

国立精神・神経センター
神 經 研 究 所 年 報

第 1 号 (通卷 9 号)

昭和 61 年度

National Institute of Neuroscience
National Center of Neurology
and Psychiatry

— 1986 —

国立精神・神経センター
神 經 研 究 所 年 報

第 1 号 (通卷 9 号)

昭和 61 年度



国立精神・神経センター 武蔵キャンパス

左手前の二棟が神経研究所

(右：研究棟，左：実験動物研究棟)

は し が き

国立精神・神経センター神経研究所の年報第1号(通巻9号)をここに発刊出来ることになったのは誠に喜ばしい。本研究所が旧国立武蔵療養所神経センターとして8部門16室で発足したのは昭和53年1月1日(1978年)であった。当初は国立神経センターへ将来移行するという目標で発足したが、8年9ヶ月をへて待望の国立センター化が実現し、昭和61年10月1日より国立精神・神経センターとして新たな組織が発足し、研究所(旧神経センター)の名称も神経研究所(National Institute of Neuroscience)と改まった。

組織と名称が改まったといっても内容は変わったわけではなく、従来からの研究所の活動を更に発展させてここに報告する次第である。本年度は4年越しに整備をしていた実験動物研究施設2,800㎡が完成し、新しい装置を含めモデル動物開発部の研究部門も新設整備されて、今後の神経研究所の発展に大きな力が加わった。

神経研究所の機構は8年余りの間にかんりの発展をみ、発足時の本年度は13部門30室となっている。定員としては少ないが、流動研究員、併任研究員、研究生などを加えると200名余りの研究スタッフが設立当時の建物の中で活発な研究を行い、数多くの成果をあげてきた。明年度からは新しい第2研究棟の建設が始まることと決定されており、数年後には現在の2倍の規模の研究設備が整うものと期待している。

国立精神・神経センター神経研究所年報第1号(通巻9号)を発行するに当って長年にわたって努力してきたスタッフに心から感謝をささげる次第である。

また従来の年報に比べ診療部門は除き、多少新しい内容となったが、従来の年報のよい点はなるべく残すように努力した。

昭和62年3月末日

国立精神・神経センター神経研究所長

里 吉 栄二郎

目 次

I 神経研究所の概要

1. 神経研究所設立まで	1
2. 組 織	2
3. 研究活動	3
4. 海外からの研究協力	4
5. 神経疾患研究委託費	4
6. 国立センター移行前と移行後	4

II 研究業績

1. 所 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	55
5. 疾病研究第4部	66
6. 疾病研究第5部	89
7. 疾病研究第6部	105
8. 診断研究部	119
9. 微細構造研究部	134
10. 機能研究部	150
11. 代謝研究部	158
12. 免疫研究部	166
13. モデル動物開発部	175

III 中央施設

181

IV 別 項

1. 国立神経センター（仮称）設立準備委員会中間報告	197
2. 国立精神・神経センター神経研究所流動研究員運営要領	208
3. A 国立精神・神経センター神経研究所併任研究員運営要領	210
B 国立精神・神経センター神経研究所客員研究員に関する内規	211
C 国立精神・神経センター神経研究所研究生研究見習生内規	212
4. 国立精神・神経センター神経研究所勤務心得	214
5. 神経疾患研究推進委員会規程	215
6. 研究部門将来計画	217

I 神経研究所の概要

神経研究所の概要（1986年）

1. 神経研究所設立まで

神経研究所年報第1号（神経センター年報，通巻第9号）を発行するに当たって国立精神・神経センター神経研究所の設立に至る迄の経過を集約，記録しておくことにした。

本研究所が設立に至る迄には計画を立ててから14年余りを経ているが，昭和39年以降，筋ジストロフィー症，重症心身障害の専門病棟の整備を進めた厚生省は昭和47年以後に重症筋無力症，筋萎縮性側索硬化症などいわゆる神経難病の原因解明と予防，治療について研究の推進を計ってきた。昭和48年，これらの神経難病の原因解明と治療開発をより一層推進するため，関連諸科学を含めた大規模な総合研究機構を建設する必要があることが患者，関係団体および研究者の各方面から要望され，昭和49年には厚生大臣官房，科学技術審議官室（山中和審議官）に精神・神経・筋・発達障害研究体制検討委員会（森山豊委員長）が設置され，昭和50年に中間報告がまとめられた。昭和51年，国立センター発足のための施設整備費が認められ，国立神経センター（仮称）設立準備委員会（秋元波留夫委員長，里吉栄二郎副委員長）が設立され，総計16名の委員が厚生事務次官より委嘱された。この委員会では8回にわたる熱心な討議が行われ，昭和52年1月，国立神経センター（仮称）設立準備委員会中間報告がまとめられた。この中間報告の内容は国立センター建設の際の基本となったもので，神経センター年報に毎回收録してある。

神経センターの目標と使命としては進行性筋ジストロフィー症などの神経・筋変性疾患群，代謝異常などによる精神および神経疾患群，染色体異常および胎内，周産期異常による発達障害群の3つの疾患群に対して原因解明と治療法の開発を行う目的指向型の研究施設であることが明記されている。この中間報告には研究所及び病院の整備計画を含めて将来計画の要約がまとめられており，この中間報告書を基本として昭和52年3月，神経センターの建築が開始され，昭和53年1月，4,800㎡の研究棟が完成し，1月1日，国立武蔵療養所神経センターとして発足した。

発足時の構成は里吉栄二郎センター長以下8部16室で，疾病研究第1部 杉田秀夫部長（併任），第2部 有馬正高部長，第3部 島藺安雄部長（併任），第4部 安藤一也部長，診断研究部 成瀬浩部長，微細構造研究部 岩崎祐三部長，機能研究部 小澤鎧二郎部長，代謝研究部 宮本侃治部長 である。また流動研究員制度という新しい制度による研究員21名の採用，神経疾患研究委託費も総額1億9千万円が予算化され，6課題の研究が推進されることになった。

神経センターの組織はその後徐々に拡大され，昭和54年度には免疫研究部を含む1部4室の増設，企画調査係長の新設，昭和55年には疾病研究第5部 鈴木義之部長（併任）以下1部3室が増設され計10部門23室となり，昭和56年には疾病研究第6部 田平武部長以下2室が増設され11部25室となった。昭和56年

I 神経研究所の概要

3月には特殊診療棟が完成し、神経内科、小児神経科の外来診療部門も整備されてきた。

昭和58年には実験動物研究棟2,800㎡の建設が開始されたが、昭和59年当時の渡部厚生大臣の努力で国立センターへの移行が準備され、昭和60年度にはモデル動物開発部 1部3室（菊池建機部長）が増設された。一方昭和60年度には従来推進されてきた国立センター案に対して行政改革路線の観点から再検討が加えられ、市川市の国立精神衛生研究所および国立国府台病院も統合し、2研究所、2病院を含む大規模な国立精神・神経センターを造るという提案が行われ、検討が開始された。一方神経センターには疾病研究第7部（高次機能障害研究部、1部2室）の増設をみた。

昭和61年10月1日、国立武蔵療養所、神経センター、国立精神衛生研究所の3つの施設は合体し、国立精神・神経センターという新しいセンターが国立がんセンター、国立循環器病センターにつぐ第3番目の国立センターとして誕生し、従来用いられた神経センターという名称は神経研究所（National Institute of Neuroscience）と改められ、13部30室で新しい研究所に移行した。昭和62年10月には遺伝子工学研究部門1部3室が増設され、14部33室になる予定である。また実験動物研究施設も3月に完成し、研究所の発展に大きな力になるものと期待されている。

組織の発展とともに流動研究員、併任研究員など人員の面でも多少の増加があったが、研究員の定員化がなかなか実現せず、逆に定員削減を受け、研究員の定員はゼロとなってしまったのは誠に残念である。

神経疾患研究委託費は昭和53年度1億9千万円6課題で発足したが、昭和54年には1億円増額、計2億9千万円が12の研究課題に対して研究委託された。昭和55年には2,000万円増の3億1千万円、昭和56年の国際障害者年には9,000万円増で計4億円の委託研究が16の課題に対して行われるようになった。昭和60年度には、研究委託費は更に増額し、計4億5千万円が17課題の研究に対し委託されている。また本年秋には新しい第2研究棟の建設も開始することが決定しており、今後の発展が大いに期待される。

2. 組織

昭和53年神経センター発足時は8部16室で発足し、研究職23名、流動研究員20名、併任研究員20名、計63名で発足した。そのほか賃金研究員7名、賃金職員4名などの非常勤職員を含んでいた。その後年々研究部門および室の増加に伴い、流動研究員、併任研究員の定数も増加し、昭和61年10月、国立精神・神経センター神経研究所移行時には13部30室で、研究員1名は定員削減を受けており、本年度で研究員の定数はなくなることになっている。部長は併任2名を含んでいるので研究所長1名、部長11名、室長30名の計42名が定員となっている。（表1参照）

実質的には表2の如くで、疾病研究第2部有馬部長の武蔵病院副院長転出により、所長1名、研究部長10名、室長21名、研究員7名、併任研究員25名、客員研究員21名、流動研究員27名、研究生54名、賃金研

究員36名，企画調査係 係長1，係員1，賃金職員1名，R1室賃金職員1名，電顕室賃金研究員2名，所長室賃金職員1名で，研究生54名を別としても計155名の職員が活躍しており，研究生を含めると計209名という数に達している。

3. 研究活動

詳細は本誌にまとめてあるが，年々業績も増加し，欧米の雑誌にかなりの研究成果を発表しており，内外からも高い評価を受けるようになってきた。

各部の研究状況を簡単にまとめてみると，疾病研究第1部は筋疾患，殊に筋ジストロフィー症の発症，治療，遺伝子に関する研究が行われてきたが，細胞免疫の面より筋ジストロフィーの各型の相違に関する研究が加わってきた。疾病研究第2部は有馬部長がセンター化に伴い武蔵病院に転出したため，研究面での転換も考える時期に来ているが，従来通り，X線照射，カフェインなど摂取物の胎児への影響が種々の面より検討されている。その他ウイルソン病，コラーゲンの代謝に関する研究も行われている。疾病研究第3部は精神分裂病，うつ病に対する生化学的研究が中心であるが，サーカディアン・リズムの異常と精神障害発生の機序との関連が検討されており，多くの成果を得ている。疾病研究第4部ではALS患者のトランスミッターの研究，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に関する臨床的研究などが幅広く行われたが，本年限りで安藤部長が転出することになったのは誠に残念である。疾病研究第5部はリソゾーム病の診断システムの開発を進めてきたが，最近では遺伝子診断の領域に大きな発展をみせている。疾病研究第6部は脱髄機構の解明に種々の新しい発見をしており，その発病予防と治療についても成果をあげているが，近年老人性痴呆アミロイド斑についても研究を拡げつつある。診断研究部は心身障害の早期診断に関して新しい機器の開発をしてきたが，NMRの応用などによる新しい研究に取り組んでいる。一方，自閉症に対する代謝異常の研究も成果をあげている。

微細構造研究部は筋ジストロフィーの治療に関する研究と同時にミトコンドリア・ミオパチーの研究に取り組んでおり，本邦でも最も多く症例を集めすばらしい成果をあげている。一方ニコチン酸欠乏による水頭症の発症に関して新しい成果をあげている。機能研究部では筋発育因子としてのトランスフェリンの研究が益々発展し，その分子構造と作用機序との関係が次第に明らかとなり，将来の薬物応用に関する発展もみられている。代謝研究部ではグリアに関する代謝機構の解明がオリゴデンドロサイトについて検討されているが，一方抗てんかん剤の作用機序もレセプターの面より研究されている。免疫研究部では神経生長因子の調節因子について多くの新しい事実を明らかにしているが，ウイルス感染による自己免疫疾患発症との研究も始まっている。モデル動物開発部は新しい研究棟が完成したので研究の準備に入った段階であるが，モデル動物の開発を遺伝子レベル迄下げて行う準備が進んでいる。疾病研究第7部は研究室

の整備が遅れているが次年度には出来上がるものと期待している。

4. 海外からの研究協力

神経研究所では従来から海外の大学、研究所から長期ないし短期の研究員を受け入れているが、昭和61年度も4月にカナダのバンクーバー小児病院から Margaret G.Norman 教授が1ヶ月微細構造研究部に滞在、5月にはハンガリーのペーチ大学精神科教授 György Pálffy 教授が脱髄疾患の研究で疾病研究第6部に1ヶ月滞在、9月から中国の Yao Da Lin (姚大林) 助教授が6ヶ月同じく疾病研究第6部に滞在、更に6部には文部省の海外留学生としてフィリピン、マニラ大学の A.T. Ordinario 助教授が多発性硬化症の協同研究の為62年1月から2ヶ月間滞在中で研究を進めている。今後も更に研究交流が盛んになるものと思われるが、アジア諸国との間の協同研究推進も極めて大きくなるものと期待される。

5. 神経疾患研究委託費

昭和61年度の研究委託は昨年と同じく17課題について総額4億5千万円で行われており、最終年度にあたるものが12課題含まれている。12課題については評価部会が2月25日に開催され、班長よりヒヤリングと質疑が行われ、内容についても十分な討議が行われた。3月13日推進委員会が開かれ、新しい研究課題についても検討された。次年度からは精神・神経疾患研究委託費として新たな規定のもとに委託研究費が取扱われることに決定している。この点から研究委託費も神経研究所の所管事項というより国立精神・神経センターの所管事項として扱われるが、今回は従来の組織からの移行期であるために従来通りまとめることとした。

6. 国立センター移行前と移行後

国立センターに移行後、従来から発行していた年報、業績集を存続させるか否か検討されたが、未だセンターの活動、将来計画が軌道にのっていないことと、また本研究所の活動を要領よく記録し、その本来の活動を記録しておく意味で、今後も従来の形式にそった年報を発行することとした。神経研究所としては正式に第1号(通巻9号)としてここにまとめた。

国立精神・神経センター神経研究所長

里 吉 栄二郎

(表1) 国立精神・神経センター神経研究所組織



定 員								併任研究員		流 動 研究員	賃 金	合 計
研 究 職					行 (一)		計	部 長	研究員			
所 長	部 長	室 長	研究員	研究補助員	係 長	係 員						
1	11	30	—	—	1	—	43	2	26	28	2	101

(61年度の計)

(表3) 昭和61年度 神経研究所セミナー

月 日	講 師 ・ 所 属	演 題	担 当
61年 4.14	柳 原 武 彦 Professor, Department of Neuro- logy, Mayo Clinic, U.S.A.	Transient global amnesia	所 長
4.15	William W. Hall The Rockefeller University, U.S.A.	The measles virus and neurological diseases	疾病研究第六部
4.22	Margaret G. Norman Department of Pathology, British Columbia's Children's Hospital, Canada	Growth of the human corti- cal microvasculature	所 長 微細構造研究部
5.12	David M. Bader Assistant Professor, Department of Cell Biology and Anatomy, Cornell University Medical College, U.S.A.	Heart morphogenesis and myosin expression	疾病研究第一部 機 能 研 究 部 微細構造研究部
5.19	井 上 慎 一 三菱化成生命科学研究所 脳神経科 学研究部 脳神経生理学研究室	視交叉上核とサーカディアン リズム	疾病研究第三部
5.29	György Pálffy Professor of Neurology and Psy- chiatry, Director of the Depart- ment of Neurology and Psychiatry, Medical University of Pécs, Hungary	Epidemiology of multiple sclerosis in Hungary	疾病研究第六部
11. 7	絹 谷 政 江 愛媛大学医学部解剖学教室助教授	Spinal Cord キメラによる 神経疾患モデル	モデル動物開発 部 疾病研究第六部 所 長
11.13	William T. Norton Professor of Neuroscience, Albert Einstein College of Medicine, U.S.A.	Properties of adult oligo- dendroglia and astrocytes in tissue culture	疾病研究第五部 " 第六部 代 謝 研 究 部
62年 1.14	檜 林 博 太 郎 順天堂大学医学部神経内科教授	パーキンソン病研究の現状, 問題点, 展望	所 長 疾病研究第一部 " 第四部 " 第六部
1.27	山 口 千 津 子 社団法人 日本動物福祉協会	動物実験とその福祉について	モデル動物開発 部
3.10	Artemio T. Ordinario Chairman, Department of Neuro- logy and Psychiatry, University of Santo Tomas, Philippines	Baló's concentric sclero- sis prevailing in the Philippines and the revolu- tion	疾病研究第六部

(表 4) 昭年61年度神経研究所研究発表会

昭和62年 3月12日 (木)

第三会議室 (2病棟 1階)

- | | | | |
|-----|-------------|---|---------------------------|
| (1) | 9:25~9:29 | 開会の辞 | |
| (2) | 9:30~9:54 | 微細構造研究部 | |
| | | ・ミトコンドリア電子伝達系酵素の変動性 | ○古賀靖敏 |
| | | ・筋分化と Thy-1 抗原の発現について | ○菊池愛子 |
| (3) | 9:55~10:19 | 代謝研究部 | |
| | | ・イノシトールポリリン酸の調整法 | ○今澤正興, 奥村展枝
宮本侃治 |
| | | ・培養神経系細胞とミエリン塩基性蛋白 | ○中嶋一行, 佐藤七枝
今澤正興, 宮本侃治 |
| | | ・けいれん関連物質と脳生体膜機能 | ○田口文子, 今澤正興
宮本侃治 |
| (4) | 10:20~10:44 | 機能研究部 | |
| | | ・鶏胚抽出物由来へパリン結合性成長因子の精製と筋芽細胞に及ぼす効果 | ○木村一郎, 後藤八重
小沢鏝二郎 |
| (5) | 10:45~11:09 | 免疫研究部 | |
| | | ・脳内ウィルス感染に伴う免疫異常 | ○渡辺里仁, 里吉栄二郎 |
| | | ・カテコール化合物による神経成長因子の合成促進効果と構造相関 | ○古川美子, 古川昭栄
里吉栄二郎 |
| (6) | 11:10~11:34 | 診断研究部 | |
| | | ・自閉症の新しい治療の研究 | ○成瀬 浩 |
| | | ・安定同位体を用いた in vivo 代謝の研究
(主としてトリプトファン代謝について) | ○林 時司 |
| | | ・in vivo NMR 研究 | ○荻野孝史 |
| (7) | 11:35~11:59 | モデル動物開発部 | |
| | | ・マウス胚への外来遺伝子導入法 | ○花岡和則 |
| | | ・マウス肝炎ウイルスの神経親和性 | ○田口文広 |

(neurovirulence) とウィルス膜蛋白の関係

…………… 昼 …………… 食 ……………

- (8) 13:00~13:24 疾病研究第一部
- Tリンパ球特異性セリンプロテアーゼ ◦ 石浦章一
 - 表面マーカーによる浸潤細胞の解析 ◦ 荒畑喜一
- (9) 13:25~13:49 疾病研究第二部
- 母体カフェイン摂取と新生仔大脳中遊離アミノ酸 ◦ 中澤一治他
 - Recklinghausen 病の分子レベルでの解析 ◦ 丸山悦子他
 - 神経繊維腫由来培養細胞に欠失していた42K蛋白について—
- (10) 13:50~14:14 疾病研究第三部
- ストレスのサーカディアンリズムに及ぼす影響 ◦ 高嶋瑞夫
 - ストレスによる脳内アセチルコリン濃度の変化 ◦ 野田恭平
 - モノアミン系伝達物質との相互作用を中心に—
 - 向精神薬投与によるラット脳内メチオニンエンケファリン含量の ◦ 車地暁生
 - 変化に関する研究
- (11) 14:15~14:39 疾病研究第四部
- GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの神経病理学的研究 ◦ 向山昌邦, 安藤一也
 - 菊池建機
 - 低Ca・Mgラットによる実験的運動 ◦ 森田勇二, 足立皓岑
 - ニューロン疾患作製の試みとTRH, セロトニン含量
 - 筋ジストロフィー症患者赤血球のPPIとPA含量について ◦ 吉田瑞子
- (12) 14:40~15:04 疾病研究第五部
- 遺伝性β-ガラクトシダーゼ欠損症における欠損酵素蛋白の動態 ◦ 難波栄二
 - 遺伝性β-グルコシダーゼ欠損症の病態解析 ◦ 辻 明彦
 - ニワトリ胚の肢の形態形成過程に特異的に出現する抗原について ◦ 大楯弘順
- …………… 休 …………… 憩 ……………
- (13) 15:15~15:39 疾病研究第六部
- 自己免疫性脳炎誘起性T細胞クローンのアロ抗原による活性化 ◦ 田平 武

- ・プロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) 特異的脳炎誘起性T細胞ラ
インの樹立
 - ・老人斑アミロイド前駆物質の検索
- (4) 15:40~16:04 神経内科
- ・脳内炎症性病巣のPETによるピルビン酸代謝, 酵素消費率及び
脳血液量の検討
 - ・各神経疾患と Staircase 現象
 - ・Eyeball-Eyelid movements,
—正常人および脊髄小脳変性症—
- (5) 16:05~16:29 小児神経科
- ・高アンモニア血症の症例の検討
 - ・小児神経疾患における pyruvate-1-¹¹C PETについて
 - ・小児交互性片麻痺の診断的アプローチについて
- (6) 16:30~16:54 精神科
- ・成人ガラクトシアリドーシス患者尿から精製した複合糖の構成成分
 - ・精神分裂病の臨床的研究
特に臨床的特徴とCT所見の関係
 - ・Pick 病の神経病理学的研究
皮質下灰白質における嗜銀球の分布について
- (7) 16:55~16:59 閉会の辞
- 17:10~19:00 自由討論と懇親会

○ 佐藤準一

○ 国下龍英

○ 横井風児, 安藤一也
里吉栄二郎○ 富 英明, 春原経彦
里吉栄二郎○ 春原経彦, 富 英明
亀井敦行, 里吉栄二郎

平山義人

豊田桃三

桜川宣男

村上弘司

永山素男

有馬邦正

(表5) 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	人員	備考
			千円	人	
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	26	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	国立精神・神経センター神経研究所部長	杉 田 秀 夫	46,000	44	〃
3. 筋ジストロフィー症の疫学、病態及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	〃
4. 筋ジストロフィー症の療護に関する臨床及び心理学的研究	国立療養所東埼玉病院長	青 柳 昭 雄	48,000	32	〃
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	鴨 下 重 彦	38,000	46	〃
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	14	〃
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	17	〃
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	15	〃
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	14	〃
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	12	〃
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	11	〃
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	15	〃
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	20	〃
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	37	〃
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	12	〃
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	27	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	18	〃
		合 計	450,000	410	

(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	東京都老人医療センター院長	〃
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	〃
寺 松 尚	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	国立精神・神経センター総長	〃
里 吉 栄二郎	国立精神・神経センター神経研究所長	〃

(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	〃
寺松尚	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	国立精神・神経センター総長	〃
里吉栄二郎	国立精神・神経センター神経研究所長	〃

(表8) 昭和62年度 精神・神経疾患研究委託費 研究課題一覧表

研究課題	委託先	班長	金額	備考
60指-1 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	継続
60指-2 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	〃
60指-3 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	〃
60指-4 老年期の痴呆の病因、病態及び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	〃
60指-5 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	〃
61指-1 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	〃
61指-2 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	〃
62指-1 筋ジストロフィー症の発症に関する遺伝子工学的基礎研究	東京大学医学部 薬理学教授	野々村禎昭	48,000	新規
62指-2 筋ジストロフィー症及び関連疾患の病態とその病因に関する研究	国立精神・神経センター 神経研究所部長	杉田秀夫	49,000	〃
62指-3 筋ジストロフィー症の遺伝、疫学、臨床及び治療開発に関する研究	国立療養所 宇多野病院院長	西谷裕	46,000	〃
62指-4 筋ジストロフィー症の療養と看護に関する臨床的、心理学的研究	国立療養所東埼玉病院長	青柳昭雄	48,000	〃
62指-5 発育期脳障害の発生予防と成因に関する研究	東京大学医学部 小児科教授	鴨下重彦	38,000	〃
62指-6 代謝障害に基づく中枢神経疾患の発症機構と治療に関する研究	岐阜大学医学部 小児科教授	折居忠夫	12,000	〃
62指-7 精神分裂病の生物学的病因及び発症に関する研究	岡山大学医学部 神経精神科教授	大月三郎	20,000	〃
62指-8 そううつ病の発症機序に関する生物学的研究	東京医科歯科大学医学部 神経精神科教授	高橋良	15,000	〃
62指-9 脊椎・脊髄の発生異常に基づく神経機能障害の治療及び予防に関する研究	大阪医科大学 整形外科教授	小野村敏信	15,000	〃
62指-10 中枢神経障害の発症及び診断に関するサイクロトロン核医学の応用に関する研究	秋田県立 脳血管センター部長	上村和夫	10,000	〃
62指-11 遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究	大阪大学 蛋白質研究所教授	御子柴克彦	20,000	〃
62指-12 心身症の診断及び治療予後に関する研究	慶応大学医学部 精神神経科教授	保崎秀夫	20,000	〃
62指-13 薬物依存の成因及び病態に関する研究	都立松沢病院長	加藤伸勝	20,000	〃
62公-1 重度重複障害児の疾病構造と長期予後に関する研究	国立療養所西別府病院長	三吉野産治	10,000	〃
62公-2 レトロウイルスによる神経障害発現の機序に関する研究	東北大学医学部 病態神経学教授	岩崎祐三	10,000	〃
62公-3 児童、思春期精神障害の成因及び治療に関する研究	国立仙台病院長	白橋宏一郎	17,000	〃
		合計	550,000	

(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. 所 長

A. 論 文

a. 原 著

- 1) 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 261 : 6039-6047, 1986
- 2) Yoshida M, Tada Y, Kasahara Y, Ando K, Satoyoshi E :
Ca content of human erythrocytes -what is the true value ?-
Cell Calcium 7 : 169-174, 1986
- 3) Kamo I, Furukawa S, Akazawa S, Fujisawa K, Tada-Kikuchi A, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitogenic heparin-binding lectin-like protein from cloned thymic myoid cells
Cell Immunol 103 : 183-190, 1986
- 4) Akazawa S, Furukawa S, Kamo I, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :
An enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against saline-soluble muscle components in myasthenia gravis
J Immunol Methods 94 : 161-167, 1986
- 5) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K :
Aliphatic side chain of catecholamine potentiates the stimulatory effect of the catechol part on the synthesis of nerve growth factor
FEBS lett 208 : 258-262, 1986
- 6) Mukoyama M, Kazui H, Sunohara N, Yoshida M, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes with acanthocytosis : a clinicopathological study of a unique case
J Neurol 233 : 228-232, 1986
- 7) 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 136 : 57-63, 1986

II 研究業績

- 8) Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :

Synthesis/secretion of nerve growth factor is associated with cell growth in cultured mouse astroglial cells

Biochem Biophys Res Commun 142 : 395-402, 1987

- 9) 菊池愛子, 藤沢加津美, 山下和予, 埜中征哉, 林 葉子, 吉野亀三郎, 里吉宮二郎 :

髄液中の抗単純ヘルペスウィルス抗体の高感度中和抗体測定法

医学のあゆみ 137 : 141-142, 1986

- 10) 富 英明, 埜中征哉, 杉田秀夫, 里吉宮二郎, 斎藤深美子 :

X染色体-常染色体間の相互転座を認めた進行性筋ジストロフィーの女児例

臨床神経 26 : 965-969, 1986

b. 著 書

- 1) 里吉宮二郎 :

周期性四肢麻痺

臨床医のための病態生理学講座-〔正しい診断と治療のために〕-神経(荒木淑郎編), メディカルビュー, 東京, p 360-363 : 1986

- 2) 里吉宮二郎 :

脳・脊髄・神経の病気

家庭の医学(主婦の友 百科シリーズ), 主婦の友, 東京, p 428, 他, 1987

c. 総 説

- 1) 里吉宮二郎, 春原経彦 :

神経疾患のステロイド療法

日医会誌 96 : 1128-1130, 1986

- 2) 里吉宮二郎 :

周期性四肢麻痺

日本臨牀, 最新薬物療法 manual 新訂版-投薬の基本と治療プログラム

44巻秋季臨時増刊号 : 573-574, 1986

- 3) 里吉宮二郎 :

Restless legs 症候群

Clinical Neuroscience 5 : 348, 1987

- 4) 里吉宮二郎 :

周期性四肢麻痺

日本臨牀，広範囲症候群（新訂版）

45巻春季臨時増刊号：285，1987

5) 里吉宮二郎：

全身こむら返り病（里吉病）

日本臨牀，広範囲症候群（新訂版）

45巻春季臨時増刊号：297，1987

d. 班会議報告書

1) 里吉栄二郎，亀井敦行，春原経彦：

パーキンソン病及び類縁疾患の研究 —パーキンソン病の立位回旋障害の検討—

東京都特殊疾病（難病）に関する研究班，昭和60年度研究報告書，p 13-19，1986

2) 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年度研究報告書，1986

3) 安藤一也，横井風児，里吉栄二郎，原 敏彦，飯尾正明：

¹¹C-1-ピルビン酸の脳梗塞への応用

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60
年度研究報告書，p 112-118，1986

4) 杉田秀夫，斉藤深美子，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年度研究報告
書，p 84-87，1986

e. その他

1) 里吉宮二郎：

日本における小児神経学の現状と将来

脳と発達 18：168，1986

2) 里吉栄二郎：

国立精神・神経センターの発足にあたって

（社）日本筋ジストロフィー協会誌 No.116：3-5，1986

II 研究業績

3) 里吉宮二郎 :

私の診療メモ

MEDICO 18 : 32, 1987

4) 里吉宮二郎 :

書評「TRH and Spinocerebellar Degeneration」 (ed by Sobue, I.)

Clinical Neuroscience 5 : 344, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 里吉栄二郎 :

胸腺研究をめぐって

第三回胸腺免疫異常症研究会, 東京, 8. 9, 1986

2) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 林 恭三 :

神経成長因子の合成・分泌とその制御機構

第59回日本生化学会 シンポジウム, 西宮市, 9.20, 1986 (生化学 58 : 556)

3) 里吉栄二郎 :

神経筋疾患の臨床研究のポイント —私の経験から—

第28回近畿内科神経懇話会, 大阪, 11.15, 1986

4) 里吉宮二郎 :

神経・筋疾患研究のポイント —私の経験から—

第13回新潟臨床神経懇話会, 新潟, 12.22, 1986

b. 国際学会

1) Kamo I, Furukawa S, Kikuchi A, Nonaka I, Satoyoshi E :

Effects of thymic myoid cell derived heparin-binding factor for induction of IL-2 receptors on thymocytes

6th International Congress of Immunology, Toronto, July 6, 1986 (Abstracts p 30)

2) Yoshida M, Ando K, Satoyoshi E :

Abnormalities of erythrocytes in Duchenne muscular dystrophy

6th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, July 10, 1986

c. 一般学会

- 1) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 林 恭三 :
マウス心臓線維芽細胞における神経成長促進因子合成に及ぼすレチノイン酸の効果
日本ビタミン学会第38回大会, 東京, 5.9, 1986 (ビタミン60: 301)
- 2) 横井風児, 原 敏彦, 飯尾正明, 外山比南子, 春原経彦, 埜中征哉, 亀井敦行, 村田 啓,
里吉宮二郎 :
ミトコンドリア脳筋症のポジトロンCTによる脳内¹¹C-1-ピルビン酸代謝の検討
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986 (臨床神経26: 1338)
- 3) 春原経彦, 萩野谷和裕, 亀井敦行, 埜中征哉, 里吉宮二郎, 熊谷公明 :
母性遺伝をとった cytochrome C oxidase 欠損症
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986 (臨床神経26: 1362)
- 4) 富 英明, 春原経彦, 亀井敦行, 埜中征哉, 里吉宮二郎 :
側彎症における骨格筋病理所見
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986 (臨床神経26: 1385)
- 5) 亀井敦行, 春原経彦, 船本ひとみ, 岩見真理, 安藤一也, 里吉宮二郎 :
パーキンソン病の運動障害 -立位回旋障害・歩行障害の検討-
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.23, 1986 (臨床神経26: 1422)
- 6) 向山昌邦, 横井風児, 芽野文利, 安藤一也, 里吉栄二郎 :
痴呆を伴うALS -大脳皮質にアミロイド斑を多数認める孤発例について-
第27回日本神経病理学会総会, 横浜, 6.5, 1986 (神経病理学7: 217)
- 7) 横井風児, 安藤一也, 里吉宮二郎, 原 敏彦, 飯尾正明 :
¹¹C-1-ピルビン酸によるポジトロンCTの臨床応用
第97回日本神経学会関東地方会, 東京, 6.7, 1986 (臨床神経26: 1233)
- 8) 吉田瑞子, 安藤一也, 里吉栄二郎 :
Duchenne 型筋ジストロフィー症赤血球のPAとPPI含量について
第59回日本生化学会大会, 西宮市, 9.20, 1986 (生化学58: 692)
- 9) 古川昭栄, 赤沢左衛子, 古川美子, 里吉栄二郎, 林 恭三 :
骨格筋抽出物中に見いだされる重症筋無力症の抗原物質について
第59回日本生化学会大会, 西宮市, 9.20, 1986 (生化学58: 588)
- 10) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 林 恭三 :

II 研究業績

カテコラミンのNGF合成促進効果

第59回日本生化学会大会, 西宮市 9.23, 1986 (生化学58: 969)

- 11) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 池田典秋, 林 恭三 :
神経成長因子の合成促進効果におけるカテコラミンの構造特異性
第29回日本神経化学会, 岡山 10.31, 1986 (神経化学25: 337-339)
- 12) 岩見真理, 春原経彦, 桒中征哉, 安藤一也, 里吉営二郎 :
片側の眼瞼下垂と外眼筋麻痺を主徴とした cytochrome C oxidase 部分欠損症の一例
第99回日本神経学会関東地方会, 東京, 12.6, 1986 (臨床神経27: 936)
- 13) 富 英明, 亀井敦行, 向山昌邦, 春原経彦, 里吉営二郎 :
アミロイド小体の多発した Crow-Fukase 症候群の1剖検例
第100回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.28, 1987

C. 班会議発表

- 1) 里吉栄二郎, 亀井敦行 :
パーキンソン病の立位回旋障害の検討
東京都特殊疾病(難病)に関する研究班, 昭和60年度研究報告会, 東京, 6.7, 1986
- 2) 渡辺里仁, 里吉栄二郎, Wege H, ter Meulen V :
コロナウィルス J H M株による脱髄性脳脊髄炎
厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1.17, 1987
- 3) 里吉栄二郎, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 古川美子, 加茂 功 :
実験的筋炎モデル動物の作製に関する研究
厚生省新薬開発・低分子酵素阻害物質による難病治療薬の開発研究班, 昭和61年度班会議,
東京, 3.23, 1987

D. 研究会など

- 1) 岩見真理, 富 英明, 亀井敦行, 桒中征哉, 杉田秀夫, 里吉営二郎 :
成人型 acid maltase 欠損症の3例
第16回三多摩神経疾患懇話会, 立川市, 4.26, 1986
- 2) 亀井敦行, 春原経彦, 船本ひとみ, 岩見真理, 安藤一也, 里吉営二郎 :
パーキンソン病の立位回旋障害

第7回三多摩パーキンソン病懇話会，立川市，6.28, 1986

- 3) 船本ひとみ，横井風児，亀井敦行，里吉栄二郎，有馬正高：

Trien 治療が奏効した Wilson 病の1例

第4回神経内科治療研究会，東京，7.12, 1986

- 4) 富英明，西尾健資，横井風児，亀井敦行，春原経彦，里吉宮二郎：

対麻痺を主訴とした結核性髄膜脳脊髄炎の1例

第17回三多摩神経疾患懇話会，立川市，9.20, 1986

2. 疾病研究第 1 部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第 1 部は進行性筋ジストロフィーを中心とする遺伝性筋疾患及び多発性筋炎を代表とする後天性筋疾患を対象とし、病因の解明、治療法の開発を目ざしている。

昭和61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，〔室長〕石浦章一（61.4.1～），荒畑喜一（61.7.16～），〔研究員〕荒木誠（～62.2.28），〔流動研究員〕山本剛司（～61.10.31），山本真理（62.1.16～），淵脇泰介，〔兼任研究員〕石原傳幸，山口明，清水輝夫，春原経彦，〔研究生〕鎌倉恵子，野島美知夫，臼杵扶佐子，〔客員研究員〕高木昭夫，米本恭三，佐藤猛，〔賃金研究員〕安楽治美，小川敬子，後藤加奈子，岡田理美，〔部長室〕加藤裕子（～61.11.30），下川智子（61.10.25～），〔筋ジストロフィー研究班事務局〕光村征子

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) 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（F S H）に関する研究

F S Hジストロフィーは進行が遅く壊死線維が少ないにもかかわらず細胞浸潤が著明である事が特徴とされている。細胞表面マーカーによるT-B細胞の存在様式の分析では、デュシャンヌ型や多発性筋炎とは異なり単なる筋壊死に伴った epiphenomenon とは考えにくく本症の病態に関連していると思われる。

b) 遠伝型ミオパチー（D M R V）

D M R Vのモデルであるクロロキンミオパチーは10mg/kg/日という臨床的に充分用い得る量のE S Tで治療可能な事が明らかとなり，今後 rimmed vacuole を主病変としカテプシンB，Lが直接蛋白分解に関与している疾患に対するE S Tの治療薬としての可能性が期待される。

c) Duchenne 型 D M P (D M D) の血清中のアミノペプチダーゼ（A P）

血清中のA Pと筋組織中のA Pの異同について考察した結果，筋肉中にはA P-M，A P-Bの2種類のA Pが存在し，D M D血清中にはA P-M様酵素のみが高値を示す事が明らかになった。

d) 呼吸不全患者呼吸筋のセントラルコア様変化

D M D呼吸筋にセントラル・コア様変化が起こる事はすでに報告したが，非神経筋疾患患者でも呼吸不全群に高率にセントラル・コア様変化が認められる事がわかった。

(2) 糖原病Ⅱ型に関する研究

糖原症Ⅱ型ウズラ筋肉中に新しくグリコーゲン分解酵素（G D E）が存在する事が明らかになり本症におけるグリコーゲン蓄積に関与している可能性が高いと思われる。 (部長 杉田秀夫)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Usuki F, Ishiura S, Sugita H:
Developmental study of α -glucosidases in Japanese quails with acid maltase deficiency
Muscle Nerve 9: 537-543, 1986
- 2) 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 the life span of dystrophic hamsters,
UM-X7.1
Cysteine Proteinase and their Inhibitors (Turk, V., ed.) Walter De Gruyter,
Berlin. 1986
- 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., 99: 1605-1611, 1986
- 4) Ishiura S, Nonaka I, Sugita H:
Biochemical aspects of bupivacaine-induced acute muscle degradation
J. Cell Sci., 83: 197-212, 1986
- 5) Ishiura S, Nojima M, Yamamoto T, Fuchiwaki T, Okuyama T, Furuya H, 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., 18, 765-769, 1986
- 6) Yamamoto T, Nojima M, Ishiura S, Sugita H:
Purification of the two forms of the high-molecular-weight neutral proteinase ingensin
from rat liver
Biochim. Biophys. Acta 882, 297-304, 1986
- 7) Ishiura S, Yamamoto T, Nojima M, Sugita H:
Ingensin, a fatty acid-activated serine proteinase from rat liver cytosol

II 研究業績

- Biochim. Biophys. Acta 882, 305-310, 1986
- 8) Ishiura S, Sugita H:
Ingensin, a high-molecular-mass alkaline protease from rabbit reticulocyte lysates
J. Biochem. 100, 753-763, 1986
- 9) Higuchi I, Nonaka I, Ishiura S, Ishihara T, Sugita H:
High AMP deaminase activity in rimmed vacuoles of skeletal muscle
J. Neurol. Sci. 75, 329-342, 1986
- 10) Sano M, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H, Tsukagoshi H:
Chloroquine myopathy in rat soleus muscle: An experimental model for human distal
myopathy with rimmed vacuoles
Biomed. Res. 7, 301-309, 1986
- 11) Araki M, D.G. Shen, Higuchi I, Takagi A, Goto K, Sugita H:
DDB suppresses the rate of release of creatine kinase from muscle accelerated by
dimethyl-formamide in vitro
Biomed. Res. 7: 187-190, 1986
- 12) Araki M, Takagi A, Higuchi I, Sugita H:
Neuroleptic malignant syndrome: caffeine contracture of single muscle fiber and muscle
pathology, Neurology, in press,
- 13) D.G. Shen, Araki M, Higuchi I, Matumoto K, Tamai M, K.T. Liu, Sugita H:
The effect of DDB on dystrophic hamsters: an in vivo and in vitro study
Muscle Nerve, 10: 391-596, 1987
- 14) Ishiura S, Yamamoto T, Higuchi I, Sugita H:
Proteolysis of muscle structural proteins by lysosomal and nonlysosomal proteases
Adaptive Mechanisms of Muscle (Guba, F., ed.) Akademiai Kiado, Budapest,
Hungary, 1987 in press
- 15) Sugita H, Higuchi I, Sano M, Ishiura S:
Therapeutic trials of a cysteine proteinase inhibitor, EST, for experimental chloroquine
myopathy
Muscle & Nerve, 10: 516-523, 1987

- 16) Yamamoto T, Nojima M, Yamamoto M, Ishiura S, Sugita H :
Effect of phosphatidyl-L-serine and vinculin on actin polymerization
Int. J. Biochem. 19, 121-125, 1987
- 17) Higuchi I, Nonaka I, Usuki F, Ishiura S, Sugita H :
Acid maltase deficiency in the Japanese quail ; Early morphological event in skeletal muscle
Acta Neuropathol. 73, 32-37, 1987
- 18) Higuchi I, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
Immunohistochemical localization of AMP deaminase in rimmed vacuoles in human skeletal muscle
Muscle & Nerve, 1987 in press
- 19) Usuki F, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
 α -glucosidase isoenzymes in normal and acid maltase-deficient human skeletal muscle
Muscle & Nerve, 1987 in press
- 20) Imajoh S, Kawasaki H, Emori Y, Ishiura S, Minami Y, Sugita H, Imahori K, Suzuki K :
A fragment of an endogenous inhibitor produced in E. Coli. for calcium-activated neutral protease (CANP) retains an inhibitory activity
FEBS Lett., 215(2) : 274-278, 1987
- 21) Arahata K, Nonaka I, Sugita H :
Immunohistochemical characterization of mononuclear cells in myopathies
Corticosteroids in neurological and neurosurgical diseases. (ed by Hartmann, A),
Thiem Pub Inc, Stuttgart, 1987 in press
- 22) Sugita H, Nonaka I, Itoh Y, Asakura A, D.H. Hu, Kimura S, Maruyama K :
Is nebulin the product of Duchenne muscular dystrophy gene ?
Proc Japan Acad 63B : 107-110, 1987
- 23) Okuyama T, Ishiura S, Villee CA :
Phosphorylation of placental membrane proteins by a calcium, phospholipid-dependent protein kinase
Placenta 7 : 43-50, 1986

- 24) Ishiura S, Yoshimoto T, Villee CA :
Reticulocyte lipoxygenase, ingensin and ATP-dependent proteolysis
FEBS Lett. 201, 87-93, 1986
- 25) Arahata K, Engel AG :
Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies
III : Immunoelectron microscopy aspects of cell-mediated muscle fiber injury
Ann Neurol 19 : 112-125, 1986
- 26) Engel AG, Arahata K :
Mononuclear cells in myopathies : Quantitation of functionally distinct subsets, recognition of antigen-specific cell-mediated cytotoxicity in some diseases, and implications for the pathogenesis of the different inflammatory myopathies
Human Pathol 17 : 704-721, 1986
- 27) Komiya T, Sato T, Arahata K, Narabayashi H :
Plasma exchange in myasthenia gravis : Long-term benefits
Therapeutic Plasmapheresis (V). (ed by Oda T), Schattaur, Stuttgart-New York,
p 471-475, 1986
- 28) Orimo S, Araki M, Ishii H :
A case of "myopathy with tubular aggregate" - an increased caffeine sensitivity in muscle fibers
J. Neurol. in press
- 29) Mukoyama M, Kazui H, Sunohara N, Yoshida M, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and strokelike episodes with acanthocytosis : a clinicopathological study of a unique case
J Neurol 233 : 232, 1986
- 30) 奥山輝明, 野島美知夫, 淵脇泰介, 古谷 博, 石浦章一, 杉田秀夫.
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 -
日産婦誌 38 : 963-964, 1986
- 31) 淵脇泰介, 奥山輝明, 古谷 博, 石浦章一, 杉田秀夫.
ヒト胎盤絨毛組織の C-Kinase
医学のあゆみ 138 : 525-526, 1986

32) 樋口逸郎, 石浦章一, 杉田秀夫, 伊井邦雄, 勝沼信彦.
実験的クロロキンミオパチーに対するシステインプロテアーゼ阻害剤, E S Tの治療効果
臨床神経 26 : 928-936, 1986

33) 富 英明, 埜中征哉, 杉田秀夫, 里吉栄二郎, 斉藤深美子 :
X染色体-常染色体の相互転座を認めた進行性筋ジストロフィーの女児例
臨床神経 26 : 965-969, 1986

34) 荒木 誠, 高木昭夫, 杉田秀夫 :
ハロペリドールの筋小胞体機能に対する作用
麻酔と蘇生, in press

b. 著 書

1) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋収縮の生化学
新小児医学体系 (第15巻A, 小児運動器病学 I, 別冊, 中山書店) 85-94, 1986

2) 高木昭夫, 荒木 誠 :
悪性症候群
臨床医, 12 : 103-105, 1986

3) 荒木 誠, 高木昭夫 :
筋萎縮
臨床医のための病態生理学講座「正しい診断と治療のために」(荒木淑郎編集) メジカルビュー社, 東京, p 90-94, 1986

4) 荒木 誠, 杉田秀夫 :
悪性高熱症 Malignant Hyperthermia
医科学大事典 (講談社), in press

c. 総 説

1) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋ジストロフィー症骨格筋におけるスペクトリン増加と分布異常
医学のあゆみ 139 : 334-335, 1986

2) 杉田秀夫 :
注目される化合物ロキシスタチン
Clin Neurosci, 中外医学社, 4 : 114, 1986

II 研究業績

3) 荒畑喜一, 杉田秀夫 :

皮膚筋炎

メディカルコンパニオン, 7:321-324, 1987

4) 埜中征哉, 石浦章一 :

Duchenne 型筋ジストロフィー遺伝子座に対する cDNA (相補DNA) の単離

Medical Briefs in Brain & Nerve, 1:4-5, 1986

5) 石浦章一 :

糖原病とその実験モデル

実験医学, 4:660-662, 1986

d. 班会議報告書

1) 杉田秀夫, 荒畑喜一, 埜中征哉, 石原傳幸, 福永秀敏 :

F S H型筋ジストロフィー症の病因に関する一考察

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61年度研究報告書, p15-16 1986

2) 杉田秀夫, 荒畑喜一, 石原傳幸, 埜中征哉 :

顔面肩甲上腕型 (F S H) 筋ジストロフィー症に認められる細胞浸潤の表面マーカーによる解析

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61年度研究報告書 p67-70, 1986

3) 杉田秀夫, 垂井清一郎, 佐藤猛, 埜中征哉, 福原信義, 中川正法 :

本邦におけるミトコンドリアミオパチーの臨床統計 (中間報告)

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61年度研究報告書, p207-210, 1986

4) 杉田秀夫, 石浦章一, 山本真理 :

デュシャンヌ型筋ジストロフィー血清中のアミノペプチダーゼ活性

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61年度研究報告書 p331-335, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Ishiura S, Sugita H:

Proteolysis of the muscle structural proteins by lysosomal and nonlysosomal proteases
International Symposium on Adaptive Mechanisms of Muscle, Szeged, Hungary, July
4, 1986

2) 杉田秀夫:

神経・筋疾患の診断, 治療に関する最近の進歩
第35回東日本臨床整形外科学会, 教育講演, 横浜, 9.18, 1986
(第35回東日本臨床整形外科学会抄録集, p22, 1986)

3) 杉田秀夫:

デュシャンヌ型筋ジストロフィー症
第31回日本人類遺伝学会, シンポジウム, 東京, 11.8, 1986

4) 杉田秀夫:

遺伝性筋疾患—デュシャンヌ型筋ジストロフィーを中心に—
第22回脳のシンポジウム「神経疾患の分子生物学的アプローチ」
北海道, 3.20, 1987

5) Arahata K:

Immunohistochemical characterization of mononuclear cells in myopathies
International Symposium on Steroids in Neurological and Neurosurgical Diseases.,
Bad Reichenhall, West Germany, March 27, 1987

6) Arahata K:

Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies
University of Bonn, Dept of Neurology, Directed by Prof. Jerusalem. West
Germany, March 30, 1986

7) Arahata K:

Immunolectron microscopic aspects of cell-mediated muscle fiber injury
Max-Planck-Institute, Div of Neuropathol, Würzburg, Prof. Meyermann, West
Germany, March 31, 1987

b. 国際学会

- 1) Ishiura S, Nojima M, Yamamoto T, Kamakura K, Sugita H :

A fatty acid-activated high-molecular-mass protease. ingensin : Purification, physico-chemical and biological properties

International Symposium on Adaptive Mechanisms of Muscle, Szeged, Hungary, July 4, 1986

- 2) Sugita H :

Muscle specific proteins, including contractile proteins in pathological states

VI th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, USA, July 7, 1986

- 3) Sugita H :

Therapeutic trial of animal and human muscle diseases with thiol protease inhibitor E-64

VI th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, USA, July 11, 1986

- 4) Araki M, Takagi A, Higuchi I, Sugita H :

Caffeine contracture in neuroleptic malignant syndrome

VI th international Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, USA, July 8, 1986

- 5) Shen DG, Araki M, Higuchi I, Matsumoto K, Tamai M, Liu E.T, Sugita H :

The therapeutic effect of DDB on dystrophic hamsters : An in vivo and in vitro study

VI th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, USA, July 10, 1986

- 6) Arahata K, Engel AG :

Identification and quantitation of T8+ cytotoxic (Tc) and T8+ suppressor (Ts) cells in muscle in polymyositis (PM) and inclusion body myositis (IBM)

38th Annual Meeting of American Academy of Neurology, New Orleans, USA, April 30, 1986

- 7) Arahata K, Engel AG :

Identification and quantitation of T8+ cytotoxic (Tc) and T8+ suppressor (Ts) Cells

in muscle in polymyositis (PM) and inclusion body myositis (IBM)

Vith International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angels, USA, July 11, 1986

8) Takagi A, Araki M :

Release of calcium ion from sarcoplasmic reticulum (SR) of Duchenne muscular dystrophy (DMD) and malignant hyperthermia (MH)

Vith International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angels, USA, July 10, 1986

9) Chou SM, Putman SF, Husid M, Sunohara N :

Senile familial prealbumin-amyloid polyneruopathy (SFPAP)

The 38th annual meeting of the American Academy of Neurology, New Oreleans, April 27, 1986

10) Breuer AC, Lynn MP, Atkinson MB, Chou SM, Sunohara N, Wilborun AJ, Fleegeer EJ, Culber Jr. JE, Marks KE :

Abnormal intra-axonal organelle traffic in motor nerve from ALS patients

The 38th Annual meeting of the American Academy of Neurology, New Oreleans, April 27, 1986

c . 一般学会

1) 荒木 誠, 樋口逸郎, 米本恭三, 杉田秀夫, 高木昭夫 :

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27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

2) 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 creation kinase (CK) の遊離

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

3) 樋口逸郎, 埜中征哉, 石浦章一, 石原傳幸, 杉田秀夫 :

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

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986

4) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫, 埜中征哉 :

正常ヒト及び infantile Pompe 病骨格筋における neutral α -glucosidase isoenzyme の検討

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986

II 研究業績

- 5) 鎌倉恵子, 石浦章一, 杉田秀夫, 埜中征哉 :
中枢神経組織における ingensin (高分子量, 脂肪酸で活性化される新酵素)
第27回日本神経学会総会, 5.22, 1986
- 6) 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-腹直筋の組織化学的検討
第27回日本神経学会総会, 5.22, 1986
- 7) 杉田秀夫 :
進行性筋ジストロフィー症の研究の現状
第27回日本神経学会総会, 5.23, 1986
- 8) 山本剛司, 古川昭栄, 佐藤 猛, 杉田秀夫 :
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—
第27回日本神経学会総会, 5.23, 1986
- 9) 石浦章一, 山本剛司, 野島美知夫, 杉田秀夫 :
ヒト骨格筋のアミノペプチダーゼ
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986
- 10) 山本剛司, 石浦章一, 野島美知夫, 杉田秀夫 :
ヒト血清中のアミノペプチダーゼ
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986
- 11) 鎌倉恵子, 石浦章一, 杉田秀夫 :
神経組織における ingensin の局在
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986
- 12) 秋田朗子, 大野茂男, 後藤 順, 中野今治, 杉田秀夫, 鈴木紘一 :
多型性DNAによる筋ジストロフィーの解析
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986
- 13) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫 :
ヒト骨格筋 (正常, 糖原病II型) における α -glucosidase isoenzyme の検討
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986
- 14) 野島美知夫, 清田明憲, 奥山輝明, 古屋 博, 山本剛司, 石浦章一, 杉田秀夫 :
妊婦血清中に存在する新しいペプチターゼ

