

国立精神・神経センター
神 經 研 究 所 年 報

第 2 号(通卷10号)

昭和62年度

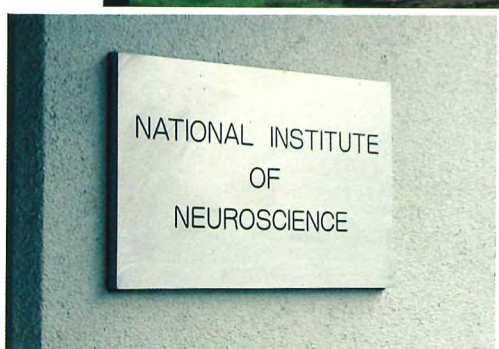
National Institute of Neuroscience
National Center of Neurology
and Psychiatry

—1987—

国立精神・神経センター
神 經 研 究 所 年 報

第 2 号(通卷10号)

昭和62年度



開設10周年を迎えた神経研究所、
左下に正面玄関の壁に掲げられた
研究所の英語名を示す

は し が き

国立精神・神経センター 神経研究所の年報第2号（通巻10号）を発刊することになりました。神経研究所が神経センターという名称で発足したのは昭和53年1月1日となっていますが、実質的な活動を開始したのは昭和53年4月24日の開所式からです。当時8部門16室で発足した研究所も10年の歳月の中で、14部門、33室の機構に成長してきました。

昔から10年一昔といわれていますが、当研究所も10年の間にほぼ2倍の機構に成長してきました。一方この10年間研究所を支えてきた人々の中にも定年を迎える方が出てきました。

学問の流れもこの10年の間に随分変わってきたのが目につきます。学問の進歩にそって先端的研究を進めてきた研究所のスタッフの努力も目覚ましいものがあります。この10年の間に研究設備も備品もかなり老朽化し、目下第2研究棟の建設が進んでいます。国立センターの研究所に発展したとはいえ本当の研究所の活動の鍵を握っているのは第2研究棟の整備の内容如何にかかっているものと考えています。

神経研究所年報第2号（通巻10号）を発刊するにあたって、この10年の間研究を支えてきた研究所のスタッフに心から感謝をささげる次第です。

昭和63年3月末日

国立精神・神経センター

神経研究所 所長

里 吉 栄二郎

目 次

I 神経研究所の概要	
1. はじめに	1
2. 組 織	1
3. 研究活動	2
4. 海外との研究協力	2
5. 精神・神経疾患研究委託費	3
6. その他	3
II 研 究 業 績	
1. 所 長	19
2. 疾病研究第1部	24
3. 疾病研究第2部	37
4. 疾病研究第3部	52
5. 疾病研究第4部	65
6. 疾病研究第5部	83
7. 疾病研究第6部	98
8. 診断研究部	113
9. 微細構造研究部	125
10. 機能研究部	142
11. 代謝研究部	149
12. 免疫研究部	156
13. 遺伝子工学研究部	164
14. モデル動物開発部	172
III 中 央 施 設	183
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	199
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	210
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	212
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	213
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	214
4. 国立精神・神経センター神経研究所勤務心得	216
5. 精神・神経疾患研究委託費運営委員会運営要領	217
6. 研究部門将来計画	219

I 神經研究所の概要

神経研究所の概要

1. はじめに

昭和61年10月、国立の3番目のセンターとして発足した国立精神・神経センターは国立武蔵療養所、同神経センター、国立精神衛生研究所の3施設を統合して出来上がったが、昭和62年4月には国立国府台病院が新たに加わり、センターは運営部、2病院（武蔵病院、国府台病院）、2研究所（神経研究所、精神保健研究所）の5部門によって構成されることになった。具体的には運営部と武蔵病院、神経研究所は小平市の武蔵地区にあり、国府台病院と精神保健研究所は千葉縣市川市の国府台地区にある。この東京都と千葉県に分散された4施設を如何に統合、運営していくかが今後の大きな課題であろう。

神経研究所としてはセンター昇格に伴って遺伝子工学研究部が新設された。また、研究委託費も神経疾患研究委託費から精神・神経疾患研究委託費に移行し、1億円の増額が行われ、総額5億5千万円で23の課題に対し研究委託が行われている。

研究所の設備では3年余りかかって出来た新しい実験動物研究棟の運営が始まり、研究所のスタッフが大いに期待をしている状況となってきた。また新しい第2研究棟7,800㎡の建設が始まり、4年をかけて地下1階、地上7階の新しい研究棟が生れることになっている。新しい研究施設と新しい備品の整備は研究所の将来にとって最も重要なものであるが、研究スタッフの充実もまた大きな課題である。部長、室長以下の研究員、研究補助員の充足は今後の研究の進歩を考えると是非とも実現させていかねばならず、将来計画の実施とともに定員の増加を如何にして獲得していくかも大きな課題として残されている。

2. 組織

昭和62年度は表1にあるように、所長1名、部長12名、室長33名に企画室の係長1名を加え、定員は計47名となっている。

実質的には室長職を研究員で代用している部もあり、所長1名、部長11名、室長24名、研究員6名、併任研究員26名、客員研究員23名、流動研究員23名、研究生76名、賃金研究員及び賃金研究助手38名、企画調査室係長1名、係員1名、賃金事務職員2名であり、研究生76名を除いても総計156名の数にのぼっている。またヒューマン・サイエンス財団から研究員1名が派遣されている。

疾病研究第2部長には有馬部長の後任として鳥取大学脳研・脳神経小児科から高嶋部長が、遺伝子工学研究部長には癌研究所生化学から鍋島部長が着任し、今後の活躍が期待される。

3. 研究活動

詳細は本誌にまとめてあるが、業績は年々増加し欧米の雑誌に研究成果を発表されるものが増えつつある。

各部の研究状況を要約すると疾病研究第1部は筋ジストロフィー症の研究が中心になっており、遺伝子DNAプローブによる研究から本症が細胞膜構成蛋白の異常によることを確かめている。疾病研究第2部は高嶋部長が新たに着任し、従来の生化学的研究から発生期、胎生期の形態学的研究に移行しつつある。疾病研究第3部は内因性精神病の生化学的研究と特にうつ病の発生とサーカディアンリズムの異常の研究が続けられている。疾病研究第4部は安藤一也部長の転出に伴い後任部長の選出に手間どり、やや研究のテンポが落ちたが新年度には新しい部長の誕生が決まっているので、また活潑になることと期待している。疾病研究第5部はリソゾーム病の診断と遺伝子の研究が進んでいる。疾病研究第6部は脱髄機構の解明に新しい知見を加えているが、最近では老年痴呆の研究も進み、アミロイド斑の研究をすすめつつある。診断研究部は自閉症の診断と治療に熱心であり、代謝研究部はてんかんの作用機序とレセプターとの関係やグリリア細胞の生体膜、蛋白構成についての研究が行われている。しかしながら長年研究を続けてきた診断研究部の成瀬部長、代謝研究部の宮本部長が本年限りで退官することは誠に残念である。微細構造研究部は筋ジストロフィーの研究と同時にミトコンドリア・ミオパチー研究の中心として大いに活躍している。機能研究部は筋発生因子トランスフェリンの分子構造的な研究が進んでいる。免疫研究部ではウイルス感染と自己免疫との関係の研究と神経系の生長因子の研究が進んでいる。モデル動物開発部は新しい研究施設が活動しはじめ、動物の管理維持に多くの時間をさいているが、多くのモデル動物の維持と共に遺伝子導入動物の作成に大いに熱意を燃やしている。遺伝子工学研究部は鍋島部長の指揮のもとでこれからの活動が期待される。疾病研究第7部は旧動物舎を整備して研究室の準備をしている状況である。

4. 海外との研究協力

本年も海外の研究者が多数来所され、セミナー等が行われた。(表3参照)

流動研究員としては疾病研究第5部にイスラエルの Hadassah 大学の Prof. G. Bach, 疾病研究第6部には前年度より引き続いて中国の Yao Da Lin (姚 大林) 助教授, 63年2月からフィリピン, Santo Tomas 大学の Dr. R. S. Javier が研究に参加した。機能研究部には西独, Konstanz 大学の Prof. Dirk Pette が1ヶ月滞在した。なお疾病研究第6部にはフィリピン, UPPGH の Dr. M. D. Gose が客員研究員として2ヶ月研究に参加した。

5. 精神・神経疾患研究委託費

センター発足に伴い、殊に精神保健研究所が加わったために研究プロジェクトの中もかなり広くなり、1億円増額して総額5億5千万円となり、研究課題も23課題に増加した。課題、班員の増加に伴い研究費の配分その他事務処理が多くなるため企画室が設けられ、研修を含め研究事務を行う予定である。

6. その他

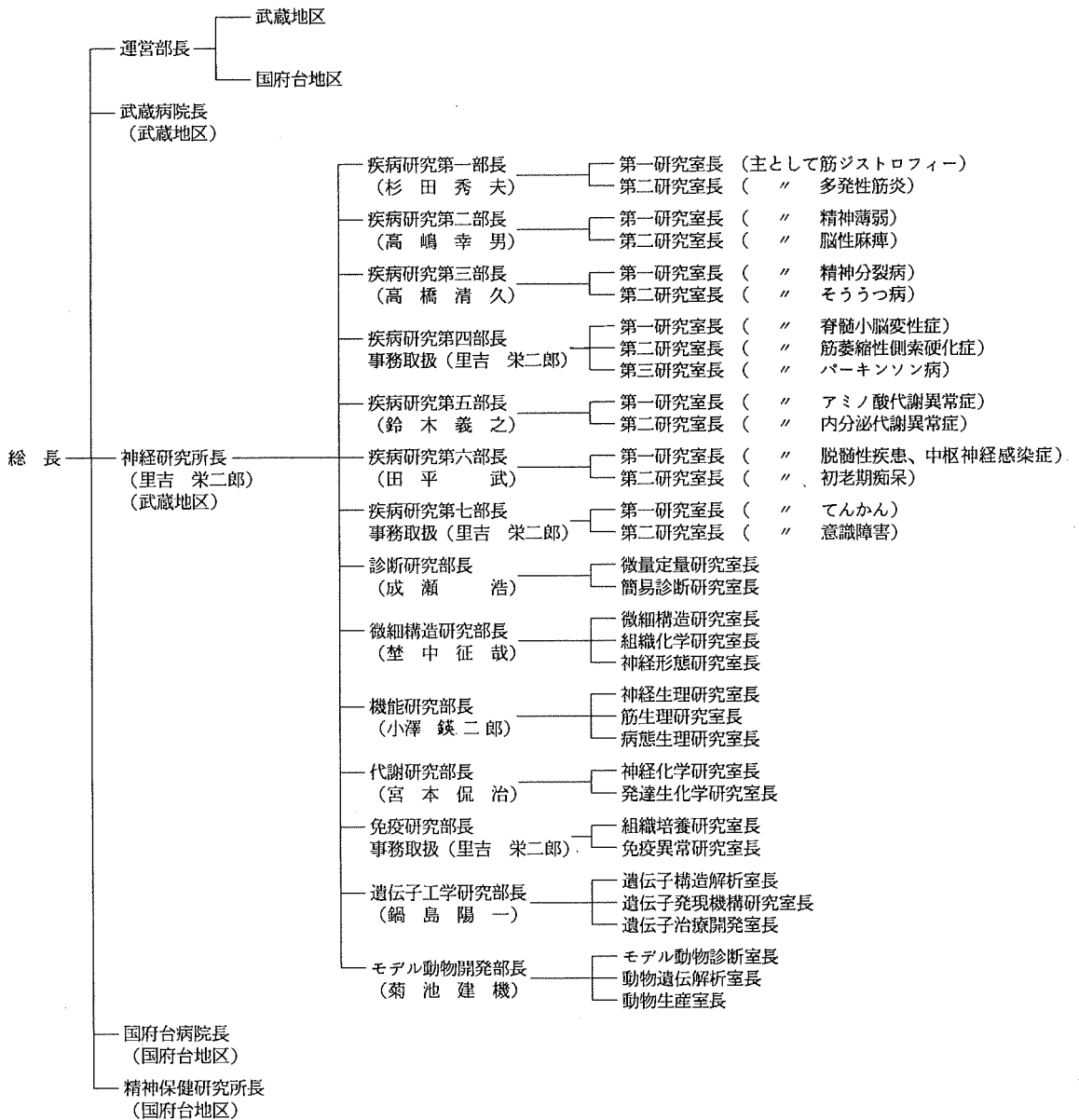
国立センターに移行する前後から民間活力の応用、協力が政府によって奨励され、ヒューマン・サイエンス財団やシルバー・サイエンス財団、エイズ予防財団等研究費の供給、流動研究員の派遣、研究生の協力等かなり多くの点で便利にはなったが、実際の運用に当っては多くの規制があり、思うように使えないのは残念である。

国立精神・神経センター

神経研究所所長

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	賃 金	合 計		
研 究 職					行 (-)						部 長	研究員
所 長	部 長	室 長	研究員	研究補助員	係 長	係 員	計	研究員	研究員	研究員		
1	12	33	-	-	1	-	47	2	26	28	2	105

(62年度の計)

(表2)

神經研究所 組織 (昭和62年度)

(昭和62年4月1日～63年3月31日)

所	長	室	長	研究員	兼任研究員	客員研究員	流動研究員	研究員	研究員	生	賞金研究員 賞金研究助手
疾病研究第1部	杉田秀夫	石荒	章喜 補畑 一一	須原芳宏 (62.4/1採)	石清水 春山 原口	幸夫彦明 傳輝經	佐高米 藤昭恭 猛夫三	山本真理 (63.2/29退) 塚原俊文 (62.5/1採)	臼鎌小野山荒瀧織武三 杵倉泉島本木脇茂山倉	扶佐子隆夫司誠介之美子 真宏美剛泰智理恵子	○小川敬治美 ○安楽藤加奈子 ○後
疾病研究第2部	里吉栄二郎 (62.9/30まで 事務取扱) 高嶋幸男 (62.10/1より)	田中晴 許斐博 史	美 博 史	三ツ汐 (63.1/9まで)	桜川宣男 加藤小波本宇	昌進太郎 高威	猪俣賢一郎	笠中透治 (63.3/31退) 村上晶 (63.3/31退)	糸小 教山	哉弘 直和	*須貝山悦子 ○丸山(63.3/31退) ○林昭子
疾病研究第3部	高橋清久	三西国川 (62.4/1より)	彦雅徹 徹(より)	洋 瑞子	加藤小波本宇	昌進太郎 高威	市川宏 樋口部渡	車地曉生 (62.6/20退) 大井直人 (62.4/1採) 久住一郎 (62.7/1採)	永山吉杉池野渡篠 木崎田下田田辺原	茂潤宏 幸真理子行平文之 正恭義一	○高嶋瑞麻夫未 ○海野(62.11/30退)
疾病研究第4部	里吉栄二郎 (62.4/1より 事務取扱)	向山立 足	邦昌皓 岑	吉田瑞子	横井風児	児	安井昌之	鈴木良弘 (62.12/31退)	里佐々木 神木	一行 永秀	*佐藤高圭昌京眞喜子 ○大杉村井(62.11/30退) *中松(62.11/30退) *佐久間眞喜子
疾病研究第5部	鈴木義之	大村桃井	清隆 (63.3/31まで)		飯小榊敏	一郎一夫 裕卓洋静	泉山 達龍宏	辻明彦 北本年弘 (62.4/1採) Gideon Bach (62.5/25採～ 6/30退) 大島章弘 (62.9/8採)	荒長平楊岩難吳姚養王田 木尾林崎波 克芳義瑞裕栄淑舞正	○藤本林知子 ○新本(62.6/30退) ○今(62.6/30退) ○斎藤眞理 (63.3/31退) ○中島春子 (62.7/1採)	

I 基礎研究所の概要

疾病研究第6部	田平武	西澤正豊 (62.4/1より専任) 国下龍英 (62.4/1より)			Mayvelin D. Gose (62.10/18~ 12/16)	小池文彦 谷雅大 (Yao Da Lin) (62.8/29退) 遠藤真澄 (62.9/1探~ 11/7退) Ramon S. Javier (63.2/25探) (本山和徳: 62.4/1よりヒュ ーマンサイエンス 財団より派遣)	佐藤一 呉準 千佳 遠厚 米真 Raymond L. Rosales 美保子 子澄 (62.11/9より)	○遠藤真澄 (62.8/31退) *沓掛友理子 ○山村隆 (62.6/23退)
疾病研究第7部	里吉栄二郎 (事務取扱)		三ッ汐 洋 (63.1/10~3/31)					
診断研究部	田平武	林野司 時孝史 林野司		村上弘 司	入江正章 甲斐壮章 辻田洋 荒	侯賀宣子 (63.3/31退) 矢野登志雄 矢永克己 (62.4/1探~ 63.3/31退)	子勉子 彰幸 賀山木 芳内永 貞呉姚 増高吉	○渡辺倫子 (63.3/31退) *大庭ひさ子 (63.3/31退)
微細構造研究部	田平武	加相功 茂久志 茂川志	菊池愛子	有須川塚 馬貝村原 邦研光 正司力茂典		古賀靖悦 大悦生 (62.4/1探)	新伊岡川 小宮山藤 田木倉村 辺井林村 谷本井本 山簡新船	*神岡里 ○藤沢田 ○桶加津美 利加

機能研究部	小沢 鍊二郎 (63.3/31退)	齊藤 公司 (63.3/31まで) 吉田 幹晴 (62.4/1より)	萩原 康子	熱若 海林 佐保子 之	木村 一郎 加代子 一 藤島 陽一 (62.10/31まで)	野呂 知加子 (63.3/31退) 岡村 和夫 (63.1/10退) Dirk Pette (62.9/7採~ 10/8退)	桜田 隆光 井中	重子 八陽子 ○川合 陽子 (62.7/9退) *塚土原 勝子 *山田 圭津 (62.7/1採)
代謝研究部	宮本 侃治 (63.3/31退)	今沢 正興	中嶋 一行	清野 昌素 山一男 永	菅藤 一也 谷田	田口 文子 (63.3/31退) 大原 たかね (63.3/31退)	熊谷 博道	○佐藤 七枝 (63.3/31退) ○奥村 展枝 (62.4/30退) ○甲 有理 (62.4/1採)
免疫研究部	里吉 栄二郎 (事務取扱)	古川 昭里 栄仁 渡辺			林 恭三	松原 豊 (62.4/1採) 古川 美子 (62.6/30退)	池古 亮美 上川 美子 (62.7/1より) 山野 一雄 形沢 資通 西沢 美知子 辺田 耕 玉	○赤沢 左衛子 ○橋田 国陽子 *北田 陽子 (62.5/1採)
遺伝工学研究部	里吉 栄二郎 (62.10/1~ 10/31事務取扱) 鍋島 陽一 (62.11/1より)	藤沢 淳子 (63.1/1採)					小松 透一 宮田 良	○鍋島 曜子 (63.1/4採) *富岡 信子 (63.1/11採~ 3/31退)
モデル動物開発部	菊池 建機	花岡 和文 田口 則 田 広		山田 内一 内雅 也 規	加藤 裕宗 斎 雄	松崎 哲也 余田 明 (62.4/1採)		○早坂 美智子 ○守屋 弘美 (62.4/1採) *平野 弘美 (62.12/18退) *田岸 敦子 (63.1/11採)
企画調査係 (62.9/30まで)	企画調査係長 (62.9/30まで) 企画第一係長 (62.10/1より)							
企画第一係 (62.10/1より)	小林 幸夫 (63.3/31まで)							
R I 室	*内田 史江							
図書室								
電顕室	○石井 弘子 ○赤堀 宏							
所長室	大関 桂子							

(表3) 昭和62年度 神経研究所セミナー及び講演会

月 日	講 師 ・ 所 属	演 題	担 当
62年 4.14	柳原武彦 Professor, Department of Neurology, Mayo Clinic, U.S.A	Clinical manifestations of haemo- dynamic cerebrovascular diseases	所 長
5.25	Lucas Y. Yamamoto Director, Neuroisotope Laboratory, Professor of Neurology and Neurosurgery, Montreal Neurological Institute, McGill University, Canada	Positron Emission Tomography (PET): Past and Future	"
6.9	James H. Austin Professor, Department of Neurology, University Hospital, University of Colorado Health Sciences Center	Toward an optimal anti-platelet dose of Aspirin	"
6.10	Gideon Bach Professor, Department of Human Genetics, Hadassah University Hospital, Jerusalem, Israel	Genetics and biochemical findings of lysosomal storage disorders in Israel and prevention projects	疾病研究第5部
6.25	Robert G. Shulman Professor, Department of Molecular Bio- physics and Biochemistry, Yale Univer- sity, Director, Magnetic Resonance Center, Yale University School of Medicine	¹ H, ¹³ C, and ³¹ P NMR studies of the brain	NMR 勉強会
7.7	Floyd H. Gilles Professor of Neuropathology, University of Southern California, Children's Hospital of Los Angeles	Normative standards developing brain	所 長
9.9	Dirk Pette Professor, University of Konstanz, Faculty of Biology, West Germany	Control of phenotype expression in muscle fibers by motor unit specific impulse patterns	機能研究部
9.29	"	Impaired function of the sarcopla- smic reticulum in murine muscle dystrophy	"
10.9	岩本愛吉 東京大学医学部細菌学教室助手	マウスT細胞レセプターの遺伝子構造と その機能について	疾病研究第6部
10.30	Hartmut Wekerle Professor, MPG Klinische Forschungs- gruppe für Multiple Sklerose, Würzburg, FRG	Myelin-specific T cells and auto- immune disease	"
11.6	Haward L. Weiner, David Hafler Harvard Medical School, Boston, U.S.A.	Pathomechanisms of multiple sclerosis	"
12.1	David Yaffe Professor, Weizmann Institute, Israel	筋タンパク遺伝子のトランスジーン	機能研究部
12.4	桜庭均 我孫子つくし野病院小児科医長	Fabry 病の分子遺伝学	疾病研究第5部
12.15	植村慶一教授 赤川公郎講師 埼玉医科大学生理学教室	網膜神経細胞の各種マーカーモノクローナ ル抗体	免疫研究部

63年	北村 敬 国立予防衛生研究所 腸内ウイルス部長、バイオ ハザード委員会委員長	感染実験安全対策について	疾病研究第6部 免疫研究部
1.26			
2.10	園田 俊郎 鹿児島大学医学部ウイルス学助教授	HTLV-I感染症の遺伝疫学	疾病研究第6部
3.1	Raymond L. Rosales 鹿児島大学医学部第3内科 大学院生	Morphometry of intramuscular nerves in ALS and other neuro- muscular diseases	”
3.4	川合 述史 東京都神経科学総合研究所 病態神経生理学部門	グルタミン酸レセプターの阻害機構	疾病研究第3部
3.9	辻 明彦 疾病研究第5部流動研究員	リゾソーム酵素の局在化機構	疾病研究第5部
3.11	藤沢 淳子 遺伝子工学研究部室長	薬物代謝酵素遺伝子の発現調節	遺伝子工学研究部
3.22	清水 憲司 大阪大学医学部脳外科	脳移植の免疫学	疾病研究第6部

部長就任講演会

月 日	講 師 ・ 所 属	演 題
63年	鍋島 陽一 部長	筋分化過程における遺伝子発現の制御
1.19	遺伝子工学研究部	
2.16	高嶋 幸男 部長	樹状突起の発達と異常
	疾病研究第2部	

(表4) 昭和62年度 神経研究所・研究発表会

昭和63年3月8日(火)
第3会議室

9:30	微細構造研究部		
	1) 皮質構築異常を呈する先天奇形ラット(SRK)の神経病理学的研究		相川久志
	2) Cytochrome C oxidase 染色の電子顕微鏡への応用		桒中征哉
10:00	機能研究部		
	1) 培養ニワトリ筋管細胞収縮系のアルカリ土金属イオンに対する感受性		斎藤公司
	2) 筋衛星細胞の増殖にかかわる因子		野呂知加子
10:30	代謝研究部		
	1) 脳内イノシトールシリン酸の結合部位	今沢正興	甲 有理
		田口文子	宮本侃治
	2) 培養オリゴデンドロサイトにおける MBP 量促進物質	中嶋一行	佐藤七枝
		今沢正興	宮本侃治
	3) けいれん関連物質と cGMP	田口文子	今沢正興
		宮本侃治	
11:00	免疫研究部		
	1) ラットにおけるコロナウイルス JHM 株による中枢神経の初期病変	松原 豊	渡辺里仁
		里吉栄二郎	
	2) 培養アストログリア細胞の神経成長因子合成を制御する要因	古川昭栄	古川美子
		里吉栄二郎	
11:30	モデル動物開発部		
	1) マウス胚初代培養法による胚性幹細胞株樹立の試みについて		花岡和則
	2) マウス肝炎ウイルス peplomer 蛋白(E2)のパキユウイルスベクターによる産生		余田 明
—— 休 憩 ——			
13:00	疾病研究第1部		
	1) ヒト赤白血病細胞(K562)に存在する「ATP 依存症プロテアーゼ」は高分子量プロテアーゼ、インゲンシンと同一である。		塚原俊文
	2) DMD 遺伝子産物の局在について		荒畑喜一
13:30	疾病研究第2部		
	1) 妊娠母体投与銅の新生仔大脳に及ぼす影響		笠間 透・他
	2) マルフアン症候群の皮膚線維芽細胞が合成するコラーゲン分子の解析		村上 晶・他
14:00	疾病研究第3部		
	1) 生体リズムの発達におけるセロトニン神経系の役割		大井 健
	2) うつ病者血小板およびセロトニン合成酵素阻害剤 PCPA 反復処置ラット海馬切片におけるセロトニン刺激性イノシトール-1-リン酸蓄積亢進反応の測定		三国雅彦
	3) 中脳皮質系ドーパミンニューロンの調節機構		西川 徹
14:30	疾病研究第4部		
	1) GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの感覚神経路の計測学的研究		向山昌邦
	2) 小脳低形成の実験的研究	鈴木良弘	足立皓岑
—— 休 憩 ——			

15:20	疾病研究第5部	
	1) いわゆる C 型 Niemann-Pick 病の病因について	大村 清
	2) ニワトリ発生過程におけるレチノイン酸結合蛋白の生理的意義	北本年弘
15:50	疾病研究第6部	
	1) 自己免疫性脳脊髄炎の予防・治療薬の開発	田平 武
	2) 老人斑アミロイドの研究	小池文彦
	3) プロテオリピッドアポ蛋白の脳炎誘起決定部位の検討	西沢正豊
16:20	診断研究部	
	1) 尿中フェニールエチルアミン測定 of 臨床診断的意義	林・永田 俣賀・池浦
	2) In vivo ¹³ C NMR 法によるラット脳グルコース代謝の研究	萩野・矢野 渡辺
	3) その他の診断研究部の研究	成瀬・他
17:00	懇親会	

(表5) 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	所属及び役職名	主任研究者	金額	人員	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	千円 20,000	11	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	15	〃
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	20	〃
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	31	〃
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	13	〃
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	27	〃
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	19	〃
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	23	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	39	〃
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	53	〃
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	31	〃
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	41	〃
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	13	〃
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	18	〃
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	16	〃
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	11	〃
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	12	〃
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	15	〃
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	12	〃
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	20	〃
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	16	〃
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	8	〃
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	13	〃
			合計	550,000	477	

(表6)

精神・神経疾患研究委託費運営委員会委員

委員名	所属及び役職名	任期
飯塚礼二	順天堂大学医学部精神神経科教授	S.62.4.1～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	〃
江橋節郎	岡崎国立共同研究機構生理学研究所長	S.62.4.1～S.64.3.31
祖父江逸郎	国立療養所中部病院名誉院長	〃
福山幸夫	東京女子医科大学小児科教授	〃
稲永和豊	久留米大学医学部精神神経科教授	〃
生田房弘	新潟大学脳研究所長	〃
中西孝雄	筑波大学副学長内科教授	〃
内村英幸	国立肥前療養所長	〃
仲村英一	厚生省保健医療局長	関係行政機関等
坂本龍彦	厚生省児童家庭局長	〃
寺松尚	厚生省大臣官房科学技術審議官	〃
島蘭安雄	国立精神・神経センター総長	〃
大熊輝雄	国立精神・神経センター武蔵病院長	〃
佐藤修	国立精神・神経センター国府台病院長	〃
里吉栄二郎	国立精神・神経センター神経研究所長	〃
藤縄昭	国立精神・神経センター精神保健研究所長	〃

(表7) 精神・神経疾患研究委託費運営委員会評価部会委員

委 員 名	所属及び役職名	任期
多田啓也	東北大学医学部小児科教授	S.62.4.1～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	〃
勝沼信彦	徳島大学医学部付属酵素研究施設長	S.62.4.1～S.64.3.31
亀山正邦	財団法人住友病院長	〃
北川照男	日本大学医学部小児科教授	〃
稲永和豊	久留米大学医学部精神神経科教授	〃
中西孝雄	筑波大学副学長内科教授	〃
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	〃
大熊輝雄	国立精神・神経センター武蔵病院長	〃
佐藤修	国立精神・神経センター国府台病院長	〃
里吉栄二郎	国立精神・神経センター神経研究所長	〃
藤縄昭	国立精神・神経センター精神保健研究所長	〃

(表8) 昭和63年度 精神・神経疾患研究委託費研究課題一覧表

研究課題	所属及び役職名	主任研究者	金額	備考
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	千円 20,000	継続
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	〃
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 54,000	〃
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子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 19,000	〃
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 16,000	〃
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 大整形外科教授	小野村 敏 信 17,000	〃
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 25,000	〃
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 35,000	〃
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	〃
63指-1	筋ジストロフィー症及び関連疾患モデル動物の開発に関する研究	国立精神・神経センター 神経研究所部長	埜中 征 哉 20,000	新規
63指-2	脳発達障害の発現機序と対策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	〃
63指-3	発達期における脳循環障害の発症機構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	〃
63指-4	ミエロパチーの発現機構と病因に関する研究	東京大学医学部 脳研神経内科教授	萬年 徹 10,000	〃
63指-5	中枢神経系の機能修復促進に関する開発的研究	新潟大学脳研究所教授	宮武 正 10,000	〃
		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) 祖父江逸郎, 千田康博, 平山恵造, 榎林博太郎, 萬年徹, 里吉宮二郎, 宇尾野公義, 高橋昭, 鈴木友和:
Shy-Drager 症候群および関連疾患に対する L-threo-3, 4-dihydroxyphenylserine (L-DOPS) の薬効評価—プラセボを対照とした多施設二重盲検法による比較検討
—医学のあゆみ 141:353-378, 1987
- 2) Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K:
Regulation of nerve growth factor synthesis / secretion by catecholamine in cultured mouse astroglial cells
Biochem Biophys Res Commun 147:1048-1054, 1987
- 3) Komiyama A, Kamo I, Furukawa S, Akazawa S, Hirayama K, Satoyoshi E:
Antibodies against saline-soluble components of skeletal muscle in myasthenia gravis
J Neurol 235:207-213, 1988

b. 著 書

- 1) 里吉宮二郎:
里吉病
医科学大事典補遺4「最新の医科学用語 1987」, 講談社, 東京, p121, 1987
- 2) 里吉宮二郎:
筋萎縮
診断・治療マニュアル, 金原出版, 東京, p698-700, 1987
- 3) Sunohara N, Satoyoshi E:
A syndrome of anosmia, ichthyosis, and hypogonadism with steroid sulfatase and arylsulfatase C deficiencies
Neurocutaneous diseases-a practical approach (ed by Gomez M R) , Butterworths, p301-304, 1987

c. 総 説

- 1) 里吉宮二郎:

II 研究業績

運動失調とは

Clinical Neuroscience 5:748-749, 1987

2) 里吉宮二郎:

周期性四肢麻痺

日本臨牀, 新訂(体液) - 最近の進歩と対策を中心に - 45巻・夏季増刊号:994-1000, 1987

3) 里吉宮二郎, 亀井敦行:

老年者のパーキンソン病

日本医師会雑誌 98:791-794, 1987

d. 班会議報告書

1) 里吉栄二郎, 篠塚直子, 亀井敦行:

慢性進行性神経疾患患者の在宅生活維持の条件

東京都特殊疾病(難病)に関する研究班, 昭和61年度研究報告書, p14-15, 1987

2) 里吉栄二郎, 古川昭栄:

実験的筋炎モデル動物の作成に関する研究

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年度研究報告書, p69-73, 1987

e. その他

1) 里吉宮二郎:

