

国立武蔵療養所神経センター年報

第 8 号

昭和60年度

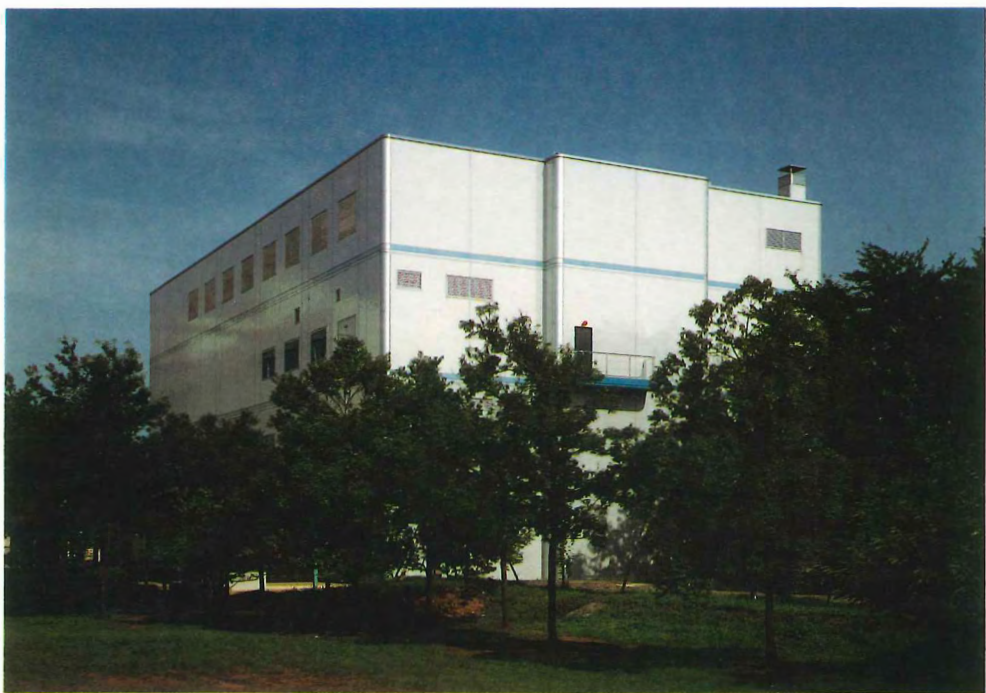
National Center for Nervous,
Mental and Muscular Disorders

— 1985 —

国立武蔵療養所神経センター一年報

第 8 号

昭和60年度



完成した実験動物研究棟

は し が き

神経センターが発足して満8年が経過した。そして長年にわたってセンターの職員の誰もが切望し、期待して来た国立センター化がやっと本年10月に行われることになった。よって国立武蔵療養所神経センター年報もこの第8号をもって最終号となる予定である。この年報も新しい国立神経センター創設への一つの道標として8年の間大きな役割を果たしてきた。

振り返ってみると昭和53年8部16室で発足し、財政困難にもかかわらず年々整備が行われ、8年後の昭和61年には12部28室に拡大され、国立センターに移行する10月には13部30室となる。研究所の建物は開設時のままの4,800㎡の中で13部に拡大して来たために、各部の研究室は次第に狭くなり、研究にもかなり不自由を感じる状況となってきた。幸いにも4年がかりで建設してきた実験動物研究棟2,700㎡が本年末に完成し、モデル動物の開発に大きな力を発揮出来る日も近くなってきた。

神経疾患研究委託費も昭和53年開設時には1億8千万円であったが、これも8年間に増額され、昭和61年には4億5千万円に到っている。

この8年の間、不十分な施設にもかかわらず神経センターのスタッフは頑張っており、実に業績をあげ、国内のみならず海外からも高い評価を受けられるところまでになった。これらの長年の努力が国立センター移行への大きな力になったことは疑いない。ここに国立神経センターへの道程の最後の記録をまとめ、スタッフの努力に心から感謝する次第である。

昭和61年3月末日

国立武蔵療養所神経センター長

里 吉 栄二郎

目 次

I. 神経センターの概要	
1. 1985年の歩み	1
2. 組 織	2
3. 研究活動	2
4. 流動研究員と研修	3
5. 神経疾患研究委託費	3
6. 診療業務	4
7. 国立センター移行に関する件	4
II. 研究業績	
1. センター長	19
2. 疾病研究第1部	26
3. 疾病研究第2部	44
4. 疾病研究第3部	65
5. 疾病研究第4部	85
6. 疾病研究第5部	111
7. 疾病研究第6部	130
8. 診断研究部	145
9. 微細構造研究部	165
10. 機能研究部	184
11. 代謝研究部	193
12. 免疫研究部	203
13. モデル動物開発部	211
14. 神経筋病棟報告要旨	215
III. 中央施設	225
IV. 診療概要	233
V. 別 項	
1. 国立神経センター（仮称）設立準備委員会中間報告	249
2. 神経センター流動研究員運営要領，研究委員会内規	261
3. 神経センター併任研究員運営要領，客員研究員に関する内規， 神経センター研究生研究見習生内規	263
4. 神経センター勤務心得	268
5. 神経疾患研究推進委員会規程	269
6. 研究部門将来計画	271

正 誤 表

頁	誤	正
P 7 1	A. 学 会	B. 学 会
P 7 4	c. 班会議発表	C. 班会議発表
P 7 5	d. 研 究 会	D. 研 究 会
P 1 7 5	D. 班会議発表	C. 班会議発表
P 1 7 6	E. 研究会など	D. 研究会など
P 2 1 2	b. 班会議報告書	e. 班会議報告書

なお、診断研究部学会発表中 P 152 の c と P 155 の b の順序が入れかわっております。

I 神経センターの概要

神経センターの概要

1. 1985年の歩み

神経センターは昭和53年1月の発足以来、満8年を経過した。昭和59年秋の渡部恒三厚生大臣の声明以来、国立センター化の気運が急速にたかまり、昭和60年当初には病院を含めて将来計画案の検討が終り、国立神経センターへの移行準備がほぼ完了していた。昭和60年6月、国立病院、療養所の統廃合と一緒に推進されることが突然厚生省当局より示された。現在の国立武蔵療養所、神経センター、市川にある国立精神衛生研究所、国立国府台病院の2研究所、2病院を統合して国立センターとするという新しい提案である。この新しい案、仮称「国立精神・神経センター」案に対しては従来から神経センターの設立に努力を頂いた関係団体、厚生省旧関係者を含めた懇談会の話し合いの結果、厚生省国立療養所課長主催の協議会が発足し、保健医療局長、審議官、関係3課長と関連4施設長および関連団体代表、専門家代表を含んだ委員により将来構想、名称、センター病院のあり方について数回の会議がもたれたが、十分な合意は得られなかった。しかしながら行政改革関連の国立病院、療養所統廃合促進案の関係から昭和61年10月1日より国立がんセンター、国立循環器病センターに次ぐ第3番目の国立センターに移行することが決定された。名称についても検討中である。目下のところ昭和61年10月には国立武蔵療養所と神経センター、国立精神衛生研究所の3施設が合体し、1病院、2研究所がセンターとなり、昭和62年度中には国立国府台病院も合併することが予定されている。その後昭和61年初頭には実務的な打合わせが療養所長、センター長、国立精神衛生研究所長、国府台病院長の4者間で数回もたれ、国立武蔵療養所の医長、職員、神経センターの部長の国府台病院、国立精研見学、逆に国府台病院の職員、精研の職員の国立武蔵療養所および神経センターの見学など相互の交流が行われた。国立センター案はかなり急に提出された関係で当事者同志には未だ十分な理解を得ていないが、国立センター化によって多くの新しい計画が実行に移せる利点もあることで当座一応神経センター職員の了解が得られた。

以上の状況のもとで、神経センターは8部16室で発足した昭和53年1月以来、徐々に拡張し、昭和60年度にはモデル動物開発部1部3室の増設をみて、12部28室という構成となったが、昭和61年度、国立センター移行と同時に更に高次脳機能障害研究部1部2室の新設が決定しており、国立センター開設時には13部門30室の研究部がおかれる予定となっている。

実験動物研究棟は3年越しの工事が続行されており、昭和61年夏頃迄に内装がかなり整備され、秋には実際の運営に移れるものと予想している。

神経疾患研究委託費は従来16課題4億円であったが、昭和60年度より老年痴呆に関する研究費が

5,000万円増額され、計4億5,000万円、17課題について研究が進められている。

2. 組 織

神経センターの構成は表1、2の如くで、疾病研究第1部 杉田部長、第2部 有馬部長、第3部は新たに滋賀医大より高橋部長(昭和61年1月より専任)、第4部 安藤部長、第5部 鈴木義之部長(併任)、第6部 田平部長、診断研究部 成瀬部長、微細構造研究部 埜中部長、機能研究部 小澤部長、代謝研究部 宮本部長、免疫研究部 センター長兼務、モデル動物開発部は東北大農学部より菊池建機助教授が部長として昭和60年10月に着任している。現在定員としては12部、部長10名、室長28名、研究員2名であるが、本年度は定員のうち研究員1名の削減を受けており、センター長を含め40名の定員である。目下室長への昇任、新任の手続きを進めており、実質的にはセンター長1名、部長11名、室長11名、研究員15名、併任研究員17名、客員研究員11名、流動研究員21名、賃金研究員29名、研究助手7名、事務助手3名、企画調査係長1名、その他に研究生47名、研究見習生3名がおり、研究生を含めると177名の研究スタッフが活躍している。

3. 研究活動

詳細は本誌にまとめてあるが、年々業績が増え、集録が次第に困難になりつつある嬉しい状態となっている。各部門の研究状況を簡単にまとめると下記の通りである。

疾病研究第1部は筋ジストロフィー症の治療、遺伝子に関する研究を中心に研究が進んでいる。脂肪酸依存性蛋白分解酵素 Ingensin の発見、重症筋無力症患者の血清中に特異的に上昇していることを確認した新しい抗細胞骨格蛋白 Filamin の反応など新しい発見が相次いでなされている。疾病研究第2部は発達障害の研究に取り組んでいるが、母体へのビタミンE投与がX線照射により発症する小頭症を予防すること、結節性硬化症患者の皮膚 fibroblast におけるアミノ酸代謝異常の発見、ウィルソン病 fibroblast での鉛代謝異常の発見などが行われている。疾病研究第3部は高橋部長が着任したところで、今後サーカディアン・リズムの異常と精神障害発生機序との関係が検討される予定である。疾病研究第4部はALS患者の transmitter の変動、運動失調モデルマウスにおける神経伝達物質の変動、パーキンソン病の治療の研究などが行われ、成果をあげている。疾病研究第5部はリソゾーム病の診断システムの開発とガラクトシアリドーシスの代謝に関する研究を進めており大きな成果をあげている。疾病研究第6部は、種々の抗体によるEAEの作成とその発生機序、transferの機構などが研究され、脱髄疾患との関係で多くの成果をあげているが、老人性痴呆の発生についても研究を拡げつつある。診断研究部はスクリーニング診断法の新しいシステム開発の研究を行っているが、最近バイオプチリンによる自閉症の治療と代謝異常についても目覚ましい成果を

あげ注目をあびている。

微細構造研究部は筋ジストロフィー症の発症、分化、壊死発現の経過を中心に研究が進められているが、ミトコンドリア・ミオパチーについても本邦で最も多数の症例を集め多くの成果をあげている。欧文原著を年間20編以上発表しており、研究活動も盛んであるが、最近ニコチン酸欠乏による水頭症の発症に関する研究も始められた。機能研究部では筋生長因子とトランスフェリン欠乏による筋変性の分子構造学的研究が独特の展開をみせており、将来の発展が期待される。代謝研究部ではオリゴデンドロサイトの突起形成と細胞骨格蛋白異常との関係の検討、けいれん関連物質と細胞異常との関連などを中心に研究が進められている。免疫研究部では重症筋無力症患者血清中に見出された新しい抗原物質の解明にいどんでいるが未だ蛋白の分子構造解明迄には到っていない。神経生長因子についてはその分泌機序、合成などについて新しい成果を得ている。モデル動物開発部は目下活動準備中で、研究棟の完成を待って昭和61年度秋には本格的な研究が始まる予定である。

4. 流動研究員と研修

当センターでは流動研究員の他に他の大学や研究所から長期ないし短期の研究生の指導を引き受けている。海外からは北京の人民開放軍病院、筋疾患研究部長の Ding-Guo Shen 博士が疾病研究第1部に7ヶ月滞在し、研究技術の習得をして帰国したが、秋にはシカゴ大学麻酔科の Cheng 教授が成瀬部長と協同研究を行うため1ヶ月滞在し、研究の指導も行っている。なお昭和61年度にはカナダのバンクーバー小児病院神経病理の Norman 教授が4月に、5月にはハンガリーのペーチ大学精神神経科の Pálffy 教授がそれぞれ1ヶ月滞りの予定である。

5. 神経疾患研究委託費

昭和60年度の研究委託は17課題について総額4億5千万で行われており、各研究班の配分額、班長名、研究班員数は表5の通りである。本年からは老人痴呆に関する新しい大型研究班とミエロパチーに関する新しい研究班が発足した。

今年度から文部省の強い要請で、国立大学に対する研究費の配分が受託費扱いとなり大学に直接ふりかえ配分されることとなった。このため、センターの業務も複雑となり、研究費の配分時期も遅れた点は申訳なく思っている。また国立大学における受託費の管理が班員から事務当局に移ったため、極めて使いにくくなった面もあるが、今後の経過をみて文部省に班員側から働きかけ、改善されることを期待している。

本年度終了する研究班は難治性てんかんの成因と治療に関する研究班（和田豊治班長）と末梢神経障害の病態と治療に関する研究班（中西孝雄班長）で、評価部会が2月26日に開催され、班長よ

りのヒヤリングと質疑が行われた。また2年度、1年度の研究班についても文書で内容報告を受けているのでそれぞれ各班の内容、活動についても十分な討議を行った。更に今後増やすべき新しい研究課題についても祖父江評価部会長のもとで審議され、昭和61年度の神経疾患研究委託費の課題と班長は推進委員会の討議、承認をへて表8の如く決定された。

6. 診療業務

神経センター関連の業務のうち最も整備の遅れているのが診療業務である。CTやミエログラフイーは近接の病院で撮影されている状況であり、整形外科、脳外科など関連診療科も整備されず、他施設の世話になっており、神経センターという名前に全くそぐわない状況が続いている。国立センターに移行して最も期待されるのはこの診療面の改善と国立センターにふさわしい診療内容であろう。

神経内科および小児神経科の外来初診、再診の月別患者数は診療概要の項に示してある。神経内科は計7,721名で昨年より少し減っているが、小児神経科は6,480名と昨年比に約1,200名、22%の増加を示している。入院患者も次第に増加し、小児神経科は常時30床前後を占める状況である。神経内科もリハビリを含め55床前後を常時占めているが、看護定員との関係でこれ以上受け入れられないのは残念である。

小児神経科、神経内科の入院患者の疾患別内訳としては小児神経科では筋ジストロフィー症の他、てんかんおよび代謝異常が大変多い。神経内科では種々の筋疾患以外では運動ニューロン疾患、脊髄小脳変性症、パーキンソン病など変性疾患が多数を占めている。この点は外来の新患でも同様の傾向がある。

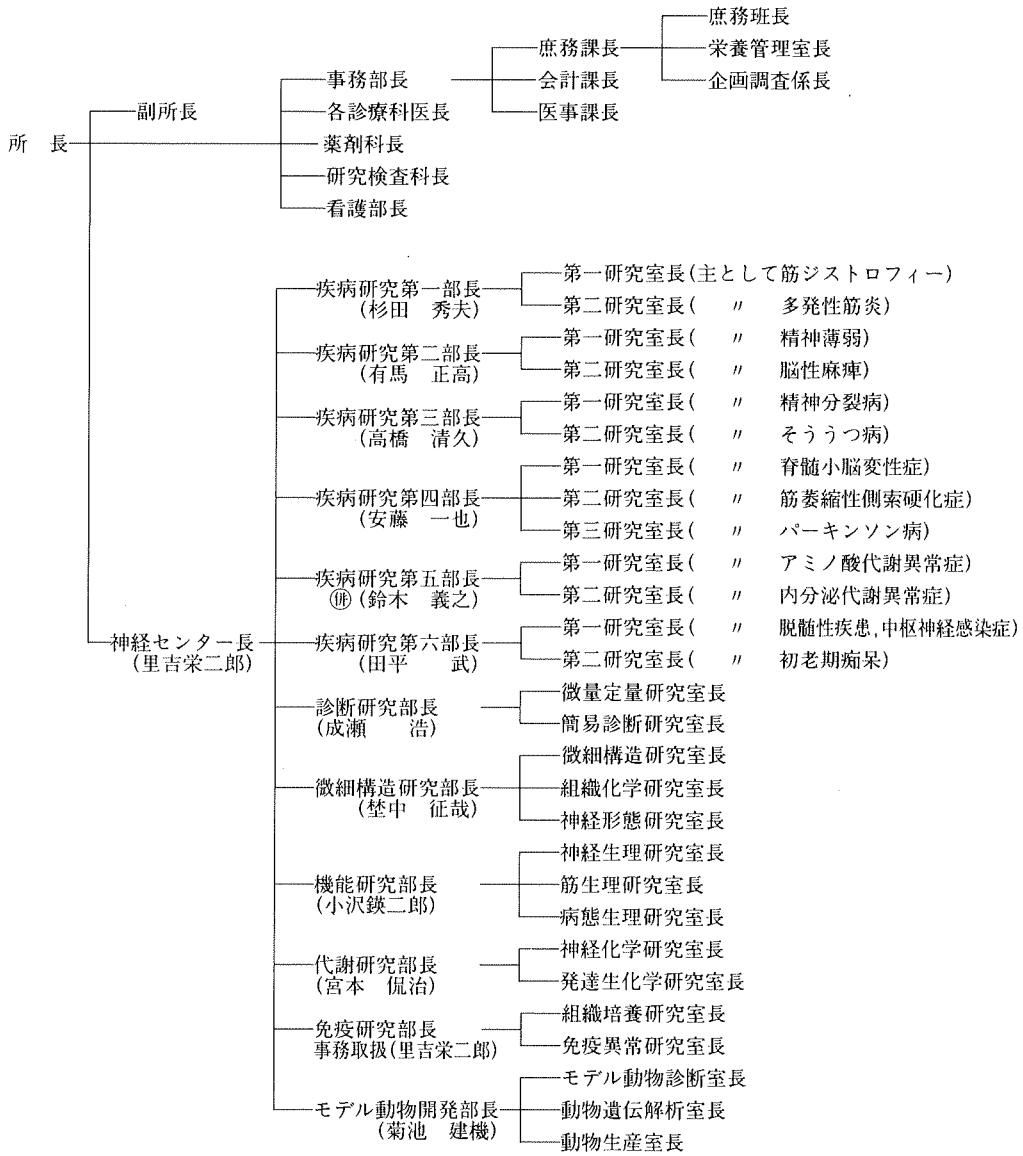
7. 国立センター移行に関する件

昭和61年10月1日には国立武蔵療養所に管理部がおかれ、武蔵療養所、神経センター、精神衛生研究所の3つの施設が現状のまま統合され、研究部門の各称その他に多少の変更はあっても一応国立センターに移行する予定である。病院の機構の改善、拡張など総てはセンター化後の宿題として残されたが、国府台病院の合併を踏まえて今後の長期にわたる調整が必要となったことは明らかで、職員を始め、関係団体の方々の協力の必要が極めて大きいものと考えている。速やかな発展を心から祈るのみである。

神経センター長

里 吉 栄二郎

(表1) 国立武蔵療養所神経センター組織



定 員								兼任研究員		流 動 研究員	賃 金	合 計
研 究 職					行 (-)		計	部 長	研究員			
センター長	部 長	室 長	研究員	研究補助員	係 長	係 員						
1	10	28	1	-	1	-	41	2	26	28	2	99

(60年度の計)

(表2)

神経センター組織

(昭和60年4月1日～61年3月31日)

センター長	里吉栄二郎							
部 名	部 長	室 長	研 究 員	併任研究員	客員研究員	流動研究員	研 究 生	資金職員 ○=研究員 ※=研究助手
疾病一研究部	杉田秀夫		石原 傳 幸明機 浦木 章 一誠郎 樋口 逸 郎 菊池 建 機 (60.9/30まで)	山 原 傳 幸明機 山 口 池 建 機 (60.9/30まで)	高 米 昭 泰 夫 三 木 本 昭 泰 夫 三	白 梓 扶 佐 子 (60.5/20退) 沈 沈 定 国 (Shen Ding-guo) (60.4/1探～ 10/17退) 山 本 剛 司 (60.4/1探) 白 梓 扶 佐 子 (60.10/1探～ 12/31退) 潮 脇 泰 介 (61.1/1探)	鎌 倉 子 規 久 夫 介 野 元 武 知 夫 介 田 島 美 知 夫 介 脇 和 美 知 夫 介 (S.K. Nagahashi) 小 野 寺 一 誠 林 寺 一 誠 之 成 子	○小 川 敬 子 ○丸 樂 治 美 ○岡 本 眞 美 (61.3/31退) ○後 藤 加 奈 子 (60.4/12探) ○岡 田 理 美 (61.1/8探)
疾病二研究部	有馬正高	田中 晴 美 男 中 川 晴 貴 男	許 斐 博 史 昭 上 藤 英 昭 (60.11/30退)	豊 田 桃 三	猪 俣 賢 一 郎	佐 藤 充 (61.3/31退) 岩 崎 雄 雄 (61.3/31退)	本 多 修	※須 貝 千 恵 子 ○丸 山 祝 一 治 ○中 沢 一 治 (61.3/31退) ○竹 花 美 博 (60.8/15退) ○林 賢 子 ○保 賀 啓 子 (60.7/31退) ○高 嶋 瑞 夫
疾病三研究部	成瀬 浩 (60.4/1～ 9/30併任) 高橋 清 久 (60.10/1併任, 61.1/1専任)	加藤 進 昌 (60.12/1より)	野 田 恭 平 洋 三 汐	渡 谷 治 道 男 融	部 川 修 宏 輝 樋 口 三 伸 彦	小 川 篤 子 (61.3/31退) 重 地 晚 生 徹 西 川 典 典 (61.3/1探)	西 川 徹 光 男 (61.2/28まで) 清 浩 典 光 男	○保 賀 啓 子 (60.7/31退) ○高 嶋 瑞 夫
疾病四研究部	安藤 一也	向山 昌 邦 琴 足 立 昌 皓	吉 田 瑞 子	横 井 風 児	安 井 昌 之	熊 澤 武 志 (60.4/1探) 森 田 勇 二 (60.4/1探)	中 村 信 之	※佐 藤 高 志 子 ○大 中 美 千 代 子 ○栗 沼 井 京 子 ○松 井 京 子 (60.4/1探)
疾病五研究部	鈴木 義 之 (併任)	大 村 清	桃 井 隆	飯 田 静 悟 夫 郎 加 藤 悟 郎		古 屋 達 子 (60.6/30退) 加 藤 悟 郎 (60.5/15退) 難 波 米 二 Shimon Gatt (60.5.1探～ 5.18退) 让 明 彦 (60.10/1探)	小 須 野 敏 司 具 部 研 達 子	○福 山 順 子 (60.4/30退) ○柏 谷 淳 子 ○新 本 美 智 枝 ○今 林 知 枝 (60.4/23探)
疾病六研究部	田平 武		菅 河 正 英 下 龍			酒 井 宏 一 郎 木 聡 (60.10/9退) 小 池 文 彦 (60.12/2探)	山 村 隆 一 佐 藤 雅 洋	○遠 藤 真 津 江 ○須 崎 志 津 子 (60.12/26退)
診断研究部	成瀬 浩	林 加 藤 時 進 司 加 藤 進 昌 皓 (60.11/30まで)		村 上 弘 司		永 木 茂 子 (60.12/31退) 松 田 文 雄 (60.4/1探～ 61.3/31退) 俣 野 子 (60.8/1探) Sze-Chuh Cheng (60.10/3探 11/17退)	上 芝 元 子 小 高 弘 子 内 山 勉 (61.1/13より)	○西 典 子 (61.3/31退) ○渡 辺 倫 子 (60.4/1探) ※大 庭 ひ 子 (61.2/1探)
微細構造部	榎中 征 哉	加 茂 功	菊 池 愛 子 志 相 川 久 志	龜 井 孝 芳 研 有 大 須 井 孝 芳 研	行 正 郎 司	寺 沢 健 二 郎 (60.9/30退) 田 辺 雄 三 (60.9/30退) 萬 壽 子 (60.10/1探) 柳 思 陵 (61.1/1探)	新 金 井 洋 子 川 嶋 行 浩 宮 山 陽 子 野 谷 和 洋 子 林 平 伊 直 伊 藤 直 子 (60.9/30まで) 織 岡 中 志 等 (60.11/1より) 田 野 村 聡 (60.11/1より)	※神 岡 里 加 津 美 ○藤 口 加 津 美 (60.5/1探)
機能研究部	小 沢 鉄 二 郎	木 村 一 郎 司 斉 藤 公 司	萩 原 康 子	若 林 建 之 子 熱 海 健 保 子	鍋 島 陽 一	庄 司 明 子 野 呂 知 加 子 (60.4/1探)	松 野 良 一 郎 田 藤 正 樹 藤 形 正 樹	※毛 瀧 千 夏 (61.3/1退) ○井 上 千 代 美 (60.7/5退) ○後 藤 重 重 (60.4/1探) ○川 合 陽 子 (60.7/9探)
代謝研究部	宮本 侃 治	今 沢 正 興	中 嶋 一 行	永 清 山 野 素 男 一 男	堀 谷 哲 英 也 一	熊 谷 博 道 島 村 道 夫 (60.4.1より/ 61.3.31退)	阿 部 康 二 道 勝 博 一 道 (61.1.6より)	○佐 藤 七 枝 子 ○田 口 文 子 (60.3/31退) ○奥 村 展 枝 (60.4/1探)
免疫研究部	里吉 栄 二 郎 (事務取扱)		古 川 昭 栄		林 恭 三	三 井 公 彦 (60.4/1探)	遠 藤 斗 志 也	○古 川 美 子 ○赤 沢 左 衛 門 ○桶 谷 園
モデル動物部 開 発	菊池 建 機 (60.10/1より)							
企画調査係	企画調査係長：望月 久 雄 (61.3/31まで)							
R I 室	※内 田 史 江							
函 書 室								
電 頭 室	○石 井 弘 子 ○赤 堀 宏 (60.4/1探)							
センター長室	大 関 桂 子							

(表 3) 昭和60年度 神経センターセミナー

月 日	講 師・所 属	演 題	担 当
60年 5.13	Shimon Gatt Professor, Department of Biochemistry, Hebrew University-Hadassah School of Medicine, Israel	Synthesis of fluorescent derivatives of lipids and their use in enzymology and cell biology	疾病研究第五部
5.28	山 田 徹 アイオワ大学神経内科教授, U.S.A.	神経生理学の最近の話題 1) けいれん発作と脳波の関連 2) 誘発電位研究の臨床応用 (VEP, SEP, BAETなど)	疾病研究第四部 医 局 研 究 会
6.27	Bjorn R. Olsen Professor, Department of Biochemistry, University of Medicine and Dentistry of New Jersey-Rutgers Medical School, U.S.A.	近年におけるコラーゲン研究の進歩	疾病研究第二部
10.8	渡 辺 里 仁 Institut für Virologie und Immunbiologie der Universität Würzburg, West Germany	コロナウィルスによる脱髄性脳炎	セ ン タ ー 長
11.14	Sze-Chuh Cheng Professor, Department of Anesthesia, Northwestern University, U.S.A.	What causes anesthesia? — A neurochemical explanation	診 断 研 究 部
12.26	渡 辺 恭 良 早石生物情報伝達プロジェクト リーダー, 大阪医科大学生化学教室 講師	1) テトラヒドロバイオプテリンによる疾病治療の基礎研究——脳アミン代謝刺激作用を中心として 2) 中枢神経系のプロスタグランジン	診 断 研 究 部
61年 3.19	柳 雄 介 東京大学医学部免疫学教室	T-細胞抗原レセプターの遺伝子に関する最新の知見について	疾病研究第六部

(表 4) 昭和60年度神経センター研究発表会

昭和61年3月4日(火)

於：本館第二会議室

- | | | | |
|-----|-------------|---|---------------------------|
| (1) | 9:30~9:35 | 開会の辞 | 里吉センター長 |
| (2) | 9:35~10:05 | 微細構造研究部 | |
| | | ・筋ジストロフィー筋の発育分化と壊死発現に関する病理組織学的研究 | 塾中征哉, °禹 満 |
| | | ・実験的水頭症の病理学的研究 | 相川久志 |
| (3) | 10:05~10:35 | 代謝研究部 | |
| | | ・オリゴデンドロサイトの突起形成と細胞骨格蛋白 | °熊谷博道, 今沢正興
宮本侃治 |
| | | ・逆相系カラムによるmyelin-associated glyco-protein (MAG) の精製 | °島村道夫, 今沢正興
宮本侃治 |
| | | ・アミノ酸配列の異なるニワトリ脳のMBP | °中嶋一行, 佐藤七枝
今沢正興, 宮本侃治 |
| | | ・イノシチドレスポンスとけいれん関連物質 | °田口文子, 今沢正興
宮本侃治 |
| (4) | 10:35~11:05 | 機能研究部 | |
| | | ・トランスフェリン欠乏による筋変性症の分子機構 | 庄司明子 |
| | | ・機能研究部の研究の歩み | 小沢鉄二郎 |
| (5) | 11:05~11:35 | 免疫研究部 | |
| | | ・骨格筋抽出物中に見い出される重症筋無力症の抗原物質について | 古川昭栄, °赤沢左衛子
里吉栄二郎 |
| | | ・アストロサイトにおける神経成長因子の合成, 分泌と細胞増殖との相関 | °古川昭栄, 里吉栄二郎
古川美子 |
| | | ・マウス繊維芽細胞における神経成長因子の合成, 分泌 | °古川美子, 古川昭栄
里吉栄二郎 |
| (6) | 11:35~12:05 | 診断研究部 | |
| | | ・部の研究概要 | 成瀬 浩 |
| | | ・小児自閉症の代謝異常の研究 | 松田文雄他 |
| | | ・マイクロアミンの代謝研究 | 小高弘子他 |

……………昼…………… 食……………

I 神経センターの概要

- (12) 15:30~16:00 疾病研究第二部
- ・母体投与ビタミンEによるX線小頭症の生化学的形態的防護 °田中晴美, 岩崎説雄, 猪俣賢一郎
 - ・結節性硬化症: 培養皮膚繊維芽細胞におけるオルニチン・プロリン・グルタミン酸の動態 °田中晴美, 中沢一治
 - ・Wilson病培養細胞における銅代謝 °佐藤 充, 林 昭子
- (13) 16:00~16:30 疾病研究第五部
- ・昭和60年度リソゾーム病診断システム成績 °大村 清, 粕谷淳子
今林知子, 鈴木義之
 - ・ガラクトシアリドーシスの臨床的遺伝的多様性についての検討 °難波栄二, 辻 明彦
大村 清, 鈴木義之
 - ・チロシン及びC-キナーゼによるリン脂質代謝調節 °粕谷淳子, 桃井 隆
鈴木義之
- (14) 16:30~16:55 神経内科
- ・⁷⁵Br-bromospiperidolの合成と脳内動態 °横井風児, 安藤一也, 里吉栄二郎
 - ・Spastic paraparesisの眼球運動障害 °亀井敦行, 富 英明
春原経彦, 里吉栄二郎
- (15) 16:55~17:20 小児神経科
- ・羊膜細胞による酵素輸注法の基礎的研究 桜川宣男他
 - ・ミオクローヌス, 運動失調, 精神運動機能の退行を伴ったsphingomyelinase部分欠損の同胞例 松坂哲應他
 - ・ミトコンドリア脳筋症におけるPET所見 豊田桃三他
 - ・成長障害, 精神発達遅滞, 強剛痙性四肢麻痺, アテトーゼ・ジストニア, 感音性難聴, 前庭機能障害, 肝機能異常を伴う2家系4男子同胞例 須貝研司他
- (16) 17:20~17:45 精神科
- ・非定型的な大脳皮質病変をともなったPick病の一部検例 有馬邦正
 - ・成人ガラクトシアリドーシス患者尿中の複合糖の精製 村上弘司
 - ・精神分裂病の臨床的研究 永山素男
- (17) 17:45~17:50 閉会の辞 島蘭所長

(表5) 昭和60年度 神経疾患研究委託費研究課題一覧表

研究課題名	所属及び役職名	研究班長名	金額	人員	備考
			千円	人	
1 難治性てんかんの成因と治療に関する研究	国立療養所 静岡東病院名誉院長	和田豊治	17,000	25	継続
2 末梢神経障害の病態とその治療に関する研究	筑波大学臨床医学系 神経内科教授	中西孝雄	17,000	22	〃
3 筋ジストロフィー症解明のための 遺伝子発現の基礎的研究	東京大学医学部 薬理学教授	野々村禎昭	48,000	25	〃
4 筋ジストロフィー症の臨床、病態 と成因に関する研究	国立武蔵療養所 神経センター部長	杉田秀夫	46,000	41	〃
5 筋ジストロフィー症の疫学、病態 および治療開発に関する研究	国立療養所 宇多野病院副院長	西谷裕	46,000	50	〃
6 筋ジストロフィー症の療護に関す る臨床および心理学的研究	国立療養所 東埼玉病院長	青柳昭雄	48,000	32	〃
7 発育期脳障害による精神遅滞の本 態と発生予防に関する研究	東京大学医学部 小児科教授	鴨下重彦	38,000	44	〃
8 遺伝性代謝異常による中枢神経障 害の成因と治療に関する研究	徳島大学医学部長 小児科教授	宮尾益英	12,000	14	〃
9 精神分裂病の生物学的研究、特に 慢性化の機構に関する研究	久留米大学医学部 神経精神科教授	稲永和豊	20,000	14	〃
10 そううつ病の生化学的特性による 分類と発生機序に関する研究	東京医科歯科大学 医学部 神経精神科教授	高橋良	15,000	13	〃
11 発生異常に基づく脊髄機能障害の 予防と治療に関する研究	千葉大学医学部 整形外科教授	井上駿一	15,000	14	〃
12 サイクロトン核医学による中枢 神経障害の発現機序に関する研究	国立療養所 中野病院副院長	井樋六郎	10,000	12	〃
13 筋ジストロフィー症モデル動物の 開発に関する研究	実験動物 中央研究所長	野村達次	20,000	10	新規
14 脳発達障害の成因と予防に関する 開発的研究	東邦大学医学部 生理学教授	平野修助	19,000	15	〃
15 発達期における脳循環障害の成因 と治療に関する研究	神戸大学医学部 脳神経外科教授	松本悟	19,000	19	〃
16 老年期の痴呆の病因、病態、治療 に関する総合的研究	順天堂大学医学部 精神科教授	飯塚礼二	50,000	36	〃
17 ミエロパチーの病態と発症機構に 関する研究	東京大学医学部 脳研神経内科教授	萬年徹	10,000	12	〃
		合計	450,000	398	

(表6) 神経疾患研究推進委員会委員名簿

委員名	所属及び役職名	任期
野々村 禎 昭	東京大学医学部薬理学教授	S.59.11.1 ~ S.62.3.31
西 谷 裕	国立療養所宇多野病院副院長	〃
岩 崎 祐 三	東北大学医学部脳疾患研究施設 脳微細構造部門教授	〃
後 藤 文 男	慶応義塾大学医学部内科教授	〃
北 川 照 男	日本大学医学部小児科教授	〃
高 橋 良	東京医科歯科大学神経精神科教授	〃
飯 塚 礼 二	順天堂大学医学部精神神経科教授	S.60.11.1 ~ S.63.3.31
豊 倉 康 夫	東京都養育院附属病院長	〃
藪 内 百 治	大阪大学医学部小児科教授	〃
荒 木 淑 郎	熊本大学医学部内科教授	〃
青 柳 昭 雄	国立療養所東埼玉病院長	〃
古 市 圭 治	厚生省大臣官房科学技術審議官	関係行政機関等
仲 村 英 一	厚生省保健医療局長	〃
坂 本 龍 彦	厚生省児童家庭局長	〃
島 蘭 安 雄	国立武蔵療養所長	〃
里 吉 栄二郎	国立武蔵療養所神経センター長	〃

(表7) 評価部会委員名簿

委員名	所属及び役職名	任期
江橋節郎	岡崎国立共同研究機構 生理学研究所所長	S.59.11.1～S.62.3.31
祖父江逸郎	国立療養所中部病院長	〃
福山幸夫	東京女子医科大学小児科教授	〃
多田啓也	東北大学医学部小児科教授	S.60.11.1～S.63.3.31
塚田裕三	慶応義塾大学医学部生理学教授	〃
椿忠雄	東京都立神経病院長	〃
保崎秀夫	慶応義塾大学医学部病院長	〃
古市圭治	厚生省大臣官房科学技術審議官	関係行政機関等
島蘭安雄	国立武蔵療養所所長	〃
里吉栄二郎	国立武蔵療養所神経センター長	〃

(表8) 昭和61年度 神経疾患研究委託費研究課題一覧表

研究課題名	所属及び役職名	研究班長名	金額 (千円)	備考
1. 筋ジストロフィー症解明のための遺伝子発現の基礎的研究	東京大学医学部薬理学教授	野々村 禎 昭	48,000	継続
2. 筋ジストロフィー症の臨床、病態と成因に関する研究	国立武蔵療養所神経センター部長	杉 田 秀 夫	46,000	〃
3. 筋ジストロフィー症の疫学、病態および治療開発に関する研究	国立療養所宇多野病院副院長	西 谷 裕	46,000	〃
4. 筋ジストロフィー症の療護に関する臨床および心理学的研究	国立療養所東埼玉病院長	青 柳 昭 雄	48,000	〃
5. 発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究	東京大学医学部小児科教授	鳴 下 重 彦	38,000	〃
6. 遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究	徳島大学医学部長小児科教授	宮 尾 益 英	12,000	〃
7. 精神分裂病の生物学的研究、特に慢性化の機構に関する研究	久留米大学医学部神経精神科教授	稲 永 和 豊	20,000	〃
8. そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究	東京医科歯科大学医学部神経精神科教授	高 橋 良	15,000	〃
9. 発生異常に基づく脊髄機能障害の予防と治療に関する研究	千葉大学医学部整形外科教授	井 上 駿 一	15,000	〃
10. サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究	国立療養所中野病院副院長	井 槌 六 郎	10,000	〃
11. 筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究	実験動物中央研究所長	野 村 達 次	20,000	〃
12. 脳発達障害の成因と予防に関する開発的研究	東邦大学医学部生理学教授	平 野 修 助	19,000	〃
13. 発達期における脳循環障害の成因と治療に関する研究	神戸大学医学部脳神経外科教授	松 本 悟	19,000	〃
14. 老年期の痴呆の病因、病態、治療に関する総合的研究	順天堂大学医学部精神科教授	飯 塚 礼 二	50,000	〃
15. ミエロパチーの病態と発症機構に関する研究	東京大学医学部脳研神経内科教授	萬 年 徹	10,000	〃
16. 難治てんかんの予防及び対策に関する研究	国立療養所静岡東病院長	清 野 昌 一	17,000	新規
17. ニューロパチーの成因及び治療に関する研究	名古屋大学医学部神経内科教授	高 橋 昭	17,000	〃
		合 計	450,000	

(表9)

国立神経センター(仮称)設立準備委員会中間報告(昭52.1)
による整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52~53年度)	一期工事(約4,400㎡) 8 研究部門発足 流動研究員, レジデント宿舎新設	神経・筋病棟新設(120床) 病理部門新設 外来部門増設 中央検査部増設
第 二 次 計 画 (できるだけ早い時期)	3 研究部門を増設(計11部)	神経・筋病床を300床に増床 するために必要な病棟の改 築, 整備を行なう
第 三 次 計 画 (なるべく早い 時期)	7 研究部門を増設(計18部) 大型動物室, 図書館, 研修部門の新設 当初予定の規模にするため約13,000㎡の増 築を必要とする	必要部門の拡充, 整備, 改 築を行なう

II 研 究 業 績

1. センター長

A. 論文

a. 原著

- 1) 春原経彦, 亀井敦行, 安藤一也, 里吉栄二郎 :
Cluttering 様言語障害を伴う歩行失行
臨床神経 25 : 543-552, 1985
- 2) 横井風児, 一井本, 河崎博, 里吉栄二郎, 古和久幸, 岡田耕造 :
水溶性造影剤 metrizamide の副作用について
北里医学 15 : 70-78, 1985
- 3) Kamo I, Tada-Kikuchi A, Furukawa S, Iwasaki Y, Nonaka I, Satoyoshi E, Itoh T :
Effects of thymic myoid cell culture supernatant on cells from lymphatic tissues
Cell Immunol 94 : 587-597, 1985
- 4) Sunohara N, Tomi H, Satoyoshi E, Tachibana S :
Glabella tap sign-Is it due to a lack of R2-habituation ?
J Neurol Sci 70 : 257-267, 1985
- 5) Ito A, Furukawa S, Satoyoshi E, Sakurai H :
Kinetic studies on neurotoxin-binding inhibitory antibodies in myasthenia gravis
Clin Chim Acta 152 : 315-323, 1985
- 6) Yoshida Y, Arimoto K, Sato M, Sakuragawa N, Arima M, Satoyoshi E :
Reduction of acid sphingomyelinase activity in human fibroblasts induced by AY-9944
and other cationic amphiphilic drugs
J Biochem 98 : 1669-1679, 1985
- 7) Sunohara N, Sakuragawa N, Satoyoshi E, Tanae A, Shapiro L J :
A new syndrome of anosmia, ichthyosis, hypogonadism, and various neurological
manifestations with deficiency of steroid sulfatase and arylsulfatase C
Ann Neurol 119 : 174-181, 1986

b. 著書

- 1) 里吉栄二郎 :
他覚症状・筋萎縮

II 研究業績

現代皮膚科学大系 1巻, 皮膚科学概論 主要症候と診断
中山書店, 東京, P93-98,1985

2) 里吉宮二郎 :

多発性筋炎・皮膚筋炎の治療と予後
内科 MOOK 28・膠原病(本間光夫 編)
金原出版, 東京, P140-144,1985

3) 里吉宮二郎 :

めまい(1), 筋無力症
プライマリケア 私の処方-300人の専門医による
(日野原重明編 改訂5版), 中外医学社, 東京,
P362-365,382-384,1985

4) 里吉宮二郎 :

周期性四肢麻痺
今日の治療指針 1986年版(日野原重明, 阿部正和編)
医学書院, 東京, P216-217,1986

c. 総 説

1) 里吉宮二郎 :

Basedow 病と周期性四肢麻痺
臨床医 11:550-551,1985

2) 里吉宮二郎 :

里吉病
総合臨牀 34:1584,1985

d. 症例報告

1) 横井風児, 一井本, 向山昌邦, 里吉栄二郎, 茅野文利 :

非細菌性血栓性心内膜炎および卵巣腫瘍を伴い長期間生存をみた多発性脳梗塞
神経内科 23:536-542,1985

e. 班会議報告書

1) 里吉栄二郎, 亀井敦行, 春原経彦 :

パーキンソン病類縁疾患の研究-cluttering 様言語障害を伴う歩行失行-
東京都特殊疾病(難病)に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P16-21,1985

2) 里吉栄二郎, 富英明 :

筋ジストロフィー症に対する NK421 (Bestatin) 長期投与後の経過報告

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (ロイペプチン) の開発研究班, 昭和59年度研究報告書, P 135-142, 1985

3) 里吉栄二郎, 桜川宣男, 佐藤充, 吉田豊, 加茂功, 有馬正高 :

DMSO および関連薬剤による人皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性の誘導について : ニーマン・ピック病細胞の薬物治療法について

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班, 昭和59年度研究報告書, P 103-112, 1985

4) 桜川宣男, 豊田桃三, 工藤英昭, 有馬正高, 里吉栄二郎 :

$^{11}\text{CO}_2$ による dynamic positron emission tomography の意義と臨床応用について (続報) - 局所脳血流量と局所脳 pH 測定について -

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 92-115, 1985

5) 安藤一也, 横井風児, 里吉栄二郎, 原敏彦 :

^{11}C -pyruvate の合成と PET による脊髓小脳変性症への応用

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 26-30, 1985

6) 安藤一也, 横井風児, 里吉栄二郎, 原敏彦 :

脳内酸素消費率測定 of 簡便法及びポジトロンカメラ "Headtome II" における放射性ガス吸入装置及び頭部固定器の開発

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 31-38, 1985

f. その他

1) 井上英二, 里吉栄二郎, 小林登, 佐藤昌康 :

[座談会] 発達障害研究の展望

遺伝 39 : 6-16, 1985

2) 里吉栄二郎 :

診断メモ・全身こむら返り病

内科 55 : 1355, 1985

II 研究業績

3) 里吉宮二郎：

多発性硬化症とは（杏林シンポジウム）
ドクターサロン 29：729-732,1985

4) 里吉宮二郎：

〔書評〕徒手筋力テストハンドブック
脳と神経 10：972,1985

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 里吉栄二郎：

筋痛・筋痙縮を示す疾患とその鑑別
第59回日本整形外科学会学術集会, 東京, 3.30,1986

b. 国際学会

1) Sunohara N, Sakuragawa N, Satoyoshi E, Tanae A, Shapiro L J：

A new syndrome of anosmia, ichthyosis, hypogonadism, and various neurological manifestations with deficiency of steroid sulfatase and arylsulfatase C
XIIIth World Congress of Neurology, Hamburg, Sept. 5, 1985

c. 一般学会

1) 向山昌邦, 北村純一, 今沢正興, 宮本侃治, 里吉宮二郎：

副腎・腎・肝などに脂肪沈着を認めた中年発症の sudanophilic leukodystrophy の 1 剖検例
第26回日本神経病理学会総会, 岡山, 5.10,1985 (神経病理学 6：204-205)

2) 富英明, 向山昌邦, 埜中征哉, 安藤一也, 里吉宮二郎：

乳幼児期発症で成人後多彩な症状を有した筋強直性ジストロフィーの 1 剖検例
第26回日本神経病理学会総会, 岡山, 5.10,1985 (神経病理学 6：271)

3) 亀井敦行, 春原経彦, 富英明, 里吉宮二郎：

Spastic paraparesis の眼球運動
第26回日本神経学会総会, 松江, 5.24,1985 (臨床神経 25：1535)

4) 富英明, 亀井敦行, 埜中征哉, 杉田秀夫, 里吉宮二郎：

相互転座 (X；5) を認めた DMP の一女性例
第93回日本神経学会関東地方会, 東京, 6.15,1985 (臨床神経 25：1335)

- 5) 桜川宣男, 佐藤充, 吉田豊, 有馬正高, 里吉栄二郎 :
Dimethylsulfoxide(DMSO)によるニーマン・ピック (N-P) 病皮膚線維芽細胞の酵素欠損修復について
第27回日本小児神経学会, 東京, 7.20,1985
- 6) 宮本直政……里吉営二郎 :
心障害を伴った Kugelberg-Welander 病の 1 例
日本循環器学会関東甲信越地方会第117回例会, 東京, 9.14,1985
- 7) 桜川宣男, 佐藤充, 加茂功, 有馬正高, 里吉栄二郎 :
DMSO による人皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性誘導 (続報)
第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.27,1985 (生化学 57:1023)
- 8) 吉田瑞子, 林文夫, 安藤一也, 里吉栄二郎 :
インタクト赤血球の PPI 抽出と分離
第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.27,1985 (生化学 57:937)
- 9) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 林恭三 :
カタコラミンによるアストログリア細胞の NGF 合成調節作用
第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.29,1985 (生化学 57:1132)
- 10) 亀井敦行, 北村純一, 富英明, 向山昌邦, 里吉営二郎 :
成人発症の sudanophilic leucodystrophy の一剖検例
第94回日本神経学会関東地方会, 東京, 10.5,1985 (臨床神経 26:316-317)
- 11) 菊池愛子, 藤沢加津美, 山下和子, 埜中征哉, 林葉子, 吉野亀三郎, 里吉営二郎 :
各種中枢神経系疾患の髄液中の HSV・s-CRN 抗体について
第33回日本ウイルス学会総会, 東京, 10.7,1985
- 12) 桜川宣男, 佐藤充, 加茂功, 有馬正高, 里吉栄二郎 :
皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性上昇作用を呈する薬剤のスクリーニングおよび極性化合物によるニーマン・ピック病細胞の酵素欠損修復について
第28回日本先天代謝異常学会, 熊本, 11.13,1985
- 13) 亀井敦行, 富英明, 田平武, 里吉栄二郎 :
Varicella-zoster meningomyeloradiculopathy の一例
第96回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.22,1986 (臨床神経 26:878)
- 14) 向山昌邦, 横井風児, 安藤一也, 里吉営二郎 :

II 研究業績

大脳皮質に広汎なアミロイド斑を認めた高齢発症の motor neuron disease の 1 例
第23回臨床神経病理学会，東京，3.29,1986

C. 班会議発表

1) 里吉栄二郎，亀井敦行：

Cluttering 様言語障害を伴う歩行失行

東京都特殊疾病（難病）に関する研究班，昭和59年度研究報告会，東京，6.1,1985

2) 横井風児，安藤一也，里吉栄二郎，原敏彦，飯尾正明：

¹¹C-1-ピルビン酸の脳梗塞及び脳内炎症性病変への応用

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究，昭和60年度研究報告会，東京，9.14,1985

3) 杉田秀夫，斎藤深美子，石原傳幸，富英明，里吉栄二郎：

本邦における X 染色体一常染色体転座を伴った女性 Duchenne 型筋ジストロフィー

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究班，昭和60年度班会議，東京，12.7,1985

4) 杉田秀夫，斎藤深美子，石原傳幸，富英明，後藤順，柿沼宏明，中野今治，里吉栄二郎：

本邦における X 染色体の異常を伴った DMD

厚生省神経疾患・「筋ジストロフィー症」，昭和60年度総合班会議，東京，1.19,1986

5) 横井風児，安藤一也，里吉栄二郎ほか：

⁷⁵Br (⁷⁷Br) -bromospiroperidol(BSP) の合成とその脳内代謝

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究，昭和60年度研究報告会，東京，2.15,1986

6) 里吉栄二郎，平山義人，富英明：

筋ジストロフィー症に対するベスタチンの効果—プラセボを対照薬とした比較試験の中間報告—

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（ロイペプチン）の開発研究班，昭和60年度班会議，東京，3.5,1986

D. 研究会など

1) 北村純一，横井風児，富英明，亀井敦行，杉田秀夫，里吉栄二郎：

白内障，知能低下，小脳失調症を呈した2例

第14回三多摩神経疾患懇話会，立川市，4.13,1985

2) 富英明，春原経彦，安藤一也，里吉营二郎：

パーキンソン病に於ける眼球，眼瞼運動の検索

第6回三多摩パーキンソン病懇話会，立川市，6.29,1985

3) 富英明，亀井敦行，横井風児，安藤一也，里吉营二郎ほか：

特異な経過をとった悪性胸腺腫に伴う重症筋無力症の1例

第15回三多摩神経疾患懇話会，立川市，9.28,1985

4) 里吉栄二郎：

重症筋無力症の診断

東村山市医師会集会，東村山市，11.22,1985

2. 疾病研究第1部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第一部は進行性筋ジストロフィーを中心に遺伝性筋疾患を研究対象とし、その病態の究明と治療法の開発を旨とする研究部門である。

昭和60年度当部における研究活動に参加したメンバーは以下の通りである。

〔部長〕杉田秀夫, 〔研究員〕石浦章一, 荒木誠, 樋口逸郎, 〔流動研究員〕白杵扶佐子(～60.5.20), 山本剛司(60.4.1～), 淵脇泰介(61.1.1～), 沈定国(60.4.1～10.17), 〔併任研究員〕石原博幸, 山口明, 菊池建機(～60.9.30), 〔研究生〕鎌倉恵子, 野島美知夫, 藤田武久, 佐野元規, 〔客員研究員〕高木昭夫, 米本恭三, 〔賃金研究員〕安楽治美, 小川敬子, 後藤加奈子, 岡本眞美〔部長室〕加藤裕子, 〔筋ジストロフィー研究班事務局〕光村征子。

本年度の人事面でのビッグイベントは、中国から研究生を受入れた事である。即ち4月1日より約6ヶ月間、中国人民解放軍綜医院、軍医進修学院助教授、神経筋研究室主任の沈定国先生は自国より持参した多数の凍結筋生検切片を用い、当部樋口研究員、微細構造研究部埜中部長の指導の下に熱心に研究活動を続けた。沈先生は当センター研修棟に住居し、早朝より夜半まで極めて意欲的に勉学にはげみ、他方人柄も良く、お互に片言の英語で楽しい毎日を送った。同先生の母国での今後の発展を大いに期待し、又筋疾患研究を通じて日中友好に多少なりとも寄与したと考えている。

人事面でもう一つ特記すべき点は、順天堂大学より山本(神経内科)野島、淵脇(産婦人科)の若い順天堂トリオのエネルギーが加わった事であり、当部ではおかげで極めて活発に研究を行う事が出来た。

本年度疾病研究第一部の主要テーマ及び研究概要は次の様なものである。

1) 筋ジストロフィー及び類縁疾患の病態、成因、治療に関する研究。

a) 筋ジストロフィーの治療に関する研究

部長は厚生省薬務局新薬開発研究班(E-64)に属しておりESTの臨床応用部門の責任者として治療効果に関する研究を続行した。E-64研究班は本年度で研究を終了し、3月末大正製薬株式会社より厚生省にESTを薬剤として申請した。

b) 遠位型ミオパチー(DMRV)

DMRVのモデルであるラットのクロロキンミオパチーはESTにより予防だけでなく治療効果もある事が明らかとなり、DMRV症例について試験的に投与が開始されており効果が期待

出来よう。

2) 悪性症候群 (Syndrome malin) に関する研究

当部では従来よりスキンドファイバー法を用い悪性高熱の診断, 病態について研究を行って来たが, これに似た臨床症状を呈する悪性症候群についても筋小胞体の機能異常が明らかとなった。抗精神薬投与によって生じる悪性症候群の少くとも一部の病態は解明されたと考えられる。

3) DDB の筋ジストロフィーハムスターに対する効果

DDB は木蓮より抽出された漢方薬の有効成分の一つ SchizandrinC 類似の合成薬であり, 中国では肝疾患における血清酵素活性を低下させる薬として使用されている。筋ジストロフィーハムスターに経口投与し, 心筋 Ca を低下させる事が明らかとなった。

4) アデニール酸デアミナーゼ (AD) の筋肉内局在について

AD は従来よりミオシンと結合する事が知られていたが組織化学, 免疫組織化学的に細胞内膜系と結合している事が明らかになった。

5) 糖原病II型に関する研究

糖原病II型ウズラの中性 α -グルコシダーゼ (α -G) は正常と同様, 胎生型と成熟型の2つの isoform があり生後成熟型に転換する事が明らかになった。又, 同様な現象がヒト糖原病II型に於ても認められる事がわかった。

6) Ingensin の発見

当部で本年度新しい高分子量, 脂肪酸で活性化される新しい酵素 ingensin が抽出され骨格筋, 肝, 脳, 胎盤などに普遍的に存在する事が明らかになった。

細筋内局在, 生理, 病理的意義について検索中である。

(部長 杉田秀夫)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Kamakura K, Ishiura S, Fujita T, Nonaka I, Sugita H :
Localization of calcium-activated neutral protease (CANP) in the peripheral nerve
Muscle Nerve 8 : 380-382, 1985
- 2) Ishiura S, Sano M, Kamakura K, Sugita H :
Isolation of two forms of the high-molecular-mass serine protease, ingensin, from porcine skeletal muscle
FEBS Lett 189 : 119-123, 1985
- 3) Kamakura K, Ishiura S, Sugita H :
 μ -type calcium-activated neutral protease in the rat peripheral nerve
J Neurosci Res 15 : 167-173, 1986
- 4) Saito F, Tonomura A, Kimura S, Misugi N, Sugita H :
High-resolution banding study of an X/4 translocation in a female with Duchenne muscular dystrophy
Hum Genet 71 : 370-371, 1985
- 5) Usuki F, Ishiura S, Sugita H :
Isolation and characterization of three α -glucosidases from Japanese quails
J Biochem 99 : 985-988, 1986
- 6) Usuki F, Ishiura S, Sugita H :
Developmental study of α -glucosidases from Japanese quails with acid maltase deficiency
Muscle Nerve 1986, in press
- 7) Tamai M, Matsumoto K, Oguma K, Koyama I, Omura S, Hanada K, Ishiura S, Sugita H :
EST, a new analog of E-64, can prolong the life span of dystrophic hamsters,
UM-X7.1
Cysteine Protease Proteinase and Their Inhibitors (Turk V. ed.) Walter De Gruyter,
Berlin, 1986, in press
- 8) Yamamoto T, Furukawa S, Nojima M, Ishiura S, Sato T, Sugita H :

Anti-filamin and -Vinculin antibodies in sera from patients with myasthenia gravis and polymyositis

Proc Japan Acad 62 : 113-116, 1986

- 9) Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :

Biochemical aspects of bupivacaine-induced acute muscle generation

J Cell Sci 83 : 197-212, 1986

- 10) Ishiura S, Nojima M, Fuchiwaki T, Okuyama T, Sugita H :

Effects of linoleic acid and cations on the activity of a novel high-molecular weight protease, ingensin, from human placenta

Int J Biochem, 1986, in press

- 11) Nojima M, Ishiura S, Yamamoto T, Okuyama T, Furuya H, Sugita H :

Purification and characterization of a high-molecular weight protease, ingensin, from human placenta

J Biochem 99 : 1605-1611, 1986

- 12) Yamamoto T, Nojima M, Ishiura S, Sugita H :

Purification of the two forms of the high-molecular weight protease, ingensin, from rat liver

Biochim Biophys Acta, 1986, in press

- 13) Ishiura S, Yamamoto T, Nojima M, Sugita H :

Ingensin, a fatty acid-activated serine protease from rat liver cytosol

Biochim Biophys Acta, 1986, in press

- 14) Okuyama T, Ishiura S, Villee, C.A :

Phosphorylation of placental membrane proteins by a calcium, phospholipid-dependent protein kinase

Placenta, 1986, in press

- 15) Ishiura S, Yoshimoto, T, Villee, C.A :

Reticulocyte lipoxygenase, ingensin and ATP-dependent proteolysis

FEBS Lett, 1986, in press

- 16) Araki M, Shen DG, Higuchi I, Takagi A, Goto K, Sugita H :

DDB suppresses the rate of creatine kinase release from muscle accelerated by dimethyl-

II 研究業績

formamide in vitro

Biomed Res 7 : 187-190, 1986

- 17) 荒木誠, 高木昭夫, 藤田武久, 松原利光 :

悪性高熱感受性ブタ骨格筋のカフェイン拘縮およびダントロレンの影響
麻酔と蘇生 21 (別冊悪性高熱研究の進歩VII) : 121-128, 1985

- 18) 平野良郎, 片山宗一, 荒木誠, 横山誠之, 綱島康博 :

Type grouping および脂質異常を伴った Roussy-Levy 症候群の 2 同胞例
神経内科23 : 543-550, 1985

- 19) 高木昭夫, 荒木誠, 米本恭三 :

悪性高熱や類似症例におけるスキンドファイバーのカフェイン拘縮
麻酔と蘇生 21 (別冊悪性高熱研究の進歩VII) : 143-149, 1985

b. 著 書

- 1) 杉田秀夫, 埜中征哉 :

第 7 節神経疾患 1. 筋ジストロフィー
動物モデル利用集成, P 313-322, 1985

- 2) 清水輝夫, 杉田秀夫 :

筋ジストロフィー
新内科学大系, 中山書店, 東京, P 140-151, 1985 (年刊版 '85-B, 別冊)

- 3) 杉田秀夫 :

第 6 章筋病学の研究 I. 生化学的側面
新生理科学大系 4 巻筋肉の生理学 (富田忠雄, 杉晴夫編), 医学書院, 東京, P 343-356,
1986

- 4) 高木昭夫 :

第 6 章筋病学の研究 II. 生理学的側面—Skinned fiber 法による筋病態の研究—
新生理科学大系 4 巻筋肉の生理学 (富田忠雄, 杉晴夫編), 医学書院, 東京, P 356-369,
1986

c. 総 説

- 1) 杉田秀夫 :

周期性四肢麻痺
ドクターサロン29 12月号 : 18-22, 1985

- 2) 杉田秀夫：
進行性筋ジストロフィーの成因〈内科懇話会において〉
日本医事新報 3209：3-9, 1985
- 3) 杉田秀夫：
進行性筋ジストロフィー
脳神経 38：111-120, 1986
- 4) 杉田秀夫：
特集 ミトコンドリア・ミオパチーをめぐる(1)
序論：ミトコンドリア・ミオパチーの歴史的背景
神経内科 24：107-108, 1986
- 5) 石浦章一, 杉田秀夫：
講座 病気の生化学 (CX II) 筋ジストロフィー遺伝学的アプローチ
代謝 22 (9)：65-73, 1985
- 6) 山本剛司, 杉田秀夫：
特集 ミトコンドリア・ミオパチーをめぐる(1)
わが国におけるミトコンドリア・ミオパチーの臨床—成人例—
神経内科 24：109-116, 1986
- 7) 寺澤健二郎, 杉田秀夫：
筋萎縮・筋力低下の病態
筋萎縮・筋力低下をもたらす疾患とその臨床症状をめぐる
月刊ナーシング 5：822-825, 1986
- 8) 寺澤健二郎, 杉田秀夫：
特集 代謝疾患：その成因, 早期治療
筋代謝異常—最近注目されているミトコンドリアミオパチーを中心に—
最新医学 40 (11)：2371-2379, 1985
- 9) 清水輝夫, 杉田秀夫：
DNA マーカー疾患 (序論)
新内科学大系 129-131, 1985 (年刊判 '85-B, 別冊)
- 10) 高木昭夫：
Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝

II 研究業績

神経研究進歩 29:509-515, 1985

11) 高木昭夫, 荒木誠 :

悪性症候群

臨床医 12:103-105, 1986

e. 班会議報告書

1) 杉田秀夫, 田辺雄三, 埜中征哉, 江崎孝三郎, 野村達次 :

筋ジストロフィー症モデル動物の開発

mdx マウス骨格筋の病理学的研究

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究班,

昭和59年度研究報告書, P13-31, 1985

2) 杉田秀夫, 貫名信行, 萬年徹, 徳永勝士 :

アルツハイマー病における補体 BF, C₂, C₄ の対立遺伝子頻度の分析

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和59年度研究報告書, P40-44, 1985

3) 杉田秀夫, 佐野元規, 藤田武久, 石浦章一 :

実験的クロロキンミオパチーにおける EST の効果

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬 (E-64) の開発研究班, 昭

和59年度研究報告書, P123-127, 1985

4) 杉田秀夫, 齋藤深美子, 石原博幸, 富英明, 里吉栄二郎 :

本邦における X 染色体一常染色体転座を伴った女性 Duchenne 型筋ジストロフィー

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度研

究報告書, P84-87, 1986

5) 杉田秀夫, 樋口逸郎, 佐野元規, 石浦章一, 伊井邦雄, 木南英紀, 勝沼信彦 :

実験的クロロキンミオパチーに対する EST の治療効果

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度研

究報告書, P197-202, 1986

6) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫 :

日本ウズラ糖尿病 II 型 (成人型) における α -glucosidase の経時的変動

文部省特定研究・神経難病の発症機構 (II), 昭和60年度研究業績, P251-354, 1986

7) 高木昭夫, 荒木誠, 藤田武久, 埜中征哉 :

ジストロフィー筋よりの creatine kinase (CK) 遊離に対する各種薬剤の影響

- 厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬（ロイペプチン）の開発研究班，昭和59年度研究報告書，P 65-69，1985
- 8) 高木昭夫，小島進，磯崎英治，井田雅祥，田辺等：
筋緊張性ジストロフィーの筋病理
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究班，昭和60年度研究報告書，P 140-144，1986
- 9) 高木昭夫，小島進，藤田武久，荒木誠，杉田秀夫：
ジストロフィー筋（in vitro）よりの creatine kinase の遊離
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究班，昭和60年度研究報告書，P 279-282，1986
- 10) 水谷誠，藤田武久，桄中征哉，杉田秀夫：
ファヨウミ種において出現した筋ジストロフィー鶏について
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究班，昭和59年度研究報告書，P 77-88，1985

B. 学会発表

b. 国際学会

- 1) Sugita H，Nonaka I：
Effect of thiol protease inhibitor, E-64 on muscle wasting diseases
7. Symposium des Wissenschaftlichen Beirates der Deutschen Gesellschaft Bekämpfung der Muskelkrankheiten, Bonn, Sept. 26-28, 1985 (Laboratory Animal Science, in press)
- 2) Sugita H：
Animal models utilized in the research of muscular diseases
Sixth Charles River International Symposium on Laboratory Animals "Animal Models : Assessing the Scope of Their Use in Biomedical Research" Kyoto, Oct. 8-9, 1985

c. 一般学会

- 1) 荒木誠，高木昭夫，藤田武久，杉田秀夫：
悪性高熱感受性ブタ：スキンドファイバーに対するカフェインとダントロレンの作用

- 第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1418，1985）
- 2) 白杵扶佐子，藤田武久，杉田秀夫：
日本ウズラ糖原病II型（成人型）のembryo期における酵素学的研究
第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1414，1985）
- 3) 高木昭夫，荒木誠，米本恭三，杉田秀夫：
スキンドファイバーのカフェイン拘縮による悪性高熱（MH）や関連疾患の診断
第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1418，1985）
- 4) 藤田武久，埜中征哉，白杵扶佐子，高木昭夫，杉田秀夫：
糖原病II型ウズラ骨格筋の再生能
第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1419，1985）
- 5) 石原傳幸，津谷恒夫，儀武三郎，青柳昭雄，杉田秀夫：
Duchenne型筋ジストロフィーと各種疾患呼吸筋の比較検討
第26回日本神経学会総会，松江，5.23，1985（臨床神経 25：1485，1985）
- 6) 鎌倉恵子，石浦章一，藤田武久，杉田秀夫，埜中征哉：
中枢神経系におけるCa²⁺-activated neutral proteaseの分布
第26回日本神経学会総会，松江，5.24，1985（臨床神経 25：1536，1985）
- 7) 佐野元規，石浦章一，杉田秀夫：
実験的クロロキンミオパチーの発症機序について—第2報—
第26回日本神経学会総会，松江，5.24，1985（臨床神経 25：1498，1985）
- 8) 織茂智之，山崎忠男，冷牟田英三，荒木誠，埜中征哉：
運動後筋ケイレン，CK高値を呈し生検筋にtubular aggregatesを認めた1例
第93回日本神経学会関東地方会，東京，6.15，1985（臨床神経 25：1334-1335，1985）
- 9) 淵脇泰介，奥山輝明，古谷博，石浦章一，杉田秀夫：
ラット胎盤絨毛組織におけるC-kinase
第58回日本生化学会大会，仙台，9.26，1985
- 10) 白杵扶佐子，石浦章一，杉田秀夫：
糖原病ウズラにおける α -グルコシダーゼの経時的変動
第58回日本生化学会大会，仙台，9.26，1985
- 11) 石浦章一，杉田秀夫：
骨格筋可溶性分画に存在する高分子量プロテアーゼIngensin

第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.27, 1985

- 12) 野島美知夫, 山本剛司, 奥山輝明, 石浦章一, 杉田秀夫 :

ヒト胎盤における高分子量セリンプロテアーゼ Ingensin の性質

第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.27, 1985

- 13) 山本剛司, 野島美知夫, 石浦章一, 杉田秀夫 :

細胞骨格蛋白に対するリン脂質の影響について

第58回日本生化学会大会, 仙台, 9.29, 1985

C. 班会議発表

- 1) 杉田秀夫, 斎藤深美子, 石原傳幸, 富英明, 里吉栄二郎 :

本邦における X 染色体-常染色体転座を伴った女性 Duchenne 型筋ジストロフィー

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度班
会議, 東京, 12.7-8, 1985

- 2) 杉田秀夫, 樋口逸郎, 佐野元規, 石浦章一, 伊井邦雄, 木南英紀, 勝沼信彦 :

EST による実験的クロロキンミオパチーの治療効果

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度班
会議, 東京, 12.7-8, 1985

- 3) 高木昭夫, 小島進, 藤田武久, 荒木誠, 杉田秀夫 :

ジストロフィー筋 (in vitro) よりの creatine kinase の遊離

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度班
会議, 東京, 12.7-8, 1985

- 4) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫 :

日本ウズラ糖原病II型 (成人型) における α -glucosidase の経時的変動

文部省特定研究・神経難病班第2回班会議, 東京, 12.12, 1985

- 5) 杉田秀夫, 山本剛司, 古川昭栄, 佐藤猛 :

重症筋無力症における抗細胞骨格蛋白 (filamin, vinculin) 抗体価-臨床経過および抗 AchR
抗体価との関連-

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和60年度第2回班会議, 東京, 1.17-18,
1986

- 6) 杉田秀夫, 斎藤深美子, 石原傳幸, 富英明, 後藤順, 柿沼宏明, 中野今治, 里吉栄二郎 :

II 研究業績

本邦におけるX染色体の異常を伴ったDMD

厚生省神経疾患・「筋ジストロフィー」昭和60年度総合班会議，東京，1.19，1986

- 7) 杉田秀夫，樋口逸郎，石浦章一，佐野元規，伊井邦雄，木南英紀，勝沼信彦：

ESTによる実験的クロロキンミオパチーの治療効果，

厚生省新薬開発・E-64開発研究班，昭和60年度班会議，東京，2.27，1986

- 8) 杉田秀夫，樋口逸郎，宮武正，湯浅龍彦，田中恵子，石原傳幸，中野今治：

Distal myopathy with rimmed vacuole に対するESTの臨床試験

厚生省新薬開発・E-64開発研究班，昭和60年度班会議，東京，2.27，1986

D. 研究会など

- 1) 杉田秀夫：

ミトコンドリア・ミオパチーの歴史的背景

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究班，昭和60年度ワークショップ，東京，8.1，1985

- 2) 山本剛司，杉田秀夫：

わが国におけるミトコンドリア・ミオパチーの臨床—成人例—

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床，病態と成因に関する研究班，昭和60年度ワークショップ，東京，8.1，1985

- 3) 杉田秀夫：

筋疾患

東京大学医学部講義，東京，11.20，1985

- 4) 荒木誠，高木昭夫，杉田秀夫：

悪性症候群 (syndrome malin) におけるカフェイン拘縮

昭和60年度筋生理の集い，岡崎，11.1，1985

- 5) 荒木誠，高木昭夫，杉田秀夫：

悪性症候群におけるスキンドファイバーのカフェイン拘縮

第9回悪性高熱研究会，高知，12.7，1985

- 6) 宮地隆治，田中行夫，大川岩夫，熊澤光生，神田史大，荒木誠：

MHの一症例

第9回悪性高熱研究会，高知，12.7，1985

7) 高木昭夫 :

神経筋疾患

東京慈恵会医科大学講義, 6.14, 1985

8) 高木昭夫 :

悪性高熱と悪性症候群

昭和大学医学部セミナー, 2.13, 1986

9) 淵脇泰介, 清田明憲, 奥山輝明, 古谷博, 石浦章一, 杉田秀夫 :

ラットおよびヒト胎盤絨毛組織における Ca^{2+} -phospholipid-dependent Protein Kinase (C-Kinase)

第9回産婦人科栄養代謝研究会, 横浜, 8.30, 1985

3. 主な研究報告

新しく発見された脂肪酸依存性タンパク分解酵素インゲンシン

石浦章一, 安楽治美, 山本剛司, 野島美知夫, 淵脇泰介, 鎌倉恵子, 杉田秀夫

我々は以前より, 細胞内タンパク質分解機構とタンパク分解酵素との関連について研究してきたが, 今回新しい種類のタンパク分解酵素がすべての細胞の可溶性分画に存在し, しかも, 脂肪酸, 塩濃度などによって活性が制御されていることを発見した。

方法

ヒト胎盤可溶性分画より, DEAE-セルロース, HPLCゲルろ過, ハイドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィーにより, 酵素を精製した。基質としては, テトラペプチドである Succinyl-leucyl-leucyl-valyl-tyrosine-MCA を用いてケイ光法により定量した。

結果

- (1) 表1に示す通り, インゲンシンは SDS により活性化された。加えて, 1 価陽イオン 100 mM, 2 価陽イオン 1 mM によっても 2~3 倍に活性が上昇した。
- (2) 図に示す通り, 脂肪酸であるリノール酸添加によっても活性化が見られた。直鎖脂肪酸によっても同様の活性化が観察された。
- (3) SDS と脂肪酸による活性化の機構は少々異なることが, 塩による阻害実験で明らかになった。一旦活性化された酵素は, 塩の添加で劇的に阻害されることが表2より読みとれる。SDS 活性化型は 1 価イオンで, リノール酸活性化型は 2 価イオンで阻害が顕著であった。

考察

以上の結果より, 本酵素が従来より知られていた既知タンパク分解酵素とは異なる新種の酵素と考えられ, 新しくインゲンシン (Ingensin) と命名した。インゲンシンの生理的意義は未だ明らかではないが, 細胞内可溶性分画の中性蛋白分解活性の半分以上を占めることを考えると, 基本的な生体を維持するに必要な位置を占める重要な酵素と推察される。

文献

1. Ishiura, S., Sano, M., Kamakura, K., Sugita, H. : Isolation of two forms of the high-molecular-mass serine protease, ingensin, from porcine skeletal muscle. FEBS Lett. 189 : 119-123, 1985
2. Ishiura, S., Nojima, M., Yamamoto, T., Fuchiwaki, T., Okuyama, T., Furuya, H., Sugita, H. : Effect of linoleic acid and cations on the activity of a novel high-molecular weight protease, ingensin, from human placenta. Int. J. Biochem., 1986, in

press

3. Nojima, M., Ishiura, S., Yamamoto, T., Okuyama, T., Furuya, H., Sugita, H. : Purification and characterization of a high-molecular weight protease, ingensin, from human placenta. J. Biochem., 1986, in press
4. Yamamoto, T., Nojima, M., Ishiura, S., Sugita, H. : Purification of the two forms of the high-molecular weight neutral protease, ingensin, from rat liver. Biochim. Biophys. Acta, 1986, in press
5. Ishiura, S., Yamamoto, T., Nojima, M., Sugita, H. : Ingensin, a fatty acid-activated serine protease from rat liver cytosol. Biochim. Biophys. Acta, 1986, in press
6. Ishiura, S., Yoshimoto, T., Vilee, C. A. : Reticulocyte lipoxygenase, ingensin, and ATP-dependent proteolysis. FEBS Lett., 1986, in press

Table 1 Effects of SDS and cations on the activity of placental ingensin

Additions	Concentrations	Ingensin activity (%) ^a
no addition		(100)
SDS	0.02 %	95
	0.04 %	329
	0.06 %	1,630
	0.08 %	747
	0.10 %	30
NaCl	100 mM	148
KCl	100 mM	140
CaCl ₂	1 mM	290
MgCl ₂	1 mM	207
SrCl ₂	1 mM	297

^aPurified ingensin (10⁶g) was incubated in 20 mM Tris-HCl, pH 9.0, containing 30 μ M substrate at 37°C for 30 min. The liberated aminoacyl-isomers were measured fluorometrically. Ingensin activity is expressed as a percentage of the control in the absence of the effectors.

Table 2 Effects of cations on the activated forms of ingensin

Final concentrations	Ingensin activity (%)	
	SDS-activated	L.A.-activated ^a
Cations ^b		
(no addition)	(100) ^c	(100) ^c
Na ⁺ 100 mM	24	61
K ⁺ 100 mM	30	66
Mg ²⁺ 100 mM	5	31
Ca ²⁺ 1 mM	62	34
Mg ²⁺ 1 mM	96	25
Sr ²⁺ 1 mM	82	31

^aThe final concentrations of SDS and linoleic acid (L.A.) were 0.08% and 50 μ g/ml, respectively.

^bCations were added as chloride salts.

^cIngensin activity is expressed as a percentage of the control in the absence of cations.

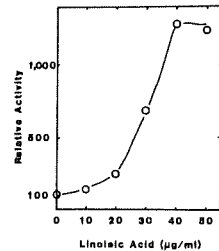


図 リノール酸によるインゲンシンの活性化

重症筋無力症における抗細胞骨格蛋白 (filamin, vinculin) 抗体価

山本剛司, 野島美知夫, 石浦章一, 古川昭栄*, 佐藤猛**, 杉田秀夫

1982年 Bloch と Hall は, 哺乳類の神経筋接合部 (NMJ) の postsynaptic membrane にアクチン結合蛋白である filamin (F : Mw, 240K) と vinculin (V : Mw, 130K) の存在を報告した。本研究では, 重症筋無力症 (MG) 患者血清において F と V に対する抗体価を測定し, その有意性及び抗アセチルコリン受容体 (AChR) 抗体価との関連を検討した。

対象と方法

対象は, MG 患者28名で, このうち眼筋型5名, 全身型23名であった。健常コントロールは20名で, 疾患コントロールとして, Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者20名を併せて検討した。

F および V は Feramisco と Burridge の方法で精製し, これらに対する抗血清は家兎により作成した。抗 AChR 抗体価はヒト骨格筋 AChR を用いて抗ヒト IgG 法により測定し, 抗 F 抗体と抗 V 抗体の抗体価は血清を1,000倍希釈した後, ELISA 法により測定した。

結果

ELISA 法による健常コントロールの抗体価は, 抗 F 抗体は 0.10 ± 0.02 (平均 \pm SD), 抗 V 抗体は 0.66 ± 0.15 であった。一方, MG 群では, 抗 F 抗体は 0.38 ± 0.16 , 抗 V 抗体は 1.00 ± 0.27 であった。(図1, 2) 抗 F 抗体, 抗 V 抗体共に MG 群において健常コントロール群より有意 ($P < 0.005$) な増加を認めた。健常コントロール群の平均値 + 2 SD を正常上限とした場合,

MG 群の陽性率は抗 F 抗体で93%, 抗 V 抗体で50%であった。なお, 抗 F 抗体, 抗 V 抗体共に MG 群中で眼筋型が特に高値を示し, 抗 F 抗体は 0.49 ± 0.21 , 抗 V 抗体は 0.93 ± 0.31 であった。抗 F 抗体については, 全身型よりも有意 ($P < 0.01$) に高値を示した。眼筋型に限った場合の陽性率は抗 F 抗体で100%, 抗 V 抗体で40%であった。DMD では抗 F 抗体は 0.16 ± 0.03 , 抗 V 抗体は 0.8 ± 0.15 であった。抗 F 抗体価は健常コントロール群と比較して有意差 ($P < 0.005$) を得たが, 陽性率は50%で, その増加幅は MG 群の21%にすぎなかった。抗 V 抗体は, やはり DMD で有為 ($P < 0.025$) に増加したが, 陽性率は20%であった。胸腺摘除前後の抗体価の変動様式は多様で, 一定の傾向は認められなかった。抗 AChR 抗体価と抗 F, 抗 V 抗体価とは明らかな相関を認めなかった。

考察

AChR は postsynaptic membrane にその下部を埋めるようにして存在すると考えられており, 膜への組み込み, あるいは clustering には, filamin, vinculin 等の細胞骨格蛋白が関与すると考えられている。従って, 抗 F, 抗 V 抗体が抗 AChR 抗体同様に MG の病態発現と深くかかわっている可能性が少なくない。また, 抗 F, 抗 V 抗体は, DMD の様な筋蛋白分解の活発な疾患においても20~50%の陽性率を示すに過ぎず, その増加幅もごくわずかであり, MG 群の方が有意 ($P < 0.005$) に高値を示した。また, 抗 F, 抗 V 抗体が眼筋型において, 全身型と同等あるいはそれ以上の抗体価を示した点は注目に値すると思われる。

* 免疫研究部

** 順天堂大学脳神経内科

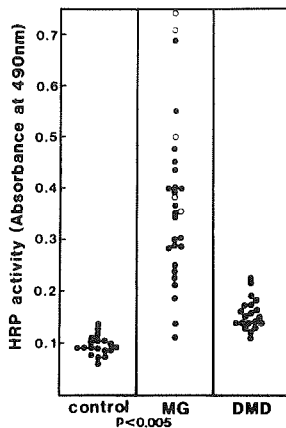


図1 抗 filamin 抗体価

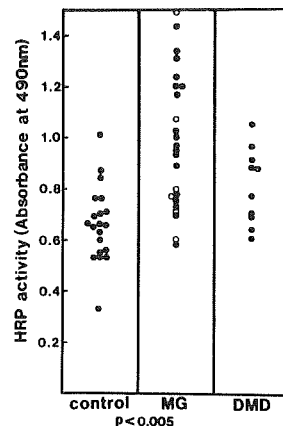


図2 抗 vinculin 抗体価

妊婦血清中で活性が上昇する新しいペプチターゼ —基質 Z-Phe-Arg-MCA を用いて—

野島美知夫, 石浦章一, 奥山輝明*, 杉田秀夫

近年, 各種疾患の病変の部位や病態の推移を診断するための補助として血清中の酵素活性の測定が臨床的に応用されている。一般に産科領域においては耐熱性アルカリホスファターゼ (HSALP), L-シスチンアミノペプチダーゼ (CAP), ロイシンアミノペプチダーゼ (LAP) などの諸酵素が良く知られており胎盤機能のひとつの指標として用いられている。今回我々は Z-Phenylalanyl-Arginyl-methylcoumarinamide (Z-Phe-Arg-MCA) を加水分解するペプチダーゼが妊娠経過に伴い上昇しているという特異な結果を得た。また同時にそれが LAP, CAP 等の既知の酵素とは異なることを証明した。

材料および方法

被検血清は合併症がなく正常経過をとっている妊娠各期における妊婦血清33例を用いた。一方, 対照として正常人血清24例を用いた。また Z-Phe-Arg-MCA および Leu-MCA (ペプチド研究所) を基質として用いた。CAP の測定には CAP テストパック (三共) を使用した。また, ゲルろ過にはギルソン社の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用い, カラムには TSK-G3000SW を使用した。また Z-Phe-Arg-MCA 加水分解活性の高い妊婦血清 3 ml および正常人血清 3 ml をそれぞれ HPLC にてゲルろ過をし, 各フラクションの Z-Phe-Arg-MCA および Leu-MCA の加水分解活性と CAP の活性を測定した。

結 果

表 1 に示した如く血清の Z-Phe-Arg-MCA の加水分解活性値は正常人に比較すると妊婦の 1st, 2nd および 3rd trimester における各々の値は明らかに高く認められた ($P < 0.01$, $P < 0.005$, $P < 0.005$)。また妊婦血清と正常人血清の HPLC 処理後に得られた各フラクションにおける各酵素活性は図 1 に示した如くである。妊婦血清のフラクション No. 8 における Z-Phe-Arg-MCA の分解活性は正常人血清と比較し 10 倍近くの活性の増加が認められた (図 1 A)。また Leu-MCA の分解活性は図 1 B の如く妊婦血清のフラクション No. 8, No. 13 および No. 18 とに

3つのピークが認められ特徴的であった。また CAP 活性は図 1 c の如くピーク No. 13 に認められ Leu-MCA の 2 番目のピークと一致し既に報告されている妊婦血清中の CAP が LAP の活性を併せもっているという事実と一致した。

考 察

以上の如く妊婦血清中で上昇している Z-Phe-Arg-MCA を基質とするペプチダーゼが既知の酵素である LAP および CAP とは明らかに異なる分子量をもつ酵素であることを HPLC によって証明できた。また妊婦血清で上昇しているアミノペプチダーゼ以外の蛋白分解酵素は本酵素が初めてであり, 今後この酵素の諸性質の解明とともに妊婦におけるこの活性の上昇が, 胎盤に由来するものであるか否かを検討しさらに生物学的に異常妊婦におけるこの活性の動態をも併せ検討していきたいと考えている。

表 1 Z-Phe-Arg-MCA の加水分解活性 (nmole/100 μ l/30min)

Serum	Hydrolysis of Z-Phe-Arg-MCA
Normal	0.42 \pm 0.32 (n=24)
1st trimester	1.14 \pm 0.95 (n=9) ($p < 0.01$)
2nd trimester	2.05 \pm 0.73 (n=10) ($p < 0.005$)
3rd trimester	1.85 \pm 0.69 (n=14) ($p < 0.005$)

Mean \pm S.D.

