

4) 複眼原基特異的 *Caz-KD* ショウジョウバエの表現型と、ヒト *VCP* のショウジョウバエホモログ *ter94* との相互作用

Driver control(図 3A; GMR)に比べて複眼原基特異的 *Caz-KD*(図 1B; GMR>UAS-*Caz-IR*<sub>363-399</sub>)では、個眼の融合や剛毛の欠失などの rough eye 表現型を認めた。これを指標として FALS の原因遺伝子をスクリーニングすると、ヒト *VCP* のショウジョウバエホモログ *ter94* 変異との交配により、rough eye の増強が察された(図 3C; GMR>UAS-*Caz-IR*<sub>363-399</sub>/*ter94*<sup>k15502</sup>)。これに対して、*ter94* 過剰発現を交配すると、*Caz-KD* による rough eye が抑圧され、一つ一つの個眼が規則正しく配列した複眼が観察された(図 3E; GMR> UAS-*Caz-IR*/UAS-*ter94*)。

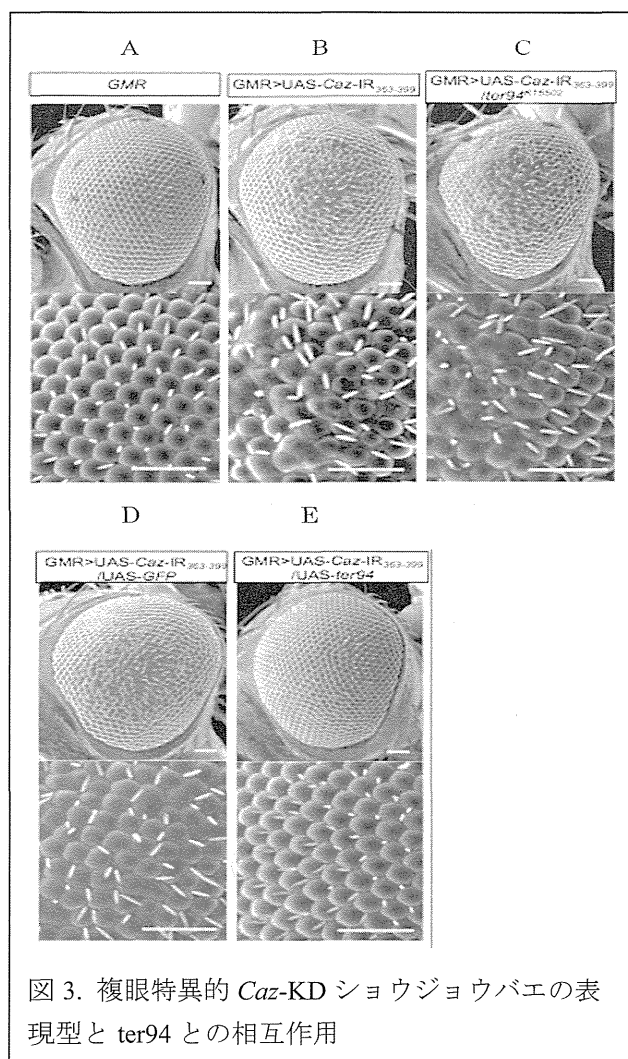


図 3. 複眼特異的 *Caz-KD* ショウジョウバエの表現型と *ter94* との相互作用

5) 神経特異的 *Caz-KD* ショウジョウバエの運動能力 (climbing assay) と *ter94* との相互作用

*elav*>UAS-*Caz-IR* では *elav*+ と比較して運動能力が顕著に低下し、*elav*>UAS-*Caz-IR*/*ter94*<sup>k15502</sup> では、さらに有意差

を持って低下した(図 4A)。これに対して、*elav*>UAS-*Caz-IR*/UAS-*ter94* では、14日目までの一定期間には有意差をもって運動能力が改善した(図 4B)。

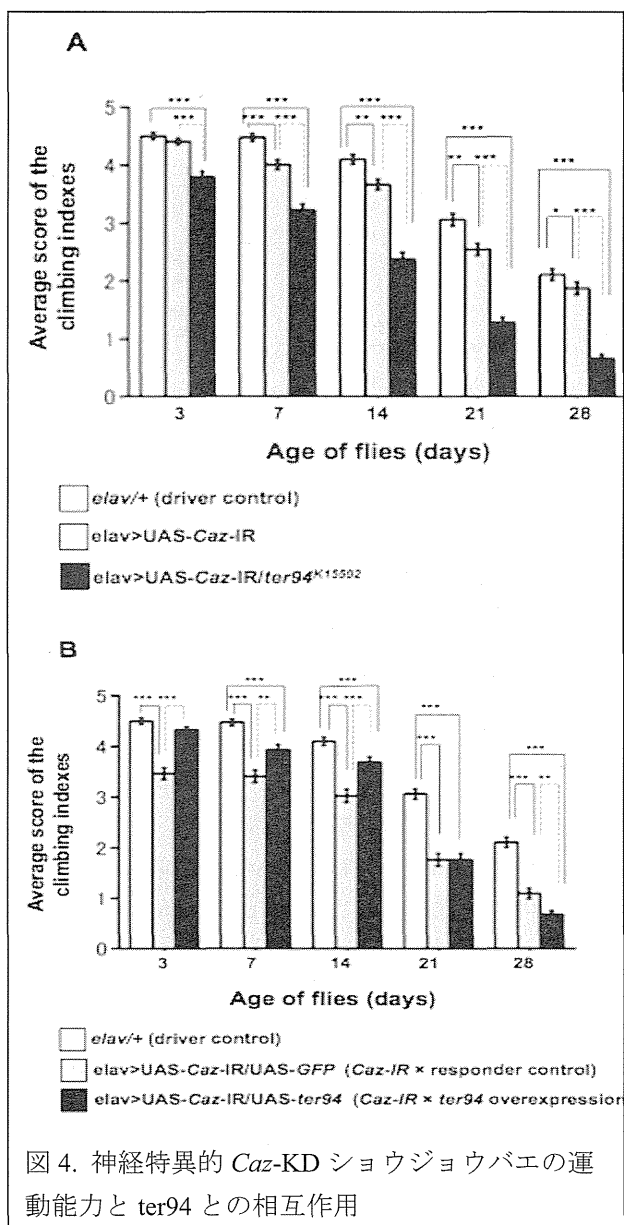


図 4. 神経特異的 *Caz-KD* ショウジョウバエの運動能力と *ter94* との相互作用

6) 神経特異的 *Caz-KD* ショウジョウバエの神経筋接合部 (NMJ)における運動ニューロンの形態と *ter94* との相互作用

NMJ での運動ニューロン終末形態の観察では、*elav*>UAS-*Caz-IR* では *elav*+ に比べて synaptic branch の短縮が観察され、*elav*>UAS-*Caz-IR*/*ter94*<sup>k15502</sup> ではさらに有意差をもって短縮した(図 5)。これに対して、*elav*>UAS-*Caz-IR*/UAS-*ter94* では *Caz-kd* 単独に比べて synaptic branch の伸張が認められた(図 5)。

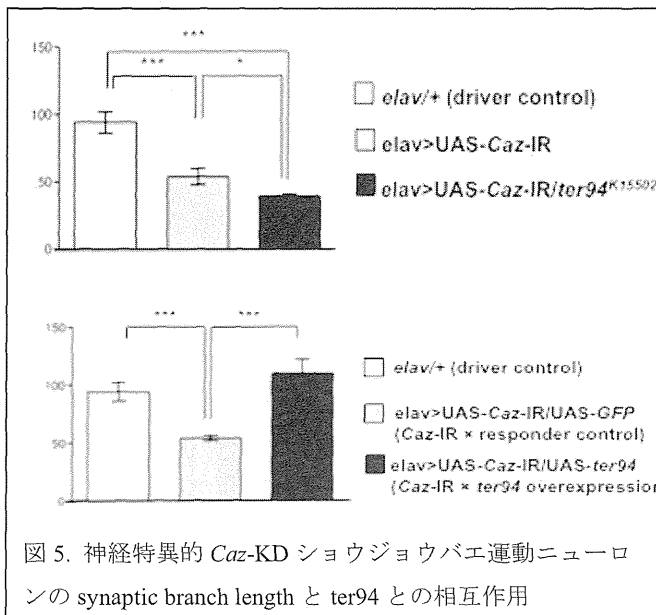


図 5. 神経特異的 *Caz*-KD ショウジョウバエ運動ニューロンの synaptic branch length と *ter94* との相互作用

#### D. 考察

*FUS* の遺伝子異常による ALS 病態発現機序が、変異によって異常凝集蛋白が細胞質への沈着することなどの gain-of-function 機序であるのか、あるいは正常な *FUS* 蛋白が細胞質にトラップされることなどによって核内で機能すべき正常な *FUS* が失われるなどの loss-of-function 機序であるのかは未だ明らかではない。しかし、先行研究で、*FUS* と同様に RNA の代謝制御に関係する *TDP-43* では、そのホモログである *TBPH* をノックダウンしたショウジョウバエで運動障害を生じることが報告されており、我々は家族性 ALS の原因遺伝子である *FUS* の病態発現メカニズムを検討する目的で、*FUS* のショウジョウバエホモログである *Caz* をノックダウン(KD)させるショウジョウバエ系統を樹立した。

神経特異的に *Caz* をノックダウンした 3 齢幼虫の中樞神経系の western blotting で、*elav<sup>3A</sup>>UAS-Caz-IR<sub>1-167</sub>* (strain 3) と *Caz-IR<sub>363-399/+;elav3A/+</sub>* で効率良く *Caz* がノックダウンされていることを確認した。これらの神経特異的 *Caz*-KD ショウジョウバエ系統では、Climbing assay で検討した運動能力が顕著に低下しており、3 齢幼虫の NMJ における運動ニューロンを検討では、運動能力の低下していた *Caz*-KD ショウジョウバエの *elav<sup>3A</sup>>UAS-Caz-IR<sub>1-167</sub>* 及び *Caz-IR<sub>363-399/+;elav3A/+</sub>* では、運動ニューロンの synaptic branch の短縮が観察された。従って、*Caz*-KD ショウジョウバエの運動能力の低下は synaptic branch の短縮が一因であると考えられる。また上記の様に標的配列が異なる *elav<sup>3A</sup>>UAS-Caz-IR<sub>1-167</sub>* と *Caz-IR<sub>363-399/+;elav3A/+</sub>* の両者で synaptic branch の縮小が認められたことから、観察され

