

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業

(精神疾患関係研究分野)

課題番号：H25 - 神経・筋 - 一般 - 003

新評価方法を用いた

フォールディング病の分子シャペロン療法の検討

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 小野寺 理

新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター
分子神経疾患資源解析学 教授

平成27(2015)年 3月

目 次

I . 総括研究報告		
新評価方法を用いたフォールディング病の分子シャペロン療法の検討	-----	1
小野寺理		
II . 分担研究報告		
iPad および Kinect を用いた小脳性運動失調の新たな定量評価法の開発	-----	10
他田 正義		
多系統萎縮症患者脳における p25 α /TPPP 蛋白のリン酸化解析	-----	15
石川欽也		
化学シャペロン QAI1 の神経変性蛋白質凝集・疾患モデルに対する治療効果	-----	18
永井義隆		
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	21
IV . 研究成果の刊行物・別刷	-----	24

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
（総括）研究報告書

新評価方法を用いたフォールディング病の分子シャペロン療法の検討

研究代表者：所属機関 新潟大学脳研究所附属生命科学リソース研究センター

小野寺 理

分担研究者

西澤正豊 新潟大学脳研究所神経内科

柿田明美 新潟大学脳研究所神経病理学赤澤宏平 新潟大学医歯学総合病院

永井義隆 国立精神・神経センター

石川欣也 東京医科歯科大学・神経内科・

佐藤俊哉 新潟大学脳研究所

他田正義 新潟大学脳研究所神経内科

研究要旨 本研究申請の目的はフォールディング病に対し、化学シャペロンの病態進行抑制効果を検討する事である。その目的のために新たな臨床評価方法を確立する。近年多くの神経変性疾患が蛋白質のフォールディング異常で引き起こされる事が明らかとなった。このフォールディング異常を標的とした治療は、病態の進行を抑制する画期的な治療法に繋がる。我々はポリグルタミン病をモデルとして蛋白質フォールディング異常を抑制する化学シャペロンを探索し、治療薬候補として QAI1 を見出し、その治療効果を *in vivo*, *in vitro* で確認した。QAI1 は、臨床応用されている薬剤であり、有力な治療薬候補化合物である。しかし、そのヒトでの治療効果判定のためには、評価者間、内変動の入らない客観的評価方法の開発が不可欠である。我々は本症において高頻度に冒される小脳に注目し、小脳病変における「時間的予測性の障害」を、等速反復運動の速度の変動値として検出し、障害程度を連続変数として表す検査プログラムを開発し、iPad 端末に実装した(iPatax)。これによる反復運動の速度の変動係数は、従来の代表的なカテゴリー変数による評価方法と強い相関を示した。本法は、評価者の主観が介入せず、多施設共同研究を考えた場合、最適の方法である。本申請は本評価法を用い QAI1 の進行抑制効果を検討することを目標とする。申請者らはすでに評価方法を作成、検証しており、かつ候補薬剤の検討を動物レベルで終了している。さらに候補薬剤はすでに他疾患で使用されており安全性が高い。平成 26 年度は iPatax について健常者 33 例、SCD 患者 68 例の解析を終了し、速度の変動係数 (coefficient of variation, CV) が評価法として適切であることを明らかとした。さらに、本評価法は経時的変化でのば

らつきも従来のスケールによる評価方法より少なく、より客観的な視標であることが示された。一方、本評価方法は上肢のみしか評価できない問題があるため、小脳性歩行障害を定量評価するために、Kinect® を用い 3 次元動作解析システムを構築した。以上より小脳性運動失調の簡便な定量評価方法を確立した。

1 研究目的

本研究申請の目的はフォールディング病（アルツハイマー病、シヌクレイノパチー、タウオパチー、TDP-43 プロテノパチー、ポリグルタミン病）

に対し、化学シャペロンの病態進行抑制効果を検討する事である。近年多くの神経変性疾患が蛋白質のフォールディング異常で引き起こされる事が明らかとなった。このフォールディング異常を標的とした治療は、病態の進行を抑制する画期的な治療法に繋がる。我々はポリグルタミン病をモデルとして蛋白質フォールディング異常を抑制する化学シャペロンを探索し、治療薬候補として QAI1 を見出した（永井）。この治療効果は、培養細胞を用いた二量体形成阻害アッセイ（小野寺）、ポリグルタミン病モデル線虫（他田）、モデルショウジョウバエ（永井）、モデルマウスにても確認した（永井）。QAI1 は、臨床応用されている薬剤であり、有力な治療薬候補化合物である。

しかし、今までに見いだされた多数の候補化合物のヒトへの臨床応用は、現実には成功していない。この要因の一つが治療効果の評価方法にある。十分な検出力をもつ介入研究において、各群のサンプルサイズは、介入による効果判定値の平均値の差（推定効果量：E）と効果判定値の標準偏差（S）から $16/(E/S)^2$ の計算式で推定される。稀少疾患である本症はサンプルサイズに限界があるため、介入研究の成否は誤差の少ない評価方法に左右される。これには連続変数による評価が理想的であるが、フォールディング病では被見者の意志が混入しない連続変数による評価方法は存在しなかった。我々は本症において高頻度に冒される小脳に注目し、小脳病変における「時間的予測性の障害」（Spencer RM, et al. Science 2003; Ilg W, et al. Brain 2007, 2008）を、等速反復運動の速度の変動値として検出し、障害程度を連続変数として表

す検査プログラムを開発した（他田）。このプログラムは iPad 端末に実装され、いつでも、どこでも、誰でも、簡便に短時間で実行可能である。このプログラムで測定した反復運動の変動係数（CV）は、従来の代表的なカテゴリー変数による評価方法である SARA との相関係数 0.8 以上、 $P < 0.001$ と非常に強い相関を示した。我々の開発した方法は、評価者の主観が介入する余地が無く、評価者間、内変動が無く、多施設共同研究を考えた場合、最適の方法である。さらに被験者内での日内変動・日差変動も極めて小さい。遺伝学的背景が同一なポリグルタミン病患者にて、本法は罹病期間とも高い相関（ $r = 0.944$, $P < 0.016$ ）を得て、年間悪化率を 3.98% と算出することが出来た。

本研究では、申請者が iPad にて開発した、簡便、鋭敏で、評価者間変動のない評価方法を用いて、QAI1 の進行抑制効果を検討する。聴診器の開発が医療に革新的な進歩をもたらしたように、近年の高性能デジタルデバイスを医療診断デバイスとして再定義する。初年度には、評価方法に基づく疾患進行速度の検討を行い既存の評価スケールと新規に開発した評価スケールとの間の詳細な比較を行った。

2 研究方法

私たちは、視標追跡課題により上肢運動機能を解析するための、iOS6.0/iPad を用いた定量的検査システムを開発した。本年度は引き続き(1) 本検査システムにおいてどのような課題が小脳性運動失調を検出するのに適しているのか、課題の至適条件。(2) その課題条件のもとで、健常群と SCD 疾患群との違い、疾患重症度との相関を検討した。健常者 33 例、SCD 患者 68 例（MJD/SCA3 18 例、SCA6 12 例、MSA 8 例、CCA 16 例、他の失調症 15 例）を対象とした。一方、本評価方法は上肢の