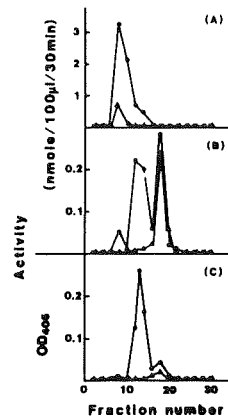


図 1 各フラクションの酵素活性
(A) Z-Phe-Arg-MCA 加水分解活性, (B) Leu-MCA 加水分解活性, (C) CAP 活性, ●—●妊婦血清, ▲—▲正常人血清

* 順天堂大学産婦人科教室

ヒト胎盤絨毛組織の C-kinase 精製

淵脇泰介, 石浦章一, 奥山輝明*, 杉田秀夫

C-kinase は情報伝達機構や細胞増殖に関与し, また phorbol ester の特異的 receptor である可能性が西塚らによって報告されて以来, 各方面で注目を集めている。この酵素は高等動物の各種臓器・組織中に広く存在し, 特に脾臓, 大脳皮質に多く, 骨格筋, 胸腺などには少ないとされている。先に奥山らはラット胎盤の C-kinase を初めて証明し報告しているが, 我々は従来の方法では収量が良くないため, 比較的効率の良い酵素抽出法を開発し, ヒト胎盤絨毛組織における C-kinase を初めて証明した。

材料と方法

妊娠10か月正常分娩によって得られたヒト胎盤を用い, 氷冷下に絨毛組織のみを分離処理し, 25mM Tris-HCl pH 8.0, 10mM 2-mercaptoethanol buffer を用いて以下のごとく実験を行った。

- (1) 検体を buffer で充分に洗浄。
 - (2) 1mM CaCl₂ を含む buffer を 5 倍量加えて homogenize し, 8,000 × g 10分間遠心。
 - (3) 沈澱を 0.1mM CaCl₂ を含む buffer で洗浄した後, 8,000 × g 10分間遠心。
 - (4) 沈澱を 5 mM EDTA を含む buffer で懸濁液として 4°C 10分間放置した後, 20,000 × g 20分間遠心。
 - (5) 上清を DEAE セルロースカラムに吸着させ NaCl 濃度勾配 0 ~ 0.4M にて溶出させる。
 - (6) 得られた各フラクションは [³²P] ATP を用い, histone H-1 を基質としてその取り込みを計測して活性測定を行い, ピークフラクションを粗精製酵素とした。
 - (7) 粗精製酵素は硫酸で濃縮した後, 高速液体クロマトグラフィー (HPLC と略す) によるゲル濾過を行い, 各フラクションの活性測定を同時に行い, ピークフラクションを精製酵素とした。
 - (8) 得られた酵素は histone H-1 とともに 5mM EGTA, 2mM CaCl₂, 80μg/ml phosphatidylserine (PS と略す), 1.6μg/ml diolein (同 DO) を別々に加え, 12% ポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行った。
- 結果と考察**
- buffer 中の Ca 濃度を変えていくことによ

て, まず細胞内遊離 C-kinase を沈澱分画に吸着させ, 徐々に Ca 濃度を下げてゆき, 最後に EDTA によって吸着酵素を遊離させて細胞質分画を回収して DEAE セルロースカラムで分離した結果, NaCl 濃度 0.1~0.2M 付近において最大活性がみられた (図 1)。さらに HPLC を用いて精製を行った酵素を用いての autoradiogram の結果, C-kinase 自身の auto-phosphorylation はわずかであったが (70K), histone の磷酸化は EGTA あるいは Ca 単独ではほとんどみられず, PS+DO の脂質ではわずかにみられるのみであったが, Ca+PS+DO 添加の完全な系では著明であった (図 2) ことより, ヒト胎盤絨毛組織においても初めて C-kinase の存在を確認し得た。

今後本酵素の生化学的性質についてより一層の検索と, 胎盤の様々な機能や胎盤自身の発育増大などにおける C-kinase の関与についてもさらに解明の必要があると思われる。

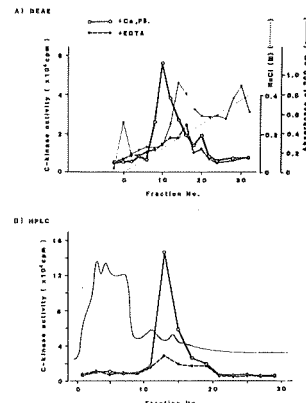


図 1 C-kinase の DEAE セルロースカラムクロマトグラフィー (A) および HPLC ゲル濾過 (B) による溶出パターン

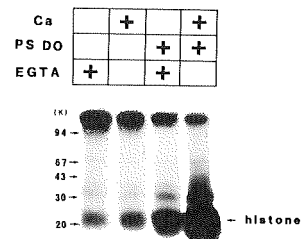


図 2 精製 C-kinase の histone を用いての autoradiogram

* 順天堂大学産婦人科教室

悪性症候群におけるスキンドファイバーのカフェイン拘縮（悪性高熱との比較）

荒木誠, 樋口逸郎, 高木昭夫, 杉田秀夫

はじめに

我々は、従来悪性高熱の病態研究や素因者の推定の為に、スキンドファイバーのカフェイン拘縮を指標として分析してきた。一方、悪性高熱に臨床的に類似した疾患として悪性症候群 (Syndrome malin) が知られている。今回スキンドファイバーのカフェイン拘縮を悪性症候群に応用し分析したので報告する。

対象と方法

対象は悪性高熱 6 例及び悪性症候群 7 例で、スキンドファイバーの筋小胞体に一定条件下で Ca を負荷後、0.1mM EGTA を含む溶液中で各種濃度カフェインにより拘縮を発生させた。カフェイン拘縮を生じる最低カフェイン濃度（閾値）及び最大拘縮の50%に必要なカフェイン濃度 (half maximum concentration, HMC) の両指標を用いて検討した。赤筋と白筋の分別は、Sr イオン及び Ca イオンによる収縮の活性化の違いにより決定した。

結 果

赤筋と白筋ではカフェイン拘縮に差があるため、各々の対照との比較が必要であった。閾値は悪性高熱 6 例中 6 例に、悪性症候群 7 例中 6 例に於いて低値を示した (図 1, 2)。HMC は、悪性高熱 6 例中 5 例に、悪性症候群 7 例中 5 例に於いて低値を示した。

考 察

悪性高熱と同様、悪性症候群においてもカフェインによる筋小胞体よりの Ca 遊離の異常が高率に認められ、悪性症候群の患者の全身麻酔に際しては慎重を要すると考えられた。悪性症候群は、脳内のドーパミンやセロトニンなどの neurotransmitter の変動によるものと考えられているが、その一部症候の発現に筋小胞体の Ca 遊離の異常が関与する可能性も考えられた。種々の neuroleptics の筋小胞体への影響について、さらに今後検討すべきと考えられた。

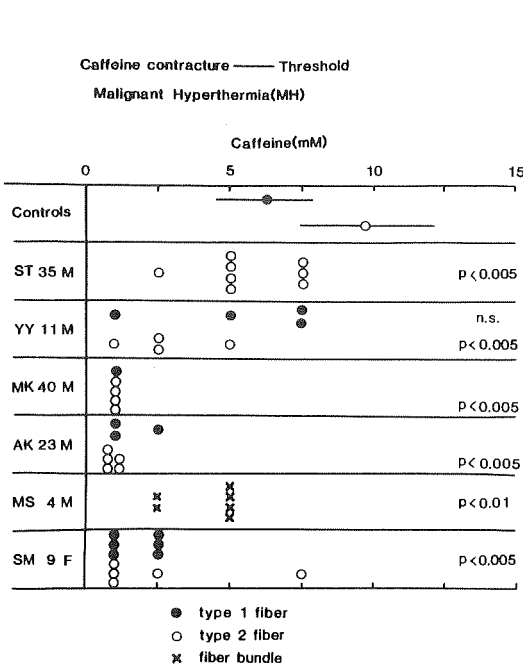


図 1

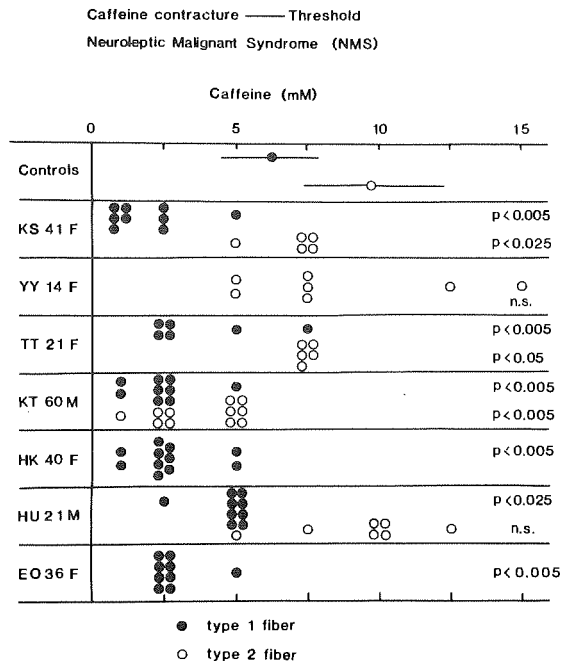


図 2

骨格筋の rimmed vacuole 形成部位における高 AMP deaminase 活性について

樋口逸郎, 埜中征哉, 石浦章一, 石原傳幸, 杉田秀夫

骨格筋の AMP deaminase (AMPDA) の細胞内局在を検索することを目的とし rimmed vacuole (RV) を伴う各種ミオパチーに注目し, AMPDA 染色とともに他の一連の組織化学的染色を行い比較検討した。

方法

Acid maltase 欠損症, RV を伴う遠位型ミオパチーの生検筋及び実験的にラットに作成したクロロキンミオパチーのひらめ筋の凍結切片について, 通常の組織学的及び組織化学的染色とともに AMPDA 染色を施行した。

結果

上記ミオパチーの骨格筋には共通して RV の形成が認められるが, この部位に一致して局所的な高 AMPDA 活性が認められた (図 1, 2)。またこの空胞部は acid phosphatase 染色でも高活性を示したが, NADH-TR, SDH, phosphorylase, ATPase など他の組織化学的染色では陰性であった。

考察

AMPDA 染色はテトラゾリウム塩を用いるが, テトラゾリウム塩を使用する他の染色, 例

えば NADH-TR, SDH などでは空胞部は陰性であること, また AMPDA 染色の反応液から基質である AMP を除いたテトラゾリウム塩のみの溶液では染色されなかったことより, 空胞部に認められた高 AMPDA 活性は特異的なものであると考えられる。AMPDA は骨格筋に最も特異性の高い酵素であるが, その細胞内局在に関してはミオシンと結合していることが報告されている。しかし AMPDA が高活性を示した RV の部位はミオシン ATPase 染色では陰性であった。したがって RV の部位に認められた AMPDA はミオシンと結合しているものではなく, 他の細胞内成分に由来する可能性が高い。RV は, autophagic vacuole であると考えられており, 空胞形成と高 AMPDA 活性が何らかの関連を有するものと考えられる。Autophagic vacuole の形成に伴い, 筋小胞体, T 管系, ゴルジ等の膜系の増殖が観察されることが報告されており, これらの内膜系の増殖が局所的な高 AMPDA 活性の出現に密接に関与している可能性がある。

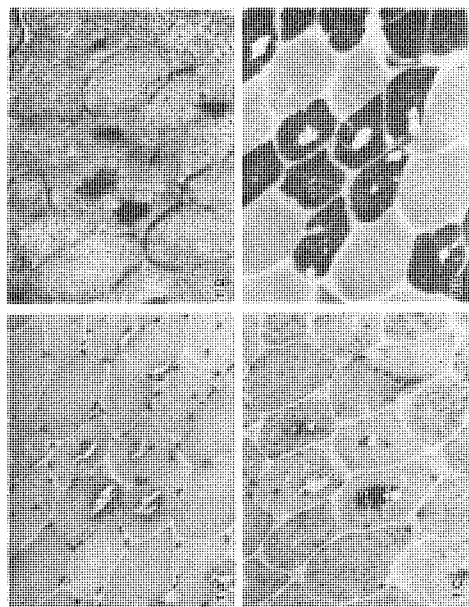


図 1 acid maltase 欠損症の生検筋の連続切片。

A : H & E, B : AMP deaminase,
C : acid phosphatase, D : ATPase.
(X500)

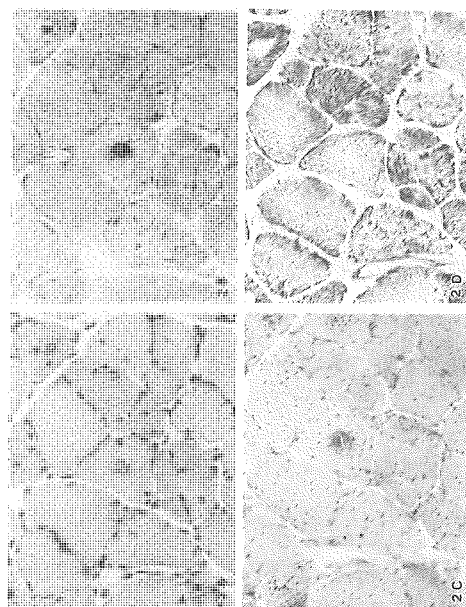


図 2 実験的クロロキンミオパチーのラットひらめ筋の連続切片。

A : H & E, B : AMP deaminase,
C : acid phosphatase, D : NADH-TR.
(X500)

3. 疾病研究第2部

1. 研究部一年の歩み

発達障害、特に精神遅滞および運動障害に関連の深い疾病の機序の解明と、予防・治療の開発を目的としてきた。主な研究課題は、母体環境の異常による胎児脳障害の生化学的ならびに形態学的研究、神経皮膚症候群特に結節性硬化症、多発性神経線維腫症などの本態に関する研究、無酸素性脳障害の臨床像および画像解析による病態の解析と実態調査、メタルの細胞内分布とその異常な動態に関する研究、神経系障害に関連する酵素の発達とその性質に関連する研究である。

昭和60年度に当部において研究活動に参加したメンバーは以下の通りである。

〔部長〕有馬正高、〔室長〕田中晴美、桜川宣男（小児神経科医長併任）、〔研究員〕工藤英昭、許斐博史、〔流動研究員〕佐藤充、岩崎説雄、〔研究員・賃金〕丸山（旧性野口）悦子、中沢一治、林昭子、竹花美博、〔研究補助〕須貝千恵子、久保田直美、石田浩子、牧野かつ枝、〔客員研究員〕猪俣賢一郎、〔併任研究員〕豊田桃三（小児神経科医員）。その他、小児神経科の平山義人医長、松坂哲應、鈴木文晴、須貝研司各医員、レジデント志倉圭子、曾根翠医師も随時臨床的事項について協力した。

人事の動きとして、昭和60年12月をもって工藤研究員が国立小児病院小児医療研究センター生態研究部研究員に配置換えとなった。同年12月25日に許斐博史研究員が米国ニュージャージー医科歯科大学生化学およびハーバード医科大学解剖・細胞生物学教室における研究を終えて復職した。竹花研究員は昭和60年8月下旬、米国留学のため退職した。武蔵療養所小児神経科豊田桃三医員が併任研究員として参加することになった。なお、佐藤・岩崎両研究員は昭和61年3月末日をもって流動研究員の任期が終了した。

本年度における主な研究実績については各研究担当者がそれぞれ記述、または、論文として発表される予定であるが、要点は以下のようなものがある。

(1) 母体環境の異常による胎児脳障害とその防止に関する実験的研究

前年度に引き続き、妊娠ラットを用いて各種条件下で胎児脳にみられる脳障害の生化学的解析を実施した。特に、放射線照射による実験的脳障害に対するビタミンEの防護効果を検討し、DNA減少の防止、および、樹状突起発達障害の予防効果を確認した。

(2) 結節性硬化症皮膚培養線維芽細胞における代謝異常に関する検討

オルニチン、グルタミン酸、グルタミン、プロリンの代謝動態についてオルニチン添加および非添加の条件下で検討し、本症培養細胞においてはグルタミン酸およびプロリンへの代謝に変化が存在する可能性を指摘した。

(3) Cockayne 症候群培養細胞の紫外線感受性に関する検討

培養線維芽細胞についてコロニー形成テストによる紫外線感受性の程度を検討し、類似の症状を示す例においても細胞株間における変異が存在することを明らかにした。

(4) 脳性麻痺の発生率の変化における周生期無酸素症の意義に関する研究

近年における脳性麻痺の発生率の減少の理由として周産期医療の進歩が果たした役割につき年度別に後方視的検討を加えた。脳性麻痺児における周生期仮死の比率は正常出生体重児において1970年以後有意に減少し、発生率の低下の重要な要素となっていることを明らかにし得た。

(5) 乳児一過性交互性片麻痺の病態に関する研究

症候分析、ポジトロンCTによる血流分布の解析、全国症例の収集等により、本症の診断基準、虚血との関連などを明らかにしつつある。

(6) ウイルソン病細胞内蛋白結合銅の分析

前年度にひきつづき、蓄積銅について蛋白分画の検討を行い、中枢神経系においてもメタロチオネイン分画の増加があることを認め、本症の神経症状の潜伏期および発現に関する役割りを推定した。なお、培養線維芽細胞において代謝異常を再現し得るか否かをメンケス病細胞と比較しつつ検討を続けている。

(部長 有馬正高)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Tanaka H, Iwasaki S, Inomata K, Nasu F, Nishimura S :
The protective effects of vitamin E on microcephaly in rats X-irradiated in utero: DNA, lipid peroxide and confronting cisternae
Dev Brain Res27 : 11-17, 1986
- 2) Tanaka H, Inomata K, Nishimura S, Arima M :
The protective effects of vitamin E against microcephaly in rats X-irradiated in utero: dendritic branches
Brain Dev 1986, in press
- 3) Tanaka H, Iwasaki S, Suzuki H, Arima M :
Biochemical analysis of cerebrum of fetal rats X-irradiated in utero. Content and composition of DNA, superoxide dismutase and lipid peroxide
Radiation Risks to the Developing Nervous System(ed by Kriegel H et al.), Gustav Fischer, Stuttgart, p231-243, 1986
- 4) 工藤英昭, 有馬正高, 桜川宣男, 豊田桃三, 二瓶健次, 飯尾正明 :
Mitochondrial encephalomyopathy の positron emission tomography(PET) 像
臨床放射線研究会雑誌 1 : 90-91, 1985
- 5) Konomi H, Seyer J M, Ninomiya Y, Olsen B R :
Peptide-specific antibodies identify the $\alpha 2$ chain as the proteoglycan-subunit of type IX collagen
J Biol Chem 1986, in press
- 6) 工藤英昭, 有馬正高, 棚瀬延, 鈴木康之, 岡成寛, 長博雪 :
脳性麻痺の発症－発症危険因子の分析, 並びに遺伝的背景－
脳神経 37 : 1043-1051, 1985
- 7) Kudo H, Arima M :
Prognosis of Wilson's disease
J Child Neurol 1986, in press
- 8) Yoshida Y, Hayashi A, Arima M :

Rapid rejoining of X-ray-induced DNA single-strand breaks in tuberous sclerosis fibroblasts

Mutat Res 146 : 211-218,1985

- 9) Yoshida Y, Arimoto K, Sato M, Sakuragawa N, Arima M, Satoyoshi E :
Reduction of acid sphingomyelinase activity in human fibroblasts induced by AY-9944 and other cationic amphiphilic drugs
J. Biochem 98 : 1669-1679, 1985
- 10) Iwasaki S, Tanaka H, Nakazawa K, Arima M :
Quantitative high-performance liquid chromatography of bases and nucleosides in cerebral DNA of rat foetus
J Chromatogr 341:182-186,1985
- 11) 中沢一治, 田中晴美 :
高速液体クロマトグラフィーによる生体液並びに組織中のカフェインとジメチルキサンチン類の定量
薬学雑誌 105 : 848-854, 1985
- 12) 野口悦子 :
中性スフィンゴリエリネースに関する研究
第1編 ラット脳細胞下画分における中性スフィンゴリエリネースの分布と発達脳における酵素活性の変動
日本小児科学会雑誌 90 : 100-105, 1986
- 13) 野口悦子 :
中性スフィンゴリエリネースに関する研究
第2編 ラット脳ミクロゾーム画分の中性スフィンゴリエリネースの精製とその性質
日本小児科学会雑誌 90 : 106-112, 1986
- 14) Hayashi A, Sato M, Arima M, Aoki T :
Increased cadmium resistance of skin fibroblasts from Menkes disease patients
Brain Dev 8 : 73-76,1986
- 15) 鈴木文晴, 志倉圭子, 平山義人, 有馬正高 :
重症心身障害児の反復性嘔吐・吐血について
医療 40 : 44-46, 1986

II 研究業績

- 16) Suzuki H, Tanaka H, Iwasaki S, Arima M :
Superoxide dismutase in fetal rat cerebrum X-irradiated in utero
Brain Dev 8 : 17-24,1986
 - 17) Sunohara N, Sakuragawa N, Satoyoshi E, Tanae A, Shapiro L J :
A new syndrome of anosmia, ichthyosis, hypogonadism and various neurological
manifestations
Ann Neurol 19 : 174-181,1986
 - 18) Nakayasu K, Tanaka M, Konomi H, Hayashi T :
Distribution of types I, II, III, IV and V collagen in normal and keratoconus corneas
Ophthalmic Res 18 : 1-10, 1986
- b. 著 書
- 1) 有馬正高 :
ビタミン B₆ 欠乏症と依存症
内分泌・代謝・栄養疾患, 図説臨床小児科講座11, メジカルビュー社, 東京, P 332-336,
1985
 - 2) 有馬正高 :
脳性麻痺の鑑別診断
Cerebral Palsy, For Understanding, Care and Help, (津山直一編), 同文書院, 東京,
P 219-230, 1985
 - 3) 有馬正高 :
小奇形, 変質徴候
小児神経学アトラス (福山幸夫監修), 診断と治療社, 東京, P 370, 1986
 - 4) 有馬正高 :
遺伝および遺伝相談, 先天奇形, 先天代謝異常
小児科学 (中山健太郎編) 第 5 版, 文光堂, 東京, P 228-277, 1985
 - 5) 有馬正高 :
神経疾患, 精神障害および行動異常, 筋および骨疾患
同上, P 596-647, 1985
 - 6) 有馬正高 :
予防・早期発見・医療の発展

精神薄弱者問題白書（日本精神薄弱者福祉連盟編）日本文化科学社，東京，P 50-52，1985

7) 有馬正高：

レッシュ・ナイハン症候群と高尿酸血症

今日の小児治療指針（加藤英夫，浦田久，山下文雄編）第6版，医学書院，東京，P 223-224，1985

8) 田中晴美：

胎児性アルコール症候群

小児神経学アトラス（福山幸夫監修）診断と治療社，東京，P 209，1986

9) 桜川宣男：

姿勢の異常

同上，P 39-43

10) 桜川宣男：

歩行障害

同上，P 56-62

11) 桜川宣男：

斜頭

同上，P 96

12) 桜川宣男：

上肢関節の変形と拘縮；変性疾患

同上，P 134

13) 桜川宣男：

下肢関節の変形と拘縮；変性疾患

同上，P 143

14) 桜川宣男：

多発性嚢胞腎，網膜色素上皮異常，小脳虫部欠損および脳幹形成不全を呈する家族性症候群

同上，P 211-214

15) 桜川宣男：

捻転ジストニア

同上，P 250-251

16) 許斐博史，永井裕：

抗コラーゲン抗体の作製法

コラーゲン実験法（永井裕，藤本大三郎編）講談社サイエンティフィック，東京，P145-153, 1985

c. 総 説

1) 有馬正高，工藤英昭：

精神遅滞の頻度と成因分類 1. 有病率
発達障害研究 6：308-313, 1985

2) 有馬正高，工藤英昭：

精神遅滞の頻度と成因分類 2. 成因別有病率
発達障害研究 7：61-70, 1986

3) 有馬正高，工藤英昭：

精神遅滞の頻度と成因分類 3. 成因別発生率・近親の危険率
発達障害研究 7：136-145, 1986

4) 有馬正高，田中晴美，工藤英昭：

精神遅滞の成因と臨床像
総合リハビリテーション 13：409-416, 1985

5) 有馬正高：

精神遅滞の医療の現状と展望
こども医療センター医学誌 14：269-273, 1985

6) 田中晴美：

母体要因による脳障害
脳神経 37：1033-1041, 1985

7) 田中晴美：

アルコールをめぐるトピック。胎児性アルコール症候群
CLINICAL NEUROSCIENCE 3：1126-1127, 1985

8) 田中晴美：

特殊な IUGR の症例。胎児性アルコール症候群
周産期医学 16：277-280, 1986

d. 症例報告

1) 東條恵，須貝研司，桜川宣男：

Tay-Sachs 病にて反復して出現した CT 上の白質低吸収帯について

脳と発達 17:273-275, 1985

2) 東條恵, 桜川宣男, 埜中征哉, 石原昂 :

精神発達遅滞, 感音性難聴, 小脳症状を伴った motor sensory neuropathy の10才女児例

脳と発達 17:271-273, 1985

3) Tateno A, Matsui A, Sakuragawa N, Nonaka I, Arima M :

Two siblings with multiple intracranial haemangiomas with calcification

J Neurol 232:112-114,1985

4) 館野昭彦, 笹本明義, 佐藤重雄, 青木継稔, 東條恵, 有馬正高 :

D-penicillamine 療法中, 重篤な副作用を生じた Wilson 病の2症例

小児科診療 48:2384-2388, 1985

e. 班会議報告書

1) 有馬正高 :

発達障害児の早期発見・早期療育のシステム化に関する研究

厚生省心身障害・母子保健システムの充実に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 119-121, P 158-159, P 195-196, 1985

2) 有馬正高, 吉田豊, 林昭子, 竹花美博, 田中晴美 :

神経皮膚症候群の細胞生物学的研究—Recklinghausen 病培養細胞の検索—

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群研究班, 昭和59年度研究報告書, P 202-209, 1985

3) 有馬正高, 佐藤充, 東條恵, 館野昭彦, 林昭子, 松坂哲應, 田村祐輔 :

Wilson 病および Menkes kinky hair 病の治療薬剤の開発に関する研究

厚生省新薬開発・制がん剤としての金属錯体等開発研究班, 昭和55-59年度研究報告書, P 151-157, 1985

4) 有馬正高, 佐藤充, 林昭子 :

ウィルソン病培養線維芽細胞を用いた ^{64}Cu 代謝の検討

厚生省神経疾患・遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究班, 昭和60年度研究報告書, P 43-47, 1986

5) 田中晴美, 岩崎説雄, 鈴木文晴, 有馬正高 :

小頭症における脳障害のメカニズムに関する研究—X線小頭症—

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究班, 昭和59年度研究報告

II 研究業績

書, P 49-55, 1985

6) 田中晴美, 中沢一治, 岩崎説雄, 有馬正高 :

母体の外因にもとづく精神遅滞の発生機序・予防に関する研究

1. カフェインによる脳障害発生に関連する因子の検討

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 9-12, 1985

7) 桜川宣男 :

低酸素症に基づく胎生期脳障害の生化学的研究

厚生省神経疾患・低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究班, 昭和59年度研究報告書, P 307-318, 1985

8) 桜川宣男, 豊田桃三, 工藤英昭, 有馬正高, 里吉栄二郎 :

$^{11}\text{CO}_2$ による dynamic positron emission tomography の意義と臨床応用について—局所脳血流量と局所脳 pH 測定について—

厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班, 昭和59年度研究報告書, P 92-115, 1985

9) 島菌安雄, 桜川宣男, 松坂哲應, 豊田桃三, 末広牧子 :

^{13}C 一呼気テストによる PMD 患者の脂肪酸代謝の研究

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の療護に関する臨床および心理的研究班, 昭和59年度研究報告書, P 267-271, 1985

10) 里吉栄二郎, 桜川宣男, 佐藤充, 吉田豊, 加茂功, 有馬正高 :

DMSO および関連薬剤による人皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性の誘導について

ニーマン・ピック病細胞の薬物療法について

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝治療薬の開発研究班, 昭和59年度研究報告書, P 103-112, 1985

f. その他

1) 有馬正高 :

小児神経学

臨床医学の展望—1985年版— (木本誠二・山村雄一監修) 日本医事新報社, 東京, 1985, P 24-29

2) 竹花美博, 有馬正高 :

微量試料の定量化のためのドットプロット装置

生化学 57 : 1535-1538, 1985

B. 学会発表

a. シンポジウム

1) Tanaka H, Iwasaki S, Suzuki H, Arima M :

Biochemical analysis of cerebrum of fetal rat X-irradiated in utero-Content and composition of DNA, superoxide dismutase and lipid peroxide-

GSF Symposium on Radiation Risks to the Developing Nervous System, Neuherberg, June 19, 1985

2) 田中晴美, 有馬正高 :

ヒトの脳障害のモデルとしての動物試験の意義・問題点—生化学的・薬物動態的解釈—

ミニシンポジウム, 発生毒性の動物試験とその評価 第25回日本先天異常学会, 京都, 7. 13, 1985

3) Olsen B R, Ninomiya Y, Konomi H, Lozano G, Vasios G, Seyer J, Eikenberg J :

A novel class of collagen genes in vertebrates : type IX collagen

International Symposium on Biology and Chemistry of Basement Membranes, Mishima, June 25, 1985

b. 国際学会

1) Konomi H, Ninomiya Y, Olsen B R :

Tissue-specific expression of short-chain collagens

10th International Congress of Society of Developmental Biologists, Los Angeles, California, August 8, 1985 (Cell Differentiation 16 Suppl : 107, 1985)

c. 一般学会

1) 田中晴美, 有馬正高, 猪俣賢一郎, 西村茂 :

ビタミンEによる胎生期X線小頭症の防護効果

第27回日本小児神経学会, 東京, 7.18, 1985

2) 桜川宣男, 松坂哲應, 豊田桃三, 平山義人, 島菌安雄, 末広牧子 :

進行性筋ジストロフィー症 (PMD) における糖代謝異常について

第27回日本小児神経学会，東京，7.20，1985

- 3) 桜川宣男，佐藤充，吉田豊，有馬正高，里吉栄二郎：

Dimethylsulfoxide (DMSO) によるニーマン・ピック (N-P) 病皮膚線維芽細胞の酵素欠損修復について

第27回日本小児神経学会，東京，7.20，1985

- 4) 桜川宣男，佐藤充，加茂功，有馬正高，里吉栄二郎：

DMSO による人皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性誘導 (続報)

第58回日本生化学大会，仙台，9.27，1985

- 5) 桜川宣男，佐藤充，加茂功，有馬正高，里吉栄二郎：

皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性上昇作用を呈する薬剤のスクリーニングおよび極性化合物によるニーマン・ピック病細胞の酵素欠損修復について

第28回日本先天代謝異常学会，熊本，11.13，1985

- 6) 野口悦子：

中性スフィンゴミエリナーゼは神経成熟の指標酵素か？

第58回日本生化学会大会，仙台，9.27，1985 (生化学57(8)：1034)

- 7) 野口悦子：

中性スフィンゴミエリナーゼと酸性スフィンゴミエリナーゼは同一蛋白か？—アミノ酸組成と免疫学的検討—

第28回日本神経化学学会大会，熊本，11.6，1985 (神経化学24：571-574)

- 8) 鈴木文晴，田中晴美，有馬正高：

子宮内X線被曝ラット胎仔大脳の superoxide dismutase (SOD)

第27回日本小児神経学会，東京，7.18，1985

- 9) 曾根翠，桜川宣男，木佐俊郎，吉岡博，有馬正高：

急性の経過をとり，インターフェロンが有効であった亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) の1例

第27回日本小児神経学会，東京，7.19，1985

- 10) 須貝研司，桜川宣男，有馬正高：

ステロイドにより悪化したと思われる慢性再発性多発性神経炎 (RDP) の1例——ステロイド著効例との比較検討

第27回日本小児神経学会，東京，7.20，1985

- 11) 豊田桃三，松坂哲應，曾根翠，桜川宣男，工藤英昭，有馬正高：

脱髄疾患のポジトロンCT

第27回日本小児神経学会，東京，7.20，1985

- 12) 曾根翠，石川弘，桜川宣男，有馬正高：

Sanfilippo 症候群に見られた oculogyric crisis

第94回日本神経学会関東地方会，東京，10.5，1985

- 13) 曾根翠，松坂哲應，桜川宣男，宮尾晃代，田平武：

多彩な自己免疫反応を呈した小児多発性硬化症の一例

第95回日本神経学会関東地方会，東京，12.7，1985

- 14) 宮里良万，桜川宣男，有馬正高，東條恵，多賀俊明：

Sanfilippo 症候群，type C の1例

第96回日本神経学会関東地方会，東京，2.21，1986

- 15) 須貝研司，桜川宣男，有馬正高，鈴木康之：

Menkes kinky hair 病の非定型例

第28回日本先天代謝異常学会，熊本，11.13，1985

C. 班会議発表

- 1) 有馬正高，工藤英昭，豊田桃三：

無酸素症にもとづく脳障害の臨床的研究

厚生省神経疾患・発達期における脳循環障害の成因と治療に関する研究班，第2回研究報告会，神戸，2.21，1986

- 2) 有馬正高，田中晴美，林昭子：

培養線維芽細胞を用いた神経皮膚症候群の細胞生物学的検討

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班，第1回研究報告会，東京，10.31，1985

- 3) 田中晴美，岩崎説雄，猪俣賢一郎：

母体の外因にもとづく精神遅滞の発生機序・予防に関する研究

2. 母体投与ビタミンEによるX線小頭症の生化学的・形態的防護

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究班，昭和60年度第2回総会，東京，1.31，1986

- 4) 田中晴美，中沢一治，有馬正高：

母体の外因にもとづく精神遅滞の発生機序・予防に関する研究

3. 母体のカフェインによるラット胎仔大脳発育に影響する因子

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究班，昭和60年度第2回総会，東京，1.31，1986

5) 田中晴美，有馬正高，林昭子：

結節性硬化症皮膚培養細胞におけるオルニチン，プロリン，グルタミン酸の動態

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班，昭和60年度第2回総会，東京，2.27，1986

6) 桜川宣男：

羊膜移植による酵素移植療法の研究

文部省特定研究「先天性代謝病の病因解析と治療に関する研究班，昭和60年度末研究会議，東京，1.17，1986

7) 桜川宣男，豊田桃三，前田香織：

小児交互性片麻痺とCa拮抗剤（フルナール）の治療効果について

厚生省神経疾患・発達期における脳循環障害調査研究班，第1回班会議，東京，10.11，1985

8) 桜川宣男，豊田桃三，前田香織，新井幸男：

小児交互性片麻痺の臨床と第1次全国実態調査について

同上，第2回班会議，神戸，2.21，1986

9) 桜川宣男，末広牧子，島藺安雄：

進行性筋ジストロフィー症（Duchenne型）における糖代謝異常

厚生省神経疾患・筋ジストロフィーの療護に関する臨床および心理学的研究班，東京，12.12，1985

10) 桜川宣男，豊田桃三，新井幸男：

脱髄疾患におけるPET像

厚生省神経疾患・サイクロトン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班，東京，9.14，1985

11) 桜川宣男，豊田桃三，新井幸男：

Mitochondrial encephalomyopathy の ^{14}C -Pyruvate の PET 像

同上，東京，2.15，1986

12) 佐藤充，有馬正高，林昭子：

Wilson 病培養細胞の細胞生物学的研究

厚生省神経疾患・遺伝性代謝異常による中枢神経障害研究班，第1回研究報告会，東京，

2.30, 1986

13) 佐藤充, 有馬正高, 田中晴美, 林昭子 :

金属代謝異常にもとづく脳障害の治療薬剤の開発

厚生省新薬開発・臓器特異性貴金属リガンドの開発に関する研究班, 第1回班会議, 東京,

3.22, 1986

14) 鈴木文晴, 田中晴美, 松坂哲應, 平山義人, 桜川宣男, 有馬正高, 館野昭彦, 東條恵,

鈴木康之 :

Rett 症候群の臨床的研究～典型例 8 例, 非典型例 2 例について, 特に乳幼児期からの神経徴候の経時的変化について～

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生子防に関する研究班, 昭和60

年度 ワークショップ, 東京, 10.1, 1985

D. 研究会など

1) 有馬正高 :

精神遅滞—原因・病名・頻度・臨床検査

第2回精神薄弱医学セミナー, 日本精神薄弱者福祉連盟, 東京, 8.31-9.1, 1985

2) 桜川宣男 :

小児交互性片麻痺におけるフルナールの治療経験

脳血管障害に関する学術講演会, 東京, 1.25, 1986

3) 堂園彰子, 桜川宣男, 有馬正高 :

歩行障害, 構音障害, ジストニア及び錐体路症状を呈した一家系について

第15回三多摩神経疾患懇話会, 東京, 9.28, 1985

4) 須貝研司, 堂園彰子, 松尾多希子, 桜川宣男, 有馬正高 :

脳波モニター下ビタミン B₆ 静注による點頭てんかんに対するビタミン B₆ の効果の予測

第13回関東小児てんかん研究会, 東京, 2.22, 1986

5) 須貝研司, 桜川宣男, 館野昭彦, 上嶋准嗣, 佐藤順一, 森松義雄 :

視床, 淡蒼球, Luys 体, 小脳, 前庭神経核などの神経細胞脱落, グリオースと, 橋核, 薄束核, 蝸牛神経核などのスフェロイド・空胞化を示し肝脂肪変性を伴う乳児期発症の同胞例

第22回臨床神経病理研究会, 東京, 11.30, 1985

6) 松坂哲應, 桜川宣男, 桑原英明, 埜中征哉 :

網膜血管異常を伴った顔面・肩甲・上腕ジストロフィーの1 幼児期発症例

第14回三多摩神経疾患懇話会, 東京, 4.13, 1985

3. 主な研究報告

母体投与ビタミンEによるX線小頭症の生化学的・形態的防護

田中晴美, 岩崎説雄, 猪俣賢一郎

胎生期X線照射胎仔小頭において, DNA 濃度低下, DNA と蛋白のクロスリンク, 過酸化脂質の増加, Cu, Zn-SOD 活性の未発達を認めている。発達期大脳へのイオン化放射線の影響はDNA への直接の障害あるいは発生する酸素遊離基にもとづく過酸化脂質の増加などによる間接的障害が考えられる。酸素遊離基のscavenger であり抗酸化剤でもあるビタミンEの効果を生化学的・形態的に検討した。

方法

ウイスター系妊娠ラットに水(W)あるいは0.03%酢酸dl- α -トコフェロール(V)を飲料水として投与, 妊娠13日100RのX線を照射, 妊娠21日胎仔大脳を使用した。大脳中DNA, 過酸化脂質を測定。さらに前頭部大脳皮質の錐体細胞と考えられる神経細胞のゴルジ染色, 電顕による所見を検討した。

結果

- ① 大脳重量, 大脳DNA濃度, 大脳過酸化脂質値(表1): 照射された場合, W投与に比し, V投与では, ある程度の平均大脳重量増加, 平均DNA濃度増加, 平均過酸化脂質値の低下が認められた。
- ② ゴルジ染色による神経細胞の樹状突起のブランチの発達(表2): V投与照射群ではWあるいはV投与の非照射群レベルには達しないが, W投与照射群より樹状突起のブランチは良好な発達を示した。
- ③ 電顕所見: V投与照射群では他3群に比し数倍高頻度にconfronting cisternaeと称される構造が核膜と核膜との間に認められた。

考察・結論

X線照射, 発達期大脳へのV投与は, 上記因子において良好な結果を示したが, これらの程度は異っている。大脳重量への影響は少なく, 大脳DNAへの作用はX線の介在しない直接の影響が強い。一方, 過酸化脂質や樹状突起のブランチの発達への効果はX線照射に対するVの防護作用と考えられる。電顕所見はX線照射に対するVのhyperactiveな反応と推定する。これらの結果は, 神経細胞の増殖期におけるVの投与はX線照射のみでなく, 酸素遊離基の生ずるあるいは過酸化脂質生成の増加する病態に

おいて, 脳障害軽減に有効であることを示唆すると考える。

表 1

Mean weight, DNA and lipid peroxide in the fetal cerebrum

	Weight		DNA		Lipid peroxide	
	% (mg)	(no of fetuses)	% (mg/g wet wt)	(no of samples)	% (nmol MDA/g wet wt)	(no of samples)
W:X-100R	100(116)	(43)	100(4.91)	(10)	100(41.4)	(11)
W:control	128	(44)	109	(8)	82	(10)
V:control	128	(31)	119	(8)	80	(7)
V:X-100R	105	(52)	113	(8)	87	(9)

Significant differences between the groups:] p<0.01, } p<0.05.

表 2

Total number of dendritic branches per order in 30 neurons from the frontal cerebral cortex of fetuses

	Branching order number			
	% (1-2)	% (3-4)	% (5-6)	% (7-8)
W:X-100R	100 (173)	100 (121)	100 (35)	100 (2)
W:control	172	216	591	3450
V:control	193	245	526	3050
V:X-100R	191	240	394	800

Significant differences between the groups with Mann-Whitney's U test:] p<0.01, } p<0.05.

胎内X線照射によるラット胎仔大脳クロマチンのDNA-蛋白 Crosslink

岩崎説雄, 田中晴美

我々はX線照射による実験的小頭症ラットを用い、発達脳の脳障害のメカニズムを生化学的に検討している。先の実験から、ラット胎仔大脳DNAの単離過程のうち、分離核と単離DNAにおいて、胎内X線照射群では対照群に比べ、DNAに対する蛋白量の割合が高い傾向を認めた。一方、電離放射線は細胞に対し核濃縮やDNA-蛋白 crosslink など、コンフォメーションの変化をもたらすことが *in vitro* の系で知られている。そこで胎内X線照射した胎仔の、照射8日後の大脳クロマチンにおけるDNA-蛋白 crosslink の形成を検討した。

材料と方法

妊娠13日のウィスター系雌ラットにX線100Rまたは200R全身回転照射し、妊娠21日に帝切により胎仔を摘出した。大脳クロマチンは、分離核よりイオン強度を段階的に減少させて調製した。DNA-蛋白 crosslink は filter binding assay により検討し、DABA を用いた蛍光法により測定したクロマチン総DNAに対するフィルター残留DNAの割合で比較した。

結果と考察

胎仔大脳核とクロマチンの大脳湿重量当たりのDNA, RNA, 蛋白量を表1に示した。各成分に対するX線照射の影響は核、クロマチンとも類似した傾向を示し、DNAの低下、蛋白/DNAの増加がみられたが、照射線量による変化はなかった。核に対するクロマチンのDNA, RNA, 蛋白の割合は各々約75%, 45%, 63%で照射による影響はなかった。

クロマチン総DNA量に対するフィルター残留DNA量の割合は、表2に示したように対照群:24.9%に対し、照射群では100R:26.1%, 200R:26.3%で、照射に伴い増加傾向を示した ($P < 0.10$)。照射群間では差がなかったことから、さらに100R, 200Rでの値をプールして対照群と比較したところ、5%水準で有意差を示した。

X線または γ 線照射による *in vitro* での実験、あるいは発ガン剤を用いた *in vivo* での研究から、DNA-蛋白 crosslink はDNA-本鎖切断等と異なり、形成後の酵素的修復を受け難いが、それによって細胞死まで到らず、遺伝情報の転写、DNAの複製阻害に関与するといわれている。今回の実験から、胎内X線照射を受

けたラット胎仔大脳には照射8日後でも crosslink が残存することが明らかになった。このことはX線照射による小頭症では、DNA-蛋白 crosslink が増加し、ニューロンでの遺伝情報の転写またはDNA複製などの障害が起こっていると考えられ、これが発達脳の障害を引き起こしているものと推測された。

表 1

TABLE I
Chemical Compositions of Nuclei and Chromatin from Fetal Cerebrum

	DNA (mg/g wet wt)	RNA (mg/g wet wt)	Protein (mg/g wet wt)	RNA/DNA	Protein /DNA
Nuclei					
Control(18)	2.35	0.49	10.97	0.209	4.64
X-100R (11)	2.11*	0.46	10.25	0.216	4.87*
X-200R (11)	2.13*	0.46	10.32	0.214	4.83*
Chromatin					
Control(18)	1.72	0.22	6.70	0.127	3.89
X-100R (11)	1.57*	0.21	6.51	0.134	4.12*
X-200R (11)	1.58*	0.21	6.50	0.132	4.13*

Mean(No. of samples), * $P < 0.05$

表 2

TABLE II
Formation of DNA-Protein Crosslinks in Chromatin from Fetal Cerebrum

	DNA(mg/g wet wt)		B/A(%)
	Whole chromatin (A)	Filter retained (B)	
Control(18)	2.83	0.70	24.9
X-100R (11)	2.56	0.67	26.1
X-200R (11)	2.53	0.67	26.3
X-100R+ X-200R(22)	2.54*	0.67	26.2*

Mean(No. of samples), * $P < 0.05$

結節性硬化症培養細胞におけるオルニチン，プロリン，グルタミン酸の動態

田中晴美，中沢一治

結節性硬化症 (TS) 病変部における構造上の特徴としてコラーゲンの増殖がある。TS 腫瘍組織におけるヒドロキシプロリン (Hypro) の増加，TS 患者尿中への Hypro 排泄の増加，TS 患者血清中の遊離プロリン (pro) 増加は報告した。血清中に増加する遊離 pro の内因性的の前駆アミノ酸としてオルニチン (Orn) とグルタミン酸 (Glu) をとりあげ，培養線維芽細胞を用いてその動態を検討した。

方法

コントロールの正常皮膚 6 株，TS 患者からの正常皮膚 7 株，腫瘍部 5 株を使用。実験継代のみ Eagle's MEM 加 10% 透析牛胎仔血清に 0.1 mM L-Orn 添加の有無 (+, -) にて培養。Ornithine aminotransferase (OAT) 活性測定および培養液，細胞中の 5% TCA 可溶および不溶画分のアミノ酸を HPLC にて分析した。

結果

測定値は，コントロールは平均±1SD で示し，TS 正常部を白丸印で，TS 腫瘍部を黒丸印で図示した。

① OAT 活性 (図 1) : 比較的軽度な処理方法 (water-bath-type) による酵素源を用いると TS 細胞とくに腫瘍部の OAT 活性は低値を示した。しかし，より強力な処理方法 (tip-type) では TS 腫瘍部において Orn ⊖ でむしろ高値であった。

② 培養液中遊離アミノ酸 (図 2) : 細胞蛋白あたりの Glu, Glu/グルタミン (Gln, 3 群に差なし) とともに TS 腫瘍部で高値であった。

③ 細胞中遊離アミノ酸 (図 3) : 細胞蛋白あたりの Pro, Glu/Pro (3 群に差なし) とともに，Orn ⊕ において TS 腫瘍部では Pro が低値であることを示した。

考察・結論

Orn から Pro への経路に關与する OAT 活性の結果からは，TS 細胞とくに腫瘍部では酵素蛋白の収量に抑制のかかるような細胞内変化の可能性および Orn ⊖ での Pro への代謝回転の亢進が推定される。Pro の結果からは，TS 腫瘍部においては一方では Pro から Glu への代謝回転の亢進の可能性を示し，他方では Pro から Hypro をへてコラーゲンへの合成の亢進の可能性が考えられる。Glu の結果からは，TS 腫瘍部では Glu が毒性を有して放出されるの

か，より必要とされるかのいずれかが考えられる。以上から，TS 腫瘍部では，Orn → Pro → Glu への代謝回転の亢進が示唆される。

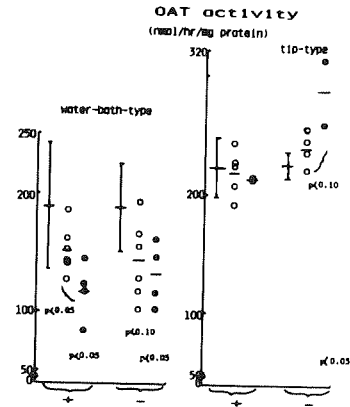


図 1.

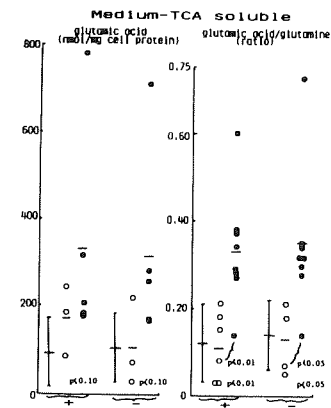


図 2.

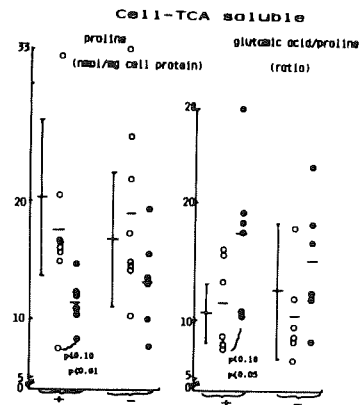


図 3.

乳幼児交互性片麻痺の病因論的アプローチと第一次全国実態調査について

桜川宣男, 豊田桃三

乳幼児交互性片麻痺 (Alternating hemiplegia in infancy, 以下 AHI と略す) は, 乳幼児期に発症し, 弛緩性または痙攣性片麻痺が発作的に左右に出現する疾患である。本症は原因不明であり, 治療法も確立されていない。さらに種々の神経学的異常および知能障害を伴う事より, 近年我が国でも注目されるようになった。原因論的に脳血管障害説が唱えられ, また Ca 抵抗剤の有効性について報告がなされている。我々は AHI 3 例を経験し, 種々の原因論的アプローチを行っている。また AHI の第 1 次全国実態調査を施行したので集計結果を報告する。

症例 1. 3 才 2 ヶ月, 女兒。症例 2. 4 才, 女兒。症例 3. 16 才, 女兒。これらの症例は, Krägeloh and Aicardi (1980) の提唱した次の診断基準に一致する症状を持っていた。(1) 発症が 18 ヶ月以前。(2) 反復する片麻痺発作。(3) 下記症状が片麻痺発作に伴伴するかまたは独立に発作性に出現する事もある。即ち強直発作, ジストニー姿勢, ヒヨレア・アテトーゼ運動, 異常眼球運動, 自律神経症状 (発汗, 皮膚潮紅または蒼白, 呼吸不全など)。(4) 経過初期より知能障害または神経学的異常の出現。

〔特殊検査所見〕

PET 所見: 症例 1 の $C^{15}O_2$ 画像にて左半球全体に RI 取り込み不良であり, 脳血流量低下が疑われた。症例 2 では, rCBF および rCMRO₂ が右側尾状核において低下している像が観察された。症例 3 では異常所見を認めなかった。

Neurotransmitter とプロスタグランジン: 髄液中 HVA は症例 1 (非麻痺時) と症例 2 (麻痺時) では軽度低下し, 症例 3 (非麻痺時) では軽度上昇。髄液中 5-HIAA は症例 1 で低下, 症例 3 で軽度上昇。血中 HVA は症例 3 で軽度低下。尿中アドレナリンは症例 1 と 2 で上昇。尿中 5-HIAA は症例 1 で軽度低下し, 尿中ドーパミンは症例 3 で低下。他の neurotransmitter は異常なかった。血中のプロスタグランジン (PGE, 6-Keto PG F_{1α}, PGF_{2α}, TXB₂) は症例 2 と 3 で麻痺・非麻痺時共に有意な異常なし。

PET による γ CBF について, 症例 1 と 2 で低下, 症例 3 で著変なかった事は, γ CBF の変化が恒常的変化でない可能性がある。局所脳血管の Spasms と関連していると推察されるが,

血管の収縮・拡張に関与する PG_s と TXB₂ 等異常は認めていない。また血管性偏頭痛で変化するとされている neurotransmitter は, 症例によって一定の傾向は認めず, AHI の病態を説明しうる所見は得られなかった。

AHI 全国第 1 次実態調査の集計結果:

調査はアンケート方式で行った。質問表には Krägeloh and Aicardi (1980) の診断基準に類縁疾患の除外項目を加えた表を提示し, 症例の有無, 年齢, 性, 反復する片麻痺の発症年齢, 偏頭痛の家族歴および診断基準を満たす項目について質問した。領布先は全国の国公立および私立大学医学部小児科と脳外科, 病床 200 以上の国公立と私立総合病院の小児科, 国立療養所, 肢体不自由児施設, 同療護施設, 同通園施設, 重症心身障害児施設の計 1170 箇所である。

アンケートの解答率は約 72% であった。本症「有り」の報告は 22 施設, 27 症例であった。地域別では東京 6 例, 埼玉県 3 例, 栃木県 2 例, 大阪府 2 例, 北九州市 2 例, 他 12 県に各 1 名である。年齢は 5 才以下 14 名, 6~9 才が 9 名, 13~17 才が 5 名。男児 12 名, 女児 15 名。片麻痺発症年齢は 6 ヶ月以前が 11 名, 6~11 ヶ月が 7 名, 1 才が 5 名。偏頭痛の家族歴「あり」は 4 名, 「無し」は 12 名。診断基準のうち (1) と (2) は詳細不明が 1 例。(3) については 5 例が満たしておらず, (4) は 4 例が満たしていない。除外診断については, 12 例において記載がないか, または筋生検を行っていないため不可能との意見があった。治療に関してはジアゼパム, クロナゼパムが一部有効の例があり, フルナールは 1 例で試みられ無効であった。

AHI は 1971 年 Verret and Steal らによりはじめて報告されてから症例報告が増えている。1980 年 Krägeloh and Aicardi が従来の報告例をまとめて診断基準を提唱した。当時までに診断基準を満たす症例は 19 例であったが, 今回我々の全国調査では 27 症例が存在する事が判明した。さらに 2 次全国実態調査を行っている最中であるが, 本症の実態がさらに明らかになるものと考えられる。

本症はその疾患概念についての認識が広まっていなかったため, 今後はさらに症例が増える事も予想される。発達期に生ずる脳障害の一疾患単位として独立性が唱えられており, 今後本態究明と治療法の確立が急務である。

Pyruvate-1-¹¹C による Positron Emission Tomography の ミトコンドリア代謝異常症への応用について

—ミトコンドリア脳筋症の Pyruvate-1-¹¹C PET 像—

豊田桃三, 新井幸男, 桜川宣男

ミトコンドリア脳筋症は、ピルビン酸の酸化以降、TAC サイクル、呼吸鎖のミトコンドリア代謝の異常による疾患とされる。臨床的には筋力低下、痙攣、ミオクロームス、片麻痺および痴呆など様々の症状をきたし、Kearns-Shy syndrome, MELAS, MERRF などが知られている。これらの疾患では、血清ないし髄液の乳酸・ピルビン酸の上昇をみとめることがあり、ミトコンドリア代謝異常症ではピルビン酸代謝に変化をきたしていることが予測される。

In vivo でこれら疾患の脳内ピルビン酸代謝を調べる一方法として、pyruvate-1-¹¹C を用いてポジトロン CT を施行し検討した。

方 法

酪酸菌のピルビン酸・フェレドキシン酸化還元酵素の作用を使って非放射性ピルビン酸のカルボキシル基と¹¹CO₂とを交換反応させ pyruvate-1-¹¹C を合成し、精製した。これを患者に one shot 静注にて投与し、静注直後より PET スキャンを開始した。OM line に平行に OM 上40mm, 57.5mm および75mm の3スライス of PET 像を作成し、1画像の data sampling time を約6分間とし連続6画像を作成した。

結 果

症例1は、四肢のミオクロームス、痙攣および筋力低下を主徴とし、血清乳酸・ピルビン酸値の上昇をみとめ、筋生検では ragged-red fiber がみとめられた MERRF が考えられる症例。pyruvate-1-¹¹C を用いた PET 像では、大脳皮質および基底核への¹¹C の集積をみとめ、継時的には¹¹C の残存傾向がみられ¹¹C クリアランスの低下が認められた。

症例2は、四肢のミオクロームス、失調症状および性格変化を主徴とし、血清および髄液の乳酸・ピルビン酸値の上昇をみとめ、CT スキャンでは変動する多巣性低吸収域がみられ MELAS が考えられる症例。pyruvate-1-¹¹C を用いた PET 像および同レベルの CT 像を図に示す。

CT 上の low density 領域ないしその周辺領域に著明な¹¹C の集積をみとめ、症例1と同様に継時的に¹¹C の残存傾向をみとめ¹¹C クリア

ランスの低下が認められた。また、経過中 CT の low density area の変動がみられたが¹¹C の集積部位もほぼそれに対応して変動した。

考 察

正常脳組織では、ピルビン酸は大部分が Acetyl Co A より TCA サイクルへ入る代謝経路をたどると考えられている。pyruvate-1-¹¹C はこのピルビン酸から Acetyl Co A が生成される過程で脱炭酸され、¹¹C は急速に組織から消失すると考えられるが、本症例の PET 像で¹¹C の著明な集積部位ないし¹¹C クリアランスの低下がみとめられたことは、正常なピルビン酸代謝の障害によりピルビン酸→乳酸への代謝系が優位に働いていることを示唆している。これは本症例で血清ないし髄液の乳酸値が上昇していることも対応している。

本症例の検討からミトコンドリア脳筋症における pyruvate-1-¹¹C を用いたポジトロン CT は、その¹¹C の集積とクリアランスの低下する所見により脳組織内の乳酸蓄積を in vivo で確認しうる可能性があると考えられた。

文 献

- 1) 井樋六郎, 原敏彦: ピルビン酸-1-¹¹C の合成とこれによる腫瘍の撮像, 昭和59年度サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究報告書。
- 2) Salvatore DiManro, et al.: Mitochondrial Myopathies, Annals of Neurology 17: 521-538, 1985.

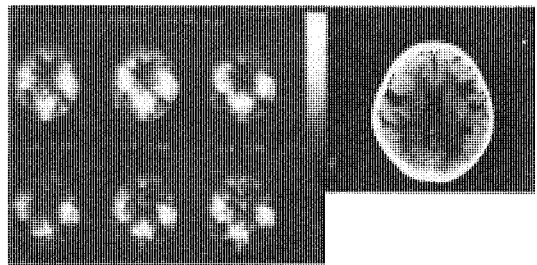


図 PET 像 (OM 上57.5mm) CT 像

羊膜細胞移植法の基礎的研究

桜川宣男, 加茂功, 佐藤充

Akleら(1981年)は人羊膜上皮細胞にはHLA, -A, -B, -Cおよび-DR抗原および β_2 マイクログロブリンが存在しない事を報告した。またAdinolfiらは人羊膜上皮細胞は多種類のライソゾーム酵素を含有し, かつ本組織の移植法は, 拒否反応の危険性が少なく, 免疫抑制剤を使用する必要がないという理由で, 先天性代謝異常症への有効性を提唱した。そこで我々は本法の臨床の有効性を確認するために, 動物実験および羊膜細胞培養を行い, 本法の応用発展性について検討した。

対象方法

〔羊膜移植の動物実験〕正常妊娠マウス(BALB/C)とラット(Wistar)の羊膜を剥離し, 各種のライソゾーム酵素活性を測定した。無菌的に取り出した羊膜を正常マウスの背側頸部皮下に移植し, 2ヵ月および3ヵ月後に移植部位の組織学的検討を行った。さらに正常妊娠マウス(C57BL/KSJ)の羊膜を同マウスの突然変異体(ニーマン・ピックマウス)の背側頸部皮下に移植し, 経時的に体重変動を測定した。実験終了後, 各種臓器中のライソゾーム酵素活性を測定した。

〔人胎盤の羊膜上皮細胞の培養実験〕帝王切開により保られた胎盤より, 無菌的に羊膜を剥離し, 一部はそのライソゾーム酵素活性を測定した。一部はDulbecco MEMに24時間インキュベートしてから, 10%FCS含有の同一培地にて37°C, 5%CO₂下で初代培養を行った。酵素活性は2~3代継代を行った細胞を用いた。また正常人羊膜組織由来の確立されたFL細胞系(ATCC CCL 62)を入手し, 同一の培地で継代培養を行い, 同様に各種のライソゾーム酵素活性を測定した。

〔酵素活性測定法〕既報のごとく行った。蛋白量の測定はLowry法に従った。

成績

〔動物実験〕マウスおよびラットの羊膜上皮層中のライソゾーム酵素活性値には多少の差は認められるが, 測定した11種類のライソゾーム酵素活性が存在し, β -フコシダーゼは測定されなかった。

正常マウスの背側頸部皮下に羊膜移植を行ったところ, コントロールに比して体重は変動を認めなかった。2ヵ月および3ヵ月後に屠殺し, 移植部位を組織学的に検討した結果, 急性の拒否反応を疑わせる所見は認めず, また3ヵ月目では移植部位の同定もほとんど不可能であった。

ニーマン・ピックマウスへの羊膜移植後の体重変化について, 対象未治療マウスと比較した

ところ, 2週間目までは平衡に体重減少が見られたが, 次の2週間は治療マウスの体重減少が極端に緩やかであった。しかし続く1週間で羊膜移植されたマウスの体重が急激に減少し, 術後5週目に死亡した。死亡時は未治療マウスより低体重であった。剖検にて腸管系に多量の出血が認められた。肝臓の組織所見により, Tyzzer氏病による腸炎が強く示唆された。体重当りの各種臓器体重は, 治療マウスの肝臓は6.9%(対9.2%)と減少し, 胸線は0.74%(対象は0.16%)と著明に増加していた。ライソゾーム酵素活性については, 治療マウスに死後変化を認めため, 参考値として取り扱かわざるを得なかった。

〔人胎盤羊膜上皮細胞の培養実験〕羊膜上皮組織, FL細胞および培養羊膜細胞のライソゾーム酵素活性値の比較を表に示した。羊膜上皮組織とその培養細胞では酵素活性値に少し差があるが, これは羊膜上皮組織が均一でなく, 他の附随組織(基底膜, 線維芽細胞など)を含んでいるためと考えられる。両細胞についてHLA抗原検査を行った結果, 細胞膜が弱く一部判定困難ではあったが, 培養羊膜細胞において, DRW 13の存在が疑われた。

考察

羊膜移植法の有効性については, 最近Tyłki Szymanskaらがムコ多糖症などに応用し, 角膜混濁の改善を報告している。現在まで免疫原性についての問題点は指摘されていない。本移植法の検討課題は(1)移植組織の生体内での運命と繰り返しの移植法の安全性について。(2)酵素療法としての有効性の酵素学的証明とその機序の解明。(3)中枢神経系への治療効果発現の工夫(酵素の血液-脳関門の透過性の問題)などがある。現在までの報告では羊膜組織の移植法であるため, より均一な培養細胞の移植法が望まれる。さらに表に記載した疾患以外への応用についても検討中である。

Lysosomal enzyme activities of human amniotic tissues and amniotic epithelial cells

Enzyme	Human amniotic tissue	Amniotic epithelial cells FL*	Amniotic epithelial cells A M**	Lysosomal storage disease
α -glucosidase	39.0	14.5	68.0	Pompe's disease
β -glucosidase	12.7	4.7	7.1	Gaucher's disease
α -galactosidase	12.7	12.3	11.5	Fabry's disease
β -galactosidase	79.8	105.5	666.9	GM ₁ -gangliosidosis
β -glucuronidase	44.3	41.5		β -glucuronidase def.
α -mannosidase	63.4	62.8	48.1	Mannosidosis
α -fucosidase	355.0	7.9	260.3	Fucosidosis
H-Ac-B-glucosaminidase	2109	655.5	772.7	Tay-Sachs disease(A def.)
Arylsulfatase A		54.4	301.1	H L O
Arylsulfatase B		15.7	193.5	M P S VI
Sphingomyelinase	78.8	9.4	98.5	Niemann-Pick dis.
Acid phosphatase	646.0	266.0	173.6	

* The FL cell line (ATCC CCL 62 FL) was derived from normal human amnion tissue by Fugh and R. Lund (Proc. Soc. Exp. Biol. 1957)

** The cells were maintained in culture for over 7 weeks and several passages, obtained from the placenta of normal pregnancy by c-section.

中性スフィンゴミエリネースと酸性スフィンゴミエリネースは同一蛋白か？

丸山（野口）悦子

脳に特に活性が高く膜結合性の中性スフィンゴミエリネース (Sph'ase) の脳での役割を明らかにするために種々の検討を行ってきたが今回ラット脳 P₂ 画分の中性 Sph'ase の精製過程で酸性 Sph'ase が同時に精製され得ることを見出した。そこで両精製酵素を得て諸性質を比較検討した。

材料および方法

報告(その一, その二)と同じく¹⁴C-スフィンゴミエリンを基質として活性測定した。精製はラット脳 P₂ 画分よりトリトンによる可溶性, 硫酸分画, アセトンパウダーの作製, トリトンによる抽出, 硫酸分画, セファロース CL-6B クロマトグラフィー, クロマトホーカシングにより行った。

結果と考察

両酵素はクロマトホーカシングのカラム操作で分離され, 中性 Sph'ase はポリバッファの pH 勾配によっては溶出されず 0.4MNaCl で溶出されるのに対し酸性 Sph'ase はポリバッファの pH 勾配によって pH5.3 付近に溶出された。得られた精製中性 Sph'ase は 48.300 nmol/hr/mg 蛋白, 収率 9.1%, ミクロゾームより 254 倍, 酸性 Sph'ase は 25,700 nmol/hr/mg 蛋白, 収率 6.3%, P₂ 画分より 668 倍であった。ゲル濾過法による native な分子量は中性 Sph'ase が 430,000, 酸性 Sph'ase が 270,000 であった。両酵素は SDS-PAGE で共に 6,7000 に 1 本のバンドを示した。これらはウサギで作った中性 Sph'ase に対する抗体と FITC 標識抗ウサギ IgG によりその抗原性が確かめられた。また Ouchterlony 法で両精製酵素は完全に融合する 1 本の沈降線を作った。両酵素のアミノ酸組成をニンヒドリン法により測定し, 比較した (表 1)。その組成比は非常に類似していた。次にそれぞれの精製酵素を中性 (白丸), 酸性 (黒丸) の pH のもとで温度処理をし, 活性への影響を調べた (図 1)。図のように中性 Sph'ase は中性でも酸性の緩衝液中でも失活し, 酸性 Sph'ase はほとんど変化しなかった。このことから酵素の安定性に違いがあることがわかった。

両酵素の精製法においてはその比活性の上昇度が余り良いと思えずその原因として酵素の失活や至適条件の変化, 精製初期に行ったアセトン処理の影響が考えられたが一方ではアセトン

処理は酵素を均一な蛋白として得られやすくしたとも考えられた。

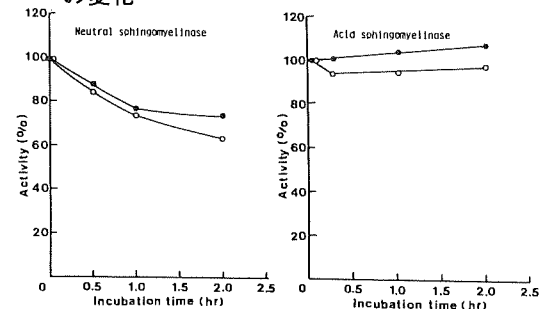
アミノ酸分析については先にラット脳 P₂ 画分の中性 Sph'ase の電気泳動後のゲルバンドを切り出し, 抽出して OPT 法により測定し報告をした(その三)。Sph'ase に関する本研究によって, ラット脳ミクロゾーム画分から中性 Sph'ase が, P₂ 画分からは両酵素が精製され, それらのサブユニットの分子量やアミノ酸組成比, 免疫学的性質の類似性が示された。また両酵素の native な分子量の違いや活性発現における性質の違い等も明らかにされた。

今後これらのアイソザイムの分子レベルでの詳しい比較が望まれる。

表 1 中性スフィンゴミエリネースと酸性スフィンゴミエリネースのアミノ酸組成比

Amino acid	Content of neutral sphingomyelinase(x)	Content of acid sphingomyelinase(x)
Asx	9.4±0.2	9.6±0.8
Thr	5.9±0.5	5.7±0.3
Ser	7.3±0.9	7.0±0.1
Glx	10.6±0.9	10.4±0.3
Pro	4.8±0.5	4.3±0.5
Gly	8.5±1.5	8.9±0.3
Ala	7.7±0.1	7.7±0.4
CysA	1.7±0.2	2.1±0.5
Val	6.2±0.6	6.3±0.1
Met	2.0±0.6	1.6±0.6
Ile	5.4±0.3	4.7±0.3
Leu	9.1±1.0	9.2±0.1
Tyr	3.3±0.3	3.6±0.1
Phe	4.1±0.5	4.5±0.2
His	2.0±0.3	2.1±0.3
Trp	N.D.	N.D.
Lys	6.2±0.3	6.7±0.1
Arg	5.2±0.3	5.1±0.04
(GlcNAc)	0.3±0.02	0.3±0.1

図 1 中性スフィンゴミエリネースと酸性スフィンゴミエリネースの温度処理による活性の変化



4. 疾病研究第3部

1. 研究部一年の歩み

当部は内因性精神病（精神分裂病，躁うつ病）の原因解明と治療法の開発のために，生物学的研究を行う部門である。本年度は新旧部長の交代があり，新任部長の就任が遅れたため，専任部長を欠いた時期が比較的長かったが，その間診断研究部々長が当部部長を併任し，専任研究員，流動研究員等の努力もあり研究活動への大きな支障はなかった。

本年度の研究活動は昨年度までの研究の継続及び整理と，来年度からの新たな研究の準備が主なものであった。すなわち従来からの分裂病死後脳の研究，中脳皮質ドーパミン系の研究，抗精神病薬の作用機序に関する研究，ストレスと脳内ペプチドに関する研究などに加えてうつ病モデル動物の開発，時計機構の生理生化学的研究，脳内ペプチドの動態，といった新しいテーマの研究がはじめられた。

人事異動としては融道男前部長が信州大学精神科教授として転出し，60年4月から9月まで成瀬浩診断研究部々長が部長を併任し，10月より高橋清久滋賀医科大学精神科助教授が併任部長として着任，61年1月より専任となった。また12月から加藤進昌診断研究部室長が第二室々長として当部に移った。1月には三ツ汐洋研究員がアメリカ，ロヨラ大学薬理学教室に留学，3月から西川徹が流動研究員として研究に参加，一方小川篤子流動研究員は三年の受け入れ期間満了に伴い日赤中央血液センターに転出した。また，俣賀宣子賃金研究員は8月に診断研究部に転部した。

他に本年度の研究活動に参加したものは，（流動研究員）車地暁生，（賃金研究員）高嶋瑞夫，（研究生）滝田正寿，（併任研究員）融道男，渋谷治男，（客員研究員）渡部修三，市川宏伸である。

本年度の主要な研究概要は以下の通り

(1) 分裂病死後脳の生化学的分析

19部位についてVIPを測定し，感覚領野，角回，帯状回で，分裂病の服薬群，非服薬群とも含量が高いという結果を得た。

(2) 中脳皮質ドーパミン系を調節する神経回路の研究

脳内ドーパミン神経伝達を調節している線条体黒質路及び手綱脚路を破壊し，ハロペリドールを投与し，内側前頭葉皮質のドーパミン及びDOPACを測定しドーパミン代謝の変化を検討した。

II 研究業績

(3) ストレスと脳内ペプチド

拘束浸水ストレスを負荷した後、疼痛閾値の上昇と脳内メチオニンエンケファリンの減少とが時間的に平行して生じることから疼痛閾値の変化への当該ペプチドの関与を示唆した。

(4) 線条体黒質系におけるオピオイド系神経路の同定

α -ネオエンドルフィン及びダイノルフィンAと線条体—黒質路の関係について調べ両物質がこの系路に含まれていることを示唆する結果を得た。

(5) 幼若時における縫線核破壊の影響

うつ病モデル動物開発の一環として幼若期に縫線核破壊を行い、破壊がセロトニン系の発達および行動・リズムへの発達に及ぼす影響を観察した。

(6) サーカディアンリズムの周期決定に関与する因子

躁うつ病にみられるリズムの障害の成因を明らかにする目的で、フリーランニング下でリズムの周期が環境要因で変化するかどうかを検討した。特に飼育環境の差と、ストレスとが如何なる影響を及ぼすかを観察した。

(7) MSG ラットの脳内 GRF およびソマトスタチンの変動

新生仔にグルタミン酸ソーダ (MSG) を大量投与したラットで脳内の GRF およびソマトスタチンの含量を測定し、MSG ラットにみられる内分泌異常、行動異常の成因について検討を加えた。

(部長 高橋清久)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Hanada K, Yamada N, Shimoda K, Takahashi K, Takahashi S :

Direct radioimmunoassay of cortisol in saliva and its application to the dexamethasone suppression test in affective disorders

Psychoneuroendocrinol 10 : 193-201, 1985

- 2) Yamada N, Shimoda K, Takahashi K, Takahashi S :

Change in period of free-running rhythms determined by two different tools in blinded rats

Physiol Behav 36 : 357-362, 1986

- 3) 鳥居隆三, 下田和孝, 花田耕一, 高橋清久 :

照明可変装置付, 新型ラット用クリーンラックの有効性 ラットの摂水量および, 血中コルチコステロン値の日内変動による検討

実験動物 34 : 57-62, 1985

- 4) 下田和孝, 山田尚登, 大井健, 花田耕一, 高橋清久, 高橋三郎 :

デキサメサゾン抑制試験に対する向精神薬の影響 イミプラミン慢性投与のラット血中コルチコステロン分泌に対する影響

精神薬療基金研究年報 17 : 179-184, 1986

- 5) 中垣慶子, 海老原成光, 臼井節夫, 本多芳子, 高橋康郎, 加藤進昌 :

抗 DSIP 血清の脳室内注入によるラット睡眠への影響

精神薬療基金研究年報 17 : 61-67, 1986

- 6) 加藤進昌, 渡辺倫子, 樋口輝彦, 高松幸雄, 諸治隆嗣 :

6-ハイドロキシドパミン脳室内投与によるラット脳内コレシストキニンおよびソマトスタチン様物質の変動

精神薬療基金年報 17 : 82-88, 1986

- 7) Higuchi T, Yamazaki O, Takazawa A, Kato N, Watanabe N, Minatogawa Y, Yamazaki J, Ohshima H, Nagaki S, Igarashi Y, Noguchi T :

Effects of carbamazepine and valproic acid on brain immunoreactive somatostatin and γ -aminobutyric acid in amygdaloid-kindled rats

Europ J Pharmacol, in press, 1986

- 8) Mitsushio H, Takashima M, Mataga N, Toru M :

Studies on the mechanisms of action of carbamazepine effects on circadian rhythm and neurotransmitters

Folia Psychiat Neurol Jpn 39 : 598-599, 1985

- 9) Nishikawa T, Scatton B :

Inhibitory influence of GABA on central serotonergic transmission. Raphé nuclei as the neuroanatomical site of the GABAergic inhibition of cerebral serotonergic neurons

Brain Res 331 : 91-103, 1985

- 10) Scatton B, Serrano A, Nishikawa T :

GABA mimetics decrease extracellular concentrations of 5-HIAA (as measured by in vivo voltammetry) in the dorsal raphé of the rat

Brain Res 341 : 372-376, 1985

- 11) Dennis T, Curet O, Nishikawa T, Scatton B :

Further evidence for, and nature of the facilitatory GABA ergic influence on central noradrenergic transmission

Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology 331 : 225-234, 1985

- 12) Nishikawa T, Scatton B :

Inhibitory influence of GABA on central serotonergic transmission. Involvement of the habenulo-raphé pathways in the GABAergic inhibition of ascending cerebral serotonergic neurons

Brain Res 331 : 81-90, 1985

- 13) Nishikawa T, Fage D, Scatton B :

Evidence for, and nature of, the tonic inhibitory influence of habenulo-interpeduncular pathways upon cerebral dopaminergic transmission in rat

Brain Res, in press, 1986

- 14) Motohashi N, Nishikawa T, Scatton B, MacKenzie ET :

Temporal effects of habenular lesions on glucose utilization in the anterior raphé nuclei

Neuroscience Letters, in press, 1986

- 15) Nishikawa T, Scatton B :

Neuroanatomical site of the inhibitory influence of anxiolytic drugs on central serotonergic transmission

Brain Res, in press, 1986

- 16) Ogawa A, Haino-Fukushima K :

Localization of vitelline-coat lysin purified from testis of a top shell, *Turbo cornutus*

Experientia 41 : 921-922, 1985

b. 著 書

- 1) 高橋清久 :

神経内分泌学

新しい精神医学 (高橋良, 臺弘監修)

ヘスコインターナショナル, 東京, P 206-215, 1985

2) Takahashi K, Sasaki Y :

Entraining mechanism of endogenous rhythm of blinded rat pups by the nursing mother
 Circadian clock and Zeitgebers (ed by Hiroshige T and Honma K) Hokkaido Univ
 Press, Sapporo, p157-166, 1985

3) Higuchi T, Kato N, Noguchi T, Friesen HG, Wada JA :

Kindling and somatostatin

Kindling III (ed by Wada JA) Raven Press, New York, in press.