た表現型が off target 効果によるものではないことも分かった。以上の結果から、*FUS* のショウジョウバエホモログである *Caz* を神経特異的にノックダウンしたショウジョウバエは、運動ニューロン障害による運動能力の低下というヒトの ALS の病態の一部を再現できた。

このような *FUS*-ALS のモデルショウジョウバエが得られたことで、ショウジョウバエを用いた分子遺伝学研究的最大の利点である、すでに確立された突然変異系ショウジョウバエとの交配による病態修飾分子の大規模なスクリーニングが可能になった。すなわち、我々が作成した *Caz*-KD ショウジョウバエとすでに確立された突然変異系ショウジョウバエとの交配により、*Caz* のノックダウンにより生じた機能異常を回復または悪化させる突然変異体をスクリーニングし、改善または悪化に関わる分子を同定することができる。

そこで、我々は、まずこれまでに報告されている家族性 ALS の原因遺伝子のスクリーニングを行った。*Caz*-KD ショウジョウバエで認められた運動ニューロン障害の表現型は、*VCP* のショウジョウバエホモログ *ter94* の変異系統との交配によって増強、*ter94* 過剰発現系統との交配で抑圧された。

*VCP* に関しては、先行論文で、polyQ モデルショウジョウバエにおける複眼異常と *ter94* との相互作用についての報告があり、それによると polyQ モデルショウジョウバエの複眼異常は *ter94* 変異により抑圧され、*ter94* 過剰発現により増強する。つまり *ter94* の polyQ に対する効果と *Caz*-KD に対する効果は全く逆のものである。これらをもまえて、ヒトにおける *ter94* のホモログである *VCP* の *FUS* あるいは *TDP-43* に対する細胞内での作用を考察すると、*VCP* には RNP complex からの *TDP-43* の除去、細胞質から核への shuttling 機能、autophagy による分解への誘導などの、多彩な機能を有するが、我々は、先行する polyQ モデルの結果と今回の *Caz*-KD モデルでの結果を併せて、*VCP* の nucleoplasmic shuttling を中心に考えれば、これらの説明が出来る考えた。*Caz*-KD では、*ter94* 変異により shuttling 機能が働かなければ *Caz* の細胞質から核内への移行ができず、逆に *ter94* 過剰発現では細胞質から核内への移行が増えることで核内での *Caz* タンパク量が増加するはずである。これとは逆に、polyQ モデルでは核内に凝集体が出来る事が主たる病因であることから、*ter94* 過剰発現で shuttling 機能が増強すれば polyQ 分子の核への供給が増加して核内凝集体が増え、*ter94* 変異で shuttling 機能が低下すれば polyQ 分子の供給が低下し核内凝集体が減少する

可能性がある。以上からは、VCP は FUS/TDP-43 および polyQ の nucleoplasmic shuttling の機能を担っている可能性が考えられた。

今後は、VCP の shuttling 機能を活性化する低分子化合物のスクリーニングなど、ALS の根本治療薬の候補となる分子の探索を行う。

## E.結論

- 1) FUS のショウジョウバエホモログである Caz をノックダウンしたショウジョウバエを作製した。
- 2) 神経特異的にノックダウンすると、3 齢幼虫の中樞神経系で Caz の発現が減少していた。
- 3) 神経特異的な Caz-KD ショウジョウバエは climbing assay で運動機能が低下しており、運動ニューロンの synaptic branch の短縮が認められた
- 4) Caz を複眼原基特異的にノックダウンすると、一部に個眼の融合や剛毛の欠失など成虫複眼の形態異常 (rough eye 表現型) が見られた。
- 5) この rough eye 表現型を指標として、ALS 関連遺伝子変異ショウジョウバエとの交配を行った。
- 6) Caz-KD ショウジョウバエで認められた運動ニューロン障害の表現型は、VCP のショウジョウバエホモログ *ter94* の変異系統との交配によって増強、*ter94* 過剰発現系統との交配で抑圧された。
- 7) VCP は、FUS/TDP-43 および polyQ の nucleoplasmic shuttling の機能を担っている可能性が考えられた。
- 8) 今後は、VCP の shuttling 機能を活性化する低分子化合物のスクリーニングなど、ALS の根本治療薬開発につながる分子の探索を行う。

## F.健康危険情報

なし

## G.研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Noto Y, Shibuya K, Sato Y, Kanai K, Misawa S, Sawai S, Mori M, Uchiyama T, Iose S, Nasu S, Sekiguchi Y, Fujimaki Y, Kasai T, Tokuda T, Nakagawa M, Kuwabara S. Elevated CSF TDP-43 levels in amyotrophic lateral sclerosis: specificity, sensitivity, and a possible prognostic value. *Amyotroph Lateral Scler* 12(2): 140-143, 2011.
- 2) 徳田隆彦: 特集「脳と神経を測る」8. 筋萎縮性

側索硬化症のバイオマーカー — 髄液 TDP-43. *BRAIN MEDICAL* 23(3): 59-63, 2011.

- 3) 徳田隆彦: 特集「認知症」診断・治療の実際: 認知症の CSF マーカー診断. *総合臨床* 60: 1891-1899, 2011.
- 4) Sasayama H, Shimamura M, Tokuda T, Azuma Y, Yoshida T, Mizuno T, Nakagawa M, Fujikake N, Nagai Y, Yamaguchi M. Knockdown of the *Drosophila* fused in sarcoma(FUS) homologue causes deficient locomotive behavior and shortening of motoneuron terminal branches. *Plos one* 7(6): e39483, 2012.

## 2.学会発表

- 1) 徳田隆彦: パーキンソン病と ALS のバイオマーカー: 現状と展望: 1) パーキンソン病. 神経変性疾患に関する調査研究班平成 23 年度ワークショップ, 東京, 2011.7.15.
- 2) 東裕美子, 笹山博司, 島村真依, 吉田誠克, 徳田隆彦, 水野俊樹, 中川正法, 山口政光: ショウジョウバエ筋萎縮性側索硬化症モデルを用いた FUS 関連遺伝子群の探索. 日本分子生物学会(第 35 回), 博多, 2012. 12. 12.
- 3) 東裕美子, 笹山博司, 島村真依, 吉田誠克, 徳田隆彦, 水野俊樹, 中川正法, 山口政光: The search of genes related FUS by *Drosophila* amyotrophic lateral sclerosis. 日本神経学会総会(第 36 回), 東京, 2013. 5. 30.
- 4) 東裕美子, 徳田隆彦, 京谷茜, 吉田誠克, 水田依久子, 水野俊樹, 中川正法, 山口政光: The search of genes related FUS by *Drosophila* amyotrophic lateral sclerosis. 日本分子生物学会(第 36 回), 神戸, 2013. 12. 4.

## 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

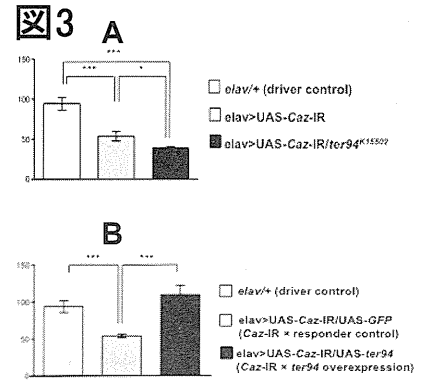
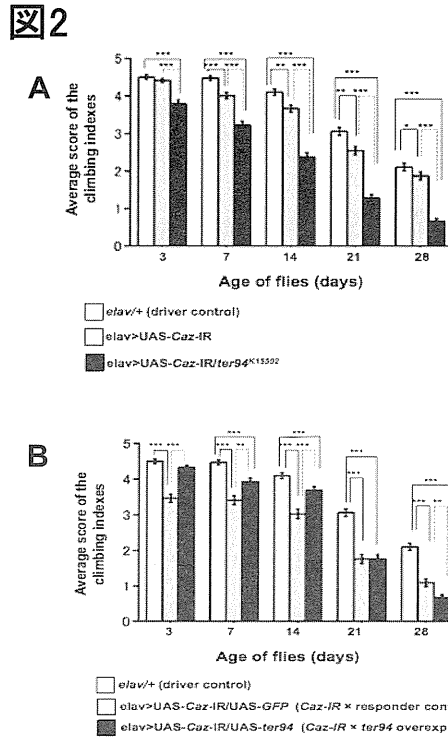
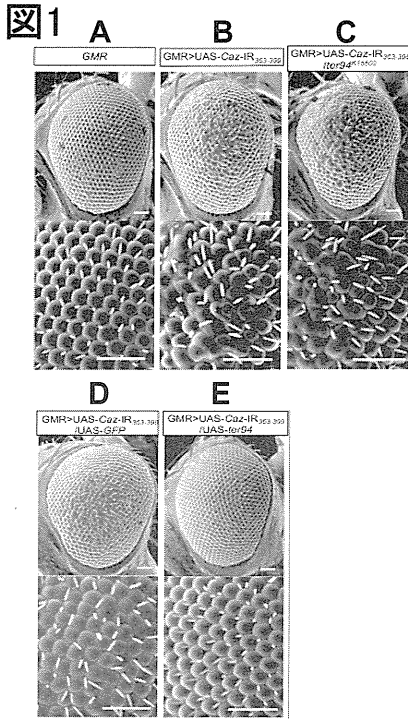


図1. 複眼原基特異的Caz-KDショウジョウバエの表現型と、ヒトVCPのショウジョウバエホモログ *ter94*との相互作用。Driver control(図1A)に比べて、複眼原基特異的Caz-KD(図1B)ではrough eye 表現型を認めた。ヒトVCPのショウジョウバエホモログ *ter94*変異との交配により、rough eyeの増強が観察された(図1C)。これに対して、*ter94*過剰発現を交配すると、Caz-KDによるrough eyeが抑圧された(図1E)。

