

平成 21 年 4 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：平成 19 年度～平成 20 年度  
 課題番号：19390239  
 研究課題名（和文）：紀伊半島の ALS・パーキンソンの原因と発症機構の分子生物学的研究  
 研究課題名（英文）：Molecular biological study on the cause and pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan  
 研究代表者：葛原茂樹（KUZUHARA SHIGEKI）  
 国立精神・神経センター 病院長  
 研究者番号：70111383

## 研究成果の概要：

紀伊半島の一部集落に多発する神経風土病の筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン認知症複合（ALS/PDC）類似疾患で知られているほぼ全ての原因遺伝子を調べ、異常変異は認められなかった。病態と発症に関して、脳のアルツハイマー神経原線維変化の分布様式は ALS と PDC でほぼ同じであった。脳と脊髄には TDP-43 の蓄積が認められ、生化学的にはタウ/TDP-43 異常蓄積症と考えられた。尿中の酸化ストレスマーカーが有意に上昇しており、神経変性に参加ストレスの関与が推定された。タウと TDP-43 の蓄積を起こして神経変性が進行する仕組みと、遺伝子の関与の解明が今後の課題である。

## 交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	8,300,000	2,490,000	1,079,000
平成 20 年度	3,300,000	990,000	4,290,000
年度			
年度			
年度			
総計	11,600,000	3,480,000	15,080,000

研究分野：新学術領域研究 医歯薬学

科研費の分科・細目：神経内科学

キーワード：(1) 紀伊半島 (2)筋萎縮性側索硬化症 (3) パーキンソン認知症複合  
 (4) パーキンソン認知症複合 (5) 遺伝子 (6) アルツハイマー神経原線維変化  
 (7) TDP-43 (8) 酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

紀伊半島の南岸、かつて紀伊の国の牟婁郡と呼ばれていた太平洋の熊野灘に面した地域は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）多発地帯として知られており、紀伊 ALS はグアム島を中心に広がるミクロネシア諸島のチャモロ人が罹患するグアム ALS

と共に、世界平均の 100 倍という発生率を有する地域集積性を持つ西太平洋 ALS として知られるようになった。

ところが、グアム島では 1960 年代から ALS 発生率の激減が始まり、1980 年までに多発の終焉が報告され、同じ傾向は紀伊 ALS 多発集落においても起こっている

ことが報告された。しかし、我々は1993年に多発集落から複数のALS患者が受診したのを契機に再調査を実施し、ALS多発は依然として持続していること、ALS多発地区にはグアム島のパーキンソン認知症複合（PDC: parkinsonism-dementia complex）と同様のPDCも多発していることを、神経病理学的確認例によって確認した。その後は、文部省科学研究費および厚生労働省科学研究費の援助を受けて、紀伊ALS/PDC（牟婁病）の臨床像、疫学、原因の研究を続けてきた。本研究もその連続線上にある。

## 2. 研究の目的

ALS高集積の原因については、遺伝素因と環境要因の両面から諸説が提唱されたが、確認されたものはない。特に重視されたのは環境因であり、グアムと紀伊では飲用水や土壌の微量元素異常（低Ca, 低Mg, 高Al, 高Mnなど）、グアムでは食物中の神経毒（ソテツの実のBMMAなど）が有力視された。原因は特定されないままに、グアムでは疾患が激減した。激減の原因は、第二次大戦後の食生活の欧米化と関係があると推定されている。ところが、紀伊ALSについては、グアムALSと異なり、①今なお高発生が持続している、②グアムのチャモロ人のような特定の人種・民族に起こっているものではない、③食生活と飲用水についても特殊なものではなく、日本標準である。また、我々の調査の結果、ALS/PDC患者の大多数には同族の家族歴があることが明らかになった。

このような特徴から、我々は遺伝素因に注目し、臨床的あるいは病理学的にALS/PDCと共通性が高い類似疾患において既に原因/リスク遺伝子として明らかにされているものについて検討した。