書評「神経診察法 ベッドサイドの手引」(ed:Massey, E W et al, 木下真男 監訳)

Clinical Neuroscience 5:839, 1987

2) 里吉宮二郎:

書評「臨床神経学の基礎(第2版) - メイヨー医科大学教材 -」(大西晃生, 納光弘, 岡崎春雄 訳)

脳と神経 39:922, 1987

3) 里吉宮二郎:

こむら返り

朝日新聞 12. 6 (朝刊), 1987

4) 里吉宮二郎:

畏友, 椿忠雄君を憶う

脳と神経 40:95-96, 1988

5) 里吉宮二郎, 岩崎祐三, 高松淳一, 田平武:

〈座談会〉 AIDS と神経系をめぐって

Clinical Neuroscience 6 :80-99, 1988

B. 学会発表

b. 国際学会

1) Yokoi F, Iio M, Toyama H, Ando K, Satoyoshi E:

Analysis of ¹⁸C-1-pyruvate metabolism in cerebrum of Alzheimer's disease by positron emission tomography

III IVth Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine, Tronto, Canada, Jun. 3, 1987

2) Mukoyama M, Sunohara N, Satoyoshi E:

Clinicopathological study on two Japanese ALS cases with long survival

International Conference of Amyotrophic Lateral Sclerosis, Kyoto, Oct. 29, 1987

c. 一般学会

1) 祖父江逸郎, 千田康博, 高橋昭, 鈴木友和, 楢林博太郎, 平山恵造, 萬年徹, 里吉宮二郎, 宇尾野公義:

Shy-Drager 症候群および関連疾患に対する L-DOPS の臨床的有用性の検討—多施設二重盲検群間比較法による検討—

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987 (臨床神経 27:1587)

2) 富英明, 春原経彦, 里吉宮二郎, 橘滋国:

ミトコンドリアミオパチー例の低頻度反復電気刺激による positive staircase 現象の異常について

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987 (臨床神経 27:1617)

3) 春原経彦, 亀井敦行, 富英明, 埜中征哉, 里吉宮二郎:

Rimmed vacuole を伴う家族性遠位型ミオパチー —その経過と予後—

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987 (臨床神経 27:1664)

4) 横井風児, 飯尾正明, 外山比南子, 安藤一也, 里吉宮二郎:

アルツハイマー病のポジトロン CT による脳内ピルビン酸代謝の検討

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987 (臨床神経 27:1646)

5) 富英明, 向山昌邦, 亀井敦行, 里吉宮二郎:

II 研究業績

中枢神経系に多数の corpora amylacea を認めた Crow-Fukase 症候群の一例

第28回日本神経病理学会総会, 神戸, 6. 2, 1987

6) 西尾健資, 横井風児, 春原経彦, 埜中征哉, 里吉宮二郎:

多毛, 両側線条体 CT-lucency, cytochrome C oxidase 部分欠損を伴った家族性慢性進行性
外眼筋麻痺症候群の一例

第101回日本神経学会関東地方会, 東京, 6. 6, 1987 (臨床神経 28:240)

7) 亀井敦行, 横井風児, 春原経彦, 里吉宮二郎, 橋滋国:

右上下肢のしびれを主訴とした脊髄空洞症の一例

第102回日本神経学会関東地方会, 東京, 9. 5, 1987 (臨床神経 28:584)

8) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 富岡登, 中山重信, 池田典秋, 深山裕喜雄, 島田静雄, 林恭三:

カテコール環をもつ種々の化合物の NGF 合成促進効果

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

9) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 池上亮介, 中村信之, 室田影久, 林恭三:

脊髄後根神経節および坐骨神経由来の非神経細胞による NGF の合成・分泌

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

10) 松田行正, 野手とし子, 向山昌邦, 春原経彦, 里吉宮二郎:

不安定歩行 (正常圧水頭症) を呈した一剖検例

第103回日本神経学会関東地方会, 東京, 12. 5, 1987 (臨床神経 28:950)

11) 渡辺里仁, 里吉栄二郎, 田口文広:

ラットにおける, AIDS 感染モデルの確立

エイズ研究会第1回学術集会, 京都, 12. 21, 1987 (抄録102)

12) 荻野裕, 西尾健資, 横井風児, 春原経彦, 里吉宮二郎:

Transient global amnesia の2症例 - PET 所見を中心として -

第104回日本神経学会関東地方会, 東京, 3. 5, 1988

C. 班会議発表

1) 里吉栄二郎, 篠塚直子:

慢性進行性神経疾患患者の在宅生活維持の条件

東京都特殊疾病 (難病) に関する研究班, 昭和61年度研究報告会, 東京, 6. 13, 1987

2) 渡辺里仁, 松原豊, 里吉栄二郎:

コロナウィルス JHM 株による中枢神経の初期病変

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班 昭和62年度班会議, 東京, 1. 22, 1988

3) 横井風児, 原敏彦, 飯尾正明, 埜中征哉, 里吉栄二郎:

ミトコンドリア脳筋症の脳及び筋肉における¹⁴C-1-ピルビン酸代謝

厚生省精神・神経疾患・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班 昭和62年度班会議, 2. 6, 1988

4) 渡辺里仁, 田口文広, 里吉栄二郎, 池田秀利:

フレンド白血病ウイルスによる中枢神経の炎症と変性

厚生省精神・神経疾患・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班 昭和62年度班会議, 東京, 2. 20, 1988

5) 里吉栄二郎, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 加茂功:

実験的筋炎モデル動物の作成に関する研究—自己免疫筋疾患抗原物質のモノクローナル抗体による解析—

厚生省新薬開発・低分子化合物による難病治療薬の開発研究班 昭和62年度班会議, 東京, 3. 22, 1988

D. 研究会など

1) 新井幸男, 宮里良乃, 富英明, 埜中征哉, 春原経彦, 里吉宮二郎:

軽度嚥下障害, 頸屈筋筋力低下のみで2年経過した多発性筋炎の1例

第18回三多摩神経疾患懇話会, 立川市, 4. 18, 1987

2) 里吉栄二郎:

整形外科領域における筋神経疾患

第1回多摩整形外科医会, 立川市, 1. 29, 1988

2. 疾病研究第1部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第一部は昨年同様進行性筋ジストロフィーを中心とする遺伝性筋疾患、及び多発性筋炎などの後天性筋疾患の成因の解明、治療法の開発を主目的としている。

昭和62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, 荒畑喜一,〔研究員〕須原芳宏(62.4.1~),〔併任研究員〕石原傳幸, 山口明, 清水輝夫, 春原経彦,〔客員研究員〕高木昭夫, 米本恭三, 佐藤猛,〔流動研究員〕山本真理(~63.2.29), 塚原俊文(62.5.1~),〔研究生〕鎌倉恵子, 野島美知夫, 臼杵扶佐子, 小泉宏隆, 新に4月1日付で荒木誠, 山本剛司, 淵脇泰介, 織茂智之, 武山理美の5名が参加,〔研究見習生〕小川俊夫,〔賃金研究員〕小川敬子, 安楽治美, 後藤加奈子,〔部長室〕下川智子。

本年度疾病研究第1部の主要テーマ及び研究概要は次の様なものである。

1) 筋ジストロフィーの病態, 成因に関する研究

a) Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)の病態に関する研究

DMDの遺伝子産物に関しては mRNAの大きさから500K以上の大きな蛋白質が候補として挙げられ, ネブリンが有望視されたが immunoblot法によりこの蛋白質は発現されるが変性し易い事がわかった。又ネブリン, コネクチンの様な弾性蛋白は α -アクチニンより分解し易く, 此等の弾性蛋白質が静止張力に関与している事は DMDの病態を考える上で重要である。

b) DMDの遺伝子産物の局在

当部は機能研究部, 微細構造研究部と共同で味の素中央研究所を含む研究チームを編成し DMD cDNAよりペプチドを合成し, それに対する抗体による免疫組織化学的研究により遺伝子産物は骨格筋, 心筋の表面膜に表現されている事を発見した。更に DMD 骨格筋, 心筋ではこの蛋白質は発現していない事を確認し, 本症が筋表面膜の疾患である事が明かになった。成因解明に大きく前進したと言えよう。

2) 糖原病型II型ウズラに関する研究

糖原病型II型ウズラでは分子量110Kの α グルコシターゼの前駆蛋白は存在するが成熟体と考えられる98Kの酵素の生成が起っていないことが示唆された。

3) インゲンシンについて

インゲンシンは当部で発見された高分子蛋白分解酵素であるが, この酵素は ATP 依存性プロテアーゼと同一のものである事が前赤芽球細胞の性質を持つ K562 株培養細胞で認められた。

(部長 杉田秀夫)

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Sugita H, Higuchi I, Sano M, Ishiura S :
Trial of a cysteine proteinase inhibitor, EST, in experimental chloroquine myopathy in rats
Muscle Nerve 10 : 516-523, 1987
- 2) Akita Y, Ohno S, Goto J, Nakano I, Takatsu M, Sugita H, Suzuki K :
Diagnosis of Duchenne and Becker muscular dystrophies by DNA polymorphism
Jpn J Human Genet 32 : 71-82,1987
- 3) Sugita H, Arahata K, Ishiguro T, Suhara Y, Tsukahara T, Ishiura S, Eguchi C, Nonaka I, Ozawa E :
Negative Immunostaining of Duchenne muscular dystrophy (DMD) and mdx muscle surface membrane with antibody against synthetic peptide fragment predicted from DMD cDNA
Proc Japan Acad 64 : 37-39, 1988
- 4) Tamai M, Matsumoto K, Oguma K, Koyama I, Omura S, Hanada K, Ishiura S, Sugita H :
EST, a new analog of E-64, can prolong the life span of dystrophic hamsters, UM-X7.1
Cysteine Proteinases and their Inhibitors 1986 Walter de Gruyter & Co., Berlin, New York-Printed in Germany : 634-648
- 5) Imajoh S, Kawasaki G, Emori Y, Ishiura S, Minami Y, Sugita H, Imahori K, Suzuki K :
A fragment of an endogenous inhibitor produced in Escherichia coli for calcium-activated neutral protease (CANP) retains an inhibitory activity
FEBS LETTERS 215 : 274-278, 1987
- 6) Ishiura S, Anraku H, Kamo I, Koizumi H, Arahata K, Sugita H :
Isolation of a Ca-dependent erythrolytic protein (perforin) from cytotoxic T-lymphocytes
J Biochem 102 : 9-12, 1987
- 7) Ishiura S, Yamamoto T, Yamamoto M, Nojima M, Aoyagi T, Sugita H :
Human skeletal muscle contains two major aminopeptidases : an anion-activated

II 研究業績

aminopeptidase B and an aminopeptidase M-like enzyme

J Biochem 102 : 1023-1031, 1987

- 8) Ishiura S, Koizumi H, Tsukahara T, Sugita H :

Effects of heparin and other acid mucopolysaccharides on the activity of a cytolytic pore-forming protein (perforin) from cytotoxic T-lymphocytes

J Biochem 103 : 11-13, 1988

- 9) Arahata K, Andrew G.Engel :

Monoclonal antibody analysis of mononuclear cells in myopathies. IV : Cell-Mediated cytotoxicity and muscle fiber necrosis

Annals of Neurology 23 : 168-173,1988

- 10) Andrew G.Engel, Arahata K :

The membrane attack complex of complement at the endplate in myasthenia gravis

Annals of the New York Academy of Sciences 505 : 326-332, 1987

- 11) Arahata K, Sugita H, Ishihara T, Nonaka I, Fukunaga H :

Immunohistochemical identification and quantitation of mononuclear cells in facioscapulohumeral muscular dystrophy

Ann Neurol 22 : 165, 1987

- 12) 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

- 13) Higuchi I, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :

Immunohistochemical localization of AMP deaminase in rimmed vacuoles in human skeletal muscle

Muscle Nerve 10 : 790-800, 1987

- 14) Ding-Guo Shen, Araki M, Higuchi I, Matsumoto K, Tamai M, Keng-Tao Liu, Sugita H :

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

Muscle Nerve 10 : 391-396, 1987

- 15) Yamamoto T, Sato T, Sugita H :

Antifilamin, antivinculin, and antitropomyosin antibodies in myasthenia gravis

Neurology 37 : 1329-1333, 1987

16) Yamamoto M, Ishiura S, Sugita H :

Chloride-activated cystine aminopeptidase : A new enzyme in human skeletal muscle

Biomed Res 9 : 11-19, 1988

17) Sano M, Ishiura S, Tsukagoshi H, Sugita H :

Isolation and characterization of autolysosomes induced by a long-term administration of chloroquine

Biomed Res 8 : 109-114, 1987

18) Tsukahara T, Ishiura S, Sugita H :

The "ATP-Dependent Protease" in Human Erythroleukemia (K562) Cells is Identical to a High-Molecular-Mass Protease, Ingensin

Proc Jap Acad 64B : 72-75, 1988

19) 荒畑喜一 :

組織切片でのリンパ球抗原の分析

臨床免疫 19 : 36-43, 1987

20) 鎌倉恵子, 杉田秀夫 :

Ca²⁺ 依存性中性プロテアーゼと末梢神経ニューロフィラメント変生

CLINICAL NEUROSCIENCE 5 : 112-113, 1987

c. 総説

1) Sugita H, Nonaka I :

Animal models utilized in research on muscular diseases in Japan

Animal Models : Assessing the Scope of Their Use in Biomedical Research, pages

271-286, 1987

2) 杉田秀夫 :

序論 (特集 : ミトコンドリア脳筋症)

神経研究の進歩 31 : 565-566, 1987

3) 菊池建機, 杉田秀夫 :

筋神経疾患の動物モデル

II 研究業績

- 総合臨床 36 : 1833-1890, 1987
- 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」神経研究の進歩 31 : 1049-1058, 1987
- 5) 杉田秀夫 :
シンポジウム ミトコンドリア脳筋症 序論
臨床神経学 27 : 1547-1549, 1987
- 6) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋ジストロフィー
Biomedica 2 : 340-344, 1987
- 7) 石浦章一, 杉田秀夫 :
Duchenne 型筋ジストロフィー症の遺伝子診断
小児内科 19 : 743-746, 1987
- 8) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋ジストロフィー症
病態生理 6 : 612-617, 1987
- 9) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋緊張性ジストロフィーの遺伝子異常 : 遺伝子診断が可能になり原因も究明されつつある
医学のあゆみ 144 : 98, 1988
- 10) 石浦章一, 杉田秀夫 :
臨床医学の進歩 ABC 筋細胞シリーズ : 筋細胞の収縮蛋白とその調節蛋白
臨床科学 24 : 391-397, 1988
- 11) 石浦章一, 杉田秀夫 :
筋疾患とプロテアーゼ
実験医学 5 : 942-945, 1987
- 12) 荒畑喜一, 杉田秀夫 :
神経・筋肉疾患
最新医学 42 : 2097-2101, 1987
- 13) 荒木誠, 高木昭夫, 杉田秀夫 :
ハロペリドールの筋小細胞体機能に対する作用

麻酔と蘇生 悪性高熱研究の進歩 X 23 : 19-27, 1987

d. 班会議報告

1) 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

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年度研究報告書 P83-85, 1987

2) 杉田秀夫, 荒畑喜一, 石浦章一, 丸山工作 :

細胞骨格蛋白 (ネビュリン, コネクチン及び α -アクチニン) から見た DMD の病態

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症及び関連疾患とその病因に関する研究班

昭和62年度研究報告書 P311-314, 1988

3) 中西孝雄, 小松義成, 金澤一郎, 近藤郁子, 杉田秀夫 :

女性発症例を含む DMD 家系の遺伝子解析について

厚生省精神・神経疾患・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班

昭和62年度研究報告書 P208-212, 1988

4) 埜中征哉, 石浦章一, 荒畑喜一, 植田初江, 丸山哲弘 :

ネマリニンミオパチーの進行性

厚生省精神・神経疾患・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班

昭和62年度研究報告書 P291-295, 1988

e. その他

1) 荒畑喜一, 杉田秀夫 :

高 CPK 値の解釈のポイントは

臨床検査 31 : 587-588, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 杉田秀夫 :

遺伝性変性疾患, 進行性筋ジストロフィー (けっ歯類)

第22回日本医学会総会 (シンポジウム) 「動物モデルによる病因解析」

東京, 5.4, 1987

2) 杉田秀夫 :

ミトコンドリア脳筋症 序論

II 研究業績

第28回日本神経学会総会東京, 5.28, 1987

3) 杉田秀夫 :

ミトコンドリア脳筋症 序論

第17回 新潟夏期セミナー 新潟, 7.18, 1987

4) Sugita H :

Effect of cysteine protease inhibitor, EST on muscle wasting diseases

University of Beograd, Department of Neurology

Beograd, Yugoslavia Nov. 22, 1987

5) Sugita H :

Effect of cysteine protease inhibitor, EST on muscle wasting diseases

University of Tuzla, Department of Neurology

Tuzla, Yugoslavia Nov. 23, 1987

6) Sugita H :

Effect of cysteine protease inhibitor, EST on muscle wasting diseases

University of Zagreb, Department of Neurology

Zagreb, Yugoslavia Nov. 25, 1987

7) Arahata, K. :

Immunohistochemical study of dermatomyositis associated with neoplasia

International Symposium on Neurological Diseases—recent advances in pathogenesis and treatment. Tokyo, Japan, Nov. 6, 1987

8) 木南英紀, 塚原俊文, 勝沼信彦 :

細胞内システインプロテアーゼインヒビター, シスタチン β のグルタチオンによる阻害活性の修飾

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

b. 国際学会

1) Sugita H :

Recent advances in the mechanism of muscle atrophy in various myopathies

All China Neuromuscular Conference Beijing, China Nov. 12, 1987

2) Sugita H :

Recent advances of molecular genetics in Duchenne muscular dystrophy

All China Neuromuscular Conference Beijing, China Nov. 14, 1987

- 3) Sugita H :
Effect of cysteine protease inhibitor, EST on muscle wasting diseases, especially Duchenne muscular dystrophy
EAMDA 17th annual conference
Oslo, Nov. 18, 1987
- 4) Ishiura S, Nojima M, Funabashi H, Okuyama T, Sugita H :
Comparative studies of aminopetidases in human placenta.
6th International Congress on Placental and Endometrial Proteins
Nagoya, Japan Dec. 1-3, 1987
- 5) Arahata K, Sugita H, Ishihara T, Nonaka I, Fukunaga H :
Immunohistochemical Identification and Quantitation of Mononuclear Cells in Facioscapulo-humeral Muscular Dystrophy.
112th Annual Meeting of the American Neurological Association.
San Francisco, CA, USA, Oct. 18, 1987

c. 一般学会

- 1) 荒畑喜一, 埜中征哉, 杉田秀夫, 石原傳幸, 福永秀敏 :
顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSH) に認められる細胞浸潤の表面マーカーによる解析
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987
- 2) 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
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987
- 3) 山本剛司, 佐藤猛, 杉田秀夫 :
多発性筋炎患者血清における抗フィラミン, 抗ピンクリン抗体価
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987
- 4) 山本真理, 石浦章一, 佐藤猛, 杉田秀夫 :
Duchenne 型筋ジストロフィー血清中のアミノペプチターゼ活性
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987
- 5) 臼杵扶佐子, 石浦章一, 杉田秀夫 :
糖原病 II 型ウズラ (成人型) 筋肉における glycogen 蓄積と関連酵素
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987

II 研究業績

6) 鎌倉恵子, 石浦章一, 荒畑喜一, 杉田秀夫 :

生理的, 病的状態における筋肉の Ca^{2+} 依存性プロテアーゼ
(CANP) および Ingensin の分布

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.29, 1987

7) 須原芳宏, 石浦章一, 杉田秀夫 :

ウズラ骨格筋 acid α -glucosidase の精製

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10.13, 1987

8) 塚原俊文, 石浦章一, 荒畑喜一, 加茂功, 杉田秀夫 :

Cytotoxic T リンパ球に存在する Ca 依存性溶血タンパク質 Perforin の精製

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10.12, 1987

9) 小川俊夫, 石浦章一, 須原芳宏, 塚原俊文, 杉田秀夫, 船引龍平 :

ニワトリ骨格筋に存在する2種類の SDS 依存性プロテアーゼについて

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10.12, 1987

10) 塚原俊文, 石浦章一, 杉田秀夫 :

K562 に存在するプロテアーゼ, Ingensin, の機能と生理的役割

第40回日本細胞生物学会大会, 大阪, 11.18, 1987

11) 入野誠郎, 棚橋紀夫, 奈良昌治, 石原傳幸, 荒畑喜一 :

Sarcoid myopathy の1例

日本神経学会関東地方会, 東京, 12.5, 1987

C. 班会議発表

1) 石浦章一, 塚原俊文, 小泉宏隆, 荒畑喜一, 杉田秀夫 :

細胞障害性 T- リンパ球に存在する膜障害タンパク質パーフォリン

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1.23, 1988

2) 石浦章一, 須原芳宏, 塚原俊文, 荒畑喜一, 菊池建機, 杉田秀夫 :

糖原病II型ウズラの EST 治療の試み

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,

東京, 3.22, 1988

3) 荒畑喜一, 石浦章一, 丸山工作, 杉田秀夫 :

細胞骨格蛋白(ネビュリン, コネクチン及び α -アクチニン)から見た DMD の病態

厚生省精神・神経疾患・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班,

東京, 12.6, 1987

4) 荒畑喜一, 埜中征哉, 杉田秀夫 :

多発性筋炎, 皮膚筋炎に見られる浸潤リンパ球の解析 : 日本人での検討

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1.23, 1988

5) 須原芳宏, 塚原俊文, 石浦章一, 杉田秀夫 :

ウズラ II 型糖原病の分子機構

文部省重点領域・運動系の分子生物機構, 東京, 12.16, 1987

D. 研究会など

1) 荒畑喜一 :

重症筋無力症・最近の展望

希望 (全国筋無力症友の会誌) 58 : 5-15, 1987

2) 荒畑喜一 :

MG 治療の新しい展開

希望 (全国筋無力症友の会誌) 59 : 4-6, 1988

3) 中田隆夫, 本吉慶史, 園生雅弘, 遠藤実, 荒畑喜一 :

家族性に四肢筋の波状の不随意運動 (rippling muscle) を呈し, 筋炎の生検所見を示した 1 例

第 3 回 Neuromuscular Conference, 東京, 12.26, 1987

主な研究報告

DMD 遺伝子産物の局在および細胞骨格蛋白から見た DMD の病態機序に関する研究

荒畑喜一, 石浦章一, 塚原俊文, 杉田秀夫

DMD 遺伝子は Xp21 に局在し, 全長 2000kb にわたる megagene であり, ここに約60個のエクソンが介在する。さらに最近 14kb の cDNA がクローニングされた結果, DMD 遺伝子産物はアミノ酸3,685個より成る棍棒状の高分子 (427KD) が想定され dystrophin として報告されている(1)(2)(3)。しかし, この蛋白質の局在, 生化学的特性, 生理機能は未解決である。我々は今回, 同じ cDNA にコードされたペプチドの抗体を用い, この蛋白が正常の筋細胞膜表面膜には存在するが, DMD の骨格筋・心筋には発現していない事を発見した。さらに DMD の動物モデルとして知られている mdx マウスにおいても全く同じ結果を得た(4)(5)。

次に DMD の遺伝子産物では無いが, 筋線維の細胞骨格蛋白として重要な nebulin(N), connectin(C), α -actinin(A) についても, これらの DMD 筋における存在様式を検討した。

方法

抗原としたペプチド鎖は DMD cDNA マップの 1526-1675部位に相当し, N 末に加えた Try を含めたアミノ酸51個の分子量は6,267である(DMDP)。免疫動物は SPF, New Zealand White ウサギを用いた。免疫組織化学的検索対象は DMD 筋28例, その他の神経筋疾患40例, 正常筋9例, mdx およびコントロール B10 マウス各5例である。なお抗 N,C 抗体は丸山工作博士より供与を受けた。

結果

我々の作成した抗 DMDP 抗体は正常筋の筋表面膜と選択的に反応した。(図1a)。しかし DMD 筋では全例で完全に欠損していた(図1b)。興味深いことは BMD 筋9例で微かながら部分的な表面膜の反応を認めたことである。なおその他の各種神経筋疾患ではいずれも正常筋と同様の免疫反応が得られた。また mdx マウスでは DMD 同様, 完全欠損を見, 他方 B10 コントロールには存在した。なお心筋の結果も骨格筋と同様であった。免疫前ウサギ・コントロール血清, DMDP ペプチドによる吸収試験, 非標識二次抗体によるブロッキング試験等により, 免疫組織化学的特異性は確認された。これらの詳細は Nature に報告された(5)。

N,C に関しては DMD の opaque 線維において, 早期から消退していくことが確認されたが, A

は比較的残存した(6)。壊死線維ではいずれも消失した。これらの程度はアリザリン赤によるカルシウムの染色性とある程度相関した。

考察

今回の発見は, DMD 遺伝子産物が骨格筋及び心筋線維の表面膜に局在していることをはじめて示したものである。これによって DMD の膜異常説に対する分子遺伝学レベルからの裏付けが与えられた。BMD での部分的存在は, これが DMD に比べ良性の臨床経過をとる事実を反映しているものと考えられた。N,C,A の結果は DMD 筋の opaque 線維形成過程に CANP が関与していることを強く示唆した。以上の結果は DMD の病態の解明と治療法の開発を進めていくにあたって, きわめて重要な事実であると考えられる。

文献

- 1.Hoffman, E. P. et al. Nature 330, 754-758 (1987).
- 2.Hoffman, E. P. et al. Cell 51,919-758 (1987).
- 3.Koenig, M. et al. Cell 53, 219-228 (1988).
- 4.Sugita, H. et al. Proc. Japan Acad. 64, 210-212 (1988).
- 5.Arahata, K. et al. Nature 331, 861-863 (1988).
- 6.Arahata, K. et al. Neurology 38 (Suppl 1), 150, (1988)

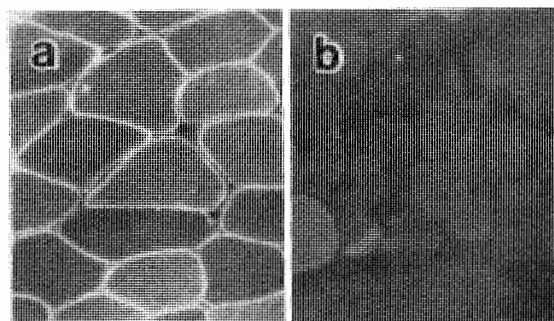


図1

K562 に存在する ATP 依存性プロテアーゼとインゲンシンの同一性について

塚原俊文, 石浦章一, 杉田秀夫

我々は以前, 細胞内に普遍的に存在する高分子量プロテアーゼであるインゲンシンを発見し, その性質等について報告した。一方, 網状赤血球内には ATP 依存性のタンパク分解機構が存在し, その本体は高分子量のプロテアーゼであることが示唆されている。今回我々は前赤芽球細胞の性質を持つヒト

K562 株の細胞内に存在するインゲンシンが ATP に依って活性の調節を受けることを明らかにした。

方法

培養した K562 株の細胞は PBS と共に超音波によって破壊し, その遠心上清を用いて研究を行なった。酵素活性は Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-MCA の水解活性を pH 9 において測定した。

結果

K562 ライゼートのプロテアーゼ活性は, 1 mM の ATP の存在下で 5-20 倍に上昇した。表 1 に示すように, ATP の効果は ADP の添加によって阻害されたが, EDTA によっては阻害されなかった。ライゼートを ATP 土でプレインキュベートした後のプロテアーゼ活性を測定したところ, 図 1 のごとく ATP 存在下の活性の見かけの上昇は酵素の活性化によるものではなく, 本来温度依存性に急速に活性を失う酵素が ATP の添加のために安定化したことによると考えられた。しかし, 一度不活性化された酵素活性も, SDS の存在下では十分に再活性化にされ, この不活性化は不可逆な失活ではなかった。

このプロテアーゼは EDTA, E-64, ロイペプチン等のインヒビターの影響を受けず, キモスタチン, DFP によって阻害されまた TSKG 3000SW による HPLC で V_0 の直後に溶出されることから, インゲンシン類似の酵素であると推定された。さらに ATP の依存性のプロテアーゼ活性は抗ラットインゲンシンの IgG によって阻害され (表 2), 同時にインゲンシンのサブユニットが免疫沈殿することから, K562 細胞に存在する ATP 依存性プロテアーゼは高分子量プロテアーゼであるインゲンシンと同一であると推定された。

考察

以上の結果により, インゲンシンの生理的意義の一端が明らかになった。ATP によってインゲンシン活性を調節する機構についてはまだ不明な点が多いが, 今まで言われてきたように酵素が直接 ATP によって活性化されるのではなく, ATP が高温で

酵素を安定化する事が ATP による活性調節機構である事が明らかとなった。また ATP 依存性プロテアーゼとインゲンシンが免疫的に同一であることが判明したことによって, これまでの研究を見直す必要がでてきた。

表 1 ATP 依存性プロテアーゼの活性に対する各種試薬の影響

Reagent	Concentration	Relative activity
None	—	100
ATP	1 mM	1706
ADP	5 mM	151
ATP+ADP	1 mM	181
	5 mM	
EDTA	1 mM	121
ATP+EDTA	1 mM	1655
SDS	0.04%	2731
ATP+SDS	1 mM	3012
	0.04%	

図 1 ATP 非依存下のインキュベーションによるプロテアーゼ活性の減少

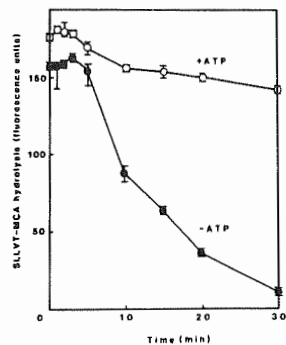


表 2 プロテアーゼ活性に対する抗ラットインゲンシン-IgG の影響

Treatment	Concentration (mg/ml)	Relative activity* -ATP	Relative activity* +ATP
None		100	100
Anti-ingensin IgG	0.2	85.7	80.7
	0.6	44.3	38.6
	1.0	21.9	18.1

* Values represent relative residual activities against controls treated with same concentrations of ovalbumin. SLLVT-MCA hydrolytic activities of 0.2, 0.6 and 1.0 mg/ml of ovalbumin treated samples were stimulated to 1.5, 1.8 and 1.8 folds, respectively.

糖原病II型日本ウズラの成因

須原芳宏, 石浦章一, 塚原俊文, 杉田秀夫

糖原病II型のモデル動物である, 酸性 α -グルコシダーゼ (AG) 欠損症の日本ウズラは, 臨床的及び病理学的に人の遅発型に類似している。(1) AG に対するポリクローナル抗体を作製し, immunoblotting を用い, 糖原病II型 (GII) ウズラの成因を研究した。

[方法] AG はニワトリ骨格筋をホモジナイズした後, 硫酸分画, DEAE セルロース, Sephadex G-100 の各カラムを用いて精製し, YA10 メンブランを用いて濃縮した。ウサギを免疫し抗血清を得た。抗体は沈降反応及び immunoblotting により確認した。またニワトリ骨格筋と同様の手技を用い, ウズラ骨格筋からも AG を精製した。ウズラ骨格筋及び肝臓抽出物を用いて SDS(+) 及び SDS(-) の PAGE を行い, ニトロセルロース膜に転写させた後, immunoblotting を行った。SDS(-)-PAGE ではゲルを2mmにスライスし AG 活性を測定した。

[結果] ニワトリ骨格筋より精製した AG は SDS(+)-PAGE 上, 95K の単一バンドを示した。Immunoblotting でも 95K の位置にバンドがみられた。この抗体はウズラ骨格筋より精製した 98K AG と cross-react した。ウズラ骨格筋抽出物の SDS(+)-PAGE 後の immunoblotting では, 正常では精製した 98K AG に一致する位置と 110K の位置にバンドを認めたが, GII ウズラでは 110K のバンドのみ認めた。(Fig. 1)。肝臓抽出物でも同じ結果であった。次に肝臓抽出物の SDS(-)-PAGE では精製した AG に一致する位置およびそれよりも陰極側にバンドを認めたが, GII ウズラでは陰極側よりの位置に一致するバンドのみみられた。バンドに一致して AG 活性が認められた。(Fig. 2)。

[考察] ヒトの遅発型糖原病II型に関しては, 患者の線維芽細胞を用いて, AG のプロセッシングの異常が指摘されている(2)。我々の対象としたウズラに関しては, 分子量 110K の AG が前駆蛋白であり, GII ウズラでは成熟体と考えられる 98k の AG の生成がおこらない可能性が示唆された。
文献

1. Murakami, H., Takagi, A., Nonaka, I., Ishiura, S., Sugita, H. and Mizutani, M. Type II glycogen storage disease in Japanese quails. Pages 37-48 in Ebashi, S. (ed.), Muscular

Dystrophy. University of Tokyo Press, Tokyo. 1980.

