

2014 Apr;35(4):935.e3-8.

6. Yamashita C, Tomiyama H, Funayama M, Inamizu S, Ando M, Li Y, Yoshino H, Araki T, Ichikawa T, Ehara Y, Ishikawa K, Mizusawa H, Hattori N. Evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 2014 Jul;35(7):1779.e17-21.
7. Nishioka K, Funayama M, Vilariño-Güell C, Ogaki K, Li Y, Sasaki R, Kokubo Y, Kuzuhara S, Kachergus JM, Cobb SA, Takahashi H, Mizuno Y, Farrer MJ, Ross OA, Hattori N. EIF4G1 gene mutations are not a common cause of Parkinson's disease in the Japanese population. *Parkinsonism Relat Disord*. 2014 Jun;20(6):659-61.

2. 学会発表

1. 波田野 琢, 船山 学, 久保 紳一郎, Ignacio Mata, 吉野 浩代, 藤本 健一, 大島 洋和, 國井 泰人, 矢部 博興, 水野 美邦, 服部 信孝. 本邦における LRRK2 R1441G 変異によるパーキンソン病の臨床的特徴. 第 55 回日本神経学会学術大会 (2014.5.23, 福岡).
2. 船山 学, 西岡 健弥, 大垣 光太郎, 李 元哲, 佐々木 良元, 小久保 康昌, 葛原 茂樹, 高橋 裕秀, 富山 弘幸, 水野 美邦, 服部 信孝. 日本人パーキンソン病における EIF4G1 遺伝子変異の頻度. 第 55 回日本神経学会学術大会 (2014.5.23, 福岡).
3. 吉野 浩代, 西岡 健弥, 李 元哲, 船山 学, 服部 信孝. 日本人パーキンソン病患者に

おける α -シヌクレイン遺伝子新規変異の解析. 第 55 回日本神経学会学術大会 (2014.5.22, 福岡).

4. 李 元哲, 船山 学, 李 林, 吉野 浩代, 西岡 健弥, 富山 弘幸, 服部 信孝. GBA 遺伝子変異を伴う家族性パーキンソン病の臨床遺伝学的検討. 第 55 回日本神経学会学術大会 (2014.5.21, 福岡).
5. 船山 学, 服部 信孝. ミトコンドリア呼吸鎖複合体に着目した新規パーキンソン病モデルマウスの解析. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会 (2014.6.6, 東京).
6. 吉野 浩代, 西岡 健弥, 大山 彦光, 李 元哲, 松島 隆史, 竹内 千仙, 望月 葉子, 吉村 (森) まどか, 村田 美穂, 山下 力, 中村 憲道, 小西 洋平, 大井 和起, 市川 桂二, 寺田 達弘, 小尾 智一, 船山 学, 斉木 臣二, 服部 信孝. Beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN)における臨床遺伝学的検討. 日本人類遺伝学会第 59 回大会 (2014.11.21, 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

服部信孝、船山学、パーキンソン病の診断、特願 2014-228827、平成 26 年 11 月 11 日出願。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

筋萎縮性側索硬化症の遺伝子解析

担当責任者氏名： 青木正志¹⁾
共同研究者氏名： 鈴木直輝¹⁾、加藤昌昭¹⁾、割田 仁¹⁾、井泉瑠美子¹⁾、
西山亜由美¹⁾、島倉奈緒子¹⁾、安藤里紗¹⁾
所属： ¹⁾ 東北大学大学院 医学系研究科 神経・感覚器病態学講座 神経内科学分野

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。発症者の約 5%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 122 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 29 家系に SOD1 遺伝子変異(24%)、11 家系に FUS/TLS 遺伝子変異(9%)、1 家系に TDP-43 変異を認めしたが、残る 81 家系では検索した遺伝子には異常を認めなかった。これらの家系において次世代シーケンサーを用いたターゲット・リシーケンスおよびエクソーム解析により新たな原因遺伝子の検索を行っている。

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。発症者の約 5%は家族歴を伴う。今年度も引き続き家族性 ALS としてこれまでに収集された DNA 検体および新規患者検体において、既知の ALS 関連遺伝子の検索を行い、遺伝子変異の種類、頻度を検討すること、また遺伝子型と臨床型との関係を明らかにすることを目的とした。

B.研究方法

当科で収集した家族性 ALS と考えられる（常染色体優性遺伝形式が疑われる）122 家系について、SOD1、FUS/TLS、TARDBP(TDP-43)、VCP、C9ORF72、PFN1、C9ORF72 についてサンガー

法などで遺伝子解析を行った。

(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、個人情報には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

29 家系（24%）に SOD1 遺伝子変異を、11 家系（9%）に FUS/TLS 遺伝子変異、1 家系（1%）に TDP-43 遺伝子変異を認めた。VCP, C9ORF72, PFN1 遺伝子については 122 家系内では遺伝子変異は認めなかった。

SOD1 遺伝子変異としては、下位運動ニューロン優位、下肢発症が多い H46R、L126S 変異が複

数家系に認められ、それ以外にも様々な臨床型を呈する変異が認められた。FUS/TLS 遺伝子変異は若年発症で進行が速く、上肢や頸部からの発症例が多い特徴がある。

その一方で、81 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ターゲット・リシーケンスおよびエクソーム解析を行っている。

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 122 家系の解析のうち 81 家系では遺伝子異常を認めなかった。連鎖解析を行うことができる家系が少ないために、どのような方法で原因遺伝子を同定するかが課題である。

E. 結論

家族性 ALS の遺伝子解析を行った。今後も継続

的な解析と、今後新たな検体の収集、解析手段の確立が重要である。

(健康危険情報)

特記事項なし

F. 研究発表

1. 論文発表

Abe K, ... Aoki M, ... Yoshino H; Edaravone ALS Study Group. Confirmatory double-blind, parallel-group, placebo-controlled study of efficacy and safety of edaravone (MCI-186) in amyotrophic lateral sclerosis patients. *Amyotroph Lateral Scler Frontotemporal Degener.* 15:610-7, 2014.