また、その病態と発症機構に関係があると推定される酸化ストレス、患者脳内に蓄積する異常タンパクについても検討した。

## 3. 研究の方法

### (1) 既知の類似疾患原因遺伝子異常の有無の解析

これまでに明らかにされている家族性ALS、家族性パーキンソン病、進行性核上

性麻痺、アルツハイマー病、前頭側頭型認知症の既知の19の原因遺伝子とリスク遺伝子を、家族歴を有する発症者3名について検討した。

#### i) 関連疾患に関係した19遺伝子

- ALS/frontotemporal lobar degeneration-related genes: SOD2, SOD3, ALS2/alsin, SMN1, PGRN, ANG, VEGF, VCP, VAPB, DCTN1, CHMP2B, and TARDBP (TDP-43)
- Tauopathy-related gene: GSK3 $\beta$  (以前の研究で、tau gene 変異はなかったことを報告済み)
- Parkinsonism-related genes:  $\alpha$ -synuclein, LRRK2, parkin, DJ-1, PINK1, and ATP13A2

#### ii) グアムALS/PDC 関連遺伝子

- TRPM7

#### iii) Gene dosage 定量

- MAPT,  $\alpha$ -synuclein, TDP-43 (TARDBP), GSK3 $\beta$ , parkin
- (2) 中枢神経系蓄積異常タンパクの研究  
ALS/PDCは、生化学的には脳と脊髄にはアミロイド蓄積を伴うことなくタウ蛋白が蓄積し、多数の神経原線維変化(NFT)が出現するtauopathyに分類されてきた。紀伊ALSとPDCでNFTの出現に差があるかどうかを検討した。2006年にはTDP-43が、ALSと非タウ蛋白型の前頭側頭葉変性症のほぼ全例に出現することが発見された。グアムALS/紀伊ALS/PDCの剖検例でも、この点を確認するとともに、家族性ALSで発見されたTDP-43遺伝子変異を調べた。

#### (3) 酸化ストレス関連物質の検討

紀伊ALS/PDCにおける酸化ストレスの役割を検討するために、DNAの酸化ストレスによる障害のバイオマーカーである尿中の8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 値を、11例について測定し、対照例と比較した。

## 4. 研究成果

得られた知見は以下のようであった。

### (1) 既知の類似疾患原因遺伝子異常の有無の解析

i) 関連疾患に関係した既知の19遺伝子に変異は認めなかった。

ii) グアムALS/PDC 関連遺伝子のTRPM7にT1482I異型はなかった。

iii) Gene dosageの増加で発病する可能性のあるMAPT,  $\alpha$ -synuclein, TDP-43 (TARDBP), GSK3 $\beta$ , parkinで、正常量であった。

(2) 中枢神経系蓄積異常タンパクの研究

i) 脳内 NFT の分布様式は、ALS 例と PDC 例で基本的に同一であったが、出現量は PDC 例の方が多かった。

ii) TDP-43 免疫組織化学では、ALS か PDC かを問わず、海馬の歯状回には細胞質内封入体が認められ (図 1 矢印)、脊髄前角細胞には糸かせ様封入体 (skein-like inclusion) が認められた (図 2)。従って、紀伊 ALS/PDC は中枢神経系蓄積物質の生化学的分類からは combined tauopathy and TDP-43 proteinopathy ということができる。

図 1

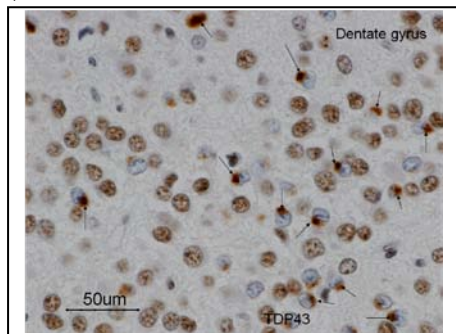
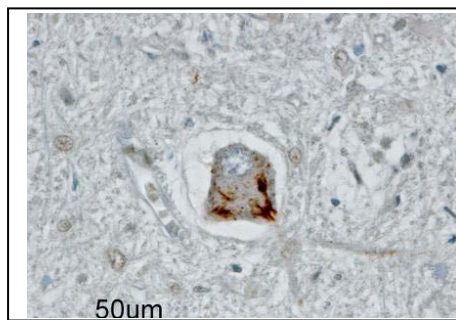