みしか評価できない問題があるため、小脳性歩行障害を定量評価するために、Kinect® を用い3次元動作解析システムを構築した。健常者 15 例、脊髄小脳変性症(SCD)患者 16 例 (MJD 6 例, SCA6 2 例, CCA 2 例, その他 6 例) を対象とし、歩行運動中の頸点の X 軸成分の座標成分を解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は遺伝子解析を必要とするため、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針(平成 13 年 3 月 29 日 文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号、平成 16 年 12 月 28 日 全部改正、平成 17 年 6 月 29 日 一部改正)に沿って、倫理的配慮のもとに実施する。すなわち、十分なインフォームドコンセントを行った上で文書で同意を得、末梢血から DNA を抽出し、保存する。これらのヒト由来試料や臨床データに関する個人識別情報は、連結可能匿名化を行い、大学内で定められた個人識別情報管理者が厳重に管理する。本研究の一部に関しては新潟大学遺伝子研究倫理委員会審査を受け、承認を得ている。今後全国共同研究推進に当たり、共同研究機関、対象の拡大について承認を得て行う。遺伝子以外の臨床情報、血液、画像所見などの使用に関しても、十分な倫理的配慮が必要となる。特に、疫学研究に関する倫理指針(平成 16 年 文部科学省・厚生労働省告示第 2 号)、ならびに臨床研究に関する倫理指針(平成 16 年 厚生労働省告示第 459 号)人を対象とする医学系研究に関する倫理指針(平成 27 年 4 月 1 日 施行予定)の各指針に則り、本研究を進める。この点に関して上記の遺伝子研究とは別に新潟大学倫理審査委員会に臨床試料の研究的使用の申請を行い、承認を得て行う。遺伝子解析とは別個にこの点に関して文書で同意を得る。本研究で対象とするヒト由来資料については、資料、DNA の保存・管理、その後の解析について患者および患

者の親族に説明し、研究目的に使用することへの同意を得ている。また個人のプライバシーに関しては十分に保護する。組み換え DNA 実験、動物実験は、法令を遵守し、本学の承認を得て行う。規定の P1 もしくは P2 実験室はすでに承認済みの施設を保有している。研究を通じて協力者の人権は守られ、現時点で予想される不利益はない。臨床試験も患者の同意書を得施行した。倫理委員会の承認(H22 年 11 月 24 日 付けにて承認)を受け行った。

3 研究結果

新規評価法の開発を目的として、iPatax の症例数を増やし、かつ新たに、歩行解析を試みた。iPatax では、対象を健常者 33 例、SCD 患者 68 例 (MJD/SCA3 18 例, SCA6 12 例, MSA 8 例, CCA

16 例, 他の失調症 15 例) に増やし解析した。速度の変動係数 (coefficient of variation, CV) は SARA 合計および SARA 上肢機能と高い正の相関

を示した。(2) 同一例における経時的変化では、CV の値のばらつき [(最大値-最小値)/最大値] は

平均 13.4% (最大 24.2%, 最小 4.15%) であった。一方、SARA 合計のばらつきは平均 19.3% (最大 54.2%, 最小 0.0%) であり、iPatax よりもデータのばらつきが大きかった。(3) 運動学習の効果：健常群、疾患群ともに、1 分間の課題遂行の中で時間経過に伴い CV の減少を認め学習効果を認めた。この減少率は疾患群に比して健常群で高く ($p < 0.01$)、かつ疾患群では SARA と有意に相関した。Kinect センサーを用いた小脳性歩行の定量評価：小脳性歩行障害を定量評価するために、Kinect® を用い3次元動作解析システムを構築した。健常者 15 例、脊髄小脳変性症(SCD)患者 16 例 (MJD 6 例, SCA6 2 例, CCA 2 例, その他 6 例) を対象とし、歩行運動中の頸点の X 軸成分の座標成分を解析した。周波数解析では、SCD 患者

群では遅い周波数成分が増加し、歩行率(歩行回数/秒)を反映する中間の周波数成分(0.8~3.9 Hz)のばらつきも増加した。SCD 患者群では頸点 X 座標のピーク解析にて振幅および歩行周期の変動係数が増加した。これら変動係数の増加は SARA 合計および SARA 歩行と高い正の相関を示した。以上より、安価に簡便に小脳性歩行障害を定量評価する方法を開発した。

4 考察

神経・筋疾患は長期療養を必要とするため日常生活への支障が大きく、その病態の進行阻止治療は悲願である。しかし、未だ現実とはなっていない。この原因として、その希少性と多様性故に、評価できる検出力をもった治験が計画されていない事が上げられる。十分な検出力のある治験には、大きな症例数か、鋭敏でブレのない評価方法が必要である。しかし、症例数には自ずと限界がある。そのため、評価方法に成否が左右される。その評価方法は、従来、主観の混入するカテゴリー分類が用いられてきた。本症の稀少性を顧みると、簡便で、どこでも、主観の混入なしに評価できることが望ましい。本申請計画にあるタブレット端末を用いた評価方法は、これらを解決する画期的な医療診断デバイスとなる可能性がある。本申請にある“評価デバイスの革新に基づく検出力をもった希少性疾患の治療研究”は、類似治療研究の増加を促し、結果として、希少性、神経・筋疾患患者に貢献する。また客観的な数値による評価基準は、症状の理解と、それに応じた生活基盤を確立する上で、患者にとっても極めて有用な情報になる。本研究により、医療診断デバイスとしてのタブレット端末の有効性が示されれば、施策へ直接反映される可能性、また、他疾患の評価において間接的に活用される可能性がある。また本研究申請で対象とする薬剤はすでに臨床で使用されている薬

剤であり、薬剤のリポジショニング研究にも道を開く。これを凌駕するために評価方法について、複数回測定するなどの変更を加える必要がある。

新規評価法として開発した iPatax について健常者 33 例、SCD 患者 68 例の解析を終了し、速度の変動係数 (coefficient of variation, CV) が評価法として適切であることを明らかとした。さらに、本評価法は経時的变化でのばらつきも従来のスケールによる評価方法より少なく、より客観的な視標であることが示された。一方、本評価方法は上肢のみしか評価できない問題があるため、小脳性歩行障害を定量評価するために、Kinect® を用い 3 次元動作解析システムを構築した。健常者 15 例、SCD 患者 16 例を対象とし、歩行運動中の頸点の X 軸成分の座標成分を解析した。周波数解析では、SCD 患者群では遅い周波数成分が増加し、歩行率(歩行回数/秒)を反映する中間の周波数成分(0.8~3.9 Hz)のばらつきが増加すること。SCD 患者群では頸点 X 座標のピーク解析にて振幅および歩行周期の変動係数が増加する事を見出した。今回開発した、簡便に小脳性歩行障害を定量評価する方法を用い、平成 26-27 年度半ばまで L-アルギニンの薬効評価を行う。症例数は 50 例とする。症例数の算定は、□近年の脊髄小脳変性症を対象とした無作為化比較試験において 13~48 例の症例数にて有意な効果が示されていること □連続変数での評価方法に加えてクロスオーバー試験とすることから、従来の SARA を用いた評価法から推定される症例数である約 100 例より減らしようと算定した。平成 27 年度半ばまで QAI1 の薬効評価の試験を行う。