Akaishi T, ... Aoki M. An autopsy case involving a 12-year history of amyotrophic lateral sclerosis with CIDP-like polyneuropathy. *Intern Med* 53: 1371-5, 2014

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし

委託業務成果報告（業務項目）

進行性核上性麻痺、大脳皮質基底核変性症を含めたタウオパチー、前頭側頭葉変性症における原因究明
の基盤整備に関する研究

担当責任者 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。遺伝子解析を行うには、多数例の遺伝子試料が必要であり、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が望まれている。本研究では、詳細な臨床情報の整った多数の遺伝子試料を収集し、PS・FTLDの診断、病態解明、治療法の開発を目的としている。共同研究施設の拡充、ならびに、診断基準や試料の取り扱い方法を整備し、全国多施設共同研究による詳細な臨床情報の整ったPS・FTLDの遺伝子試料収集体制が整備され、遺伝子試料収集が開始となった。

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・側頭葉に限局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が求められている。

本研究では厚生労働省科学研究費補助金事業難治性疾患政策研究事業“神経変性疾患領域における調査研究”班（以下、“神経変性班”）と連携し、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症例の経時的変化を把握した詳細な臨床情報、および、遺伝子試料の収集を進める。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) 全国 PS・FTLD 遺伝子試料収集共同研究施設の拡充

“神経変性病”所属施設、あるいは、“神経変性病”には属さないが、PS や FTLD 研究を積極的に進めている施設にも協力を依頼し、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拡充を進めた。

2) 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 FTLD 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広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 FTLD 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。

3) 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、ならびに、リンパ芽球（セルライン）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) 全国共同研究体制の拡充

“神経変性病”所属施設や、その他の PS・FTLD などの神経変性病の診療・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。また、“神経変性病”によって行われている PS 症例の生体試料収集研究との共同事業として、遺伝子試料収集を進める体制を整備した。

2015 年 2 月の時点で、34 施設にお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、22 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。

2) 診断基準と試料取り扱い方法の整備

既報の PS や FTLD 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、試料の取り扱いに方法を整備した。

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 FTLD 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。

3) 遺伝子試料の収集

2014 年 11 月より遺伝子試料集が開始となった。2015 年 2 月末の時点で、研究参加施設より 11 例の症例登録を受け、詳細な臨床情報、ならびに、遺伝子試料を収集した。

D.考察

全国多施設共同研究による遺伝子試料収集研究体制が整備された。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する。

E.結論

PS・FTLD の遺伝子試料収集研究体制を整備し、遺

伝子試料の収集を開始した。今後、本研究をさらに推進することにより、詳細な臨床情報が整った多数例の遺伝子試料収集が望まれる。

(健康危険情報)

なし

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) Adachi T, Kitayama M, Nakano T, et al. Autopsy case of spinocerebellar ataxia type 31 with severe dementia at the terminal stage. Neuro pathology. 2014 Dec 11.
- 2) Tanaka K, Wada-Isoe K, Yamamoto M, et al. Clinical evaluation of fatigue in Japanese patients with Parkinson's disease. Brain Behav. 2014 ;4(5):643-9.
- 3) Kurashiki-Osaka T, Adachi T, Nakayasu H, et al. Alpha-synuclein accumulation in a patient with Auerbach's plexus of pure autonomic failure. Intern Med. 2014;53(19):2261.
- 4) Miyashita A, Wen Y, Kitamura N, et al. Lack of genetic association between TREM2 and late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population. J Alzheimers Dis. 2014;41(4):1031-8.
- 5) Yasui K, Yabe I, Yoshida K, et al. A 3-year cohort study of the natural history of spinocerebellar ataxia type 6 in Japan. Orphanet J Rare Dis. 2014; 9: 118.

2. 学会発表

- 1) Nomura T, Inoue Y, Nakashima K. Characteristics of REM sleep behavior disorder in patients with multiple system atrophy. 14th Asian & Oceanian Congress of Neurology (AOCN2014).
- 2) Tajiri Y, Wada K, Hamada M, et al. Comparison of MoCA and MMSE for evaluating cognitive function in Japanese patients with Parkinson's disease. MDC Congress 2014 the 18th international Congress in Stockholm.
- 3) Nomura T, Nakashima K. Clinical characteristics and course of restless legs syndrome(RLS) Restless legs syndrome(RLS) in Parkinson's disease. Asian Sleep Research Society 2014,
- 4) 瀧川洋史, 山本幹枝, 渡辺保裕, ほか. 家族歴のある進行性核上麻痺症例. 第26回日本老年医学会中国地方会.

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
- 3.その他
なし

委託業務成果報告（業務項目）

パーキンソン病関連疾患の研究リソース構築と

孤発性 ALS 患者における 3'-UTR に注目した *TARDBP* 塩基配列の解析

担当責任者 西澤 正豊

国立大学法人新潟大学脳研究所 教授

竹内亮子, 他田真理, 柿田明美 新潟大学 脳研究所 病理学

廣川祥子, 小野寺理 新潟大学 脳研究所 分子神経疾患資源解析

野崎洋明 新潟大学 医学部保健学科

研究要旨 パーキンソン病関連疾患の解明の為には、詳細な臨床病歴を伴った研究リソース、特に剖検脳組織の集積が必要である。本研究では、パーキンソン病類縁疾患について、剖検組織を集積した。加えて、孤発性神経疾患の一つである筋萎縮性側索硬化症（ALS）に関して、剖検にて確認された症例の DNA を集積し、疾患関連遺伝子である *TARDBP* の変異、一塩基置換の有無を検討した。その結果、病理学的に診断が確定したパーキンソン病関連疾患の研究リソースをリストアップした。また、病理学的に診断を確定した ALS 34 例中 3 例にて *TARDBP* の 3' の非翻訳領域に一塩基置換を認めた。

A. 研究目的

パーキンソン病関連疾患の解明の為には、詳細な臨床病歴を伴った研究リソース、特に剖検脳組織の集積が必要である。本研究では、パーキンソン病類縁疾患について、剖検組織を集積した。加えて、孤発性神経疾患の一つである筋萎縮性側索硬化症（ALS）に関して、剖検にて確認された症例の DNA を集積し、疾患関連遺伝子である *TARDBP* の変異、一塩基置換の有無を検討した。

B. 研究方法

詳細な臨床病歴を伴った新潟大学脳研究所神経病理学教室の剖検例のリストよりパーキンソン病関連疾患、筋萎縮性側索硬化症を抽出した。筋萎縮性側索硬化症に関しては、病理診断にて確定した 34 例の剖検大脳組織より DNA を抽出し、直接塩基配列解析法にて *TARDBP* の翻訳領域、および、3' の非翻訳領域の解析を行った。

(倫理面への配慮)

剖検は同意を得て行い、また遺伝子解析研究に関する本学遺伝子倫理委員会承認をえて行った。

C,D. 研究結果および考察

病理学的にパーキンソン病関連疾患であることが確定した症例（進行性核上性麻痺 46 例、皮質基底核変性症 7 例）を抽出した。本学は疾患関連の剖検組織を多数保管しているが、その本組織においても、これらの疾患の症例数は必ずしも十分ではない。米国ではすでに数百例に及ぶパーキンソン病関連疾患の剖検組織を保管している。本邦でも、全国で独自に管理されている症例のデータベース化が必要であると考える。