2. Reuser, A. J. J., and Kroos, M. Adult form of glycogenosis Type II: a defect in an early stage of acid α -glucosidase realization. FEBS Lett 146: 361-364, 1982.

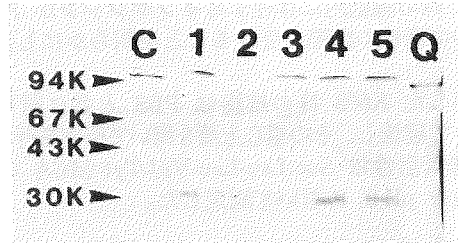


Figure 1
Immunoblotting of acid α -glucosidase from a quail muscle extract under denaturing conditions.
C, 正常ウズラ骨格筋抽出物
Lanes 1 to 5, GIIウズラ骨格筋抽出物
Q, ウズラ骨格筋精製AG

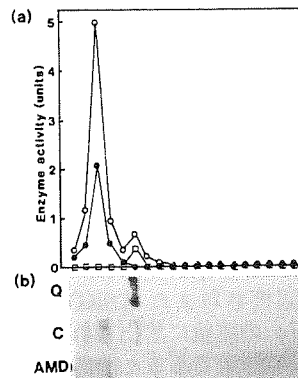


Figure 2.
(a). Acid α -glucosidase activity of a quail liver extract separated by electrophoresis under non-denaturing conditions.
□ Purified, ウズラ骨格筋精製AG
○ Control, 正常ウズラ肝臓抽出物
● AMD, GIIウズラ肝臓抽出物
(b). Immunoblotting of acid α -glucosidase from a quail liver extract under non-denaturing conditions.
Q, ウズラ骨格筋精製AG
C, 正常ウズラ肝臓抽出物
AMD, GIIウズラ肝臓抽出物

3. 疾病研究第2部

1. 研究部一年のあゆみ

疾病研究第2部は精神遅滞、脳性麻痺、奇形や発達障害の原因・病態を解明し、予防・治療法を開発することを目的として研究している。

本年度も従来の研究がひきつづき行われた。

- 1) 胎児脳発達に及ぼす嗜好品、微量金属や薬物の影響を実験生化学的に追求するなかで、本年度はアルコール、カフェインの研究の他に、メンケス病治療としての銅について検討がなされた(1室)。
- 2) コラーゲン代謝異常症の病態について分子遺伝生物学的に研究するなかで、とくに、マルファン症候群を中心に検討がなされた(2室)。
- 3) 神経皮膚症候群の本態をしるために細胞生物学的、生化学的実験を行った(1, 2室)。

それぞれの研究分野で興味ある新知見を得て着実に進んでいる。各主要研究成果は研究報告、研究業績にあげている。

従来に加えて、昭和62年10月に後任の部長に高嶋幸男が就任し、今までの生化学的研究に、形態学的手段を導入することができた。本年度最後の数カ月は病理形態学的研究の準備を行い、臨床病理は病院病理検査科と協力し、基礎的形態学は生化学と協同して当部で進めたいと考えている。他の病院・研究施設との協同研究も準備中である。

人事の構成は別記されるので詳細は省略するが、一室は田中晴美室長、二室は許斐博史室長を中心として構成されている。人事異動では昭和61年10月有馬正高前部長が副病院長に昇任され、昭和62年10月上述の部長交代以外に、中沢一治研究員は当部で数々の業績をあげて学位をとり、国立相模原病院の薬剤科へ就職した。村上晶流動研究員は予定どおりに研究を終了して順天堂大学眼科へ帰り、外来医長となった。糸数直哉研究生は小児神経学研修のために武蔵病院小児神経科のレジデントとなった。

(部長 高嶋幸男)

II 研究業績

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Takashima S, Becker L E, Chan F, Takada K:
A Golgi study of the cerebral cortex in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy,
Walker-type lissencephaly and classical lissencephaly
Brain Dev 9:621-626, 1987
- 2) Kawahara H, Ando Y, Takashima S, Takeshita K, Maeda K:
Normal development of the spinal cord in neonates and infants seen on ultrasonography
Neuroradiology 29:50-52, 1987
- 3) Nakajima M, Takashima S, Takeshita K:
Plasma pipecolic acid concentration in normal pregnant women, children and adults
Acta Paediatr Scand 76:677-678, 1987
- 4) Inagaki M, Ando Y, Mito T, Ieshima A, Ohtani K, Takashima S, Takeshita K:
Comparison of brain imaging and neuropathology in cases of trisomy 18 and 13.
Neuroradiology 29:474-479, 1987
- 5) Inagaki M, Tomita Y, Takashima S, Ohtani K, Ando Y, Takeshita K:
Functional and morphometrical maturation of the brain stem auditory pathway
Brain Dev 9:597-601, 1987
- 6) Nishimura M, Mito T, Takashima S:
Multiple system atrophy with retinal degeneration in a young child
Neuropediatrics 18:91-95, 1987
- 7) Hokazono Y, Yokochi K, Ohtani Y, Inukai K, Takashima S:
A premature infant with a bilateral thalamostriatal hemorrhage: Brain imaging and
pathology
Acta Paediatr Jap 29:867-871, 1987
- 8) 水戸敬, 大野耕策, 家島厚, 高嶋幸男, 竹下研三:
エンドトキシンによる培養血管内皮細胞増殖抑制と微細構造異常
医学のあゆみ 142:413-414, 1987

- 9) 宝道定孝, 安藤幸典, 高嶋幸男, 竹下研三:
未熟児, 新生児の経頭蓋骨的脳動脈血流測定
脳と発達 19:420-422, 1987
- 10) Tanaka H, Nakazawa K, Arima M:
Effects of maternal caffeine ingestion on the perinatal cerebrum
Biol Neonate 51:332-339, 1987
- 11) Inomata K, Nasu F, Tanaka H:
Decreased density of synaptic formation in the frontal cortex of neonatal rats exposed
to ethanol in utero
Int J Dev Neurosci 5:455-460, 1987
- 12) Iwasaki S, Tanaka H, Arima M:
Effect of prenatal X irradiation on chemical components of DNA and DNA-protein
crosslinks in rat cerebrum in the perinatal periods
Pediat Res 110:72-83, 1987
- 13) Hayashi A, Arima M:
Cell culture study on neurofibromatosis
Brain Dev 9:588-592, 1987
- 14) 中澤一治:
ラット新生仔大脳中遊離アミノ酸に対する母体カフェイン摂取の影響
東邦医会誌 34:381-391, 1988
- 15) Sawada H, Furthmayr H, Konomi H, Nagai Y:
Immunoelectronmicroscopic localization of extracellular matrix components produced by
bovine corneal endothelial cells in vitro
Exp Cell Res 171:94-109, 1987
- 16) Vasios G, Nishimura I, Konomi H, van der Rest M, Ninomiya Y, Olsen BR:
Cartilage type IX collagen-proteoglycan contains a large amino-terminal globular domain
encoded by multiple exons
J Biol Chem 263:2324-2329, 1988

b. 著書

- 1) Takashima S, Houdou A, Ando Y:

II 研究業績

Pathogenesis of intracranial hemorrhage in neonates; Angioarchitectonic and hemodynamic aspects.

The Fetus as a Patient (ed by Maeda K)

Excerpta Medica, Amsterdam-New York-Oxford P373-382, 1987

2) Takashima S, Ohno K, Ando M:

Pathogenesis of perinatal leukomalacia

Neonatal Brain and Behavior (ed by Yabuuchi H, Watanabe Y, Okada S)

Univ of Nagoya Press, Nagoya P45-52, 1987

3) Ando Y, Takashima S, Takeshita K:

Cerebral blood flow changes during 12 hours after birth.

The Fetus as a Patients (ed by Maeda K)

Excerpta Medica, Amsterdam-New York-Oxford P145-151, 1987

4) 高嶋幸男, 水戸敬:

周生期と神経病理

小児科 Mook (馬場一雄, 高橋滋 編) 金原出版, 東京, p251-261, 1987

5) 河原仁志, 高嶋幸男:

脳性麻痺, 歩行障害

小児疾患の診断治療基準 (渡辺一功 編) 東京医学社 p34-35, 1987

6) 高嶋幸男:

新生児のけいれん

今日の小児治療指針 (埜嘉之, 三河春樹, 重田政信 編) 医学書院, p183-184, 1987

c. 総 説

1) Takashima S, Mito T, Hashimoto K:

Developmental abnormalities of dendrites of the cerebral cortical neurons in mental retardation.

Cong Anom 27:431-439, 1987

2) 高嶋幸男, 河原仁志:

失神 症状 診断 治療

小児科 28:209-213, 1987

3) 高嶋幸男:

乳児突然死症候群

臨床と研究 64:111-114, 1987

- 4) 高嶋幸男, 河原仁志, 安藤幸典:

新生児の神経学的診断

Clinical Neuroscience 5:36-39, 1987

- 5) 河原仁志, 高嶋幸男:

Floppy infant の診察法と鑑別診断

小児内科 19:637-640, 1987

- 6) 有馬正高, 田中晴美:

胎児性アルコール症候群

東京医学 94:206-211, 1987

- 7) 許斐博史

Cartilage-hair hypoplasia 症候群

日本臨床 45 (春期臨時増刊号):69, 1987

- 8) 許斐博史

Cleidocranial dysostosis

日本臨床 45 (春期臨時増刊号):72, 1987

- 9) 許斐博史

弾性線維の異常による疾患

小児内科 19 (臨時増刊号):322-325, 1987

- 10) 丸山悦子:

Neurofibromatosis 由来細胞の培養とその生化学

Clinical Neuroscience 5, 9:1013-1015, 1987

d. 班会議報告書

- 1) 高嶋幸男, 水戸敬, 家島厚, 大野耕策:

エンドトキシンによる培養血管内皮細胞増殖抑制と微細構造異常。

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, 昭和61年度研究報告書, 45-49, 1987

- 2) 高嶋幸男, 安藤幸典:

新生仔脳血流の変動と予防に関する実験的研究

II 研究業績

厚生省心身障害・新生児管理における諸問題の総合的研究班, 昭和61年度研究報告書,
1237-2401, 1987

3) 高嶋幸男, 富田豊, 神村直久:

乳児早期の呼吸中枢の発達的变化と呼吸異常

厚生省心身障害研究・小児期の主な健康障害要因に関する研究班, 昭和61年度研究報告書,
449-452, 1987

4) 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年度研
究報告書, 21-24, 1987

5) 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. 胎児生カフェイン症候群 - 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年度研
究報告書, 25-28, 1987

6) 有馬正高, 田中晴美, 中澤一治, 笠間透, 林昭子:

ウイ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年度研究報告書, 69-72, 1987

7) 有馬正高, 丸山悦子, 林昭子, 許斐博史, 田中晴美:

Recklinghausen 病の神経線維腫由来培養線維芽細胞における42K ダルトン蛋白の欠失

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 50-53, 1987

8) 有馬正高, 許斐博史, 村上晶, 糸数直哉:

マルファン症候群患者の皮膚線維芽細胞が合成するコラーゲン分子の分析

厚生省精神・神経疾患・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班, 昭和
62年度研究報告書, 25-29, 1988

e. その他

1) 小山和弘, 武内智朗, 坪田芳, 金森道彦:

Wilson 病の治療薬トリエンチンについて (第1報)

トリエンチンの精製と純度試験

東京都病院薬剤師会誌 36: 1 - 3, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Takashima S:

Pathogenesis of intracranial hemorrhage in neonates: angioarchitectonic and hemodynamic aspects

The Fetus as a Patient, Matsue, July 22, 1987

2) Takashima S:

Periventricular and intraventricular hemorrhage: factors influencing the prognosis

2nd Congress of Asian and Oceanian Association of Child Neurology, Jakarta, September 17, 1987

3) 高嶋幸男:

Baby watching - 胎児新生児のヒト行動科学

第23回日本新生児学会, 松江, 7. 17-19, 1987

4) 高嶋幸男:

小児科の立場からみた脳血管障害

第46回脳神経外科学会, 東京, 10. 12, 1987

5) 高嶋幸男:

中枢神経組織の構築発達におけるヒトと動物の違い

第92回日本解剖学会, 東京, 4. 1, 1987

6) 高嶋幸男:

精神遅滞における大脳皮質ニューロンの樹状突起発達障害

第27回日本先天異常学会, 東京, 7. 18, 1987

7) 田中晴美:

母親のアルコール嗜癖 胎児性アルコール症候群と亜鉛

第7回微量元素研究会シンポジウム, 東京, 3, 5, 1988

b. 国際学会

1) Ando Y, Takashima S:

Cerebral blood flow changes during 12 hours after birth.

II 研究業績

The Fetus as a Patient, Matsue, July 22, 1987

- 2) Ando Y, Houdou S, Takashima S, Takeshita K:

Transcranial Doppler method in the evaluation of the cerebral blood flow changes.

2nd Congress of Asian and Oceanian Association of Child Neurology, Jakarta,

September 17, 1987

c. 一般学会

- 1) 高嶋幸男, 安藤幸典:

Reflectance spectrophotometry による脳血流測定:水素クリアランス法との対比

第32回未熟児新生児学会, 名古屋, 10.31, 1987

- 2) 水戸敬, 家島厚, 高嶋幸男:

異なる分裂期の血管内皮培養細胞へのエンドトキシンの影響

第32回未熟児新生児学会, 名古屋, 10.31, 1987

- 3) 田中晴美, 中澤一治, 猪俣賢一郎:

胎児性アルコール症候群における異常是正の可能性

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 3, 1987

- 4) 中澤一治, 田中晴美, 有馬正高:

母体カフェイン飲用のラット新生仔大脳中遊離アミノ酸に及ぼす影響

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 3, 1987

- 5) 許斐博史, 村上晶, 有馬正高, 多島新吾:

マルファン症候群患者の皮膚線維芽細胞が合成する異常コラーゲン分子の性質解明

第90回日本小児科学会総会, 東京, 4. 2, 1987

- 6) 村上晶, 許斐博史, 糸数直哉, 田中稔, 中島章:

Marfan 症候群におけるコラーゲン代謝の検討

第92回日本眼科学会総会, 京都, 3. 24, 1988

- 7) 丸山悦子, 林昭子, 有馬正高:

Recklinghausen 病腫瘍由来培養線維芽細胞に見出された42KD 蛋白の欠失

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 15, 1987

C. 班会議発表

- 1) 高嶋幸男, 安藤雅史:

エンドトキシンの幼若脳に及ぼす影響

厚生省精神・神経疾患・発達期における脳循環障害の発生と治療に関する研究班，東京，1. 27，
1988

2) 高嶋幸男，安藤幸典：

未熟児の脳室内・周囲出血の脳合併症

厚生省心身障害・新生児管理における諸問題の総合的研究班，東京，1. 24，1988

3) 高嶋幸男，富田豊，安藤幸典：

小児の水頭症と脳障害の関連性：小児の頭蓋内圧亢進と眼輪筋反射

厚生省特定疾患調査研究・難治性水頭症，東京，1. 9，1988

4) 高嶋幸男：

正常および乳児突然死症候群の頸髄ニューロンの樹状突起発達

厚生省心身障害・小児期の主な健康障害要因に関する研究班，東京，2. 17，1988

5) 田中晴美，笠間透，中澤一治：

脳発育障害への活性化素代謝の関与に関する研究

I. Menkes' kinky hair 病

厚生省精神・神経疾患・発育期脳障害の発生予防と成因に関する研究班，昭和62年度班会議，
東京，1. 29，1988

6) 田中晴美，林昭子，丸山悦子，有馬正高：

結節性硬化症培養細胞へのプロリンの影響

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班，昭和62年度第2回総会，東京，1. 28，1988

7) 有馬正高，田中晴美，笠間透，林昭子，中澤一治：

ウイ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

1. 臨床例における検討

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62年度班会議，東京，3. 25，
1988

8) 田中晴美，有馬正高，笠間透，林昭子，中澤一治：

ウイ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

2. メンケス病に関する実験的検討

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62年度班会議，東京，3. 25，
1988

9) 丸山悦子，林昭子，田中晴美，有馬正高：

II 研究業績

Neurofibromatosis 由来培養細胞における欠失蛋白について

厚生省特定疾患・神経皮膚症候群調査研究班, 昭和62年度第1回総会, 東京, 10. 22, 1987

10) 有馬正高, 許斐博史, 村上晶, 糸数直哉:

マルファン症候群患者の皮膚線維芽細胞が合成するコラーゲン分子の分析

厚生省精神・神経疾患 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班総会,
東京, 1. 27, 1988

D.研究会など

1) 田中晴美:

妊娠と酒・たばこ その胎児への影響

技術情報協会セミナー・新薬開発における妊娠各期の投薬上の有益性・危険性とその対策, 東京,
10. 1, 1987

3. 主な研究報告

メンケス病治療に関する実験的検討

田中晴美, 笠間透, 林昭子

Menkes' kinky hair 病 (メンケス病) は精神運動発達遅滞, 発育不全などを示す。伴性劣性遺伝病で銅代謝異常が原因とされている。ヒトの発症は出生前であるが, 治療としては出生後の銅投与が行われ, 根本的な改善はみられていない。モデルマウスでは出生後の非経口大量投与で延命が可能である。メンケス病の治療を目的として, 今回は亜鉛, 銅, および銅のキレート剤の投与を行い, 培養細胞では増殖能, モデルマウスでは出生前の母体を介する投与による生物化学的指標につき検討した。

方法

培養皮膚線維芽細胞: メンケス病およびコントロールとして正常とウイルソン病の細胞を用い, Triethylenetetramine dihydrochloride (トリエンチン) による細胞増殖能を検討し, 50%増殖阻害濃度を計算した。

モデルマウス (C3H/HeJ-Mo^{br/y}): ヘテロ雌 (br/+) と正常雄 (+/y) を交配。妊娠中から出産後を通して母体に水道水 (W) あるいは20ppm 亜鉛含有水道水 (Zn, ZnSO₄ · 7H₂O を使用) を, また妊娠13日から出産後も継続して6ppm 銅含有水道水 (Cu, CuSO₄ · 5H₂O を使用) を飲料水として投与した。生後7日以後に仔のチェックを行い, 生後8日, 同腹の正常雄 (+/y) とメンケス病モデルのヘミ雄 (br/y) を実験に使用した。

結果および考察

ウイルソン病において D ペニシラミンに代る銅のキレート剤として使用されはじめたトリエンチンの培養細胞における50%増殖阻害濃度 (図) は正常コントロールに比し, メンケス病で有意に低下 (p < 0.05) した。トリエンチンによる培養液中の銅キレートにもとづく銅欠乏に対し, メンケス病細胞は弱い可能性が推定される。一方, メンケス細胞内に存在する高濃度の銅は50%増殖阻害量のトリエンチンでは有意の低下は示さなかった。

同一条件下のヘテロ母体において生後7-8日まで仔の育つ割合は水より亜鉛, 銅投与で良好であった (表)。遺伝子型の割合をみると (期待されるのは各々25%), 少ないながら育った水の子において割合が低いのはメンケス病 (br/y) であり, 逆に亜鉛や銅で育つのはやはりメンケス病といえる。生後8日の正常雄と比較したメンケス病雄の所見は, 1) 体重, 大脳重量の有意な低下, しかしメンケス病

間では, 体重, 大脳重量とも水より亜鉛投与で増加。2) 仔の銅濃度は大脳, 肝中では低く, 腎中では高い。亜鉛投与での矯正はない。3) 大脳中の銅含有酵素, Cu, Zn-superoxide dismutase, cytochrome oxidase 活性の低下。母体への亜鉛, 銅投与により正常レベルに高めることは期待できない。

結論

メンケス病細胞は銅欠乏への耐性が低いので治療としての銅投与は必須である。さらにメンケス病仔への生存促進効果にもとづき, 妊娠母体への亜鉛投与も検討されるべきである。

図 トリエンチンによる細胞増殖阻害 (3日間の培養)

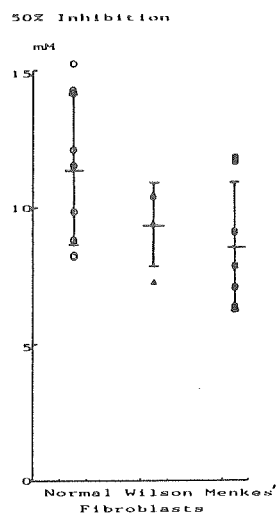


表 妊娠ヘテロ母体に投与した亜鉛および銅の出生仔への影響

Treatment	No of dams with live offspring at 7-8 days/ No of pregnant females	%	Total offspring per dam	X Ratio of genotypes			
				br/y	br/+	+/y	+/+
W	2/7	29%	4.3	11	33	33	22
Zn	9/11	82%	5.0	28	20	28	24
Cu	2/2	100%	5.0	60	0	20	20

W: water
Zn: ZnSO₄ · 7H₂O (20 ppm Zn)
Cu: CuSO₄ · 5H₂O (6 ppm Cu)

マルファン症候群患者の皮膚線維芽細胞によるIV型コラーゲンの合成

許斐博史, 村上晶, 糸数直哉, 有馬正高

マルファン症候群の本態解明を目的として本症患者皮膚線維芽細胞の合成するタンパク質の検索を行い, 正常人由来の線維芽細胞では認められないコラーゲンを合成している症例を見いだした。そのコラーゲンを詳細に検討し, IV型コラーゲンであるという結果を得た。

方法および対象

症例は5才から67才の18例を検索した。実験方法は皮膚線維芽細胞をアスコルビン酸存在下で³H-プロリンで24時間ラベルし, 生合成されたタンパク質をゲル電気泳動法にて検索した。さらにコラーゲン分子は DEAE-セルロースカラムクロマトグラフィーなどにて精製, CNB, 分解, 抗III型, 抗IV型コラーゲン抗体を用いた免疫沈降反応などを行った。

結果および考察

マルファン症候群患者由来の皮膚線維芽細胞18例中4例に正常人由来皮膚線維芽細胞に認められないコラーゲンを認めた。そのコラーゲンは分子量が約185KDa (還元後) で分子内に S-S 結合を有した (図1)。このコラーゲンを抗コラーゲン抗体で免疫沈降反応を試みると, ポリクローナルおよびモノクローナルの抗IV型コラーゲン抗体と反応が認められた (図2)。このコラーゲンは分子量, CNB, ペプチドパターン, 抗体との反応性よりIV型コラーゲンと考えられる。

このコラーゲンの臨床的意義は現在のところ明らかでないが, IV型コラーゲンは基底膜の重要な構成成分であり, 通常皮膚線維芽細胞による合成は報告されていない。de Wet 等は骨形成不全症患者の皮膚線維芽細胞の検索にてIV型コラーゲンを合成している症例を見だし報告していることより (J Biol Chem 258;7721-7728 1983), 先天性結合組織代謝異常症に共通した異常であるかもしれない。

図1: マルファン症候群の皮膚線維芽細胞の合成する³H-プロリンで標識されたタンパク質の電気泳動像。lane 1 は全く酵素消化していないもの。lane 2, 3 は lane 1 のサンプルを動物コラーゲナーゼ消化 (lane 2), 細菌コラーゲナーゼ消化 (lane 3) したものを。lanes 4-6 は lane 1 のサンプルを最初ペプシン処理し, その後, 動物コラーゲナーゼ消化 (lane 5), 細菌コラーゲナーゼ消化 (lane 6) したものを。

lane 1 の矢印で示したバンド (185KDa) がマルファン症候群18例中4例に認められたバンドである。

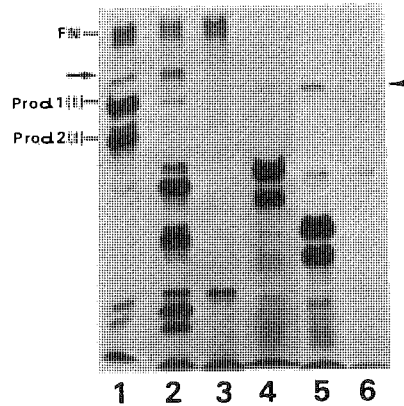


図 1

図2: 抗IV型コラーゲン抗体を用いた免疫沈降反応。サンプルをまず最初にペプシン処理し (lane 1, 3), その後, 抗ヒトIV型コラーゲン, モノクローナル抗体と反応させて得られたものを電気泳動した (lane 2, 4)。矢印で示す様にペプシン処理した 185KDa バンド (分子量は約175KDa) は抗IV型コラーゲン抗体と特異的に反応している。

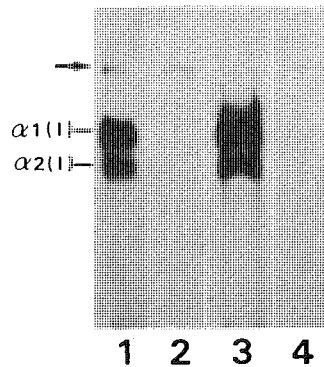


図 2

妊娠母体投与銅の新生仔大脳に及ぼす影響

笠間 透, 田中晴美

Menkes' kinky hair 病は銅代謝異常を原因とする伴性劣性遺伝性疾患で、銅の組織分布、銅含有酵素活性の異常などが報告され、モデル動物としてマウスの mutant が存在する。いずれも大脳中銅含量、銅含有酵素活性は低下するが、ヒトでは有効な治療法はなく、マウスでは生後銅投与が有効とされる。我々は母体を介した出生前銅投与の可能性に着目し、mutant と同系の C3H 系正常マウスを用い、mutant に有効とされる新生仔腹腔内銅投与、並びに母体経口銅投与の新生仔に及ぼす影響を検討した。

材料及び方法

新生仔腹腔内投与は生後7, 10日に各々5 $\mu\text{g}/\text{g}$ body weight となるように調整した酢酸銅の生理食塩水溶液50 μl を腹腔内注射し (Cu 群), 同量の生理食塩水を注射した群を対照とした (C 群)。母体投与は、妊娠中投与 (妊娠13日より出産まで銅として6 ppm) と授乳期投与 (出産より生後13日まで5 ppm) とし、硫酸銅溶液を飲料として与えた。A 群 (妊娠中及び授乳期), B 群 (妊娠中のみ), C 群 (対照として水のみ) の三群とした。いずれも生後13日の新生仔雄を分析に供し、大脳, 肝, 腎の蛋白量, superoxide dismutase 活性 (SOD)¹⁾, cytochrome oxidase 活性 (Cyto Oxi), 銅含量, 亜鉛含量を測定した²⁾。

また、妊娠中銅投与を行った生後24時間以内の新生仔 (Cu 群, 対照は TW 群) について大脳, 肝, 腎の銅含量, 亜鉛含量を測定した。

結果

新生仔腹腔内投与で新生仔の発育に障害はみられず、13日の体重は、Cu 群 $7.0 \pm 0.5(9)$ g (Mean \pm s. d. (匹数), 以下同じ), C 群 $7.0 \pm 0.8(10)$ g であった。大脳では、SOD (Cu: $322.5 \pm 44.8(9)$, C: $243.2 \pm 54.3(10)$ U g wet wt), Cyto Oxi (Cu: $36.07 \pm 3.32(9)$, C: $31.51 \pm 4.69(10)$ U g wet wt), 銅含量 (Cu: $1.60 \pm 0.19(9)$, C: $1.27 \pm 0.12(10)$ μg g wet wt) が Cu 群で増加した。肝では両酵素活性と銅含量が、腎では蛋白量と銅含量が、Cu 群で増加した。

母体経口投与では、A 群の新生仔は B 群, C 群のものに比べ、生後13日の体重が有意に低く (A: $5.2 \pm 0.9(10)$, B: $6.5 \pm 1.1(13)$, C: $6.7 \pm 0.7(10)$ g), 肝, 腎の組織湿重量, 蛋白量も低値であったが、生後24時間以内の新生仔では体重 (Cu: $1.50 \pm 0.10(8)$,

TW: $1.52 \pm 0.05(6)$ g), 組織湿重量ともに銅投与による差はなかった。

SOD は大脳で A 群が C 群に対し増加したが B 群では低下した (A: $260.6 \pm 26.8(6)$, B: $175.1 \pm 16.6(11)$, C: $230.2 \pm 13.3(9)$ U g wet wt)。A 群での増加は銅, 亜鉛含有 SOD の増加によるものであった。肝では B 群, 腎では A 群が他の群より低値を示した。Cyto Oxi は大脳で A 群 < B 群 < C 群の順に有意差がみられたが (A: $22.47 \pm 2.39(6)$, B: $41.08 \pm 6.15(11)$, C: $60.49 \pm 6.84(9)$ U g wet wt), 肝, 腎では A 群のみが有意に低かった。

銅含量は大脳では A 群と B 群が C 群より高く (A: $1.56 \pm 0.11(6)$, B: $1.54 \pm 0.05(9)$, C: $1.31 \pm 0.11(6)$ μg g wet wt), 肝では A 群のみ, 腎では A 群と B 群が高値を示した。一方、生後24時間以内の新生仔では母体銅投与により大脳銅含量が増加したが (Cu: $0.98 \pm 0.05(8)$, TW: $0.81 \pm 0.07(6)$ μg g wet wt), 肝では差がなく、腎では Cu 群の値が広い範囲に散在したが増加の傾向が認められた。

考察

新生仔腹腔内銅投与の大脳に対する影響は、mutant, 同腹正常雄を用いた従来の報告と良く一致する。従って、新生仔腹腔内銅投与により、大脳での両酵素活性の上昇、銅含量の増加が期待される。

母体経口投与では、妊娠中銅投与は胎仔の発育を障害せず、少なくとも大脳銅含量を増加させるが、酵素活性の発達を障害する可能性が考えられる。授乳期銅投与で SOD が大脳, 肝で回復し、腎でしないことは新生仔腹腔内銅投与に対する反応と一致する。Cyto Oxi は生後8日から13日の間に急激に増加するとの報告があり、A 群大脳 Cyto Oxi の低値と発育障害は関連する可能性がある。

妊娠母体経口銅投与は胎仔の発育を障害せず大脳銅含量を増加させ、新生仔腹腔内銅投与で大脳の両酵素活性上昇、銅含量増加が期待できる。今後モデルマウスにこの組合せを適用し出生前治療の可能性を検討する。

文献

- 1) Suzuki H., Tanaka H., Iwasaki S. & Arima M. (1986) Brain Dev 8 : 17-24
- 2) Prohaska J. R. & Wells W. W. (1974) J Neurochem 23 : 91-98

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 (その二)

丸山悦子, 林昭子, 有馬正高

先に Recklinghausen 病 (以下 R 病と略) の患者の正常皮膚部, 腫瘍部由来培養線維芽細胞を生化学的に分析し, 腫瘍部由来細胞で上清画分の 42 KD 蛋白が欠失していることを見出した。本蛋白についてその性質を検索し, さらに aging との関係調べた。

材料と方法

培養は前報と同様, aging は対照線維芽細胞を次々と継代し 40-50 代のものを用いた。

細胞の処理および電気泳動:

細胞を低調処理 (2 mM CaCl₂, 1 mM NaHCO₃, pH 8.0) 後, 遠心し上清画分を得た。二次元電気泳動は一次元目を等電点電気泳動 (6M urea, 2% Ampholine pH 3.5-10) 二次元目を SDS-PAGE (4-30%) で行った。Western-blotting は常法に従って行った。

結果

腫瘍由来培養細胞は 4 例全て 42kd 蛋白が欠失していた。それらの標品を用いて等電点電気泳動を行った。腫瘍部由来細胞でのみ pI 4.3 のバンドが欠失していた。その pI 4.3 の蛋白の 42kd 蛋白との異同を確かめるために二次元電気泳動を行った (図 1)。その結果腫瘍由来細胞で欠失していた蛋白は, 分子量 42kd, pI 4.3 の酸性蛋白であることがわかった。

細胞内に多く存在する 42kd 付近の蛋白としてアクチンがあげられる。等電点はかなり異なっているが変異アクチンの可能性も考えられたのでアクチン抗体を用いて Western blotting を行った。アクチンである可能性は否定された。また DNAase affinity chromatography などを用いアクチンである可能性を種々検討したが全て否定的であった。