6 結論

本検査システムは小脳性運動失調の定量評価に有用であることに加え、小脳機能として重要な運動

学習を評価できる可能性が期待できる。最終年度、本評価方法を用いた実際の薬効判定を行う。

7 研究発表

論文発表

1. Tada M, Nishizawa M, Onodera O. Redefining cerebellar ataxia in degenerative ataxias: lessons from recent research on cerebellar systems. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015 Jan 30. pii: jnnp-2013-307225. doi: 10.1136/jnnp-2013-307225
2. Tada M, Nishizawa M, Onodera O. IP3 Receptors in Neurodegenerative Disorders: Spinocerebellar Ataxias and Huntington's and Alzheimer's Diseases. Norbert Weiss, ed. in *Pathologies of Calcium Channels*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 2014;579-600
3. Bundo M, Toyoshima M, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Okada Y, Akamatsu W, Kato M, Okano H, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron* 2014; 81 (1): 1-8.
4. Konno T, Tada M, Tada M, Koyama A, Nozaki H, Harigaya Y, Nishimiya J, Matsunaga A, Yoshikura N, Ishihara K, Arakawa M, Isami A, Okazaki K, Yokoo H, Ihoh K, Yoneda M, Kawamura M, Inuzuka T, Takahashi H, Nishizawa M, Onodera O, Kakita A, Ikeuchi T. Haploinsufficiency of CSF-1R and clinicopathological characterization in patients with HDLS. *Neurology* 2014; 82 (2): 139-148.
5. Yokoseki A, Saji E, Arakawa M, Kosaka T, Hokari M, Toyoshima Y, Okamoto K, Takeda S, Sanpei K, Kikuchi H, Hirohata S, Akazawa K, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Hypertrophic pachymeningitis: significance of myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody. *Brain* 2014; 137 (Pt2): 520-536.
6. Hirabayashi S, Kosugi S, Isobe Y, Nashimoto A, Oda I, Hayashi K, Miyashiro I, Tsujitani S, Kodera Y, Seto Y, Furukawa H, Ono H, Tanabe S, Kaminishi M, Nunobe S, Fukagawa T, Matsuo R, Nagai T, Katai H, Wakai T, Akazawa K. Development and external validation of a nomogram for overall survival after curative resection in serosa-negative, locally advanced gastric cancer. *Annals of Oncology* 2014; 25(6): 1179-1184.
7. Yoshida T, Nin F, Ogata G, Uetsuka S, Kitahara T, Inohara H, Akazawa K, Komune S, Kurachi Y, Hibino H. NKCCs in the fibrocytes of the spiral ligament are silent on the unidirectional K⁺ transport that controls the electrochemical properties in the mammalian cochlea. *Pflugers Archiv* 2014, Aug 22 (online)
8. Saitoh Y., Fujikake N., Okamoto Y., Popiel H.A., Hatanaka Y., Ueyama M., Suzuki M., Gaumer S., Murata M., Wada K., *Nagai Y. P62 plays a protective role in the autophagic degradation of polyglutamine protein oligomers in polyglutamine disease model flies. *J. Biol. Chem.* 290(3):1442-53 (2015)
9. Takeuchi T., Popiel H.A., Futaki S., Wada K., *Nagai Y. Peptide-based therapeutic approaches for treatment of the polyglutamine diseases. *Curr. Med. Chem.* 21(23): 2575-2582

(2014)

10. Obayashi M, Stevanin G, Synofzik M, Monin ML, Duyckaerts C, Sato N, Streichenberger N, Vighetto A, Desestret V, Tesson C, Wichmann HE, Illig T, Huttenlocher J, Kita Y, Izumi Y, Mizusawa H, Schöls L, Klopstock T, Brice A, Ishiikawa K, Dürr A. Spinocerebellar ataxia type 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2014 Dec 4. pii: jnnp-2014-309153. doi: 10.1136/jnnp-2014-309153. [Epub ahead of print]

11. Ota K, Obayashi M, Ozaki K, Ichinose S, Kakita A, Tada M, Takahashi H, Ando N, Eishi Y, Mizusawa H, Ishiikawa K. Relocation of p25 α /tubulin polymerization promoting protein from the nucleus to the perinuclear cytoplasm in the oligodendroglia of sporadic and COQ2 mutant multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun*. 2014 Sep 11;2(1):136. [Epub ahead of print]

学会発表

1. 徳永純, 他田正義, 永井貴大, 小野寺理, 西澤正豊. 等速直線運動の速度変動に着手した小脳性運動失調の新たな定量評価法. 第54回日本神経学会学術大会, 2013/05/30, 東京
2. 太田浄文, 尾崎 心, 市野瀬志津子, 他田真理, 柿田明美, 高橋 均, 石川欽也, 水澤英洋. 多系統萎縮症において p25 α /TPPP はオリゴデンドログリアの核から細胞質に局在変化を起こす. 第55回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2014年6月6日.

3. Nagai Y. Misfolding and aggregation of the polyglutamine protein and its suppression by intercellular transmission of molecular chaperone.

Hungary-Japanese Symp on Mechanism and regulation of aberrant protein aggregation (Nov 17-21, 2014, Osaka, Japan)

4. Nagai Y., et al. Dysfunction of microtubule-dependent transport triggers oligomerization and cytoplasmic accumulation of TDP-43, leading to neurodegeneration. CSHL 2014 Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6, 2014, CSH, NY, USA)

5. Saitoh Y., et al. p62 plays a protective role in the autophagic degradation of polyglutamine protein oligomers in polyglutamine disease model flies. CSHL 2014 Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6, 2014, CSH, NY, USA)

6. Ishiguro T., et al. Expanded UGGAA repeat RNA associated with SCA31 causes progressive neurodegeneration in *Drosophila*. CSHL 2014 Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6, 2014, CSH, NY, USA)

7. 永井義隆. 神経変性疾患に対する蛋白質ミスフォールディング・凝集を標的とした治療戦略 - ポリグルタミン病をモデルとして. 第9回青森神経科学談話会 (H26.6.14, 弘前)

8 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)

1 特許取得

1) 発明の名称: ALSの原因タンパク毒性を軽減する核酸

石川欽也、水澤英洋、永井義隆、横田隆徳、石黒太郎、佐藤 望、和田圭司

出願番号 : 特願 2014-244034

(東京医科歯科大学/国立精神・神経医療研究センター)
【出願日：平成 26 年 12 月 2 日】

2) 発明の名称：脊髄小脳失調症 3 1 型
(SCA31) 治療剤
石川欽也、水澤英洋、永井義隆、石黒太郎、佐藤望、和田圭司
出願番号：特願 2014-244350 (東京医科歯科大学/
国立精神・神経医療研究センター)
【出願日：平成 26 年 12 月 2 日】

2 実用新案登録
なし
3 その他
なし

II . 分担研究報告

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））
【新評価方法を用いたフォールディング病の分子シャペロン療法の検討班】
（分担）研究報告書

iPad および Kinect を用いた小脳性運動失調の新たな定量評価法の開発

分担研究者	他田 正義	新潟大学脳研究所 神経内科
赤澤 宏平	新潟大学医歯学総合病院	医療情報部
西澤 正豊	新潟大学脳研究所	神経内科
佐藤 俊哉	新潟大学脳研究所	
小野寺 理	新潟大学脳研究所	分子神経疾患資源解析学分野
研究協力者	徳永 純	新潟大学脳研究所 神経内科
永井 貴大	新潟大学脳研究所	神経内科
一井 直樹	新潟大学脳研究所	神経内科