筋萎縮性側索硬化症に関しては、我々は、これまでに TDP-43 が自己の pre-mRNA 3'UTR に結合し、

polyA 選択を変化させ、exon6 内の翻訳領域と、非翻訳領域に存在する潜在的イントロンのスプライシングを惹起し、それに続くナンセンス依存性 mRNA 分解機構(NMD)により mRNA を分解

し、そのタンパク量を減少していることを明らかにした。

この事実から TARDBP の翻訳領域のみならず 3' の非翻訳領域の一塩基置換が、この自己調節機能に影響を与える可能性を検討した。実際同領域内の潜在的イントロンの c.2076G>A 変異が家族性、及び孤発性 ALS にて報告されている (Acta Neuropathol (2009) 118:633–645)。今回解析した 34 例では、翻訳領域には変異、及び一塩基置換は認めなかった。また非翻訳領域では 2 例で rs148325203 (c.1098C>G), 1 例で rs150412704 (c.2963G>G) を認めた。いずれも正常対象者に比して高率であるため、今後更に症例を蓄積し、検討を重ねる必要がある。

E. 結論

- 病理学的に診断が確定したパーキンソン病関連疾患の研究リソースをリストアップした。
- 病理学的に診断を確定した ALS 34 例にて *TARDBP* の翻訳領域と 3' の非翻訳領域の塩基配列を確認した。3 例で非翻訳領域に一塩基置換を認めた。

F. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Kimura T, Jiang H, Konno T, Seto M, Iwanaga K, Tsujihata M, Satoh A, Onodera O, Kakita A, Takahashi H. Bunina bodies in motor and non-motor neurons revisited: a pathological study of an ALS patient after long-term survival on a respirator. *Neuropathology*. 2014 Aug;34(4):392-7.

2. 学会発表

1. 今野卓哉 小山哲秀 逸見文昭 小山美咲 須貝章弘 加藤泰介 石原智彦 西澤正豊 小野寺理 ALS 関連 TARDBP 遺伝子変異は自身の選択的スプライシングに影響をおよぼ

すか? 第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月福岡

7. 須貝章弘 小山哲秀 加藤泰介 今野卓哉 石原智彦 西澤正豊 小野寺理 核内 TDP-43 減少は細胞質内 TDP-43 mRNA 増加をもたらす 第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月福岡

8. 須貝章弘 小山哲秀 加藤泰介 志賀篤 今野卓哉 小山美咲 石原智彦 西澤正豊 小野寺理 Coordinated autoregulation of TDP-43 and its implication for TDP-43 pathology 第 55 回日本神経学会学術大会 2014 年 5 月福岡

9. Akihito Koyama, Akihiro Sugai, Taisuke Kato, Takuya Konno, Tomohiko Ishihara, Masatoyo Nishizawa, Osamu Onodera: TDP-43 is autoregulated by multiple excisions of introns in exon6 and reservation of mRNA in nucleus by TDP-43. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. September 2014, Yokohama

10. Taisuke Kato, Akihito Koyama, Akihiro Sugai, Yasuko Toyoshima, Hitoshi Takahashi, Masatoyo Nishizawa, Osamu Onodera: Analysis of intracellular distribution of TDP-43 mRNA in affected spinal motor neuron with ALS. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. September 2014, Yokohama

13. Osamu Onodera, Masatoyo Nishizawa, Hitoshi Takahashi: Update in amyotrophic lateral sclerosis: The XVIII International Congress of Neuropathology. ICN 2014, will be held in Rio de Janeiro, Brazil, in September 14-18

14. Osamu Onodera: RNA metabolism and ALS. The 37th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society. September 2014,

Yokohama

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

委託業務成果報告（業務項目）

剖検診断された PSP/ CBD/ FTL D- tau の分子病理

担当責任者 村山繁雄

東京都健康長寿医療センター神経内科・バイオリソースセンター・
高齢者ブレインバンク（神経病理）部長

研究要旨

発症前（preclinical: p）PSP、CBD の抽出のため、324 例の連続開頭剖検例（平均 82.5 歳）中脳をタウア
イソフォーム特異抗体免疫染色を用い、4 リピート（R）タウオパチーを抽出した。35 例が抽出され、他
の変性疾患を伴わない 7 例を純粋型とした。タウ遺伝子異常は 8 例にはなく、タウ C 末抗体を用いた免疫プ
ロットでは、PSP パターン 2 例、CBD パターン 1 例であった。独立して行った神経病理学的検討で、2 例が
pPSP、1 例が pCBD と診断され、免疫プロットの所見と一致した。残り 5 例は tuft shaped astrocyte を伴っ
ており、より早期の pPSP の可能性が考えられた。

A. 研究目的

発症前（preclinical: p）アルツハイマー病（AD）、
パーキンソン病（PD）を用いた発症機構解明研
究は、現在の研究トレンドの一つである。都市
型高齢者コホートリソースである高齢者ブレ
インバンク連続登録例を網羅的に検討するこ
とで、我々は pAD、pPD の研究リソースを構築
し、国際共同研究に貢献してきた。今回進行性
核上性麻痺・皮質基底核変性症にも同じ手法が
使えないかを検討した。

B. 研究方法

高齢者ブレインバンクでは、東京都健康長寿医
療センター連続剖検例中、開頭剖検・ブレインバ
ンク登録同意を得た例について、半脳を凍結し生
化学・遺伝性検索用に確保、半脳を中性ホルマ
リン固定し神経病理学的診断・研究に用いている。
さらに固定側から 4% paraformaldehyde 48 時間固
定材料を、British Columbia McGeer's Brain Bank の
手法に従い確保している。このうちタウアイソフ
ォーム特異抗体（RD3, RD4）を用い、扁桃核・中
脳を全例免疫組織学的スクリーニングし、4 リピ
ート（R）タウオパチーである嗜銀顆粒性疾患、
PSP/ CBD 病理の抽出を目的としている。今回は
2006 年 11 月から 2011 年 11 月の、324 連続例（82.5
+/- 8.7 歳）を対象とした。

これとは独立に、神経病理学的検索法は高齢者
ブレインバンクプロトコール

（www.mci.gr.jp/BrainBank）に基づき行った。

神経病理診断をふせ中脳を再検討し、RD4 陽性
RD3 陰性の神経原線維変化（NFT）あるいは
pretangle と glial tangle の両方を伴う症例を抽出し
た。Glial tangle としては、tuft shaped astrocyte、
astrocytic plaque の抽出を試みた。