線維芽細胞は継代数を重ねていくと, 正常人対照でも扁平で増殖能の劣る細胞となり, 腫瘍由来細胞に酷似してくる。そこで形態的に似ている両細胞について分析し比較した。aging の細胞で本蛋白が欠失することはなかった。

考察

本研究により分子量 42kd, pI 4.3 の酸性蛋白質が腫瘍由来培養線維芽細胞では欠失し, それはアクチンではないことがわかった。また本蛋白の欠失は, 扁平で増殖能が悪いという腫瘍由来細胞の特徴によるものではないことが示唆された。腫瘍部由来培養細胞でのみ共通してみられたこの欠失は R 病の腫瘍化と関係した現象であると考えられる。

R 病は neural crest 由来細胞の異常であるといわれている。先に電気泳動像から腫瘍由来培養細胞は線維芽細胞と同一起源である可能性を述べた¹⁾。42kd 蛋白の欠失は腫瘍部において, あるいは発生過程の他細胞との interaction において, 線維芽細胞が腫瘍細胞に転換したための形質発現の異常であるとも考えられる。今後線維芽細胞に存在する 42kd 蛋白の分子種の同定および機能について検討する必要がある。

文献

- 1) E. Maruyama et al. Exp. Cell Biol. in press

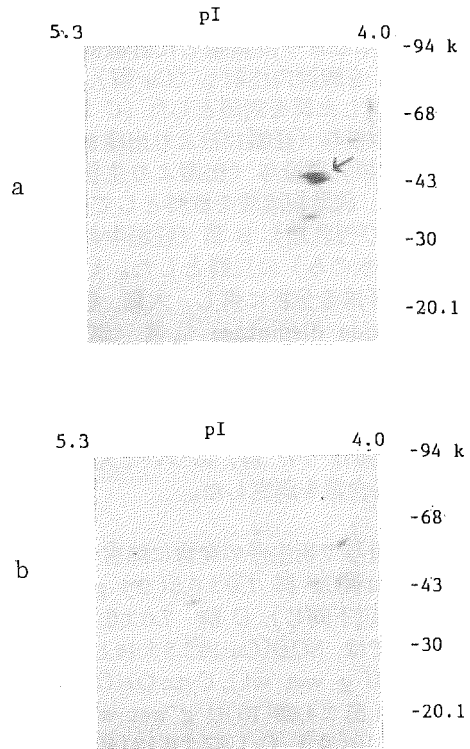


図 1. 正常部および腫瘍部由来培養線維芽細胞の上清画分の二次元電気泳動像

- a. 患者正常部皮膚由来線維芽細胞
- b. 患者腫瘍部由来線維芽細胞

矢印は分子量 42kd, pI 4.3 のスポットを示す。

結節性硬化症培養細胞へのプロリンの影響

林 昭子, 田中晴美

結節性硬化症 (TS) の病態の解明および代謝異常の是正を目的として, 前回, 本症腫瘍部の培養細胞内に遊離プロリンの低下を証明し, TS におけるプロリンからグルタミン酸への代謝回転の亢進を示唆した¹⁾。さらに, 細胞増殖の阻害が50%程度を示す濃度の各種アミノ酸あるいはそのアナログを培養液中に添加すると, L-プロリンのみでコントロールと TS 細胞の間に差をみた (未発表)。したがって今回は L-プロリンの TS 細胞増殖能への影響を検討した。

対象および方法

使用線維芽細胞の起源はコントロール皮膚17株, TS 正常部 (ns) 皮膚14株, TS 腫瘍部 8株 (angiofibroma 5, shagreen patch 2, subungual fibroma 1) であった。

Eagle's MEM + 10 FBS 培養液を用いて, 35 mm dish に 2×10^4 個の細胞をまき, 1日後プロリン添加培養液 (L-プロリン濃度 4g/l および 8g/l) と交換, 4日後 Coulter counter で細胞数を算定した。4日後のプロリン無添加の細胞数を100%とし, プロリン添加後の細胞数の割合を計算した。また100%とした4日後の細胞数に対する1日後からのプロリン無添加の増殖率を growth rate とした。

結果

図1に3群の細胞におけるプロリンの細胞増殖作用を示す。8g/l プロリン添加により TS 腫瘍部では, コントロール ($p < 0.05$) や TS 正常部 ($p < 0.01$) に比し, プロリンによる細胞増殖阻害への抵抗性を示した。4g/l でもこの傾向はみられた。図2に8g/l プロリン添加時の細胞増殖と growth rate との関係を示す。TS腫瘍細胞では平均の growth rate はコントロールや TS 正常部に比し低下の傾向を示した。

考察および結論

今回の結果からTSの腫瘍部細胞では, プロリンの細胞増殖阻害に対する抵抗性の存在が認められた。この1因としては, TS腫瘍部細胞におけるプロリン未添加時の growth rate の低下もあげられる。しかしプロリンにのみ抵抗性を示す点から, TS 腫瘍部細胞におけるプロリンの要求性を示唆するという可能性も考えられる。以前の結果¹⁾とも合せ考えると, プロリンは TS 腫瘍細胞代謝と密接に関連するアミノ酸であるといえる。今後TS病態解明のためには, プロリン代謝の分子生物学的検討も一手段

となると考える。

文献

- 1) Tanaka H, Nakazawa K, Arima M, Hayashi A: Tuberous sclerosis: Aberrant metabolism of ornithine, proline and glutamate in cultured fibroblasts. Brain Dev 9:37-42, 1987

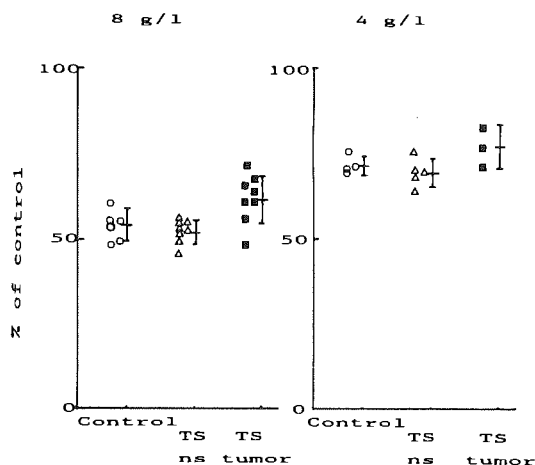


図1. プロリン (8g/l, 4g/l) 添加による細胞増殖の阻害効果

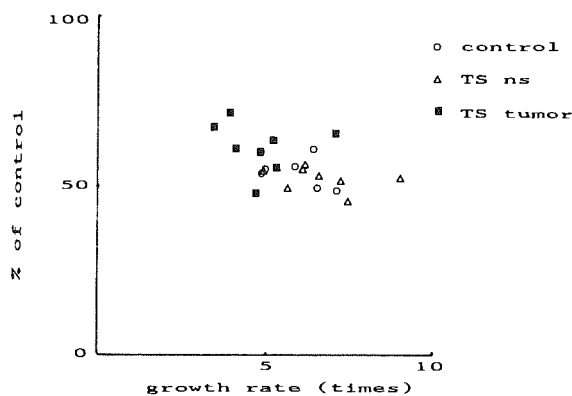


図2. プロリン (8g/l) 添加による細胞増殖の阻害効果 (たて軸) と細胞増殖率 (横軸) との関係

4. 疾病研究第3部

1. 研究部一年の歩み

当部は内因性精神病（精神分裂病，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。本年度初め（昭和62年4月）精神分裂病研究室長にそれまで流動研究員であった西川徹が就任し，研究体制が最終的に確立した。7月に流動研究員の車地暁生がイギリスに留学，代わって北大精神科出身の久住一郎が流動研究員として赴任した。この他，大井健，畑直人（流動研究員），高嶋瑞夫，海野麻未（賃金研究員），池田正行，吉田幸宏，杉下真理子，篠原一之（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，5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. サーカディアンリズムの生理生化学的研究

- (i) 埼玉医科大学，秋田大学との共同研究として，リズム異常を示す患者のメラトニン分泌リズム，正常者での光照射のメラトニン分泌への影響を観察し，日本人でも高照度の光でメラトニン分泌が抑制されることを明らかにした（高嶋）
- (ii) サーカディアンリズムの生後発達における母ラットの影響を調べ，周期的母親除去により松果体リズムが生後11日までに位相の逆転を生じることを明らかにした。（杉下）

2. そううつ病の成因に関する研究

うつ病患者の血小板セロトニン受容体機能を検索し，予備的結果ながら，セロトニン刺激に対する反応性が増大している傾向を認めた。（三国）

3. ストレスによるうつ病モデル動物の作成と行動薬理学的研究

- (i) 慢性フットショックストレスによりラットにストレスに対する適応行動が認められたが，アドレナージックおよびセロトナージック受容体には数，親和性ともに変化が認められなかった。（大井，三国）
- (ii) ラット海馬スライスでセロトニン刺激に対するPI系の反応が認められること，これが5TH₂受容体拮抗薬で拮抗されることを見出した。（久住，三国）

4. 中脳皮質ドーパミン系の調節機構に関する研究

ラットの内側前頭葉皮質では興奮性アミノ酸NMDA受容体がドーパミン放出に対してtonicな抑制に関与しうる可能性を示す結果を得た。（畑，西川）

（部長 高橋清久）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Kurumaji A, Takashima M, Ohi K, Takahashi K :
Circadian fluctuations in pain responsiveness and brain Met-enkephalin-like immunoreactivity in the Rat
Pharmacol Biochem Behav 29 : 595-599, 1988
- 2) Kurumaji A, Takashima M, Watanabe S, Takahashi K :
An increase in striatal Met-enkephalin-like immunoreactivity in neonatally dopamine-depleted rats.
Neurosci Let 87 : 109-113, 1988.
- 3) Yamazaki J, Higuchi T, Yamauchi T, Takashima M, Takahashi K :
Effects of bright artificial light on serum melatonin levels during the night.
Jpn J Psychiat Neurolo 42(1) : 8-9, 1988
- 4) Yamada N, Shimoda K, Ohi K, Takahashi S, Takahashi K :
Free-access to a running wheel shortens the period of free-running rhythm in blinded rats.
Physiol Behav 42 : 87-91, 1988
- 5) Furukawa T, Murakami N, Takahashi K, Etoh T :
Effect of implantation of carbachol pellet near the suprachiasmatic nucleus on the free running period of rat locomotor activity rhythm
Jpn J Physiol 37 : 321-326, 1987
- 6) Okawa M, Nanami T, Wada S, Shimizu T, Hishikawa Y, Sasaki H, Nagamine H, Takahashi K :
Four congenitally blind children with circadian sleep-wake rhythm disorder
Sleep 10(2) : 101-110, 1987
- 7) 大井健、高橋清久、山田尚登、下田和孝、高橋三郎 :
うつ病患者の24時間体温リズム－非感情病性精神病患者との比較から－
臨床精神医学 16(9) : 1297-1304, 1987
- 8) Cudennec A, Duverger D, Lloyd K.G, Mackenzie E.T., McCulloch J, Motohashi N

II 研究業績

Nishikawa T, Scatton B :

Effects of the GABA receptor agonist, progabide, upon local cerebral glucose utilization
Brain Res 423 : 162-172, 1987

9) Kurumaji A, Mitsushio H, Takashima M :

Chronic dietary treatment with antidepressants decrease brain Met-enkephalin-like immunoreactivity in the rat

Psychopharmacol 94 : 188-192, 1988

10) 融道男、三ツ汐洋、車地暁生、高嶋瑞夫、小川篤子、西川徹 :

精神分裂病死後脳頭頂・後頭葉皮質の生化学的分析

精神神経雑誌 89(2) : 101-12, 1987

b. 著 書

1) Murakami N, Furukawa T, Etoh T, Takahashi K :

Effect of cholinergic agonist and continuous light on the period of free-running rhythm of rats

Comparative aspects of circadian clocks (Eds : Hirohige T and Honma K)

Hokkaido Univ Press p135-144, 1987

2) 高橋清久 :

内分泌リズム

新生理科学大系, 第13巻 生体リズムの生理学 (鳥居鎮夫, 川村浩編), 医学書院, 東京,

P 87-101, 1987

3) 高橋清久 :

精神科診断のための検査/内分泌機能検査

図説臨床精神医学講座, 第1巻 精神医学入門と診断法, (島薗安雄, 保崎秀夫, 徳田良仁,

風祭元編), メジカルビュー社, 東京, p210-213, 1988

c. 総 説

1) 大井健, 高橋清久 :

生体リズムー概日リズム発現における脳内アミンの関与ー

CLINICAL NEUROSCI 脳と生体アミン 6(5) : 39-42, 1988

2) 三国雅彦 :

特集 躁うつ病の薬物治療ー最近の動向

抗うつ薬の作用機序に関する研究の進歩

神経精神薬理 9(4) : 231-245, 1987

3) 成瀬浩, 三国雅彦 :

躁うつ病の生化学的研究の最近の動向

臨床精神医学 16(9) : 1247-1255, 1987

4) 三国雅彦, 松原繁広, 森秀樹, 小田垣雄二, 山下格 :

特集/躁うつ病とセロトニン

抗うつ薬とセロトニン受容体

精神医学 29(12) : 1277-1282, 1987

d. 班会議報告書

1) 高橋清久, 西川徹, 高嶋瑞夫, 畑直人, 小川篤子 :

中脳皮質系ドーパミンニューロンの調節機構

厚生省神経疾患・精神分裂病の生物的研究, 特に慢性化の機構に関する研究班, 昭和61年度研究報告書, 99-107, 1987

2) 高橋清久, 大井健, 林纈二 :

縫線核破壊および神経毒投与によるセロトニン減少のサーカディアンリズム発達への影響

家庭保健と小児の成長発達に関する総合的研究, 研究報告書, 昭和61年度, 168-170, 1987

3) 高橋清久, 石原高文 :

生体防御機構におけるストレスの影響

昭和61年度 長寿関連基礎科学研究事業 官民共同プロジェクト研究報告

第3分野 健康保持の基礎としての生体防御機構の解明, 228-229, 1988

4) 高橋清久, 大井健, 高嶋瑞夫, 林纈二

幼若期の縫線核破壊および5, 7-dihydroxytryptamine 投与がサーカディアンリズムへおよぼす影響

厚生省神経疾患・そううつ病の生物学的特性による分類と発生機序に関する研究班, 昭和61年度研究報告書, 61-68, 1987

5) 吉田幸宏, 渡辺義文, 三国雅彦, 高橋清久 :

³H-Paroxetine により標識されるラット脳内セロトニン取り込み部位に対する各種抗うつ薬および p-chlorophenylalanine 反復投与の影響

精神薬療基金研究年報, 19 : 91-98, 1988

II 研究業績

e. その他

1) 高橋清久 :

感情障害と生体リズム

PONS 特集/うつ病をめぐって, 1 : 18-21, 1987

2) 高橋清久 :

KYORIN-Symposia <脳のしくみと心シリーズ (111)>

神経活性物質と精神病

ドクターサロン, 32(4) : 51-54, 1988

3) 三国雅彦, 久住一郎, 森秀樹, 小田垣雄二, 山下格 :

セロトニン-2受容体を介する細胞内情報伝達系と向精神薬の作用機序について

精神神経薬理シンポジウム, 13 : 24-31, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 高橋清久 :

サーカディアンリズムの同調機構

—ラットにおける同調と周期に影響をおよぼす因子—

第10回日本生物学的精神医学会, 京都, 3. 25, 1988

b. 国際学会

1) Mikuni M, Mori H, Yoshida H, Yamashita I, Takahashi K :

5HT₂ receptor-mediated phosphatidylinositol hydrolysis in human platelets : modulation of PI turnover by protein kinase C activators.

17th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans Nov 19, 1987

2) Nishikawa T, Ogawa T, Takashima M, Takahashi K :

Neuroanatomical site of the facilitatory influence of haloperidol on cortical dopamine metabolism

Xth International Congress of Pharmacology, Sydney Aug 24, 1987

3) Ichikawa H, Kurumaji A, Ikeda M, Nishikawa T, Takashima M, Takahashi K :

Changes of neuropeptides in the rat brain after chronic treatment with antidepressants

Xth International Congress of Pharmacology, Sydney Aug 24, 1987

- 4) Minatogawa Y, Watanabe Y, Moriya A, Higuchi T, Igarashi Y, Yamauchi T, Mikuni M :
Effects of chronic administration of antidepressants on 5-hydroxytryptamine uptake and paroxetine binding.

17th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans, Nov 19, 1987

- 5) Mori H, Mikuni M, Koyama T, Yamashita I :
Alpha 2 adrenergic receptor mediated regulation of phosphatidyl inositol metabolism in human platelets.

17th Annual Meeting of the Society for Neuroscience. New Orleans, Nov 19, 1987

c. 一般学会

- 1) 高橋清久, 高嶋瑞夫, 大井健, 車地暁生, 西川徹 :

ストレスのサーカディアンリズムへの影響

第9回日本生物学的精神医学会, 札幌, 5. 8, 1988

- 2) 山田尚登, 下田和孝, 辻本哲士, 高橋三郎, 高橋清久 :

うつ病経過に伴う体温リズムの変化, 第2報

第9回日本生物学的精神医学会, 札幌, 5. 8, 1988

- 3) 市川宏伸, 車地暁生, 渡部修三, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

新生仔期に6-hydroxydopamine を投与したラットにおける脳内神経ペプチド含量の変化

第9回日本生物学的精神医学会, 札幌, 5. 8, 1988

- 4) 三国雅彦, 久住一郎, 森秀樹, 吉田幸宏, 池田正行, 山下格, 高橋清久 :

ヒト血小板におけるセロトニン刺激性イノシトールリン酸の生成とCキナーゼ活性化による調節

第17回日本神経精神薬理学会年会, 9. 24, 1987

- 5) 山田尚登, 下田和孝, 辻本哲士, 高橋清久, 高橋三郎 :

飼育環境の違いによるラットのフリーランニングリズムの変化

第17回日本神経精神薬理学会年会, 9. 24, 1987

- 6) 小宮山徳太郎, 高橋清久 :

アルコール身体依存マウスの自発運動の日内リズム

第22回日本アルコール医学会, 9. 29, 1987

- 7) 畑直人, 西川徹, 高橋清久 :

ラット前頭葉皮質における興奮性アミノ受容体拮抗薬および作動薬のドーパミン神経伝達に対する作用

II 研究業績

第30回日本神経化学会, 東京, 10. 28, 1987

- 8) 市川宏伸, 渡部修三, 車地暁生, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

“多動児モデルラット”における dopamine 関連ペプチド

第11回神経科学学術集会, 東京, 12. 10, 1987

- 9) 野田恭平, 池田正行, 高橋清久 :

寒冷水浸拘束ストレス下でのラット脳内アセチルコリン含量の変化

第11回神経科学学術集会, 東京, 12. 10, 1987

- 10) 杉下真理子, 大井健, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

母親による子ラットリズムの同調機構

—NATリズムによる観察と5, 7-DHT の影響—

第10回日本生物学的精神医学会, 京都, 3. 25, 1988

- 11) 山崎潤, 樋口輝彦, 山内俊雄, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

夜間血清メラトニンレベルに及ぼす影響

第10回日本生物学的精神医学会, 京都, 3. 25, 1988

- 12) 西川徹, 篠原一之, 畑直人, 高嶋瑞夫, 高橋清久 :

視床破壊ラットにおける線条体内ドーパミン作動機構の変化

第10回日本生物学的精神医学会, 京都, 3. 25, 1988

D. 研究会など

- 1) 高橋清久, 高嶋瑞夫, 大井健 :

ストレスのサーカディアンリズムにおよぼす影響

第2回臨床時間生物学研究会, 東京, 9. 23, 1987

- 2) 大井健, 杉下真理子, 高嶋瑞夫, 高橋清久, 下田和孝, 山田尚登, 高橋三郎 :

母親による子ラットリズムの同調機構

第4回生物リズム研究会, 大津, 10. 15, 1987

- 3) 畑直人, 西川徹, 高橋清久 :

NMDA 受容体を介する中脳皮質系ドーパミンニューロンの制御

第3回 夏の神経化学研究会, 甲府, 8. 8, 1987

- 4) 池田正行, 吉田幸宏, 三国雅彦, 高橋清久 :

Wriggling mouse Sagami の行動薬理学的研究

第3回 夏の神経化学研究会, 甲府, 8. 8, 1987

5) 吉田幸宏, 渡辺義文, 三国雅彦, 高橋清久 :

ラット脳内 paroxetine の結合部位に対する各種抗うつ薬反復投与の影響

第3回 夏の神経化学研究会, 甲府, 8. 8, 1987

6) 高橋清久 :

生体リズムとその異常—ホルモン分泌と睡眠をめぐる—

学術講演会 (広島医師会学術部主催), 広島, 10. 21, 1987

7) 高橋清久 :

躁うつ病と生体リズム

エイザイクリニック 日本短波放送, 1. 26, 1988

8) 西川徹 :

向精神薬の作用機序に関する最近の知見

都立梅ヶ丘病院医局研究会, 東京, 3. 1, 1988

3. 主な研究報告

母親による仔ラットリズムの同調機構
—NATリズムによる観察—

杉下真理子, 大井健, 高嶋瑞夫, 高橋清久

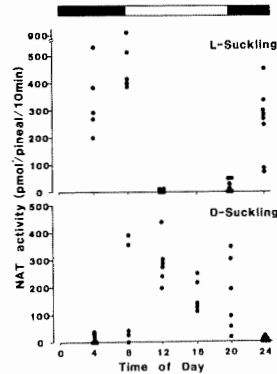
[はじめに] 感情障害や睡眠障害をはじめとした種々の精神科領域の疾患でサーカディアンリズムの異常が観察されており, リズムの同調機構を明らかにすることは同疾患の解明にも意味のあることと考えられる。我々はかかる観点からリズムの発達段階における同調機構について研究を行い, 盲目仔ラットの内因性リズムに対して養母が同調因子として働いていることを示してきた¹⁾。同時に, 養母の仔ラットへの接触時間を暗期もしくは明期のみの一定期間に限らせる操作 (PMD ; periodic mother deprivation) を行うと, 両グループの間で飲水及び corticosterone リズムの位相に逆転関係が生ずることも見出した²⁾。これは, 授乳時間の制限が, 24時間を通じての接触という通常の哺育パターンと比して同調因子としてより強いことを示すものであるが, これまでに用いられていた飲水及び corticosterone リズムは離乳後でなければ観察不能であるため, 実際には授乳中に起こっていると想像されるリズムの同調をその期間内に直接観察するには至っていなかった。そこで, 今回我々は, 松果体のメラトニン合成酵素である Nacetyltransferase (NAT) 活性を指標とし, PMD 操作による授乳期間中での L・D 両群間での位相の逆転について検討を行った。

[対象・方法] Wistar 系成熟ラットを LD 条件 (明期0800-2000h, 暗期2000-0800h) 下で交配し, 妊娠確認後は個別ケージで飼育した。飲水・摂食は自由とした。仔ラットは出生日 (生後第1日) に両側眼球摘出術を施し, 同腹仔ラットを L 群・D 群の2グループに分け, 各グループ間で生母を8時と20時に移動させた。即ち L 群のラットには明期 D 群では暗期のみ生母との接触を許したことになる。生後8日及び10日目に, 4時間おきに24時間にわたり各群を断頭屠殺, 松果体を採取し, NAT 活性を Deguchi の原法に従って測定した。

[結果]

- 1) 生後8日目の NAT 活性リズムは, 元来の傾向である昼低夜高は認められたものの, 従来の報告に比して振幅が小さく, 不明瞭なサーカディアンリズムを示していた。
- 2) 生後10日目では明かな NAT 活性リズムが認められ, しかもL・D群の間で逆転した位相関係が認められた。(図)

EFFECT OF PERIODIC MATERNAL DEPRIVATION
ON NAT RHYTHM IN 10-DAY-OLD PUPS



[考察] 以上より, 盲目仔ラットにおいて NAT 活性リズムは10日目には明瞭化し, 同時に PMD 操作により位相に逆転関係が生じていることが確認された。養母の影響と本質的に同一であるとされる PMD によって, この時期に位相の逆転が生じていることは, 母親側の何かかの因子が授乳中により既に仔ラットリズムの発達に大きな影響を与えていることを示している。1983年 Reppert らは, 生母と逆転した育母に育てさせた場合, 生後10日目では仔ラットの NAT リズムは, 育母のリズムには完全には同調しなかったと報告しているが, これは通常の哺育パターンと PMD 操作との同調因子の強さの違いによるものと思われる。

また, 今回の結果は今後養母のどの因子が仔ラット同調させているのか (母性行動であるのかもしくは母乳内の化学物質であるのか) などを解明するにあたり, PMD 操作と NAT 活性測定の併用が従来の方法よりもより早期に結果が得られるため, 非常に有用な方法であることを示唆している。

- 1) Takahashi, K., et al : Further evidence that circadian rhythm of blinded rat pups is entrained by the nursing dams. *Am. J. Physiol.*, 246 : R359-363, 1984
- 2) Shimoda, K., et al : Periodic exposure to mother is potent zeitgeber of rat pups' rhythm. *Physiol. Behav.*, 36 : 723-730, 1986

慢性ストレス後のセロトニン神経系の感受性高進 大井 健, 三国雅彦, 高橋清久

ラットにストレスを負荷すると、行動・神経内分泌の面で著しい反応が現れるが、同一のストレスを毎日繰返し与えると、この反応性はしだいに減じていくことが知られている。これは、一般にストレスへの適応現象と呼ばれ、慢性的なストレス状況下で生体を防衛する機能を反映していると考えられる。しかし、それに関与している中枢神経系の機構は明らかでない。Curzon らは、毎日2時間の拘束ストレスを1週間繰返し与えたラットではセロトニンアゴニスト (5-methoxydimethyltryptamine : 5-MeODMT) に対し過感受性を示すと報告し、このセロトニン感受性の亢進がストレス適応に関係すると考察している。そこで、我々は、フットショックストレスを用いてストレス適応現象の発現とセロトニン感受性の変化を調べた。

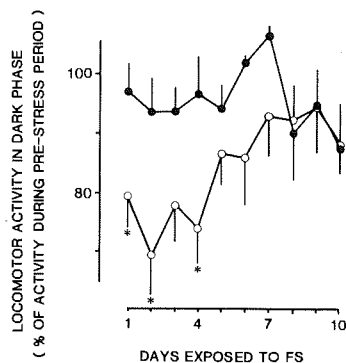
【方法】 実験には、体重250-350gの Wistar 系雄性ラットを用いた。ストレスは2mA, 1時間のフットショック (4秒間の間隔で1秒間の電撃が加わる) を使用した。

- 1) ストレス適応現象の観察：自動記録装置付きの Animex-Auto を用いて、ストレス開始前4日から開始後10日までの間連続して、個々のラットの移所行動量を測定した。
- 2) 5 MeODMT に対する反応性：5日間と10日間のストレス負荷した後、24時間後に、2種類の容量の5 MeODMT を腹腔内投与し、続いて現れる4つの行動 (表) を観察した。評価は5分毎1分間で、各項目について各測定毎に4段階の得点づけをし、投与後30分までの合計点を算出した。
- 3) セロトニン受容体結合実験：10日間のストレス後、24時間後にラットを断頭し、大脳皮質と海馬を凍結保存した。セロトニン-1, 1A, 2受容体結合法は、Schnellman ら, Peroutka らの方法にそれぞれ準じた。

【結果】

- 1) ストレス適応現象：図1は、暗期活動期 (12hr) の移所行動量の変化を示している。対照群に比較して、ストレス群では2日目までに30%の有意な

減少が見られた。しかし、5日目からは回復し、対照群との間に有意差がなくなった。



- 2) 5 MeODMT に対する反応性：表1に示したように、10日間の慢性ストレス群は hindlimb abduction と tremor の2つの行動指標で対照群に較べて有意に強い反応を示した。
- 3) セロトニン受容体結合実験：大脳皮質・海馬のセロトニン1, 1A, 2タイプの受容体結合実験を行ったが、いずれもストレス群と対照群の間に有意な差は見られなかった。

【考察】 毎日1時間のフットショックストレスに暴露させた場合、5日目より行動量のストレス適応現象が観察した。この結果は、拘束や強制走行ストレスを用いた既報のもの一致しており、ストレス適応現象が、普遍的な生体反応であることを示している。

一方、10日間のストレス暴露は、5 MeODMT 投与後の hindlimb abduction と tremor の過剰反応を生じた。この事は、先の Curzon らの結果と共通する結果であり、慢性ストレス後にセロトニン神経系、特にセロトニン1タイプの受容体の感受性が亢進することを示唆する。そこで、受容体数並びに親和性の変化を予想したが、受容体結合実験では変化が見られなかった。しかし、受容体以下の情報伝達系の変化も考えられ、今後の検討が必要である。

TABLE I The effect of subchronic and chronic footshock stress on behavioral responses to 5-MeODMT 24 hr after the last administration.

		Hindlimb abduction	Forepaw treading	Tremor	Straub tail
5 mg/kg, i.p.	Control (9)	6.06±0.86	9.11±0.65	7.25±0.41	1.56±0.65
	Subchronic (7)	9.29±1.78	10.8±1.22	6.83±0.60	2.86±0.77
	Chronic (8)	8.81±1.39	10.1±0.61	8.21±0.72	1.88±0.83
10mg/kg, i.p.	Control (9)	15.2±1.66	15.2±0.65	10.6±0.96	4.56±0.97
	Subchronic (7)	15.7±1.11	14.8±0.79	10.7±0.52	2.20±0.39
	Chronic (8)	15.9±1.32	16.8±0.46*	13.2±0.58*	5.75±1.00**

Significant differences from control: * P 0.01 and ** P 0.05 by Williams-Wilcoxon test. Values are mean ± S.E.M.