4) Kato N, Nagaki S, Takahashi Y, Namura I, Saito Y :

DSIP-like material in rat brain, human cerebrospinal fluid and plasma as determined by
 enzyme immunoassay

Endogenous Sleep Substances and Sleep Regulation (ed by Inoue S and Borbely AA)
 Japan Academic Societies Press, Tokyo, p141-153, 1985

5) 融道男, 三ツ汐洋 :

抗精神病薬と抗うつ剤

阻害剤研究法 (日高弘義編) 共立出版, 東京, P 382-394, 1985

6) 西川徹, Scatton B :

抗不安薬のラット脳内セロトニン性神経伝達抑制作用

生物学的精神医学 最近の進歩 (難波益之編), ヘスコインターナショナル, 東京, P 336
 -341, 1985

7) Scatton B, Nishikawa T, Dennis T, Dedek J, Curet O, Zivkovic B, Bartholini G :

GABAergic modulation of central noradrenergic and serotonergic neuronal activity

GABA and Mood Disorders : Animal and Clinical Studies (L.E.R.S. Monograph Series,
 Vol. 4) (ed by Bartholini G, Lloyd KG and Morselli PL) Raven Press, New York,
 p67-75, 1985

8) 小川篤子, 本橋伸高, 高嶋瑞夫, 渡部修三, 融道男 :

抗精神病薬慢性投与後のラット脳内ドーパミン作動機構の変化

生物学的精神医学 最近の進歩 (難波益之編), ヘスコインターナショナル, 東京, P 205

II 研究業績

-209, 1985

9) 車地暁生, 高嶋瑞夫, 融道男 :

Haloperidol 慢性投与後のラット線条体切片からの内因性 Dopamine 遊離の変化
生物学的精神医学 最近の進歩, P 181-185, 1985

c. 総 説

1) 高橋清久, 山田尚登, 下田和孝 :

内分泌系のサーカディアンリズム—特に視床下部, 下垂体, 副腎皮質系を中心に—
神経研究の進歩 29 : 83-94, 1985

2) 高橋清久, 山田尚登, 下田和孝, 大井健 :

体内時計の加齢変化
老年精神医学 2 : 838-850, 1985

3) 高橋清久, 高橋三郎 :

うつ病と内分泌機能
Clinical Neurosci 3 : 44-47, 1985

4) 加藤進昌 :

神経内分泌学の最近の進歩—「神経ペプチド学」の発展—
メディチーナ 23 : 498-511, 1986

e. 班会議報告書

1) 高橋三郎, 高橋清久, 花田耕一, 山田尚登, 下田和孝 :

唾液中コルチゾール測定によるデキサメサゾン抑制試験とそううつ病の病型
そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究, 昭和59年度研究成果報告書, P 21-31, 1985

2) 高橋三郎, 高橋清久, 花田耕一, 山田尚登, 下田和孝 :

感情障害におけるデキサメサゾン抑制試験と TRH 負荷テストの同時施行の有用性
そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究, 昭和59年度研究成果報告書, P 33-37, 1985

3) 本多裕, 高橋清久, 早藤知恵子, 樋口輝彦, 渡辺義久 :

重水によるそううつ病の時間生物学的研究
そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究, 昭和59年度研究成果報告書, P 65-71, 1985

4) 高橋清久, 下田和孝, 山田尚登, 佐々木由紀子, 林縝治:

新生児ラットにおける中脳背側部破壊のリズム発達に及ぼす影響

乳幼児期における原因不明疾患に関する研究, 昭和59年度研究総括報告書, P 29-36, 1985

5) 融道男, 畑典男, 清水浩光, 小片寛, 三ツ汐洋:

精神分裂病死後脳の神経伝達物質受容体および神経ペプチドの研究

精神分裂病の生物学的研究, 特に慢性化の機構に関する研究, 昭和59年度研究報告書

6) 融道男, 西川徹, Bernard Scatton:

手綱脚路による脳内モノアミンニューロンの調節

厚生省心身障害研究 発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究, 昭和59年度研究総括報告書, P 99-106, 1985

f. その他

1) 高橋清久:

ホルモン分泌の日内リズム

心身症診断Q&A 六法出版, 東京, P 124-125, 1985

2) 加藤進昌:

第16回国際精神神経内分泌学会印象記「注目を集めたシンポジウム・神経ペプチドと行動」

週刊医学界新聞 第1656号, 1985

A. 学 会

a. 特別講演, シンポジウム

1) Takahashi K:

Symposium: Neuroendocrine Rhythm

Factors entraining circadian adrenocortical rhythm in rats

XVI International Congress of ISPNE, Kyoto, April 15, 1985

2) 高橋清久:

疾患と生体リズム

第8回神経研シンポジウム—サーカディアンリズムの機構と病態—, 東京, 12.4, 1985

b. 国際学会

1) Yamada N, Hanada K, Shimoda K, Takahashi K, Takahashi S:

Direct radioimmunoassay of cortisol in saliva and its application to dexamethasone

II 研究業績

suppression test

XVI International Congress of the ISPNE, Kyoto, April 14-18, 1985

- 2) Takahashi S, Takahashi K, Hanada K, Shimoda K, Yamada N :

Dexamethasone suppression test and circadian rhythm of plasma cortisol levels

XVI International Congress of the ISPNE, Kyoto, April 14-18, 1985

- 3) Mitsushio H, Kurumaji A, Ichikawa H, Nishikawa T, Shibuya H, Noda K, Takashima M, Toru M, Matsuo H :

Neuropeptides in post-mortem brains of schizophrenic patients

XVI International Congress of the ISPNE, Kyoto, April 18, 1985

- 4) Shibuya H, Fukamauchi F, Takahashi R, Toru M :

Effects of differential housing on cholecystokinin immunoreactivities in rat brain

XVI International Congress of the ISPNE, Kyoto, April 16, 1985

c. 一般学会

- 1) 石田展也, 高橋清久, 高橋三郎 :

非24時間睡眠覚醒症候群を呈した症例における長期的睡眠記録の分析

第10回日本睡眠学会, 東京, 6.1, 1985

- 2) 木村信子, 早藤知恵子, 高橋清久 :

下垂体初代培養におけるニコチン酸アミドと T_3 による GH 合成の相乗的促進作用について

第58回日本内分泌学会秋季大会, 松本, 9.20, 1985

- 3) 早藤知恵子, 木村信子, 高橋清久 :

3-アミノベンズアミドと T_3 , デキサメサゾンによる GRF の GH 分泌応答性修飾機序について

第58回日本内分泌学会秋季大会, 松本, 9.20, 1985

- 4) 大井健, 下田和孝, 山田尚登, 高橋清久, 高橋三郎 :

うつ病の経過に伴う体温リズムの変化

第8回日本生物学的精神医学会, 金沢, 3.27, 1986

- 5) 下田和孝, 山田尚登, 大井健, 高橋清久, 高橋三郎 :

盲目仔ラットのリズム同調機構における母親の松果体の関与

第8回日本生物学的精神医学会, 金沢, 3.28, 1986

- 6) 高沢彰, 樋口輝彦, 山崎治, 山崎潤, 大島浩伸, 加藤進昌, 渡辺倫子 :

Brattleboro ラットの扁桃核キンドリング形成過程—脳内 somatostatin, vasopressin 濃度との関連について—

第8回日本生物学的精神医学会, 3.27, 1986

7) 三ツ汐洋, 俣賀宣子, 高嶋瑞夫, 融道男 :

全睡眠遮断および回復睡眠時のノルアドレナリン代謝

第10回日本睡眠学会, 東京, 5.31, 1985 (抄録集 P15)

8) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 車地暁生, 市川宏伸 :

向精神薬のラット脳内ペプチド含量に及ぼす影響

第15回日本神経精神薬理学会, 京都, 9.26, 1985, (Jpn J Psychopharmacol 6 : 79-80, 1986)

9) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 融道男 :

向精神薬投与後のラット前頭葉皮質のVIP含量の変化

第28回日本神経化学会, 熊本, 11.6, 1985 (神経化学, 24 : 361)

10) 西川徹, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, Bernard Scatton :

Baclofen の脳内セロトニンニューロンに対する作用

第15回日本神経精神薬理学会年会, 京都, 9.27, 1985 (口演要旨集 P119)

11) 西川徹, 高嶋瑞夫, 融道男 :

手綱核破壊ラットにおける haloperidol 慢性投与後の脳内 D₂ 受容体の変化

第28回日本神経化学会大会, 熊本, 11.6, 1985 (神経化学 24 : 265-267)

12) 小川篤子, 俣賀宣子, 高嶋瑞夫, 西川徹, 融道男 :

手綱脚路または線条体黒質路破壊後の中脳皮質系ドーパミンニューロンのハロペリドールに対する反応性の変化

第28回神経化学会, 熊本, 11.5, 1985, (神経化学 24 : 100-102)

13) 小川篤子, 西川徹, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 三ツ汐洋 :

中脳皮質系ドーパミンニューロンを調節する神経回路

第8回日本生物学的精神医学会, 金沢, 3.27, 1986, (講演抄録 P75)

14) 車地暁生, 高嶋瑞夫, 渋谷治男, 融道男 :

ストレスによる脳内メチオニンエンケファリン含量の変化に関する研究

第28回日本神経化学会, 熊本, 11.6, 1985, (神経化学 24 : 355-357)

15) 車地暁生, 三ツ汐洋, 市川宏伸, 渋谷治男 :

抗うつ薬のラット脳内オピオイドペプチド含量に及ぼす影響

第8回日本生物学的精神医学会，金沢，3.28，1986，（講演抄録 P100）

- 16) 市川宏伸，西川徹，三ツ汐洋，高嶋瑞夫，融道男，松尾寿之：

線条体黒質路に含まれるオピオイドペプチド

第28回日本神経化学会，熊本，11.6，1985，（神経化学 24：433-435）

- 17) 高嶋瑞夫，滝田正寿，三ツ汐洋，西川徹，融道男：

脳内アセチルコリンニューロンの活動性変化に伴うアセチルコリン濃度の変動

第9回神経科学学術集会，東京，12.6，1985，（予稿集 P93）

c. 班会議発表

- 1) 高橋清久，辻元宏，多賀千明，大井健，明神徹郎，高橋三郎：

精神分裂病におけるマイクロアミンの意義—測定法の開発と動物実験への応用—

精神分裂病の生物学的研究，特に慢性化の機構に関する研究，昭和60年度研究報告書，東京，2.28，1985

- 2) 高橋三郎，高橋清久，花田耕一，山田尚登，下田和孝，大井健：

感情障害における生物学的指標の診断への有用性—DST，TRHテスト，血小板MAO活性の同時施行—

そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究，昭和60年度研究報告会，東京，3.1，1986

- 3) 高橋清久，下田和孝，林禎治：

サーカディアンリズムの個体発生—周期的母親除去の影響—

発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究班，昭和60年度研究報告会，東京，3.8，1986

- 4) 加藤進昌，永木茂，渡辺倫子，高沢彰，山崎治，樋口輝彦：

ラット新生仔期の抗甲状腺剤投与による聴原性発作の発現とソマトスタチン

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班，昭和60年研究報告会，東京，2.22，1986

- 5) 西川徹，小川篤子，高嶋瑞夫，俣賀宣子，融道男：

中脳皮質系ドーパミンニューロンの反応性制御に関する神経回路

厚生省心身障害研究費：発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究，昭和60年度研究報告会，東京，3.9，1986

d. 研究会

1) 高橋清久：

重水と生物時計

第2回 SI サロン, 京都, 2.24, 1986

2) 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 融道男：

カルバマゼピンの作用機序について—ラットの日周リズムと神経伝達系への影響—

第5回リチウム研究会, 東京, 4.26, 1985

3) 西川徹, 三ツ汐洋, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子, 融道男：

手綱核および線条体黒質路による D₂ 受容体の調節

第7回中部日本神経精神薬理学研究会, 松本, 6.8, 1985, (抄録 P 15)

4) 西川徹：

脳内ドーパミン性神経伝達の調節に関与する神経回路について

久留米大学医学部精神神経科研究会, 久留米, 11.8, 1985

5) 小川篤子, 本橋伸高, 渡部修三, 融道男：

抗精神病薬慢性投与のラット脳内カテコールアミンニューロンへの影響

第7回中部日本神経精神薬理学研究会, 松本, 6.8, 1985

6) 車地暁生, 高嶋瑞夫, 融道男：

ラットの行動変化に対応した神経伝達物質の変動に関する研究—脳切片, 側脳室灌流法を用いて—

第7回中部日本神経精神薬理学研究会, 松本, 6.8, 1985, (抄録 P 5)

7) 市川宏伸, 西川徹, 高嶋瑞夫, 三ツ汐洋, 融道男：

線条体—黒質路と α -ネオエンドルフィン

第7回中部日本神経精神薬理学研究会, 松本, 6.8, 1985

3. 主な研究報告

時計機構の生理生化学的研究
— サーカディアンリズムの周期決定に関する因子 —

高橋清久, 車地暁生, 高嶋瑞夫, 山田尚登, 下田和孝, 大井健

我々はこれまでサーカディアンリズムの同調機構についてラットを用いて研究を行い、明暗の影響、摂食行動、社会的因子、母親の影響などについて解析を行って来た。その過程でラットのフリーランニング周期は必ずしもこれまで考えられて来たように恒常的なものではなく、未知の環境要因で変化しうるものであることに気づいた。そこで移所運動を測定するオートメックスと自発運動を測定する回転ケージを用いて、異なる環境（あるいは測定方法）によりフリーランニングリズムの周期が受ける影響、および、ストレスのそれへの影響を観察した。

材料と方法

ウィスター系雌性ラットの眼球を摘出し盲目としたうえで、その行動および飲水リズムを計測した。まず4週間回転カゴつきケージで飼育した後、6週間オートメックスにて移所行動リズムを記録した。ついで再び回転カゴつきケージに移し、5週間にわたって行動リズムの観察を行った。一方、ストレスがリズムの周期に及ぼす影響を観察するために、一定期間リズムのフリーランを計測した後、活動期の直前と直後の2点でストレス負荷を行い、その後の行動および飲水のリズムを観察した。ストレスは拘束水浸ストレスを用い、ラットを拘束ケージに入れ、10℃の冷水に30分間浸した。

結 果

(1) 二つの異なる測定方法の比較

図1に示すごとく回転カゴつきケージで飼育すると（9～14週及び24～29週）、いずれの場合でもフリーラン周期は24時間よりも短く、オートメックスによる記録時は24時間よりも長かった。この現象は観察した6例全例でみとめられた。

(2) ストレスの影響

8例中3例のラットで周期の延長が認められた。残りの5例はストレス前後で変化は認められなかった。

考 察

例数が少なく予備的結果であるが、本実験の結果はサーカディアンリズムのフリーラン周期は従来考えられていたように恒常的なものでは

なく、変化しうる事を示している。またこれまでフリーラン周期に影響を与えるものとして光、化学物質（重水、リチウム、MAO阻害剤）、ホルモン（テストステロン、エストロゲン）などが知られているが、それ以外の環境要因によっても周期が変化しうる事が知られた。

移所運動と自発運動とで周期が変化することの理由は不明であるが、後者の運動は動機づけとも関係していると思われるので、精神機能との関連からも興味ある事実と思われる。また、ストレスにより周期が変化する機構も現在のところ不明であるが、ストレス時には神経系の種々のモノアミン、ペプチドが変化することが知られており、これらの物質には時計機構とも関連しているものであり、今後これらの物質がフリーラン周期に与える影響について検討を加えれば、時計機構の解明に役立つものと思われる。

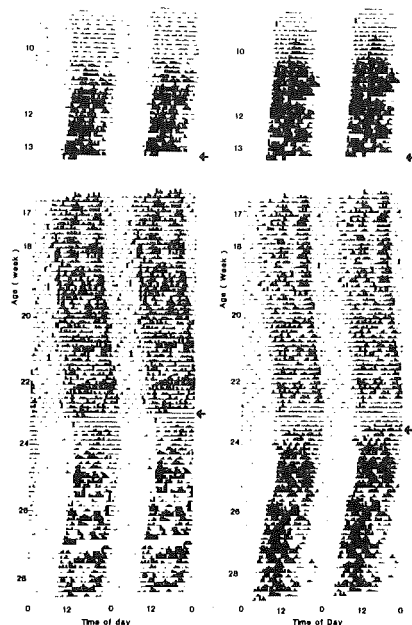


図1 自発行動(9～10週令及び24～29週令)と移所行動(16～23週)リズムのフリーラン

新生仔期に monosodium L-glutamate 投与を受けた成熟ラットにおける 脳内 growth hormone-releasing factor (GRF) および somatostatin 含量の変化

加藤進昌, 渡辺倫子, 秋元慶子*, 沢野真二**

新生仔に monosodium L-glutamate (MSG) を大量投与すると, 成熟後に成長障害, 肥満を呈することが知られている。中枢神経系では視床下部弓状核を中心に神経細胞の破壊がみられ, 同ラットの示す内分泌や行動の異常との関連が推測されている。これらの異常の成因を探る目的で, MSG を投与した雄性成熟ラットの脳内 GRF および somatostatin (SS-14) 含量について検討した。

方法

Wistar-Imamichi 系雄性ラットを用い, 生後 2, 4, 6, 8, 10日齢に MSG 2 mg/g および 4 mg/g 体重を皮下投与し, 対照群に生食を投与した。成熟84日齢でマイクロウェーブ照射により屠殺した。脳を Glowinski and Iversen の方法に準じて分別後, 0.1N 酢酸でホモジナイズし, 10分間煮沸した。遠心後の上清を凍結乾燥し, 少量の緩衝液に溶解した検体を測定に供した。ラット GRF 様免疫活性 (IR-rGRF) はラジオイムノアッセイで, somatostatin 様免疫活性 (IR-SS14) は酵素免疫測定法で測定した。

結果

屠殺時84日齢で, 体重は MSG 4 mg/g, 2 mg/g および生食投与群の3群間に有意差はみられなかった。しかし, 鼻肛門間長, 尾長は 4 mg/g 投与群で短縮しており成長障害を呈した。肥満係数 (Lee's Index) は 4 mg/g 投与群で有意に大で肥満が明らかであった ($p < 0.001$)。MSG 2 mg/g 投与群ではこれらの指標に有意差はみられなかった。また脳・下垂体重量の有意な低下が MSG 4 mg/g ラットでみられたが, 2 mg/g ラットではむしろ脳重量の増加がみられた。

正常ラットにおける脳内 IR-rGRF 含量は, 視床下部, 中脳, 下垂体以外は測定限界値以下であるので, この3部位について検討した。表にみるように, 視床下部 rGRF 含量は MSG 4 mg/g ラットで著名に減少していた。中脳では差はなく, 下垂体ではやや減少傾向がうかがわれたが, 個体差が著しく有意ではなかった。

脳各部位の IR-SS14 の測定結果を図に示す。MSG 4 mg/g および 2 mg/g 投与群のいずれにおいても, 対照に比べて扁桃核および辺縁系皮質で有意の IR-SS14 含量の増加がみられた。そして MSG 4 mg/g ラットではさらに海馬でも IR-SS14 の増加が認められた。

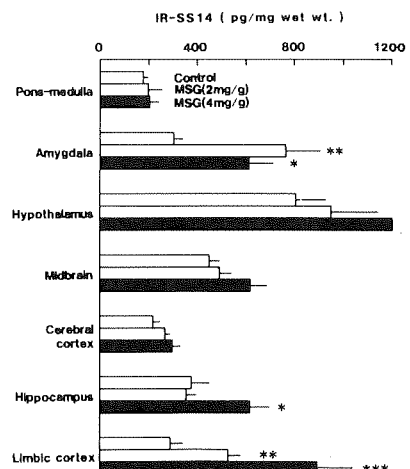
考察

MSG ラットにおける視床下部 rGRF 含量の著減という結果は免疫組織化学による報告と一致する。すなわち, 視床下部弓状核破壊によって GRF 合成が障害されていると考えられ, MSG ラットは GRF 欠乏ラットとしてもモデルになりえると考えられる。一方辺縁系を中心とする部位に SS-14 の増加がみられ, 他方 GRF の分布は視床下部に限局していることから, MSG ラットで報告されている行動異常などについては, GRF より SS-14 の関与がより重要と思われる。

Effects of MSG on IR-rGRF contents in rat brain

Group (N)	IR-rGRF (pg/mg tissue wet wt.)		
	Hypothalamus	Midbrain	Pituitary
Control (7)	188±49	1.8±0.1	155±71
MSG2mg/g (6)	147±40	1.8±0.1	212±87
MSG4mg/g (7)	27±3 ^{***}	1.3±0.1	53±5

*** p<0.001 vs control



* 東京女子医科大学薬理

** 虎の門病院内分泌代謝科

精神分裂病死後脳におけるVIP免疫活性

三ツ汐洋, 市川宏伸, 高嶋瑞夫, 車地暁生
西川徹, 野田恭平, 融道男

精神分裂病死後脳の生化学的分析の研究の一環として、今回大脳皮質に多量に存在する vasoactive intestinal polypeptide (VIP) を測定したので報告する。

方法

対象および脳の分割法、抽出方法はこれまでの年報に報告した substance P の場合と同様である。測定は新たに作成したVIP抗体を用いたラジオイムノアッセイによった。測定感度は10万倍希釈で用いたとき、中点60f mol/tube、最小感受性10f mol/tubeであった。この抗体の特異性について類似 peptide との交叉反応性を調べたところ合成 peptide-histidine isoleucine (20-27) および合成 secretin とは、1 n mol/tube でも反応せず、合成VIP (18-28) とは、0.0005% の極めて弱い反応性を示したが、同時に作成した他の3種のVIP抗体も全く同じ割合で反応したので、これは、0.05%程度混入したVIPによるものと考えられた。さらに、ラット脳抽出液を高速液体クロマトグラフィーを用いてアセトニトリル濃度勾配で溶出分画し、この抗体との反応性を調べた。合成VIP (1-28) はアセトニトリル28%の所に主ピーク、30%の所に小さなピークを示した。後者は、substance P の場合と同様に Met 残基が酸化されたVIPであろうと考えられた。脳抽出液もこの2か所だけにピークが認められ、その他のピークは無かった。以上の2点から今回使用したVIP抗体はVIP (1-28) に特異的であり、他のペプチドを測り込む可能性は少ないと考えられた。また、測定したすべての部位について、抽出液3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 μ l の希釈曲線を描き、標準曲線と比較したところ、すべて平行であった。標識抗原としては、lactoperoxidase によってヨード化し、ゲル濾過とイオン交換クロマトグラフィーによって精製した¹²⁵I-VIPを用いた。

結果

測定した部位は大脳皮質20部位と海馬3部位であった。大脳基底核、赤核、視床は濃度が薄いため測定不能であった。各部位の対照群の値を大きい順に並べると、上側頭回259 f mol/mg protein, 上頭頂小葉232, 外側後頭側頭回208, 中・下側頭回201, Broca領域182, 側頭葉後部176, 角回163, 前運動野 (Brodmann 6) 147, 体性運動野 (Brodmann 4) 136, 内側前頭皮質134, 眼窩皮質130, 島皮質127, 帯状回後部117, 第一次視覚野119, 梨状葉前部113, 海馬アンモン角109, 海馬後部92.5, 眼球運動領野79.3, 眼窩前頭皮質76.9, 海馬支脚56.3, 第二次視覚野

46.3, 緑上回43.1, 体性感覚野 (Brodmann 1, 2, 3, 5) 41.7の順であった。精神分裂病群の値は以下の7部位において有意の高値が認められた (角回301, 体性運動野213, 内側前頭皮質229, 帯状回後部309, 眼球運動領野194, 眼窩前頭皮質178, 体性感覚野68.9)。また、精神分裂病群を服薬群と非服薬群とに分けて比較したところ、海馬と梨状葉皮質を除いたすべての部位で、服薬群の方が高い値を示した。

考察

ヒト死後脳のVIP測定値に関しては、Emson (1979), Perry (1981), Roberts (1983), Arai (1984) らの報告があるが、今回の測定値はこれらの値とおおむね一致していた。精神分裂病死後脳のVIPに関しては、Perryらが5例の梨状葉皮質を測定し、差が無いこと、Robertsらは14例の10部位を測定し、扁桃体で高い値を見出し、特に幻覚妄想を示すI型の精神分裂病群で高いことを報告している。死後脳の分析値の検討にはさまざまな要因を考慮に入れなければならない。第一に死後変化についてであるが、VIPは非常に安定であり、我々も測定値と死後凍結までの時間との相関をとって見たところ、相関はみられなかった。しかし、年齢とVIP含量には負の相関があり、加齢と共にVIPは減少することが推測された。精神分裂病群の方が平均年齢で5歳若いため、これが高い値を示した一要因となっている可能性がある。Robertsらの症例も分裂病群、特にI型群に若年者が多く、これが高値であった一要因である可能性がある。また、抗精神病薬の服薬の影響を検討するため、ラットにhaloperidolとtrihexyphenidylを単独あるいは併用で急性あるいは40日間慢性投与し、視床下部と前頭葉皮質を測定したところ、視床下部ではhaloperidolの急性投与で60%のVIP含量の減少がみられ、慢性投与では変化がなかったのに対し、前頭葉皮質ではhaloperidolの慢性投与で16%の増加がみられた。したがって、分裂病群、特に服薬群でみられた高値は抗精神病薬の影響を考慮に入れる必要がある。Robertsらの症例もI型群に服薬例が多く、これも高値の一要因となっている可能性が考えられる。

精神分裂病患者では、PETにより前頭葉の代謝低下の可能性が示されている。VIPは脳スライスおよびdeoxyglucoseを用いたin vivoの実験で強力な糖代謝賦活作用を持つことが知られており、今回の測定では、むしろ前頭葉皮質で増加していることがわかった。

GABA_B 作動薬の脳内セロトニンニューロンに対する作用

西川徹, 高嶋瑞夫

GABA_B 受容体は, bicuculline に感受性を示さない GABA 受容体として分類され, その選択的作動薬として baclofen が知られている。最近, ラットにおいて抗うつ薬, 躁うつ病に治療効果を示す抗てんかん薬, 電気ショックなどを慢性的に用いると, 脳内 GABA_B 受容体の最大結合能が増加する所見が得られ, 抗うつ効果の神経機序を考える上で重要と思われる。そこで, GABA_B 受容体の生理的役割に関する研究を開始しているが, 今回は躁うつ病治療薬の作用部位のひとつと考えられている脳内セロトニン (5HT) ニューロンに対する baclofen の効果について報告する。

方法

実験には, Sprague-Dawley 雄性ラット (180-240 g) を用いた。baclofen は腹腔内注射あるいは脳内局所注入により投与した。脳半球切断術はエーテル麻酔下で行い, bregma の後方 2 mm, 矢状縫合より右外側 2 mm のところからナイフを挿入し, 右半球に割を入れた。薬物の脳内注入は, 無麻酔の動物を手で拘束し, 5~7 日前に装着しておいたガイドカニューラより注入針を挿入して行った。注入部位の座標 (König & Klippel の図譜) と注入条件は次の通りである。線条体: A+8.6, V+0.7, L+2.3, 2 μ l/2 分, 背側縫線核: A+4.5, V+5.0, L+0 (後方に45度の角度で挿入) 1 μ l/3 分, 5HT ニューロンの活動の指標としては, m-hydroxybenzylhydrazine (100mg/kg, i.p.) による芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素阻害後 30分間に蓄積される脳内各部位の 5-hydroxytryptophan (5HTP) 量を用いた。5HTP は電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィーにより定量した。

結果

baclofen 10-40mg/kg 投与90分後では, 線条体の 5HTP 蓄積量は用量依存性に増大し 40 mg/kg では対照群の約 2 倍となった。投与量を 70mg/kg にすると, 5HTP の上昇率はかえって減少する傾向が見られた (図 1)。これに比して海馬では, 5HTP 蓄積量の有意な増加は見られなかった (図 1)。図 2 に示すように, 脳半球切断術によって 5HT 性神経入力を急性に離断した線条体においては, 手術90分後の 5HTP 蓄積量が対照群 (偽手術群) の 74% に低下し, 手

術直後に baclofen (20mg/kg, i.p.) を投与しても対照群で観察されるような 5HTP 蓄積の増加は生じなかった。線条体あるいは, 線条体 5HT ニューロンの起始核である背側縫線核内に baclofen (2-20 μ g) を直接注入しても, 60 分後における線条体 5HTP 蓄積量に有意な変化は認められなかった。

考察

以上の結果から, 全身的に投与した選択的 GABA_B 作動薬は線条体 5HTP 合成率を上昇させることがわかり, 腹腔内投与した baclofen が線条体において 5HT およびその代謝産物を増加させるというこれまでの報告¹⁾ に対応した変化と思われた。この効果は, GABA_A 受容体にも作用をもつ GABA 作動薬が線条体 5HTP 蓄積量を減少させる²⁾ のと対照的である。脳半球切断や脳内注入実験の結果は, baclofen が線条体へ投射する 5HT ニューロンの細胞体や終末またはその近傍に一次的に作用して線条体 5HTP を上昇させる可能性を否定している。海馬の 5HTP 蓄積量への影響が少ないこともあわせて, baclofen の脳内における一次的作用部位についてさらに検討が必要であろう。

文献

- 1) Waldmeier, P. et al. : Europ J Pharmacol 54; 279, 1979
- 2) Nishikawa, T. & Scatton, B. : Brain Res 331 : 91, 1985

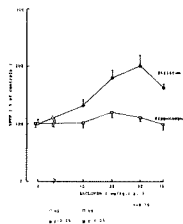


図 1 baclofen (10-70 mg/kg, i.p.) 投与後の線条体および海馬における 5HTP 蓄積量の変化

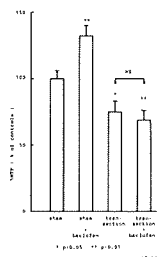


図 2 脳半球切断後における baclofen (20 mg/kg, i.p.) の線条体 5HTP 蓄積量に対する影響

中脳皮質系ドーパミンニューロンの調節における手綱脚路および線条体黒質路の役割

小川篤子, 西川徹, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子

中脳皮質ドーパミン(DA)ニューロンは, DA受容体遮断薬のもつ抗精神病作用の発現部位のひとつと推測されており, その機能異常と分裂病症状の神経機構との関連が注目されている。本研究では, 長い神経回路による中脳皮質系DAニューロンの機能調節を明らかにする目的で, 脳内DA性神経伝達に影響を与えることが知られている手綱脚路あるいは線条体黒質路の神経活動を遮断した条件下で, 抗精神病剤投与後における前頭葉皮質内DA代謝の変化を検討した。

方法

実験には, Wistar系雄性ラット(230-250g)を用いた。神経活動の慢性的遮断には電気凝固法による脳部位の破壊を, 急性抑制にはナトリウムイオンチャンネル遮断薬であるテトロドトキシン(TTX)の局所注入を行った。破壊部位と条件は次に示す通りである。両側手綱核: AP+4.0, L±0.6, V+5.0(König & Klippelの図譜), 電極の長さ0.7mm, 電流3 mA, 15 sec。両側線条体黒質路: Ap+3.8, L±3.0&2.7, V+2.5 (Pellegrino & Cushmanの図譜), 1.0mm, 3mA, 10sec。TTXは無麻酔下の動物で, 実験の5日前に装着しておいたガイドカニューラから注入針を挿入し, 線条体黒質路内へ投与した(AP+3.8, 1±3.0, V+3.0 (Pellegrino & Cushmanの図譜), 50mg/0.8 µlを3分間で注入)。脳部位破壊の7日後あるいはTTX注入の10分後に, 代表的抗精神病剤であるハロペリドール(HAL)を腹腔内投与し(1mg/kg, i.p.), 30分後に断頭して内側前頭葉皮質におけるDAおよびその代謝産物であるジヒドロキシフェニル酢酸(DOPAC)の濃度を測定した。DAとDOPACは, 電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィーを用いて定量した。

結果・考察

对照群の動物(脳部位破壊実験では偽手術群, TTX注入実験では生理食塩水注入群)では, HAL投与後に40-90%のDOPAC量の上昇が認められた(図1および図2)。手綱核破壊ラットでは, DA(+26%), DOPAC(+31%, 図1)ともに有意な増加が見られたが, HAL投与後のDOPAC上昇率には对照群との間に変化がなかった(図1)。これに対して, 線条体黒質

路を破壊したラットにおいては, DA, DOPACいずれも对照群に比して有意な変化を示さなかったが, HAL投与によるDOPACの上昇がほとんど認められなくなった(図1)。TTXによって線条体黒質路の神経活動を急性に遮断すると, それ自身では内側前頭葉皮質内のDOPAC量に有意な変化を生じなかったが, HALによるDOPAC濃度の増加がほぼ完全に抑制された。

DOPACはDAの主要な代謝産物であり, 一般にDAニューロンの活動性をよく反映すると考えられている。したがって以上の結果から, 手綱破壊後に中脳皮質系DAニューロンの活動が高まることが示唆され, 手綱脚路内を中脳皮質系DAニューロンを緊張性に抑制するニューロンが通過しているという従来の仮説を支持した。また, HALによって惹起される中脳皮質系DAニューロンの活性化には線条体黒質路の神経活動が保持されている必要のあることが明らかになった。線条体黒質路は, 皮質へ投射するDAニューロンの反応性制御に重要な神経回路を含む可能性がある。

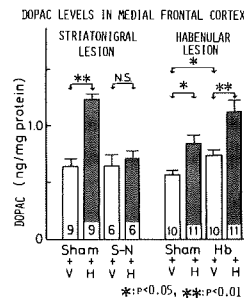


図1 線条体黒質路(S-N)または手綱核(Hb)破壊ラットにおけるハロペリドール(H)投与後の内側前頭葉皮質内DOPAC量の変化。Shamは偽手術群, Vは注射溶媒投与群を示す。

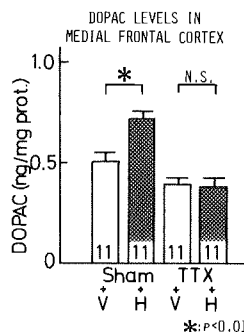


図2 TTXの線条体黒質路内注入によるハロペリドール(H)の内側前頭葉皮質内DOPAC量増加作用の変化。Shamは生理食塩水注入群, Vは注射溶媒投与群を示す。

ストレスによるラット脳内メチオニンエンケファリン含量の変化に関する研究

車地暁生, 高嶋瑞夫, 渋谷治男

精神疾患の病因や発症に身体的・精神的ストレスが、深く関与することが知られていることから、ストレス負荷時の脳内神経伝達物質の動態を研究することは、精神疾患について研究する上できわめて重要と思われる。今回我々は、ストレスによってもたらされる鎮痛とオピオイドペプチドの關係に特に注目して以下の実験を行なった。

方 法

Wistar 系成熟雄性ラットを用いて実験を行なった。ストレスは、ラットを拘束用ケージ(シナノ製作所)に入れ、25°Cの水に30分、90分及び180分間浸し、拘束水浸ストレスを負荷した。ストレス負荷後は、以下の Tail-flick test を行ない、直ちに断頭した。(11:00-15:00)

Tail-flick test は、Tail-flick test 用装置(室町機械)を用いて行なった。Tail-flick latency は、ラットの尾部に焦点があたるように光源を照射し、ラットが反射的に尾部を逃避させるまでの時間を測定した。光源はラットの尾部末端 3 cm から 1.5 cm おきに 5 回照射し、最大値と最小値を除いた 3 回の平均を Tail-flick latency (TF) とした。Baseline latency (BL) が 2~3 秒になるように光源の強さを調節し、cut-off time (CO) は 7 秒とした。なお、鎮痛効果 (DA) は $DA = (TF - BL) / (CO - BL) \times 100$ として表わした。

ナロキソン処置は、生理食塩水に溶かしたナロキソンを皮下に 5 mg/kg ストレス負荷前10分に投与した。

メチオニンエンケファリン (M-Enk) は RIA 法で測定した。

結 果

拘束水浸ストレス負荷により、30分では、37.5%、90分では58.7%、180分では61.2%の鎮痛効果が得られたが、30分の値は、90分及び180分の値のいずれよりも有意に小さかった。(P<0.02)

一方、ナロキソン前処置は、ストレス負荷30分による鎮痛効果を40%抑制した (P<0.05)。

拘束水浸ストレス負荷後の脳内 M-Enk 含量の変化を表に示した。

ストレス負荷30分において、mesolimbic area, striatum, thalamus 及び hypothalamus で有意に減少、90分において prefrontal, cor-

tex, thalamus, amygdaloid nuclei and piriform cortex 及び hippocampus で有意に減少が認められたが、180分ではどの部位においても有意な変化が認められなかった。

考 察

拘束水浸ストレス負荷により鎮痛効果がオピオイドペプチドのアンタゴニストであるナロキソンによって、有意に抑制されたことや、ストレス負荷により脳内 M-Enk 含量が有意に減少していたことは、ストレス鎮痛にオピオイドペプチドが関与していることを示唆するものである。

M-Enk 含量の変化は、脳内 7 部位で広汎に認められたが、30分では間脳及終脳核において、90分においては皮質及び辺縁系において見られた。このような部位による相違は、ストレスに対する生体反応の時間的経過と関連しているかも知れない。M-Enk 含量の減少は遊離増加や分解亢進をともなう M-Enk ニューロンの活性増加を意味すると思われるが、特に鎮痛に関するのは、thalamus や hypothalamus と考えられ、その活性増加は、おそらく90分で最大に達していると思われる。また、その他の脳部位での変化は、ストレスの情動や運動機能への影響に関与していると思われる。

一方、ナロキソンによる拮抗効果が完全でなかった理由として、ナロキソンと M-Enk がリセプターサブタイプにおいて一致していないことや、鎮痛に関与すると報告されている NA や GABA 系の活性変化 (Kuriyama et al. 1984) が考えられるが、この点さらに検討を要すると思われる。

Effect of different duration of stress application of brain met-enkephalin-like immunoreactivity in the rat

	Nonstress	Stress		
		30min	90min	180min
Prefrontal cortex	0.36±0.03	0.35±0.02	0.30±0.01*	0.33±0.02
Septum	3.50±0.17	3.00±0.17	3.10±0.15	3.30±0.18
Mesolimbic area	6.70±0.29	5.50±0.33**	5.80±0.48	6.50±0.77
Striatum	5.30±0.28	4.30±0.35*	4.69±0.31	5.20±0.46
Thalamus	0.75±0.03	0.62±0.04*	0.58±0.05**	0.70±0.03
Hypothalamus	10.29±0.40	9.00±0.46*	9.23±0.39	9.88±0.42
Amygdaloid nu. piriform cortex	2.20±0.12	2.18±0.15	1.75±0.08**	1.99±0.17
Hippocampus	0.50±0.06	0.43±0.04	0.35±0.02*	0.36±0.02

* P<0.05, ** P<0.02 vs nonstress mean±se (pmol/mg prot.)

抗うつ薬のラット脳内ペプチド含量に及ぼす影響

車地暁生, 三ツ汐洋, 市川宏伸, 高嶋瑞夫, 渋谷治男

抗うつ薬の作用機序として, アミン取り込み阻害作用が考えられてきたが, 急性投与では抗うつ効果がないことや, アミン取り込み阻害作用のないミアンセリンやイプリンドールにも抗うつ効果があることなどから, 躁うつ病のアミン仮説に限界が出てきている。このため抗うつ薬の薬理作用として, 以前から躁うつ病との関係が注目されているオピオイドペプチドなどの神経ペプチドについて研究することが必要になってきている。今回, 5種類の抗うつ薬をラットに経口的に慢性投与し, それぞれ合成系の異なる3つのオピオイドペプチドとサブスタンスP (SP) 及び Vasoactive intestinal polypeptide (VIP) の脳内含量変化について検討した。

方法

Wistar 系雄性ラットに飼料1 kg あたり, イミプラミン (IMI), デジプラミン (DES), クロミプラミン (CLO) は, 0.25, 0.5, 1.0g, アモキサピン (AMO) とミアンセリン (MIA) は, 0.2, 0.4, 0.8g, を混ぜて40日間投与し断頭した。それぞれの飼料摂取量と体重から計算した薬物摂取量 (mg/kg/day) は, IMI が20.0, 35.9, 62.9, DES が19.4, 36.9, 59.2, CLO が26.8, 45.7, 79, AMO が21.4, 40.8, 75, MIA が22.0, 48.4, 92, であった。脳部位は凍結切片より切り出し, 1N 酢酸で90°C, 15分間煮沸し, β -エンドルフィン (β -End) メチオニンエンケファリン (M-End) α -ネオエンドルフィン (α -NE), SP 及び VIP は, それぞれ RIA 法で測定した。

結果及び考察

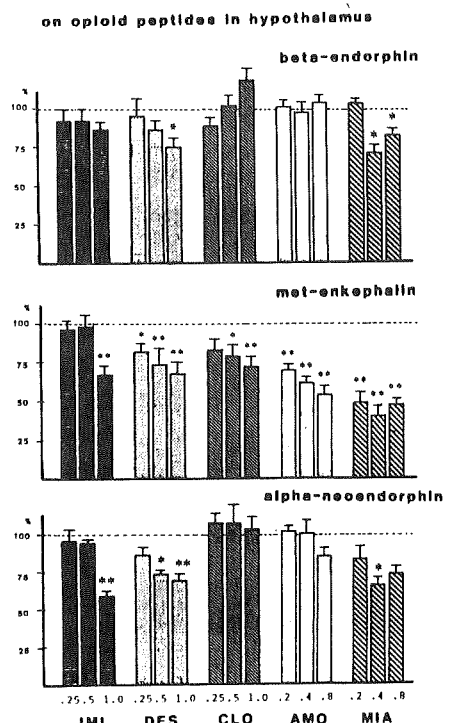
抗うつ薬慢性投与により, 視床下部で β -End は, DES と MIA で有意に減少, M-Enk は5種類すべての薬物で有意に減少, α -NE は IMI, DES, MIA で有意に減少していた(図)が, VIP は全く変化がなかった。また M-Enk は, 側坐核, 線条体及び視床においても視床下部とほぼ同様な結果が得られた。一方 SP は, 線条体において5種類すべての薬物で有意な減少が認められ, 黒質においてもほぼ同様な結果が得られた。

オピオイドペプチドは Terenius ら (1976) が躁うつ病者の髄液中でオピオイドペプチドの異常を報告して以来, 躁うつ病との関係が多く報告されている。今回3種類のオピオイドペプチドを測定したが, β -End はプレプロオピオメラ

ノコルチン系列より, M-Enk はプレプロエンケファリン A 系列より, α -NE はプレプロエンケファリン B 系列よりそれぞれ合成されると考えられている。視床下部で, 3つのオピオイドペプチドは一般的傾向として減少していたが, 必ずしも一致した変化ではないことから, 各合成系で抗うつ薬の反応性が多少異なっていることが考えられる。とくに M-Enk は視床下部及びその他の3部位で, 5種類の抗うつ薬に共通して変化がみられたことから, プレプロエンケファリン A 系列が抗うつ薬の薬理作用に深くかかわっている可能性があり, 今後さらに抗うつ効果との関係を検討していく必要があると思われる。

また, SP も抗うつ薬の慢性投与で線条体や黒質で減少していたが, 抗躁効果のあるリチウム (Hong et al, 1983) やカルバマゼピン (三ツ汐他1983) の慢性投与で増加することが知られており, SP は感情調整薬の作用機序に深く関与しているペプチドであると思われ, 今後さらに検討していく必要があると思われる。

Effects of chronic treatment with antidepressants



高速液体クロマトグラフィーを用いた脳内アセチルコリンの微量定量法の検討

高嶋瑞夫, 滝田正寿

脳内アセチルコリン (ACh) の微量定量は、従来ガスクロマトグラフィー-マススペクトロメトリ (GC/MS) やラジオエンザイマティックアッセイによって行われてきたが、測定操作が繁瑣となるのが難点であった。そこで、最近開発された電気化学検出器付高速液体クロマトグラフィー (HPLC-ECD) を用いた定量法を改良し、より高感度かつ簡便な方法を確立した。同時に、本測定法によってラット脳内各部位におけるコリン作動性ニューロンの活動性と ACh 濃度との関連を調べた。

方法

HPLC-ECD による ACh 定量法の原理は、カラムによって分離した ACh を、アセチルコリンエステラーゼとコリン酸化酵素を樹脂に固定化した固相化酵素カラム (B-A-S-社製) の中で分解し、最終的に発生する過酸化水素の酸化電位を測定するものである。測定操作は Potter¹⁾ および Ikarashi²⁾ の方法を改変し、内部標準物質として、エチルホモコリン (EHC) を使用した。脳組織に、EHC を含むギ酸アセトン溶液を加えて超音波破碎し、遠心分離した。次に、上清にエチルエーテルを加え30分間振盪して上層を捨てる操作を2回繰り返した後、凍結乾燥を行った。最後に残渣を再蒸留水に溶解し、HPLC への注入試料とした。

脳内コリン作動性ニューロンの活動を変化させる実験では、次のような方法を用いた。非麻酔下でラットの手綱脚路内にテトロドトキシン (TTX) を微量注入することにより、同経路を下行するコリン作動性ニューロンの神経興奮伝導を急性に阻害した条件下で、神経終末部 (脚間核+腹側被蓋野) における ACh 濃度を測定した。一方、線条体ではドーパミン (DA) 作動性ニューロンがコリン作動性ニューロンを抑制することが知られているため、DA 作動薬であるアポモルフィン (APO) あるいは拮抗薬のハロペリドール (HAL) を全身的に投与して、間接的に線条体内のコリン性神経伝達を変化させた後、同部位の ACh 濃度を測定した。ACh の急速な死後変化を阻害するため、動物はマイクロウェーブを照射することにより屠殺した。

結果・考察

標準溶液および線条体におけるクロマトグラムは図1のようになり、本法では ACh とコリンの同時定量が可能であり、測定の妨害となるピークはほとんど認められないことがわかった。回収率は90%以上、感度限界は10pmol、保持時間は ACh 約9分となり、これまでに報告された HPLC-ECD による定量法^{1),2)} に比して感度

が優れ、微量の脳組織から得られた多数の検体を迅速に処理するのに適すると思われた。

TTX によりコリン作動性ニューロンの活動が抑制されると、神経終末部の ACh 濃度が経時的に増加した (図2, a)。APO により線条体内のコリン作動性ニューロンの活動が低下すると、線条体の ACh 濃度が上昇した (図2, b)。これに対して、HAL により脳内 DA 性伝達を遮断し線条体のコリン作動性ニューロンを賦活すると、線条体内 ACh 濃度が減少した (図2, b)。したがって、コリン作動性ニューロンの活動が高まると神経末端からの ACh の放出が盛んになり ACh 濃度が減少し、反対に神経活動が低下すると ACh の放出が抑制され神経終末部に蓄積されると考えられた。以上の結果は、GC/MS やラジオエンザイマティックアッセイを用いた報告とも一致しており、本法が脳内の ACh 含量の動態を知る方法として信頼できることが確認された。

1) Potter, P. E., et al. : J. Neurochem. 41 : 188, 1983

2) Ikarashi, Y., et al. : J. Chromatogr. 322 : 191, 1985

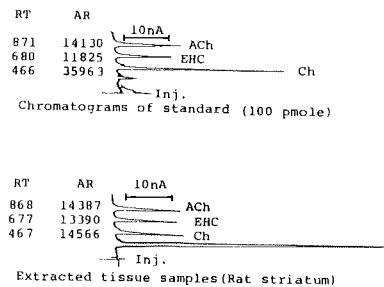
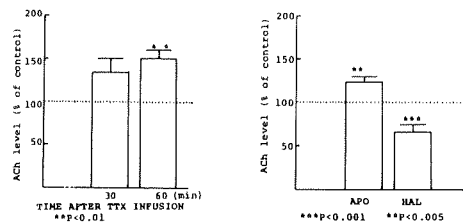


図1 標準溶液と線条体におけるクロマトグラム



a :

b :

図2 a : 脚間核・腹側被蓋野における手綱脚路内テトロドトキシン注入後の ACh 経時変化。b : 線条体におけるアポモルフィン (5 mg/kg) とハロペリドール (1 mg/kg) 投与60分後の ACh 濃度。有意差は t-検定によって得た。

線条体—黒質路と α -ネオエンドルフィンダイノルフィン

市川宏伸, 西川徹, 高嶋瑞夫, 三ツ汐洋, 融道男

プロエンケファリンBを前駆体とするとされる, α -ネオエンドルフィン (α -NE) ダイノルフィンA (1-8) [PH-8P] と線条体—黒質路 (S-N) 路の関連について調べた。S-N 路は線条体に分布するドーパミンニューロンを調節する上で重要なことが認められており, これまでに γ -アミノ酪酸 (GABA), サブスタンス P (SP) などが含まれていることが明らかにされている。近年, 組織化学的研究²⁾により, ダイノルフィンA (Dyn A) が, S-N 路をナイフカットした生化学的研究^{1,3)} などから, Dyn A, α -NE がこの系路に含まれていることが示唆されている。電気凝固法を用いて S-N 路を選択的に破壊し, この際の黒質における, GABA, SP, α -NE, PH-8P, の量を測定し, 変化を調べた。

方法

Wistar 系雄性ラットを用い, 電気凝固により S-N 路を破壊後, 8 日目にラットを断頭し, 脳を取出して冷凍後, 脳切片 (300 μ m) から黒質を切出し測定を行った。単極性ステンレス電極の挿入部位と通電条件は以下の通りである。A +3.8, U +2.5, L +3.0, mA, 10 sec, GABA は既報⁴⁾により螢光定量し, SP, α -NE, PH-8P は特異的抗体を用いた RIA 法により既報⁴⁾に従って測定した。蛋白は Lowry 法で測定し, 蛋白あたりの濃度を計算した。

結果

GABA は偽手術群 (Con 群, 9 例) で, 66.8 \pm 2.7 (n mol/mg protein \pm SE), S-N 路破壊群 (S-N 群, 9 例) で, 30.1 \pm 1.46 となり, S-N 群で有意の低下 (t 検定: $P < 0.01$) であった。SP は Con 群 (9 例) で, 5058 \pm 159.0 (f mol/mg protein \pm SE), S-N 群 (10 例) で 2452 \pm 264.1 で S-N 群で有意の低下 ($P < 0.01$) がみられた。 α -NE は Con 群 (9 例) で 4023 \pm 418.7 (f mol/mg protein \pm SE), S-N 群 (9 例) で 1826 \pm 278.6 で S-N 群で有意の低下 ($P < 0.01$) であった。更に PH-8P では Con 群 (9 例) 1290 \pm 115.1 (f mol/mg protein \pm SE), S-N 群 (9 例) で 810.2 \pm 122.2 で有意の低下 ($P < 0.02$) となった。

Con 群を各々 100 とした時の S-N 群の値は GABA, SP, α -NE, PH-8P でそれぞれ 45.1 \pm 2.2, 48.5 \pm 5.2, 45.4 \pm 6.9, 62.8 \pm 9.5 であり GABA, SP, α -NE では約 55%, PH-8P では約 40% の低下を示した。(図参照)

また Con 群 9 対, S-N 群 9 対について GABA, SP, α -NE, PH-8P 間のそれぞれの相関

を調べると, 有意の正の相関がみられた。

更に 30 日目に断頭した場合には, 同じ 4 物質においてすべて約 30% の有意の低下がみられた。

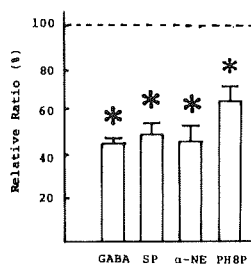
考察

S-N 路に含まれている既知の GABA, SP が有意に低下していることから破壊は十分なされていることが分った。また α -NE, PH-8P, は GABA, SP と同様に有意の低下がみられており, この系路に含まれていることが示唆された。このことは 4 物質間で正の相関を示したことから支持された。 α -NE については S-N 路をナイフカットした結果と同様であった。PH-8P についての報告は見当たらないが, Dyn A についてのナイフカットした際の結果, 組織化学的な報告と矛盾しなかった。手綱核を破壊した我々の実験では黒質の α -NE, PH-8P は低下しておらず, 今回の結果は特異的なものと考えられた。8 日目, 30 日目と比較すると, 30 日目で約 30% の低下にとどまっているのは, 修復が進んでいるためと思われる。このことは, 片側の S-N 路を破壊した際に健側の黒質では, Con 群に比して見かけ上の α -NE 値が上昇することを確かめた我々の実験とも一致した。いずれにせよ, ラット脳内において, SP, α -NE, PH-8P はいずれも黒質部に最も濃密に存在しており, その供給源を S-N 路に求めることができる。近年, ドーパミン系と精神疾患の関係について論じられており, これを調節する系として興味深い。

参考文献

- 1) M. Palkovits et al., Neuropeptides 4: 193-199, 1984
- 2) S. Vincent et al., European J. Pharm. 85: 251-252, 1982
- 3) N. Zamir et al., Nature 307: 643-645, 1984
- 4) 融道男ほか, 精神誌 86: 827-840, 1984

7DAYS AFTER TOTAL S-N LESION



* : $p < 0.01$
* : $p < 0.02$

5. 疾病研究第4部

1. 研究部一年の歩み

本研究部は中枢神経変性疾患の病態と治療開発に重点をおいて研究を行っている。本年度の研究活動に参加したメンバーは、(部長)安藤一也、(室長)向山昌邦、足立皓岑、(研究員)吉田瑞子、(流動研究員)森田勇二、熊沢武志、(貸金研究員)松井京子、大杉圭子、(併任研究員)横井風児、(客員研究員)安井昌之、(研究生)中村信之、(貸金研究助手)佐藤高志、中村昌子、天沼美千代である。

本研究部でのこの一年間の主な研究は以下のようである。

1. 中枢神経変性疾患の病理学的、生化学的研究

神経内科病棟開設以来7年間に経験した筋萎縮性側索硬化症の19剖検例の病理所見から、とくにBunina小体の分布、錐体路変性の分布、脊髄後索の病変などについて検討し、長期生存例、高齢発症例などの特殊例に特徴ある所見をえた(向山)。この中11例の上位運動ニューロンのセロトニン代謝について検討したが異常はみとめられなかった(大杉、足立)。また、この疾患のほかパーキンソン病、ハンチントン舞踏病の脳内Mg動態をICP発光分析法で追求し、対照群に比しMg含有量の低下、筋萎縮性側索硬化症ではMgとCa含量との相関をみとめた(安井)。

2. 運動失調マウスの生化学的薬理学的研究

遺伝性運動失調マウス的一种であるshamblingの中枢神経各部位でのモノアミン代謝を検討し、全般的なセロトニン代謝の亢進と大脳皮質、線条体以外の部位でのドーパミン代謝の低下をみとめた(熊沢、足立)。グルタミン酸は小脳入力系の伝達物質として重要なものであるので、そのopen channel blockerであるMLV-6976と受容体blockerであるglutamate diethylester (GDEE)をもちいて各種運動失調マウスへの影響を検討した。この結果MLVはReelerの運動失調を有意に改善し、GDEEはRolling mouse Nagoya (RMN)の運動失調を有意に悪化させるなど種によって異なった成績であったが、いずれもTRHの作用への拮抗はみとめられなかった。

コレシストキニン類似体のcaeruleinは中枢神経作用でTRHと拮抗する点が多いが、RMNへの投与では運動失調に影響はなく、最近発見されたWriggle mouse Sagami (WMS)に対しては軽度の運動失調の改善と首振り運動の抑制がみとめられた(松井、安藤)。

II 研究業績

3. 末梢神経障害の病理学的研究

Vincristine によるラットの末梢神経障害の電顕による微細形態学的変化の追求(向山)と動物で剥離した神経を別の神経に縫合して、その臨床病理学的検討(中村)を行い、末梢神経障害の病態と再生についての研究を継続している。

4. キノホルム中毒ラットの生化学的研究

スモンの異常知覚の発現機序に神経ペプチドの関与が推定されるので、キノホルム中毒ラットの中枢神経の神経ペプチドと活性アミンについて検討し、全般的な TRH, ソマトスタチンの増加と視床におけるセロトニンの低下、胸髄におけるノルアドレナリンの低下をみとめた(森田, 足立, 安藤)。

5. 細胞膜の生化学的研究

Glycerol kinase 欠損, 先天性副腎低形成を伴うツシャンヌ型筋ジストロフィー症, 通常のツシャンヌ型筋ジストロフィー症の赤血球のリン脂質を対照と比較検討し、患者ではイノシトールリン脂質代謝系に異常のあることがみとめられた(吉田)。

6. Positron emission tomography についての研究

脳内ドーパミン受容体のリガンドとして ^{75}Br (^{77}Br) -bromospiroperidol を作製してマウス, サルに投与し、線条体に高率にとり込まれることを確認し、今後の臨床応用への基礎づけを行った(横井)。

7. 臨床的および臨床病理学的研究

全国で現在生存中のスモン患者約5,000人の現状についてのアンケート調査, パーキンソン病の長期治療経過と問題点の解析(安藤), 中枢神経変性疾患, 末梢神経疾患の臨床病理学的研究, 筋ジストロフィー症, 福山型先天性筋ジストロフィー症, 筋緊張性ジストロフィー症などの遺伝, 疫学, 病理についての研究(向山)などを行った。

なお、本年度も神経ペプチドの測定について愛知医大第4内科満間照典教授に種々御協力戴いた。

(部長 安藤 一也)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) 春原経彦, 亀井敦行, 安藤一也, 里吉堂二郎 :
Cluttering 様言語障害を伴う歩行失行
臨床神経 25 : 543-552, 1985
- 2) 祖父江逸郎, 松岡幸彦, 安藤一也ほか :
脊髄小脳変性症に対する Thyrotropine Releasing Hormone Tartrate の治療研究(第2報)
—内服剤の二重盲対照試験による検討—
神経内科治療 2 : 161-176, 1985
- 3) 上田敏, 長谷川恒雄, 安藤一也, 佐久間昭, 楠正 :
片麻痺手指機能テストの標準化—12段階手指機能テストおよび5段階上肢能力テスト
リハ医学 22 : 143-160, 1985
- 4) 上田敏, 長谷川恒雄, 安藤一也ほか :
片麻痺手指の評価の原理と実際—手指機能テストと上肢能力テストの標準化について
Therapeutic Research 2 : 973-993, 1985
- 5) 河崎博, 安藤一也 :
パーキンソン病における脳波異常と知的機能との関連
神経内科 23 : 55-62, 1988
- 6) 安藤一也, 若山吉弘, 和田育穂, 亀井徹正, 長谷川修 :
脳血管障害による精神症状に対する T-73 (ホパンテン酸カルシウム錠) の効果について
最新医学 2634-2649, 1985
- 7) 安藤一也 :
脳変性疾患 (中枢神経障害の機能回復における諸問題)
リハ医学 23 : 36-38, 1986
- 8) Ando, K, Matsui K :
Anti-ataxic effects of TRH on various mouse models of ataxia
TRH & Spinocerebellar Degeneration (ed by Sobue I) , Elsevier Sci Pub, Amsterdam,
p135-140, 1986
- 9) 佐藤猛, 安野みどり, 向山昌邦, ほか :

ミトコンドリアミオパチーにおけるチトクロームC酸化酵素と複合体IIIの局在に関する免疫組織化学的研究

神経内科 24 : 226-231, 1986

- 10) Mukoyama M, Kazui H, Sunohara N, Yoshida M, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes with acanthocytosis. Clinicopathological study of a unique case.
J Neurol, in press
 - 11) Mitsuma T, Nogimori T, Adachi K, Mukoyama M, Ando, K, Sobue I :
Concentrations of immunoreactive thyrotropin-releasing hormone in the brain of patients with olivoponto-cerebellar atrophy
J Neurol Sci 71 : 369-375, 1985
 - 12) Mitsuma T, Nogimori T, Adachi K, Mukoyama M, Ando, K, Sobue I :
Concentrations of immunoreactive TRH in the central nervous system of patients with SCD
TRH and Spinocerebellar Degeneration (ed by Sobue I), Elsevier Sci Pub, Amsterdam, p169-171, 1986
 - 13) Yoshida M, Tada Y, Kasahara Y, Ando K, Satoyoshi E :
Ca content of human erythrocytes - What is the true value ?-
Cell Calcium, in press
 - 14) 松井京子 :
運動失調マウスの加齢による運動失調, 運動量および生化学的变化について
実験動物 35 : 29-33, 1985
 - 15) 横井風児, 一井本, 河崎博, 里吉栄二郎, 古和久幸, 岡田耕造
水溶性造影剤 metrizamide の副作用について
北里医学 15 : 70-78, 1985
- b. 著 書
- 1) 安藤一也 :
三叉神経痛, 頸腕症候群, 肋間神経痛, 坐骨神経痛, 手根管症候群
内科治療事典 (宮本昭正編), 南山堂, 東京, P 113-119, 1985
 - 2) 安藤一也, 松井京子 :

脊髄小脳変性症

新薬開発のための動物モデル利用集成(伊藤隆太, 高橋良, 本田西男編), R & Dプランニング, 東京, P 322-329, 1985

3) 安藤一也 :

L-dopa のターゲティング療法

ターゲティング療法 (水島裕ほか編), 医薬ジャーナル, 大阪, P 222-232, 1985

4) 安藤一也 :

スモン

私の処方 (日野原重明編) 改訂 5 版, 中外医学社, 東京, P 385-388, 1985

5) 安藤一也 :

四肢痛 (筋肉痛) の鑑別診断

痛み—その鑑別診断 (水島裕監修), 富山化学, P 29-33, 1985

6) 安藤一也 :

くすりと神経障害

人間とくすり (スモン基金設立を記念して), スモン基金, P 41-50, 1985

7) 安藤一也 :

過換気症候群

今日の治療指針 vol 28, 医学書院, 東京, P 278-279, 1986

8) 向山昌邦 :

末梢神経障害の臨床と病理—らしい末梢神経障害の理解のために—

第 9 回らしい医学夏期大学講座教本(成田稔編), らい医学夏期大学実行委員会, 東京, P 115-117, 1985

9) 向山昌邦, 檜沢一夫ほか :

筋ジストロフィー症の病理変化—本邦剖検例の概況—

筋ジストロフィー症の臨床 (祖父江逸郎, 西谷裕編), 医歯薬出版, 東京, P 49-55, 1985

10) 向山昌邦, 福山幸夫 :

福山型先天性筋ジストロフィー症の脳波と CT 像

筋ジストロフィー症の臨床(祖父江逸郎, 西谷裕編), 医歯薬出版, 東京, P 228-232, 1985

c. 総 説

1) 安藤一也 :

II 研究業績

老年期痴呆の診断と治療

調布市医師会報 71 : 41-62, 1985

2) 安藤一也 :

Psychogenic regional pain

Geriat Med 23 : 728-734, 1985

3) 安藤一也 :

パーキンソン病の謎, パーキンソン病長期治療上の問題と対策

Practice in Gerontology 13 : 2, 26-28, 1985

4) 安藤一也 :

重症筋無力症

SRL 宝函 9, No. 2 : 1-6, 1985

5) 安藤一也 :

末梢性ニューロパチー

Geriat Med 23 : 1403-1405, 1985

6) 安藤一也 :

薬物の副作用による不随意運動—抗 Parkinson 薬

Clin Neurosci 3 : 1000-1001, 1985

7) Ando, K :

Psychogenic neurological signs and symptoms

Asian Med J 28 : 607-617, 1985

8) 安藤一也 :

Parkinson 病の神経症候

Clin Neurosci 3 : 1316-1319, 1985

9) 安藤一也 :

老年期痴呆の問題点と治療対策

東京都医師会誌 38 : 1108-1123, 1986

10) 安藤一也 :

シャイ・ドレーガー症候群

東京都衛生局昭和60年度特殊疾病講演会講演録 p 15-32, 1986

11) 向山昌邦 :

多発ニューロパチーの分類

Clin Neurosci 4 : 20-21, 1985

12) 向山昌邦 :

日常出会う神経内科疾患

北多摩医師会学術講演集 第9号, 北多摩医師会, P 35-40, 1985

13) 向山昌邦 :

神経内科疾患症例の検討

北多摩医師会学術講演集 第10号, 北多摩医師会, P 45-49, 1986

14) 横井風児, 安藤一也 :

痴呆脳のPET

日本臨床 43 : 131-135, 1985

d. 症例報告

1) 白井康臣, 向山昌邦ほか :

抗てんかん剤 (trimethadione, phenytoin, mephobarbital) の長期服用により高度の末梢神経障害を呈した1症例

神経内科 22 : 573-546, 1985

2) 土屋雅宏, 吉野佳一, 向山昌邦ほか :

起立性低血圧, 発汗減少, 足指欠損を伴った chronic sensory neuropathy の1例

臨床神経 25 : 1210-1216, 1985

3) 横井風児, 一井本, 向山昌邦, 里吉栄二郎, 茅野文利 :

非細菌性血栓性心内膜炎および卵巣腫瘍を伴い長期間生存をみた多発性脳梗塞

神経内科 23 : 536-542, 1985

e. 班会議報告書

1) 安藤一也, 松井京子, 名川雄児, 榊原俊平 :

TRH アナグロの中枢神経作用

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 47-53, 1985

2) 祖父江逸郎, 加藤恭一, …安藤一也ほか :

TRH 注射液投与 SCD 患者における追跡調査結果について

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 71-72, 1985

3) 祖父江逸郎, 松岡幸彦, …安藤一也ほか :

II 研究業績

SCDに対する TRH-T 錠の有効性・安全性に関する研究—TRH-T 錠の長期投与試験について—

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 73-79, 1985

4) 安藤一也, 松井京子 :

運動失調モデルマウスの加齢および TRH 投与による運動量, 運動失調の変化と小脳 cyclic nucleotide との関連

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 138-142, 1985

5) 安藤一也, 松井京子, 榊原俊平, 織田鉄一 :

Rolling mouse Nagoya の運動失調に対する新しい TRH アナログの効果

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性症治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 161-164, 1985

6) 安藤一也, 足立皓岑, 大杉圭子, 向山昌邦, 満間照典 :

筋萎縮性側索硬化症上位運動ニューロンの生化学的分析

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班 1984年度研究報告書, P 52-55, 1985

7) 安藤一也 :

Dyskinesia と症状の日内変動 (ワークショップ Parkinsonism の薬物治療の問題点)

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班, 1984年度研究報告書, P 368-373, 1985

8) 塚越広, 椿忠雄, 安藤一也ほか :

スモン患者の加齢の影響と合併症 (プロジェクト研究)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 227-234, 1985

9) 安藤一也, 豊倉康夫ほか :

重症スモン—不可逆的な起立・歩行不能例の要因について— (プロジェクト研究)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 235-245, 1985

10) 池田久雄, 椿忠雄, 花籠良一, 安藤一也ほか :

若年発症スモンの予後に影響した因子の検討 (プロジェクト研究)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 246-251, 1985

11) 安藤一也, 西谷裕ほか :

スモン患者の実態調査 (昭和59年度) (プロジェクト研究)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 383-392, 1985

12) 花籠良一, 安藤一也ほか :

スモン後遺症者医療の実態と治療評価—59年度における成績— (プロジェクト研究)

- 厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 400-406, 1985
- 13) 岩下宏, 西谷裕, 安藤一也ほか:
スモン患者, その同胞および配偶者の合併症に関する研究 (第2報) (プロジェクト研究)
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 422-427, 1985
- 14) 西谷裕, 安藤一也ほか:
スモン患者長期療養の実態 (プロジェクト研究)
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 472-480, 1985
- 15) 安藤一也, 祖父江逸郎ほか:
スモン患者の地域医療体制に関する予備的研究 (プロジェクト研究)
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和59年度研究業績, P 645-651, 1985
- 16) 安藤一也:
パーキンソン病における痴呆について
厚生省神経疾患・老年脳障害の臨床・発生機序・治療に関する研究班 昭和59年度研究成果報告書, P 119-128, 1985
- 17) 安藤一也, 横井風児, 里吉栄二郎, 原敏彦:
 ^{14}C -pyruvate の合成と PET による脊髓小脳変性症への応用
厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 26-30, 1985
- 18) 安藤一也, 横井風児, 里吉栄二郎, 原敏彦:
脳内酸素消費率測定の簡便法及びポジトロンカメラ“Headtome II”における放射性ガス吸入装置及び頭部固定器の開発
厚生省神経疾患・サイクロトロン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 31-38, 1985
- 19) 安藤一也, 足立皓岑, 森田勇二, 熊沢武志, 大杉圭子, 満間照典:
スモンの異常知覚と疼痛の臨床的および実験的研究
文部省特定疾患・神経難病の発症機構 (II) 昭和60年度研究業績集, P 485-491, 1986
- 20) 向山昌邦:
実験的 vincristine neuropathy の病理学的研究—足底神経の病変を中心に—
厚生省神経疾患・末梢神経障害の病態とその治療に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 66-68, 1985

II 研究業績

- 21) 向山昌邦, 富英明, 北村純一, 埜中征哉 :
透明中隔欠損, 脳室拡大, 頸椎後縦靱帯骨化を認めた若年発症の myotonic dystrophy の一部
検例
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 331-335, 1985
- 22) 向山昌邦, 伊藤妙子, 安藤一也ほか :
在宅神経難病患者の日常生活動作の障害度—通院パーキンソン病患者について—
厚生省特定疾患・難病の治療・看護に関する研究班 昭和59年度研究報告書, P 260-268,
1985
- 23) 向山昌邦 :
Evans blue による血管神経関門の研究—実験的 vincristine neuropathy について—
厚生省科学研究・末梢および中枢神経系のらい病変における神経血管関門の研究班 昭和
59年度研究報告書, P 26-29, 1985
- 24) 三吉野産治, 向山昌邦ほか :
筋ジストロフィー症の遺伝対策
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 39-41, 1985
- 25) 齋田恭子, 向山昌邦ほか :
筋緊張性ジストロフィー症の遺伝, 疫学
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 55-57, 1985
- 26) 檜沢一夫, 向山昌邦ほか :
筋ジストロフィー症剖検例の集計および筋, 神経, 諸臓器の検索
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 319-322, 1985
- 27) 近藤喜代太郎, 向山昌邦ほか :
我国の Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝と疫学—資料の特質と臨床的特徴—
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班
昭和59年度研究報告書, P 42-45, 1985
- 28) 足立皓岑, 大杉圭子, 向山昌邦, 安藤一也, 満間照典, 野木森剛 :

脊髄小脳変性症患者脳の生化学的分析

厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班 昭和59年度研究業績集, P 131-135, 1985

29) 満間照典, 足立皓岑, 向山昌邦, 安藤一也 :

脊髄小脳変性症の脳組織における TRH 濃度について

厚生省新薬開発・脊髄小脳変性治療剤開発研究班 昭和59年度研究業績, P 221-224, 1985

30) 吉田瑞子, 後藤順, 柿沼宏明, 中野今治, 安藤一也, 杉田秀夫 :

Glycerol kinase 欠損を伴う筋ジストロフィー症赤血球リン脂質について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班 昭和60年度研究報告書, P 179-182, 1986

f. その他

1) 安藤一也 :

主な慢性頭痛の原因と治療法

寿 5, No. 6 : 59-67, 1985

2) 安藤一也 :

スモン治療法研究の現状

スモン研究班の先生方からお話して聞く会報告集, P 2-9, 1985

3) 安藤一也 :

パーキンソン病の将来

岐阜県パーキンソン病友の会 61号 : 2-3, 1985

4) 安藤一也, 松井京子 :

運動失調マウスに対する MLV の影響

第1回 MLV 研究会議事録, P 32-42, 1985

5) 安藤一也 :

スモンの恒久対策

ス連協ニュース 106 : 2-3, 1986

6) 安藤一也, 松井京子 :

運動失調マウスに対する MLV-6976 投与後の行動薬理学的検討

第2回 MLV 研究会議事録, P 69-75, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演・シンポジウム

1) 安藤一也：

脳変性疾患（シンポジウム：中枢神経障害の機能回復における諸問題）

第22回日本リハビリテーション医学会総会，宇都宮，6.7，1985（リハ医学 23：36-38）

c. 一般学会

1) 野手とし子，篠塚直子，平山義人，安藤一也，上田敏：

脊髄小脳変性症患者における立ち上がり動作の分析

第22回日本リハビリテーション医学会総会，宇都宮，6.8，1985（リハ医学 22：329）

2) 安藤一也：

パーキンソン病における痴呆の発現要因

第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1431）

3) 岡安裕之，若山英士，安藤一也：

本態性振戦における β_1 受容体の役割

第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1440-1441）

4) 向山昌邦，北村純一，今沢正興，宮本侃治，里吉栄二郎：

副腎・腎・肝などに脂肪沈着を認めた中年発症の sudanophilic leukodystrophy の1剖検例

第26回日本神経病理学会総会，岡山，5.10，1985（神経病理学 6：204-205）

5) 富英明，向山昌邦，埜中征哉，安藤一也，里吉栄二郎：

乳幼児期発症で成人後多彩な症状を有した筋強直性ジストロフィーの1剖検例

第26回日本神経病理学会総会，岡山，5.10，1985（神経病理学 6：271）

6) 向山昌邦：

実験的 vincristine neuropathy の病理組織学的研究

第26回日本神経学会総会，松江，5.24，1985（臨床神経 25：1505）

7) 白井康臣，向山昌邦：

Myotonic dystrophy の臨床病理学的研究—神経系の病変を中心に—

第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1420）

8) 亀井敦行，北村純一，富英明，向山昌邦，里吉栄二郎：

成人発症の sudanophilic leukodystrophy の一剖検例

第94回日本神経学会関東地方会，東京，10.5，1985（臨床神経 26：316-317）

- 9) 亀井敦行, 富英明, 向山昌邦ほか：
FSH 型筋ジストロフィー症と脊髄小脳変性症を合併した一家系
第95回日本神経学会関東地方会，東京，12.7，1985（臨床神経 26：644）
- 10) 野崎稔, 吉野佳一, 向山昌邦ほか：
血清 I gA 高値を示した多発性ニューロパチーの一例
第95回日本神経学会関東地方会，東京，12.7，1985（臨床神経 26：645-646）
- 11) 白井康臣, 向山昌邦：
Myotonic dystrophy 症と Kearns-Shy syndrome における臨床病理学的研究
第54回日本神経学会東海北陸地方会，名古屋，3.15，1986
- 12) 向山昌邦, 横井風児, 安藤一也, 里吉堂二郎：
大脳皮質に広汎なアミロイド斑を認めた高齢発症の motor neuron disease の 1 例
第23回臨床神経病理学会，東京，3.29，1986
- 13) 足立皓岑, 大杉圭子, 向山昌邦, 安藤一也, 満間照典, 野木森剛：
脊髄小脳変性症患者脳における神経伝達物質，TRH の検討
第26回日本神経学会総会，松江，5.24，1985（臨床神経 25：1510）
- 14) 満間照典, 足立皓岑, 向山昌邦, 安藤一也：
ALS 上位運動ニューロンにおける TRH 及び遊離アミノ酸の分析
第26回日本神経学会総会，松江，5.22，1985（臨床神経 25：1436）
- 15) 吉田瑞子, 林文夫, 安藤一也, 里吉堂二郎：
インタクト赤血球の PPI 抽出と分離
第58回日本生化学会大会，仙台，9.27，1985（生化学 57：937）
- 16) 松井京子, 安藤一也：
運動失調モデル動物の加齢による運動量，運動失調の変化と小脳 cyclic nucleotide 濃度との
関連
第26回日本神経学会総会，松江，5.24，1985（臨床神経 25：1548）

C. 班会議発表

- 1) 安藤一也：
スモンの異常知覚と疼痛の臨床的研究
文部省特定研究「神経難病の発症機構」第6班「疼痛のメカニズム」昭和60年度第1回班

II 研究業績

会議，東京，8.9，1985

2) 安藤一也，横井風児：

^{14}C -pyruvate の中枢性神経疾患への応用

厚生省神経疾患・サイクロترون核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究

昭和60年度研究報告会，東京，9.14，1985

3) 安藤一也，足立皓岑，森田勇二，熊沢武志，大杉圭子，満間照典：

スモンの異常知覚と疼痛の臨床的および実験的研究

文部省特定研究「神経難病の発症機構」第6班「疼痛のメカニズム」昭和60年度第2回班

会議，東京，12.12，1985

4) 安藤一也，足立皓岑，大杉圭子，向山昌邦：

筋萎縮性側索硬化症運動ニューロンにおけるセロトニン代謝

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班 昭和60年度研究報告会，東京，2.7，1986

5) 横井風児，安藤一也，野崎正，新井五輪生，岸本正子，末広牧子，久保寺昭子：

^{75}Br (^{77}Br) -bromospiroperidol の合成および脳内代謝

厚生省神経疾患・サイクロترون核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究

昭和60年度研究報告会，東京，2.15，1986

6) 安藤一也，足立皓岑，森田勇二，熊沢武志，大杉圭子，満間照典：

キノホルム中毒ラットの中枢神経における神経伝達物質の検計（第一報）

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議，東京，2.20，1986

7) 藤原哲司，塚越廣，安藤一也ほか：

スモン患者の合併症と加齢の影響（プロジェクト研究）

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議，東京，2.20，1986

8) 安藤一也，西谷裕ほか：

スモン患者の実態調査（プロジェクト研究）

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議，東京，2.21，1986

9) 岩下宏，松本昭久，安藤一也ほか：

スモンならびにコントロール疾患における合併症および自覚調査（プロジェクト研究）

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議，東京，2.21，1986

10) 安藤一也，高橋光雄ほか：

スモン患者の分布と医療に関するアンケート調査（プロジェクト研究）

- 厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議, 東京, 2.21, 1986
- 11) 中江公裕, 柳川洋, 安藤一也 :
スモン患者のデータベース作成に関する研究
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度班会議, 東京, 2.21, 1986
- 12) 安藤一也, 松井京子 :
運動失調マウスに対する caerulein の影響
厚生省新薬開発・神経ペプチドによる精神神経障害治療薬の開発研究班 昭和60年度班会議, 東京, 3.6, 1986
- 13) 向山昌邦, 檜沢一夫ほか :
筋ジストロフィー症剖検例の登録と福山型症例の神経病理学的研究
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班 昭和60年度班会議, 東京, 12.10, 1985
- 14) 向山昌邦, 河崎博, 安藤一也 :
亜急性多発根神経炎の1剖検例
厚生省神経疾患・末梢神経障害の病態とその治療に関する研究班 昭和60年度研究報告会, 東京, 1.24, 1986
- 15) 向山昌邦, 増田国男, 篠塚直子ほか :
在宅神経難病患者ケアの実態
厚生省特定疾患・難病の治療・看護調査研究班 昭和60年度班会議総会, 東京, 2.4, 1986
- 16) 斎田恭子, 向山昌邦ほか :
筋緊張性ジストロフィー症の遺伝・疫学—全国アンケート調査第1報—
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班 昭和60年度班会議, 東京, 12.9, 1985
- 17) 三吉野産治, 向山昌邦ほか :
Duchenne 型筋ジストロフィー症の遺伝疫学に関する研究
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療開発に関する研究班 昭和60年度班会議, 東京, 12.9, 1985
- 18) 足立皓岑, 熊沢武志, 向山昌邦, 安藤一也, 織田銃一 :
遺伝性運動失調マウス Shambling mouse の中枢神経におけるセロトニン代謝の検討
厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班 昭和60年度報告会, 東京, 1.25, 1986

II 研究業績

19) 吉田瑞子, 後藤順, 柿沼宏, 中野今治, 安藤一也, 杉田秀夫 :

Glycerol kinase 欠損を伴う筋ジストロフィー症赤血球リン脂質について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班 昭和60年度報告会, 東京, 12.7, 1985

D. 研究会など

1) 安藤一也 :

片頭痛の治療

日本短波放送「今日の治療-神経内科」, 4.5, 1985

2) 安藤一也 :

パーキンソン病の将来と展望

全国パーキンソン友の会武蔵野ブロック講演会, 武蔵野市, 6.1, 1985

3) 安藤一也 :

最近におけるパーキンソン病治療上の問題点

第7回道東・道北パーキンソン症候群懇話会特別講演, 旭川市, 6.15, 1985

4) 安藤一也 :

パーキンソン病の診断と治療

杉並区医師会学術講演会, 東京, 6.21, 1985

5) 安藤一也, 松井京子 :

運動失調マウスに対する MLV の影響

第1回 MLV 研究会, 東京, 6.28, 1985

6) 安藤一也 :

パーキンソン病の診断と治療

第69回置賜医会特別講演, 米沢市, 7.11, 1985

7) 安藤一也 :

シャイ・ドレーガー症候群

昭和60年度第1回特殊疾病講演会(東京都衛生局), 東京, 9.14, 1985

8) 安藤一也, 水野美邦, 森皎裕, 山田克浩 :

パーキンソン病治療の現状と問題点(パネルディスカッション)