こうして抽出した 4R タウオパチー例について
はタウ遺伝子解析を行った。

また抽出例中神経病理診断として他の変性疾
患病理診断をみたまず、Braak NFT Stage II 以下、
アミロイドステージ A 以下、齋藤の嗜銀顆粒ステ
ージ 2 以下の症例を純粋型とした。

純粋型については、免疫プロットによるタウ C
末断片の解析を行った。

これらの結果を、反対側脳を用いて行った神経
病理診断と対応させた。

（倫理面への配慮）

高齢者ブレインバンク登録同意範囲内の研
究事例である。

C. 研究結果

35 例が 4 リピートタウオパチーを示した。臨
床病理学的に 3 例は PSP、9 例はアルツハイマ
ー病（AD）、9 例は嗜銀顆粒性認知症（AGD）、
2 例は AGD+ 神経原線維変化優位型認知症
（NFTD）、1 例ずつ CBD、PSP+AD、PSP+PD、
AD+DLB であった。純粋型は 7 例であった。

35 例のタウ遺伝子解析（新潟大学脳研究所池

内健博士施行) では、 exon4a p.P140S 変異が 2 例の AGD 病理例に認められたが、この exon は中枢には発現せず、正常多型と報告されているので、病的意義はないと判断した。

純粋型 7 例の免疫プロットでは 2 例が PSP パターン、1 例が CBD パターン、他 4 例は 4 リピータウ蓄積であるが量が少なく分類不能であった (東京都医学総合研究所、長谷川成人博士施行)。

これとは独立して行った神経病理検索で、PSP パターンの 2 例は pPSP、CBD パターンの 1 例は pCBD とそれぞれの確に診断されていた。他の 5 例は tuft shaped astrocyte 様病理が少数認められたが、astrocytic plaque 様病理は検出されなかった。

D. 考察

本研究により、高齢者コホート 324 例のスクリーニングで、分子病理学的に確認できた、pCBD 1 例、pPSP 2 例が抽出された。残り 4 例については、pPSP の極早期の可能性が高いと判断した。

高齢者コホート内に pPSP/ CBD の存在は確認できたが、全て合わせても 7/ 324 の頻度であり、AD/ PD で Braak が提出した進展ステージ分類を検討するのに十分な症例数は得られなかった。タウ遺伝子検索とタウ C 末免疫プロットを併用する現在の PSP/CBD 研究診断基準では、より少数の 3/ 324 の症例数しか得られなかった。より疾患特異性の高い神経病理マーカーの出現が臨まれる。

E. 結論

高齢者コホートには少数であるが、pPSP/ CBD が存在する。これらのリソースは、PSP/ CBD の発症初期変化の検索に貢献する可能性がある。

(健康危険情報)

なし。

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. Shioya, A., Saito Y, Arima K, Kakuta Y, Yuzuriha T, Murayama, S., Tamaoka A: Neurodegeneration in bipolar disorders. *Neuropathology in press*
2. Kizuka, Y., Kitazume S, Fujinawa R, Saito T, Iwata N, Saido TC, Nakano M, Yamaguchi Y, Hashimoto Y, Staufenbiel M, Hatsuta H, Murayama, S., Many H, Endo T, Taniguchi N: An aberrant sugar modification of BACE1 blocks its lysosomal targeting in Alzheimer's disease. *EMBO Molecular Medicine (in press)*
3. Araki, K., Y. Nakano, A., Kobayashi, T., Matsudaira, A., Sugiura, M., Takao M, Kitamoto, T., Murayama, S., Obi T: Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: The clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology (in press)*.
4. Kuninaka, N., M. Kawaguchi, M. Ogawa, A. Sato, K. Arima, Murayama, S. and Y. Saito (2014). "Simplification of the modified Gallyas method." *Neuropathology (in press)*.
5. Tagawa, K., H. Homma, A. Saito, K. Fujita, X. Chen, S. Imoto, T. Oka, H. Ito, K. Motoki, C. Yoshida, H. Hatsuta, Murayama, S., T. Iwatsubo, S. Miyano and H. Okazawa (2014). "Comprehensive phosphoproteome analysis unravels the core signaling network that initiates the earliest synapse pathology in preclinical Alzheimer's disease brain." *Hum Mol Genet (in press)*
6. Hasegawa, H., Liu, L., Tooyama, I., Murayama, S., Nishimura, M. The FAM3 superfamily member ILEI ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by destabilizing the penultimate amyloid-beta precursor. *Nat Commun* 2014; 5: 3917.
7. Hasegawa, M., Watanabe, S., Kondo, H., Akiyama, H., Mann, D.M., Saito, Y., and Murayama, S. "3R and 4R tau isoforms in paired helical filaments in Alzheimer's disease." *Acta Neuropathol* 2014; 127(2): 303-305.
8. Ishibashi, K., Ishiwata, K., Toyohara, J., Murayama, S. and Ishii, K. "Regional analysis of striatal and cortical amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease." *Eur J Neurosci* 2014; 40(4): 2701-2706.
9. Ito, S., Takao, M., Hatsuta, H., Kanemaru, K., T. Arai, Y. Saito, M. Fukayama and S. Murayama (2014). "Alpha-synuclein immunohistochemistry of gastrointestinal and biliary surgical specimens for diagnosis of Lewy body disease." *Int J Clin Exp Pathol* 7(4): 1714-1723.
10. Iwata, A., K. Nagata, H. Hatsuta, H. Takuma, M. Bundo, K. Iwamoto, A. Tamaoka, Murayama, S., T. Saido and S. Tsuji (2014). "Altered CpG methylation in sporadic Alzheimer's disease is

associated with APP and MAPT dysregulation." *Hum Mol Genet* 23(3): 648-656.

11. Matsumoto, H., R. Sengoku, Y. Saito, Y. Kakuta, Murayama, S. and I. Imafuku (2014). "Sudden death in Parkinson's disease: a retrospective autopsy study." *J Neurol Sci* 343(1-2): 149-152.