うつ病におけるセロトニン刺激性イノシトールリン脂質代謝

三国雅彦, 久住一郎, 西川徹, 高橋清久

うつ病の生物学的基盤に脳内セロトニン (5HT) 機能異常, とくに5HT 受容体感受性変化のような機能的異常が想定されているが, まだ確実な証拠は得られていない。血小板は5HT 取込み機構や5HT 受容体を有し, 中枢5HT 系機能異常を反映する可能性がある。うつ病血小板の5HT 取込み能やイミプラミン結合部位数の検索が10年来続けられてきたが, 相反する報告が多く, 一方5HT 受容体機能についてはまだほとんど検索されていない。また5HT 合成酵素阻害剤がうつ病を増悪させ, 抗うつ薬の薬効も失わせることが知られているが, その作用機序は推測の域を出ず, ラットに5HT 合成阻害剤 PCPA を反復投与しても脳内5HT 受容体数は5HT-1型, 5HT-2型とも変化しないといわれている。

最近われわれはヒト血小板やラット海馬における5HT 刺激性イノシトールリン脂質 (PI) 加水分解反応亢進が5HT-2受容体を介することを証明したので, うつ病血小板5HT-2受容体刺激に基づくPI 代謝回転が健康対照者に比し亢進しているか否かを明らかにするとともに PCPA 反復投与でラット海馬の5HT 刺激性 PI 代謝回転も亢進するか否かを明らかにすることを計画した。これらの試みがうつ病態解明の一助となると期待されたからである。

対象と方法

①本研究の趣旨を理解し, 協力することに同意したうつ病6例, 神経症性抑うつ3例, 健康成人7例から採血し, 遠心法により血小板を採取した。

②PCPA を300mg/kg 5日間, ひき続き100mg/kg 5日間ラット腹腔内に投与した群 (PCPA 300mg/kg群), PCPA を100mg/kg 10日間投与した群, 対照として vehicle を10日間投与した群を作製し, 最終投与24時間後に断頭し, 海馬切片 (0.3×0.3×1.0mm) を作製した。

③血小板や海馬切片における³H-イノシトールでラベルしたPI を100μM 5HT 刺激により加水分解し, ³H-イノシトール-1-リン酸 (IP-1) の蓄積を Berridge の方法により定量し, 非5HT 刺激に対するIP-1蓄積増加率を算出した。

結果

図-1に100μM 5HT 刺激時の健康対照, うつ病群, 神経症性抑うつ群の血小板中IP-1蓄積増加率を示す。推計学的に有意差はないものの, うつ病群の中には蓄積増加率が高値を示す症例が存在して

いた。

図-2に100μM 5HT 刺激時の vehicle 投与群, PCPA 100mg/kg投与群、300mg/kg投与群のラット海馬におけるIP-1蓄積増加率を示すが, PCPA 300mg/kg投与群において有意な蓄積増加率の亢進が観察された。一方, 各投与群の大脳皮質における5HT-2受容体をラベルする³H-ケタンセリン結合部位濃度には全く差がなかった。

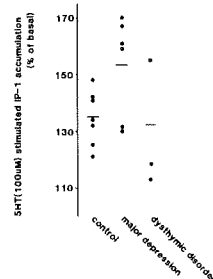


図1 血小板における5HT 刺激性IP-1蓄積増加率

考察

従来よりうつ病の5HT 受容体感受性亢進仮説が提唱され, 神経内分泌学的異常所見から5HT-2受容体機能亢進が示唆される報告もなされているが, 5HT-2受容体を介する細胞内情報伝達系に対するうつ病の病態生化学的検索はなされていない。本報告によりうつ病群の一部に血小板の5HT刺激性PI 代謝回転亢進を示す症例が存在する可能性が示唆された。一方, PCPA 処置はラット脳内5HT-2受容体数を変化させないが, この受容体を介するPI 代謝回転を亢進することがはじめて明らかとなったことから, うつ病態と5HT 刺激性PI 代謝回転亢進との関連が強く示唆された。

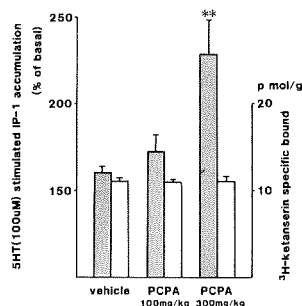


図2 ラット海馬における5HT 刺激性IP-1蓄積増加率. n=各4, **p<0.01

Wriggle Mouse Sagami に関する神経化学的検討

池田 正行, 三国 雅彦, 西川 徹, 高橋 清久

常染色体性劣性遺伝により先天的に serotonin (5-HT) 症候群様の不随意運動, 筋緊張の異常, 失調を示すマウスである Wriggle Mouse Sagami (WMS) に関して, 5-HT系を中心とした行動薬理学並びに神経化学的検討を行なった。

材料と方法

14-16週齢の雄性 WMS と, 対照として同週齢の雄性 Balb/c マウスを用いた。

1. 行動薬理学的検討: 下記の各種神経伝達物質拮抗薬を投与し, 投与後の異常運動を観察, 溶媒投与時と比較した。metergoline (5HT₁, 5HT₂), ritanserin (5HT₂)。
2. 脳内モノアミンならびにアミノ酸の測定: noradrenaline (NA), dopamine (DA), DOPAC, HVA, 5-HT, 5-HIAA の定量及び5-HTの代謝回転を知る目的でアミノ酸脱炭酸酵素阻害剤である NSD1015 (100mg/kg)を腹腔内投与したのちの脳内5-HTP 蓄積を定量した。

測定には電気化学的検出器付高速液体クロマトグラフィを用いた。

3. 脳内各種受容体結合能の測定: 以下の各受容体につき in vitro での結合実験を行った。()内は用いた³H 放射性リガンドを示す。5HT₁ (5HT), 5HT₂ (ketanserin), 5-HT uptake site (paroxetine), α₁ adrenaline (prazosin), GABA_A (muscimol)。

結果

1. 行動薬理学的検討: ritanserin (5HT₂拮抗薬) と Prazosin (α₁アドレナリン拮抗薬) のみが受容体遮断作用を介して特異的に効果を示した。
2. 5-HIAAが大脳皮質を除く全域で(図1)また5-HTP 蓄積は正中縫線核, 橋, 小脳で有意に亢進していた。5-HT, NA は小脳でのみ著明に上昇していた。DA, DOPAC, HVA は不変であった。
3. 受容体結合実験: 5HT₁, 5HT₂, 5HT uptake site, α₁ adrenaline 結合部位では対照とWMS の間に著明な差を認めなかった。GABA_A 結合部位は WMS 小脳あたり対照の60%に減少していた。

考案

以下の理由により WMS では5-HT の代謝亢進

に基づくシナプス前由来の5-HT系の機能亢進状態が存在すると考えられる。① WMS の異常運動はマウスに5-HT agonist を投与した際の症状に類似している。②行動薬理学的検討では選択的5-HT₂拮抗薬である ritanserin が特異的に異常運動抑制効果を示した。③脳内各部位で5-HTの代謝産物である5-HIAAの濃度が上昇していた。④5-HTPの蓄積が亢進していた。⑤5-HT受容体結合実験では5HT₁, 5HT₂受容体及び5-HT取込部位いずれも, 対照と比較して明らかな変化はなかった。5-HT系以外ではnoradrenaline系とGABA系の異常も示唆された。

この5-HT系の機能亢進所見が一次的なものか異常運動による二次的のものかについては今後の検討を要するが, WMSは5-HT系機能亢進モデルとして有用であると考えられる。

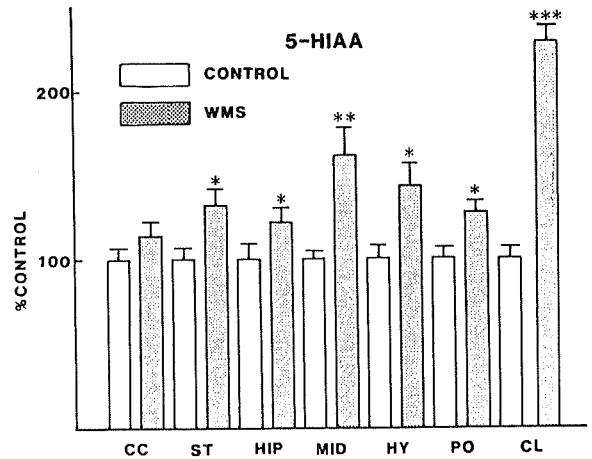


図1. 脳各部位における5-HIAAの濃度. CC: Cerebral Cortex, ST: Striatum, HIP: Hippocampus, MID: Midbrain, HY: Hypothalamus, PO: Pons, CL: Cerebellum

* p < 0.05, ** p < 0.001, *** p < 0.0001

5. 疾病研究第4部

1. 研究部一年の歩み

当研究部は変性性神経疾患の原因，病態の解明と治療開発を目ざして研究を行ってきた。昭和62年度は部長不在で研究者の新規採用や新しい研究費は認められず苦しい一年であった。

本年度の研究活動に参加したメンバーは以下の通りである。〔室長〕向山昌邦，足立皓岑，〔研究員〕吉田瑞子，〔流動研究員〕鈴木良弘（62年12月退職，日大医学部へ転出）〔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，〔賃金研究助手〕佐藤高志，中村昌子，佐久間眞喜子。

本年度疾病研究第四部での主な研究の概要は次の通りである。

1) 多系統萎縮症の生化学的研究：剖検例の頸髄で NA, MHPG, 5-HT, 5-HIAA などのモノアミン濃度を測定し，病理学的所見と対比した。NA, MHPG 含有量の低下は頸髄の変性所見と，また 5-HT, 5-HIAA 含量の低下は縫線核ニューロンの減少と一致した。

2) ナロキソン投与によるラット小脳低形成実験：脊髄小脳変性症における小脳，橋の萎縮の発現機序を探る目的でオピオイド拮抗剤を投与して，小脳発達障害を作成し，TRH, モノアミン濃度の低下との関連を確かめた。

3) 遺伝性運動失調マウスの神経ペプチド測定：ソマトスタチン拮抗薬であるシステアミン投与で失調症状の改善を示すマウスと示さないマウスがあり，症状発現に関してソマトスタチンの関与の仕方の違いを想定した。

4) GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの感覚一次ニューロン系の計測学的研究：腓腹神経, L₅ 後根, L₅ 神経節, 脊髄後索を調べた結果 central distal axonopathy のモデル動物と考えて良いことが判明した。

5) 遺伝性運動感覚性ニューロパチーの臨床病理学的研究：症例について遺伝歴，臨床像，病理所見を総合的に研究し，特異な症例の存在を指摘した。

6) 骨格筋細胞内 Ca²⁺ 濃度の測定：Ca²⁺ と結合した fura -2 の蛍光を測定する方法を応用し，マウス正常筋細胞の Ca²⁺ 濃度は10⁻⁷M以下の値を得た。

(室長 向山昌邦)

II 研究業績

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) 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 81:155-158 1987
- 2) 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
日疾動録 3:66, 1987
- 3) 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
日疾動録 3:65, 1987
- 4) 池田庸子, 向山昌邦, 下川邦泰, 他:
脳幹に大きな同心円性脱髄病巣を認めた多発性硬化症の1剖検例
Neuropathology 7:321-328, 1987
- 5) 佐藤猛, 安野みどり, 向山昌邦, 他:
ミトコンドリア脳筋症 神経病理と電子伝達系酵素の免疫組織化学
神経進歩 31:634-645, 1987
- 6) 臼井康臣, 向山昌邦:
筋緊張性ジストロフィーの1剖検例——とくに脊髄根の病変について——
神経内科 27:276-284, 1987
- 7) Yamazaki K, Sakakibara A, Tomita T, Mukoyama M, Kikuchi T:
Location of gracile axonal dystrophy (gad) on chromosome 5 of the mouse
Jpn J Genet 62:479-484, 1987
- 8) Yamazaki K, Wakasugi N, Tomita T, Kikuchi T, Mukoyama M, Ando K:
Gracile axonal dystrophy (GAD), a new neurological mutant
ataxic mouse
Proc Soc Exp Biol Med 187:209-215, 1988
- 9) Kumazawa T, Adachi K, Oda S, Ando K:

Increased 5-Hydroxytryptamine and 5-Hydroxyindoleacetic acid levels in the central nervous system of Shambling mutant mice

Med Sci Res 15:817-818, 1987

- 10) Mitsuma T, Adachi K, Mukoyama M, Ohsugi K, Ando K:

Concentrations of substance P-like immunoreactivity in the spinal cord of patients with amyotrophic lateral sclerosis

Med Sci Res 15:1389-1390, 1987

- 11) Kumazawa T, Adachi K, Ando K, Oda S:

Enhancement of 5-Hydroxytryptamine turnover in descending serotonergic neurons of shambling mice

Neurochem Int 11:283-286, 1987

- 12) Mitsuma T, Adachi K, Mukoyama M, Ohsugi K, Ando K:

Concentrations of thyrotropin-releasing hormone and substance P in the central nervous system of Wriggle mouse Sagami, a mutant ataxic mouse

Med Sci Res 16:275-276, 1988

- 13) 松井京子, 向山昌邦, 足立皓岑, 安藤一也:

運動失調マウス (Wriggle mouse Sagami) の病態に関する研究

実験動物 36:185-189, 1987

- 14) 松井京子, 加藤進昌, 安藤一也:

遺伝性運動失調マウスの成長発達による行動量・運動失調の変化

——小脳cyclic nucleotide濃度との関連において——

実験動物 37:1-6, 1988

- 15) 松井京子, 安藤一也:

Wriggle mouse Sagami (WMS) に対する行動薬理的検討

実験動物 37:81-83, 1988

- 16) 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

——小脳cyclic nucleotideとの関連において——

日疾動録 3:68, 1987

- 17) Mano Y, Matsui K, Ando K, Takayanagi T:

II 研究業績

The pharmacokinesiological effect of DN-1417 and TRH-T on Rolling Mouse Nagoya

J Nara Med Ass 38:333-342, 1987

18) 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 79:351-354, 1987

19) 安井昌之, 安藤一也, 向山昌邦, 足立皓岑, 大杉圭子, 八瀬善郎:

多発性硬化症の Mg 動態

マグネシウム 6:105-112, 1987

20) 安井昌之, 足立皓岑, 満間照典, 森田勇二, 大杉圭子, 向山昌邦, 安藤一也, 八瀬善郎, 大田喜一郎:

金属偏食によるラット脊髄内 thyrotropin releasing hormone への影響

医学のあゆみ 143:921-922, 1987

21) Suehiro M, Yokoi F, Nozaki T, Iwamoto M:

No-carrier-added radiobromination via the Gattermann reaction.

—Synthesis of⁷⁶ Br-and⁷⁷ Br-bromoperidol—

J Label Compound Radiopharm 24:1143-1157, 1987

b. 著 書

1) Yokoi F:

Approach to neurotransmitters and neuroreceptors in human brain by positron emission tomography

Neurotransmitters and Neuroreceptors:New approaches in neurotransmitter function

Proceeding of the Fourth Workshop on Neurotransmitters and Diseases

(ed by Kuriyama K), Excerpta Medica, Amsterdam-Princeton-Geneva-Tokyo, p71-90,

1987

d. 班会議報告書

1) 向山昌邦, 檜澤一夫, 石原伝幸, 他:

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

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療に関する研究班,

昭和61年度研究報告書, 319-323, 1987

2) 向山昌邦, 中村信之:

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

厚生省精神・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年度研究報告書, 66-68, 1987

3) 向山昌邦, 篠塚直子, 安藤一也, 他:

神経難病患者の在宅療養維持のための条件

厚生省特定疾患・難病の治療・看護調査研究班

昭和61年度研究報告書, 105-110, 1987

4) 齊田恭子, 東 理, 向山昌邦, 他:

筋緊張性ジストロフィー症の遺伝・疫学第2報

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療に関する研究班,

昭和61年度研究報告書, 71-74, 1987

5) 松岡幸彦, 古閑 寛, 向山昌邦, 他:

わが国の筋緊張性ジストロフィー症の臨床症候と障害度

全国アンケート調査の解析

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の疫学, 病態および治療に関する研究班

昭和61年度研究報告書, 75-79, 1987

6) 富田武, 山崎一斗, 若杉昇, 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

厚生省精神・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年度研究報告書, 49-58, 1987

7) 菊池建機, 向山昌邦, 山崎一斗, 富田武:

軸索ジストロフィーのモデル動物としての GAD (gracile axonal dystrophy) マウス

厚生省精神・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年研究報告書, 59-64, 1987

8) 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年度研究報告書, 403-407, 1987

9) 平田伊勢雄, 山口裕敬, 向山昌邦, 他:

在宅難病患者(特に神経難病患者)のケア・援助について

東京都特殊疾病(難病)に関する研究班, 昭和61年度報告書, 243-267, 1987

II 研究業績

10) 足立皓岑, 熊沢武志, 安藤一也, 満間照典, 織田銃一:

遺伝性運動失調マウス shambling mouse の中枢神経の生化学的研究

厚生省特定疾患・運動失調症調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 151-154, 1987

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, 神経ペプチドの変動

厚生省特定疾患・スモン調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 55-59, 1987

12) 安藤一也, 足立皓岑, 大杉圭子, 向山昌邦, 満間照典:

ALS 頸髄におけるモノアミン代謝と substance-p 含量

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班, 1986年度研究報告書, 25-27, 1987

13) 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

厚生省精神・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, 277-280, 1987

14) 安藤一也, 松井京子, 大杉圭子:

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年度研究報告書, 255-259, 1987

15) 安藤一也, 横井風児, 原敏彦, 飯尾正明:

Determination of ^{14}C -1-pyruvate metabolism, cerebral oxygen consumption and cerebral blood volume in a patient with an intracranial tuberculoma by positron emission tomography.

厚生省精神・神経疾患・サイクロトン核医学による中枢神経障害の発現機序に関する研究班, 昭和61年度研究報告書, 46-57, 1987

e. その他

1) 向山昌邦:

神経内科症例の検討

北多摩医師会報別冊, 学術講演集第12号, 46-59, 1988

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 向山昌邦:

ALS, MS, 福山型筋ジストロフィー症の臨床と病理

中日神経系疾病学シンポジウム, 北京, 11. 11, 1987

2) 横井風児:

ミトコンドリア脳筋症と PET

第28回日本神経学会総会, シンポジウムII:ミトコンドリア脳筋症, 東京, 5. 29, 1987

b. 国際学会

1) Mukoyama M, Tomi H, Kitamura J, Kamei N, Nonaka I:

Neuropathology on congenital myotonic dystrophy:the case which died at 39 years old

2nd Congress of Asian and Oceanian Association of Child Neurology, Jakarta,

Indonesia, Sept. 17, 1987

2) Mukoyama M, Ishihara T, Hizawa K, Nishitani H:

Neuropathological study on Fukuyama type congenital muscular dystrophy

The 7th Asian Oceanian Congress of Neurology

Bali, Indonesia, Sept. 23, 1987

3) Mukoyama M, Sunohara N, Satoyoshi E:

Clinicopathological study on two Japanese ALS cases with long survival

International Conference of Amyotrophic Lateral Sclerosis

Kyoto, Oct. 29, 1987

4) Morita Y, Adachi K, Yasui M, Ando K, Mitsuma T, Takayanagi T:

Biochemical study on low calcium-magnesium with high aluminum rats

International Conference of Amyotrophic Lateral Sclerosis

Kyoto, Oct. 30, 1987

5) Mano Y, Matsui K, Ando K, Takayanagi T:

The kinematic effects of pulsed magnetic stimulation on brain

6th International Congress of Biomagnetism. Tokyo, Aug. 29, 1987

6) Masui A, Matsui K, Watanabe N, Ando K, Kato N:

Concomitant increase of immunoreactive-cholecystokinin (IR-SRIF) and somatostatin (IR-SRIF) in the cerebellum of ataxic mutant mice: Weaver, Staggerer, Purkinje cell degeneration (PCD) and Rolling mouse Nagoya (RMN)

17th Annual meeting of Society for Neuroscience, New Orleans, USA, Oct. 20, 1987

II 研究業績

- 7) Yasui M, Yase Y, Ando K, Mukoyama M, Adachi K, Ohsugi K:

Magnesium study in mutiple sclerosis

The 7th Asian Oceanian Congress of Neurology, Bali, Indonesia, Sept. 20, 1987

- 8) Yokoi F, Iio M, Toyama H, Ando K, Satoyoshi E:

Analysis of ¹⁴C-1-pyruvate metabolism in cerebrum of Alzheimer's disease by positron emission tomography

34th Annual Meeting of the Society of Nuclear Medicine, Tronto, Canada, Jun. 3, 1987

c. 一般学会

- 1) 向山昌邦, 安藤一也:

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の臨床病理学的研究

——最近の自験20剖検例について——

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 29, 1987

- 2) 小池文彦, 国下龍英, 田平 武, 向山昌邦, 中山 宏:

合成老人斑アミロイドポリペプチドに対する抗体 (affi-28) を用いた痴呆性疾患の免疫組織学的研究

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987

- 3) 臼井康臣, 橋爪真言, 向山昌邦:

糖尿病における眼筋麻痺の臨床病理学的研究

——動眼, 滑車神経に著明な変性を認めた1剖検例。本邦剖検報告第一例——

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987

- 4) 向山昌邦, 安藤一也, 菊池建機, 山崎一斗, 富田 武:

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態学的研究

第28回日本神経病理学会総会, 神戸, 6. 2, 1987

- 5) 富 英明, 向山昌邦, 亀井敦行, 里吉宮二郎:

中枢神経系に多数の corpora amylacea を認めた Crow-Fukase 症候群の一例

第28回日本神経病理学会総会, 神戸, 6. 2, 1987

- 6) 向山昌邦, 亀井敦行:

被殻の萎縮, 青黒色着色の目立った multiple system atrophy の一例

第27回臨床神経病理懇話会, 東京, 7. 11, 1987

- 7) 山崎一斗, 榊原朱実, 富田 武, 向山昌邦, 菊池建機:
マウス突然異変 GAD (gracile axonal dystrophy) 遺伝子座の位置決定
第4回日本疾患モデル動物研究会総会, 和歌山, 11. 26, 1987
- 8) 松田行正, 野手とし子, 向山昌邦, 春原経彦, 里吉栄二郎:
不安定歩行 (正常圧水頭症) を呈した一剖検例
第103回日本神経学会関東地方会, 東京, 12. 5, 1987
- 9) 向山昌邦, 松田行正, 春原経彦, 安藤一也:
Pure akinesia の1剖検例
第29回臨床神経病理懇話会, 東京, 3. 26, 1988
- 10) 足立皓岑, 熊沢武志, 大杉圭子, 安藤一也, 織田銑一, 満間照典:
遺伝性運動失調マウス Shambling mouse における神経ペプチドの分析
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987
- 11) 森田勇二, 足立皓岑, 安藤一也, 満間照典:
キノホルム投与ラットによるスモン知覚障害の生化学的検討
——疼痛との関連について——
第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987
- 12) 鈴木良弘, 足立皓岑, 向山昌邦, 満間照典:
ナロキソン投与ラット脳 of 発育とモノアミン, TRH 動態
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987
- 13) 鈴木良弘, 足立皓岑:
オピオイドアンタゴニスト ナロキソンによるラット脳発育の阻害
第30回日本神経化学会, 東京, 10. 29, 1987
- 14) 松井京子, 安藤一也:
運動失調マウスに対する caerulein 投与の影響
第60回日本薬理学会大会, 千葉, 3. 30, 1987
- 15) 松井京子, 加藤進昌, 渡辺倫子, 車地暁生, 高橋清久, 成瀬浩, 安藤一也:
各種運動失調マウスの脳内ソマトスタチンについて
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987
- 16) 真野行生, 高柳哲也, 松井京子:
Rat 脳へのパルス磁気刺激の行動的検討

II 研究業績

第17回脳波筋電図学術大会, 東京, 11. 12, 1987

- 17) 松井京子, 増井 晃, 加藤進昌, 渡辺倫子, 向山昌邦:

各種運動失調マウスの脳内 somatostatin および CCK 8 について

第4回日本疾患モデル動物研究会総会, 和歌山, 11. 26, 1987

- 18) 松井京子, 加藤進昌, 渡辺倫子, 向山昌邦, 安藤一也:

遺伝性運動失調マウスの運動失調発現と脳内ソマトスタチンとの関連について

第61回日本薬理学会総会, 福岡, 3. 24, 1988

- 19) 安井昌之, 安藤一也, 向山昌邦, 足立皓岑, 大杉圭子, 八瀬善郎:

多発性硬化症の Mg 動態

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 29, 1987

- 20) 安井昌之, 向山昌邦, 足立皓岑, 大杉圭子, 安藤一也, 八瀬善郎:

中枢神経組織におけるマグネシウムのホルマリンへの漏出について

第7回日本マグネシウム研究会, 東京, 12. 5, 1987

- 21) 横井風児, 飯尾正明, 外山比南子, 安藤一也, 里吉栄二郎:

アルツハイマー病のポジトロン CT による脳内ピルビン酸代謝の検討

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987

- 22) 萩野 裕, 西尾健資, 横井風児, 春原経彦, 里吉栄二郎:

Transient global amnesia の2症例 ——PET 所見を中心として——

第104回日本神経学会関東地方会, 東京, 3. 5, 1988

C. 班会議発表

- 1) 向山昌邦, 横井風児, 安藤一也, 飯尾正明:

Myotonic dystrophy の脳機能. ポジトロン CT による脳血流量および酸素消費率の研究

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の遺伝・疫学・臨床および治療開発に関する研究班,

昭和62年度班会議, 東京, 12. 3, 1987

- 2) 向山昌邦, 野手とし子, 春原経彦:

CT スキャンで小脳・脳幹の萎縮を認めた HMSN-I の1例

厚生省精神・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, 昭和62年度総会, 東京,

1. 21, 1988

- 3) 向山昌邦, 野手とし子, 亀井敦行, 他:

脊髄小脳変性症の障害度とその進展過程——アンケート調査から——

厚生省特定疾患，難病の治療・看護調査研究班，昭和62年度第2回班会議総会，東京，2. 6，
1988

4) 近藤喜代太郎，岩下 宏，向山昌邦，他：

筋ジストロフィーの施設ケアの便益性

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の遺伝・疫学・臨床および治療開発に関する研究班，
昭和62年度班会議，東京，12. 3，1987

5) 檜澤一夫，森内 幹，香川典子，向山昌邦：

Duchenne 型筋ジストロフィー症剖検例の臓器重量

厚生省精神・神経疾患・筋ジストロフィー症の遺伝・疫学・臨床および治療開発に関する研究班。
昭和62年班会議，東京，12. 4，1987

6) 安藤一也，足立皓岑，満間照典，江頭靖之，松木容彦，小島幸一：

キノホルム中毒犬の脊髄神経ペプチドの生化学的分析

厚生省特定疾患・スモン調査研究班，昭和62年度研究報告会，東京，2. 19，1988

7) 吉田瑞子，工藤佳久，菊池建機：

fura -2による骨格筋細胞内のCa²⁺ 濃度測定を試み

厚生省精神・神経疾患・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班，昭
和62年度報告会，東京，12. 6，1987

8) 安藤一也，鈴木良弘，足立皓岑，向山昌邦：

筋萎縮性側索硬化症の脊髄におけるプロテインキナーゼ活性について

厚生省特定疾患・神経変性疾患調査研究班：昭和62年度研究報告会，東京，2. 12，1988

9) 安藤一也，松井京子，加藤進昌，向山昌邦：

各種運動失調マウスの脳内ソマトスタチン濃度およびソマトスタチン拮抗薬投与効果

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62年度班会議
東京 3. 11，1988

10) 横井風児，原 敏彦，飯尾正明，埜中征哉，里吉栄二郎

ミトコンドリア脳筋症の脳及び筋肉における¹⁴C-1-ピルビン酸代謝

厚生省精神・神経疾患・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
する研究班，昭和62年度班会議，東京，2. 6，1988

D. 研究会など

1) 田平 武，国下龍英，向山昌邦，矢内原昇：

II 研究業績

アルツハイマー型老年痴呆にみられるアミロイド蛋白の起源に関する研究

笹川医学財団研究発表会, 東京, 5. 21, 1987

2) 向山昌邦, 亀井敦行:

L-DOPA の効果が乏しかったパーキンソン症候群の1剖検例

第8回三多摩パーキンソン懇話会, 立川, 6. 27, 1987

3) 向山昌邦:

パーキンソン病治療の現況

田無保健所パーキンソン病患者の会, 田無, 7. 16, 1987

4) 向山昌邦:

神経系の形態と機能

立川准看学院講演会, 立川, 9. 1, 1987

5) 向山昌邦:

神経内科症例の検討

小平市医師会学術講演会, 小平, 9. 11, 1987

6) 向山昌邦, 村岡光之:

外側前腕皮神経痛の1例

第19回三多摩神経疾患懇話会, 立川, 9. 12, 1987

7) 向山昌邦:

精神神経疾患に対するミオナールの使用経験

エーザイ学術講演会, 東京, 10. 24, 1987

8) 横井風児:

PET による神経伝達物質レセプター研究の現状

第4回ニューロトランスミッターと疾患研究会, 東京, 6. 20, 1987

3. 主な研究報告

GAD マウスの感覚神経一次ニューロンの計測学的研究
 ——Central distal axonopathy の存在について——

向山昌邦

GAD (gracille axonal dystrophy) マウスは80日齢前後から後肢をひきずり、ふるえを呈する遺伝性疾患モデルマウスである。病理学的には延髄 Goll 核と脊髄 Goll 索に局限する変性性病巣があり、Goll 核では多数の、Goll 索では少数の球状構造物 (axonal dystrophy) を認める。

本研究では GAD マウスの感覚性一次ニューロンに注目して、腓腹神経、坐骨神経、L₅ 後根神経節、頸髄 Goll 索、延髄 Goll 核の有髓神経線維の直径と密度、神経細胞の大きさを計測した。GAD マウスと非発症対照マウス各4匹を使用した。

結果

各部位における平均値を表に示した。球状構造物の有無も併記した。() 内は対照マウスである。

考察

Goll 核、Goll 索の変性の程度と球状構造物の出現頻度は、Goll 核に強く、ついで頸髄、胸髄、腰髄の順である。これらを感じ覚神経一次ニューロン

系統として考えると、病変の程度は中枢側の末端へ行くほど顕著になる傾向にある。延髄より上方の連絡神経路、錐体路、脊髄小脳路には異常を認めないことより、GAD マウスは感覚神経一次ニューロンの central distal axonopathy の遺伝性疾患モデル動物といえることができる。

文献

- 1) 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
- 2) Yamazaki K et al: Gracile axonal dystrophy (GAD), a new mutant in the mouse. Proc Soc Exp Biol Med 187: 209, 1988
- 3) Thomas PK: Selective vulnerability of the centrifugal and centripetal axons of primary sensory neurons. Muscle Nerve 5: S117, 1982

Morphometric study on GAD mouse

	Diameter μ	Density /mm ²	Spheroid
Sural nerve	4.60(4.73)	23,847(28,470)*	± (-)
Sciatic nerve	4.91(5.38)	23,869(23,769)	- (-)
L ₅ DR ganglion	22.6(22.8)		- (-)
Cervical Goll	2.08(2.02)	54,410(122,548)**	++ (-)
Goll's nucleus	1.91(2.30)	27,350(97,205)**	+++ (±)

() control, * p<0.05, ** p<0.005

多系統萎縮症の頸髄におけるモノアミン代謝

大杉圭子, 足立皓岑, 向山昌邦

多系統萎縮症 (MSA) は線条体黒質系, 橋小脳系, 脊髄中間質外側核に病変を有し, 自律神経失調を伴うことが多い。MSAの脳での生化学的検索は報告されているが, 脊髄における報告はみられない。今回, MSA の頸髄中のモノアミン代謝について検討し, 併せて病理所見との対比を行った。

対象および方法 対象は MSA 群 5 例 (男性 2 例, 女性 3 例; 平均年齢 63.4 才) と対照群 7 例 (男性 2 例, 女性 5 例; 平均年齢 58.8 才) であった。

凍結保存された頸髄 (C₄) 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, 症例ごとに 6 部位のモノアミン含量を HPLC-ED 法にて測定した。

結果

1) NA, MHPG 含量

対照群での NA 含量は前角が最も多かった。MSA 群での NA 含量は全部位において対照群より低下し, 前角での低下は著しかった。Case 5 のみ NA 含量は対照群と差はなかった (Fig-1)。MHPG 含量も NA の場合と同様の傾向を示したが, MSA 群の低下の割合は NA の場合程, 顕著でなかった。

2) 5-HT, 5-HIAA 含量

対照群の 5-HT 含量も前角に一番多かった。MSA 群の 5-HT 含量は前角, 中間質で顕著に低下していたが, 他の部位ではやや低値を示す程度であった (Fig-2)。5-HIAA 含量も 5-HT と同様の傾向を示した。しかし case 5 のみ対照群に比べ, 5-HT 含量は高めに, 5-HIAA 含量は低めの値を示した。

3) その他

DA, HVA, DOPAC についても検討したが DA, DOPAC 含量は極めて低値のため, 今回省略した。

考察

脊髄には視床下部, 青斑, 中脳を起源とする自律神経線維が下行しており, 胸髄の中間質外側角に達している。NA は中間質外側角の自律神経ニューロンの神経伝達物質として知られている。頸髄には中間質外側角が存在しないことより, 頸髄中の NA 含量変化は脊髄上部の NA 含量核の変性による可能性が考えられる。今回 MSA 群における病理的変性所見と頸髄 NA 含量の低下はよく一致していた。case 5 は他の MSA 群とは異なり, 線条体, 縫線核, 下オリブ核の変性は軽度で, 黒質,

青斑に顕著な変性が認められた。また自律神経障害も示さなかった。縫線核から脊髄前角へ下向している 5-HT ニューロンは運動ニューロンと近接しており, 5-HT は運動に関与する神経伝達物質と示唆されている。今回の MSA 群はすべて軽度の運動障害を示しており, case 5 以外は頸髄前角の変性は認めなかったことより 5-HT, 5-HIAA 含量の前角での顕著な減少は縫線核の変性による可能性が考えられる。これらの結果から, MSA における頸髄でのモノアミン含量変化は脊髄上部の病変を反映し, かつ運動障害, 自律神経障害をも反映している可能性が考えられる。

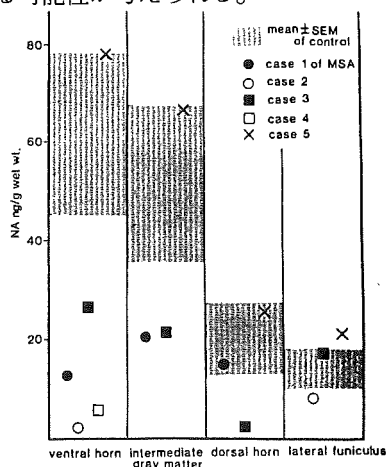


Fig.1 NA concentration in cervical cord

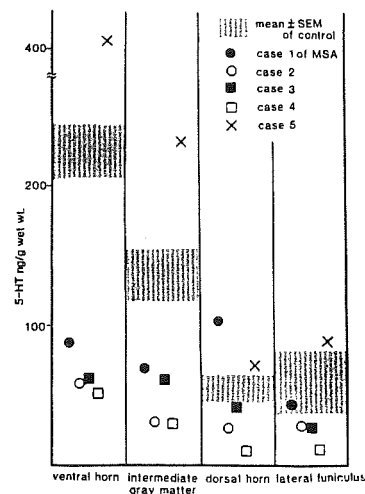


Fig.2 5-HT concentration in cervical cord

ナロキソン投与ラットにおける脳発達障害の研究

鈴木良弘, 足立皓岑

脊髄小脳変性症 (SCD) の形態学的特徴として, macroscopic には小脳, 橋を中心とする萎縮と microscopic には小脳を始めとする細胞構築上の異常とが知られている。そこで今回, 我々は萎縮と云う現象の解析を目的に opioid antagonist naloxone (NLX) による脳, 特に小脳発達障害について検討した。

方法

雌雄の Sprague-Dawley ラットに出生翌日から naloxone hydrochloride 1 および 50mg/kg を 21 日間皮下投与した。control には生食水を投与した。生後 4 週後に体重測定後, 断頭により神経組織を採取した。同組織を大脳皮質, 小脳, 延髄, 橋, 線条体, 視床, 海馬, 視床下部, 脊髄に分け, 測定まで -80°C で保存した。また一部の匹数は形態学的検索に使用した。

生化学的検索項目は HPLC-ED 法によるモノアミン類の検索と RIA による TRH 測定である。

結果

1. 行動観察および形態学的検索。

NLX 投与ラットにおいては歩行異常および不随意運動などは認められず, 光顕的検索においても特別異常所見はみられなかった。

2. NLX の発育への影響。

NLX 投与ラットでは用量依存性に体重, 大脳, 小脳湿重量の有意な減少を認めた。

3. モノアミン濃度の変動。

NLX 投与ラットでは noradrenaline (NA) 濃度が橋では有意に増量し延髄では減少していた。小脳では有意な変化はみられなかった (図 1)。

NLX 投与ラットでは serotonin (5-HT) 濃度が橋では有意に増量し延髄では減少していた (図 2)。小脳では有意な変化はみられなかった。

4. TRH 濃度の変動。

NLX 投与ラットの小脳において用量依存性に TRH 濃度が有意に減少していた (図 3)。一方, 橋, 延髄においては TRH 濃度には変化は認められなかった。

考察

今回の検索により, 内在性 opioid peptide の antagonist である naloxone により中枢神経組織の発育不全が生ずる事が確認された。しかもその障害には細胞構築上の変化はきたさない事もわかった。

更に, naloxone 投与の影響と思われるモノアミ

ン濃度, TRH 濃度の変動が中枢神経組織の部位によって内容が異なっており, 障害発生機序に特異性が存在する可能性が推測された。

図-1

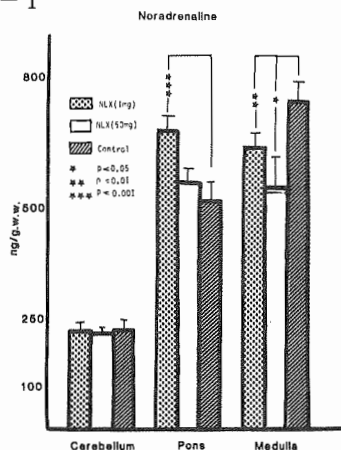


図-2

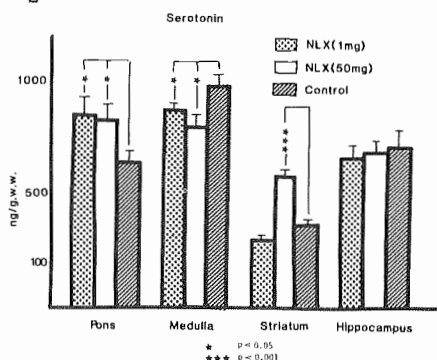
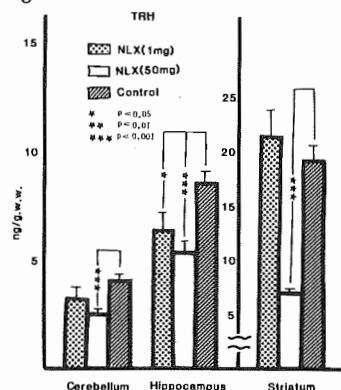


図-3



各種運動失調マウスの脳内ソマトスタチン濃度およびソマトスタチン拮抗薬投与効果

松井京子, 加藤進昌*, 向山昌邦, 安藤一也**

(*滋賀医大, **国療中部病院)

遺伝性運動失調マウスの運動失調の発現と神経ペプチドとの関連性を検討するために, 神経ペプチドの一種ソマトスタチン (SRIF) を測定し, さらに SRIF 拮抗薬 cysteamine¹⁾ を投与し, 運動状態 (運動量, 運動失調) の変化についても検索した。

方法

動物: Rolling mouse Nagoya (RMN).