パーキンソン病治療研究会, 立川市, 9.21, 1985

- 9) 安藤一也：
神経系難病のリハビリテーション
関東信越国立病院・療養所医療従事者講習会，東京，10.4，1985
- 10) 安藤一也：
頭痛の診断と治療
頭痛・肩こりシンポジウム，東京，10.19，1985
- 11) 安藤一也：
神経系難病の最近の治療について
難病看護研究会・在宅看護研究会公開セミナー，東京，11.1，1985
- 12) 安藤一也：
難病医学（神経系難病）—シャイドレーガー症候群を中心として—
難病実務講習会（東京都衛生局），東京，11.12，1985
- 13) 安藤一也：
心因性疼痛
大正製薬研究開発計画部研修会，東京，11.13，1985
- 14) 安藤一也：
老年期痴呆の診断と治療
東大和医師会学術講演会，東大和市，11.14，1985
- 15) 安藤一也：
神経難病の臨床と疫学
地域難病医療研修会（京都府衛生部），京都府園部，11.15，1985
- 16) 安藤一也：
シャイ・ドレーガー症候群
昭和60年度第2回特殊疾病講演会（東京都衛生局），東京，11.28，1985
- 17) 安藤一也：
パーキンソン病の診断と治療
福島県三医師会合同講演会，福島市，11.30，1985
- 18) 安藤一也：
パーキンソン病の診断と治療
神奈川県パーキンソン病学術講演会，横浜市，12.14，1985

- 19) 安藤一也：
パーキンソン病の治療
学術講演会—パーキンソン病の問題点—，東京，12.18，1985
- 20) 安藤一也：
パーキンソン病最近の話題
呉市医師会内科会学術講演会，呉市，1.21，1986
- 21) 安藤一也：
パーキンソン病の治療方針
京滋神経セミナー特別講演会，京都市，1.27，1985
- 22) 安藤一也，松井京子：
運動失調モデルマウスに対する MLV-6976 投与後の行動薬理学的検討
第2回 MLV 研究会，東京，1.31，1986
- 23) 安藤一也：
パーキンソン病の診断と治療
埼玉パーキンソン病研究会，大宮市，3.8，1986
- 24) 安藤一也：
パーキンソン病の診断と治療
千葉県パーキンソン病学術講演会，千葉市，3.15，1986
- 25) 安藤一也：
パーキンソン病の診断と治療
山梨パーキンソン病と抗パーキンソン剤に関する研究会特別講演，甲府市，3.26，1986
- 26) 富英明，春原経彦，安藤一也，里吉堂二郎：
パーキンソン病に於ける眼球，眼瞼運動の検索
第6回三多摩パーキンソン病懇話会，立川市，6.29，1985
- 27) 富英明，亀井敦行，横井風児，安藤一也，里吉堂二郎：
特異な経過をとった悪性胸腺腫に伴う重症筋無力症の1例
第15回三多摩神経疾患懇話会，立川市，9.28，1985
- 28) 向山昌邦：
神経内科症例について
小平市医師会学術講演会，小平市，6.11，1985

- 29) 向山昌邦：
パーキンソン病
立川保健所パーキンソン教室，立川市，6.21，1985
- 30) 向山昌邦：
パーキンソン病の現状
田無保健所パーキンソン患者の会，田無市，6.25，1985
- 31) 向山昌邦：
CT スキャンのみかた，考え方
若竹会（多摩地区医師研修会），立川市，7.6，1985
- 32) 向山昌邦：
神経系の解剖と生理
立川准看学院講演会，立川市，7.23，1985
- 33) 向山昌邦：
末梢神経障害の臨床と病理—らしいの末梢神経障害の理解のために—
第9回らしい医学夏期大学講座，東村山市，8.30，1985
- 34) 向山昌邦：
神経難病の診断と治療
田無市医師会講演会，田無市，2.24，1986
- 35) 向山昌邦：
脳腫瘍
若竹会（多摩地区医師研修会），立川市，3.15，1986
- 36) 北村純一，横井風児，富英明，亀井敦行，杉田秀夫，里吉営二郎：
白内障，知能低下，小脳失調症を呈した2例
第14回三多摩神経疾患懇話会，立川市，4.13，1985
- 37) 安井昌之，八瀬善郎，安藤一也，向山昌邦，足立皓岑，大杉圭子：
ICP 法によるひと中枢神経組織の Mg 測定の試み（予報）
第5回日本マグネシウム研究会，京都，12.5，1985

3. 主な研究報告

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の臨床病理学的研究
—神経センターにおける19剖検例について—

向山昌邦

目的と方法

1969年以來7年間に神経センターで経験したALS19剖検例の臨床像と病理所見について検討する。臨床像は19症例について、病理所見はHE, KB および Bodian 染色標本の検索を終了した15症例を集計する。

結果と考察

臨床像：性別は男14例, 女5例。病型は common form 14例, pseudopolyneuritic form 4例, bulbar form 1例。死亡年齢, 罹病期間は図1, 2の通りである。ALSは一般に50歳前後に発症し, 3~4年の経過で死亡するものが多いといわれているが, 今回の集計では50~60歳代での死亡例が多かったこと, 高齢発症(死亡)例や長期生存例を認めたことなど興味深いデータを得た。

神経病理所見：

1) 脊髄前角の神経細胞脱落と gliosis を全例に認めた。脊髄の異ったレベルでの病変の程度は臨床症状の程度とよく一致していた。

2) Bunina 小体は5例の前角神経細胞にのみ認めた。Bunina 小体は前角神経細胞障害が中等度の部位に多く存在したが, Bunina 小体と臨床経過との関連は判然としなかった。延髄舌下神経核には1例においてのみ Bunina 小体を認めた。

3) 錐体路の変性を全例に認めた。脊髄にのみ錐体路変性を認めたものは3例, 延髄以下に認めたもの5例, 中脳以下に認めたもの7例であった。内包以上の部位では錐体路変性を認めなかった。

4) 脊髄後索の変性を7例に認めた。後索の変性をきたす原因としては, 糖尿病, 欠乏症, 循環障害, aging, 中毒, 遺伝などが考えられるが, 本研究の症例の中では, 糖尿病が1例(但し良好にコントロールされていた)と, aging によるとと思われるもの各1例を認めた。

5) 大脳運動領の Betz 細胞の変性, 脱落と gliosis は, 程度の軽いものまで含めると全例に存在した。

6) Onuf 核の神経細胞は全例で良く保存されていた。

7) 高齢死亡の1例で大脳皮質全体に老人斑とアミロイド斑(おそらく老人斑と関連したもの)をびまん性に認めた。アンモン角の神経細胞にのみ neurofibrillary tangle と granulovacuolar degeneration の所見を認めた。舌下神経核や脊髄前角細胞にはこれらの所見を認めなかった。

8) 長期生存の1例では, 変性した脊髄錐体路で gliosis の程度が軽く, その部位が spongy な様相を示した。この所見は文献にも記載されているが, その原因は未だ不明である。

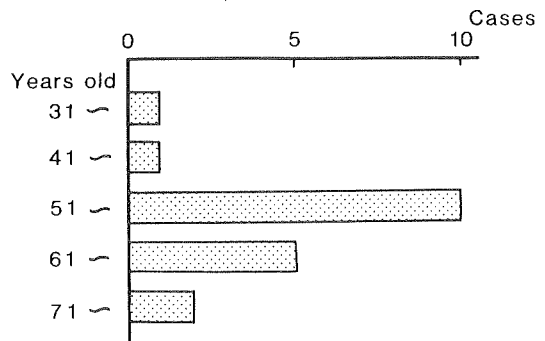


図1 死亡年齢

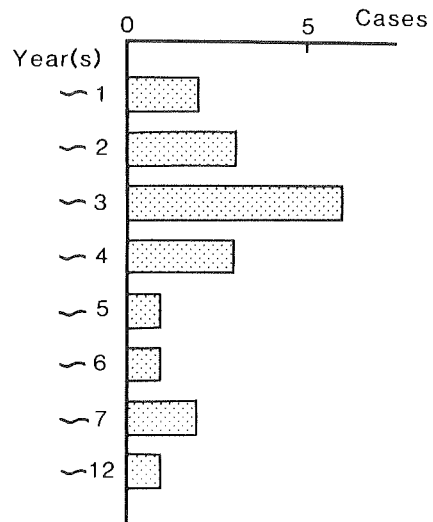


図2 罹病期間

筋萎縮性側索硬化症の上位運動ニューロンにおけるセロトニン代謝

大杉圭子, 森田勇二, 足立皓岑, 安藤一也

はじめに

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の上位運動ニューロンについて形態学的変化はよく知られているが, 生化学的変化についての知見は乏しく一定の見解は得られていない。

そこで今回, ALS 上位運動ニューロンにおける生化学的変化を解明する目的でまずセロトニン代謝について検討した。

対象および方法

今回, 我々が対象とした ALS 患者は臨床病理学上 common form と診断された症例で男子 9 例, 女子 2 例の合計 11 例であり, その平均年齢は 61 歳であった。(Table I)。コントロール群は 6 例であった。

deep freezer にて保存した脳組織より運動野, 内包, 大脳脚, 脳梁を採取してセロトニン代謝の分析を行った。セロトニン代謝の分析は HPLC-ED 法にて行った。

結 果

1. 5-HTP

運動野において ALS 群の方がコントロール

Neuropathology of ALS cases

症 例	Betz cells (Degeneration) Cell loss	内 包 (Degeneration)	大 脳 脚 (Degeneration)	脳 梁 (Degeneration)
No 1 59才 男	+	-	+	-
No 2 53才 男	+	-	-	-
No 3 66才 女	+	-	-	-
No 4 46才 男	+	-	+	-
No 5 52才 男	+	-	-	-
No 6 52才 女	+	-	+	-
No 7 52才 男	+	-	+	-
No 8 62才 男	+	-	-	-
No 9 66才 男	+	-	+	-
No 10 56才 男	+	-	+	-
No 11 54才 男	+	-	-	-

群より高値傾向を示したが有意差はなかった。内包, 大脳脚, 脳梁においても有意差はみられなかった (Table 2)。

2. 5-HT

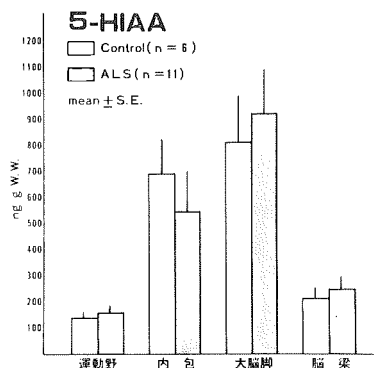
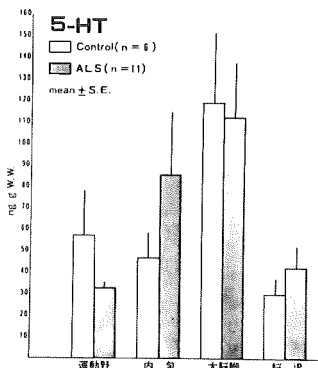
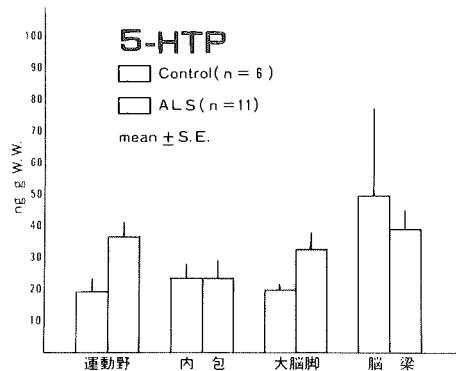
運動野において ALS 群がコントロール群より減少傾向を示したが有意差なく, 他の 3 部位にも有意差はなかった。(Table 3)。

3. 5-HIAA

いずれの部位においても両群間に有意差はみられなかった。(Table 4)。

考 察

主として raphe 核からセロトニンニューロンが大脳皮質 5 層まで達し, 生理学的影響を及ぼしている事が知られている。今回の ALS 上位運動ニューロンでのセロトニン代謝には異常は認められなかったが, 更に症例をふやして検討する必要が考えられた。



変性神経疾患の金属代謝 —Mg を中心に—

安井昌之, 安藤一也, 向山昌邦
足立皓岑, 大杉圭子, 八瀬善郎*

中枢神経組織 (CNS) の変性過程に Ca, Al, P, Mn 等の金属が関与している可能性はこれ迄報告されているが, 今回変性神経疾患の CNS 中の Mg の動態を ICP 発光分析法を用いて追求したので報告する。

方 法

1年以上のホルマリン固定脳の Mg の流出は看過し得ないため, パーキンソン病 (P病) 4例:ホルマリン固定期間平均7.8カ月, ハンチントン病 (H病) 3例:平均7カ月, 運動ニューロン疾患 (MND) 4例:平均5カ月, 中枢神経病変のない健常老人5例:平均8.4カ月を使用し, 他の金属との共存関係を検討した。測定部位は大脳皮質より脊髄に至る26カ所, 肝, 脾, 腎など11臓器である。試料は10%ホルマリンで固定された後以上の各部位から湿重量100~150mgを採取し, 72時間105°C恒温で乾固したものを再び重量測定し, 放射化分析を行ったものについて測定した。

即ちその試料を65% HNO_3 と60% HClO_4 に浸漬してMgの抽出を行い, その抽出液を100倍希釈して遠沈し液性成分を測定試料とし, ICP発光分析に供した。

結 果

(1) CNS平均Mg含有量はコントロール群 548 ± 116 ppm (dry weight 以下同), P病群 336 ± 124 ppm, H病群 451 ± 184 ppm, MND群 383 ± 107 ppmで, 変性神経疾患群はコントロール群に比しそれぞれ低下 ($P < 0.01$) を示した (Table 1)。

(2) コントロール群の基底核 (尾状核, 淡蒼球, 被殻) でのMg含有量はその他の部位の含有量よりも多いが ($0.01 < P < 0.05$), P病群やH病群ではその間の差を示さなかった。

(3) Mgと他の金属間との相関はP病群ではAl, Da, P, と, H病群ではCu, P, Mnと, MND群ではCa, Al, P, Mnとの間に相関がみられ, 殊にMND群4例全てにCaとMgとの間に相関を示した (Table 2)。

考 察

この結果から変性神経疾患に於てMgはCa, Al, P等と緊密な関係を持っていると思われるが特にMNDに於てCaとの強い相関が見られたのはその発現機序を探る上で興味ある。

Table 1 Average Concentration of Magnesium in Whole CNS Tissues in Degenerative Disease Cases

Cases Region	Control Cases	Parkinson D.	Huntington D.	MND
Basal Ganglia	601±80	309±111	460±172	356±119
Other Area	541±119	340±125	450±186	387±104
Coefficiency	0.01<P<0.05	(-)	(-)	(-)
Gray Matter	515±119	312±120	437±184	371±103
White Matter	630±85	411±107	511±175	426±110
Coefficiency	P<0.01	P<0.01	(-)	0.01<P<0.05
Whole CNS	548±116	336±124	451±184	383±107

(ppm: dry weight)

Table 2 Significant Correlation between Mg and other Metals of MND Cases

Case No.	Cu	Al	Mn	Ca	P
I	-	-	+	+	+
II	-	+	-	+	+
III	-	-	-	+	-
IV	-	+	+	+	-

* 和歌山医大神経病研究部

遺伝性運動失調マウス： Shambling マウスの中樞神経系におけるモノアミン代謝の検討

熊沢武志，足立皓岑，安藤一也

遺伝性運動失調マウスのひとつである Shambling マウスは、常染色体劣性遺伝形式を示す mutant で後肢のひきずり歩行及び軀幹の動揺などの運動失調がみられる。この Shambling マウスの病態解明は今だ充分に行なわれていない。今回はこのマウスの中樞神経系におけるモノアミン系神経伝達物質について検討した。

方法

Shambling マウス (shm/shm) 及び正常マウス (shm/+or+/+ : control) は共に15週齢を用いた。断頭後速やかに脳脊髄を取り出し、大脳皮質、海馬、線条体、視床、視床下部、小脳、橋、延髄、頸髄、胸髄、腰髄の11部位に分離した。各部位は過塩素酸でホモゲナイズし、遠心後その上清をモノアミン測定に用いた。測定対象は、Serotonin(5-HT), 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA), dopamine (DA), 3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC), norepinephrine (NE), 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MHPG) とし、HPLC-ED 法にて測定した。

結果と考察

Shambling マウスは正常マウスと比較して

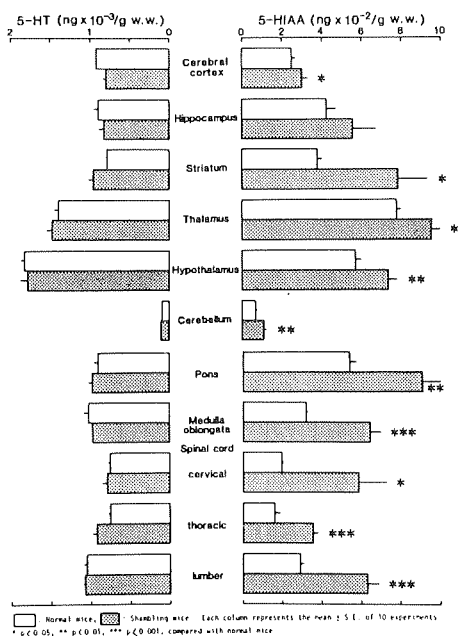


Fig. 1

モノアミン系神経伝達物質及びその代謝物が以下の部位で変化を示した。インドールアミン系では5-HIAA 濃度が海馬を除く全部位で増加を示した。特に、延髄及び脊髄での増加が著明であった (Fig. 1)。カテコールアミン系では、DA 濃度が視床下部で、DOPAC 濃度は大脳皮質、線条体を除く全部位でインドールアミン系とは逆に減少傾向を呈し、視床下部、延髄、胸髄、腰髄で特に著明な減少を示した (Figs. 2 & 3)。NE 濃度は延髄で、MHPG 濃度は海馬、視床、小脳、胸髄の各部位で減少がみられたが、インドールアミン系又は DA 系でみられるような中枢神経系広範な変化は認められなかった。

今回の結果から、Shambling マウスの中樞神経系において、セロトニン代謝の増加及びドーパミン代謝の減少が示唆される。また、視床下部でのドーパミン代謝減少は Shambling マウスの神経内分泌現象に影響している可能性が示唆される。このような Shambling マウスの中樞神経系におけるモノアミン系神経伝達物質代謝の変化は、運動失調症状の発現機構を考える上で重要な指標となり得る。今後、さらに詳細な検討を行なう予定である。

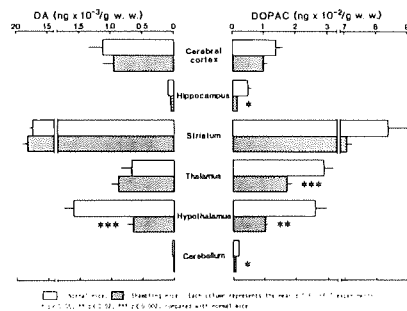


Fig. 2

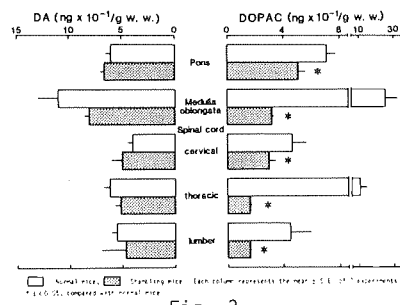


Fig. 3

運動失調マウスに対する caerlein 投与の影響

松井京子, 安藤一也

コレシストキニン (CCK) の中枢神経作用は TRH と拮抗する点が多く, 小脳 c-GMP 濃度を減少させることが報告されているが, 運動失調マウスに対する影響については未だ検討されていない。そこで, 今回, 二種類の遺伝性運動失調マウスに CCK-8 類似物質の caerlein (CLN) を投与し, 運動量, 運動失調に対する影響について検討した。

方法

対象マウス: Rolling mouse Nagoya (RMN), Wriggle mouse Sagami (WMS)

使用薬剤: TRH, CLN

運動状態の観察: CLN あるいは TRH を投与 (I.P.) し, open-field 上において各マウスの移動量と転倒回数を計測 (TRH: 30 分間, CLN: 60 分間) し, 転倒指数 (転倒回数/移動量) を算出した。RMN については CLN を 15 分前に前処置後 TRH を投与し, TRH 単独投与の場合と比較した。

結果

TRH (25mg/kg) 投与後 30 分間の移動量は生理食塩水投与に比べて RMN では有意 ($P < 0.01$) に増加し, その逆に WMS では有意に低下 ($P < 0.05$) した。TRH 投与後 30 分間の転倒指数は生理食塩水投与に比べて RMN では有意 ($P < 0.001$) に低下し, WMS では明らかな差はみられなかった (図 1)。

CLN (15, 30, 75, 150 μ g/kg) 投与後 60 分間の移動量は生理食塩水投与に比べて RMN では 15 μ g/kg を除く投与量において有意 ($P < 0.05$) に低下し, WMS ではいずれの投与量においても有意 ($P < 0.05$) に低下した。CLN 投与後 60 分間の転倒指数は生理食塩水投与に比べて RMN では明らかな差はみられなかったが, WMS においては有意 ($P < 0.05$) に低下した (図 2)。さらに, WMS の特異な首振り運動は CLN 投与により消退し, 安定姿勢の保持が観察された。

RMN において CLN (75 μ g/kg) 前処置で TRH 投与に比べ, 移動量は有意 ($P < 0.05$) に低下したが転倒指数には明らかな差はみられなかった。

考察

本実験から, TRH 投与により RMN では運動失調の改善がみられ, WMS では運動失調の

改善が認められないことがわかった。しかし, CLN 投与により RMN では運動失調の改善がみられないが, WMS では軽度な運動失調改善傾向と特異な首振り運動の消退が認められた。以上のことから RMN と WMS とでは TRH と CLN 投与後の行動薬理的な反応が異なることから, WMS と RMN とでは運動障害の発現機序が異なる可能性が示唆された。

TRH は小脳 c-GMP 濃度を増加させる作用があり, その逆に CCK は小脳 c-GMP 濃度を減少させる作用がある。このように相反した作用が両マウスの行動変化にどのような影響をもたらすかについては今後の検討が必要と思われる。

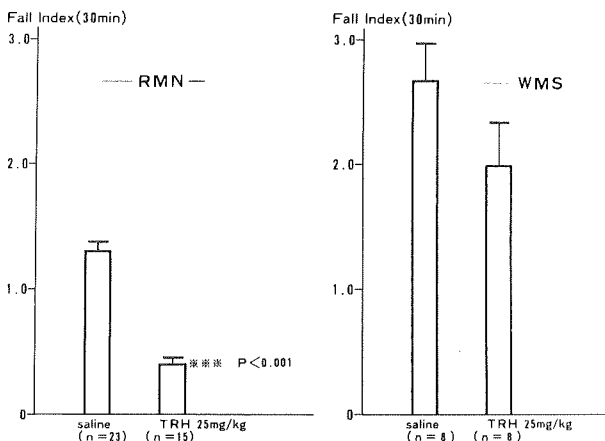


図 1 RMN および WMS における TRH 投与後の転倒指数の変化

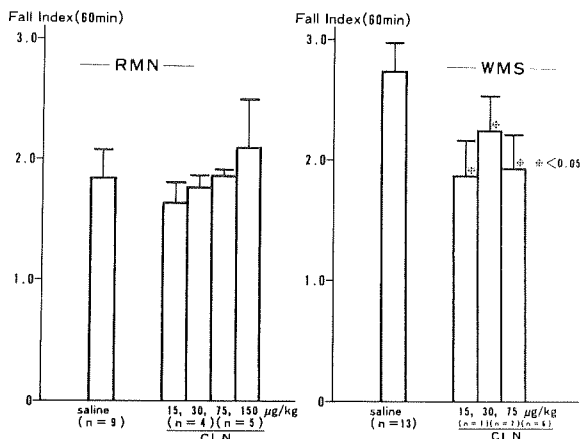


図 2 RMN および WMS における CLN 投与後の転倒指数の変化

Glycerol kinase 欠損を伴う筋ジストロフィー症の赤血球リン脂質について

吉田瑞子

Glycerol kinase 欠損, 先天性副腎低形成を伴う Duchenne 型筋ジストロフィー症 (GKD-CAH-DMD) 患者赤血球のリン脂質について, Duchenne 型筋ジストロフィー症 (DMD) 患者と気管支喘息患者の赤血球を対照に比較検討した。

対照と方法

赤血球は GKD-CAH-DMD 患者 (男児, 9 歳, 1 名), 同年齢層の男児 DMD 患者 (5 名) と気管支喘息患者 (5 名) のヘパリン血より得た。気管支喘息患者の赤血球は, 筋疾患赤血球の対照として用いた。血漿分離した赤血球は Ca^{2+} とグルコースを含むリン酸緩衝食塩溶液で洗滌し, 同じ緩衝溶液に浮遊した。その浮遊液を 2 等分し, 各々を $0^{\circ}C$ と $37^{\circ}C$ に 3 時間浮置した。

リン脂質の抽出, 分離と定量: ホスファチジルエタノールアミン (PE), ホスファチジルコリン (PC), ホスファチジルセリン (PS), スフィンゴミエリン (sph), ホスファチジールイノシトール (PI) とホスファチジン酸 (PA) の抽出は Folch の方法に従った。上記のリン脂質の分離は, シリカゲル 60 薄層板を用いて二次元薄層クロマトグラフ法で行った。

ジホスホイノシタイド (DPI) とトリホスホイノシタイド (TPI) の抽出, 分離は昨年度の本年報に示した方法に従った (但し酸抽出した溶液を NH_4OH で pH9.5 に調整した)。

リン脂質の検出, 定量は, ヨード発色を行い, スポットをかき取り, Bertlett 法でリン定量を行なった。

結果と考察

GKD-CAH-DMD, DMD と control の赤血球の PE, PC, PS と sph の含量は, 三つのグループ間で差異は認められず, また温度変化の影響も受けなかった。この結果は赤血球のリン脂質の主成分において, DMD と control 間に差異はないという報告と一致した。

イノシトール代謝系リン脂質 (PI, DPI, TPI, PA) はリン脂質中の微量成分であるが, 細胞膜の刺激一受容応答および Ca^{2+} 代謝に関与し, 細胞の生命維持に重要な役割を果している。これ等のリン脂質は温度変化の影響を受ける。

GKD-CAH-DMD, DMD と control のイノシトールリン脂質と PA 含量の温度効果について図に示す。

PI と DPI: 赤血球を $0^{\circ}C$ から $37^{\circ}C$ に 3 時間浮置すると GKD-CAH-DMD (白丸), DMD (黒丸) と control (四角) の PI 含量はいずれの場合も増加し, DPI は減少した。すなわち三つのグループ間で, PI, DPI 含量の温度変化に

は差異が認められなかった。

TPI と PA: GKD-CAH-DMD 赤血球 (白丸) の TPI 含量は, 温度が上昇すると減少し, PA 含量は増加した。DMD (黒丸) の TPI 含量は変化しないか, わずか増加した。PA 含量は総て増加した。control (四角) の場合は, 5 名中 2 名の TPI 含量が変化なく, その PA 含量は増加した。この結果は DMD 赤血球の挙動と一致した。control の他 3 名の TPI 含量は, 温度上昇と共に増加し, PA 含量は減少した。一般に正常赤血球の TPI は, 赤血球の温度を $0^{\circ}C$ から $37^{\circ}C$ にするとその含量が上昇すると云われている。したがって control 3 名の TPI 含量の挙動は正常赤血球と一致した。

年齢 20 歳前後の DMD と control の赤血球の TPI と PA 含量の温度変化について, 昭和 57, 58 年度本年報に報告した。その結果は, 温度が上昇すると DMD 赤血球の TPI 含量は減少し, PA 含量は増加した。一方 control の TPI 含量は逆に増加し, PA 含量は減少した。この結果と本年度の結果を考え合わせると, 赤血球の温度が $0^{\circ}C$ から $37^{\circ}C$ に上昇した時, DMD の TPI 含量は減少し PA 含量は増加する。一方 control の赤血球の TPI は逆に増加し, PA 含量は減少する傾向を示す。GKD-CAH-DMD の TPI と PA 含量の温度変化は DMD の赤血球の挙動と一致し, 異常を示した。

DMD 及び GKD-CAH-DMD の赤血球はイノシトールリン脂質代謝系に異常があると考える。

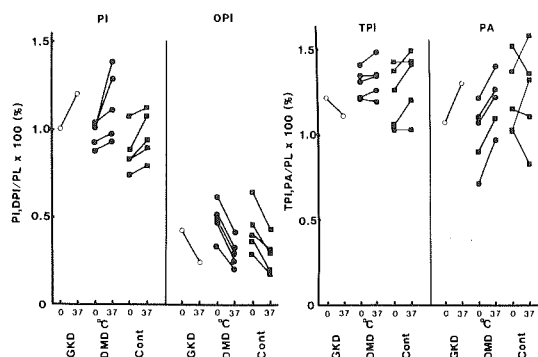


図 GKD (GKD-CAH-DMD), DMD と control 赤血球の $0^{\circ}C$ と $37^{\circ}C$ における PI, DPI, TPI と PA 含量。縦軸は総リン脂質に対するモル比を示す。

^{75}Br (^{77}Br) -bromspiropiperidol (BSP) の合成及びその PET 所見

横井風児, *野崎 正, **末広牧子
***飯尾正明, 里吉栄二郎, 安藤一也

ポジトロン CT による脳内ドーパミンレセプターの in vivo assay は中枢性神経疾患の病態解明の上で重要な意味をもつと考えられる。そこで脳内ドーパミンレセプターのリガンドとして強力な親和性を有するブチロフェノン系誘導体であるスピロペリドールに注目し、ポジトロンエミッターである ^{75}Br の標識を試みた。更に、得られた ^{75}Br (^{77}Br) -BSP のドーパミンレセプターに対するリガンドとしての親和性を動物実験で検討した。

^{77}Br 及び ^{75}Br の両核種は理化学研究所の160 cm サイクロトロンを用い、 ^{75}As を標的核種として作製した。 ^{77}Br は ^{75}As (α , 2 n) ^{77}Br 反応により、また ^{75}Br は ^{75}As (^3He , 3 n) ^{75}Br 反応により製造した。得られた ^{75}Br (^{77}Br) の水溶液を100 μl まで濃縮し、1 mg/ml スピロペリドール-酢酸溶液100 μl を加え、更に5.3mg/ml のクロラミン-T水溶液10 μl を加え、5分間室温にて反応させた後、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて分離した。分離精製した ^{75}Br (^{77}Br) -BSP を生理食塩水に溶解して用いた。なお、スピロペリドール及びプロモスピロペリドールの構造式を図1に示す。また ^{77}Br の半減時間は57時間、 ^{75}Br の半減時間は95.5分である。

得られた ^{77}Br -BSP 溶液をマウス (20g) 20匹に1匹あたり10 μCi 静脈内投与してアイソトープの経時的な脳内分布を検討した。表1にマウ

ス脳内各部位への ^{77}Br -BSP の取りこみ (cpm/g) 及び小脳に対する線条体及び大脳皮質の放射能の取りこみ比率を示した。 ^{77}Br -BSP の小脳に対する線条体の取りこみ比率は経時的に増加し、2時間後では約5倍、3時間後では約6倍、4時間後では約10倍になっている。

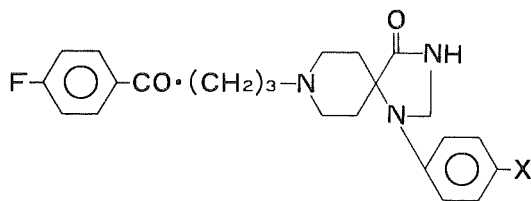
更に、20g のマウス8匹を2群に分け、1群の4匹の腹腔内にドーパミン D_2 レセプターに対する強力な拮抗剤である butaclamol 0.1mg を投与し、20分後に ^{77}Br -BSP 溶液を10 μCi 尾静脈内に投与し2時間後に断頭した。第2群の4匹のマウスには butaclamol を投与せずに ^{77}Br -BSP 溶液のみを10 μCi 尾静脈内に投与し2時間後に断頭した。両群とも線条体、小脳及び大脳皮質の平均組織重量あたりの放射能を求めた結果、 ^{77}Br -BSP の線条体への取りこみは butaclamol により高度に抑制されることが証明された。

更に、 ^{77}Br -BSP 0.8mCi を9 kg の雌のニホンザルに静脈内投与し、2時間後にポジトロンカメラで尾状核レベルを10分間撮影したところ、 ^{75}Br は明らかにサルの尾状核に集積することが証明された。

上記の実験結果より、 ^{77}Br -BSP は強力な脳内ドーパミンレセプターに対するリガンドであり、ポジトロン CT による基底核疾患への臨床応用に十分耐え得るすぐれたポジトロン放出核種標識化合物であると考えられる。

表 1

	0.5 hr	1 hr	2 hr	3 hr	4 hr
Cerebellum (cpm/g, ratio)	5800 (1.00)	3966 (1.00)	1834 (1.00)	1214 (1.00)	793 (1.00)
Striatum (cpm/g, ratio)	8951 (1.54)	8680 (2.19)	9625 (5.25)	7245 (5.97)	8381 (10.6)
Cerebral cortex (cpm/g, ratio)	7276 (1.25)	5914 (1.49)	3389 (1.85)	2165 (1.78)	1507 (1.90)



X=H : Spiperone

X=Br : Bromospiperone

図 1

* 理化学研究所
** 都立老人研究所
*** 国立療養所中野病院

6. 疾病研究第5部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第5部は、遺伝代謝病としての神経疾患を主な研究対象とする。多くは小児期に重症の脳障害としてみられる。代謝性神経疾患の数は多いが、その中で細胞内リソゾームへの遺伝性蓄積症の診断、病態解析、治療法の開発などに関する研究を主要テーマとしている。

昭和60年度の研究スタッフは以下の通りである。部長：鈴木義之(併任)。室長：大村清。研究員：桃井隆。流動研究員：溝部達子(60年6月退職)、加藤悟郎(60年5月退職)、難波栄二、Shimon Gatt(60年5月)、辻明彦(60年10月就任)。併任研究員：飯田静夫、加藤悟郎(60年5月就任)。研究生：小野寺敏(60年6月辞職)、溝部達子(60年7月就任)。須貝研司(60年7-9月)。賃金研究員：粕谷淳子、稲山順子(60年4月)、新本美智枝、今林知子。研究補助員：野村恵子、大町房子(60年4月~61年1月)、中村春子(61年2月就任)、豊田暢子(61年2月就任)。

当研究部の具体的な研究内容は、大きく分けると3つの流れにまとめることができる。第一はいろいろな臨床病状を示す多くの患者の生化学的診断を確定し、その病態を生体試料を用いて解析すること。第二にはこれらの疾患を理解し、治療法を開発するのに欠くべからざる基礎的知見を集積すること。主にリソゾーム酵素分子の細胞内における合成、輸送、活性修飾、分解など、細胞学的手法を用いた研究。第三に神経組織の生物学的特性を、免疫学的、分子生物学的方法によって解析し、神経疾患の症状発現機序を明らかにすることである。

(1) 代謝性神経疾患の診断

検査項目の追加、検査法の改良により、殆どのリソゾーム病診断が可能となった。Tay-Sachs病及びKrabbe病診断の為に新しい基質が導入され、それぞれの病気の欠損酵素活性測定が極めて容易になった。この分野では、当部に短期の流動研究員として参加されたHebrew大学神経化学教室のGatt教授との共同研究が行われ、この新しい方法によってKrabbe病が実際に診断され、また培養細胞を用いた負荷試験により、細胞内代謝の解析も可能となった。

症例としては、ガラクトシアリドーシスの乳児例が発見され、遺伝性代謝病における臨床的発現の多様性の生化学的ならびに遺伝学的基礎に対するアプローチへのよいモデルとなった。

(2) リソゾーム病の病態ならびに治療法に関する研究

昨年度に引き続きG_{M1}-ガングリオシドーシスとガラクトシアリドーシスにおけるβ-ガラクトシ

ダーゼの細胞内動態とその病態を調べた。特に後者では保護蛋白と呼ばれる特殊な蛋白が、酵素蛋白の安定性に大きな意味をもっていることが知られており、病像の強さとの相関関係が明らかにされた。また全身性血管病であるファブリー病の血管病変を調べてみると、プロスタグランジンのバランスが乱れ、血小板凝集能が著しく亢進していた。この変化を矯正するために、ビタミンEやチクロピジンに患者に投与してみたところ。血小板凝集は正常化した。本質的な治療法ではないにしても、このような対症療法は、患者にとって、その予後決定に極めて大きな意味を持つものである。

(3) リソゾーム酵素の細胞内代謝

細胞内輸送及び酵素蛋白に対するレセプターの分析は本年度も続けられた。酵素分子の細胞内での動きを追跡するためには、それぞれの酵素に対する特異的な抗体が必要となったので、ヒト胎盤より9種類の酵素を精製し、抗体を作成した。本年度はこれらの材料を用いて、幾つかの疾患の本態解明のための分析を開始する予定である。

(4) 神経組織の特性についての研究

神経系には高度に分化した細胞が存在し、分裂能も他の細胞にはない特性を示す。疾患状態を正確に把握するためには、個々の細胞、並びにその集合体としての組織における細胞間の関係を知らねばならない。その基礎的実験として、神経細胞とは対極にある特殊な癌細胞の脂質及び糖質の代謝を調べた。HL-60細胞の分化に、ある種のガングリオシドが重要な役割を果たすことが知られ、この細胞株が未分化の状態ではシアリルトランスフェラーゼの活性が著しく高くなっていることも判った。また他の腫瘍細胞では、成長促進因子及びその受容体と燐脂質合成との関係も明らかにされた。これらの仕事は今後、神経細胞の分裂、分化、並びにその疾患状態の解明に大きな意味を持つようになるであろう。

(部長 鈴木義之)

2. 研究業績 (1985.5-1986.3)

A. 論文

a. 原著

- 1) 五十嵐隆, 桜庭均, 鈴木義之, 小林登:
ファブリー病患者及び保因者における血小板機能の亢進
日小児会誌 89 : 1519-1524, 1985
- 2) Sakuraba H, Iimori Y, Suzuki Y, Kint JA, Akagi M :
Galactosialidosis : Low β -galactosidase activity in serum after long-term clotting
Ann Neurol 18 : 261-263, 1985
- 3) Okamura-Oho Y, Yamanaka T, Suzuki Y :
A scoring system for the diagnosis of lysosomal storage diseases : A preliminary study
on the basis of 100 cases
Acta Paediat Jpn 27 : 602-607, 1985
- 4) 桜庭均, 鈴木義之:
コンカナバリンAによる胎仔牛血清 α -マンノシダーゼの培養ヒト線維芽細胞への吸着 - I
cell 病における細胞膜機能異常
日小児会誌 90 : 316-320, 1986
- 5) 桜庭均, 鈴木忠, 渡辺浩二, 柳川幸重, 鈴木義之:
ファブリー病女性ヘテロ接合体の診断 一心断層エコーと心筋生検の有用性 -
医のあゆみ 136 : 447-448, 1986
- 6) Hayasaka S, Fukuya T, Kitaoka M, Suzuki H, Omura K, Kondo Y, Nakagawa M :
Lipemia retinalis in a 29-day old infant with type 1 hyperlipoproteinaemia
Brit J Ophthalmol 69 : 280-282, 1985
- 7) Hamashima N, Seto M, Momoi T, Takahashi T :
Serological analysis of early mouse embryo with rat monoclonal antibodies produced
against mouse teratocarcinoma cells
Differentiation 28 : 260-267, 1985
- 8) Iguchi SSM, Momoi T, Egawa K, Matsumoto J :
An N-acetylneuraminic acid specific lectin from the body surface mucus of african giant
snail

- Comp Biochem Physiol 81 : 897-900, 1985
- 9) Senoo T, Momoi T :
The differentiation of HL-60 cells in the synthetic medium induced by G_{M3}-ganglioside
Biosci Rep 5 : 517-524, 1985
- 10) Momoi T, Furuya T, Suzuki Y, Sato H, Yamaguchi N :
In vitro establishment of human fibroblasts of lysosomal diseases, G_{M1}-gangliosidosis and
Sandhoff disease, by transformation with origin-minus SV40 DNA
Biosci Rep 5 : 267-273, 1985
- 11) Furuya T, Momoi T, Suzuki Y, Sato H, Yamaguchi N :
Establishment of human fibroblast cell lines with lysosomal enzyme deficiency by trans-
formation with origin-minus SV40 DNA
J Inher Metab Dis 8 : 143-144, 1985
- 12) Momoi T, Momoi YM, Kurata T :
Peanut agglutinin receptor is a marker of myelin in rat brain. Developmental changes in
its distribution
J Neurochem 46 : 229-234, 1986
- 13) Furuya T, Suzuki Y, Momoi T :
Acid β -galactosidase from human fibroblasts. A microscale purification method
monitored by a highly sensitive enzyme assay
J Biochem 99 : 437-443, 1986
- 14) Kato G, Suzuki Y :
Phosphomannosyl receptor in bovine and human tissues determined by a sensitive
radioimmunoassay method
J Appl Biochem 7 : 282-288, 1985
- 15) Kato G, Suzuki Y :
Membrane-bound N-acetyl- β -glucosaminidase : Different binding specificity in control
and I-cell disease livers
FEBS Lett 193 : 222-226, 1985
- 16) Kushi Y, Handa S :
Direct analysis of lipids on thin layer plates by matrix assisted secondary ion mass

spectrometry

J Biochem 98 : 265-268, 1985

17) Kato G, Suzuki Y :

Phosphomannosyl receptor from bovine liver : Effect of storage condition on the appearance of different molecular species

Cell Biol Int Rep 10 : 75, 1986

18) Sakuraba H, Yanagawa Y, Igarasi T, Suzuki Y, Suzuki T, Watanabe K, Ieki K, Yamanaka T :

Cardiovascular manifestations in Fabry's disease. A high incidence of mitral valve prolapse in hemizygotes and heterozygotes

Clin Genet 29 : 276-283, 1986

19) Igarashi T, Sakuraba H, Suzuki Y :

Activation of platelet function in Fabry's disease

Amer J Hematol 22 : 63-67, 1986

20) 溝部達子 :

G_{M1}-ガングリオシドーシスの臨床的ならびに生化学的研究. 第1篇 G_{M1}-ガングリオシドーシス症例における臨床経過と酸性β-ガラクトシダーゼ活性の比較検討

東女医大誌, 56 : 361-366, 1986

21) 溝部達子 :

G_{M1}-ガングリオシドーシスの臨床的ならびに生化学的研究. 第2篇 合成開始部位欠損SV40DNA導入により確立されたG_{M1}-ガングリオシドーシス線維芽細胞株における酸性β-ガラクトシダーゼの検討.

東女医大誌, 56 : 367-373, 1986

b. 著 書

1) Arima M, Suzuki Y, Yabuuchi H (ed) :

The Developing Brain and Its Disorders, S Karger, Basel, 1985

2) Suzuki Y, Sakuraba H, Yamanaka T, Ko Y-M, Iimori Y, Okamura Y, Hoogeveen AT :

Galactosialidosis : A comparative study of clinical and biochemical data on 22 patients.

Arima M, Suzuki Y, Yabuuchi H, ed : The Developing Brain and Its Disorders, S Karger, Basel, p161-175, 1985

II 研究業績

3) 鈴木義之：

先天性代謝異常症の外的因子

新小児医学大系 7 C (小林登, 多田啓也, 藪内百治編), 中山書店, 東京, P 189-194, 1985

4) 鬼沢仁一, 鈴木義之：

リソゾームとリソゾーム病

新小児医学大系 7 C (小林登, 多田啓也, 藪内百治編), 中山書店, 東京, P 195-210, 1985

5) Kato G, Suzuki Y：

Intracellular binding and transport of lysosomal enzymes in human and bovine tissues

Proc Internat Symp Enzymes Lipid Metab (ed by Gatt S, Freysz P), Plenum Publ Corp, New York, in press, 1986

6) 大村清：

先天性代謝異常の診断法と研究法, 培養細胞を用いた診断法

新小児医学大系 7 C (小林登, 多田啓也, 藪内百治編), 中山書店, 東京, P 132-142, 1985

c. 総 説

1) 鈴木義之：

リポドーシス

最新医 40 : 2269-2274, 1985

2) 鈴木義之：

遺伝性脂質蓄積症

臨検 29 : 1524-1530, 1985

3) Suzuki Y：

Prospects and problems in diagnosis and treatment of neurological diseases in children

Asian Med J 29 : 181-186, 1986

4) 大村清：

先天代謝異常 — アミノ酸代謝異常

周産期医 15 : 2023-2026, 1985

5) 大村清, 鈴木義之：

ガングリオシドーシスとムコリポドーシス

臨床医 11 : 1485-1486, 1985

6) 大村清, 鈴木義之：

代謝異常による精神遅滞

Clin Neurosci 4 : 280-282, 1986

7) 多田啓也, 成沢邦明, 大村清 :

先天代謝異常症の出生前診断

神研の進歩 29 : 424-431, 1985

e. 班会議報告書

1) 鈴木義之, 柯佑民, 桜庭均, 加藤梧郎 :

遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症における欠損酵素の動態

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生子防に関する研究班,

昭和59年度研究報告書, P 218-221, 1985

2) 鈴木義之, 古屋達子, 桃井隆 :

G_{M1}-ガングリオシドーシスにおける酵素異常

厚生省神経疾患・遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究班,

昭和59年度研究報告書, P 51-53, 1985

3) 鈴木義之, 加藤尚彦 :

酵素的サイクリング法による自動分析装置の開発

厚生省心身障害・先天異常のモニタリングに関する研究班,

昭和59年度研究報告書, P 29-34, 1985.

4) 鈴木義之, 桜庭均, 山中龍宏, 柯佑民, 古屋達子 :

遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症の酵素療法に関する実験的研究

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班,

昭和59年度研究報告書, P 118-123, 1985.

f. その他

1) 鈴木義之 :

生体情報処理と小児神経学

脳と発達 17 : 286, 1985

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Suzuki Y :

II 研究業績

β -Galactosidase in G_{M1}-gangliosidosis and related disorders

NATO Advanced Research Workshop and CNRS-INSERM International Symposium
《Enzymes of Lipid Metabolism》, Strasbourg, Oct. 14-18, 1985

2) 鈴木義之 :

小児の神経疾患における生化学的検査

第10回東日本小児科学会, 東京, 11.23, 1985

3) Suzuki Y :

Lysosomopathies

4th International Child Neurology Congress, Jerusalem, March 16-20, 1986

b. 国際学会

1) Suzuki Y, Sakuraba H, Omura K, Nanba E :

Clinical and biochemical studies on 24 cases of galactosialidosis

23rd Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism,
Liverpool, Sept. 4-6, 1985

2) Yamanaka T, Kasakura H, Hirabayashi Y, Matsumoto M, Suzuki Y :

Heterogeneity of urinary sialyloligosaccharide in patients with galactosialidosis and its
relationship with clinical variations

VIII th International Symposium on Glycoconjugates, Houston, Sept. 8-13, 1985

3) Yamanaka T, Oho Y, Suzuki Y :

A simple enzymatic determination of urinary sialic acid—Its significance in the diagnosis
of sialic acid metabolism

1st Pan-Pacific Congress of the Screening of Inborn Errors of Metabolism, Oct.19-21,
1985

c. 一般学会

1) 床枝康伸, 金鐘栄, 阿部知子, 五十嵐隆, 鈴木義之, 鴨下重彦, 大塚藤男 :

Multiple lymphangiomas の 1 例

第350回日本小児科学会東京都地方会講話会, 東京, 5.11, 1985

2) 桜庭均, 五十嵐隆, 鈴木義之 :

ファブリー病患者および保因者における血小板機能の亢進

第85回日本小児科学会総会, 札幌, 5.21-23, 1985

- 3) 阿部知子, 鈴木義之 :
抗けいれん剤長期内服中の14例における妊娠と分娩、児への影響に関して
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 4) 櫛泰典, 中村和生, 飯田静夫 :
薄層クロマトプレート上の脂質の新しい検出法と二次イオン質料分析による直接分析法
(TLC-MS)
第27回日本脂質生化学研究会研究集会, 東京, 7.26-27, 1985
- 5) 古屋達子, 桃井隆, 鈴木義之 :
SH 酵素としての酸性 β -ガラクトシダーゼ
第58回日本生化学会総会, 仙台, 9.26-9.29, 1985
- 6) 桃井隆, 粕谷淳子, 鈴木義之, 妹尾春樹 :
ガングリオシド G_{M3} による HL-60細胞の分化誘導と欠損株の分離
第58回日本生化学会総会, 仙台, 9.26-9.29, 1985
- 7) 粕谷淳子, 桃井隆, 鈴木義之, 鎌田伸之, 黒木登志夫 :
ヒト扁平上皮がん細胞株における EGF 受容体のリン酸化と PI, PA 合成
第58回日本生化学会総会, 仙台, 9.26-9.29, 1985
- 8) 妹尾春樹, 和気健二郎, 新本美智枝, 桃井隆, 吉倉広 :
分化抵抗性株を用いた活性型 D₃ の分化誘導作用の解析
第58回日本生化学会総会, 仙台, 9.26-9.29, 1985
- 9) 大村清, 難波栄二, 鈴木義之 :
Krabbe 病診断用の新しい蛍光基質 (NBD-galactocerebroside)
第28回日本先天代謝異常学会, 熊本, 11.13-15, 1985
- 10) 茂木洋一, 藤永隆, 田村宏, 黒梅恭芳, 大村清, 難波栄二, 鈴木義之 :
新生児期に発症し6ヶ月で死亡した重症乳児型 galactosialidosis の1例
第28回日本先天代謝異常学会, 熊本, 11.13-15, 1985
- 11) 桜庭均, 五十嵐隆, 鈴木義之 :
ファブリー病における血小板機能亢進とビタミンE, チクロピジンの効果
第28回日本先天代謝異常学会, 熊本, 11.13-15, 1985

C. 班会議発表

1) 鈴木義之, 加藤梧郎 :

リソゾーム酵素の細胞内動態について

文部省特定研究, 先天性複合糖質代謝異常症の病因, 診断および治療に関する研究班,
昭和60年度班会議, 名古屋, 7.12, 1985

2) 鈴木義之 :

G_{M1}-ガングリオシドーシスにおける酵素異常と脳障害

文部省計画研究, 遺伝性代謝病と神経系障害研究班, 昭和60年度班会議, 大阪, 8.21, 1985

3) 鈴木義之, 難波栄二 :

ガラクトシアリドーシスにおける中枢神経障害とその病態

文部省計画研究, 遺伝性代謝病と神経系障害研究班, 昭和60年度班会議, 東京, 12.12, 1985

4) 桜庭均, 鈴木義之 :

ファブリー病における心血管系病変の検討

文部省特定研究, 先天性複合糖質代謝異常症の病因, 診断および治療に関する研究班,
昭和60年度班会議, 東京, 1.17, 1986

5) 大村清 :

培養皮膚繊維芽細胞の N-acetyl- α -glucosaminidase および sulfamidase 活性について

文部省特定研究, 先天性複合糖質代謝異常症の病因, 診断および治療に関する研究班,
昭和60年度班会議, 東京, 1.17, 1986

6) 桃井隆 :

SV40 (ori-) DNA 導入ヒト遺伝疾患細胞の生化学的解析

文部省特定研究, 膜輸送に基づく代謝病の病因解析研究班,
昭和60年度班会議, 東京, 1.17, 1986

7) 飯田静夫 :

シアリドーシス剖検脳の生化学的分析

文部省特定研究, リソゾーム酵素異常による代謝障害の病因病態の解析班,
昭和60年度班会議, 東京, 1-17, 1986

8) 鈴木義之 :

発達遅滞児の早期発見, 臨床検査, 健康管理に関するラウンドテーブルディスカッション
厚生省心身障害母子保健システム, 早期発見, 早期療育研究班,

昭和60年度班会議，東京，1.24，1986

9) 桃井隆：

細胞分化・発生・増殖における脂質代謝応答

文部省がん特別研究，胚性腫瘍細胞の器官・個体構成能の分子的背景研究班，

昭和60年度班会議，東京，1.24，1986

10) 鈴木義之，大村清：

蛍光標識スフィンゴ脂質を用いたリピドーシスの診断およびその病態代謝の研究

厚生省神経疾患研究，遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究班，

昭和60年度班会議，東京，1.30，1986

11) 鈴木義之，大村清，難波栄二：

ガラクトシアリドーシスの成人例と乳児例との臨床的，生化学的検討

厚生省神経疾患研究，発育期脳障害による精神遅滞の本態と発生予防に関する研究班，

昭和60年度班会議，東京，1.31-2.1，1986

12) 鈴木義之：

遺伝性糖脂質代謝異常症の細胞生物学的研究

文部省総合研究，細胞の構築と識別反応に関する糖脂質の解析研究班，

昭和60年度班会議，東京，2.6，1986

13) 飯田静夫：

糖脂質の微量分離分析

文部省総合研究，細胞の構築と識別反応に関する糖脂質の解析研究班，

昭和60年度班会議，東京，2.6，1986

14) 桃井隆：

分化抵抗性細胞における活性型ビタミン D₃ 及びレチノール酸による myc 遺伝子発現調節

文部省がん特別研究，活性型ビタミン D₃ による細胞分化と発癌プロモーションの制御研

究班，昭和60年度班会議，東京，2.11，1986

15) 鈴木義之：

合成開始部位欠損 SV40 DNA 導入による酵素欠損繊維芽細胞株の樹立

厚生省先天異常のモニタリングに関する研究班，発生調査に関する研究小委員会，

昭和60年度班会議，大阪，2.16，1986

D. 研究会など

1) 鈴木義之：

小児期脳変性疾患とライソゾーム蓄積症

第12回金沢医科大学神経科学セミナー，金沢，8.16-18，1985

2) 鈴木義之，桜庭均：

ガラクトシアリドーシスの病因に関する分子細胞生物学的研究

第16回病態代謝研究会中間報告会，東京，8.31，1985

3) 鈴木義之：

遺伝性ライソゾーム病

熊本大学大学院セミナー，熊本，11.28，1985

3. 主な研究報告

昭和60年度リソゾーム病診断システムの実績

大村清, 粕谷淳子, 今林知子, 鈴木義之

我々は先天性リソゾーム酵素異常症の診断システムをつくり、昭和57年度よりこれを実施してきた。昭和60年度の成績をここに報告する。

方 法

1. リソゾーム酵素活性の測定

ヘパリン血より分離した白血球を用いて、ルーチンに9つのリソゾーム酵素活性の測定を行い、症例により他の酵素測定を加えた。Pompe病など、顆粒球とリンパ球の混合物を酵素液としたのでは正確な診断の難しい場合は、リンパ球だけの分離を行い酵素活性を測定した。また、ムコリピドーシスII, IIIの疑われる症例や白血球 β -ガラクトシダーゼ活性低下の認められる症例では、血漿酵素の測定を加えた。Pompe病、異染性ロイコシストロフィーなどが疑われた症例の一部では、尿の酵素活性測定も行った。患者であることが判明した症例の大部分においては、さらに皮膚線維芽細胞の培養を行い、それを用いて診断を確認した。リソゾーム病の胎児診断を依頼された例においては、培養羊水細胞の酵素活性測定を行った。

2. 尿の分析

ムコ多糖症およびムコリピドーシスを疑われる症例においては、尿中ムコ多糖および尿中オリゴ糖の分析を行った。

結 果

リソゾーム酵素欠損症を疑われ、我々のところに検体が送られて来たのは218症例であり、そのなかで酵素欠損が証明され診断が確定したのは表1に示す13症例であった。胎児診断を行ったのは表2に示す5例であり、すべて以前に患児を出産したことがある婦人の次の妊娠に際して行われたものである。Gaucher病の1例で胎児は患児であると診断された。

考 察

近年、リソゾーム病に種々のVariant型の存在することが報告されている。たとえば、ヘキサミンダーゼA欠損を伴い運動ニューロンの障害を特徴とする成人の症例が報告されている。従って脊髄性筋萎縮症や筋萎縮性側索硬化症とされた成人患者ないし、それに似た症状を呈する患者のなかにヘキサミニダーゼA欠損症が隠れている可能性は調べてみなければ否定でき

ない。このような意味からも、原因不明な神経疾患患者を先天性リソゾーム酵素欠損という目でみていくことは極めて大切なことであり、今後、我々の診断システムもさらに充実させてゆきたい。

Result of screening for lysosomal disease
(Apr.1985 - May.1986)

Samples total	218
Lysosomal diseases detected	
GM1-gangliosidosis	2
Tay-Sachs disease	1
Gaucher disease	1
Metachromatic leukodystrophy	2
Krabbe disease	1
Galactosialidosis	1
Pompe disease	2
Hunter syndrome	1
Sanfilippo syndrome B	1
Sanfilippo syndrome C	1
total	13

Prenatal diagnosis of lysosomal disease
(Apr.1985 - May.1986)

Pregnancy at risk	Prenatal diagnosis
1. Gaucher disease	affected
2. Krabbe disease	not affected
3. Niemann-Pick disease	not affected
4. Krabbe disease	not affected
5. Tay-Sachs disease	not affected

新しい蛍光基質による Krabbe 病の診断

大村清, 鈴木義之, Shimon Gatt*

Krabbe 病はガラクトセレブロシダーゼの欠損症であり, その臨床診断は白血球や培養線維芽細胞を用いた本酵素の活性測定により行われる。本酵素は基質特異性が高く, 従来トリチウムラベルの天然基質が活性測定に用いられてきた。近年, ラジオアイソトープのかわりに, 色素ないし蛍光物質をセラミドの脂肪酸部分に組み込んだスフィンゴ脂質が合成されるようになり, それを基質としたスフィンゴ脂質代謝の研究が報告されるようになった。我々は, 図 1 に示す蛍光ラベルのガラクトセレブロシド (NBD-gal-cer) を基質とする Krabbe 病の酵素診断法について検討した。

方 法

ガラクトセレブロシダーゼの測定は Zeigler らの方法に準じた¹⁾。Krabbe 病患者, その両親及び正常対照から得られた白血球ないし培養線維芽細胞に水を加えソニケーションしたものを酵素液とした。

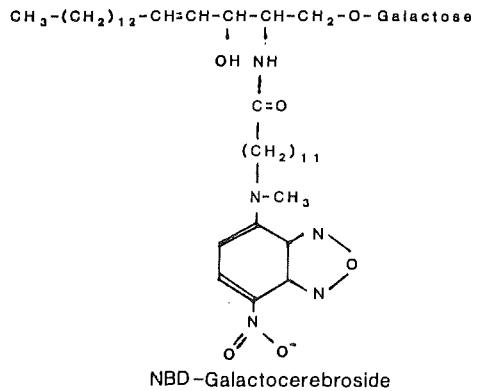
結果及び考察

1. Zeigler らの NBD-gal-cer に蛍光を有しないガラクトセレブロシドを加え基質とする方法では安定した活性値が得られなかった。これは本酵素の蛍光基質と非蛍光基質にたいする Km に差があるためであり, 蛍光基質だけを用いることになり満足すべき結果を得た。
2. 酵素反応により遊離される NBD セラミドの蛍光は 5 pmol 程度から測定可能であるため, 本法による測定は非常に感度が高く, トリチウムラベルのガラクトセレブロシドを用いる従来の方法とほぼ同じ程度であった。
3. 白血球を用いて測定した Krabbe 病 3 例, 1 家系の両親, 及び正常対照におけるガラクトセレブロシダーゼ活性を図 2 に示す。正常対照における活性が $2.59 \pm 1.26 (0.91 \sim 5.40)$ nmol/mg prot./hr であるのに対し, 患者では $0.01 \sim 0.11$ nmol/mg prot./hr と著明に低下していた。保因者である両親の活性は低下していたが, 正常下限と重なる部分が認められ, 正確な保因者診断は困難であった。
4. このような蛍光ラベルの基質は, アイソトープラベルのものと比べて取り扱いが簡単で

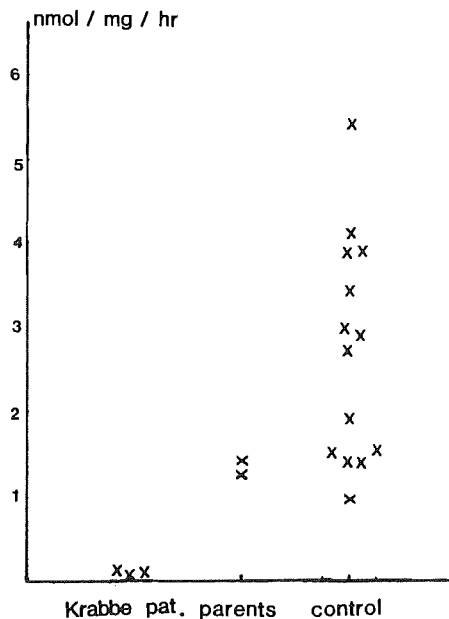
あり, さらに, シンチレーションカウンターやオートラジオグラフィーなどを必要とせず, その蛍光を紫外線ランプ下で肉眼的に確認できる利点があり, 今後, 患者の診断のみならず, その病態代謝の研究にも極めて有力な武器となるものと期待される。

文 献

- 1) Zeiger M, et al : Clin Chim Acta 142 : 313-318, 1984



Galactocerebroside activity in WBC



* ヘブライ大学神経化学

新生児期に発症した重症乳児型ガラクトシアリドーシスの一例

難波栄二, 大村清, 鈴木義之, 茂木洋一*, 藤永隆*, 田村博*, 黒梅恭芳*

ガラクトシアリドーシスは、一般に10歳代に視力障害で発症し、ミオクローヌス、小脳失調、椎骨変形、小血管拡張、チェリーレッドスポット、角膜混濁などを伴う慢性進行性の代謝異常であり、常染色体性劣性遺伝病である。今回我々は新生児期に発症し生後6ヶ月で死亡した重症乳児型ガラクトシアリドーシスを経験したので報告する。

症 例

2才女児。主訴は哺乳力低下、腹部膨隆であった。家族歴は血族結婚なく、特記すべきことはなかった。既往歴では胎児35週、生下時体重2350g、アプガースコア8点で出生し、新生児高ビリルビン血症があった。

現病歴：生後15日に腹部膨隆、手足の振戦がみられ、肝脾腫を指摘された。生後1ヶ月より発熱、咳、チアノーゼが見られた。またこの頃より腹部に青色の色素沈着があるのに気づかれていた。生後2ヶ月より哺乳力低下不機嫌になり、入院となった。入院後は呼吸状態が悪化し、生後6ヶ月で呼吸不全の為死亡した。

現 症

体格小、体重3930g、体温37°C、顔貌は粗で、鼻根部は浮腫状で歯肉が腫張し、上顎が目立った。眼底にチェリーレッドスポットはなかったが、先天性白内障があった。皮膚は厚く、腹部、下腿を中心に蒙古斑状の青色の色素沈着があった。また腋窩部にはカンジダ病変があった。胸部では心雑音はなかったが、肺野全体に湿性、乾性のラ音を聴取した。腹部では肝を6cm脾を4cm触知した。鼠径ヘルニアがあった。脊柱はやや後彎しており、肘関節、膝関節には軽度の伸展障害があった。神経学的に異常はなかった。

* 群馬大学医学部小児科

表1 Urinary NANA Concentrations

Galactosialidosis	
Infant	4.09
Adult (n=5)	0.64±0.40
Normal	0.33
mg/mg creatinine	

検査所見

抹梢血は軽度貧血、白血球増多を示していた。抹梢リンパ球や、骨髄細胞中には空胞化細胞がみられた。一般生化学所見に異常はなかった。血液ガス検査では代謝性アシドーシス、低酸素血症を示していた。胸部レ線では心拡大と肺野にび慢性の異常陰影があり間質性の変化と考えられた。骨レ線検査では多発性骨異形成がみられた。

尿中シアル酸量は、成人例ガラクトシアリドーシス、正常対照に比し著明に増加していた。(表1)尿の薄層クロマトグラフィーではシアル酸含有オリゴ糖が増加していた。尿中ムコ多糖排泄に異常はなかった。

リソゾーム酵素活性は、血漿では異常はなかったが、白血球ではβ-ガラクトシダーゼが低下していた。皮膚線維芽細胞ではβ-ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼが低下しており、プロテアーゼ阻害剤(E-64,ロイペプチン)の添加によりβ-ガラクトシダーゼの上昇が、保護蛋白の添加によりβ-ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼの上昇がみられた。(表2)

考 察

今回我々の経験した症例は、酵素学的にはβ-ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼ活性が低下しており、プロテアーゼ阻害剤、保護蛋白で低下酵素の上昇がみられる点から、ガラクトシアリドーシスと診断された。しかし臨床的には、発症年齢が低く経過が早い点、肝脾腫、特異な皮膚病変、肺病変を伴っている点、またチェリーレッドスポット、小脳症状、小血管拡張等を伴わない点が従来のガラクトシアリドーシスとは異なっていた。臨床的にはG_{M1}-ガングリオシドーシスの乳児型と類似しており、従来からの成人型とは区別される重症乳児型ガラクトシアリドーシスと考えられた。

表2 Effect of protease inhibitors and protective protein

	β-Galactosidase	Neuraminidase
None	11.0	0.71
Leupeptin 10mg/ml	63.3	0.94
E-64 10mg/ml	85.4	0.74
Protective protein	194	16.8
Control	193±35	23.4±4.2

(nmol/mg protein/h)

ガラクトシアリドーシスの成人型と乳児型との細胞生化学的検討

難波栄二, 辻明彦, 大村清, 鈴木義之

ガラクトシアリドーシスは、臨床的には主に10才以後に発症する成人型と早期より発症する重症乳児型がある。また成人型の中にも症状の程度に差があり、このような臨床的差異はこの病気の本態及び病態を解明する上に重要な手がかりとなる。一方この病気は生化学的に β -ガラクトシダーゼとノイラミニダーゼの同時欠損を特徴とし、プロテアーゼ阻害剤や保護蛋白によりその欠損酵素活性を上昇させることができる。このような立場から、ガラクトシアリドーシスの乳児型、成人型について細胞生化学的検討を行った。

材料と方法

ガラクトシアリドーシスは臨床的に無症候性成人型(1例)、症候性成人型(9例)、重症乳児型(2例)と分類し、それからの皮膚線維芽細胞を10%牛胎児血清を含むF-10培地で培養し、実験に用いた。プロテアーゼ阻害剤としては、E-64, ロイペプチンを用いた。保護蛋白画分は、G_{M1}-ガングリオシドーシスまたは正常細胞の培養上清より抽出した。 β -ガラクトシダーゼ活性の分子量分布はHoogveenらの方法によりショ糖密度勾配遠心法で検討した¹⁾。 β -ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼ活性は、4-メチルウンベリフェロン誘導体を用い蛍光法で測定した。

結果

ガラクトシアリドーシスは正常対照に比し β -ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼの活性が低下していたが、乳児型、症候性成人型、無症候性成人型の順に残余酵素活性が高い傾向であった。(表1) プロテアーゼ阻害剤を培養液中に

加えるとガラクトシアリドーシスでは β -ガラクトシダーゼ活性は上昇したが、ノイラミニダーゼ活性は上昇しなかった。上昇後の酵素活性は各病型間で差はなかった。保護蛋白画分を培養液中加入すると、 β -ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼ活性ともに上昇した。上昇後の酵素活性は、症候性成人型と乳児型との間には差がなかったが、無症候性成人型は他の2型よりやや高い傾向であった。ショ糖密度勾配遠心法で β -ガラクトシダーゼ活性を検討すると、正常対照では三峰性の分布がみられ、超高分子型、高分子型、低分子型に分かれ、高分子型、低分子型の順に少なくなり、超高分子型はわずかであった。ガラクトシアリドーシスでは高分子型、低分子型ともに正常対照に比し低下していたが、特に乳児型では成人型よりも高分子型が低下していた。(表2)

考察

今回の検討では、残余 β -ガラクトシダーゼ、ノイラミニダーゼ活性は臨床型の間で差があり、無症候性成人型、症候性成人型、乳児型の順に低くなっており、低残余酵素活性と早期発症、重症度との関連が示唆された。また乳児型では成人型に比し高分子型 β -ガラクトシダーゼ活性が低いということは、酵素活性の総量が少ないのみならず、質的にも大きな異常を伴っていると予想された。

文献

- 1) Hoogveen AT, Verheijen FW, Galjaard H: J Biol Chem 258: 12143-12146, 1983

表1 Enzyme Activity in Fibroblasts

	β -Galactosidase	Neuraminidase
Galactosialidosis		
Infant No. 2017	11.6	1.6
No. 1253	8.9	1.3
Symptomatic (n=9)	19.5 \pm 3.4	3.2 \pm 1.1
Adult	(15.0-26.3)	(1.8-5.0)
Asymptomatic	35.5	5.7
Adult No. 1266		
Normal (n=7)	227 \pm 25	22.9 \pm 3.8
	(205-283)	(19.5-31.1)
	(nmol/mg protein/h)	

表2 Distribution of β -Galactosidase

	VH	H	L	H/L
Galactosialidosis				
Infant No. 2017	1.6	2.2	6.3	0.35
No. 1253	0.7	1.0	7.3	0.13
Symptomatic	3.1	8.1	8.3	1.03
Adult (n=8)	(1.5-5.4)	(6.3-12.0)	(5.2-10.5)	(0.67-1.73)
Asymptomatic	2.3	9.2	11.7	0.78
Adult No. 1266				
Normal (n=6)	3.8	226	64	3.54
		(179-276)	(54-78)	(3.07-4.12)
	(nmol/mg protein/h)			
VH: very high molecular form, H: high molecular form, L: low molecular form, H/L: high molecular form-low molecular form ratio				

Fabry 病における心血管病変の検討

桜庭均, 鈴木義之

Fabry 病は全身血管病変を主徴とする糖脂質蓄積症である。これまでこの病気の生化学的分析は、主に蓄積した脂質或いは欠損酵素について行われ、多くの成果が発表された。しかしその予後は血管の変化の程度によって決定される。そこで我々は血管内における血栓形成の発症機序とその予防に関する研究を行った。

対象と方法

男性患者13例に心血管系臨床症状、心電図、断層心エコー検査のほか、血小板凝集能(凝集惹起物質としてADP, コラーゲン, エピネフリンを使用)と血漿中プロスタグランジン(トロンボキサン B₂, β-トロンボグロブリン, 6-ケトプロスタグランジン F_{1α}: ラジオイムノアッセイ法)の測定を行った。血小板凝集能に対する効果を見るため、一部の患者にはチクロピジン(第一製薬: 200mg/日)あるいはビタミンE (dl-α-tocopheryl nicotinate, エーザイ: 1g/日)を投与した。

結果

Fabry 病患者の心血管系に関する自覚症状は、中年以後から出現するが、断層心エコーでは、僧帽弁逸脱、左中隔壁肥厚、大動脈起始部拡張、心室中隔斑状エコーその他が高頻度にみられた。特に僧帽弁逸脱は、患者保因者とも10歳代からすでに出現し、合併率は45%であった。

これらの殆どの患者が、ADP, コラーゲン,

エピネフリンのいずれによっても、血小板凝集能亢進を示した。また血小板機能のよい指標であるβ-トロンボグロブリンは血漿中で著明に増加し、トロンボキサン B₂も増加傾向を示した。他方、血管内皮由来で抗血小板作用の指標である6-ケトプロスタグランジン F_{1α}は低下していた(表1)。血小板機能亢進を示したFabry 病患者に、ビタミンEまたはチクロピジンを投与しその前後の凝集能を比較した(表2)。ビタミンEである程度まで最大凝集率が低下したが、チクロピジンの効果はより著明であり、投与前100%から20-60%に抑制された。

考察

今回の対象には多くの保因者が含まれていたが、従来考えられていたのと異なり、断層心エコー上で高頻度に異常が認められた。中でも僧帽弁逸脱は著しく多く、この部位に脂質が蓄積するという報告と対比して考えると、これらの症例は今後十分な経過観察が必要であると思われる。またFabry 病における血症板機能亢進は、中年期以後の血栓症の発生に大きな意味を持つものと予想される。この研究において、我々はチクロピジンやビタミンEが凝集能を実際に抑制することを見出し、この病気の血管合併症に対する予防薬として用いることができる可能性を示した。

表1 血漿β-トロンボグロブリン, トロンボキサン B₂, 6-ケトプロスタグランジン F_{1α}濃度

	βTG ¹	TXB ₂ ²	6KPGF _{1α} ²
Hemizygotes*	179 ± 59 (8)	238 ± 162 (7)	28.0 ± 13.8 (7)
Heterozygotes**	128 ± 77 (6)	221 ± 82 (5)	33.4 ± 10.5 (5)
Control**	15 ~ 57	0 ~ 220	43 ~ 143

1 ng/ml, 2 pg/ml

* Mean ± SD(n), ** Normal range

表2 血小板凝集に対するビタミンEとチクロピジンの効果

		ADP		Collagen
		1μM before/after	5μM before/after	2μg/ml before/after
Vitamin E	subject 1	100/58	100/92	100/80
	2	100/40	100/80	100/90
Ticlopidine	subject 8	100/32	100/58	100/20
	17	56/10	100/58	100/60

Values are expressed as % aggregation. Aggregation studies were performed on each patient prior to and after 7 days' administration of dl-α-tocopherylnicotinate (20mg/kg body weight) or ticlopidine (4-5mg/kg body weight).