12. Miyashita, A., Y. Wen, N. Kitamura, E. Matsubara, T. Kawarabayashi, M. Shoji, N. Tomita, K. Furukawa, H. Arai, T. Asada, Y. Harigaya, M. Ikeda, M. Amari, H. Hanyu, S. Higuchi, M. Nishizawa, M. Suga, Y. Kawase, H. Akatsu, M. Imagawa, T. Hamaguchi, M. Yamada, T. Morihara, M. Takeda, T. Takao, K. Nakata, K. Sasaki, K. Watanabe, K. Nakashima, K. Urakami, T. Ooya, M. Takahashi, T. Yuzuriha, K. Serikawa, S. Yoshimoto, R. Nakagawa, Y. Saito, H. Hatsuta, Murayama, S., A. Kakita, H. Takahashi, H. Yamaguchi, K. Akazawa, I. Kanazawa, Y. Ihara, T. Ikeuchi and R. Kuwano (2014). "Lack of genetic association between TREM2 and late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population." *J Alzheimers Dis* 41(4): 1031-1038.

13. Nagao, S., O. Yokota, C. Ikeda, N. Takeda, H. Ishizu, S. Kuroda, K. Sudo, S. Terada, Murayama, S. and Y. Uchitomi (2014). "Argyrophilic grain disease as a neurodegenerative substrate in late-onset schizophrenia and delusional disorders." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 264(4): 317-331.

14. Oikawa, N., H. Hatsuta, Murayama, S., A. Suzuki and K. Yanagisawa (2014). "Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer's pathology on synaptic membrane lipids of human brains." *J Neurosci Res* 92(5): 641-650.

15. Qina, T., N. Sanjo, M. Hizume, M. Higuma, M. Tomita, R. Atarashi, K. Satoh, I. Nozaki, T. Hamaguchi, Y. Nakamura, A. Kobayashi, T. Kitamoto, Murayama, S., H. Murai, M. Yamada and H. Mizusawa (2014). "Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene." *BMJ Open* 4(5): e004968.

16. Saito, Y., T. Miyasaka, H. Hatsuta, K. Takahashi-Niki, K. Hayashi, Y. Mita, O. Kusano-Arai, H. Iwanari, H. Ariga, T. Hamakubo, Y. Yoshida, E. Niki, Murayama, S., Y. Ihara and N. Noguchi (2014). "Immunostaining of oxidized DJ-1 in human and mouse brains." *J Neuropathol Exp Neurol* 73(7): 714-728.

17. Sakurai, K., A. M. Tokumaru, T. Nakatsuka, Murayama, S., S. Hasebe, E. Imabayashi, K. Kanemaru, M. Takao, H. Hatsuta, K. Ishii, Y. Saito, Y. Shibamoto, N. Matsukawa, E. Chikui and H. Terada (2014). "Imaging spectrum of sporadic cerebral amyloid angiopathy: multifaceted features of a single pathological condition." *Insights*

Imaging 5(3): 375-385.

18. Xie, C., T. Miyasaka, S. Yoshimura, H. Hatsuta, S. Yoshina, E. Kage-Nakadai, S. Mitani, Murayama, S. and Y. Ihara (2014). "The homologous carboxyl-terminal domains of microtubule-associated protein 2 and TAU induce neuronal dysfunction and have differential fates in the evolution of neurofibrillary tangles." *PLoS One* 9(2): e89796.

19. Yamada, M., M. Tanaka, M. Takagi, S. Kobayashi, Y. Taguchi, S. Takashima, K. Tanaka, T. Touge, H. Hatsuta, Murayama, S., Y. Hayashi, M. Kaneko, H. Ishiura, J. Mitsui, N. Atsuta, G. Sobue, N. Shimozawa, T. Inuzuka, S. Tsuji and I. Hozumi (2014). "Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan." 2014; *Neurology* 82(8): 705-712.

2. 学会発表

1. Izumi Y, Sumikura H, Fujita K, Kamada M, Shimatani Y, Miyamoto R, Koizumi H, Miyazaki Y, Hatsuta H, Nodera H, Nishida Y, Murayama S, Kaji R: Autopsy-proven Amyotrophic Lateral Sclerosis Coexisted with Parkinson Disease: A Novel Association of TDP-43 Proteinopathy and α -Synucleinopathy. The 66th AAN Annual Meeting. April 26-May 3, 2014, Philadelphia, PA, USA

2. Marwan Sabbagh, John Seibyl, Andrew Stephens, Henryk Barthelemy, Ishii K, Takao M, Akatsu H, Murayama S, Christopher Rowe, Ana Catafau, Walter Schulz-Schaeffer, Osama Sabri : A negative florbetaben PET scan reliably excludes amyloid pathology as confirmed by histopathology in a large Phase 3 trial. The 66th AAN Annual Meeting. April 26-May 3, 2014, Philadelphia, PA, USA

3. Takao M, Murayama S, Sumikura H, Nogami A, Uchino A, Nakano Y, Hatsuta H, Obata M, Hirose N: Neuropathologic Analysis of 59 Centenarian Brains. The 90th Annual Meeting of the American Association of Neuropathologists. June 12-15 2014, Portland, OR, USA

4. Satake W, Ando Y, Tomiyama H, Kashihara K, Mochizuki H, Murayama S, Takeda A, Hasegawa K, Tsuji S, Yamamoto M, Murata M, Hattori N, Toda T: Exome sequencing of Parkinson's disease in order to identify genetic variants with high disease-risk. 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

5. Sengoku R, Sumikura H, Takao M, Hatsuta H, Nogami A, Uchino A, Saito Y, Murayama S: Clinicopathological characteristics of pure type Lewy body disease with dementia (Parkinson's disease with dementia and dementia with Lewy

bodies). 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

6. Miyamoto R, Takeuchi T, Sumikura H, Fujita K, Mure H, Morigaki R, Goto S, aaaa, Izumi Y, Kaji R: An autopsy case of predominant generalized dystonia in a patient with cerebellar atrophy. 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

7. Sanjo N, Higuma M, Hizume M, Furukawa F, Nakamura Y, Kitamoto T, Hamaguchi T, Morikawa F, Aoki M, Tanaka F, Nishizawa M, Takeda M, Inuzuka T, Sato K, Murai H, Murayama S, Satoh K, Harada M, Uyama N, Fujita K, Saito N, Takumi I, Tsukamoto T, Yamada M, Mizusawa H: Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea

8. Takatsuki H, Satoh K, Atarashi R, Sano K, Iwasaki Y, Yoshida M, Takao M, Mihara B, Murayama S, Nishida N: Wide distribution of seeding activity in sporadic CJD patients. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea

9. Andrew Stephens, Henryk Barthel, Ishii K, Takao M, Akatsu H, Murayama S, Christopher Rowe, Norman Koglin, Ana Catafau, Walter Schulz-Schaeffer, Marwan Sabbagh, Osama Sabri, John Seibyl: A negative florbetaben PET scan reliably excludes amyloid pathology as confirmed by histopathology. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