Weaver, Purkinje cell degeneration (PCD), Staggerer, Reeler, コントロールマウスとして, それぞれ同一 strain の非発症正常歩行マウス。

SRIF 下の測定: 各マウスの脳をマイクロウェーブ照射にて固定後, 小脳と大脳 (全脳より小脳を除く) との二部位に分割。0.1N 酢酸でホモジナイズし, 遠沈後の上清を EIA 法により測定。

行動薬理学的検索: Cysteamine 200mg/kg

腹腔内投与 3, 4, 24時間後の時点でオープンフィールド (70×70cm) 上で各マウスの移動量と転倒回数を30分間づつ計測した。運動失調状態を把握するために, 転倒指数 (転倒回数/移動量) を算出した。なお, 同一マウスに生理食塩水を投与した場合も同様に行った。

結果

全運動失調マウスにおいて, 小脳と大脳の SRIF 濃度 (ng/kg) はそれぞれのコントロールマウスに比べ有意な増加がみられた (Fig. 1)。

Cysteamine 投与で転倒指数は Reeler と Weaver において投与 3, 4, 24時間後にそれぞれ有意な低下がみられた。RMN は投与 4 時間後, PCD は投与 24 時間後においてのみ有意な低下がみられた。Staggerer では明らかな変化はみられなかった (Fig. 2)。

考察

全運動失調マウスで小脳・大脳の SRIF 濃度は増加がみられた。そこで脳内 SRIF 濃度を低下させる作用のある cysteamine による行動薬理学的検索を行なった。その結果, 転倒指数の変化から, cysteamine 投与で運動失調の改善が Staggerer ではみられないが, RMN, PCD, Weaver, Reeler では, ある程度の改善を認め, その程度は RMN, PCD においては軽度, Weaver では中等度, Reeler では著明と思われた。このことから RMN, PCD, Weaver, Reeler においては脳内 SRIF 濃度の増加が運動失調の発現に関与していることが推察された。Staggerer の運動失調の発現を SRIF 濃度の増加

のみから解釈することは今回の実験結果からでは困難であり, 他の神経機構の関与も十分推察され, 今後の検討が必要と思われる。

文献

- 1) Beal M F et al: Brain Res 308: 319, 1984
- 2) 松井京子他: 実験動物37: 81, 1988

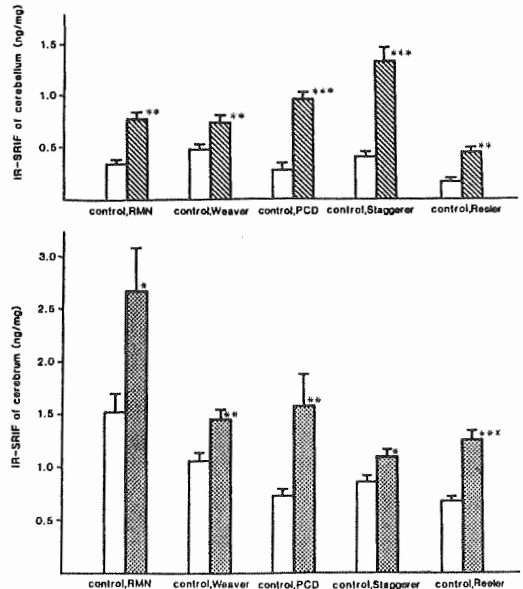


Fig. 1. 各種運動失調マウスの脳内ソマトスタチン濃度
*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.01

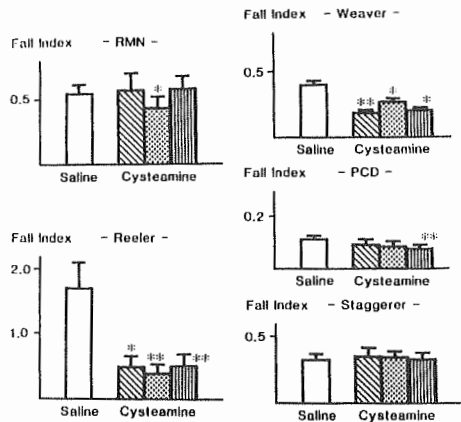


Fig. 2. Cysteamine 投与後の転倒指数の変化

fura-2 による骨格筋細胞内のCa²⁺濃度測定を試み

吉田瑞子

骨格筋細胞内Ca²⁺濃度は正確に測定されていない。また骨格筋細胞内のCa²⁺濃度が増加し、筋細胞が壊死に陥る疾患があるが、変性している筋細胞のCa²⁺濃度測定はさらにむずかしい。

最近、細胞内の微量のCa²⁺濃度を、細胞を傷つけずに測定できる蛍光プローブ、fura-2、が開発された。しかしこのfura-2で細胞内のCa²⁺濃度を測定するためには、fura-2をエステル化したfura-2-AMが細胞膜を通過すること、そして細胞内にfura-2-AMをCa²⁺結合型のfura-2に分解する酵素が存在しなければならぬ。この条件を骨格筋が備えていれば、細胞内のCa²⁺濃度測定が可能である。そこでマウス長趾伸筋を用いてfura-2で細胞内Ca²⁺濃度測定を試みた。

試料と方法

ICRマウスの長趾伸筋を腱から腱まで採取し、緩衝溶液中で筋束をさき、細い束とした。筋細胞内にfura-2-AMを負荷するため、筋束を7.5μM fura-2-AMおよび0.08% pluronio F-127を含む緩衝液に漬け、標準酸素を泡立てながら37°Cで40分間浮置した。この筋束を厚さ0.1mmの培養用カバーガラスで作ったセル中に固定し、顕微鏡のステージにセットした。細胞外液は標準酸素を負荷した緩衝溶液を、37°Cで環流した。

細胞内の蛍光強度測定は超高感度SITテレビカメラ付き、落射型蛍光顕微鏡にモニター用テレビと画像解析装置を接続して行った。

細胞内のCa²⁺濃度は、Ca²⁺と結合したfura-2を二波長、340nmと360nm、で励起した蛍光強度比(F₃₄₀/F₃₆₀)から算出した。Ca²⁺濃度に依存した蛍光強度の標準曲線は、Harafuji-OgawaのCa²⁺緩衝溶液に、10μM fura-2を加えて顕微鏡下で行なった。

fura-2-AMの細胞内取込みと分解の検索は、細胞外液に10⁻⁵Mのionomycinを添加し、細胞外から細胞内にCa²⁺を流入させて調べた。

結果と考察

Ca²⁺標準緩衝液の画像解析像は次のような色彩を示した。

Ca ²⁺	色彩
50nM	桃色
100	桃色+微量の緑色
200	桃色+緑色
500	淡青色
1000	淡青色+微量の黄色

fura-2-AMを負荷したICRマウスの長趾伸筋の筋束をSITテレビカメラを通し、モニターテレビ上で検索すると、腱に結合している細胞は滑らかな線維を示し、腱からはずれた細胞は収縮した筋線維を示した。

筋束は蛍光を示した。この蛍光がCa²⁺と結合したfura-2によるものかどうかionomycinを用いて調べた。画像解析で桃色を示し、計算値からも細胞内のCa²⁺濃度が50nMを示す滑らかな筋線維を10⁻⁶Mのionomycinで処理した。筋線維は収縮し、Ca²⁺濃度は約500nMに増加し、色彩は桃色から淡青色に微量の黄色が入ったものに変った。この結果より、筋細胞の蛍光は、Ca²⁺と結合したfura-2によるものであった。骨格筋細胞内のCa²⁺濃度がfura-2で測定出来ることが明らかになった。

無傷の滑らかな筋細胞は上記に示した通り0.5~1×10⁻⁷MのCa²⁺濃度を示した。腱からはずれ収縮した筋細胞は、白色に微量の黄色が入った色彩を示し、10⁻⁶M以上のCa²⁺濃度を示した。これ等の値はスキンドファイバー等の実験結果から予想された値に一致した。

まとめ

1) 骨格筋細胞内のCa²⁺濃度はfura-2-AMの負荷によって測定出来た。

2) 静止状態の正常筋細胞のCa²⁺濃度は、10⁻⁷M以下であった。

ミトコンドリア脳筋症の脳及び筋肉における¹⁴C-1-ピルビン酸代謝。

横井風児

ミトコンドリア脳筋症（以下MEM）は、遺伝性疾患で、ミトコンドリア内の好氣的エネルギー代謝が障害されることにより全身臓器の障害をきたす。小型サイクロトロンより産出された¹⁴CO₂より¹⁴C-1-ピルビン酸を合成し、投与後より脳及び筋の¹⁴Cの kinetics を測定することにより両組織における好氣的エネルギー代謝と嫌氣的エネルギー代謝の比率の変化を検討した。

対象

筋生検により電子伝達系の部分欠損が証明された。6名の MEM 患者及び4名の正常人を対象として検討した。

方法

¹⁴CO₂より合成した5-10mCiの¹⁴C-1-ピルビン酸を被験者に静脈内投与し、その後30秒毎にポジトロン CT (PET)により dynamic scan を静注後10分まで施行した。PET 画像上に関心領域 (ROI) を脳と周囲の筋肉の全領域に設定し、time-activity curve を得た。PET 撮影と同時に¹⁴C-1-ピルビン酸静脈内投与後の血中 time-activity curve を測定した。別に脳血流量 (以下 CBF) 及び脳酸素消費率 (以下 CMRO₂) 及び酸素摂取分画 (以下 OEF) を¹³C₁₈O₂及び¹⁸O₂の持続吸入法により測定した。

結果

静脈血内での¹⁴Cの消失は患者でも正常人でも急速で、静注2分後には、血中放射能は1/3~1/4に減少した。図1、図2には正常人1名とMEM患者1名の筋肉及び脳の¹⁴C-1-ピルビン酸静注後の time-activity curve を示す。両者の time-activity curve はいずれも2相性であるが、MEM患者の time-activity curve の第1相は正常人のそれに比べて減少している。

MEM患者の CBF 及び CMRO₂はいずれも減少しており、症状が重症化するに従い、両者の減少の程度はほぼ比例していた。又、6例のMEM患者の内、重症の4例の OEF は低下し、残り2名の OEF は、ほぼ正常値を示した。

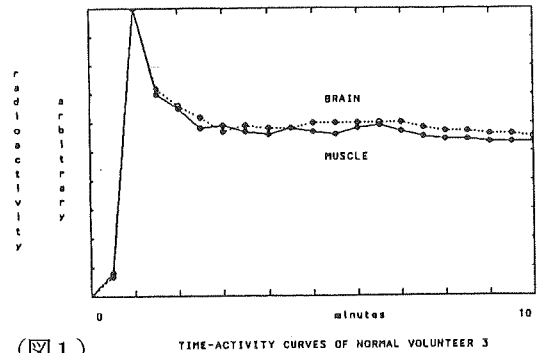
考察

静脈へ投与された¹⁴C-1-ピルビン酸は急速に細胞膜を通過し、正常組織ではミトコンドリア内で好氣的に代謝されて、大部分¹⁴CO₂になる。嫌氣的代謝が主に営なまれている組織では主に¹⁴C-乳酸が産出される。¹⁴CO₂の組織から血中への clearance は急

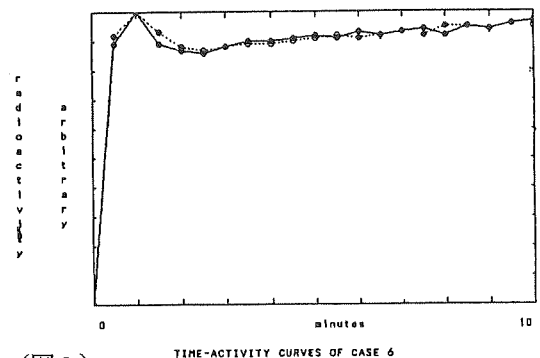
速で、¹⁴CO₂以外の¹⁴C-1-ピルビン酸代謝物は¹⁴C-乳酸をはじめ、いずれも¹⁴CO₂より組織 clearance は遅い。

筋及び脳の¹⁴Cの time-activity curve は2相性であり、第1相が¹⁴CO₂の産生の組織外排泄を表わし、第2相が¹⁴CO₂以外の代謝産物、主に¹⁴C-乳酸の clearance curveによって構成されていると考えられる。6例の MEM 患者の筋肉内電子伝達系の酵素活性は部分欠損しているところより、筋肉内へ取り込まれた¹⁴C-1-ピルビン酸は嫌氣的に代謝される割合が正常に比して相対的に増加し、その結果¹⁴CO₂産生は減少し、¹⁴C-乳酸産生が増える為、time-activity curveの第1相が相対的に減少する。

重症の4例の MEM 患者において、OEF の低下がみられたが、この OEF の低下は MEM 患者の脳組織では嫌氣的代謝が亢進していることと対応していると考えられる。



(図1)



(図2)

6. 疾病研究第5部

1. 研究部一年の歩み

中枢神経障害を遺伝、代謝の面から分析し、その原因究明、診断、治療法の開発を行うことを目的とする。流動研究員として北本年弘が4月から、大島章弘が9月から参加し、疾患を更に深く追求する態勢がととのった。

研究内容は、疾患の病態に直接かかわりをもつ研究と、その基礎となる細胞内の生物学的現象の解析とに分けられる。物質として、脂質、蛋白質、ならびに核酸が対象となる。その目標とする方向により、以下のような分野での仕事がなされた。

(1) ライソゾーム病の病態解析

Pompe 病の欠損酵素 α -グルコシダーゼの生合成、プロセッシングの過程が極めて詳細に分析され、膜と酵素蛋白との関係が明らかになり、I-cell 病の酵素異常の多様性を解明する一つの大きな手がかりが得られた。

β -ガラクトシダーゼとその保護蛋白との関係は、G_{M1}-ガングリオシドーシスとガラクトシアリドーシス患者の培養細胞実験によって、細胞内での出来事が明らかにされた。しかも蛋白質のレベルでの解析でも、遺伝子変異に大きな多様性のあることが示された。

(2) コレステロール代謝と脳障害

コレステロールのエステル化障害により注目されている、いわゆる Niemann-Pick 病 C 型においては、コレステロールのみならず、酵素蛋白の細胞内輸送にも障害のあることが示された。これは、ライソゾーム自体の細胞内での存在様式にかかわる重要な成果である。

(3) X 染色体遺伝子の連鎖解析

Duchenne 型筋ジストロフィーについては、連鎖解析から更に疾患遺伝子そのものを用いた分析に進み、その基礎的検討が進行中である。来年度は、より正確な診断が可能となり、遺伝子異常と臨床像との相関関係を明らかにすることができるであろう。

(4) 個体発生における遺伝子発現

鶏の肢芽形成期における細胞内レチノイン酸結合蛋白質の発現と分布を調べた。4日胚では、この蛋白質は高濃度に肢芽全体にわたってほぼ均一に存在しており、形態形成に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

(部長 鈴木義之)

II 研究業績

2. 研究業績 (1987. 4 -1988. 3)

A. 論文

a. 原著

- 1) Takahashi K, Naito M, Suzuki Y :

Lipid storage disease : Part III. Ultrastructural evaluations of cultured fibroblasts in sphingolipidoses

Acta Path Jpn 37 : 261-272, 1987

- 2) Takahashi K, Naito M, Suzuki Y :

Genetic mucopolysaccharidoses, mannosidosis, sialidosis, galactosialidosis, and 1-cell disease. Ultrastructural analysis of cultured fibroblasts.

Acta Path Jpn 37 : 385-400, 1987

- 3) Kobayashi T, Shinoda H, Goto I, Yamanaka T, Suzuiki Y :

Globoid cell leukodystrophy is a generalized galactosyl sphingosine (psychosine) storage disease

Biochem Biophys Res Commun 144 : 41-46, 1987

- 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 144 : 138-142, 1987

- 5) Sakuraba H, Igarashi T, Shibata T, Suzuki Y :

Effect of vitamin E and ticlopidine on platelet aggregation in Fabry's disease

Clin Genet 31 : 349-354, 1987

- 6) 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 167 : 313-320, 1987

- 7) 茂木洋一, 藤永 隆, 田村 宏, 黒梅恭芳, 大村 清, 難波栄二, 鈴木義之 :

新生児期に発症した重症乳児型ガラクトシアリドーシスの1例

日本小児科学会雑誌 91 : 1459-1464 1987

- 8) Nanba E, Tsuji A, Omura K, Suzuki Y :

Galactosialidosis : Studies on residual enzymes in early and late onset clinical phenotypes
 J Clin Biochem Nutr 3 : 149-157, 1987

9) 於保祐子, 鈴木義之, 埜中征哉 :

低カリウム性周期性四肢麻痺, 近位筋力低下を呈し, 核崩壊を主病変とする筋原性変化を認めた1
 女児例

脳と発達 19 : 519-521, 1987

10) Tsuji A, Suzuki Y :

Purification of human placental α -mannosidase by an immunological method
 Biochem Int 15 : 483-489, 1987

11) Tsuji A, Suzuki Y :

Biosynthesis of two components of human acid α -glucosidase
 Arch Biochem Biophys 259 : 234-240, 1987

12) 新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成, 鈴木義之, 野村芳子, 瀬川昌也 :

制限酵素断片長多型を利用した連鎖解析による X 染色体劣性遺伝病の遺伝子診断

日本小児科学会雑誌 91 : 3440-3447, 1987

13) Tsuji A, Suzuki Y :

The precursor of acid α -glucosidase is synthesized as a membrane-bound enzyme
 Biochem Int 15 : 945-952, 1987

14) 榊原陽一, 今林知子, 鈴木義之, 鴨下重彦 :

ライソゾーム蓄積症における脳へのドリコール蓄積

医学のあゆみ 141 : 1021-1022, 1987

15) Tsuji A, Suzuki Y :

Solubilization of membrane-bound acid α -glucosidase by proteolysis
 Biochem Biophys Res Commun 151 : 1358-1363, 1988

b. 著 書

1) 鈴木義之 :

神経・運動・心理の発達, 脂質・ムコ多糖・糖蛋白の先天性代謝異常, 小児神経疾患の見方・考
 方, 小児の骨格・筋疾患

小児科学, 第2版(小林 登, 鴨下重彦編), 医学書院, 東京, p76-88, p213-222, p601-646, 1987

2) 鈴木義之 :

II 研究業績

脳性小児麻痺

診断・治療マニュアル, 金原書店, 東京, p1140, 1988

3) 鈴木義之 :

出生前診断

今日の小児診断指針 第1版 (前川喜平, 白木和夫, 土屋裕編)

医学書院, 東京, p456-459, 1988

4) 鈴木義之 :

先天性代謝異常

Bed-Side Memo (小児科) (鴨下重彦, 小佐野満監修), 世界保健通信社, 大阪, p146-175, 1988

5) 鈴木義之 :

リピドーシス

今日の診断治療指針, 第2版, 医学書院, 東京, p1028-1030, 1988

c. 総 説

1) 鈴木義之 :

神経系先天異常と遺伝因子

Clin Neurosci 5 : 261-264, 1987

2) 鈴木義之 :

先天性代謝異常

Annual Review 内分泌, 代謝, p28-35, 1988

3) 鈴木義之 :

異染性ロイコジストロフィー, 広範囲症候群—新訂版—

日本臨床 (春期臨時増刊45) : 787, 1987

4) 鈴木義之 :

Zellweger 症候群

神経内科 26 : 33-37, 1987

5) 鈴木義之 :

代謝性神経疾患の最近の話題

小児科診療 50 : 2293-2298, 1987

6) 鈴木義之, 新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成 :

神経・筋疾患の DNA 診断

組織培養 13 : 346-351, 1987

7) 鈴木義之 :

先天性代謝異常に見られる皮膚・粘膜・毛髪症状

小児内科 19 (臨増) : 199-202, 1987

8) 鈴木義之, 新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成 :

Duchenne 型筋ジストロフィーの診断と治療

小児科 29 : 27-40, 1988

9) 鈴木義之 :

リピドーシス

ブレインナーシング 4 : 397-401, 1988

10) 鈴木義之 :

リソソーム酵素異常症概説

蛋白質・核酸・酵素 33 : 682-685, 1988

11) 鈴木義之 :

シアリドーシス

蛋白質・核酸・酵素 33 : 712-714, 1988

12) 鈴木義之 :

糖蛋白質異常 (いわゆるムコリピドーシス)

代謝 25 (臨増) : 205-209, 1988

13) 辻 明彦 :

RFLP による遺伝病の解明, 診断

化学と工業 40 : 882-883, 1987

d. 班会議報告書

1) 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之 :

遺伝性 β -ガラクトシダーゼ欠損症の臨床的多様性と欠損蛋白の動態

文部省特定研究・神経難病の発症機構

昭和61年度研究業績集 279-284, 1987

2) 鈴木義之, 辻 明彦, 大村 清, 楊 瑞成, 今林知子 :

糖原病II型における α -glucosidase の分子異常とその多様性

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

II 研究業績

昭和61年度研究業績集 95-97 1987

3) 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・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年度研究報告書, 13-15, 1987

4) 鈴木義之, 大村 清, 難波栄二 :

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・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年度研究報告書, 302-305, 1987

5) 鈴木義之, 新本美智枝, 辻 明彦 :

Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝子診断

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, 146-149, 1987

6) 桃井 隆 :

SV40 (ori⁻) DNA 導入ヒト遺伝疾患細胞株の外來正常遺伝子発現系としての応用

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61年度研究業績集, 147-149, 1987

7) 大村 清 :

ムコ多糖症とドリコール代謝

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61年度研究業績集, 104-106, 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Suzuki Y :

Molecular abnormalities of deficient enzymes in lysosomal storage diseases

4th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Sendai, May 27, 1987

2) Suzuki Y, Tsuji A, Omura K :

Molecular pathology of α -glucosidase in glycogenosis II

International Symposium on Recent Advances in Lysosomal Disorders, Osaka, June 1, 1987

- 3) Suzuki Y, Tsuji A, Omura K, Nakamura G, Awa S, Kroos M, Swallow D, Reuser A :
Cardiomyopathy without signs of skeletal muscle involvement : A new variant of
glycogenosis type II
VIth Workshop of the European Study Group of Lysosomal Diseases, Pavia, Italy,
September 3-6, 1987
- 4) Suzuki Y :
G_{M2}-gangliosidosis : Molecular analysis of new variants
XIII Congresso Nazionale Societa Italiana di Neuropediatria, Ferrara, Italy, September 11,
1987
- 5) Suzuki Y :
Molecular abnormalities of β -hexosaminidase in variant types of G_{M2}-gangliosidosis
NATO Advanced Research Workshop - Symposium INSERM : Lipid Storage Disorders,
Biological and Medical Aspects, Toulouse, France, September 14, 1987
- 6) Suzuki Y :
Therapeutic trials with protease inhibitors in Duchenne muscular dystrophy and other
inherited metabolic diseases with abnormal degradation of cellular proteins
8. Symposium des Wissenschaftlichen Beirates : Therapie von Nerven- und
Muskelkrankungen, Früherkennung und genetische Beratung bei neuromuskulären
Erkrankungen, Funktion und Dysfunktion der Mitochondrien im Skelettmuskel,
Wuppertal, West Germany, September 18, 1987

b. 国際学会

- 1) Nanba E, Tsuji A, Omura K, Suzuki Y :
Molecular defects in G_{M1}-gangliosidosis and galactosialidosis
4th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Sendai, May 27, 1987
- 2) Izumi T, Fukuyama Y, Tsuji A, Suzuki Y :
A new variant of type B G_{M2}-gangliosidosis with heat-stable hexosaminidase A
4th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Sendai, May 27, 1987
- 3) Sakakihara Y, Suzuki Y, Kamoshita S :
Elevated levels of dolichols in brains of lysosomal storage diseases
4th International Congress of Inborn Errors of Metabolism, Sendai, May 27, 1987

II 研究業績

c. 一般学会

1) 新本美智枝, 鈴木義之 :

X 染色体遺伝子多型とその遺伝性疾患診断への応用

第90回日本小児科学会総会, 東京, 4. 2, 1987

2) 榊原洋一, 鴨下重彦, 鈴木義之 :

ライソゾーム蓄積症における脳内ドリコール濃度について

第90回日本小児科学会総会, 東京, 4. 2, 1987

3) 荒木克仁, 大村 清, 鈴木義之 :

Leber's congenital amaurosis における極長鎖脂肪酸の分析

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

4) 伊予田邦昭, 沢野邦彦, 田中順一, 鈴木義之, 大田原俊輔 :

古典型 Pelizaeus-Merzbacher 病の一部検例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

5) 楊 瑞成, 鈴木義之, 野村芳子, 瀬川昌也 :

Duchenne 型及び Becker 型筋ジストロフィー家系の遺伝子解析

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 3, 1987

6) 飯森裕一, 榊原洋一, 阿部知子, 柴田 徹, 鈴木義之, 鴨下重彦 :

生後1カ月未満で発症し, 高血小板血症を伴った乳児交互性片麻痺

(alternating hemiplegia in infancy) の一例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 3, 1987

7) 岩崎裕治, 須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高, 埜中征哉 :

Neuronal ceroid lipofuscinosis の一例 - 筋生検および TRH 療法を中心とした検討 -

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 3, 1987

8) 難波栄二, 鈴木義之 :

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

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 4, 1987

9) 於保祐子, 鈴木義之, 埜中征哉 :

低カリウム性周期性四肢麻痺, 近位筋力低下を呈し, 核崩壊を主病変とする筋原性変化を認めた一
女兒例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 4, 1987

- 10) 岩崎裕治, 山田和高, 桜川宣男, 長 博雪, 船橋満寿子, 鈴木康之 :
Angelman 症候群の 2 例
第27回日本先天異常学会, 東京, 7. 17, 1987
- 11) 粕谷淳子, 桃井 隆, 吉倉 広 :
ウシパピローマウイルス (BPV) 遺伝子導入細胞の各種薬剤による増殖抑制と抵抗性株の分離と性質
第46回日本癌学会総会, 東京, 9. 7, 1987
- 12) 粕谷淳子, 鈴木義之, 桃井 隆 :
糖脂質糖転移酵素測定法の開発
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 13, 1987
- 13) 辻 明彦, 鈴木義之 :
ヒト酸性 α -グルコシダーゼ 80,71 kDa 成分の比較
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 15, 1987
- 14) 北本年弘, 粕谷淳子, 大楯弘順, 妹尾春樹, 桃井 隆 :
ニワトリ肢芽形成におけるレチノイン酸の作用 :
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 15, 1987
- 15) 北本年弘, 粕谷淳子, 妹尾春樹, 桃井 隆, 桃井真里子 :
ニワトリ初期胚脳に存在する細胞内レチノイン酸結合タンパク質について
第30回日本神経化学会大会, 東京, 10. 29, 1987
- 16) 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エステル化障害の検討
第30回日本先天代謝異常学会, 松山, 11. 12, 1987
- 17) 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之 :
遺伝性ガラクトシダーゼ欠損症の病態
第30回日本先天代謝異常学会, 松山, 11. 12, 1987
- 18) 泉 達郎, 福山幸夫, 辻 明彦, 難波栄二, 大村 清, 鈴木義之 :
Heat stable β -hexosaminidase A mutant をもつ B1 variant G_{M2}- gangliosidosis
第30回日本先天代謝異常学会, 松山, 11. 12, 1987
- 19) 小林卓郎, 後藤幾生, 山中龍宏, 鈴木義之 :
乳児及び胎児 Krabbe 病の galactosylceramide と galactosylsphingosine

II 研究業績

第30回日本先天代謝異常学会, 松山, 11. 12, 1987

20) 新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成, 鈴木義之, 野村芳子, 瀬川昌也 :

Duchenne 型筋ジストロフィーの遺伝子診断 2. 欠失及び交叉について

第30回日本先天代謝異常学会, 松山, 11. 12, 1987

C. 班会議発表

1) 鈴木義之, 大島章弘 :