- 第59回日本生化学大会, 大阪, 9.20, 1986
- 15) 淵脇泰介, 清田明憲, 奥山輝明, 古屋 博, 山本剛司, 石浦章一, 杉田秀夫 :
ヒト胎盤絨毛組織における C-kinase
第59回日本生化学大会, 大阪, 9.23, 1986
- 16) 荒畑喜一, 佐藤 猛, Engel AG :
多発性筋炎におけるリンパ球・NK細胞による筋障害過程の免疫電顕的解析
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986
- 17) 竹下浩二, 高谷 治, 鎌倉恵子, 荒畑喜一, 埜中征哉 :
Ttubular aggregate を伴う筋ジストロフィー症の一例
第100回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.28, 1987
- 18) 岩坪 威, 本吉慶史, 村山繁雄, 萬年徹, 荒畑喜一 :
筋無力症状を呈した多発性筋炎の一例
第100回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.28, 1987
- 19) 春原経彦, 萩野谷和裕, 亀井淳行, 埜中征哉, 里吉栄二郎, 熊谷公明 :
母性遺伝をとった cytochrome c oxidase 欠損症
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986
- 20) 船本ひとみ, 富 英明, 亀井淳行, 春原経彦, 埜中征哉 :
Rimmed vacuole を伴った家族性ミオパチーの姉妹例
第98回日本神経学会関東地方会, 東京, 10.4, 1986
- 21) 岩見真理, 春原経彦, 埜中征哉, 安藤一也, 里吉栄二郎 :
片側の眼瞼下垂と外眼筋麻痺を主徴とした cytochrome c oxidase 部分欠損症の一例
第98回日本神経学会関東地方会, 東京, 12.6, 1986

C. 班会議発表

- 1) 石浦章一, 杉田秀夫 :
糖原病 II 型ウズラ骨格筋に存在する新しいグリコーゲン分解酵素
文部省科学研究・計画研究「神経難病の発症機構」-第4班遺伝性代謝病と神経系障害-研究班,
昭和61年度第1回班会議, 大阪, 8.23, 1986
- 2) 杉田秀夫, 荒畑喜一, 石原傳幸, 埜中征哉 :
顔面肩甲上腕型 (F S H) 筋ジストロフィー症に認められる細胞浸潤の表面マーカーによる解析

II 研究業績

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61年度班会議，
東京，12.6，1986

3) 杉田秀夫：

本邦におけるミトコンドリア脳・筋症の臨床統計

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61年度班会議，
東京，12.7，1986

4) 杉田秀夫，石浦章一，山本剛司，山本真理：

デュシャンヌ型筋ジストロフィー血清中のアミノペプチターゼ活性

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61年度班会議，
東京，12.7，1986

5) 石浦章一，臼杵扶佐子，杉田秀夫：

日本ウズラ糖原病Ⅱ型骨格筋における α -グラコシダーゼ及び新グリコーゲン分解酵素

文部省科学研究・計画研究「神経難病の発症機構」—第4班遺伝性代謝病と神経系障害—研究班，
昭和61年度第2回班会議，12.11，1986

6) 杉田秀夫，山本剛司：

Duchenne型筋ジストロフィー患者血清中 α -アクチニン測定を試み

低分子酵素阻害物質による難病治療薬の開発研究班，昭和61年度班会議，東京，3.24，1986

7) 杉田秀夫，荒畑喜一，埜中征哉，石原傳幸，福永秀敏：

F S H型筋ジストロフィー症の病因に関する一考察

厚生省「神経疾患研究委託費」，筋ジストロフィー症，総合班会議，東京，1.18，1986

8) 高木昭夫，小島進，相沢仁志，小宮山伸之，荒木誠：

筋細胞内アルカリ化による筋過収縮の発生

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61年度班会議，
東京12.6，1986

D. 研究会など

1) 木下真男，垂井清一郎，佐藤猛，杉田秀夫：

ミトコンドリアミオパチーをめぐって

短波放送，東京，4.11，1986

- 2) 杉田秀夫：
筋ジストロフィー症治療方法の開発の研究
筋ジストロフィー協会講演，大阪，6.15, 1986
- 3) 杉田秀夫：
筋ジストロフィー症治療方法の開発の研究
筋ジストロフィー協会講演，大阪，10.26, 1986
- 4) 杉田秀夫：
進行性筋ジストロフィーの病態に関する研究
日本疾患モデル研究会，特別講演，大阪，11.27, 1986
- 5) Sugita H：
Recent advances in muscular dystrophy research in Japan, with special emphasis on
thiol protease inhibitor, loxistatin
Bombay Hospital, Jaslok Hospital Bombay, India, Feb. 6, 1987
- 6) 荒木 誠, 杉田秀夫, 高木昭夫：
ハロペリドールによる筋小胞体よりのカルシウム遊離
第10回悪性高熱研究会シンポジウム，広島，12.7, 1986

3. 主な研究報告

顔面肩甲上腕型 (FSH) 筋ジストロフィー症に認められる
細胞浸潤の表面マーカーによる解析

杉田 秀夫, 荒畑 喜一, 石原 傳幸, 埜中 征哉, 福永 秀敏*

(* 国療南九州病院)

FSHは、代表的な筋ジストロフィー症の一型と考えられているが、筋病理学的特徴所見として細胞浸潤をしばしば認めることが知られている。ところが、このような所見が本症の病因と関連したものか、単に骨格筋壊死ともなう epiphenomenon なのか、または多発性筋炎の合併と見做すべきか、未だ結論は得られていない。我々は今回、これらの疑問に対する解決の糸口を得ることを目的として、各種リンパ球表面マーカーによりこれらの解析を試み、FSHの病態機序について若干の検討を加えた。

方法

症例はFSH18例(男10, 女8; 10例に遺伝歴を認める)。年齢は5~62才(平均27)。血清CK値470 U/L (50-8,000)。発病から筋生検までの期間は4カ月-29年であった。随伴症状に Coats' syndrome, 小脳のう胞, 脳波異常を各1例ずつ見た。一般組織化学, 免疫組織化学的検索には連続凍結切片を用い, 定量的解析を試みた。使用した単クローン抗体は, 抗ヒト・T11, T4, T8, B1, Leu7, Leu11, Ia, HLA-I, IL-2R, γ -IFN, などである。切片は冷アセトン固定後, 直接または間接蛍光抗体法および Avidin-Biotin-Peroxidase 法による免疫染色を施し検鏡に供した。

結果

一般組織学的観察では、程度の軽微なものまで含めると全例に単核細胞浸潤が認められた。筋壊死の出現頻度は細胞浸潤の多い症例ほど高率であった。しかしこれは後述する如く、Duchenne 型筋ジストロフィーや多発性筋炎と比較すれば、有意に少ないものであった。

FSHに認められた細胞浸潤は主として血管周囲性であった。そのサブセットは、T4+細胞(helper/inducer T cell)とともに、B1+B細胞がとくに多数認められ、T8+細胞(suppressor/cytotoxic T cell), Leu7+細胞(K/NK cell), IL2R+細胞は少数であった。さらに acid-phosphatase 強陽性のマクロファージも散見されたが、Leu11+細胞(mature K/NK cell), γ IFN陽性細胞はほとんど見られなかった。また HLA-Class I および

Class II 抗原の表出は微弱であった。

定量的結果は、筋線維1,000本あたりに出現した各種リンパ球サブセットを全て数えパーセント(%)表示した。この範囲内に認められた壊死筋線維総数(C9+, MAC+)は 1.33 ± 0.52 (SE)であり多発性筋炎等にくらべ有意に少なかった

結論

(1)FSHにおける骨格筋内細胞浸潤は単に筋線維壊死に随伴した epiphenomenon とは考えにくい。(2)FSHにおける細胞浸潤は多発性筋炎の場合と異なる態度を示す。(3)T-B cell の存在様式はFSHにおいて局所液性免疫反応の存在する可能性も示唆する。

文献

Arahata, K. and Engel, A.G.: Monoclonal antibody analysis of nonnuclear cells in myopathies. Ann Neurol, 16 (2): 193-208, 1984

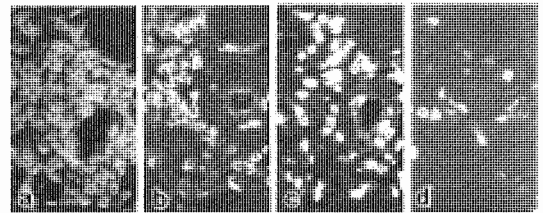


図 FSH, 16才・男: 血管周囲性の多数のT4細胞(a), 中等量のB細胞(b)とT8細胞(c)および少量のLeu7細胞(d)の浸潤を認める(×360)。

PERCENT DISTRIBUTION OF ENDOMYSIAL MONONUCLEAR CELLS IN FSH WITH PROMINENT CELLULAR EXUATE

CELL TYPE	Perivascular	Perimysial	Endomysial
B cells(B-1 ⁺) (%)	23.3±1.6	8.8±4.5	3.6±4.6
Macrophages (%)	27.0±17.7	37.7±13.2	22.8±8.8
T cells(T-11 ⁺) (%)	49.7±17.2	53.6±15.1	73.7±12.1
T8 ⁺ /T cells (%)	63.9±36.5	67.8±23.1	64.8±21.1
T4 ⁺ /T cells (%)	58.8±13.9	47.1±21.1	50.0±22.6
T4 ⁺ /T8 ⁺ ratio	1.12±0.57	0.81±0.45	1.04±0.61
B cell/T cell ratio	0.36±0.23	0.18±0.10	0.06±0.08
Leu 7 ⁺ cells (%)	12.2±9.5	14.5±4.3	12.8±4.7

Duchenne 型筋ジストロフィー血清中のアミノペプチダーゼ活性

山本 真理, 石浦 章一, 杉田 秀夫

ヒト血清中のアミノペプチダーゼ (AP) は各種の筋萎縮性疾患において増加するが、血清中の AP と筋組織に含まれる AP との異同については詳細な報告がない。我々は、健康人血清、Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 血清およびヒト骨格筋抽出液を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) と DEAE-cellulose column を用いて分画し、AP-A, AP-B 及び AP-M の活性について比較検討したので報告する。

方法

ヒト血清は、コントロール (3才~5才男子12例)、DMD (24例) 共に400 μ l を用い、またヒト骨格筋では、Waring blender で homogenize した後8000g, 10分間遠心し、その上血清 400 μ l を用いて HPLC (TSK, 3000-SWG) により分画した。人工基質、Glu-MCA Arg-MCA, Leu-MCA を用いて AP 活性を測定した。更に活性の Main peak fraction を DEAE-cellulose column (NaCl : 20 \rightarrow 400mM), 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分画し、同様の基質によって活性を測定した。

結果

①ヒト血清を HPLC によって分離したところ、分子量135,000に相当するところに Arg-MCA, Leu-MCA のいずれも水解する大きなピークを認めた。本ピークは、続く DEAE-セルロース、ハイドロキシアパタイトカラムクロマトグラフィーにおいても単一に溶出され、Arg-MCA 分解活性と Leu-MCA 分解活性を分離できなかった。これは、同一酵素が異なる2つの基質を水解している可能性が考えられ、AP-M 様酵素 (以下 AP-M と略す) とした。しかし、ヒト血清中で、報告のある AP-B の活性及び AP-A 活性はほとんど検出されなかった。

②血清 AP-M は、コントロール群と比較して、DMD 血清で有意 ($P < 0.05$) に増加していた。

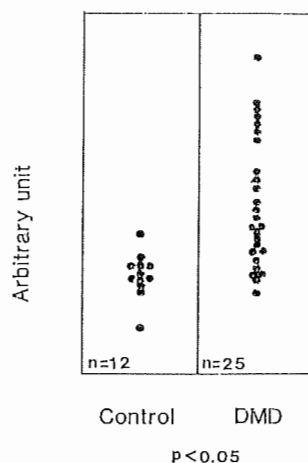
③ヒト骨格筋抽出液中には、Arg-MCA, Leu-MCA をいずれも水解する AP-M 及び、Arg-MCA のみ水解する AP-B の2種類の AP が検出された。それぞれの性質を比較すると、分子量は AP-M 96,000, AP-B 76,000, 至適 pH は AP-M 6.5, AP-B 7.5 と異なる。キレート剤、メチオニン、ベスタチンなどのインヒビターや、Ca, Co イオンを除いたメタルイオンに対する感

受性に共通性がみられた。又、AP-B は Cl イオンにて活性化されるのに対し、AP-M では認められず、メルカプトエタノールの効果では、AP-M は活性化され AP-B は抑制されるのが認められた。これら AP-M, AP-B が骨格筋中の AP 活性の95%以上を占めていることが判明した。

④血清 AP-M と骨格筋 AP-M は、DEAE-cellulose column において等しい塩濃度で溶出され、さらに至適 pH, インヒビターやイオンに対する感受性に共通性がみられたが、分子量は、骨格筋 AP-M は、96,000 に対し、血清 AP-M は、135,000 と異なり、骨格筋 AP-M は、EDTA, EGTA などのキレート剤で抑制されるのに対し、血清 AP-M は、阻害されなかった。メルカプトエタノールに対しては、骨格筋 AP-M は、400% 以上に活性化されるのに対し、血清 AP-M は、抑制されるなど異なった点が明らかになった。

考察

ヒト骨格筋中には AP-M, AP-B の2種類の AP が存在するが、そのうち AP-M 様酵素のみが、血清中に高値を示すことが判明した。HPLC で分離後の本酵素活性は、DMD 患者において健康コントロール群と比較して有意 ($P < 0.05$) に高く、DMD の筋崩壊の指標となりうる事が示された。血清中と骨格筋中の AP-M 様酵素の相違については、血清中に骨格筋から抽出した AP-M 様酵素を加えてインキュベーションする等の検討を加える予定である。



呼吸不全患者の呼吸筋セントラル・コア

石原 傳幸, 杉田 秀夫, 儀武 三郎*, 青柳 昭雄*

(* 国立療養所東埼玉病院)

1980年以来, 我々は DMD の呼吸筋のみに NA DH-TR 染色, ATPase 染色陰性部分をもつ筋線維が多発することを観察し, 呼吸筋セントラル・コアと名づけた。現在まで約60例の DMD 呼吸筋を調査したが, ほとんど全例でセントラル・コア変化が認められた。現在, 電顕的にコア部を観察中であるが, コアの発現過程の分析には, DMD を含め筋疾患患者呼吸筋はその疾患固有の変化を伴っているため材料として不適である。そこで神経筋疾患を持たない呼吸不全患者の呼吸筋で検討することにより, セントラル・コア変化の発現過程を知ることができると考えて研究を行った。

方法

22例の非神経筋疾患患者の呼吸筋のうち13例が呼吸不全を伴っていた。内訳は表1の通りである。剖検時に呼吸筋を採取し組織化学的検査および電顕的検索を行った。

結果

表1に示す通りセントラル・コア変化は呼吸不全群に高率に出現することが明らかとなった。非呼吸不全患者では全く認められなかった。電顕的には, コア部はZ帯と同様な電子密度の物質で満たされており, 内部は均等な状態ではなかった。図1に肺結核患者の横隔膜の電顕所見を示す。Aの★印の部分は形成初期のコアを示す。しかしこのようなコア部とは別にBに示すようなZ帯の乱れ(streaming)が多発していた。

考察

呼吸筋の疲労については 数年来「呼吸不全」の概念が提唱され注目されている。セントラル・コア変化が非神経筋疾患患者の呼吸筋にもみられることから, 呼吸筋の疲労から破壊へのプロセスを形態学的に現しているものと考察している。

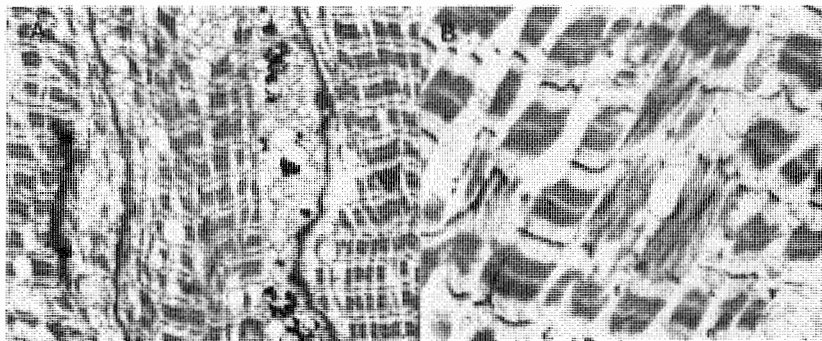
コア変化の部分では, ミトコンドリアや筋小胞体などがみられないことはもちろんであるが, Z band streaming の場合も同様である。今回, 非神経筋患者の呼吸筋に Z band streaming が多発したところから, コアの最初はZ帯の破壊からはじまるのではないかと考えられる。

結論

非神経筋疾患患者の呼吸筋を検討した結果, 呼吸不全患者でコア変化を高率に観察した。電顕的には Z band streaming がコア形成の第一歩であることが示唆された。

非神経筋疾患呼吸筋におけるセントラル・コア変化

	病名	例数	横隔膜	肋間筋
呼吸不全群	肺結核	7	6/7(86%)	6/7(86%)
	肺線維症	3	3/3(100%)	3/3(100%)
	肺癌	2	1/2(50%)	0/2(0%)
	食道癌	1	1/1(100%)	1/1(100%)
		13	11/13(85%)	10/13(77%)
非呼吸不全群	脳卒中	7	0/7(0%)	0/6(0%)
	脳腫瘍	1	0/1(0%)	0/1(0%)
	パーキンソン病	1	0/1(0%)	0/1(0%)
	悪性腫瘍	3	0/1(0%)	0/3(0%)
	12	0/10(0%)	0/11(0%)	



糖原病ウズラ骨格筋に存在する新グリコーゲン分解酵素

石浦 章一, 臼杵扶佐子, 安楽 治美, 杉田 秀夫

日本ウズラ糖原病II型において酵素 α -グルコシダーゼ活性が胎生期より低値を示し, グリコーゲンが膜結合型として観察されることが明らかになった。

(Usuki, 1986 ; Higuchi, 1987)。一方, 骨格筋中の顕著な蓄積は孵化後数週間目からであり, グリコーゲン蓄積を誘導する未知の因子の存在が示唆された。我々は, これに関与すると予想される胎児型中性 α -グルコシダーゼ, アイソエンザイムが本疾患ウズラにおいて一旦消失した後, グリコーゲン蓄積と同時に再び出現することを明らかにした。また, ヒトにおいても中性 α -グルコシダーゼが胎児型から成人型への変換することを明らかにし, 前者が以前より知られていた α -グルコシダーゼ AB, 後者が α -グルコシダーゼCであることを初めて証明した(Usuki, 1987)。今回, これら3種の α -グルコシダーゼ以外にも, グリコーゲンを分解する酵素があることを発見し, それをグリコーゲン分解酵素(glycogen degrading enzyme, GDE)と命名した。

図1に, 糖原病ウズラ骨格筋抽出液のDEAE-セルロースクロマトグラフィー図を示す。人工基質である4MUGを切るピーク(F.25)と, グリコーゲンを分解するピーク(F.27)とは明らかに異なり, これより成人型中性 α -グルコシダーゼ(F.25)はグリコーゲンを分解しないことがわかる。

次に正常ウズラ100gから同様の分画をとり, フェニルセファロースカラムにかけたのが図2である。GDE活性は50%エチレングリコール(EG)に

より溶出された。

GDEは分子量16.5万のモノマー酵素で(図3)あり, その至適pHは6.0であった。種々の酵素学的性質は, グリコーゲン・デブランチング酵素に類似していることが明らかとなった。

本研究により, 糖原病II型ウズラ骨格筋内に, 別種のグリコーゲン分解酵素が存在することが判明し, このGDEがグリコーゲン蓄積に関与している可能性が高いと考えられた。今後GDEの消長とその局在を明らかにしたい。

文献

Usuki F, Ishiura S, Sugita H:

Isolation and characterization of three α -glucosidases from Japanese quails, J. Biochem, 99: 985-988, 1986.

Usuki F, Ishiura S, Sugita H:

Developmental study of α -glucosidase in Japanese quails with acid maltase deficiency. Muscle Nerve 9: 537-543, 1986.

Higuchi I, Nonaka I, Usuki F, Ishiura S, Sugita H:

Acid maltase deficiency in the Japanese quail; early morphological event in skeletal muscle. Acta Neuropathol (Berl) 73: 32-37, 1987.

Usuki F, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H:

α -Glucosidase isoenzymes in normal and acid maltase-deficient human skeletal muscle. Muscle Nerve, 1987 in press.

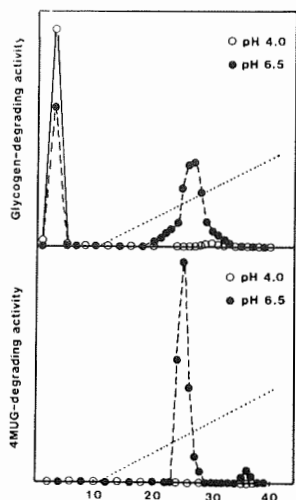


図1 糖原病II型ウズラ骨格筋抽出液のDEAE-セルロース・クロマトグラフィー。

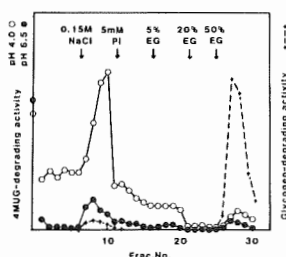
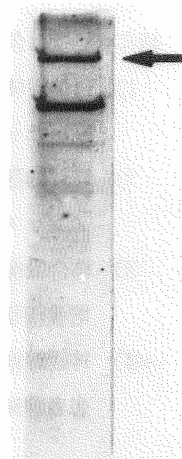


図2 フェニルセファロースによるグリコーゲン分解酵素の精製。

図3 フェニルセファロースによって精製されたグリコーゲン分解酵素(矢印)。下のバンドは挙動を共にするグリコーゲンホスホリラーゼ。



3. 疾病研究第2部

1. 研究部一年のあゆみ

発達障害、特に精神発達および運動発達に障害を与える諸因子の解明と予防・治療の開発を目的として研究を行ってきた。

本年度は、昭和61年10月1日の国立精神・神経センターの発足と機構の改正にともない、人事異動が行なわれた。すなわち、部長の有馬が10月1日付で武蔵病院副院長として移り、里吉神経研究所長が部長事務取扱いに発令された。第二研究室長（併任）の桜川宣男が武蔵病院第二病棟部長に昇任して併任が解かれ、許斐博史研究員が第二室長に昇任した。

その他、佐藤充研究員が米国アルバートアインスタイン大学肝研究センターに留学のため10月15日付で辞職した。一方、4月1日には笠間透（米国シカゴ大学）、中沢一治（賃金研究員）、7月1日には村上晶（順天堂大学眼科学教室）がそれぞれ流動研究員に就任した。また、11月1日から糸数直哉（宮崎大学小児科学教室）が研究生となり、研究に参加することになった。研究補助の牧野かつ枝が7月末日で辞し、その後任として千田範子が勤めることになった。なお、上記の他に、前年度から引き続き研究業務を継続したメンバーは以下の通りである。〔室長〕田中晴美、〔研究員・賃金〕丸山悦子、林昭子、〔研究補助〕須貝千恵子、久保田直美、〔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）。

主な研究課題は、異常な母体環境が胎児脳の生化学的形態学的発達におよぼす影響、神経皮膚症候群、特に結節性硬化症と多発性神経線維腫症の腫瘍化にともなう変化についての生化学的細胞生物学的研究、メタルの細胞内分布とその異常に関する研究、結合織異常に関係のあるコラーゲンの蛋白構造異常の解析などである。

大幅な人事の異動にかかわらず、研究は中断を最小限に留めて継続された。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の予定であるが概略を述べる。

1) 母体環境の異常による胎児脳障害の実験的研究

妊娠ラットを用い、アルコール、カフェイン等の発達脳におよぼす影響を明らかにした。

2) 培養細胞、モデル動物を用いたメタル毒性の実験

メンケス病、ウィルソン病等のモデルにつき毒性の発現を細胞生物学的、生化学的に検討した。

3) 結合織疾患のコラーゲン構造の分析

培養細胞の産生するコラーゲン蛋白およびDNAの解析を実施中である。

4) 神経線維腫症の蛋白構造の分析

患者腫瘍部由来細胞を用い各分画の蛋白の組成を対照細胞と比較し、異常を認めた。

（部長 有馬正高）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) 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 Krigel H et al.), Gustav Fisher, Stuttgart, p231-243, 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 (Tokyo) 8 : 301-304, 1986
- 3) Tanaka H, Nakazawa K, Arima M, Hayashi A :
Tuberous sclerosis : Aberrant metabolism of ornithine, proline and glutamate in cultured fibroblasts
Brain Dev (Tokyo) 9 : 37-42, 1987
- 4) Tanaka H, Nakazawa K, Arima M :
Effects of maternal caffeine ingestion on the perinatal cerebrum
Biol Neonate 51 : 332-339, 1987
- 5) Konomi H, Seyer JM, Ninomiya Y, Olsen BR :
Peptide-specific antibodies identify the $\alpha 2$ chain as the proteoglycan subunit of type IX collagen
J Biol Chem 261 : 6742-6746, 1986
- 6) 工藤英昭, 有馬正高 :
D-Penicillamine 療法と小児期 Wilson 病の予後
小児科臨床 40 : 371-376, 1987
- 7) Kudo H, Arima M :
Factors modifying the prognosis of Wilson's disease in childhood
J Child Neurol 2 : 57-62, 1987
- 8) Iwasaki S, Tanaka H, Arima M :

II 研究業績

Effects of prenatal X irradiation on chemical components of DNA and DNA-protein crosslinks in rat cerebrum in the perinatal periods

Radiat Res 110: 72-83, 1987

9) 佐藤 充, 林 昭子 :

ウィルソン病培養繊維芽細胞における銅代謝 —メンケス病との比較—

小児科診療 49: 2114-2118, 1986

10) 佐藤 充, 有馬正高 :

Wilson 病における肝, 腎および大脳組織の銅結合蛋白質

Brain Nerve 38: 933-940, 1986

11) Hayashi A, Arima M :

Cell culture study on neurofibromatosis

Brain Dev (Tokyo), 1987 in press

12) Sugita K, Suzuki N, Kojima T, Tanabe Y, Nakajima H, Hayashi A, Arima M :

Cockayne syndrome with delayed recovery of RNA synthesis after ultraviolet irradiation but normal ultraviolet survival

Pediat Res 21: 34-37, 1987

13) 杉田克生, 井合瑞江, 玉井和人, 相原正男, 有馬正高 :

Cockayne 症候群由来細胞の紫外線およびX線感受性について

脳と発達 18: 286-291, 1986

14) 松坂哲應, 須貝研司, 桜川宣男, 河野義恭, 中山 宏, 有馬正高 :

脳—眼—肝—腎症候群 (Cerebro-Oculo-Hepato-Renal syndrome) の1特殊型 —有馬症候群の独立性について—

日小会誌 90: 1322-1334, 1986

15) Matsuzaka T, Sakuragawa N, Nakayama H, Sugai K, Kohno Y, Arima M :

Cerebro-oculo-hepato-renal syndrome (Arima's syndrome): A distinct clinicopathological entity

J Child Neurol 1: 338-346, 1986

16) 松尾多希子, 桜川宣男, 有馬正高, 新田初美 :

小児交互性片麻痺の2例について

日小会誌 91: 135-141, 1987

- 17) Tuchiya S, Tanaka M, Konomi H, Hayashi T :
Distribution of specific collagen types and fibronectin in normal and keratoconus cornea
Jpn J Ophthalmol 30 : 14-31, 1986
- 18) Sawada H, Furthmayr H, Konomi H, Nagai Y :
Immunoelectron microscopic localization of extracellular matrix components produced by
bovine corneal endothelial cells in vitro
Exp Cell Res 1987 in press
- b. 著 書
- 1) 許斐博史 :
結合組織疾患の病因論
新小児医学体系15巻B (福山幸夫, 水野美彦編), 中山書店, 東京, p 111-126, 1986
- 2) Konomi H, Ninomiya Y, Olsen BR :
Tissue-specific expression of short-chain collagens
Progress in Developmental Biology Part B (ed by Slavkin HC), Alan R Liss,
New York, p 169-172, 1986
- c. 総 説
- 1) 田中晴美 :
妊娠と薬剤「妊婦と酒, タバコ」
臨床医薬情報 6 巻 : 158-161, 1987
- 2) 田中晴美 :
胎児性アルコール症候群
日本臨床, 広範囲症候群, 45巻春季増刊号 : 150, 1987
- d. 班会報告書
- 1) 有馬正高, 田中晴美, 中澤一治, 林 昭子 :
関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
厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班
昭和60年度研究報告書 p 171-178, 1986
- 2) 有馬正高, 工藤英昭, 豊田桃三 :
無酸素性脳障害の臨床的検討, 脳性麻痺における仮死率の経年変化
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

II 研究業績

昭和60年度研究報告書 p 79-84, 1986

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 II, 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年度研究報告書, p 89-92, 1986

4) 田中晴美, 中澤一治 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 III, 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年度研究報告書, p 93-96, 1986

B. 学会発表

b. 国際学会

1) Igarashi H, Miyazaki M, Nasu F, Nishimura S, Inomata K Tanaka H :

Development of the synapses

XIth International Congress on Electron Microscopy, Kyoto Sept. 4, 1986

(Proc. p 3177-3178)

2) Sawada H, Konomi H, Nagai Y :

Electron microscopic localization of matrix components in the basement membrane produced by corneal endothelial cells in culture

IXth International Congress on Electron Microscopy, Kyoto August 31, 1986

3) Nakayasu K, Konomi H Hayashi T, Nakajima A :

Distribution of distinct types of collagen in anterior segments of human eye

7th International Congress of Eye Research, Nagoya, September 27, 1986

c. 一般学会

1) 田中晴美, 中澤一治, 有馬正高 :

結節性硬化症：培養線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

第28回日本小児神経学会総会，松江市，6.5, 1986

2) 田中晴美, 中澤一治, 有馬正高 :

母体投与カフェインによるラット胎仔大脳発育関連因子

第26回日本先天異常学会学術集会 名古屋, 7.12, 1986

(Abstract ; Teratology 34 : 448, 1986, 先天異常 26 : 225, 1986)

- 3) 猪俣賢一郎, 西村 茂, 那須志男, 田中晴美 :

胎児性アルコール症候群モデルにおけるシナプスの発達

第28回日本小児神経学会総会, 松江市, 6.7, 1986

- 4) 野口(丸山)悦子 :

AY9944はなぜ in vivo でのみ酸性スフィンゴミエリネース活性を低下させたか

第50回日本生化学会大会, 東京, 9.23, 1986

C. 班会議発表

- 1) 有馬正高, 許斐博史, 丸山悦子, 林 昭子, 田中晴美 :

神経線維腫由来培養線維芽細胞の SDS-PAGE 像

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班

昭和61年度班会議, 東京, 10.23, 1986

- 2) 有馬正高, 田中晴美, 中澤一治, 笠間透, 林 昭子 :

ウィルソン病およびメンケス病の治療薬剤の開発に関する研究

厚生省新薬開発・臓器特異性貴金属化合物等の開発研究班

昭和61年度班会議, 東京, 3.27, 1987

- 3) 田中晴美, 岩崎説雄, 中澤一治, 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 IV . 実験的胎児性アルコール症候群 —治療の限界—

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61年度班会議, 東京, 1.30, 1987

- 4) 田中晴美, 中澤一治, 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 V . 胎児性カフェイン症候群 —新生仔期の発育と脳内アミノ酸—

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61年度班会議, 東京, 1.30, 1987

- 5) 許斐博史, 村上 晶, 有馬正高 :

II 研究業績

マルファン症候群線維芽細胞の異常コラーゲン分子の解析

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61年度班会議，徳島，1.17, 1987

6) 丸山悦子，林 昭子，許斐博史，田中晴美，有馬正高：

神経線維腫由来培養細胞の生化学的検討

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班

昭和61年度班会議，東京，2.26, 1987

D. 研究会など

1) 田中晴美：

アルコールの胎児への影響

武蔵病院看護研究会，東京，12.3, 1986

2) 田中晴美：

話題：母親の飲酒と子供の脳障害

第3回精神遅滞医学セミナー，東京，2.28, 1987

3. 主な研究報告

胎児性アルコール症候群

—治療の限界—

田中 晴美, 猪俣賢一郎, 中澤 一治

ラットモデルを用いて, 母体投与物質による胎児性アルコール症候群 (FAS) の異常是正の効果を1982~83年に報告した; 妊娠中30%エタノールと同時に母体 (4.2mg亜鉛/100g固形食, 自由摂取) へ投与の0.01%亜鉛は30%エタノール単独に比し, 妊娠21日胎仔において, ①体重, 大脳重量, 大脳RNA量の増加と, ②エタノール投与にもとづくRNAや蛋白合成の抑制に対する亜鉛による修復のメカニズムと考えられる所見を海馬のニューロンにみた。1983~85年米国からの報告とは条件は異なるが結果に discrepancy も存在するので, これらの説明のため, FAS異常是正の限界を検討した。

方法

ウィスター系雌ラット (8.0mg亜鉛/100g固形食) の自由に飲用する水分組成を20%あるいは10%エタノール (E), 水 (W), 0.01%亜鉛 (Z), 0.03%あるいは0.02%ビタミンE (V) とし, 実験A-Dを行った。妊娠以前と以後の飲用水は一で表示した。妊娠21日午前帝切により胎仔を得た。亜鉛は原子吸光分析, α -トコフェロール (ビタミンE) はHPLC分析, 過酸化脂質は蛍光測定を行い, 大脳前頭部の錐体細胞と考えられるニューロンの樹状突起の分枝はゴルジ法によった。

結果

- 1) 妊娠中のエタノール濃度が20%, 10%と低下しても胎仔体重, 大脳重量は低下した。
- 2) 表1; 20%~10%エタノールと同時投与の0.01%Z, 0.03%~0.02%Vにおいて重量是正の効果は存在しなかった。
- 3) 図; 樹状突起の分枝の平均数を各親より2匹ずつ, 10個/匹, すなわち20個/親で検討すると, E+ZはW, Zのコントロール群と20%E単独との中間に位置した。
- 4) 母胎血漿, 母体肝, 胎盤, 胎仔大脳中の亜鉛濃度はW, Eに比しE+Zでは高値の傾向を示したが, Wに比しEに低下は存在しなかった。
- 5) 表2; Eに比しE+Vで大脳中の α -トコフェロール濃度あるいは含量の増加および大脳過酸化脂質の低下が存在するので, 母体投与ビタミンEは胎仔大脳に到達はしている。しかしW-Eで大

脳中の α -トコフェロールの欠乏状態が存在するとはいえなかった。

結論

FASの病態と関連して, エタノールと亜鉛とは海馬を中心に検討されているが, ビタミンEとの関係は知られていない。我々の以前と今回の結果から結論されることは, エタノール飲用母体は亜鉛やビタミン欠乏状態におちいりやすく, この場合にはその欠乏物質投与により子供の異常をある程度是正しうる。FASの多彩な症候はこのようなエタノール飲用に伴う欠乏物質にも原因すると考える。しかしこれらの欠乏は Co-Teratogen としての役割以上のものでない。

表1 胎仔体重, 大脳重量

	Body(g)	Cerebrum(mg)
Exp. A	E-E+Z 4.69 (4) (30) (10,6.41)	143 (19)
	E-W 4.01 (3) (30) (10)	142 (15)
Exp. B	E-E+Z 3.70 (3) (30) (10,6.41)	125 (3)
	E-W 3.71 (5) (30) (78)	122 (5)
Exp. C	W-E+V 3.24 (26) (25) (8.43)	121 (26)
	W-E 3.40 (36) (25)	124 (36)
Exp. D	E-E+V 4.14 (60) (20) (10,5.02)	137 (30)
	W-E+V 3.84 (56) (10,5.02)	129 (26)
	W-E 3.78 (91) (10)	130 (32)

Means (no of dams), (no of fetuses).
*Significant difference at p(0.05).

図 樹状突起の分枝数

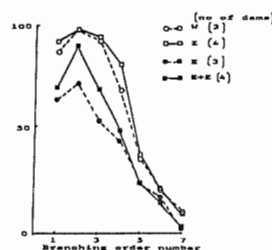


表2 胎仔大脳中の α -トコフェロール, 過酸化脂質

Exp. C	Vitamin E (μ g/g wet wt)	Vitamin E (μ g/cerebrum)
W-W	11.8 (15)	1.60 (15)
W-E+V	12.7 (9)	1.52 (9)
W-E	11.1 (13)	1.38 (13)
Exp. D	Lipid peroxidation (nmol MDA/g wet wt)	
E-E+V	53.5 (14)	
W-E+V	51.7 (12)	
W-E	70.2 (16)	

Means (no of fetuses).
*Significant difference at p(0.05).

母体カフェイン摂取と新生仔大脳中遊離アミノ酸

中澤 一治, 田中 晴美

母体のカフェイン摂取により胎生末期のラット胎仔では体重低下はないにもかかわらず大脳重量の低下すること¹⁾, またこの時の母体血中カフェイン濃度は $1.5 \mu\text{g/ml}$ 以上であること²⁾, そして妊娠中のみカフェインを摂取したラットではカフェインの見かけの分布容積が低下していることを認めた³⁾。

今回は母体のカフェイン摂取による新生仔期の脳発達, 脳内遊離アミノ酸の変化について検討した。

方法

ウィスター系雌性ラットを使用し妊娠前56~70日間, 水又は0.04%カフェインを飲料水として摂取させ妊娠以後も継続した群をそれぞれw-w, c-c群として妊娠以後カフェインを与え始めた群をw-c群とした。生後1, 5, 10日に新生仔から脳, 肝臓を摘出した。大脳中アスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, タウリン, チロシン, フェニールアラニン, 肝臓中チロシン, フェニールアラニンはオルトフタルアルデヒドを用い高速液体クロマトグラフィーで定量した。

結果

- 1) 新生仔期の体重, 肝重量は各群に有意な差はなかったが大脳重量は生後1日でw-w群に比べc-c群で有意に低下した(図1)。
- 2) 大脳中遊離アスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, タウリン, フェニールアラニンには有意な差はなかった(図2, 3)。
- 3) 大脳中チロシンはw-w群に比べ生後1日でc-c群に, 生後5日ではw-c, c-c群に有意な増加が認められた(図3)。
- 4) 肝臓中チロシン, フェニールアラニンには有意な差はなかった。

考察

大脳中チロシンの増加はカフェインによりカテコールアミンの遊離, 代謝回転が亢進し, チロシンからドーパへの反応を律速するチロシン水酸化酵素にフィードバック阻害が作動したためと考えられる。母体カフェイン飲用により, 新生仔期においても低体重を伴わない大脳重量低下が認められた。また, 新生仔大脳中カフェインはチロシン代謝に影響を与えることが示唆された。

文献

- 1) H. Tanaka et al., Brain Dev. 5: 397-406, 1983
- 2) H. Tanaka et al., Biol. Neonate, 51:

332-339, 1987

- 3) K. Nakazawa et al., J. Pharmacobio-Dyn. 8: 151-160, 1985

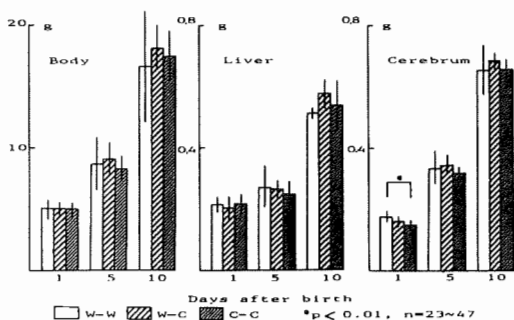


図1 新生仔体重, 肝重量, 大脳重量

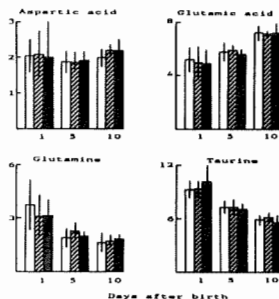


図2 新生仔大脳中アスパラギン酸, グルタミン酸, グルタミン, タウリン濃度 ($\mu\text{g/g}$ wet wt.)

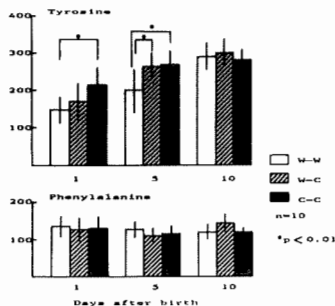


図3 新生仔大脳中チロシン, フェニールアラニン濃度 (nmol/g wet wt.)

マルファン症候群の皮膚線維芽細胞の合成するコラーゲン分子の解析

許斐 博史, 村上 晶, 糸数 直哉

先天性結合織代謝異常症はしばしば神経系の合併症を伴う。その代表的な疾患としてはマルファン症候群, エーラス・ダンロス症候群, 骨形成不全症などがある。マルファン症候群はその原因としてI型コラーゲン遺伝子の異常の報告があるが研究は少なく, 本邦の症例においてはほとんど検索されていない。われわれは本症の本態を解明する目的で皮膚線維芽細胞が合成するタンパク質を検索した。

方法

マルファン症候群6例の皮膚線維芽細胞を10% FCSの入ったDME培養液を用いて培養し, 細胞がconfluentに達した後, アスコルビン酸存在下(50 $\mu\text{g}/\text{ml}$)で ^3H -プロリン(20 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$)を入れ合成されるタンパク質を標識した。標識されたタンパク質はポリアクリルアミドゲル電気泳動法(SDS-PAGE)にて分析した。

結果と考察

図1は生合成され培養液中に分泌されたタンパク質のSDS-PAGEの写真である。 ^3H -プロリンで標識されるタンパク質としてはI型プロコラーゲン(図1, Pro $\alpha 1(I)$, Pro $\alpha 2(I)$)が最も多く, そのほかIII型プロコラーゲン(図1, Pro $\alpha 1(III)$), フィブロネクチン(図1, FN)が認められる。マルファン症候群6例中5例の線維芽細胞の合成するタンパク質(図1, lane 3)は正常人由来の線維芽細胞の合成するタンパク質(図1, lane 1)とほとんど差が認められなかった。しかしマルファン症候群6例中1例においてFNとPro $\alpha 1(III)$ の間に正常人由来の線維芽細胞では認められないタンパク質を合成していた(図1, lane 2)。このタンパク質が本症に何らかの関係があるのではないかと考えさらにその性質を検索した。このタンパク質に関して現在までに明らかになっていることは以下のことである。

- 1) コラーゲンである。細菌性コラゲナーゼで消化されることより Gly-X-Y-Gly-X-Y のくり返し構造を持っているタンパク質である。しかし動物コラゲナーゼでは消化されないで間質型コラーゲン(I型, II型, III型コラーゲン)ではないと考えられる。
- 2) SDS-PAGEで還元後の分子量は約190-200 KDa である。
- 3) コラーゲン鎖間にS-S結合を有する(図2)。
- 4) CN-Br ペプチドマップよりI型, III型コラー

ゲンではない。

このタンパク質とマルファン症候群の関連性は現在検索中である。

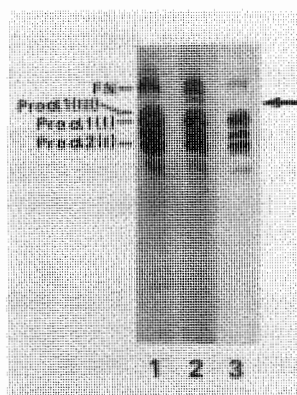


図1 培養液に分泌され, ^3H -プロリンでラベルされたタンパク質の6% SDS-PAGEの写真。lane 1は正常コントロール, lane 2, 3はマルファン症候群。lane 2においてフィブロネクチン(FN)とPro $\alpha 1(III)$ との間に正常コントロールには認められないタンパク質のバンドが認められる(\uparrow)。すべての電気泳動は還元後行っている。

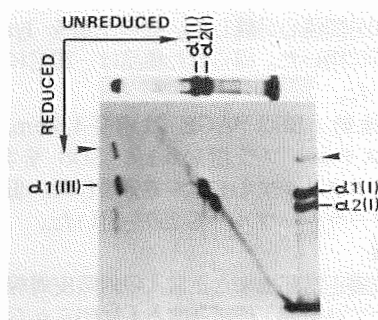


図2 図1, lane 2で示した培養液中に分泌されたタンパク質をペプシン消化し, 1次元目は非還元で6% SDS-PAGEを行い, 2次元目は還元して同様に6% SDS-PAGEを行った。図1, lane 2(\uparrow)に認められたタンパク質は非還元時はだいたいIII型コラーゲンの r と同じ移動を示し, 還元後は約150~170KDaの異動を示す(\blacktriangle)。

Recklinghausen 病神経線維腫由来培養線維芽細胞における42kD蛋白の欠失について

丸山 悦子, 林 昭子

Recklinghausen 病 (以下R病と略) は常染色体性優性遺伝病であり腫瘍の形成を特徴とする。その腫瘍の起源については Schwann cell 由来説と fibroblastic cell 由来説があり, neural crest 由来の細胞の発生病理的検討の重要性がいわれてきた。しかし多くの組織学的, 免疫学的検索にもかかわらず腫瘍細胞の性状ははまだ明確にはされていない。

本研究では正常人皮膚, 患者皮膚正常部, 腫瘍部より, 遊走され, 継代培養した線維芽細胞の生化学的検討を行い, 分子レベルで遺伝子発現の異常を促えることを目指した。

材料と方法

培養: Dulbecco modified Eagle 培地に10%牛胎児血清, ペニシリン, ストレプトマイシンを添加, 5% CO₂, 100%湿度, 37°Cで培養。ほぼ均一の細胞からなることを確認した後, 生化学的分析に供した。継代数は7~17代のほぼ confluent の状態のものを使用した。

細胞の処理: Rubber policeman で浮遊細胞を剥離, 冷生理食塩水で浮遊遠沈を行って洗い900×g, 5分の遠心によって得た pellet を pH8.0の2 mM CaCl₂ を含む1 mM NaHCO₃ 緩衝液に懸濁, 4°C, 15分間静置後ダウンスホモジナイザーで50回ホモジナイズした。得られたホモジネートを1000×g, 10分遠心し核成分等を除き, 上清を更に15000×gで60分間遠心分離した。その上清を lysate として分析に用いた。得られた標品は-30°Cに保存し適宜用いた。

電気泳動: SDS-PAGE は内径4.5mm, 13cmのガラスチューブを用い0.1% SDS を含む5.6%のポリアクリルアミドゲルで分離した。蛋白の染色にはクーマシーブルーG 250を用いた。

結果

患者皮膚正常部由来と正常人の対照皮膚線維芽細胞においては形態, 増殖速度ともに明らかな差異はなかった。腫瘍部由来の細胞は線維芽細胞の形状を示したが大型かつ偏平であり, 患者正常部由来や対照の線維芽細胞と顕微鏡的に異なっていた。また増殖速度は遅く細胞密度は低下していた。

SDS-PAGE の分析によって腫瘍部由来の細胞において, 正常部由来, 対照細胞では存在する42 kD蛋白のバンドがないことが見出された (図1, 矢印)。正常部由来や対照細胞との間には差異は見

出されず, 腫瘍由来もこれらの細胞と他のバンドについては違いがなかった。この腫瘍部由来細胞における変化は4例のR病患者の標品に共通に認められ, 再現性が確かめられた。この42 kD蛋白は正常線維芽細胞の confluent に達しない増殖初期においてもまた培地の血清濃度を下げ増殖を抑制した状態でも腫瘍由来細胞のような変化を生ずることはなかった。

考察

腫瘍部の細胞を培養し継代していくと Schwann 細胞など他の形態を持つ細胞はほとんどなくなり大型の線維芽細胞様細胞で占められるようになる。この細胞の lysate の SDS-PAGE による分析の結果, ほとんどのバンドが正常線維芽細胞に一致したことは, それに極めて類似した性質を持つ, おそらく何らかの変異によって正常とは異なった特徴を示している同一の起源の細胞であろうと推定された。42 kD蛋白については同じ患者由来の細胞でも正常部はこのような変化が見られず, 腫瘍部由来で共通してこの蛋白バンドが欠失していることはR病の腫瘍化と関係した現象であることが考えられる。Peltonen らは腫瘍部由来培養線維芽細胞で電顕的に actin fiber や stress fiber の構造の異常を報告している¹⁾。今回見出された蛋白がこれらに関係しているかどうか興味もたれる。本症におけるこの蛋白のかかわりを生化学的, 細胞生物学的に解明したい。

文献

- 1) J. Peltonen et al. Acta Neuropathologica : 63 : 269-275, 1984

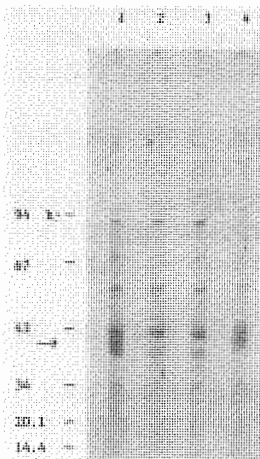


図1 正常部および腫瘍部由来培養線維芽細胞の lysate の SDS-PAGE像

- 1) 正常人对照の皮膚由来線維芽細胞
- 2) 患者腫瘍部由来細胞
- 3) 他の患者の腫瘍由来細胞
- 4) 3と同一患者の正常皮膚由来線維芽細胞

4. 疾病研究第3部

1. 研究部のあゆみ

当部は内因性精神病（精神分裂病，そううつ病）の原因解明と治療法の開発のために 生物学的研究を行なう部門である。昨年度末（昭和61年1月）に高橋清久が部長に就任したが，本年度は新しい研究体制作りが最も重要な課題であった。7月にそううつ病研究室室長加藤進昌が滋賀医科大学助教授として転出，その後任として北海道大学講師三国雅彦が昭和62年1月に就任した。またながらく空席であった分裂病研究室室長には昭和62年4月に，それまで流動研究員であった西川徹が就任し，これで研究体制が最終的に確立した。それに先だち昭和61年4月にアメリカより帰国した野田恭平研究員が昭和62年3月に埼玉医大に転出した。この他，車地暁生，大井健（流動研究員），高嶋瑞夫，海野麻未（賃金研究員），池田正行，畑直人（研究生）が常勤研究員として研究に参加した。本年度も4名の客員研究員，4名の併任研究員に外部から研究活動を支援して頂いた。

本年度の主要研究テーマは次のとおりである。

(1) サカーディアンリズムの生理生化学的研究

- ① ストレス負荷がサーカディアンリズムの周期にいかなる影響を与えるかを検討し，うつ病にみられるリズム異常の解明の一助とした。その結果ストレスによりフリーラン周期が変化することを見いだした。（高嶋）
- ② サカーディアンリズムの生後発達にセロトニンが関与する可能性を考え，幼若期にセロトニンニューロンを破壊したのちサーカディアンリズムの発達をしらべたが，セロトニン系は必須のものではないことを示唆する結果を得た。（大井）
- ③ 中枢神経系内のペプチドの日内変動とその生理的意義をあきらかにする目的で脳内オピオイドと疼痛閾値のサーカディアンリズムとの関連を調べ，メチオニンエンケファリンと疼痛閾値との両者に逆相関を認めた。（車地）

(2) 中脳皮質ドーパミン系の調節機構に関する研究

精神分裂病の陽性および陰性症状の双方に関連すると思われる中脳皮質ドーパミン系に対して，手綱脚路線条体黒質路が重要な調節機構を営んでいることを確認した。また，抗精神病薬が前頭葉皮質内のドーパミンニューロンの活動性を高めるのは薬物が同部位のドーパミン受容体を直接遮断する結果であることを証明した。（西川）

(3) うつ病とストレスに関する研究

拘束水浸ストレス時に前頭葉皮質のアセチルコリンの含量が低下することを認め，この変化にドーパミン系が関与していることを証明した。（野田）

（部長 高橋清久）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Takahashi K, Shimoda K, Yamada N, Sasaki Y, Hayashi S :
Effect of dorsal midbrain lesion in infant rats on development of circadian rhythm
Brain Dev 8 : 373-381, 1986
- 2) Murakami N, Furukawa T, Yokawa T, Etoh T, Takahashi K :
Effects of continuous supply of light or carbachol to the SCN on the rat freerunning rhythm
Jpn J Physiol 36 : 411-416, 1986
- 3) Shimoda K, Hanada K, Yamada N, Takahashi K, Takahashi S :
Periodic exposure to mother is potent zeitgeber of rat pups' rhythm
Physiol Behav 36 : 723-730, 1986
- 4) Kimura N, Hayafuji C, Konagaya H, Takahashi K :
17- β -estradiol induces somatostatin (SRIF) inhibition of prolactin release and regulates SRIF receptors in rat anterior pituitary cells
Endocrinology 119 : 1028-1036, 1986
- 5) Furukawa T, Murakami N, Etoh T, Takahashi K :
Effect of implantation of carbachol pellet near the SCN on the free-running period of rat locomotor activity
Jpn J Physiol, in press, 1987
- 6) 石田展弥, 高橋清久, 高橋三郎 :
気分変調性障害の1例 —その時間生物学的背景—
臨床精神医学 15 : 619-624, 1986
- 7) Nishikawa T, Scatton B :
Neuroanatomical site of the inhibitory influence of anxiolytic drugs on central serotonergic transmission
Brain Res 371 : 123-132, 1986
- 8) Nishikawa T, Fage D, Scatton B :
Evidence for, and nature of, the tonic inhibitory influence of habenulo-interpeduncular

pathways upon cerebral dopaminergic transmission in the rat

Brain Res 373 : 324-336, 1986

- 9) Motohashi N, Nishikawa T, Scatton B, Mackenzie ET :

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

Neurosci let 67 : 245-250, 1986

- 10) Scatton B, Claustre V, Dennis T, Nishikawa T :

Zolpidem, a novel nonbenzodiazepine hypnotic. Effects on cerebellar cyclic GMP levels and cerebral monoamines

J Pharmacol Exp Therap 237 : 659-665, 1986

- 11) Kurumaji A, Takashima M, Shibuya H :

Cold and immobilization stress-induced changes in pain responsiveness and brain met-enkephalin-like immunoreactivity in the rat

Peptides, in press, 1987

b. 著 書

- 1) 高橋清久 :

サーカディアンリズム

神経 (厚東, 阿部, 岩田, 栗原編) 医学書院, 東京 P 85-98, 1986

- 2) Toru M, Watanabe S, Nishikawa T, Noda K :

Neurotransmitter receptors in post-mortem schizophrenic brains.