チロシンキナーゼ，及び C-Kinase によるリン脂質代謝調節

粕谷淳子，桃井隆

PI 応答は，種々のカルシウム動員ホルモン，刺激剤などにより促進される。その分解産物であるジアシルグリセロール (DG) 及びイノシトール-1, 4, 5, -トリホスフェイト (IP₃) は，セカンドメッセンジャーとして働き，IP₃ は，細胞内カルシウムレベルを調節し，カルシウム/カルモジュリン依存性キナーゼを活性化し¹⁾，一方，DG はカルシウム・リン脂質依存性キナーゼ (C-Kinase) を活性化する。最近，イノシトールリン脂質合成と，細胞増殖，とくに src family である oncogene 産物との関連が問題になっている。

上皮細胞成長因子 (EGF) は，細胞膜上の分子量170K の受容体と結合し，それ自身のもつチロシンキナーゼを活性化し，受容体を自己リン酸化する。この EGF 受容体は src family に属する erb B 遺伝子と，高い相同性をもっている²⁾。また EGF 受容体を過剰発現している A 431細胞では EGF による PI 合成の促進が報告されている³⁾。

また，マウス皮膚の発癌プロモーターである 12-O-テトラデカノイルファーホル-13-アセテート (TPA) は，DG におきかわり，C-Kinase を活性化することが報告されており⁴⁾，TPA は EGF 受容体において，C-Kinase を介し，654 番目のスレオニンをリン酸化し EGF 受容体のチロシンキナーゼ活性を抑制する⁵⁾。

今回，私達は A431以外に，EGF 受容体を過剰発現している数種の扁平上皮癌細胞を見つけ，それらの細胞について，EGF と PI 合成との関連，及び TPA の効果について調べた。

材料と方法

本実験に用いた細胞はすべて，5% 牛胎児血清を含む DMEM 培地で継代した。

リン脂質は，リン欠損培地で，³²p 標識正リン酸を 1 時間とりこませ，Folch 分配後の脂質画分をシリカゲル60による薄層クロマトグラフ

により 2 次元展開で分離後，PI 部分をプレートよりかきとり，液体シンチレーションカウンターで測定した。また EGF 受容体のリン酸化を，同様に ³²p ラベルした細胞で EGF 受容体に対する抗体を用いた免疫沈降法にて解析した。

結果

EGF 受容体を過剰発現している数種の細胞において，EGF による PI 合成の促進が観察されたが，受容体を過剰発現していない細胞としてコントロールに用いた HeLa 細胞では，PI 合成の促進は観察されなかった。また，既に A 431で報告されている PA (ホスファチジン酸) 合成の促進も同様に観察された (図 1)。一方，EGF 受容体の EGF によるリン酸化は，各細胞の受容体数に比例して促進されていたが，EGF による PI 合成の促進能を縦軸に，EGF 受容体の自己リン酸化能を横軸にプロットすると各細胞間で相関関係が認められ，相関係数は 0.89 であった (図 2)。EGF により合成促進された PI は，TPA 共存下では，合成が抑制された (図 3)。

考察

今回の実験により，EGF は受容体のもつチロシンキナーゼを介して PI の生合成系を活性化すること，また，TPA は C-Kinase を介してチロシンキナーゼを抑制し，PI 合成を阻害させる可能性が示唆された。

文献

- 1) Irvine RF, et al : Nature 312 : 315 1984
- 2) Waterfield MD, et al : Nature 307 :521, 1984
- 3) Cohen S, et al : Biochemistry 20 : 6280, 1981
- 4) Nishizuka Y, et al : J Biol Chem 257 : 7847, 1982
- 5) Czech MP, et al : Proc Natl Acad Sci USA 82 : 1974, 1985

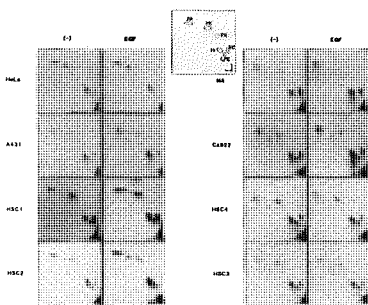


図 1

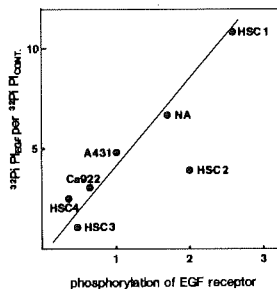


図 2

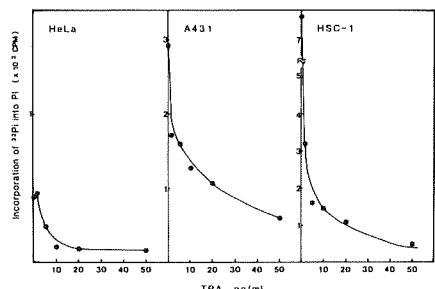


図 3

ヒト前骨髄性白血病細胞における TPA によるシアル酸転移酵素活性化について

桃井隆, 新本美智枝, 粕谷淳子, 鈴木義之

ヒト前骨髄性白血病細胞 HL-60 は TPA 及び活性型ビタミン D₃ によりマクロフィージへ、DMSO 及びビタミン A により顆粒球へと分化する。TPA による分化誘導過程では、膜抗原糖脂質、G_{M3} ガングリオシドの著明な増大が報告されている¹⁾。最近、G_{M3} ガングリオシドによる HL-60 細胞分化誘導が報告され、その生理的意義が注目されている²⁾。

本研究では、G_{M3} ガングリオシド合成酵素である CMP-NeuAc : LacCer シアル酸転移酵素の活性化と HL-60 細胞分化との関連を検討した。

方法

細胞培養

HL-60 細胞は 10% FCS を含む RPMI-1640 培地中で培養され、分化誘導は 10ng/ml TPA, テレオシジン, メゼレイン, PDBu, PDBz, フォルボール, 4 α -PDD, 50ng/ml 活性型ビタミン D₃, 10⁻⁵ M ビタミン A 存在下で行われた。

シアル酸転移酵素の活性

細胞は、30mM Tris-HCl (pH 7.3)/0.25M sucrose/1mM EDTA 中で破壊し、700g 遠心上清を酵素画分として実験に供した。反応液としては、100mM カコジル酸バッファー (pH 6.0)/10mM MnCl₂/0.3% Triton X-100/2 μ g LacCer /500 μ M [³H] CMP-NeuAc (4 μ Ci/mmol) を用い、酵素蛋白 100 μ g と 37°C 30 分間反応させた。反応生成物と [³H] CMP-NeuAc とは Sep-Pak C18 カートリッジを用いて分離し、[³H] - NeuAc 標識ガングリオシドのラジオアイソトープの値を活性値とした。

結果

シアル酸転移酵素の活性は、TPA, テレオシジン, メゼレイン, PDBu, PDBz で増大したが 4 α -PDD, PHR, 及び活性型ビタミン D₃, ビタミン A では変化がなかった。

継時的に同酵素活性を調べると、TPA 処理では、マクロフィージの分化誘導と同調し、3~6 時間後に同酵素活性の増大が観察され、12~24 時間後に最大値を示すのに対し、同じマクロフィージ分化誘導因子である活性型ビタミン D₃ では、3~5 日後に分化誘導されるが、CMP-NeuAc : LacCer シアル酸転移酵素の活性には変化がなかった。また生成物である G_{M3} ガングリオシドは、TPA によってのみ、12 時間後わずかな増大がみられた。

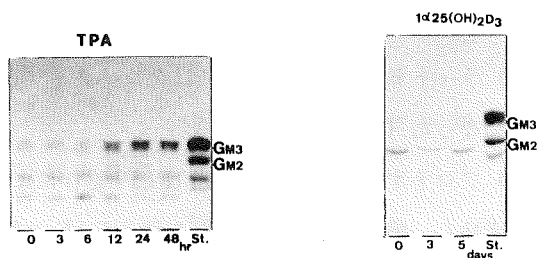
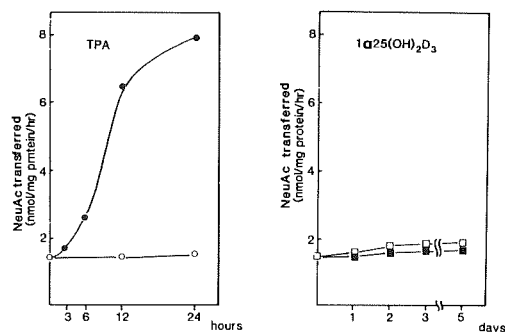
考察

マクロフィージ分化誘導因子である TPA 及

び活性型ビタミン D₃ による実験で、G_{M3} ガングリオシドの増大はマクロフィージの分化に特異的なものでなく、むしろ TPA 試薬に起因するものと思われる。TPA はジアシルグリセロールに換わって、カルシウム-リン脂質依存性キナーゼ (C-キナーゼ) を活性化することが、西塚らにより報告されている³⁾。同酵素活性化因子であるテレオシジン, メゼレイン, PDBu, PDBz により、CMP-NeuAc : LacCer シアル酸転移酵素は活性化されるが、C-キナーゼの活性に影響を与えない、フォルボール, 4 α -PDD, 及び活性型ビタミン D₃ では活性化されないことから、CMP-NeuAc : LacCer シアル酸転移酵素は、TPA 処理により活性化される C-キナーゼの調節を強く受けているものと考えられる。

参考文献

- 1) Momoi T, Yokota J : J Natl Cancer Inst 70 : 229-236, 1983
- 2) Senoo H, Momoi T : Biosci Rep 5 : 517-524, 1985
- 3) Castagna M, et al : J Biol Chem 257 : 7847-7851, 1982



7. 疾病研究第6部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第6部は脱髄疾患，老年期痴呆を研究課題の中心とする研究部である。発足から3年目を迎え，大いに研究成果を上げることができた。流動研究員の鈴木聡が米国 NIH へ留学した。

[部長] 田平武，[研究員] 並河正，国下龍英，[流動研究員] 酒井宏一郎，鈴木聡（1985.10まで），小池文彦（1985.12より），[研究生] 山村隆，佐藤準一，亀谷雅洋，[貸金研究員] 遠藤真澄，[貸金研究助手] 畑志津江，[研究員助手] 中菌禄美，佐伯実香

(1) 多発性硬化症（MS）の原因究明と治療法開発の研究

- i) 帯状ヘルペス後脳脊髄炎患者髄液リンパ球をヒト IL2 存在下に培養し，ウシミエリン塩基性蛋白，プロテオリピッドアポ蛋白に対する増殖反応を見たが陰性であった。ADEM, MS が自己免疫機序によりひきおこされるか，その抗原は何かについて引き続き検討中である。
- ii) MS に対するコルヒチンの有効性の検討。MS に対しコルヒチンが有効であろうとする米国ロックフェラー大学ザプリスキー教授らとの共同研究に参加した。我国でも MS 患者に対し検討を開始した。その作用機序を動物モデルで検討する為当研究室で樹立した脳炎誘起性 T 細胞ラインを提供し，東京大学長嶋和郎先生のロックフェラー大学での研究に協力した。酒井流動研究員が短期間ロックフェラー大学に滞在し，研究を指導した。
- iii) 厚生省薬務局新薬開発研究青柳班に参加し，自己免疫性神経患者の治療薬の開発に着手した。
- iv) 10月，田平は中華人民共和国に招待され，中国の脱髄疾患を検討した。その際中国にも多数の Baló 病が見られることを見出した。11月，田平はフィリピンの神経学会に招待され，再度 Baló 病の多数を収集した。

(2) 実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE），神経炎（EAN）の研究

- i) ミエリン塩基性蛋白（BP）反応性 T 細胞ライン及びクローンを樹立し，これを用いて，一回の細胞移入により再発がおこること，再発時にも中枢神経系病巣部に Ia 陽性細胞が出現することを見出した（酒井研究員）。またヌードマウスを用いて起炎性単クローンにより急性 EAE がおこり回復も見られることを見出した（酒井研究員）。
- ii) ラット EAE の回復機序にはクロノタイプ特異的なものと非特異的なものがあることが明らかになった（並河研究員）。
- iii) プロテオリピッドアポ蛋白（PLP）感作により純系ラットに急性 EAE を作製することに初めて成功し，感作リンパ球で脱髄を伴う EAE の移入に成功した（山村研究員）。

- iv) PLPの一構成成分であるDM-20がBalb/cマウスに脱髄を伴う慢性再発性EAEをひきおこし、T細胞が重要であることを見出した（遠藤研究員）。
- v) DeoxyspergualinがEAEを著名に抑制することを見出した（山村研究員）。
- vi) 卵白アルブミンに対するT細胞ラインを用いてbystander demyelinationは脱髄の機序として重要でないことを示した（佐藤研究員）。
- vii) 特異的治療法開発の為に起炎性T細胞クローンに対するクロノタイプモノクローナル抗体の作製の努力を続けた（酒井研究員）。

(3) ミエリンの基礎的研究

- i) 中枢神経ミエリン形成不全を示す突然変異ハムスターの発症機序解明の為に、ミエリン形成酵素の検討を行い、その一部に異常を見出した（鈴木、国下研究員）。

(4) 老化の研究

- i) 老人斑アミロイド蛋白の部分ペプチドを合成しモノクローナル抗体作製を開始した。またこれに対応すると思われるDNA塩基配列を合成し、前駆物質の検索を開始した（国下、小池研究員）。

（部長 田平 武）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Yoshimura T, Kunishita T, Sakai K, Endoh M, Namikawa T, Tabira T :
Chronic experimental allergic encephalomyelitis in guinea pigs induced by proteolipid protein
J Neurol Sci 69 : 47-58, 1985
- 2) Sakai K, Namikawa T, Kunishita T, Yoshimura T, Tabira T :
Ia restriction of murine encephalitogenic T-cell lines in vitro and in vivo
J Neuroimmunol 9 : 281-291, 1985
- 3) Kunishita T, Tabira T, Umezawa H, Mizutani M, Katsue Y :
A new myelin-deficient mutant hamster : Biochemical and morphological studies
J Neurochem 46 : 105-111, 1986
- 4) Namikawa T, Yamamura T, Sakai K, Kunishita T, Tabira T :
Activation of effector cells of experimental allergic encephalomyelitis in Lewis rats :
Comparison of T-cell lines with primary cultured lymph node cells
Internat Arch Allergy Appl Immunol 79 : 370-375, 1986
- 5) Chu MLY, Perez MC, Ordinario A, Cuanang J, Zamuco J, David I, Kuroiwa Y, Tateishi J, Tabira T :
Five autopsy cases of Baló's concentric sclerosis in the Philippines
Phil J Internal Medicine 23 : 43-49, 1985
- 6) Tabira T :
Electron microscopic demonstration of polysaccharides in central and peripheral myelin by thiosemicarbazide-protein-silver staining
J Neurocytology 14 : 781-794, 1985
- 7) Endoh M, Tabira T, Kunishita T :
Antibodies to proteolipid apoprotein in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis
J Neurol Sci 73 : 31-38, 1986
- 8) Sakai K, Tabira T, Endoh M, Steinman L :

Ia expression in chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis induced by long-term cultured T cell lines in mice

Lab Invest 54 : 345-362, 1986

- 9) Yamamura T, Namikawa T, Endoh M, Kunishita T, Tabira T :

Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein in Lewis rats
J Neuroimmunol (in press)

- 10) Namikawa T, Kunishita T, Tabira T :

Modulation of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) : Suppression of active reinduction of EAE in rats recovered from passively transferred disease
J Neuroimmunol (in press)

- 11) Vohe HC, Saito M, Ledeer RW, Kunishita T, Sclafani JR, Yu RK :

Further evidence for an intrinsic neuraminidase in CNS myelin
J Neurochem 46 : 623-629, 1986

b. 著 書

- 1) Tabira T :

Cellular and molecular mechanisms of experimental allergic encephalomyelitis
Progress in Clinical Neurosciences (ed by Sinha KK), Neurol Soc India, Patna, India,
Vol 2 : 248-257, 1985

- 2) 田平武 :

急性散在性脳脊髄炎

今日の治療指針 (日野原重明, 阿部正和, 総編集) P 201, 1986

- 3) 黒岩義五郎, 後藤幾生, 柴崎浩, 田平武 :

多発性硬化症, 基礎と臨床

新興出版, 東京, 1985

- 4) 並河正 :

急性型 EAE

多発性硬化症—基礎と臨床 (黒岩義五郎, 後藤幾生, 柴崎浩, 田平武編), 新興医学出版,
東京, P 241-245, 1985

c. 総 説

II 研究業績

1) 田平武 :

多発性硬化症：病因と発症のメカニズムをめぐって，環境因子の面から
Clinical Neuroscience 3 : 16-19, 1985

2) 田平武 :

多発性硬化症とその周辺：同心円硬化症（Baló）など
病理と臨床 31 : 1078-1082, 1985

3) 田平武 :

自己免疫性脱髄性視神経炎
神経眼科 2 : 260-261, 1985

4) 田平武, 遠藤真澄 :

オリゴクローナルバンド
Clin Neurosci 4 : 109, 1986

5) 田平武 :

視神経の脱髄－臨床と基礎
神経眼科 2 : 330, 1985

6) 田平武 :

神経と免疫－最近の知見
Medical Immunol 11 : 297, 1986

7) 田平武 :

多発性硬化症と活性化T細胞（T_H1）
内科 57 : 358-359, 1986

8) 並河正, 田平武 :

自己免疫による中枢神経系の脱髄
神経眼科 2 : 345-354, 1985

9) 酒井宏一郎, 田平武 :

T-cell line を用いた EAE 研究の現状
Medical Immunol 11 : 327-332, 1986

d. 症例報告

1) 山村隆, 西村公孝, 梶山幸司, 北原義介, 藤田真佐之 :

若年発症で禿頭と変形性脊椎症を伴う Progressive subcortical vascular encephalopathy

(Binswanger type), 症例報告と類似7例の検討

臨床神経 25:606-613, 1985

e. 班会議報告書

1) 田平武, 酒井宏一郎, 山村隆, 並河正 :

マウスにおける実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE), EAE 誘起性T細胞株の遺伝的拘束

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和59年度研究報告書, P 88-92, 1985

2) 田平武, 由村健夫, 国下龍英 :

プロテオリピド蛋白における脱髄を伴うモルモット慢性実験的アレルギー性脳脊髄炎

同, P 100-104, 1985

3) 田平武, 酒井宏一郎, 国下龍英, 植村慶一 :

ミエリン塩基性蛋白 (MBP) 反応性T細胞ラインの末梢神経ミエリン (P1,P2) に対する反応性

厚生省神経疾患・末梢神経障害の病態とその治療に関する研究班,

昭和59年度研究報告書, P 36-43, 1985

4) 田平武, 熊谷博道, 宮本侃治 :

迅速凍結置換法によるミエリンと培養オリゴデンドロクリアの形態学的研究

厚生省神経疾患・低酸素症に基づく胎生期脳障害の形態学的生化学的研究班,

昭和59年度研究報告書, P 39-42, 1985

5) Tabira T :

Electron microscopic demonstration of polysaccharides in central and peripheral myelin by thiosemicarbazide-protein-silver staining

同, P 43-54, 1985

f. その他

1) 田平武 :

免疫性神経疾患のメチルプレドニゾロンパルス療法に関する研究会,

日本アップジョン, 東京, 1985

2) 田平武, 井形昭弘, 佐藤猛, 椿忠雄 :

座談会, 多発性硬化症をめぐるトピックス

Clinical Neurosci 3: 790-804, 1985

3) 田平武 :

II 研究業績

今月の研究者, 神経難病の原因解明にとりくむ

Medical Way 21(8) : 147-150, 1985

B. 学会報告

a. 特別講演, シンポジウム

1) Tabira T, Sakai K :

Acute and chronic relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis induced by long-term cultured T-cell lines reactive to myelin basic protein; pathologic observation
Satellite Symposium of 13th World Congress of Neurology, Würzburg, Aug 29-31, 1985

2) Tabira T, Sakai K :

Ia expression in acute and chronic relapsing experimental allergic encephalomyelitis induced by long-term cultured T cell lines in mice
idem, 1985

3) Kuroiwa Y, Itoyama Y, Tabira T :

MS in the far east
idem, 1985

4) Yamamura T, Namikawa T, Tabira T :

Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein in Lewis rats
Internat Symp " New Horizons in Animal Models for Autoimmune Disease" , Tokyo, Mar 7-8, 1986

5) Sakai K, Namikawa T, Kunishita T, Tabira T :

Clone-induced experimental allergic encephalomyelitis in congenitally athymic nude mice
idem, 1986

b. 国際学会

1) Tabira T, Yoshimura T, Kunishita T :

Chronic EAE in guinea pigs induced with proteolipid protein
13th World Congress of Neurology, Hamburg, Sept 1-6, 1985

2) Namikawa T, Yamamura T, Sakai K, Tabira T :

Modulation of reinduced experimental allergic encephalomyelitis (EAE) after recovery

from passively transferred disease

idem, 1985

- 3) Kuroiwa Y, Cuanaug J, Carandang B, Ordinario A, Perez M, Gamez G, Bengzon A, Lee L, Tateishi J, Toyokura Y, Igata A, Tabira T, Itoyama Y :

Demyelinating diseases in Asia, Acute and severe forms : Devic's disease and Balo's disease

idem, 1985

- 4) Yamamura T, Nishimura M, Kajiyama K, Kitahara Y, Fujita M :

Binswanger's subcortical arteriosclerotic encephalopathy in normotensive young adults with alopecia and spondylosis. A new progeroid syndrome?

idem, 1985

- 5) Tabira T, Ordinario A, Conde B :

An autopsy case of relapsing type Baló's disease

7th Annual Convention of Philippine Neurol Assoc, Manila, Nov 21-23, 1985

c. 一般学会

- 1) 田平武, Ordinario A :

同心円硬化症 (Baló) : 再発型の一例

第26回日本神経病理学会学術研究会, 岡山, 5, 10, 1985

- 2) 遠藤真澄, 由村健夫, 国下龍英, 田平武 :

慢性再発性 EAE におけるプロテオリピドアポ蛋白抗体と再発との相関

第26回日本神経学会総会, 松江, 5, 23, 1985

- 3) 並河正, 山村隆, 酒井宏一郎, 国下龍英, 田平武 :

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) を誘起するラット T細胞株の性状

同, 1985

- 4) 酒井宏一郎, 並河正, 山村隆, 遠藤真澄, 田平武 :

マウス実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の中枢神経病変における Ia 抗原の出現

同, 1985

- 5) 田平武 :

各種自律神経疾患患者の直腸粘膜生検所見

第38回日本自律神経学会総会, 福岡, 11, 7, 1985

II 研究業績

- 6) 熊谷博道, 佐藤七枝, 今沢正興, 田平武, 宮本侃治 :
培養オリゴデンドロサイトの細胞骨格
第28回日本神経化学会, 熊本, 11, 5 - 7, 1985
- 7) 酒井宏一郎, 並河正, 田平武 :
慢性再発性 EAE の中枢神経系における class II 抗原の出現
第15回日本免疫学会総会, 福岡, 12, 5 - 7, 1985
- 8) 山村隆, 並河正, 田平武 :
プロテオリピッド (PLP) 感作による実験的アレルギー性脳脊髄炎: 近交系ラットにおける
実験系の確立
同, 1985
- 9) 並河正, 田平武 :
Effector 細胞による実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の modulation
同, 1985
- 10) 曾根翠, 松坂哲應, 桜川宣男, 宮尾晃代, 田平武 :
多彩な自己免疫反応を呈した小児多発性硬化症の一例
第95回日本神経学会関東地方会, 東京, 10, 7, 1985
- 11) 西尾健資, 小川道子, 川又敏男, 田平武, 藤沢弘芳 :
肺癆に続発した多発性硬化症の一部検査例
第53回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 12, 7, 1985
- 12) 亀井敦行, 富英明, 田平武, 里吉栄二郎 :
Varicella-zoster meningomyeloradiculopathy の一例
第96回日本神経学会関東地方会, 東京, 2, 22, 1986
- 13) 西尾健資, 小川道子, 山内浩, 川又敏男, 田平武 :
前脊髄動脈閉塞症の一部検例
第54回日本神経学会東海北陸地方会, 名古屋, 3, 15, 1986

C. 班会議発表

- 1) 田平武 :
免疫性脱髄性疾患 - 真の trigger は何か
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班ワークショップ, 東京, 8, 3, 1985

- 2) 田平武：
エフェクターT細胞ラインによる自己免疫性脳脊髄炎の解析
厚生省新薬開発・青柳班，昭和60年度第1回総会，東京，10，11，1985
- 3) 田平武，国下龍英：
老人斑アミロイド前駆物質の検索（1）
厚生省神経疾患・老年期痴呆の病因，病態，治療に関する総合的研究班，昭和60年度研究
報告会，東京，12，14-15，1985
- 4) 田平武，山村隆，並河正，遠藤真澄，国下龍英：
プロテオリピッド感作による実験的アレルギー性脳脊髄炎：近交系ラットにおける実験系の
確立
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和60年度総会，東京，1，17-18，1986
- 5) 田平武，酒井宏一郎，佐藤準一，並河正，国下龍英，山内一也：
クローン化T細胞を用いたEAEの解析，ヌードマウスへの移入
同，1986
- 6) 田平武，佐藤準一：
T細胞ラインによる bystander demyelination の研究
厚生省神経疾患・末梢神経障害の病態とその治療に関する研究班，
昭和60年度班会議，東京，1，24，1986
- 7) 田平武，遠藤真澄，国下龍英，酒井宏一郎，山村隆：
自己免疫が本態のミエロパチー，DM-20によるアレルギー性脊髄炎
厚生省神経疾患・ミエロパチーの病態と発症機構に関する研究班，昭和60年度班会議，
東京，2，1，1986
- 8) 田平武，山村隆，並河正，国下龍英：
Deoxyspergualin の実験的アレルギー性脳脊髄炎に対する治療効果
厚生省新薬開発・青柳班，昭和60年度第2回総会，東京，3，14，1986

D. 研究会など

- 1) 田平武：
神経免疫学最近の進歩について，脱髄疾患を中心に
第14回三多摩神経懇話会，東京4，13，1985

II 研究業績

- 2) 田平武：
同心円効果症 (Baló)
第3回東京大学神経科学セミナー，東京，7，9，1985
- 3) 田平武：
実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) はどこまでわかったか
第15回新潟神経夏期セミナー，新潟，7，25，1985
- 4) 田平武：
神経疾患と免疫
第2回小児神経筋疾患懇話会，東京，8，3，1985
- 5) Tabira T：
Induction of murine EAE with encephalitogenic T-cell lines
Neurology Seminar at Karolinska Institute, Huddinge, Sweden, Sept 9, 1985
- 6) Tabira T：
Induction of murine EAE with encephalitogenic T-cell lines
Neurology Seminar at Rikshospitalet, University of Oslo, Oslo, Norway, Sept 10, 1985
- 7) 田平武：
脱髄疾患における視神経障害
第9回神経眼科講習会，佐賀，10，20，1985
- 8) 田平武：
脱髄性疾患の臨床，病理，基礎
中国，人民開放軍総医院セミナー，北京，10，22-23，1985
- 9) 田平武：
ヒトの脱髄性疾患と実験的アレルギー性脳脊髄炎
白求恩医科大学神経内科セミナー，長春，10，25-26，1985
- 10) 田平武：
実験的アレルギー性脳脊髄炎，最近の知見について
東京都神経科学総合研究所，神経科学セミナー，1，30，1986

3. 主な研究報告

DM-20 によるマウスの急性及び慢性再発性実験的アレルギー性脳脊髄炎

遠藤真澄, 田平武, 国下龍英, 酒井宏一郎, 山村隆, 武富保*

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) を引き起こす抗原としてミエリン塩基性蛋白が古くから研究されてきたが, ミエリンのもう一つの主要蛋白であるプロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) にも起炎性があることを我々は報告した⁽¹⁾。本研究は PLP を更に major PLP と DM-20 に分離し, その起炎性をマウスで検討した⁽²⁾。

方 法

ウシ脊髄より Folch の方法で粗 PLP を抽出し, メチル化セファデックスにより脱脂蛋白を得た。これを更に CM-Trisacryl により major PLP と DM-20 に分離した。この抗原 100 μ g を CFA とともに, 雌 Balb/c マウス (6-8 wk) に 1 回感作した。一部の動物には追加免疫をした。正常 Balb/c マウスより分離した T 細胞 1.5×10^7 個を雌 Balb/c マウス (6 wk) に移入し, その直後に DM-20, 100 μ g で感作した。

結 果

DM-20 の 1 回免疫により 15 匹中 9 匹に感作後 16-27 日に臨床症状が出現した (図 1, No.1-9)。2 回免疫した群は 7 匹中 5 匹に臨床症状がみられた。DM-20 による EAE の症状には, 後肢対麻痺タイプ (No.1-6, 10, 12) と回転運動をするタイプ (No.7-9, 11, 13, 14) があつた。対麻痺タイプの 1 匹と回転運動タイプの 4 匹に 2-6 週後再発が認められた。major PLP は 2 回免疫した動物にのみ 5 匹中 3 匹に對麻痺タイプの臨床症状が出現した。病理学的に下部脊髄を中心に血管周囲性単核細胞浸潤と広範な脱髓がみられた。DM-20 による EAE は T 細胞で再構築したヌードマウスにも引き起こす事ができたが, 再構築しなかつたヌードマウスには引き起こす事ができなかった。DM-20 に対する抗体を ELISA 法により測定したところ, 臨床症状との間に相関を認めなかつた。

考 察

PLP の起炎性については永年論争があり, その主要な論点は PLP 中に混入するミエリン塩基性蛋白の可能性であつた。しかし, 本研究は PLP を更に DM-20 に分離精製しその可能性を

否定した。更に, 本実験はミエリン塩基性蛋白に対し low responder である Balb/c マウスを用いたことから, その可能性は一層低いと考えられる。DM-20 による EAE は広範な脱髓を伴い, 臨床的に再発がみられる点で, 多発性硬化症により近い動物モデルといふことができる。本 EAE の発症には T 細胞が必要である。また DM-20 単独で EAE を発症したことにより major PLP の 100-140 位のアミノ酸残基は, EAE の発症に必須ではない。

文 献

- 1) Yoshimura, T. et al. : J. Neurol. Sci. 67, 201-212, 1985
- 2) Endoh, M. et al. : J. Immunol. 1986 (in press)

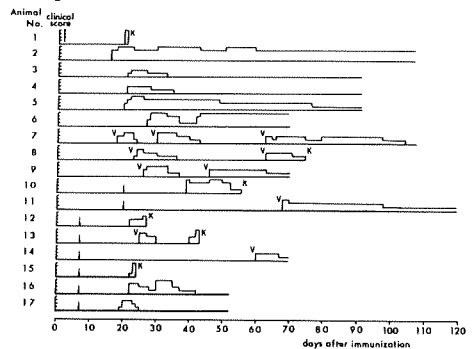


図 1 DM-20, major PLP による EAE の臨床経過図

↓ : 追加免疫 K : sacrificed
V : vestibular type

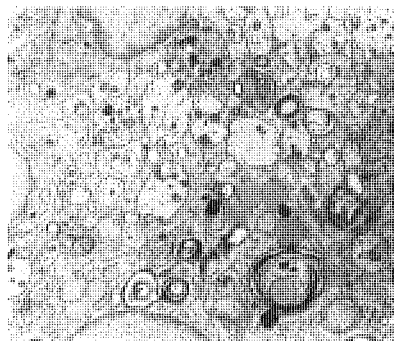


図 2 DM-20 による EAE の病理像 : 広範な脱髓がみられる。

* 信州大学医学部

プロテオリピドアポ蛋白 (PLP) 感作実験的アレルギー性脳脊髄炎：
近交系ラットにおける実験系の確立

山村隆, 並河正, 遠藤真澄, 国下龍英, 田平武

近年, 本研究者らは精製純度の高いプロテオリピドアポ蛋白 (PLP) により, Hartley 系モルモットに慢性 EAE を引き起こし得る事を示した。更に PLP 感作 EAE の免疫学的解析を進める為に, 近交系動物における実験系の確立にも成功した⁽¹⁾。本研究はリンパ球による受身 EAE の移入実験により細胞性免疫の重要性を示した⁽²⁾。

方法

- 1) 8-12 週齢の雌 Lewis ラットをウシ PLP 100 μg と完全 Freund アジュバンドで免疫し, 臨床的に観察した。
- 2) 適宜リンパ筋細胞を調製し, ウシ PLP, MBP, ラット PLP, PPD の存在下に 4 日間培養し, ³H-thymidine の取り込みにより増殖活性をみた。
- 3) 血清 PLP 抗体, MBP 抗体を ELISA 法で測定した。
- 4) 感作11日目のリンパ節細胞または脾細胞を con A(2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) または, ウシ PLP(25 $\mu\text{g}/\text{ml}$) の存在下に 2-4 日培養し, $0.2-2.5 \times 10^8$ の培養細胞を正常または X 線照射同系ラットの腹腔内に移入した。

結果

- 1) 感作18-61 日後 (平均25日) 12/31 (39%) に tail atony を初発症状とする EAE の発症がみられた (図 1)。病理学的には 18/23 (78%) に中枢神経系の単核細胞浸潤を認め, 更に MPB による EAE では報告のない広範な脱髄が脊髄軟膜下を中心に観察された。リンパ節細胞は感作11日目以降ウシ, ラット PLP に対し有意な増殖活性を示したが, MBP に対する反応はなかった。また PLP 抗体価は経時的に上昇したが, 臨床病理所見と相関しなかった。
- 2) $2-2.5 \times 10^8$ 個の培養リンパ球移入によって 400 R 照射同系ラット 5 匹に臨床的 EAE が誘起された。組織学的 EAE の移入は, より少ない細胞数 (5×10^7) でも可能であった。一部の recipient で血清 PLP 抗体価の上昇がみられたが, EAE の重症度との相関はなかった。 4×10^8 の MBP 培養細胞では EAE は移入されなかった。

考察

ウシ PLP 感作により近交系ラットに脱髄を伴う EAE を引き起こすことに成功し, 更に PLP 感作細胞による EAE の移入に初めて成功

した。active EAE, passive EAE とともに重症度は PLP 抗体価と相関しなかった。以上の結果は, PLP 感作 EAE における細胞性免疫の関与を強く示唆している。今後, この純系動物モデルを用いて PLP 感作 EAE の免疫学的発症機構の解明が急速に進展するものと期待される。

文献

- 1) Yamamura, T. et al. : J. Neuroimmunol., 1986(in press)
- 2) Yamamura, T. et al. : 1986 J. Neurol. Sci. (in press)

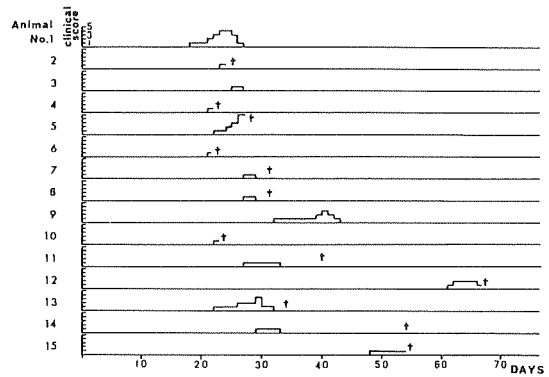


図 1.

Table
Ability of PLP-sensitized lymphoid cells
to Transfer EAE after Preincubation

Cells	No. of Cells ($\times 10^{-7}$)	In vitro Stimulant	EAE in Recipients		Pretreatment of Recipients
			Clinical	Histologic	
LNC	2	PLP	0/3 (0)	0/3 (0)	(-)
LNC	5	Con A	0/2 (0)	0/2 (0)	(-)
LNC	5	PLP	0/2 (0)	0/2 (0)	PLP/IFA
SFC	5	Con A	0/4 (0)	2/4 (1.0)	(-)
SFC	5	Con A	0/4 (0)	1/3 (1.0)	Irradiat.
LNC	5-10	PLP	0/6 (0)	3/6 (2.0)	(-)
LNC	7-10	PLP	1/3 (0.5)	1/3 (1.0)	Irradiat.
SFC	10	Con A	0/4 (0)	N.D.	Irradiat.
LNC	20	Con A	1/1 (1.0)	1/1 (2.0)	Irradiat.
SFC	20-25	Con A	3/4 (3.0)	3/4 (3.0)	Irradiat.
LNC+SFC	40	MBP	0/2 (0)	0/2 (0)	Irradiat.

エフェクター細胞によるラット実験のアレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の修飾

並河正, 国下龍英, 田平武,

ラットのEAEは一過性であり, 回復期のラットは病気の能動的再誘導に対して抵抗性を獲得する。この免疫寛容の機構は多要因によると思われるが, 多発性硬化症の治療法を開発する上に重要な示唆を与えるとおもわれる。今回はEffector細胞あるいはそれによる一次EAEが二次EAEをいかに修飾するかを検討した^(1,2)。

方法

2-3カ月の雌Lewisラットを用いた。一次EAEはモルモット髓鞘塩基性蛋白(GBPB)/CFAによる感作脾細胞(SPC), または所属リンパ節細胞(LNC)をGPBPまたはconcanavalin A(con A)と3日間培養後, 正常ラットに受け身移入して誘導した。一部のラットはX線照射(300 R)したGPBP/SPC or LNC, PPDで培養した感作リンパ節細胞(PPD/LNC), ウシのBPで活性化した感作リンパ節細胞(BBP/LNC)の移入を受けた。一次EAE誘導後1, 9-14 (一次EAE回復直後), 30, 60日にGPBP/CFA感作, または15-17日後にEffector細胞(GBPB/SPC)の移入により二次EAEを誘導した。

結果と考察

GPBP/SPC, GPBP/LCN, con A/SPCのrecipientは全例中~高度の麻痺を示し(一次EAE), 数日の経過で完全回復した。回復直後に能動免疫により引き起こされた二次EAEは通常より早期発症(5-7日)であったが, 病気の程度は軽症に留った(85-100%抑制, 表1)。二次EAEの抑制は一次EAE誘導後1-30日まで認められた。PPD/LNC, X線照射GPBP/SPC, LNCは一次EAEを誘導せず, そのrecipientsは能動免疫により通常の重症二次EAEを示した(対照)。BBP/LCNによる一次EAEは軽一中程度であり, そのrecipientsのGPBP/CFAによる二次EAEはやはり抑制された(63%抑制, 表1, イデイオタイプ非特異性)。EAE回復期のラットは十分量のEffector細胞の移入によって, 正常対照と同等の重症二次EAEを示した(表2)。二次EAEが抑制された動物由来のSPCはin vitroでGPBPと培養する事により, 重症EAEを移入する能力を獲得する。また, 回復期ラット脾細胞中のサブレッサー細胞は検出されなかった。以上より, Effector細胞によるその後の能動免疫による二次EAEの抑制は, 一次EAEからの回復の比較的早期に認められ, その機構はEffector細胞にイデイオタイプ特異的に獲得されるよりは, 病気発症の結果として非特異的に誘導されるものの方が強い

事がわかった。この二次EAEの抑制は, preeffector細胞からeffector細胞への増殖, 分化が回復期ラットの体内において抑制されていることにもとずいていると考えられる。

文献

- 1) Namikawa, T. et al. : J. Neuroimmunol., 1986(in press)
- 2) Namikawa, T. et al. :1986 (submitted)

Table 1. SUPPRESSION OF 2^oEAE INDUCED BY ACTIVE CHALLENGE IN RATS RECOVERED FROM 1^oEAE INDUCED BY PASSIVE TRANSFER

Cells Transferred	1 ^o EAE Incl. (Mean dence Clin. Score)	2 ^o EAE					Histologic Score	
		Maximum Clinical Score			% (Mean Early Onset Onset Day)	% Suppres- sion		
GPBP/SPC (1-2x10 ⁷)	11/11 (15.7)	0	10	1	0 (1.3)	97	(6.9)	2.4
GPBP/LNC (2x10 ⁷)	13/13 (4.5)	5	6	1	1 (1.1)	38	(8.6)	85
Con A/SPC (2x10 ⁷)	3/3 (3.8)	0	3	0	0 (1.3)	67	(7.0)	100
Con A/LNC (2x10 ⁷)	0/6 (0)	0	1	0	5 (4.2)	33	(9.7)	17
PPD/LNC (2x10 ⁷)	0/6 (0)	0	0	2	4 (4.8)	0	(11.2)	0
GPBP/SPC (2x10 ⁷)	0/2 (0)	0	0	0	2 (5.5)	50	(8.0)	0
GPBP/LNC (1x10 ⁸)	0/3 (0)	0	0	0	3 (5.0)	0	(11.5)	0
BBP/LNC (2-4x10 ⁷)	6/8 (1.4)	2	3	1	2 (2.1)	67	(8.3)	63
None	-	0	1	27	(5.3)	0	(11.3)	0
GPBP/SPC (2x10 ⁷)	3/3 (5.5)	3	0	0	0 (0)	-	-	0

Table 2. SUSCEPTIBILITY OF RECOVERED RATS TO 2^oEAE INDUCED BY PASSIVE TRANSFER

Cells Transferred	1 ^o EAE No. Cells Transferred	2 ^o EAE			Histologic Severity	
		Clinical Severity				
GPBP/LNC	6/6	2x10 ⁷	0	0	3 (6.0)	3.0
		1x10 ⁶	0	0	1 (5.0)	2.0
		2x10 ⁸	0	2	0 (0.5)	1.0
GPBP/SPC	6/6	2x10 ⁷	0	1	0 (1.0)	1.0
		1x10 ⁶	1	4	0 (0.6)	1.0
		2x10 ⁸	0	0	0 (0.0)	1.0
none	0/10	2x10 ⁷	0	0	2 (5.5)	n.d.
		1x10 ⁶	0	0	1 (5.0)	1.0
		2x10 ⁸	0	0	7 (4.9)	1.6

クローン化T細胞を用いたEAEの解析

酒井宏一郎, 並河正, 国下龍英, 山内一也*, 田平武,

ヒト多発性硬化症の実験モデルであるマウス実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) は, T細胞を介した自己免疫性疾患であるが, その経過に heterogeneous な T細胞の相互作用が関与しているか否かについては明らかではない。本研究はこの点を解明する為に EAEを誘起する T細胞クローンを作製し, ヌードマウスへの受身移入を試みた。

材料と方法

動物は全て6-8週のマウスを用いた。EAE誘起性長期培養株として, SJL/J由来の R-2 line(1, 2)と今回新たに樹立した DDD/1由来の D-1 lineを用いた(3)。D-1 lineはEAEに対し低応答性を示す DDD/1正常マウス由来の Lyt2⁻T細胞を DDD/1ヌード (nu/nu)マウスに移入し, その後ラット髄鞘塩基性蛋白 (MBP)を完全 Freund アジュバントと共に免疫して作製した。T細胞クローン 4b.14a及び6aとそのサブクローン 6a.3fは R-2 lineと D-1 lineを夫々限界希釈法によりクローニングして樹立した(3)。細胞の受身移入は, 細胞を予め3000 R X線照射脾細胞とラット MBPの存在下に4日間刺激した後, 幼若化した細胞 $1-1.5 \times 10^7$ 個を500 R照射マウスに尾静脈より注射して行った。臨床症状は細胞移入後より毎日観察を続け, 予後は細胞移入後20日の時点で3段階で評価した。重症度は0から5までの6段階で評価した。

結果と考察

これらのクローン細胞をそれぞれ同系の正常マウスに移入し, T細胞長期培養株によるEAEと比較したところ, 平均発症はいずれの移入細胞群においても約5日と一定であり, さらに, 長期培養細胞とクローン化細胞の群においてその重症度に有意な差を認めなかった。また, クローンを移入されたマウスにおいても, 半数以上にEAEからの回復が観察された。これらの結果は heterogeneous な感作細胞 populationと同様, 単一な感作T細胞 populationが急性EAEの全経過を引き起こし得ることを示している。

更に, recipient側の非感作T細胞の関与を知る目的で, これらのクローンの DDD/1ヌードマウスへの移入を試みた。4b.14aクローンを移入した際, SJL/J recipientに比べ若干の発症の遅れが認められた以外には, 重症度, 回復傾向に有意の差を認めなかった。他方, DDD/

1由来のクローン6a及びそのサブクローンである6a.3fをヌードマウスに移入した際, 同系の正常マウスに比較して, 発症日数, 重症度, 回復傾向に有意な差を認めなかった。

これらの結果は, エフェクターT細胞クローンがヌードマウスというT細胞が欠如した環境下においても, 急性EAEの全経過を誘導し得ることを示しており, recipient側の非感作T細胞がEAEの発症から回復に直接関与していない可能性を示している。

文 献

- 1) Sakai, K. et al. : J. Neuroimmunol. 9, 281, 1985
- 2) Sakai, K. et al. : Lab. Invest. 54, 345, 1986
- 3) Sakai, K. et al. : J. Immunol. 1986 (in press)

Table I
Encephalitogenicity of clone 4b.14a and line R-2 for euthymic and athymic mice

Strain of recipients	Inoculated cells	Incidence of clinical	Mean day of onset	Maximum severity	Outcome		
					D	S	H
SJL/J	R-2	9 / 9	5.1±1.4	4.2±0.4	2	4	3
SJL/J	4b.14a	12 / 12	5.3±0.5	4.5±0.5	6	0	6
DDD x SJL/JF1	4b.14a	4 / 4	5.5±1.0	4.2±0.5	1	0	3
DDD/1 nu/nu	R-2	10 / 10	6.6±0.9	4.3±0.4	2	6	2
DDD/1 nu/nu	4b.14a	5 / 5	6.2±0.3	4.4±0.5	2	1	2

Table II
Encephalitogenicity of clone 6a, subclone 6a.3f and line D-1 for euthymic and athymic mice

Strain of recipients	Inoculated cells	Incidence of clinical	Mean day of onset	Maximum severity	Outcome		
					D	S	H
DDD/1	D-1	3 / 3	5.3±0.5	4.0±1.0	1	0	2
DDD/1	6a, 6a.3f	7 / 9	5.5±1.9	3.6±1.2	2	0	5
DDD/1 nu/nu	D-1	6 / 6	5.6±1.5	4.0±0.6	1	3	2
DDD/1 nu/nu	6a, 6a.3f	9 / 10	6.0±2.1	4.0±0.7	3	0	6

* 東大医科学研究所

8. 診断研究部

1. 研究部一年の歩み

本年度は、人事移動の多い年であった。まず、室長加藤進昌が、12月に疾病研究第三部の室長に転出した。流動研究員も、島村道夫が4月1日より、代謝研究部に転出し、永木茂が、12月で、東京女子医大小児科助手となり転出した。新しい流動研究員としては、4月1日より松田文雄、8月1日より俣賀宣子が採用された。また4月1日より、小高弘子が研究生として、常時研究に参加した。昭和59年末より、研究生として常時研究に参加していた上芝元は、12月に東邦大第一内科に復帰し、当部は非常勤となった。こうして、年度末の研究スタッフは、室長：林時司、流動研究員：松田文雄、俣賀宣子、賃金研究員：渡辺倫子、賃金研究助手：大庭ひさ子、研究生(常勤)：小高弘子、研究費雇用職員：熊田淳子、椎津圭子、安武由里、併任研究員：村上弘司である。

さらに、厚生省より委託された、代謝異常スクリーニング精度管理事業のため、日本公衆衛生協会より派遣されている、鈴木恵美子、花房和子、小牧真理、橋本逸代の4名が研究に参加している。研究課題としては、発達障害の早期診断の研究と、精神神経疾患の診断殊に代謝異常に関する臨床化学的研究とが主なものであり、その概要を説明する。

(1) 発達障害の早期診断の研究

現在施行されている、新生児スクリーニングのための、濾紙に採取された血液を用いて出来るだけ多くの疾患を、出来るだけ正確に診断するための研究を行っている。昨年開始した Biotinidase 欠損症スクリーニングの方法は一応確立され、目下、千葉県と協力実施中であり、さらに数ヶ所に、合成した試薬を分与し、追試を行ってもらっている。また、クレチン症スクリーニングについての新しい方法である、Time-resolved Fluoroimmuno-assay 法について、われわれの開発した EIA 法、既存の RIA 法との比較研究を開始した。新生児スクリーニングの精度管理については、少しずつその技術面での改良も行いながら、精度管理自体をより正確なものとしようとしている。

有機酸代謝異常症の早期診断も重要なものであるが、まだそのための簡便な機器が不十分である。われわれは、このための簡便な機器の開発研究を行っているが、まだ完成するに至っていない。

(2) 精神神経疾患の代謝異常についての研究

安定同位体を用いて、今迄正確に把握されていない、代謝障害を分析するための研究が続けられている。重水素標識のトリプトファンを用いて、生体内トリプトファン、トリプタミン、セロトニ

ン、キヌレニンなどの代謝を正確に分析する方法が確立された。そして、うつ病あるいは小児自閉症における代謝障害についての研究が続いている。

さらに、フェニールエチラミン、チラミンなどのマイクロアミンの生体内代謝の分析方法も確立された。そして、これらの物質が、臨床的にどのような意味をもつかについての基礎的検討も行われた。これらの物質は、主として、末梢臓器で生成されることがわかり、現在尿中・血中での増加が、しばしば症状悪化と関連させられているが、この解釈はかなり問題があるものと考えられる。

小児自閉症については、今までの代謝障害の分析結果から、これを正常化させる方法の治療的意義が検討された。そして、R-テトラヒドロバイオプテリの有効性が認識された。目下、二重盲試験法により、有効性の客観的評価研究が行われている。

また、われわれは、安定同位体の¹³Cで標識した物質を、NMRスペクトロメトリーで分析定量する研究を開始した。現在¹³C-グルコースを小動物に与え、脳内で、グルコースから、アミノ酸に分解する程度を、in situで測定する方法の開発研究を行っている。この方法は、将来ヒト脳でのエネルギー代謝の分析のために使用することが可能なものと想像される。今後、この目的のために、研究を継続する予定である。 (部長 成瀬 浩)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

1) Naruse H, Nakajima H, Irie M, Takasugi N, Suwa S :

Comparison of primay-TSH and-T4 screenig for congenital hypothyroidism

In ; Birth Defect Symposium XVI, genetic Diseases (eds Carter P et al) Academic Press, in press

2) Naruse H, Fukushi M, Takasugi N, Kunita S, Maeda S, Hamanaka H, Ishiguro M, Furukawa M :

Neonatal hypothyroid screening by enzymeimmunoassay for TSH

In ; Iodine Deficiency and Congenital Hypothyroidism (eds Maderias Neto G et al) Ache, Sao Paulo, 166-176, 1986

3) Irie M, Naruse H :

Neonatal thyroid screening ;
organization, quality-control and pitfalls

- In ; Iodine Deficiency and Congenital Hypothyroidism (eds Maderias Neto G et al)
Ache, Sao Paulo : 203-213, 1986
- 4) Naruse H, Suzuki E, Irie M, Tsuji A, Takasugi N, Fukushi M, Matsuura N,
Shimozawa K :
Neonatal screenig for congenital adrenal hyperlasia in Japapn
Annals New York Academy of Sciences
1458 : 103-110, 1985
- 5) 成瀬浩, 林時司, 島村道夫, 鈴木恵美子, 鎌田智, 高橋良, 高城昭紀, 渋谷治男 :
安定同位体を用いたうつ病における in situ のアミノ酸・アミン代謝
神経研究の進歩 29 : 872-881, 1985
- 6) 成瀬浩, 林時司, 武貞昌志 :
小児自閉症の新しい薬物療法の開発
財安田生命社会事業団研究助成論文
20 : 84-93, 1985
- 7) Shimamura M, Kamada S, Hayashi T, Naruse H :
Sensitive determination of tyrosine metabolites, p-hydroxyphenyl-acetic acid, 4-hydroxy-3-methoxyphenylacetic acid and 4-hydroxy-3-methoxymandelic acid, by gas chromatography-negative-ion chemical-ionization mass spectrometry.
Application to a stable isotope-labelled tracer experiment to investigate their metabolism in man
J Chromatogr 374 : 17-26, 1986
- 8) Hayashi T, Minatogawa Y, Kamada S, Shimamura M, Naruse H, Iida Y :
Sensitive deuteration of deuterated and non-deuterated phenylalanine and tyrosine in human plasma by combined capillar gas chromatography negative ion chemical ionization mass spectrometry
J Chromatogr 380 : 239 - 245, 1986
- 9) 島村道夫, 鎌田智, 小高弘子, 林時司, 成瀬浩, 渋谷治男 :
重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (IV)
うつ病におけるチロシンの代謝系の異常

医用マス講演集 10:163-166, 1985

- 10) 林時司, 松田文雄, 湊川文子, 島村道夫, 成瀬浩, 飯田芳男:

重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (V)

セロトニン・トリプタミンの生体内動態

医用マス講演集 10:167-170, 1985

- 11) 赤松隆, 等々力英美, 鎌田絃八, 楠本昌子, 佐藤喜宣, 梶原正弘, 永盛肇, 林時司:

飲酒による血清遊離アミノ酸および α -ケト酸の変動-健常者について-

アルコールと薬物依存 20:219-237, 1985

- 12) Tsuchiya H, Tatsumi N, Takagi N, Koike T, Yamaguchi H, Hayashi T:

High-performance liquid chromatographic determination of urinary catecholamines by solid-phase dansylation on alumina

Anal Biochem, in press

- 13) 永木茂, 渡辺倫子, 加藤進昌:

TRH-analog (DN-1417) および TRH-T 投与の脳内のソマトスタチン濃度におよぼす影響

てんかん研究 3:158-163, 1985

- 14) 加藤進昌, 渡辺倫子, 樋口輝彦, 高松幸雄, 諸治隆嗣:

6-ハイドロキシドパミン脳内投与によるラット脳内コレシストキニンおよびソマトスタチン様物質の変動

精神薬療基金研究年報 17:82-88, 1986

- 15) Higuchi T, Yamazaki O, Takazawa A, Kato N, Watanabe N, Minatogawa Y, Yamazaki J, Oshima H, Nagaki S, Igarashi Y, Noguchi T:

Effects of carbamazepine and valproic acid on brain immunoreactive somatostatin and γ -aminobutyric acid in amygdaloid-kindled rats

Eur J Pharmacol, in press

b. 著 書

- 1) 永木茂, 加藤進昌, 成瀬浩

カルバマゼピン投与の脳内神経ペプチドにおよぼす影響

生物学的精神医学 最近の進歩(難波益之編) ヘスコインターナショナル東京, 325-329, 1985

- 2) Kato N, Suzuki E, Tsuji A, Naruse H:

Enzyme immunoassays of TSH and T4 in dried blood spots for neonatal hypothyroid-screening.

In : Iodine Nutrition, Thyroxine and Brain Development (ed Kochupillai N) Government of India, New Delhi, in press

c. 総 説

1) 成瀬浩 :

先天代謝異常のスクリーニング

神経研究の進歩 29 : 432-439, 1985

2) 成瀬浩 :

精神遅滞の医学的治療

Clinical Neuroscience 4 : 303-307, 1986

3) 成瀬浩 :

精神発達障害の原因と治療

発達のおくれと教育 333号 78-81, 334号 80-84, 335号 76-80, 1986

4) 成瀬浩 :

安定同位体を用いたアミノ酸・アミン代謝の研究—精神神経疾患研究への応用

第10回医用マス研究会講演集 63-70, 1985

5) 加藤進昌 :

精神薄弱者の老化の医学

その1—老化の概念—愛護32 (4) : 33-37, 1985

その2—老化の指標—愛護32 (5) : 33-38, 1985

その3—アルツハイマー病とダウン症候群—愛護32 (6) : 31-36, 1985

その4—老化の予防と対策—愛護32 (7) : 30-35, 1985

6) 加藤進昌 :

先天性代謝異常症候群

臨床精神医学 14 : 679-683, 1985

e. 班会議報告書

1) 成瀬浩, 林時司, 武貞昌志 :

小児自閉症に対する代謝異常治療薬の効果についての研究—テトラヒドロバイオプテリンの効果についての予備的研究

厚生省新薬開発・酵素障害にもとづく代謝異常治療薬の開発研究班昭和59年度研究報告書

- 2) 成瀬浩, 林時司, 島村道夫, 湊川文子, 高橋良, 渋谷治男 :

うつ病におけるチロシン代謝障害の化学的背景の分析

厚生省神経疾患・そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究, 昭和59年度研究報告集 47~53, 1985

- 3) 成瀬浩, 林時司, 小牧真理, 増田郁子 :

有機酸代謝異常スクリーニングシステムの確立のための新しい機器の開発の研究

厚生省神経疾患・精神遅滞の本態および成因に関する開発的研究, 昭和59年度研究成果報告書 65~71, 1985

- 4) 林時司 :

安定同位元素トレーサー法による生体内セロトニン代謝の研究

厚生省心身障害・自閉症の療育体系に関する総合的研究, 昭和59年度報告書 33~42, 1985

- 5) 加藤進昌, 永木茂, 渡辺倫子, 樋口輝彦, 山崎治, 高沢彰, 斉藤寿一 :

抗てんかん薬の脳内神経ペプチド, 特にソマトスタチンにおよぼす影響

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班, 昭和59年度研究報告書 159~162, 1985

- 6) 成瀬浩, 鈴木恵美子, 花房和子, 滝川早苗 :

新生児スクリーニングシステムの問題点

厚生省心身障害・先天異常に関する研究, 昭和59年度報告書 14~16

- 7) 成瀬浩, 鈴木恵美子, 江頭恵子, 滝川早苗, 熊田淳子, 入江実 :

クレチン症スクリーニングの精度管理から明らかとなった問題点

厚生省心身障害・クレチン症に関する研究, 昭和59年度報告書 130~133

- 8) 成瀬浩, 鈴木恵美子, 熊田淳子, 辻章夫, 塚田和広 :

先天性副腎過形成症スクリーニングのための EIA 法の改良

厚生省心身障害・新しいマススクリーニングの開発に関する研究, 昭和59年度報告書 252~254

f. その他

- 1) 成瀬浩 :

第10回医用マス研究会を振り返って

GC-MS NEWS 13 : 172-173, 1985

B. 学会発表

a. 特別講演 シンポジウム

1) Naruse H ;

Comparison of primary TSH and-T4 screening for Congenital hypothyroidism
XVIth Birth Defects Symposium, Albany, N.Y., Sept.29-Oct.1, 1985

2) Naruse H, Fukushi M :

TSH Enzyme Immuno Assay
Symposium on Congenital Hypothyroidism, Sao Paulo, Aug.30-31, 1985

3) Irie M, Naruse H, Nakajima H, Suwa S, Takasugi N :

Comparison of TSH and T4 measurement as the primary screening method of congenital hypothyroidism
4th National Symposium on Nowborn Screening, Ohio, Sept.9-12, 1985

4) Irie M, Naruse H :

Neonatal thyroid screening : Organization and pitfalls
Symposium on Congenital Hypothyroidism, Sao Paulo, Aug.30-31, 1985

5) Higuchi T, Kato N, Noguchi T, Friesen HG, Wada JA :

Kindling and somatostatin
3rd Kindling Symposium, Vancouver, Canada, May 10, 1985

6) 成瀬浩 :

^{13}C の医学生物学的利用の型状と展望 医学の立場から
第1回 ^{13}C 医学応用研究会シンポジウム
東京, 11.30, 1985

7) 成瀬浩 :

安定同位体を用いたアミノ酸・アミンの代謝の研究—精神神経疾患の研究への応用
第10回医用マス研究会 シンポジウム
「疫学研究におけるマススペクトロメトリーの利用」
東京, 10.24-26, 1985

8) 林時司, 松田文雄, 島村道夫, 成瀬浩, 飯田芳男, 代島茂樹 :

負イオン化学イオン化質量分析法を利用する高感度安定同位体トレーサー法 —トリプトファン, セロトニンの生体内動態の分析—

II 研究業績

第7回生体成分の分析化学シンポジウム 東京, 9.31-10.1, 1985(講演要旨集P143)

9) 林時司 :

負イオン化学イオン化質量分析法による高感度分析

医用マス研究会 日本質量分析化学会合同ワークショップ 東京, 10.24, 1985

10) 松田文雄, 林時司, 小高弘子, 俣賀宣子, 成瀬浩 :

安定同位体トレーサー法を用いた小児自閉症のセロトニン, カテコールアミン代謝の研究
生物学的精神医学会

シンポジウム「セロトニンとカテコールアミン」, 金沢, 3.27-28, 1986

11) 成瀬浩 :

うつ病の生化学的研究

日本産業医学会関東部会 特別講演 東京, 12.7, 1985

c. 一般学会

1) 島村道夫, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :

負イオン化学イオン化質量分析法によるチラミンの超微量定量法 - 安定同位体トレーサー法への応用

日本化学会第51春季年会 東京, 4.1-4, 1985

2) 湊川文子, 鎌田智, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :

GC/ NICIMS を利用する芳香族アミノ酸の安定同位体トレーサー法

日本薬学会第105年会 金沢, 4.3-5, 1985 (講演要旨集P369)

3) 島村道夫, 鎌田智, 林時司, 成瀬浩, 飯田芳男 :

安定同位体トレーサー法による生体内チロシン代謝の研究

日本薬学会第105年会 金沢, 4.3-5, 1985 (講演要旨集P369)

4) 林時司, 島村道夫, 成瀬浩, 飯田芳男 :

GC/ NICIMS を利用する5-ヒドロキシインドール酢酸の高感度定量

日本薬学会第105年会 金沢, 4.3-5, 1985 (講演要旨集P370)

5) 土屋博紀, 高木順彦, 小池享, 山口秀樹, 林時司 :

固相プレカラムラベル化法を用いたカテコールアミンの高速液体クロマトグラフィー

日本薬学会第105年会 金沢, 4.3-5, 1985 (講演要旨集)

6) 永木茂, 加藤進昌, 渡辺倫子 :

ラット脳内およびヒト体液中の Delta Sleep-Inducing Peptide (DSIP) の存存とその意義に

ついて

- 第10回日本睡眠学会 東京, 5.31, 1985
- 7) 中垣慶子, 海老原成光, 白井節夫, 本田芳子, 高橋康郎, 加藤進昌 :
抗 DSIP 血清の脳内注入によるラット睡眠への影響
第10回日本睡眠学会 東京, 5.31, 1985
- 8) 鈴木恵美子, 花房和子, 熊田淳子, 成瀬浩, 浜中広健 :
Biotindase 欠損症のスクリーニングについての予備的研究
第13回代謝異常スクリーニング研究会 札幌, 8.2-3, 1985 (講演抄録集 P74)
- 9) 上芝元, 宮地幸隆, 入江実, 林時司, 成瀬浩 :
HPLC/Immunoassay による乾燥濾紙血液中の 17-OHP の定量
第13回代謝スクリーニング研究会 札幌, 8.2-3, 1985 (講演抄録集 P91)
- 10) 入江実, 日下部英里子, 難波修, 関東繁, 鈴木恵美子, 江頭友子, 熊田淳子, 成瀬浩,
大浦敏明 :
クレチン症スクリーニング精度管理
第13回代謝異常スクリーニング研究会 札幌, 8.2-3, 1985 (講演抄録集 P108)
- 11) 秋元慶子, 加藤進昌, 渡辺倫子, 野本照子, 沢野真二 :
新生仔期に monosodium L-glutamate 投与をうけた成熟ラットにおける脳内 growth hormone-releasing factor (GRF) 活性の変化について
第15回日本神経精神薬理学会 京都, 9.26, 1986
- 12) 山崎治, 樋口輝彦, 高沢彰, 大島浩伸, 山崎潤, 湊川文子, 五十嵐良雄, 野口拓郎,
渡辺倫子, 永木茂, 加藤進昌 :
抗てんかん薬の扁桃核キンドリングけいれん抑制効果と脳内ソマトスタチン, GABA の
変化
第19回日本てんかん学会 大津, 10.4, 1985
- 13) 永木茂, 渡辺倫子, 加藤進昌, 高沢彰, 樋口輝彦 :
ラット新生仔期の抗甲状腺剤投与による聴原性発生の発現について
第19回日本てんかん学会 大津, 10.4, 1985
- 14) 野本照子, 秋元慶子, 加藤進昌, 渡辺倫子, 沢野真二 :
Monosodium L-glutamate 投与ラットにおける脳内 growth hormone-releasing factor
(GRF) および somatostatin (SRIF) の変動について

第73回日本薬学会 関東部会10.30, 1985

- 15) 小池享, 久米章司, 土屋博紀, 林時司 :

固相プレカラムラベル法を用いた HPLC による尿中カテコールアミンの分析

第32回日本臨床病理学会総会 松本, 9.21-23, 1985

- 16) 赤松隆, 等々力英美, 鎌田紘八, 佐藤喜宣, 梶原正弘, 永盛肇, 井上範江, 大嶺智子,
林時司 :

健常者群における飲酒の代謝への影響 分枝鎖アミノ酸およびケト酸の性差による変動について

第20回日本アルコール医学会総会 京都, 10.3-5, 1985

- 17) 上芝元, 入江実, 林時司, 成瀬浩, 宮地幸隆 :

HPLC/Immunoassay によるステロイドの定量

第58回日本内分泌学会秋季学術大会 松本, 10.11-12, 1985 (抄録集 P1502)

- 18) 島村道夫, 鎌田智, 小高弘子, 林時司, 成瀬浩, 渋谷治男 :

重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝の研究 (IV) うつ病におけるチロシン代謝系の異常
医用マス研究会 東京, 10.24-26, 1985 (講演集 P163)

- 19) 林時司, 松田文雄, 湊川文子, 島村道夫, 成瀬浩, 飯田芳男 :

重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (V) セロトニン, トリプタミンの生体内
動態

医用マス研究会 東京, 10.24-26, 1985 (講演集 P167)

- 20) 小牧真理, 林時司, 成瀬浩 :

逆相イオンペアクロマトグラフィーを利用するアミノ酸分析

第25回日本臨床化学学会年会 新潟, 11.1-2, 1985 (要旨集 P97)

- 21) 林時司, 松田文雄, 成瀬浩, 長谷川宏幸 :

安定同位体トレーサー法によるセロトニン, トリプタミンの生体内動態の追跡

第9回日本トリプトファン研究会 浜松, 12.7, 1985 (抄録集 P23)

- 22) 樋屋久美, 佐久間郁代, 吉田篤子, 浜中広健, 鈴木恵美子, 成瀬浩 :

Biotinidase 欠損症のスクリーニングについての予備的検討

第20回予防医学技術研究集会 沖縄, 1.23-24, 1986

- 23) 高沢彰, 樋口輝彦, 山崎治, 山崎潤, 大島浩伸, 加藤進昌, 渡辺倫子 :

Brattleboro ラットの扁桃核キンドリング形成過程脳内 somatostatin, vasopressin 濃度と

の関連について

第8回日本生物学的精神医学会 金沢, 3.27~28.1986

b. 国際学会

1) Kato N, Watanabe N, Igarashi Y :

Differences in PRL-releasing action induced by neuroleptics : Intermittent VS continuous administration

16th International Congress of the International Society of ISPNE, Kyoto, Japan, April 15, 1985

2) Kato N, Watanabe N, Igarashi Y :

Increase in immunoreactive cholecystokinin-octapeptide in rat brain after long-term administration with haloperidol

16th International congress of the International Society of ISPNE, Kyoto, Japan, April 18, 1985

3) Tsuchiya H, Takagi N, Koike T, Yamaguchi H, Hayashi T :

High-performance liquid chromatography of catecholamines using a solid-phase derivatization on alumina

3rd Asian Pacific Congress of Clinical Biochemistry, Dentasar, Sept.15-20, 1985

C. 班会議発表

1) 成瀬浩, 鈴木恵美子, 花房和子, 熊田淳子 :

ピオチニターゼ欠損症のスクリーニングについて

厚生省心身障害・先天性代謝異常マススクリーニング研究班 昭和60年度報告会, 名古屋, 2.1, 1986

2) 鈴木恵美子, 熊田淳子, 成瀬浩 :

Time-resolved fluorometric immunoassay によるスクリーニング法の検討

厚生省心身障害・クレチン症に関する研究班, 昭和60年度報告会, 東京, 2.8, 1986

3) 成瀬浩, 鈴木恵美子, 熊田淳子, 入江実, 難波修 :

クレチン症スクリーニングの精度管理について

厚生省心身障害・クレチン症に関する研究班, 昭和60年度報告会, 東京, 2.8, 1986

4) 成瀬浩, 中根允文, 林時司 :

R-THBP の小児自閉症に対する治療効果

厚生省新薬開発・酵素障害に基づく代謝異常治療薬の開発研究班，昭和60年度報告会，東京，2.12，1986

5) 成瀬浩，林時司，松田文雄，武貞昌志：

代謝異常を疑わせる発達障害の本態追求と早期発見の研究 小児自閉症について

厚生省神経疾患・脳発達障害の成因と予防に関する開発的研究班，昭和60年度報告会，東京，2.22，1986

6) 林時司，松田文雄，山崎晃資，成瀬浩，武貞昌志：

小児自閉症における生体セロトニン代謝

厚生省心身障害・自閉症の療育体系に関する総合的研究班，昭和60年度報告会，横浜，2.22，1986

7) 加藤進昌，永木茂，渡辺倫子，高沢彰，山崎治，樋口輝彦：

ラット新生仔期の抗甲状腺剤投与による聴原性発作の発見とソマトスタチン

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班，昭和60年度研究報告会，東京，2.22，1986

8) 成瀬浩，林時司，小高弘子，松田文雄，俣賀宣子：

安定同位体を用いたうつ病における in vivo のアミノ酸・アミン代謝 (IV)

厚生省神経疾患・そううつ病の生化学的特性による分類と発生機序に関する研究班，昭和60年度報告会，東京，3.1，1986

D.研究会など

1) Naruse H：

Metabolic study on infantile autism using a stable isotope

Special Lecture in N.Y. State Basic Research Inst. for Developmental Disabilities, N.Y., Oct.26, 1985

2) 加藤進昌：

内因性 DSIP 検定の現況について

睡眠促進物質研究会，岡崎，5.23，1985

Time-resolved fluorometric immunoassay によるスクリーニング法の検討

鈴木恵美子, 熊田淳子, 成瀬浩

現在, TSH の高感度測定法としては, radioimmunoassay や enzymeimmunoassay が広く用いられているが, 前者では, 特殊施設の必要性や半減期の問題があり, 後者にも, 抗体の特異性の問題などが残されていた。最近 RI を用いない高感度 TSH 測定法として, Time-resolved fluorometric immunoassay (以下 TRF-immunoassay と略) が報告された。この方法は, 第 1 抗体を塗布した microtiter tube に検体と europium をラベルした抗体を入れて反応させ, その蛍光を測定するものであり, 本法の特徴としては, 高感度, 測定範囲の広さ, 特異性の高さ, 操作の簡便さなどがあげられる。我々は, 実際にこの方法が使用可能かどうかを検討し, さらに, RIA, EIA 法との比較も行なうべく検討を開始したので, 今回その一部を報告する。

まず, この方法を特徴づける europium キレートについて簡単に説明する。europium キレートの蛍光は, 今まで測定していた普通の蛍光より出現している時間が, 2~5 オーダー長い。従ってパルス励起による蛍光のバックグラウンドの影響が出ない時間に, europium キレートの蛍光が測定でき, S/N 比の良い高感度測定が可能である。実際には, europium キレートに 1 μ s の励起光をあて, 発した蛍光を 400~800 μ s で測定する。このサイクル (1ms) を 1000 回繰り返し, 積算した蛍光の強さを実測値とする。

また, 本法で用いる抗体は, 2 つ共モノクローナル抗体であるため, 高い特異性が得られる。

方法

検体としては, 血液濾紙と血清を用いることができる。まず, 抗体塗布のマイクロチューブに検体 (直径 3 mm の血液濾紙, または血清数 μ l~50 μ l) と europium ラベルの抗体を加え, 静かに攪拌しながらインキュベートする (2~17 時間)。次に, 未反応の抗体複合体などを除いた後, enhancement solution を加え europium キレートを抗体から遊離させ, 強い蛍光を発生させる。測定は, TRF-immunoassay 用の特殊な測定器を使用し (Ex=340nm, Em=613nm), 測定時間は 1 検体あたり 1 秒である。

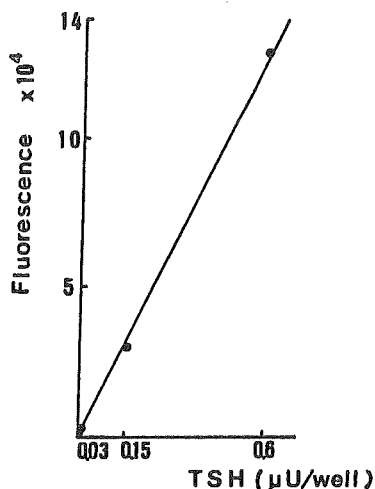
結果と考察

図には, TRF-immunoassay を用いて得た血清 TSH の検量線を示した。本法を用いると血清 TSH 0.01 μ U/tube からの測定が可能であり, 現在使用の RIA 法の 10 倍以上の感度である。また, 使用範囲も広く 0.01~32.4 μ U/tube で

直線性のある検量線が得られる。さらに, 0.04 μ U/tube の検体の同時再現性は CV=6.6% (n=12) と良好な結果であった。

直径 3 mm の血液濾紙ディスク 1 枚を用いる場合, 現在の RIA では 0.03 μ U/disc, EIA では 0.015 μ U/disc であるが, 本法では 0.003 μ U/disc からの測定が可能である。標準血液濾紙を用いて得た検量線は 0.003~0.48 μ U/disc の間で直線性があり, TSH 濃度が 0.02, 0.04, 0.09, 0.15 μ U/disc の検体の同時再現性は CV=5.9~16.0% (各々 n=12), アッセイ間変動は CV=9.6~16.7% (各々 n=5) であった。加えて, 本法と RIA および EIA 法との相関をみると, 前者とでは $\gamma=0.989$ (n=50) 後者とでは $\gamma=0.945$ (n=45) という良好な結果を得た。ただ, 血液濾紙を用いた場合には再現性に多少ばらつきがみられ, 抽出率などの問題の検討が必要であろう。

また, 本法は一種の蛍光抗体法なので EIA 法のような酵素反応のステップはなく, 操作も簡単で所要時間も短時間である。以上の様に TRF-immunoassay は, 再現性に多少問題はあるものの高感度, 測定範囲の広さ, 特異性の高さ, 操作の簡便さから有効な TSH 測定法と言えよう。現在, 我々は引き続き多数検体の測定を行ない, スクリーニングへの応用についての検討を行なっている。



逆相イオンペアクロマトグラフィーを利用するアミノ酸分析

小牧真理, 林時司, 成瀬浩

目 的

アミノ酸分析は医学, 生化学領域をはじめとし様々な分野で欠かすことのできない分析法となってきた。我々は, 従来のアミノ酸アナライザーとは全く分離機構を異にするアミノ酸分析法について検討を加え, 自動アミノ酸分析計を試作し報告した。この方法はランニングコストが安く, 簡便で分析精度が高いだけでなく, トラブルの少ない方法であることが確認され, 臨床医学には極めて有用性の高い方法であることが確かめられてきている。しかし, アスパラギン酸とセリン, ならびにスレオニンとグリシンの分離が不十分であった。そこで, 我々は本法の応用範囲をさらに拡大する目的で, これらのアミノ酸の分離を改善するための基礎的検討を行うとともに, オルトフタルアルデヒド試液と反応させる前に, 次亜塩素酸処理を行う系を組み込み, イミノ酸も分析できるようにした。

結果と考察

分離が不十分であった4種類のアミノ酸の内, セリンとスレオニンがアルコール性の水酸基を有することに着目し, 移動相へのアルコールの添加によって分離の改善が達成できるのではないかと考えた。メタノール, エタノール, ブタノールおよびヘキサノールの4種のアルコールについて検討を加えたところ, 予想通り4種類のアミノ酸の保持時間に対する影響が異なることが観察された。中でも, ブタノールを使用した場合に最も良好な結果が得られ, これまで用いていた第1移動相(モノクロール酢酸でpH3.0に調節した0.05m ラウリル硫酸ナトリウム水溶液)に2%のブタノールを添加するのみで良好な分離を達成できることがわかった。

イミノ酸の検出は, オルトフタルアルデヒド試液によるラベル化の前に0.2%のアンチホルミンを含む0.1Mのホウ酸緩衝液(pH9.5)で処理する系を組み込むことにより可能になることを確認した。この系では, イミノ酸の感度が低いため, 二村が報告しているN-アセチルシステインをメルカプトエタノールの代わりに用いる方法について検討したところ, 10倍程度の感度の上昇が認められた。

以上の検討により, 分離および検出の両面における問題点が克服されたため, 本法の応用範囲は大幅に拡大するものと考えられる。図2にはBSAを加水分解した試料について得られたクロマトグラムを示した。

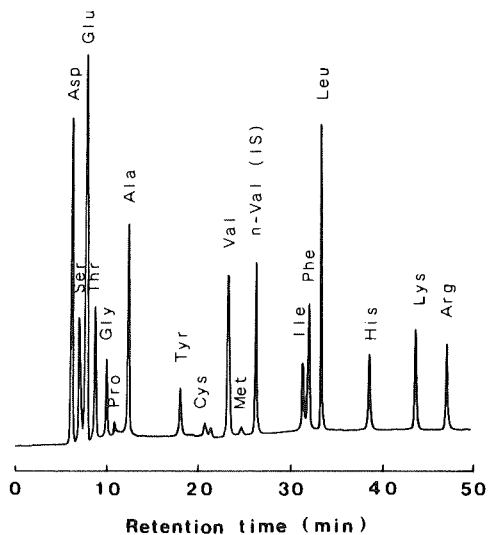
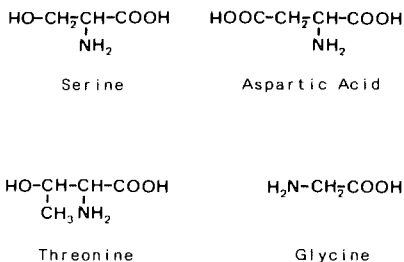


図 BSA の加水分解アミノ酸の分析例



負イオン化学イオン化質量分析法を用いたキヌレニンの高感度定量法

俣賀宣子, 林時司, 成瀬浩

目 的

従来, 生体内においてトリプトファン(Trp)代謝はうつ病・自閉症を始めとする種々の精神疾患に関与していると考えられ, なかでも中枢神経系のセロトニン代謝異常を示唆する数多くの報告がある。我々も前年度までにセロトニンおよびトリプタミン経路において, Trpの安定同位体投与後の血中および尿中のこれらのレベル・代謝回転についての研究を報告してきた。今回はこの研究の一環としてピロレースにより代謝される経路よりキヌレニン(Kyn)をとりあげ, 負イオン化学イオン化質量分析法(GC/MS)を用いた高感度定量法を確立した。

方 法

(1) Kyn-d₄の合成

L-Trpを重水とTFAAの混合液に溶解後, 50°C, 36時間の反応を3回くり返しTrp-d₅を合成した。このTrp-d₅を氷酢酸と過酸化水素の混合液に溶解し, 一晚放置することによりKyn-d₄を合成した。

(2) 前処理

血しょう500 μ lに内部標準物質(Kyn-d₄)を含む80%EtOH1.5mlを加え, 10,000rpm15分間遠心分離した。上清を蒸発乾固後, 25mM pyridine-formate buffer pH2.5 2mlに再溶解し, AG50W \times 2 (id.0.8 \times 4 cm)に吸着させ, 洗浄後, 50mM Pyridine 10mlで溶出した。溶出液は蒸発乾固後80%EtOH200 μ lに再溶解し, PFPA, ジアゾメタンにより誘導体化を行い, GC/MS サンプルとした。

(3) Trp-d₂投与実験

先にアニリンより合成したN-アセチルトリプトファン-d₂を用い, LアシラーゼでDL分割し, L-Trp-d₂を合成した。合成したTrp-d₂(5mg/kg)を正常男性1名に経口投与し, 経時的に採血し, 前処理後GC/MSにより測定した。

結 果

- Trp-d₅より合成したKyn-d₄の内因性のd₀とトレーサー由来のd₂に対応するm/zでのピークは無視できる程度であることを確認した。Kyn-d₄の同位体純度は80.4%であった。
- カラム前処理においては, 溶出帯は多少広範囲ではあるが, 回収率は94.1 \pm 4.95%(n=

8)と高値であることをHPLCを用いて測定した。又この前処理・誘導体化の全工程において, D-H交換反応・同位体効果のない事を確認し, さらに安定性・感度チェックなどを慎重に行った結果, [M]⁻に対応するピークを利用すると正イオンモードの場合と比べ40倍程度高感度に分析することができた。

- Trp-d₂投与後の, トレーサー由来Kyn-d₂と内因性のd₀の比をFigに示した。投与後約50分でピークとなり4時間後にも血中にはトレーサー由来のKynが存在することがわかった。これらに比べ, Trpは30~40分後にピークとなり4時間後にはトレーサー由来のものはほとんど消失する。これはTrpからKynに代謝される速度を反映している結果と思われる。なお, 内因性のKynレベルは, 従来の報告とほぼ同様であった。

考 察

脳内のKynの60%は血中由来であると報告されている。Kynをラット腹腔内に投与すると脳内セロトニン代謝が低下したという報告又変化がなかったという報告など, 結果は一致していない。しかし, 脳内へのトリプトファンの利用率に関しては, アミノ酸との競合と並び, 肝におけるピロレース活性が左右するという報告は数多い。そこで我々は血中もしくは脳内Kynが, 直接的あるいは間接的に脳内のセロトニン代謝に関与し精神疾患を惹起している可能性もあるのではないかと考えている。

今後, 今回確立した高感度定量法を用い, うつ病あるいは小児自閉症において, 血中のトリプトファンとりこみ阻害さらに尿中のセロトニン排泄速度に低下をきたす症例について, セロトニンおよびトリプタミン代謝との相互関係を調べていきたい。

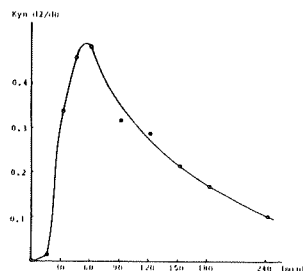


Figure 1. Relative peak ratio of Kyn-d₂ to Kyn-d₀ in plasma in normal control after oral administration of Trp-d₂ (5mg/kg).