図2. 神経特異的Caz-KDショウジョウバエの運動能力(climbing assay)と*ter94*との相互作用。*elav*>UAS-Caz-IRでは*elav*<sup>+</sup>と比較して運動能力が顕著に低下し、*elav*>UAS-Caz-IR/*ter94*<sup>K15502</sup>では、さらに有意差を持って低下した(図2A)。これに対して、*elav*>UAS-Caz-IR/UAS-*ter94*では、14日目までの一定期間は有意差をもって運動能力が改善した(図2B)。

図3. 神経特異的Caz-KDショウジョウバエの神経筋接合部(NMJ)における運動ニューロンのsynaptic branch lengthと*ter94*の相互作用。運動ニューロンのsynaptic branchは、*elav*>UAS-Caz-IRでは *elav*<sup>+</sup> に比べて短縮しており、*elav*>UAS-Caz-IR/*ter94*<sup>K15502</sup>ではさらに有意差をもって短縮した(図3A)。これに対して、*elav*>UAS-Caz-IR/UAS-*ter94*ではCaz-kd単独に比べてsynaptic branchの伸張が認められた(図3B)。

神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

我々はパーキンソン病(PD)とその関連疾患の基礎的・臨床的な研究を行っている。平成23年度は、PD患者群と対照群の身体活動量と心拍変動を調査しそのパターンやリズムを比較することで、サーカディアンリズムがPDの病期に伴って障害されることを示した。平成24年度は、培養細胞モデルを用いて $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによる分解を解析した。オートファジー活性の抑制により凝集体のオートファゴソーム内への取り込みおよび分解が阻害されることを示した。平成25年度は、生体内での Tau imaging が可能な FDDNP-PET を進行性核上性麻痺などのタウオパチーによるパーキンソン症候群患者に応用し、疾患特異的な脳への FDDNP 集積パターンを検出することがパーキンソン症候群の鑑別診断および早期診断に有用であることを示した。

研究分担者：徳田 隆彦

所属機関名：京都府立医科大学大学院分子脳病態解析学

A.研究目的

1.PD患者におけるサーカディアンリズム障害の検討

PDでは運動症状以外の自律神経障害や睡眠障害といった非運動症状が発症早期からみられ、近年注目を集めている。睡眠覚醒および自律神経系はともにサーカディアンリズムと関連があるとされることに着目し、PD患者においてサーカディアンリズムの変化を病期ごとに評価した。

2.  $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによるクリアランス

PD脳に異常蓄積する $\alpha$ -Synは様々な分解機構により代謝され、ユビキチン・プロテアソーム系やオートファジー・リソソーム系の破綻により、神経細胞内に蓄積し凝集体を形成する。しかし、これらの分解系が $\alpha$ -Synのどのような分子種を分解し得るのかは分かってない。そこで、培養細胞モデルを利用して、 $\alpha$ -Syn凝集体のオートファジー・リソソーム系での分解を解析した。

3.パーキンソン症候群における tau imaging の有用性

パーキンソン症候群には進行性核上性麻痺(PSP)患者および大脳皮質基底核変性症(CBD)などのタウオパチーが含まれているが、これらの疾患の生前診断に有用なバイオマーカーは確立されていない。我々は、現在利用できる PET probe の中でタウイメージングが可能な probe である FDDNP がパーキンソン症候群の鑑別診断に有用であるか否かを検討した。

B.研究方法

1.PD患者におけるサーカディアンリズム障害の検討

PD患者27名と健常対象者30名を対象とした。身体活動量は Actigraph (Ambulatory Monitoring, Aidsley, NY, USA)を7日間連続装着して測定し、Action-W2 analysis program (Ambulatory Monitoring)と MemCalc (GMS, 東京)を用いて解析をおこなった。そして昼夜活動リズムパターン(=日中活動量/夜間活動量)と24時間周期リズムの振幅を今回の指標とした。

2.  $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによるクリアランス

培養細胞で $\alpha$ -Syn凝集体を効率良く形成させるために、2週間の攪拌により *in vitro* で作製した $\alpha$ -Syn fibril をリポフェクタミン試薬と混合し、HEK293細胞へ添加した。 $\alpha$ -Syn fibril の導入から30分後、通常の培地に戻し、4~24時間の培養後に、抗リン酸化 $\alpha$ -Syn (S129)、抗 LC3、抗ユビキチン(Ub)、抗 p62 抗体による免疫染色を行った。

3.パーキンソン症候群における tau imaging の有用性

健常者、PD患者、PSP患者(n=5)、CBS患者およびアルツハイマー病患者で[F-18]-FDDNP PET を施行した。PET検査は [F-18]-FDDNP 6.48MBq/kg を静注し、70分間の dynamic scan を行った。関心領域については脳各部位に設定した。50-70分の撮影画像から Standardized uptake value (SUV)を算出し画像化した。

(倫理面への配慮)

ヒトを対象とする研究では、対象とした被検者から京都府



立医科大学倫理委員会で承認された方法により informed consent を得た上で、研究を施行した。

### C. 研究結果

#### 1. PD 患者におけるサーカディアンリズム障害の検討

Actigraph の結果(図 1)からは、PD 患者群では、夜間には睡眠の断片化や過活動で活動量が上昇し、逆に日中では活動量が低下している傾向がみられ、昼夜活動リズムパターンと 24 時間周期リズムの振幅が有意に低下( $p < 0.001$ )することが示された。また、患者群においては、昼夜活動リズムパターンおよび 24 時間周期リズムの振幅が、臨床症状を表す unified Parkinson's disease rating scale スコアと負の相関( $p < 0.05$ )を示し、症状の進行に伴って低下した。

#### 2. $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによるクリアランス

HEK293 細胞に  $\alpha$ -Syn 凝集体を形成させ、4 時間後に  $\alpha$ -Syn 凝集体(P- $\alpha$ Syn)とオートファゴソームマーカー LC3 の局在を検討した(図 2)。コントロール細胞では P- $\alpha$ Syn 陽性凝集体と GFP-LC3 は共局在を示した(図 2、Cont-siRNA)。一方、オートファジー活性を抑制し

た細胞では、GFP-LC3 の共局在は観察できなかった(図 2、Atg5-siRNA)。

また、これらの細胞における 24 時間後の  $\alpha$ -Syn 凝集体の残存率を調べたところ、コントロール細胞では約 80% の凝集体が分解されていたが、Atg5 ノックダウン細胞では 40% の凝集体しか分解されていなかった。一方、ラバマイシン処理によりオートファジーを活性化すると凝集体の分解が促進された。以上の結果から、 $\alpha$ -Syn 凝集体はオートファジー分解のターゲットとなり得ることが明らかになった。

#### 3. パーキンソン症候群における tau imaging の有用性

認知症のない 71 歳男性と 72 歳男性の PD 患者では、脳内に明らかな FDDNP の集積は認めなかったが、5 例の PSP 患者および 2 例の CBS 患者では、基底核および脳幹に

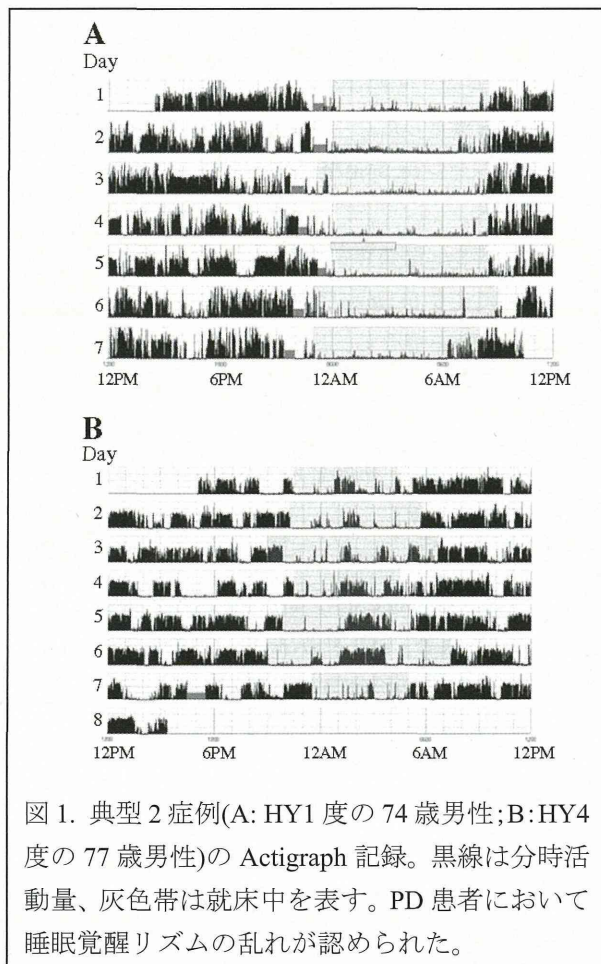


図 1. 典型 2 症例(A: HY1 度の 74 歳男性; B: HY4 度の 77 歳男性)の Actigraph 記録。黒線は分時活動量、灰色帯は就床中を表す。PD 患者において睡眠覚醒リズムの乱れが認められた。

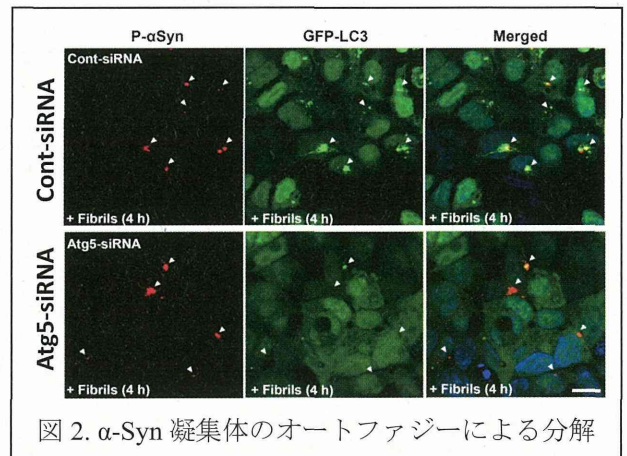


図 2.  $\alpha$ -Syn 凝集体のオートファジーによる分解

FDDNP の集積を認めた(図 3)。PSP 患者では、萎縮が認められる中脳被蓋に FDDNP の集積が強い傾向があった。CBS 患者の 2 症例はともに右手利きで大脳皮質症状として失語を有していたが、基底核での FDDNP 集積は 2 例ともに左側に強い傾向があった。PSP 患者と CBS 患者の FDDNP 集積の分布は類似していたが、PSP 症例では CBS 症例と比較して、脳幹被蓋部および小脳歯状核での FDDNP 集積が強い傾向があった。