Recent Research on Neurotransmitter Receptors. (Proceedings of the Second workshop on Neurotransmitters and Diseases) (ed by Yoshida H)

Excerpta Medica, Amsterdam-Princeton-Geneva-Tokyo P 94-106, 1986

c. 総 説

- 1) 高橋清久 :

睡眠相遅延症候群

Clinical Neuroscience 5 : 56-57, 1987

d. 班会議報告書

- 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—

II 研究業績

- 厚生省神経疾患・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班，昭和60年度研究報告書，P 81-89, 1986
- 2) 高橋清久，下田和孝，山田尚登，花田耕一：
サーカディアンリズムの生後発達の解析—周期的授乳制限の影響—
厚生省心身障害・乳幼児期における原因不明疾患に関する研究，発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究班，昭和60年度研究総括報告書，P 53-59, 1986
- 3) 融 道男，西川 徹，小川篤子，高嶋瑞夫，俣賀宣子：
中脳皮質系ドーパミンニューロンの反応性調節に關与する神経回路
厚生省心身障害・乳幼児期における原因不明疾患に関する研究，発達神経学的にみた自閉症の予防と治療に関する研究班，昭和60年度研究総括報告書，P 53-59, 1986
- f. その他
- 1) 高橋清久：
うつ病の身体因と病態生理
こころの科学 7：48-53, 1986
- 2) 車地暁生，市川宏伸，池田正行，西川 徹，小川篤子，高嶋瑞夫，加藤進昌，高橋清久：
抗うつ薬の脳内ペプチドへの影響
精神薬療基金研究年報 18：84-91, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演，シンポジウム

b. 国際学会

- 1) Takahashi K，Shimoda K，Yamada N，Ohi K，Takahashi S：
Effect of antidepressant on blood corticosterone levels in rats
XVIII International Congress of the International Society of Psychoneuroendocrinology, Bergen, Norway, Jun. 30, 1986
- 2) Takahashi S，Takahashi K，Ohi K，Shimoda K，Yamada N：
Change in circadian rhythm of body temperature and saliva cortisol concentrations in depressed patients
XVIII International Congress of the International Society of Psychoneuroendocrinology, Bergen, Norway, Jun. 30, 1986

3) Ogawa A, Nishikawa T, Takashima M, Mataga N :

Activation of mesocortical dopamine neurons induced by a dopamine antagonist requires the ongoing neuronal activity of the striatonigral pathways in the rat brain

16th Neuroscience Meeting, Washington DC., Nov. 9-14, 1986

c. 一般学会

1) 車地暁生, 三ッ汐洋, 市川宏伸, 高嶋瑞夫, 渋谷治男, 加藤進昌, 高橋清久 :

抗うつ薬慢性投与後のラット視床下部オピオイドペプチド含量の変化

第13回日本内分泌学会神経内分泌分科会, 大阪, 10.19, 1986

2) 高橋清久, 高嶋瑞夫, 大井 健, 山田尚登, 下田和孝 :

フリーランニング周期に影響を及ぼす因子の解析 第1報 環境因子の影響について

第10回神経科学学会, 大阪, 12.6, 1986

3) 畑 直人, 西川 徹, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

興奮性アミノ酸性神経伝達による中脳皮質系ドーパミンニューロンの調節

第10回神経科学学会, 大阪, 12.6, 1986 (予稿集 P 141)

4) 西川 徹, 高嶋瑞夫, 畑 直人, 高橋清久 :

手網核破壊ラットにおけるドーパミン作動薬および拮抗薬の作用変化

第16回日本神経精神薬理学会年会, 久留米, 9.26, 1986 (口演要旨集 P 95)

5) 山田尚登, 下田和孝, 大井 健, 高橋清久, 高橋三郎 :

飼育環境の違いによる盲目ラットのサーカディアンリズムの変化

第11回日本睡眠学会, 秋田, 6.6, 1986

6) 野田恭平, Klaus A. Miczek, Richard Kream :

マウスの攻撃行動に対する脳内ドーパミン系の関与

第29回日本神経化学会, 岡山, 11.1, 1986

7) 市川宏伸, 西川 徹, 高嶋瑞夫, 三ッ汐洋, 小川篤子, 高橋清久 :

黒質・腹側被蓋野におけるオピオイドペプチドニューロンの起始核と調節機構

第29回日本神経化学会, 岡山, 11.1, 1986 (神経化学 25 : 538-540)

8) 車地暁生, 市川宏伸, 西川 徹, 小川篤子, 高嶋瑞夫, 加藤進昌, 高橋清久 :

抗うつ薬の脳内ペプチドへの影響

第18回精神神経系薬物治療研究報告会, 大阪, 12.8, 1986

II 研究業績

d. 研究会

1) 山崎 潤, 樋口輝彦, 高橋清久 :

内因性うつ病の体温メトラトニンリズム

臨床時間生物学研究会, 東京, 9.22, 1986

2) 畑 直人, 西川 徹, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

脳内ドーパミン神経伝達に対する視床破壊の影響

第2回信州夏の研究会, 松本, 8.2, 1986

3) 市川宏伸, 西川 徹, 高嶋瑞夫, 小川篤子, 三ッ汐洋, 高橋清久 :

黒質および腹側被蓋野に分布する α -ネオエンドルフィンあるいはダイノルフィン α (1-8)

第2回信州夏の研究会, 松本, 8.2, 1986

4) 西川 徹 :

脳内における GABA 作動機構によるセロトニンニューロンの抑制性調節について

国立呉病院臨床研究部研究会, 呉, 12.4, 1986

3. 主な研究報告

時計機構の生理生化学的研究

— ストレスのサーカディアンリズムへの影響 —

高嶋 瑞夫, 大井 健, 車地 暁生, 西川 徹, 高橋 清久

そううつ病患者ではサーカディアンリズムの異常が数多く報告されている。われわれもさきにうつ状態を呈した気分変調障害例の睡眠覚醒リズムのフリーラン(石田ら 臨床精神医学 1986) うつ病患者の体温リズムの位相変化および振幅の異常(大井ら 第八回日本生物学的精神医学会抄録 1986)などを報告してきた。かかるリズムの異常の成因としてその一部にサーカディアンリズムの周期が変化している可能性が考えられる。うつ病の誘因としてストレスが主要な役割を演じているが、そこで今回はサーカディアンリズムがストレスによっていかなる影響を受けるかについて検討を加えた。

実験方法

体重250-350gのウィスター雄性ラットを使用した。眼球摘出後個別ケージにて移所運動および飲水のフリーランリズムを測定した。フリーランニング周期が一定した後、電気ショックストレス(2 mA, 5min×6)を活動期の前半あるいは後半、および休止期に与えた。周期は視覚による直線へのあてはめを複数の実験者でおこないその平均から求め、0.05時間以上の周期の延長あるいは短縮を变化ありとした。

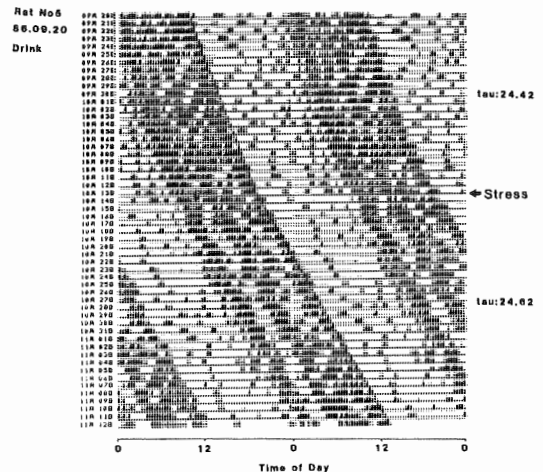
結果

活動期にストレスを加えた7例中5例に0.08—0.2時間以上の周期延長が認められた。また、大多数の例で一週間から10日にわたる夜間の活動量の低下が認められ、しかもストレスを加えた時間帯により強く抑制される傾向が認められた。これに対し、休止期にストレスを加えた5例では周期の変化を示したものは、僅か2例であり、しかも活動量の低下は小さく活動期のストレス負荷に比べて影響がより小さい傾向が見られた。

考察

今回の成績ではフットーショックストレスによって半数以上の動物でその周期が延長することが示され、ストレスが周期を変化させることが示唆された。従来からフリーランニング周期は比較的安定したものと考えられて来た。しかし、われわれはさきに回転カゴつきケージとそれのないケージとではフリーランニング周期が異なることから環境因子がこの周期に影響しうる可能性を示しており、これまで

考えられていたより、より多くの要因で変化する可能性があると思われる。うつ状態の場合のごとき生理機能の不安定な状態ではサーカディアンリズムの変化はより生じやすいのではなからうか。ストレス負荷の時期によりその反応性が異なることは従来から報告されていることであるが、時計機構への影響についても同様なことが確かめられた。



疼痛閾値と脳内Met-enkephalin含量の日内変動

車地 暁生, 大井 健, 高嶋 瑞夫, 高橋 清久

内因性 opioid peptide のひとつである Met-enkephalin (M-enk) は、脳内において、鎮痛作用を示し、側座核がその作用部位のひとつであることが報告されている。今回、ラットを用いて、疼痛閾値と脳内 M-enk 含量の日内変動について調べた。

方法

動物は Wistar 系雄性 rat (200~300g) を使用した。明暗条件は LD 条件 (L: 7時~19時, D: 19時~7時) で温度、湿度を一定にし、摂食および飲水に制限を加えないで飼育した。実験にはこの条件下で1週間以上飼育したものを使用した。

疼痛閾値は hot plate test (HPT) を用いた。ラットを55°Cに温度調節した aluminum block の上に置き、四肢を lick するか jump するまでの時間を測定した。

疼痛閾値の日内変動を調べる実験では、同一 rat (8匹) を用いて、11時より開始して3時間毎に、HPT を施行した。さらに、疼痛閾値の日内変動に、opioid system が関与するかどうか調べる目的で、naloxone (NX) (5mg/kg, s.c.) を15分前に投与して、11時と20時に HPT を施行した。

脳内 M-enk 含量の日内変動は、11時に開始して3時間毎に断頭し、氷冷下ですばやく脳を取り出し-80°Cに保存した。中脳辺縁領域 (ML) と線条体 (ST) は、凍結切片より切り出し、IN 酢酸で90°C、15分間煮沸した。M-enk は RIA 法で測定した。

結果

Rat の疼痛閾値。日内変動の結果は図1に示す。この結果は一元配置分散分析において有意 [F (7.56) = 4.26, P < 0.001] であり、11時の値に

対して、14時 (P < 0.05), 17時 (P < 0.01), 20時 (P < 0.01) 及び23時 (P < 0.01) の値は、それぞれ有意に高値を示した (Duncan の多重比較検定)。

NX を前投与した実験 (図2) では、11時の疼痛閾値は NX によって影響を受けなかったが、20時の値は有意 (P < 0.01) に減少した。(Duncan の多重比較検定, ☆ P < 0.05, ☆☆ P < 0.01 vs 20時の saline 投与群)

脳内 M-enk 含量の日内変動の結果を、図3に示す。この結果は、二元配置分散分析において、時間要因: F (7.95) = 2.71, P < 0.05, 部位要因: F (1.95) = 474.5, P < 0.01, 交互作用: F (7.95) = 0.42 であり、ST と ML の両部位で、11時の値に対して、20時と23時の値はそれぞれ有意に低値を示した。(☆ P < 0.05, ☆☆ P < 0.01, two-tailed student's t-test)

また、ST と ML の M-enk は、相互間で正の相関 (r = 0.822, P < 0.02) を示し、疼痛閾値の日内変動の結果とは、それぞれ逆相関した (ST: r = -0.787, P < 0.05, ML: r = -0.817, P < 0.02)。

考察

rat の疼痛閾値に日内リズムが存在し、20時の値 (最高値) が、NX の前投与によって低下したことから、疼痛閾値の上昇には内因性 opioid system の活動性亢進が関与していることが示された。さらに、ST と ML の両部位の M-enk 含量が、それぞれ疼痛閾値の日内変動と逆相関し、疼痛閾値が最高値を示した20時に M-enk 含量が最低値を示したことから、opioid system の活動性亢進に、M-enk の遊離増加が関与している可能性が示された。

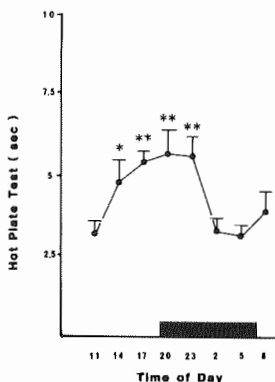


図1 疼痛閾値の日内変動

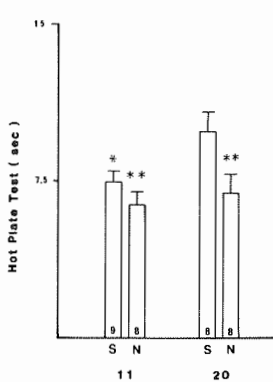


図2 naloxone 投与による疼痛閾値への影響

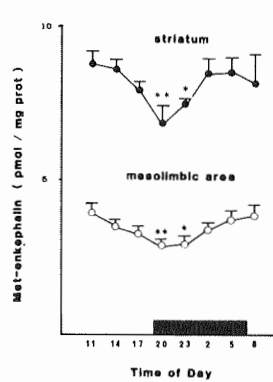


図3 脳内Met-enkephalin 含量の日内変動

中脳皮質ドーパミン伝達系における抗精神病薬の一次的作用部位

西川 徹, 小川 篤子*, 高橋 清久

臨床薬理的・生理学的知見にもとづいて、精神分裂病症状の発現における、脳内ドーパミン (DA) 伝達異常や前頭葉機能障害の関与が注目されている。われわれはこの観点から、前頭葉に投射する中脳皮質系 DA ニューロンの調節機構に関する研究をすすめてきた。本実験では、代表的分裂病治療薬である DA 受容体遮断薬 Haloperidol (HAL) の全身および脳内投与時の内側前頭葉皮質内 DA 代謝を比較し、同ニューロンにおける HAL の一次的作用部位を検討した。

方法

実験には、Wistar 系雄性ラット (230—250 g) を用いた。HAL は、腹腔内注射 (1 mg/k, i.p.) または脳内微量注入法によって投与した。薬物の脳内投与は、無麻酔の動物を手で拘束し、実験の 5—7 日前に装着しておいたガイドカニューラ (24G) から 5 μ l ハミルトンシリンジに連結した注入針 (30G) を挿入して行った。注入部位、容量および速度は次の通りである。内側前頭葉皮質: AP10.5, V+6.1, L \pm 0.65 (König & Klippel の図請), 2 μ l/4 min; 腹側被蓋野: AP+2.2, v+2.0, L \pm 0.85, 2 μ l/4 min。注入針は薬物注入終了後 2 分間留置してから抜去した。ラットは HAL または注射溶媒投与 30 分後に断頭し、氷冷下で内側前頭葉皮質を取り出して -80°C で保存した。DA 代謝の指標とするため、DA および 3,4-dihydroxyphenyl-acetic acid (DOPAC) を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

HAL を全身的に投与すると、内側前頭葉皮質内の DOPAC 濃度が対照群に比して有意に上昇し、DA 濃度は減少する傾向が見られたが有意な変化ではなかった (ng/mg protein, DA: 対照群 (V) 1.68 \pm 0.07, HAL 1.47 \pm 0.06, DOPAC: V 1.04 \pm 0.04, HAL 1.38 \pm 0.07*, 平均 \pm 標準誤差, * $p < 0.01$)。このような DA 代謝産物の増加は、HAL の内側前頭葉皮質内注入でも認められたが (図 1), 腹側被蓋野への注入では見られなかった (図 2)。DA, 内側前頭葉皮質内注入後では有意に減少したが (図 1), 腹側被蓋野内注入では差異がなかった (図 2)。

考察

HAL の腹腔内投与後に生ずる内側前頭葉皮質内 DA 代謝産物の増加は、同部位への HAL の直接注

入によって再現されるのに対して、前頭葉皮質に投射する DA ニューロンの起始核が存在する腹側被蓋野への注入では認められなかったことから、全身的に投与された HAL は一次的に内側前頭葉皮質内の後シナプスあるいは前シナプスの DA 受容体を遮断することを介して、同部位に分布する DA ニューロンの活動性を高めると考えられる。また、前頭前野から逆行性に刺激した DA ニューロンの電気活動は、腹側被蓋野内へ注入した DA によってほとんど影響をうけず、前頭前野へ投射する DA ニューロンの細胞体では神経活動を調節する DA 自己受容体が欠如しているか、感受性が極めて低いと推定されているが、本実験の結果もこの仮説を指示する所見と思われる。

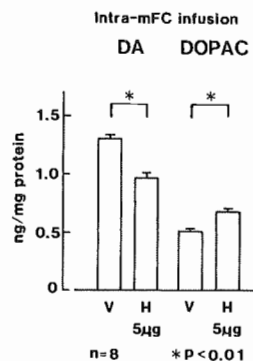


図 1 Haloperidol (H) (5 μ g/side) の内側前頭葉皮質 (mFC) 内注入後 30 分における同部位の DA および DOPAC 濃度の変化。V は注射溶媒投与群を示す。

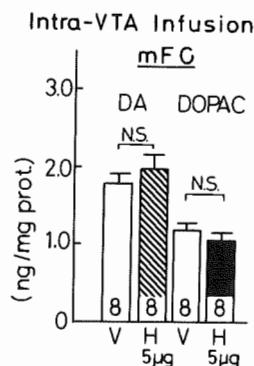


図 2 Haloperidol (H) (5 μ g/side) の腹側被蓋野 (VTA) 内注入後 30 分における内側前頭葉皮質 (mFC) の DA および DOPAC 濃度の変化。V は注射溶媒投与群を示す。

* 日赤中央血液センター

新生児ラット脳内への5, 7-Dihydroxytryptamine投与による サーカディアンリズムの発達に及ぼす影響

大井 健, 高嶋 瑞夫, 高橋 清久, 林 纈治

そううつ病の多くの患者でサーカディアンリズムの異常が認められており, リズム異常がそううつ病の原因に関係する可能性がある。従って, リズム異常が出現する機序を明らかにする事は, そううつ病の原因解明に重要である。そこで, 古くからそううつ病との関係が指摘されまた時計機構の中核である視交叉上核内に多量に存在するセロトニン(5HT)に注目し, リズム異常と5HTの関連性を検討することにした。

今回は, 生後5日目のラット側脳室内に5, 7-dihydroxytryptamine (DHT) を投与することにより, 5HT低下ラットを作製し, この動物についてサーカディアンリズムの発達と明暗逆転後の再同調について観察した。

方法

(1) 側脳室内DHT投与; 生後5日の雄性ラットを対照とした。手術1時間前に塩酸デシプラミン(20mg/kg)を皮下投与し 低温麻酔下で, 1%アスコルビン酸-PBS溶液(10 μ l)に溶かしたDHT(50 μ g/kg)を, 一側側脳室内に投与した。生後22日目に離乳し, それ以後1ケージ当り数匹の割で群居せしめた。照明条件は12時間毎の明暗(明: 0700-1900hr)とした対照には無処置の正常対照群とvehicle投与群を置いた。

(2) 移所行動量の測定; 行動量の測定は室町機械製アニメックスオートを用いた。生後11/19日目の幼若期と10週目の成熟期に, それぞれ0900~1100hrと2000~2200hrの時間帯で行った。各群8匹とし, 30分間の移所行動量を個別に測定した。また, 10週齢ラットについては恒常暗条件下の行動も観察した。

(3) 血中コルチコステロン(CS)値の測定; 生後3, 4, 6週目にそれぞれ4時間毎24時間にわたり尾部切開法により採血を行った。

(4) 明暗周期逆転後の再同調実験; 6週齢のラットを対象に, 明暗逆転前の4日間と逆転後の6日間にわたって, 明期・暗期の各12時間の飲水量と摂食量を測定した。また, 1日2回0700hrと1900hrに採血を行い, 血中CSレベルを定量した。

(5) アミン定量; Semerdjianらの方法を用いた。

結果

(1) 移所行動量; 生後11~19日目に測定した明期・暗期の行動量の比較では, DHT群は正常群やvehicle群と同様明らかな行動の日内リズムを示した。

量的には, 正常群が明暗各期ともDHT群に比較し多かったが, この差は10週齢の測定時には見られなかった。

恒常条件下の実験ではDHT群においても正常なフリーランリズムが観察された。

(2) コルチコステロンリズムの発達; 3週目の測定で正常群とvehicle群は血中CSレベルの有意な日内変動($P < 0.05$)を示した。しかし, DHT群では, 19時の値が高い傾向を示すものの, その差は有意ではなかった($P > 0.1$)。4, 6週目の測定では, 3群とも明白な日内変動を示したが, DHT群のリズムは全般的に振幅が小さく, 歪なパターンを示す(図1)。

(3) 脳内アミンの定量; 5HTは前頭葉皮質, 線状体, 海馬で90%異常, 視床下部で50%減少していた。カテコラミンには差は無かった。

考察

今回の結果により, 移所行動, CS, 飲水, 摂食の各リズムは, 新生児期にDHTを投与し5HTを低下せしめたラットにおいても発現することが明らかにされた。しかし, CSリズムの発達がDHT投与群で遅れることは, 5HTニューロンがCSのような特定の種類のリズム発達に関与することを示唆している。Halaszらは幼若期にラットの視交叉上核内にDHTを投与し, 他のホルモンリズムは発現するが, CSのリズムは発現しないことを報告し, 5HTニューロンとCSリズムの強い関連性を指摘している。我々の結果もこれを支持している。

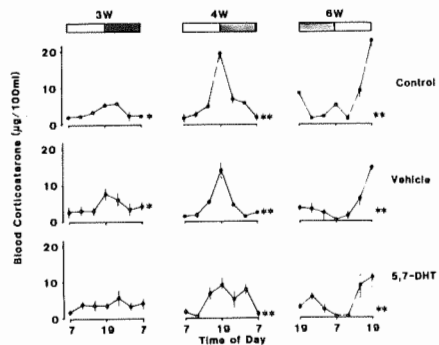


図1 血中コルチコステロンリズムの発達

ストレスのラット脳内アセチルコリン含量に対する影響

野田 恭平, 池田 正行, 高橋 清久

アセチルコリン (ACh) は脳のトランスミッターとして古くから確立しており, 様々の分野の研究対象となってきた。しかしACh性ニューロンの動態と精神機能との関連については, 漠然と, 意識や学習・記憶に関係するとされるが, 詳細は十分に研究されていない。解剖学的には, 中隔から海馬に至る系に加えて, 最近では, アルツハイマー病との関連で, マイネルト基底核から皮質部に投射する系や, 中脳の背外側被蓋核から間脳や皮質部に投射する ACh 系ニューロンが特定化されており, それと動物の行動や精神機能との関連が問題となってきている。私たちはさまざまな状況下での動物の脳内AChの動態を研究する目的で, 固定化酵素カラムを用いた電気検出器付液体クロマトグラフィー (HPLC-ED) でAChとコリン (ch) を同時定量する方法を導入した。

今回はストレス負荷量の脳内ACh含量の変化を検討し, 若干の結果を得たので報告する。

ウィスター系ラット (200~250 g) を15分間の浸水寒冷拘束ストレス (10°C) にさらし, マイクロウェーブ照射 (9 kW, 1~2 S) にて屠殺した後, マイクロパンチ法にて脳の各部位を採取した。各部位の組織より, 蟻酸・アセトン法により, ACh, ch を抽出し, HPLC-EDで含量を測定した。

その結果, ストレス負荷後のACh量は前頭葉皮質で27%減少し, 線条体では45%増加した (いずれも, $P < 0.05$: Mann-Whitney U test)。側座核, 視床下部, 海馬ではAChの含量の変化は認められなかった。

従来よりストレスに関しては, アミントランスミッターの代謝回転が脳各部位で増加することが報告されているので, その関連を検討する目的で, α -メチルタイロシン (α -MT, 200mg/kg) を2.5時間前に投与したラットについて同様の実験を行った。その結果, 前頭葉では, α -MTのみでは変化がなく, それにストレスを負荷するとアセチルコリンは減少した。これとは対照的に線条体では, α -MTのみでACh含量が減少し, ストレスを負荷してもそれ以上の変化はなかった (Ryan's multiple comparison)。このように, 前頭葉でのACh含量の変化はカテコールアミン系神経伝達の変化とは無関係であり, 前脳基底部や背外側被蓋核から前頭葉に投射

するACh性ニューロンの活動性の増加の結果と思われた。これに対して線条体でのACh含量増加は, ストレスにより代謝回転の増加したドーパミン (DA) 系ニューロンの活動性変化から二次的に起きたものと考えられた。

以前に私たちの研究室では, DA受容体アゴニストのアポモルフィン投与後のラット線条体で, ACh含量が増加していることを確かめており, その結果は, ストレスでの線条体 ACh 含量がDA系ニューロンの活動性増加の結果であることを支持している。

AChの変化が, カテコールアミンばかりではなくインドールアミンともどのように関連しているかは目下検討中である。

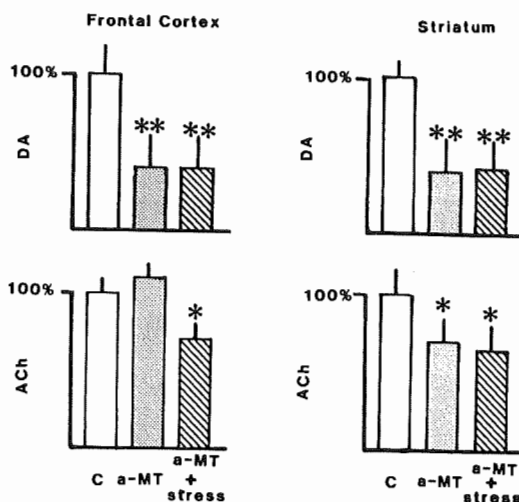


Fig.1 Dopamine (DA) and acetylcholine (ACh) Contents (Mean±SD) in the frontal cortex and striatum of control (C), α -MTtreated (α -MT), and α -MT treated andstressed (α -MT+stress) rats. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ by Ryan's multiple comparison.

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原因・病態の解明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(61年7月退職・浜松医大法医助手に就任)、鈴木良弘(61年12月就任)、(賃金研究員)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(61年12月辞任)、(賃金研究助手)佐藤高志、中村昌子、佐久間眞紀子である。なお、安藤一也部長は62年4月1日付で国立療養所中部病院長に転任となり、森田勇二流動研究員も62年3月末で退職し、奈良医大神経内科に帰局した。

本研究部でのこの一年間の主な研究要旨は以下のようである。

- ① 筋萎縮性側索硬化症の生化学的研究：剖検例の中枢神経各部で thyrotropin releasing hormone (TRH) 濃度を測定し、脊髄前角と大脳脚で有意な低下をみとめた。セロトニン代謝については有意な変化はみとめなかった。
- ② Gracile axonal dystrophy マウス (GAD) の病理学的研究：後肢運動障害を呈する新しい mutant マウスで、延髄後索核、脊髄 Goll 索に局限した変性と axonal dystrophy をみとめ、GADと命名した。
- ③ 運動失調 mutant マウスの生化学、薬理学的研究：現在10種類ほど知られているものの中で、数種のものでは小脳、大脳などでソマトスタチンの高値、セロトニン代謝の亢進、TRH濃度の上昇などの所見がえられた。本邦で発見された wriggle mouse Sagami (WMS) についてはモノアミン受容体の異常を推定する成果をえた。また、運動失調へのセルレチッドの影響を行動薬理学的に検索し、軽度ながら改善のみられた種類もあった。
- ④ キノホルム中毒ラットの生化学的研究：昨年にひきつづきキノホルム急性および慢性中毒ラットについて検索し、substance Pは脳幹・頸髄で急性期に減少、慢性期に増加し、急性期には視床でセロトニンの低下をみとめた。
- ⑤ 末梢神経再生の実験的研究：犬の腕神経叢切断後に肋間神経移行術を行い、末梢神経再生について電気生理学的、病理学的検索を行い、早期血管柄付移行術の必要性をみとめた。
- ⑥ 細胞膜の生化学的研究：ツジャンヌ型筋ジストロフィーの赤血球ホスファチド含量は健常者より少なく、膜が脆弱で細胞が崩壊しやすいことを確認した。
- ⑦ Positron emission tomography による研究：筋緊張性ジストロフィー、頭蓋内結核腫について検索し、新しい知見をえた。 (部長 安藤一也)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) 安藤一也 :
パーキンソン病に対するニコリン注と抗コリン薬併用療法の臨床効果
薬理と治療 14 : 341-351, 1986
- 2) 野手とし子, 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2報)
リハ医学 24 : 113-115, 1987
- 3) 安藤一也 :
各種のdyskinesialに対するチアプリドの短期および長期使用経験
診断と新薬 24 : 465-469 1987
- 4) Mukoyama M, Kazui H, Sunohara N, Yoshida M, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes with
acanthocytosis : a clinicopathological study of a unique case
J Neurol 233 : 228-232, 1986
- 5) Mukoyama M, Kondo K, Hizawa K, Nishitani H :
Life spans of Duchenne muscular dystrophy patients in the hospital care program in Japan
J Neurol Sci (in press)
- 6) 向山昌邦, 近藤喜代太郎 :
Duchenne 型筋ジストロフィー患者の寿命に関する研究
神経内科 25 : 593-594, 1986
- 7) 富 英明, 向山昌邦, 北村純一, 亀井敦行, 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先天性筋強直性ジストロフィーの1成人剖検
例
臨床神経 26 : 437-442, 1986
- 8) Mitsuma T, Nogimori T, Sahashi K, Adachi K, et al. :
Thyrotropin releasing hormone levels in human cerebrospinal fluid in various neurologic
diseases
Am J Med Sci 291 : 164-167, 1986

II 研究業績

- 9) Mitsuma T, Adachi K, Mukoyama M, Ando K :
Concentrations of thyrotropin-releasing hormone in the brain of patients with amyotrophic lateral sclerosis
J Neurol sci 76 : 277-281, 1986
- 10) Mitsuma T, Adachi K, Ando K :
Concentrations of thyrotropin-releasing hormone in the brain of ataxic mice
J Neurol Sci 75 : 135-139, 1986
- 11) Yoshida M, Tada Y, Kasahara Y, Ando K, Satoyoshi E :
Ca content of human erythrocytes -What is the true value ? -
Cell Calcium 7 : 169-174, 1986
- 12) Kumazawa T, Adachi K, Ando K :
Simultaneous determination of catechols in thalamic slices with liquid chromatography/
electrochemistry
Life Science 40 : 41-45, 1987
- 13) 松井京子, 真野行生, 安藤一也 :
Rolling mouse Nagoya および Staggerer マウスの運動失調に対する D N-1417 投与効果
— T R H 投与との比較検討—
薬物・精神・行動 6 : 281-283, 1986
- 14) Mano Y, Matsui K, Toyoshima E, Ando K :
The pharmacological effect of thyrotropin-releasing hormone on ataxic mutant mice
Acta Neurol Scand 73 : 352-358, 1986
- 15) Ohsugi K, Adachi K, Ando K :
Serotonin metabolism in the CNS in cerebellar ataxic mice.
Experimentia 42 : 1245-247, 1986
- 16) Ohsugi K, Adachi K, Mukoyama M, Ando K :
Lack of change in indoleamine metabolism in spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis
Neuroscience Letters (in press)
- 17) 安井昌之, 足立皓岑, 向山昌邦, 大杉圭子, 安藤一也, 八瀬善郎 :
I C P 法によるヒト中枢神経組織の Mg 測定を試み

マグネシウム 5 : 35-43, 1986

18) Hara T, Yokoi F, Iio M :

Brain ischemia and infarction positively visualized by pyruvate-1-¹¹C using positron-emission tomography

Eur J Nucl Med 12 : 21-26, 1986

19) Hara T, Yokoi F :

Difference of ¹⁴C turnovers in brain and in transplanted glioma after intravenous injection of ¹⁴C-1-pyruvate into rats

Eur J Nucl Med 12 : 249-251, 1986

b. 著 書

1) 安藤一也 :

脊髄小脳変性症

臨床医のための病態生理学講座「神経」（荒木淑郎編）メジカルビュー，東京，p 251—255, 1986

2) 安藤一也 :

神経症候とそのとらえ方，頭痛，心因性神経症候

神経症候—とらえ方と考え方—（安藤一也，高須俊明編），中外医学社，東京，p 1-7, 25-33, 280-288, 1986

3) 安藤一也 :

パーキンソン病の治療と痴呆

老化性痴呆と抗痴呆薬—新しい抗痴呆薬開発に向けて—（小阪憲司，石井毅編），日本科学技術協会，東京，p 251-261, 1987

4) 安藤一也 :

パーキンソン病

今日の治療指針 vol 29, 医学書院，東京，p 216-217 1987

5) 向山昌邦 :

筋萎縮

神経症候群—とらえ方と考え方—（安藤一也，高須俊明編），中外医学社，東京，p 220-229, 1986

6) 向山昌邦 :

各種の筋症候

II 研究業績

神経症候群—とらえ方と考え方— (安藤一也, 高須俊明編), 中外医学社, 東京 p 230-234,
1986

7) 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10回らしい医学夏期大学講座教本 (成田稔編), 東京, p 113-116, 1986

8) 向山昌邦 :

de Sanctis-Cacchione 症候群

症候群 (遠藤武男編), 日本臨床社, 大阪, p 187, 1986

9) 横井風児 :

ハンチントン病の薬物療法

老化性痴呆と抗痴呆薬—新しい抗痴呆薬開発に向けて— (小阪憲司, 石井毅編) 日本科学技術協会, 東京, p 212-217, 1987

c. 総 説

1) 安藤一也 :

尿失禁・尿閉

総合臨床 35 : 673-675, 1986

2) 安藤一也 :

痙性麻痺と固縮に対する薬物療法

総合リハ 14 : 341-347, 1986

3) 安藤一也 :

本態性振戦と oral dyskinesia

Geriat Med 24 : 669-675, 1986

4) 安藤一也 :

過換気症候群

小児内科 6 : 905-908, 1986

5) 安藤一也 :

筋収縮性頭痛の治療と予防

神経内科治療 3 : 125-131, 1986

6) 篠塚直子, 安藤一也 :

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) のリハビリテーション

- 綜合リハ 14 : 577-582, 1986
- 7) 安藤一也 :
治療と予後 (髄膜炎 up-to date)
Clin Neurosci 4 : 72-74, 1986
- 8) 安藤一也 :
発症機序に基づいた治療・投薬を (頭痛へのアプローチ)
モダンメディスン 15, No.9 : 31-35, 1986
- 9) 安藤一也 :
パーキンソン病
臨床成人病 16 : 1599-1604, 1986
- 10) 安藤一也 :
AIDS と神経系障害
日本臨床 44 : 2198-2204, 1986
- 11) 安藤一也 :
Levodopa によるパーキンソン病治療の問題点
Pharma Medica 4, No.10 : 47-52, 1986
- 12) 安藤一也 :
ビタミン欠乏と精神症状
内科 58 : 1137-1141, 1986
- 13) 安藤一也 :
過換気症候群
日本臨床 44巻秋季臨時増刊号, p 1266-1268, 1986
- 14) 安藤一也 :
心因性疼痛
医学と薬学 16 : 1192-1196, 1986
- 15) 安藤一也 :
パーキンソン病の長期治療における難治例とその対策
ブレインナーシング 3 : 36-40, 1987
- 16) 安藤一也 :
老人における末梢神経障害

II 研究業績

老人科治療 8 : 41-43, 1987

17) 安藤一也 :

Levodopa 長期治療症候群, Ondines curse 症候群, すくみ現象

日本臨床, 1987年春季増刊, 広範囲症候群, p 222, 240, 291, 1987

d. 班会議報告書

1) 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の上位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 1985年度研究業績, p 26-29, 1986

2) 安藤一也, 松井京子

感動失調マウスに対する caerulein 投与の影響

神経ペプチドの基礎と臨床 (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年度研究成果), p 104-108, 1986

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 :

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討 (第一報)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 58-61, 1986

4) 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

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 174-180, 1986

5) 安藤一也, 西谷裕ほか :

スモン患者の実態調査 (昭和60年度)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 415-423, 1986

6) 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症調査

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 479-485, 1986

7) 安藤一也, 高橋光雄, 田代邦雄, 中江公裕 :

スモン患者の分布と医療に関するアンケート調査

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 507-515, 1986

8) 中江公裕, 柳川 洋, …安藤一也, 西谷 裕 :

スモン患者のデータベース作成に関する研究 (中間報告)

厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 516-519, 1986

- 9) 高橋光男, 安藤一也, 中江公裕, 田代邦雄 :
スモン患者の医療受給状況とその背景因子に関する検討
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和60年度研究業績, p 520-523, 1986
- 10) 安藤一也, 横井風児, 里吉栄二郎, 原 敏彦, 飯尾正明 :
 ^{11}C -1-ピルビン酸の脳梗塞への応用
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60年度研究報告書, p 112-118, 1986
- 11) 安藤一也, 森田勇二, 足立皓岑, 満間照典 :
キノホルム投与ラットの中枢神経におけるモノアミン神経ペプチドの分析
文部省特定研究神経難病の発症機構(Ⅲ) 昭和61年度研究業績集, p 398-402, 1987
- 12) 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年度研究報告書, p 127-130, 1986
- 13) 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と問題点の分析—リハビリテーションの立場から—
厚生省特定疾患・難病の治療・看護調査研究班 昭和60年度研究報告書, p 158-163, 1986
- 14) 向山昌邦, 檜澤一夫ほか :
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年度研究報告書, p 315-318, 1986
- 15) 三吉野産治, 向山昌邦ほか :
Duchenne 型筋ジストロフィー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年度研究報告書, p 61-65, 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一報—
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年度研究報告書, p 91-97, 1986
- 17) 平田伊勢雄, 向山昌邦ほか :

II 研究業績

在宅難病患者（特に神経難病患者）のケア・援助について

東京都特殊疾患（難病）に関する研究班 昭和60年度報告書, p 268-304, 1986

18) 佐藤 猛, 安野みどり, 荒畑喜一 向山昌邦ほか:

ミトコンドリアミオパチー・電子伝達系酵素の抗体を用いた免疫組織学的研究

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 258-261, 1986

19) 佐藤 猛, 安野みどり, 荒畑喜一, 向山昌邦ほか:

ミトコンドリア脳筋症における電子伝達系酵素異常

1. 生化学的 2. 免疫組織学的研究

文部省特定研究・神経難病の発症機構 昭和60年度研究業績, p 389-394, 1986

20) 足立皓岑, 熊沢武志, 向山昌邦, 安藤一也, 織田鉄一:

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年度研究報告書, p 117-121, 1986

21) 吉田端子, 安藤一也:

Duchenne 型筋ジストロフィー症赤血球のPAおよびPPI含量の温度変化

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61年度研究報告書, p 277-280, 1986

e. その他

1) 安藤一也:

セックスに伴って起る頭痛は神経質な人に多くほとんどは心配無用

壮快 13, No. 7 : 208-209, 1986

2) 安藤一也:

難治性神経疾患と転倒・骨折

総合リハ 14 : 563, 1986

3) 安藤一也:

パーキンソン病に対するレボドパ治療の開始時期

Brain & Nerve 1, No. 3 : 3-4, 1986

4) 安藤一也:

パーキンソン病とその治療—質問に答えて—

全国パーキンソン病友の会会報 No.12 : 2-26, 1987

5) 向山昌邦 :

神経内科疾患に対するエステリノールの効果

Geriat Med 24 : 989-949, 1986

6) 向山昌邦

後縦靭帯骨化症

神経難病のケーススタディーシリーズ No.7, 東村山医師会編, p 40-51, 1986

7) 向山昌邦

老年痴呆のみかた・考え方

北多摩医師会報別冊, 学術講演集第11号, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演・シンポジウム

1) 安藤一也 :

パーキンソン病難治患者の治療 (トピックス)

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22 1986

2) 安藤一也 :

抗パーキンソン薬による長期治療の問題点 (トピックス)

第7回日本臨床薬理学会, 名古屋, 11.20, 1986

3) Mukoyama M :

Care programs for ALS patients at the national center for neurological diseases, Japan

The Symposium for the Benefit of ALS Patients and Families " Ask the Experts ",
San Francisco, July 12, 1986

4) Mukoyama M :

Clinicopathological study of ALS autopsy cases

International Symposium " New Dimensions for ALS Research ", San Francisco,
July 13, 1986

b. 国際学会

1) Mukoyama M, Hizawa K, Kondo K, Nishitani H :

Life span is prolonged in Japanese patients with Duchenne muscular dystrophy

6th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, July 9, 1986

II 研究業績

- 2) Sato T, Anno M, Arahata K, Mukoyama M, et al :

Immunocytochemical demonstration of cytochrome C oxidase and complex III in tissues from patients with mitochondrial encephalomyopathy

6th International Congress on Neuromuscular Diseases , Los Angeles, July 8, 1986

- 3) Yoshida M, Ando K, Satoyoshi E :

Abnormalities of erythrocytes in Duchenne muscular dystrophy

6th International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, July 10, 1986

c. 一般学会

- 1) 野手とし子, 近藤 徹, 篠塚直子, 平山義人, 安藤一也ほか :

脊髄小脳変性症患者における立ち上がり動作の分析 (第3報)

第23回日本リハビリテーション医学会総会, 長崎, 6.6, 1986

- 2) 向山昌邦, 檜澤一夫 近藤喜代太郎, 西谷 裕 :

Duchenne 型筋ジストロフィー症の寿命に関する研究 —最近の寿命の延長とその要因の分析—

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

- 3) 佐藤 猛, 安野みどり, 荒畑喜一, 向山昌邦ほか :

ミトコンドリア脳筋症: 剖検例におけるチトクロームC酸化酵素の欠損

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.23, 1986

- 4) 向山昌邦, 横井風児, 茅野文利, 安藤一也, 里吉栄二郎 :

痴呆を伴うALS・大脳皮質にアミロイド斑を多数認める孤発例について

第27回日本神経病理学会総会, 横浜, 6.5, 1986

- 5) 池田庸子, 下川邦泰, 向山昌邦ほか :

多発硬化症の一部検例

第27回日本神経病理学会総会, 横浜, 6.4, 1986

- 6) 佐藤 猛, 安野みどり, 荒畑喜一, 向山昌邦ほか :

ミトコンドリア脳筋症における電子伝達系酵素異常の臨床病理学的診断

第27回日本神経病理学会総会, 横浜, 6.4, 1986

- 7) 篠塚直子, 平山義人, 向山昌邦, 安藤一也ほか :

慢性進行性神経疾患患者における在宅生活維持の条件

第23回日本リハビリテーション医学会, 長崎, 6.6, 1986

- 8) 臼井康臣, 向山昌邦ほか：
脳圧亢進を示した慢性腎透析の1症例
第56回日本神経学会東京北陸地方会, 長久手, 11.22, 1986
- 9) 向山昌邦, 安藤一也, 山崎一斗, 富田武, 菊池建機：
GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究
第3回日本疾患モデル動物研究会総会, 大阪, 11.27, 1986
- 10) 山崎一斗, 若杉昇, 富田武, 菊池建機, 向山昌邦, 安藤一也：
GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの遺伝育種学的研究
第3回日本疾患モデル動物研究会総会, 大阪, 11.27, 1986
- 11) 三浦清邦, 向山昌邦ほか：
クモ膜下出血および閉塞性水頭症にて再発した神経芽細胞腫の1例
東海小児ガン研究会, 名古屋, 2.21, 1987
- 12) 志村浩己, 塩沢全司, 向山昌邦ほか：
約十年 subclinical myopathy として follow し得た distal myopathy の1例
第100回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.28, 1987
- 13) 富 英明, 亀井敦行, 向山昌邦, 春原経彦, 里吉宮二郎：
アミロイド小体の多発した Crow-Fukase 症候群の1剖検例
第100回日本神経学会関東地方会, 東京, 2.28, 1987
- 14) 足立皓岑, 熊沢武志, 安藤一也, 織田銃一：
遺伝性運動失調マウス shambling マウスの中枢神経におけるモノアミン代謝の検討
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.22, 1986
- 15) 吉田瑞子, 安藤一也, 里吉宮二郎：
Duchenne 型筋ジストロフィー症赤血球の PA と PPI 含量について
第59回日本生化学会大会, 西宮, 9.20, 1986
- 16) 中村信之, 室田景久, 富田泰次, 向山昌邦ほか：
腕神経叢麻痺における血管柄付肋間神経の移行術に関する実験的研究
第13回関東整形災害外科学会, 東京, 11.15, 1986
- 17) 中村信之, 室田景久, 富田泰次, 向山昌邦, 安藤一也ほか：
伴走動静脈付肋間神経の軸索再生におよぼす効果
第13回マイクロサージャリー研究会, 東京, 11.29, 1986

II 研究業績

- 18) 中村信之, 室田景久, 富田泰次, 向山昌邦, 安藤一也ほか：
腕神経叢麻痺における血管柄付肋間神経移行術に関する実験的研究
第13回マイクロサージャリー研究会，東京，11.29, 1986
- 19) 森田勇二, 足立皓岑, 大杉圭子, 熊沢武志, 安藤一也, 満間照典：
キノホルム中毒ラットにおける神経伝達物質と神経ペプチドの検討
第27回日本神経学会総会，熊本，5.21, 1986
- 20) 熊沢武志, 足立皓岑, 安藤一也, 満間照典：
ナマズ皮膚における thyrotropin-releasing hormone とモノアミンについての研究
第57回日本動物学会総会，福岡，10.11, 1986
- 21) 松井京子, 安藤一也：
Cytosine arabinoside 投与マウスに対する行動薬理学的検討
第59回日本薬理学会総会，新潟，4.4, 1986
- 22) 松井京子, 安藤一也：
遺伝性運動失調マウスに対する glutamate antagonist 投与による行動薬理学的検討
第27回日本神経学科総会，熊本，5.22, 1986
- 23) 松井京子, 向山昌邦, 足立皓岑, 安藤一也ほか：
Wriggle mouse Sagami の形態学的，生化学的および行動薬理学的研究
第33回日本実験動物学会総会，東京，5.28, 1986
- 24) 松井京子, 安藤一也：
遺伝性運動失調マウスの成長発達による運動量・運動失調の変化
一小脳 cyclic nucleotide との関連において
第3回日本疾患モデル動物研究会総会，大阪，11.27, 1986
- 25) 安井昌之, 安藤一也, 向山昌邦, 足立皓岑, 大杉圭子, 八瀬善郎：
変性神経疾患の金属代謝 —Mg を中心に—
第27回日本神経学会総会，熊本，5.21, 1986
- 26) 横井風児, 安藤一也, 里吉栄二郎, 原 敏彦, 飯尾正明：
 ^{14}C -1-ピルビン酸によるポジトロンCTの臨床応用
第97回日本神経学会関東地方会，東京，6.7, 1986

C. 班会議発表

- 1) 安藤一也, 向山昌邦, 足立皓岑, 大杉圭子, 満間照典 :
筋萎縮性側索硬化症の脊髄におけるモノアミン代謝と substance P含量についての検討
厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班 昭和61年度研究報告会, 東京, 2.13, 1987
- 2) 安藤一也, 足立皓岑, 森田勇二, 満間照典 :
キノホルム投与ラットの中枢神経におけるモノアミン, 神経ペプチドの変動
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和61年度班会議, 東京, 2.26, 1987
- 3) 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 — 神経疾患合併症例の検討—
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和61年度班会議, 東京, 2.26, 1987
- 4) 安藤一也, 西谷裕ほか :
スモン患者の実態調査 (昭和61年度)
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和61年度班会議, 東京, 2.27, 1987
- 5) 安藤一也, 箕輪真澄, 中江公裕 :
重度障害スモン患者の日常生活についてのアンケート調査
厚生省特定疾患・スモン調査研究班 昭和61年度班会議, 東京, 2.27, 1987
- 6) 安藤一也, 松井京子 :
各種運動異常 mutant mouse に対する ceruletide 投与の影響
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61年度班会議,
東京, 3.5, 1987
- 7) 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先天性筋ジストロフィー症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61年度班会議, 東京, 12.5, 1986
- 8) 向山昌邦, 中村信之 :
腕神経叢麻痺における血管付肋間神経移行術に関する実験的研究
厚生省神経疾患・ニューロパチーの成因および治療に関する研究班 昭和61年度総会, 東京,
1.23, 1987
- 9) 向山昌邦, 篠塚直子, 安藤一也 :
神経難病患者の在宅療養維持のための条件

II 研究業績

- 厚生省特定疾患・難病の治療・看護調査研究班 昭和61年度班会議総会，静岡，2.10, 1987
- 10) 下田文幸，向山昌邦：
神経難病の中間施設
厚生省特定疾患・難病の治療・看護調査研究班 昭和61年度ワークショップ，東京，7.28, 1986
- 11) 菊池建機，向山昌邦，富田武：
GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究
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・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 昭和61年度合同班会議，東京，12.8, 1986
- 12) 三吉野産治，向山昌邦ほか：
筋ジストロフィー症の遺伝相談 — 一般むけの手引書作製について—
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61年度班会議，東京，12.4, 1986
- 13) 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・第II報 —重症度と糖尿病，発病年齢，罹病期間の関連—
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61年度班会議，東京，12.4, 1986
- 14) 松岡幸彦，高橋昭，向山昌邦ほか
わが国の筋緊張性ジストロフィーの臨床症状の障害度 —全国アンケート調査の解析—
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61年度班会議，東京，12.4, 1986
- 15) 足立皓峯，熊沢武志，安藤一也，満間照典，織田銃一：
Shambling mouse の生化学的研究
厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班 昭和61年度班会議，東京，12.20, 1986
- 16) 吉田瑞子，安藤一也：
Duchenne 型筋ジストロフィー症赤血球のPAおよびPPI含量の温度変化
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61年度報告会，東京，12.7, 1986
- 17) 横井風児，安藤一也：
筋緊張性ジストロフィー症のPETによる¹⁵O study
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61年度第1回研究報告会，東京，9.27，1986

- 18) 横井風児，安藤一也，原 敏彦，飯尾正明：

頭蓋内結核腫のピルビン酸代謝，酸素消費率および脳血液量の検討

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61年度第2回研究報告会，東京，2.21，1987

D. 研究会など

- 1) 安藤一也：

パーキンソン病の治療について

全国パーキンソン病友の会東京支部総会講演，東京，4.29，1986

- 2) 安藤一也：

パーキンソン病の診断と治療

愛媛県パーキンソン病学術講演会，松山，6.14，1986

- 3) 安藤一也：

パーキンソン病の治療について

全国パーキンソン病友の会三鷹・小平ブロック講演会，三鷹，6.24，1986

- 4) 安藤一也，向山昌邦：

高齢発症のパーキンソン病

第7回三多摩パーキンソン病懇話会，立川，6.28，1986

- 5) 安藤一也：

パーキンソン病の薬物療法

ラジオタンパ老年人看護のポイント，8.11，1986

- 6) 安藤一也：

パーキンソン病の生活指導

ラジオタンパ老年人治療のポイント，8.18，1986

- 7) 安藤一也：

パーキンソン病の病態と治療 —最近の話題も含めて—

釧路市医師会学術講演会，釧路，7.24，1986

- 8) 安藤一也：

スモン —医学面について—

II 研究業績

- 難病患者訪問に関する研修会（愛知県衛生部），名古屋，9.12，1986
- 9) 安藤一也：
頭痛 — 神経症状の見方と治療の進め方—
メディカルコア 第501回ゼミナール，東京，9.28，1986
- 10) 安藤一也：
パーキンソン病の最近の問題点
山梨医大神経内科懇話会，甲府，10.21，1986
- 11) 安藤一也：
各種dyskinesiaに対するチアプリドの短期および長期使用経験
チアプリド臨床研究発表会，東京 11.28，1986
- 12) 安藤一也：
疼痛の心理的側面
横浜市大麻酔科研修会，横浜，1.31，1987
- 13) 安藤一也：
最近におけるパーキンソン病の薬物療法について
埼玉神経筋疾患研究班医療講演会，大宮，3.17，1987
- 14) 安藤一也：
パーキンソン病の最近の話題
熊本県精神病院協会学術講演会，熊本，3.25，1987
- 15) 安藤一也：
パーキンソン病最近の動向
在宅難病患者訪問相談事業連絡会（青梅保健所），青梅，3.31，1987
- 16) 向山昌邦：
老年痴呆のみかた，考え方
小平市医師会学術講演会，小平，4 15 1986
- 17) 向山昌邦：
パーキンソン病の日常生活
田無保健所パーキンソン患者の会，田無，5.6，1986
- 18) 向山昌邦：
神経系の形態と機能