10. Kitazume S, Kizuka Y, Fujinawa R, Saito T, Iwata N, Saido T, Nakano M, Yamaguchi Y, Hashimoto Y, Matthias Staufenbiel, Hatsuta H,

Murayama S, Many H, Endo T, Taniguchi N: Glycosylation regulates degradation of BACE1 in lysosome. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

11. Kanemaru K, Kanemaru A, Murayama S: Assessment of CSF α -synuclein levels distinguish dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

12. Murayama S, Saito Y, Members of the Brain Bank Committee, the Japanese Society of Neuropathology: 18th International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

13. Uchino A, Takao M, Saito Y, Sumikura H, Nakano Y, Hatsuta H, Nishiyama K, Murayama S: Incidence of TDP-43 proteinopathy in aging human brain. 18th International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

14. Murayama S, Saito Y: The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. Brain Conference 2014 The 3rd Congress of Asian Society of Neuropathology. November 6-8, 2014, Seoul, Korea

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

委託業務成果報告（業務項目）

PSP, CBD, FTLD などのゲノム収集, 病理診断に関する研究

- 相模原病院の平成 26 年度の研究進捗状況と FTLD の病状を示した CADASIL 様の病状を示した剖検例 -

担当責任者 国立病院機構相模原病院 神経内科医長 長谷川一子

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 syndrome: CBD, 前頭葉側頭葉認知症 fronto-temporal lobar dementia:FTLD 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. パーキンソン病患者会, ヘルパー研修会, 地域連携の勉強会でパーキンソン病関連疾患の講習を行い, 研究状況を紹介した. また, 病態に関する総説などによる医師に対する広報活動を行った. これにより患者数の増加が得られた. バイオリソース収集については, 平成 24 年度に当院での本研究に関する承認を受けてから収集を開始した. その結果, 現在の収集状況は PSP, CBD, 前頭葉側頭葉型認知症は 50 症例以上となった. 現時点で, 同意を取得し, 遺伝子や血漿の中央への送付を行ったのは, 平成 26 年度は血液 15 検体, 髄液 3 検体, DNA9 検体となった. また, 病理学的検討では FTLD と臨床した症例の剖検により, 遺伝子異常は同定できなかったが, 神経病理学的には CARASIL と診断した. これにより FTLD の原因疾患として CADASIL も考慮する必要があることを報告した.

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 dementia: FTLD 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, 広報活動と広報活動による患者数の増加の努力, バイオリソースの実際の収集, 剖検症例からのタウオパチーの検討を行った.

B. 研究方法

1) 広報活動:

パーキンソン病患者会, パーキンソン関連疾患の患者講習会, ヘルパー研修会, 地域連携の勉強会でパーキンソン病関連疾患の講習を行った. これにより, これらの疾患の概説と研究状況を紹介

するとともに, バイオリソースの構築の必要性, 剖検による研究の意義について広報した. また, 病態に関する総説などによる医師に対する広報活動を行った. 広報活動により, 患者数の増加, 充実したバイオリソース構築を図る.

2) バイオリソース構築:

外来, 入院の患者もしくは介護者にバイオリソース研究の説明と同意を行い, 血清, 血漿, 髄液, DNA, 剖検について承諾を得た. 剖検についてはブレインバンク研究班による生前同意についても努力を開始した.

3) 剖検活動:

研究報告会までに 4 例の剖検例が得られた. そのうち一例は臨床上は FTLD と診断した症例であった. FTLD の原疾患について神経病理学的に検索を行った.

(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：

タウオパシ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。本年度はパーキンソンの患者の会，保健所講習会で脊髄小脳変性症と多系統委縮症，筋委縮姿勢側索硬化症，について概説するとともに，保健所とともに難病ネットワークで難病全般に対する協議を行った。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，患者会の賛同を得ることができた。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などについて記載した。広報活動を行う事により，来院患者数の増加が得られた。

2) バイオリソース構築：

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。バイオリソースの収集は平成 25 年 2 月の時点で，臨床的にタウオパシーと診断している症例は 50 症例を超えた。これらの症例について患者 - 医師関係を構築した後，本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。平成 26 年度は血液 15 検体，髄液 3 検体，DNA9 検体となった。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。

3) 剖検活動：

平成 26 年度は剖検例が少なかったが，タウオパシー症例については，臨床的にFTLDと診断した症例について剖検を行った。症例について以下に概略を述べる。

症例は関節リウマチ RA を 65 歳時は圧勝，死亡

時 77 歳の男性である。

x - 14 年；両手関節痛で発症し，当院で RA と診断し，治療を開始した。

x - 11 年頃から服薬がいい加減となった。

x - 10 年ごろからふらつき，異感覚，頭痛，記憶力低下，人格変化がみられるようになった。

x - 9 年には言葉数の減少が目立ってきた。

x - 3 年糖尿病を併発し，治療開始した。

x - 2 年．進行性失語，人格変化が明らかとなり当科受診し，FTD と臨床診断し，経過観察を行った。

x 年転院先で死亡し，生前剖検同意により剖検となった。

家族歴には同様の症例はいないが，6 人兄弟中 4 人が RA を罹患している。同胞 2 例は消化管穿孔で死亡。

当科初診時神経所見では精神症状として，性的逸脱行為あり，施設から対処を勧告されていた。言葉数は少なく，答える際には攻撃的言動あり，記憶力低下，構成失行あり。感情失禁あり日常生活はすべて要介助。神経学的には明らかな構音障害や構語障害はなく，眼球運動にも所見なし RA による手指変形あり，立位は何とか可能。左上肢，右下肢に固縮あり，深部反射は正常で，病的反射なし。把握反射や口尖らせ反射なし。

検査所見では MMSE12/30，FAB3/18，あかし 2-2-2，カテゴリ-2-2-3。RBMT1/24，0/12。脳波では θ 波主体で α ブロックなし。MRI は下記に示す。

図 1．症例の MRI 像 - 1

前頭葉，側頭葉の委縮が目立つ。ラクナや白質変性は目立たない。側頭葉 VSRAD は 5.13

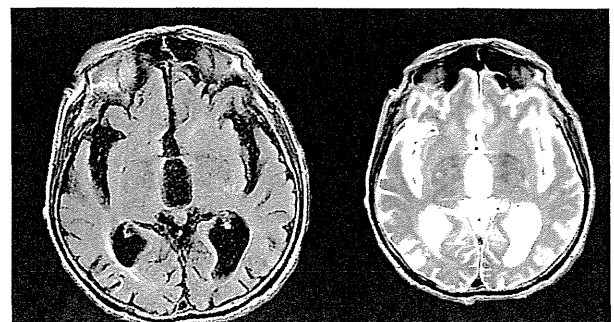
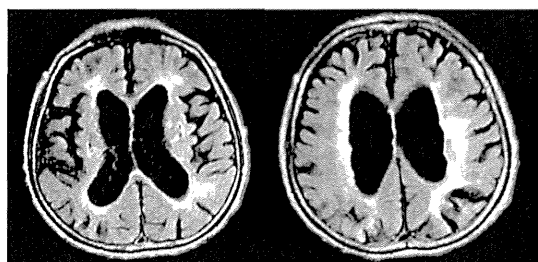