### D. 考察

#### 1. PD 患者におけるサーカディアンリズム障害の検討

PD における睡眠覚醒リズムの検討は過去にも報告されており、今回の結果とは矛盾しないが、我々の臨床症状・病期での検討結果からは、睡眠覚醒リズムの障害が病期の進行にともなって悪化することが示唆された。今後は、この睡眠覚醒リズム障害の変化について横断的ではなく個体ごとの縦断的な検討を行うコホート研究が望まれる。ま



た、PDにおけるサーカディアンリズム障害の進行を裏付けるためには、サーカディアンリズムの中核となる視交叉上核から脳幹網様体にかけての脳幹の病理学的変化について、さらなるエビデンスが必要であると考えられる。

## 2. $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによるクリアランス

ノックアウトマウスの解析やリソソーム阻害実験などの結果から、オートファジー・リソソーム系の抑制により $\alpha$ -Syn凝集体が細胞に蓄積することが明らかにされていた。しかし、オートファジーがどのような $\alpha$ -Syn分子種を分解ターゲットにしているのかは謎のままであった。本研究では、 $\alpha$ -Syn凝集の細胞モデル系を用い、fibril分子などを含む $\alpha$ -Syn凝集体がオートファジーにより分解されることを証明した。そして、我々はこの分解過程にオートファジーアダプター蛋白質であるp62が必要であることも明らかにした。これらの結果から、細胞内に蓄積した $\alpha$ -Syn凝集体はp62と結合することでオートファゴソーム内にリクルートされ、最終的にリソソームで分解されることが示唆された。

## 3. パーキンソン症候群における tau imaging の有用性

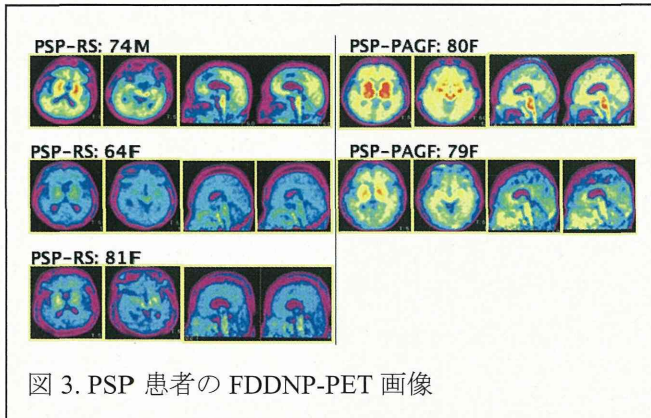


図 3. PSP 患者の FDDNP-PET 画像

FDDNP-PETはアミロイド蓄積とタウ蓄積の両者を検出するが、アミロイド蓄積を伴わない疾患(PSP, CBD)、あるいはアミロイド蓄積が少ない脳部位(内側側頭葉など)では、タウ蓄積の有無を判定することが可能である。また、認知症を伴わない純粋なPD患者では脳内でのFDDNP集積は認めなかったが、PSPとCBDでは、FDDNPの集積を認め、タウオパチーによるパーキンソニズムの診断にはFDDNP-PETなどのtau imagingが有用であると考えられた。また、タウイメージングでのタウ蓄積の分布パターンの相違により個々のタウオパチーを生前に鑑別できる可能性があり、今後の症例の集積が必要である。

## E. 結論

### 1. PD患者におけるサーカディアンリズム障害の検討

PD患者において睡眠覚醒にみられるサーカディアンリズムの障害が病期に従って悪化することが示唆された。PDに出現するさまざまな非運動症状をとらえる上でサーカディアンリズムの推移をみるのが重要であると考えた。

### 2. $\alpha$ -シヌクレイン( $\alpha$ -Syn)凝集体のオートファジーによるクリアランス

$\alpha$ -Syn凝集体のオートファジーによる分解を、PD細胞モデルを用い明らかにした。この結果から、PD患者の神経細胞のオートファジー活性を亢進できれば、脳内 $\alpha$ -Syn凝集体を減少できる可能性があると考えられた。また、PD治療を目的としたオートファジー誘導剤の開発において、我々が確立した細胞アッセイ系はハイスループットスクリーニングに利用できる可能性がある。

### 3. パーキンソン症候群における tau imaging の有用性

認知症を伴わないPDのように $A\beta$ アミロイド沈着が著明ではない純粋な synucleinopathy ではFDDNPの集積は認めないが、tauopathyであるPSP/CBS患者では疾患に特異的な脳領域におけるFDDNPの集積を認めた。FDDNP-PETによって疾患特異的な集積パターンを検出することは、パーキンソン症候群の鑑別診断および早期診断に有用である可能性がある。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 丹羽文俊, 栗山長門, 中川正法. パーキンソン病における心拍変動スペクトル解析の役割と展望. 自律神経 48, 40-43, 2011.
- 2) Fumitoshi Niwa, Nagato Kuriyama, Masanori Nakagawa, Jiro Imanishi. Circadian rhythm of rest activity and autonomic nervous system activity at different stages in Parkinson's disease. *Autonomic Neuroscience*, 2011; 165: 195-200.
- 3) Watanabe Y, Tatebe H, Taguchi K, Endo Y, Tokuda T, Mizuno T, Nakagawa M, Tanaka M. p62/SQSTM1-dependent autophagy of Lewy body-like  $\alpha$ -synuclein inclusions. *PLoS One*. 2012; 7(12): e52868.

## 2.学会発表

- 1) 丹羽文俊, 栗山長門, 中川正法. パーキンソン病における心拍変動スペクトル解析と臨床像との関連. 第 63 回日本自律神経学会総会. 2009 年 10 月 22 日 ; 横浜.
- 2) Watanabe Y, Tatebe H, Taguchi K, Endo Y, Tokuda T, Mizuno T, Nakagawa M, Tanaka M. p62/SQSTM1-dependent autophagic clearance of Lewy body-like  $\alpha$ -synuclein inclusions. 42th annual meeting of the Society for Neuroscience 2012. Oct 13-17, 2012; New Orleans.
- 3) Watanabe Y, Tatebe H, Taguchi K, Endo Y, Tokuda T, Mizuno T, Nakagawa M, Tanaka M. p62/SQSTM1-dependent autophagy of Lewy body-like  $\alpha$ -synuclein inclusions. 14th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry. Aug 26-29, 2012; Kyoto, Japan.
- 4) 渡邊義久, 建部陽嗣, 田口勝敏, 遠藤泰久, 徳田隆彦, 水野敏樹, 中川正法, 田中雅樹. オートファジーによる  $\alpha$ -synuclein 凝集体と障害ミトコンドリアの分解. 第 35 回日本神経科学会. 2012 年 9 月 20 日 名古屋.

## 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

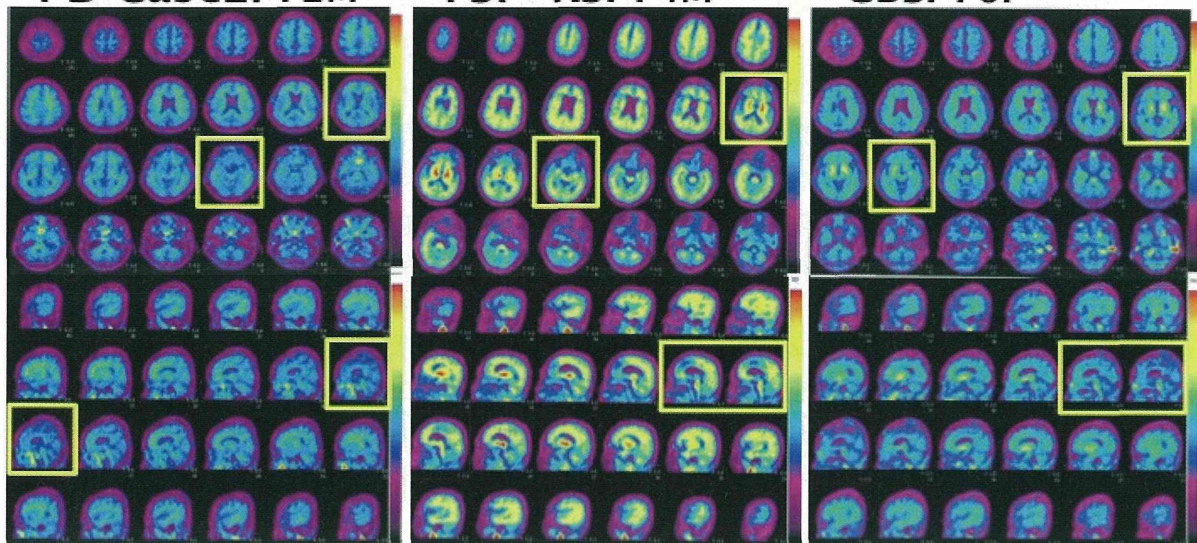


## FDDNP-PET: PD vs PSP vs CBS

PD Case2: 72M

PSP-RS: 74M

CBS: 76F



FDDNP-PETでは、認知症を伴わない純粋なPD患者では脳内のFDDNP集積は認めなかった。このように、FDDNP-PETによれば脳内のアミロイド沈着とタウ沈着を一度のPET検査で否定できる可能性がある。PSPとCBSは、FDDNP集積の分布パターンの相違により生前に鑑別できる可能性があり、今後の症例の蓄積が必要である。

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

神経変性疾患、特にパーキンソン病における治療効果の改善と進行抑制を主題として調査研究を行った。ハワイでの住民健診の結果から血清尿酸値とパーキンソン病の有病率には負の相関のみられることが報告された。このことから愛媛大学病院を受診する患者を対象に調査を行ったところ、日本でもパーキンソン病の発症率と血清尿酸値には負の相関がみられることを確認した。このことからパーキンソン病症例においてイノシンを服用してもらい、安全性を確認する臨床試験を実施した。その結果イノシンを服用することにより血清尿酸が上昇すること、また、尿酸血中濃度、尿の pH、心電図や内臓エコー検査などによりイノシン服用量を調整することにより合併症を起こさないことを確認した。神経変性の作用については継続して検討中である。