立川准看学院講演会，立川，8.26, 1986

19) 向山昌邦：

末梢神経障害の臨床と病理

第10回らい医学夏期大学講座，東村山，8.29, 1986

20) 向山昌邦：

筋緊張性頭痛に対するミオナールの使用例

多摩・山梨地区ミナオール研究会，武蔵野，9.6, 1986

21) 松井京子：

運動失調マウスに対する生化学的および行動薬理学的検索

日本神経精神薬理学会 第147回抄読会，東京，2.24, 1987

3. 主な研究報告

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理学的研究

向山 昌邦, 菊池 建機, 安藤 一也, 山崎 一斗*, 富田 武*

(* 名古屋大学農学部)

GADマウスはRFM/NgaとCBA/Ngaの交配により第二世代以降に発症した遺伝的疾患マウス(常染色体劣性)で, 80日令から後肢をひきずり, ふるえが認められる。本報告では130~137日令のGADマウス8匹について病理形態学的に検索した結果を述べる。

病理所見

8匹とも同じ所見を得た。肉眼的に脳, 脊髄, 末梢神経に異常を認めない。

光顕標本では, 延髄Goll核と脊髄Goll索の背側1/2部位に局限して変性所見あり。変性の程度は延髄Goll核に最も強く, ついで頸髄, 胸髄, 腰髄のGoll索の順である。この部位では有髄神経線維が消失し, グリア細胞の増生がある。軸索の変性腫脹した球状構造物がGoll核に多数存在するが, Goll索の各部位にも散在する。

球状構造物を電顕で見ると菲薄化した髓鞘をもつ有髄神経線維や無髄神経線維の軸索が異常に腫大しており, その中に neurofilaments, mitochondria, 変性した膜様構造物などが充満している。

他の中枢神経系組織や脊髄根, 後根神経節, 末梢神経には顕微鏡的に病変を認めない。両下肢筋は廃用性萎縮を示す。心, 肺, 肝, 脾, 腸管など, 一般臓器には異常を認めない。

考察

マウスの延髄Goll核と脊髄Goll索の背側1/2の部位は上行性感覚神経系の存在する部位であるので, 臨床的に認めた後肢のひきずりとふるえは, この部位の障害に起因するものと考えられる。

Goll核とGoll索に認めた腫大球状構造物は, ヒトの infantile neuroaxonal dystrophy で認められる軸索腫脹と類似している。この形態的特徴をもつ構造物がGoll核 (nucleus gracilis) とGoll索 (fasciculus gracilis) に局限して存在することにより, 本マウスを GAD (gracile axonal dystrophy) マウスと命名した。同様の軸索腫脹が各種ビタミン欠乏症, 老化や薬物中毒でも発現することが知られているので それについて現在検討中である。

文献

- (1) Yamazaki K et al: Gracile axonal dystrophy (GAD), a new mutant in the mouse. in press
- (2) 向山昌邦他: GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究。日疾動録, 3: 66, 1987

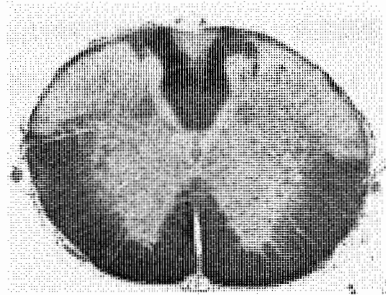


図1 頸髄Goll索に局限した変性病巣。(Kluever—Barrera 染色, 55×)

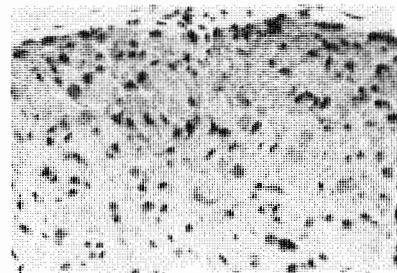


図2 延髄Goll核に見られる多数の球状構造物。(PAS染色, 400×)

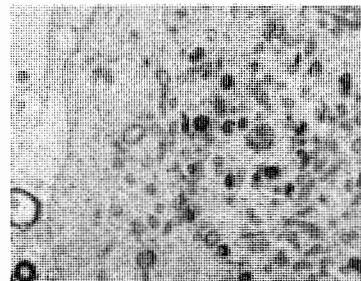


図3 延髄Goll核の球状構造物の電顕像。(12,500×)

筋ジストロフィー症赤血球のPAおよびPPI含量の温度変化

吉田 瑞子

筋ジストロフィー症は、“細胞膜が異常のため筋細胞外から内に多量のCaが流入し、筋が壊死に陥る”といわれている。この仮説に基づきこの疾患の細胞膜では、Caの制御機構が異常で細胞内のCa濃度が正常に制御されていないと考えた。

一方細胞内のCa制御を担っているひとつに、イノシトールリン脂質代謝機構がある。最近T管からポリホスホイノシタイド (PPI) が抽出され、さらに蛙骨格筋を用いて、電気刺激がイノシトールリン脂質代謝機構を介し、細胞内に伝達されることが報告された。これ等の報告により筋細胞においても、情報伝達やCa制御の一旦をこの代謝系が担っていると予測した。

目的

赤血球を筋細胞のモデルとして用い、ジホスホイノシタイド (DPI)、トリホスホイノシタイド (TPI) とホスファタイド (PA) の2℃および37℃における含量について検索した。

対象と方法：赤血球はDuchenne型筋ジストロフィー症患者 (DMD, 18~23才) および対照者とした健康男子 (同年令層) の新鮮ヘパリン血より得た。Ca, Mgとグルコースを含むリン酸緩衝食塩水 (PBS (+)) で洗滌後、45% Ht 浮遊液とした。この浮遊液を2℃と37℃で3時間浮置しPAおよびPPIの抽出試料とした。PAはFolch法でPPIは一昨年度の本年報で報告した方法で、抽出、分離を行なった。但しpHは9.5に調整し、0.05 M KClで洗滌した。定量はBartlett法を改良したリン定量で行った。

結果

PAの含量については、20名のDMDと14名の健康対照者、DPIとTPIの含量については、10名のDMDと健康対照者の赤血球で、それぞれ検索した。その結果を図に示し、2℃の含量に対して、37℃の含量を比較すると、

PA：DMDでは増加傾向を示し、健康対照者は減少傾向を示した。

DPI：DMDと対照者共に減少し、両者間に差は認められなかった。

TPI：DMDの場合変化がないか、わずかに減少する傾向を示し、対照者は増加する傾向を示した。

DMDのPA含量は対照者のPA含量に比べ少なかった。特に2℃における含量の差は大きかった。

考察

最近生体膜の膜状態を維持するのにPA含量が重要な役割を果していると考えられる報告がある。すなわちPAが減少すると膜が崩壊したり、細胞が変性する。この結果よりDMD赤血球のPA含量が対照者のPAに比べ少ない、ということはDMDの膜が脆弱で、細胞が崩壊し易いことを示唆し、膜異常説を裏付ける。

私達はDMDと対照者の赤血球を、PBS (+) に浮遊し4℃で保持した時、DMDの赤血球が対照者の赤血球に比較し異常形態 (echinocyte) になり易く、その出現率が高かったことを報告した。この減少はPA含量が少ないため、膜が脆弱で外液のCaが流入し易く、過剰のCaによって異常形態になったと考える。膜が脆弱であるという考えは、浸透圧破壊による検索結果と一致する。

今後DMDのPA含量が少ない原因を検索する。TPI含量の温度変化では、DMDと対照者間にわずかな差がみられ、PA含量ではDMDと対照者間で逆の変動を示した。この結果から、患者の膜ではTPI → Diacylglycerol ⇄ PA に関する酵素の異常が考えられる。

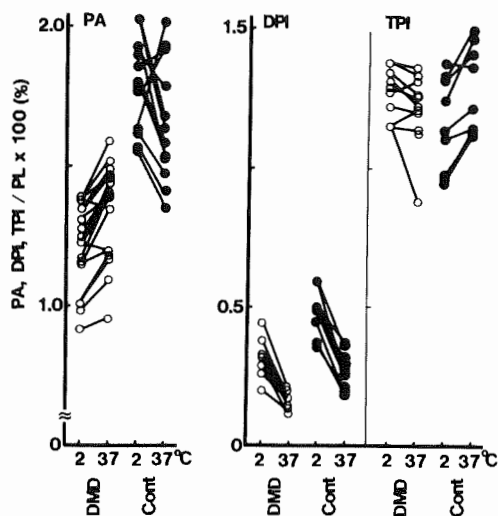


図 赤血球を2℃および37℃で、3時間浮置した時のPA, DPIおよびTPIの含量変化

DMD: Duchenne型筋ジストロフィー症患者 (18~23才)

Control: 健康男子対照者 (18~23才)

運動異常マウスに対するceruletide投与効果

松井 京子, 大杉 圭子, 安藤 一也

CCK-8のアナログである ceruletide を投与すると, Wriggle Mouse Sagami (WMS) では運動失調の減少, 首ふり運動の改善が認められたが, Rolling Mouse Nagoya (RMN) では運動失調の改善がみられないことをすでに報告した。今年度はさらに対象を広め, 他の運動失調 mutant mouse およびジストニアを呈する mutant mouse にも ceruletide を投与し 運動異常に対する影響を検討した。WMSにおいては ceruletide 投与後の脳内モノアミンの変化についても検討した。

方法

マウス: 運動失調 mutant mouse の reeler, staggerer, PCD。ジストニアを呈する mutant mouse の dystonia musculorum (DM)。

運動状態の観察: ceruletide および saline 投与後, open-field 上において各マウスの移動量と転倒回数を5分毎に1時間にわたって計測し, 運動失調の程度のパラメータとして転倒指数(転倒回数/移動量)を算出した。DMマウスについてはジストニアの変化についても観察した。WMSについては ceruletide 投与後, 断頭し, 脳を分割後, HPLC-ED法にてモノアミンの変化を測定した。

結果・考察

reeler, PCDおよび staggerer とともに ceruletide 15μg/kg腹腔内注射後の60分間の移動量は生理食塩水投与に比べて有意に低下した。転倒指数はPCD, staggerer では有意に低下したが, reeler では明らかな差はみられなかった。

DMマウスに ceruletide 15μg/kg, 30μg/kg投与後の60分間の移動量と転倒指数は生理食塩水投与に比べ明らかな差は認められず, dystonic posturing の改善も観察できなかった。

WMSに ceruletide 15μg/kg を腹腔内投与すると, 無処理の場合に比べ, 視床において投与20分, 60分後にMHPG濃度の有意な増加と投与20分後にDOPAC濃度の有意な増加がみられた。脳幹では投与20分後にNA濃度の有意な低下がみられた。大脳皮質では投与20分後にMHPG濃度の有意な増加, 視床下部, 小脳においても同様な結果がえられた。線状体ではモノアミンの明らかな変化はみられなかった。

実験結果をまとめると表1のようになり, ceruletide はPCD, staggerer, WMSに対しては軽度な

から運動失調改善作用があるが, RMN, reeler に対しては運動失調改善作用はなく, DMマウスに対しては dystonic posturing の改善作用もみられないことがわかった。

WMSに対する ceruletide 投与後の脳内モノアミンの変化では主にNA代謝の亢進作用が認められた。他のマウスについても同様の実験を行ない, ceruletide 投与による脳内モノアミンの変化と運動失調改善作用との関連性について今後検討する価値があると思われる。

表1 各種異常運動マウスに対する ceruletide 投与後の影響

	運動量	運動失調の改善
	ceruletide	ceruletide
RMN	↓	-
Reeler	↓	-
PCD	↓	+
Staggerer	↓	+
WMS	↓	+ head shaking (-)
DM	-	- dystonic posturing (+)

表2 WMSにおける ceruletide 投与後の脳内モノアミンの変化

Cerebral Cortex	: MHPG	↑
Cerebellum	: MHPG	↑
Hypothalamus	: MHPG	↑
Thalamus	: MHPG	↑
	: DOPAC	↑
Brain Stem	: NA	↓
Striatum	:	-

筋萎縮性側索硬化症の脊髄におけるインドールアミン代謝

大杉 圭子, 足立 皓岑, 向山 昌邦, 安藤 一也

はじめに

我々は以前、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の頸髄前角においてTRH含量が対照に比べ有意に減少している事を報告した (Am J Med Sci 1984)。その後、同様な結果が報告され更にALSの脊髄前角においてTRH受容体も有意に減少していると報告された。一方、ALS患者にTRHを投与すると症状の改善がみられると報告されている。

最近、動物の脊髄における組織化学的、薬理学的研究から、脊髄前角でTRHとサブスタンスPとセロトニンが共存し機能面での相互影響が認められるとの報告がある。

そこでALS脊髄前角における神経伝達物質の共存という観点から、セロトニン代謝について検討した。

対象および方法

対象はALS群6例 (全て臨床病理学上 common formと診断された症例で、男性4例、女性2例; 平均年齢52.3才) とコントロール群7例 (男性1例、女性6例; 平均年齢59.3才) である。

deep freezerにて凍結保存された頸髄 (C3-4) を中心管にて左右に分け、それぞれから前角、中間質、後角および前索、側索、後索を切り出した。症例ごとに6部位のセロトニン含量を中心としたモノアミン代謝の分析を行った。

切り出した頸髄を秤量後、0.1N過塩素酸にてホモゲナイズし15分間、10000×gにて遠沈後その上清を電気化学検出器を用いた高速液体クロマトグラフィーにて測定した。

結果

(1) セロトニン含量

ALS群もコントロール群も共に前角の方が後角より含量が高く、前索の方が後索より高かった。しかし両群間には有意差は認められなかった (表I)。

(2) 5-HIAA含量

5-HIAA含量についても両群ともに前角が他のいずれの部位よりも含量が高かった。しかしセロトニンと同様、両群間に5-HIAA含有量の有意差は認められなかった (表I)。

(3) その他

ノルアドレナリン, MHPG, アドレナリン, ドーパミン, DOPAC, HVAも両群について検討したが、いずれについても両群間に有意差はなかった。

考察

ALSは進行性に脊髄前角細胞が変性、脱落していく疾患で、その病因、病態は不明である。我々は以前、ALS頸髄の前角において対照群にくらべTRH含量が有意に低下している事を報告した。その後いくつかの研究室からそれを支持する報告があり、更にTRH受容体も減少しているとの報告もある。そしてこのTRH及びその受容体の減少はALS脊髄前角における運動ニューロンの減少を反映しているものと推測される。

最近、組織化学、薬理学的研究などからラットの延髄縫線核においてTRH, セロトニン, サブスタンスPが共存し脊髄の前角へ投射し前角で同じ神経終末に存在し、相互の遊離に影響し合っている事が示されている。

もし人間の脊髄前角においてTRH, セロトニン, サブスタンスPが共存しているならばALS患者の脊髄前角でのセロトニン含量は減少している事が予想される。しかし今回の検索ではALS脊髄前角のセロトニン代謝は対照との間に有意差はなかった。従って人間の脊髄前角では大部分のTRH含有ニューロンはセロトニンと共存しておらず、ALSにおける脊髄前角でのTRH及びその受容体の変化は、ALSに特異的な病態を反映している可能性が考えられた。

まとめ

ALS患者の脊髄前角におけるセロトニン代謝を神経伝達物質の共存という観点から検討した。その結果、ALSでは対照とくらべて有意な変化を認められなかった。

表I 頸髄6部位におけるセロトニンと代謝産物濃度

5-HT and 5-HIAA concentrations in cervical cord		
Regions	5-HT (pg/mg w.w.)	5-HIAA (pg/mg w.w.)
ALS		
Ventral horn	246 ± 29	285 ± 55
Intermediate gray matter	156 ± 21	272 ± 46
Dorsal horn	61 ± 9	168 ± 26
Ventral funiculus	141 ± 14	179 ± 17
Lateral funiculus	80 ± 19	136 ± 16
Dorsal funiculus	15 ± 5	128 ± 15
Control		
Ventral horn	284 ± 54	410 ± 72
Intermediate gray matter	169 ± 31	355 ± 53
Dorsal horn	53 ± 10	231 ± 24
Ventral funiculus	158 ± 28	289 ± 62
Lateral funiculus	50 ± 13	189 ± 36
Dorsal funiculus	15 ± 2	172 ± 28

Mean ± S.E.

実験的運動ニューロン疾患作製の試み

—金属代謝障害を中心に—

森田 勇二, 足立 皓岑, 安藤 一也, 満間 照典*

(* 愛知医大第4内科)

目的

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の発症機序は未だ不明であるが, 病因の1つに環境要因の関与—特に土壌, 飲料水中に含有される金属のアンバランス—を示唆する報告がある。即ち, ALSの多発地域である紀伊半島やグアム島では土壌が他地域にくらべ低Ca・Mgで高Alであることが指摘されている。

一方, 我々は以前ALS頸髄前角におけるTRH含量の低下を報告したので, 低Ca・Mg高Alの条件下でラットを飼育し, 中枢神経でのTRH含量を始めとする生化学的分析を行った。

対象および方法

生後約6Wのウィスター系ラットを使用し次の3群に分けいずれも3ヶ月飼育した。

- (1) 低Ca・Mg食高Al液投与群: 低Ca・Mg食および蒸留水を3ヶ月投与 (A群)
- (2) 低Ca・Mg食高Al液投与群: 低Ca・Mg食および500ppm Al飲料水を投与 (B群)
- (3) コントロール群: 普通食および蒸留水を3ヶ月投与

測定項目は ①血清中Ca, Mg, P, Al ②血清PTH ③TRH含量 ④セロトニン含量である。

結果

- (1) 血清中金属分析はB群で行ったが, その結果コントロール群にくらべCa, Mgの有意な低値とP, Alの有意な高値を認めた。
- (2) 血清PTHはA, B群ともコントロールにくらべ有意な増加を認めた。
- (3) TRH含量はA群では延髄, 頸髄において有意な増量を認めた。B群では延髄, 頸髄, 胸髄で有意な増量を認めた (図1)。
- (4) セロトニン含量はB群のみで検索したところ, 胸髄前半部のみにおいてコントロールにくらべ有意な減少を認めた (図2)。

考察

ALS脊髄前角におけるTRH含量の減少について我々は既に報告したが, その後同様な報告およびその受容体も減少しているとの報告がある。更にTRHは脊髄前角細胞に対する trophic な効果がみられ, TRH投与によるALS症状の改善効果も報告されている。

今回の我々の実験結果によると, 低Ca・Mg食ラットでは延髄, 頸髄のTRH含有ニューロンに変化がみられ, 更にAlの負荷によりTRH含有ニューロンの障害が胸髄にまで及んでいることが認められた。血清中の金属およびPTHの測定の結果, この実験系でのラットには二次性副甲状腺機能亢進があり, 更にaxonal flowを障害するAl負荷によりこのような病態が成立していると推測される。この事はCa, Mgの欠乏にAl負荷が加わることにより中枢神経の障害が発生しうる事を示唆しており, ALSの発症機序解明に興味ある所見と考えられる。

一方, セロトニン含量の変化がTRH含量の変化とは同じ部位でなく, かつ少ない点は両者の変化が神経伝達物質の共存という観点のみでは説明出来ないことを示唆しており, 今後更に検索する必要がある。

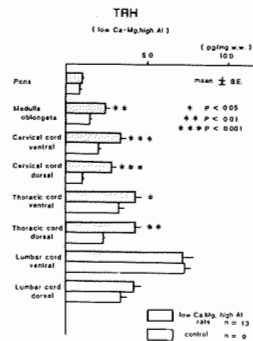


図1 中枢神経各部位におけるTRH含量

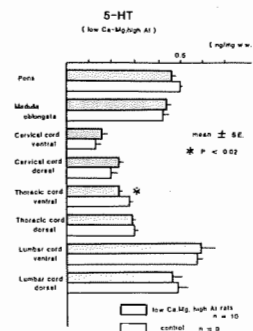


図2 中枢神経各部位におけるセロトニン含量

6. 疾病研究第5部

1. 研究部一年の歩み

難治性の中樞神経障害を起す遺伝代謝病の原因究明、診断、治療法の開発に関する研究を進めており、本年度は10月より鈴木が専任部長として着任し、研究部としての体制がととのった。別表に示されているように、研究員の移動もあったが、詳細は省略する。

当研究部の研究内容は、第一に種々の代謝性疾患の診断法の開発、研究、第二にその病態、成因の追求、第三に治療法の開発、第四に神経系組織の生理的機能の解明にまとめられる。

(1) 代謝性神経疾患の生化学的診断

ライソゾーム病を中心とした、各種代謝病の診断スクリーニングを行なった。血液を用いた極長鎖脂肪酸の分析を開始し、アドレノロイコジストロフィーの他、Leber病（先天性黒内障）でも新しい知見を得た。

(2) ライソゾーム病の病態解析

Pompe病における α -グルコシダーゼの生合成、分解には、異なった臨床像を示す症例間に、著しい多様性があるものの、変異酵素分子の細胞内寿命が著しく短くなっていることが分った。今後、治療の可能性を考える上に、極めて重要なデータとなった。又 β -ガラクトシダーゼとそれに付随した特殊な機能蛋白の、生合成の過程が、GM₁ガングリオシドーシスとガラクトシアリドーシスについて、詳細に解析された。

(3) コレステロール代謝と脳障害

これまでNiemann-Pick病の一型と分類されていた疾患について、コレステロールのエステル化障害の機序を詳細に検討した。いまだ本態を明らかにするまでには到っていないが、この新しい病気の理解に、大きな貢献がなされた。

(4) X染色体遺伝子の連鎖解析

Duchenne型筋ジストロフィー遺伝子近傍の遺伝子診断、病態解析のために、十数種のプローベを用いた連鎖解析を開始した。日本人における制限酵素断片長多型の特徴を明らかにし、診断、遺伝子解析に重要な知見をもたらした。

(5) 個体発生における遺伝子発現

鶏の肢芽形成期特異的抗原(AV-1)の生化学的解析、マウス発生初期及び睪丸に発現する遺伝子MT-1の分離などを行なった。前者は奇形発生との関係を考える上で重要であり、後者は形態形成に参与する遺伝子である可能性が考えられるので、今後、中枢神経系などにおける発現の検討を開始する予定である。

(部長 鈴木義之)

2. 研究業績 (1986.4-1987.3)

A. 論文

a. 原著

- 1) Momoi T, Shinmoto M, Kasuya J, Senoo H, Suzuki Y :
Activation of CMP-N-acetylneuraminic acid : lactosylceramide sialyltransferase during the differentiation of HL-60 cells induced by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate
J Biol Chem 261 : 16270-16273, 1986
- 2) Momoi T, Senoo H, Yoshikura H :
Two stages of the differentiation of HL-60 cells induced by $1\alpha, 25$ dihydroxyvitamin D₃; Commitment by $1\alpha, 25$ dihydroxyvitamin D₃ and promotion by DMSO
Biosci Rep 6 : 95-101, 1986
- 3) Momoi T :
Activation of protein kinase C by ganglioside G_{M3} in the presence of calcium and 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate
Biochem Biophys Res Commun 138 : 865-871, 1986
- 4) Nanba E, Tsuji A, Omura K, Suzuki Y :
Galactosialidosis : A direct evidence that a 46-kilodalton protein restores deficient enzyme activities in fibroblasts
Biochem Biophys Res Commun, in press, 1987
- 5) Tsuji A, Yang R-C, Omura K, Imabayashi T, Suzuki Y :
A simple differential immunoprecipitation assay of urinary acid and neutral α -glucosidases for glycogenosis II
Clin Chim Acta, in press, 1987
- 6) 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
- 7) 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一
医学のあゆみ 136 : 447-448, 1986

- 8) 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—
T-cell 病における細胞膜機能異常
日小児会誌 90 : 316-320, 1986
- 9) 桜庭 均, 五十嵐 隆, 柳川幸重, 鈴木義之, 橋本佳明, 内野 允 :
特異的な臨床および検査所見を示したファブリー病の1家系列の検討
小児診 49 : 942-946, 1986
- 10) Sakuraba H, Yanagawa Y, Igarashi T, Suzuki Y, Suzuki T, Watanabe K, Ieki K,
Shimoda 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
- 11) Sakuraba H, Igarashi T, Shibata T, Suzuki Y :
Effect of vitamin E and ticlopidine on platelet aggregation in Fabry's disease
Clin Genet, in press, 1987
- 12) Furuya T, Suzuki Y, Momoi T :
Acid β -galactosidase from human fibroblasts. A microscale purification method monito-
red by a highly sensitive enzyme assay
J Biochem 99 : 437-443, 1986
- 13) Takahashi K, Naito M, Suzuki Y :
Lipid storage disease : Part III Ultrastructural evaluation of cultured fibroblasts in
sphingolipidoses
Acta Path Jpn 37 : 261-272, 1987
- 14) Takahashi K, Naito M, Suzuki Y :
Genetic mucopolysaccharidoses, mannosidosis, sialidoses, galactosialidosis, and T-cell
disease. Ultrastructural analysis of cultured fibroblasts
Acta Pathol Jpn 37 : 385-400, 1987
- 15) Igarashi T, Sakuraba H, Suzuki Y :
Activation of platelet function in Fabry's disease
Am J Hematol 22 : 63-67, 1986

II 研究業績

- 16) Senoo H, Wake K, Momoi T, Yoshikura H:
Isolation and characterization of clones of a human leukemia cell line (HL-60 cells)
resistant to $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ and dimethyl sulfoxide
Biomed Res 7: 311-319, 1986
 - 17) 於保祐子, 山中龍宏, 鈴木義之, 末広牧子, 飯尾正宏:
¹³C 標識 trioctanoin 負荷による小児脂肪代謝の評価
小児診 49: 2125-2127, 1986
 - 18) 於保祐子, 山中龍宏, 保坂暁子, 鈴木義之, 野村芳子, 瀬川昌也, 埜中征哉, 戸島健治, 黒田泰弘:
哺乳障害, 点頭てんかんで発病した pyruvate dehydrogenase complex 欠損症の1例
小児診 49: 2133-2139, 1986
 - 19) 茂木洋一, 藤永 隆, 田村 博, 黒梅恭芳, 大村 清, 難波栄二, 鈴木義之:
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
日小児会誌, 印刷中, 1987
- b. 著 書
- 1) 鈴木義之:
変性・代謝性疾患
小児神経学の進歩15 (日本小児神経学会卒後教育委員会編), 診断と治療社, p 187-188, 1986
 - 2) 鈴木義之:
支持組織疾患研究の歴史と展望
新小児医学体系15B, 小児運動器病学II, 中山書店 3-24, 1986
 - 3) 鈴木義之:
脳の変性疾患
小児科Q&A (水原春郎, 松山秀介編), 金原出版 p 237-239, 1986
 - 4) 大村 清:
先天性代謝異常症の胎児診断
医科学大事典 Suppl 3, 講談社, 東京, 184-186, 1986
 - 5) Kato G, Suzuki Y:
Intracellular binding and transport of lysosomal enzymes in human and bovine tissues
Enzymes of Lipid Metabolism 2 (Freysz L, Dreyfus H, Massarelli R, Gatt S, eds),
Plenum Press, New York, 771-778, 1986.

- 6) Suzuki Y, Omura K, Nanba E, Tsuji A, Yang R-C, Kato G, Sakuraba H, Igarashi T :

Lysosomopathies : Analysis of intracellular abnormalities of functional proteins and a survey of new therapeutic approaches

Proc Fourth Int Child Neurol Congr (French JH, Harel S, Rapin I, Casaer P,

DeVivo DC, Gottlieb M, eds), Paul H Brooks Publ Co, Maryland, in press, 1987

- 7) Suzuki K, Suzuki Y :

Galactosyl ceramide lipidosis : Krabbe's globoid cell leukodystrophy

The Metabolic Basis of Inherited Disease, 6th ed (Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds), McGraw-Hill, New York, in press, 1987

c. 総 説

- 1) Szuzki Y :

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

Asian Med J 29 : 181-186, 1986

- 2) 鈴木義之 :

生体物質の超微量定量

Bioindustry 3 : 919-925, 1986

- 3) 鈴木義之 :

スフィンゴリピドーシスの臨床

病理と臨 4 : 1008-1016, 1986

- 4) 鈴木義之 :

遺伝子解析による先天性代謝異常の診断

Biomedica 2 : 84-87, 1986

- 5) 鈴木義之 :

ライソゾーム酵素活性測定の臨床的意義

SRL宝函 10 : 18, 1986

- 6) 鈴木義之 :

神経系先天異常と遺伝因子

Clin Neurosci 5 : 261-264, 1987

- 7) 鈴木義之 :

II 研究業績

小児の神経疾患における生化学的検査

治療 68: 1367-1371, 1986

8) 大村 清, 鈴木義之 :

代謝異常による精神遅滞

Clin Neurosci 4: 280-282, 1986

9) 大村 清 :

代謝病としての自閉症

小児診 94: 2070-2074, 1986

10) 榊原洋一, 鈴木義之 :

神経疾患の初診のみかた 小児科領域

治療 68: 1714-1720 1986

11) 桜庭 均, 鈴木義之 :

Fabry 病

日臨 44: 1619-1623, 1986

d. 班会議報告書

1) 鈴木義之 :

代謝異常による脳障害の臨床的, 生化学的アプローチ

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60年度研究報告書,

226-231, 1986

2) 鈴木義之, 加藤尚彦, 桃井 隆, 溝部達子, 粕谷淳子 :

遺伝性リソゾーム病診断のための新しい酵素測定法の開発ならびに患者由来細胞の無限増殖株の樹立

厚生省心身障害研究「先天異常のモニタリングに関する研究」昭和60年度研究報告書, 41-48,

1986

3) 鈴木義之, 桜庭 均 :

Fabry 病における心血管系病変の検討

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」 昭和60年度研究業績集,

111-114, 1986

4) 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及びその病態代謝の研究

厚生省神経疾患「遺伝性代謝異常による中枢神経障害の成因と治療に関する研究」班 昭和60年度研究報告書, 13-16, 1986

5) 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委託「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」昭和60年度研究報告書, 278-281, 1986

6) 桃井 隆 :

S V 40D NA (合成開始部位欠失) 導入による遺伝性疾患 (先天代謝異常) 線維芽細胞株の樹立
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」 昭和60年度研究業績集,
163-166, 1986

7) 大村 清 :

Sanfilippo 症候群の酵素診断に関する基礎的研究

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」 昭和60年度研究業績集,
123-126, 1986

8) 和田義郎, 石館 基, 鈴木義之, 孫田信一, 日暮 真, 鈴森 薫 :

先天代謝異常症, 染色体異常症等から得られた細胞株の保存状況

科学技術庁ライフサイエンス研究「染色体の解析・利用技術の開発に関する研究」班 (昭和60年度) 及び厚生省特別研究「細胞遺伝子銀行業務における細胞株遺伝子等の品質管理検定業務に関する研究」班 (昭和60年度) 報告, 1987

B 学会発表

c. 一般学会

1) 大村 清, 鈴木義之 :

Niemann-Pick 病C型培養線維芽細胞におけるコレステロール代謝

第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986

2) 桃井 隆, 粕谷淳子, 大楢弘順 :

ヒト神経芽細胞及びグリオーマ細胞におけるNGF, EGF 磷脂質代謝応答と c-fos 遺伝子活性化

第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20-9.23, 1986

3) 桃井 隆 :

ガングリオンドによるC-キナーゼの活性化

II 研究業績

- 第45回日本癌学会, 札幌, 10.21-23, 1986
- 4) 古屋達子, 高木英行, 銭場俊彦, 仙石陽治, 大楢弘順, 桃井 隆 :
ブタ及びヒト β -ガラクトシダーゼについて
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20-9.23, 1986
 - 5) 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の成人例と乳児例の細胞生化学的検討
第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5-6.7, 1986
 - 6) 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之 :
GM1 ガングリオシドーシス, ガラクトシアリドーシスにおける β -ガラクトシダーゼ蛋白の動態
第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986
 - 7) 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之 :
糖尿病II型患者皮膚線維芽細胞における酸性 α -glucosidaseの生合成
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9-20-9.23, 1986
 - 8) 大楢弘順, 桃井 隆, 井出宏之 :
四肢の形態形成過程に出現する空間特異的分布を示す抗原
第58回日本遺伝学会, 第9回日本分子生物学会合同年会, 名古屋, 12.4-7, 1986
 - 9) 榊原洋一, 鈴木義之, 今林知子 :
Sanfilippo病における脳へのドリコール蓄積
第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986
 - 10) 楊 瑞成, 辻 明彦, 大村 清, 今林知子, 鈴木義之 :
糖尿病II型(成人型)における酸性 α -グルコシダーゼの生合成及び尿中酸性 α -グルコシダーゼに関する研究
第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986
 - 11) 粕谷淳子, 桃井 隆 :
TPAによるLacCerシアル酸転移酵素の活性化
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20-9.23, 1986
 - 12) 粕谷淳子, 桃井 隆 :
神経芽細胞におけるNGFのPI合成促進について
第45回日本癌学会, 札幌, 10.21-23, 1986
 - 13) 粕谷淳子, 大楢弘順, 桃井 隆, 桃井真里子 :

ヒト神経芽細胞における c-fos 遺伝子活性化の機序

第29回神経化学会, 岡山, 10.31-11.1, 1986

14) 新本美智枝, 辻 明彦, 鈴木義之 :

Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝子診断 1.分析方法の検討

第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986

15) 和田義郎, 石館 基, 鈴木義之, 孫田信一, 日暮 真, 鈴木 薫 :

代謝異常に関する細胞バンク設置のための検討

第29回日本先天代謝異常学会, 名古屋, 10.30-11.1, 1986

16) 桜庭 均, 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生検の有用性

第89回日本小児科学会学術集会, 久留米, 5.16-18, 1986

17) 阿部知子, 長尾芳朗, 於保祐子, 鈴木義之, 鴨下重彦 :

臨床 Leig 脳症を疑わしめた PDH 部分欠損症における呼吸障害の分析

第28回日本小児神経学会, 松江, 6.5-7, 1986

C. 班会議発表

1) 鈴木義之 :

ライソゾーム病最近の進歩

厚生省神経疾患研究委託費「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」ワークショップ「脳の発生とその異常, 細胞内小器官と脳障害」, 東京, 10.25, 1986

2) 鈴木義之, 大村 清 :

Niemann-Pick 病C型培養線維芽細胞におけるコレステロール代謝

厚生省神経疾患研究委託費「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, 徳島, 1.17, 1987

3) 鈴木義之 :

リソゾーム病における欠損酵素の病態

文部省特定研究「先天性代謝病」公開シンポジウム, 東京, 1.24, 1987

4) 鈴木義之, 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清 :

遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症における欠損蛋白の動態

厚生省神経疾患研究委託費「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,

II 研究業績

東京, 1.30-31, 1987

5) 鈴木義之, 大村 清, 難波栄二, 辻 明彦 :

遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症における酵素異常

文部省総合研究(A)「糖脂質分子の担う生物情報の解析」班, 東京, 2.6, 1987

6) 鈴木義之 :

先天性代謝異常治療の現状について

厚生省厚生科学研究「遺伝子治療の基礎的研究」班, 東京, 3.24, 1987

7) 桃井 隆 :

発癌遺伝子によるヒト遺伝疾患細胞株の樹立

文部省特定研究「先天代謝病」公開シンポジウム, 東京, 1.24, 1987

8) 桃井 隆 :

活性型ビタミンD3及びビタミンAによる発癌遺伝子発現の制御

文部省癌特別研究「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」班, 東京,
1.23, 1987

9) 桃井 隆 :

分化過程における糖転移酵素の発現

文部省総合研究(A)「糖脂質分子の担う生物情報の解析」班, 東京, 2.6, 1987

10) 桃井 隆, 粕谷淳子 :

HL60細胞における活性型ビタミンD3によるリンフォカインの発現と制御

厚生省癌研究助成「リンフォカインによる抗腫瘍効果発現の基礎と臨床的治療の解明に関する研究」班, 東京, 2.21, 1987

11) 桃井 隆, 粕谷淳子 :

NGFによるヒト神経芽細胞におけるc-fos遺伝子活性化の機序

厚生省神経疾患委託研究費「脳発達障害の成因と予防に関する開発的研究」班, 東京, 2.21,
1987

12) 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之 :

G_{M1}-ガングリオンドーシス, ガラクトシアリドーシスにおける β -ガラクトシダーゼ蛋白の動態

文部省科学研究費計画研究「神経難病の発生機構」第4班, 遺伝性代謝病と神経系障害, 東京,
12.12, 1986

13) 新本美智枝, 辻 明彦, 鈴木義之 :

Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝子診断

厚生省神経疾患研究委託費「筋ジストロフィー症の臨床、病態と成因に関する研究」杉田班，東京，12.6-7, 1986

D. 研究会など

- 1) 鈴木義之，大村 清，難波栄二：

ガラクトシアリドシスの病態解析

第17回病態代謝研究会中間報告会，東京，9.6, 1986

- 2) 鈴木義之：

代謝異常による脳障害

第3回精神遅滞医学セミナー，東京，2.28-3.1, 1987

3. 主な研究報告

Niemann-Pick 病C型培養線維芽細胞におけるコレステロール代謝

大村 清, 鈴木 義之

Niemann-Pick 病C型 (NPC) は肝脾腫および中枢神経症状を呈するがスフィンゴミエリナーゼ活性の欠損を示さないスフィンゴミエリンおよびコレステロールの蓄積症である。本症の病因に関してはスフィンゴミエリナーゼ活性を中心としたスフィンゴ脂質代謝の研究がなされてきたが、その本態は不明である。近年、本症においてコレステロール (Ch) のコレステロールエステル (ChE) へのエステル化障害が報告され、本症の本態を Ch 代謝の面から検討する必要性が示されている。我々は本邦における本症 3 例を対象とし、培養皮膚線維芽細胞を用いて、その Ch 代謝について検討した。

研究対象

NPC 3 症例のうち 2 例は同胞列である。いずれも精神運動面の退行、脾腫、骨髄の泡沫細胞を特徴とし、線維芽細胞におけるスフィンゴミエリナーゼ活性は軽度低下していた。

方法

1. Ch 負荷試験。線維芽細胞は 10% FCS 加 F-10 培地を用い、直径 6 cm の dish に培養した。 ^3H Ch をエタノールに $150\ \mu\text{g}/12\ \mu\text{l}$ となるよう溶き 3 ml の培地に加えたものを負荷用培地とした。負荷用培地に交換 24 時間後に細胞を集め、Folch の方法で脂質を抽出。ChE および Ch 分画への ^3H の取込を測定した。
2. 混合培養実験。NPC 細胞と正常細胞を同数ずつ混合して播いたもの、および、それぞれ別に播いたものを培養し、負荷用培地に交換し、48 時間後における ChE と Ch への ^3H の取込を比較した。
3. acid lipase の測定。4MU-palmitate を基質とし測定した。
4. 細胞内 Ch および ChE 含量。細胞から抽出した脂質を TLC で Ch と ChE 分画に分け、コレステロールオキシダーゼ法により定量した。

結果

1. 表に示すように本邦における NPC の症例においても、Ch 負荷時にそのエステル化の低下を認めた。
2. ^3H Ch 負荷 2 日後の混合培養細胞における ^3H Ch は NPC 細胞および正常細胞を単独で培養した時の値 0.63 および $2.96\ \text{nmol}/\text{mg prot.}$ の中

間値 1.67 であった。すなわち NPC 細胞のエステル化は混合培養により矯正されなかった。

3. NPC 細胞における ChE 分解亢進の可能性を考え、その acid lipase を測定したが、NPC 3 例における活性は 138, 203, 201 (正常対照 246 ± 123) $\text{nmol}/\text{mg prot.}/\text{h}$ であり活性亢進は認めなかった。

4. 通常の培養条件下における NPC 細胞中の ChE の含量は 3.1, 4.2, 2.6 (正常対照, 2.4 ± 0.7) $\mu\text{g}/\text{mg prot.}$ であり、ChE の含量は低下していなかった。

考察

NPC 細胞では exogenous に大量の Ch を負荷した場合のエステル化が正常平均の $1/2$ 以下に低下しているが、通常の状態における ChE 含量の低下はないことから、NPC 細胞においては exogenous に取込まれた Ch の細胞内代謝機構に障害があると考えられる。これが、本症の本態と直接関連するものか否かは不明であるが、本症の本態解明の重要な手懸となろう。

NPC の primary defect が不明であることから、臨床的に本症と診断された症例が、すべて同一の疾患であるか否かが疑問とされていた。しかし、本邦の症例においても Ch エステル化障害を認めたことから、線維芽細胞を用いた Ch 負荷試験が本症診断の上で 臨床的. 有用な検査となりうると考えられる。

Esterification of ^3H cholesterol in fibroblasts

	^3H cholesterol nmol/mg protein		ChE/Ch %
	ChE	Ch	
NPC S.S	0.45	31.0	1.5
Ki.H	0.49	44.1	1.1
Ka.H	0.60	37.7	1.6
control (n=4)	2.00 ± 0.67 (1.44-3.17)	48.4 ± 11.8 (31.1-63.4)	4.3 ± 1.3 (2.3-5.9)
Wolman disease	4.01	43.2	9.2

遺伝性 β ガラクトシダーゼ欠損症の欠損蛋白動態と臨床的多様性

難波 栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木 義之

遺伝性に β -ガラクトシダーゼを欠損する GM1-ガングリオシドーシスとガラクトシアリドーシスは、発症年齢を除けばかなり似た症状を呈するが、その病態は異なる。GM1-ガングリオシドーシスは、酵素遺伝子自体の異常であり、ガラクトシアリドーシスは、酵素分子の分解異常とされている。今回これらの疾患の、欠損蛋白動態と臨床的多様性について、検討した。

材料と方法

GM1-ガングリオシドーシス（乳児型2例，若年型2例，成人型2例）ガラクトシアリドーシス（乳児型3例，成人型9例），及び正常対照の皮膚線維芽細胞を用いた。 β -ガラクトシダーゼは、人胎盤より精製し、その抗体を得た。皮膚線維芽細胞は、 $[^3\text{H}]$ -ロイシンで標識し、細胞を免疫沈降、電気泳動、フルオログラフィーにて検討した。培養液では、塩化アンモニウムで細胞を刺激した後得られる蛋白を、検討した。保護蛋白画分は、正常皮膚線維芽細胞上清より調整した。

結果

2種類の β -ガラクトシダーゼを精製し、この2種類の酵素から、別々の抗体を得た（A抗体，B抗体）。保護蛋白画分は、ガラクトシアリドーシスの欠損酵素活性を上昇させる効果を持つが、A抗体は、その効果を抑制した。しかし、B-抗体には、その抑制効果は認められなかった。即ちA-抗体は β -ガラクトシダーゼと保護蛋白に対する抗体を含み、B-抗体は β -ガラクトシダーゼの抗体のみを含むと考えられた。そこでまず、B抗体を用い β -ガラクトシダーゼ蛋白の動態を検討し、その後の検体で保護蛋白の動態を検討した。

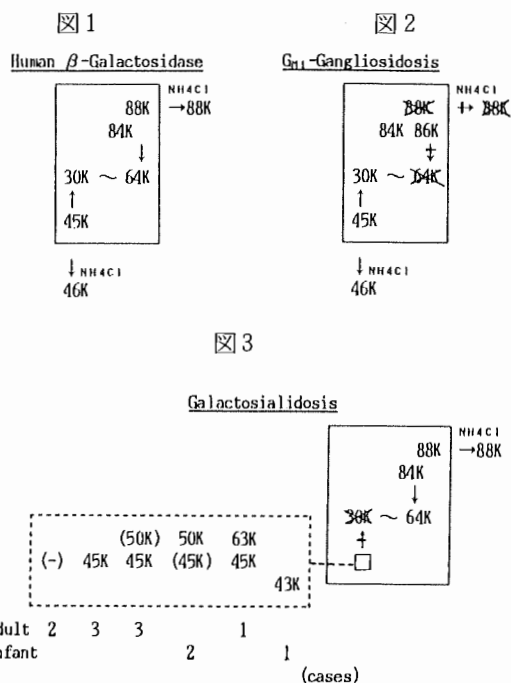
正常では β -ガラクトシダーゼは、細胞内で、88kDaと84kDaの前駆体から、64kDaの成熟体にプロセスされ、培養液中では88kDaの蛋白が見られた。保護蛋白は細胞内で、45kDaから30kDaにプロセスされ、培養液中では46kDaの蛋白が見られた。（図1）

GM1-ガングリオシドーシスでは、84kDaの前駆体 β -ガラクトシダーゼは見られるが、その後のプロセスはなく、成熟蛋白は見られなかった。また、細胞内での88kDaの前駆体もみられず、培養液中にもその蛋白は見られなかった。乳児の1例では、86kDaの異常分子量の前駆体が見られ、多様性が認められた。保護蛋白は正常と同様であった。（図2）

ガラクトシアリドーシスでは β -ガラクトシダーゼは、正常と同様に合成、プロセスされるが、その分解は昂進していた。30kDaの成熟保護蛋白は、何れの例も見られなかった。また、その異常前駆体には、様々な多様性が見られた。しかしその多様性と臨床型との対応は、明かではなかった。（図3）

考察

今回の検討では、2種類の β -ガラクトシダーゼ抗体を用いることにより、 β -ガラクトシダーゼと保護蛋白の動態を、初めて別々に検討することが可能となった。GM1-ガングリオシドーシスでは、 β -ガラクトシダーゼ蛋白の構造異常があり、その後のプロセスが行われないと考えられた。一方ガラクトシアリドーシスでは、 β -ガラクトシダーゼは正常に合成されるが、成熟保護蛋白が欠損しているため、その分解が昂進していると考えられた。そして、それらの前駆体の異常には、様々な多様性が認められた。今回の検討により、蛋白分子と病態の関係を明らかにすることができた。しかしそれらの多様性と臨床型との対応は、さらに検討を要すると考えられた。



糖原病II型患者皮膚線維芽細胞における酸性 α -グルコシダーゼの動態

辻 明彦, 大村 清, 楊 瑞成, 鈴木 義之

糖原病II型は、常染色体劣性遺伝病で、リソゾーム酵素である酸性 α -グルコシダーゼ (AG) 欠損により、リソゾーム内にグリコーゲンが蓄積する。AGも他のリソゾーム酵素と同様に分子量の大きい前駆体として合成された後、プロセスされ成熟体に転換される¹⁾²⁾。本症におけるAGの活性低下の原因としては、①AGをコードするDNA, mRNAの欠損、②酵素が不活性、または酵素は活性を保持しているが、③細胞内で不安定、④I-cell病のような酵素のリソゾームへの輸送障害等が考えられる。今回、これらの点を明らかにするために、臨床的に異なる4つの症例につき、その皮膚線維芽細胞を用いてAGのプロセッシングについて検討した。

患者

1. Infantile Type; 2. Juvenile-Adult Type; 3. Adult Type; 4. Km-mutant (グリコーゲンに対する値が正常値の5-10倍)。線維芽細胞中の活性は、合成基質を用いて測定すると、患者1-3で1/100、患者4で1/3に低下していた。

方法

AGはヒト胎盤よりDe Barysら³⁾の方法により精製し、家兎に免疫し抗血清を得た。細胞の(³H)-leucine標識、AGの免疫沈降はHasilikとNeufeldの方法に従い、SDS-PAGE, FluorographyによりAGの細胞内動態を調べた。外来性AGの取込みは、20mM塩化アンモニウムを含む培養液で2日間培養した正常細胞の培養液(硫酸分画で濃縮)を、患者細胞培養液に添加し、2日培養後、細胞内に取り込まれたradioactive AGを免疫沈降し調べた。

結果、考察

1. パルス-チェイス標識実験 (Figure)

正常細胞では、3時間標識後、110Kの前駆体が合成され、次に(³H)-leuを含まない培養液に交換(チェイス)して、そのプロセッシングを追跡すると105K、95Kの中間体を経て、精製AGと同じ分子量の80K、71Kの成熟体にプロセスされた。一方、患者細胞1-3では、前駆体は合成されるが、成熟体は全く確認できなかった。患者1, 2では前駆体合成量も1/3に減少していた。患者4では、正常細胞と差はなかった。しかし、前駆体、中間体、成熟体のバンドのカウンターの時間的変化を調べると、全ての患者細胞において、その消失速度が早くなっていた。

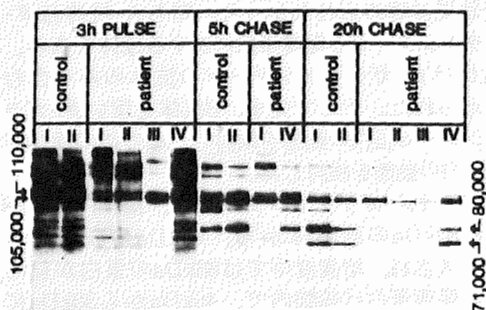
2. 塩化アンモニウムの添加効果

塩化アンモニウムを培養液に加えると、AGのプロセッシング、リソゾームへの輸送が阻害されている。この時のAGの半減期を正常、患者細胞について比較した。いずれの細胞においても、成熟体へのプロセッシングは完全に阻害され、かつ正常、患者AGは、ほぼ同じ半減期を示した。すなわち患者AGの分解はリソゾーム内で起きていると、考えられた。

3. 外来性AGの取込み

培養液中に分泌された、前駆体は細胞膜、上のマンノース6-リン酸レセプターを介して、細胞内のリソゾームへ取込まれる。正常細胞由来の前駆体は、患者細胞においても取込まれ、成熟体にプロセスされた。この事より、患者細胞でのAGのプロセッシング障害は、AGの変異に起因するものであり、AGのリソゾームへの輸送機構自体には異常はないと考えられた。

以上の結果、本症においては、AGは前駆体として合成された後、リソゾームへ運ばれ、速やかに分解されてしまうと考えられた。今後、蛋白分解酵素阻害剤により、この分解を抑制し、AGの活性を上昇させ得るような培養条件を検討していきたい。

Pulse-Chase Labeling of Acid α -Glucosidase

文献

- 1) Hasilik and Neufeld (1980) J. Biol. Chem. 255. 4737-4945
- 2) Reuser et al (1985) J. Biol. Chem. 260. 8336-8341.
- 3) De Barys et al (1972) Eur. J. Biochem. 31. 156-165.