図2 症例のMRI像-2

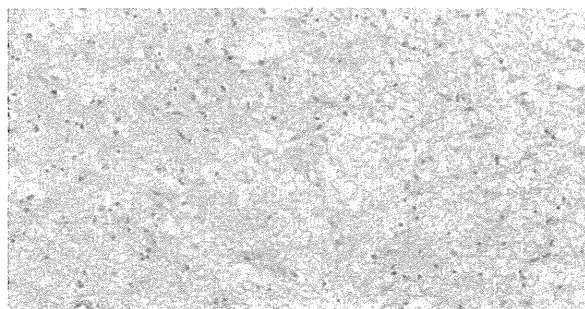
脳萎縮，脳室の拡大が顕著であるが，白質変性は中等度，一部に小梗塞巣やラクナを認める。



脳血流シンチグラムでは前頭葉，側頭葉での血流低下を認める

剖検所見では前頭葉，側頭葉，頭頂葉に微小梗塞が多発し，神経原線維変化や老人斑，Lewey小体は認めない。線条体，海馬に古い軟化巣，淡蒼球に比較的大きな軟化巣を認める。視床にも微小梗塞を認めた。以下に梗塞巣を示す。

図3. 尾状核梗塞巣



微小梗塞が多発しているため血管病変を見たところ下記に示すような血管壁内弾性板の病変を認めた。

図4 脳表血管所見

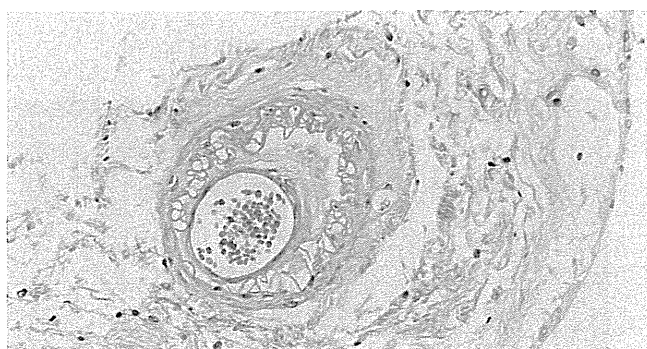
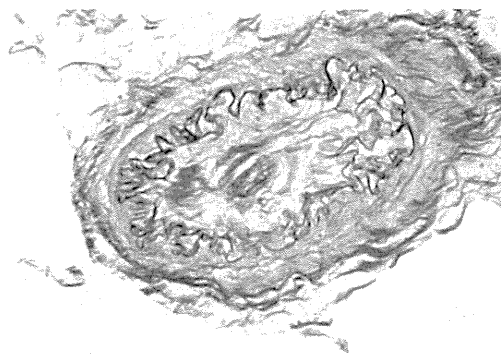


図5. 脳表血管 EV 染色



血管病変に internal elastic lamellae の波うち像，中膜の筋細胞の消失，外膜の線維化から CARASIL と神経病理学的に診断した。しかし，遺伝子診断では HTRA1 遺伝子変異を同定することはできなかった。

D. 考察

バイオソース収集システムについては比較的順調に構築されつつある。剖検例から FTLD の原疾患に CARASIL と病理診断例を見出すことができた。高齢であり，非典型的臨床像を示しているため，今後のさらなる遺伝子検索が必要であること，FTLD を見出した際には血管系の病変を検出することが必要と考えられた。

E. 結論

バイオリソースを構築するに当たり，患者数，質の確保が重要である。また，FTLD の原疾患の一つとして血管病変も考慮する必要性を提示した。

(健康危険情報)

なし

F. 研究発表

1. 論文発表
別紙のとおり
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 |

委託業務成果報告（業務項目）

パーキンソン病のリソース構築と遺伝子治療研究

担当責任者 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

パーキンソン病の発症及び臨床的多様性には様々な要因が関与している。大阪大学神経内科学では、クリニカルパスを利用した前向きコホート研究に取り組んでいる。パーキンソン病の包括的なデータベース構築具体的には背景因子、臨床・画像・生理学・生化学データの蓄積・解析を構築する。その中で、微量 α シヌクレイン蛋白解析を中心とした High throughput assay of amyloid formation の確立し、解析を開始した。今後は、そのデータを元に発症機序の解明に関する解析研究を行う。

A.研究目的

パーキンソン病の臨床における問題点としては、臨床像が多彩であることである。すなわち Rigid-Akinetic type や tremor-dominant type など臨床症状が多様で、進行速度や発症年齢に幅があり、薬剤反応性が異なる。また病勢進行を客観的に評価する指標に乏しい。従来の staging は運動症状を中心とした評価で、Preclinical stage での non-motor symptom 進行期では運動機能の変化よりも認知機能・精神機能などの影響が大きくなる。臨床的多様性をもたらす因子の解明が急務であり、詳細な臨床情報に基づく経時的变化と、遺伝学的情報を含めた背景因子との関連を検討する目的で家族性を含めたパーキンソン病患者の層別化に寄与する様々な臨床指標を取り入れた包括的なデータ・ベースの構築を目指す。また、その原因蛋白の一つである、 α シヌクレインの解析によりその機能解析を目指している。

B.研究方法

臨床研究
クリニカルパスを利用した前向きコホート研究を目指す。具体的には、非運動症状を中心に経時的变化を follow up する。目標症例数は 50~80 例/年とする。さらに画像データ (MRI/DATscan)、

遺伝学的データ、生化学的データとの融合を目指す。将来的な介入試験に向けた historical control クリニカルパスを利用した効率的な情報収集や血液・髄液サンプルなどを用いた α シヌクレインの機能解析を行う。

基礎研究

α シヌクレイン凝集機構解析のため、遺伝子改変マウスを用いて解析した。特に α シヌクレインが、加齢を伴って凝集するマウス作成・解析に従事した。血液・髄液サンプルなどを用いた α シヌクレインの機能解析システムを設立する。

(倫理面への配慮)