研究要旨

本研究の目的は、多施設共同の臨床試験において使用可能な、鋭敏で安定性の高い小脳性運動失調の定量評価法を開発することである。分担研究者らは、タブレット型携帯端末 iPad を用いた簡便な検査システム iPatax (iPad Application for Evaluating Ataxia, 小脳性運動失調評価のための iPad アプリケーション) を開発した。本研究では、健常者および小脳失調症患者を対象とした解析により、視標追跡課題における速度の変動係数が臨床重症度 SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) と非常に高い正の相関を示すことを明らかにした。速度の変動係数は、従来の定量評価法である重心動揺検査や Timed up and go test に比べて臨床重症度と高く相関し、経時的変化の解析において変性疾患特有の緩徐な進行を捉えることができた。さらに、速度の変動係数は課題遂行の後半に低下し、運動学習の効果を反映している可能性が示唆された。学習効率は健常群に比して患者群で低値であった。iPatax は小脳性運動失調の定量評価法として有用であることに加え、小脳機能として重要な運動学習を評価できる可能性が示唆された。

A. 研究背景・目的

脊髄小脳変性症 (SCD) に対しこれまで数多くの臨床試験が試みられてきたが、成功例は極めて少ない。不成功の最大の要因の一つは、鋭敏で安定性の高い定量評価法が欠如していることにある。現在、国際的に広く使用されている小脳性運動失調の臨床評価尺度 SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia) は、評価者が

被験者の運動遂行能力を観察してカテゴリー変数によって評価する半定量的評価法である。簡便で重症度とよく相関するが、SCD の臨床試験において症状のわずかな変化を捉えるには鋭敏性に乏しく、評価者間変動が大きい等の欠点を有する。SCD の SARA 年間変化率は、40 点満点中わずか 1.1 ~ 2.1 点に留まる。従来の評価法にみられる鋭敏性、安定性の問題を克服し、多施設共同の SCD の

臨床試験を成功させるためには、連続変数による定量評価法の開発が不可欠である。

分担研究者らは、鋭敏で安定性の高い小脳性運動失調の新評価法を開発することを目的に、iPad (Apple 社) を用いた視標追跡課題の上肢運動機能評価システム “iPatax (iPad Application for Evaluating Ataxia, 小脳性運動失調評価のための iPad アプリケーション)” を独自に開発した。本研究では、iPatax 検査システムを用いて得られる各変数と SARA や従来の定量評価法との比較から、本検査システムの有用性を検証した。

B. 研究方法

iOS6.0/7.0 上で作動する 2 種類の検査プログラムを開発し、Apple 社のタブレット型携帯端末 iPad に実装した。開発にあたっては、予め iOS Developer Program に登録した。

視標追跡法による等速直線反復運動試験：直線上 (15 cm 長) を等速 (15 cm/2 ~ 3 秒) で反復移動する視標を利き手示指で 1 分間追跡し、視標と指の距離 (空間的ずれ)、速度、加速度を測定し、変動係数 (CV=母集団の標準偏差/平均値) を算出した (図 1)。視標追跡法による等速曲線反復運動試験：直径 10 cm の円周上を等速 (1 周/3 ~ 6 秒) で反復または周回移動する視標を利き手示指で 1 分間追跡し、視標と指の距離、速度、加速度を測定した。

1 分間の検査の後半で被験者の手技が上達するかどうか (運動学習の効果) を明らかにするために、測定区間を

第 1 区間 (S1) : 3-20 秒

第 2 区間 (S2) : 20-40 秒

第 3 区間 (S3) : 40-60 秒

に分け、S1 と S3 の変動係数の変化から運動学習効率を下記のとおり算出した。

$$\text{運動学習効率 } \Delta CV_{S1-S3} = (CV_{S1} - CV_{S3}) / CV_{S1}$$

対象：健常者 11 例 (男性 7 例, 女性 4 例, 平均年齢 30.0 歳), 小脳性運動失調症患者 44 例 (男性 22 例, 女性 22 例, 平均年齢 56.2 歳; 患者の内訳, 多系統萎縮症小脳型 (MSA-C) 7 例, 皮質性小脳萎縮症 (CCA) 10 例, マシヤド・ジョセフ病 (MJD) 16 例, 脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) 3 例, 脊髄小脳失調症 31 型 (SCA31) 1 例, 他の失調症 7 例) を対象に, 臨床項目 (発症年齢, 罹病期間, ポリグルタミン病の CAG リピート数) SARA, iPatax 検査の各変数, 重心動揺検査, Timed Up & Go Test (TUGT, 椅子から立ち上がり往復 6 メートルを歩いて着席するまでの時間を測定) の各データを取得し, 測定値を解析した。統計解析は SPSS ver.12.0 を使用した。

(倫理面への配慮)

本研究は学内倫理委員会の承認を受け, 対象者から書面での同意を得た上で実施した。

C. 研究結果

1. 現行の臨床評価尺度 (SARA) との相関

小脳性運動失調の重症度を反映する変数を明らかにするために, 等速直線反復運動 (15 cm/3 秒), 等速曲線反復運動 (1 周/6 秒) において, 視標と指の距離 (空間的ずれ) の平均値, 空間的ずれの変動係数, 速度の変動係数, 加速度の変動係数などの各変数と現行の標準的臨床評価尺度である SARA 合計との相関を各々解析した。その結果, 空間的ずれの平均値および速度の変動係数が各々 SARA 合計と有意に相関した。とくに, 速度の変動係数は等速直線反復運動 ($r=0.848$, $p<0.001$, 図 2A), および等速曲線反復運動 ($r=0.807$, $p<0.001$, 図 2B) とともに SARA 合計と極めて高い正の相関を示した。

2. 従来の定量評価法との比較：

この視標追跡課題における速度の変動係数と

SARA 合計との相関係数は、従来の定量的評価法である重心動揺検査の総軌跡長、矩形面積と SARA 合計との相関係数($r=0.571$, $p<0.001$; $r=0.545$, $p<0.001$)、TUGT の最短時間と SARA 合計との相関係数($r=0.768$, $p<0.001$)よりも高値となった(図 3)。

3. 継時的変化の検討

4-9 週後に 2 度目の検査を実施した 7 例 (MSA 1 例, CCA 3 例, MJD 3 例) について等速直線運動の速度変動係数の経時的变化を解析した(図 4)。CCA3 例では変動係数の上昇は 8 週で $0.007\pm$

0.278 , 平均変化率は 8 週でプラス $1.9\pm 6.9\%$ となった。MJD 3 例では変動係数の上昇は 8 週で 0.003 ± 0.040 , 平均変化率は 8 週でプラス $1.1\pm 7.9\%$ であり、いずれも安定した値が得られた。

4. 運動学習の効果の検討

健常群、患者群ともに、時間経過に伴い速度の変動係数の減少を認め、運動学習を反映している可能性が示唆された(図 5A)。学習効率 ΔCV_{S1-S3}

は健常群に比して疾患群で低値を示した(図 5B)。

D. 考察と結論

多くの先行研究において、小脳性運動失調の評価には時間測定異常の検出が重要と考えられている。これは、小脳性運動失調の本態は筋活動の時間的パターン生成の異常であるという知見に基づいている。速度の変動は、空間的ずれに比べて運動の時間的ずれ(時間測定異常)の要素を反映しやすいと考えられるが、本研究においても、視標追跡課題の速度の変動係数が従来の臨床評価尺度 SARA と強く相関し、先行研究と一致する結果が得られた。

iPatax 検査法は連続変数による小脳性運動失調の定量評価が可能であることに加え、以下の利点を有する。(1) 評価者の主観が介在する余地がなく、評価者内・評価者間誤差を無視できる、(2) 従