ニワトリ肢の形態形成過程に特異的に発現するAV-1抗原の生化学的解析

大相 弘順, 桃井 隆

序

ヒトを含め、高等脊椎動物の手足の形態（骨のパターン）は共通な一定の構造をしている。そのような特定の形態を形成するためには、なんらかの分子機構の存在が考えられる。モノクローナル抗体法を利用して、肢の形態形成の分子機構について探究した結果、ニワトリ胚の発生初期の肢芽において、特定の領域の細胞集団にのみ出現する抗原（AV-1）を見いだした¹⁾。本研究では、AV-1抗原の性質について詳細に検討を行なった。

材料と方法

白色レグホンの受精卵を、各時間孵卵した胚を材料とし、発生ステージは、Hamburger & Hamilton²⁾に従った。

間接蛍光抗体法は、肢芽の凍結切片に対して、AV-1抗体産性ハイブリドーマの培養上清と、FITC標識ヒツジ抗マウス IgG抗体を反応させて行なった。イムノブロットングは、AV-1培養上清と、ベルオキシダーゼ標識ヤギ抗マウス IgG抗体を用い、クロロナフトールの発色により行なった。細胞分画はフィコールの密度勾配遠心により行ない、レクチンに対する結合性は、WG A及び ConA カラムクロマトグラフィーにより検討した。

結果

間接蛍光抗体法及びイムノブロットングにより、AV-1抗原の発現はステージ19からステージ28まで観察され、特にステージ23から26に強い発現が観察された。（図1, 2）各ステージを通じて、肢芽の中胚葉の細胞集団のうち、先端部分の、中央部分から前方部分にかけて、特異的な発現が観察され、ステージ28においては、橈骨と尺骨、及び前方から第1指と第2指が形成される領域の中間の部分に特異的な発現が観察された。（図1）イムノブロットングによると、AV-1抗原は頭部や胴体部には観察されず、肢芽に特異的に観察された。また分子量は約130kdを示した。AV-1抗原はWG A-アガロスカラムに吸着し、N-アセチルグルコサミンにより溶出する（図3）ことから、糖タンパクと考えられる。また ConA に対する結合も同様に観察された。また、細胞分画の結果、AV-1抗原は細胞膜に存在することが明らかとなった。さらに、AV-1の抗原性は、エンドβ-ガラクトシダーゼ、エンドグリコシダーゼD、エンドグリコシダーゼHあるいは、コラーゲナーゼによっては失われず、80°C 5分の処理、500mM 2-メルカプトエタノール処理 トリプシン、キモトリプシン、パパイン処理により失

われた。

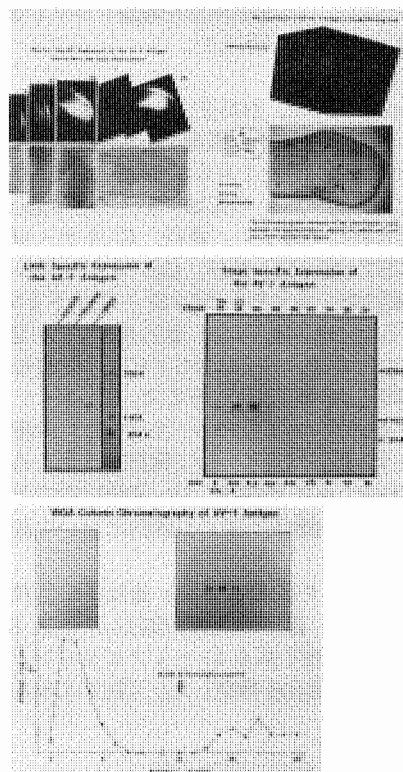
考察

AV-1抗原は、その発現する領域から、軟骨、神経、筋肉、血管というような組織に特異的な抗原ではないと考えられる。

ニワトリ胚においては、四肢の骨のパターンの決定は、基部の骨から先端部の骨にかけて、ステージ18からステージ28にかけて、肢芽の先端部分で行われることが知られている³⁾。AV-1抗原の発現は、この骨のパターンの決定が進行するステージに特異的に、特に先端部分の一部の領域に強く観察された。またステージ28に示すように、特定の骨と骨との間に相当する領域で特異的な発現が観察された。このことから、AV-1抗原は骨のパターンが形成される際にその位置を指定する機構になんらかの関与をしている物質である可能性が考えられる。

参考文献

- 1) Ohsugi K., Ide H.: Dev. Biol. 117, 676-679, 1986
- 2) Hamburger V., Hamilton H.L.: J. Morphol. 88, 49-92, 1951
- 3) Sumerbell D., Lewis J.H.: J. Embryol. exp. Morph. 33, 621-643, 1975



ヒト神経芽細胞におけるNGFによるC-fos 遺伝子活性化の機序

粕谷 淳子, 桃井 隆

NGFはラット褐色細胞腫細胞(PC12)及び、ヒト神経芽細胞(Goto)において分化誘導能を有しており、神経突起の伸長、及び各種神経細胞のマーカーの誘導を促すことが知られている¹⁾²⁾。一方、発癌遺伝子 c-fos は、TPAによるHL-60細胞の分化に際し、非常に短い時間で一過性に発現することが知られており³⁾、増殖、分化におけるc-fos遺伝子産物の役割が注目されている。最近、c-fos遺伝子がPC12細胞においてNGFにより活性化されることから⁴⁾、本研究では、Goto細胞を用いて、NGFによるc-fos遺伝子活性化の機序について検討した。

材料と方法

Goto細胞は、10%牛胎児血清を含むHamF-10培地で、5%CO₂存在下37°Cで培養した。

c-fos m-RNA の検出

各種薬剤で一定時間処理したGoto細胞よりグアニジンチオシアネート法でtotal RNAを分離し、c-fos遺伝子をプローブとしてc-fos m-RNAを検出した。

リン脂質の解析

リン脂質は、リン欠損培地下で、³²P 標識正リン酸を細胞にとりこませ、各種薬剤処理後 Folch 分配を行ない、その脂質画分を薄層クロマトグラフィで二次元展開して分析した。

結果

Goto細胞では、NGF(1~100ng/ml)添加後、15~30分で、c-fos遺伝子が活性化された。又、C-キナーゼを活性化するEGF(10ng/ml)及び、TPA(10ng/ml)の添加によっても同遺伝子は、活性化された(図1)。更に、C-キナーゼ阻害剤であるH7(50μM)及び、Ca²⁺/カルモジュリンキナーゼ阻害剤であるW7(50μM)存在下でNGFを添加すると、W7は、c-fos遺伝子活性化に変化を及ぼさなかったが、H7はNGFによる同遺伝子活性化を抑制した(図2)。そこで、C-キナーゼを活性化するジアシルグリセロール(DG)の産生に関するリン脂質代謝について検討したところ、NGF(100ng/ml)添加後、15~30分以内でPIの合成が、Goto細胞及びPC12細胞において促進した(図3)。

更に、NGFによるc-fos遺伝子の活性化への効果について、種々の薬剤を検討した結果K⁺イオンの流出阻害剤である4-アミノピリジン、及び、キニジンが活性化を抑制した。又抗てんかん剤であ

るジアゼパム、フェノバルビタール、及び、GABAが、NGFによるc-fos遺伝子活性化を抑制することが判明した(図4)。

考察

以上の結果からNGFは、PI代謝回転を促進し、DGによるC-キナーゼ活性化を介してc-fos遺伝子を活性化するものと考えられる。又、K⁺イオン流出阻害剤である4-アミノピリジン、キニジンによって同遺伝子の活性化が抑制されること、及び、抗てんかん剤であるジアゼパム、フェノバルビタール、及び、抑制伝達物質であるGABAによっても活性化が抑制されることから、c-fos遺伝子の活性化は、神経系における、興奮・抑制の機序と密接な関連があるものと思われる。

文献

- 1) Thoenen, H. and Edgar, D.(1985) Science 229, 238-241
- 2) Tsuji, S., Arita, M. and Nagai, Y.(1983) J. Biochem. 94, 303-306
- 3) Mitchell, R.L., Zokas, L., Schreiber, R.D. and Verma, M.(1985) Cell 40, 209-217
- 4) Kruijer, W., Schubert, D. and Verma, I.M. (1985) Proc. Natl. Acad. Sci, U.S.A. 82, 7330-7334

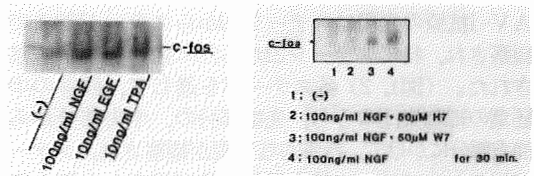


図1

図2

Time-dependent increase of PI synthesis induced by NGF

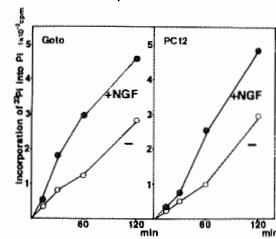
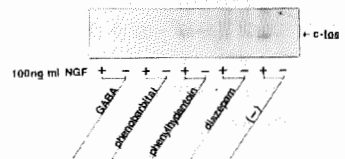


図3

図4



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、老年痴呆を研究課題の中心とする部である。

〔部長〕田平 武, 〔室長〕西澤正豊(62.1より併任), 〔研究員〕並河 正(61.5まで), 国下龍英, 〔流動研究員〕酒井宏一郎(61.8まで), 小池文彦, 姚 大林(61.9より), 亀谷雅洋(61.11より), George Pálffy(61.5.9~61.6.7), 〔賃金研究員〕遠藤真澄, 山村 隆(61.9より), 〔研究生〕佐藤準一, 亀谷雅洋(61.10まで), 山村 隆(61.8まで), 酒井宏一郎(61.9~62.2), 〔賃金研究助手〕沓掛友理子, 〔客員研究員〕Artemio T. Ordinario(62.1.18~3.15)

(1) 多発性硬化症(MS)の研究

- 1) ハンガリー Pécs 大学 Pálffy 教授より提供されたMS患者血清のHTLV-I抗体をウエスタンブロット法により検討し, MSとHTLV-Iの関係を否定した(小池)
- 2) 中国の脱髄疾患を臨床・病理学的に研究し, 同心円硬化症(Baló)を多数見出した(姚)
- 3) フィリピンの Baló 病の部検例を多数集収し, まとめた(Ordinario)

(2) 実験的アレルギー性脳脊髄炎(EAE)の研究

- 1) プロテオリピッドアポ蛋白(PLP)に特異的に反応するT細胞ラインの樹立に成功した(佐藤)
- 2) ミエリン塩基性蛋白(MBP)に特異的に反応するT細胞クローンがアロ抗原をも認識し活性化されることを見出し, 自己免疫疾患の発症機序に重要な示唆を与えた(酒井)
- 3) MBP反応性モノクローナルT細胞はヌードマウスに広汎な脱髄をひきおこした(田平)
- 4) 15-Deoxyspergualin のEAE抑制機序の1つにサブプレッサーマクロファージが関与している可能性を示した(山村)
- 5) PLPの起炎部位を検討した(遠藤)
- 6) 新しい抗生物質 Bactobolin がEAEの誘導期, 効果期, 発症後のいずれの時期にも著効を奏することを初めて見出した。本剤は自己免疫性疾患の治療薬として大いに期待がもたれる(田平, 姚)

(3) 老年期痴呆の研究

- 1) 老人斑アミロイド蛋白の部分ペプチド(28マー)を合成し, これに対する抗体をアフィニティー精製した(affi 28). affi 28を用いた免疫組織化学的研究により, 老人斑アミロイドと血管アミロイドには抗原共通性があるが, 神経原線維変化, ピック嗜銀球, クロイツフェルド, ヤコブ病のクル斑のアミロイドには抗原共通性がないかまたは完全にマスクされていることを示した(小池)
- 2) affi 28に特異的に反応する蛋白が血清中に存在し, 老人斑アミロイドの全駆体の可能性が示された(国下)

(部長 田平 武)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Tabira T, Sakai K :
Demyelination induced by T cell lines and clones specific for myelin basic protein in mice
Lab Invest (in press)
- 2) Tabira T, Yao D-L, Yamamura T, Aoyagi T :
Prophylactic and therapeutic effect of bactobolin on autoimmune encephalomyelitis
Proc Japan Acad (in press)
- 3) 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 12 : 235-245, 1986
- 4) Namikawa T, Sato J, Yamamura T, Sakai K, Kunishita T, Tabira T :
Recovery mechanisms from experimental allergic encephalomyelitis in rats: analyses by using encephalitogenic T cell line
Internat Arch Allergy appl Immunol 83 : 366-370, 1987
- 5) Kunishita T, Vaswani KK, Morrow CR, Novak GP, Ledeen RW :
Ethanolamine kinase activity in purified myelin of rat brain
J Neurochem 48:1-7, 1987
- 6) Kunishita T, Vaswani KK, Morrow CR, Ledeen RW :
Detection of choline kinase in purified rat brain myelin
Neurochem Res 12 : 351-355 1987
- 7) Sakai K, Namikawa T, Kunishita T, Yamanouchi K, Tabira T :
Studies of experimental allergic encephalomyelitis by using encephalitogenic T cell lines and clones in euthymic and athymic mice
J Immunol 137 : 1527-1531, 1986
- 8) Sakai K, Tabira T, Kunishita T :
Recognition of alloantigens and induction of experimental allergic encephalomyelitis by

a murine encephalitogenic T cell clone

Europ J Immunol (in press)

- 9) Endoh M, Tabira T, Kunishita T, Sakai K, Yamamura T, Taketomi T:
DM-20, a proteolipid apoprotein, is an encephalitogen of acute and relapsing autoimmune encephalomyelitis in mice
J Immunol 137 : 3832-3835, 1986
- 10) Satoh J, Sakai K, Endoh M, Koike F, Kunishita T, Namikawa T, Yamamura T, Tabira T :
Experimental allergic encephalomyelitis mediated by murine encephalitogenic T cell lines specific for myelin proteolipid apoprotein
J Immunol 138 : 179-184, 1987
- 11) Yamamura T, Namikawa T, Endoh M, Kunishita T, Tabira T :
Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein in lewis rats
J Neuroimmunol 12 : 143-153, 1986
- 12) Yamamura T, Namikawa T, Endoh M, Kunishita T, Tabira T :
Passive transfer of experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein
J Neurol Sci 76 : 269-275, 1986
- 13) Yamamura T, Nishimura M, Shirabe T, Fujita M :
Subcortical vascular encephalopathy in a normotensive, young adult with premature baldness and spondylitis deformans : A clinicopathologic study and review of the literature
J Neurol Sci 78 : 175-188, 1987
- 14) 佐藤準一, 松永高志, 小林高義, 古川哲雄, 塚越廣
皮膚色素沈着を伴った encephaloneuropathy の1例
臨床神経 26 : 915-919, 1986

b. 著 書

- 1) Yamamura T, Tabira T :
Proteolipid apoprotein-induced EAE : recent advances with special references to a new model using inbred rats
Progress in Clin Neurosci (ed by Sinha KK), Neurol Soc India, Catholic Press,

II 研究業績

Renchi, India, p79-86, 1986

2) 田平 武 :

神経系の免疫関連機能

臨床医のための病態生理学講座, 正しい診断と治療のために (荒木淑郎編), メジカルビュー社,
東京, p 24-27, 1986

3) 田平 武 :

同心円硬化症 Concentric Sclerosis (BALÓ)

Annual Review (後藤文男他編), 中外医学者, 東京, p 238-247, 1987

4) 田平 武 :

多発性硬化症

今日の治療指針 (日野原重明, 阿部正和総編集), 医学書院, 東京, p 212-213, 1987

5) 田平 武 :

神経免疫

神経科学レビュー (楢林博太郎他編), 医学書院, 東京, 1987 (印刷中)

6) 田平 武 :

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の発症機序: T細胞ライン, クローンを用いた解析
脱髄疾患 (宮武正編), 科学評論社, 東京, 1987 (印刷中)

7) 山村 隆 :

Binswanger 病

老年神経学 (亀山正邦編), 南江堂, 1987 (印刷中)

8) 山村 隆 :

実験的中枢神経脱髄

同上, 1987 (印刷中)

c. 総説

1) 田平 武 :

多発性硬化症とレトロウィルス

医学のあゆみ 138 : 71-72, 1986

2) 田平 武 :

フィリピンに多発する同心円硬化症 (Baló 病)

東京医学 93 : 265-269, 1986

- 3) 田平 武：
Fabry 病
神経内科 25：439-444, 1986
 - 4) 田平 武：
ミエリン塩基性蛋白の起炎部位とウイルスの間にみられるアミノ酸配列の相同性について：自己免疫性脳脊髄炎の発生機序
Medical Immunology 11:813, 1986
 - 5) 田平 武：
免疫性神経疾患とレトロウイルス
臨床免疫, 1987 (印刷中)
- d. 班会議報告書
- 1) 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年度研究報告書, p 119-122, 1986
 - 2) 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
同上 p 123-127, 1986
 - 3) 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・末梢神経傷害の病態とその治療に関する研究班, 昭和60年度研究報告書,
p 41-44, 1986
 - 4) 遠藤真澄, 国下龍英, 酒井宏一郎, 山村 隆, 武富 保, 田平 武：
DM-20 を抗原とするマウスにおける自己免疫性脳脊髄炎
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, 昭和60年度研究報告書
p 37-41, 1986
 - 5) 田平 武, 国下龍英, 中山 宏：
老人斑アミロイド前駆物質の検索 (I)
厚生省神経疾患・老年期の痴呆の病因, 病態, 治療に関する総合的研究, 昭和60年度研究報告書,
p 75-79, 1986
 - 6) 田平 武, 山村 隆, 並河 正, 国下龍英：

II 研究業績

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・自己免疫疾患治療薬の開発研究班, 昭和60年度研究報告書, p 47-51, 1986

e. その他

1) 田平 武 :

定型的ではないが多発性硬化症の疑われる例<私の治療方針>

治療学 17 : 254, 1986

2) 田平 武 :

研究室訪問

Medical Immunol 12 : 281-284, 1986

B 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Tabira T, Endoh M, Kunishita T :

Acute and relapsing EAE in Balb/c mice sensitized with DM-20

Satellite Symp 6th Internat Congr Immunol "Neuroimmunology" London, Ontario,

July 13, 1986

2) Yamamura T, Namikawa T, Endoh M, Kunishita T, Tabira T :

Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein in Lewis rats

idem, July 12, 1986

b. 国際学会

1) Nagashima K, Amador R, Lyons M, Weinreb H, Nagashima T, Tabira T, Zabriskie J :

Mechanism of supression of cochicine on EAE

63rd Ann Meeting Am Assoc Neuropathol, June, 1986

c. 一般学会

1) 山村 隆, 並河 正, 遠藤真澄, 国下龍英, 田平 武 :

プロテオリピッド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と細胞移入による解析

第27回日本神経学会総会, 熊本, May 23, 1986

2) 並河 正, 佐藤準一, 山村 隆, 酒井宏一郎, 国下龍英, 田平 武 :

EAE 誘起性 T cell line を用いたラット EAE 回復機構の解析

- 同, May 23, 1986
- 3) 酒井宏一郎, 佐藤準一, 並河 正, 国下龍英, 田平 武 :
 実験的アレルギー性脳脊髄炎に heterogeneous T cell population の関与はない
 同, May 23, 1986
- 4) 田平 武, 酒井宏一郎 :
 T細胞ラインによる実験的アレルギー性脳脊髄炎の病理学的研究
 第27回日本神経病理学会総会, 横浜, June 6, 1986
- 5) 遠藤真澄, 国下龍英, 田平 武 :
 DM-20 を抗原とするマウスにおける実験的アレルギー性脳脊髄炎
 第29回日本神経化学会, 岡山, Nov.1, 1986
- 6) 酒井宏一郎, 並河 正, 田平 武 :
 アロ抗原による自己免疫性脳炎誘起性T細胞クローンの活性化と病気の誘発
 第16回日本免疫学会総会ワークショップ, 東京, Dec. 16, 1986
- 7) 佐藤準一, 酒井宏一郎, 山村 隆, 田平 武 :
 プロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) 特異的マウスT細胞ライン移入による実験アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の誘起
 同, Dec.1, 1986
- 8) 山村 隆, 並河 正, 佐藤準一, 田平 武 :
 Deoxysperginalin の EAE 抑制能について
 第16回日本免疫学会総会, 東京, Dec.17, 1986

C. 班会議発表

- 1) 田平 武 :
 多発性硬化症のウイルス説
 厚生省免疫性神経疾患調査研究班ワークショップ, 鹿児島, Nov.14, 1986
- 2) 田平 武, 国下龍英, 小池文彦, 中山 宏 :
 老人斑アミロイド前駆物質の検索(2)
 厚生省神経疾患・老年期の痴呆の病因, 病態, 治療に関する研究班総会, 東京, Dec.13, 1986
- 3) 田平 武, 酒井宏一郎, 並河 正 :
 アロ抗原による自己免疫性脳炎誘起性T細胞クローンの活性化と病気の誘発

II 研究業績

厚生省免疫性神経疾患調査研究班総会，東京，Jan. 16, 1987

- 4) 田平 武，佐藤準一，酒井宏一郎，小池文彦，遠藤真澄，国下龍英

プロテオリピッドアポ蛋白（PLP）特異的マウスT細胞ライン移入による実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）の誘起

厚生省免疫性神経疾患調査研究班総会，東京，Jan 16, 1987

- 5) 田平 武，山村 隆，佐藤準一，国下龍英：

15-Deoxyspergualin 投与脾細胞の EAE 移入能と増殖反応の解離について

厚生省免疫性神経疾患調査研究班総会，東京，Jan. 16, 1987

- 6) 田平 武，亀谷雅洋，小池文彦，佐藤準一，国下龍英，酒井宏一郎，今澤正興，宮本侃治：

アレルギー性神経炎の抗原と病変分布の研究

厚生省神経疾患・ニューロパチーの成因及び治療に関する研究班総会，東京，Jan. 23, 1987

- 7) 田平 武，遠藤真澄，国下龍英，小池文彦，佐藤準一，糸山泰人：

① プロテオリピッドアポ蛋白の起炎部位の検討

② ヒト髄液における免疫応答についての検討

厚生症神経疾患・ミエロパチーの病態と発症機構に関する研究班総会，東京，Jan. 24, 1987

- 8) 田平 武，山村 隆，佐藤準一，国下龍英：

15-Deoxyspergualin のラット急性 EAE 抑制能に関する研究（第2報）

厚生省新薬開発・自己免疫疾患治療薬の開発研究班総会，東京，Mar. 20, 1987

- 9) 田平 武，姚 大林，山村 隆：

ラット急性 EAE モデルを用いた免疫抑制物質の評価：bactobolin と arphamenine A の EAE の抑制効果について

同 上

D. 研究会など

- 1) Tabira T：

Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein

Seminar at Dept Neurol, Stanford Univ, Stanford, July 15, 1986

- 2) Tabira T：

The aged brain

Postgraduate Course “neurology and psychiatry : from Birth to Senescence”, Univ St

Tomas, Manila, Oct. 4, 1986

3) 田平 武 :

老年痴呆研究の現状

ヒューマンサイエンス財団・生体防禦機構と脳内特異物質および神経特異物質の機能に関する研究, 第1回ワークショップ, 東京, Dec 22, 1986

4) 山村 隆 :

自己免疫性脳炎の発症機序

同上

5) 田平 武, 宮本侃治 :

神経障害機構と免疫

ヒューマンサイエンス財団・長寿関連基礎科学, 第1回官民共同プロジェクト研究セミナー, 東京, Jan. 21, 1987

6) 田平 武 :

脱髄のメカニズム, EAE を中心として

第6回新潟学術講演会, 新潟, Nov. 8, 1986

3. 主な研究報告

ミエリン塩基性蛋白特異的T細胞クローンによる広汎な脱髄病変の形成

田平 武, 酒井宏一郎

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) は多発性硬化症の動物モデルとして多くの研究が行われている。その本態は自己抗原 (例: ミエリン塩基性蛋白 MBP) に特異的に反応するT細胞による自己免疫性脳炎である。今日そのエフェクターT細胞はヘルパー/インデューサーの表面マーカーを有し, 単一のT細胞クローンのみでヌードマウスに重症のEAEを惹起できることが知られている¹⁾。しかしエフェクターT細胞の単一クローンで広汎な脱髄病変が生ずるか否かは明らかではない。そこでMBP反応性T細胞ライン¹⁾クローンを用いて病理学的に解析した²⁾。

T細胞ラインR2はS J Lマウスより樹立し, R2よりクローン4b.14aを限界稀釈法を繰り返すことにより樹立した。またラインD1はDDD/1マウスより樹立し, クローン6a, 6a.3fをD1より樹立した。これらをS J L/J, A.Sw/Sn, DDD/1, DDD/1-nuマウスに移入し急性期および慢性期の病変を検討した。

R2ラインをS J L/Jマウスに移入した場合, 多核白血球の浸潤を伴う炎症が主体で強い軸索変性を伴った。慢性再発期の病変も炎症が主体であった。しかしX線照射S J L/Jマウス, A.Sw/Snマウスでは軽度~中等度の脱髄が見られ, 最も強い脱髄はヌードマウスで見られた。特に脱髄は前根・後根の出入部に著しく, 裸の軸索が集団で認められた (図)。この部位の脱髄はクローンをヌードマウスに移入した場合にも見られ, 単一のエフェクターT細胞クローンで recipientのT細胞の関与なく脱髄がおこることが明らかとなった。脱髄のパターンはミエリンの泡沫状融解であった。

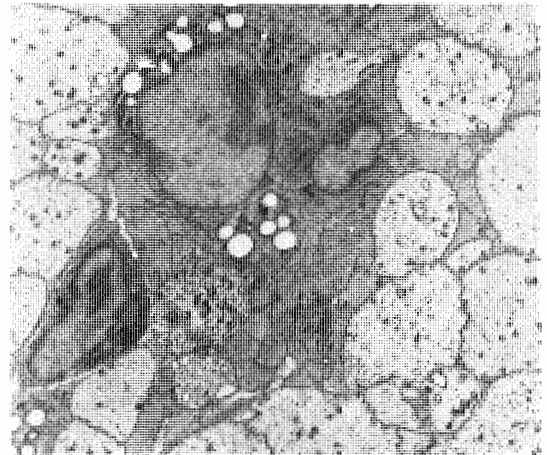
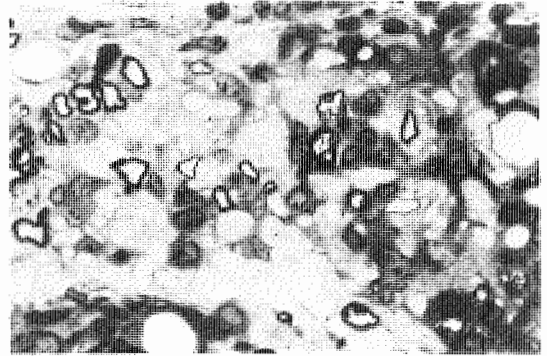
本研究はMBP反応性エフェクターT細胞のモノクローンにより一定の条件, 一定の部位に比較的広汎な脱髄斑がおりうることを明らかにした。その機序として①エフェクターがサイトトキックT細胞である可能性, ②脱髄性リンホカインによる可能性, ③軸索と髄鞘のおかされ易さの違いが考えられるが明らかでない。

文 献

1) Sakai K, Namikawa T, Kunishita T, Yamanouchi K & Tabira T: Studies of experimental allergic encephalomyelitis by using

encephalitogenic T-cell lines and clones in euthymic and athymic mice. J. Immunol. 137, 1527, 1986.

2) Tabira T & Sakai K: Demyelination induced by T cell lines and clones specific for myelin basic protein in mice. Lab. Invest. 56, 518, 1987.



R2ラインによる DDD/1 ヌードマウスのEAE

上) 広汎な脱髄が前索に認められる (トルイジンブルー染色)

下) 上の電顕写真

アロ抗原による自己免疫性脳炎誘起性T細胞クローンの活性化と病気の誘発

酒井宏一郎, 並河 正, 田平 武

実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) はT細胞を介する自己免疫性脳脊髄炎である。EAEを誘発する為には脳炎誘起性エフェクターT細胞が誘導され、かつ活性化され十分な数に達する必要がある。この活性化の機序としては、1) 特異抗原/抗原提示細胞, 2) レクチンによる活性化が証明されている。この他、3) アロ抗原, 4) IL2, 5) 抗イデオタイプ抗体などの可能性も考えられている。本研究はミエリン塩基性蛋白 (MBP) 特異的脳炎誘起性T細胞クローン¹⁾を用いてアロ抗原による活性化の機序を解析した²⁾。

方法

MBP特異的T細胞クローンはラットMBPにより感作された SJL/J マウスリンパ節由来の長期培養株を2回限界希釈法を繰り返すことにより樹立した。抗原提示細胞 (APC) としては、種々の系統のマウス由来の脾細胞を3000R X線照射して用いた。増殖反応は³H-thymidine の取り込みにより測定した。

結果

クローン4b.14a はH-2 ハプロタイプがkである AKR/J, B 10.BR, C3H/HeJ, CBA/J マウス由来の APC に MBP 非存在下で良く反応増殖し、H-2がdである DBA/2, BALB/c, B 10.D2, H-2がbである C57BL/10由来の APC には反応しなかった (表1)。特に CBA/J は強い活性化を示した。CBA/J 細胞で活性化されたクローン4b.14a は 5×10^6 個の細胞を SJL/J マウスに移入することにより EAE を引き起こした (表2)。

次にアロ抗原による活性化の機序を検討した結果、Mls が null の CBA/N に対する反応はみられなかったが、(SJL/J × CBA/N) F1 マウス由来の細胞に対しては反応が見られたことから、Mls determinant の関与があるものと推察された。クローン4b.14a の CBA/J 細胞に対する反応のモノクローナル抗体による阻害実験では、anti-Ia.17 (I-A^{k,r,s,f}), anti-I-A^{k,r}, anti-Ia.7 (I-E), anti-L3T4 抗体がその反応をブロックするが、anti-Ia.2 (I-A^k) がブロックしないことより、その反応は1) T細胞受容体を利用している、2) I-A の private 抗原のみを認識しているのではない。3) I-A 抗原ばかりではなく I-E 抗原も利用していると考えられた。

考察

本研究はMBP特異的エフェクターT細胞クローンがアロ抗原により活性化され、脳炎誘起性を獲得することを示した。このことは、ヒトの病気 (MS, ADEM など) において同様の機序で自己攻撃性T細胞クローンが活性化され得ることを示唆している。これはウイルス感染等により修飾されたMHC遺伝子産物によりエフェクターT細胞が活性化されることを示し、自己免疫病の発症機序解明に重要な示唆を与えるものである。

文献

- 1) Sakai K et al: J Immunol 137, 1527 1986
- 2) Sakai K et al: Europ J Immunol 1987 (in press)

表1

PROLIFERATIVE RESPONSE OF CLONE 4b.14a STIMULATED BY SYNGENEIC AND ALLOGENEIC CELLS

Stimulating cells	H-2	Mls	³ H-thymidine uptake (x10 ⁻²)			
			Exp.1	Exp.2	Exp.3	Exp.4
SJL/J	s	c	4.6	ND	6.3	ND
SJL/J + MBP			919.4	ND	966.0	ND
AKR/J	k	a	40.5	141.9	ND	ND
B10.BR	k	b	53.2	22.1	ND	ND
C3H/HeJ	k	c	ND	342.8	157.7	58.0
CBA/J	k	d	518.3	588.8	438.2	367.5
CBA/J + MBP	k	d	519.9	ND	ND	ND
DBA/2	d	a	7.2	ND	ND	13.1
BALB/c	d	b	6.0	ND	ND	9.0
B10.D2	d	b	5.8	ND	ND	ND
C57BL/10	b	b	ND	6.0	ND	7.1

表2

INDUCTION OF EAE WITH ALLO-ANTIGEN-ACTIVATED CLONE 4b.14a

Stimulus	No. cells	Incidence of EAE	Onset day	Maximum severity
SJL/J + MBP	1×10^7	12/12	5.1	4.5
CBA/J	$5-7 \times 10^6$	7/7	6.0	3.4
IL2	$1-3 \times 10^7$	0/4	-	-

プロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) 特異的マウスT細胞ライン移入による実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の誘起

佐藤準一, 酒井宏一, 遠藤真澄, 小池文彦,
国下龍英, 並河 正, 山村 隆, 田平 武

中枢神経髄鞘構成蛋白であるプロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) は, 精製時に髄鞘塩基性蛋白 (BP) が混入し易く, その起炎性が疑問視されて来たが, 本研究者らは昨年, PLP を更に major PLP と DM-20 に分離精製し, BP に対して low responder である BALB/c マウスに起炎性をしめすことを証明した¹⁾。本研究²⁾ ではその発症機序を解明するため, PLP 特異的脳炎誘起性マウスT細胞ラインの樹立を試みた。

方法

ウシ PLP 100 μg を CFA とともに, 雌 SJL/J マウス腹部皮下に免疫し, 感作10日目の所属リンパ節細胞及び脾細胞を, ウシ PLP 10 μg /ml 存在下120時間培養後, Con A 刺激ラット脾細胞培養上清を含む medium で培養を継続した。さらに約2週ごとに, 3000rad 照射同系マウス脾細胞と共に抗原を加え刺激し, 100日間以上継代して, PL1, PL3 の2つのラインを樹立した。これらを PLP で活性化し, 直前に550rad照射した同系マウス腹腔内に移入し, 直後に pertussis vaccine 2×10^7 を静注して EAE を誘発した。

結果

PL1, PL3 は ウシ, ラット, モルモットの PLP と反応し増殖したが, BP, PPD には全く反応しなかった (表1)。PL1 は major PLP に選択的に反応し, PL3 は major PLP と DM-20 の両者に反応した。その表面マーカーは L3T4⁺, Lyt2⁻ で T helper/inducer の抗原を呈し, 増

殖反応は I-A^s に拘束され, 抗 L3T4 抗体, 抗 IL2 receptor 抗原で抑制された。PL1, PL3 を PLP で刺激し $4-30 \times 10^6$ 細胞移入すると, 約1-2週で90%に重症の急性 EAE を惹起でき, 2匹は42日と75日に再発した (表2)。病理組織学的にも, リンパ球, マクロファージを主体とする単核細胞浸潤と脱髄を認めた。

考察

PLP 特異的マウス長期培養T細胞ラインを樹立し, その受身移入により急性及び慢性再発性 EAE を惹起し, PLP による EAE は, PLP で感作されたT細胞の細胞性免疫で誘導されることを証明した。又 BP 混入による影響を完全に除外することに成功した。

文献

- 1) Endoh, M. et al : J. Immunol. 137, 3832-3835, 1986
- 2) Satoh, J. et al : J. Immunol 138, 179-184, 1987

TABLE I
Antigen-specific proliferation of the Tline cells*

Antigen or Mitogen ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	PL1		PL3	
	$\Delta\text{cpm} \pm \text{SD}$	(S.I.)	$\Delta\text{cpm} \pm \text{SD}$	(S.I.)
PLP (10)	23,917 \pm 930	(55.9)	20,186 \pm 1,472	(16.8)
PLP (25)	15,269 \pm 889	(36.0)	26,672 \pm 2,829	(21.9)
Major PLP (10)	51,852 \pm 3,205	(119.9)	20,701 \pm 2,328	(17.2)
DM-20 (10)	359 \pm 392	(1.8)	34,326 \pm 3,703	(27.9)
RPLP (10)	38,575 \pm 719	(91.8)	32,232 \pm 155	(25.3)
GPPLP (10)	37,421 \pm 3,444	(86.8)	34,684 \pm 1,662	(27.2)
BBP (25)	11 \pm 246	(1.0)	-599 \pm 139	(0.5)
GPBP (25)	-24 \pm 185	(0.9)	-583 \pm 122	(0.5)
PPD (25)	84 \pm 187	(1.2)	-556 \pm 226	(0.6)
Con A (1)	21,839 \pm 2,730	(51.1)	3,580 \pm 324	(3.8)
LPS (10)	-307 \pm 118	(0.3)	-522 \pm 152	(0.6)

TABLE II

Cell line	Antigen ($\mu\text{g}/\text{ml}$)	No. cells (10^4)	Incidence 1st EAE	Onset day 1st EAE	Severity 1st EAE	Incidence 2nd EAE	Onset day 2nd EAE	Incidence Histological EAE
EAE induced by PLP-specific T cell lines*								
PL1	PLP (10)	3-2	4/4	6-31	4.5	2/12	42, 75	11/11
		2-1	12/14	6-41	3.3			
PL1	BBP (50)	1-	3/3	7-14	2.7			
		4-5	0/5	(-)	(-)			0/5
PL3	PLP (10)	3-2	1/1	6	5	0/2		2/2
		1-	3/3	6-12	3.6			
R2 ^b	BBP (50)	0.5	4/4	5-7	4.7			3/3
R2 ^b	PLP (10)	3-5	0/5	(-)	(-)			0/5
EAE induced by active challenge with bovine PLP in SJL/J mice ^c								
-	-	-	17/19	13-21	3.8	4/11	49, 52, 64, 116	5/5

15-deoxyspergualin によるEAEの抑制

山村 隆, 佐藤 準一, 田平 武

新薬 15-deoxyspergualin (DSG) は, Bacillus laterosporus の産生する制癌抗生物質 spergualin の誘導体である。本研究は DSG がラット急性 EAE の発症を抑制することを示し, immunomodulator としての DSG の特性の一部を明らかにした。

方法

動物は約200gの雌 Lewis ラットを用いた。EAE の惹起はモルモット BP 及びフロイド完全アジュバントによる感作 (能動免疫), BP 感作一次培養脾細胞または脳炎誘起性T細胞株 (BP-3) による受身移入によった。in vitro のリンパ球増殖活性の測定は常法に準じた。DSG (微化研青柳先生より供与) は PBS に溶解して連日ラット腹腔内に注射した。

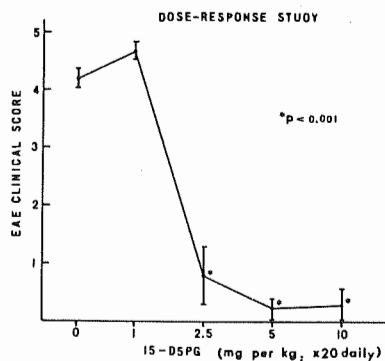
結果と考察

1) 能動免疫による EAE の発症は, DSG の連日投与 (Day 0-16, 2.5mg/kg) で投与量依存性に著明に抑制された (図1)。誘導相の投与 (Day 0-7) では, EAE の発症を有意に遅延させた。2) Day 11リンパ節細胞 (LNC) の抗原特異的増殖活性は, DSG 投与により抑制されたが, Con A 反応 (IL2 産生能) は全く抑制を受けなかった。3) 受身 EAE の発症も, DSG (10mg/kg, Day 0-7) にて有意に抑制された。4) Day 11 脾細胞 (SPC) の EAE 移入能は DSG 2.5mg/kg投与により著しく抑制されたが, 抗原特異的増殖活性は逆にむしろ亢進していた (図2■)。5) 未治療 Day 11 LNC との混合培養実験により, 脾細胞の抗原非特異的 suppressor 活性は DSG (2.5mg/kg) 投与により解除された (図2□)。6) DSG によって解除されるこの脾細胞 suppressor 活性の発現には, プラスチック附着性細胞 (adherent Mφ) が必要であった (図3)。7) 脾細胞から adherent Mφを除き suppressor 活性の発現を解除した後に得られる BP 反応性は, EAE 移入能とよく相関した。8) DSG (0.01 μg/ml-100 μg/ml) の in vitro 投与により T細胞株 (BP-3) の活性化は全く抑制されず, むしろ亢進した。

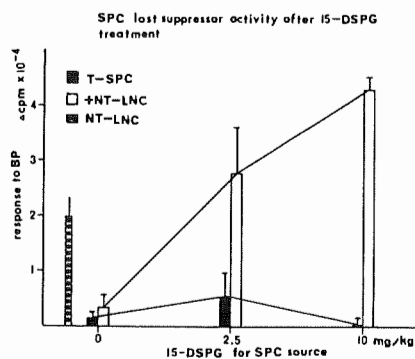
DSG は著名な免疫抑制活性を持つユニークな immunomodulator である。EAE の誘導相, 効果相の両相を抑制し, しかも細胞免疫応答を toxic に抑制する訳ではない。ヒトの自己免疫疾患の治療薬としての応用が期待できる。

文献

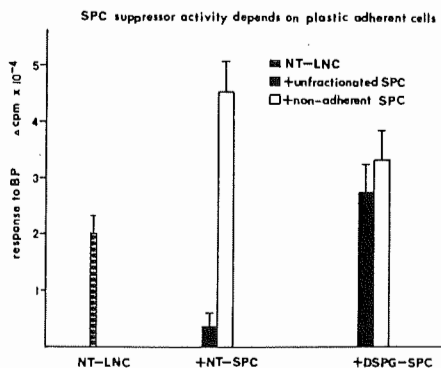
- 1) Yamamura T., Satoh J. et al.: Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by 15-deoxyspergualin. J. Neurol. Sci. 1987 (in press)



(図1)



(図2)



(図3)

8. 診断研究部

1. 研究部1年の歩み

当部は、精神・神経領域における診断の開発に関連する研究を目的としており、当面は、発達障害、精神神経領域の代謝障害の生化学的分析を主としている。61年度には、去年加藤前室長が転出した後に、アメリカ・Yale 大学より、荻野孝史博士を室長として招き、7月より着任した。その他の人事の交替としては、松田文雄流動研究員が3月末で退職し、5月1日より矢野登志雄が採用された。常勤の研究生小高弘子が5月末で退職した。62年1月より、芳賀彰子、永木幸子らが、研究生として参加。更に非常勤研究生として 栗田宏、内山勉が加わっている。

1) 発達障害の早期診断の研究

新生児スクリーニングの方法の研究は、去年度に継続して行われており、甲状腺ホルモン、ステロイドなどに対する、新しい各種の免疫測定法の開発、ステロイドの HPLC と RIA の組合せによるプロフィール分析、Biotinidase 欠損症の分析などがつづけられている。新生児スクリーニングの精度管理の研究もつづけられており、国際的精度管理に発展させるための準備が始められた。有機酸代謝異常症のスクリーニングのための新しい機器開発の研究も行われている。さらに後述の如く、小児自閉症の一部に代謝障害があり、R型テトラヒドロバイオプテリン (RTHBP) の使用が有効であり、さらに一部に、血液中 RTHBP の著しい減少している例も見出され、この現象が小児自閉症のサブグループの早期診断に役立つか否かの研究を開始している。

2) 精神神経疾患の代謝障害の研究

今迄に開発した安定同位体を用いて、微細な代謝変化を分析する方法が継続されている。今年は、セロトニンが脳血液関門を通過しうることをほぼ証明し、うつ病、小児自閉症の患者で、尿中の重水素標識セロトニンの分析で、脳内セロトニン代謝低下を推測しうる例のあることを報告した。さらに、小児自閉症に関しては、去年の研究に引き続き、RTHBP の効果の確認を行った。二重盲験法により、小児自閉症全体としても、Placebo より有意にすぐれ、殊に5才以下の群で、著明な効果があると確認された。

3) In vivo NMR による脳代謝研究

精神神経疾患で、脳グルコース・アミノ酸の代謝系の部分的障害があるらしいことが、PET その他の研究によって推定されている。われわれは、将来のヒト脳でのこれらの代謝変化を分析するために、NMRスペクトロメトリーの活用、殊に¹³C-グルコースの使用との組合せによる研究が、極めて有効であろうと予測している。このため、将来の研究の資料として、小動物脳についての、in vivo NMR を用いての研究を開始している。

(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 primary TSH and T4 screening for congenital hypothyroidism
Genetic Disease: Screening and Management (Eds. Carter, T.P & Willey A.M),
Alan R. Liss, Inc, N.Y. 253-279, 1986
- 2) 成瀬 浩, 林 時司, 武貞昌志 :
自閉症の新しい薬物療法の開発 (第 2 報) 小児自閉症患者に対する L-DOPA・5HTP 少量使用
の臨床経験
安田生命社会事業団, 研究助成論文集 21, 103-117, 1986
- 3) Hayashi T, Shimamura M, Matsuda F, Minatogawa Y, Naruse H :
Sensitive determination of deuterated and Non-deuterated tryptophan, tryptamine and
serotonin by combined capillary gas chromatography and negative ion chemical ionization
mass spectrometry
J, Chromatogr. 383, 259-269, 1986
- 4) 松田文雄, 林 時司, 成瀬 浩, 武貞昌志 :
小児自閉症のモノアミン代謝
臨床精神医学 15, 1507-1514, 1986
- 5) Naruse H, Suzuki E, Kumada J :
Non-radioisotopic methode for reonatal hypothyroid screening
Proceeding of VI International Symposium for Neonatal screening (Ed, Therrell B &
Guthrie R) in press
- 6) Irie M, Nakajimæ H, Inomata H, Naruse H, Suwa S, Takasugi N :
Screening of neonatal hypothyroidism in Japan
Proceedings of VI International Symposium for Neonatal screening (Ed. Therrell B &
Guthrie R) in press
- 7) 林 時司, 小牧真理, 土屋博紀, 松田文雄, 成瀬 浩 :
こう配溶離プログラマーの試作と逆相イオン対クロマトグラフィーを利用するアミノ酸自動分析計
への応用

- 分析化学 35: 949-954, 1986
- 8) 林 時司, 渡辺倫子, 俣賀宣子, 成瀬 浩 :
 重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (VI) セロトニンの血液脳関門の透過性に関する研究
 医用マス講演集 11: 201-204, 1986
- 9) O.A.C. Petroff, J.W. Prichard, Ogino T, M.J. Avison, J.R. Alger, R.G. Shulman :
 Combined ^1H and ^{31}P NMR studies of bicuculline-induced seizure in vivo
 Ann. Neurology 20, 185-193, 1986
- 10) O.A.C. Petroff, R.K. Yu, Ogino T :
 High-Resolution proton magnetic resonance analysis of human cerebrospinal fluid
 J. Neurochem 47: 1270-1276, 1986
- 11) 俣賀宣子, 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の医学・生化学領域への応用 (VI) 安定同位元素標識体を用いた生体内キヌレニン代謝の分析法
 医用マス講演集 11: 181-184, 1986
- 12) Yano T, Nakashima M, Shiraishi A, Morita H :
 Relationship between elevation of the labellar threshold after raising by increasing sucrose concentrations and impulses of a single sugar receptor in the LL-type hair of blowfly
 Exp Biol 46: 29-35, 1986
- 13) Yano T, Nakashima M, Takashima A, Shiraishi A :
 The roles of the recurrent nerve and the ventral nerve cord in the feeding response of the blowfly, *Phormia regina* M
 Exp Biol 46: 37-44, 1986
- 14) Ichihara N, Kizaki T, Sakurada N, Kumagai M, Matsuura N, Fujieda K, Oyanagi K, Naruse H, Suzuki E :
 Application of a new enzyme immunoassay using GOD-conjugate to mass-screening for congenital adrenal hyperplasia
 Proceedings of Vth International Symposium on Neonatal Screening
 (Eds. Therrell B, Guthrie R) in press

II 研究業績

- 15) 永木 茂, 加藤進昌, 成瀬 浩, 高沢 彰, 大島浩伸, 樋口輝彦, 五十嵐良雄 :
Somatostatin (SRIF) とその analog のラット脳室内投与による脳波および行動の異常
てんかん研究 4 : 75-81, 1986
- 16) Tsuchiya H, Sato M, Kato M, Namikawa I, Hayashi T, Tatsumi M, Takagi N :
High-performance liquid chromatographic analysis of bacterial fatty acid composition for
chemotaxonomic characterization of oral streptococci
J. Clin. Microbiol. 24 : 81-85, 1986
- 17) Tsuchiya H, Tatsumi M, Takagi N, Koike T, Yamaguchi H, Hayashi T :
High-performance liquid chromatographic determination of urinary catecholamines by pre-
column solid-phase dansylation on alumina
Anal. Biochem. 155 : 28-33, 1986
- 18) Sakaguchi Y, Yoshino M, Aramaki S, Yoshida I, Yamashita F, Kuhara T, Matsumoto I,
Hayashi T :
Dihydrolipoyl dehydrogenase deficiency : A therapeutic trail with brached-chain amino
acid restriction
Eur. J Pediatr. 145 : 271-274, 1986
- 19) Naruse H, Fukushi M, Takasugi N, Kunita S, Maeda S, Hamanaka H, Ishiguro M,
Furukawa M :
Neonatal hypothyroid screening by enzymeimmunoassay for THS
Iodine Deficiency Disorders and Congenital Hypothyroidism, 166-175, 1986
- 20) Irie M, Naruse H :
Neonatal thyroid screening : organization, quality-control and pitfalls
Iodine Deficiency Disorders and Congenital Hypothyroidism, 203-212, 1986
- 21) Hayashi T, Minatogawa Y, Kamada S, Shimamura M, Naruse H :
Sensitive determination of deuterated and non-deuterated phenylalanine and tyrosine in
human plasma by combined capillary gas.
Chromatography-negative ion chemical ionization mass spectrometry
J Chromat 380 : 239-245, 1986

b. 著 書

- 1) 成瀬 浩, 松田一郎:
新生児スクリーニングハンドブック
南江堂 (印刷中)
- 2) 武貞昌志, 成瀬 浩:
精神遅滞: 生化学的精神医学 (加藤伸勝編)
星和書店 337-379, 1986

c. 総 説

- 1) 成瀬 浩:
先天性代謝異常症マススクリーニング新生児マススクリーニング手引
日本母性保護医協会 14-30, 1986
- 2) 荻野孝史, 荒田洋治:
NMR-化学から医学, 生物学へ
化学と教育 35, 18-21, 1987
- 3) 鈴木恵美子:
Biotinidase 欠損症の早期発見, 早期治療
醫學のあゆみ 第138巻, 第12号, 874, 1986

d. 班会議報告書

- 1) 成瀬 浩, 林 時司, 松田文雄, 俣賀宣子, 武貞昌志:
代謝異常を疑わせる精神発達障害の本態追求と早期発見の研究 - 小児自閉症の生化学的研究 -
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年度報告書, 85-90,
1986
- 2) 成瀬 浩, 林 時司, 小高弘子, 松田文雄, 俣賀宣子, 中根允文:
安定同位体を用いた, うつ病患者のアミノ酸, アミン代謝の研究
厚生省神経疾患・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
書, 43-48, 1986
- 3) 成瀬 浩, 林 時司, 松田文雄, 中根允文:
R-THBP の小児自閉症に対する臨床効果
厚生省新薬開発・フェニールケトン尿など芳香族アミノ酸代謝異常及びライソゾーム病の酵素的
治療法の基礎研究, 昭和60年度研究報告書集, 52-60, 1986

II 研究業績

- 4) 武貞昌志, 長谷 豊, 山本裕子, 成瀬 浩, 山崎晃資:
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
厚生省新薬開発・フェニールケトン尿など芳香族アミノ酸代謝異常及びライソゾーム病の酵素学的治療法の基礎研究, 昭和60年度研究報告書集, 61-70, 1986
- 5) 成瀬 浩, 鈴木恵美子, 熊田淳子, 浜中広健, 吉田篤子:
Biothimidase 欠損症マスキング法の研究
厚生省心身障害・先天代謝異常に関する研究班, 昭和60年度研究報告書, 13-15, 1986
- 6) 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
厚生省心身障害研究・クレチン症に関する研究, 昭和60年度研究報告書, 122-125, 1986
- 7) 成瀬 浩, 鈴木恵美子, 熊田淳子, 市原 侃, 木崎節子, 塚田和弘:
GOD を用いた 17-OHP 測定法のマスキングへの応用
厚生省心身障害研究・新しいマスキングの開発に関する研究, 昭和60年度研究報告書, 291-293, 1986
- 8) 林 時司, 松田文雄, 山崎晃資:
小児自閉症における生体内セロトニン代謝
厚生省心身障害・自閉症の療育体系に関する総合的研究, 昭和60年度研究報告書, 2-11, 1986
- 9) 難波 修, 日下部真理子, 松戸秀子, 新妻ひとみ, 関東 繁, 入江 実, 成瀬 浩, 鈴木恵美子, 熊田淳子:
TSH standard に関する検討
厚生省心身障害・クレチン症に関する研究, 昭和60年度研究報告書, 126-128, 1986
- 10) 融 道男, 西川 徹, 小川篤子, 高嶋瑞夫, 俣賀宣子:
中脳皮質ドーパミンニューロンの反応性調節に関与する神経回路
厚生省心身障害・乳幼児期における原因不明疾患に関する研究, 昭和60年度報告書, 53-60, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演・シンポジウム

- 1) Naruse H, Suzuki E, Kumada J:
Non-isotopic enzyme immunoassay for hypothyroid screening

VIth International Neonatal Screening, Austin, Texas, U.S.A November 16-20, 1986

b. 国際会議

- 1) Naruse H, Hayashi T, Takesada M, Nakane Y, Yamazaki K :
Biochemical study on infantile autism
小児自閉症に関する日米合同カンファレンス, 久留米, october, 26-28 1986
- 2) Ogino T, Behar K.L, Shulman R.G :
Assignments of resonances in the ^1H spectrum of rat brain in vivo and in situ by 2-D shift correlated and J-resolved spectroscopy
5th Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada August, 18-22, 1986
- 3) Ichihara N, Tanaka Y, Kizaki T, Sakurada N, Matsuura N, Naruse H, Suzuki E :
A pilot mass-screening for congenital adrenal hyperplasia by EIA using GOD-conjugate
VIth International Neonatal Screening November, 16-20, 1986
- 4) Akamatsu T, Todoriki H, Kamata K, Kusumoto M, Inoue N, Nagamori H, Hayashi T :
Metabolic survey of alcohol intakes on healthy subjects(1) —alteration of levels of serum free amino acids and biological substances after oral ingestions of alcohol—
3rd Congress of The International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Helsinki, Finland, june 8-13, 1986
- 5) Akamatsu T, Todoriki H, Kamata K, Kusumoto M, Inoue N, Nagamori H, Hayashi T :
Metabolic survey of alcohol intakes on healthy subjects(2) —alteration of the serum free branched chain α -KETO acids after oral ingestion of alcohol—
3rd Congress of The International Society for Biomedical Research on Alcoholism, Helsinki, Finland, June 8-13, 1986
- 6) Petroff O.A.C, Prichard J.W, Ogino T, Shulman R.G :
 ^1H NMR measurement of agonal glycolytic rate in rabbit brain
34th Annual Meeting of American Academy of Neurology New Orleans, Louisiana, U.S.A, April 27-May 3, 1986
- 7) Petroff O.A.C, Prichard J.W, Ogino T, Shulman R.G :
Agonal cerebral glycolytic rate is substrated limited in hyperglycemia : A ^1H NMR study using the lowry model

II 研究業績

- 5 th Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada, August 18-22, 1986
- 8) Prichard J.W, Petroff O.A.C, Ogino T, Shulman R.G :
Quantitation of electrically stimulated lactate flux and minimam glycolytic rate in rabbit brain by ^1H NMR study
5th Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, Montreal, Canada, August 18-22, 1986
- 9) Irie M, Nakajima N, Inomata H, Naruse H :
Screening of congenital hypothyroidism in japan
3rd Asia & Oseania Thyroid Association Meeting, Bangkok, December 6, 1986
- 10) Ogawa A, Nishikawa T, Takashima M, Mataga N :
Activation of mesocortical dopamine neurons induced by a dopamine antagonist requires the ongoing neuronal activity of the striato-nigra pathways in the rat brain
16th Neuroscience Meeting, Washington D.C., November 10, 1986

c. 学会発表

- 1) 松田文雄, 林 時司, 成瀬 浩 :
L-Tryptophan- d_2 の 5-Hydroxytreptamine- d_2 への生体内代謝および動態における生物学的同位体効果の関与について
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.3, 1986
- 2) 小池 享, 久米章司, 土屋博紀, 山口秀樹, 林 時司 :
HPLC によるカテコールアミンの分析 - 固相プレカラムラベル法を用いる前処理の簡便化について -
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.4, 1986
- 3) 俣賀宣子, 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を用いるキヌレニンの高感度定量法
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.4, 1986
- 4) 等々力英美, 鎌田紘八, 楠本昌子, 林 時司, 赤松 隆 :
負イオン化学イオン化質量分析法によるトルエン由来の馬尿酸の定量
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.2, 1986
- 5) 土屋博紀, 巽 幹雄, 高木順彦, 小池 享, 山口秀樹, 林 時司 :