本研究は、大阪大学大学院医学系研究科の倫理委員会にて承認されている。

C.研究結果

クリニカルパスを利用したパーキンソン病パス入院を 26 年度後半より開始した。それぞれの症例で、臨床評価、画像データ、髄液サンプルの取得を行い包括的なデータベース・システムを構築しつつある。 α シヌクレインの機能解析・定量のために微量アミロイド蛋白凝集解析システムを確立し、ヒトの血液、髄液での α シヌクレインの解析の予備検討を開始した。

D. 考察

パーキンソン病のパス入院による前向きコホート研究を立ち上げ、背景因子を含めた臨床解析を行いパーキンソン病の臨床的多様性の解析を進める。患者髄液からの α シヌクレイン同定や精製蛋白への影響を解析することで新たな診断マーカーが確立できると期待されている。これを前述の臨床解析の結果と融合することで多様なパーキンソン病を階層化が可能になると考えられる。階層化した患者の血液、髄液サンプルに対して次世代シーケンサーを用いそれぞれの階層に伴う関連因子のスクリーニングを行いパーキンソン病発症機構の解明と治療法開発への道を開いていく。

E. 結論

パーキンソン病の多彩な臨床症状、特に non-motor に関する臨床所見は発症機序から、進行期での影響が大きく、その背景因子の解明を開始している。 α シヌクレイン凝集を検討するシステムを確立できた。特に多数のサンプルを同時に検討できるシステムであり、今後の患者サンプルを用いた解析が展開できる。

(健康危険情報)

なし

F. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

Asano T, et al. Possible involvement of iron-induced oxidative insults in

neurodegeneration. *Neurosci Lett.* 2014 Dec 27;588C: 29-35.

Kashihara K, et al. MDS-UPDRS Japanese Validation Study Group. Official Japanese Version of the Movement Disorder Society-Unified Parkinson's Disease Rating Scale: validation against the original English version. *Mov Disord Clin Pract (Hoboken).* 2014 Sep 1;1(3):200-212.

Kimura Y, et al. A case of early onset myoclonus-dystonia due to a novel mutation of the ϵ -Sarcoglycan Gene in a Japanese family. *Neurology and Clinical Neuroscience.* online : 27 FEB 2014, DOI: 10.1111/ncn3.75

2. 学会発表

望月秀樹、Structure and function of α synuclein 日韓合同シンポジウム、日本神経科学会 2014年9月12日

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

委託業務成果報告

非運動症状、DAT 画像を含めた臨床情報とリンクした孤発性及び家族性パーキンソン病患者の
DNA 収集に関する研究

担当責任者 村田 美穂 国立精神・神経医療研究センター病院神経内科 部長

研究要旨

パーキンソン症状及び、REM 睡眠行動異常症(RBD)、自律神経症状などの非運動症状、DAT SPECT 画像を含めた臨床情報とリンクした孤発性及び家族性パーキンソン病患者 DNA を収集した。今年度は 40 例（うち、家族例 9 家系、12 例を含む）を収集した。うち一家系は叔父 2 名及び同法 5 名中 4 名が発症者でやや浸透率の低い常染色体性優性遺伝形式が推定される家系で、DAT 画像は著明低下を示したが、経過が長いにも関わらず良好な薬物反応性を示した。既知の遺伝子異常はなく、新たな原因遺伝子について、現在検索中である。

A.研究目的

パーキンソン病では臨床経過や認知症その他の合併症の有無など、多様性に富むことが注目されており、その多様性に関連する疾患感受性遺伝子の組み合わせがあることが推定されている。さらにこの多様性は神経細胞の変性様式の多様性を示唆している可能性があり、個々の患者に適切な先制医療を行うためには、それぞれに関連する疾患感受性遺伝子を明らかにする必要がある。これらのことから、本研究では、特に認知症発現の高いリスクと推定される REM 睡眠行動異常症(RBD)や自律神経障害の合併の有無等の臨床情報及び、ドパミン神経終末脱落のマーカーである DAT SPECT 結果とリンクした孤発性及び家族性パーキンソン病患者 DNA の収集を行い、主任研究者の戸田教授らと協力して、原因遺伝子及び疾患感受性遺伝子の探索を進める。

B.研究方法

当院通院中のパーキンソン病患者で運動症状及び RBD、自律神経症状等の評価が可能であり、書面により同意を得られた患者の DNA を収集する。DAT SPECT、MIBG 心筋シンチグラフィ等

の画像データも後方視的に検討した。

(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にのっとり、当センター倫理委員会の承認のもと、研究を施行した。

C.研究結果

本年度は 40 例（うち、家族例 9 家系、12 例を含む）を収集した。家族例は発端者が 30,40 歳代発症が 4 名、60 歳以上が 8 例であった。

1 家系(家系 A)は 83 歳で死亡した父にはパーキンソニズムは認めなかったが、父親の弟 2 名がパーキンソン病の診断を受けており、発端者の同胞 5 人中本人を含め 4 人がパーキンソン病を発症していた。いずれも、RBD、高度な自律神経症状は認めず、MIBG 心筋シンチグラムは正常であった。さらに、罹患期間は 24 年、13 年、4 年、3 年であったが、経過が 24 年、13 年でも on 時は Yahr 重症度はそれぞれ 2.5 及び 1 で、しかも、経過 13 年にもかかわらず wearing-off は認めていなかった。一方で 13 年、24 年はいずれも著明に DAT SPECT の SBR(specific binding ratio)は著明に低下しており、細胞脱落は十分に進行しているも

の、薬物効果が高い良好な経過を示す家系と考えられた。

D. 考察

家系 A は臨床的には浸透率の低い常染色体性優性遺伝形式が想定され、LRRK2 異常が第 1 に考えられた。しかし LRRK2(exon41)の direct sequence 解析では、I2012T, G2019S, I2020T のいずれの異常も認めなかった。本家系については、現在、主任研究者の戸田教授のもとでエクソーム解析を進めている。

家族例については発端者が 30 歳代等の若年の場合は親の発症時期は比較的新しく(存命の場合もあり)、親の病歴の信頼度は比較的高いと考えられた。しかし発端者が 60-70 歳代の場合は、親の病歴は伝聞のみとなり、今後、より信頼度の高い患者収集に注意する必要があると考えられた

E. 結論

これまでの報告に合致しない臨床経過をとる家族性パーキンソン病の 1 家系を見出し、現在解析中である。引き続き、臨床情報にリンクした、

孤発性及び家族性パーキンソン病患者の DNA 収集を進める。

(健康危険情報)

なし

F. 研究発表

1. 論文発表
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)
本件に関しては今年度はなし。
2. 学会発表
本件に関しては今年度はなし。

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