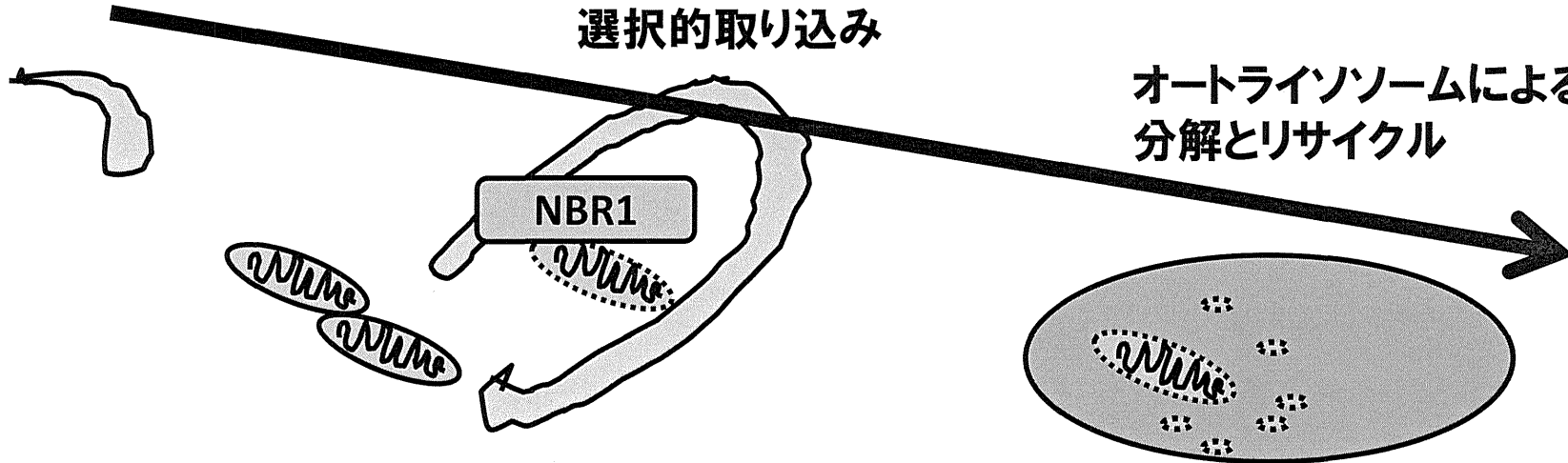
Glial cytoplasmic inclusion



隔離膜

選択的取り込み

オートライソソームによる
分解とリサイクル



Ⅲ. 研究報告（研究協力者）