来の特別な機器を用いた検査法に比べ臨床重症度をよく反映する、(3) 歩行が困難な症例でも実施可能である、(4) 操作は簡単で短時間(5 分以内)に実施できる、(6) 機器が比較的安価で、かつ機動性が高い、(7) 簡単な課題のため被験者のベストパフォーマンスが得られやすい、などである。すなわち、従来の評価法に比べ鋭敏性、安定性、簡便性、機動性が高い点で優れていると考えられた。とくに、評価者間誤差が無視できることは、多施設共同の臨床試験を遂行していく上で利点大きい。

さらに、速度の変動係数は課題遂行の後半に低下し、運動学習の効果を反映している可能性が示唆された。学習効率は健常群に比して疾患群で低値を示した。本検査システムは小脳性運動失調の定量評価に有用であることに加え、小脳機能として重要な運動学習を評価できる可能性が期待できる。

今後、治療研究での実用化に向けて、日内変動・日差変動、同一例での経時的变化等のデータを蓄積し評価する必要がある。

F. 健康危険情報

(国民の生命・健康に重大な影響を及ぼす情報として厚生労働省に報告すべきものについて把握した過程、内容、理由を記載する。またその情報源の詳細。)

とくになし。

G. 研究発表

論文発表

- 1) 徳永純, 他田正義, 永井貴大, 西澤正豊, 小野寺理.【小脳の神経学】治療研究に向けた小脳機能評価法の将来. 神経内科 2013;78:687-694.

学会発表

1) 徳永純, 他国正義, 永井貴大, 小野守理, 西津正豊. 等速直線運動の速度変動に着手した小脳性運動失調の新たな定量評価法. 第 54 回日本神

H. 知的財産権の出願・登録状況 (特許取得・実用新案登録・その他) 特になし

図 1. iPatax 検査の概要



図 2. Kinect 歩行解析システムの概要

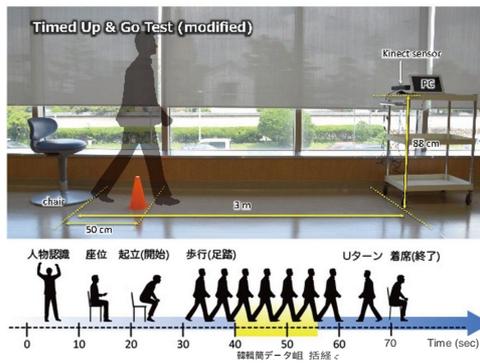


図 3. 等速直線・曲線反復運動課題における速度の変動係数と SARA との相関

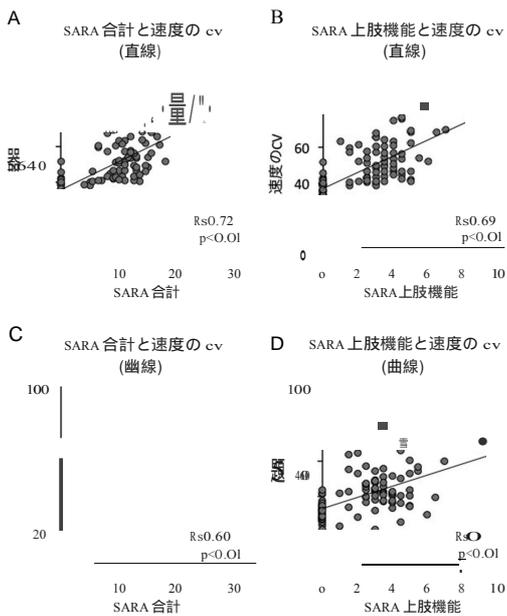
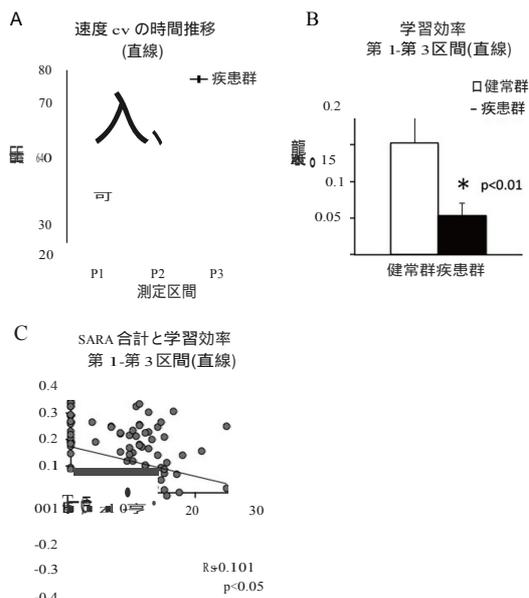


図 4. 運動学習 (速度 CV の時間推移)



厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野））
【新評価方法を用いたフォールディング病の分子シャペロン療法の検討班】
（分担）研究報告書

多系統萎縮症患者脳における p25 α /TPPP 蛋白のリン酸化解析

研究分担者：石川欽也¹⁾

研究協力者：太田浄文^{1,2)}、横田隆徳¹⁾

- 1) 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学
- 2) JA とりで総合医療センター神経内科

研究要旨

昨年度我々は多系統萎縮症(MSA)でのオリゴデンドログリア(ODG)の変性過程に、ODG に特異的に発現する蛋白 p25 α / tubulin TPPP が、 α シヌクレイン蛋白に先行して、本来分布する核や細胞質から、核周囲細胞質に集積することを報告した。この局在変化がMSAの病態としてどれくらい本質的であるかを明らかにする必要がある。今回我々は、患者脳内でTPPPの異常リン酸化について検討し、MSA患者優位にみられるTPPPリン酸化部位を検出した。この結果は、TPPPの局在異常現象に何らかの影響がある可能性があり、さらなる研究が必要と考察した。

A.研究目的

多系統萎縮症(MSA)は α synuclein 蛋白の異常な凝集をオリゴデンドログリア(ODG)や神経細胞に起こす疾患で、フォールディング病に包含されている疾患である。この分子病態には不明な点が多いが、我々は昨年度の研究で、p25 α / tubulin polymerization promoting protein (TPPP)が、ミエリンなどのODG末梢の細胞質や核から減少し、核周囲の細胞体へ集積することを報告した。さらにこの現象は、 α シヌクレインの沈着に先行して起きることも示唆されている。

一方、TPPPはリン酸化を受けやすい蛋白としても知られている。TPPPの主要な機能の一つである、tubulinの重合とポリマー形成(polymerization)には、TPPPのリン酸化修飾の度合いと局所におけるTPPP濃度の2つが影響することが判明している。例えば培養HeLa細胞の実験では、TPPPが少量発現すると、TPPPはmicrotubulesに結合して一致して局在したが、核周囲の細胞質に高濃度に存在する条件にすると、microtubulesの超微形態は変化して凝集様構造の形成がみられることが知られている¹⁾。さらに、この際にはtubulinはアセチル化される²⁾。このようなことを背景に、我々はMSA脳にみられるTPPPの局在変化だけではなく、TPPPのリン酸化異常が、ODG内のTPPP機能変化を起しているかもしれないと仮定した。この仮説を検証する第一歩として、我々はMSA脳と対照脳との間で、TPPPのリン酸化に違いがないかを検証した。