パーキンソン病や運動ニューロン疾患を含めて神経障害性疼痛に対してはプレガバリンが広く用いられるこのことからプレガバリンの運転に対する作用を検討した。この結果、プレガバリンは既報告の通り眠気を起こすが、運転技術自体は障害しなかった。しかし、トレーニング効果は低下することを明らかにした。この検討から中枢神経障害性疼痛に対してプレガバリンを処方する時の注意の与え方に、重要なエビデンスを得た。

研究分担者：野元 正弘

所属機関名：愛媛大学大学院医学系研究科 病態治療内科学

A.研究目的

神経変性疾患、特にパーキンソン病における治療効果の改善と進行抑制を主題として調査研究を行った。ハワイでの住民健診の結果から血清尿酸値とパーキンソン病の有病率には負の相関のみられることが報告された。このことから愛媛大学病院を受診する患者を対象に血清尿酸値とパーキンソン病発症率を比較した。

またパーキンソン病症例において尿酸値を上昇させるアミノ酸のイノシンを服用してもらい、安全性について検討した。

プレガバリンは中枢神経障害性疼痛に対して用いられる。このことから運転技術に対する作用を安全性の観点から検討した。

B.研究方法

臨床研究については、いずれも愛媛大学病院倫理審査委員会の承認を得て、同意説明し文書による同意を得て、実施した。尿酸値を測定した愛媛大学病院の受診者について、血清尿酸値とパーキンソン病の発症率を検討した。また、イノシン

を服用して 500mg～1500mg/日服用し、血清尿酸値の上昇の有無、程度、エコー検査による安全性を検討した。

パーキンソン病や運動ニューロン疾患を含めて神経障害性疼痛に対してはプレガバリンが広く用いられるこのことから、プレガバリンの運転に対する作用をドライビングシュミレーターにより検討した。

C.研究結果

尿酸値のパーキンソン病の発症率と血清尿酸値には負の相関がみられることを確認した。

さらにイノシンの服用により血清尿酸値は確実に上昇すること、血清尿酸値、尿 pH、エコー検査により安全性を確保できることを明らかにできた。

またプレガバリンは既報告の通り眠気を起こすが、運転技術自体は障害しなかった。しかし、トレーニング効果は低下することを明らかにした。

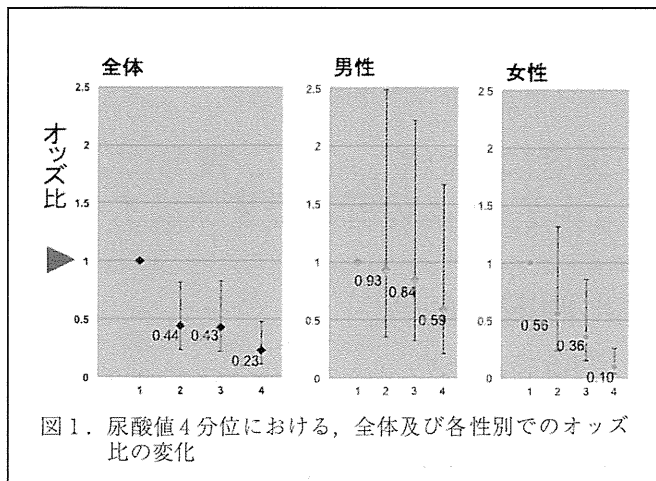


図1. 尿酸値4分位における、全体及び各性別でのオッズ比の変化

#### D. 考察

海外と同様に日本でも尿酸値とパーキンソン病の発症率には負の相関を確認したことから、神経保護作用の手掛かりを得た。また、イノシンの服用により尿酸値を安全に上昇させ得たことから神経保護療法への試験を実施できる根拠を得た。今回のプレガバリンについての検討から中枢神経障害性疼痛に対してプレガバリンを処方する時の注意の与え方に、重要なエビデンスを得た。

#### E. 結論

尿酸値はパーキンソン病発症に関与することを明らかにし、血清尿酸値を手掛かりに神経保護作用治療を検討する根拠を得た。また、プレガバリンは眠気を起こすが、運転技術自体は障害しないことから、眠気に注意すべきことを処方時に与えるべきことを明らかにした。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) 岩城寛尚,辻井智明,西川典子,永井将弘,西宮達也,野元正弘 当科外来患者におけるパーキンソン病オッズと血清尿酸値の相関 愛媛医学 31(3): 134-136,2012.
- 2) 岩城寛尚,辻井智明,西川典子,永井将弘,野元正弘 血清尿酸値と疾患への易罹率—パーキンソン病患者におけるイノシンの安全性確認試験—

愛媛医学 32(4):227-233,2013.

- 3) Tomoaki Tujii, Win Thiri Kyaw, Hiroataka Iwaki, Noriko Nishikawa, Masahiro Nagai, Madoka Kubo, Masahiro Nomoto Evaluation of the effect of pregabalin on simulated driving ability using a driving simulator in healthy male volunteers. International Journal of General Medicine. Jan 2014.

#### 2. 学会発表

#### 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

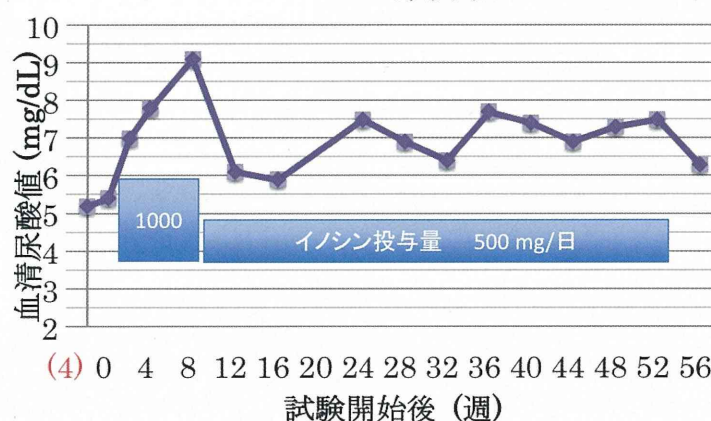
# パーキンソン病におけるイノシン服用の安全性について

難治性疾患克服研究事業 神経変性疾患に関する調査研究班  
研究分担者:野元正弘 所属機関名:愛媛大学大学院医学系研究科 薬物療法・神経内科

- 尿酸値が平均を下回ったパーキンソン患者について、イノシン投与により、血清尿酸値を6.0-8.0 mg/dLにコントロールすることの安全性を検証する臨床試験を開始した。
- 試験は進行中だが、今のところ安全性に問題はない。
- イノシン投与によって目標域の達成は可能であった。

## 代表例の血清尿酸値の推移

49歳男性



神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

パーキンソン病はその多くが孤発性だが、約 10%の患者は近親者に複数の発症者を認める。従ってパーキンソン病の病態を理解するためには、その遺伝的背景を明らかにすることが非常に重要である。遺伝性パーキンソニズムを呈する希少な疾患群(*PLA2G6*, *DCTN1*, *ATP13A2*, *PINK1*, *VPS35*)に着目し遺伝学的解析を推進した結果、本邦における頻度、臨床的特徴を明示した。また、同遺伝子産物の機能解析によりオートファジーリソソーム系の機能不全が病態の一端であることが明らかになってきた。

研究分担者：服部 信孝

所属機関名：順天堂大学医学部 神経学講座

A.研究目的

パーキンソン病(PD)は遺伝的素因と環境要因が複雑に絡み合って発症すると推測されている。当分担当の目標は多数を占める孤発性パーキンソン病の病態解明と、病態を基盤とした治療法の開発にある。一方で、遺伝性パーキンソン病の原因遺伝子が孤発性パーキンソン病のリスクに関与することに着目し、遺伝性パーキンソン病と孤発性パーキンソン病には共通の病態が存在するとの仮説のもと、全国の施設に協力を呼びかけ1)遺伝子異常のスクリーニングにより遺伝性パーキンソン病の臨床像を克明にすること。2)共通した病態の抽出を精力的に行ってきた。本研究によって希少な遺伝性パーキンソン病(*PLA2G6*, *DCTN1*, *ATP13A2*, *PINK1*, *VPS35*が原因遺伝子)の本邦における頻度、臨床的特徴、病態を明らかにすることを目的とする。

B.研究方法

(1) 対象

順天堂大学 PD ゲノムバンクに登録されている日本人優性遺伝性 PD 家系、劣性遺伝性 PD 家系、孤発性 PD、非血縁健常者を対象とした。

(2)方法

既知の変異について PCR-direct sequencing 法あるいは Hi-Resolution Melting analysis 法で変異解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は順天堂大学医学部倫理委員会の承認を得ており、解析対象者へは医師による十分なイン

フォームドコンセントを行い、書面での同意書を得ている。

C-D.研究結果と考察  
(*PLA2G6*)

Infantile neuroaxonal dystrophy (INAD) 及び Neurodegeneration with brain iron accumulation (NBIA)の原因遺伝子である *PLA2G6* は、常染色体劣性遺伝性パーキンソニズムの原因遺伝子でもあることが報告された。臨床型は、ジストニア-パーキンソニズムであり、パキスタン人及びビラン人 3 家系で、いずれもホモ接合体変異が同定された。

バンクを利用したスクリーニングの結果、同胞発症例を含む 2 家系 3 症例において、3 種の新規点変異 (p.F72L, p.Q452X, p.R635Q) が同定され、いずれも複合ヘテロ接合体変異であった。両家系に共通する p.R635Q 変異は、ハプロタイプ解析の結果、創始者効果が認められた。3 症例とも L-dopa 反応性のパーキンソニズムであり、前頭側頭葉に萎縮を認め、認知症を伴う共通の臨床的特徴を有していたが、既報症例のようなジストニア、錐体路症状、小脳失調は認められず、INAD や NBIA 症例に認められる脳の鉄沈着は 1 症例のみに認められた。

L-dopa 反応性を示す若年発症例において、前頭側頭葉に萎縮や血流低下が認められ、認知症や精神症状を合併する非典型的パーキンソニズム症例では、*PLA2G6* 変異解析が考慮されるべきである。

(*DCTN1*)