安定同位体トレーサー法によるチラミンフェニルエチルアミンの生体内代謝の研究

小高弘子, 林時司, 成瀬浩

我々はこれまでに安定同位体標識フェニールアラニンを用いたトレーサーとしてうつ病者における生体内代謝動態を追跡し、チロシンからp-チラミンに至る代謝回転がうつ病者で低下しているものがあることを見出し、報告している。フェニールアラニンの代謝産物であるチラミン (TyA) やフェニルエチルアミン (PEA) は脳内に微量存在し神経調節物質としての役割が推測されており、これまでもに分裂病やうつ病で尿中レベルの異常を指摘する報告があった。これらのアミンの尿中レベルの異常が、中枢における代謝動態を反映しているものかどうかは興味のあるところであり、今回、尿中に排泄される TyA 及び PEA の由来を検討する為に、安定同位体トレーサー法を用いて若干の動物実験を行なった。

方法

ウイスター系ラット5匹に Phe- d_5 25mg/kg を腹腔内投与後、経時的に採尿し、TyA は PFP 誘導体、PEA は PFBz 誘導体として内因性の d_0 体と Phe- d_5 に由来する d_4 体あるいは d_5 体の比を GC/NICIMS により測定した。さらに、尿中に排泄される TyA- d_4 あるいは PEA- d_5 の由来を検討する目的で、Phe- d_5 100mg/kg を腹腔内投与したラットを60分後に断頭し、トレーサー由来の TyA および PEA の臓器内分布を調べた。

結果と考察

図1にラットにおける Phe- d_5 投与後の尿中への TyA- d_4 および PEA- d_5 の排泄パターンを示した。いずれも60分~120分にかけて dn/d_0 比が最大となり、これはヒトの尿中排泄パターンと同様であった。

図2は Phe- d_5 投与後60分における各臓器内の TyA 及び PEA の dn/d_0 比を示している。TyA については脳内に d_4 体は認められなかった。トレーサー由来の TyA が認められたのは、胃、小腸、腎臓で、 d_4/d_0 比はそれぞれ0.10, 0.05, 0.18であった。一方 PEA は脳で d_5/d_0 比0.009と、わずかながら d_5 体が観察された。他に肝臓で0.01, 小腸で0.04, また TyA と同様胃、腎臓では高率に認められ、 d_5/d_0 比はそれぞれ0.45, 0.59であった。

以上の結果より、Phe- d_5 を投与した時ラット尿中に排泄された重水素標識体は主として末梢

由来であることが示された。これは TyA あるいは PEA の、神経調節物質としての役割を否定するものではないが、尿中レベルの変化が必ずしも中枢における代謝の変化を反映するわけではないことを示しており、精神神経疾患におけるこれらのアミンの尿中レベルの変化についての解釈は慎重であらねはならないと思われた。

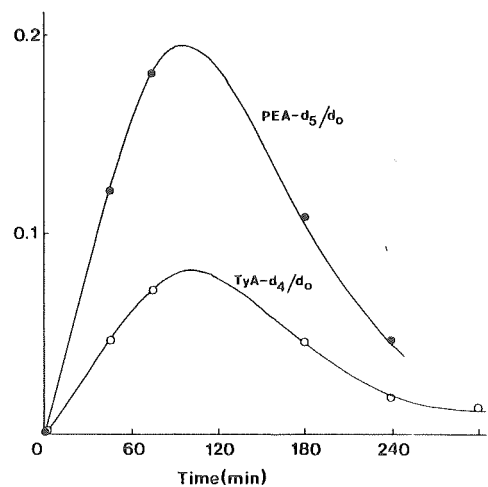


図1 Phe- d_5 (25mg/kg) 投与後のラット尿中 TyA 及び PEA 排泄

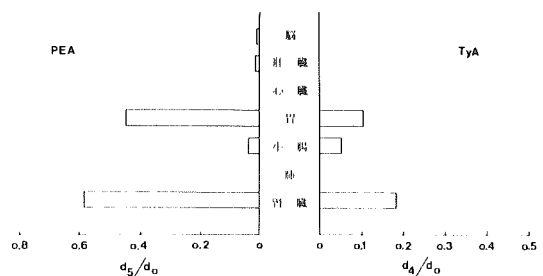


図2 Phe- d_5 (100mg/kg) 投与後60分におけるラット臓器別 TyA 及び PEA の dn/d_0 比

生体内トリプトファン代謝の研究

林時司, 松田文雄, 成瀬浩

目 的

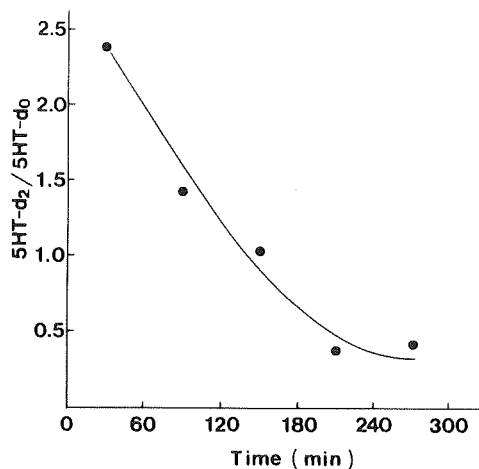
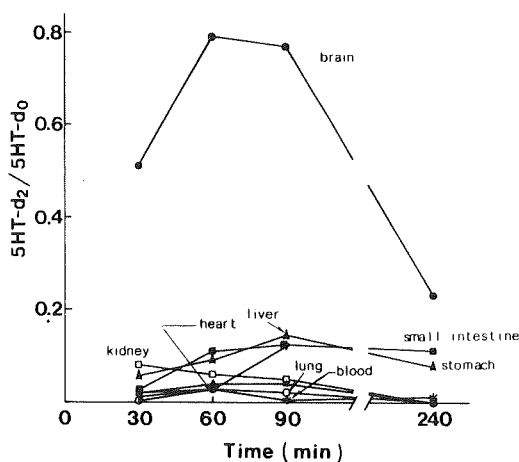
我々は、トリプトファン、セロトニンならびに関連物質の生体内代謝の詳細を明らかにする目的で、負イオン化学イオン化質量分析法を利用する新しい高感度安定同位体トレーサー法を確立し研究を進めている。昨年、L-tryptophan-3,3-d₂ (Trp-d₂) をヒトに経口投与し、セロトニン、トリプタミンを追跡した結果、腎から尿への排せつに関与している血液画分におけるセロトニン、トリプタミンのレベルは極めて低く、尿中に排せつされたトレーサー由来のこれらのアミンを追跡することによりセロトニン、トリプタミンを活発に生合成し、血中に放出している臓器でのセロトニンあるいはトリプタミンの代謝回転の比較検討ができる可能性のあることを示唆する極めて興味深い事実を見出した。そこで、今年度は昨年の結果を追試するとともに、尿中に排せつされたトレーサー由来のセロトニン、トリプタミンの代謝部位を検討する目的で若干の動物実験を実施した。

結果と考察

最初に他のボランティアを対象とし追試を行なった。結果は、トレーサーの吸収効率にもとづくと考えられる若干のレベル的差は認められたものの、前回と同様であった。

そこで次に、尿中に排せつされたトレーサー由来のセロトニンおよびトリプタミンの代謝部位を検討する目的でラットを用いた実験を実施した。最初に、ウィスター系のラットの腹腔内に Trp-d₂ 50mg/kg を生理食塩水溶液として投与し、経時的に尿中に排せつされるセロトニン、トリプタミンの追跡を行なった。図1にセロトニンの結果を示したが、投与後30-60分にトレーサー由来のもの最大排せつが観察され、以後徐々に減少していった。図2には、同様の条件で Trp-d₂ をラットに投与し経時的に断頭により殺し、得られた臓器ならびに全血試料中のセロトニンを分析した際の結果を示した。内因性のものに対するトレーサー由来のもの量比は脳で急速に上昇し、1時間前後で最大に達した後、徐々に減少していった。この様な著大な変化は他の臓器では観察されなかった。以上の結果から、脳にはトリプトファンからセロトニンへの代謝回転の速い部位が存在し、尿中に排せつされたトレーサー由来のセロトニンは、

主として、その部位での代謝回転を反映している可能性が大きいと考えられる。一方、尿中に見出されたトレーサー由来のトリプタミンは、同様な実験から、肝臓をはじめとする末梢臓器での代謝回転を反映していると考えられる結果が得られた。

図1 Trp-d₂ 投与後の尿中セロトニンの追跡図2 Trp-d₂ 投与後の臓器中セロトニンの追跡

小児自閉症における生体内セロトニン代謝

松田文雄, 林時司, 成瀬浩, 武貞昌志*

目 的

自閉症は何らかの中樞神経系の機能障害を基盤とした発達障害である可能性が高いと考えられるようになってきており, その本態を明らかにするため多数の生化学的研究が行われてきている。中でもセロトニンの生体内代謝との関連を指摘する報告が多いが, 明確な結論には至っていない。我々はセロトニンの生体内代謝の詳細を把握できる方法として高感度な安定同位体トレーサー法を確立し, 本トレーサー法により, 尿中に排せつされるトレーサー (Trp-d₂) 由来のセロトニンはその大部分が中枢で, トリプタミンは末梢で代謝されたものである可能性の高いことを見出した。そこで少数ではあるが自閉症児におけるこれらのインドールアミンの生体内代謝について検討を加えた。

結果と考察

図1には Trp-d₂ 10mg/kg を経口投与後尿中へ排せつされたトリプタミンを, 図2にはセロトニンを追跡した結果を示した。正常対象群では, トリプタミン, セロトニンともに年齢とともにトレーサー由来のものは最大排せつ量の認められる時間が遅延する傾向が観察される。この現象は経口投与した Trp-d₂ の血中への取り込みでは説明できないものであり, 加齢とともにトリプタミン, セロトニンの代謝回転の低下の可能性を示唆する結果であると考えられる。しかし, 排せつ量の差異は Trp-d₂ の血中への取り込みの効率の個人差を考慮すると年齢との間に特別な相関があるとは考えられなかった。したがって, 自閉症児での結果を議論する場合には年齢的に対応する対象群との比較をすることが重要となり, 自閉症児で得られた結果は10才の正常者での結果と比較するのが妥当であろう。この様な観点で自閉症児の結果を眺めると, トリプタミンの代謝速度は正常者との間に差異は認められないが, セロトニンのそれは明らかに低下しているように思われる。特に5才と12才の自閉症児の結果では, 明瞭なセロトニン代謝の遅延のあることがわかる。この二例は典型的な自閉症状を呈した症例で, 他の二例が中軽度の自閉症例であることを考えると極めて興味深い結果であると言える。また, 尿中への排

せつ量の差異は, 正常対象群での場合と同様 Trp-d₂ の血中への取り込みの効率の差で説明できるものであった。いずれにせよ, 今回の検討では症例数も少なく, 自閉症とセロトニン代謝との因果関係についての詳細な議論は, 自閉症の下位分類をも考慮した今後の検討を待たねばならないものと考えている。

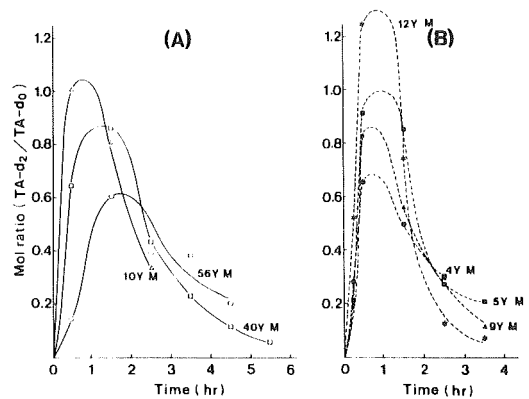


図1 Trp-d₂ 経口投与後の尿中トリプタミンの追跡 (A)コントロール, (B)自閉症

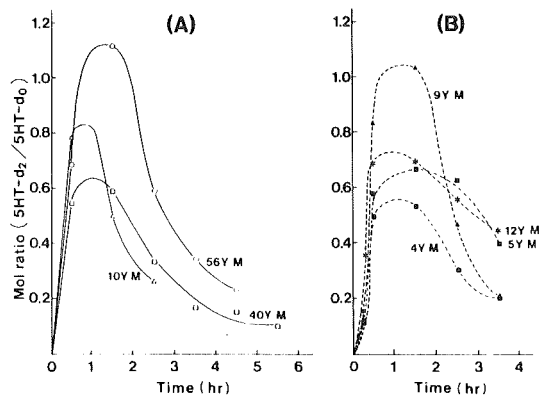


図2 Trp-d₂ 経口投与後の臓器中セロトニンの追跡 (A)コントロール, (B)自閉症

* 大阪小児保健センター

小児自閉症の代謝障害とその治療についての試み

成瀬浩, 林時司, 松田文雄, 武貞昌志*, 中根允文**

小児自閉症の代謝障害

われわれは、先に、重水素標識-フェニールアラニン(Phe-d₅)、トリプトファン(Trp-d₅)を用いて、典型的な小児自閉症3例について分析を行った。そして、3例とも、これらのアミノ酸の取り込みの障害が顕著であり、チロジンの生成も阻害されていることを発見した。その後、幸い、3例の自閉症について、家族の協力により、同様の研究を行うことが出来た。

新しく研究対象となった3名には、Phe-d₅と、Trp-d₂を経口的に与えた。この3名については、Trp-d₂の呼吸・分解には、特に目立つ変化はなかったが、尿中の重水素標識セロトニンの排泄の低下があることがわかった。そこで、この3名でも、脳セロトニン合成の低下が推測された。(別項、松田らの研究業績参照)

Phe-d₅に関しては、1名にはデーターの分析が不可能であったが、2名で軽い取り込みの障害があり、さらに、チロジンの合成低下が見られた。殊に1名の患者では、フェニールアラニンよりチロジンの合成が極端に障害されていることを見出した。これらの生化学的所見を詳細に検討し、小児自閉症患者の一部では、トリプトファンの脳への供給低下などからセロトニンの合成低下があり、また、チロジンの脳への供給低下などがこのため、カテコールアミン合成の低下があるのではないかと仮説を樹てた。

古くから、PKU患者の一部(かなりの部分)では、典型的な小児自閉症症状を呈することが知られている。PKUでは、フェニールアラニン過剰のために、セロトニン、カテコールアミン合成が抑制されることが知られている。そこで、われわれは、先の仮説を更にすゝめ小児自閉症症状と、脳内セロトニン・カテコールアミン合成低下とが関係があるかもしれないという仮説を持ち、脳セロトニン・カテコールアミンを増加させる方法を臨床的に試みることにした。

小児自閉症の新しい薬物療法

われわれは、まず、これらのアミンの前駆物質である、5HTP・L-DOPAを、ごく少量使用し、臨床症状の改善を目指した。以前から、外国で、これらの前駆物質による治療が行われているが、極めて過剰投与でありこのために、精神症状の悪化が多い。われわれの微量投与では、症状の改善例が多かったが、一部には、やはり

過剰刺激のためと考えられる。症状悪化例が存在した。

5HTP・L-DOPAは、脳全体で、セロトニン、カテコールアミンを増加させるものと思われる。ところが、三輪、渡辺、早石らの研究により、R-テトラヒドロバイオプテリン(R-THBP)をラットに投与し、脳で軽度のセロトニン・カテコールアミンの合成促進が得られるという報告があった。R-THBPは、元来、合成活性が高く、セロトニン、カテコールアミンが多い所で、これらの物質の合成を促進させるものと推測しうる。そこで、小児自閉症の治療のためには、R-THBPの方がより望ましいものと考えられる。

そこで、厚生省新薬開発研究の「酵素障害に基づく代謝治療薬の開発研究班」(班長早石修)の協力により、R-THBPを2名の典型的患者に試用し、著しい症状の改善を見た。しかも、中止により、この改善が消えて行くことにも確かめた。そこで今年度は、20名の患者に、両親の了解の下に、R-THBP(0.5~2mg/kg)を経口的に与え、小児行動小論研究会の、客観的評価法を用い、臨床症状の変化を追求した。

その結果を第1表に示したが、3~5才の年少自閉症児では、open studyで著しい改善効果が見られた。これは、今迄の各種薬剤研究の中では全く見られない好成績であった。そこで、60年度末より、3~5才の典型的患者については、R-THBPとinactive placeboの二重盲験法試験が行われつつある。この薬剤は、副作用が極めて少ないので、もし、有効であれば、広く試用しうるものと考えられる。そしてこの試用が、小児自閉症の本態研究にも、種々の重要な資料を提供するものと希望している。

表 R-THBPの臨床効果

年齢	患者数	有用性				
		+++	++	+	0	-
10才1月以上	5	0	2	2	1	0
5才1月~10才	5	1	1	2	1	0
5才以下	7	5	2	0	0	0
合計	17	6	5	4	2	0

* 大阪市小児保健センター

** 長崎大精神科

+++ : 極めて有用、 ++ : 有用、 + : やや有用、
0 : 不変、 - : 悪化、

9. 微細構造研究部

1. 研究部一年の歩み

本研究部では従来通り、各種神経筋疾患の病態生理、組織培養を中心とした細胞生化学、6AN など化学物質を使用した中枢神経系の実験病理学を3本の柱とした研究が進められている。

本年度の人事移動として相川研究員が3年間の留学（Albert Einstein 大学神経病理）を終えて61年2月に帰国し、新風を吹きこんでくれたこと、60年9月末に田辺、寺澤両流動研究員が予定の研究を終え、それぞれ千葉大と久留米大学小児科に帰局したこと、後任として禹満（関西医科大小児科）、鄭思峻（韓国慶熙大学小児科）が流動研究員として加わったことがあげられる。数多い研究生とともに研究室に活気を絶やすことなく与えてくれている。

(1) 進行性筋ジストロフィーに関する病理学的研究

進行性筋ジストロフィーは筋線維の壊死、消失を主病変としているが、それに続いて活発な再生がある。先天性筋ジストロフィーにおける筋再生について、Duchenne型のそれと比較検討し、再生の欠陥が指摘された（寺澤）

○進行性筋ジストロフィーの再生を理解する上に骨格筋の再生について経時的な研究が必要である。寺澤はラットヒラメ筋に筋壊死を惹起する塩酸プロピバカインを注射し、その後の再生を数量的に検討して、その結果をまとめ発表した。

(2) 神経筋疾患モデル動物に関する研究

常染色体性劣性遺伝をとる筋ジストロフィー（dy）マウスと、X染色体劣性筋ジストロフィー（mdx）マウスを使用し、筋の壊死発現時期、それまでの発育分化の相違を検討している（田辺、禹）。筋線維の壊死はdyマウスに比較し、mdxマウスでは遅くみられた。しかし壊死発現までは、筋線維の発育分化は両者間に、また正常対照と比較しても変らなかった。壊死発現以降、dyマウスではヒト筋ジストロフィーと似て進行性に病変が進むのに、mdxマウスでは再生がよく壊死を代償していた。mdxマウスで臨床症状が悪化しないのはこの代償機能がよく働いているためと思われた。

(3) 胸腺筋様細胞の生物学的研究

胸腺内に存在する筋様細胞を培養し、それがレクチンを産生していることを明らかにした。さら

II 研究業績

にこのレクチンの生化学的、生物学的特性につき研究を進め、これが脾臓リンパ球に対し mitogenicity を示すこと、IL1 と共に作用させると胸腺の PNA (-)細胞が著しく増殖することを見出した。この増殖を通して、これらの細胞は最終的に IL2 依存性に増殖する能力を獲得していた (加茂, 藤沢)。

(4) Thy-1 抗原の局在と経時的変化

細胞表面の抗原の中には細胞内にも存在する例がある。その一つである Thy-1 抗原につき、培養細胞の表面と細胞内の抗原を ELISA 法によって測定する方法を確立して、Thy-1 抗原の表現の経時的変化を追求している。この方法によって胸腺筋様細胞は細胞表面、細胞質内の他に可溶性の Thy-1 も産生していることが分った (菊池)。

(5) 神経筋疾患の臨床病理学的研究

我々の部では以前より神経筋疾患生検筋に組織学的、組織化学的検索を行ない、病理診断を下してきた。全国の多くの施設からの依頼は増加し、検索数は年間300近くに達している。報告に値する珍しい例は、送られてきた施設から続々と症例報告されている。

近年代謝性筋疾患が急増し、生化学的分析を他施設に依頼することが多くなった。しかしミトコンドリア異常の分析には新鮮標本が必要であるので我々の部でも生化学的検索が行なわれるようになった。生化学的な結果と病理学的な変化の関連性がよく追求され、病理発生の解明に前進がみられるのではと期待されている。

研究生は週1～2回神経センターに来て、臨床病理、基礎的実験と成果をあげている。詳しくは以下の業績一覧から推察していただきたい。 (部長 埜中征哉)

2. 研究論文

A. 論文

a. 原著

- 1) Nonaka I, Kikuchi A, Suzuki T, Esaki K :
Hereditary peroneal muscular atrophy in the mouse : An experimental model for congenital contractures (arthrogryposis)
Exp Neurol (in press)
- 2) Kihira S, Nonaka I :
Congenital muscular dystrophy. A histochemical study with morphometric analysis on biopsied muscles
J Neurol Sci 70 : 139-149, 1985
- 3) Uchida T, Nonaka I, Yokochi K, Kodama K :
Arthrogryposis multiplex congenita : Histochemical study of biopsied muscles
Pediat Neurol 1 : 169-173, 1985
- 4) Yokochi K, Suzuki S, Tanaka T, Asada M, Nonaka I :
Skeletal muscle involvement in Escobar syndrome
Brain Dev 7 : 585-589, 1985
- 5) Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
Biochemical aspects of bupivacaine-induced acute muscle degradation
J Cell Sci (in press)
- 6) Sugita H, Nonaka I :
Animal models utilized in the research of muscular diseases in Japan
Lab Anim Sci (in press)
- 7) Ii K, Hizawa K, Nonaka I, Sugita H, Kominami E, Katunuma N :
Abnormal increases of lysosomal cysteine proteinases in rimmed vacuoles in the skeletal muscle
Am J Pathol 122 : 193-198, 1986
- 8) Zeviani M, Nonaka I, Bonilla E, Okino E, Moggio M, Jones S, DiMauro S :
Fatal infantile mitochondrial myopathy and renal dysfunction caused by cytochrome c oxidase deficiency : immunological studies in a new patient

- Ann Neurol 17 : 414-417, 1985
- 9) Yokochi K, Tanaka T, Nonaka I :
Congenital muscular dystrophy with severe infantile scoliosis
Brain Dev 7 : 492-495, 1985
- 10) Kamo I, Tada-Kikuchi A, Furukawa S, Iwasaki Y, Nonaka I, Satoyoshi E, Itoh T :
Effects of thymic myoid cell culture supernatant on cells from lymphatic tissues
Cell Immunol 94 : 587-597, 1985
- 11) 加茂功 :
胸腺液性因子
神経研究の進歩 30 : 74-79, 1986
- 12) Tada-Kikuchi A, Kamo I, Itoh T, Nonaka I :
Astrocyte growth enhanced by culture supernatant of a cloned rat thymic myoid cell
Brain Res 348 : 304-308, 1985
- 13) Aikawa H, Suzuki K :
Enteric gliopathy in niacin deficiency induced by CNS gliotoxin
Brain Res 334 : 354-356, 1985
- 14) Aikawa H, Suzuki K :
Aqueduct stenosis induced by a single injection of antivitamin
Dev Brain Res 22 : 284-287, 1985
- 15) Aikawa H, Suzuki K :
Lesions in the skin, intestine, and central nervous system induced by an antimetabolite of niacin
Am J Pathol 122 : 335-342, 1986
- 16) Aikawa H, Suzuki K :
Ultrastructural evidence of mitotic ependymal cells in 6-aminonicotinamide-treated suckling mice
Acta Neuropathol (in press)
- 17) Tanabe Y, Esaki K, Nomura T :
Skeletal muscle pathology in X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) mouse
Acta Neuropathol 69 : 91-95, 1986

- 18) Terasawa K :
Muscle regeneration and satellite cells in Fukuyama type congenital muscular dystrophy
Muscle Nerve (in press)
- 19) Terasawa K, Nonaka I :
Quantitative analysis of satellite cell distribution in bupivacaine induced muscle regeneration
Anat Rec (in press)
- 20) 馬場雅行, 山口豊, 藤沢武彦, 木村秀樹, 小幡貞男, 嶋尾秀彦, 小宮山純, 平山恵造, 伊藤直樹 :
重症筋無力症の外科治療—術前後 prednisolone 隔日大量投与併用による拡大胸腺摘除術
医学のあゆみ 134 : 119-120, 1985
- 21) Ishii H, Suzuki K, Aikawa H, Nonaka I :
Internodal macrovillus-like Schwann cell fingers in myelinated fibres in mouse spinal roots
J Neurocytol 14 : 261-267, 1985
- b. 著 書
- 1) Sugita H, Ishiura S, Kamakura K, Nakase H, Hagiwara K, Nonaka I :
Ca-activated neutral protease in physiological and pathological conditions
Calcium Regulation in Biological Systems (ed by Katunuma N)
Takeda Sci Found, Osaka, p243-256, 1985
- 2) 杉田秀夫, 埜中征哉 :
神経疾患, 筋ジストロフィー
新薬開発のための動物モデル利用大成 (伊藤隆太, 高橋良, 本田西男編), R&D プランニング, 東京, p 313-322, 1985
- 3) 埜中征哉 :
筋病学の研究・形態学的側面
新生理学大系, 4 巻, 筋肉の生理学 (富田忠雄, 杉晴夫編), 医学書院, 東京, p 369-380, 1986
- c. 総 説
- 1) 埜中征哉 :

II 研究業績

ミトコンドリアミオパチー

脳神経 37:918-919, 1985

2) 埜中征哉:

フロッピーインファント

小児内科 18:295-302, 1986

3) 埜中征哉:

小児のミトコンドリアミオパチー

神経内科 24:117-124, 1986

4) 埜中征哉:

筋生検・筋電図

総合臨床 4:716-720, 1968

5) 平山恵造, 伊藤直樹, 小宮山純:

重症筋無力症のステロイド・胸腺摘除併用療法

—とくにステロイド術前・術後投与を中心に—

神経研究の進歩 30:160-171, 1986

d. 症例報告

1) 東條恵, 桜川宣男, 埜中征哉, 石原昂:

精神発達遅滞, 感音性難聴, 小脳症状を伴った motor sensory neuropathy の10歳女児例

脳発達 17:271-273, 1985

2) 石原俊秀, 宮尾益知, 桃井真理子, 鴨下重彦, 埜中征哉:

重篤な呼吸不全を呈したネマリン・ミオパチーの1幼児例

脳発達 17:565-570, 1985

e. 班会議報告書

1) 埜中征哉, 菊池愛子, 萩野谷和裕, 禹満, 寺澤健二郎, 織茂智之:

Cytochrome c oxidase 欠損症の病理学的検討

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と病因に関する研究班, 昭和60年度研究報告書, p227-232, 1986

2) 木南英紀, 勝沼信彦, 伊井邦雄, 檜沢一夫, 杉田秀夫, 埜中征哉, 塚越廣, 川井充:

Rimmed vacuole を伴う筋疾患におけるリソゾームカテプシン群の局在と意義

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と病因に関する研究班, 昭和60年度研

究報告書, P 193-196, 1986

- 3) 杉田秀夫, 田辺雄三, 埜中征哉, 江崎孝三郎, 野村達次 :

筋ジストロフィー症モデル動物の開発・mdx マウス骨格筋の病理学的研究

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究, 昭和59年度研究報告書, P 13-32, 1985

- 4) 埜中征哉, 田辺雄三 :

Mdx マウスに対するロイペプチン, ベスタチンの投与成績

厚生省新薬開発・微生物の二次代謝産物に由来する難病治療薬(ロイペプチン)の開発研究班 昭和59年度研究報告書, P 71-75, 1985

- 5) 平山恵造, 小宮山純, 古川昭栄, 加茂功, 伊藤直樹 :

非アセチルコリンレセプター抗原に対する重症筋無力症患者血清中の抗体:臨床症状及び抗アセチルコリンレセプター抗体価との相関

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和59年度研究報告書, P 217-223, 1985

- 6) 加茂功, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 藤沢加津美, 菊池愛子, 埜中征哉 :

ラット胸腺のレクチン

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和59年度研究報告書, P 278-283, 1985

f. その他

- 1) 埜中征哉 :

筋病理組織アトラス9 先天性非進行性ミオパチー(上)

Medical Way 2(4) : 2-5, 1985

- 2) 埜中征哉 :

筋病理組織アトラス10 先天性非進行性ミオパチー(下)

Medical Way 2(5) : 2-5, 1985

- 3) 寺澤健二郎, 埜中征哉 :

筋病理組織アトラス11 代謝性筋疾患, 糖原病(上)

Medical Way 2(6) : 2-5, 1985

- 4) 埜中征哉 :

筋病理組織アトラス12 代謝性筋疾患, 糖原病(下), 脂質代謝異常によるミオパチー

Medical Way 2(8) : 2-5, 1985

- 5) 埜中征哉 :

II 研究業績

- 筋病理組織アトラス13 ミトコンドリアミオパチー(上) 総論
Medical Way 2 (10) : 2-5, 1985
- 6) 埜中征哉 :
筋病理組織アトラス14 ミトコンドリアミオパチー(下) 各論
Medical Way 2 (11) : 2-5, 1985
- 7) 埜中征哉 :
筋病理組織アトラス15 内分泌・代謝性筋疾患, 中毒, 寄生虫
Medical Way 3 (1) : 2-5, 1986
- 8) 埜中征哉 :
筋病理組織アトラス16 炎症性筋疾患
Medical Way 3 (2) : 2-5, 1986
- 9) 埜中征哉 :
進行性筋ジストロフィー
Clinical Neuroscience 3 : 1176-1177, 1985
- 10) 埜中征哉 :
先天性非進行性ミオパチー
Clinical Neuroscience 3 : 1288-1289, 1985
- 11) 埜中征哉 :
代謝性ミオパチー
Clinical Neuroscience 4 : 8-9, 1986
- 12) 埜中征哉 :
神経原性筋萎縮症
Clinical Neuroscience 4 : 128-129, 1986
- 13) 菊池愛子 :
培養筋細胞が産生する神経系細胞増殖分化促進因子作用機序のモノクロナル抗体を用いた解析
昭和58/59年度文部省科学研究助成, 一般研究C研究業績報告書
- 14) 伊藤直樹 :
重症筋無力症の治療について
北大精神医学教室同門会誌 11 : 29-30, 1985

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 伊藤直樹 :

重症筋無力症の治療について

第38回日本神経学会北海道地方会, 札幌, 3. 2, 1986

c. 一般学会

1) 埜中征哉, 菊池愛子 :

遺伝性・外側下腿筋群萎縮 (pma) マウス罹患筋の発育と分化に関する病理学的検討

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

2) 寺澤健二郎, 埜中征哉 :

塩酸ブピバカイン局注による骨格筋の壊死・再生——電子顕微鏡学的観察を中心に

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

3) 藤田武久, 埜中征哉, 白杵扶佐子, 高木昭夫, 杉田秀夫 :

糖原病II型ウズラ骨格筋の再生能

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

4) 小宮山純, 河村満, 平山恵造, 埜中征哉 :

Marinesco-Sjögren 症候群の筋病理組織学的検討

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

5) 禹満, 岡田理美, 田辺雄三, 埜中征哉 :

X染色体性劣性遺伝をとる筋ジストロフィー (mdx) マウス骨格筋の発育と分化

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

6) 田辺雄三, 埜中征哉, 杉田秀夫 :

X染色体性劣性遺伝をとる筋ジストロフィー (mdx) マウス骨格筋の病理学的研究

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

7) 長尾秀夫, 羽原心治, 森本武彦, 高橋貢, 永井宏尚, 貴田嘉一, 松田博, 埜中征哉 :

ヒト神経筋疾患の AMPdeaminase——生化学的および組織化学的所見の対比——

第26回日本神経学会総会, 松江, 5.22-24, 1985

8) 田辺雄三, 埜中征哉 :

先天性筋緊張性ジストロフィー症骨格筋における病理学的研究

第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985

- 9) 小林正紀, 森下秀子, 横地健治, 杉山成司, 和田義郎, 寺内昭子, 埜中征哉 :
Mitochondrial encephalomyopathy・NADH-CoQ reductase 欠損の2症例
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 10) 萩野谷和裕, 埜中征哉 :
先天性ミオパチー (ネマリンミオパチー, セントラルコア病) 生検筋の組織化学的及び電顕的検討
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 11) 斎藤陽子, 埜中征哉 :
先天性筋線維タイプ不均等症骨格筋の組織化学的検討
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 12) 遊座文郎, 田角勝, 奥山和男, 埜中征哉 :
特異な筋病理像をとらない先天性ミオパチーの一例
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 13) 林隆, 中野千鶴子, 水戸敬, 埜中征哉 :
Mounding 現象を認めた筋ジストロフィー症の一例
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 14) 横地健治, 内田智子, 児玉和夫, 佐藤順一, 森松義雄, 埜中征哉 :
進行性筋力低下を主症状とし, motor neuron 以外に, 脳幹, 小脳, 視床の変性を伴った一幼児例
第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.18-20, 1985
- 15) 加茂功 :
胸腺筋様細胞の産生するヘパリン結合型レクチン
第44回日本癌学会総会, 東京, 10.29, 1985
- 16) 加茂功 :
Myoid cells の産生するヘパリン結合性 lymphoid cell growth factor
第15回日本免疫学会, 福岡, 12.7, 1985
- 17) 菊池愛子, 藤沢加津美, 山下和子, 埜中征哉, 林葉子, 吉野亀三郎, 里吉宮二郎 :
各種中枢神経系疾患の髄液中の HSV・s-CRN 抗体について
第33回日本ウイルス学会総会, 東京, 10.7, 1985
- 18) 菊池愛子, 埜中征哉 :

非リンパ系細胞における Thy-1 抗原発現

第58回日本生化学大会, 仙台, 9.27, 1985

- 19) 禹満, 杉本健郎, 渡辺一男, 小林陽之助 :

筋生検にて特異な所見を呈した先天性多発性関節拘縮症の2例

第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.20, 1985

- 20) 石井弘子, 埜中征哉 :

マウス脊髄根における Internodal Schwann Cell Fingers

日本電子顕微鏡学会, 札幌, 6.26, 1985

- 21) 須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高 :

ステロイドにより悪化したと思われる慢性再発性多発神経炎 (CRDP) の1例——ステロイド著効例との比較検討

第27回日本小児神経学会総会, 東京, 7.20, 1985

- 22) 須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高, 鈴木康之 :

Menkes' kinky hair 病の非定型例

第28回日本先天代謝異常学会, 熊本, 11.13, 1985

D. 班会議発表

- 1) 埜中征哉, 菊池愛子, 萩野谷和裕, 禹満, 寺澤健二郎, 織茂智之 :

Cytochrome c oxidase 欠損症の病理学的検討

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症の臨床, 病態と成因に関する研究班, 昭和60年度班会議, 東京, 12.7-8, 1985

- 2) 加茂功 :

myoid cell から抽出されたヘパリン結合性因子の作用

厚生省がん研究・胸腺腫の生物学的特性に関する研究班, 名古屋, 10.25, 1985

- 3) 加茂功, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 藤沢加津美, 菊池愛子, 埜中征哉 :

ラット胸腺筋様細胞由来ヘパリン結合因子の作用

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1.18, 1986

- 4) 小宮山純, 平山恵造, 新井洋, 加茂功, 古川昭栄 :

重症筋無力症: ステロイド治療に伴う初期増悪の臨床免疫学検討

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1.18, 1986

5) 禹満, 埜中征哉, 横山峯介, 江崎孝三郎 :

筋ジストロフィー筋の発育分化と壊死発現に関する組織学的, 組織化学的研究

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究班, 昭和60年度班会
議, 東京, 12.5, 1985

E. 研究会など

1) 須貝研司 :

慢性再発性多発神経炎

第2回小児神経筋疾患懇話会, 東京, 8.3, 1985

2) 須貝研司 :

先天性眼瞼下垂, 眼球陥凹, 先天性眼振, 筋緊張低下, open mouth, 精神運動発達遅滞を呈
した1歳女児例

第7回多摩小児神経集談会, 東京, 4.20, 1985

3) 須貝研司 :

好酸性肉芽腫の既往があり, 急性の完全型脊髄横断症状を呈し, 当初, 脊髄CT・ミエログラ
フィーで異常がなかった13歳女児例

第11回米子セミナー, 米子, 4.28, 1985

4) 須貝研司, 佐藤順一, 森松義雄 :

著明な成長障害, 重度精神発達遅滞, rigospastic quadriplegia, アテトーゼ・ジストニア,
感音性難聴, 前庭機能障害, 肝機能異常を示す兄弟例とその一部検例

第8回多摩小児神経集談会, 東京, 10.12, 1985

5) 須貝研司, 桜川宣男, 館野昭彦, 上嶋准嗣, 佐藤順一, 森松義雄 :

視床, 淡蒼球, Luys 体, 小脳, 前庭神経核などの神経細胞脱落・グリオースと, 橋核, 薄
束核, 蝸牛神経核などのスフェロイド・空胞化を示し, 肝脂肪変性を伴う乳児期発症の同胞
例

第22回臨床神経病理研究会, 東京, 11.30, 1985

6) 須貝研司, 堂園彰子, 松尾多希子, 桜川宣男, 有馬正高 :

脳波モニター下ビタミン B₆ 静注による点頭てんかんに対するビタミン B₆ の効果の予測

第13回関東小児てんかん研究会, 東京, 2.22, 1986

3. 主な研究報告

ミトコンドリアミオパチーの病理学的, 生化学的研究

埜中征哉, 桶田利加

近年ミトコンドリアの代謝異常によるミオパチーの症例が増加している。これは血中乳酸の測定が容易となり、高乳酸血症を伴うものは筋生検の適応となったからであろう。高乳酸血症を伴う患者の多くは筋線維内にミトコンドリアの形態異常 (ragged-red fiber) を認め、生化学的にも各種酵素欠損が確認されている。その中で最も症例数の多いのは cytochrome c oxidase (CCO) 欠損症である。CCO 欠損は臨床、病理像からいくつかの亜型に分類されている。我々はこの CCO 欠損症を中心として研究を進めている。

対象・方法

CCO 欠損症の①重症型 2名, ②良性型 2名, ③脳筋型 9名, ④部分欠損 8名を対象とした。大多数の例でミトコンドリアは Makinen らの方法により分離し, CCO 活性は Cooperstein らの方法に従った。

CCO 活性の低いものに各種組織化学的, 電子顕微鏡的検索を行なった。

結 果

①乳児重症型: 1例には多くの 'ragged-red' 線維を認め, 筋線維は細く, 筋の発育分化の遅れが推定された。他の1例は形態学的にはミトコンドリアの異常はなかった。

②乳児良性型: 2例とも多くの ragged-red fiber を認め, 脂肪滴, グリコーゲンの増加があって, mitochondria-lipid-glycogen (MLG) myopathy に似ていた。

③脳筋型: 自験例7例の臨床像は進行性の知能低下, 運動障害で, 1例を除き全例に高乳酸血症を認めた。多くの例で臨床診断は Leigh 脳症であった。7例中4例に ragged-red fiber を認めたが, 3例には形態学的にミトコンドリア異常はみられなかった (図1)。

④部分欠損: 臨床的には外眼筋麻痺を呈するものが多くみられた。全例に ragged-red fiber を認め, 散在性に酵素欠損した線維を認めたが, 生化学的に CCO 活性が低下しているのは1例のみであった。

考 察

CCO 欠損の臨床像は幅広いが, 病理所見も同様である。重症度と CCO 活性の間には多少の

相関はあるが, 例外も多い。ミトコンドリア異常の特徴とされている ragged-red fiber も臨床的重症度, 酵素活生値と関係なくみられている。形態学的に ragged-red fiber があればミトコンドリアミオパチーを疑う根拠となるが, なくとも否定の材料にはならない。

MUSCLE PATHOLOGY IN ENCEPHALOMYOPATHIC FORM OF CCO DEFICIENCY

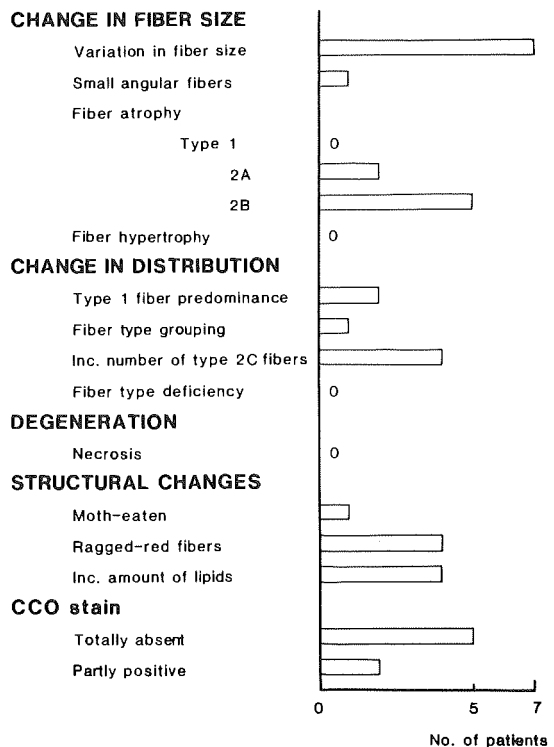


図 1

胸腺筋様細胞由来ヘパリン結合性リンパ球増殖因子の脾細胞に対する作用

加茂功

胸腺はT細胞の分化に不可欠な器官と考えられており、T細胞の分化増殖には胸腺内に存在する非リンパ系細胞が深く関わっていることが知られている。非リンパ系細胞のうち上皮性細胞や、マクロファージ等は細胞のクローン化等がすすみ、それらの産生する因子とT細胞の分化増殖との関連が明らかにされるようになった。しかしながら胸腺には、これらの細胞のほかに横紋筋様細胞が存在しているが、この細胞がTの分化増殖にどのように介入しているのか全く不明であった。そこで、ラット胸腺より横紋筋様細胞をクローン化し、培養上清における生物活性を調べたところ、この細胞がヘパリンに結合するMW, 10000, 13000, 13700, 14600の4つのペプチドからなる因子を多量に産生していることがわかった。これまでのところ、この因子はPNA(-)胸腺リンパ球や、胸腺を有するマウス、ラットの脾細胞に対してのみ強く作用を有し、ヌードマウスの脾細胞には作用しないところから、特定のTサブセットに対して作用するものと考えられるので、本研究では反応性の高い脾細胞を使い、種々の処理をほどこすことによって標的細胞を同定することを試みた。

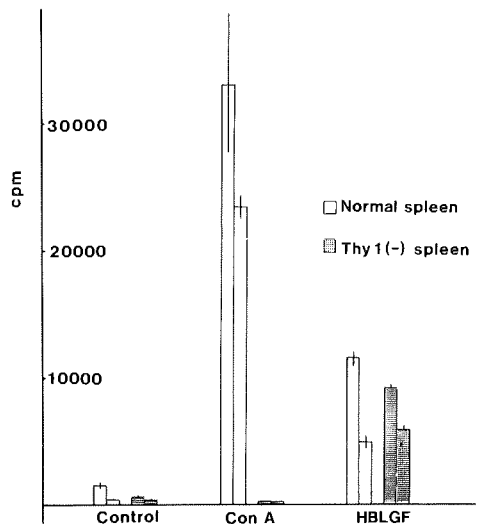
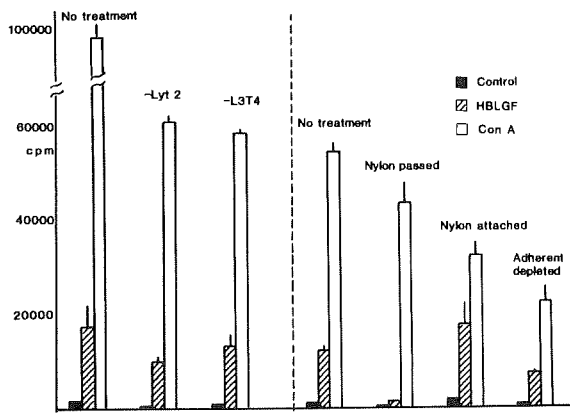
材料と方法

動物：3～4週令BALB/cメスマウスの脾細胞を使用。抗血清による脾細胞の処理：Thy1.2(+)細胞, Lyt2.2(+)細胞, L₃T₄(+)細胞の除去, 約2×10⁷/mlの脾細胞をそれぞれの抗原に対するモノクローナル抗体で1時間、4℃で処理し、次いで37℃1時間ウサギ補体と共に加

湿することによって陽性細胞を除去した。プラスチック附着性細胞の除去：6cm径のプラスチックシャーレに脾細胞をまき、37℃40分培養し、静かに非附着性細胞を新しいシャーレに移した。さらに同様の操作を2度くり返して、マクロファージを主体とする附着性細胞を除いた。ナイロンウールカラムへ親和細胞の分離：脾細胞をナイロンカラムに充てんし、37℃1時間培養した後、附着性細胞と非附着性細胞に分離した。リンパ球増殖能の判定：各種の処理をほどこした脾細胞を2×10⁵/0.2ml/wellの条件で、ヘパリン結合性因子10ng/ml, またはConA2.5μg/mlを加え48時間培養し、最後の8時間、³H-サイミジンを加えて、DNAへの取り込みを測定した。

結果と考察

図1に示すごとく、ConAに対する反応が全くみられないほどThy1(+)細胞を除去してもヘパリン結合性因子(HBLGF)に対する反応は殆ど影響をうけなかった。また、Lyt2(+)細胞や、L₃T₄(+)細胞, プラスチック附着性細胞を除いてもHBLGFに対する反応性に大きな差は認められなかった。反応性細胞はナイロンウール附着性を示した(図2)。Thy1(+)細胞を除去後HBLGFを加えて6-7日間脾細胞を培養すると90%前後の細胞はThy1(+), Lyt2(+), L₃T₄(+)のみであった。このことはHBLGFはThy1(+)のTブレカーサーに作用している可能性が大である。



非リンパ系細胞の Thy-1 抗原について

菊池愛子, 藤沢加津美, 加茂功, 埜中征哉

Thy-1 抗原は、神経系と免疫系に共通な抗原として知られ、また量的には少ないが骨格筋、上皮、線維芽細胞などに広く分布する。Thy-1.1 と Thy-1.2 のアロタイプが知られ IgG や HLA など共に immunoglobulin supergene family の一つに数えられる細胞表面抗原である。また長いこと不明だった、その細胞膜との結合部位、Thy-1 分子の hydrophobic な部位のアミノ酸配列が、分子生物学的研究によって最近明らかにされ始めている。生物学的役割については細胞分化、細胞相互の communication に係わりと想定されており、例えば筋細胞相互或は筋細胞と結合織との接着や融合に関係し、またヒト骨格筋の場合は、未熟で単細胞な筋芽細胞時には Thy-1 抗原陽性だが、細胞周期が一回転した後の単細胞と細胞融合し形成された筋管とは、Thy-1 抗原陰性となることが報告され、筋ジストロフィー症研究等でも注目されている。しかしながら、これまでの研究は雑多な細胞種を含む組織の破碎抽出物を対象とした生化学的研究または蛍光抗体法等による定性的研究であり未だ正確な生物学的機能は不明である。細胞相互関係の理解する資料を得たい場合、リンパ系細胞は培養系でも単細胞での浮遊培養が可能で、サイトフルオロメトリーが有用な資料を提供するが、筋細胞や神経系細胞を対象とした場合は別な方法による Thy-1 抗原の研究が必要である。なぜならそれらの細胞は、培養基への接着を必要とし、分化に伴い形態変換し、また細胞相互の連絡の形成が形態機能共に細胞分化や機能に重要な係わりをもつからである。私達は、培養非リンパ系細胞 Thy-1 抗原を直接測定する方法を確立して以下の研究を行なった。

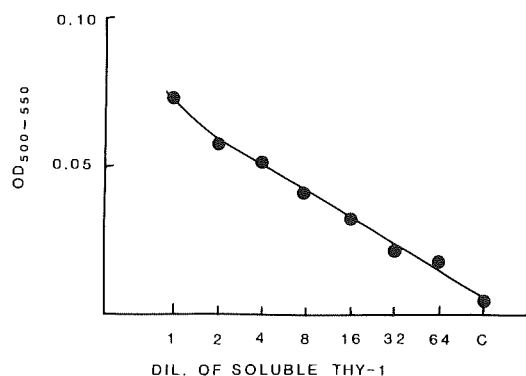
方法は、96ないし24穴 microplate に Thy-1 抗原を有する胸腺筋様細胞 R615B2 細胞を培養し、これに直接 Thy-1 モノクロナル抗体を加え、Hsu らの開発した ABC 法を応用して、定量化の検討を試みた。ところで Thy-1 抗原は細胞内にも存在するといわれるが、その検出には細胞を固定する必要があるため、各種固定液の Thy-1 抗原検出に対する影響を定性的、定量的検討を加え、抗原検出感度、background 値、再現性、光顕レベルの細胞形態の保持に良好な固定液、後固定液を選択した。次ぎにまず細胞数を一定にして抗 Thy-1 抗体を希釈して加え、

抗原抗体反応の最適領域を求めた。さらに各細胞濃度における Thy-1 抗原検出値を比較検討して、抗原検出の直線性を示し相互比較の検討に耐えられる細胞濃度幅を求めた。

その結果、本細胞が Thy-1 抗原陽性と性格づけられたのは原法では蛍光抗体法によるが、今回本法で Thy-1 抗原の経時的变化を追ってみたところ、細胞を消化し分散後、16から48時間では細胞表面には Thy-1 抗原は検出されず、本法によって初めて、培養初期の Thy-1 抗原が検出され経時的に増量していることが分かった。また細胞表面だけでなく、固定化細胞の Thy-1 抗原即ち細胞内 Thy-1 抗原が見いだされた。そして予想外なことに、細胞を取除いたあとの培養基壁面に付着した Thy-1 抗原を見いだした。そこで、培養上清を10万 G、1時間遠心し、各希釈濃度の遠心上清中の Thy-1 抗原を測定したところ dose dependency が示され、soluble な Thy-1 の存在が確認された (図)。

こうした各種 Thy-1 抗原の意義については、例えば細胞内 Thy-1 抗原は、中間フィラメントとの抗原交差も指摘されており今回はまだ確定的なことは言えないが、別に今回見いだされた soluble な Thy-1 抗原の存在と共に、冒頭でのべた細胞分化、相互関係において何等かの生物学的役割を持つと考える。今後は本抗原の発現に関係深いとされる FTS 抗原の関係等を本法で検討するなどして Thy-1 抗原の生物学的意義を解明していきたい。

(本研究は昭和85年度文部省科学研究一般研究 C の援助を受け実施した。)



髄液中の抗単純ヘルペスウイルス (HSV) 抗体

菊池愛子, 藤沢加津美, 埜中征哉

今日抗 HSV 抗体測定法については ELISA が感度よく高い信頼性を得ているが, ELISA にも問題がある。临床上最も問題となるのは, 陰性ないし判定保留の検査結果をえたにも拘らず HSV 脳炎を疑われる例が多々あることである。特に小児科領域では抗 HSV 剤の副作用を軽視出来ないで治療上更に確定的な診断法が望まれている。この問題は ELISA の限界に由来し, 検出値が低値な場合, 特異的抗体価かどうか判別出来ないからである。ところで, 現在でも HSV に関しては一般人の90%が血中抗体を保有してると考えられている。HSV 脳炎も従来は血中抗体存在下で発症する例が多く, それ故血清から移行した抗体を髄液抗体と見誤る偽陽性の判定が問題視されていた。しかし, 現在我が国の30歳代以下では, 私達が通常の中和抗体(N)法より感度が高いCRN (complement-requiring N) 法による調査結果でも血清抗体保有率は30%と著しく低下しており, 髄液中の低値の抗体を従来とは異なった観点の評価が必要であると考ええる。

私達は特異性に優れる中和抗体の一種で, 感度も N 法の約20倍と ELISA に匹敵し, 感染初期の低値の抗体を検出可能である利点を有する, s-CRN (slow-reacting CRN) 測定法による髄液抗体の検討を試みた。

材料と方法

96穴マイクロプレートを用いて1型2型各標準ウイルスと2倍階段希釈した抗体を4℃72時間感作した。37℃30分加湿後, 50倍希釈補体を加え, 再び37℃に30分放置後 Vero 細胞を加え37℃で72時間培養した。

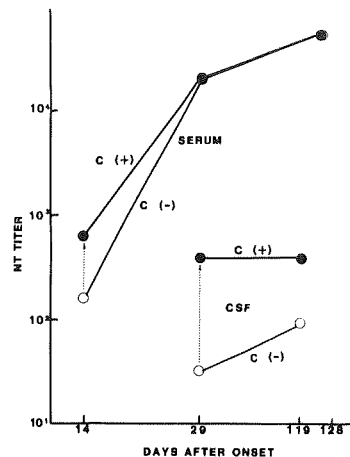
結 果

1. s-CRN 測定法の微量簡便化を目的として, 中和抗体価に影響を及ぼす添加細胞数, 培養日数等について標準免疫血清を用いて検討した。マイクロプレートでのウイルス-抗体感作は非常に安定に進行し, 本法の大幅な迅速簡便化が図れた。各種ウイルスや補体の添加量での中和抗体価は, 互いに高い平行関係を示し, 本法は信頼性と再現性に富む値が得られることが分かった。s-CRN 法は通常の中和抗体法の32倍の感度を示した。2. 次に各種中枢神経系疾患患者32人の血清及び髄液の抗 HSV 抗体を測定した。N 法だけでなく CRN 法でも抗体を検出されず, 本法で初めて髄液中に抗体が検出された例が5例中4例あった。3. 発症直後の髄液に IgM が認められたが HSV-ELISA 抗体は判定

保留とされ, 他の各種ウイルス及び細菌感染も除外された患者の髄液と血清を得て, 病日の経過による抗体価の変動を調べた。初め髄液中に N は検出されず s-CRN と72時間感作後補体を加えず測る "s-CRN" が検出され s-CRN/"s-N" 比が血清で4倍, 髄液で10倍を示し病日の経過と共に比は1と変化し, 血清抗体価は著しく上昇した。ところで HSV は一回の採血でも s-CRN/N 比が4-8倍を示せば初感染例として判定される。本症例の結果から初感染例では s-CRN/"s-N" にも CRN/N と N と同様の関係が成立することが示唆された (図)。

考 察

高感度の ELISA 法の普及により, 疑 (偽) 陽性に係わる問題のほかに, 臨床的に非典型的な HSV 脳炎の報告が見られるようになった。非典型例の患者をどう評価するかは専門の医師の間でも論議があるようである。確定診断を下すには HSV 分離或は抗原検出が最上の解決法である。だが脳生検は実際上困難で, 早期治療の重要性から疑似診断の段階で抗ヘルペス剤が用いられるため髄液からの HSV 検出率は当然低下していると考えられる。従って, 抗体検出による診断の重要性は非常に高い。今回の検討では, s-CRN 法は微量化によって感度, また信頼性と再現性に富む成績が得られる。実際にヒト髄液中の HSV 抗体を高率に検出可能であり, 更に一回の検体採取で初感染か否か判定出来る可能性がある。s-CRN 法は感度に優れ, ELISA より特異性が高い点で, ウイルス抗原検出に次ぐ確定診断に一助になるであろう。今後多くの症例で本検査を行いその実用性を確認したい。



急性ニコチン酸欠乏動物の病理学的研究 —実験的ペラグラについて—

相川久志, 鈴木衣子*

* Dept of Pathology (Neuropathology) Albert Einstein Coll of Med.

はじめに

人間のペラグラは今日比較的稀な疾患ではあるが、慢性アルコール依存症、癌、INH服薬中の結核患者等に散見される。ペラグラは臨床的に「3つのD」、すなわち痴ほう (dementia)、皮膚炎 (dermatitis)、下痢 (diarrhea) を主症状とする。本疾患はニコチン酸欠乏により惹起されることが明らかにされて居るが、それぞれの臨床症状に対応する病理学的詳細は解明されていない。

近年、我々はニコチン酸の代謝拮抗剤である6-aminonicotinamide (6-AN) を新生仔マウスに投与することにより、上記に類似した症状を認め、病理学的検索を行ったので報告する。

方法

ICR系新生仔マウスを2群にわけ、実験群のマウスには6-AN (50mg/kg・BW) を腹腔内注射した。対照群のマウスには生理的食塩水を注射した。形態学的検索のため、投与3, 5, 7, 9, 15日に、両群のマウスに灌流固定を行った。固定後、大脳・脊髄・皮膚・横行及び下行結腸を取り出し、型どおり、脱水包埋し、電顕的に検索した。

結果

1. 臨床症状

6-AN投与マウスは対照群のマウスに比べ体重減少がいちじるしく、投与3日後には下肢の痙性麻痺や失調症状を呈した。投与5日後には下痢をおこすものが多く、死亡するものもあった。投与7日前後には全身の皮膚がscaly skinとなり、発毛は著しく遅れた。投与9日以降には、前年度に報告した水頭症が出現した。下痢及び皮膚症状は一過性で投与15日のマウスには認めなかった。

2. 病理学的所見

(i) 神経系病変：大脳では脳室壁の上皮細胞及びグリア細胞の細胞内浮腫が特徴的な変化であり、これが中脳水道の狭窄を引きおこし非交通性水頭症の原因となっていた。

脊髄でも同様のグリア細胞の浮腫性病変が認められたが、前角細胞は光顕的には異常を認めなかった。しかしながら電顕的に、(1)細胞膜下のclearing, (2)rough ERの減少と断列化, (3)ribosomeの遊離等がみられ、neuronal chromatolysisの像を呈していた。

(ii) 皮膚病変：6-AN投与マウスにおける皮膚の組織学的異常は毛嚢に最初に認められた。投与3日後に毛嚢のmatrix cellがERの拡大

を主とする浮腫性変化を示していた。投与5日後には表皮の角化が著しく、不規則なacanthosisを伴うhyperkeratosisが認められた。

(iii) 腸管病変：腸管粘膜には異常を認めなかった。しかし、Auerbach's myenteric plexusには、従来シュワン細胞と考えられていたグリア細胞が、中枢病変と同様の浮腫性変化をしめしていた。

考察とまとめ

人間のペラグラと6-AN投与マウスとの臨床及び病理像を比較したものが、表1である。本実験よりニコチン酸欠乏による皮膚病変並びに腸管病変が初めて提示された。特に、従来不明であったペラグラの下痢の成因として神経系病変が関与している可能性が示唆された。

文献

1. H. Aikawa, K. Suzuki, et al. (1984) : 6-aminonicotinamide-induced hydrocephalus in suckling mice, *J Neuropathol Exp Neurol* 43, 511-521
2. H. Aikawa & K. Suzuki (1985) : Aqueduct stenosis induced by a single injection of antivitamin, *Dev Brain Res* 22, 284-287
3. H. Aikawa & K. Suzuki (1985) : Enteric gliopathy in niacin-deficiency induced by CNS gliotoxin, *Brain Res* 334, 354-356
4. H. Aikawa & K. Suzuki (1986) : Lesions in the skin, intestine, and central nervous system induced by an antimetabolite of niacin, *Am J Pathol* 122, 335-342

Table 1—Comparison of 6-AN-Treated Mice and Human Pellagra

	6-AN	Pellagra
Clinical findings		
Diarrhea	+	+
Dermatitis	+	+
Neurologic signs	+	+
Hydrocephalus	+	-
CNS lesions		
Edematous changes in glial and ependymal cells	+	-
Neuronal chromatolysis	+	+
Skin lesions		
Hyperkeratosis	+	+
Vacuolation in hair follicles	+	-
Inflammatory changes	-	+
Intestinal lesions		
Vacuolar changes in enteric glia	+	-
Neuronal chromatolysis in the myenteric plexus	-	+
Ulcerative lesions	-	+

筋ジストロフィー筋の發育分化と壊死発現に関する組織学的研究

禹満, 埜中征哉

筋ジストロフィーの動物モデルとしてマウスでは現在, mdx (C57BL/10 ScSn-mdx) と dy マウス (C57BL/6J dy/dy) の2種類が主に研究されている。前者では明らかな筋力低下がみられないが, 後者では生後2週目頃より後肢のひきずり等の臨床症状が現われ次第に強くなる。また dy マウスは従来よりヘテロ (Dy/dy) 同士を交配してホモ (dy/dy) を得るため, 臨床症状発現までの生後早期は識別ができないのでこの時期の検索が困難であった。従って dy マウスの多くの報告は, そのほとんどが生後2週目以降のものに関するものであった。今回我々は体外受精によって得た dy マウスを用いて, その生後早期の筋病理学的変化を検索し, 同時に筋の發育分化に関しても検討を加えた。dy マウスと mdx マウスの臨床症状の違いが, 何に起因するものなのか, 組織学的な観点から考察した。

対象・方法

mdx マウス及び体外受精法によって得た dy マウスとこれらの対照として C57BL/10ScSn マウスを用いた。経時的に採取したヒラメ筋についてその形態, 筋線維の総数・直径, 中心核線維の出現頻度をみて, さらに電顕的に筋衛星細胞の頻度を算出し, 筋線維の分化の状態を判定した。

結果

①形態学的変化: dy マウスでは, 生後5日目にはほとんど変化はないが, 10日目には壊死線維が散見され(図1)以後壊死再生は進行性であった。②筋線維直径・総数, 中心核線維(図2): 三者とも直径は次第に増大し20日目までは有意な差はなかった。dy マウスでは壊死再生の目立つ15日目頃より中心核線維が増加し, また筋線維総数は対照に比して減少した。③組織化学的变化: mdx, dy マウスとも壊死再生が著明になるまでの時期では NADH-TR, ATPase 染色での筋線維のタイプ分布に差はなかった。④電顕的検索(図2右下): 筋衛星細胞は三者とも5日目には22-24%出現し, 10日目以後は20%以下に徐々に減少した。

結論

① dy マウスでは, 生後10日目頃より壊死発現をみた(mdx マウスでは15日目頃)。② dy マウスでは筋の發育分化には異常を認めなかった(mdx マウスも同様)。③ dy マウスでは, 壊死再生が常に進行性で, また再生の過程が壊死を完全には代償できないために臨床症状が出現し

てくると考えられた(mdx マウスでは, いったん壊死に陥った線維がほぼ完全に中心核線維となって再生する)。④再生が壊死を代償し得ないのは, 間質の変化等の二次的变化が関与しているものと思われた。

文献

- 1) Tanabe Y, Esaki K & Nomura T : Skeletal muscle pathology in X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) mouse, *Acta Neuropathol* (Berl) . 69, 91-95, 1986.
- 2) 江崎孝三郎, 横山峯介: 体外受精法による筋ジストロフィーマウス (C57BL/6-dy/dy) の作出, 厚生省神経疾患研究委託費筋ジストロフィー症動物の開発・供給に関する研究, 野村班, 昭和59年度厚生省研究報告書, 119-122, 1985.

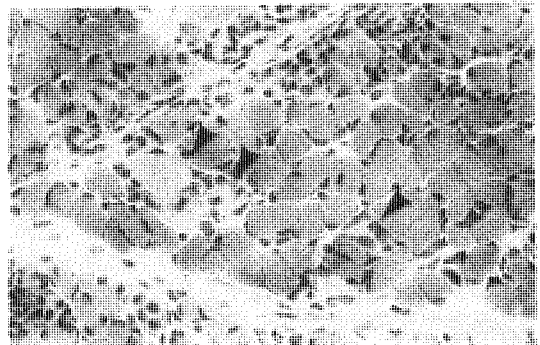


図1 dy マウス, 生後10日目, ヒラメ筋, HE 染色(矢印:壊死線維)

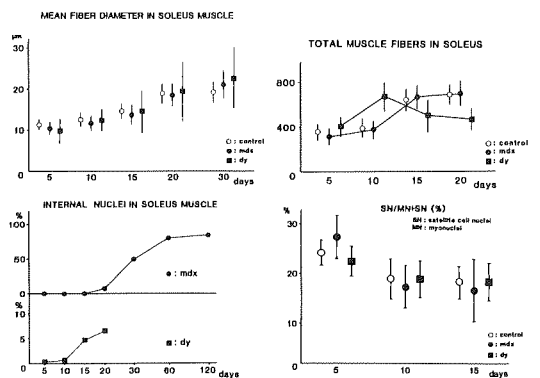


図2 筋線維直径(左上), 総数(右上), 中心核線維出現頻度(左下), 筋衛星細胞出現頻度(右下)

ISCF (Internodal Schwann Cell Fingers) の脊髄根における出現頻度

石井弘子, 埜中征哉

はじめに

我々は、microvilliを含むシュワン細胞の突起がRanvierの絞輪以外にも正常マウスの脊髄根有髄神経に存在する事を先に見出し、これをISCF (Internodal Schwann Cell Fingers)と命名した¹⁾。今回は、このISCFの脊髄根レベルの違いによる存在の有無とL4レベルにおける部位別(中枢-末梢系移行部, 中間部, 末梢部)の出現頻度および発達と出現頻度の関係を調べた。

方法

生後3週, 3ヶ月, 6ヶ月のマウス各5匹を麻酔下で灌流固定し, L4の前根10本ずつを全長に渡って採取し, 部位別に分け, 常法通り包埋後, 超薄切片を作製し, 電子顕微鏡写真を作り, 画像解析装置で, マウス一匹当たり400本以上の有髄神経線維の直径を計測し, ISCFの出現頻度を計算した。又C6, Th12レベルについては2匹のマウスについて調べた。

結果

生後3ヶ月マウスのL4レベルの前根におけるISCFの出現頻度は, 中枢-末梢系移行部で0.79%, 中間部1.68%, 末梢部2.43%であった。又, 末梢部の生後3週のは, 0%であり, 6ヶ月では1.38%であった。ISCFの出現頻度は3ヶ月で最も高く, この時期には, 直径の太い有髄神経により高頻度に認められた。しかも, この時期のISCFを持つ有髄神経線維は, 有髄神経の全直径(D)に対する軸索の径(d)の割合(d/D)が小さい傾向を示した。しかし6ヶ月マウスのISCFは, 神経線維の直径に関係なく出現した。又, この時期のISCFを持つ有髄神経線維の(d/D)は, ISCFを持たない有髄神経のそれと同じであった。又, ISCFはC6レベルでは, 3.05%, Th12レベルでは, 2.93%の出現率を示した。

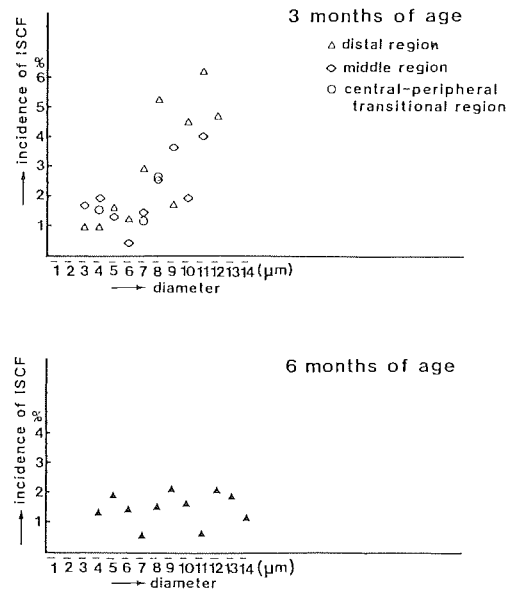
考察

ISCFは, 髄鞘形式の初期には認められず, 成熟した有髄神経に認められる。又, ISCFの形成は, ミエリンと軸索の直径の発達に伴う増加と密接な関係があると考えられる。又, ISCFは, L4レベルの後根と前根, C6とTh12レベルの前根にも存在する事から, すべての前根後根に存在するものと推測される。

文献

- 1) Ishii H., Suzuki K., Aikawa H. and Nonaka I. Internodal microvilluslike Schwann cell fingers in myelinated fibres in mouse spinal roots J. Neurocytol., 14, 261-267, 1985.

Comparison between 3 months and 6 months-ICR mice in the incidence of ISCF



10. 機能研究部

1. 研究部一年の歩み

昭和60年度において、本研究部で研究にたずさわったのは、小沢鉄二郎、木村一郎、斎藤公司、萩原康子、庄司明子、野呂知加子、後藤八重であり、毛涯千夏、井上千代美、川合陽子がこれを補助した。その他併任研究員として、熱海佐保子（山梨医科大学解剖学教室、教授）および若林健之（東京大学理学部物理学教室、助教授）が、客員研究員として鍋島陽一（癌研究会・癌研究所生化学部、研究員）が、研究生として松田良一（東京都立大学理学部生物学科発生学研究室）、斎藤加代子（東京女子医科大学小児科学教室）、白形正樹（癌研究会、癌研究所生化学部）が参加した。

野呂知加子は、千葉大学理学部生物学科を卒業後、京都大学理学部生物物理学の大学院を昭和59年に卒業した。昭和60年4月より本研究部流動研究員として研究にたずさわった。後藤八重は、徳島大学薬学部を卒業、同大学院で修士過程を終了して東京都立大学理学部で研究生を行った後、当部に参加した。なお、毛涯千夏は昭和61年3月1日で、また井上千代美は昭和60年6月で退職し、井上の後任として川合が7月より参加した。

本研究部の目標の一つに、筋変性症の生物学的基盤を明らかにすることにある。われわれは、既に培養筋細胞を用いて培養液中のトランスフェリン濃度を変化させることによって、試験管内で筋の変性と治癒を行わせることに成功しており、この機構を研究しているが、昨年（昭和59年）の年報において報じたように、鉄供与蛋白トランスフェリンを減少することによって、筋細胞は萎縮するとともに筋細胞のRNA全体の合成が低下し、従って蛋白合成が低下することを明らかにした。庄司はこの変化がRNAポリメラーゼの活性の低下によることを示した。すなわちRNAポリメラーゼは鉄結合蛋白であり、鉄を失うと可逆的に活性を失うことを証明した。トランスフェリンによって細胞内へ持ち込まれる鉄が遂にはRNAポリメラーゼを活性化するのに役立つと思われ、トランスフェリン欠乏液中で培養した筋細胞由来のRNAポリメラーゼは、活性化が不十分であることを考え合わせると上に述べたことがRNA-蛋白合成を低下させ細胞を萎縮させている原因であろうと考えられる。このことは、トランスフェリンによって細胞内へ持ち込まれた鉄の動向を明らかにしたもので、筋の変性モデルの分子機構の重要な部分の解明と同時にトランスフェリンの作用機構の重要な部分を明らかにしたのもであった。トランスフェリンのような、いわゆる成長因子としてまとめられている物質の作用機作が、ここ迄判明したものは今のところ他に見当たらない。

対外活動としては、小沢は東京大学医学部、東京医科歯科大学医学部に於いて、また木村は東京大学教養学部（現文理学部）に於いて、非常勤講師として教育に参画した。斎藤は、昭和60年11月より、米国南カ

リフォルニア大学神経内科に於いて客員教授として研究に当たっている。小沢は、厚生省神経疾患研究委託費・筋ジストロフィー症解明のための遺伝子発現の基礎的研究班の運営幹事、および文部省特定研究、多細胞体制の形成機構・生体因子による制御班の班長を務めた。

(部長 小沢鏝二郎)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

1) Hagiwara Y, Atsumi S, Ozawa E :

Reversible suppression of cultured chick myogenic cells with very low concentrations of dibucaine

J Pharmacobio-Dyn 8 : 311-319, 1985

2) Ii I, Ozawa E :

Partial purification from chick embryos of a factor which promotes myoblast proliferation and delays fusion

Develop Growth Differen 27 : 717-728, 1985

3) Shoji A, Ozawa E :

Requirement of Fe ion for activation of RNA polymerase

Proc Jap Acad 61 : 494-496, 1985

4) Shoji A, Ozawa E :

Suppression of RNA synthesis following transferrin removal in chick myotubes

Proc Jap Acad 61 : 233-236, 1985

5) Shimo-Oka T, Hagiwara V, Ozawa E :

Class specificity of transferrin as a muscle trophic factor

J Cell Physiol 126 : 341-351, 1986

b. 著書

1) 小沢鏝二郎, 斎藤公司, 萩原康子 :

筋一骨格筋 最新組織培養応用研究法—In vitro アッセイと有用物質生産(山根績, 遠藤浩良編)

ソフトサイエンス社, 東京, P41-54, 1985

II 研究業績

c. 総 説

- 1) 下岡正志, 小沢鏝二郎 :
トランスフェリン
医学のあゆみ, 133 : 1035-1039, 1985
- 2) 木村一郎 :
トランスフェリン
日本臨床, 44 : 156-162, 1986

e. 班会議報告書

- 1) 小沢鏝二郎, 庄司明子 :
トランスフェリン欠乏による筋変性の分子機構
厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症解明のための基礎的研究班, 昭和60年度班会議報告書, pxx-xx, 1985

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

- 1) Ozawa E :
Transferrin, its effect on muscle cells
日伊薬理科学シンポジウム, Bergamo, 6.21, 1985
- 2) Ozawa E :
Molecular mechanism of the action of transferrin in muscle growth
基生研シンポジウム, 岡崎, 3.24, 1986

b. 国際学会

- 1) Saito K, Ii I, Kitamura T, Fukuyama V, Ozawa E :
Hemoglobin enters into myogenic cells to promote their growth as an iron donor
3rd International Cell Culture Congress, Sendai, 9.10, 1985

c. 一般学会

- 1) 木村一郎, 庄司明子, 小沢鏝二郎 :
トランスフェリンの細胞成長促進作用における糖鎖シアル酸の役割と綱特異性
第56回日本動物学会大会, 東京, 10.11, 1985
- 2) 庄司明子, 小沢鏝二郎 :

トランスフェリンの培養筋細胞維持作用の検討

第18回日本発生生物学会大会，名古屋，5.9，1985

3) 庄司明子，小沢鉄二郎：

培養筋細胞の RNA 合成における鉄イオンの役割—Fe-binding substance の探索

第8回日本分子生物学会年会，東京，12.3，1985

C. 班会議発表

1) 庄司明子，小沢鉄二郎：

トランスフェリン作用の分子機構

文部省科研費特定研究・多細胞体制の形成機構：生体因子による制御班，昭和60年度班会議，東京，11.28，1985

2) 庄司明子，小沢鉄二郎：

トランスフェリン欠乏による筋変性の分子機構

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症解明のための基礎的研究班，昭和60年度班会議，東京，12.5，1985

D. 研究会など

1) Ozawa E：

Transferrin as a growth factor

Seminar at Weizman Institute, Rehovot, 6.13, 1985

2) 小沢鉄二郎：

トランスフェリン

東京女子医科大学日本心臓血圧研究所セミナー，東京，11.25，1985

3. 主な研究報告

トランスフェリンの細胞成長促進作用における糖鎖シアル酸の役割と網特異性

木村一郎, 庄司明子, 小沢鉄二郎

鉄結合糖タンパク質であるトランスフェリン (Tf) は *in vitro* の細胞成長において必要な成分であり, 鉄供与体として働くことが知られている。また我々は Tf がその作用においては, 原則として網特異性を持っており, 鳥類 Tf は鳥類細胞に, 哺乳類 Tf は哺乳類細胞にのみ有効であることを明らかにしてきた。

ところで, 同一種の動物には糖鎖構造, 特に末端シアル酸 (SA) の数を異にする Tf 分子種がいくつか存在することが知られており, また酵素的に末端 SA を段階的に除去することにより SA の数を異にするいくつかの Tf 分子種を得ることができる。我々は Tf の細胞成長促進作用における糖鎖構造の効果と網特異性について調べてみた。

材料と方法

ニワトリ血清の Tf の主成分であり, 2 残基の SA を持つ Tf (Tf 2), Tf 2 を sialidase で処理して得た SA を 1 残基持つもの (Tf 1), 全く持たぬもの (Tf 0), さらに卵白からオボトランスフェリン (oTf, SA を全く持たない) をそれぞれ糖製した。また, ラット血清から SA を持つ Tf (sialoTf) とそれを sialidase で処理した Tf (asialoTf) をそれぞれ精製した。

細胞はニワトリ筋芽細胞とラット L 6 細胞を用いた。培養は基本培養液を前者については 85% Eagle's MEM-15% 馬血清, 後者については 90% Eagle's MEM-10% ニワトリ血清として用いた。Tf の細胞成長促進活性の測定は前者細胞については筋管細胞中に蓄積されたクレアチンキナーゼ (CK) の活性, 後者細胞については DNA 量を定量することにより行った。

結果と考察

(1) ニワトリ筋芽細胞に対する効果

ニワトリ Tf の各分子種 (Tf 0-2, oTf) はその活性において差がみられなかった。またラット Tf は sialo 型も asialo 型も 1 mg/ml までは全く活性がみられなかった (図 1)。

(2) ラット L 6 細胞に対する効果

ラット Tf については sialo 型と asialo 型の間に活性の差は見出せなかった。またニワトリの各種血清 Tf については, 活性は低濃度ではみられなかったが, 1 mg/ml 程度では認められ, SA の数の違いはあまり影響がなかった。しかし興味あることに, oTf は 30 μg/ml 程度で明らかな活性が認められ, しかもその高濃度 (>

300 μg/ml) ではラット Tf の示す活性よりもかなり高い活性を示した (図 2)。

以上, 動物種について homologous な関係にある細胞と Tf における Tf の細胞成長促進活性においては, 糖鎖の末端構造の違いはそれらの活性に影響を与えないことが示された。heterologous な関係の場合, ニワトリ筋芽細胞に対してはラット Tf は無効であるが, ラット細胞に対してはニワトリ Tf が高濃度で活性を示すことが明らかにされた。この場合血清 Tf は SA 残基数が異なっても同程度の活性を示した。しかし, 血清 Tf に比べて oTf は著しく高い活性を示した。oTf は血清 Tf では SA の隣りに存在するガラクトース残基を欠いた糖鎖を持っているが, 我々の得た結果はラット細胞には oTf の糖鎖を認識できる受容体が存在し, endocytosis により鉄結合型 oTf を効率よく細胞内に取り込む可能性を示唆しており, 興味あるものといえる。

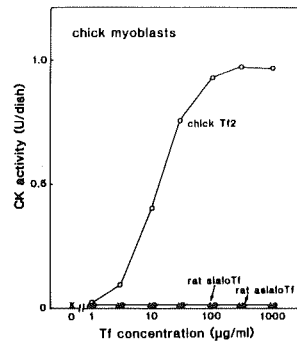


図 1

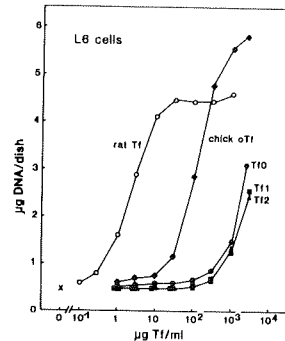


図 2

筋型 creatine kinase cDNA クローニングの試み

萩原康子, 小沢鉄二郎

creatine kinase には、主として分化した筋肉に存在する筋型 creatine kinase (M-CK) と、未分化の筋肉にも存在する脳型 creatine kinase (B-CK) の isozyme があり、筋細胞の分化のマーカーに適している。今回は M-CK の cDNA クローニングを試みた。

方 法

(1) ニワトリ cDNA ライブラリーの作成

16日ニワトリ胚の胸筋から RNA を分離し、oligo (dT) cellulose カラムを通して poly (A)⁺RNA を精製分離した。cDNA の合成は Okayama & Berg 法の変法を用いて行なった。プラスミド DNA (pBR322 の PstI site) に cDNA を連結させた組換え体を作り、大腸菌細胞 (HB 101) に形質転換して導入した。

(2) 組換え体の選択 (Colony Hybridization)

組換え体を入れた大腸菌細胞のコロニーをニトロセルロース膜にレプリカして移し、chloramphenicol で増感した後、M-CK のプローブと hybridization させた。オートラジオグラフィの結果からハイブリッドを作った DNA を含むコロニーを採取した。プローブは M-CK の合成オリゴマー (20nucleotides) を 7.5M urea-2% acrylamide のゲル電気泳動により精製した後、 γ -³²P-ATP でラベルして用いた。hybridization は 50°C で約 12 時間行ない、washing は 50°C, 0.1% SDS-5xSSC で行なった。

(3) 組換え DNA の同定

採取したコロニーから挿入 DNA を分離精製した後、種々の制限酵素で切断した。1% agarose gel で電気泳動した DNA 断片を Southern Blotting Analysis により、挿入 DNA の大きさとその制限酵素地図を決定した。プローブ及び hybridization は (2) と同じ条件で行なった。部分的 sequence を M13 sequence 法で行なった。Northern Blotting Analysis は 7% formaldehyde-0.8% agarose gel で電気泳動した変性 RNA をニトロセルロース膜に blotting した後、挿入 DNA をニックトランスレーションでラベルしたプローブを用いて hybridization させた。Dott Blotting Analysis はニトロセルロース膜に RNA を blotting した後、上述と同様に hybridization させた。

結 果

約 3 万個の形質転換したコロニーをスクリーニングした結果、26 個のコロニーが M-CK プローブと強く反応した。これらのコロニーから DNA を分離精製して調べた結果、M-CK プロ

ーブと強く hybridization する 2.1 kbp の挿入 DNA を持つ 1 個のクローンを得た。この DNA を数種類の制限酵素で切断し制限酵素地図を決定した (図 1)。ニワトリ 16 日胚の各種臓器 (脳、肝臓、胸筋、心筋、足筋、砂のう) から分離した RNA 及びニワトリ 11 日胚胸筋由来の培養筋細胞と皮膚由来の培養繊維芽細胞から分離した RNA と、得られた cDNA のプローブとの Dott Blotting Analysis を行なった結果からは、胸筋、心筋、砂のう及び培養筋細胞の RNA が強く反応することがわかった。さらに各種臓器からの RNA の Northern Blotting Analysis を行なった結果、胸筋、心筋及び砂のうの約 42s の位置に、この cDNA プローブと強く hybridization するバンドがみられた (図 2)。

考 察

この cDNA の制限酵素地図は Ohdahl らが最近発表した M-CK の制限酵素地図と異なること並びに mRNA のサイズが約 42s と大きいことから、この cDNA が M-CK の cDNA ではない可能性が考えられた。しかし RNA との hybridization の結果から、この cDNA は胸筋、心筋及び砂のうに多く存在するものの cDNA であり、M-CK と共通あるいは類似の sequence を持つものと考えられる。

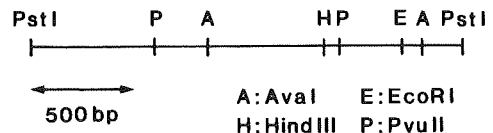


図 1 制限酵素地図

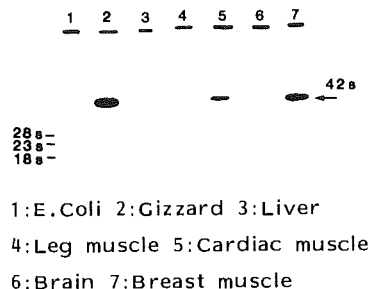


図 2 ニワトリ 16 日胚各種臓器 RNA の Northern Blotting Analysis

真核細胞の RNA ポリメラーゼの活性発現における鉄の必要性

庄司明子, 小沢鉄二郎

我々は、鉄結合蛋白質トランスフェリン(Tf)の筋芽細胞増殖促進効果について研究をすすめてきた。Tfの効果は、それに担われている鉄の効果でほぼおきかえられるが、Tfにより細胞内に運び込まれた鉄の役割については、不明の点が多い。前回我々は、培地中よりの除去が細胞の合成を低下させることを見出したことを報告したが、今回その合成低下がRNAポリメラーゼの活性低下によっていることす、すなわち、鉄の有無がRNAポリメラーゼの活性に影響を及ぼしていることを見出したので報告する。

材料と方法

ニワトリ筋芽細胞の培養は常法通り行ないTf10 μ g/ml存在下で8日間培養してconfluentになり、大きな筋管細胞を形成させた後、Tf存在下(Tf(+))筋管細胞、非存在下(Tf(-))筋管細胞で4日間培養して実験に供した。核の分離と、核を用いてのRNA合成は文献(1)によった。RNAポリメラーゼIIは11日目ニワトリ胚の胸および大腿の筋肉の核をとり、それから硫酸分画、DEAE Sephadex ホスホセルロースを用いてほぼ常法に従って精製した。酵素活性は、子牛胸腺DNAをテンプレートとして³H-UTPのとり込みで測定した。

結果

1. 分離核でのRNA合成はTf(-)筋管細胞の核では、Tf(+))筋管細胞のものと比較して $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$ の値を示した。反応液へのFeCl₃の添加は、Tf(-)筋管細胞の核に対してのみ効果を示した。すなわち、鉄が核でのRNA合成に直接関与していることが示唆された。
2. 次に、核のlysateにおけるポリメラーゼの活性を調べた。Tf(-)筋管細胞の核よりの酵素活性は(+)の核のものと比較して約 $\frac{1}{3}$ 程度になっており、FeCl₃に対して透析するとその活性は、(+)の核のlysateの活性に匹敵するほどになった。すなわち、Tfを欠いた培養液中で培養した筋管細胞のRNA合成低下はその多くをRNAポリメラーゼの活性低下によっていると結論できた。
3. さらに、ニワトリ胚の骨格筋より、RNAポリメラーゼIIを精製して、その活性の発現に鉄が関与しているかどうかを調べた。精製された酵素の活性は(Fig. 1, No. 1), それを

FeCl₃を含む緩衝液に透析することによって、あまり影響をうけなかったが(No.2), 鉄ぬき緩衝液である100 mM Na-acetate, 30 mM NaH₂PO₄ (pH5.95) に対しての透析によって活性のほとんどを失った(No.3)。失われた活性は、FeCl₃を含む緩衝液への透析によって回復をみた(No.4)。

4. RNAポリメラーゼIIの活性発現における鉄の役割を解明するために、鉄存在下、非存在下での酵素の基質結合能、DNA結合能等を調べたところ、鉄が基質と酵素との結合を促進することが見出された。
5. HeLa細胞よりのRNAポリメラーゼIIも鉄の存在の有無によって、その活性が同様に变化した。

考察

以上の結果より、真核細胞のRNAポリメラーゼII(IとIIIも、未発表)がその活性の発現に鉄を必要とすることが示唆された。このことは細胞増殖、分化におけるTfの必要性の分子的基盤の一端を明らかにしたものと見える。

文献

- 1) M. Groudine et al. (1981) Mol. Cell Biol. 1, 281-288.