ン酸化異常が、ODG内のTPPP機能変化を起しているかもしれないと仮定した。この仮説を検証する第一歩として、我々はMSA脳と対照脳との間で、TPPPのリン酸化に違いがないかを検証した。

B.研究方法

東京医科歯科大学でご承諾の後に病理解剖となったMSA5例と対照疾患5例を対象として検索した。対照5例のうち1例はパーキンソン病の患者である。

方法は、コントロール5サンプル(小脳5サンプル 大脳1サンプル)、MSA5サンプル(小脳3サンプル 大脳2サンプル)の白質を2% TritonXで溶解した後に、我々が作製した抗TPPP抗体(ウサギ・ポリクローナル)を用いて免疫沈降法で精製した。次にSDS-PAGE法でゲル電気泳動し、ゲルをCBB染色しTPPP蛋白に相当する分子量の部分を切り出した。次に切り出したゲルを本学内の質量分析装置にかけてリン酸化部位を特定した。

(倫理面への配慮)

公表された患者剖検脳を用いた染色結果には本人を特定できる情報はない。

C.研究結果

TPPP 蛋白は様々な部位にリン酸化修飾を受けると言われていたが、20 か所以上にリン酸化修飾がみられた。このうち、対照症例に多い部位や、対照例でも MSA 例でもリン酸化を受ける部位は、病的意義は少ないものと考えた。一方、MSA 症例の複数でのみリン酸化修飾を受けていることが示唆される部位も複数検出した。

D. 考察

Ovadi J.らによると、TPPP はその N 末端側に複数の異なるキナーゼによってリン酸化修飾を受ける部位が数か所あり、リン酸化修飾を受けると tubulin との結合が抑制されると報告している 3)。我々が同定したリン酸化部位は、これらの部位に限られず、その意義は不明である。今後、リン酸化 TPPP 特異的抗体を作製し、MSA 脳での TPPP 局在変化と TPPP の機能を検証する必要がある。

E. 結論

TPPP 蛋白におけるリン酸化部位を複数同定し、中には MSA に特異的な部位も認められた。今後さらなる検索が必要である。

引用文献

1. Lehotzky A, Tirian L, Tokesi N et al. Dynamic targeting of microtubules by TPPP/p25 affects cell survival. *J Cell Sci* 117, 6249-6259, 2004.
2. Tokesi N, Lehotzky A, Horvath I et al. TPPP/p25 promotes tubulin acetylation by inhibiting histone deacetylase 6. *J Biol Chem* 285, 17896-17906, 2010.
3. Hlavanda E, Klement E, Kokai E, et al. Phosphorylation blocks the activity of tubulin polymerization-promoting protein (TPPP): identification of sites targeted by different kinases. *J Biol Chem* 282, 29531-29539, 2007.

F. 健康危険情報

特に問題なし。

1. 論文発表

1. Hashimoto Y, Honda T, Matsumura K, Nakao M, Soga K, Katano K, Yokota T, Mizusawa H, Nagao S, Ishikawa K. Quantitative

Evaluation of Human Cerebellum-Dependent Motor Learning through Prism Adaptation of Hand-Reaching Movement. *PLoS One*. 2015 Mar 18;10(3):e0119376. doi: 10.1371/journal.pone.0119376. eCollection 2015.

2. Ota K, Obayashi M, Ozaki K, Ichinose S, Kakita A, Tada M, Takahashi H, Ando N, Eishi Y, Mizusawa H, and Ishikawa K. Relocation of p25 α /tubulin polymerization promoting protein from the nucleus to the perinuclear cytoplasm in the oligodendroglia of sporadic and COQ2 mutant multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, Sep 11;2(1):136. [Epub ahead of print]
3. Obayashi M, Stevanin G, et al. Spinocerebellar ataxia 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry*, 2014, Dec 4. Online.
4. Ozaki K, Sanjo N, Ishikawa K, Higashi M, Hattori T, Tanuma N, Miyata R, Hayashi M, Yokota T, Okawa A, Mizusawa H. Elevation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of three patients with superficial siderosis. *Neurology and Clinical Neuroscience*, In press.
5. Ozaki K, Irioka T, Ishikawa K, Mizusawa H. CADASIL with a Novel NOTCH3 Mutation (Cys478Tyr). *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2015 Mar;24(3):e61-2. doi: 10.1016
6. Yabe I, Matsushima M, Yoshida K, Ishikawa K, Shirai S, Takahashi I, Sasaki H. Rare frequency of downbeat positioning nystagmus in spinocerebellar ataxia type 31. *J Neurol Sci*. 2015 Mar 15;350(1-2):90-2. doi: 10.1016
7. 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. The evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease.

Neurobiol Aging. 35(7):1779.e17-21, 2014.

8. 榊原聡子, 饗場郁子, 齋藤由扶子, 犬飼晃, 石川欽也, 水澤英洋. Spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31)の臨床像, 画像所見— Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)との小脳外症候の比較検討— 臨床神経学 54:473-479, 2014.

2.学会発表

発表者名.題名.学会名.発表地,発表日.

太田浄文, 尾崎 心, 市野瀬志津子, 他田真理, 柿田明美, 高橋 均, 石川欽也, 水澤英洋. 多系統萎縮症において p25 α /TPPP はオリゴデンドログリアの核から細胞質に局在変化を起こす. 第55回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2014年6月6日.

3. 総説など

1. 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 1. 小脳の解剖と機能. In: 橋本信夫監修, 三國信啓, 深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3. 脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 278-282.
2. 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 2. 小脳機能障害の分類. In: 橋本信夫監修, 三國信啓, 深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3. 脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 283-284.
3. 石川欽也. XV.小脳の障害と運動失調 3. 小脳機能障害の評価. In: 橋本信夫監修, 三國信啓, 深谷 親編集, 「脳神経外科ブラックティス. 3. 脳神経外科医のための脳機能と局在診断」文光堂, 2014; 285-287.
4. 石川欽也, 水澤英洋. 脊髄小脳変性症の分類. In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 330-335.
5. 佐藤 望, 石川欽也, 水澤英洋. 16q-ADCA (SCA31). In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 365-368.
6. 石川欽也, 水澤英洋. 周期性失調症 II

型. In: 別冊 日本臨床. 新領域別症候群シリーズ No.27. 神経症候群(第2版) その他の神経疾患を含めて. II. 日本臨床, 2014; 452-455.

7. 石川欽也. 脊髄小脳変性症, ALS. In: 星 恵子, 大野 勲, 齋藤英胤, 藤井 聡, 増子佳世, 三木知博, 水谷顕洋, 武藤章弘, 山下直美編集, 「やさしい臨床医学テキスト」第3版 薬事日報社, 2014; 43-45.