図 2



(3) 酸化ストレス関連マーカー

尿中の 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG) 値は、紀伊 ALS/PDC 11 例では、対照例と比較して有意に耕地であった。従って、本疾患の神経変性機構に参加ストレスの関与が示唆された。

<成果のまとめ>

主要な神経変性疾患において、原因遺伝子あるいはリスク遺伝子として知られているほぼ全ての遺伝子を検索したが、異常は認められなかった。今後はゲノムワイドの発症関与遺伝子の検索を予定している。蓄積タンパクとしては、タウタンパクだけでなく新たに TDP-43 が確認された。今後は、combined tauopathy and TDP-43 proteinopathy の観点から、発症機構の解明を進めると共に、高集積の原因を遺伝素因と環境因の両面から追及する必要がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 14 件)

1. Mimuro M, Kokubo Y, Kuzuhara S: Similar topographical distribution of neurofibrillary tangles in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex in people living in the Kii peninsula of Japan suggests a single tauopathy. Acta Neuropathol 113:653-658, 2007 (査読有り)
2. Tomiyama H, Kokubo Y, Sasaki R, Li Y, Imamichi Y, Funayama M, Mizuno Y, Hattori N, Kuzuhara S: Mutation analyses in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan. Mov Disord 23:2344-2348, 2008 (査読有り)
3. Morimoto S, Kuzuhara S, Kokubo Y: Increased oxidative stress in patients with amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex in the Kii Peninsula, Japan. Mov Disord 24:123-126, 2009 (査読有り)
4. Hara K, Kokubo Y, Ishiura H, Fukuda Y, Miyashita A, Kuwano R, Sasaki R, Goto J, Nishizawa M, Kuzuhara S, Tsuji S: TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. Am J Med Genet Part B (in press) (査読有り)
5. 谷口 彰, 成田 有吾, 内藤 寛, 葛原茂樹: 厚生労働省特定疾患治療研究事業臨床調査個人票の集計結果からみたパーキンソン病患者の現況. 臨床神経学 48:106-113, 2008 (査読有り)

6. 葛原茂樹: 第48回日本神経学会総会シンポジウム. 西大西洋地域の筋萎縮側索硬化症/パーキンソン痴呆複合 (ALS/PDC) と関連神経変性疾患 紀伊 ALS/PDC (牟婁病)の歴史、概念、疫学. 臨床神経 47:962-965, 2007 (査読無し)
7. 葛原茂樹: 第48回日本神経学会総会 会長講演. 紀伊半島の牟婁(むろ)病 (筋萎縮性側索硬化症・パーキンソン・認知症複合). 臨床神経 47:695-702, 2007 (査読無し)
8. 小久保康昌: 第48回日本神経学会総会 シンポジウム 西大西洋地域の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン・認知症複合 (ALS/PDC) と関連神経変性疾患. 紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン・認知症複合の臨床、神経病理学的研究. 臨床神経 47:966-969, 2007 (査読無し)
9. 原 賢寿、桑野良三、宮下哲典、小久保康昌、佐々木良元、中原安雄、後藤 順、西澤正豊、葛原茂樹、辻省次: 第48回日本神経学会総会 シンポジウム 西大西洋地域の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン・認知症複合 (ALS/PDC) と関連神経変性疾患. 紀伊 ALS/PDC の分子遺伝学的. 臨床神経 47:974-976, 2007 (査読無し)
10. 葛原茂樹: 特集 ALS-研究と診療の進歩 紀伊 ALS 再訪 - ALS-parkinsonism-dementia complex としての新しい概念、疫学、原因についての考察. BRAIN and NERVE 59:1065-1074, 2007 (査読無し)
11. 葛原茂樹: 紀伊・西ニューギニアの ALS. Clin Neurosci 26:292-297, 2008 (査読無し)
12. 葛原茂樹: ALS 患者の脳と脊髄への TDP-43 蛋白の異常蓄積と TDP-43 遺伝子変異の発見. 難病と在宅ケア 14:31-33, 2008 (査読無し)
13. 葛原茂樹: ALS 研究の最近の進歩: ALS と TDP-43. 臨床神経 48:625-633, 2008 (査読無し)
14. 葛原茂樹: TDP-43 と神経変性疾患 紀伊半島 ALS/PDC と TDP-43. 神経内科 68:565-570, 2008 (査読無し)