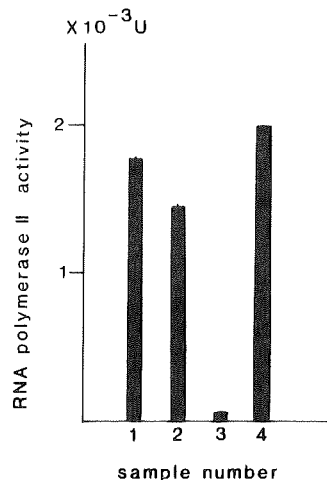


図1

細胞増殖における鉄の役割

野呂知加子, 小沢鉄二郎

トランスフェリン(Tf)は鉄担体タンパク質である。我々は、これまでにニワトリ胚抽出物中の myotrophic factor の1つが Tf であり、その作用が細胞に鉄を供給することにあることを示した。myoblast は鉄結合 Tf (Fe-Tf) または Fe^{3+} 存在下でよく増殖し myotube を形成するが、非存在下では増殖せず myotube の形成もみられない。このように鉄は細胞増殖に必須であるが、その作用機構の詳細は明らかでない。今回我々は、細胞増殖及び DNA 合成における鉄の役割について検討した。

材料と方法

ラット myoblast line L6 の非融合性の sub-line を使い、Fe-Tf 存在下ではよく増殖するが非存在下では増殖を停止し、しかも死に至らないような培養条件を検討した。基本培地はイーグル MEM に Sodium Pyruvate (200mg/l), Insulin (5mg/l) および Ascorbic Acid (50mg/l) を加えたもの (以下 PIA medium とよぶ) を用いた。これに、L6 と反応する Tf を含まないニワトリ血清、混入鉄イオンを除くために鉄キレート剤 Desferrioxamine, 及び Tf (ラットまたはウマ) を加えて培養し、それぞれの至適濃度を検討した。細胞増殖は培養皿 (直径 35mm) あたりの細胞数または DNA 量を指標とし、また細胞の DNA 合成は、 3H -Thymidine の DNA あたり60分あたりの取り込み量で判定した。細胞周期はエタノール固定した細胞を Propidium iodide で染色し、日本分光の Flow Cell Sorter を用いて、細胞あたりの DNA 含量を測定することによって調べた。細胞抽出液中の DNA polymerase 活性は、Deoxynucleotides, ATP, 活性化 DNA を添加し、タンパク量あたり60分あたりの 3H -TTP のとりこみ量で測定した。

結果と考察

- 1) 以下のような条件で L6 細胞を培養したとき、Fe-Tf ($10\mu g/ml$ ラットまたはウマ Tf) の存在に対応して細胞が増殖した。培養液は PIA medium に5%の chick serum と $1\mu M$ の Desferrioxamine を加えたものを用い、培養開始時の細胞数は $2 \times 10^4 / \text{皿} / 2 \text{ ml}$ medium で、3日間培養した。このとき Tf のかわりに $30-100\mu M$ の $FeCl_3$ を加えても同じ結果が得られた。
- 2) この条件下での DNA 量あたりの 3H -Thymidine の取り込み量は Tf 存在下 (Tf (+)) では一定であった (図2)。これは細胞

が対数増殖期にあることを示している。一方、Tf 非存在下 (Tf (-)) では、この値は日を追って低下し、3~4日目で0に近づく。Tf (-) の培養2日目または3日目に Tf を加えると、1日後にこの値は Tf (+) における値を越す (図1)。これは、細胞が一斉に DNA 合成を開始することを意味する。これらの結果から、Tf (-) では、細胞は細胞周期のある phase で同調的に停止して、その結果増殖がみられなくなると考えられた。

- 3) flow cytometry を用いた解析により、Tf (-) では細胞は S 期に多く集ることがわかった (図2)。従って、Tf (-) では S 期の進行が遅くなる、或いは停止すると考えられる。

- 4) 次に、S 期の進行に関与する DNA 合成系の酵素に関して、その細胞抽出液中での活性を、Tf (-) と Tf (+) について比較した。DNA polymerase については Tf (+) の方に若干高い活性が認められたが、詳細についてはなお検討中である。

以上の結果から、細胞が DNA 合成を正常に行い、S 期を完了して増殖を続けるためには鉄が必要であることがわかった。

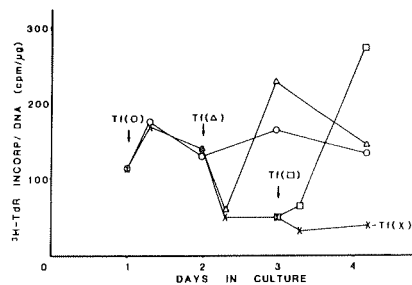
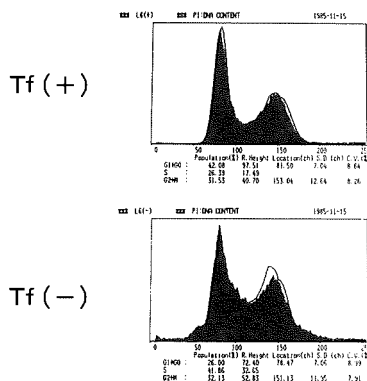
図1 3H -Thymidine の細胞へのとりこみ

図2 細胞周期

ニワトリ胚からの筋原細胞成長促進因子の精製

後藤八重, 木村一郎, 小沢鉄二郎

鳥類筋原細胞の培養にニワトリ胚抽出物 (Chick Embryo Extract, CEE) を用いると, 筋芽細胞の増殖が促進され, 筋管細胞の形成が抑制され, 結果として分化抑制作用がみられることが知られている。先に我々は CEE からこのような効果を示す因子 (Myoblast Proliferation Factor, MPF) の部分精製を行った (Ii et al. Develop. Growth Differen. 27 : 717, 1985)。今回我々は, heparin-Sepharose カラムを用いて, さらに MPF を精製することを試みた。

材料と方法

MPF の精製は図 1 のように行った。MPF の活性測定はウズラ 9 日胚胸筋筋芽細胞の二次培養系を用いた。細胞増殖の指標として DNA 量, 分化の指標として Creatine Kinase (CK) の活性をそれぞれ測定した。また, 細胞増殖促進・分化抑制の指標として, (DNA 量/CK 活性) の比を求めた。

結果と考察

heparin-Sepharose カラムの 2M NaCl, 3M NaCl 溶出画分に強い細胞増殖活性が認められた。SDS-PAGE により調べたところ, 両画分は共に分子量約 16,000 のほぼ単一の成分と考えられた。両画分はそれぞれ約 10ng/ml, 100ng/ml で half maximum の活性を示し, 出発材料の EE に比べて, 約 10^4 倍, 10^3 倍それぞれ精製された。

図 2 は培養細胞の形態を示している。対照(a)では細胞数は少なく, 筋管細胞の形成がみられるが, CEE (b)では細胞数は著しく増大するが, 筋管細胞形成は殆ど認められない。heparin-Sepharose カラムの 2M NaCl 画分(c), 3M NaCl 画分(d)では細胞数は増加し筋管細胞の形成が認められた。これらの結果から, heparin-Sepharose カラムで精製された MPF は細胞増殖効果は示すが, 筋管細胞形成を抑制する作用, すなわち筋原細胞の分化を抑制する作用は弱く, CEE の分化抑制作用には MPF 以外の因子が関与している可能性が示唆された。今後, MPF の特性, 作用機作, および CEE 中に存在し筋分化の抑制に関与する MPF 以外の因子について検討を進めたい。

ニワトリ 12 日胚

↓ 0.9% NaCl 中でホモゲナイズ

↓ 遠心

上清 (CEE)

↓ HCl で pH3.5

↓ 2 hr 攪拌

↓ NaOH で pH6.0

↓ 遠心

上 清

↓ CM-Sephadex に吸着

↓ 0.2M NaCl-0.1M Na-phosphate

↓ (pH6.0) で洗浄

↓ 0.5M NaCl-0.1M Na-phosphate

↓ (pH6.0) で溶出

CM-Sephadex 0.5M NaCl 画分

↓ heparin-Sepharose カラムに吸着

↓ 0.5M, 1 M, 2 M, および 3 M NaCl-

↓ 0.1M Na-phosphate (pH5.5) で順次溶出

heparin-Sepharose 2 M NaCl, 3 M NaCl画分

図 1 MPF の精製

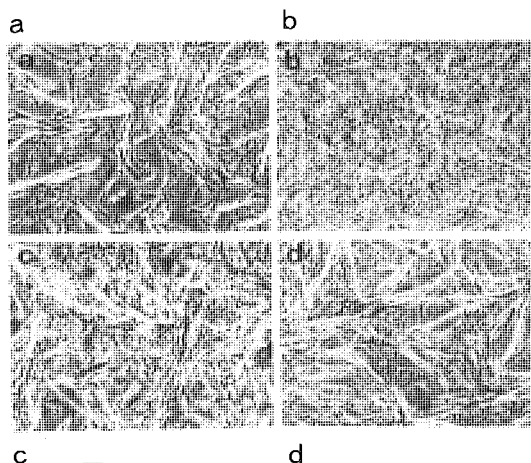


図 2

11. 代謝研究部

1. 研究部一年の歩み

中枢神経系の細胞及び生体膜の発達とその障害の生化学的研究を続行中である。現在ミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイトを中心に細胞培養を行い、ミエリン構成蛋白及び細胞骨格蛋白の生合成過程を検討中である。またミエリン構成の微量脂質成分である酸性リン脂質の分析と機能との関連性についても検討中である。

一方、脳発達障害にしばしば伴うてんかんについて、その発現機序と抗てんかん薬作用機序の生化学的研究を続行中である。現在代謝の速い酸性リン脂質、及びけいれん関連性カチオンとその調節酵素が、てんかん発現機序に及ぼす影響について追究中である。

現在進行中の研究課題を群別すると次のとおりである。

(1) ミエリン形成と関連蛋白

オリゴデンドロサイト (OLG) をニワトリ胚脳より単離、培養した際、OLGの2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 活性は著明に増加したが、myelin basic protein (MBP) の増加は著しくないことを認めた。そこで神経系細胞間の接触またはOLG成熟因子の関与という点からミエリン形成時のOLGのMBPの生成条件を検討中である。

関連蛋白としてまずOLGの細胞骨格蛋白と、ミエリン形成時の軸索周辺に認められるOLGの突起伸展との関連性を検討した。OLGの細胞骨格蛋白のうち、突起形成にはチューブリン重合による微小管形成とともに、アクチンフィラメントの脱重合も関与する可能性を示唆した。この研究の一部は日本生化学会、日本神経化学会に報告し、Develop. Brain Res. に発表した (in press)。

また別の関連蛋白として myelin-associated glycoprotein (MAG) は神経細胞の軸索周辺に局在し、ミエリン形成細胞のOLGにも存在することが報告され、ミエリン形成またはその開始に何らかの役割が想定されている蛋白である。従来の Quarles らの方法を改良し、簡便、迅速に高純度のMAGを得る方法を確立し、ミエリン形成への関与を追究中である。別に従来から知られているニワトリのMBPより分子量がやや大きい別のMBPを見出したため、その化学的構造を検討し、アミノ酸配列の一部が異なることを見出した。しかしこのMBPの機能はまだ不明である。

(2) 生体膜脂質と抗てんかん薬

てんかんの発現及び抑制機能についての生化学的研究を続行中である。ラット脳生体膜から抗てんかん薬の特異的結合部位を部分精製し、脳の微量の酸性リン脂質であるポリホスホイノシチド(トリホスホー及びジホスホイノシチド)がその結合活性を阻害することを認めた。そこで脳のイノ

II 研究業績

シチドレスポンスに対するけいれん関連物質の影響を検討した。けいれん誘発物質の効果はレスポンスの促進作用と必ずしも平行しないことを認めたが、さらにキンドリング動物のこれらの物質によるレスポンス、及び Ca^{2+} の関連性について検討する予定である。この研究の一部は 16th Epilepsy Internat'l Congress 及び日本てんかん学会のスペシャルセッションに報告した。

その他、他施設との共同研究として、西村成子（国立療養所静岡東病院、てんかんセンター）とともに、キンドリング形成時の生体アミンの分析法を再検討し、従来のキンドリングに伴うアミンレベルの変化の報告を見直すべきであることを 16th Epilepsy Internat'l Congress で報告した。また阿部康二（東北大、神内）とともに、脳虚血時のイノシチドの代謝について日本生化学会に報告した。別に向山昌邦（神経センター、疾病研究第4部）らとともに sudanophilic leucodystrophy 患者の剖検脳について、また柏俣重夫（愛知県発達障害研）らとともに Gunn ラット小脳について、両者に増量を認めたコレステロールエステルの脂酸構成を分析し、前者を日本神経病理学会に報告した。

本年の人事の動きとしては、流動研究員として約3年間研究に貢献した熊谷博道（昭58.4-61.1）及び同1年間の島村道夫（昭60.4-61.3）が転出した。上記2人及び阿部康二（東北大、神内、大学院）は研究生として継続することになった。新しく流動研究員に田口文子（準職員研究員）が転じた。田口は昭58.3静岡薬大卒後、当研究部で脂質の分析、代謝の研究を行ってきた。

（部長 宮本侃治）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Sato M, Miyamoto K :
Biochemical approaches to epilepsy-Neurochemical aspects of kindling model of epilepsy
Folia Psychiat Neurol Jpn 39 : 323-324, 1985
- 2) Nishimura S, Yagi K, Ishida S, Seino M, Miyamoto K :
The reliability of monoamine levels in the kindled brain
Folia Psychiat Neurol Jpn 39 : 321-322, 1985
- 3) Kumagai H, Imazawa M, Miyamoto K :
Unusal morphological changes in cultured oligodendrocytes induced by cytochalasin B
Develop Brain Res, in press
- 4) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :
Correlation between inositide response and seizure-related substances as well as anti-epileptic drugs
Folia Psychiat Neurol Jpn, in press
- 5) Miyamoto K, Yamagami S :
Approaches to epilepsy via biological chemistry-Currently applicable approaching methods to epilepsy
Folia Psychiat Neurol Jpn, in press
- 6) Kumagai H, Nishida E, Kotani S, Sakai H :
On the mechanism of calmodulin-induced inhibition of microtubule assembly in vitro
J Biochem 99 : 521-525, 1986
- 7) Kotani S, Nishida E, Kumagai H, Sakai H :
Calmodulin inhibits interaction of actin with MAP2 and tau, two major microtubule-associated proteins
J Biol Chem 260 : 10779-10783, 1985
- 8) Shimamura M, Kamada S, Hayashi T, Naruse H, Iida Y :
Sensitive determination of tyrosine metabolites, p-hydroxyphenylacetic acid, 4-hydroxy-

II 研究業績

3-methoxyphenylacetic acid and 4-hydroxy-3-methoxymandelic acid, by gaschromatography-negative-ion chemical-ionization mass spectrometry. Application to a stable isotope-labelled tracer experiment to investigate their metabolism in man

J Chromatogr 374 : 17-26, 1986

c. 総 説

- 1) 宮本侃治, 今澤正興, 大泉信行, 田口文子 :

抗てんかん薬作用機序への生化学的接近

神経進歩 29 : 1023-1034, 1985

- 2) 宮本侃治 :

抗てんかん薬作用機序研究の新しい方向

病態生理 4 : 371-376, 1985

e. 班会議報告書

- 1) 宮本侃治, 今澤正興, 大泉信行 :

抗てんかん薬と脳生体膜脂質

厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と治療に関する研究班, 昭和60年度研究報告書,
p169-173, 1986

- 2) 宮本侃治, 熊谷博道, 今澤正興 :

オリゴペンドロサイトの突起形成と細胞骨格蛋白

厚生省神経疾患・脳発達障害の成因と予防に関する開発的研究班, 昭和60年度研究報告書,
p99-103, 1986

f. その他

- 1) 宮本侃治 :

てんかん研究における基礎科学的研究の役割, I

波 9 : 358-359, 1985

- 2) 宮本侃治 :

てんかん研究における基礎科学的研究の役割, II

波 9 : 390-391, 1985

- 3) 宮本侃治 :

てんかんの生化学的研究とのめぐりあい

International Epilepsy News 82 : 14-15, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 宮本侃治, 山上栄 :

てんかんへの生物化学的接近——新しい方法論

第19回日本てんかん学会, スペシャルセッション, 大津, 10.5, 1985

2) 田口文子, 今澤正興, 宮本侃治 :

イノシチドサイクルに対する抗てんかん薬の影響

第19回日本てんかん学会, スペシャルセッション, 大津, 10.5, 1985

b. 国際学会

1) Miyamoto K, Imazawa M, Oizumi N, Taguchi F :

Possible participation of polyphosphoinositides in the action mechanisms of antiepileptic drugs

16th Epilepsy Internat'l Congress, Hamburg, Sept.8, 1985

2) Nishimura S, Yagi K, Ishida S, Seino M, Miyamoto K :

Biogenic amines and kindling

16th Epilepsy Internat' l Congress, Hamburg, Sept. 8, 1985

c. 一般学会

1) 熊谷博道, 佐藤七枝, 今澤正興, 宮本侃治 :

培養オリゴデンドロサイトに対するサイトカラシンの効果

第58回日本生化学会, 仙台, 9.29, 1985

2) 今澤正興, 田口文子, 宮本侃治 :

脳のポリホスホイノシチドについて

第58回日本生化学会, 仙台, 9.27, 1985

3) 阿部康二, 荒井啓行, 小暮久也, 山本裕高, 水柿道直, 今澤正興, 宮本侃治 :

脳虚血時のアラキドン酸遊離機構について

第58回日本生化学会, 仙台, 9.26, 1985

4) 熊谷博道, 佐藤七枝, 今澤正興, 田平武, 宮本侃治 :

培養オリゴデンドロサイトの細胞骨格

第28回日本神経化学会, 熊本, 11.6, 1985

II 研究業績

5) 向山昌邦, 北村純一, 今澤正興, 宮本侃治, 里吉栄二郎 :

副腎, 腎, 肝などの脂肪沈着を認めた中年発症の sudanophilic leucodystrophy の 1 剖検例
第26回日本神経病理学会, 岡山, 5.10, 1985

C. 班会議発表

1) 宮本侃治, 田口文子, 今澤正興 :

抗てんかん薬と脳生体膜の脂質および酵素
厚生省神経疾患・難治性てんかんの成因と予防に関する研究班,
昭和60年度班会議, 東京, 2.22, 1986

2) 宮本侃治, 熊谷博道, 今澤正興 :

ミエリン形成に關与する生体膜蛋白について
厚生省神経疾患・脳発達障害の成因と予防に関する開発的研究班,
昭和60年度班会議, 東京, 2.22, 1986

D. 研究会など

1) 宮本侃治 :

ミエリンとオリゴデンドロサイトの構成成分
愛知県発達障害研究所セミナー, 名古屋, 3.7, 1986

2) 宮本侃治 :

抗てんかん薬作用の生化学的側面
岐阜エPILEプシー研究会 特別講演, 岐阜, 3.12, 1986

3) 阿部康二, 方宇寿楠, 荒井啓行, 小暮久也, 山本裕高, 水柿道直, 今澤正興, 宮本侃治 :

脳虚血時のアラキドン酸遊離機序について
第28回脳循環代謝研究会, 東京, 10.12, 1985

3. 主な研究報告

培養オリゴデンドロサイトの突起形成と細胞蛋白

熊谷博道, 佐藤七枝, 今澤正興, 宮本侃治

既報のようにミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイト (OLG) の細胞骨格は、主として微小管系の構成成分であるチューブリンと、マイクロフィラメント系の構成成分であるアクチンよりなっている。今回は OLG の突起形成の際の細胞骨格の関与について検討した。

材料と方法

孵卵14日, 17日のニワトリ胚脳より, Percoll法を用いて OLG を単離し, 10%ウマ血清を含む Eagle's MEM を用いて培養した。細胞をグルタルアルデヒド固定, Triton 処理した後, チューブリンやアクチンの抗体を反応させ, さらに FITC-抗ウサギ IgG を第2抗体として間接蛍光抗体法を行い, 細胞骨格成分を検討した。細胞骨格蛋白の生合成は ^{35}S -メチオニンを用いて OLG 培養した後, 細胞骨格を得て, SDS-PAGE, さらにフルオログラフィーを用いて解析した。

結果と考察

OLG の突起形成に際し, 微小管の関与を微小管の重合阻害剤コルヒチン (colchicine) と, 重合安定化剤タクソール (taxol) を用いて検討した。コルヒチン添加 ($5\mu\text{M}$) では突起形成が停止し, タクソール ($5\mu\text{M}$) では突起形成は阻害されないが, 突起数が減少し, 形態的にも異なる突起が得られた。次にアクチンフィラメントの重合阻害剤であるサイトカラシン B (cytochalasin B, CB) の効果を検討した。CB 添加 ($1.0\mu\text{M}$ 以上) により数時間後より突起は著しく伸展し, 24時間後にはカール状の細長い突起として観察され, 間接蛍光抗体法によりアクチンフィラメントは殆ど認められなくなった (図 1 c, d)。またこの効果は可逆的で, CB を添加後24時間以内に除去することにより対照と類似の形態を示すようになった。CB 処理の際には突起中に多数の微小管が認められた (図 1 a, b)。また CB は ^{35}S -メチオニンを用いた細胞骨格蛋白の生成, 及び 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 活性には殆ど影響をおよぼさないことが認められた。

以上の結果により OLG の突起形成には微小管の存在が必須で, その重合, 脱重合により調節され, 今回の CB の効果からはアクチンフィ

ラメントの脱重合が微小管の重合量を増大させ, 突起の伸展をもたらす可能性が示唆された。ミエリン形成に際し, 軸索周辺で認めらる OLG の突起伸展の機構を考える上で興味深い。

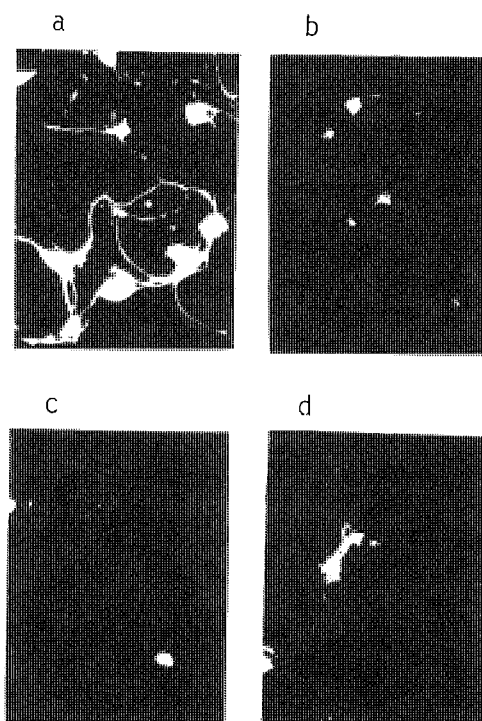


図 1 CB 存在下における OLG のチューブリン及びアクチン

a, b: 抗チューブリン血清処理, c, d: 抗アクチン血清処理, a, c: $10\mu\text{M}$ CB 添加後4日, b, d: 対照 (間接蛍光抗体法による)

アミノ酸配列の異なるニワトリ脳のエリン塩基性タンパク (MBP) について

中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治

中枢神経エリンの主要タンパクであるエリン塩基性タンパク (MBP) は、動物種により分子量の多形性が知られているが、異なる分子種の MBP がエリン形成にどのように関連しているかは明らかにされていない。

ニワトリ脳では従来から知られている 18.5K の MBP (MBP₁) のほかに、分子量のやや大きい MBP (MBP₂) の存在が認められた¹⁾。両 MBP の構造の比較検討の中で、MBP₂ がメチオニン (Met) 特異性をもつ BrCN 分解に抵抗性を示し、その断片のアミノ酸配列が従来の MBP₁ のそれとやや異なる可能性を認めた。

材料と方法

ニワトリ脳エリンを脱脂後、酸抽出を行い、逆相系の Pharmacia ProRPC-HR5/10カラムを用いた HPLC により MBP₁ と MBP₂ を分離した。溶出は 0.05% TFA 存在下アセトニトリルの濃度勾配により行った。70%ギ酸中、30°C、24時間の条件で BrCN 分解し、その断片を上記 HPLC により分離した。各断片の分離及び純度の検定は 15% ポリアクリルアミドの SDS-PAGE により行った。分離し得た断片のアミノ酸配列は気相法シーケンサー (Applied Biosystems 社) により検討した。

結果と考察

MBP₁ の BrCN 分解物の中、SDS-PAGE による約 8 K (M_{1s}) と約 9 K (M_{1l}) の断片を、逆相系 HPLC により得た。一方 MBP₂ は BrCN により完全には分解されず、SDS-PAGE による約 7 K (M_{2s}) と約 11 K (M_{2l}) の中で、7 K のみを得られた (図 1)。得られた各断片のアミノ酸配列の検討により、MBP₁ からの M_{1s} 及び M_{1l} の配列は、Carnegie ら²⁾ によるニワトリ MBP のアミノ酸配列から推定される断片と類似のものであることが示された。一方 M_{2s} を得た元の MBP₂ の切断箇所が MBP₁ の場合より C 末端側にずれていることから、両 MBP において Met の配列部位が異なる可能性が推測された。また M_{2s} の配列は M_{1s} と類似し、一部のアミノ酸が置換されている可能性も認められた (図 2)。エリンの形成過程において、ここに示された分子量がやや大きく、アミノ酸配列の一部が異なる MBP₂ の発現、局在、役割について興味もたれ、培養オリゴデンドロサイトを用いて現在検討中である。

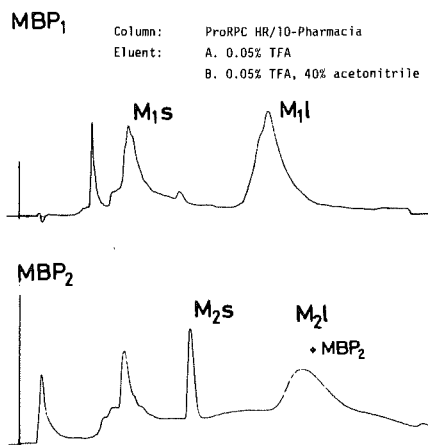


図 1. HPLC による MBP-BrCN 分解物の分離

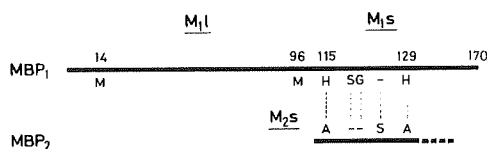


図 2. MBP のアミノ酸配列

文 献

1. Nakajima K, Oizumi N, Imazawa M, Miyamoto k: J Neurochem 41: Suppl, s46B, 1983
2. Mendz GL, Moore WJ, Carnegie PR: Aust J Chem 35: 1979-2006, 1982

逆相系 HPLC による myelin-associated glycoprotein (MAG) の精製

島村道夫, 今澤正興, 宮本侃治

糖蛋白は細胞間接合, 特に中枢神経系ではニューロン間, ニューロン-グリア間の接合に関与するものと想定されている。MAG は神経細胞の軸索の周辺に局在し, またミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイトにも認められることが報告され, ミエリン形成開始, 形成, 保持に何らかの役割をもつものと推測されている。

MAG はミエリン蛋白の約 1% を占め, 分子量約 100K の酸性蛋白質であるが, われわれは既報の Quarles らの方法を改良し, 逆相系 HPLC を用いた簡便, 迅速な方法を確立した。

材料と方法

ウシ大脳白質よりミエリンを調整, クロロホルム-メタノール脱脂したミエリン蛋白を出発材料とした。dithiothreitol (DTT) 存在下, lithium diiodosalicylate (LIS) により可溶化し, その遠心上清をフェノール抽出, 上層 (水層) を透析, 凍結乾燥した (LIS-フェノール抽出物)。さらに DTT 処理後, 逆相系カラム (TSK gel phenyl-5PWRP) を用いた HPLC により, 20mM tetrabutylammonium を含む 5mM ホウ酸緩衝液 (pH9.5)-アセトニトリルを溶出系として MAG を精製した。

結果と考察

ミエリンの LIS-フェノール抽出物にはかなりの不純物が混在することが SDS-PAGE により認められた (図 1)。そこで免疫系などに用いる高純度の MAG を必要とする場合は, 従来ゲル電気泳動のバンドから抽出する方法がとられてきた。今回はまず DTT 存在下に LIS-フェノール抽出を行い, さらに逆相系カラムを用いた HPLC により, カチオン系イオンペア試薬である tetrabutylammonium を含む弱アルカリ性の溶出系を用い回収率よく分離することを可能にした (図 2)。この溶出画分には LIS-フェノール抽出物に見られた不純物が除去され (図 1), 生化学的, 免疫化学的に高純度試料を要する場合に利用され得るものと考えられる。

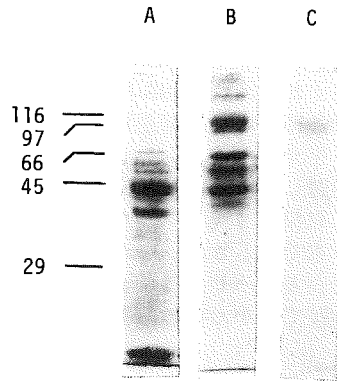


図 1. SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動パターン (10% アクリルアミド, CBB 染色)

A 脱脂ミエリン, B LIS-フェノール抽出物
C HPLC による MAG 画分

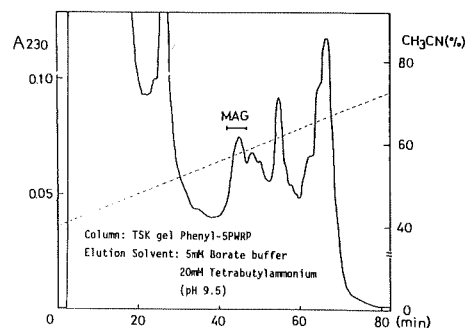


図 2. 牛脳ミエリン LIS-phenol 抽出物の逆相系 HPLC による分離パターン

文 献

1. Quarles RH, Barbarash GR, Figlewicz DA, McIntyre LG : Biochim Biophys Acta 757 : 140-143, 1983

けいれん関連物質とイノシチドサイクル

田口文子, 今澤正興, 宮本侃治

脳の酸性リン脂質であるポリホスホイノシチド(トリホスホ-及びジホスホ-イノシチド)は、部分精製した抗てんかん薬(フェニトイン)の特異的結合部位の結合活性に対し、約0.8mMを用いてそれぞれ70%及び50%程度の阻害を示した。そこで各種けいれん関連物質とポリホスホイノシチドを介したイノシチドレスポンスとの関連性を検討した。一方イノシチドレスポンスやけいれんに関連するイオンであるCa²⁺と、細胞内調節酵素であるカルシウム/カルモジュリン依存性蛋白キナーゼ(Ca/CaMキナーゼ)に対する各種抗てんかん薬の影響を併せて検討した。

材料と方法

ラット大脳皮質のスライスを用い、[³H]-イノシトールによりラベルされたポリホスホイノシチドから分解される[³H]-イノシトールリン酸を分離、測定して、イノシチドレスポンスとした。Ca/CaMキナーゼは、ラット脳よりカルモジュリン-アフィニティーカラムなどを用いて部分精製し²⁾、基質は熱処理した微小管結合蛋白(MAPs)を用い、 γ -³²P-ATPの蛋白リン酸化により活性を測定した。細胞内Ca濃度の調節はCaイオノフォー(A23187)とEGTAカルシウム緩衝液によった。

結果と考察

けいれん関連物質として試みられた各種薬物のうち、ムスカリン性アゴニストのカルバコール、ノルエピネフリン、高濃度カリウムによりイノシチドレスポンスは著明に促進された。しかしけいれん誘発物質であるペンチレンテトラゾールでは促進されないことを認めた(表1)。またCaイオノフォー存在下、細胞内遊離Ca濃度を10⁻⁷M以下にすると、カルバコールによるイノシチドレスポンスは著明に減少し、またそれ以上のCa濃度では濃度を変化させてもレスポンスの変化は認められなかった(図1)。またCa/CaMキナーゼに対する各種抗てんかん薬の作用を検討し、100 μ Mジアゼパムにより酵素活性が著明に阻害されることを認めた。

イノシチドレスポンスの促進はけいれん関連薬物の効果と必ずしも平行しないことが認められたが、キンドリングモデルのけいれん準備状態においてイノシチドレスポンスをさらに検討し、けいれん機序との関連性を解析する予定で

ある。

compounds	conc.	inositol phosphates (dpm)
control	10 ⁻³ M	1,860
carbachol	10 ⁻³ M	14,400
norepinephrine	10 ⁻¹ M	9,000
KCl	5 x 10 ⁻³ M	8,100
glutamate	10 ⁻³ M	5,000
5 HT	10 ⁻³ M	3,900
dopamine	10 ⁻³ M	2,780
pentylene tetrazol	10 ⁻² M	1,380

表1 けいれん関連物質とイノシチドレスポンス

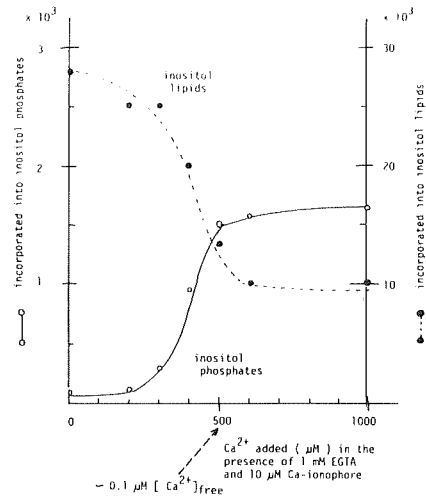


図1 イノシチドサイクルに対するカルシウムイオンの効果

文献

- Berridge MJ : Biochem J 220 : 345-360, 1984
- Bennet MK, Erondru NE, Kennedy MB : J Biol Chem 258 : 12735-12744, 1983

12. 免疫研究部

1. 研究部一年の歩み

本研究部では、自己免疫疾患である重症筋無力症の病因に関する生化学的研究と、神経系に作用する因子である神経成長因子の生理生化学的研究を行っている。研究にたずさわったのは、センター長里吉栄二郎、研究員古川昭栄、古川美子、赤沢左衛子である。客員研究員として林恭三（岐阜薬科大学教授）、研究生として遠藤斗志也（群馬大学工業短大部助手）が加わった。主な研究の概要は次の通りである。

(1) 重症筋無力症における未知抗原の検索と精製

重症筋無力症（MG）患者の重症度と抗アセチルコリン受容体（AChR）抗体の抗体価は必ずしも一致しておらず、AChR 以外の未知の抗原物質の存在が示唆されていた。この観点に立ち、昨年度に引き続いて検討した結果、ヒトも含め、各種動物骨格筋の生理食塩水抽出物中に MG 患者血清と高頻度に反応する物質が存在することを確認した。そこで、ラット骨格筋を出発材料として種々のクロマトグラフィーを行い、この物質の分離精製を試みているが、分子多様性に基付くと思われる活性分散傾向が強く、均一な標品を得るには至っていない。部分精製抗原画分を放射能標識し、MG 患者血清と反応させて得られた免疫沈降物を、電気泳動後オートラジオグラフィーでみると、分子量275~105Kダルトンを示す5種類の成分が検出される。今後、高抗体価を示す MG 患者血清中の IgG を固相化し、アフィニティクロマトグラフィーによる精製法を試みる計画である。

(2) 神経成長因子の生合成を促進するカテコラーミンの構造特異性

本研究部のこれまでの研究により、ノルエピネフリン、エピネフリンをはじめとするカテコラーミンが著しい NGF 合成促進作用を示すことが明らかになっている。本年度は、この作用がカテコラーミンのいかなる構造に基付くかを検討した。その結果、①カテコール核が必須であること、②脂肪族側鎖はその効果を増強していること、③側鎖のアミノ基は必須でないこと、④立体特異性がないこと、などが明らかとなった。

(3) アストログリア細胞による神経成長因子の生合成とその制御機構

本研究部のこれまでの研究により、中枢神経系由来の細胞であるアストログリア細胞が、NGF を合成、分泌することが明らかになっている。本年度は、アストログリア細胞の増殖と NGF 合成との

関連性について詳細に検討した。その結果、NGFの合成、分泌は、細胞が増殖している時に最も高く、細胞が静止するとほとんど起こらなくなることを明らかにした。これは、脳の発達、脳神経系の再生時におけるグリア細胞の役割を、分子レベルで説明できる結果であると考えられる。

(事務取扱 里吉栄二郎)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Ito A, Furukawa S, Satoyoshi E, Sakurai H :

Kinetic studies on neurotoxin-binding inhibitory antibodies in myasthenia gravis
Clin Chim Acta 152 : 315-323, 1985

- 2) Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :

Synthesis and secretion of nerve growth factor by mouse astroglial cells in culture
Biochem Biophys Res Commun, in press

- 3) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K :

Catecholamines induce an increase in nerve growth factor content in the medium of mouse L-M cells
J Biol Chem in press

- 4) Hayashi K, Nomoto H, Kurobe M, Nishimuro S, Hiratani H, Furukawa S :

A sensitive two-site enzyme immunoassay for human epidermal growth factor-urogastrone
Biochem Int 10 : 839-845, 1985

- 5) Kamo I, Tada-Kikuchi A, Furukawa S, Iwasaki Y, Nonaka I, Satoyoshi E, Itoh T :

Effects of thymic myoid cell culture supernatant on cells from lymphatic tissues
Cell Immunol 94 : 587-597, 1985

- 6) Kurobe M, Furukawa S, Hayashi K :

Synthesis and secretion of an epidermal growth factor (EGF) by human fibroblast cells in culture
Biochem Biophys Res Commun 131 : 1080-1085, 1985

- 7) Kurobe M, Aono M, Moriga M, Furukawa S, Hayashi K :

Assessment by a two-site enzyme immunoassay of human epidermal growth factor (urogastrone) in the urine of patients with various gastrointestinal diseases including malignant tumors :

Biochem Int 11 : 817-823, 1985

- 8) Kurobe M, Tokida N, Furukawa S, Ito K, Hayashi K :

A highly sensitive enzyme immunoassay (EIA) system for mouse epidermal growth factor (mEGF)

Biochem Int 11 : 825-832, 1985

- 9) Endo T, Nakanishi M, Furukawa S, Joubert F J, Tamiya N, Hayashi K :

Stopped-flow fluorescence studies on binding kinetics of neurotoxin with acetylcholine receptor

Biochemistry 25 : 395-404, 1986

- 10) Kurobe M, Tokida N, Furukawa S, Ishikawa E, Hayashi K :

Development of a highly sensitive enzyme immunoassay for epidermal growth factor (urogastrone)

Clin Chem Acta, in press

- 11) Kurobe M, Furukawa S, Hayashi K :

Molecular nature of human epidermal growth factor (hEGF)-like immunoreactivity in human plasma

Biochem Int, in press

c. 総 説

- 1) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三 :

神経成長因子

日本臨床 44 : 16-23, 1986

- 2) 古川美子, 古川昭栄, 林恭三 :

Nerve growth factor

臨床科学 22 : 224-230, 1986

B. 学会発表

- a. 特別講演, シンポジウム

II 研究業績

1) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三 :

アストログリア細胞による神経成長因子の合成, 分泌

第45回日本生化学会中部支部例会神経生化学シンポジウム, 神経系の機能とその異常, 名古屋, 12.14, 1985

2) 遠藤斗志也, 中西守, 古川昭栄, Joubert F J, 田宮信雄, 林恭三 :

ヘビ毒の神経毒蛋白とアセチルコリン受容体の相互作用

第58回日本生化学会シンポジウム, 仙台, 9.27, 1985

c. 一般学会

1) 中田泰弘, 野元裕, 林恭三, 古川美子, 古川昭栄 :

マウス株化線維芽細胞 L-M 細胞の合成分泌する神経成長促進因子の分子特性について

日本薬学会第105年会, 金沢, 4.4, 1985 (要旨集259)

2) 黒部真章, 坂本伸子, 平孝一, 西室悟司, 古川昭栄, 林恭三 :

ヒト上皮細胞成長因子 (EGF) の分子形態について

日本薬学会第105年会, 金沢, 4.5, 1985 (要旨集259)

3) 中田泰弘, 野元裕, 林恭三, 古川昭栄, 古川美子 :

各種神経成長促進因子の生化学的特性の比較検討

第58回日本生化学会, 仙台, 9.27, 1985 (生化学57: 854)

4) 黒部真章, 古川昭栄, 林恭三 :

ヒト線維芽細胞による hEGF の合成分泌

第58回日本生化学会, 仙台, 9.27, 1985 (生化学57: 1130)

5) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 林恭三 :

カテコラミンによるアストログリア細胞の NGF 合成調節作用

第58回日本生化学会, 仙台, 9.27, 1985 (生化学57: 1132)

C. 班会議発表

1) 加茂功, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 藤沢加津美, 菊池愛子, 埜中征哉 :

ラット胸腺筋様細胞由来ヘパリン結合因子の作用

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和60年度班会議, 東京, 1.18, 1986

2) 小宮山純, 平山恵造, 新井洋, 加茂功, 古川昭栄 :

重症筋無力症: ステロイド治療に伴う初期増悪の臨床免疫学的検討

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班，昭和60年度班会議，東京，1.18,1986

3) 杉田秀夫，山本剛司，古川昭栄，佐藤猛：

重症筋無力症における抗細胞骨格蛋白 (filamin, vinculin) 抗体価－臨床経過および抗 AChR 抗体との関連

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班，昭和60年度班会議，東京，1.18,1986

3. 主な研究報告

骨格筋抽出物に見い出される重症筋無力症の抗原物質について

古川昭栄, 赤沢左衛子, 里吉栄二郎

重症筋無力症 (MG) の患者血清中には高頻度にてアセチルコリン受容体 (AChR) に対する抗体が見い出されている。しかし、抗 AChR 抗体価と臨床症状は必ずしも一致しておらず、他にも病因と関連する抗原の存在が示唆される。この観点から著者らは検討を進め、骨格筋の PBS 抽出物中に AChR とは異なる抗原物質の存在を認めた。この物質のいくつかの性質について報告する。

方 法

ラット骨格筋を 4 倍重量の冷 PBS でホモジナイズし、10 万 g で遠心する。沈降物を再びホモジナイズ、遠心分離して上清液を集め、実験に用いた。抗原活性は昨年度報告した ELISA 法によって測定した。

結果と考察

すでに昨年度、骨格筋抽出物を抗原として MG を含む種々の神経・筋疾患患者血清中の抗体価を調べ、MG 患者血清中に 82% の陽性率で抗体が検出されることを報告している。まずこの反応が真の抗原抗体反応であることを確かめるために、2 種の MG 患者血清から IgG と、IgG をペプシン消化して $F(ab')_2$ フラグメントを調製した。この IgG と $F(ab')_2$ フラグメントを抗原画分と反応させるとほぼ類似した用量依存度を示すことから、著者らが観察しているのは非特異的な反応ではなく、IgG の Fab' フラ

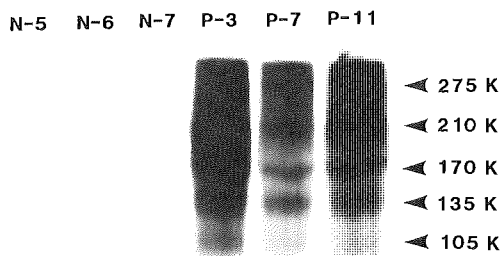
グメントと抽出物中の分子との抗原抗体反応であることがわかった。

骨格筋抽出物を Sepharose CL6B カラムでゲル濾過し、抗原活性の分布を調べると分子量の異なる 3 つのピークが認められた。この 3 つの画分を互いに作用させて MG 患者血清中抗体を吸収すると、相互に抗原性の差を認めなかった。

次に最も高い抗原活性を示す、分子量 20 万前後の画分を ^{125}I で放射標識し、約 10 万 cpm を 1 ml の患者血清とインキュベートした後、抗ヒト IgG を加えて免疫沈降物とした。用いた患者血清 7 例のうち 4 例の血清で正常人血清より高い放射活性が見い出された。正常人、患者血清の免疫沈降物 3 例ずつを SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動し、 ^{125}I 放射活性の分布をオートラジオグラフィーによって調べた。図 1 に示すように正常人血清では全くバンドが検出されないが、患者群では図示した 5 種の分子量を示すバンドが検出された。用いた 3 例の患者血清間では 5 種のバンドの相対的強度に変化がなく、これら成分の抗原性は同一であることが示唆された。

今後、高抗体価を示す患者血清の IgG または $F(ab')_2$ フラグメントを固相化し、これを用いたアフィニティークロマトグラフィーによって抗原物質の精製を試みる予定である。

図 1 Autoradiogram of immunoprecipitates



神経成長因子の生合成を促進するカテコラミンの構造特異性

古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎

神経成長因子 (NGF) はマウス各種臓器の線維芽細胞で合成分泌されること, NGF の合成はノルエピネフリン (NE), エピネフリン (EN) により促進されることを, 我々はすでに明らかにした。本年度は, NE, EN の構造と NGF 合成促進効果との関係について検討した。

方法

NGF 産生線維芽細胞としてマウス L-M 細胞を用い, 0.5% ペプトンを含む 199 培地で培養した。NGF の測定は EIA によった。

結果と考察





NE, EN は, フェノール環の 3, 4 位に OH 基が存在するカテコール核に, アミンの結合したカテコラミンである。我々はすでに, NE, EN の 3-メトキシ前駆体, 3-メトキシ代謝物には NGF 合成促進効果のないことを明らかにし, このことから, NGF 合成促進は NE, EN 分子中のカテコール核による効果であることを示唆していた。この推論は, ピロカテコールに弱いながら効果が認められ, レゾルシノール, 2, 3-ジヒドロキシピリジン, 2, 3-ジヒドロキシナフタレンに効果のないこと (表 1) からも確認された。

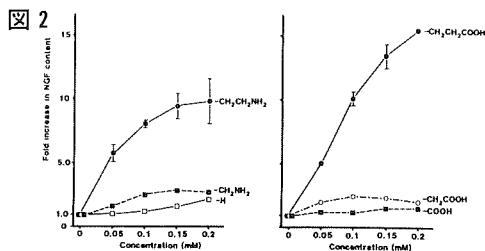
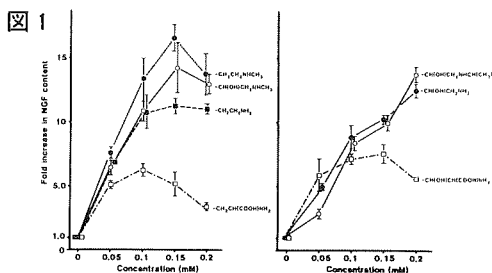
次に脂肪族側鎖の構造と NGF 合成促進効果との相関性を調べた。その結果 NE(-CH(OH)CH₂NH₂), EN(-CH(OH)CH₂NHCH₃) 以外の

カテコラミン, 即ちドーパミン(-CH₂CH₂NH₂), エピニン(-CH₂CH₂NHCH₃), イソプロテレノール(-CH(OH)CH₂NHCH(CH₃)₂) でも大差なく効果のあること (図 1), アミノ基の代わりにカルボキシル基のついた 3, 4-ジヒドロキシフェニルプロピオン酸(-CH₂CH₂COOH) にも同程度の効果のあること (図 2), 両性イオンをもつドーパ(-CH₂CH(COOH)NH₂) や 3, 4-ジヒドロキシフェニルセリン(-CH(OH)CH(COOH)NH₂) の効果はやや弱いこと (図 1), d 体 1 体のイソプロテレノールの効果に差のないこと, が明らかになった。また, ドーパミンより炭素数の 1 つ少ない側鎖をもつ 3, 4-ジヒドロキシベンジルアミン(-CH₂NH₂) の効果は弱くピロカテコール(-H) よりわずかに強いだけであること, 3, 4-ジヒドロキシフェニルプロピオン酸より炭素数の 1 つ少ない 3, 4-ジヒドロキシフェニル酢酸(-CH₂COOH), 2 つ少ない 3, 4-ジヒドロキシ安息香酸(-COOH) の効果も弱いこと (図 2) が明らかになった。

以上の結果は, NE, EN の NGF 合成促進効果に, カテコール核が必須であること, 脂肪族側鎖はその効果を増強しているがアミノ基の存在は必須でないこと, 立体特異性がないこと, を示すものである。

表 1

Treatment (0.1 mM)		Fold increase in NGF content
None (control)		1.00 ± 0.07
Pyrocatechol		2.31 ± 0.38
Resorcinol		0.96 ± 0.02
2,3-Dihydroxypyridine		0.90 ± 0.06
2,3-Dihydroxynaphthalene		0.85 ± 0.12



アストログリア細胞による神経成長因子の合成，分泌と細胞増殖との関係

古川昭栄，古川美子，里吉栄二郎

アストログリア細胞は神経細胞の物理的サポートとしてだけでなく，より積極的に神経細胞の分化，成長，機能保持に関与していると推定されている。この機能の一部は神経栄養因子と総称される物質を介して発揮されると推定されるが，この分野の報告は限られている。

著者らは最近，神経成長因子 (NGF) がアストログリア細胞によって分泌されることを見出した。NGF がどのようなしくみでアストログリア細胞から分泌され，神経細胞に作用するかを調べることによってグリア細胞-神経細胞の相互作用を明らかにするのが本研究の目的である。

方法

生後8日令のマウス (ICR系) 脳からアストログリア細胞を培養し，数回の passage を重ねて形態的にほぼ均一な細胞集団となったものを用いた。培養は10%牛胎児血清 (FCS) を含む Dulbecco's MEM, 5%CO₂ 下, 37°Cで行った。NGFの定量は高感度エンザイム免疫アッセイ (EIA)で行った。

結果と考察

まず初めにアストログリア細胞の増殖とNGFの分泌量との関係を調べた (図1)。アストログリア細胞を24穴プレート (10⁴個/ウェル)にまき，以後毎日，培養液を集めてNGF濃度を測定した。細胞が対数増殖期にある1~6日では細胞数の増加に伴ってウェルあたりのNGF量が増加したが，confluentに達した7日以後は徐々に減少した。細胞10⁶個あたりの分泌量でみると，細胞密度が低い程NGFの合成，分泌量が多かった。図1に示すように，この現象は細胞がconfluentになった後，再び低密度にまき直しても再現した。一方，培養5日目でFCSを培養液から除去すると，NGFの分泌は急激に低下した。これらの結果は，NGFの分泌はアストログリア細胞が対数増殖期にあるときに高く，静止期では低いことを示唆している。

次にFCS除去培養液で長期 (2週間) 培養して静止期に導入した細胞をFCSを含む培養液に置き換え，NGFの分泌量を2時間ごとに経時的に調べた。分泌量の増加はFCS入培養液に置換してから4~6時間で認められ，6~8時間でピークとなった。以後，徐々に低下する傾

向があったが，細胞周期が完結するまでおおむね分泌量は一定であった。

以上の結果から，アストログリア細胞におけるNGFの合成，分泌は細胞が細胞周期内にあるときに高く，静止期ではその100~1000分の1の低レベルであること，特定の細胞周期には依存していないことが推定された。

Relationship Between Growth And NGF Secretion In Astroglia Cells

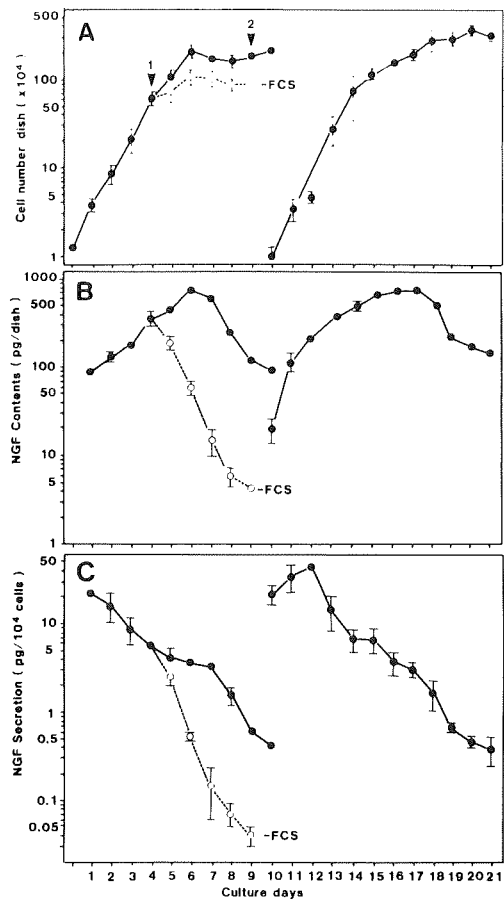


図1

13. モデル動物開発部

1. 研究部一年の歩み

神経センターの実験動物研究棟の建設は昭和58年度に始まった。本年度はこの施設と関連して、モデル動物開発部が新たに研究部門として発足した。部長は昭和60年10月1日付で発令され、早速研究部の研究室の設計、内部設備の整備、そして研究員の選考が開始された。従って、部門としての研究成果はまだ報告できないが、部の研究目的や内容、及び整備状況について概要を述べることにする。

当部はヒトの神経難病のモデル動物を開発、改良し、それらを生産、供給するとともに、他の研究部と協力しながら病因の解明、治療法の開発を目指すことを目的として開設された。部門は動物生産室、動物遺伝解析室、モデル動物診断室の3室で構成される。動物生産室は、すでに開発され遺伝的背景の明らかとなったモデル動物を維持、生産し、継代の困難な個体の配偶子や胚を保存したり、体外受精や卵巣移植の手法により種を永久に維持する方法を開発する。動物遺伝解析室は発見された異常動物の遺伝様式を明らかにし、その疾患遺伝子を動物個体へ導入して発症機構を明らかにする。発生工学的手法を用いたこの方法は、さらに新しい疾患動物を人為的に作出する道を開く。モデル動物診断室は発見された異常動物を主に臨床、病理学的に検査し、さらに人為的に導入された外来遺伝子の発症機構を解析する。

部の各研究室の配置や内部設備は以上のような研究目的に沿って整備されつつあり、本年度は実験に必要な基本的設備に力点が置かれた。各室の要所要所には全自動洗浄器、自動純水製造装置、超低温槽等を備えた。組み替え DNA 実験や発生工学実験は胚操作室で行われ、バイオハザード安全キャビネット、炭酸ガス培養器に加えて、倒立型システム顕微鏡に高性能のマイクロマニピレーターを装着し、さらに核酸生化学実験のためには分離用超遠心機、真空高速冷却遠心機等を備えた。酵素組織化学、病理形態学実験のためにはブライト社のクリオスタット、テッシュウテック包埋装置、ライヘルト社の超ミクロトーム等を購入した。さらに形態変化の迅速かつ正確な解析のため、コントロール社の Mop - Videoplan を備えた。

(部長 菊池建機)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Kikuchi T, Ohwada S, Katoh M, Sai Y, Sugawara Y, Tamate H :

Gene expression of Muscular dystrophy in dwarf chicken.

Tohoku J Agr Res 36 : 17 - 22, 1985

- 2) Ohwada S, Kikuchi T :

A microphotometric study on the proliferation pattern of muscle cell nuclei in chickens with hereditary muscular dystrophy.

Tohoku J Agr Res 36 : 63 - 68, 1985

b. 班会議報告書

- 1) 菊池建機, 齋喜明, 菅原幸浩, 大和田修一 :

筋ジストロフィー鶏骨格筋の脂質と血管系の構築

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発, 供給に関する研究班 昭和59年度研究報告書, P93-110, 1985

B. 学会発表

- 1) 菊池建機 :

筋組織の脂質および血管網の同時証明法

第77回日本畜産学会, 東京, 4. 2, 1985

- 2) 小野裕之, 菊池建機, 水野重樹 :

ニワトリの卵巣分化に伴う遺伝子発現(1)左卵巣に特異的な cDNA クローンの検索

第8回日本分子生物学会, 東京, 12. 2, 1985

C. 班会議発表

- 1) 菊池建機 :

筋ジストロフィー症と矮性因子

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症動物の開発, 供給に関する研究班, 昭和60年度班会議 東京, 12. 5, 1985

3. 主な研究報告

鶏筋ジストロフィー-浅胸筋に対する矮性遺伝子作用

菊池建機, 武田伸一*

常染色体不完全優性の遺伝様式に従う鶏の筋ジストロフィー(以下筋ジスと略)遺伝子(am)は、伴性劣性遺伝に従う矮性遺伝子(dw)が導入されると、浅胸筋筋線維の急激な萎縮と消失、それに付随する著しい脂肪組織の増生を起し、症状を著しく悪化する。鶏体を小型化するdw遺伝子はam遺伝子に対して強い変更遺伝子として作用する。am遺伝子をヘテロ接合体として持つヘテロ鶏は、筋組織の病変や血中酵素活性の上昇において、ホモ接合体の筋ジス鶏と正常鶏のほぼ中間を示す。しかし、筋線維を構成するトロポミオシン、トロポニンT、デスミンおよびビメンチンという3つの蛋白には異常が認められない。筋ジス鶏浅胸筋の筋線維はトロポミオシン α 鎖に加えて、成熟した正常筋では見られない β 鎖を含んでいるが、ヘテロ鶏ではこの β 鎖の合成が抑制される。この意味で、am遺伝子の筋組織レベルでの発現は優性、蛋白レベルでは劣性遺伝の様式をとる。ここでは、ヘテロ鶏(am/+)にdw遺伝子を導入し、この遺伝子が筋の組織および蛋白に対しどのように作用するかを解析した。

方法

実験鶏は白色レグホン種(WL)と矮性鶏(WL-dw)のそれぞれに筋ジスam遺伝子を導入した白レグ筋ジス鶏(WL-am)と筋ジス矮性鶏(WL-am, dw)を用いた。種々の遺伝子型を有する実験鶏はこれらの鶏の交配によって得られた。組織学的研究は10, 16週, 1年齢の鶏浅胸筋の中央部から組織を採取し、10%中性ホルマリン溶液にて固定した。固定終了後、組織は四酸化オスミウム-パラフィン包埋法で処理され、脂質を染め出す組織病理標本を作成した。ニューウーハンプシャー種筋ジス鶏(NH-413)は日生研の水谷誠班員から供与された。14週齢の白レグ種(WL), 矮小鶏(WL-dw), 筋ジス矮小鶏(WL-am, dw)雄雌、各6羽ずつを供試した。翼下静脈より採血し、血漿を分離後、RIA法により測定するまでプールし、 -20°C に凍結保存した。甲状腺ホルモンの血中濃度はトラベノール社のキットを用い、T4は

Gamma Coat T4 Kit, T3はGamma Coat T3 Kitで測定した。組織学的検索のため採取された部位とほぼ同じ位置から数本の筋束をガラス棒に結索したまま切出し、 -20°C の50%グリセリン中に保存した。筋線維の蛋白はIEF-SDS-PAGEによる2次元電気泳動により分析した。アクリルアミドの濃度は15%に調整した。ゲルは最終的に0.05% CBBで染色した。

結果及び考察

変更遺伝子は遺伝子の相互作用によって、他の遺伝子座にある遺伝子の形質発現に影響を与える遺伝子である。この遺伝子は他の遺伝子の形質発現を強調したり、その突然変異性を増加させたりする強調遺伝子と、他の遺伝子の働きを弱めたり、その働きを完全に抑えてしまったりする制御遺伝子や抑圧遺伝子とに分けられる。筋ジス矮性鶏は、2種の遺伝子、すなわち筋ジス遺伝子(am)と矮性遺伝子(dw)を有する。Z染色体上にあるdw遺伝子は常染色体上にあるam遺伝子に対しては強調遺伝子として作用しam遺伝子の発現を増大する。従って、dw遺伝子を有する筋ジス矮性鶏浅胸筋の筋線維は萎縮、消失し、さらに、それらと平行して脂肪組織の浸潤が顕著となる。同様の結果はヘテロ鶏(am/+)にdw遺伝子が導入された場合にも見られる。

正常鶏浅胸筋のトロポミオシンは α 鎖から成るが、筋ジス筋のそれは α 鎖に加えて β 鎖が長期にわたって残存する。ヘテロ鶏(am/+)浅胸筋は正常筋と同様にトロポミオシン β 鎖は出現しない。しかし、dw遺伝子をホモに持つヘテロ鶏は、体形が小型化するに伴い、野生型対立遺伝子によって制限されていたam遺伝子の発現が解除され、筋線維の収縮蛋白レベルでの異常が現れる。dw遺伝子をヘテロ接合体として持つ大型のヘテロ鶏の浅胸筋筋線維はトロポミオシン β 鎖を合成せず、正常筋と同じ反応を示す(図1)。これらの事実は、導入されたdw遺伝子がヘテロ鶏浅胸筋筋線維において、本来am遺伝子の発現が抑制されることによって合成されることのない収縮蛋白、特にトロポミオシン β 鎖を僅かではあるが合成する方向へ修飾したことを示唆する。

* 信州大学医学部第三内科

伴性劣性遺伝に従う矮性鶏の血中甲状腺ホルモン, Tri-iodothyronine (T3) 濃度は孵化後早期にすでに著しく低下していることが報告されている。14週齢で行った我々の測定結果もこのことを裏付けている。鶏体を小型化する dw 遺伝子の一義的形質発現の場は甲状腺ホルモンの低下であり, 筋レベルでの筋ジスの発現は, am 遺伝子とホルモンとの相互作用の結果として把握される。甲状腺ホルモンは筋線維の収縮蛋白や, 酵素反応に作用し, 過量 of ホルモンは筋線維を速筋へ分化させ, ホルモン濃度の低下は逆に筋線維を遅筋へと変換させることが知られている。今回ヘテロ鶏浅胸筋でみられたトロポミオシン β 鎖の出現は, 血中甲状腺ホルモン濃度の低下による筋線維の遅筋化と関連があるように思われる。このような甲状腺ホルモンの筋への作用は神経を介するとも報告されているが, 詳細なメカニズムは尚明らかとなっていない。

引用文献

- 1) Kikuchi, T. et al.: Genetic hethrozygous carries in hereditary muscular dystrophy of chickens. Tohoku J. Agr. Res., 32 : 14.1981
- 2) Kikuchi, T. et al : Gene expression of muscular dystrophy in dwarf chicken. Tohoku J. Agr. Res., 36 : 17.1985
- 3) Takeda, S. and Y. Nonomura : Presence of the tropomyosin β -chain in dystrophic chicken breast muscle. Biomed. Res., 1 : 176, 1980
- 4) Scanes, C.G. et al.: Abnormalities in the plasma concentrations of thyroxine, tri-iodothyronine and growth hormone in sex-linked dwarf and autosomal dwarf White Leghorn domestic fowl (Galls domesticus). J. Endocr., 97 : 127, 1983
- 5) Ianuzzo, C.D. et. al. : A possible thyroidal trophic influence on fast and slow skeletal muscle myosin. In : Pette, D. ed., Plasticity of Muscle. Walter de Gruyter, Berlin, N.Y., p593, 1980
- 6) Johnson, M.A. et. al.: A neurally mediated effect of thyroid hormone deficiency on slow - twitch skeletal muscle? In : Pette, D. ed., Plasticity of Muscle. Walter de Gruyter, Berlin, N.Y., p607, 1980

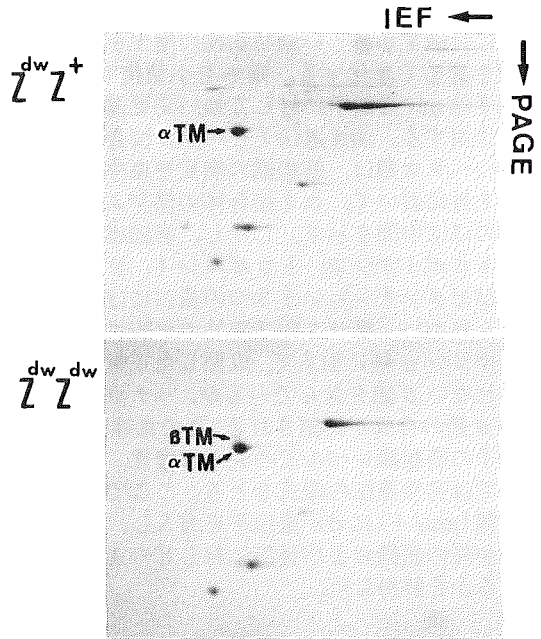


図1. 10週齢筋ジスヘテロ鶏 (am/+) 浅胸筋トロポミオシンの dw 遺伝子ヘテロ接合体 ($Z^{dw} Z^{+}$) とホモ接合体 ($Z^{dw} Z^{dw}$) 間の二次元電気泳動による比較。

α TM: トロポミオシン α 鎖 β TM: トロポミオシン β 鎖

14. 神経筋病棟報告要旨

白内障, 知能低下, 小脳失調を呈した2例

北村純一, 横井風見, 富英明
亀井敦行, 杉田秀夫, 里吉栄二郎

幼少児期より発症の白内障, 精神発達遅滞を伴い, CTscanにて小脳及び前頭葉の萎縮を認めた2症例を報告した。症例1は27才男。症例2は48才女。白内障はそれぞれ5才以前に認められ, 症例1の方が強度であった。知能はそれぞれWAIS 56, 言語性IQ 84であり, 小脳症状はそれぞれ小学校頃, 30代に出現している。歩行は症例1がwide-baseを伴った痙性歩行, 症例2は失調性歩行である。症例2ではEMGで下肢にdurationの長いpolyphasic NMU所見あり, 神経生検にて中等度の有髄線維脱落と節性脱髄の所見を認めた。両例ともライソゾーム酵素は正常であった。

また両例ともはっきりした遺伝歴はない。
(第14回三多摩神経疾患懇話会)

Spastic paraparesisの眼球運動

亀井敦行, 春原経彦, 富英明
里吉栄二郎

臨床的に錐体路症状以外に明らかな他の病巣の存在を思わせる症状を持たない原因不明のspastic paraparesis (SP) 5例, familial spastic paraparesis (FSP) 3例の計8例全例にsaccadic movement及びsmooth pursuit movementの異常を認めた。8例中7例は軽度～中等度の障害であった。眼球運動障害のパターンはSCDに比し軽く, ALSのパターンに近い。30°のsaccadeのlatencyを比較すると, SP, FSPは289.7, control 248.8, ALS 263.2msecと有意差はなかった。Max.velocityはcontrol 287.1, SP, FSP 287.1deg./secと有意差はなかった。しかしALSでは219.7deg./secとcontrolと比し有意に遅かった ($P < 0.05$)。
(第26回日本神経学会総会)

相互転座(X; 5)を認めたDMPの一女性例

富英明, 亀井敦行, 埜中征哉
杉田秀夫, 里吉栄二郎

11才女兒。主訴: 四肢筋力低下。独歩開始(15箇月)後より四肢筋力低下緩徐進行。現在, 手擦使用にて階段昇降可能。家族歴, 血族結婚(-)。心肥大(-)。神経所見: 知能低下(-)。四肢近位筋優位中等度筋萎縮, 筋力低下。菱形筋, 下腿筋仮性肥大(+)。DTR(-)。鴨様歩行(+), Gowers'sign(++)。CK900U/L。呼吸機能検査; 中等度拘束性障害。胸部レ線, ECG異常なし。EMGは筋原性変化。上腕二頭筋生検; 中等度dystrophic change。末梢リンパ球染色体検査にて(x; 5)(p21, q13)の相互転座。Brd.U法による後期複製は, 正常Xが40/40。x-常染色体相互転座による女兒DMDは本邦第3例目であるが, 同年例の男児DMDに比較し臨床, 筋病理所見ともやや軽度である。母親のCK, 染色体は正常。

(第93回神経学会関東地方会)

眼球一眼瞼協調運動の解析—パーキンソン病と正常人の比較

富英明, 春原経彦
里吉栄二郎, 橘滋国

著明な眼球運動制限のないパーキンソン病患者に対し, 音刺激による開閉眼と垂直方向の衝動性眼球運動の検索を行ない, 眼球眼瞼運動を検索し正常人と比較した。パーキンソン病では, 音刺激による開眼時の眼球眼瞼の運動開始までの潜時遅延が, 衝動性眼球運動では, 上方視時, 眼球眼瞼の潜時遅延と, 上下方視時の眼瞼運動速度の低下を認めた。また多くの例で眼球に階段状変化がみられたが, 眼瞼には, みられない例もあった。この様にパーキンソン病では, 反応時間の延長と, 眼球眼瞼の協調運動の際の両者の障害のされ方に解離がみられた。また衝動性眼球運動と音刺激の際の眼瞼運動障害との間にも解離がみられた。

(第6回三多摩パーキンソン病懇話会)

成人病症の Sudanophilic leucodystrophy の一部検例

亀井敦行, 北村純一, 富英明
向山昌邦, 里吉栄二郎

家族内発症のない, 40代に左片麻痺で発症し, 経過中 Oculo-raryngo-pharyngodiaphragmatic myoclonus. 中等度の Pleocytosis を伴った SLD の一部検男性例を報告した。病理学的には sudan 陽性顆粒を伴う大脳及び小脳白質の広範な瀰慢性の脱髄, 脳幹部錐体路, 脊髓の錐体路・後索に限局した対称性脱髄を認めた。其他副腎・腎・肝に sudan 陽性顆粒の沈着を認めた。astroglia の増生及び軽度の perivenous cuffing を認めたが, 著明な細胞浸潤はない。剖検脳の生化学的分析では極長鎖脂肪酸の増加はなく, コレステロールエステルの著増, sphingolipid の減少を認めた。又延髄のオリブ核の肥大を両側に認め Oculo-raryngo-pharyngodiaphragmatic myoclonus の責任病巣と考えられた。(第94回日本神経学会関東地方会)

FSH 型筋ジストロフィー症と脊髄小脳変性症を合併した一家系

亀井敦行, 富英明, 向山昌邦
石原傳幸*, 儀武三郎*

FSH 型筋ジストロフィー症と SCD を併せ持った極めて稀な一家系を報告した。本家系は症例1及び2の両親が, それぞれ兄弟同志であり, 症例2の父は若い頃より失調歩行・聴力障害を伴い, 姉も SCD と診断された。症例1は45才男で, 小学校より FSH の症状で発症し, 40才より SCD の症状を伴う。症例2は47才男で, 38才より失調歩行で発症し, FSH 症状は自覚していないが, 他覚的には軽度の FSH 型の筋萎縮を認めた。CT にて両例とも小脳の萎縮を, 症例1では large cisterna magna を伴っていた。筋生検では両例とも筋線維の大小不同を認め, small angular fiber を僅かともなった。すなわち症例1は FSH が, 症例2は SCD が主体をなしていた。(第95回日本神経学会関東地方会)

* 国立療養所東埼玉病院

Varicella-zoster meningomyeloradiculopathy の1例

亀井敦行, 富英明, 田平武
里吉栄二郎

症例は38才主婦。亜急性に発症し髄膜刺激症状, 左外転神経マヒ, 下顎及び四肢腱反射亢進, 手関節以下及び L1 以下の全知覚鈍麻, 下肢近位筋筋力低下を認めた。両側の耳鳴・耳痛・眼痛・複視, 排尿・排便困難伴う。皮疹なくまた水痘の既往なし。髄液所見は圧 240mmH₂O, 820/3 リンパ球増多, 蛋白 452mg/dl, IgG 106mg/dl と著明上昇。培養陰性。VZV 抗体価 32 倍。入院直後の髄液採取後, 髄膜刺激症状, 左外転神経マヒ, 複視は軽減。反射も下顎及び上肢の反射低下する。入院 2 週後には上記所見及び症状回復した。髄液 226/3 pleocytosis, 蛋白 296mg/dl と高値を示し, VZV 抗体 32 倍から 2 倍となった。Predonine 100mg 隔日投与し臨床症状及び髄液所見改善する。

(第96回日本神経学会関東地方会)

網膜欠陥の著明な蛇行, 感音性難聴, 精神遅滞を伴った1幼児期発症例

松坂哲應, 桜川宣男, 桑原英明*
埜中征哉

1才6カ月で両側顔面筋麻痺に気付かれ, 6才で前彎, waddling gait を示し, 精神遅滞, 網膜血管蛇行, 感音性難聴を伴った顔面・肩甲・上腕型筋ジストロフィー症の孤発女児例を報告した。CK, LDH, Aldolase は軽度上昇。筋電図は中等度の myopathic change。筋生検では軽度の筋線維の大小不同と small angular fiber を認めた。pure-tone audiometry の感音性難聴を認めた。本症は FSHD の典型例に比較し発症が早く, 早期進行性であり, Carroll らの提唱する infantile FSHD に相当すると考えられる。早期発症の FSHD の症例に Coats 病や感音性難聴を伴う症例が稀に報告されているが, Coats 病とは異なり網膜血管の著明な蛇行を合併する症例はなく, 報告例との異同を検討した。(第14回三多摩神経疾患懇話会)

* 国立長良病院小児科

先天性眼瞼下垂，眼球陷凹，先天性眼振，筋緊張低下，open mouth，精神運動発達遅滞を呈した1歳女児例

須貝研司

生下時より眼瞼下垂，眼球陷凹，open mouth，筋緊張低下あり，乳児期早期より振り子様眼振，視力障害，精神運動発達遅滞に気づかれた1歳3ヶ月女児に，網膜色素変性，視神経萎縮，網膜動脈狭小化，ERG無反応，CTで小脳虫部欠損，脳幹狭小，クレアチニン・クリアランスの軽度低下とIPおよび腎CTで多発嚢胞腎を認め，松坂らの提唱した有馬症候群と診断した。本症候群は6例報告されているが，本例は早期に生前診断され，現在唯一の生存例である。Leber's congenital amaurosis，眼瞼下垂，精神運動発達遅滞，小脳虫部欠損のある例では，血液生化学・尿所見に変化がなくても，IP，腎CT，腎エコーを行なうことが重要である。（第7回多摩小児神経集談会）

好酸性肉芽腫の既往があり，急性の完全型脊髄横断症状を呈し，当初，脊髄CT・ミエログラフィーで異常がなかった13歳女児例

須貝研司

頭部に原発し3回再発した好酸性肉芽腫があり，放射線・化学療法の既往のある13歳女子に，急性の弛緩性対麻痺，ほぼ完全な下肢知覚脱失，膀胱直腸障害がおり，某院入院，放射線療法施行。脊髄造影，脊髄メトリザマイドCT，髄液検査で異常なく，腫瘍は否定とのことで当科へ。背部痛，髄膜・根刺激症状出現，髄液通過障害ないが蛋白著増したため，再度脊髄造影等施行。振動覚がわずかに残存するため，腹臥位で検査し，T8の腹側部に限局する腫瘤を認め，モノクローナル抗体による髄液細胞診で悪性リンパ腫と判明。急性期の放射線治療と病理診断の違いが診断を困難にし，また既往の治療に起因する脊髄の脆弱性に血管障害が加わって発症したと思われた。（第11回米子セミナー）

重度精神運動発達遅滞があり，3才より運動退行を示した4才女児例

曾根翠

症例，4才，女児。主訴，運動機能の低下。家族歴，既往歴，特記すべき事なし。現病歴，生来精神運動発達遅滞を認め，2歳10ヶ月時頸定，両手支持つき坐位，半寝返りが可能であった。3歳4ヶ月時，睡眠中に呼吸の荒くなる発作が出現し，以後徐々に運動機能の退行を見，3歳6ヶ月時には頸定不能となった。現症，発達月令は運動3ヶ月，理解言語10ヶ月で，DQR。痙性四肢麻痺を認めた。検査所見。血清IgM，420mg/dl。CT，脳室拡大，脳溝拡大を認めた。脳波，睡眠時間両側前頭～後頭部に0.5～2Hz棘徐波複合がほぼ連続して認められた。以上より本児の運動機能の退行はElectrical status epilepticus induced by sleepによるものと考えられた。（第11回米子セミナー）

Sanfilippo syndrome (type B) 患児にみられた Oculogyric crisis

曾根翠，桜川宣男，石川弘*
有馬正高

Sanfilippo syndrome (type B) に oculogyric crisis を合併した1例を報告した。症例，18歳，女。父母はいとこ半結婚で，妹も同疾患に罹患。5歳時社会性低下で発症し，10歳より頸部後屈し上又は左上方を凝視する発作が出現。18歳時には高度の知能低下と軽度の錐体路障害，軽度の関節拘縮を認めた。皮膚線維芽細胞のN-acetyl- α -D-glucosaminidase 活性の低下を認めたことより Sanfilippo syndrome (type B) と診断した。発作は突然頸部後屈と眼球上転がおり，それが10分から10時間以上持続し，意識は保たれるものであった。この症状は脳炎後パーキンソニズムに見られた Oculogyric crisis と同様のものと考えられたが，その機序は不明で，今後の症例の集積が期待された。

（第93回日本神経学会関東地方会）

* 日本大学眼科

Dimethylsulfoxide (DMSO) によるニーマン・ピック (N-P) 皮膚線維芽細胞の酵素欠損修復について

桜川宣男，佐藤充，吉田豊
有馬正高，里吉栄二郎

強い2極性モーメントを有する溶媒剤である

DMSOが皮膚線維芽細胞の酸性スフィンゴミエリナーゼ活性(Sph'ase活性)を上昇させる作用があり、本症特にタイプCのN-P病の酵素欠損を正常値にまで修復する作用を見出したので報告する。DMSO処理によるSph'ase活性の増加は、正常細胞は236%、N-P病タイプBは280%、タイプCは480% of controlであった。他のライソゾーム酵素は一般に増加傾向を示したがSph'ase活性の上昇より軽度であった。正常細胞を用いた実験により薬剤の直接効果およびactivatorの出現は否定された。DMSOによる細胞レベルでのSph'ase活性上昇を惹起する作用が証明され、N-P病の治療効果の可能性が示唆された。(第27回日本小児神経学会総会)

進行性筋ジストロフィー症(PMD)における糖代謝異常について

桜川宣男, 松坂哲應, 豊田桃三
平山義人, 島藪安雄, 末広牧子*

安定同位元素 [¹³C] 標識のグルコースおよび脂肪酸を用いた呼吸テストを Duchenne 型 PMD の患者に施行した結果、糖代謝異常の可能性が示唆されたので報告する。糖質呼吸テストの対象 PMD 児 4 名、脂肪酸呼吸テストは 19 名。14~15 時間禁食とし、¹³C-グルコース又は ¹³C-オクタノン酸を経口投与。経時的に呼吸を採取。¹³CO₂ 分析は同位体比分析用質量分析計を使用。脂肪酸呼吸テスト：¹³CO₂ 呼吸中排出量の 3 時間積分値は PMD 対照児で 39.1±9.2 %dose/3h に対し、PMD では 48.2±27.2% dose/3h と上昇。糖質呼吸テスト：¹³CO₂ 呼吸中排出量は、正常対照 44.1%dose/6h、福山型先天性筋ジストロフィー症で 44.6%dose/6h に対して、PMD は 20.7±2.2%dose/6h と低下。糖質利用の慢性低下が示唆された。

(第27回日本小児神経学会総会)

* 都立養育院付属病院

ステロイドにより悪化したと思われる慢性再発性多発神経炎(CRDP)の1例—ステロイド著効例との比較検討

須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高

ステロイド(CS)により悪化したと思われる慢性再発性多発神経炎の7歳女児例と、CS著

効例を比較検討した。両者の差は、悪化例では遠位筋優位の障害、SCV 導出不能、筋電図で軸索障害があるが、著効例では近位筋優位の障害、SCV 導出可能、筋電図で軸索障害がないこと、およびCS開始後の経過が異なることであった。CSで悪化した本症の文献報告は3例あるが、本例も文献例も脱髄だけでなく軸索障害もあり、これがCSによる悪化と関係ないし悪化を推測しうると思われた。本症にはCSが有効とされ、第1選択薬とされているが、使うなら早めに用い、筋電図で軸索障害が出現した段階ではCS投与は注意すべきと思われた。

(第27回日本小児神経学会総会)

急性の経過をとり、インターフェロンが有効であった亜急性硬化性全脳炎(SSPE)の1例

曾根翠, 桜川宣男, 木佐俊郎*
吉岡博**, 有馬正高

症例、6歳、男児。1歳時麻疹に罹患。1984年7月29日微細運動障害で発症し、1ヶ月で除皮質硬直及び高度皮質機能低下の状態となった。脳波上SSPEcomplexが認められ、髄液麻疹抗体価が16倍(HI)と高値であったのでSSPEと診断した。第31病日より連日7日間インターフェロン300万単位/日静注を行ない、続いて7日間100万単位/日髄注を行ない、以後週1回100万単位/日注を発症後4ヶ月半まで行なった。治療開始5日目より嚔下反射が、11日目より痛覚刺激に対する反応が出現した。3ヶ月目には味覚及び聴覚刺激に対する反応が出現した。脳波上はθ波の混入が徐々に増加した。以上より本例にはインターフェロン療法が有効であったと考えられた。(第27回日本小児神経学会総会)

* 島根県立中央病院小児科

** 京都府立医科大学小児科

脱髄疾患のポジトロンCT

豊田桃三, 松坂哲應, 曾根翠
桜川宣男, 工藤英昭, 有馬正高

ALD 2 例、Krabbe 病 1 例および MS1 例を対象としてポジトロンCT (PET) を施行した。C¹⁵O₂ による局所脳血流量の測定では、各々の症例ではほぼCTの病変部に対応して低下がみ

られた。ALDの一例では30ml/100g/min以下の著明な低下もみとめられた。 $^{11}\text{C}\text{O}_2$ の20秒吸入によるdynamic-PET(20秒間で1画像を作成し、吸入開始時より連続16画像を作成)では、その初期像は C^{15}O_2 による脳血流パターンにほぼ一致しており、継時的にはMSを除く症例で ^{11}C クリアランスの明らかな低下をみとめた。以上の所見から脱髄疾患では病変部の脳血流が低下しており一部では著明な低下により病変の進行が助長されていること、またleukodystrophyでは脳組織内pHないしB-B-B機能に異常をきたしている可能性があることが示唆された。(第27回日本小児神経学会総会)