Perry 症候群はパーキンソニズム、うつ、体重減少、低換気をきたす予後不良の稀な遺伝性疾患であり、



2009年にDCTN1が原因遺伝子として報告された。スクリーニングの結果、ヘテロのミスセンス変異をもつPerry症候群の3家系4症例を優性遺伝性パーキンソニズム家系で見出した。新規変異も1家系で同定した。それらの症例では30-40歳代発症のL-dopa反応性のパーキンソニズムに加え、うつ、体重減少、中枢性低換気などを認め、10年以上の罹病期間の症例もあった。MIBG心筋シンチでの取り込みが低下している症例もあり、臨床的にPDと鑑別が困難な症例も存在し、中枢性低換気をきたし突然死に至るまで鑑別診断が困難である可能性がある。若年発症の家族性の非典型的パーキンソニズムのみでなく、PDと診断した症例の中にもPerry症候群が隠れている可能性がある。

#### (VPS35)

VPS35は欧米の高齢発症優性遺伝性パーキンソン病家系からエクソーム解析法を用いて単離された常染色体優性遺伝性パーキンソン病の新規原因遺伝子である。これまで報告された変異または多型は全て欧米人PDから同定されている。スクリーニングの結果、D620N(c.1858G>A)を優性遺伝性PD3家系(1.0%)、孤発性PD1例(0.23%)からヘテロ接合体で同定した。

患者はいずれも典型的な振戦優位のL-dopa反応性パーキンソニズムを呈しており認知機能低下は目立たなかった。またいずれの症例も精神症状、幻覚、著明な自律神経障害はなかった。

VPS35変異は比較的稀な頻度ではあるが、本邦では欧米よりも頻度が高く、振戦優位の孤発性PDでも検索すべきである。

#### (ATP13A2)

常染色体劣性遺伝形式を呈するPARK9は若年発症パーキンソニズムに認知症、錐体外路症状、ミオクロナスを伴う原因不明の疾患であるが、その原因遺伝子として2006年にATP13A2が同定された。常染色体劣性PD家系をスクリーニングした結果、本邦におけるPARK9(ATP13A2のF182L変異)の家系を見出した(Ning et al. Neurology 2008, Kanai K, et al. Mov Disord 2009)。頻度は稀であるが上記のような多岐にわたる臨床象を呈する疾患についてはATP13A2の変異解析を考慮すべきである。

ATP13A2は本来リソソームに局在するが、変異タンパク質は小胞体からリソソームに輸送されないこ

とによりリソソームの機能障害をきたすことが推測された。ATP13A2の詳細な機能については未だ不明な点もあるが、SH-SY5Y細胞、メダカ、マウスにてATP13A2を欠損させると膜様構造物や異常なリソソームが多数出現し、細胞死を誘発することが観察されることから、神経細胞においてATP13A2はリソソームの機能に重要な因子であることが推測された。

#### E.結論

本研究によって希少な遺伝性パーキンソン病の本邦における頻度、臨床的特徴を明示することができた。特異なパーキンソン症状を呈する際は上記遺伝子検索が重要性である。今後も遺伝子解析を継続し、その臨床的特徴から診断基準、診療指針を確立していく必要がある。

これまでに遺伝性パーキンソン病の発症機序について1)オートファジーが関与するミトコンドリア分解機構の破綻による異常ミトコンドリアの蓄積2)ドーパミン分泌機構の障害3)リソソームの機能不全を提唱してきた。しかしその全容は未だ明らかにはなっておらず、今後の機能解析を含めた更なる検討が必要である。

#### F.健康危険情報

該当なし

#### 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) Kubo S, Hatano T, Takanashi M, Hattori N. Can parkin be a target for future treatment of Parkinson's disease? Expert Opin Ther Targets. 2013 Oct;17(10):1133-44.
- 2) Hatano T, Hattori N, Kawanabe T, Terayama Y, Suzuki N, Iwasaki Y, Fujioka T; On behalf of the Yokukansan Parkinson's Disease Study Group. An exploratory study of the efficacy and safety of yokukansan for neuropsychiatric symptoms in patients with Parkinson's disease. J Neural Transm. 2013 Oct 30. [Epub ahead of print]
- 3) Riku Y, Ikeuchi T, Yoshino H, Mimuro M, Mano K, Goto Y, Hattori N, Sobue G, Yoshida M.

- Extensive aggregation of  $\alpha$ -synuclein and tau in juvenile-onset neuroaxonal dystrophy: an autopsied individual with a novel mutation in the PLA2G6 gene-splicing site. *Acta Neuropathol Commun.* 2013 May 9;1(1):12.
- 4) Kubo S, Hattori N. Neurodegenerative disease, Can synucleinopathy and tauopathy be identified during life? *Nat. Rev. Neurol* 9: 426-427, 2013
- 5) Yoritaka A, Shimo Y, Takanashi M, Fukae J, Hatano T, Nakahara T, Miyamoto N, Urabe T, Mori H, Hattori N. Motor and non-motor symptoms of 1453 patients with Parkinson's disease: prevalence and risks. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013 Aug;19(8):725-31.
- 6) Takanashi M, Shimo Y, Hatano T, Oyama G, Hattori N. Efficacy and Safety of a Once-daily Extended-release Formulation of Pramipexole Switched from an Immediate-release Formulation in Patients with Advanced Parkinson's Disease: Results from an Open-label Study. *Drug Res (Stuttg).* 2013 Dec;63(12):639-43.
- 7) Kamagata K, Motoi Y, Tomiyama H, Abe O, Ito K, Shimoji K, Suzuki M, Hori M, Nakanishi A, Sano T, Kuwatsuru R, Sasai K, Aoki S, Hattori N. Relationship between cognitive impairment and white-matter alteration in Parkinson's disease with dementia: tract-based spatial statistics and tract-specific analysis. *Eur Radiol.* 2013 Jul;23(7):1946-55.
- 8) Matsui H, Sato F, Sato S, Koike M, Taruno Y, Saiki S, Funayama M, Ito H, Taniguchi Y, Uemura N, Toyoda A, Sakaki Y, Takeda S, Uchiyama Y, Hattori N, Takahashi R. ATP13A2 deficiency induces a decrease in cathepsin D activity, fingerprint-like inclusion body formation, and selective degeneration of dopaminergic neurons. *FEBS Lett.* 587:1316-25. 2013
- 9) Yoritaka A, Takanashi M, Hirayama M, Nakahara T, Ohta S, Hattori N. Pilot study of H<sub>2</sub> therapy in Parkinson's disease: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mov Disord.* 2013 Jun;28(6):836-9.
- 10) Shibata N, Motoi Y, Tomiyama H, Ohnuma T, Kuerban B, Tomson K, Komatsu M, Shimazaki H, Hattori N, Arai H. Lack of Genetic Associations of PPAR- $\gamma$  and PGC-1 $\alpha$  with Alzheimer's Disease and Parkinson's Disease with Dementia. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra.* 2013 May 18;3(1):161-7.
- 11) Sharma M, Ioannidis JP, Aasly JO, Annesi G, Brice A, Bertram L, Bozi M, Barcikowska M, Crosiers D, Clarke CE, Facheris MF, Farrer M, Garraux G, Gispert S, Auburger G, Vilariño-Güell C, Hadjigeorgiou GM, Hicks AA, Hattori N, et al; GEOPD consortium. A multi-centre clinico-genetic analysis of the VPS35 gene in Parkinson disease indicates reduced penetrance for disease-associated variants. *J Med Genet.* 2012 Nov;49(11):721-6.
- 12) 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. *Parkinsonism Relat Disord.* 2013 Jan;19(1):15-20.
- 13) Hattori N, Hasegawa K, Sakamoto T. Pharmacokinetics and effect of food after oral administration of prolonged-release tablets of ropinirole hydrochloride in Japanese patients with Parkinson's disease. *J Clin Pharm Ther.* 2012 Oct;37(5):571-7.
- 14) 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.* 2012 Oct;33(10):2527.e11-6.
- 15) 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.* 2012 Sep 15;27(11):1413-7.
- 16) Shimura H, Mizuno Y, Hattori N. Parkin and Parkinson disease. *Clin Chem.* 2012 Aug;58(8):1260-1.
- 17) Ujiie S, Hatano T, Kubo S, Imai S, Sato S, Uchiyama T, Yagishita S, Hasegawa K, Kowa H, Sakai F, Hattori N. LRRK2 I2020T mutation is associated with tau pathology. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012 Aug;18(7):819-23.
- 18) Mizuno Y, Yamamoto M, Kuno S, Hasegawa K, Hattori N, Kagimura T, Sarashina A, Rascol O, Schapira AH, Barone P, Hauser RA, Poewe W; Pramipexole ER Study Group. Efficacy and safety of extended- versus immediate-release pramipexole in Japanese patients with advanced and L-dopa-undertreated Parkinson disease: a double-blind, randomized trial. *Clin Neuropharmacol.* 2012 Jul-Aug;35(4):174-81.
- 19) Kamagata K, Motoi Y, Abe O, Shimoji K, Hori M, Nakanishi A, Sano T, Kuwatsuru R, Aoki S, Hattori N. White matter alteration of the cingulum in Parkinson disease with and without dementia: evaluation by diffusion tensor tract-specific analysis. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2012 May;33(5):890-5.
- 20) Shimura H, Tanaka R, Urabe T, Tanaka S, Hattori N. Art and Parkinson's disease: a dramatic change in an artist's style as an initial symptom. *J Neurol.* 2012 May;259(5):879-81.
- 21) Saiki S, Sato S, Hattori N. Molecular pathogenesis of Parkinson's disease: update. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2012 Apr;83(4):430-6.
- 22) Funayama M, Yoshino H, Li Y, Kusaka H, Tomiyama H, Hattori N. Pseudo-heterozygous rearrangement mutation of parkin. *Mov Disord.* 2012 Apr;27(4):552-5.
- 23) Ogaki K, Hirayama T, Chijiwa K, Fukae J, Furuya T, Noda K, Fujishima K, Hattori N, Takahashi T, Okuma Y. Anti-aquaporin-4 antibody-positive definite neuromyelitis optica in a patient with thymectomy for myasthenia gravis. *Neurologist.* 2012 Mar;18(2):76-9.
- 24) Hattori N. Autosomal dominant parkinsonism: its etiologies and differential diagnoses. *Parkinsonism Relat Disord.* 2012 Jan;18 Suppl 1:S1-3.
- 25) 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.* 2012;3:31-8.
- 26) Kanao T, Sawada T, Davies SA, Ichinose H, Hasegawa K, Takahashi R, Hattori N, Imai Y. The nitric oxide-cyclic GMP pathway regulates FoxO and alters dopaminergic neuron survival in *Drosophila*. *PLoS One.* 2012;7(2):e30958.
- 27) Shiba-Fukushima K, Imai Y, Yoshida S, Ishihama Y, Kanao T, Sato S, Hattori N. PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin and regulates mitophagy. *Sci Rep.* 2012;2:1002.
- 28) Kawajiri S, Saiki S, Sato S, Hattori N. Genetic mutations and functions of PINK1. *Trends Pharmacol Sci.* 2011 Oct;32(10):573-80.
- 29) Usami Y, Hatano T, Imai S, Kubo S, Sato S, Saiki S, Fujioka Y, Ohba Y, Sato F, Funayama M, Eguchi H, Shiba K, Ariga H, Shen J, Hattori N. DJ-1 associates with synaptic membranes. *Neurobiol Dis.* 2011 Sep;43(3):651-62.
- 30) Tomiyama H, Yoshino H, Hattori N. Analysis of PLA2G6 in patients with frontotemporal type of dementia. *Parkinsonism Relat Disord.* 2011 Jul;17(6):493-4
- 31) Tomiyama H, Yoshino H, Ogaki K, Li L, Yamashita C, Li Y, Funayama M, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Hattori N. PLA2G6 variant in Parkinson's disease. *J Hum Genet.* 2011 May;56(5):401-3.