固相ケイ光ラベル法を用いた HPLC によるラット組織中のカテコールアミンの分析

日本薬学会第106年会, 千葉, 4.3, 1986

6) 鈴木恵美子, 熊田淳子, 成瀬 浩 :

Time-resolved fluoroimmunoassay によるスクリーニング法の検討

第14回代謝異常スクリーニング研究会, 東京, 9, 12-14, 1986

7) 花房和子, 鈴木恵美子 :

ペイゲン吉田法によるガラクトース 1 リン酸の判定のための工夫

第14回代謝異常スクリーニング研究会, 東京, 9, 12-14, 1986

8) 俣賀宣子, 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の医学・生化学領域への応用 (VI) 安定同位元素標識体を用いた生体内キヌレニン代謝の分析法

医用マス研究会, 大阪, 10.17, 1986

9) 林 時司, 渡辺倫子, 俣賀宣子, 成瀬 浩 :

重水素標識アミノ酸を用いた生体内代謝変化の研究 (VI) セロトニンの血液脳関門の透過性に関する検討

医用マス研究会, 大阪, 10.17, 1986

10) 荻野孝史, R.G. Shulman, 矢野登志雄, 渡辺倫子, 成瀬 浩 :

^{13}C NMR の生体系の応用: 細胞からヒトまで

第2回 ^{13}C 医学応用研究会, 東京, 11.29, 1986

11) 土屋博紀, 林 時司, 成瀬 浩, 巽 幹雄, 星野良行, 高木順彦 :

高速液体クロマトグラフィーによる尿中セロトニン トリプタミンの定量

日本トリプトファン研究会, 京都, 12.13, 1986

12) 林 時司, 渡辺倫子, 俣賀宣子, 成瀬 浩 :

安定同位体トレーサー法によるセロトニンの血液脳門の透過性についての検討

日本トリプトファン研究会, 京都, 12.13, 1986

13) 荻野孝史 :

MRS-臨床用装置: 現状と問題点

第9回日本磁気共鳴医学会大会, 岡崎, 2.29, 1987

C. 班会議発表

- 1) 成瀬 浩, 荻野孝史, 矢野登志雄, 渡辺倫子 :

安定同位体-NMR を用いる脳代謝機能解明技術の開発

科学技術庁, 脳機能解明のための基盤技術の開発に関する研究班, 昭和61年度報告会 東京,
11.12, 1986

- 2) 成瀬 浩, 林 時司, 俣賀宣子, 武貞昌志 :

脳内セロトニン・カテコールアミンの代謝回転測定の方法の開発研究

厚生省新薬開発・生合成酵素系の機能低下を改善する代謝性疾患薬の開発研究, 昭和61年度報告
会, 東京, 11.11, 1986

- 3) 成瀬 浩, 林 時司, 俣賀宣子 :

in vivo のトリプトファン・セロトニン代謝分析

厚生省神経疾患・そううつ病の生化学的特性における分類と発生機序に関する研究班, 昭和61年
度報告会, 東京, 2.14, 1987

- 4) 成瀬 浩, 林 時司, 俣賀宣子, 武貞昌志 :

代謝異常を疑わせる精神発達障害の本態追求と早期発見の研究

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, 東京, 2.21, 1987

- 5) 成瀬 浩, 林 時司, 鈴木恵美子, 花房和子, 熊田淳子, 入江 実 :

新生児スクリーニングの精度管理の現状と問題点

厚生省心身障害・マススクリーニングに関する研究班, 昭和61年度報告会, 名古屋, 2.13 1987

- 6) 林 時司, 俣賀宣子, 永田克己, 成瀬 浩, 土屋博紀, 武貞昌志 :

自閉症と生体内トリプトファン代謝

厚生省心身障害・自閉症の療育体系に関する統合的研究班, 昭和61年度報告会, 神奈川, 3.14,
1987

- 7) 上芝 元, 入江 実, 成瀬 浩 :

新生児および先天性副腎過形成患児血中ステロイドパターン の HPLC/RIA による分析

厚生省心身障害・マススクリーニングに関する研究班, 昭和61年度研究報告会, 名古屋, 2.13,
1987

D. 研究会など

1) 成瀬 浩 :

自閉症の代謝障害の研究とその治療

障害児教育講演会・自閉症の新しい治療と教育, 東京, 2.7, 1987

2) 荻野孝史 :

in vivo NMR

NMR '86, 東京, 12.13, 1986

3) 成瀬 浩 :

小児自閉症に関する最近の医学的知見と薬物療法

昭和61年度東京都情緒障害児教育研究会, 総会特別講演, 東京, 5.13, 1986

3. 主な研究報告

小児自閉症の医学的治療法

成瀬 浩, 林 時司, 武貞昌志*, 中根允文**, 山崎晃資***, 内山 勉
 (* 大阪市立小児保健センター, ** 長崎大精神科, *** 東海大精神科)

はじめに

われわれは、小児自閉症に特有な代謝障害を発見し、種々検討の結果、小児自閉症の一部患者において、脳内セロトニン、カテコールアミンの代謝低下が存在するという仮説を樹立した。この仮説に基づいて、ごく微量の L-DOPA, 5HTP 療法を実施し、小児自閉症症状が著しく改善されることを見出した。さらに、R-テトラヒドロプテリン (RTHBP) が、3~5才の患者に著しい効果を示すことを発見した。このため昭和61年度は、まず RTHBP の効果の客観的証明のための、二重盲験法が行われた。そして、RTHBP の有効性が認められ、われわれの仮説が正しいことの一つの証明が得られたものと考えている。更に、小児自閉症の生化学的变化を追及するための分析も行われ、興味ある所見も得られたのである。

RTHBP の二重盲験法

典型的な小児自閉症で、父母が RTHBP の二重盲験法の研究への協力を希望した患者84例を、RTHBP 群と、inactive placebo 群とに分け、12週間の経過観察を行った。臨床症状の変化については、小児行動異常研究会の rating scale を用い詳しく分析し、治療開始前と、治療中に肝機能など、必要な臨床検査を行った。出来るだけ、脳波検査も行った。投薬量は、1~3 mg/kgであった。

投薬前と、2週、4週、6週、8週、10週、12週の時点で詳しく観察し、rating scale の各項目毎に、使用前に比べ、著明改善、改善、軽度改善、不変、軽度悪化、悪化、著明悪化の7段階に分けて判定し、更に総合的に症状の変化を上記の7段階に分けて評定し、これを全般改善度とした。全てのデータを、コントローラーに分析依頼した。コントローラーとしては、東大医学部医療情報部開原教授と大橋講師に依頼した。

この二重盲験法研究の結果を表に示した。これで明らかな様に、対象全体で見た時にも、既に8週目

で、RTHBP 群で優位な傾向が見られ、12週目では、明らかに優れていることがわかる。殊に、3~5才群、あるいは、典型的自閉症群のみについて見ると、8週目から、 $P < 0.05$ で明らかに実薬群がすぐれていることがわかった。

さらに、小児自閉症の症状は、いくつかのグループに分けて評定しているが、この中でもっとも有意に改善したのは 自閉的行動といわれる、中心的な症状であることもわかったのである。つまり、RTHBP は、単に、患者の興奮とか多動に有効なだけでなく、小児自閉症の中心的症状を改善する力をもつものであると考えられる。

今迄、小児自閉症に有効といわれたのは、全て、興奮その他の症状を抑える、対症療法薬にすぎなかった。この RTHBP は、初めて、中心的症状を改善しうる薬物でなかろうか。

血中バイオプテリン濃度

上述の如く、RTHBP で、著明に小児自閉症症状が改善されるものと、そうでないものが存在した。この点を分析するために、小児自閉症患者56名、精神遅滞・てんかんなどの、小児の障害患者10名、健常成人10名について、血中の総バイオプテリン、酸化型バイオプテリンを定量した。空腹時に、血液を採取し、Fukushima らの方法により、総バイオプテリン、酸化型バイオプテリンを測定した。

まだ、酸化型については、一部データがまとまらないので、総バイオプテリン値のみをまとめると、血漿中の値は、小児自閉症群も、対照群や他患群と差はなかった。しかし血液中のバイオプテリンは、対照群 1.82 ± 0.50 (mg/ml)、非自閉症群 1.37 ± 0.67 であるのに比し、小児自閉症群は、 1.11 ± 0.54 であり、5%の危険率で、有意に減少していた。しかも、何人かの患者は、殆んど血液中のバイオプテリンが測定出来ない程度であった。この点、種々の問題を含むものと考え、今後症例をふやして検討する予定である。

表 RTHBP 群と偽薬群の全般改善度の比較*

判定時期	対象全体	3~5才群	重症群**
4週目	n.s	n.s	n.s
8週目	RTHBP優位 $P < 0.1$	RTHBP優位 $P < 0.05$	RTHBP優位 $P < 0.05$
12週目	RTHBP優位 $P < 0.05$	RTHBP優位 $P < 0.05$	RTHBP優位 $P < 0.05$

* Wilcoxon Rank Sum Test により統計処理

** 自閉症としての重症度で、典型的なものを含む群

セロトニンの血液脳関門の透過性に関する検討

林 時司, 渡辺倫子, 俣賀宣子, 成瀬 浩

目 的

我々は、自閉症、うつ病をはじめとする各種精神疾患におけるトリプトファン、セロトニンならびに関連代謝産物の生体内代謝をより詳細に検討することを目的とし、安定同位体トレーサー法を利用した研究を進めてきている。今年度は、その一環として5-HTの血液脳関門の透過性について検討を加えた。現在では、5-HTは血液脳関門を透過しないというのが定説となっている。しかし、これは動物に末梢からセロトニンを投与し、一定時間後に脳内のセロトニン濃度が上昇していなかったという実験事実に基づくものである。しかし、脳内の5-HT濃度の調節機構の存在を考えると、かならずしも5-HTの血液脳関門の透過性を否定する根拠とはなり得ないと考えられる。そこで我々は、安定同位体トレーサー法を用いた検討を実施した。

方 法

1. トレーサー実験： ウィスター系雄性ラットに serotonin- α , α , β , β -d4 creatinin sulphate complex を生理食塩水溶液として腹腔内投与し、一定時間後に断頭し、すばやく脳を摘出した。また、血液の混入を除去した脳試料は重水素標識 5-HT を投与し、一定時間後にペントバルビタールにより麻酔し、胸部を切開し、心臓より生理食塩水を還流 (15ml/min, 10min) 後、脳を摘出した。血液の採取は重水素標識 5-HT の投与後、一定時間毎に実施した。

2. 5-HTの分析： 脳試料ならびに血液試料中の5-HTの分析は、昨年までに確立した GC/NICIMS法によって行った。5-HT-d4 と 5-HT-d0 各々の濃度を求めることが必要な場合には、5-HT-d2 を内部標準として用い、濃度比のみを測定する場合には、内部標準物質を使用しないで行った。また、GC/NICIMS 分析には PPINICI を装備した Finnigan 4000 GC/MS を用いた。使用したカラムは OV-101 FS-WCOTカラム (25m \times 0.25mm i.d.), キャリアガスおよび試薬ガスとしてはメタンを用いた。イオン源圧力、イオン源温度、イオン化電圧はそれぞれ0.1—0.15Torr, 250 $^{\circ}$ C, 90V に設定した。

結果と考察

最初に5-HTの血液脳関門の透過性を検討するための5-HTの投与量を検討する目的で, serotonin creatinin sulphate complex の生理食塩水溶液

をウィスター系雄性ラットに体重kgあたり1mlを腹腔内に投与し、30分後に断頭し脳の様子を調べたところ、5mg/ml以上の5-HTの濃度の溶液を投与した場合には硬膜下に出血が認められ、その程度は投与量の増加とともに大きくなっていくことが観察された。そこで、トレーサー実験では重水素標識5-HTは1mg/mlの溶液を体重kgあたり1ml腹腔内に投与し検討を実施した。この様な条件下5-HT-d4を投与し、経時的に断頭摘出した脳中の5-HT-d0, 5-HT-d4の濃度は、投与後10分で断頭した場合にそれぞれ2.31nmol/g tissue, 0.12nmol/g tissue と、内因性のものの約5%程度の5-HT-d4が脳内に取り込れていることが観察された。また、この量は時間の経過とともに減少し、30分後には3%程度の値を示した。しかし、この結果は摘出した脳に混入している血液による可能性も考えられるため、次に、脳摘出前に血液を除去し、5-HTの測定を行った。すなわち、5-HT-d4投与10分、20分後にペントバルビタールにより麻酔し、5分後に心臓より生理食塩水を還流し、十分に血液を除去した。その後すみやかに脳を摘出し5-HTの分析を行った。その結果、生理食塩水を還流しない場合の約1/2量の5-HT-d4の存在が確認できた。一方全血中の5-HT-d4は、5-HT-d4投与後30分後には内陰性のそれとほぼ同程度にまで達し、その比は、少なくとも、5時間まではほぼ一定値を示した。また、5-HT-d4投与後10, 20分に採取した血液中の遊離の5-HT-d4は全5-HT-d4のそれぞれ3%, 1%であった。これらの結果から、腹腔から血中に取り込まれた5-HT-d4は血小板により能動的に取り込まれ、あるいは、5-HT結合たんぱく (serotonectin) とすみやかに結合し、遊離5-HT-d4の濃度は著しく低下するものと考えられる。従って、5-HT-d4を投与した際、血中では内因性のものに匹敵する程度にまで5-HT-d4の濃度が上昇するにもかかわらず脳への取り込みが僅かであったという結果から5-HTは血液脳関門を透過しない、あるいは、透過性が低いと結論づけるには問題があると考えられる。むしろ、血中の遊離の5-HT-d4の内因性のものに対する比率と脳でのそれとを比較すると、5-HTの血脳関門の透過性は低くはないと考えられる。詳細については、更に今後の検討が必要であろうと考えている。

インドール酢酸, 5-ヒドロキシインドール酢酸の高感度安定同位元素トレーサー法の確立

林 時司, 成瀬 浩, 飯田芳男*

* 成蹊大学工学部

目的

我々は、生体内におけるトリプトファン、セロトニンならびに関連代謝産物の生体内代謝をより詳細に検討する目的で、負イオン化学イオン化質量分析法の高感度性と安定同位体標識化合物の利用とを組み合わせた安定同位元素トレーサー法に関する研究を進めてきた。そして、トリプトファン (Trp), セロトニン (5-HT), トリプタミン (TA) 等の高感度分析法を開発するとともに、トレーサーとして利用できるトリプトファンの重水素標識体 (L-tryptophan-3, 3-d₂, Trp d₂) を合成し、これらの物質の生体内代謝の追跡を可能とした。そこで今年度は、上記トレーサー法を更に発展させることを目的とし、TA ならびに 5-HT の代謝産物であるインドール酢酸 (IAA), 5-ヒドロキシインドール酢酸 (5-HIAA) の追跡法について検討を加え、これを可能とした。

結果と考察

負イオン化学イオン化質量分析法は、従来から安定同位元素トレーサー法に利用されてきている正イオン化学イオン化質量分析法に比較して、特殊な条件を備えている化合物については10-1000倍の高感度測定が可能であることが知られている。生体成分のほとんどはこのような条件を備えていないが、GC分離のために行う誘導体化法を工夫すれば高感度分析を可能と出来るものと考えられる。我々は既にこの様な観点に立ち、多数の生体成分並びに関連化合物について検討を進めてきている。これらの結果から、IAA, 5-HIAA の高感度分析用の誘導体としてはペンタフルオロベンジル (PFB) エステルあるいはトリフルオロアセチル (TFA)-メチルエステル誘導体に導くことが適当と考えられた。IAA の PFB-誘導体, TFA-メチル-誘導体はそれぞれ (M-PFB), (M-HF) 対応するベースピークを与え、両者ともイオン化効率は極めて良好であった。しかし、後者のイオン化の際に HF として脱離する水素の由来について重水素標識化合物を用いて検討してみると、側鎖のメチレンの水素であることが確認された。この位置はトレーサーとして用いるトリプトファン (L-tryptophan-3, 3-d₂) の重水素での標識位置に対応しており、後者を利用することは不適当であると考えられた。また、5-HIAA の場合は、両誘導体ともそれぞれ満足すべきベース

ピーク (M-PFB), (M-TFA) を高イオン化効率で与えることが確かめられたが、TFA-メチル-誘導体の方が GC 分離の点で若干有利であると考えられた。そこで、生体試料 (今回は特に尿) からの抽出、誘導体化条件等について詳細に検討し、図1に示したような方法を確立した。図2には、午前11時に Trp-d₂ をヒトに経口投与 (10mg/kg) し、本法により尿中に排せつされた IAA, 5-HIAA を追跡した結果を Trp, TA, 5-HT の結果とともに示した。

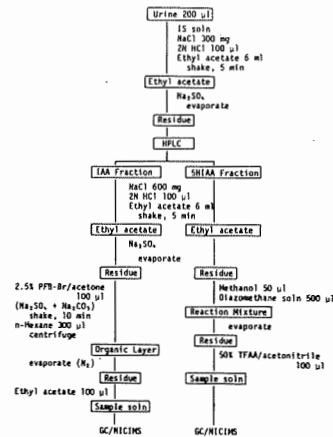


図1 GC/NICIMS による IAA, 5-HIAA の分析

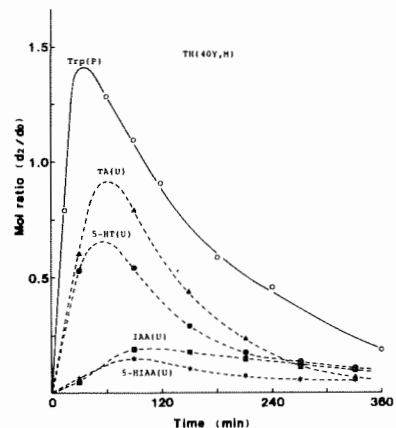


図2 トリプトファンならびにその代謝産物のトレーサー実験

in vivo NMR による脳代謝機能の研究

荻野孝史, 矢野登志雄, 渡辺倫子, 成瀬 浩

核磁気共鳴 (NMR) は, 生体関連物質の構造, 相互作用や運動性についての情報を与えるだけでなく, 近年, 画像診断法としての医学への利用のほか, 細胞や実験動物において, in vivo での代謝や生理過程についての重要な生化学的情報を与える無侵襲, 非破壊分析法として注目を浴びている。

本研究は, NMR の有するこの特徴を利用して, 脳機能の変化に伴う脳の特定部位でのグルコース及びアミノ酸代謝の動的変化を in vivo で正確に測定できる ^{13}C NMR 法を開発し, 小動物の脳に応用することを目的とする。

結果と考察

1) 高感度 ^{13}C サーフィスコイル・プローブの開発。

脳内の微量な代謝物を ^{13}C NMR で検出するためには, NMR 検出プローブを最適化し, 感度の向上をはかる必要がある。我々は, NMR コイル・プローブに与える生物試料の特性 (誘電損失や磁気損失) を考慮し, コイル・プローブ設計に, series-tuned の平衡回路を導入し, 感度を従来のプローブの約3倍に上げると共に, 生物試料に対して極めて安定したプローブを作成することに成功した。

今後, 従来の整合方式である capacitive coupling の概念をすて, inductive coupling による整合方式を導入し, さらに安定した高感度のプローブの設計を行うと共に, composite pulse を応用した in vivo NMR において有効なプロトン・デカップリング方法を開発していく予定である。

2) 実験動物における ^{13}C 標識グルコース投与法の確立。

脳のグルコース代謝を ^{13}C NMR で測定するためには, 上記の感度のよい ^{13}C NMR サーフィスコイル・プローブを開発すると共に, 血液及び脳代謝物を ^{13}C 同位体で効率よく標識する必要がある。このためには長時間 (約1時間) にわたって一定の血糖値のもとで, 一定の割合で標識グルコースを血液中で維持できるような特定の投与法を確立する必要が

ある。本実験においては, 尾静脈カニューレーション法を採用し, ^{14}C 標識グルコースのパルス投与による “Washout Kinetics” をラプラス解析することにより, インフュージョン・スケジュールを作成し, 目的のグルコース投与法を確立する。我々はこのために必要な最小自乗法による最適化を用いた解析プログラムを作成した。

3) in vivo NMR 研究のための多次元生理学データ計測システムの開発。

in vivo NMR により得られる脳代謝の変化を系の生理学的な機能と関連付け, 脳代謝と機能との関係についてより詳細な情報を得るためには, NMR 測定と同時に多次元の生理学データを相互に干渉することなく取得することが必須である。このために, 下記のような計測システムを設計した。本システムの特徴は, パーソナルコンピュータをシステムの中心に置くことにより, NMR データや生理学的データを制御できるだけでなく, モデムを通じて通信回線により, 東京大学大型計算機センター (M 680H と VAX8600) に TSS 端末として接続されており, 必要に応じて取得されたデータを大型計算機に送り込み, 高次のデータ解析が可能なことである。我々は, このシステムを通じ既に大容量データ・マトリックスを含む, NMR スピン・ダイナミックスの解析を行うために必要な product operator 法による解析プログラムを PASCAL で作成した。今後, このプログラムを用いて in vivo NMR に対応したシグナルの局在化法を含む新しいパルス系列を考察していく予定である。また, 本通信端末を通じて, 東大の CAS, 阪大の BIOSIS, 紀ノ国屋の MEDLINE 等の情報検索も可能であり, 興味ある方との共同利用も可能にしたいと考えている。本年度において, in vivo NMR 測定のための基本システムは完了したので, 今後, 改良を重ねると共に, 応用を開始していく予定である。

9. 微細構造研究部

1. 研究部一年のあゆみ

本研究部での研究の3本の柱、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、を中心に活発な研究が進められた。

本年度は鄭思峻（韓国慶熙大学小児科）が61年6月30日で流動研究員を辞し、その後任として古賀靖敏（久留米大学小児科）が加わった。週4日以上研究に専念する無給研究生4名を含め多くの研究生が居て研究室はいつも活気に溢れている。

(1) 進行性筋ジストロフィー筋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、再生を主病変としているが、病状が出現しない早期の病理像は十分に明らかにされていない。ヒト生検筋、動物を使って初期変化の研究が進んでいる。

(2) 胸線筋様細胞の生物学的研究

筋様細胞のヘパリン結合性の因子は2ME存在下でPNA(-)胸線リンパ球に作用し、インタロイキン1や2と異なる新しいリンパ球の増殖因子の産生を誘導することを見出した。

(3) 先天性水頭症の発生機序解明のための実験的研究

ニコチン酸代謝拮抗剤(6-AN)による実験的水頭症の作成に成功し、その発現の年齢依存性及び種差は上皮細胞の薬剤感受性によることを明らかにした。さらに長期生存例では慢性硬膜下血腫ができ、その病理発生の解明が進んでいる。

(4) Thy-1抗原の量的変化と筋分化の研究

Thy-1抗原の定量法を確立し、筋の分化との関係を調べると細胞内のThy-1が細胞外のThy-1より多くなる時期に一致してCKの上昇が認められ、筋融合にThy-1が重要な働きをしていることが示唆された。Thy-1抗原の生物学的意義についてさらに研究が進んでいる。

(5) 神経筋疾患モデル動物の病因解析

筋ジストロフィー動物モデルの研究のほか、新たに脳形成異常を主病変とするshaking rat Kawasaki (SRKラット)が見出され、神経病理学的検討が加えられている。

(6) ヒト神経筋疾患の病理的、生化学的研究

全国各地より依頼される筋生検は年間300前後となっている。組織化学的、電子顕微鏡的検索とともに、生化学的な検索も加えられ、適確な診断が下されるようにしている。

(部長 埜中征哉)

2. 研究業績

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 91 : 571-579, 1986
- 2) Sano M, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H, Tsukagoshi H :
Chloroquine myopathy in rat soleus muscle : An experimental model for human distal myopathy with rimmed vacuoles
Biomed Res 7 : 301-309, 1986
- 3) Mukoyama M, Kazui H, Sunohara N, Yoshida M, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes with acanthocytosis : A clinicopathologic study of a unique case
J Neurol 233 : 228-232, 1986
- 4) Ii K, Hizawa K, Nonaka I, Sugita H, Kominami E, Katunuma N :
Abnormal increase of lysosomal cysteine proteinases in rimmed vacuoles in the skeletal muscle
Am J Pathol 122 : 193-198, 1986
- 5) Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
Biochemical aspects of bupivacaine-induced acute muscle degeneration
J Cell Sci 83 : 197-212, 1986
- 6) Kobayashi M, Morishita H, Sugiyama N, Yokochi K, Nakano M, Wada Y, Hotta Y, Terauchi A, Nonaka I :
Two cases of NADH-coenzyme Q reductase deficiency : relationship to MELAS syndrome
J Pediat 110 : 223-227, 1987
- 7) Tanabe Y, Nonaka I :
Congenital myotonic dystrophy. Changes in muscle pathology with ageing
J Neurol Sci 77 : 59-68, 1987
- 8) Hamano K, Kawashima K, Joganoto M, Takita H, Nonaka I :

II 研究業績

- Muscle involvement in a case of oculocutaneous albinism
Neuropediatrics 17 : 53-56, 1986
- 9) Tanaka M, Nishikimi M, Suzuki H, Tada M, Ozawa T, Koga Y, Nonaka I :
Deficiency of subunits of complex I or IV in mitochondrial myopathies : Immunochemical and immunohistochemical study
J Inher Metab Dis (in press)
- 10) Tanaka M, Nishikimi M, Suzuki H, Ozawa T, Koga Y, Nonaka I :
Partial deficiency of subunits in complex I or IV of patients with mitochondrial myopathies
Biochem Int (in press)
- 11) Nagao H, Habara S, Morimoto N, Sano N, Takahashi M, Kida K, Matsuda H, Nonaka I :
AMP deaminase activity of skeletal muscle in neuromuscular disorders in childhood
Neuropediatrics 17 : 193-198, 1986
- 12) Higuchi I, Nonaka I, Ishiura S, Ishihara T, Sugita H :
High AMP deaminase activity in rimmed vacuoles of skeletal muscle
J Neurol Sci (in press)
- 13) Higuchi I, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
Immunohistochemical localization of AMP deaminase in rimmed vacuoles in human skeletal muscle
Muscle Nerve (in press)
- 14) Higuchi I, Nonaka I, Usuki F, Ishiura S, Sugita H :
Acid maltase deficiency in the Japanese quail : Early morphological event in skeletal muscle
Acta Neuropathol (in press)
- 15) Usuki F, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
 α -glucosidase isoenzymes in normal and acid maltase-deficient human skeletal muscle
Muscle Nerve (in press)
- 16) Chung SJ, Asoh S, Yamanaka T, Okamura-Oho Y, Toshima K, Woo M, Nonaka I :
Muscle involvement in pyruvate dehydrogenase complex (PDHC) deficiency
Brain Dev (in press)

- 17) Sugita H, Nonaka I, Itoh Y, Asakura A, Hu DH, Kimura S, Maruyama K :
Is nebulin the product of Duchenne muscular dystrophy gene ?
Proc Jpn Acad 63B : 107-110, 1987
- 18) Kamo I, Furukawa S, Akazawa S, Fujisawa K, Tada-Kikuchi A, Nonaka I, Satoyoshi E :
Mitogenic heparin-binding lectin-like protein from cloned thymic myoid cells
Cell Immunol 103 : 183-190, 1986
- 19) Akazawa S, Furukawa S, Kamo I, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :
An enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against saline-soluble muscle components in myasthenia gravis
J Immunol Method 94 : 161-167, 1986
- 20) Aikawa H, Suzuki K :
Ultrastructural evidence of mitotic ependymal cells in 6-aminonicotinamide-treated suckling mice
Acta Neuropathol 70 : 71-74, 1986
- 21) Aikawa H, Suzuki K :
Postnatal mitotic division of endothelial cells in the brain
Neurosci Res 4 : 67-73, 1986
- 22) Aikawa H, Kobayashi S, Suzuki K :
Aqueductal lesions in 6-aminonicotinamide-treated suckling mice
Acta Neuropathol 71 : 243-250 1986
- 23) 菊池愛子, 藤沢加津美, 山下和予, 埜中征哉, 林 葉子, 吉野亀三郎, 里吉栄二郎 :
髄液中の抗単純ヘルペスウィルス抗体の高感度中和抗体測定法
医学のあゆみ 137 : 141-142, 1987
- 24) Terasawa K :
Muscle regeneration and satellite cells in Fukuyama type congenital muscular dystrophy
Muscle Nerve 9 : 465-470, 1986
- 25) Akahori H, Nakajima Y, Terasawa K, Ishii H, Nonaka I :
High resolution freeze replica by means of high melting point metal shadowing
J Electron Microscop 35 : 202-207, 1986
- 26) 赤堀 宏, 吉田寿治, 石井弘子, 埜中征哉

II 研究業績

二次電子検出器の高感度化の試み

医産物走査電顕 15: 12-13, 1986

27) 赤堀 宏, 鈴木猛夫, 石井弘子, 埜中征哉

SEM の性能チェック用試料の作り方

医生物走査電顕 15: 28-29, 1986

28) Orimo S, Araki M, Ishii H, Ikeda M, Kurosawa T, Arai M, Hiyamuta E:

A case of “myopathy with tubular aggregates” with increased muscle fiber sensitivity to caffeine

J Neurol (in press)

29) 富 英明, 埜中征哉, 杉田秀夫, 里吉宮二郎, 齊藤深美子:

X染色体 一常染色体間の相互転座を認めた進行性筋ジストロフィーの女児例

臨床神経 26: 965-969, 1986

b. 著 書

1) 埜中征哉:

筋生検

新小児医学大系 15A 小児運動器病学 I (小林登, 多田啓也, 藪内百治), 中山書店, 東京,
p 226-240, 1986

2) Aikawa H, Suzuki K:

Experimental hydrocephalus induced by 6-aminonicotinamide in suckling mice

Stroke and Microcirculation (ed by Cervos-Navarro J)

Raven Press, New York (in press)

3) Aikawa H, Suzuki K:

Neurotoxic effects of 6-aminonicotinamide, mouse

ILSI Monographs on Pathology of Laboratory Animals, Nervous System (ed by Jones TC), Springer-Verlag, New York (in press)

c. 総 説

1) 埜中征哉:

筋生検・筋電図

総合臨床 35: 716-720, 1986

2) 埜中征哉:

筋ジストロフィーの発症機序に関する最近の知見

総合リハ 14: 583-590, 1986

3) 埜中征哉 :

進行性筋ジストロフィー: Duchenne型を中心として

病理と臨床 5: 280-287, 1987

4) 埜中征哉 :

ミトコンドリアサイトパチーの病理

脳と発達 19: 110-117, 1987

d. 班会議報告書

1) 埜中征哉, 禹 満, 古賀靖敏, 齊藤陽子, 石井弘子, 桶田利加 :

無症状期 (preclinical stage) における Duchenne 型筋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61年度報告書,
p 63-66, 1987

2) 埜中征哉, 禹 満, 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, 組織化学研究

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究班, 昭和60年度報告書,
p 11-32, 1986

3) 江崎孝三郎, 埜中征哉, 津金隆夫 :

新たに発見された後肢麻痺ラット

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究班, 昭和60年度報告書,
p 45-62, 1986

4) 富田 武, 菊池建機, 埜中征哉, 若杉 昇, 山崎一斗 :

後肢麻痺マウス hlp の病態と遺伝について

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究班, 昭和60年度研究報告書,
p 63-68, 1986

e. その他

1) 菊池愛子 :

ヒト筋細胞の無血清培地の確立とその疾病研究への応用

昭和60, 61年度文部省科学研究助成, 一般研究C研究報告書, 1987, 3

2) 田辺雄三 :

II 研究業績

先天性筋緊張性ジストロフィー症の臨床と病理

Medical Way 3: 120-124, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 埜中征哉 :

ミトコンドリアミオパチーの臨床および病理像の多様性

第89回日本小児科学会総会, 久留米, 5.16, 1986

2) 埜中征哉 :

ミトコンドリアサイトパチーの病理

第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986

3) Aikawa H, Suzuki K :

Experimental hydrocephalus induced by 6-aminonicotinamide in suckling mice

Erwin Riesch Symposion, Pathology of Cerebrospinal Microcirculation, Berlin. Sept.
3, 1986

4) 赤堀 宏, 吉田寿治, 石井弘子, 埜中征哉 :

二次電子検出器の高感度化の試み

医学生物学走査電子顕微鏡シンポジウム, 新潟, 11.24, 1986

5) 赤堀 宏, 鈴木猛夫, 石井弘子, 埜中征哉 :

SEM の性能チェック用試料の作り方

医学生物学走査電子顕微鏡シンポジウム, 新潟, 11.24, 1986

b. 国際学会

1) Nonaka I, Kikuchi A, Suzuki T, Esaki K :

Hereditary peroneal muscular atrophy in the mouse: An experimental model for arthrogry-
posis multiplex congenita

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

2) Terasawa K, Nonaka I :

Quantitative analysis of satellite cells in bupivacaine induced muscle regeneration

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

3) Shimizu T, Nakase H, Nonaka I, Mannen T, Sugita H :

Immunological heterogeneity of C-protein in type 1 and 2C fibers of nemaline myopathy

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

4) Fujita T, Nonaka I, Takagi A, Sugita H:

Muscle histochemistry in Japanese quail with type 2 glycolysis (Pompe's disease)

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

5) Woo M, Tanabe Y, Esaki K, Nonaka I:

A comparative histopathologic study between mdx and dy mice

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

6) Tanabe Y, Nonaka I:

Congenital myotonic dystrophy: Changes in muscle pathology with aging

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, 7.6, 1986

7) Kamo I, Furukawa S, Kikuchi A, Nonaka I, Satoyoshi E:

Effects of thymic myoid cell derived heparin-binding factor for induction of IL-2 receptors on thymocytes

6th International Congress of Immunology, July 6, 1986 (abstracts p30)

8) Aikawa H, Suzuki K:

Hydrocephalus and subdural hematoma in 6-aminonicotinamide-treated suckling mice

10th International Congress of Neuropathology, Stockholm, Sept. 12, 1986

9) Ishii N, Suzuki K, Nonaka I:

Morphological feature and incidence of internodal Schwann cell fingers in myelinated fibers in mouse spinal roots

VIth International Congress of Neuromuscular Disease, Los Angeles, 7.8, 1982.

c. 一般学会

1) 横井風児, 原 敏彦, 飯尾正明, 外山比南子, 春原経彦, 埜中征哉, 亀井敦行, 村田 啓, 里吉栄二郎:

ミトコンドリア脳筋症のポジトロンCTによる脳内“C-1-ピルビン酸代謝の検討

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

2) 曾田真理子, 碓井貞成, 野村芳子, 瀬川昌也, 加瀬正夫, 岩越美恵, 埜中征哉:

Cytochrome c oxidase 欠損症で Leigh 脳症を呈した一男児例

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

II 研究業績

- 3) 織茂智之, 池田正行, 黒沢崇四, 新井雅信, 冷牟田英三, 桒中征哉 :
Tubular aggregates の臨床病理学的検討
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 4) 樋口逸郎, 桒中征哉, 石浦章一, 石原傳幸, 杉田秀夫 :
骨格筋の rimmed vacuole 形成部位における高 AMP deaminase 活性について
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 5) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫, 桒中征哉 :
正常ヒト及び infantile Pompe 病骨格筋における neutral α -glucosidase isoenzyme の検討
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 6) 春原経彦, 萩野谷和裕, 亀井敦行, 桒中征哉, 里吉栄二郎, 熊谷公明 :
母性遺伝をとった cytochrome c oxidase 欠損症
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 7) 富 英明, 春原経彦, 亀井敦行, 桒中征哉, 里吉栄二郎 :
側彎症における骨格筋病理所見
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 8) 禹 満, 桒中征哉 :
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研究
第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986
- 9) 萩野谷和裕, 桒中征哉, 二瓶健次 :
MELAS (mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and strokelike episodes)
の筋病理学的検討～血管病変を中心として
第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986
- 10) 二瓶健次, 久米正法, 平埴昭一, 内藤春子, 桒中征哉 :
Mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes
(MELAS) の臨床的検討
第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986
- 11) 川嶋浩一郎, 桒中征哉, 浜野健三 :
特異な構造を示さない先天性ミオパチーの病理組織学的検討
第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986
- 12) 禹 満, 鄭 思峻, 桒中征哉 :

多発性の筋炎にみられる perifascicular atrophy の成因に関する病理組織学的検討

第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986

- 13) 村上美也子, 山谷美和, 紺田応子, 小西 徹, 岡田敏夫, 桄中征哉 :

仮性アルドステロン低下血症を合併した重症先天性多発関節拘縮症の一例

第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986

- 14) 片岡 正, 麻生誠二郎, 桄中征哉 :

乳児期早期より重篤な呼吸不全を呈した先天性ミオパチーの2例

第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986

- 15) 平埴昭一, 二瓶健次, 池田喜久子, 久米正法, 内藤春子, 桄中征哉 :

臨牀的, 組織化学的に改善を示した cytochrome c oxidase 欠損症の一例

第28回日本小児神経学会総会, 松江, 6.5, 1986

- 16) 加茂 功 :

胸腺筋様細胞由来ヘパリン結合因子の作用

第45回日本癌学会総会, 札幌, 10.21, 1986

- 17) 加茂 功, 藤井雅寛, 菅村和夫

胸腺筋様細胞由来ヘパリン結合性因子の作用

第16回日本免疫学会総会, 東京, 12.15, 1986

- 18) 小宮山純, 平山恵造, 古川昭栄, 加茂 功 :

重症筋無力症にみられる非アセチルコリンレセプター骨格筋抗原に対する抗体: 臨床症状及び治療効果との相関

第27回日本神経学会総会, 熊本, 5.21, 1986

C. 班会議発表

- 1) 桄中征哉, 禹 満, 古賀靖敏, 斉藤陽子, 石井弘子, 桶田利加 :

無症状期 (preclinical stage) における Duchenne 型筋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61年度班会議,

東京, 12.6, 1986

- 2) 桄中征哉, 禹 満, 江崎孝三郎, 横山峯介 :

進行性筋ジストロフィーマウスの血管変化

厚生省神経疾患・筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究班, 昭和61年度班会議,

II 研究業績

東京, 12.8, 1986

- 3) 桒中征哉, 相川久志, 江崎孝三郎, 津金隆夫 :

Shaking rat Kawasaki (SRK) ラット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モデル動物の開発に関する研究班, 昭和61年度班会議,

東京, 12.8, 1986

- 4) 加茂 功, 古川昭栄, 藤沢加津美, 菊地愛子, 桒中征哉 :

胸腺リンパ球の増殖

厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度班会議, 東京, 1.16, 1987

- 5) 小宮山純, 平山恵造, 加茂 功 :

胸腺腫合併重症筋無力症にみられる円型脱毛症

厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度班会議, 東京, 1.16, 1987

- 6) 小宮山純, 平山恵造, 新井 洋, 加茂 功, 古川昭栄 :

重症筋無力症におけるクリーゼの免疫学的検討と治療

厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度班会議, 東京 1.17, 1987

- 7) 相川久志, 江崎孝三郎, 津金隆夫 :

新しく見出された脳形成不全ラットの神経病理学的検討

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61年度班会議,

12.8, 1986

- 8) 相川久志, 鈴木衣子 :

ニコチン酸代謝拮抗剤 (6-AN) による実験的水頭症

厚生省神経疾患・発育期脳障害による精神遅滞の本能と発生予防に関する研究班

昭和61年度班会議, 東京 1.30, 1987

3. 主な研究報告

無症状期 (preclinical stage) における Duchenne 型筋ジストロフィーの筋病理

埜中征哉, 禹 満, 古賀靖敏, 齊藤陽子, 石井弘子, 桶田利加

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の病理の初期変化を知ることは, 病理発生を追究する上に極めて重要である。今回, 我々は無症状期にある2歳以下の DMD 患者の生検筋に組織化学的, 電顕的検索を行い検討した。

対象・方法

DMD 患者5名 (11月-1歳11月, 平均1歳3月) と同年令の明らかな筋力低下, 病理的变化を持たない対照5例を対象とした。生検筋は全例左上腕二頭筋の中腹より採取し, 凍結切片を作成し, 組織化学染色を行い, 筋線維タイプ (1, 2A, 2B, 2C線維) を決定し, ヒストグラムを作成した。生検筋の一部は電子顕微鏡用に固定し, 血管病変にも注目して, 初期変化を中心に検索した。

結果

1) 一般組織像

生後11月の最若年者にも, すでに壊死, 再生の像がみられた。結合織の増生は軽度であったが全例に確認できた。

2) 筋線維タイプの分布

全例にタイプ 1, 2A, 2B, 線維はモザイク状に分布し, 全ての線維に大小不同を認めた。さらに未分化なタイプ 2C線維を13.9-28.5% (平均18.4%) と多く認めた。

3) 筋衛星細胞の頻度

DMD では胞体の大きな, 小器官に富む筋衛星細胞

を多く認めた。その頻度も高く, 筋衛星細胞核/筋線維内の全ての核×100=14.5%と対照の8.8%と比較すると有意に増加していた。

4) 血管の変化

DMD では1本の血管に4.2本の筋線維があり, 対照の5.9本と比較すると有意に血管の分布が多いことが分かった (表1)。さらに血管の周囲を何重にも基底膜がとり囲む異常血管 (図1) は対照では1.5%であったのに, DMD 筋では25.6%であった。血管の有核内皮細胞面積は DMD で平均 $18.8 \pm 6.8 \mu\text{m}^2$ で, 対照の $16.4 \pm 7.2 \mu\text{m}^2$ と比較し有意に大きかった。

考察

DMD 筋では患者が無症状期にある時期でも (1歳以下でも) 病理学的変化は明らかで, 結合織の増生すら起っていることが明らかとなった。また早期から血管内皮細胞の腫大, 血管の周囲の基底膜の増生がみられた。これらの血管の変化は結合織の増生により二次的に惹起されたものかもしれない。しかし血管の二次的变化であるにせよ, 個々の筋線維への血流は減少するであろう。そのために再生は遅延し, 不完全な再生, すなわち壊死を代償しえない再生が導かれると考えられる。また虚血により多分再生途上筋も壊死に陥り易くなり, 悪循環をくり返すのであろう。

POPULATION OF CAPILLARIES

	MF	BV	MF/BV	EC+N	EC+N/BV (%)	Area of EC+N (μm^2)
DMD						
preclinical (5)	2834	669	4.2 ^a	318	47.5 ^b	18.8±6.8 ^c (S.D.)
CONTROL (5)	3113	528	5.9	206	39.0	16.4±7.2

MF: muscle fibers

BV: blood vessels

a: p < 0.01

EC: endothelial cells

N: nucleus

b: p < 0.05

c: p < 0.005



胸腺リンパ球の IL-2 非依存性増殖

加茂 功

目 的

T細胞は胸腺によって分化、増殖する。この分化、増殖のためには胸腺内の非リンパ系細胞が深く関わっていることが指摘されている。この点、末梢の成熟型T細胞が IL-2 に直接依存して増殖するのは増殖機構を異にする。実際、成熟動物の胸腺リンパ球の3~4%のみが IL-2 レセプターを有しており、殆どどの胸腺リンパ球は IL-2 非依存性に増殖しているものと考えられている。しかしながら IL-2 非依存性の胸腺リンパ球の増殖に関する増殖因子や増殖機構については全く不明であった。胸腺内の非リンパ系細胞のうち、上皮性細胞やマクローファージ/デンドリティック細胞等についてはその性質がよく理解されるようになったが、骨格筋様細胞については生物学的意義が不明であった。クローン化筋様細胞を用いて実験を行なったところ、本細胞からはヘパリン結合性因子 (Mw.10000~14600) が生産されていたので、本因子の胸腺リンパ球増殖との関連を追求した。

材料と方法

動物：3~4週令 BALB/Cメスマウスの胸腺を使用。ピーナツレクチン (PNA) による胸腺リンパ球の分画：胸腺リンパ球をスティンレスメッシュで単一細胞集団とし、DNase 約50 μ g/mlを加えて遠心洗浄し、ペレットに0.1ml (100 μ g/ml) の PNA を加え5分間反応させた後あらかじめ用意した馬血清40%をふくむ培地上に重層し約30分放置し、PNA 反応集団と否反応集団とに分離した。二つの細胞集団を0.15Mガラクトースで10分間2度処理し、フリーの PNA を除去後培養に供した。培地：RPMI1640 + 5~10%の FCS を用いた。ヘパリン結合性因子の分離：ウイスターラット胸腺からクローン化した R615B2 細胞を用い、超音波で破碎後100,000G 1h 遠心後、ヘパリン-セファローズ CL-6Bを用いたアフィニティクロマトグラフィ法により部分精製し10000~14600の画分を得た。リンパ球増殖の測定：培養開始後48h, 72h, 96h, 120h, 144h 後、必要な時期に応じて 3 H-サイミジン0.1~0.2 μ Ci で8時間ラベルし、核への 3 H-サイミジンのとりこみを液体シンチレーターで測定した。

結 果

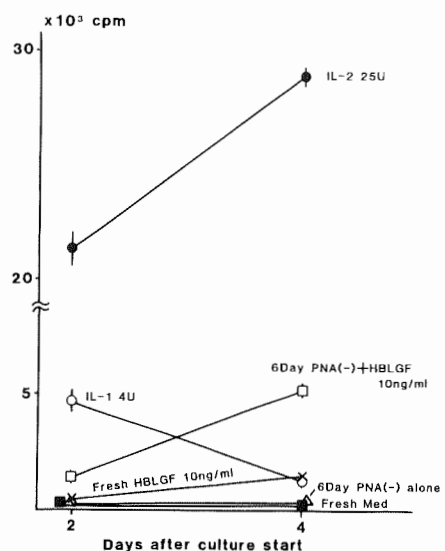
胸腺リンパ球を PNA 反応性リンパ球 (+) と非反応性リンパ球 (-) に分けてヘパリン結合性因

子への影響をみると PNA (+) 細胞は全く反応性を示さなかったのに対し、PNA (-) 細胞は微弱な反応性を48h アッセイで示した。培地を半量ずつ毎日交換したところ少なくとも6日目までは増殖が認められた。それ以後は培地の交換によってのみでは全く増殖を示さなくなるがリコンビナント IL-2 を添加すると著しい増殖が認められた。尚同様の結果は2ME単独でもより微弱ながら観察された。ヘパリン結合性因子存在下で培養後6日目の PNA (-) リンパ球の培養上清を回収し、新たに用意した PNA (-) リンパ球に加えたところ、この上清中にはヘパリン結合性因子や2ME単独にくらべて著しい増殖活性が認められた。

考 察

現在胸腺内リンパ球の増殖機構は全く不明なままであるが、今回観察したヘパリン結合性因子や2ME刺激によって、PNA (-) リンパ球集団より産生される因子は、胸腺内リンパ球の増殖に関与した因子と考えられる。本因子の作用機策は IL-1 と異なり、IL-2 依存性細胞 CTLL-2 の増殖をも全く促がさないところから、IL-1 や2とは異なる新たなリンパ球増殖因子と考えられるが IL-3, IL-4 等との異同について検討中である。

Proliferation of PNA(-) thymocytes in various growth media



新たに発見された脳奇形ラット (SRK) の臨床・神経病理学的研究

相川久志

Shaking rat Kawasaki (SRK) は江崎・津金らにより実験動物中央研究所にて維持されているウイスター系ラットの中から新たに発見された先天異常ラットである。

本ラットは常染色体劣性遺伝の遺伝様式をとり、生後30日頃まで生存する事が分かっている。今回、我々はSRKラットを病理学的に検索し主病変が神経細胞の移動障害である事を明らかにしたので報告する。

対象と方法

実験動物中央研究所にて維持されているSRKラット(生後20-24日)8匹,同腹の正常ラット4匹を用い、経心的に灌流固定を行い、内臓諸臓器、筋肉、中枢及び末梢神経を光顕・電顕的に検討した。

結果

1. 臨床・行動学的観察

SRKラットは発育の遅れが目立ち、生後24日目では対象ラットの約半分の体重であった。行動学的には生後10日目頃より全身の振戦、小脳失調症状、後肢麻痺などの神経症状を呈し、生後1か月以内に死亡した。

2. 一般臓器所見

SRKラットの肺、心臓、肝臓、腎臓、脾臓、胸腺の臓器重量は対象ラットの約半分であったが、体重比を計算すると肝臓、脾臓、胸腺が有意に小さい値を示した。組織学的には脾臓において細胞分化の遅れを示す以外細胞構築に異常を認めなかった。

3. 筋肉・末梢神経の組織学的所見

SRKラットの筋肉は筋線維が細く、各種酵素染色において筋線維の分別が悪く、筋の発育・分化の遅れが見られたが、壊死、再生・炎症などの病的所見は認めなかった。坐骨神経・神経根にも異常を認めなかった。

4. 中枢神経系の肉眼的所見

最も顕著な異常は小脳に見られた。SRKラットの小脳は正常の約4分の1の大きさで矢状断面でクローバー葉の形を示し、多くの場合、虫部と片葉を欠いていた。

5. 中枢神経系の組織学的所見

神経細胞が層構造を示す皮質構造部位、すなわち、大脳皮質、小脳、及び海馬に顕著な変化をみとめた。大脳皮質では皮質第1層である分子層が欠落し多数の神経細胞が存在していた。神経細胞の配列は乱れ、2-6層の層構造は認められなかった。海馬にても同様の神経細胞の配列異常を呈していた。小脳ではプルキンエ細胞が白質内に集合し、小脳深部核と共

に中心塊を形成していた(Fig-1)。顆粒細胞の数は著明に減少していた。

髄鞘形成はほぼ正常と思われたが、脊髓中心灰白質に正常に比較して染色性の高い部分が発見された。

髄膜・血管系は正常で炎症所見は認めなかった。

6. 小脳の電顕所見

中心塊を構成している細胞は電顕的にプルキンエ細胞の特徴を良く兼ね備えており、軸索-細胞体結合や、軸索-樹状突起結合などのシナプス結合は正常に認められた。

唯一の異常はプルキンエ細胞の周辺に認められた腫大した樹状突起であった。しかし、この浮腫状の樹状突起がどの細胞のものかは判定できなかった。

考察

Shaking rat Kawasaki (SRK) は常染色体劣性遺伝を示す脳形成不全ラットである。病変の主座は大脳皮質、小脳、及び海馬など神経細胞が層構造を呈する部位であり、神経細胞の配列異常が特徴である。この異常は神経発生学上、神経細胞の移動障害によるものと考えられる。

ウイスター系ラットの中では髄鞘形成不全ラットと水頭症ラットの先天奇形ラットが報告されているのみで、神経細胞の移動障害を示すものは報告されていない。更に、マウスに於いても神経細胞の移動障害を呈する先天異常マウスは、唯一 Reeler mutant mouse が知られているのみである。

SRKラットは神経細胞の移動障害を示す人間の先天性脳奇形、例えば、Down 症候群や福山型筋ジストロフィー症などに見られる厚脳回、小多脳回の病因・病態を解明する為の貴重な動物モデルと成りうるであろう。

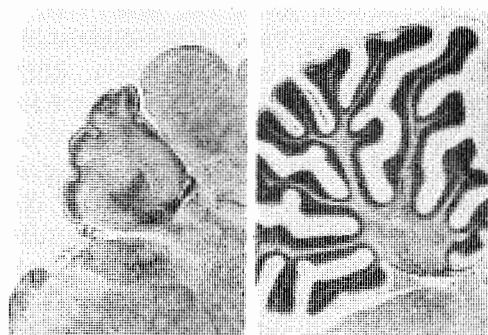


Fig.1 小脳矢状断面

左: SRK

右: 対照

H&E染色×100

筋分化と Thy-1 抗原の発現

菊池愛子, 藤沢加津美

Thy-1 抗原はTリンパ球など種々の細胞分化の指標としてだけでなく、ごく最近では自己免疫疾患や記憶応答との関係においても注目され始めている。また Thy-1 抗原は、筋細胞における、数少ない、細胞表面における分化抗原としても注目され、筋細胞の融合に関係するのではないかと考えられている。ヒト骨格筋でも、myoblast 時には Thy-1 (+) だが、myotube を作ると (-) になることが報告されている。筋細胞融合に細胞表面抗原の関係は非常に興味を持たれるが、何れも、蛍光抗体法による定性的な、Thy-1 (+)(-) という判定だけを論拠としていて、筋分化との関連は充分な検討が成されていないので、昨年度は Thy-1 抗原の定量法を確立した。今回筋分化に伴う Thy-1 抗原の生物学的意義がより明らかにする目的で、他の定量的筋分化の指標としてCK活性をとりあげ、マイクロプレートに培養した微量培養筋細胞のCK測定法に検討を加え、これらの基礎的検討の結果をもとに、Thy-1 抗原と筋分化の関連について追跡調査をした。

まず、それぞれ Thy-1(+) なB2と Thy-1(-) なAd 筋細胞クローンを well あたり 10^2 から 10^4 の巻き込み、培養4日目の Thy-1 抗原の発現を比較した。この時期にはB2は肉眼的にも筋管形成が認められるが、Ad は single cell のままで、この時期には如何なる抗体濃度でも細胞濃度でも Thy-1 抗原は定量的にも検出されなかった。ところでB2では培養2日目で行った基礎的検討の結果とは異なって、一定抗原 Thy-1 抗原検出値は細胞濃度に依存しなくなる。これは筋管形成に伴う、Thy-1 の発現の変化を量的に示されたものと考えられる。

そこでB2の Thy-1 抗原の経時的变化をさらに詳しく追ったところ、図のように、培養1日目、2日目には、細胞表面の Thy-1 抗原が相対的に同じか高い傾向を示したのに対し、4日目には、固定化細胞の Thy-1 抗原が表面の抗原量と同じかそれより高くなることがわかった。同じ培養4日目でも、筋管形成のされていない状態、即ち、培養密度が低くおかれたB2や、筋管形成能が元来著しく低いAdでは細胞密度が高くて、このような減少は見られなかった。そこで筋分化の程度を、cellular CKを指標として調べた。B2は、培養前には、LDH(-) CK(-) ですが、培養して蛋白あたりの比活性を経時的に調べると、LDHは培養日数に係わらず一定だが、CKは培養の進行と共に著しく

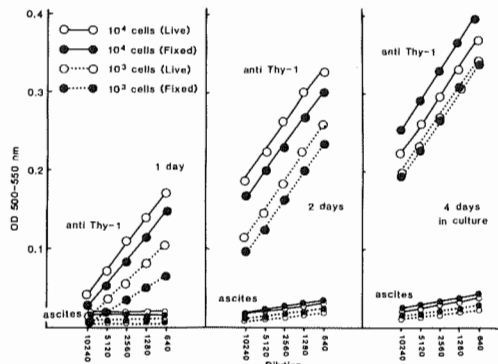
上昇し、CKがこの細胞においても、筋管形成の指標たりえることが分かった。

各細胞濃度でのCK活性と蛋白量の経時的变化を調べた結果、筋管形成能が劣るAdの場合、このように蛋白量の増加カーブはB2より急速に立ち上がっているが、CK活性の検出は非常に遅れ、しかもかなり低い値でしかなかった。これに対してB2では、Thy-1 と同様にCKの上昇パターンは、Thy-1 と同様に巻き込み細胞数によって異なるが、培養日数の経過と共に大きく上昇し、タンパクの増量カーブを、大幅に上回った。そして、巻き込み 10^2 の以外の細胞系では、CK値はすくなくとも、培養4日には検出された。cellular CKの上昇する培養4日目という時期は、上述の、Thy-1 抗原表現様式が変わる時期と一致していた。

まとめ

1. 筋分化の指標として、細胞内CK, LDH活性の変動を検討後、筋分化(この場合筋管形成)と Thy-1 抗原の発現を定量的に比較検討をした。
2. 筋管形成前 細胞表面 Thy-1 > 細胞内 Thy-1
LDH(+): CK(-)
筋管形成後 細胞表面 Thy-1 < 細胞内 Thy-1
LDH(+): CK(-)

さらに細胞固有の筋管形成能については、Thy-1 抗原の発現量を定量することにより、例えば今回の、B2のような筋管形成能優れた細胞とAdの様な劣る細胞を、培養一日で、Thy-1 抗原(+), (-) という判定を下し分別できることが示唆された。



電子伝達系酵素活性の変動性

古賀靖敏, 埜中征哉

はじめに

電子伝達系酵素欠損に起因したミトコンドリアミオパチーのうち、複合体 I および複合体 IV の欠損によるものが頻度が高い。これらの症例を検索していく中で、2 回以上筋生検を行い、分離筋ミトコンドリアの電子伝達系酵素活性値が変動している症例を経験した。臨床症状および筋組織化学所見は、酵素活性値の変化と平行していた。電子伝達系酵素活性が変動するという点から、ミトコンドリアミオパチーを診断する上での問題点について考察した。

対象および方法

対象は1981年より1986年までに当施設にて筋生検を2回以上行った4症例である。複合体 I + IV 欠損症3例、複合体 IV 欠損症(乳児良性型)1例である。生検筋のミトコンドリアは、Bockelmann の方法、電子伝達系酵素のうち、NADH-cytochrome c reductase, succinate-cytochrome c reductase, cytochrome c oxidase (CCO) を測定した。筋病理学的には、筋線維タイプ分布・筋線維径, ragged-red fiber (RRF) の出現率、チトクローム c 酸化酵素染色での染色性について検討を行い、酵素活性値、臨床経過とも合わせて考察した。

結果

表1, 2に酵素活性値および組織化学所見の変動を示す。症例1~3はいずれも最終的に複合体 I + IV の欠損症となった。経過を追った筋生検にて、初回に比し RRF の増加, CCO 染色性の低下などの組織化学所見の悪化を認めた。酵素活性値も初回は正常、もしくは軽度の低下を示していたが、後の生検では酵素欠損症のレベルまで活性値の低下を認め、これらの結果は臨床症状と平行していた。症例4は

乳児良性型複合体 IV 欠損症である。乳児期は floppy infant であり、初回の生検では、筋線維は細く、そのほとんどは RRF 化し、同時に Lipid の増加を認めた。CCO 染色性は全般的低下を示し、分離ミトコンドリアでの CCO 酵素活性も著明に低下していた。歩行可能となり、臨床症状もほぼ消失した時期には、筋線維は大小不同を認めるものの、RRF の著減, CCO 染色性の著明な改善, CCO 酵素活性の正常化を認めた。

結語

電子伝達系酵素欠損症では、酵素活性値および欠損部位のいずれもが変動しうることを生化学的および組織化学的に示した。RRF は、電子伝達系酵素欠損が明白な症例でも必ずしも認めるものではなく、また RRF を認める症例では、その頻度は臨床経過とよく相関していた。本症の診断には、CCO 染色を含めた組織化学および生化学的検索のいずれもが予後を推定する上で重要であることを示した。

表1

Table 2. Change in mitochondrial respiratory chain enzyme activities.