慢性再発性多発神経炎

須貝研司

小児の慢性再発性多発神経炎の2例を報告し、診断と治療を述べた。四肢筋力低下、深部腱反射減弱・消失、髄液蛋白増加・蛋白細胞解離など、Guillain-Barré症候群(GBS)やHMSNに似ているが、先行感染なく、数ヶ月にわたる亜急性進行、MCV著明に低下かつ長期間持続、髄液蛋白長期間高値、髄液oligoclonal band持続的に陽性、などの点でGBSと異なり、家族歴なく、発症時期が明らかで亜急性、ステロイドが有効、寛解再発をくり返す点でHMSNと鑑別される。本症ではこれら2者と異なり、血漿交換やステロイドが有効とされるが、早めに用いるべきであり、軸索障害が出現した段階ではステロイドは無効ないし悪化をきたしうるので要注意。(第2回小児神経疾患懇話会)

歩行障害、構音障害、ジストニア及び錐体路症状を呈した1家系について

堂園彰子, 桜川宣男, 有馬正高

小児期に発症する遺伝性または家族性の錐体外路変性疾患は比較的稀とされている。今回、我々は、小児期に構音障害、歩行障害で発症し、ジストニアを主症状として錐体路症状を伴う13歳男児を経験した。本症例での母と兄は、同様の症状を呈していた。経過は、3例とも徐々に進行しており、知能低下も認められた。頭部CTの異常は認められず、血清銅、セルロプラスミン値も正常であった。臨床症状では、Hallervorden-Spatz病に近似すると思われたが、

遺伝形式の点で疑問が残された。病変の主座は、尾状核背外側、内包、被殻背外側部を含む領域の何らかの変性疾患であることが推測されたが、本態は病理像により明らかにされるものと思われた。(第15回三多摩神経疾患懇話会)

著明な成長障害、重度精神発達遅滞、rigospastic quadriplegia, アテトーゼ・ジストニア, 感音性難聴, 前庭機能障害, 肝機能異常を示す兄弟例とその一部検例

須貝研司, 佐藤順一*, 森松義雄*

4歳2ヶ月, 1歳3ヶ月の兄弟。母は軽度の感音性難聴, 無排卵性月経でいずれも排卵誘発剤使用。両者とも生後間もなくより難聴, 乳児期早期より発達遅滞, アテトーゼ・ジストニア, 強剛痙性四肢麻痺, 成長障害出現, GOT・GPTは軽度高値で推移し発熱時に一過性に増悪, 幼児期から筋緊張低下, 前庭機能障害顕在化。人の認知は可能で, 知的退行, 痙攣, 不随意運動の増強なし。ABR無反応, 肝機能異常以外に検査で異常なく, CT・脳波も大きな異常なし。兄は4歳9ヶ月で肺炎で死亡。剖検では, 軽度の肝脂肪変性, 脳幹諸核の軸索軸大・空胞化, 視床・淡蒼球・小脳皮質等の神経細胞脱落・グリオシスあり, 臨床上も病理上も新しい症候群と思われた。(第8回多摩小児神経集談会)

* 東京都神経研・臨床神経病理

皮膚線維芽細胞のスフィンゴミエリナーゼ活性上昇作用を呈する薬剤のスクリーニングおよび双極性化合物によるニーマン・ピック病細胞の酵素欠損修復について

桜川宣男, 佐藤充, 加茂功
有馬正高, 里吉栄二郎

Dimethylsulfoxide (DMSO) によるin vivoにおけるSph'ase活性上昇作用の発見に基づいて、他の薬剤について同様作用のスクリーニングを行った。DMSOを含む4種類の双極性化合物(DMSO, TMU, DMA, TMU)に共通の薬理作用である事が判明した。DNA阻害剤, RNA阻害剤, 蛋白合成阻害剤, 紡錘糸毒, デキサメサゾン, デキストランサルフェート, NH_4Cl , LiCl , Phorbol ester, Vit, Aはいずれも同様の効果のみとめなかった。N-P病細胞について

検討したところ、タイプC細胞に対して、双極性化合物すべてが欠損酵素を正常化する働きを示した。タイプA細胞では変化なく、タイプB細胞では中等度のSph'ase活性上昇を示した。これらの事実より、双極性化合物によるN-P病の治療法の開発が期待される。

(第28回日本先天代謝異常学会)

Menkes' kinky hair 病の非定型例

須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高
鈴木康之*

精神退行と痙攣を示さず、銅治療によりいくらか改善した、既存の報告に見ないMenkes' kinky hair 病の非定型例を報告した。1歳男児、運動機能退行、進行性痙攣性両麻痺、筋緊張低下、精神発達遅滞を主訴に来院。頭髮やや茶色やや疎で、こすれる部分が短かくやや縮れていたため、銅欠乏を疑い、血清銅・セルロプラスミン、尿中銅排泄、硫酸銅経口負荷試験により本症と診断した。銅代謝は従来の報告と大差ないにもかかわらず、従来の例とは異なり硫酸銅点滴療法は神経症状にも有効で、臨床的にやや改善し、痙攣なく、脳波・ABR・SVR・VEPも改善し、CTで脳萎縮もない。PETにより、小脳・脳幹の血流低下と、銅依存性酵素の異常が示唆された。

(第28回日本先天代謝異常学会)

* 東京小児療育病院

重症心身障害児の貧血と鉄欠乏状態

平山義人, 志倉圭子, 鈴木文晴

当所入院中の1歳から19歳までの男30名、女21名計51名を対象に、WHOの定義に従って貧血の有無につき検討した。また血清フェリチン値10mg/ml以下を鉄欠乏状態とした。結果、女2名、男7名計9名(18%)に貧血を認めたが、いずれも小球性低色素性の鉄欠乏貧血であった。貧血例のうち2名では食道潰瘍、食道びらんを、1名では滑脱ヘルニアを認めた。全例で摂取鉄量は年齢に比し不足していたが、経管栄養の5名では特に投与鉄量が低かった。

(第40回全国国立病院・療養所医学会総会)

視床、淡蒼球、Luys体、小脳、前庭神経核などの神経細胞脱落・グリオシスと、橋核、薄束核、蝸牛神経核などのスフェロイド・空胞化を示し、肝脂肪変性を伴う乳児期発症の同胞例

須貝研司, 桜川宣男, 館野昭彦*, 上嶋准嗣**
佐藤順一***, 森松義雄***

著明な成長障害、重度精神発達遅滞、強剛痙攣性四肢麻痺、アテトーゼ・ジストニア、感音性難聴、前庭機能障害、肝機能異常を示す乳児期発症の男子同胞例の一部検例を報告し、神経細胞脱落と軸索腫大・空胞化を主体とする新しい系統変性症かと思われた。一般病理所見：軽度の肝脂肪変性、肺炎、小人症。神経病理所見：1) 脳重887g, 2) 視床・淡蒼球・Luys体・小脳皮質・前庭神経核・下オリブ核の神経細胞脱落とグリオシス, 3) Meynert核・乳頭体・橋核・舌下神経前位核・蝸牛神経核の著明な軸索腫大・空胞化, Goll核の著明なスフェロイド, 4) 大脳白質, 歯状核・中心灰白質・脊髄灰白質周囲・視交叉のグリオシス, 5) 脊髄小脳路等の髄鞘淡明化。

(第22回臨床神経病理研究会)

* 現東邦大学大橋病院

** 巨摩共立病院

*** 東京都神経研

多彩な自己免疫反応を呈した多発性硬化症の1女児例

曾根翠, 松坂哲應, 桜川宣男
宮尾晃代*, 田平武

8歳で発症した多発性硬化症(MS)の患児で、SLEに見られる免疫反応が陽性であった1例を報告した。症例。女児。双胎第1子。1983年右視神経障害が出現し11日で回復。翌年2月錐体路、脳幹、左視神経障害が出現し、3ヶ月後に回復。7月、視神経、錐体路、脊髄、脳幹、小脳障害が出現した。髄液の細胞数、蛋白、IgGが上昇し、VEPでIV波が遅延していた。以上よりMSと診断した。ステロイド投与により症状は改善したが、抗核抗体、抗DNA抗体は640倍まで上昇し、LEテストも陽性であった。MSで抗核抗体が陽性となる確立は高いと言われるが、本例では非常に高値であり、MSと自己免疫疾

患の関連性を考える上で注目すべき例と思われた。
(第95回日本神経学会関東地方会)

* 東京電力病院小児科

小児交互性片麻痺におけるフルナールの治療経験

桜川宣男

小児交互性片麻痺(AHI)は乳幼児期に発症し、弛緩性または痙性片麻痺が発作性に左右に交互に出現する疾患である。その原因は不明であり、種々の神経学的異常および知能障害を伴うことから、近年我が国でも注目されている。最近 Caser らは Ca 拮抗剤の有効性について報告しており、また局所脳血流量の低下も示唆されている。経験した3例について、フルナール(Ca拮抗剤)の効果について検討した。症例1は3才2カ月女児。症例2は4才女児。症例3は16才女児である。症例1は片麻痺発作が軽症化、症例2では著変なく、症例3では発作頻度の減少を認めた。フルナール血中濃度は症例1(27~30ng/ml)、症例3は13ng/mlであった。本剤の臨床効果は軽症化に役立つ可能性が示唆された。(脳血管障害に関する学術講演会)

Sanfilippo type C の一例

宮里良乃, 桜川宣男, 有馬正高
東條恵*, 多賀俊明**

症例は、初診時4歳5カ月、男児。主訴は言語発達の遅れ、多動。家族歴は両親がイトコ婚。胎生期、周生期に異常なし。特異な顔貌、大頭症、肝腫大、精神運動発達遅滞、骨X線で肋骨のオール様変形、椎体の卵形変形・尿中ムコ多糖の増多(特にへパラン硫酸の増加)骨髄像で形質細胞の空胞化、等を認め Sanfilippo 症候群を疑った。皮膚線維芽細胞の酵素活性測定により AcetylCoA : d-glucosaminide-N-acetyltransferase は活性が認められず、type C と確定した。Sanfilippo 症候群は本邦では一家系、4例が報告されているのみであり、今回臨床経過の特徴について考察した。

(第96回日本神経学会関東地方会)

* 新潟大学小児科

** 岐阜大学小児科

脳波モニター下ビタミンB₆静注による点頭てんかんに対するビタミンB₆の効果の予測

須貝研司, 松尾多希子, 堂園彰子
桜川宣男, 有馬正高

脳波モニター下にビタミンB₆(VB₆)静注を行ない、点頭てんかんに対するVB₆療法の効果の予測を試みた。対象：特発性2例、ビタミンK欠乏による頭蓋内出血、EIEE、結節性硬化症、Down症、von Recklinghausen病各1例で、年齢3~16ヶ月、発症からこの治療まで0~13ヶ月。方法：脳波モニター下に、最高50mg/kgまでVB₆を50mgずつ5分おきに静注し、最後の静注後30分以上記録。結果：ビタミンK欠乏性頭蓋内出血の例は、VB₆静注により発作波消失し、50mg/kg経口でも発作・発作波共に消失、3歳半の現在まで発作なく、正常発達。他の6例は静注で無効で、最長35日間の経口でも無効。結論：本法によりVB₆の効果を予測しうると思われた。

(第13回関東小児てんかん研究会)

III 中 央 施 設

I 実験動物研究棟の建設状況

昭和58年度に開始された実験動物棟の建設は本年度で足掛け3年になる。昨年度までに白地に青いスリットの入った外壁と施設内部の骨組み、さらに給排水用の配管、エレベーター設置等の工事が完了した。本年度は施設の機能と関連して新しい研究部門としてモデル動物開発部門が発足し、10月1日付の部長発令とともに、施設の中に研究部門の研究室が加わることになり、それに付随して内部の一部手直しが行われた。

一階の大動物実験室と、三階の行動薬理実験室および動物飼育室の一部が改造され、モデル動物開発部の研究室に模様替えした。大動物実験室は実験動物の解剖、検査を目的とする動物処理室に代り、行動薬理実験室は三階より二階へ移った。SPFとコンベ動物飼育ゾーンは感染防御のため相互の仕切を明確にし、両者が洗浄室を共有することのないよう配慮した。空調関係の工事は、ヒトと動物ゾーン、SPFとコンベ動物飼育ゾーン、および感染実験室と他の領域との間で空調ダクトが交叉しないように注意した。電気配線工事に関しては、電気容量が充分とれるよう努力した。

本年度の後半は渡り廊下の建設が始り、さらに、エネルギー室の整備、天井床工事等が急ピッチで進行している。年度末にあたり、昭和61年度予算の申請が行われ、後半で二、三階の内部設備を、次年度で一階の設備を整備し、昭和61年度の秋には施設を一部オープンする予定である。

(実験動物研究棟建設委員会委員長 杉田秀夫：副委員長 菊池建機)

II RI 研究施設

当センターのRI研究施設(270m²+焼却施設24m²)は、現在11研究部、計61名の研究者が共同使用している。RI施設使用の当初から各部選任のRI委員によりRI委員会をもち、具体的な運営の問題を討議決定している。

当RI研究施設の管理運営は、放射線障害防止法(昭和55.5月改訂)に基づき、厚生省病院、療養所放射線障害予防規定(昭和50.5月改訂)、および国立武蔵療養所放射線障害予防細則(昭和57.3月)に従って行われている。当センターのRI取扱主任者は昭和57.4月より今澤代謝研究部室長が併任し、昭和58.4月より加藤診断研究部室長(昭60年12月より疾病研究第三部所属)および古川免疫研究部研究員が副主任者として補佐を行っている。またRI施設管理のための専任職員がいないため、現在でもRI排水処理、RI管理区域内表面汚染検査、RI機器整備、使用法の監督などの業務は各部ならびにRI委員会で分担している。RI使用研究の増大とともにRI研究施設の管理・監督業務も増大し、主任者免許を有する専任職員を確保することが急務である。それまでの間、少なくとも放射線取扱主任者の資格を取得した複数の研究者が主任者を交替して、主任者の業務の軽減

III 中央施設

を図るべきである。

現在使用可能な承認核種は ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{45}Ca 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{59}Fe 、 ^{64}Cu 、 ^{77}Br 、 ^{18}F である。本年度の年間使用量は ^3H ：63mCi、 ^{14}C ：1.1mCi、 ^{32}P ：55mCi、 ^{35}S ：7mCi、 ^{125}I ：20mCi、 ^{59}Fe ：0.02mCi、 ^{64}Cu ：1.6mCi、 ^{77}Br ：0.7mCiであった。RIを用いた細胞生化学的実験の増大に伴って ^{32}P の使用量が著しく増加した。現在のRI実験施設は、RI実験の必要性和使用頻度、使用者数から考えて非常に手狭となり、研究の支障の可能性も考えなければならなくなった。そのため現在計画中の神経センター第二研究棟RI研究施設の早急な実現が望まれる。

本年度RI共同使用のための整備された機器を表示する。

表 昭和60年度購入RI機器（昭和56年度年報P263表1参照）

〔C〕 その他の生化学用機器

微量冷却遠心機 日立 HIMAC-CR15B

(RI委員会委員長 宮本侃治)

III 電子顕微鏡室

1) 施設及び機器

当センター3階に位置し、30m²の3室を透過電子顕微鏡室、走査電子顕微鏡室、暗室として利用している。設置されている機種は、従来通り、透過型として日立H700、日立H600、日立H300であり、走査型は、日立S700、日立S430である。又、暗室には、Durst L1200、Durst L138Sが設置され、自動現像機と共に電子顕微鏡写真の引伸しに共同利用されている。

2) 予算

電子顕微鏡室の運営は中央費でまかなわれ、主たる経費は、電子顕微鏡の保守に必要な修理費、部品費、写真撮影に必要なフィルム、現像液などの消耗品費である。電子顕微鏡の使用年数の増加と利用者の増加にともない、保守管理に要する費用は増加している。

3) 今後の問題点

操作手順が簡単で、最も利用頻度の高い透過型H300は、すでにメーカーの保障する耐用年数を過ぎ、部品の摩耗による故障が続いている。コスト面からも新しい電子顕微鏡の更新が望まれる。又、神経筋病棟から診断のために電子顕微鏡写真を要する検体の依頼が多くなり、切片作製のためのミクロトームが不足している。中央機器としてのミクロトームの購入が望まれる。

(電子顕微鏡委員会委員長 埜中征哉)

IV 安全委員会

本年度は新しい申請課題はなく、前年に許可した課題の許可期間中であるので、委員会は開催しなかった。
(安全委員会委員長 小沢鉄二郎)

V 図書委員会

現在購入中の洋雑誌のリストは別表の通りである。星印はバックナンバーが不揃いのもの、二つ星印は、新しい研究部の開設などにより昭和61年1月より新しく購入することになった洋雑誌である。和雑誌も二種追加購入している。

(図書委員会委員長 小沢鉄二郎)

洋雑誌名

- | | |
|--|---|
| 1. Acta Histochemica et Cytochemica | 20. Biochemical Society Transactions |
| 2.* Acta Neurologica Scandinavica | 21. Biochemical Pharmacology |
| 3.* Acta Neuropathologica | 22. Biochemical Biophysical Research Communications |
| 4. Acta Physiologica Scandinavica | 23. Biochemistry |
| 5. American Journal of Anatomy | 24. Biochemistry International |
| 6. American Journal of Human Genetics | 25. Biological Psychiatry |
| 7.* American Journal of Medical Genetics | 26. Biomedical Mass Spectrometry |
| 8. American Journal of Pathology | 27. Biomedical Research |
| 9. American Journal of Physiology | 28. Bioscience Reports |
| 10. Analytical Biochemistry | 29. Biophysical Journal |
| 11.* Annals of Neurology | 30. Brain |
| 12. Annals of New York Academy of Science | 31. British Journal of Pharmacology |
| 13. Anatomical Record | 32. Cancer Research |
| 14. Anatomy & Embryology | 33. Cell |
| 15. Archives of Biochemistry & Biophysics | 34.* Cell Differentiation |
| 16. Archives of Neurology | 35.* Cell Biology : International Reports |
| 17.* Archives of Pathology and Laboratory Medicine | 36. Cellular Immunology |
| 18. Biochimica Biophysica Acta | 37.* Cell Motility |
| Bioenergetics | 38. Cell & Tissue Research |
| Biomembranes | 39. Cell & Tissue Kinetics |
| General Subjects | 40. Cellulur & Molecular Neurobiology |
| Gene Structure and Expressions | 41. Chemical Reviews |
| Lipids and Metabolism | 42. Chemical Titles |
| Molecular Cell Research | 43.**Chromosoma |
| Protein Structure and Molecular Enzymology | 44.**Chronobiology International |
| Reviews on Biomembrane | 45. Clinical Chemistry |
| Reviews on Bioenergetics | 46. Clinical Genetics |
| Reviews on Cancer | 47. Clinical Neuropathology |
| 19. Biochemical Journal | 48. Clinica Chimica Acta |
| | 49. Cytogenetics & Cell Genetics |
| | 50. Developmental Brain Research |

- | | |
|--|--|
| 51. Developmental Biology | Cytochemistry |
| 52. Differentiation | 94. Journal of Immunology |
| 53.* Electromyography & Clinical Neurophysiology | 95. Journal of Immunological Methods |
| 54. The EMBO Journal | 96. Journal of Inherited Metabolic Disease |
| 55. Endocrinology | 97. Journal of Laboratory Investigation |
| 56. European Journal of Biochemistry | 98. Journal of Lipid Research |
| 57. European Journal of Cell Biology | 99. Journal of Membrane Biology |
| 58.* European Journal of Immunology | 100. Journal of Mental Deficiency Research |
| 59. European Journal of Pharmacology | 106. Journal of Molecular Biology |
| 60. Experientia | 102.* Journal of Morphology |
| 61. Experimental Brain Research | 103.* Journal of Muscle Research & Cell Motility |
| 62.* Experimental Cell Biology | 104. Journal of Neural Transmission |
| 63. Experimental Cell Research | 105.* Journal of Neurobiology |
| 64. Experimental Neurology | 106. Journal of Neurochemistry |
| 65.* Experimental Pathology | 107. Journal of Neurocytology |
| 66. FEBS Letters | 108. Journal of Neurogenetics |
| 67. Federation Proceedings of the Federation of American Societies of Experimental Biology | 109. Journal of Neuroimmunology |
| 68.**Gene | 110. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry |
| 69. Histochemistry | 111. Journal of Neurological Sciences |
| 70. Human Genetics | 112.* Journal of Neuropathology & Experimental Neurology |
| 71. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie | 113. Journal of Neurophysiology |
| 72. Immunology | 114.**Journal of Neuroscience |
| 73.* Immunology Today | 115. Journal of Neuroscience Methods |
| 74. Infection & Immunity | 116.* Journal of Neuroscience Research |
| 75.* International Journal of Biochemistry | 117.* Journal of Pathology |
| 76.* International Journal of Neuroscience | 118. Journal of Pediatrics |
| 77.* In Vitro | 119. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics |
| 78.**Journal of Affective Disorders | 120. Journal of Physiology |
| 79. Journal of American Chemical Society | 121.* Journal of Tissue Culture Methods |
| 80. Journal of Anatomy | 122. Journal of Ultrastructure Research |
| 81. Journal of Biochemistry | 123. Journal of Virology |
| 82. Journal of Biological Chemistry | 124.**Laboratory Animal |
| 83. Journal of Cell Biology | 125.**Laboratory Animal Science |
| 84. Journal of Cell Science | 126. Laboratory Investigation |
| 85. Journal of Cellular Physiology | 127. Lancet |
| 86. Journal of Chromatography | 128. Life Sciences |
| 87. Journal of Comparative Neurology | 129. Lipids |
| 88. Journal of Electron Microscopy | 130. Molecular & Cellular Biology |
| 89. Journal of Experimental Medicine | 131.* Molecular & Cellular Biochemistry |
| 90.**Journal of Experimental Zoology | 132. Molecular Immunology |
| 91. Journal of General Physiology | 133. Molecular Pharmacology |
| 92.**Journal of Heredity | 134. Muscle & Nerve |
| 93. Journal of Histochemistry & | 135.* Mutation Research |

- | | |
|---|------------------|
| 136. Nature | 和雑誌名 |
| 137. **Neunym-Schmiedberg's Archives of Pharmacology | 1. 遺 伝 |
| 138. * Neurology | 2. 科 学 |
| 139. Neurochemical Research | 3. 化 学 |
| 140. Neuropathology & Applied Neurobiology | 4. **細胞工学 |
| 141. * Neuropediatrics | 5. 神経研究の進歩 |
| 142. * Neuropeptides | 6. 神 経 内 科 |
| 143. * Neuroscience | 7. 生体の科学 |
| 144. Neuroscience Letter | 8. 綜 合 臨 牀 |
| 145. Neuroscience Research | 9. 組 織 培 養 |
| 146. New England Journal of Medicine | 10. 蛋白質・核酸・酵素 |
| 147. Nucleic Acids Research | 11. 治 療 |
| 148. * Pathology | 12. 脳と発達 |
| 149. Pediatric Research | 13. **ラボラトリーアニマル |
| 150. Peptides | |
| 151. * Pflügers Archiv/European Journal of Physiology | |
| 152. Pharmacological Reviews | |
| 153. * Pharmacology Biochemistry & Behavior | |
| 154. Physiological Reviews | |
| 155. Proceedings of Japan Academy | |
| 156. Proceedings of National Academy of Sciences | |
| 157. * Proceedings of Royal Society of London Ser. B : Biological Science | |
| 158. Psychopharmacology | |
| 159. **RAMBIOS | |
| 160. Regulatory Peptides | |
| 161. Revue Neurologique | |
| 162. Roux's Archives of Developmental Biology | |
| 163. Sciences | |
| 164. * Studia Biophysica | |
| 165. **Therigenology | |
| 166. * Trends in Biochemical Sciences | |
| 167. **Trends in Genetics | |
| 168. * Trends in Neurosciences | |
| 169. * Trends in Pharmacological Sciences | |
| 170. * Tissue & Cell | |
| 171. **Veterinary Record | |
| 172. * Virchows Archiv A : Pathological Anatomy and Histology | |
| 173. * Virchows Archiv B : Cell Pathology | |

IV 診 療 概 要

診 療 概 要

1. 神経内科, 小児神経科部門

神経内科では、春原経彦医長、亀井敦行医師、横井風児医師、富英明医師が病棟医として診療にたずさわった。春原医長はクリーブランド・クリニック神経内科に留学中であり、亀井医師が医長代行をつとめた。北村純一医師がレジデントとして研修していたが、昭和60年6月に退職し、代って6月よりレジデントとして船本ひとみ医師、7月より研修医として岩見真理医師が研修に従事した。病棟回診は里吉栄二郎センター長が行った。その他神経センターから安藤一也部長、杉田秀夫部長、田平武部長、向山昌邦室長、並河正医師が診療にたずさわった。

小児神経科では、7-1病棟(小児神経一般病棟)は桜川宣男医長、6-1および6-2病棟(重心病棟)は平山義人医長が担当した。松坂哲應医師、豊田桃三医師、鈴木文晴医師が、病棟医として診療にたずさわった。レジデントとして須貝研司医師、志倉圭子医師、曾根翠医師、萩野谷和裕医師に加えて、昭和60年4月より、堂園彰子医師、新井幸男医師、荒木克仁医師が、また5月より前田香織医師が、また10月より宮里良乃医師が研修に従事した。9月に志倉圭子医師が退職し、昭和61年1月より鈴木文晴医師がNIHに留学した。2月より須貝研司医師がレジデントより病棟医となった。なお昭和60年11月より昭和61年3月迄宮島祐医師が臨床研究員として従事した。また3月にはレジデントの曾根医師、萩野谷医師が退職した。神経センターからは、有馬正高部長が外来および病棟回診をおこなった。

両科とも、毎週総回診、抄読会、新患紹介・ケースカンファレンス(表1)を行っており、スタッフほか、レジデント、他大学及び他病院からの医師も参加し、熱心な研究活動を進めてきている。また各種学会で研究発表をおこなった。

(1) 外 来 部 門

両科とも週5回づつ外来診療をおこなった。本年度の外来患者数は(表2)の通りで、延数は神経内科7,721名、小児神経科6,480名であった。新患患者の疾患別内訳は(表4)、(表5)の通りである。

(2) 入 院 部 門

神経内科病棟は、7-2病棟(40床)、7-3病棟(40床)を使用している。小児神経科病棟は7-1病棟(40床)および重心施設として6-1病棟(40床)と6-2病棟(40床)を使用している。両科の月別入退院患者数および疾患別内訳は(表3)、(表4)、(表5)の通りである。

(3) 対 外 活 動

IV 診療概要

神経内科，小児神経両科では各スタッフが分担して，近隣の小平，田無，東久留米，青梅，五日市，立川などの保健所と連携して神経難病の検診，乳幼児の特殊検診にたずさわった。

(医長代行 亀井敦行，医長 桜川宣男)

表1 ケースカンファレンス一覧表

1. 神経内科ケース・カンファレンス		
60.4.17	①プロモクリプチンについて	Dr. Lataste
	②Crow-Fukase syndrome の1例	亀井 敦行
6.5	Hereditary SCD に FSH 型の筋萎縮を伴った一家系	北村 純一
6.12	相互転座(x; 5)を認めた DMP の一女性例	富 英明
7.10	筋緊張性ジストロフィー症の眼球運動障害について	篠塚 直子
7.24	多発性硬化症の一部検例	亀井 敦行
9.11	中枢神経疾患への11C-pyruvate の応用	横井 風児
9.18	異常眼球運動と全身性不随意運動を伴う19歳女性例	船本ひとみ
9.25	特異な経過をとった悪性胸腺腫に伴う重症筋無力症の一例	富 英明
10.2	成人発症の sudanophilic leucodystrophy の一部検例	亀井 敦行
10.23	いわゆる平山型一側上肢筋萎縮症を呈した若年男子例	岩見 真理
11.1	①特殊な dystonia を呈する若年女子例	亀井 敦行, 柳沢 信夫
	②rigospasm を伴う motor neuron disease の一例	船本ひとみ, 柳沢 信夫
11.6	Guillain-Barré 症候群様症状で発症した57才婦人例	船本ひとみ
12.4	FSH 型筋ジストロフィー症と脊髄小脳変性症を合併した一家系	亀井 敦行
12.18	四肢疼痛, 錐体路徴候, 大脳・小脳萎縮(軽度)を伴う中年男性例	船本ひとみ
61.1.23	進行性知能低下と全身の筋萎縮を呈した老年婦人例	横井 風児
1.29	両上肢筋萎縮と解離性知覚障害を主症状とする老年婦人例	堂園 彰子
2.5	四肢遠位部脱力, 全知覚低下及び失調症状を呈した中年男性例	富 英明
2.19	Varicella-zoster meningomyeloradiculopathy の一例	亀井 敦行
3.5	Trine (T. E. T. A) により治療中の Wilson 病の18才女子例	船本ひとみ
3.26	Motor neuron disease の2例 (CPC)	亀井 敦行, 岩見 真理
2. 小児神経科		
60.4.3	痙性対麻痺, 緑内障の2才女児例	須貝 研司
4.17	耳鳴, 顔面のピクつき, 意識の変容, 自動症を伴う全身性強直間代性痙攣を呈する17才男子例	萩野谷和裕
4.24	好酸性肉芽腫の既往があり, 急性のほぼ完全型脊髄横断症状を呈し, 当初, 脊髄 CT・ミエログラフィーで異常がなかった13才女子例	須貝 研司
5.8	精神運動退行, 多彩な小発作を示す6才女児例	松坂 哲應
5.29	運動発達遅滞, 肝機能異常, 眼底異常を示す8ヶ月男児例	堂園 彰子
6.5	精神運動発達遅滞及び退行, 無動, 全身性間代性痙攣を示す8才女児例	新井 幸男
6.19	痙攣の頻発する2才男児例	荒木 克仁
6.26	痙攣頻発, 嘔吐・脱水の4才男児例	前田 香織
7.3	筋緊張低下, 哺乳困難を示す3ヶ月男児例	前田 香織
7.10	精神運動発達遅滞, 被角血管腫を示す1才男児例	堂園 彰子
7.17	小児神経学会予行——桜川, 豊田, 鈴木, 須貝, 曾根, 萩野谷	
9.4	動作緩慢, 構音障害, 歩行障害を呈する13才男子例	堂園 彰子
9.11	重度精神発達遅滞, てんかん, くも状指, 先天性多発関節拘縮を呈する26才男子例	前田 香織
9.18	多発神経炎の再発をきたした8才女児例	新井 幸男
9.25	四肢・顔面のミオクローヌスを示す7才女児例	荒木 克仁
61.2.5	てんかん, 脱毛, 行動異常, 免疫異常を示す15才男子例	新井 幸男
3.26	ESES の3例	宮島 祐

3. CPC

- 60.7.1 精神運動発達遅滞・退行，不随意運動を呈した男子
 双生児で，3才で肺炎で死亡した1例 豊田 桃三，(病理)明石 俊雄
-

4. 小児神経セミナー

- 60.4.10 有馬 小児神経学概論
 4.17 桜川 小児神経診察法
 4.24 鈴木 脳波と発作性疾患
 5.1 松坂 脳奇形症候群の診断法——小脳奇形
 5.8 豊田 神経放射線検査法 特にCT・PET
 5.15 鈴木 乳児期前半における運動障害
 5.22 須貝 電気生理学的検査法 その1 脊髄—末梢神経系
 5.29 有馬 遺伝と臨床
 6.5 桜川 小児神経疾患の生化学的検査法
 6.12 松坂 新生児頭蓋内出血とビタミンK治療法の現況
 6.19 豊田 てんかん児の日常生活指導
 6.26 平山 重障児の食事訓練
 9.25 平山 筋ジストロフィーの臨床
 10.2 大村 (神経センター5部) ガングリオシドーシスとムコリビドーシス
 10.16 埜中 (神経センター微細) 筋疾患(1) 正常編
 10.23 大沼 (精神) てんかんの国際分類
 10.30 成瀬 (小児精神) 自閉症
 11.6 末広 (都立養育院) 安定同意元素の臨床応用
 11.20 埜中 筋疾患(2) 筋ジストロフィー
 11.27 篠塚 (理学診療) SPMAのリハビリ
 12.4 大沼 てんかん発作のビデオ
 12.11 大塚 (MSW) Portage乳幼児教育プログラム
 12.25 柳原 (MSW) 医療福祉制度
 61.1.8 埜中 筋疾患(3) 先天性ミオパチー
 1.22 中野 (心理) 心理検査
 2.5 森松 (都神経研) 小児神経病理
 2.27 金子 (PT) リハビリ 特にハンドリング
 3.12 平山 MMT
-

表 2 昭和60年度神経内科及び小児神経科外来患者数推移

診療月	神 経 内 科			小 児 神 経 科		
	新 来	再 来	計	新 来	再 来	計
年 月	人	人	人	人	人	人
60. 4	63	679	742	37	537	574
5	43	588	631	26	486	512
6	50	581	631	37	492	529
7	68	655	723	34	542	576
8	55	560	615	27	515	542
9	49	633	682	33	443	476
10	49	651	700	32	508	540
11	61	602	663	24	482	506
12	43	574	617	36	476	512
61. 1	41	458	499	29	499	528
2	32	522	554	54	514	568
3	48	616	664	42	575	617
計	602	7,119	7,721	411	6,069	6,480

表3 昭和60年度入院患者数月別推移

月別	神 経 内 科				小 児 神 経 科						
	7 - 2 病棟		7 - 3 病棟		7 - 1 病棟		6 - 1 病棟		6 - 2 病棟		
	入 院	退 院	入 院	退 院	入 院	退 院	入 院	退 院	入 院	退 院	
年 月	人	人	人	人	人	人	人	人	人	人	人
60. 4	6	6	3	2	10	14					
5	4	4	6	5	9	8					
6	5	6	6	7	11	9					
7	10	11	9	6	13	11					
8	6	5	4	5	6	8					
9	6	6	4	5	7	8					
10	8	7	5	3	14	13					
11	9	7	4	5	7	10					
12	3	7	8	12	10	9					
61. 1	10	5	7	4	13	9					
2	2	2	6	6	8	9					1
3	3	4	4	5	7	11			1		
計	72	70	66	65	115	119	0	0	1	1	

表 4 神経内科外来及び入院患者内訳（新患）

病 名	外 来	入 院	
		7 - 2 病棟	7 - 3 病棟
筋ジストロフィー症	10	5	1
その他の筋疾患	40	4	12
運動ニューロン疾患	23	16	5
脊髄小脳変性症	17	7	8
パーキンソン症候群	63	9	6
ハンチントン病・不随意運動症	32	2	0
脱髄疾患	15	3	6
末梢神経疾患	36	3	2
脳変性疾患	16	4	3
脊椎変形症・脊髄疾患	50	6	2
中毒性神経疾患	10	2	0
先天性奇形	0	0	3
精神運動発達遅滞	4	1	0
代謝異常症	3	1	1
脳血管障害	81	2	9
皮膚神経症候群	1	0	1
染色体異常症	0	0	0
てんかん・熱性けいれん	20	3	0
脳性麻痺	2	2	0
頭痛症	66	0	0
頭部外傷	11	0	0
脳腫瘍	3	0	0
神経感染症・脳症	8	2	3
小児精神疾患	0	0	0
神経症	36	0	0
その他	55	0	4
言語遅滞	0	0	0
合 計	602	72	66

表5 小児神経外来及び入院患者内訳（新患）

病名	外 来	入 院		
		7 - 1 病棟	6 - 1 病棟	6 - 2 病棟
筋ジストロフィー症	20	16	0	0
その他の筋疾患	2	1	0	0
運動ニューロン疾患	2	1	0	0
脊髄小脳変性症	0	0	0	0
パーキンソン症候群	0	0	0	0
ハンチントン病・不随意運動症	1	0	0	0
脱髄疾患	0	0	0	0
末梢神経疾患	0	1	0	0
脳変性疾患	5	7	0	0
脊椎変形症・脊髄疾患	0	0	0	0
中毒性神経疾患	0	0	0	0
先天性奇形	14	5	0	1
精神運動発達遅滞	73	4	0	0
代謝異常症	9	20	0	0
脳血管障害	2	7	0	0
皮膚神経症候群	8	5	0	0
染色体異常症	4	3	0	0
てんかん・熱性けいれん	132	38	0	0
脳性麻痺	10	1	0	0
頭痛症	9	0	0	0
頭部外傷	5	0	0	0
脳腫瘍	0	0	0	0
神経感染症・脳症	7	2	0	0
小児精神疾患	24	1	0	0
神経症	1	0	0	0
その他	64	3	0	0
言語遅滞	19	0	0	0
合 計	411	115	0	1

理学診療科

昭和60年度は、平山義人医長（小児神経科医長兼任）、篠塚直子医師、酒井和江 OT（6-2，小児神経外来）、増田国男 PT、山勝裕久 OT、駒沢愛子助手の計5名（PT 欠員1）のスタッフで診療が開始された。非常勤のスタッフとして松本栄子 PT（2回/月 小児神経外来）、江上裕子助手（新規採用）が加わった。また途中8月より、金子誠治 PT（6-1，外来）が採用され、常勤スタッフは6名に復した。

診療総件数は別表の如くで、前年度とやや下まわったが、小児外来が平均週2回のみ行われていることを考慮すると訓練士一人当りの件数としてはほぼ飽和状態といえる。

昨年認可された OT 部門も、まだ十分とはいえないが徐々に設備面の整備がすすみつつある。

病棟関係では当科医師が7-2，7-3病棟で主治医としても常時5床前後を受け持った。7-1，7-2，7-3病棟との定期的リハビリテーションカンファレンスも定着し、またナースを対象とした「廃用による二次的合併症の予防」と「ROMex 実習」の講義も昨年度に引き続き行っている。また看護部主催の腰痛教室にも当科として協力した。

対外的には昨年度と同様、田無，小平，青梅その他の保健所の依頼を受け、神経内科，小児神経科の医師に協力して神経難病検診，難病教室（パーキンソン，RA）での訓練指導，乳児発達検診等に参加した。また今年度は厚生省特定疾患「難病の治療」調査研究班の研究にも協力した。

別記の如く論文，学会発表を行った。

論 文

- 1) 平山義人：重症筋無力症。今日の小児治療指針，583，医学書院，東京，1985。
- 2) 平山義人，志倉圭子，鈴木文晴，有馬正高：重症心身障害児（者）（大島分類1～4）に合併するてんかん，厚生省心身障害研究「重症心身障害児の療育に関する臨床的研究」，昭和59年度研究業績報告書，P197～208。
- 3) 鈴木文晴，志倉圭子，平山義人：重症心身障害児の反復性嘔吐，吐血，厚生省心身障害研究「重症心身障害児の療育に関する臨床的研究」，昭和59年度研究業績報告書，P226～229。
- 4) 志倉圭子，鈴木文晴，平山義人：重症心身障害児の貧血と鉄欠乏状態。厚生省心身障害研究「重症心身障害児の療育に関する臨床的研究」，昭和59年度研究業績報告書，P232～235。
- 5) 志倉圭子，酒井和江，若井克史，平山義人：重症心身障害児の構築性側彎に対する治療的試み。厚生省心身障害研究「重症心身障害児の療育に関する臨床的研究」，昭和59年度研究業績報告書，P244～252。

- 6) 鈴木文晴, 志倉圭子, 平山義人, 有馬正高: 重症心身障害児の反復性嘔吐・吐血について。医療40:44, 1986。
- 7) 平山義人: 重症心身障害児の保健管理。厚生省心身障害研究「母子保健システムの充実に関する研究」, 昭和59年度研究報告書, p202。
- 8) 平山義人, 志倉圭子, 鈴木文晴: 重症心身障害児に対する食事訓練。厚生省心身障害研究「母子保健システムの充実に関する研究」, 昭和59年度研究報告書, p203~208。
- 9) 鷺田孝保, 高木昭輝, 柳沢健, 加藤武治, 真壁正二, 立道信宏, 平山義人: 重症心身障害児の誤飲と姿勢について—X線透視による分析。厚生省心身障害研究「母子保健システムの充実に関する研究」, 昭和59年度研究報告書, p209~210。
- 10) 平山義人, 志倉圭子, 鈴木文晴: 重症心身障害児の貧血と鉄欠乏状態。厚生省心身障害研究「母子保健システムの充実に関する研究」, 昭和59年度研究報告書, p211~213。

論 文

- 1) 酒井和江: 嚥下困難のある患者の看護, とくに食物を「とり込めない」「噛めない」「飲み込めない」こどもの看護を中心に, 月刊ナーシング5 (13), 2-16, 1985
- 2) 篠原よし子, 酒井和江他: 重障児の食事訓練, ナースステーション15 (4), 1985
- 3) 篠塚直子, 上田敏: 小児の脳神経外科—小児のリハビリテーション—, ブレインナーシング1 (6), 603-608, 1985
- 4) 篠塚直子: 作業療法, 月刊ナーシング, 5 (13), 8-9, 1985

(別表)

昭和60年度 月別診療延人数 (285診療日)
 簡単………簡単な運動又は作業療法
 複雑………複雑な運動又は作業療法

月日	7-1 病棟		7-2 病棟		7-3 病棟		6 病棟		その他		外 来				小 計		合 計
	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	簡単	複雑	神経内科		小児神経		簡単	複雑	
											簡単	複雑	簡単	複雑			
60.4	0	88	11	213		208	27	68	4	6	133	64	44	778	822		
5	5	68	24	200	84	84	69	116	4	12	129	87	110	688	798		
6	10	91	11	204	91	91	75	68	4	12	117	73	108	648	756		
7	7	80	7	146	94	94	72	42	5	0	153	79	86	599	685		
8	9	59	7	89	69	69	70	108	4	5	70	80	91	479	570		
9	1	61	5	108	103	103	71	142	3	6	120	90	83	627	710		
10	2	65	5	146	92	92	72	183	5	9	107	84	88	682	770		
11	2	55	9	131	87	87	66	114	4	1	129	71	78	591	669		
12	0	54	8	133	65	65	46	132	3	0	83	63	54	533	587		
61.1	0	51	8	135	64	64	97	143	3	11	74	64	116	534	650		
2	0	33	10	148	88	88	74	127	4	0	94	74	84	568	652		
3	6	71	9	170	109	109	70	158	7	0	117	70	85	702	787		
	42	776	114	1823	1154	1154	809	1401	50	62	1326	899	1027	7429	8456		

医療社会事業

神経内科，小児神経科で扱う神経・筋疾患は疾病の原因が不明で，治療法も未確立な，いわゆる難病に属するものが多い。適切な治療法のない疾患に対する患者，家族の社会的・経済的・心理的面で煩悶は正視に耐えられないものがある。

この中での MSW の役割は長期療養による医療費，生活費など経済的問題と身体障害者手帳の申請手続きや車椅子，下肢装具などの補装具申請，身体障害に伴う職業（学業）・住宅など社会的問題，家族関係の調整，などへの援助があげられる。

又，自宅療養者とその家族に対して少しでも負担や不安が軽減するよう保健婦の訪問援護とホームヘルパーの派遣依頼など社会資源（福祉制度）が有効にかつ速やかに適用され，キメ細かいサービスが受けられるよう援助することである。

特に患者・家族の悩み・苦しみを真に理解し，社会的にも心理的にもできる限りの援助を行ない，患者・家族を側面から支えることである。

治療を阻害する因子を適確に把握し，できる限り社会環境を整えることが重要である。

MSW は医師・看護職員・理学療法士など他のメディカル・スタッフとも連携・協力し合って動いている。

医師や看護職員からのケース紹介や福祉事務所などの関係機関や家族からの相談に応じて面接を行ない疾病の背景要因の把握，職業・住居・家族などの環境調査を実施し，外来・病棟での患者の治療プログラムを作成する参考資料にしている。

診療部門での医療社会事業は，神経内科を昨年につづき下田文幸が，小児神経内科は昭和60年7月に大塚雅が退職し，代って同7月より柳原美奈子が担当している。

外来においては，神経内科，小児神経科ともそれぞれ週5回ずつ相談に応じている。外来は医師からのケース紹介が多い。入院と受診の相談は随時電話・面接などで受けている。

外来・入院の相談総件数は神経内科572例，小児神経科は368例であった。相談内容は下記の表の通りで神経内科では受診・入院退院・転院についての相談，病気や制度利用が多く，小児神経科では療養問題，制度利用が多い。小児神経科，神経内科に共通する援助として患者本人，家族との面接の他に福祉事務所，保健所などの関係機関との協議，連絡も行なっている。

対外的には，小平保健所の地域難病事業連絡協議会に神経センター田平部長と共に MSW 下田が参加している。

(小児神経科 MSW 柳原美奈子，神経内科 MSW 下田文幸)

昭和60年度 相談内容延件数

内 容	神 経 内 科		小 児 神 経 科	
	外 来	入 院 (7-2病棟) (7-3病棟)	外 来	入 院 (7-1病棟)
医療費・経済問題	34	38	2	9
制度利用	72	71	18	82
施設利用	15	21	9	35
入退院・転院について	86	65	12	20
家族問題	31	22	3	33
病気について	59	22	6	5
職業・住宅について	21	15	0	0
療育問題			23	85
情緒問題			8	18
合 計	318	254	81	287

昭和60年度 援助の方法・手段（延数）

方 法	神 経 内 科		小 児 神 経 科	
	外 来	入 院 (7-2病棟) (7-3病棟)	外 来	入 院 (7-1病棟)
面接（本人・家族）	189	123	17	164
電 話	119	119	38	53
書 信	28	33	5	8
関係機関との協議	58	36	27	98
訪 問	24	※ 67	1	3
合 計	418	378	88	326

※外部受診援助(33件)含む。

V 別 項

(別項1)

1. 国立神経センター(仮称) 設立準備委員会中間報告

(S. 52. 1)

1. はじめに

進行性筋ジストロフィー症、精神薄弱、脳性麻痺、変性性神経疾患、精神疾患などの精神・神経・筋疾患および発達障害は、その多くのものが原因不明であり、治療方法も予防法もまだ確立していない。そのために、患者はもちろん家族の苦悩は、測り知れないものがある。

これらの難治疾患に対する医療と研究を速かに整備、充実すべきだとする世論に応じて、厚生省は昭和39年以降、筋ジストロフィーおよび重症心身障害の専門病床の整備を進めるとともに、「進行性筋ジストロフィーの成因と治療」、「心身障害の発生予防」の研究の強化を計り、また昭和47年度以後には、重症筋無力症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症などの神経系難病の研究を推進して今日に至っている。しかし、その成果は必ずしも満足すべきものではないとして、これらの難治疾患の原因解明と治療開発をより一層推進するために、医学のみならず、関連諸科学を含めた大規模な総合的研究機構を、国家的見地に立って建設する必要があることが各方面から要望された。

このような状況のもとで、昭和43年には国立脳・神経センターの構想が国立武蔵療養所から厚生省に提出され、さらに昭和48年からは患者家族と研究者の協力により、この種の研究機構の構想が検討された。昭和49年には厚生大臣官房科学技術審議官室が、精神・神経・筋・発達障害研究体制検討会(委員長森山豊)を設置し、昭和50年に中間報告をまとめた。翌昭和51年、国立精神・神経・筋・発達障害センター(仮称)発足のための施設整備費が認められ、具体化の第一歩を踏み出した。昭和51年1月、本センター設立準備委員会の設置が決まり、16名の委員が厚生省事務次官より委嘱された(表1)。

本委員会は昭和51年1月から8月迄に8回(その他小委員会2回)開催され、毎回長時間の熱心な討議が行なわれた。細部についてはまだ十分検討が加えられていない憾みがあるが、現在迄に得られた本委員会の結論の大綱をここに報告する。

2. 目標と使命

本センターが対象とする精神疾患、神経・筋疾患、発達障害は各種の解明困難な疾患を含んでる

が、おおむね次の3群に大別される。

1. 進行性筋ジストロフィー症等の神経・筋・変性性疾患群
2. 代謝異常などによる精神疾患群及び神経疾患群
3. 染色体異常および胎内・周産期異常による精神薄弱，脳性麻痺などの発達障害群

これらの疾患群および発達障害群は，従来精神科，神経内科，小児科，産科などの諸分野でそれぞれの専門的立場から研究されてきた。

しかしこれらは中枢神経系，末梢神経系，神経・筋接合を経て筋に至る一貫した機能系に障害のある難治疾患であるため，共通の基盤に立って研究を行なうことが可能かつ必要であり，臨床医学の関連諸分野および基礎医学のみならず，近年めざましい進歩をとげている分子生物学，発生学，遺伝学，情報処理などの関連諸科学との密接な協力のもとに，原因の解明，新しい治療法の開発，予防法の確立を期することを目標とする。

このような目標の達成には既存の治療・研究体制から脱皮し，新しい発想のもとに関連諸分野の研究者が協力しうる組織，機構，運営を考慮することが必要である。

本センターの目標と使命は具体的にはおよそ次のように要約される。

1. 本センターは目的指向型の研究施設として，合理的かつ効果的な研究と施設の運営を行なう。
2. 本センターは独自の研究施設，組織と十分な研究費をもつとともに，大型研究プロジェクトを全国的に推進できる中枢としての機能をもつ。
3. 本センターは医学のみならず，分子生物学，発生学，遺伝学，情報処理などの関連諸科学の総力を結集できる組織と機構をもち，研究プロジェクトに対応できる流動的な研究態勢を確立する。
4. 本センターは共通の目標をもつ全国の大学その他の医療，研究機関と密接な連携を保ち，門戸を広く開放して施設の共同利用，人的交流をはかる。
5. 本センターは流動研究員制度およびレジデント制度を設け，国内および，国外からの研究者を受け入れる体制を備える。
6. 本センターは研究を推進するために必要な国内および国外の情報を収集し，国内および国外に対して情報サービスを行なう。
7. 本センターに研究者，専門医，その他の医療従事者，医療保健従事者などの養成，研修のための施設を設ける。

3. 名称及び設置場所

国立神経センター（仮称）と称し、東京都小平市小川東町2620国立武蔵療養所に設置する。

4. 組織及び機構

厚生省設置法を改正して、国立がんセンターと同様の国立センターとする。国立武蔵療養所はセンターの病院部門に包括される。

センターはセンター長の下に研究所、病院、研修所、運営部を置き、センター長はセンター運営委員会および研究委員会を統轄して、各部門の連繋と円滑な運営をはかるものとする。

(1) 研究所

イ. 次に掲げる疾患研究部門8部及び基礎研究部門10部の計18部を設置する。

- (1) 疾患研究第1部（主として筋疾患）
- (2) 疾患研究第2部（主として先天性代謝異常）
- (3) 疾患研究第3部（主として周産期・胎内発達異常）
- (4) 疾患研究第4部（主として精神疾患）
- (5) 疾患研究第5部（主として変性性神経疾患）
- (6) 疾患研究第6部（主として染色体異常）
- (7) 疾患研究第7部（主として脳器質疾患）
- (8) 疾患研究第8部（主として発作性疾患）
- (9) 心身障害診断研究部
- (10) 疾患モデル動物開発部
- (11) 疫学研究部
- (12) 神経・筋微細構造研究部
- (13) 神経機能研究部
- (14) 代謝研究部
- (15) 分析化学研究部
- (16) 薬物反応研究部
- (17) 感染・免疫研究部
- (18) 発生・発達研究部

ロ. 共同利用部門として (1)情報センター(図書館を含む)、(2)実験動物管理室、(3)中央機器

室, (4)電子顕微鏡室, (5)アイソトープ室, (6)工作室, (7)写真室 を設置する。

(2) 病 院

イ. 病棟部門：既設の病棟の他に、神経疾患および筋疾患のための病棟（120床）を新設し、将来300床程度とする。なおリハビリテーション施設を新設する。

ロ. 外来部門：既設のものほかに、神経疾患、筋疾患および精神薄弱などの発達障害のための外来部門を新設し、全国の対象疾患患者への医療サービス（他の医療機関からの紹介、対象患者の追跡など）にあてる。

また、専門外来として、精神科、神経内科、神経小児科、神経外科、麻酔科、口腔外科を置き、常勤医をあてる。その他内科（循環器、内分泌、血液などの各科）、小児内科、整形外科、神経耳科、神経眼科、皮膚科、泌尿器科、産婦人科を設け、非常勤医をあてる。

ハ. 共同利用部門：センター病院としての機能を果たすため国立武蔵療養所の現有施設を拡充強化し、病院共同利用部門として次の各部を設置する。

(1) 中央検査部（生化学、生理、血液、血清、微生物、診断用アイソトープなど）

(2) 病理部（剖検センター、一般病理、神経病理）

(3) 放射線部 (4) メディカル・リハビリテーション部 (5) 心理部

(6) ソシアルワーク部

(3) 研 修 所

研究者、専門医、医療従事者、医療保険従事者の養成、研修を行なうための施設および宿舎を設置する。

(4) 運 営 部

庶務、会計、医事、調査、企画、図書、研修などの部局をおき、センター運営にあたる。

5. 職 員

本センターがその使命を達成するためには、高度の医療と研究の水準を確保するのに十分な人材をもつことが不可欠の条件である。そのためには、医学および関連諸科学の優秀な研究者は勿論、その他情報部門（図書館司書を含む）、共同利用部門、実験動物管理部門に、専門技術と経験をもった技術者を充足することが必要である。また病院については、検査、リハビリテーション、ソシアルワーク、心理などのパラメディカル部門の職員を十分に持つことが必要である。

さらに重要なことは、流動研究員、併任研究員などの制度を活用して、全国の関連する医療・研

究機関との交流を推進することである。

(1) 研 究 所

各研究部には次の職員を置くものとする。

部 長	1 名
室 長（主任研究員）	2－4 名
研究員	4－8 名
技術員（研究助手）	6－10名
事務員（秘書その他）	1－2 名
計	14－25名

その他に流動研究員若干名，併任職員若干名を置く。

(2) 病 院

部長，医長，専任医員の他にレジデントを置き，病棟および外来の診療にあたるものとする。

医師，看護者，パラメディカル要員については，センターの使命にふさわしい高度の医療水準の確保にこと欠かないだけの定員が設定されなければならない。

なお研究所と病院の人事交流を緊密にするために併任制度を活用すべきである。

6. 設 立 計 画

患者，家族の方々の期待に応えるためにも，センターの構想が一気に実現することを望むものであるが，現在の諸般の状況からは設立計画を段階的に遂行せざるを得ない。

まず研究所については，表2に示す18研究部門，共同利用部門，図書館，動物管理室などを完成するためには少なくとも17,000㎡の規模を必要とする。昭和52年10月に予定された開設のための第一次計画としては，昭和51年度予算7億円で4,400㎡（4階建）の建物が建設されることになった。また第一次計画として本委員会は基礎4部門（神経・筋微細構造研究部，神経機能研究部，代謝研究部，感染・免疫研究部）および疾患研究7部門（筋疾患，先天性代謝異常，周産期・胎内発達障害，精神疾患，変性性神経疾患，脳器質疾患の各疾患研究部および心身障害診断研究部）の計11部門をもって発足することを決定した。しかし，厚生省の要請により，第一次計画は基礎4部門，疾患研究4部門の計8部門で発足することになった。

研究のために必要な機器類の経費として27億円が計上されたが，初年度は13億円が予定されている。

研究要員については本委員会は8研究部で108名程度の専任職員が必要であるとしたが、第一次計画では8研究部門で26名（他に事務職員3名）が予定されているにすぎない。

病院部門には当面現在の国立武蔵療養所が充当されるが、センターの病院の機能としては不十分であるため、第一次計画として神経・筋疾患病棟（120床）の新設と、外来、中央検査部、病理部の拡充、整備を行なう。さらに第二次計画以後、リハビリテーション部の新設および神経・筋疾患の病床を300床に増設させるために必要な改築、整備を順次行なう。

第一次計画につづく第二次、第三次整備計画（表3）を一日も早く完成し、構想に示されたセンターの機能が十分に発揮できるようにすべきである。

7. おわりに

患者、家族の方々と関係者の多年の努力が実って、本センターが建設の第一歩を踏みだしたことはまことによるこばしい。これはひとえにこれらの方々の協力のたまものである。

この報告でも明らかにしたように、いま発足しようとするセンターの態勢はその任務の重いのに比べて、決して十分とは言えない。本委員会はセンターの将来に希望を託し、その完成に向かって力をつくしたいと思う。全国の患者、家族の方々はもとより、医療関係者、研究者、さらには広く国民各位の一層の理解と支援を願ってやまない。

昭和52年1月

国立神経センター（仮称）設立準備委員会

委員長 秋元波留夫

副委員長 里吉栄二郎

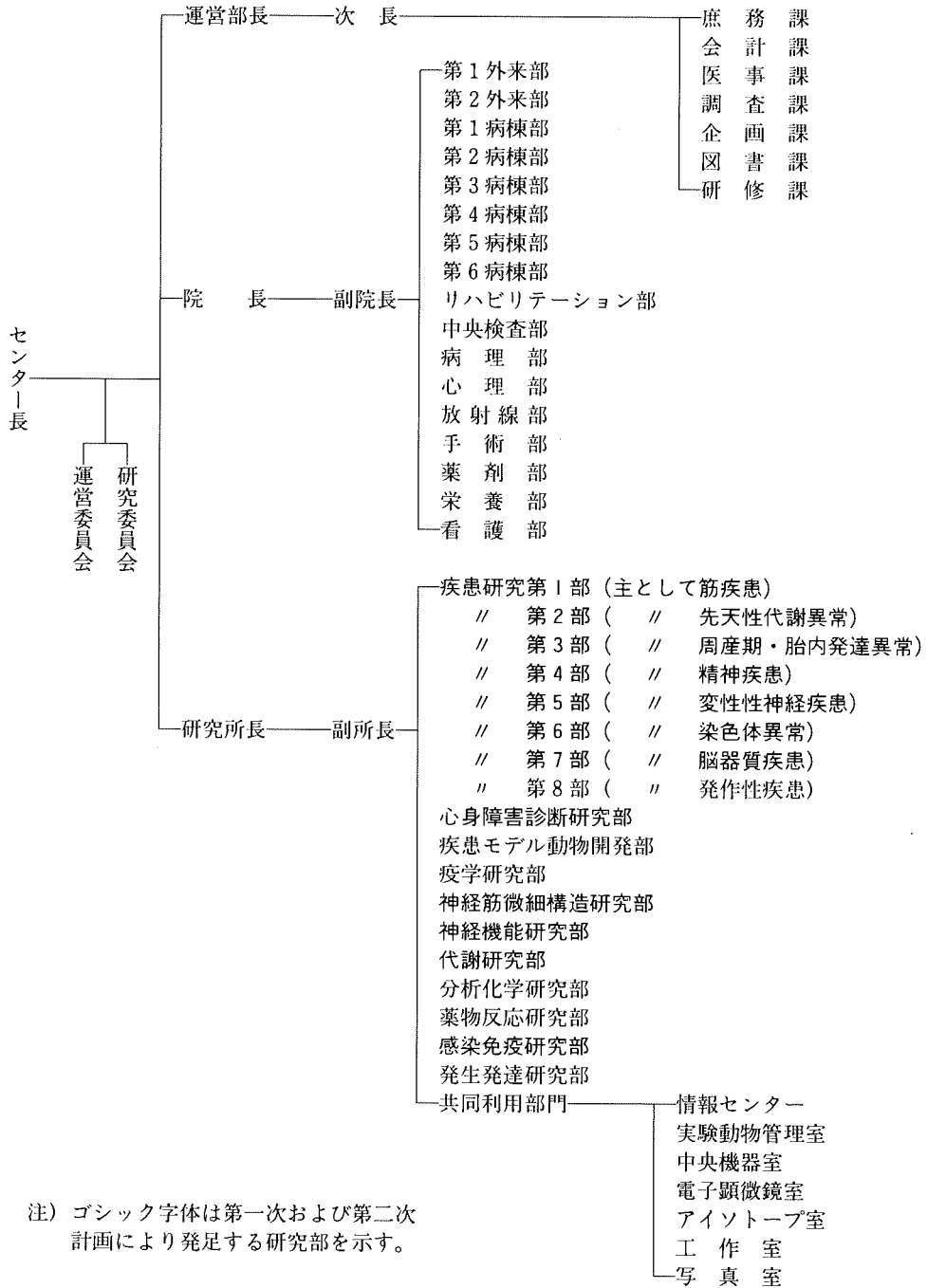
表1. 国立神経センター（仮称）設立準備委員会委員名簿

氏 名	所 属
◎ 秋 元 波留夫	国立武蔵療養所所長
○ 里 吉 栄二郎	東邦大学医学部教授（神経内科）
島 蘭 安 雄	東京医科歯科大学教授，附属病院長（精神科）
椿 忠 雄	新潟大学医学部教授，脳研究所長（神経内科）
豊 倉 康 夫	東京大学医学部教授，附属脳研究施設長（神経内科）
祖父江 逸 郎	名古屋大学医学部教授，附属病院長（神経内科）
成 瀬 浩	国立精神衛生研究所優生部長
森 山 豊	日本母性保護医協会会長
福 山 幸 夫	東京女子医科大学教授（小児科）
塚 田 裕 三	慶応義塾大学医学部教授（生理学）
勝 沼 信 彦	徳島大学教授，附属酵素研究施設長（生化学）
江 橋 節 郎	東京大学医学部教授（薬理学）
生 田 房 弘	新潟大学脳研究所教授（実験病理学部）
黒 岩 義五郎	九州大学教授，脳神経病理研究施設長（神経内科）
山 中 和	厚生省大臣官房科学技術審議官
石 丸 隆 治	厚生省医務局長

備 考：事務局 厚生省医務局国立療養所課

- ◎ 委員長
- 副委員長

表 2 国立神経センター（仮称）の組織



注) ゴシック字体は第一次および第二次計画により発足する研究部を示す。

表 3. 整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52~53年度)	一期工事 (約4,400m ²) 8 研究部門発足 流動研究員, レジデント宿舎新設	神経・筋病棟新設 (120床) 病理部門新設 外来部門増設 中央検査部増設
第 二 次 計 画 (できるだけ早い時期)	3 研究部門を増設 (計11部)	神経・筋病床を300床に増床 するために必要な病棟の改 築, 整備を行なう
第 三 次 計 画 (なるべく早い 時期)	7 研究部門を増設 (計18部) 大型動物室, 図書館, 研修部門の新設 当初予定の規模にするため約13,000m ² の増 築を必要とする	必要部門の拡充, 整備, 改 築を行なう

国立神経センター（仮称） 設立準備委員会経過

- 第 1 回 51.1.16 厚生省高木事務次官より本センターへの抱負開陳および委員委嘱
精神・神経・筋・発達障害研究体制検討会の中間報告説明
委員長に秋元委員を選出し、委員長より里吉委員に副委員長を委嘱
センターの基本構想の検討
- 第 2 回 51.2.6 センターの基本方針の検討
- 第 3 回 51.2.24 センターの将来構想案決定
- 第 4 回 51.3.12 国立武蔵療養所視察
研究所の第一次計画（11研究部）検討
病院拡充、整備案（神経・筋病棟120床新設）の検討
- 第 5 回 51.3.27 研究所，病院の第一次計画検討，決定
- 第 6 回 51.4.16 基礎研究部門，疾患研究部門別に各部門の面積配分，必要人員などの
細部検討
- 第 7 回 51.5.11 研究所の必要機器の検討
病棟新設（神経・筋病棟）に併せて，検査部，病理部，外来の増設決定
- 小委員会 51.7.16 昭和52年度予算要求案の定員および機器予算額の検討
- 小委員会 51.7.23 同上検討継続
- 第 8 回 51.8.11 昭和52年度予算要求（療養所課）の説明および討議
センターの名称検討（その決定は委員長，副委員長に一任）
センターの設置について，石丸医務局長より厚生省設置法を早急に改正
する旨の方針表明

附 記

厚生省医務局療養所課の昭和52年度予算要求は、下記左欄に示したものであったが、昭和52年1月右欄に示す内示があった。

	要 求	内 示
必要機器設備費など	約1,300,000千円	624,000千円 (内宿舎整備費 100,000千円を含む)
人員		
専 任 職 員	29人 (センター長1, 部長6, 研究員19, 事務3)	15人 (センター長1, 部長6, 研究員8, 事務0)
流 動 研 究 員	20人	20人
併 任 研 究 員	20人	20人
レ ジ デ ン ト	19人	0人
賃 金 職 員	2人	2人
その他		
専 門 外 来 職 員	7人	5人

参考資料

1. 国立脳・神経センターの構想：国立武蔵療養所 昭和43年5月
2. 国立精神神経センターの基本構想：国立武蔵療養所 昭和47年12月
3. 精神・神経・筋・発達障害研究体制について（中間報告）：厚生省 昭和50年3月
4. 神経センター（仮称）設置について：厚生省 昭和51年8月

(別項2)

2—A 神経センター流動研究員運営要領

(S53. 5. 22 国立武蔵療養所)

1. 目 的

神経センターの研究体制の方針即ち

ア. 本センターではプロジェクト研究を中心に研究を行う。

イ. 共通の目的をもつ全国の大学, その他の医療機関と密接な連携を保ち, 門戸を広く開放して施設の共同利用, 人的交流をはかる。

ウ. 独自の研究施設, 組織, 研究委託費を総合的に活用し, 大型研究プロジェクトを全国的に推進できる中枢としての機能をもつ。

以上の方針のもとに, 研究員制度として, 流動研究員制度を設け, 国内および国外からの研究者を受け入れるものとする。

2. 募集方法

公募とし, 公務員以外の者を対象として, 募集要綱を関連する大学, 試験研究機関等に配布し希望者を募集する。

3. 選 考

研究委員会で選考する。神経センター内に, 所長の任命する委員で構成された「研究委員会」を設け, その任務の一つとして流動研究員の応募者の審査, 選考を行い, 所長にその結果を報告する。

4. 定数, 任命及び任用期間

毎年度その定める各研究課題毎の定数内において所長が任命する。

任用期間は6ヵ月以内の期間を定め任命する。

但し, 研究成果に基き, さらに6ヵ月以内の延長を認めることができる。

5. 身 分

国家公務員で, 非常勤職員とする。

6. 服 務

その任期内について、国家公務員法第3章第7節（服務）各条の適用者となる。

7. 勤務時間

週33時間とする。

8. 災害補償

国家公務員災害補償法の適用を受ける。

9. 結 与

非常勤職員手当と、給与法第22条の定めるところにより支給する。

1) その基準は下記のとおりとし、その格付は「研究委員会」において検討し、所長に上申する。

A（教授＝研究部長）クラス	時給	2,400円
B（助教授＝研究室長）クラス	時給	2,000円
C（講師＝主任研究官）クラス	時給	1,800円
D（助手＝研究員）クラス	時給	1,400円

2) 通勤手当，扶養手当，期末手当，勤勉手当等その他手当は一切支給しない。

3) 食事，厚生施設等は，所内施設の利用を認める。

10. 適用時期

この規程は，昭和53年4月1日から適用する。

ただし，給与に関する事項は昭和60年4月1日から適用する。

(別項2)

2-B 研究委員会内規

神経センター流動研究員運営要領に基づき、流動研究員の採否、格付け、及びその評価を行なうため、下記の研究委員会を設ける。

研究委員会は神経センター長、各部部長をもって構成し、センター長が運営の任にあたる。

委員会の決定は多数決による。

流動研究員を段階にわけ、決定にあたっては、経歴及び研究業績を審査し、原則として下記の基準にしたがうものとする。

- A) 文部省大学令に基づく大学教授、又はそれに準ずる研究歴を有し、大学卒業後15年以上のもの
- B) 文部省大学令に基づく大学助教授、又は大学卒業後10年以上の研究歴を有するもの
- C) 文部省大学令に基づく大学講師、又は大学卒業後5年以上の研究歴を有するもの
- D) 大学卒業後3年以上の研究歴を有するもの、もしくはこれに準ずるもの

上記の大学とは4年制大学及びこれに準ずるものをさし、医学部医学科及び歯学部歯学科卒の場合は卒業の時点において既に2年の研究歴を有するものと認定する。

(別項3)

3-A 神経センター併任研究員運営要領

1. 目 的

神経センターの次の研究体制の方針のもとに併任研究員制度を設け、公務員の研究者を受入れるものとする。

- (1) 本神経センターでは、プロジェクト研究を中心に行う。
- (2) 共通の目的をもった全国の大学、その他の医療機関と密接な連携を保ち、門戸を広く開放して施設の共同利用、人的交流をはかる。
- (3) 独自の研究施設、組織、研究委託費を総合的に活用し、大型プロジェクトを全国的に推進できる中枢としての機能をもつ。

2. 選 考

- (1) 研究委員会で選考を行い、国立武蔵療養所長（以下「所長」という。）にその結果を報告する。
- (2) 研究委員会は、神経センター流動研究員運営要領3の研究委員会を適用する。
- (3) 併任研究員を受け入れようとする部長（以下「当該部長」という。）は、神経センター併任研究員申請書（様式1）を研究委員会に提出する。

3. 定数、承認および承認期間

- (1) 毎年度その定める各部の定数内において、所長が承認する。
- (2) 承認期間は1年以内とする。ただし、再選考することは妨げない。

4. 責任と義務

- (1) 併任研究員の神経センター内の服務規律および特許権等並びに設備、施設の利用については、神経センター職員に準じて行うものとする。
- (2) 併任研究員が神経センターにおける研究業績を発表しようとするときは、当該部長の許可を得るものとする。

V 別 項

附 則

この運営要領は、昭和56年4月1日から適用する。

(別項3)

3—B 客員研究員に関する内規

1. 本神経センターに客員研究員をおくことが出来る。
2. 客員研究員は、各研究部に属し当該部長の責任において研究に従事するものとする。
3. 客員研究員は、大学に所属するものは教授、助教授または研究歴十年以上の講師とし、研究所に所属するものは部長、室長または研究歴十年以上の主任研究員とし、その他研究歴十年以上の研究者で研究委員会で適当と認められた者とする。
4. 任期は1年以内とし、再任を妨げない。
5. 客員研究員を受け入れようとする部長は、神経センター客員研究員申請書(様式1)を所長あてに提出する。
6. 任命は、研究委員会の決定に基づき任命しようとする者の所属先の同意を得た後、所長が之を行う。
7. 客員研究員の事故等については、補償を行わない。

[附 則]

この内規は昭和59年11月26日より施行する。

(別項3)

3-C 神経センター研究生研究見習生内規

1. 目 的

神経センターの研究対象疾病に関する原因の解明，治療法の開発，予防法の確立について，研究および技術修得のための研修を希望する者を，この内規の定めるところにより研究生または研究見習生として受入れるものとする。

2. 資 格

研究生は，大学卒業者または国立武蔵療養所長（以下「所長」という。）が，同等以上の学力を有すると認めた者で，所属する機関長等の推薦する者。

研究見習生は，高等学校以上の学校を卒業した者または所長が同等以上の学力を有すると認めた者で，所属する機関長等の推薦する者。

3. 選 考

- (1) 研究委員会で選考を行い，所長にその結果を報告する。
- (2) 研究委員会は，神経センター流動研究員運営要領3の研究委員会を適用する。
- (3) 研究生または研究見習生の承認を受けようとする者は，神経センター研究生研究見習生申請書（様式1）を，指導を受けようとする部長（以下「指導部長」という。）を経て研究委員会に提出する。

4. 定数，承認および承認期間

- (1) 研究生および研究見習生の定数は各部若干名とし，所長が承認する。
- (2) 承認期間は1年以内とする。ただし，再選考することは妨げない。

5. 身 分

推薦する機関長の所属とする。

6. 給 与

研究生および研究見習生には、国から一切の給与を支給しない。

7. 責任と義務

- (1) 研究生および研究見習生の服務規律および特許権等については、神経センター職員に準ずるものとする。
- (2) 研究生および研究見習生は、指導部長の指示または許可を得て、研究・研修および研究業績の発表を行うものとする。

8. 辞 退

研究生および研究見習生は、研究および研修を辞退したい場合には、辞退届を指導部長を経て所長に提出するものとする。

9. 承認の取消

所長は、研究生および研究見習生がこの内規に違背し、または研究生および研究見習生としてふさわしくない言動があった場合においては、研究委員会の議を経て承認を取り消すことができる。

10. 弁 済

研究生および研究見習生は、本人の故意または重大な過失により国に損害を与えたときは、その弁済の責を負わなければならない。

附 則

この内規は、昭和56年4月1日から施行する。

(別項4)

4. 神経センター勤務心得

昭和56年4月1日制定

1. 神経センターの勤務者（以下「勤務者」という。）は、研究者としての責任を自覚し、旺盛な研究心をもって対象疾病の研究に努めなければならない。
2. 勤務者はそれぞれの所属部（室）の機能に応じて業務を分担してこれを行う。
3. 勤務者は勤務時間外あるいは出張・休暇の際、自己の研究体制に落度のないように心掛ける。
4. 勤務者の出勤および退勤は、所定位置の名札の表裏によって明瞭にしなければならない。
5. 勤務者は勤務時間中、自己の所在位置を明瞭にしなければならない。
6. 庁外に対し、個人的意見の発表は良識にしたがって、慎重を期さなければならない。
7. 神経センターの研究において得られた技術が、特許権・実用新案権または意匠権の対象となるときは、その権利を取得するための手続をとるとともに、国立武蔵療養所長に届出するものとする。
8. 官物と私物の区別は厳重にし、つねに公私の混同を戒めなければならない。

(別項5)

5. 神経疾患研究推進委員会規程

(設置目的)

第1条 神経センター研究活動推進を図るため、神経疾患研究推進委員会（以下「委員会」という。）を設置する。

(組 織)

第2条 委員会は、委員16名以内をもって組織し、会長1名を置く。

(委 員)

第3条 委員は、次の各号に掲げる者のうちから保健医療局長が委嘱する。

- (1) 関係行政機関及び国立武蔵療養所の職員。
- (2) 学識経験のある者。

(会 長)

第4条 会長は、国立武蔵療養所長の職にある者とする。

2. 会長は、会務を総理する。会長に事故あるときは、委員のうちからあらかじめ会長の指名する者がその職務を代理する。

(任 期)

第5条 委員の任期は原則として2年とする。

2. 委員は、原則として継続した再任は認めない。
3. 委員に欠員を生じたときあらたに委嘱される委員の任期は、前任者の残任期間とする。

(評価部会)

第6条 委員会に評価部会を置くことができる。

2. 評価部会は、研究評価を行い、委員会に報告しなければならない。
3. 評価部会の委員は、委員会の委員の中から保健医療局長が依頼する者若干名とし、部長を置く。
4. 評価部会に上記委員のほか、保健医療局長の依頼する専門委員若干名を置くことができる。

(開 催)

第7条 委員会（評価部会を含む。）は、必要に応じ保健医療局長が招集する。

V 別 項

(庶 務)

第 8 条 委員会の庶務は、国立武蔵療養所事務部において処理する。

(雑 則)

第 9 条 この規程に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は保健医療局長が会長と協議のうえ定める。

(附 則)

1. この規程は、昭和53年11月7日から施行する。
2. この規程の施行後最初に委嘱する委員のうち保健医療局長の指定する者の任期は、本文の規定にかかわらず3年とする。

(附 則)

この規程は、昭和59年11月1日から施行する。

(別項6)

6. 研究部門将来計画

部	室 名	主として行う研究テーマ
疾病研究第1部 (主として筋疾患)	1. 筋ジストロフィー 2. 筋炎および筋無力症 3. 先天性筋疾患	筋ジストロフィーの病因の解明と治療法の研究 筋炎および筋無力症の病因, 病態生理, 治療法の研究 先天性筋疾患の分類, 成因, 代謝, 治療の研究
疾病研究第2部 (主として発生・発達障害疾患)	1. 精神遅滞 2. 運動感覚発達障害 3. 奇形症候群	精神遅滞の機序の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策 運動感覚発達障害の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策 脳奇形および随伴症状の発現機序の研究と予防対策
疾病研究第3部 (主として精神疾患)	1. 精神分裂病 2. 躁うつ病 3. 非定型精神病	精神分裂病の成因の生化学的および薬理学的研究 躁うつ病の成因の生化学的および薬理学的研究 非定型精神病の病態と成因に関する生理学および生化学的研究
疾病研究第4部 (主として変性神経疾患)	1. 脊髄小脳変性症 2. 運動ニューロンおよび末梢神経疾患 3. 錐体外路疾患	脊髄小脳変性症の成因, 病態の解明と治療法の研究 運動ニューロン・末梢神経疾患の成因, 病態の解明と治療法の研究 パーキンソン病などの錐体外路疾患の原因, 病態の解明と治療法の研究
疾病研究第5部 (主として先天代謝異常症)	1. 遺伝生化学 2. 分子病 3. 治療開発	先天代謝異常症の遺伝生化学に関する研究 酵素蛋白異常などを伴ういわゆる分子病の本態解明に関する研究 先天代謝異常症の治療の開発に関する研究
疾病研究第6部 (主として脳器)	1. 第1研究室 2. 第2研究室	多発性硬化症などの脱髄性疾患, 中毒性神経疾患, 脳炎などの中枢神経感染症, 脳血管障害, 脳腫瘍,

部	室 名	主として行う研究テーマ
質疾患)	3. 第3研究室	脳外傷, 初老期および老年期などの多くの脳器質疾患につき適時これらの疾患の本態および治療法につき研究する
疾病研究第7部 (主として染色体異常性疾患)	1. 常染色体異常症 2. 染色体切断症候群 3. 染色体構造	ダウン症候群などの常染色体異常症の成因, 予防, 治療に関する研究 染色体の不安定性を伴う疾患の成因, 予防, 治療に関する研究 染色体の分析技術の開発と構造の個体差などに関する研究
疾病研究第8部 (主として発作性疾患)	1. 本態性てんかん 2. 症候性てんかん 3. 発作性脳幹障害	原因不明(本態性)てんかんの成因に関する生理学および生化学的研究 種々の脳障害に基づくてんかん, 特に難治性てんかんの本態, 治療に関する研究 ナルコレプシーなど脳幹性の意識・睡眠障害の本態, 治療に関する研究
診断研究部	1. 微量定量 2. 新生児スクリーニング 3. 発達異常診断開発	生体異常成分の微量測定法の開発に関する研究 代謝異常等の新生児期早期診断に関する研究 精神発達障害, 自閉症などの早期診断に関する研究
疾患モデル動物用開発研究部	1. モデル動物診断 2. モデル動物遺伝解析 3. モデル動物生産	神経・筋疾患モデル動物の開発に関する研究 神経・筋疾患モデル動物の遺伝的因子の分析 神経・筋疾患モデル動物の生産と維持
疫学研究部	1. 疾患統計調査 2. 遺伝疫学 3. 実験疫学	神経・筋疾患の発生率, 有病率, 死亡率等に関する調査 神経・筋疾患の遺伝, 遺伝子頻度, 外因等の分析 疫学的に推定される諸因子と疾病の関連に関する実験的研究

部	室 名	主として行う研究テーマ
微細構造研究部	1. 超微構造 2. 微細組織化学 3. 生体膜	神経・筋組織における正常および病的構造の電子顕微鏡による研究 細胞・組織内の元素分布の変動の分析電顕による解析と構造・機能の関連に関する研究 生体膜の構造および抗原・レセプター分布の免疫学的手法による解析
機能研究部	1. 筋生理学 2. 神経生理学 3. 病態生理学	筋収縮およびそれに関連する機能の生理学的研究 神経の興奮・伝導およびそれに関連する機能の生理学的研究 神経系・筋疾患における機能変化の生理学的研究
代謝研究部	1. 神経化学 2. 発達生化学 3. 細胞化学	神経系の化学的構成および代謝機構の研究 神経系の発達に伴う生体物質の代謝機構の変動に関する研究 ニューロン・グリアなどの神経系の細胞における生化学的調節機構の研究
免疫研究部	1. 免疫発現機構 2. 免疫化学 3. 免疫異常	免疫発現機構の細胞学および免疫化学的研究 免疫関連因子の化学的構造と機能に関する研究 神経・筋疾患における免疫異常の解析と制御機構に関する研究
分析化学研究部	1. 生体物質分析 2. 物質構造解析 3. 生物有機化学	未知の生体物質の分離および化学構造の研究 生体高分子物質の構造のX線回折, 核磁気共鳴電子スピン共鳴などによる研究 生体物質とその近縁物質の化学合成と, これを用いて生体物質の化学反応機構の研究
薬物作用研究部	1. 細胞薬理 2. 発生薬理	細胞内における薬物の反応機構に関する研究発生, 分化の過程における薬物作用の変動の研究

部	室 名	主として行う研究テーマ
	3. 薬物代謝	生体内における薬物代謝の機構に関する研究
発生生物学 研究部	1. 細胞分化 2. 分子発生 3. 発生生理	発生過程における細胞分化の機構の生理学および生化学的研究 発生過程における核酸・蛋白質などの機能の分子レベル的研究 発生・発達に伴う生体機能の制御機構に関する研究
生体工学研究部	1. 生体情報 2. 機器開発	生体情報の受容, 制御および動作発現に関する電子工学的研究 神経・筋疾患に対する医用機器の開発と応用

国立武蔵療養所神経センター年報
第8号〔昭和60年度〕

発行 昭和61年3月31日
発行者 里吉 栄二郎
編集者 安藤 一也
田平 武
印刷 御幸印刷株式会社

国立武蔵療養所神経センター
〒187 東京都小平市小川東町4-1-1
電話 0423 (41) 2711