## 2.学会発表

- 1) 佐藤栄人、服部信孝. 若年発症パーキンソン病原因遺伝子産物 ATP13A2 の機能解析、第 54 回日本神経学会学術大会、平成 25 年 5 月 31 日、東京

2) Imai Y, Shiba-Fukushima K, Yoshida S, Ishihama Y, Hattori H: PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin: an initial step of mitophagy. 第35回日本分子生物学会年会 ワークショップ「オートファジーによる分解の諸相」、ポスター、福岡、2012年12月11日

3) 安藤真矢、舩山学、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)、2012. 10. 12、京都

4) Imai Y, Kobayashi Y, Kanao T, Uemura, K, Kanao T, Ohtsuka T, Kageyama R, Hattori N, Takahashi R.: LRRK2 Modulates Notch Signaling through the Endosomal Pathway. Society for Neuroscience 39th annual meeting. New Orleans, LA. Oct. 2012

5) Li Y, M. Funayama, T. Sekine, L. Li, H. Yoshino, K. Nishioka, H. Tomiyama, N. Hattori. Genetic analysis of the GBA gene in Japanese familial Parkinson's disease. ASHG 2012 Annual Meeting, San Francisco, US. 2012. 11. 9.

6) 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, Matoi Y, Tomiyama H, Hattori N. Analyses of the MAPT, PGRN, and C9orf72 in Japanese patients with FTL, PSP, and CBS. Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease Annual Meeting, Seoul, October 9 2012.

7) 吉野浩代, 富山弘幸, 舟辺さやか, 山下力, 李元哲, 舩山学, 村山繁雄, 服部信孝.  $\alpha$ -synucleinopathy 剖検症例における PLA2G6 および PANK2 変異解析. 第53回日本神経学会総会 平成24年5月23日-25日. (東京)

8) 富山弘幸, 李林, 中尾紘一, 京楽格, 栗崎玲一, 李元哲, 舩山学, 吉野浩代, 音成龍司, 坪井義夫, 服部信孝. パーキンソニズムにおける DCTN1 解析—Perry 症候群とパーキンソン病の異同について. (2011. 10月, MDSJ. 東京)

9) Tomiyama H, Yoshino H, Ogaki K, Li L, Yamashita C, Li Y, Funayama M, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Hattori N. PLA2G6 in patients with Parkinson's disease / frontotemporal type of dementia. (2011. 10. 14. The 12th International Congress of Human Genetics, ICHG and the American Society of Human Genetics, ASHG 61st Annual Meeting. Montreal, Canada)

10) Funayama M, Tomiyama H, Hattori N. Genetic Analysis for Parkinson's Disease in Juntendo University, Tokyo, Japan. 2011 Meeting of the Genetic Epidemiology of Parkinson's Disease Consortium. (2011. 9. 19. Chicago, USA).

11) 安藤真矢、頼高朝子、パーキンソン病臨床研究グループ、服部信孝. 長期経過群を中心としたパーキンソン病臨床のまとめ、第52回日本神経学会総会 (2011年5月18日-20日 名古屋)

12) 宇佐見由希子、波田野琢、今井哲司、久保紳一郎、佐藤栄人、服部信孝; DJ-1 蛋白の細胞内局在に関する検討. 第52回日本神経学会総会 (2011年5月18日-20日 名古屋)

13) 富山弘幸, 李林, 中尾紘一, 京楽格, 栗崎玲一, 李元哲, 舩山学, 吉野浩代, 音成龍司, 坪井義夫, 服部信孝. 日本人パーキンソニズムにおける DCTN1 変異解析—Perry 症候群について. (2011年5月18日-20日 名古屋)

#### H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得 該当なし
2. 実用新案登録 該当なし
3. その他

神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

パーキンソン病（PD）の臨床で未解決のいくつかの問題点について研究した。ひとつは姿勢異常である。PD患者は首下がり、腰曲がり、側屈など様々な姿勢異常を呈する。その頻度に関する報告の多くは主観的で、実測した報告は少ない。そこで多数例で首下がり、腰曲がり、側屈の角度を実測し、PD患者は健康人とくらべて首下がり、腰曲がり強いことを確認した。つぎに当施設で2000年以来実施しているPDに対する脳深部刺激治療について、患者アンケートを基にして、神経内科医と脳外科医が合同で行う手術治療説明会の意義を検討した。さらに視床下核脳深部刺激を実施した症例の長期予後を検討し、長期的には認知機能の低下によってQOLが悪化する実態を明らかにした。代替医療の利用状況についての調査では、PD患者の約3分の2が代替医療を利用していることが明らかとなった。

研究分担者：藤本 健一

所属機関名：自治医科大学内科学講座 神経内科

A.研究目的

1960年代のL-dopaの開発以来、パーキンソン病（PD）の治療は著しく進歩した。しかしwearing-off現象や姿勢異常など、治療に抵抗する症状も存在する。また、治療によって運動症状が軽快しても、長期的には認知機能の衰えなど、さらなる問題に直面する。本研究ではPDの臨床において未解決のいくつかの問題について研究した。

B.研究方法

1. 姿勢異常

パーキンソン病（PD）患者は首下がり、腰曲がり、側屈など様々な姿勢異常を呈する。その頻度に関する報告の多くは主観的なもので、実際に角度を計測した報告は少ない。

16の専門医療機関を受診したPD患者1,024名（男性540名、女性584名）と、栃木県下野市、富山県上市町、岐阜県和良町、香川県綾川町、佐賀県唐津市の5市町村の住民検診を受診した一般住民面の立位写真を垂線とともに撮影した。写真上で外耳孔、肩峰、大転子を同定し、外耳孔と肩峰を結んだ線および肩峰と大転子を結んだ線がなす角を首下がりの角度、肩峰と大転子を結んだ線と垂線がなす角を腰曲がりの角度、左右の肩峰を結んだ線と902,219名（男性1,046名、女性1,173名）を対象とした。

文章による同意を得た上で、患者の背面と側面で交わる線が垂線となす角を側屈の角度と定義し、それぞれの角度を計測した。年齢、性別、発症側、罹病期間、重症度、内服薬等の症例情報と姿勢異常の関係を検討した。群間比較にはMann-Whitney U検定を用い、 $P < 0.05$ を有意差ありとした。研究は各施設の倫理委員会の承認を得て実施した。

2. 脳深部刺激治療

定位脳手術に関わる神経内科医と脳外科医が共同で、PDに対する手術治療を考慮している患者・介護者に対する説明会を実施した。インターネットのホームページで日程を公開し、広く参加者を募集した。開催は夏期休暇中や年末年始等を除く毎月1回（年約9回）とし、1回当たり1時間半かけて、PDの治療における手術治療の位置づけ、手術の具体的な方法、手術前後での症状の変化、考えられる副作用について、動画を交えながら説明した。

説明会の参加者にアンケートを行い、居住地、説明会に参加するに至った経緯、説明会の内容の理解度、定位脳手術を希望するか否か、この説明会への参加を他のパーキンソン病患者にも勧めたいか否かを調査した。また、参加者のうち何人が、自治医科大学附属病院において定位脳手術あるいは遺伝子治療を受けたかについて調査した。

次に視床下核脳深部刺激術（STN-DBS）の長期予後を検討した。2001年から12年間に当施設において、両側STN-DBSを実施した93例（男性42人、女性51人、手術時年齢 $60.5 \pm 8.2$ （平均 $\pm$ SD：以下同様）歳、術前罹病期間 $12.9 \pm 4.6$ 年）を対象とした。治療開始後0~4年、4~7年、7~10年、10~12年の群に分けて現在の状況を調査した。

3. 代替医療の利用状況

2012年12月~2月に著者の外来を受診したパーキンソン病患者と介護者、先着300組を対象とした。外来診察時に、サプリメントと健康器具の使用状況について問診した。使用実績があるときは、購入金額、現在使用を継続しているか、効能、効果として何を期待しているか、製品情報は



どこで入手したかをたずねた。年齢、罹病期間、性別、on と off での Hoehn & Yahr の重症度はカルテより確認した。また、代替医療の利用におけるトラブルについても質問した。