Patient	Age	Site of Biopsy	HCCR	SCCR	CCO	Deficient Enzymes
1	10y	lt. BB	21.7	51.8	76.6	Complex 1
	14y	rt. BB	21.5	82.2	11.6	Complexes 1, 4
2	18y	rt. RF	not examined			Complex 4
	20y	rt. BB	121.0	63.2	127.7	Complex 4
	25y	lt. BB	16.8	287.0	40.0	Complexes 1, 4
3	51y	lt. BB	125.0	66.2	324.0	Focal complex 4*
	55y	lt. BB	25.7	86.3	65.1	Complexes 1, 4
4	8m	lt. RF	163.8	321.0	37.6	Complex 4
	4y5m	lt. RF	209.7	281.7	74.7	Focal complex 4*

numbers were expressed as % of control mean value

HCCR : 226.9 ± 119.6 (Mean ± SD)

SCCR : 232.9 ± 96.6

CCO : 270.7 ± 133.0 (nmoles/min/mg-protein)

* : diagnosed as focal CCO deficiency by histochemical staining.

BB : biceps brachii RF : rectus femoris

表2

Table 1. Change in histochemical findings and clinical course

Patient	Age at Biopsy	Number of Muscle Fibers Measured	Fiber-type Distribution and Diameter				Incidence of Ragged-red Fibers (%)	Incidence of CCO-negative Fibers (%)	Clinical Course
			Type 1	Type 2A	Type 2B	Type 2C			
1	10y	575	50.9 ± 31.2	30.1 ± 24.9	17.3 ± 23.2	1.7 ± 5.2	6.5	16.3	diffuse progressive
	14y	530	64.7 ± 43.2	16.9 ± 43.2	16.9 ± 34.0	1.9 ± 7.8	14.2	diffuse	
2	18y	475	30.9 ± 44.6	37.0 ± 48.7	11.6 ± 7.5	0	2.3	23.6	diffuse progressive
	20y	454	53.3 ± 45.4	37.0 ± 41.4	9.7 ± 9.0	0	22.5	32.5	
	25y	382	34.6 ± 41.2	34.5 ± 51.4	11.0 ± 21.4	0	55.5	diffuse	
3	51y	512	40.3 ± 48.8	37.2 ± 37.6	22.5 ± 33.2	0	1.6	6.4	diffuse progressive
	55y	416	29.1 ± 45.0	36.8 ± 36.4	33.2 ± 26.0	1.0 ± 8.6	1.2	12.3	
4	8m	812	45.8 ± 17.7	46.5 ± 16.4	2.0 ± 4.2	5.8 ± 11.2	75.2	diffuse	improved
	4y5m	426	87.5 ± 20.4	9.7 ± 19.8	0.9 ± 4.3	1.9 ± 0.8	25.0	33.2	

The value in parenthesis is expressed by the mean diameter ± SD (in μm)

10. 機能研究部

1. 研究部一年の歩み

昭和61年度において、本研究部で研究にたずさわったのは、小沢鏝二郎、木村一郎、斎藤公司、萩原康子、庄司明子、野呂知加子、岡村和夫、と後藤八重であり、川合陽子と保土原勝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）および若林建之（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、研究生として斎藤加代子（東京女子医科大学小児科学教室）が参加した。

昭和54年1月1日より、当部室長として研究その他に於いて大きく貢献した木村一郎は昭和62年3月31日付で退職、同年4月1日より新設の早稲田大学人間科学部人間基礎科学科、教授として教育にたずさわることとなった。一方、米国南カリフォルニア大学神経内科学教室に客員教授として招へいされていた斎藤公司是、昭和61年7月末帰部した。なお、流動研究員庄司明子は、昭和61年4月30日退職、米国ペンシルヴェニア大学微生物学教室、梶昭教授のもとに留学した。

新たに本研究部に加わったものは二名であった。岡村和夫は埼玉大学理工学部生化学科を卒業後、岡山大学理学部にて修士を、九州大学理学部、西村光夫教授のもとで博士号を取得した。昭和61年6月15日より本研究部流動研究員となった。保土原勝子は、昭和61年5月1日より週3日勤務している。

当研究部では筋細胞の成長と分化にかかわる因子について研究している。その一つにトランスフェリン (Tf) がある。Tf の欠乏により細胞周期のS期に留まる細胞が、可逆的に増加すること（野呂ら）、また局所麻酔薬ジブカインが、非常に低い濃度で Tf のとり込み（内部化）を抑えること（萩原ら）が見出された。

また他の因子としてニワトリ胚抽出液に含まれる線維芽細胞成長因子様物を既に部分精製していたが、今回はヘパリンアフィニティカラムを用いて高い精度の標品を得ることができた（木村と後藤）。

筋疾患で最も重要な症状の一つは、収縮能の低下である。筋疾患において、筋の再生や発生の研究が重要であることが叫ばれてから長い年月が経つが、現在までそれらの時期の筋の収縮能に関する研究は全くといっていい程存在しなかった。斎藤らは数年来この問題について研究を行い、培養細胞の収縮能の測定法、その他について世界の先鞭をつけて来ている。これらの研究は地味で現在のところあまり脚光をあびるに至っていないが、筋疾患の回復の理解の上で将来非常に重要なものとなることと思われる。

（部長 小沢鏝二郎）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Saito K, Ozawa E:
Contraction of cultured chick myotubes induced by electrical stimulation
Biomed Res 7 : 69-77, 1986
- 2) Saito K, Ozawa E:
Caffeine contracture in the cultured chick myotube
J Cell Physiol 129 : 289-294, 1986
- 3) Hagiwara Y, Saito K, Atsumi S, Ozawa E:
Iron supports myogenic cell differentiation to the same degree as does iron-bound transferrin
Develop Biol 120 : 236-244, 1987
- 4) Shimo-Oka T, Hagiwara Y, Ozawa E:
Class specificity of transferrin as a muscle trophic factor
J Cell Physiol 126 : 341-351, 1986
- 5) Shoji A, Ozawa E:
Necessity of transferrin for RNA synthesis in chick myotubes
J Cell Physiol 127 : 349-356, 1986

b. 著書

- 1) Ozawa E, Saito K, Hagiwara Y, Shoji A, Saito K, Atsumi S:
Inorganic iron ion supports muscle growth and differentiation as iron-bound transferrin dose
Molecular Biology of Muscle Development (ed by Emerson C, Fisherman E, Nadal-Ginard B and Siddiqui MAQ), Alan R Liss, New York, p143-152, 1986

c. 総説

- 1) 木村一郎, 後藤八重:
へパリンカラム法：細胞成長因子の精製への利用
細胞 19 : 68-72, 1987

II 研究業績

d. 班会議報告書

1) 小沢鏝二郎 :

筋管細胞に対するトランスフェリンの作用機構

文部省特定研究・多細胞体制の形成機構, 昭和58~60年度研究成果報告書, p 112-113, 1987

2) 小沢鏝二郎, 木村一郎, 後藤八重

ニワトリ胚由来へパリン結合性成長因子の精製と筋芽細胞に及ぼす効果

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61年度班会議報告書
34-41, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

b. 国際学会

1) Ozawa E, Shoji A :

Cellular and molecular mechanisms of muscle cell degeneration due to transferrin deficiency

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, July 8, 1986
(Muscle Nerve 9 (suppl) : 261)

2) Saito K, Kobayashi T, Askanas V, Engel W K, Ishikawa K :

Electrical parameters of human muscle cultured in monolayer aneurally and innervated by rat spinal cord

VI International Congress on Neuromuscular Diseases, Los Angeles, July 8, 1986
(Muscle Nerve 9 (suppl) : 161)

c. 一般学会

1) 木村一郎, 後藤八重, 小沢鏝二郎 :

鶏胚抽出物由来の筋芽細胞増殖促進因子のへパリンアフィニティーカラムによる精製

第57回日本動物学会大会, 福岡, 10.11, 1986

(Zoological Science 3 (suppl) : 1004, 1986)

2) 萩原康子, 小沢鏝二郎 :

ラット培養筋細胞における Trsferrin の取り込みと放出に及ぼす dibucaine の抑制効果

第60回日本薬理学会総会, 千葉, 3.31, 1987

(Japan J Pharmacol 43 (suppl) : 229p, 1987)

3) 野呂知加子, 小沢鏝二郎 :

細胞増殖における鉄イオンの役割

第19回日本発生生物学会, 筑波, 5.16, 1986

(Develop Growth & Differ 28 (suppl) : 383, 1986)

4) 後藤八重, 木村一郎, 小沢鏝二郎 :

鶏胚抽出物由来へパリン結合性成長因子の精製と筋芽細胞に及ぼす効果

第39回日本細胞生物学会大会, 東京, 10.15, 1986

(Cell Structure and Function 11 (suppl) : 451, 1986)

C. 班会議発表

1) 木村一郎, 小沢鏝二郎 :

ニワトリ胚抽出物由来へパリン結合成長因子の精製と筋芽細胞に及ぼす効果

厚生省神経疾患研究班

昭和61年度班会議, 東京12.8, 1986

3. 主な研究報告

ニワトリ培養筋管細胞収縮要素の2価イオン感受性

斎藤 公司, 小沢 鎮二郎

骨格筋細胞の収縮機構の発生・発達について、我々はこれまでにニワトリ培養筋細胞を用いて次のことを明らかにしてきた。収縮能は細胞膜が興奮性を獲得する以前に現われること、収縮をひきおこすCaイオンは細胞内の貯蔵部位から供給されること、Ca貯蔵能は筋管細胞の成長と共に発達してくることなどである。今回、培養筋管細胞の収縮張力を記録する方法を開発し、収縮要素の2価イオンに対する感受性を調べた。

方法

ニワトリ培養筋管細胞をサポニン処理して膜に穴をあけ、収縮要素が直接細胞外液に触れるようにした。その後、実体顕微鏡下で1本の筋管細胞をポリエステル糸(～10μm)でしばり、筋管細胞が発生する張力を記録した。また位相差顕微鏡下で筋管細胞上にガラス小粒をのせ、この小粒の、収縮に伴う動きをフォトトランジスタで検出・記録することも行った。細胞外液にはMg-ATPを含むEGTA-bufferを用い、Caイオン濃度を調節した。

成績と考察

作成した筋管標本を入れた浴槽の容量は、0.3mlである。0mM Caイオン液(弛緩液)を、11秒間かけて閾値以上のCaイオン濃度の液2mlで置き

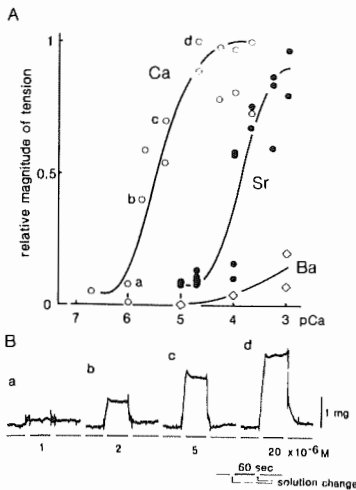


図1. A: 2価イオン濃度と発生張力の大きさとの関係。B: Caイオンによって生じた張力の実際の記録で、Aのグラフの中に示したa-dと対応している。

かえると張力が発生した(図1.B)。60秒間張力を記録し、これを時間で積分して張力の大きさを求めた。弛緩液を種々のCaイオン濃度の液に置きかえて、発生した張力の大きさを測定してグラフに表わしたものが図1.Aである。Caイオン濃度 10^{-6} M位から張力が発生し、 2×10^{-5} Mではほぼ最大に達している。次に、張力発生時のCaイオンの閾値濃度を詳しく調べた。すなわち張弛液中においた別の筋管細胞に、マイクロピペットを用いて閾値濃度付近のCaイオンを含んだ液を適用し、筋管細胞上のその近くに置いたガラス小粒の動きで収縮を観察した。この方法では筋管細胞の一部分の収縮をみることになるが感度は高い。このようにして記録した収縮の例を図2に示した。図2.Aの標本ではCaイオンの閾値濃度は 2×10^{-7} Mであり、Bでは 8×10^{-7} Mであった。これらの値を含めてまとめると、収縮をおこすCaイオンの閾値濃度は $5.7 \pm 2.5 \times 10^{-7}$ M (mean \pm SD, n = 15)であった。

Srイオン、Baイオンに対する感受性を調べたところ、収縮をおこす閾値濃度はそれぞれSr、 10^{-5} M; Ba、 10^{-4} Mであり、最大収縮はSrイオンでは 10^{-3} Mではほぼ達したがBaイオンでは達せず 10^{-3} Mでも小さな張力しか発生しなかった(図1.A)。

以上の成績はカエル骨格筋の速筋で報告されている成績と同様であった。今回用いた標本は速筋の胸筋由来のものである。ニワトリ筋は神経支配に関係なく速筋と遅筋に分化するという報告があり、本実験の成績もこれを支持する。また、収縮要素は培養下でもin vivoと同様に分化・発達してくることが示された。

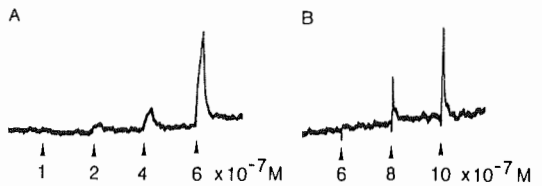


図2. 閾値濃度付近のCaイオンによって生じた収縮。標記の濃度のCaイオンを含む液をマイクロピペットで、Aでは10秒間、Bでは1秒間、それぞれ60秒毎に適用した。

ラット培養筋細胞におけるTransferrinの取り込みと放出におよぼすdibucaineの抑制効果

萩原 康子, 小沢鏝二郎

培養筋細胞の成長や分化が, transferrin (Tf) の欠乏あるいは dibucaine (DC) によって可逆的に抑制されることを我々は報告して来た (Biomed. Res. 1982, J. Pharmacobio-Dyn. 1985)。Tf は鉄輸送の担体として働いているタンパク質であり, 細胞表面のTf 受容体に結合して共に細胞内に取込まれる。その後, 結合体のまま細胞表面に戻り Tf は細胞外へ放出される。この過程の細胞内において, Tf に結合していた鉄は Tf から離れ細胞内に残る。一方我々は鉄が筋細胞の成長や分化に必須であることを報告して来た (Develop. Biol. 1987)。今回は, ラット筋細胞 (L6) における細胞増殖と Tf 取込みへの DC の抑制作用を検討した。

方法

1) 細胞増殖に及ぼす DC の効果は, L6 細胞を 3×10^5 /dish (35mm) まき, 90% Eagle's MEM-10%胎児牛血清の培養液中で培養して調べた。細胞が培養皿に付着した後に, DC あるいは対照液を培養液に添加して, 一定時間培養した後の細胞数を測定した。

2) 鉄の細胞内蓄積, Tf の取込みと放出におよぼす DC の効果は, DC 無添加 1) の培養液で 2 日培養した細胞を用いて調べた。

培養皿の培養液を除き, 付着している細胞を緩衝液 *1 で 2 回洗浄した。Tf を含んでいない binding solution *2 中で 37°C , 30-60 分間加温後, DC あるいは対照液を添加してさらに 30 分加温した。binding solution を除き, 冷緩衝液で 1 回洗浄した。 ^{55}Fe -Tf および ^{125}I -Tf を含む binding solution (DC(+)) or DC(-)) を加えて, それぞれの温度で incubation の後, 溶液を除き, 冷緩衝液で 5 回洗浄した。

細胞表面の Tf の測定

0.1M acetic acid-0.5M NaCl 緩衝液 1 ml を加え, 4°C , 6 分間 incubation して細胞表面の Tf 受容体と結合している radioactive Tf を遊離後, 冷 PBS 0.5 ml で 1 回洗浄し, 両液を一緒にして放射活性を測定した。

細胞内 Tf と Fe の測定

2 N NaOH で細胞を溶かして, 細胞内に取込まれた放射活性を測定した。

* 1: 2.5% ニワトリ血清を含む Hank's solution (10mM HEPES, pH7.45)

* 2: 5% ニワトリ血清を含む Hank's solu-

tion (10mM HEPES, pH7.45); 鳥類の Tf は哺乳類の Tf 受容体に対しては affinity が低いのでニワトリ血清を含む binding solution を用いることができる。

結果と考察

DC は L6 細胞の増殖を濃度依存的に抑制し, 抑制作用を示す濃度の half maximum は約 $200 \mu\text{M}$ であった。 ^{55}Fe -Tf を用いて L6 細胞への鉄の蓄積を調べた結果, $200 \mu\text{M}$ DC 存在下では鉄の細胞内蓄積が 30 分では対照の約 $1/2$, 120 分では約 $1/3$ に抑制された。Tf と Tf 受容体の結合は $200 \mu\text{M}$ DC によって影響を受けなかったが, Tf の細胞内への取込みおよび細胞外への放出速度が $200 \mu\text{M}$ DC 存在下では低下した (図 1)。 $200 \mu\text{M}$ DC 存在下では, Tf-Tf 受容体の細胞内への取込みはかなり遅れ (図 1A), 細胞内に留まっている時間も長かった (図 1B, C)。

これらの結果は, DC が Tf-Tf 受容体を介する鉄の取込みを抑制していることを示している。細胞の増殖, 成長や分化には鉄が必須であるから, DC による増殖の抑制は少なくとも部分的には細胞への鉄の取込みの抑制によっていると考えられる。

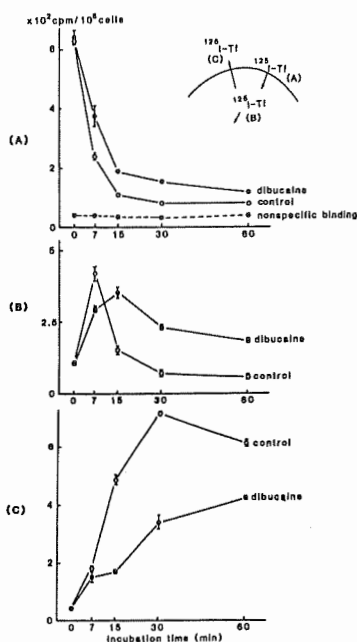


図 1. ^{125}I -Tf を加え, 4°C で 60 分間 incubation して Tf 受容体と結合させた後, 冷緩衝液で 5 回洗った。その後, 37°C でそれぞれの時間加温し, それぞれの分画にある放射活性を測定した。(A) 細胞表面に結合している Tf (B) 細胞内部に存在している Tf (C) 細胞外液に放出された Tf

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) は増殖因子として知られ、その作用は細胞内に鉄を効率よく運ぶことにあると言われている。細胞内に入った鉄は、いろいろな代謝系路に参与し、酸化還元反応を媒介することがわかっているが、我々は特に DNA 合成に着目して、増殖と鉄との直接の関係をさぐるうと考えた。

材料と方法

マウス胚細胞由来のガンであるテラトカルシノーマ幹細胞株 F9 を用いた。この細胞は非常に増殖が早く、世代時間が10時間以下である。胚細胞は、DNA 複製開始点の数が多く、従って DNA 合成速度が速いと考えられるので上記のテーマには最適である。

また、鉄キレート剤 Desferrioxamine (DFx) を利用して、培養液中の遊離鉄イオン及び細胞内の鉄プールを除去した場合の増殖、DNA 合成等の変化と、鉄添加によるその回復を調べた。

基本培養液 PIACS (イーグル MEM にピルビン酸、インスリン、アスコルビン酸、5% ニワトリ血清—F9 が反応する Tf を含まない—を加えたもの) を用いた。細胞増殖は、培養皿あたりの DNA 量を指標とし、細胞の DNA, RNA, タンパク合成は、それぞれ ³H-チミジン、ウリジン、ロイシンの取込み量で判定した。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。

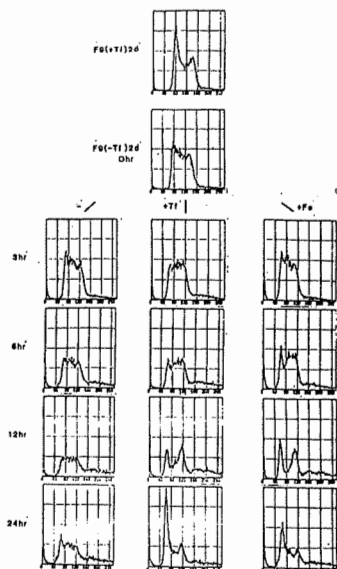


図1 鉄, トランスフェリンの有無による F9 細胞周期の変化

結果と考察

1) F9 細胞は Tf または鉄 (FeCl₃) の存在に対応して増殖した。至適濃度はそれぞれ、10~100 μg/ml (0.25-2.5 μM Fe) 及び 3~100 μM であった。この結果から Tf の作用は鉄におきかえられること、しかし Tf は鉄を効率よく細胞に与えることが、この細胞に関しても確かめられた。

2) Tf または鉄非存在下で2日間培養した細胞の細胞周期を調べてみると、S期にある細胞の割合が著しく増大した (図1)。この状態の細胞に Tf あるいは鉄を添加すると、細胞周期が動き始めることから (図1)、鉄非存在下では、細胞はS期に停止していることがわかった。

3) DFx の細胞の DNA 合成に対する効果を調べた。100 μM の DFx 添加後5時間で、DNA 合成はほとんど抑えられた (図2)。添加後3時間目に100 μM の FeCl₃ を加えると DNA 合成は急速に上昇した。この時の細胞周期を調べてみると、DFx 処理で細胞周期は G₁~S期に止まり、鉄添加により動いていくことが確かめられた。一方、RNA およびタンパク合成は、これらの処理によってほとんど影響を受けなかった (図2)。従って、DNA 合成活性は、鉄の存在に対応して急速に変動すると言える。

以上の結果より、細胞増殖には鉄が必須であり、この鉄を効率よく取り込むために Tf が重要である。鉄の作用はまず DNA 合成に関わると考えられ (速い変化)、RNA, タンパク合成については、関係があるとしても遅い変化である。このことから鉄は直接 DNA 合成系に参与することが示唆された。

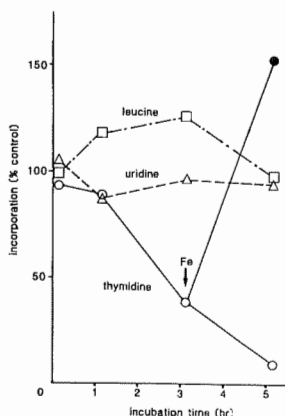


図2 Desferrioxamine 処理による DNA, RNA, タンパク合成の変化

鶏胚抽出物由来ヘパリン結合性成長因子の精製と筋芽細胞に及ぼす効果

後藤 八重, 木村 一郎, 小沢鏝二郎

鶏胚抽出物 (Embryo Extract: EE) を鳥類の骨格筋培養細胞に作用させると筋芽細胞の増殖促進と筋管細胞形成・分化の遅延が認められる。先に我々は EE からこれらの作用を示す線維芽細胞成長因子 (FGF) 様の因子の部分精製を行い報告した (Ii et al. *Develop. Growth Differen.* 27: 717, 1985)。今回, FGF の精製に有効であることが知られているヘパリンセファロースアフィニティークロマトグラフィーを用いてこの因子をさらに精製することを試み, 筋芽細胞に及ぼす効果を検討した。

方法

13日目鶏胚を0.9% NaCl と共にホモジナイズし, HCl で pH3.5 にして2時間攪拌した。NaOH で pH6.0 とし遠心して上清を集め, これに CM-Sephadex C-50ゲルを加えて吸着させた。ゲルをカラムにつめて0.2M NaCl で洗った後, 0.5M NaCl で溶出した。この画分をヘパリンセファロースカラムに吸着させ, 1M及び2M NaCl で段階的に溶出した。アッセイは, 9日目ウズラ胚胸筋から得た myoblast rich な二次培養細胞と皮膚由来の初代培養線維芽細胞を用いた。増殖の指標として DNA 量, 筋分化の指標としてクレアチンキナーゼ活性を測定した。

結果と考察

図1に示すように, 対照 (A) が筋管細胞を形成しているのに対し, ヘパリンセファロースカラムから2M NaCl で溶出した画分 (H2画分) を細胞培養に用いる (B) と筋芽細胞増殖促進と筋管細胞形成遅延の強い活性が認められた。比活性は EE の約 10^4 倍で, ng/ml の濃度で効果を示した。SDS-PAGE で分子量15,000と17,000付近に主な二本のバンドが認められ (図2), 高速液体クロマトグラフィーによるゲルろ過においても分子量約15,000付近に活性が認められたことから電気泳動で認められた二本のバンドのうち一方あるいは両方が FGF 様因子と考えられた。H2画分はアルカリ処理にはやや安定だが, 酸, 熱, protease, メルカプトエタノール処理に対しては不安定であった。市販の高純度な bovine basic FGF と比較したところ, H2画分は basic FGF と同程度の濃度で増殖活性や筋管細胞形成遅延の活性を示した。この画分は線維芽細胞の増殖も同程度の濃度で促進するが, 増殖促進効果は線維芽細胞に比べ筋芽細胞の方が著しく速やかに現れた。以上より, EE 中には筋芽細胞の増殖・分化に関与する FGF 様因子が存在し, *in vivo* において筋芽細胞の発生あるいはサテライトセルの増殖に重要な働きをするものと考えられる。

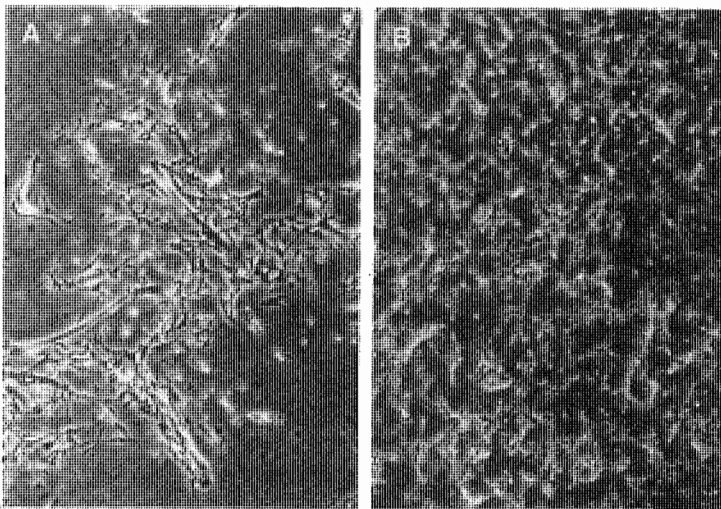


図1

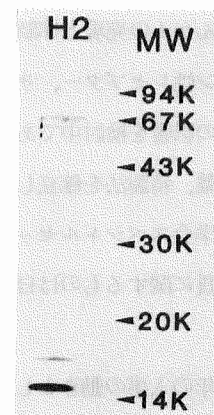


図2 H2画分のSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (銀染色)

11. 代謝研究部

1. 研究部一年の歩み

中枢神経系細胞の生体膜の発達とその障害についての生化学的研究を行いつつある。現在ミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイトの分離、培養を行い、ミエリン構成蛋白の合成と、その調節因子について検討中である。また生体膜構成リン脂質の一つであるイノシチドの分析とその生体作用について検討中である。

一方脳発達障害にしばしば伴うてんかんについて、神経細胞生体膜の生化学的作用の面からその発現機序の研究をすすめてつある。生体膜のレセプター、酵素、イオンチャンネルなどが研究の対象となる。

現在進行中の研究を次のように群別できる。

1) ミエリン形成と関連蛋白

単離、培養したオリゴデンドロサイト (OLG) 中でミエリン特異蛋白としてのミエリン塩基性蛋白 (MBP) の生成が極く少い。しかし脳細胞の混合として培養すると MBP の生成が認められたため、神経細胞などの生成促進因子について検討中である。他のミエリン関連蛋白として、神経細胞軸索周辺、OLG にも存在するとされるミエリン関連糖蛋白 (MAG) を単離、精製し、神経細胞表面の認識蛋白との関係を検討中である。その他 OLG の細胞骨格として微小管、アクチンフィラメントの存在を報告してきたが、さらに微小管重合に関与するとされる microtubule-associated proteins (MAPs) の存在を示した。これらの研究を日本神経化学会および日本生化学会に報告した。

2) 生体膜作用とてんかん

てんかんの発現と抑制機序についての生化学的研究を行いつつある。脳のイノシチドレスポンス、ムスカリン性レセプター、サイクリックヌクレオチドに対するけいれん剤、刺激性アミノ酸 (グルタミン酸など) の影響を検討中である。またトリホスホイノシチドとその構成成分であるイノシトールトリリン酸の分離、精製法を確立し、その化学的性質を検討した。これらの研究のてんかんに関するものは日本てんかん学会スペシャルセッション、日本生化学会に報告し、第2回国際神経科学会議に報告予定である。また脂質に関するものは日本生化学会、日本薬学会に報告し、第11回国際神経科学会議に報告予定である。

本年の人事の動きとして新たに流動研究員として大原たかね (名古屋大、理学部 大学院卒) が参加した。名大、大学院時代は有精卵発育時の Ca 動態についての研究を行った。熊谷博道 (旭硝子、研究開発部) は引き続き研究生として研究中である。

(部長 宮本侃治)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :
Correlation between inositide response and seizure-related substances as well as anti-epileptic drugs
Jpn J Psychiat Neurol 40 : 357-360, 1986
- 2) Miyamoto K, Yamagami S :
Approaches to epilepsy via biological chemistry-Currently applicable approaching methods to epilepsy
Jpn J Psychiat Neurol 40 : 371-373, 1986
- 3) Kumagai H, Imazawa M, Miyamoto K :
Unusual morphological changes in cultured oligodendrocytes induced by cytochalasin B
Develop Brain Res 27 : 270-274, 1986
- 4) Abe K, Kogure K, Yamamoto H, Imazawa M, Miyamoto K :
Mechanism of arachidonic acid liberation during ischemia in gerbil cerebral cortex
J Neurochem 48 : 503-509, 1987
- 5) Kumagai H, Sato N, Imazawa M, Tabira T, Miyamoto K :
The cytoskeleton of cultured oligodendrocytes
Neurochem Res 11 : 1778-1779, 1986
- 6) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :
Effect of various seizure-associated compounds on biochemical functions related to inositide cycle
Jpn J Psychiat Neurol, in press
- 7) Miyamoto K, Ogawa N :
Approaches to epilepsy via biological chemistry-A step toward elucidating the biochemical mechanisms of epileptic seizures
Jpn J Psychiat Neurol, in press

II 研究業績

b. 著 書

1) 宮本侃治：

てんかん

生化学的精神医学（西村健ら編）星和書店，東京，p 380-414, 1986

2) 宮本侃治，佐藤光源，鈴木二郎：

研究のあゆみと現状および将来への展望，基礎研究

てんかん制圧への行動計画（秋元波留夫編）日本てんかん協会，東京，p 55-63, 1986

3) 清野昌一，宮本侃治：

抗てんかん薬治療の基礎—血中濃度を中心として

てんかん薬剤治療の実際（和田豊治編）大日本製薬，大阪，p 249-291, 1986

d. 班会議報告書

1) 宮本侃治，今澤正興，中嶋一行：

培養オリゴデンドロサイトのミエリン特異蛋白質

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61年度研究報告書，

p 81-85, 1986

2) 宮本侃治，田口文子，今澤正興：

けいれん発現と脳生体膜

厚生省神経疾患・難治てんかんの予防と対策に関する研究班，昭和61年度研究報告書，

p 11-15, 1986

B. 学会発表

a. 特別講演，シンポジウム

1) 宮本侃治，小川紀雄：

てんかんへの生物化学的接近—けいれん発現の生物化学的機序へのステップ

第20回日本てんかん学会，スペシャルセッション，東京，11.29, 1986

2) 宮本侃治，田口文子，今澤正興：

けいれん発現物質のイノシチドサイクルに対する影響

第20回日本てんかん学会，スペシャルセッション，東京，11.29, 1986

c. 一般学会

- 1) 宮本侃治, 田口文子, 今澤正興 :
けいれん関連物質とイノシチドレスポンス (PI-response)
第10回神経科学学術集会, 大阪, 12. 5, 1986 (予稿集 p 45)
- 2) 田口文子, 今澤正興, 宮本侃治 :
けいれんの機序とイノシチドサイクルについて
第59回日本生化学会, 西宮, 9.21, 1986 (生化学 58 : 931)
- 3) 今澤正興, 奥村展枝, 田口文子, 宮本侃治 :
CM セルロースカラムによる脳ポリホスホイノシチド (PPI) の調製
第59回日本生化学会, 西宮, 9.21, 1986 (生化学 58 : 773)
- 4) 今澤正興, 田口文子, 宮本侃治 :
Inositol 1,4,5-trisphosphate の簡易調製法について
第10回神経科学学術集会, 大阪, 12.5, 1986 (予稿集 p 45)
- 5) 中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治 :
ニワトリ脳のミエリン形成期に存在する他のミエリン塩基性タンパク (MBP₂) について
第29回日本神経化学会, 岡山, 10.31, 1986 (神経化学 25 : 238-240)
- 6) 中嶋一行, 熊谷博道, 今澤正興, 宮本侃治 :
多様性を認めたニワトリ脳のミエリン塩基性タンパク (第3報)
第59回日本生化学会, 西宮, 9.21, 1986 (生化学 58 : 936)
- 7) 島村道夫, 大原たかね, 今澤正興, 宮本侃治 :
逆相系 HPLC による myelin associated glycoprotein (MAG) の精製
第59回日本生化学会, 西宮, 9.21, 1986 (生化学 58 : 937)
- 8) 熊谷博道, 佐藤七枝, 今澤正興, 宮本侃治 :
オリゴデンドロサイトの微小管結合タンパク質 (MAPs) について
第59回日本生化学会, 西宮, 9.21, 1986 (生化学 58 : 938)

C. 班会議発表

- 1) 宮本侃治, 今澤正興, 中嶋一行 :
ミエリン形成に関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治療に関する開発的研究班, 昭和61年度班会議, 東京,

II 研究業績

2.21, 1987

2) 宮本侃治, 今澤正興, 田口文子 :

けいれん発現と脳生体膜

厚生省神経疾患・難治てんかんの予防と対策に関する研究班, 昭和61年度班会議, 東京,

2.12, 1987

D. 研究会など

1) 宮本侃治 :

抗てんかん薬の作用機序

岡山大学脳研夏期セミナー, 岡山, 7.14, 1986

2) 宮本侃治 :

抗てんかん薬の血中濃度から生化学的作用機序への接近

金沢医科大学神経科学セミナー, 金沢, 8.27, 1986

3. 主な研究報告

培養神経系細胞とミエリン塩基性タンパク

中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治

ミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイト (OLG) は, ミエリン特異タンパクであるミエリン塩基性タンパク (MBP) および 2',3'-cyclic AMP 3'-phosphodiesterase (CNP) を生成すると報告されている。しかし前報のように単離した OLG を培養した場合に, CNP は *in vivo* での最大活性の程度まで増加するが, MBP 量の増加は非常に少ないことが認められた。そこで OLG の成熟には他種の神経系細胞の関与が推測され, 脳細胞を混合として培養し, MBP, CNP の変動を検討した。

材料と方法

OLG はふ卵13日および17日のニワトリ脳より既報のように単離した。脳細胞の混合培養にはふ卵12日の胚脳をトリブシン処理後, 口過したものをを用いた。ニューロンはふ卵7日の胚脳の細胞を分離し, DMEM (insulin および transferrin 添加) 培地により5日間培養の上清を用いた。細胞の培養上清を硫酸80%飽和沈殿, Sephadex G-25 カラムで脱塩したものをを用いた。MBP は我々の開発した酵素イムノアッセイ法により, CNP 活性は Spinkle 法により測定した。

結果と考察

脳細胞の混合培養の際の MBP と CNP の変化を経時的に30日まで測定すると, MBP は10から約75ng/mg protein に, CNP は40から約300 nmol/min/mg protein に増加した (表1)。この値はふ卵20日脳から分離した OLG の *in vivo* の MBP 値の約 $\frac{1}{4}$ 程度に相当し, また *in vivo* の CNP 値に匹敵する。混合培養の全細胞数中の OLG 数 (数%)¹⁾ を考慮すると, この MBP 値は *in vivo* の値に匹敵し, CNP 値は数倍高値となる。これは OLG 以外の細胞にも CNP が存在することを示唆する。

この結果から OLG 中のミエリンの生成には他種細胞の関与が示唆され, 発達早期 (ふ卵6日) の神経細胞, ミエリン形成開始前 (ふ卵13日) のアストロサイトなどの影響を検討中である。まず最近ニューロンの培養上清によりラット脳混合培養系で抗 MBP 染色細胞が増加すると報告され²⁾ たため, ニワトリ胚脳のニューロン培養上清を脳細胞混合培養に添加すると, MBP 生成が促進される (図1) が, OLG 単離培養系では促進を示さず, さらにそ

他の細胞系の関与によるものと考察され, 検討中である。

文献

- 1) Barbarese E, Pfeiffer SE: Proc Natl Acad Sci USA 78: 1953-1957, 1981
- 2) Bologna L, Aizenman Y, Chiappelli F, de Vallis J: J Neurosci Res 15: 521-528, 1986

	CNP	MBP
	nmol/ min/mg protein	ng/mg protein
cells from e-13d (days in culture)		
0	40	10
10	200	40
20	250	50
30	300	70-80
isolated OLG from e-20 d	313	270

表1 脳細胞混合培養における MBP 量と CNP 活性の変化

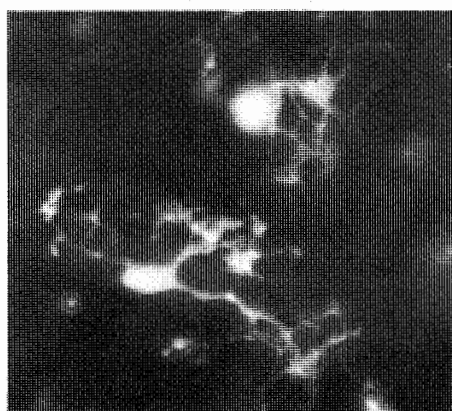


図1 脳細胞混合培養における抗 MBP 抗体染色細胞
ふ卵13日胚脳細胞の混合培養15日目。
抗 MBP 抗体を用いた間接蛍光抗体法。

けいれん関連物質と脳生体膜

田口文子, 今澤正興, 宮本侑治

けいれん発現機序について, 神経伝達物質やホルモンにより活性化されてセカンドメッセンジャーを生じるイノシトレスポンス (PIレスポンス), およびそれと関連した生体膜機能の面から検討中である。

けいれん促進性のカルバコール (CCh) と抑制性のノルエピネフリン (NE) が共に PI レスポンスを促進することを認めたため, 今回は PI レスポンスとそれに関連するムスカリン性アセチルコリン受容体について, けいれん関連性薬物の効果の面から検討した。

材料と方法

PI レスポンスはラット大脳皮質スライスを用いて Berridge らの方法により測定した。イオン濃度の影響はスライスを洗浄後, Na 除去には緩衝液中の NaCl と NaHCO₃ の代わりにトリス塩酸を用い, Ca 減少には Ca-イオノフォアと EGTA を用いた。ムスカリン性アセチルコリン受容体は大脳皮質膜画分を用い, ³H-quinuclidinyl benzilate (QNB, 0.6 nM) により測定した。

結果および考察

PI レスポンスは CCh の他に刺激性アミノ酸であるグルタミン酸, イボテン酸によっても促進されたが, 同種アミノ酸の N-methyl-D-aspartate (NMDA) によっては促進されなかった。また組織外 Na⁺ を除去するか, Ca²⁺ を 10⁻⁷ M 以下にすると, CCh による PI 促進性は認められなくなり, カチオンの関与も考慮される。この CCh による PI レスポンスの促進はけいれん剤 pentylenetetrazol (PTZ, 10 mM) および NMDA (0.1 mM) により約60%阻害されたが, NE による PI レスポンス促進は影響されなかった (図1)。PTZ は NMDA と同様それ自体では PI レスポンスに影響を示さない。以上の結果から PI レスポンスはけいれん発現に直接関連しないが, PTZ や刺激性アミノ酸がけいれんを促進する際は CCh をアゴニストとするムスカリン性アセチルコリン受容体と PI レスポンスを介していることも推測できる。

ムスカリン性受容体の結合活性は CCh により阻害 (IC₅₀ = 10⁻⁴ M) されるが, PTZ によっても阻害されることを認めた (IC₅₀ = 5 mM)。しかし NMDA は 5 mM まで濃度を増加しても阻害は認められなかった (図2)。このように PTZ はムスカリン性受容体を阻害するが, NMDA は

阻害しないため, けいれん発現はこれらの反応につづくサイクリックヌクレオチド, G蛋白など他の反応にも依存することを考察して現在検討中である。

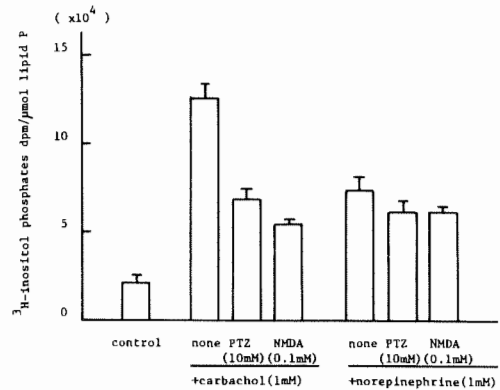


図1 イノシトレスポンス促進に対する PTZ と NMDA の影響

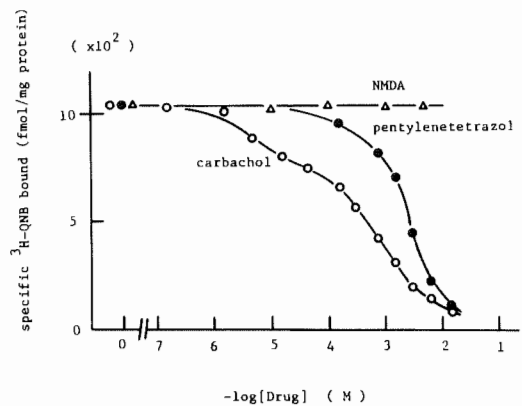


図2 ムスカリン性アセチルコリン受容体結合活性に対する PTZ と NMDA の影響

脳のトリホスホイノシチドからのイノシトールトリスリン酸の調製法

今澤正興, 奥村展枝, 田口文子, 宮本侃治

中枢神経系の発達とその障害時における生体膜の脂質について研究を行いつつある。今回は、細胞の情報応答機構において重要な役割を果たしているイノシトールリン脂質であるトリホスホイノシチド (TPI) を効率良く分離し、その水解により、細胞内カルシウムを動員する second messenger とされるイノシトール-1,4,5-トリスリン酸 (Ins 1,4,5- P_3) を調製する方法を検討した。

材料と方法

ラット脳または牛脳をホモジナイズし、Hauser 法¹⁾により TPI を含む粗画分を抽出した。これを CM セルロース (Whatman CM 52) カラムに吸着させクロロホルム-メタノール (1:1) からクロロホルム-メタノール-水 (5:10:4) への濃度勾配を用いて溶離し、TPI とジホスホイノシチド (DPI) を分離した (図1)。TPI を 1N KOH で水解後、陰イオン交換クロマトグラフィー (DE 53) によりイノシトールトリスリン酸画分を得た。これを微結晶性セルロースの HPLC カラム (1cm×25cm) に吸着させ、エタノール-水-炭酸アンモニウム系を用いて溶出し、Ins 1,4,5- P_3 と副生成物である Ins 2,4,5- P_3 を分離した (図2)。

結果と考察

脳の TPI の収量は120mg/100g 湿重量であった。本法はポリホスホイノシチドの比較的大量の調製法として簡便で優れた方法である。TPI よりの Ins 1,4,5- P_3 と異性体 Ins 2,4,5- P_3 の収率は、各々73%と15%であり、1回の HPLC 打込により10mg以上の Ins 1,4,5- P_3 を得ることが可能であった。Ins 1,4,5- P_3 と Ins 2,4,5- P_3 の構造および相互の混入が無いことを NMR スペクトルにより確認した。従来イノシトールトリスリン酸の両異性体の分離には長時間の下降法ペーパークロマトグラフィーが用いられてきたが、本 HPLC 法により分離効率を大きく改良できた。また極く最近報告された TPI の過ヨウ素酸分解による Ins 1,4,5- P_3 の調製法²⁾ に比べても本報の方がその簡便性において優れている。

文献

- 1) Hauser G, Eichberg J: Biochem Biophys Acta 326: 201-209, 1973
- 2) Auchus R J et al.: Proc Natl Acad Sci USA 84: 1206-1209, 1987

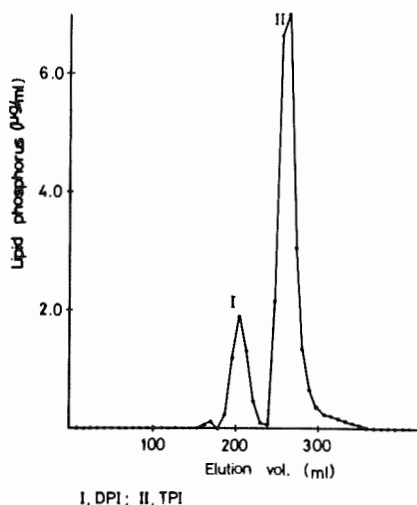


図1 CM セルロースによる TPI と DPI の分離
ラット脳2匹分により得た粗 PPI を分析した。

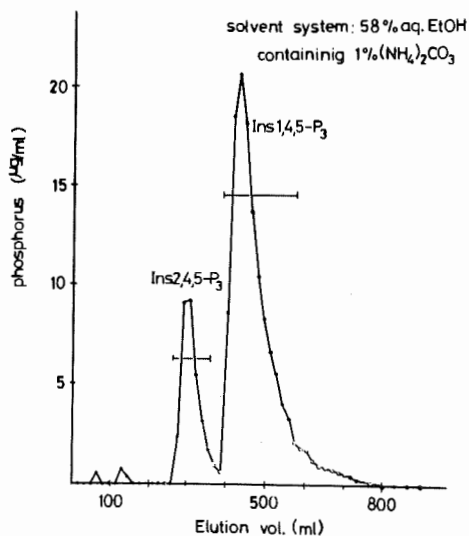


図2 セルロース HPLC によるイノシトールトリスリン酸異性体の分離

12. 免疫研究部

1. 研究部一年の歩み

神経成長因子 (NGF) の研究及び重症筋無力症の未知抗原物質の解明に関する研究は、ひき続き精力的に行われており、これに加えて昭和61年度より脳内ウイルス感染による自己免疫現象の研究が始まった。多少の人事の移動があり、古川昭栄研究員が組織培養研究室室長に、また渡辺里仁が西独ヴェルツブルグ大学ウイルス研究所より免疫異常研究室室長にそれぞれ就任した。古川美子賃金研究員は7月より流動研究員となり、研究生として池上亮介 (慈恵医科大学整形外科) が加わった。里吉栄二郎部長 (事務取扱)、林恭三客員研究員 (岐阜薬科大学教授)、赤沢左衛子賃金研究員、三井公彦流動研究員の陣容はこれまで通りである。研究の概要は以下の通りである。

1) アストログリア細胞のNGF合成・分泌に及ぼす各種神経伝達物質の影響

カテコラミンの構造とNGF合成・分泌促進活性との相関について調べた結果、側鎖に脂肪族炭化水素をもち、カテコール環の水酸基がエステル化された化合物は、NGF合成促進能が顕著で、細胞毒性が低いことが明らかとなった。このような化合物は、脂溶性が高いことから脳血液関門を通るのに有効と考えられ、中枢神経系の疾患の治療に用いることができないかと期待される。

2) 重症筋無力症における骨格筋抗原の生化学的研究

患者血清中には、骨格筋成分に対する抗体が高頻度に存在するが、抗原の実態は不明である。この抗原に対するモノクローナル抗体の作成を試み、抗原との結合が患者血清で阻害されるモノクローナル抗体を3種類得た。今後これらの抗体を用いて、抗原の分子特性、組織内分布を検討する予定である。

3) コロナウイルスJHM株による脱髄性脳脊髄炎に伴う自己免疫現象の解析

コロナウイルスJHM株によって生じるルイスラットの脱髄性脳脊髄炎は、ウイルス感染の特徴をも備えているが、形成される脱髄斑、及び血管周囲の密な単核細胞浸潤という所見は、広範な脱髄を伴う実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) の病理像と類似している。この知見に基づき *in vitro* 及び *in vivo* における感染動物の免疫動態をEAEと比較し、更に感染動物のリンパ球より脳抗原に特異的に反応するリンパ球 T cell line を確立した。また、この cell line が細胞移入によって、正常同系ラットの中枢神経に自己免疫現象を引き起こすことも確かめた。同時に、コロナウイルスJHM株感染後の病理形態像及び免疫動態がラットの系統間で異なることを見だし、遺伝的背景が病像の形成に影響を及ぼすことを明らかにした。

(事務取扱 里吉栄二郎)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) 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 136 : 57-63, 1986
- 2) Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :
Synthesis/secretion of nerve growth factor is associated with cell growth in cultured mouse astroglial cells
Biochem Biophys Res Commun 142 : 395-402, 1987
- 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 261 : 6039-6047, 1986
- 4) Furukawa Y, Furukawa S, Satoyoshi E, Hayashi K :
Aliphatic side chain of catecholamine potentiates the stimulatory effect of the catechol part on the synthesis of nerve growth factor
FEBS lett 208 : 258-262, 1986
- 5) Akazawa S, Furukawa S, Kamo I, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :
An enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies against saline-soluble muscle components in myasthenia gravis
J Immunol Methods 94 : 161-167, 1986
- 6) 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 Jap Acad 62 ser B : 113-116, 1986
- 7) Kurobe M, Tokida N, Furukawa S, Ishikawa E, Hayashi K :
Development of a sensitive enzyme immunoassay for human epidermal growth factor (urogastrone)
Clin Chim Acta 156 : 51-60, 1986

II 研究業績

- 8) Kurobe M, Furukawa S, Hayashi K :
Molecular nature of human epidermal growth factor (h-EGF) -like immunoreactivity in human plasma
Biochem Int 12 : 677-683, 1986
 - 9) Kurobe M, Tokida N, Furukawa S, Hayashi K :
Establishment of an improved enzyme immunoassay for urinary human epidermal growth factor / urogastrone
J Clin Biochem Nutr 2 : 179-185, 1987
 - 10) Kurobe M, Tokida N, Furukawa S, Hayashi K :
Some properties of human epidermal growth factor (h-EGF) -like immunoreactive material originating from platelet during blood coagulation
Biochem Int 13 : 729-733, 1986
 - 11) Hayashi K, Endo T, Nakanishi M, Furukawa S, Jorbert FJ, Nagaki Y, Nomoto H, Tamiya N :
On the mode of action of snake postsynaptic neurotoxins
J Toxicol-Toxin Rev 5 : 95-104, 1986
 - 12) Dorries R, Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :
Murine coronavirus-induced encephalomyelitides in rats : Analysis of immunoglobulins and virus specific antibodies in serum and cerebrospinal fluid
J. Neuroimmunol 12 : 131-142, 1986
 - 13) Dorries R, Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :
Analysis of the intrathecal humoral immune response in Brown Norway (BN) rats infected with murine coronavirus JHM
J Neuroimmunol 14 : 305-316, 1987
- c. 総説
- 1) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三 :
神経成長因子 (NGF)
バイオメディカ 2 : 17-21, 1987
 - 2) 古川美子, 古川昭栄, 林恭三 :
脳と神経成長因子 (NGF)

実験医学 4 : 1019-1022, 1986

- 3) Dörries R, Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :

Humoral immune response in coronavirus induced demyelinating encephalomyelitis of rats
Coronaviruses (ed by Lai M and Stohlman S) Plenum Pub.