H.知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1.特許出願

- 1.発明の名称: ALSの原因タンパク毒性を軽減する核酸
石川欽也, 水澤英洋, 永井義隆, 横田隆徳, 石黒太郎, 佐藤 望, 和田圭司
出願番号: 特願 2014-244034 (東京医科歯科大学/国立精神・神経医療研究センター)
【出願日: 平成 26年 12月 2日】
 - 2.発明の名称: 脊髄小脳失調症 3 1 型 (SCA31) 治療剤
石川欽也, 水澤英洋, 永井義隆, 石黒太郎, 佐藤望, 和田圭司
出願番号: 特願 2014-244350 (東京医科歯科大学/国立精神・神経医療研究センター)
【出願日: 平成 26年 12月 2日】
- 2.実用新案登録
なし
 - 3.その他
なし

化学シャペロン QAI1 の神経変性蛋白質凝集・疾患モデルに対する治療効果

研究分担者：永井義隆¹⁾
研究協力者：皆川栄子¹⁾、斉藤勇二¹⁾、ポピエル明子^{1),2)}、鈴木マリ¹⁾、
藤掛伸宏¹⁾、藤田寛美¹⁾、和田圭司¹⁾

1)所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第四部
2)所属：東京医科大学国際医学情報学講座

研究要旨

ポリグルタミン (PolyQ) 病を含む多くの神経変性疾患では、異常蛋白質のミスフォールディングが共通して神経変性を引き起こすと考えられている。我々はこれまでに変性蛋白質のミスフォールディング・凝集を標的とした共通の治療薬開発を目指して、in vitro のアッセイ系を用いた PolyQ 凝集阻害化合物スクリーニングにより、血液脳関門透過性・安全性の高い化学シャペロン QAI1 を同定した。本研究では、QAI1 の PolyQ 病以外の様々な神経変性疾患モデルに対する治療効果を検討した。その結果、QAI1 が Aβ1-40 の凝集体形成を有意に抑制することを明らかにした。さらに QAI1 が PolyQ 病以外の他の神経変性疾患モデルショウジョウバエ・マウスに対して治療効果を示す可能性を検討しているが、これまでのところ有意な治療効果は認められず、現在検討中である。

A．研究目的

アルツハイマー病、パーキンソン病、ポリグルタミン (PolyQ) 病などの多くの神経変性疾患では、異常蛋白質のミスフォールディング・凝集が共通して神経変性を引き起こすと考えられていることから、「フォールディング病」と総称されている。PolyQ 病は、種々の脊髄小脳失調症やハンチントン病などを含む 9 疾患の総称で、PolyQ 鎖の異常伸長により原因蛋白質がミスフォールディング・凝集を生じ、その結果神経変性を引き起こすと考えられている。

我々はこれまでに変性蛋白質のミスフォールディング・凝集を標的とした共通の治療薬開発を目指

して、in vitro のアッセイ系を用いて化合物ライブラリーのスクリーニングを行い、いくつかの PolyQ 凝集阻害化合物を同定した。本研究では、

その中で血液脳関門透過性・ヒトへの安全性が高く、蛋白質のフォールディングに作用する化学シャペロン QAI1 に注目し、様々な神経変性疾患に広く共通の分子標的治療薬を創薬することを目的として、以下の研究を行った。

B&C&D．研究方法、結果および考察

□QAI1 の他の神経変性疾患原因蛋白質に対する凝集抑制効果の検討：

化学シャペロン QAI1 が、PolyQ 蛋白質以外の他

の神経変性疾患原因蛋白質に対して凝集抑制活性を示す可能性について、in vitro での Thioflavin T アッセイ系にて検討した。その結果、A β 1-40 の経時的な凝集体形成 (Thioflavin T 蛍光の上昇) は、QAI1 の添加により有意に抑制されることを明らかにした。 α -Synuclein、tau の凝集に対する QAI1 の効果については、現在検討中である。

□QAI1 の様々な神経変性疾患モデルショウジョウバエに対する治療効果の検討：

化学シャペロン QAI1 が、PolyQ 病だけでなく他の様々な神経変性疾患モデルショウジョウバエに対して治療効果を示す可能性について検討した。QAI1 を Arctic 変異型 A β 1-42 (Glu22Gly)、野生型 Tau、野生型 α -Synuclein、野生型 TDP-43 をそれぞれ発現するアルツハイマー病、前頭側頭葉変性症、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症モデルショウジョウバエに経口投与した結果、PolyQ 病モデルでは複眼変性を抑制する一方で、これらの他の疾患モデルの複眼変性に対しては有意な改善効果を示さなかった。

□QAI1 のアルツハイマー病モデルマウスに対する治療効果の検討：

化学シャペロン QAI1 が、PolyQ 病だけでなく他の神経変性疾患モデルマウスに対して治療効果を示す可能性について検討した。QAI1 をアルツハイマー病モデルマウス (APP^{swe}/PS1^{dE9}) の離乳後 (4 週齢) から 5 か月間連続で経口投与し、その治療効果を病理学的および生化学的に検討した。脳切片の Thioflavin S 染色の結果、脳内のアミロイド斑形成には QAI1 投与による有意な変化は認めなかった。脳ライセートの可溶性分画あるいは不溶性分画中の A β 40 および A β 42 量にも有意な変化は見られなかった。さらなる長期投与による治療効果については、現在投与実験およびサンプル採取を進めている。

(倫理面への配慮)

本研究では直接ヒトを対象とした研究は行っていない。実験動物の取り扱いにあたっては国の法律・指針および国立精神・神経医療研究センター動物実験倫理指針を遵守した。

E. 結論

化学シャペロン QAI1 が、PolyQ 蛋白質以外にも A β 1-40 の凝集体形成も有意に抑制することを明

らかにした。PolyQ 病以外の他の神経変性疾患モデルショウジョウバエ・マウスに対する治療効果は、現在検討中である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Saitoh Y., Fujikake N., Okamoto Y., Popiel H.A., Hatanaka Y., Ueyama M., Suzuki M., Gaumer S., Murata M., Wada K., *Nagai Y. p62 plays a protective role in the autophagic clearance of polyglutamine aggregates in polyglutamine disease model flies. *J. Biol. Chem.* 290(3): 1442-1453 (2015)
- 2) Miura E., Hasegawa T., Konno M., Suzuki M., Sugeno N., Fujikake N., Geisler S., Tabuchi M., Oshima R., Kikuchi A., Baba T., Wada K., Nagai Y., Takeda A., Aoki M. VPS35 dysfunction causes retromer depletion and impairs lysosomal degradation of α -synuclein, leading to exacerbation of α -synuclein neurotoxicity in *Drosophila*. *Neurobiol. Dis.* 71: 1-13 (2014)
- 3) Azuma Y., Tokuda T., Shimamura M., Kyotani A., Sasayama H., Yoshida T., Mizuta I., Mizuno T., Nakagawa M., Fujikake N., Ueyama

M., Nagai Y., Yamaguchi M. Identification of ter94, Drosophila VCP, as a strong modulator of motor neuron degeneration induced by knockdown of Caz, Drosophila FUS. Hum. Mol. Genet. 23(13): 3467-3480 (2014)

4) Takeuchi T., Popiel H.A., Futaki S., Wada K., *Nagai Y. Peptide-based therapeutic approaches for treatment of the polyglutamine diseases. Curr. Med. Chem. 21(23): 2575-2582 (2014)

5) 永井義隆 . ポリグルタミン病における神経変性 . BRAIN MEDICAL 26 (3): 225-229 (2014)

2. 学会発表

1) Nagai Y. Misfolding and aggregation of the polyglutamine protein and its suppression by intercellular transmission of molecular chaperone.