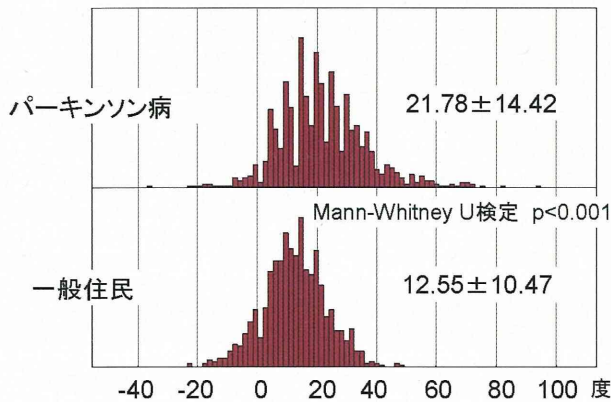


図1 首下がりの角度 (年齢補正後)

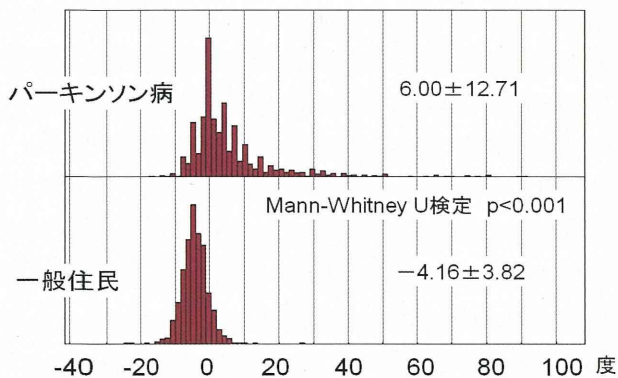


図2 腰曲がりの角度 (年齢補正後)

### C. 研究結果

#### 1. 姿勢異常

年齢を補正すると、首下がりには PD 患者で  $21.8 \pm 14.4$  度 (平均  $\pm$  SD: 以下同様)、一般住民  $12.6 \pm 10.5$  度で、有意に PD 患者の首下がりが強かった (図 1)。腰曲がりは PD 患者で  $6.0 \pm 12.7$  度、一般住民で  $-4.2 \pm 3.8$  度で、有意に PD 患者の腰曲がりが強かった (図 2)。側屈は PD 患者で  $2.9 \pm 3.3$  度、一般住民で  $2.1 \pm 1.6$  度で有意差を認めなかった。

男女差に関しては表 1 に示すように、PD 患者、一般住民とも男性が女性に比べて有意に首下がりが強かった。腰曲がり、側屈に関しては PD 患者、一般住民とも男女差を認めなかった。

首下がり是一般住民で年齢とともに強くなったのに対して PD 患者では年齢との相関を認めなかった。首下がりには PD 患者で年齢とともに強くなったのに対して一般人では年齢との相関を認めなかった。側屈は PD 患者、一般人

表 1 男女別の比較

	男性	女性	p
一 n	1046	1173	
般 首下がり	$14.1 \pm 10.5$	$10.2 \pm 9.6$	<0.001
住 腰曲がり	$-4.4 \pm 3.7$	$-4.2 \pm 3.7$	n.s.
民 側屈	$0.6 \pm 2.5$	$0.5 \pm 2.6$	n.s.
P n	540	584	
D 首下がり	$25.4 \pm 13.7$	$18.3 \pm 14.2$	<0.001
患 腰曲がり	$4.9 \pm 10.7$	$7.0 \pm 14.2$	n.s.
者 側屈	$1.0 \pm 3.8$	$0.8 \pm 4.6$	n.s.

表 2 Wearing-off の有無、ON 時の Hoehn & Yanr 重症度 (I ~ III / IV ~ V) と各要素の関係 (数値は p 値)

	首下がり	腰曲がり	側屈
W/O の	関連なし	関連あり	関連あり
有無	0.215	<0.001	<0.001
H&Y の	関連なし	関連あり	関連なし
差	0.057	<0.001	0.050

とも年齢との相関を認めなかった。

PD 患者に関して、重症度と各角度の関係を調べた (表 2)。Wearing-off 現象の有無との関係では、首下がりには関連を認めなかったが、腰曲がりとは側屈は wearing-off 現象を有する群で有意に強かった。ON 時の Hoehn & Yanr 重症度が I ~ III の群と IV ~ V の群の比較では、首下がりとは側屈は関連を認めなかったが、腰曲がりは Hoehn & Yanr 重症度が IV ~ V の群で有意に強かった (図 3)。

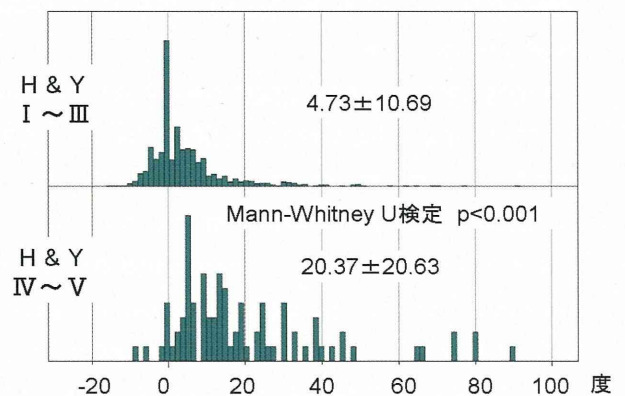


図 3 ON 時の Hoehn & Yahr 重症度 (I ~ III / IV ~ V) と腰曲がりの角度

PD 治療薬との関係では、総 LED (levodopa equivalent dose) が首下がりおよび腰曲がりとは相関を示した。姿勢異常の原因になることが指摘されているドパミンアゴニス

トによる LED との相関は首下がり、腰曲がりとも認めなかった。側屈に関しては総 LED、ドパミンアゴニストによる LED とも相関を認めなかった。

## 2. 脳深部刺激治療

2001年7月から2011年6月までの10年間に、92回の説明会を開催し、合計485症例（1回あたり平均5.3症例）が参加した。単独で参加する患者は少なく、多くは家族や介護者とともに参加したので、参加人数は1000名を超えた。

以下はアンケートを実施した2006年6月以降に参加した275例に関するデータである。参加者の居住地は275例中217例（78.9%）が関東地方で、内訳は栃木県78例、埼玉県32例、東京都32例、茨城県25例、千葉県21例、神奈川県16例、群馬県13例であった。関東地方以外からの参加者は、福島県8例、愛知県と大阪府が各5例、北海道4例、秋田県、山形県、新潟県、京都府、兵庫県が各3例、宮城県、長野県、山梨県、静岡県、高知県が各2例、滋賀県、奈良県、徳島県、島根県、福岡県、大分県、佐賀県、鹿児島県が各1例であった。

説明会に参加するに至った経緯としては、インターネットで情報を得てが174例（63.3%）と最も多く、当施設あるいは関連病院の主治医に紹介されてが48例（17.5%）、その他の神経内科医に紹介されてが18例（6.5%）、その他の医師に紹介されてが7例（2.5%）、回答なしが28例（10.2%）であった。

説明会の内容の理解度に関しては、良く理解できたが76例（26.7%）、だいたい理解出来たが112例（40.7%）、理解出来なかったが9例（3.3%）、回答なし・未回収が78例（28.4%）であった。

説明会に参加した結果、定位脳手術を希望するか否かについては、是非手術を受けたいが95例（34.5%）、必要な時考えたいが115例（41.8%）、手術は受けたくないが9例（3.3%）、回答なしが56例（20.4%）であった。

説明会への参加を他のパーキンソン病患者にも勧めたいか否かについては、是非勧めたいが187例（68.0%）、どちらとも言えないが35例（12.7%）、勧めたくないが18例（6.5%）、回答なしが35例（12.7%）であった。

275例のうち36例が当施設において定位脳手術を受けた。また、6症例が当施設における遺伝子治療の臨床試験に参加した。

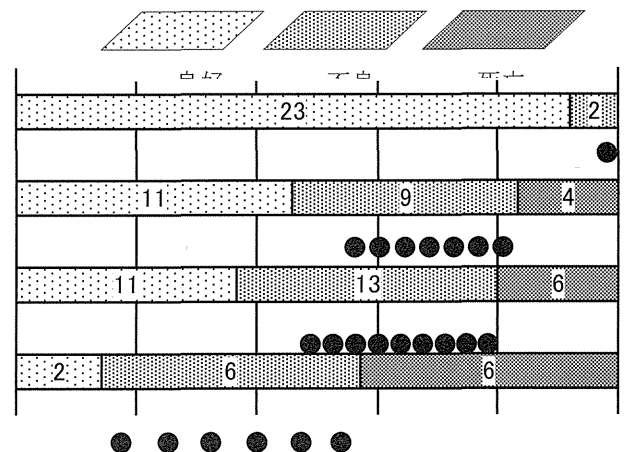
両側 STN-DBS の長期予後に関する検討結果を図4に示す。2001年から12年間に当施設において両足 STN-DBS

術後年数	症例数 (M/F)	発症 (歳)	手術時 (歳)	術前 (年)
0~4	25 (12/13)	45.8 ±8.9	59.2 ±8.2	13.4 ±4.5
4~7	24 (7/17)	51.0 ±8.8	62.3 ±9.3	11.3 ±3.4
7~10	30 (17/13)	47.3 ±6.1	60.1 ±5.7	12.8 ±4.7
10~12	14 (3/8)	45.3 ±9.8	60.3 ±10.7	14.9 ±5.6

図4 両側視床下核脳深部刺激術の長期予後

を実施したのは99例だったので、今回の調査対象93例はその93.4%に当たる。解析から除外した6例の内訳は、脳出血のため手術中止が2例、トラブルで片側手術になったのが2例、後に多系統萎縮症と判明したのが1例、今回連絡が取れなかったのが1例であった。調査対象症例数は術後0~4年が25例、4~7年が24例、7~10年が30例、10~12年が14例であった。発症年齢は4~7年が51歳とやや高いが、他は45.3~47.3歳だった。手術時年齢は60歳前後、術前罹病期間は11.3~14.9年で、各群間で大きな差は認めなかった。

現在の状況について、offでもHoehn & YahrIV度以上で生活が自立し精神的に安定しているものを「良好」、生活に介助が必要とき（Hoehn & YahrV度）があるか認知症を伴った状態を「不良」とした。



それぞれ平均±SD、●は認知症を伴った症例を示す。術後0~4年では25例中23例（92%）が良好であったが、期間が長くなるに従って良好は減り、4~7年で46%、7~10年で37%、10~12年では14%まで減少した。その一方で不良は術後期間が長くなるにしたがって増加した。