London, in press, 1987

- 4) Wege H, Dörries R, Massa P, Watanabe R :

Autoimmunity and immunopathological aspects of virus diseases

Perspectives on Autoimmunity (ed by Cohen I) CRC-press Miami, in press, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

- 1) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 林恭三 :

神経成長因子の合成・分泌とその制御機構

第59回日本生化学会 シンポジウム, 大阪, 9.20, 1986 (生化学58 : 556)

- 2) 林恭三, 古川美子, 古川昭栄 :

神経成長因子の合成・分泌とその制御機構

第16回日本神経精神薬理学会年会, シンポジウム, 久留米, 9.25, 1986

- 3) Hayashi K, Endo T, Nakanishi M, Furukawa S, Jorbert FJ, Nagaki Y, Nomoto H, Tamiya N :

On the mode of action of snake postsynaptic neurotoxins

A symposium sponsored by the American Chemical Society 8 th Rocky Mountain
Regional Meeting, Denver, Aug. 9, 1986

b. 国際学会

- 1) Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :

Adoptive transfer of MBP-specific and virus-specific T-cell lines derived from rats
with corona virus induced demyelinating encephalomyelitis

10th International Congress of Neuropathology, Stockholm, Sept.12, 1986

c. 一般学会

- 1) 古川昭栄, 赤沢左衛子, 古川美子, 里吉栄二郎, 林恭三 :

骨格筋抽出物中に見いだされる重症筋無力症の抗原物質について

II 研究業績

- 第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.20, 1986 (生化学58: 588)
- 2) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 林恭三:
カテコラミンのNGF合成促進効果
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.23, 1986 (生化学58: 969)
- 3) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 林恭三:
マウス心臓線維芽細胞における神経成長因子合成に及ぼすレチノイン酸の効果
日本ビタミン学会第38回大会, 東京, 5.9, 1986
- 4) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 池田典秋, 林恭三:
神経成長因子の合成促進効果におけるカテコラミンの機造特異性
第29回日本神経化学会, 岡山, 10.31, 1986 (神経化学25: 337-339)
- 5) 茨木茂, 森和俊, 黒部真章, 古川昭栄, 林恭三:
ヒト胃癌由来細胞による上皮成長因子様免疫交叉物質の合成・分泌
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.23, 1986 (生化学58: 968)
- 6) 吉村知哲, 森和俊, 黒部真章, 古川昭栄, 久保完治, 林恭三:
ヒト乳癌由来細胞による上皮成長因子様物質の合成・分泌に及ぼす諸因子の影響
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.23, 1986 (生化学58: 968)
- 7) 森和俊, 黒部真章, 古川昭栄, 久保完治, 林恭三:
ヒト乳癌由来細胞が合成・分泌する上皮成長因子様免疫交叉物質の生化学的諸性質
第59回日本生化学会大会, 大阪, 9.23, 1986 (生化学58: 969)
- 8) 野元裕, 永木康裕, 林恭三, 古川昭栄:
アセチルコリン受容体の構造と機能——固相toxin-binding assay——
種々の処理による結合活性の変化
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.2, 1986 (抄録246)
- 9) 中田泰裕, 高橋伊麻, 野元裕, 林恭三, 古川昭栄:
各種神経成長因子の比較生化学的研究
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.4, 1986 (抄録302)
- 10) 森和俊, 藪野幸栄, 黒部真章, 林恭三, 古川昭栄, 久保完治:
ヒト乳癌由来細胞によるepidermal growth factorの合成・分泌
日本薬学会第106年会, 千葉, 4.4, 1986 (抄録302)
- 11) 黒部真章, 時田憲章, 古川昭栄, 林恭三:

神経成長因子の酵素免疫測定法

日本薬学会東海支部会，静岡，7.11, 1986

12) 小宮山純，平山恵造，古川昭栄，加茂功：

重症筋無力症にみられる非アセチルコリンレセプター骨格筋抗原に対する抗体：臨床症状及び治療効果との相関

第27回日本神経学会総会，熊本，5.23, 1986 (抄録302)

13) 山本剛，古川昭栄，佐藤猛，杉田秀夫：

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——

第27回日本神経学会総会，熊本，5.23, 1986 (抄録303)

14) 村上研，佐藤功，満間照典，寺尾心一，古川昭栄，石突吉持：

甲状腺疾患における抗アセチルコリン受容体抗体価の検討

第27回日本神経学会総会，熊本，5.23, 1986 (抄録309)

c. 班会議発表

1) 里吉栄二郎，古川昭栄，赤沢左衛子，加茂功，古川美子：

実験的筋炎モデル動物の作成に関する研究

厚生省低分子化合物による難病治療薬の開発研究班，東京，3.23, 1987

2) 渡辺里仁，里吉栄二郎，Wege H，ter Meulen V：

厚生省特定疾患免疫性神経疾患調査研究班，東京，1.17, 1987

3) 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，東京，1.18, 1987

3. 主な研究報告

アストログリア細胞による神経成長因子の合成、分泌に及ぼす各種神経伝達物質の影響

古川 美子, 古川 昭栄, 里吉栄二郎

神経成長因子 (NGF) は、中枢神経系ではアストログリア細胞によって合成、分泌されること、またその量は、細胞が対数増殖期にある時は高く、静止期では低いこと、を我々はすでに明らかにした。本年度は、対数増殖期あるいは静止期のアストログリア細胞に、種々の神経伝達物質を加え、NGFの合成、分泌に及ぼす影響を調べた。

方法

アストログリア細胞は、8日令マウス脳から得たが、数代継代し、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%FCSを含むDME Mで行った。静止期へは、FCSを除去して2週間培養することにより導入した。NGFの測定は、EIAによった。

結果と考察

アストログリア細胞が、合成したNGFを速やかに細胞外に出すことは、すでに明らかにしている。種々の神経伝達物質の影響を調べる時には、これらの化合物を培養液に加えて24時間培養し、培養上清中に分泌されるNGF量の変動を測定した。

その結果、細胞が静止期にある時、エピネフリン

(EN)、ドーパミン (DA) は著しくNGF合成量を増加させ、ノルエピネフリン (NE) やコリン作動薬 (メタコリン、カルバミルコリン) もやや増加させることが明らかとなった。その他の神経伝達物質 (セロトニン、ヒスタミン、GABA、グルタミン酸) には効果がなかった (表1)。対数増殖期では、NE、DAに著明な減少効果がみられ、ENもやや減少させたが、その他の神経伝達物質では影響を受けなかった (表1)。

静止期の細胞でみられるNGF分泌量の増加は、いくつかの知見から、NGFの合成量が増加したためと考えられる。増殖期の細胞でみられるNGF分泌量の減少は、カテコラミンが細胞を静止期に導入した可能性を示唆され、目下検討中である。

静止期のアストログリア細胞は発生後の脳を、増殖期のアストログリア細胞は発生過程あるいは損傷後の脳のモデルと考えれば、本研究の結果は、脳内でのNGF合成、分泌が、DA、NE、EN、アセチルコリンといった神経伝達物質により複雑に制御されている可能性を示唆するものであり、興味深い知見である。

表1

Treatment	NGF secreted (pg/10 ⁶ cells/day)	
	Quiescent cells	Growing cells
None (Control)	3.23 ± 0.23 (1.00)	457 ± 6 (1.00)
Epinephrine	0.1 mM	28.10 ± 0.44 (8.70)
	0.2 mM	47.80 ± 2.50 (14.8)
Dopamine	0.1 mM	19.51 ± 3.68 (6.04)
	0.2 mM	43.00 ± 4.12 (13.3)
Norepinephrine	0.1 mM	12.18 ± 1.47 (3.77)
	0.2 mM	8.95 ± 2.21 (2.77)
Methacholine	0.1 mM	9.01 ± 0.13 (2.79)
	0.2 mM	10.43 ± 0.32 (3.23)
Carbamylcholine	0.1 mM	9.04 ± 0.26 (2.80)
	0.2 mM	10.37 ± 1.36 (3.21)
Nicotinic acid	0.1 mM	3.07 ± 0.26 (0.95)
	0.2 mM	3.37 ± 0.36 (1.03)
Serotonin	0.1 mM	3.65 ± 0.39 (1.13)
	0.2 mM	4.20 ± 0.16 (1.30)
Histamine	0.1 mM	3.39 ± 0.29 (1.05)
	0.2 mM	3.13 ± 0.19 (0.97)
GABA	0.1 mM	3.37 ± 0.61 (1.03)
	0.2 mM	3.39 ± 0.32 (1.05)
Glutamic acid	0.1 mM	3.97 ± 0.10 (1.23)
	0.2 mM	3.49 ± 0.07 (1.08)

重症筋無力症における骨格筋抗原について

—モノクローナル抗体の作成—

古川 昭栄, 赤沢左衛子, 加茂 功, 古川 美子, 里吉栄二郎

重症筋無力症 (MG) 患者血中には, 抗アセチルコリン受容体抗体が高頻度に見出される。また, アセチルコリン受容体以外の筋肉成分に対する抗体も検出され, これらの抗体にアセチルコリン受容体の劣化を促進し, アセチルコリン受容体の数を減少させる作用があることが報告されている。著者らはこの種の筋膜障害性抗体の出現がMGの病因と関連しているのではないかと考えた。そこで, アセチルコリン受容体以外の筋肉成分に対して高抗体価を示すMG患者血清を選び, その中に存在する抗体のエピトープを指標として, 筋肉抗原に対するモノクローナル抗体の作成を試みた。

方法

筋肉抽出物 (muscle extracts: ME) の作成法, 及びそれに対する血中抗体価の測定法はすでに報告した¹⁾。

抗筋肉抽出物モノクローナル抗体の作成

3週間間隔で4回, 1mgタンパク量のME液を等容量のFreund's complete adjuvantで乳化してBalb/cマウスの背部に注射した。最後の免疫から3週間後に, MEのみを腹腔内に投与し, 3日後に脾臓を摘出し, 脾臓細胞とミエローマ (P3U1株) を50%ポリエチレングリコールで細胞融合した。融合細胞を8枚のマルチウエルプレートに60穴ずつまき, HAT選択培養液で培養した。培養開始2週間後に, あらかじめMEを被覆後, 正常人またはMG血清でインキュベートした96穴マルチウエルプレートに, 100 μ lのハイブリドーマ培養液を加えて1時間反応させた。96穴マルチウエルプレートに結合したマウスIgGは, ビオチン化抗マウスIgG抗体をもちいるABC法で検出した。

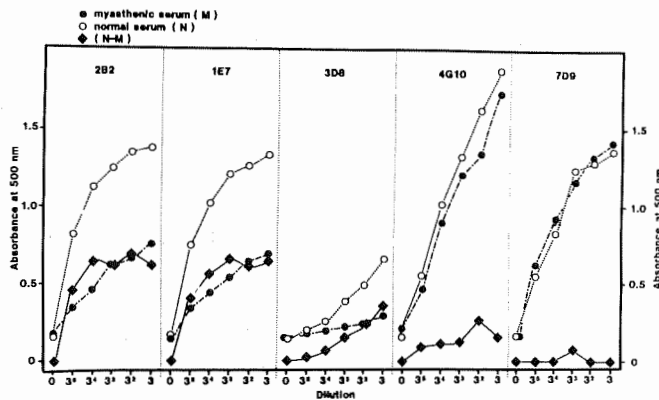
結果と考察

MEを免疫したマウスの脾臓細胞とミエローマ細胞との融合によって, 480個のウエルすべてにハイブリドーマコロニーの形成を認めた。MEを固相化したウエルに, 順次, 高抗ME抗体価MG患者血清または正常人血清, ハイブリドーマの培養液を反応させた。正常人血清で陽性となり, かつ, MG血清で陰性または, シグナルが減弱するハイブリドーマが抗原を認識するモノクローナル抗体を産生していると考えられる。このようなハイブリドーマは480個中35個のウエルに見出された。差の顕著なウエル15個についてハイブリドーマをクローニングし, 増殖させてマウスの腹腔へ移入し, 最終的に3種のモノクローナル抗体を得た (抗体名1E7, 2B2, 3D8)。この3種のモノクローナル抗体のMEへの結合を用量依存的に示したのが図である。1E7, 2B2, 3D8の3種のモノクローナル抗体は, それ以外のモノクローナル抗体 (4G10, 7D9) と異なり, MG血清でウエルをプレインキュベートすると, MEとの結合を阻害される。この結果は, MG血清中のある種の抗体と, 得られたモノクローナル抗体のエピトープが一致, または, 極めて近傍であることを示していると考えられる。

今後, このモノクローナル抗体を用いて筋膜障害性の有無, その認識する抗原の分子特性, 組織内分布を詳細に調べ, この抗原物質とMGの病因との関連について検討する予定である。

引用文献

- 1) Akazawa S., Furukawa S., Kamo I., Furukawa Y., Satoyoshi E. and Hayashi K: J. Immunol. Methods, 94, 161-167, 1986



コロナウイルスJHM株による脱髄性脳脊髄炎ルイスラットとBNラットにおける病態の 病理学的、免疫学的比較研究

渡辺 里仁, 里吉栄二郎, H. Wege*, V. ter Meulen*

* 西独ヴェルツブルグ大学ウイルス研究所

遺伝的背景の違いによりウイルス感染に対する感受性に差が生じることを証明すると共に、感染による中枢神経の病変の性状にラット系統間の免疫学的背景の違いがどのように反映するかを明らかにするために、週令の異なるBNラット100匹とルイスラット400匹にコロナウイルスJHM株を接種し、病理組織学的及び免疫学的検索を行った。

方法

動物は総てSPFを用い、出生後3日、10日及び5週のラットの脳左半球にウイルスを注射した。組織検索用には、目的に応じてパラフォルムアルデヒドまたはグルタルアルデヒドにて灌流固定し、光顕、電顕用にパラフィンまたはアラルダイト中に包埋し、一部は凍結保存し組織酵素抗体法の検索に供した。免疫反応は脾細胞と胸腺細胞を用い *in vitro* にて種々の抗原刺激によるリンパ球の幼若化現象をトリチウム サイミジンの取り込み量で判定した。

結果

1) **病理像** 新生仔ラットへの感染実験では、BN及びルイスラット間で差はなく、広範な壊死性病変が、白質、灰白質に広がっていた。一方5週令の、免疫学的にはほぼ成熟したラットでは両者間に臨床像、病理像、免疫反応の全てに違いが生じた。ルイスラットでは80%に神経症状を認めたのに対してBNラットでは10%以下にしか症状が出ず、致死率もそれぞれ50—60%と0%であった。亜急性脱髄性脳脊髄炎(SDE)の病理像にも炎症の性状に差が認められ、多数の大喰細胞浸潤を伴う境界明瞭な脱髄斑の形成と血管周囲の密な小円形細胞浸潤(perivascular cuff: pvc)といったルイスラットのSDEに特徴的な病変はBNラットではみられず、脳室周囲の白質に結節性の脱髄巣が認められ、そこには膠細胞のほか形質細胞、ミクログリア、大喰細胞といった多彩な細胞が密に増殖、浸潤していた。PVCの頻度は低かったが稀にみられた血管周囲の細胞浸潤部位には、形質細胞の占める割合が高かった。また、ルイスラットのSDEでは脊髄白質の病変が顕著であったのに対してBNラットの脊髄は病変を欠くかまたはごく軽微な場合が多かった。更にルイスラットのSDEは一過性で感作後60日で活動性の炎症はみられず、散見される大喰細胞胞体内の脂肪も完全に中性脂肪に消化されていた。同じ時期のBNラッ

トの白質には形質細胞浸潤や進行性の脱髄といった遷延性の病変がみられた。

(2) **免疫反応** 典型的な脱髄病変を有するSDEの例で、ルイスラットでは、30例中80%のラットが *in vitro* リンパ球の培養結果、ウイルス抗原に対しては陽性の反応を示し、かつ60%のラットのリンパ球が中枢神経髄鞘塩基性蛋白(MBP)刺激によって幼若化した。一方脱髄病巣を有するBNラットでは正常BNラットと比べて免疫反応の低下のがみられ、90%の感染ラットにおいてCon A刺激に対するリンパ球の幼若化の指標値が、極めて低い反応値を示した。また、ウイルス抗原刺激及び脳抗原刺激に対しても陽性となったのは、それぞれ10%と0%であった。

(3) **ウイルスの分離とウイルス抗原の分布** 感染性のウイルスは、感作後8日から10日をピークとした後分離できるウイルスタイターが下がり症状の軽減と共に陰性となった。ルイスラットでは、脊髄から分離されるウイルスタイターが、グラムあたりに換算すると最も高かったが、BNラットでは急性期においても感染性ウイルスの分離は出来なかった。また組織酵素抗体法によってSDEのラットではルイスラット、BNラットともウイルス抗原は白質神経膠細胞に検出された。

考察

新生仔ラットではウイルス感染に対する感受性にルイスラットとBNラット間で差が見られなかったことから使用したウイルスの親和性が二系統間で異なっている可能性は少なく、成熟ラットでみられた病像の差は、宿主の免疫反応の違いに起因することが示唆された。BNラットで観察された高度な形質細胞浸潤はウイルスに対する極めて高い抗体価及び髄液中のオリゴクロナルバンドの出現に反映されている¹⁾。加えてBNラットで見られた遷延性の病態、低い細胞性免疫といった現象はヒトのSSPEを想起させる。また、ルイスラットのウイルス感染にともなった異常免疫は、感染が自己免疫病としての脱髄性脳脊髄炎の引金になることを示唆している。

1) Doerries R, Watanabe R, Wege H, V ter meulen; J. Neuroimmunol, 12:131-142, 1986

13. モデル動物開発部

1. 研究部一年の歩み

モデル動物開発部はヒトの種々の神経難病の疾患モデルとなる動物を開発し、その発症機序をヒトの疾患との対比において研究することを目的として昭和60年10月に発足した。

研究部は建設中の実験動物研究施設の中に研究室を持つこととなり、昭和61年7月の竣工を待って研究設備の整備を開始した。病理形態学的研究を主体とする第1研究室は一階に、発生工学を応用する胚操作室、遺伝子を調整する核酸生化学を主体とする第2研究室、そして特殊機器室としての第3研究室がそれぞれ三階に完成した。

部の人員も次第に増えている。昭和61年4月、動物遺伝解析室長に三菱化成生命科学研究所より花岡和則を、モデル動物診断室長に東京大学医学研究所より田口文広を迎えた。同年8月、細胞培養と胚操作の実験補助者として、同じく三菱生命研より早坂美智子を賃金研究員として採用した。同年11月、疾患モデル動物のSPF化を研究するため（財）実験動物中央研究所より松崎哲也を流動研究員として加えた。次年度4月には北海道大学大学院獣医学研究科博士課程卒業予定の余田 明を流動研究員として、また、麻布大学大学院修士課程卒業予定の守屋弘美を賃金研究員として、それぞれ採用を内定している。研究助手としては梶谷美代子、鳴島弘美の2名を採用した。

本年度の主な研究の概要は次のとおりである。

1) 軸索ジストロフィー症モデル動物

同所疾病第四部と名古屋大学農学部との共同研究により、脊髄の後索の薄束核および薄束を走行する知覚神経路に特異的変性病変を示す疾患マウスを発見し、本年度は主に病理組織学的解析を加えた。このミュータントマウスはその病変の特徴からGracile Axonal Dystrophy (GAD) と遺伝子記号を命名し、ヒトの軸索ジストロフィーの動物モデルとして期待されている。現在ビタミンE代謝異常および老化の両面から発症機序の解析が進んでいる。

2) MHV抵抗性マウス

発生工学および遺伝子工学の手法を応用した人為的実験動物の開発に関する研究事業の一貫としてMHV抵抗性マウスの作出を試みている。MHVの膜蛋白をコードするmRNAを下に作成されたcDNAよりanti-senseRNAを合成した。anti-senseRNAは本来のmRNAに比べ大量に生産されないとmRNAの翻訳阻止に効果は望めない。本年度は効率よくanti-senseRNAを生産するプラズミドの構造を吟味した。

(部長 菊池建機)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Kikuchi T, Akiba T, Ashmore C.R.:

Conversion of muscle fiber types in regenerating chicken muscles following cross-reinnervation

Acta Neuropathol. (Berl), 71 : 197-206, 1986

- 2) Hanaoka K, Kato Y, Noguchi T:

Comparative study on the ability of various teratocarcinomas to form chimeric mouse embryos

Develop. Growth Diff., 28 : 223-231, 1986

- 3) Taguchi F, Massa P, ter Meulen V:

Characterization of a variant virus isolated from neural cell culture after infection of mouse coronavirus JHMV

Virology, 155 : 267-270, 1986

b. 著書

- 1) Hanaoka K, Hayasaka M, Kondo S, Noguchi T, Kato Y:

Production of chimeras using newly established teratocarcinoma lines
Molecular genetics in developmental neurobiology (ed. by Tsukada Y),
Japan Sci. Soc. Press, p61-73, 1986

c. 総説

- 1) 花岡和則 :

形質転換動物による発生現象の解明

細胞工学, 5 : 793-799, 1986

- 2) 加藤淑裕, 花岡和則 :

マウスの初期発生とテラトーマ

マウスのテラトーマ (野口武彦, 村松喬編), 理工学社, p 2.2-2.20, 1987

- 3) 花岡和則, 野口武彦 :

集合キメラ

マウスのテラトーマ (野口武彦, 村松喬編), 理工学社, p 5.20-5.34, 1987

d. 班会議報告書

1) 菊池建機, 武田伸一 :

矮性鶏における筋ジストロフィー遺伝子発現

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年度研究報告書, p 69-75, 1986

2) 花岡和則 :

個体構成能を持つ胚性腫瘍細胞の多様性

文部省科研費がん特別研究1) 胚性腫瘍細胞の器官, 個体構成能の分子的背景班

昭和58-61年度研究報告書, p 36-39, 1986

B. 学会発表

b. 国際学会

1) Taguchi F, Siddell S, Wege H, Massa P. ter Meulen V :

Characterization of JHMV variants isolated from rat brain and cultured neural cells after wild type JHMV infection 3rd international coronavirus symposium,

Asilomer, California, Sept. 17, 1986

c. 一般学会

1) 菊池建機 :

筋ジストロフィー鶏骨格筋の脂肪組織と血管系

第102回日本獣医学会, 仙台, 9.26, 1986

2) 山崎一斗, 若杉 昇, 富田 武, 菊池建機, 向山昌邦, 安藤一也 :

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの遺伝育種学的研究

第3回日本疾患モデル動物研究会, 大阪, 11.27, 1986

3) 向山昌邦, 安藤一也, 山崎一斗, 富田 武, 菊池建機 :

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究

第3回日本疾患モデル動物研究会, 大阪, 11.27, 1986

4) 花岡和則, 早坂美智子, 加藤淑裕 :

精巢性奇形腫幹細胞と正常マウス胚間キメラマウスの作成

第19回日本発生生物学会, 筑波, 5.16, 1986

II 研究業績

C. 班会議発表

1) 菊池建機, 向山昌邦, 富田 武 :

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究
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61年度班会議 東京, 12.8, 1986

2) 菊池建機 :

筋ジストロフィー及び新たに発見された脳神経疾患モデル動物の病理形態学的検討
厚生省神経疾患。筋ジストロフィー症総合班会議, 1.18, 1987

3) 花岡和則 :

外来性遺伝子を取込んだ奇形がん腫細胞と正常胚とのキメラマウスの作出
文部省科研費1) 組織特異的に発現する遺伝子を用いた腫瘍細胞における遺伝子発現機構の発生
工学的研究昭和61年度班会議 京都, 7.10, 1986

D. 研究会など

1) 菊池建機 :

発生工学を応用したライフサイエンス研究用実験動物の開発とその展望
長寿関連基礎科学 第1回官民共同プロジェクト研究セミナー 東京, 1.19, 1987

3. 主な研究報告

再生筋における筋線維型の分化とその神経支配

菊池 建機

鶏骨格筋の筋線維型はアクトミオシンATPase活性により速筋線維 α 遅筋線維 β の2型に分類され、さらに酸化還元酵素活性により α W, α Rの亜型が加わる。筋線維はこのように酵素組織化学的識別が可能である。鶏の背位にある広背筋は速筋の後広背筋(PLD)と、遅筋の前広背筋(ALD)から成る。本研究は両筋を物理的圧挫によって破壊し、その後の再生筋を、両筋を支配する神経を交叉させ、再生筋に分化してくる筋線維型を酵素組織化学的に検討したものである。

材料と方法

白色レグホン種鶏(岩谷系)7-10日齢をエーテル麻酔し、背正中線を境に対照に分布する両筋を裸出した。ALD筋を交叉支配するには、右側ALDをあらかじめ除去し、その部位に左側より反転してきたPLD筋を右側上腕部に縫合し、ALD神経断端を挿入した。PLDは反転時に鉗子で充分に圧挫した(PLD \times ALDn)。ALD筋の神経交叉は、右側PLD筋をあらかじめ除去し、その位置に左側より反転してきたALDを右側上腕部に縫合し保定後、PLD神経断端を挿入した。ALDは同様に反転時に完全に圧挫した(ALD \times PLDn)。対照筋は筋を圧挫後同じ位置に縫合し、神経を挿入した。反対側の筋は無処置とした。再生筋は術後経時的に採取し、重量測定後筋を構成する筋線維を酵素組織化学的に識別し、それらの分布を測定した。

結果と考察

対照PLD筋は対照ALD筋の2倍の重量増加を示す。しかし、術後再生してくるPLD筋はいずれの神経で支配されても成長が悪い。再生ALD筋は自身のALD神経で支配されると逆に顕著な肥大を示し、無処置筋の重量増加をはるかに越える(図-1)。再生ALD筋がPLD神経により交叉支配されると長期間にわたり遅筋の性質が失われず、再生筋に遅筋線維が分布し、さらにPLD神経で支配された筋線維ではみられない多重神経終末が一時的に形成される。

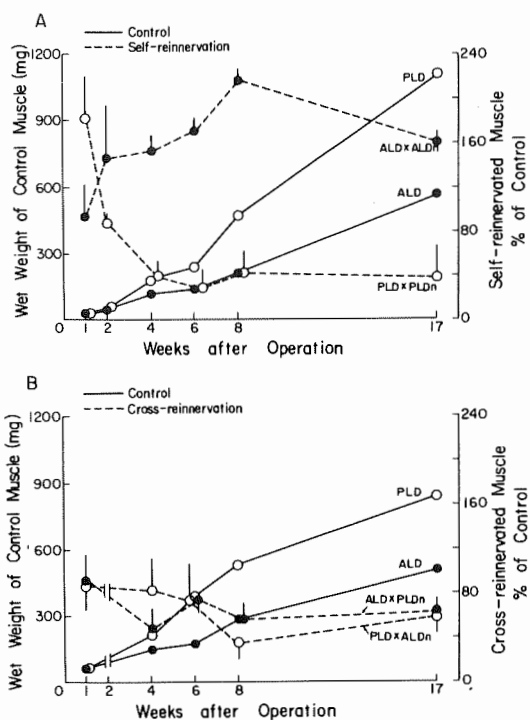


図-1 再生筋の経時的重量変化。自身の神経により支配される場合(A)と交叉支配させる場合(B)

ラットastrocyteで選択的に増殖するマウス肝炎ウイルス (JHMV) variantについて

田口 文広

マウス肝炎ウイルスはマウス、ラットに対して肝炎のみならず種々の病気を引き起こすことが知られている。とりわけJHMV株による亜急性、慢性の脱髄性脳脊髄炎はヒトの脳疾患のモデルとして広く研究されている。我々はJHMVをラットに脳内接種後見られる急性脳炎ではJHMVの変異株 (variant) が選択的に脳内で増殖しているのを発見した¹⁾。今回はラット由来 astrocyte 2代目培養中でも同じ様に variant が選択的に増殖したことを報告する。

材料と方法

JHMVは西独ヴェルツブルグ大学で維持されていたものを用いウイルス定量はDBT細胞を用いたブラック法によった。ラットはルイスラット、4週令雄を用いた。Northern blotによるmRNAの検出、ポリアクリルアミドゲル電気泳動によるウイルス蛋白の検出については既に述べた¹⁾。

結果と考察

ルイスラット由来培養astrocyteにJHMV親株を感染させると感染後3～4日でmRNA 2, 2a, 3が大きいvariantが優位に増殖する様になり1週間では親株はほとんどみとめられずvariantの選択的な増殖がみとめられた。このvariant (CNSV) はラット脳内で選択的に増殖し得るvariant (CI-2) とはmRNA 2, 2a, 3が親株と比べ大きい点が一貫していた。CI-2とCNSVを培養astrocyteに感染させても別のvariantが増殖することはなかった(図1)。これらのウイルス蛋白を比較すると、CI-2及びCNSVは親株と比べmRNA 3にコードされるE2蛋白が大きかった(図2)。今回得た結果と先の我々の報告(1)から大きなE2蛋白は脳内でJHMVが増殖するのに大きく関与しており、その際astrocyteでウイルスがよく増殖することが、急性致死性脳炎を引き起こすことと深く関係している事が示唆された。今後E2蛋白をコードするmRNA 3が対するcDNA²⁾を用いてE2蛋白と神経親和性に関係について研究を進める予定である。

1) Taguchi, F. et al., J. Virol., 54, 429-435 (1985)

2) Schmidt, I., et al., J. gen. Virol., 68, 47-56 (1987)

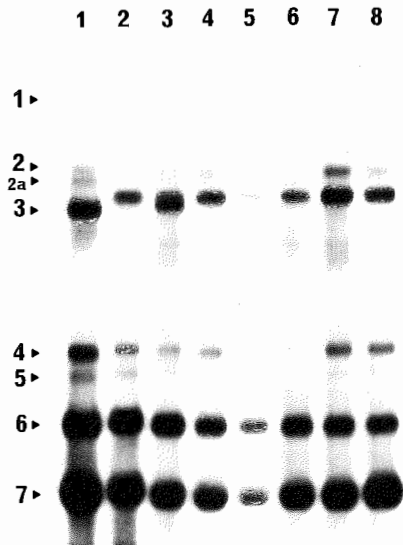


図1: astrocyte で増殖したJHMVs の mRNA パターン。

DBT細胞内でのmRNA: (1)JHMV親株, (2)CI-2, astrocyte 感染4日後の mRNA: (3)JHMV親株, (5)CI-2, (7)CNSV, astrocyte感染10日後の mRNA: (4)JHMV親株, (6)CI-2, (8)CNSV

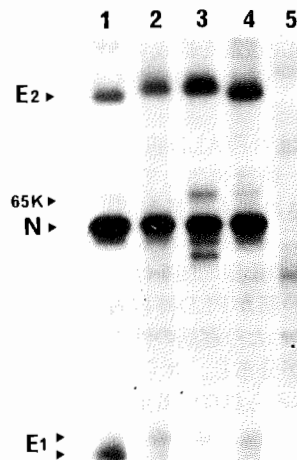


図2: 細胞内ウイルス蛋白: (1)JHMV親株, (2)CI-2, (3)CNSV, (4)リクローニングした親株, (5)対照

III 中 央 施 設

I 実験動物研究施設の建設状況

昭和58年9月に着工した実験動物研究施設の建設は、本年度、昭和61年7月に竣工となり、一応の区切りを迎えた。本年度の建設は主に外構工事に当てられ道路沿いの門や建物周囲の舗装、そして渡り廊下の建設等、建物としての総仕上が行われた。また、建物の完成に伴い、施設の中に研究室を持つことになったモデル動物開発部の整備が開始され、一階の第1研究室、三階の第2、第3研究室、胚操作室等が研究可能となった。

新しい実験動物研究施設の建設に伴い、本館五階の旧動物舎は閉鎖される。従って本年度の施設の飼育室、共通実験室の内部整備は、とりあえず従来の動物実験が出来る程度の規模を目標として行なわれた。

動物実験施設の基幹設備である大型オートクレーブは二階の洗浄滅菌室、三階のSPF飼育室洗浄室、感染実験室洗浄室に設置された。続いて各飼育室のケージおよびケージ架台の整備に移り、二階のウサギ、モルモット飼育室にFRP流水洗浄ラック、マウス飼育室に陽圧型クリーンラック、鳥類飼育室には孵卵器と流水洗浄ラック、そして三階のラット、マウス飼育室にはそれぞれ陽圧型クリーンラックが整備された。陽圧型クリーンラックは動物の飼育環境を良好にし、かつ感染防御の上でも効果を期待できる。二階の飼育室にはさらに動物の隔離飼育を目的とするビニールアイソレーターが設置され、ミュータントの種（たね）動物の維持、SPF動物の生産、さらに感染動物の隔離飼育等、多様な実験に対応できるようになった。共通実験室の整備は一階の動物処理室、アニメックスを主体とする動物行動解析室、二階の手術室、電気生理実験室、そして三階の感染実験室で行なわれた。

次年度当初の4月16日には施設の開所式を控え、さらに5月のオープンに向けて委員会は施設利用者のマニュアル作りに入っている。

(実験動物研究施設管理委員長 菊池建機)

II R I 研究施設

神経研究所のR I 研究施設(270㎡+焼却施設24㎡)は、現在12研究部、72名の研究者が共同使用している。R I 施設使用の当初から各部選任のR I 委員によりR I 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R I 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、国立精神・神経センター放射線障害予防規程(昭和61.10月)に従って行われている。当研究所のR I 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月より古川免疫研究部室長が副主任者として補佐を行っている。またR I 施設管理のための専任職員がいないため、現在でもR I 排水処理、R I 管理区域内表面汚染検査、R I 機器整備、使用法の監督などの業務を各部ならびにR I 委員会で分担している。R I 使用

Ⅲ 中央施設

研究の増大とともにR I 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 , ^{46}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 : 133mCi, ^{14}C : 1.2mCi, ^{32}P : 48mCi, ^{35}S : 1 mCi, ^{125}I : 14mCi, ^{77}Br : 0.07mCiであった。昨年に比べ ^3H の使用量が約 2 倍に増加した。現在の R I 実験施設は、R I 実験の必要性ならびに使用頻度、使用者数から考えて非常に手狭となり、研究の支障すら考えられる状態となった。そのため62年度着工予定の神経研究所第二研究棟内に、充分の面積を有する R I 研究施設の設置が望まれる。

本年度 R I 共同使用のための整備された機器を表示する。

表 昭和61年度購入 R I 機器（昭和56年度年報 p 263表 1 参照）

〔C〕 その他の生化学用機器

冷却遠心機 クボタ KR-400

〔D〕 培養機器・無菌装置等

滅菌機 バイオプラント KT-23

（ R I 委員会委員長 宮本侃治）

Ⅲ 電子顕微鏡室

当センターの電子顕微鏡は、共同機器として利用されている。

1. 施設および機器

当センター三階に位置し、30㎡ずつの三室より成り、一室は透過型電子顕微鏡、一室は主として走査型電子顕微鏡、一室は暗室として利用されている。使用機種は、透過型として日立H700、日立H600、日立H300、走査型として日立S700、日立S430型である。又、暗室には、Durst L1200、Durst L138Sが設置され、電子顕微写真の引伸しに、利用されている。

2. 予算執行状況

主たる経常費は、電子顕微鏡の保守に必要な修理費、部品費と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共に、保守、管理に要する修理費、部品費が増加している。今年度は、特に、各電子顕微鏡共ロータリースイッチ、電磁弁の摩耗が著しく、そのための故障が多かった。

（電子顕微鏡委員会委員長 埜中征哉）

IV 安全委員会

昭和61年4月24日に開催した。現在委員長小沢鏝二郎，委員鈴木義之，田平武，古川昭栄，野々村禎昭（東大・薬理），亀山恒夫（順天堂大・生化），池田麗樹（運営部次長）で構成している。

申請案件は疾病研究第二部より二件，第五部より三件，第六部より一件，微細構造研究部より二件，機能研究部より二件，免疫研究部より一件，モデル動物開発部より四件であり，条件付のものもあったがすべて承認された。なおモデル動物開発部のものうち二件は個体への遺伝子の注入実験なので科学技術庁の認可を経て発効することとなる。

（安全委員会委員長 小沢鏝二郎）

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である。本年1月より購入あるいは発刊次第購入のものは「追加注文のもの」としてのせた。和雑誌も現在追加を検討中である。

（図書委員会委員長 小沢鏝二郎）

洋雑誌名

1. * Acta Histochemica et Cytochemica
2. * Acta Neurologica Scandinavica
3. * Acta Neuropathologica
4. Acta Physiologica Scandinavica
5. American Journal of Anatomy
6. American Journal of Human Genetics
7. * American Journal of Medical Genetics
8. American Journal of Pathology
9. American Journal of Physiology
10. Analytical Biochemistry
11. * Annals of Neurology
12. Annals of New York Academy of Science
13. Anatomical Record
14. Anatomy & Embryology
15. Archives of Biochemistry & Biophysics
16. Archives of Neurology

- 17.* Archives of Pathology and Laboratory Medicine
18. Biochimica Biophysica Acta
 - Bioenergetics
 - Biomembrances
 - General Subjects
 - Gene Structure and Expressions
 - Lipids and Metabolism
 - Molecular Cell Research
 - Protein Structure and Molecular Enzymology
 - Reviews on Biomembrane
 - Reviews on Bioenergetics
 - Reviews on Cancer
19. Biochemical Journal
20. Biochemical Society Transactions
21. Biochemical Pharmacology
22. Biochemical Biophysical Research Communications
23. Biochemistry
24. Biochemistry International
25. Biological Psychiatry
26. Biomedical Mass Spectrometry
27. Biomedical Research
28. Bioscience Reports
29. Biophysical Journal
30. Brain
- 31.* Brain Research Reviews
32. British Journal of Pharmacology
33. Cancer Research
34. Cell
- 35.* Cell Calcium
- 36.* Cell Differentiation

37. * Cell Biology : International Reports
38. Cellular Immunology
39. * Cell Motility and Cytoskeleton
40. Cell & Tissue Research
41. Cell & Tissue Kinetics
42. Cellular & Molecular Neurobiology
43. Chemical Reviews
44. Chemical Titles
45. * Chromosoma
46. * Chronobiology International
47. Clinical Chemistry
48. Clinical Genetics
49. Clinical Neuropathology
50. Clinica Chimica Acta
51. Computers and Biomedical Research
52. Cytogenetics & Cell Genetics
53. Development
54. Developmental Brain Research
55. Developmental Biology
56. Differentiation
57. * Electromyography & Clinical Neurophysiology
58. The EMBO Journal
59. Endocrinology
60. European Journal of Biochemistry
61. European Journal of Cell Biology
62. * European Journal of Immunology
63. European Journal of Pharmacology
64. Experientia
65. Experimental Brain Research
66. * Experimental Cell Biology

67. Experimental Cell Research
68. Experimental Neurology
- 69.* Experimental Pathology
70. FEBS Letters
71. Federation Proceedings of the Federation of American Societies of Experimental Biology
72. Gene
73. Histochemistry
74. Human Genetics
75. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, Biological Chemistry
76. Immunology
- 77.* Immunology Today
78. Infection & Immunity
- 79.* International Journal of Biochemistry
- 80.* International Journal of Neuroscience
- 81.* In Vitro
82. Journal of Affective Disorders
83. Journal of American Chemical Society
84. Journal of Anatomy
85. Journal of Biochemistry
86. Journal of Biological Chemistry
87. Journal of Cell Biology
88. Journal of Cell Science
89. Journal of Cellular Physiology
90. Journal of Chromatography
- 91.* Journal of Clinical Investigation
92. Journal of Comparative Neurology
93. Journal of Electron Microscopy
94. Journal of Experimental Medicine
95. Journal of Experimental Zoology

96. Journal of General Physiology
97. Journal of Heredity
98. Journal of Histochemistry & Cytochemistry
99. Journal of Immunology
100. Journal of Immunological Methods
101. Journal of Inherited Metabolic Disease
102. Journal of Lipid Research
103. Journal of Membrane Biology
104. Journal of Mental Deficiency Research
105. Journal of Molecular Biology
- 106.* Journal of Morphology
- 107.* Journal of Muscle Research & Cell Motility
108. Journal of Neural Transmission
- 109.* Journal of Neurobiology
110. Journal of Neurochemistry
111. Journal of Neurocytology
112. Journal of Neurogenetics
113. Journal of Neuroimmunology
114. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry
115. Journal of Neurological Sciences
- 116.* Journal of Neuropathology & Experimental Neurology
117. Journal of Neurophysiology
- 118.* Journal of Neuroscience
119. Journal of Neuroscience Methods
- 120.* Journal of Neuroscience Research
- 121.* Journal of Pathology
122. Journal of Pediatrics
123. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics
124. Journal of Physiology
- 125.* Journal of Tissue Culture Methods

III 中央施設

126. Journal of Ultrastructure Research and Molecular Structure Research
127. Journal of Virology
128. Laboratory Animal
129. Laboratory Animal Science
130. Laboratory Investigation
131. Lancet
132. Life Science
133. Lipids
134. Molecular & Cellular Biology
- 135.* Molecular & Cellular Biochemistry
136. Molecular Immunology
137. Molecular Pharmacology
138. Muscle & Nerve
- 139.* Mutation Research
140. Nature
141. Naunym-Schmiedberg's Archives of Pharmacology
- 142.* Neurology
143. Neurochemical Research
144. Neuropathology & Applied Neurobiology
- 145.* Neuropediatrics
- 146.* Neuropeptides
- 147.* Neuroscience
148. Neuroscience Letter
149. Neuroscience Research
150. New English Journal of Medicine
151. Nucleic Acids Research
- 152.* Pathology
153. Pediatric Research
154. Peptides
- 155.* Pflugers Archiv/European Journal of Physiology

- 156. Pharmacological Reviews
- 157.* Pharmacology Biochemistry & Behavior
- 158. Physiological Reviews
- 159. Proceedings of Japan Academy
- 160. Proceedings of National Academy of Sciences
- 161.* Proceedings of Royal Society of London Ser. B: Biological Science
- 162. Psychopharmacology
- 163. RAMBIOS
- 164.* Regulatory Peptides
- 165. Revue Neurologique
- 166. Roux's Archives of Developmental Biology
- 167. Sciences
- 168.* Studia Biophysica
- 169. Theriogenology
- 170.* Trends in Biochemical Sciences
- 171. Trends in Genetics
- 172.* Trends in Neurosciences
- 173.* Trends in Pharmacological Sciences
- 174.* Tissue & Cell
- 175.* Veterinary Record
- 176.* Virchows Archiv A : Pathological Anatomy & Histology
- 177.* Virchows Archiv B : Cell Pathology

追加注文中のもの

- 178. Advances in Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research
- 179. AIDS
- 180. Archives of virology
- 181. Biochemistry and Cell Biology
- 182. Biochemical Genetics
- 183. Biochemical Medicine and Metabolic Biology
- 184. Biology of Neonate

185. Biosis/Cas Selects : Alzheimer's Disease & Senile Dementias
186. Blood : Journal of Hematology
187. Brain Research Bulletin
188. British Journal of Haematology
189. Canadian Journal of Genetics and Cytology
190. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology
191. Cell Biochemistry and Function
192. Clinical and Experimental Immunology
193. Clinical Immunology and Immunopathology
194. Clinical Neuropharmacol
195. Cold Spring Harbour Symposium
196. Epilepsia
197. Epilepsy Research
198. European Journal of Medical Chemistry
199. European Neurology
200. Experimental Gerontology
201. Gene and Development
202. Genetical Research
203. Genetics
204. Immunological Reviews
205. International Archives of Allergy and Applied Immunology
206. International Journal of Cancer
207. Journal of American College of Neuropsychopharmacology (Vol. 1, 1987)
208. Journal of Cerebral Bloodflow and Metabolism
209. Journal of Child Neurology
210. Journal of Chromatographic Science
211. Journal of Cyclic Nucleotide and Protein Phosphorylation Research
212. Journal of Developmental Physiology
213. Journal of Experimental Psychology
214. Journal of Magnetic Resonance

215. Journal of National Cancer Institute
 216. Journal of Neuropathology
 217. Journal of Pharmacy and Pharmacology
 218. Journal of Toxicology : Toxin Reviews
 219. Membrane Biochemistry
 220. Metabolic Brain Disease
 221. Molecular Biology Reports
 222. Molecular Brain Research
 223. Neurobiology of Aging
 224. Neurochemical Pathology
 225. Neurochemistry International
 226. Neuroendocrinology
 227. Neuroscience Abstracts
 228. Neurotoxicology
 229. Pediatric Neurology
 230. Physiology and Behavior
 231. Proceedings Society of Experimental Biology and Medicine
 232. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
 233. Review of Magnetic Resonance in Medicine
 234. Somatic Cell and Molecular Genetics
 235. Subcellular Biochemistry
 236. Toxicology Letters
 237. Transplantation
 238. Virology
 239. Virus Research

和雑誌名

1. 遺 伝
2. 科 学
3. 化 学

Ⅲ 中央施設

4. 細胞工学
5. 神経研究の進歩
6. 神経内科
7. 生体の科学
8. 総合臨床
9. 組織培養
10. 蛋白質・核酸・酵素
11. 治療
12. 脳と発達
13. ラボラトリーアニマル
14. サイエンス
15. 神経精神薬理
16. 実験医学
17. 代謝
18. 臨床神経学
19. Clinical Neuroscience

IV 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

(昭和52年1月)

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、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、具体化の一步を踏みだした。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いるが、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、各部門の連携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) 分析科学研究部
- (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

IV 別 項

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ろこばしい。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 藺 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 3. 整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52～53年度)	一期工事(約4,400㎡) 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

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

IV 別 項

(別項2)

2. 国立精神・神経センター神経研究所 流動研究員運営要領

(昭和61月12月)

1. 目 的

神経研究所の研究体制の方針即ち

ア. 本研究所では、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、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. 流動研究員の区分

流動研究員を段階にわける。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年以上の者又は本研究所部長に準ずるもの

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又は本研究所室長に準ずるもの

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。

4. 選 考

神経研究所部長会議で応募者の審査、選考を行い、総長にその結果を報告、承認を得る。

5. 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総長が任命する。

任用期間は6ヶ月以内の期間を定め任命する。

但し、研究成果に基づき、さらに6ヶ月以内の延長を認めることができる。

原則として 総計3年以内とする。

6. 身 分

国家公務員で、非常勤職員とする。

7. 服 務

その任期内において、国家公務員法第3章第7節（服務）各条の適用者となる。

8. 勤 務 時 間

週33時間とする。

9. 災 害 補 償

国家公務員災害補償法の適用を受ける。

10. 給 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。

11. 適 用 時 期

この規程は、昭和61年10月1日から適用する。

IV 別 項

(別項3)

3 - A 国立精神・神経センター神経研究所 併任研究員運営要領

1. 目 的

神経研究所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) 本研究所では 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) 神経研究所部長会議で選考を行い、総長にその結果を報告する。
- (2) 併任研究員を受入れようとする部長（以下「当該部長」という。）は、神経研究所併任研究員申請書（様式1）を神経研究所部長会議に提出する。

3. 定数、任命および併任期間

- (1) 毎年度その定める各部の定数内において、総長が任命する。
- (2) 任命は、神経研究所部長会議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、総長が之を行う。
- (3) 併任期間は1年以内とする。ただし、再併任することは妨げない。

4. 責任と義務

- (1) 併任研究員の神経研究所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、神経研究所職員に準じて行うものとする。
- (2) 併任研究員が神経研究所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。

附 則

この運営要領は、昭和61年10月1日から適用する。

(別項3)

3-B 国立精神・神経センター神経研究所 客員研究員に関する内規

1. 神経研究所に客員研究員をおくことができる。
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神経研究所部長会議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. 客員研究員を受入れようとする部長は、神経研究所客員研究員申請書(様式1)を総長あてに提出する。
6. 任命は、神経研究所部長会議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、総長が之を行う。
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61年10月1日より施行する。

Ⅳ 別 項

(別項3)

3-C 国立精神・神経センター神経研究所 研究生研究見習生内規

1. 目 的

神経研究所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られるものとする。

2. 資 格

研究生は，大学卒業者または国立精神・神経センター総長（以下「総長」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総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) 神経研究所部長会議で選考を行い，総長にその結果を報告する。
- (2) 研究生または研究見習生の承認を受けようとする者は，神経研究所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。）を経て神経研究所部長会議に提出する。

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，総長が承認する。
- (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については、神経研究所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総長に提出するものとする。

9. 承認の取消

総長は、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、神経研究所部長会議で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61年10月1日から施行する。

Ⅳ 別 項

(別項4)

4. 国立精神・神経センター神経研究所 勤務心得

1. 神経研究所の勤務者（以下「勤務者」という。）は、研究者としての責務を自覚し、旺盛な研究心をもって対象疾病の研究に勤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・休憩の際、自己の研究体制に落度のないう心掛ける。
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. 神経研究所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、神経研究所長及び総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 国立精神・神経センター神経研究所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精神・神経センターの職員
- (2) 学識経験のある者

(会 長)

第4条 会長は、国立精神・神経センター総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もの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、部会長を置く。
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。

IV 別 項

(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。

(庶 務)

第8条 委員会の庶務は、国立精神・神経センター運営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。

(附 則)

この規程は、昭和61年10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の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	1. 第1研究室	多発性硬化症などの脱髄性疾患, 中毒性神経疾患,

部	室 名	主として行う研究テーマ
(主として脳器質疾患)	2. 第2研究室 3. 第3研究室	脳炎などの中枢神経感染症, 脳血管障害, 脳腫瘍, 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的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 3. 薬物代謝	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 生体内における薬物代謝の機構に関する研究

IV 別 項

部	室 名	主として行う研究テーマ
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^{精神}神経センター神経研究所年報
第1号(通巻9号)〔昭和61年度〕

発行 昭和62年3月31日
発行者 里吉栄二郎
編集者 鈴木義之
高橋清久
印刷 株式会社共進

国立^{精神}神経センター神経研究所
〒187 東京都小平市小川東町4-1-1
電話 0423(41)2711