Hungary-Japanese Symp on Mechanism and regulation of aberrant protein aggregation (Nov 17-21, 2014, Osaka, Japan)

2) Nagai Y., et al. Dysfunction of microtubule-dependent transport triggers oligomerization and cytoplasmic accumulation of TDP-43, leading to neurodegeneration. CSHL 2014 Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6,

2014, CSH, NY, USA)

3) Saitoh Y., et al. p62 plays a protective role in the autophagic degradation of polyglutamine protein oligomers in polyglutamine disease model flies. CSHL 2014

Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6, 2014, CSH, NY, USA)

4) Ishiguro T., et al. Expanded UGGAA repeat RNA associated with SCA31 causes progressive neurodegeneration in Drosophila. CSHL 2014 Neurodeg Dis meeting (Dec 3-6,

2014, CSH, NY, USA)

5) 永井義隆 . 神経変性疾患に対する蛋白質ミスフォールディング・凝集を標的とした治療戦略 - ポリグルタミン病をモデルとして . 第 9 回青森神経科学談話会 (H26.6.14、弘前)

H . 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
なし

III 研究成果の刊行に関する一覧表

1. Tada M, Nishizawa M, Onodera O. Redefining cerebellar ataxia in degenerative ataxias: lessons from recent research on cerebellar systems. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2015 Jan 30. pii: jnnp-2013-307225. doi: 10.1136/jnnp-2013-307225
2. Tada M, Nishizawa M, Onodera O. IP3 Receptors in Neurodegenerative Disorders: Spinocerebellar Ataxias and Huntington's and Alzheimer's Diseases. Norbert Weiss, ed. in *Pathologies of Calcium Channels*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. 2014;579-600
3. Bundo M, Toyoshima M, Ueda J, Nemoto-Miyauchi T, Sunaga F, Toritsuka M, Ikawa D, Kakita A, Okada Y, Akamatsu W, Kato M, Okano H, Kasai K, Kishimoto T, Nawa H, Yoshikawa T, Kato T, Iwamoto K. Increased L1 retrotransposition in the neuronal genome in schizophrenia. *Neuron* 2014; 81 (1): 1-8.
4. Konno T, Tada M, Tada M, Koyama A, Nozaki H, Harigaya Y, Nishimiya J, Matsunaga A, Yoshikura N, Ishihara K, Arakawa M, Isami A, Okazaki K, Yokoo H, Ihoh K, Yoneda M, Kawamura M, Inuzuka T, Takahashi H, Nishizawa M, Onodera O, Kakita A, Ikeuchi T. Haploinsufficiency of CSF-1R and clinicopathological characterization in patients with HDLS. *Neurology* 2014; 82 (2): 139-148.
5. Yokoseki A, Saji E, Arakawa M, Kosaka T, Hokari M, Toyoshima Y, Okamoto K, Takeda S, Sanpei K, Kikuchi H, Hirohata S, Akazawa K, Kakita A, Takahashi H, Nishizawa M, Kawachi I. Hypertrophic pachymeningitis: significance of myeloperoxidase anti-neutrophil cytoplasmic antibody. *Brain* 2014; 137 (Pt2): 520-536.
6. Hirabayashi S, Kosugi S, Isobe Y, Nashimoto A, Oda I, Hayashi K, Miyashiro I, Tsujitani S, Koderu Y, Seto Y, Furukawa H, Ono H, Tanabe S, Kaminishi M, Nunobe S, Fukagawa T, Matsuo R, Nagai T, Katai H, Wakai T, Akazawa K. Development and external validation of a nomogram for overall survival after curative resection in serosa-negative, locally advanced gastric cancer. *Annals of Oncology* 2014; 25(6): 1179-1184.
7. Hashimoto Y, Honda T, Matsumura K, Nakao M, Soga K, Katano K, Yokota T, Mizusawa H, Nagao S, Ishikawa K. Quantitative Evaluation of Human Cerebellum-Dependent Motor Learning through Prism Adaptation of Hand-Reaching Movement. *PLoS One*. 2015 Mar 18;10(3):e0119376. doi: 10.1371/journal.pone.0119376. eCollection 2015.
8. Ota K, Obayashi M, Ozaki K, Ichinose S, Kakita A, Tada M, Takahashi H, Ando N, Eishi Y, Mizusawa H, and Ishikawa K. Relocation of p25 α /tubulin polymerization promoting protein from the nucleus to the perinuclear cytoplasm in the oligodendroglia of sporadic and COQ2 mutant multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Commun*, 2014, Sep 11;2(1):136. [Epub ahead of print]
9. Obayashi M, Stevanin G, et al. Spinocerebellar ataxia 36 exists in diverse populations and can be caused by a short hexanucleotide GGCTG repeat expansion. *J Neurol Neurosurg & Psychiatry*, 2014, Dec 4. Online.

10. Ozaki K, Sanjo N, Ishikawa K, Higahsi M, Hattori T, Tanuma N, Miyata R, Hayashi M, Yokota T, Okawa A, Mizusawa H. Elevation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in the cerebrospinal fluid of three patients with superficial siderosis. *Neurology and Clinical Neuroscience*, In press.
11. Ozaki K, Irioka T, Ishikawa K, Mizusawa H. CADASIL with a Novel NOTCH3 Mutation (Cys478Tyr). *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*. 2015 Mar;24(3):e61-2. doi: 10.1016
12. Yabe I, Matsushima M, Yoshida K, Ishikawa K, Shirai S, Takahashi I, Sasaki H. Rare frequency of downbeat positioning nystagmus in spinocerebellar ataxia type 31. *J Neurol Sci*. 2015 Mar 15;350(1-2):90-2. doi: 10.10
13. 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. The evaluation of polyglutamine repeats in autosomal dominant Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*. 35(7):1779.e17-21, 2014.
14. 榊原聡子, 響場郁子, 齋藤由扶子, 犬飼 晃, 石川欽也, 水澤英洋. Spinocerebellar ataxia type 31 (SCA31)の臨床像, 画像所見—Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)との小脳外症候の比較検討—*臨床神経学* 54:473-479, 2014.
15. Saitoh Y., Fujikake N., Okamoto Y., Popiel H.A., Hatanaka Y., Ueyama M., Suzuki M., Gaumer S., Murata M., Wada K., *Nagai Y. p62 plays a protective role in the autophagic clearance of polyglutamine aggregates in polyglutamine disease model flies. *J. Biol. Chem.* 290(3): 1442-1453 (2015)
16. Miura E., Hasegawa T., Konno M., Suzuki M., Sugeno N., Fujikake N., Geisler S., Tabuchi M., Oshima R., Kikuchi A., Baba T., Wada K., Nagai Y., Takeda A., Aoki M. VPS35 dysfunction causes retromer depletion and impairs lysosomal degradation of α -synuclein, leading to exacerbation of α -synuclein neurotoxicity in *Drosophila*. *Neurobiol. Dis.* 71: 1-13 (2014)
17. Azuma Y., Tokuda T., Shimamura M., Kyotani A., Sasayama H., Yoshida T., Mizuta I., Mizuno T., Nakagawa M., Fujikake N., Ueyama M., Nagai Y., Yamaguchi M. Identification of ter94, *Drosophila* VCP, as a strong modulator of motor neuron degeneration induced by knockdown of Caz, *Drosophila* FUS. *Hum. Mol. Genet.* 23(13): 3467-3480 (2014)
18. Takeuchi T., Popiel H.A., Futaki S., Wada K., *Nagai Y. Peptide-based therapeutic approaches for treatment of the polyglutamine diseases. *Curr. Med. Chem.* 21(23): 2575-2582 (2014)
19. 永井義隆. ポリグルタミン病における神経変性. *BRAIN MEDICAL* 26 (3): 225-229 (2014)