ライソゾーム酵素 γ レセプター γ C1-MPR の構造解析と発現 : ターゲット機構の解明

厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班会議

大阪, 9. 26, 1987

2) 鈴木義之 :

遺伝性ライソゾーム病における酵素蛋白の病態

厚生省精神・神経疾患・発達障害関係班 昭和62年度合同ワークショップ, 東京, 10. 23, 1987

3) 新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成, 鈴木義之 :

筋ジストロフィー症の DNA 診断

厚生省精神・神経疾患・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班会議

東京, 12. 6, 1987

4) 鈴木義之, 桜庭 均, 大島章弘, 辻 明彦 :

Fabry 病の遺伝解析

文部省総合研究 (A)・糖脂質の担う生物情報の解析班会議, 東京, 1. 18, 1988

5) 桃井 隆 :

分化過程において糖脂質合成を調節する因子について

文部省総合研究 (A)・糖脂質の担う生物情報の解析班会議, 東京, 1. 18, 1988

6) 鈴木義之, 大島章弘 :

ライソゾーム酵素 γ レセプター γ C1-MPR の構造解析と発現 : ターゲット機構の解明

厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班会議

東京, 1. 21, 1988

7) 鈴木義之, 大村 清 :

ニーマンピック病 C 型の病因に関する検討

厚生省精神・神経疾患・代謝障害に基づく中枢神経疾患の発現機構と治療に関する研究班会議

東京, 1. 27, 1988

8) 鈴木義之, 辻 明彦, 大村 清, 楊 瑞成 :

酸性 α -グルコシダーゼの細胞内プロセッシングとその異常

文部省特定研究・先天性代謝病・先天性複合糖質代謝異常症の病因, 診断及び治療に関する
研究班会議 東京, 1. 28, 1988

9) 桃井 隆, 北本年弘 :

細胞内レチノイン酸結合蛋白質の神経形成における発現と遺伝子について

文部省特定研究・先天性代謝病・先天性複合糖質代謝異常症の病因, 診断及び治療に関する
研究班会議 東京, 1. 28, 1988

10) 鈴木義之, 難波栄二, 辻 明彦, 大村 清 :

ガラクトシアリドーシスの病態とその多様性

厚生省精神・神経疾患・発育期脳障害の発生予防と成因に関する研究班会議
東京, 1. 29, 1988

11) 小林卓郎, 後藤幾生, 山中龍宏, 鈴木義之, Nakano T, Suzuki K :

乳児および胎児 Krabbe 病の galactosylceramide と galactosylsphingosine

厚生省精神・神経疾患・発育期脳障害の発生予防と成因に関する研究班会議
東京, 1. 29, 1988

12) 鈴木義之, 大島章弘 :

ライソゾーム酵素とそのレセプターの遺伝子構造と発現

厚生省厚生科学研究・遺伝子治療の基礎的研究班会議 東京, 3. 11, 1988

D. 研究会など

1) 鈴木義之 :

先天性代謝異常の早期診断

昭和62年度第1回長寿関連基礎科学講習会 東京, 8. 21, 1987

2) Suzuki Y :

Molecular abnormalities in galactosialidosis

Special Lecture at Gaslini Institute, Genoa, Italy, September 7, 1987

3. 主な研究報告

ガラクトシアリドーシスにおける保護蛋白の多様性

難波栄二, 辻 明彦, 大村 清, 鈴木義之

ガラクトシアリドーシスは、 β -ガラクトシダーゼとノイラニミダーゼという2つのリソゾーム酵素の欠損症であり、この両者の活性発現に必要な低分子蛋白（保護蛋白）の生合成障害が、本質的な異常であるとされる¹⁾。最近この蛋白の細胞内の機能が確認された²⁾。この病気の患者由来の線維芽細胞における、保護蛋白の発現を調べてみた。

材料と方法

発症年齢、臨床像の異なる12例の患者より得られた線維芽細胞を用い、パルスチェイス法によって酵素蛋白の生合成、プロセッシングを調べた³⁾⁴⁾。酵素の検出は特異的抗体によった²⁾。

結 果

正常細胞では、細胞内にまず45kDaの蛋白が3時間以内に出現し、5時間後には消失した。ついで30kDaの蛋白が20時間後まで続いてみられた。前者は保護蛋白の前駆体、後者は成熟体と考えられた。細胞外には46kDaの蛋白が分泌されていた。ガラクトシアリドーシス細胞では、30kDa蛋白は全く検出されなかったが、前駆体蛋白は、症例により違いがみられた（表）。すなわち、蛋白の欠如、異常に大きいまたは小さい分子の出現であり、一見正常の分子量の蛋白が合成されているにもかかわらず、成熟体にプロセスされない症例もあった。これらの変化は、臨床的な重症度とは全く相関がなかった。

考察と結論

保護蛋白は、前駆体の状態では酵素分子と反応せず、成熟体になって初めて、 β -ガラクトシダーゼ蛋白と重合体を作るようである（難波栄二、未発表データ）。従って、前駆体出現の多様性は、遺伝子レベルでの変異の多様性の表現ではあるが、この蛋白の機能障害の程度とは必ずしも関係がないのであろう。Palmeriら⁵⁾は乳児例と成人例との間に、保護蛋白の量的関係をみたし報告しているが、若年型と分類された症例については、矛盾のあるデータが得られたようである。今後我々は、更に遺伝子構造の解析に進み、その本態を明らかにしたい。

文 献

- 1) D'Azzo A, Hoogeveen A, Reuser AJJ, Robinson D, Galjaard H: Proc Natl Acad Sci USA 79: 4535-4539, 1982
- 2) Nanba E, Tsuji A, Omura K, Suzuki Y: Galactosialidosis: Biochem Biophys Res Commun 144: 138-142, 1987
- 3) Nanba E, Tsuji A, Omura K, Suzuki Y: Galactosialidosis: Biochem Biophys Res Commun, in press, 1988
- 4) Proia RL, d'Azzo A, Neufeld EF: J Biol Chem 259: 3350-3354, 1984
- 5) Palmeri S, Hoogeveen AT, Verheijen FW, Galjaard H: Am J Hum Genet 38: 137-148, 1986

表 ガラクトシアリドーシスにおける保護蛋白の発現

症例	発症年齢	細胞内		細胞外
		45kDa	30kDa	46kDa
1	胎児	43	—	45
2 *	生下時	50(45)	—	+
3 *	(胎児)	50(45)	—	+
4 #	3歳	45(50)	—	+
5 #	4歳	45(50)	—	+
6	9歳	—	—	—
7	10歳	45(50)	—	+
8	17歳	+	—	+
9	19歳	63/45(40)	—	+
10	23歳	+	—	+
11	(成人)	—	—	—
12	38歳	+	—	+

表中の数字は正常値と異なった分子量, * # 同胞例

いわゆるニーマンピック病 C 型におけるリソゾーム酵素の病態

大村 清, 鈴木義之

ニーマンピック病は、肝臓、脾臓、骨髄などの細胞のリソゾーム内に、粗な同心円状の封入体を生ずる疾患群であり、その一部の症例にはスフィンゴミエリナーゼ欠損の見いだされるスフィンゴミエリンとコレステロールの蓄積症である。C 型と分類される疾患では、コレステロールのエステル化に障害があると報告されているが、形態的な蓄積症としての特性との関係は不明である。この研究では、リソゾーム酵素の細胞内極在について調べてみた。

材料と方法

この病気の患者由来の線維芽細胞を培養し、ほぼ密に増殖した状態で集め、Rome ら¹⁾の方法に準じて、N₂ cavitation で細胞を破碎し、Percoll 密度勾配法によりリソゾーム分画を行った。ヘキササミニダーゼ、 β -グルコシダーゼ、スフィンゴミエリナーゼ、5'-ヌクレオチダーゼはこれまで報告された方法により測定した²⁾⁻⁴⁾。

結果

リソゾームは、比重により2つの活性ピークにわかれた。正常細胞では、ヘキササミニダーゼとスフィンゴミエリナーゼは、重いリソゾーム画分に大部分の酵素活性が存在したのに対し、 β -グルコシダーゼは活性が両方の画分に分布していた。ところがニーマンピック病 C 型症例の細胞では、この3つの酵素とも軽いリソゾーム画分に活性が偏在していた(図)。膜酵素である5'-ヌクレオチダーゼの活性分布には差がなかった。

考察と結論

Percoll 密度勾配法によって得られる2つのリソゾーム画分は、形態的には、重い画分が residual body (二次リソゾーム)、軽い画分が GERL (Golgi-endoplasmic reticulum-lysosome) であると報告されている¹⁾。つまりこの病気において、少なくとも今回活性を測定した3つのリソゾーム酵素は、二次リソゾームに到達した酵素活性が相対的に少ないことを示していた。この結果を生じた理由として、1) リソゾーム酵素のターゲティングの障害、2) リソゾームの形成障害、及び3) 脂質蓄積による二次リソゾームの比重の低下、などが考えられる。これらの可能性を更に検討する予定である。

文献

- 1) Rome LH, Garvin AJ, Allietta MM, Neufeld EF : Cell 17 : 143-153, 1979
- 2) Sakuraba H, Aoyagi T, Suzuki Y : Clin Chim Acta 125 : 275-282, 1982
- 3) Suzuki K : Methods Enzymol 50 : 345-489, 1978
- 4) Morre DJ : Methods Enzymol 22 : 130-148, 1971

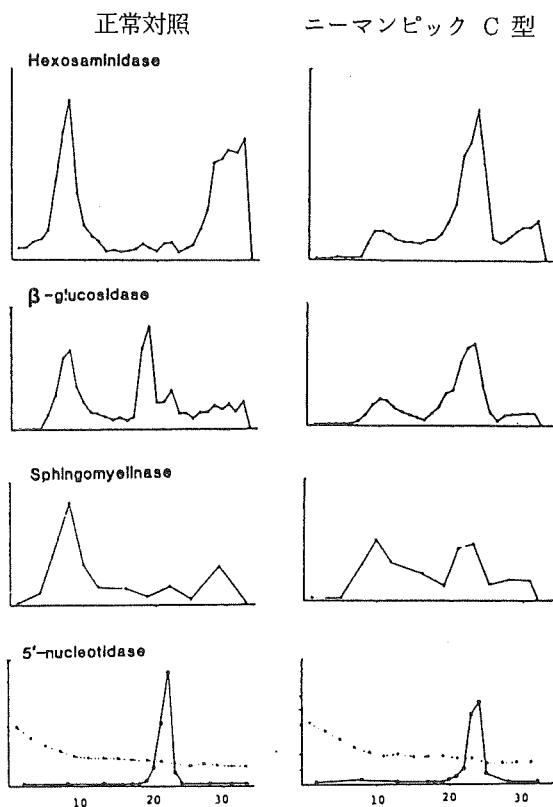


図 Percoll 密度勾配遠心法による画分の酵素活性分布

Duchenne 型筋ジストロフィーにおける欠失及び交叉について

新本美智枝, 辻 明彦, 楊 瑞成, 鈴木義之

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 及び Becker 型筋ジストロフィー (BMD) は, 近年 Kunkel ら^{1, 2)}により遺伝子座が解明された。我々はその遺伝子座の近傍もしくは遺伝子座内に, 制限酵素断片多型 (restriction fragment length polymorphism: RFLP) を示すいくつかのプローブを用いて日本人の患者家系について連鎖解析による保因者診断を行ってきた。これらの家系の中に, DMD 遺伝子座内で交叉や欠失が生じている家系が見出された。これらの家系の交叉の部位, 欠失の範囲について検討した。

対象及び方法

1) DNA の抽出: 臨床的に診断の確立した DMD, BMD 患者及びその家族から得られた末梢血より, Blin ら³⁾の方法に従いプロテアーゼ K 処理, フェノール抽出, リボヌクレアーゼ処理で DNA を抽出した。その DNA 5 μ g を 3 倍過剰の各種制限酵素で切断した。

2) サザンブロット: 0.7%アガロースゲル電気泳動後, サザンブロット法により DNA 断片をニトロセルロース膜へ転写した。

3) ハイブリッド形成: ニックトランスレーションにより ³²P ラベルした DNA プローブを用いてハイブリダイゼーション後, -80°Cでオートラジオグラフィを行った。

結果及び考察

1) DMD 遺伝子座内での交叉

遺伝性疾患の保因者診断に RFLP により連鎖解析を用いる場合, その疾患と多型バンド間の交叉の可能性が常に問題となる。特に DMD の場合その遺伝子座は2000kb にも及ぶ大きなものであろうと予想されており²⁾, 交叉が生じる可能性は高い。我々はこれまでに DMD 38家系, BMD 5家系, 合計 43家系について連鎖解析を行ってきた。これらの家系のうち2家系において DMD 遺伝子座内に交叉が認められた。そのおおよその部位は図に示す (DMD-3, DMD-17)。

2) DMD 遺伝子座内での欠失

これまでに分析した家系のうち5家系の DMD 患者に欠失が認められた。図にこれらの家系のおおよその欠失範囲を示す。プローブ PERT 87シリーズの欠失, XJ シリーズの欠失及びその両方を欠失

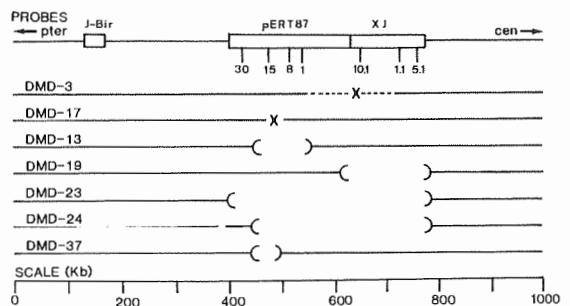
している場合と, その欠失範囲は様々であった。欧米人の DMD 患者におけるこれらのプローブに対する欠失は11%とされている⁴⁾。日本人においても症例はまだ少ないが同様の結果が得られた。

また生後8ヶ月時に筋ジストロフィーを発症した患者において, プローブ754に対する多型バンドが欠失していた。この患者の DMD 遺伝子座内のプローブに対する多型バンドは正常であった。この患者の臨床症状は典型的な DMD とは異なり精神遅滞を伴っている。プローブ754は DMD 遺伝子座の中心節側にあり, この患者の欠失部位は DMD 遺伝子座の調節部位を含んでいる可能性があり, 重要な症例と考えられる。この患者の欠失が DMD 遺伝子座のどのあたりにまでかかっているかをさらに詳細に調べ, 臨床症状との相関について, 今後検討していく予定である。

DMD の cDNA を診断に用いた場合, 患者の50%に欠失が見出されると報告されている²⁾。患者において欠失が認められている場合, 保因者の診断は容易になる。現在我々は DMD の cDNA を用いた診断を検討中である。

文 献

- 1) Monaco AP, Kunkel LM: Trends Genet 3: 33-37, 1987
- 2) Koenig AP, Hoffman EP, Bertelson CJ, Monaco AP, Feener C, Kunkel LM: Cell 50: 509-517, 1987.
- 3) Blin N, Stafford DE: Nucleic Acids Res 3: 2303-2308, 1976.
- 4) Burghes AHM, Logan C, Hu X, Belfall B, Worton RG, Ray PN: Nature 328: 434-437, 1987.



ニワトリ初期胚の肢芽におけるレチノイン酸結合タンパク質の存在と分布

北本年弘, 大楢弘順*, 桃井 隆,

ヒトを含む高等脊椎動物の巨視的な形態を決定する機構については未だ不明な点が多い。ニワトリの四肢の原基である肢芽は、形態形成の研究を行うための良いモデルとして多くの研究者の注目を浴びている。最近、その肢芽において、ビタミン A の誘導体であるレチノイン酸が、内在性の形態形成因子であることが明らかになった¹⁾。一方、レチノイン酸には種々の培養細胞の分化を誘導する活性があることが以前から知られており、その作用発現には細胞内レチノイン酸結合タンパク質 (CRABP) が関与する可能性が示されている。そこで本研究では、ニワトリ胚より CRABP を精製すると共に、肢芽での CRABP の存在と分布を検討した。

材料と方法

白色レグホンの受精卵を孵卵した胚を材料とした。発生ステージは Hamburger&Hamilton²⁾ に従った。抗体は精製 CRABP で家兔を免疫し、得た抗血清からアフィニティ精製したものをを用いた。イムノブロットングの発色には、ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ IgG とクロロナフトールを用いた。間接蛍光抗体法は、肢芽の凍結切片に対し、抗 CRABP 抗体、FITC 標識抗ウサギ IgG を反応させて行った。

結果と考察

[³H] レチノイン酸を用いたゲルクロマトグラフィによって4日胚肢芽から調製した細胞質画分中の CRABP を検出した (図1)。adult の臓器中で最も豊富に CRABP が存在する睾丸と比較すると、肢芽ではタンパク質あたり約12倍量の [³H] レチノイン酸が CRABP 画分に回収された。高濃度で存在する CRABP が肢芽の形態形成に重要な役割を果たしている可能性は高い。

次にニワトリ14日胚を材料とし、種々のクロマトグラフィを用いて CRABP を精製した。ニワトリ胚 CRABP は SDS-PAGE で15.5kDa の位置に単一のバンドとして観察された。N 端から39残基のアミノ酸配列を決定したところ、すでに報告されているラット睾丸 CRABP のアミノ酸配列³⁾ と一残基を除いて一致し、CRABP の一次構造が種を越えて保存されていることがあきらかとなった (図2)。

さらに抗ブタ CRABP 抗体を用いて肢芽における CRABP の分布を検討した。間接蛍光抗体法では、4日胚肢芽の横断面全体にわたって強いシグナ

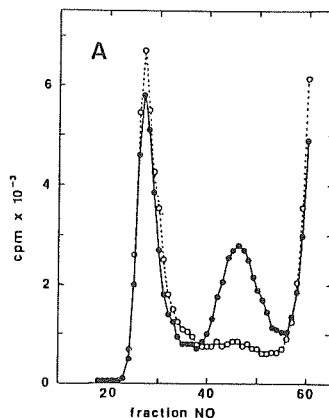
ルが観察された。また4日胚肢芽を、前部・中部・後部とに分けて胚から切り出し、各領域に含まれる CRABP の量を見積もったところ、各領域間での差は見出されなかった。

これらの結果から、4日胚肢芽には大量の CRABP が、肢芽全体にわたってほぼ均一に分布していると結論した。よって肢芽内で観察されるレチノイン酸の分布は、CRABP の局在によるのではなく、レチノイン酸の合成系の局在によると考えられる。また最近発見されたレチノイン酸レセプター (RAR) と CRABP の関係、RAR の肢芽内での分布などが今後検討されるべきであろう。

文 献

- 1) Thaller C, Eichele G : Nature 327 : 625-628, 1987
- 2) Hamburger V, Hamilton HL : J. Morphology 88 : 49-92 1951
- 3) Shubeita, HE, et al : Proc Natl Acad. Sci USA 84 : 5645-5649 1987
- 4) Petkovich M, et al : Nature 330 : 444-450
- 5) Giguere V, et al : Nature 330 : 624-629

図1 Presence of CRABP in limb bud

図2 + (○), - (●) 2×10^{-6} RA

N-terminal amino acid sequence of CRABP

		10	20	30
chick	PNFAGT	WKMR	SSNFDELLKALGVNAML	LLKVAVA
				AASKP
rat	PNFAGT	WKMR	SSNFDELLKALGVNAML	RLKVAVA
				AASKP

* 東北大・理

7. 疾病研究第6部

1. 研究部一年の歩み

疾病研究第6部は脱髄疾患，老年期痴呆を中心に神経免疫学的，生化学的手法により研究している。脱髄疾患の研究は動物モデルである実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）を用いて，その発症機序を細胞レベル，分子レベルで解明し，特異的免疫療法の開発を目指している。また民間企業と協力して，自己免疫疾患治療薬のスクリーニング，作用機序の解明に積極的に取り組んでいる。老年期痴呆は，老人斑アミロイドの形成機序，神経栄養因子を中心に研究している。62年度の研究に以下の人員が参加した。

[部長] 田平 武，[室長] 西澤正豊，国下龍英，[流動研究員] 小池文彦，亀谷雅洋，Yao Da Lin（～62. 8），遠藤真澄（62. 9～11），Ramon S. Javier（63. 2～），[客員研究員] 本山和徳，M. D. Gose（62. 10～12）[賃金研究員] 遠藤真澄（62. 4～8），[研究生] 佐藤準一，千葉厚郎（62. 9～63. 3），米沢美保子（63. 2～），[賃金研究助手] 沓掛友理子，山内真弓，田平順子。

- 1) 新薬バクトボリンが実験的アレルギー性脳脊髄炎（EAE）の発症を著名に予防し，発症後の治療にも有効であることを見出し，その作用機序を検討した（田平・Yao）。
- 2) L3T4モノクローナル抗体がプロデオリピッドアポ蛋白（PLP）感作による EAE の発症および再発を抑制することを見出した（佐藤）。
- 3) ウェスタンブロット・ラジオイムノアッセイ法により，多発性硬化症，ギラン・バレー症候群と HTLV-1 の関係を否定した（小池）。
- 4) PLP のフラグメントによる EAE 作製に成功し，起炎決定部位を推定した（遠藤）。
- 5) 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機序を検討した（本山）。
- 6) 老人斑アミロイドの構成成分である A4 蛋白を部分合成し，これに対するモノクローナル抗体を数種作製した（西澤）。
- 7) A4 蛋白合成ペプチドに対する抗体が認識する血清蛋白（ARHSP）を定量する方法を開発し，臍帯血で高値を示す傾向を示した（小池）。
- 8) ARHSP を分離精製し，一次構造決定に着手した（国下）。
- 9) マウス胎児ニューロンの完全無血清培地による分離培養に成功し，コリン作動性ニューロンの栄養成長因子のスクリーニングを行った（亀谷）。

なお，老年期痴呆に関する日米共同研究の発端として，米国 NIH，NIA の Stanley I. Rapoport 博士の研究部と共同研究契約を結んだ。

（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 56 : 518-525 1987

2) Tabira T, Yao D-L, Yamamura T, Aoyagi T :

Prophylactic and therapeutic effect of bactobolin on autoimmune encephalomyelitis
Proc Japan Acad 63 : 127-130 1987

3) Nishizawa M, Tanaka K, Shinozawa T, Kuwabara T, Atsumi T, Miyatake T, Ohama E :

A mitochondrial encephalomyopathy with cardiomyopathy. A case revealing a defect of complex 1 in the respiratory chain
J Neurol Sci 78 : 189-201 1987

4) Hiraiwa M, Uda Y, Nishizawa M, Miyatake T :

Human placental sialidase : partial purification and characterization
J Biochem 101 : 1273-1279 1987

5) Arai M, Nishizawa M, Inuzuka T, Tanaka M, Baba H, Sato S, Miyatake T :

Murine monoclonal antibodies to the myelin-associated glycoprotein (MAG) recognizing Leu-7 reactive molecules on human mononuclear cells
J Immunol 138 : 3259-3263 1987

6) Ohama E, Ohara S, Ikuta F, Tanaka K, Nishizawa M, Miyatake T :

Mitochondrial angiopathy in cerebral blood vessels of mitochondrial encephalomyopathy (MELAS)
Acta Neuropathol 74 : 226-233 1987

7) Hiraiwa M, Nishizawa M, Uda Y, Nakajima T, Miyatake T :

Human placental sialidase : Further purification and characterization
J Biochem 103 : 86-90 1988

8) 田中恵子, 西澤正豊, 宮武 正, 武田茂樹, 大浜栄作 :

ミトコンドリア脳筋症 - MERRF と MELAS の疾患単位としての独立性について -
臨床神経 27 : 1468-1473 1987

II 研究業績

- 9) 大浜栄作, 大原慎司, 生田房弘, 田中恵子, 西澤正豊 :
MELAS の脳血管病変 : ミトコンドリア・アンギオパチー
脳神経 40 : 109-118 1988
- 10) 吉村菜穂子, 西澤正豊, 保住 功, 渥美哲至, 宮武 正 :
Rimmed vacuole 形成を伴い, 肝細胞癌を合併した筋炎の一例—封入体筋炎の疾患概念について—
臨床神経 28 : 55-61 1988
- 11) Koike F, Kunishita T, Nakayama H, Tabira T :
Immunohistochemical study of Alzheimer disease using antibodies to synthetic amyloid
and fibronectin.
J Neurol Sci 85 : 9-15 1988
- 12) Sakai K, Tabira T, Kunishita T :
Recognition of alloantigens and induction of experimental allergic encephalomyelitis by a
murine encephalitogenic T cell clone
Eur J Immunol 17 : 955-960 1987
- 13) Satoh J, Kunishita T, Tabira T :
In vivo and in vitro studies of the prevention of proteolipid apoprotein-induced murine
experimental allergic encephalomyelitis by monoclonal antibody against L3T4
J Neuroimmunol 18 : 105-116 1988
- 14) Yamamura T, Yao D-L, Satoh J, Tabira T :
Suppression of experimental allergic encephalomyelitis by 15-deoxyspergualin
J Neurol Sci 82 : 101-110 1987

b. 著 書

- 1) 田平 武 :
神経免疫
神経科学レビュー (植林博太郎編), 医学書院, 東京, p357-364, 1987
- 2) 柴崎 浩, 田平 武 :
多発性硬化症およびその他の脱髄疾患
内科学 (第4版第1刷) (上田英雄, 武内重五郎総編集), 朝倉書店, 東京, p1493-1499, 1987
- 3) 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, p27-49, 1988

4) 田平 武 :

脱髄性疾患

神経-機能と病態- (杉田秀夫, 宮武 正, 金沢一郎編), 中外医学社, 東京, p203-229, 1988

5) 田平 武 :

脱髄の発症機構

神経科学レビュー (楢林博太郎編), 医学書院, 東京, Vol 2 p1-21, 1988

6) 西澤正豊 :

代謝性疾患

神経内科ハンドブック (水野美邦編), 医学書院, 東京, p457-475, 1987

c. 総 説

1) 田平 武 :

免疫性神経疾患とレトロウイルス

臨床免疫 19 : 495-502, 1987

2) 田平 武 :

多発性硬化症のウイルス病因論

医学のあゆみ 142 : 695-697, 1987

3) 田平 武 :

神経・精神治療薬の上手な使い方 : 多発性硬化症, 急性散在性脳脊髄炎, ギラン・バレー症候群

クリニカ 14 : 727-730, 1987

4) 田平 武 :

アレルギー性脳炎の発生機序

臨床免疫 20 : 52-58, 1988

5) 佐藤修三, 西澤正豊, 田中正美, 犬塚 貴, 田中恵子, 馬場広子, 宮谷信行, 宮武 正 :

モノクローナル抗 Myelin-associated glycoprotein (MAG) 抗体

神経進歩 31 : 281-290, 1987

6) 西澤正豊 :

シアリドーシスの臨床と生化学

新潟医誌 100 : 744-748, 1987

7) 小池文彦, 田平 武 :

II 研究業績

脱髄性疾患（多発性硬化症）

Brain Nursing 4 : 49-56, 1988

d. 班会議報告書

1) 田平 武, 山村 隆, 佐藤準一, 国下龍英 :

自己免疫性脳脊髄炎の治療薬開発研究

(1) 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, 昭和61年度研究報告書, 43-49, 1987

2) 田平 武, 姚 大林, 山村 隆 :

自己免疫性脳脊髄炎の治療薬開発研究

(2) 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 抑制効果について

厚生省新薬開発・自己免疫疾患治療薬の開発研究班, 昭和61年度研究報告書, 51-53, 1987

3) 田平 武, 橋 真郎, 森 襄, 加藤元博 :

生体防御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

ヒューマンサイエンス振興財団・長寿関連基礎科学研究事業, 健康保持の基礎としての生体防御機構の解明, 官民共同プロジェクト研究報告書, 215-219, 1987

4) 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

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 174-177, 1987

5) 田平 武, 佐藤準一, 酒井宏一郎, 遠藤真澄, 小池文彦, 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)

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 178-181, 1987

6) 田平 武, 山村 隆, 佐藤準一, 国下龍英 :

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

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 230-234, 1987

7) 田平 武 :

多発性硬化症のウイルス説

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度研究報告書, 451-457, 1987

8) 田平 武, 遠藤真澄, 国下龍英, 小池文彦, 佐藤準一, 糸山泰人 :

自己免疫が本態のミエロパチー(2), 1.プロテオリピッドアポ蛋白の起炎部位の検討, 2.人髄液における免疫応答についての検討

厚生省神経疾患・ミエロパチーの病態と発症機構に関する研究班, 昭和61年度研究報告書, 71-77, 1987

- 9) 田平 武, 小池文彦, 佐藤準一, 酒井宏一郎, 国下龍英, 今沢正興, 宮本侃治 :

アレルギー性神経炎の抗原検索と病変分布の再検討

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年度研究報告書, 38-41, 1987

- 10) 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, 治療に関する総合的研究班, 昭和61年度研究報告書, 110-114, 1987

e. その他

- 1) 田平 武 :

ウェルネス産業教育基礎講座チーフコース

老化の科学 No. 3-2 : 1-22, 1987

- 2) 田平 武, 朝長正徳 :

神経, 免疫, 老化をめぐる最近のトピックス (対談)

Medical Immunol 15 : 283-296, 1988

- 3) 里吉栄二郎, 岩崎裕三, 高松淳一, 田平 武 :

AIDS と神経系をめぐる (座談会)

Clin Neurosci 6 : 80-91, 1988

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

- 1) 田平 武 :

最近注目されている疾患とウイルスー神経疾患ー

第22会日本医学会総会, 東京, 4.5, 1987

- 2) Tabira T :

Autoimmune demyelination (Plenary Lecture)

II 研究業績

2nd International Congress of Neuroimmunology, Philadelphia, Sept. 11, 1987

- 3) Tabira T, Endoh M, Satoh J, Yamamura T, Kunishita T :

Experimental allergic encephalomyelitis induced by proteolipid apoprotein

International Symposium of Neuroimmunological Disease-Recent Advances in Pathogenesis and Treatment, Tokyo, Nov. 4-6, 1987

- 4) Tabira T, Yamamura T, Yao D-L :

Recent progress in treatment of autoimmune encephalomyelitis using animal models

International Symposium, Neuroimmunological Disease-Recent Advances in Pathogenesis and Treatment, Tokyo, Nov. 4-6, 1987

- 5) 田平 武, 西澤正豊 :

老年痴呆の免疫学的研究

脳のシンポジウム, 米子, 3.19, 1988

- 6) Koike F, Kunishita T, Tabira T :

Immunohistochemical study of Alzheimer disease using antibodies to synthetic amyloid and fibronectin

5th International Symposium on Amyloidosis, Hakone, Oct. 26-28, 1987

b. 国際学会

- 1) Tabira T, Ordinario T, Yao D-L, Liu D-S, Perez M, Chua R, Cuanang J, Tateishi J,

Kuroiwa Y :

Concentric sclerosis (Baló) or acute MS (Marburg)?