[学会発表] (計 7 件)

1. Kokubo Y, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S: Immunohistochemical study on tau isoform in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan. 18<sup>th</sup> International Symposium on ALS/MND, Toronto, Canada, 12.1-3, 2007.
2. Kokubo Y, Endo M, Arain T, Akiyama H, Hasegawa M, Kuzuhara S: Immunohistochemical study on phosphorylated TDP-43 protein in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan. 6<sup>th</sup> International Conference on Frontotemporal Dementias Rotterdam, The Netherlands, 9.5, 2008
3. 葛原茂樹: 紀伊半島の牟婁病 (筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合: ALS/PDC). 第48回日本神経学会総会 会長講演, 名古屋, 5.16, 2007
4. 葛原茂樹: 第48回日本神経学会総会シンポジウム. 西大西洋地域の筋萎縮側索硬化症/パーキンソン痴呆複合 (ALS/PDC) と関連神経変性疾患 紀伊 ALS/PDC (牟婁病)の歴史、概念、疫学. 第48回日本神経学会総会, 名古屋, 5.16-18, 2007
5. 葛原茂樹: 紀伊半島 ALS/parkinsonism-dementia complex における TDP-43 蓄積. 第48回日本神経病理学会総会, 船堀 東京, 5.30-6.1, 2007
6. Kokubo Y, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S: Immunohistochemical study on TDP-43 protein in amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula of Japan. 第26回日本認知症学会 大阪市 大阪国際会議場,

10. 17-18, 2007

7. 葛原茂樹: 「紀伊半島に多発する ALS」風土病として ALS 研究から、日本と世界の ALS の原因解明へ  
日本 ALS 協会群馬県支部総会  
5. 31, 2008

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
なし

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

葛原 茂樹(KUZUHARA SHIGEKI)  
国立精神・神経センター病院 病院長  
研究者番号: 70111383

### (2) 研究分担者

小久保康昌(KOKUBO YASUMASA)  
三重大学医学部 神経内科学 講師  
研究者番号: 60263000  
佐々木 良元(SASAKI RYOGEN)  
三重大学医学部 神経内科学 助教  
研究者番号: 60303723  
桑野 良三(KUWANO RYOUZOU)  
新潟大学脳研究所 附属生命科学リ  
ソース研究センター教授  
研究者番号: 20111734

### (3) 連携研究者

富山弘幸(TOMIYAMA HIROYUKI)  
順天堂大学医学部神経内科 助教  
研究者番号: 20515069  
服部信孝(HATTORI NOBUTAKA)  
順天堂大学医学部神経内科 教授  
研究者番号: 80218510  
辻 省次(TSUJI SYOUJI)  
東京大学医学部 神経内科 教授  
研究者番号: 70150612  
原 賢寿(HARA KENJYU)  
新潟大学脳研究所 神経内科  
研究者番号: 10377195  
村山 繁雄(MURAYAMA SHIGEO)

東京都老人総合研究所  
高齢者ブレインバンク 部長  
研究者番号: 50183653  
齊藤 裕子(SAITO YUUKO)  
国立精神・神経センター病院 医長  
研究者番号: 60344066  
長谷川 成人(HASEGAWA MASATO)  
東京都精神医学総合研究所 分子神経生  
物学研究チーム 部長  
研究者番号: 10251232  
岩坪 威(IWATSUBO TAKESHI)  
東京大学 医学部神経病理学部門  
研究者番号: 50223409  
森本 悟(MORIMOTO SATORU)  
三重大学医学部 学生  
赤塚 尚美(AKATSUKA NAOMI)  
三重大学神経内科 (技術補佐)