7th Asian Oceanian Congress of Neurology, Bali, Sept. 20, 1987

- 2) Hozumi I, Nishizawa M, Ariga T, Miyatake T :

Biochemical and histochemical studies on symptomatic heterozygotes with Fabry's disease : Comparison with hemizygote

International Society for Neurochemistry 11th Biennial Meeting, La Guaira, June 1, 1987

- 3) Nishizawa M, Hiraiwa M, Uda Y, Miyatake T :

Human placental neuraminidase active toward gangliosides

New Trends in Ganglioside Research : Neurochemical and Neuroregenerative Aspects

(Satellite Symposium of the ISN-ASN Joint Meeting), Puerto La Cruz, June 11, 1987

- 4) Koike F, Pálffy G, Kunishita T, Yoshida M, Tabira T :

Absence of Antibody to HTLV-1 in Sera from Patients with Multiple Sclerosis in Hungary
2nd International Congress of Neuroimmunology, Philadelphia, Sept. 11, 1987

5) Satoh J :

Experimental allergic encephalomyelitis mediated by murine encephalitogenic T-cell lines specific for myelin proteolipid apoprotein

2nd International Congress of Neuroimmunology, Philadelphia, Sept. 8-11, 1987

c. 一般学会

1) 佐藤準一, 国下龍英, 遠藤真澄, 並河 正, 田平 武 :

プロテオリピッドアポ蛋白 (PLP) 感作マウス EAE の抗 L3T4 抗体による治療

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.27, 1987

2) 小池文彦, 国下龍英, 田平 武, 向山昌邦, 中山 宏 :

合成老人斑アミロイドポリペプチドに対する抗体 (affi 28)を用いた痴呆性疾患の免疫組織化学的研究

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987

3) 西澤正豊, 田中恵子, 大浜栄作, 大原慎司, 小沢高将, 宮武 正 :

ミトコンドリア脳筋症の臨床, 生化学, 病理学的研究—MELAS の位置付けについて—

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987

4) 保住 功, 西澤正豊, 宮武 正, 有賀敏夫, 堀川 揚 :

症候性女性ファブリー病保因者の臨床的, 生化学的, 組織化学的検討: 男性例との対比

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.28, 1987

5) 佐藤修三, 馬場広子, 犬塚 貴, 田中正美, 西澤正豊, 柳沢勝彦, 宮武 正 :

モノクローナル抗体を用いた ELISA による神経組織および髄液中の myelin-associated glycoprotein の定量

第28回日本神経学会総会, 東京, 5.29, 1987

6) 遠藤真澄, 国下龍英, 田平 武 :

プロテオリピッドアポ蛋白ペプチドによるマウス実験的アレルギー性脳脊髄炎

第30回日本神経化学学会大会, 東京, 10. 28-30, 1987

C. 班会議発表

1) 田平 武, 国下龍英, 小池文彦 :

II 研究業績

老人斑アミロイド前駆物質の検索Ⅲ：血清成分について

厚生省神経疾患・老年期痴呆の病因，病態，治療に関する総合的研究班，昭和62年度総会，東京，
12. 18-19, 1987

2) 田平 武，小池文彦，西澤正豊，国下龍英：

ギラン・バレー症候群における HTLV-1 抗体の検索

厚生省精神・神経疾患・ニューロパチーの成因及び治療に関する研究，東京，1. 21, 1988

3) 田平 武：

生体防御機構と脳内特異蛋白および神経特異物質の機能に関する研究

ヒューマンサイエンス振興財団・長寿関連基礎科学研究事業官民共同プロジェクト研究，昭和62年度第4テーマ報告会，東京，1. 21, 1988

4) 田平 武，Yao D-L，山村 隆，青柳高明：

バクトボリンの EAE 予防治療効果

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班，昭和62年度総会，東京，1. 22-23, 1988

5) 田平 武，佐藤準一，国下龍英：

L3T4 モノクローナル抗体による EAE の抑制

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班，昭和62年度総会，東京，1. 22-23, 1988

6) 田平 武，遠藤真澄，国下龍英：

プロテオリピッドアポ蛋白の抗原決定基の検討

厚生省精神・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62年度班会議，東京，
1. 30, 1988

7) 田平 武，小池文彦，国下龍英，西澤正豊：

多発性硬化症における抗 HTLV-1 抗体の検索

厚生省精神・神経疾患・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班総会，東京，
2. 20, 1988

8) 田平 武，Yao D-L，本山和徳，西澤正豊：

自己免疫性脳脊髄炎・神経炎の治療薬開発

厚生省新薬開発・自己免疫疾患治療薬の開発研究班，第4回総会，東京，3. 4, 1988

9) 西澤正豊：

神経疾患の発症における免疫応答遺伝子の役割の解析

厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班，昭和62年度班会議，

大阪, 9. 26, 1987

- 10) 西澤正豊, 本山和徳, 酒井宏一郎, 田平 武 :

自己免疫性脳炎誘起性 T 細胞クローンの活性化における免疫応答遺伝子の役割

厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班, 昭和62年度班会議,

東京, 1. 21, 1988

D. 研究会など

- 1) 田平 武, 国下龍英 :

アルツハイマー型老年痴呆に見られるアミロイド蛋白の起源に関する研究

笹川医学医療財団, 高齢者等の医学医療に関する研究昭和61年度発表会, 東京, 5. 27, 1987

- 2) 田平 武 :

免疫性神経疾患の動物モデル : 自己免疫性脳脊髄炎

第2回鹿児島細胞医学研究会, 鹿児島, 6. 5, 1987

- 3) Tabira T :

Proteolipid apoprotein and experimental allergic encephalomyelitis

Clinical Neurological Conference,

University of Washington, Seattle, July 9, 1987

- 4) 田平 武 :

老年痴呆の本態

ヒューマンサイエンス財団昭和62年度第1回長寿関連基礎科学講習会, 東京, 8. 20, 1987

- 5) Tabira T :

Neuroimmunology

Lecture at University of Santo Tomas Medical Center, Manila, Sept. 30, 1987

- 6) 田平 武 :

痴呆のメカニズム解明へのアプローチ

第6回 SANBIO 医療バイオ研究会, 東京, 12.22, 1987

- 7) 田平 武 :

神経系と免疫系の相互作用

第244回九州大学医学部脳研カンファレンス, 福岡, 2. 25, 1988

- 8) 田平 武 :

II 研究業績

AIDS の精神・神経学的側面に関する専門家会議 WHO, ジュネーブ, 3. 14-17, 1988

9) 田平 武 :

老人斑アミロイドの発生機序について : アミロイドの生化学的研究

第1回痴呆疾患研究討論会, 東京, 3. 31, 1988

10) 西澤正豊 :

ミトコンドリア脳筋症 : MELAS の臨床, 生化学

第17回新潟神経学夏期セミナー, 新潟, 7. 18, 1987

11) 千葉厚郎, 三宅康史, 坂本哲也, 田中 洋, 有賀 徹, 小池文彦, 田平 武 :

血清, 髄液中に monoclonal IgG を認めた急性脳症の1例。

第18回三多摩神経疾患懇話会, 東京, 4. 18, 1987

3. 主な研究報告

バクトボリンによる EAE の抑制

田平 武・本山和徳・西澤正豊・ Yao Da-Lin

バクトボリンは *Pseudomonas* BMG 13- A 7 の産生する塩素含有抗生物質であり、抗菌抗腫瘍作用を有する。本研究者はバクトボリンが実験的アレルギー性脳脊髄炎 (EAE) を著名に抑制し、発症後の治療効果もあることを見出した(1)。

材料と方法

Lewis ラット及び SJL/J マウスをモルモットミエリン塩基性蛋白 (MBP) とフロインド完全アジュバントで感作し、EAE を作製した。バクトボリンは PBS に溶解し、腹腔内投与した。リンパ球増殖反応は ^3H -チミジンの取り込みでみた。in vitro におけるバクトボリンの作用は、リンパ球培養液に種々濃度を加え、リンパ球に対する毒性及び増殖反応でみた。

結果

バクトボリン 0.5 mg/kg の day 1-8 (誘導期), day 8-14 (効果期) いずれの投与でもラット EAE の発症は著明に抑制された (図-1)。

また 0.5 mg/kg 朝夕 2 回の注射により発症後の EAE も抑制された。バクトボリンはマウス EAE に対しても 0.5 mg/kg で抑制効果を示した。その抑制効果は病理学的にも確認された。バクトボリン 0.5 mg/kg を day 1-8 に投与されたマウスリンパ節細胞の MBP 及び Con A に対する増殖反応は著明に抑制されており、その作用は抗原非特異的であった。バクトボリンは in vitro で 1-10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で細胞毒として作用し、活性化リンパ球に対する作用が著しかった (図-2)。

バクトボリンは安全域が狭く、5 mg/kg の投与にラット、マウスとも耐えることができず、モルモットは 0.5 mg/kg 連日 7 日間の投与に耐えなかった。

考察

バクトボリンは自己免疫性脳炎に対し著しい抑制効果を示す。その作用機序は抗原非特異的細胞毒と考えられるが、活性化リンパ球に対する作用がより著しいと考えられる。一般に自己免疫疾患の患者は発症後病院を訪れるので、発症後投与でも有効な薬剤の開発は重要である。バクトボリンは毒性が強く安全域が狭いので、現在誘導体の合成が検討されている。

謝辞

バクトボリンを提供された微化研青柳高明博士、

明治製菓深津俊三博士に感謝する。

文献

- 1) Tabira, T., Yao, D-L., Yamamura, T. & Aoyagi, T. :

Prophylactic and therapeutic effect of bactobolin on autoimmune encephalomyelitis.

Proc. Japan Acad. 63 : 127-130 1987

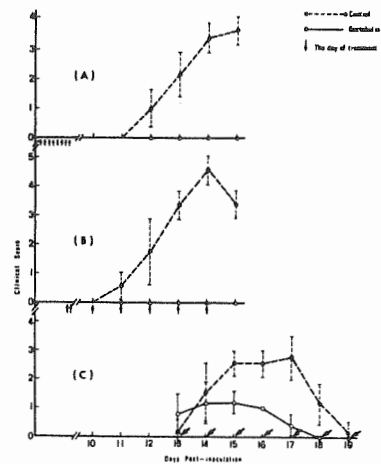


Fig. 1 Effect of bactobolin on acute EAE

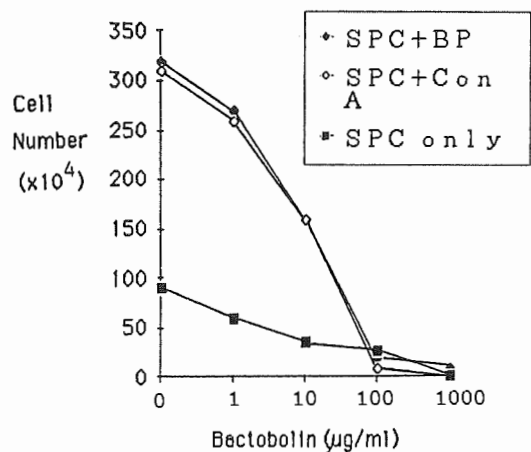


Fig. 2 Cell numbers in the culture containing bactobolin

プロテオリポドアポ蛋白の脳炎決定基の検討

遠藤真澄, 国下龍英, 西澤正豊, 田平 武

当研究部では自己免疫性脳炎モデル (EAE) を用いてその発症機序の解明, 特異的な免疫療法の開発をめざしており, 起炎性抗原として, 従来よく知られたミエリン塩基性蛋白 (MBP) に加えて, 中枢神経ミエリンの主要構成成分であるプロテオリポドアポ蛋白 (PLP) および DM-20 にも起炎性が認められることを明らかにしてきた(1)(2)。今回は種々の系統のマウスを用いて, PLP による EAE における主要組織適合性複合体 (H-2) 遺伝子産物による拘束性と起炎性の決定部位を解析した成績を報告する。

方法

PLP はウシ, ウサギ, モルモット, ラット, マウス脊髄より単離し, 既報(2)の如く major PLP と DM-20 (前者から116-150 の35アミノ酸残基の欠けたもの) を分離精製した。さらに, CNBr, BNPS-skatol を用いて PLP を Met 205,あるいは Trp 144, Trp 180, Trp 211の部位でそれぞれ分解し, ペプチドフラグメント 1-144, 181-211+212-276,212-276 を分離した。

このようにして得られた PLP あるいはフラグメント 100 μ g (212-276のみ50 μ g) を50 μ g の結核死菌 H 37 Ra を含む Freund アジュバントと共にマウス側腹部皮下内に接種し, 1 週後に同量の抗原で再度感作した。EAE は既報(2)の如く grade 0-5 の6段階に分類した。

結果

各系統のマウスをウシ whole PLP で感作した結果を表1に示す。SjL/J, C3H/He, CBA/J, A/J などは高率に EAE を発症したが, DBA/2, B 6, B 10 系のマウスは抵抗性を示した。抵抗性のマウスには倍量の PLP で感作しても, 350 R の放射線照射を加えても, cyclophosphamide を投与しても発症は増加しなかった。また, 各種の動物から単離した PLP は SjL/J, C3H/He, BALB/c にいずれも同様の EAE を発症させ, PLP の動物種による差異はみられなかった。

ついで各系統のマウスにおける脳炎決定基を解析した。C3H/He, CBA/J, BALB/c, A/J は major PLP と DM-20 の両者に反応して EAE を発症したが, SjL/J, A.SW, A.TH は major PLP にのみ反応し, DM-20 には抵抗性を示した。さらにフラグメントの起炎活性は表2に示す如くで, いずれの場合も whole PLP の場合と同程度の EAE

を発症した。1-144は SjL/J のみに, また181-211+212-276は C3H/He, BALB/c のみにそれぞれ起炎性を示した。

考察

PLP による EAE は MBP の場合ほど限られた H-2 拘束性を示さなかったが, B 10系が抵抗性を示したことなど, 何らかの遺伝的制御の関与を推定させた。major PLP, DM-20およびフラグメントを用いた解析から SjL/J マウスの起炎部位は N 末側 1-144, 特に DM-20 で欠如している部位にあり, C3H/He, BALB/c における起炎部位は C 末側181-211+212-276 (SS 結合による結合が推定される) に存在すると考えられるが, DM-20 の欠如部分には2説があり, また C 末端の212-276 は抗原量の不足も考えられるので, 現在合成ペプチドを用いた実験による確認を行っている。

文献

- (1) Yamamura T. et al. : J Neuroimmunol 12 : 143 1986
- (2) Endoh M. et al. : J Immunol 137 : 3832 1986

Table I Induction of EAE in mice with bovine PLP

Strain	H-2	Incidence of EAE*		Day of Onset (mean)	Clinical Grade**
		Clin.	Histol.		
SjL/J	s	17/19	N.E.***	13-21(17.0)	3.8
ASW/Sn	s	4/5	N.E.	25-47(33.3)	2.7
C3H/He	k	5/5	N.E.	31-81(67.2)	4.0
CBA/J	k	4/5	N.E.	34-67(47.5)	2.6
AKR/J	k	3/5	N.E.	84-160(117.3)	2.1
B10.BR	k	1/7	2/4	71	2.0
ABLB/CCr	d	3/7	N.E.	21-29(26.3)	3.0
ABLB/CAn	d	3/5	N.E.	29-33(31.7)	3.3
DBA/2	d	0/8	0/5	-	0
B10.D2	d	0/7	2/4	-	0
C57BL/10	b	0/8	0/4	-	0
C57BL/6	b	0/8	0/4	-	0
A/J	a	5/5	N.E.	58-121(80.0)	2.6
B10.A	a	1/7	1/4	57	2.0

*No. of mice with clinical or histological disease/No. of mice tested.

**Mean of maximum clinical scores.

***N.E., not examined.

Table II Induction of EAE in mice with fragments of bovine PLP

fragment	SjL/J(H-2 ^s)	C3H/He(H-2 ^k)	BALB/c(H-2 ^d)
1-204	4/4	6/8	3/7
1-144	3/4	0/4	0/6
181-211+212-276	0/4	3/5	6/12
212-276	N.T.*	0/5	0/4

A total of 200 μ g of each fragment except for fragment 212-276 was injected in each mouse in complete Freund's adjuvant. Fragment 212-276 was 100 μ g.

*Not tested.

脱髄性疾患における抗 HTLV-1 抗体の検索

小池文彦, 国下龍英, 西澤正豊, G.Pálffy, 田平 武

多発性硬化症 (MS) と Human T-lymphocytic virus type 1 (HTLV-1) の関係が報告され (Koprowski et al. 1985; Ohta et al. 1986) 論議を呼んでいるので我々も検討を加えた(1)。また, Koprowski らの報告の中に HTLV-1 に対する高い抗体価を有した Guillain-Barré 症候群 (GBS) が 1 例記載されており, GBS についても検索を行った。

材 料

HTLV-1 キャリアーによる検査結果の混乱を避けるためにハンガリーの検体を選んだ。MS の診断は 1983 年の Poser らの基準に基づいて行い, 18 例の definite MS (Caucasian 16, Gipsy 2) と 15 例の対照神経疾患 (Caucasian 13, Gipsy 2) の血清と髄液について検索した。GBS に関しては, 上記対照神経疾患の 1 例と日本人症例 9 例の典型的 GBS の血清について検査を行った。陽性コントロールとして, 成人型 T 細胞白血病 (ATL) の日本人症例 1 例と臨床的に HTLV-1-associated myelopathy (HAM) と診断された日本人 10 例の血清, 及び HAM 患者の髄液 1 検体を用いた。血清及び髄液は使用前まで -80°C に保存した。

方 法

MT-2 ラインより抽出した HTLV-1 抗原と E. coli に発現させた recombinant p 24 を抗原として用い, ウェスタンブロット後, 100 倍希釈の各血清又は 10 倍希釈の各髄液で 4°C にて一晚反応させた。次いで ¹²⁵I 標識抗ヒト IgG (1 μCi/ml) にて室温で 2 時間反応させた。洗浄後 X 線フィルムに感光させ各抗原に対する反応をみた。

結 果

HAM 10 症例中 9 例と ATL 1 例の血清及び HAM の髄液においては, 両抗原に対する抗体が検出された。一方 MS においては血清及び髄液において, Caucasian, Gipsy ともに全例陰性であった。GBS においても 10 例とも両抗原に対する抗体を血清中に認めなかった。Table 1 に MS 血清の結果を示し, Fig 1 にウェスタンブロットの反応パターンを示す。

尚, 対照神経疾患では 3 例の Caucasian の血清に反応を認めたが, 抽出 HTLV-1 に対してのみに弱く反応し recombinant p 24 に反応せず, 髄液にて陰性であることにより非特異的反応と考えられた。

考 察

我々は検出感度を増しかつ特異性を保つために,

ウェスタンブロットとオートラジオグラフィーを組み合わせた方法を用いた。この方法を用いても, 少なくともハンガリー人 MS 患者では HTLV-1 に対する抗体が陰性であり, MS と HTLV-1 の関係は否定的である。GSS においても同様で HTLV-1 との関連は否定的である。

文 献

- (1) Koike F. et al: Absence of antibodies to HTLV-1 in sera from patients with multiple sclerosis in Hungary. Acta Neurol Scand (in press).

Table 1. Anti-HTLV-1 antibodies in sera from patients in Hungary

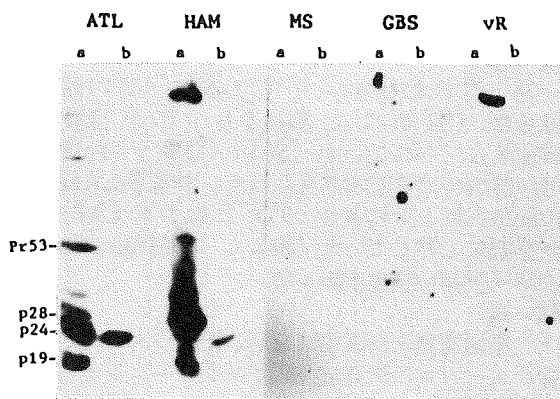
Patients	N	Antibodies against*	
		HTLV-1 No. positive	recombinant p24 No. positive
MS	16	0	0
MS Gipsy	2	0	0
OND**	13	3***	0
OND Gipsy	2	0	0

* Serum samples were tested by Western blot combined with autoradiography.

** Other neurological diseases

*** Since these samples reacted to only disrupted virus but not to recombinant p 24, it seems to be nonspecific.

Western blot pattern in patients' sera



a: HTLV-1 antigens from MT-2 cell line

b: Recombinant p24

vR=von Recklinghausen's disease

完全無血清培地を用いたマウスコリン作動性ニューロン栄養成長因子スクリーニング法の確立

亀谷雅洋, 国下龍英, 田平 武

近年老化研究において, 神経栄養成長因子 Nerve Trophic Factor (NTF) が注目され, そのバイオアッセイ系としての培養系の確立が重要となった。我々は単層培養法を用いたマウスコリン作動性ニューロンに対する NTF をスクリーニングする系を確立した。

方法

BALB/C, 胎生15日マウスの前脳基底野及び中隔野を断頭後取り出し, 0.1%トリプシンにて処理, ピペティングにて細離した後63 μ m のナイロンメッシュを通した。分離したニューロンは6 \times 10⁵ ml の条件であらかじめ Poly-L-Lysine を塗布した dish にまいた。培地は Dulbecco Modified Eagle Medium と Ham F-12 を1 : 1とし, これに Transferrin, Insulin, Progesterone, 3, 3', 5-Triiodo-L-Thyronine, Hydrocortisone, L-Carnitine など約30種の物質を補充した。コリン作動性ニューロンに対する NTF の効果は choline-acetyltransferase (CAT) 活性を培養開始後7日目に測定することにより判定した(1)。培養細胞の純度はモノクロナール抗 GFAP 抗体を用いて検討した。NTF としては β -NGF (100 ng/ml) とウマ血清 (20%) を用いた。実験は2群に分け, (A) 群では無血清培地下 β -NGF を, (B) 群では培養直後15分間ウマ血清処理した後, A群と同様の操作を行った。いずれの場合もそれぞれ無血清培地のみを対照群と比較した。さらに, 前脳基底野と中隔野から得た細胞について NGF (100 ng/ml) 投与に対する CAT 活性の検討を行った。

結果

(A) 群では対照に比べ, 1.4倍の CAT 活性を示した。(B) 群は(A) 群に比べ CAT 活性での有意差は見られないが(表1), 形態上2日目より強い細胞の集塊形成が見られた。中隔野由来細胞は前脳基底野のそれより NGF に対する CAT 活性が有意に上昇していた(表2)。培養細胞の95%以上が GFAP 陰性であった。

結論

(1) 無血清完全合成培地を用いたマウスコリン作動性ニューロンの栄養成長因子スクリーニング系を確立した。(2) β -NGF に対する CAT 活性は従来の報告(2)と同程度であり, 特に中隔野で著明であった。(3) ウマ血清中には少なくとも培養開始直後に

ニューロンに作用し集塊形成を促進させる因子が存在するものと考えられた。以上よりこの系はコリン作動性ニューロンの栄養成長因子のスクリーニング系として有用と思われる, 現在他の神経栄養成長因子についても検討中である。

文献

- (1) Fonnun, F. : J. Neurochem. 24 : 407-409 1975
- (2) Honegger, P., Lenoir, D. : Dev. Brain Res. 3 : 229-238 1982

Table 1. Effect of Horse Serum on Choline Acetyltransferase (CAT) Activity

	Total Protein (mg)	CAT Activity (pmoles/mg/min.)	R.A.
(A)Horse Serum(-)*			
control	12.7	11.1	1.0
NGF(100 ng/ml)	13.1	15.28	1.38
(B)Horse Serum(+)*			
control	21.4	14.1	1.0
NGF(100 ng/ml)	9.9	20.1	1.42

Neurons were obtained from basal forebrain of BALB/c.

* : In (B), cells were exposed with 20% horse serum only for the first 15 min. of culture.

Table 2. Effect of NGF Treatment on Choline Acetyltransferase (CAT) Activity

	Total Protein (mg)	CAT Activity (pmoles/mg/min.)	R.A.
Basal Forebrain			
control	12.7	11.1	1.0
NGF(100 ng/ml)	13.1	15.28	1.38
Septal Region			
control	7.7	8.4	1.0
NGF(100 ng/ml)	3.6	18.5	2.22

Neurons from Balb/c mice 15 E.D. brain were cultured with completely defined synthetic medium. Enzyme activity was assayed on day 7.

R.A. : relative activity to each control.

8. 診断研究部

1. 研究部一年の歩み

診断研究部は、精神・神経疾患の診断、特に生化学的な早期発見診断あるいは病態解明のための生化学的分析を行うことを目的としており、61年度の研究を引き続き発展させて来た。職員としては、部長：成瀬 浩、室長：林 時司、荻野孝史、流動研究員：俣賀宣子、矢野登志雄、永田克己（62年4月採用）、併任研究員：村上弘司、賃金研究員：渡辺倫子、研究費雇用あるいは賃金研究助手：熊田淳子、椎津圭子、大庭ひさ子、安武由里、研究生：永木幸子、内山 勉であり、さらに日本公衆衛生協会派遣の鈴木恵美子、花房和子、橋本延代、池浦千秋の諸士の協力を得た。以下研究の概要について述べる。

1) 発達障害の早期発見の研究

現在の新生児スクリーニングの中で、内分泌異常によるものの検査法（TSH, 17-OH プロゲステロン測定）の改良研究をつづけ、RI を用いないで、しかも簡便で信頼性の高い方法の開発がほぼ終了した。さらに、新生児スクリーニング精度管理についても、実施後10年を経過し、我々の方法が国際的にも認められ、国際的協力体制の確立のための研究を行っている。

2) 精神・神経疾患の *in vivo* 代謝の研究

安定同位体を用いて、*in vivo* の代謝の微妙な変化を分析する方法は、今までの重水素中心の方法から、一歩進み、 ^{13}C -標識アミノ酸を用い、カテコールアミン、フェニルアラニン、チロシン関係のマイクロアミン（フェニルエチルアミン、チラミン）などの *in vivo* 代謝回転の分析が可能になって来た。今年度はその基礎的方法を開発し、さらに小児自閉症の研究に応用し、カテコールアミン系代謝回転の低下を見いだした。また、フェニルエチルアミン、チラミンがむしろ脳以外で合成されることが多いことも見いだしている。この研究より出発した小児自閉症の新しい治療は、広く臨床的に応用され始めている。

3) ^{13}C -グルコース・NMR スペクトロスコピー法の研究

ラットを用い、脳波、 PO_2 、血糖その他をパラメーターとして、できるだけ正常に近い状態において ^{13}C -グルコースを持続的に投与し、 ^{13}C -グルコース、 ^{13}C -グルタミン酸、 ^{13}C -グルタミン、 ^{13}C -乳酸などの脳内の変化を、NMR スペクトロスコピーにより、継時的に分析する方法が確立され、ラット脳内のグルコース・アミノ酸代謝の *in vivo* の分析が可能となった。これは今までの正確には測定不能であった、脳の解糖・呼吸・アミノ酸代謝系のダイナミックスを分析するための、重要な手段となるものである。

（部長 成瀬 浩）

II 研究業績

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Naruse H, Hayashi T, Takesada M, Nakane A, Yamasaki K, Noguchi T, Watanabe Y, Hayashi O :
Therapeutic effect of R-tetrahydrobiopterine in infantile autism
Proc of Japan Acad 63, 231-233, 1987
- 2) Naruse H, Suzuki E, Kumada J :
Non-radioisotopic method for neonatal hypothyroid screening
Advance in Neonatal Screening (Ed. Therrell B.), Excerpta Medica, Amsterdam,
p.115-120, 1987
- 3) Irie M, Naruse H, et al. :
Screening for neonatal hypothyroidism in Japan
Advance in Neonatal Screening (Ed. Therrell B.), Excerpta Medica, Amsterdam,
p.41-47, 1987
- 4) Ichihara N, Naruse H, Suzuki E, et al. :
Application of a new enzyme immunoassay using GOD-conjugate to mass screening for congenital adrenal hyperplasia
Advance in Neonatal Screening (Ed. Therrell B.), Excerpta Medica, Amsterdam,
p.147-148, 1987
- 5) Fujimura Y, Kawamura M, Naruse H, Tsuchiura K :
A new mass screening method for galactosemia Type III
Advance in Neonatal Screening (Ed. Therrell B.), Excerpta Medica, Amsterdam,
p.217-218, 1987
- 6) 大浦敏明, 成瀬 浩 他 :
薬物の臨床生化学的諸検査に及ぼす影響—Ca Hopantonate を中心とする多施設症例別検討—
臨床評価 15, 381-411, 1987
- 7) 成瀬 浩 :
テトラヒドロバイオプテリンによる小児自閉症の治療
Clinical Neuroscience 6, 227, 1988

8) 市原 侃, 成瀬 浩, 鈴木恵美子他 :

先天性副腎皮質過形成症マスキリーニングへの 17- α -OHP 測定試薬の応用
臨床検査機器・試薬 10, 1151-1155, 1987

9) Shimamura M, Hayashi T, Naruse H :

Tyrosine Metabolism in Rats : p-Hydroxyphenylacetic Acid is Synthesized via
p-Hydroxyphenylpyruvic Acid
Biomedical Research, 8, 247-251, 1987

10) 林 時司, 小高弘子, 池浦千秋, 永田克己, 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 (VII) フェニルエチルアミン, チラミンの生体内代謝
医用マス講演集 12, 161-164, 1987

11) 永木幸子, 永木 茂, 林 時司, 成瀬 浩 :

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 (VII) ヒト髄液中の γ -アミノ酪酸の定量
医用マス講演集 12, 215-218, 1987

12) Tsuchiya H, Tatsumi M, Takagi N, Koike T, Yamaguchi H, Hayashi T :

Determination of Catecholamines in Rat Tissues by High Performance Liquid
Chromatography Using a Precolumn Fluorescence Labeling Method
J.Pharmacological Method, 17, 263-269, 1987

13) Malcolm J.Avison, Steven R.Gullans, Ogino T, Gerhard Giebisch, Robert G.Shulman :

Measurement of Na⁺-K⁺ coupling ratio of Na⁺-K⁺-ATPase in rabbit proximal tubules
American J.Physiol, 253, C126-C136, 1987

14) James W.Prichard, Ognen A.C.Petroff, Ogino T, Robert G.Shulman :

Cerebral Lactate Elevation by Electroshock : A ¹H Magnetic Resonance Study
Annals New York Academy of Sciences, 508, 54-63, 1987

b. 著 書

1) Naruse H, Suzuki E :

Quality control in neonatal screenig in Japan
The 6th International Symposium on Quality Control-Osaka, Current Clinical Practice
Series 47, Excerpta Medica, Amsterdam, p23-38, 1988

II 研究業績

2) 成瀬 浩, 桜川宣男 :

向精神薬, 催眠鎮静剤

小児への投薬 (清水, 松田編)

株式会社ミクス, 東京, p73-79, 1987

3) 加藤進昌, 成瀬 浩 :

先天性代謝異常疾患

児童精神医学 (島蘭, 保崎, 徳田, 風祭編)

メジカルレビュー社, 東京, p218-227, 1987

c. 総 説

1) 成瀬 浩, 三国雅彦 : 躁うつ病の生化学的研究の最近の動向

臨床精神医学 16, 1247-1255, 1987

2) 成瀬 浩 :

代謝異常による精神発達障害の治療 (第1回及び第2回)

精神医学 30, 6-15, 及び120-129, 1988

3) 成瀬 浩 :

精神医学における安定同位体の利用の有用性と ^{13}C 応用について展望

最新医学 42, 1337-1341, 1987

4) 成瀬 浩 :

先天性代謝異常スクリーニング

小児看護 11, 473-478, 1988

5) 成瀬 浩 :

小児自閉症の治療薬について—その後の研究をめぐる雑感

全国情緒障害教育研究会会報 39, 3-7, 1988

d. 班会議報告書

1) 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と早期発見の研究—自閉症の生化学的分析II—

厚生省神経疾患・脳発達障害と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, 65-73, 1987

2) 成瀬 浩, 林 時司, 俣賀宣子, 渡辺倫子 :

安定同位体を用いたうつ病患者の in vivo のアミノ酸・アミン代謝の研究(V)

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61年度研究報告書, 53-59, 1987

3) 成瀬 浩, 林 時司, 俣賀宣子, 武貞昌志, 中根允文, 山崎光晃資 :

In vivo アミン代謝の分析法の研究—主として小児自閉症を対象として—

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治療薬の開発研究班,
昭和61年度研究報告書, 64-71, 1987

4) 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

厚生省心身障害研究・マススクリーニングに関する研究班,
昭和61年度研究報告書, 13-18, 1987

5) 上芝 元, 宮地幸隆, 入江 実, 林 時司, 成瀬 浩 :

新生児および先天性副腎皮質過形成患児の血中ステロイドパターンの HPLC RIA による分析

厚生省心身障害研究・マススクリーニングに関する研究班,
昭和61年度研究報告書, 150-152, 1987

6) 林 時司 :

安定同位元素トレーサー法によるトリプトファンおよび関連物質の生体内動態の研究

昭和61-62年度文部省科学研究費補助金(一般研究B)研究成果報告書, 1987

e.その他

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) Naruse H :

Quality control in neonatal screening

6th International Symposium on Quality Control, Osaka, June 13-14, 1987

2) Naruse H :

Japanese system of quality control

2nd International Workshop on Quality Control in Neonatal Screening, Nikko, May
23-26, 1987

b. 国際学会

1) Naruse H, Takesada M, Nakane A, Yamasaki K :

II 研究業績

Effect of R-tetrahydrobiopterine in infantile autism

34th Annual Meeting of America Academy of Child and Adolescent Psychiatry,
Washington, D. C., Oct. 21-25, 1987

2) Todoriki H, Hayashi T, Kusumoto M, Akamatsu T :

An evaluation for exposure of organic solvents by stable isotopic method

—Applied detection to the metabolic pathway of toluene/hippuric acid—

XXII Interantional Congress on Occupational Health, Sydney, Australia, Sep. 27, 1987

3) Akamatsu T, Todoroki H, Kusumoto M, Hayashi T :

Studies on toluene hippuric acid metabolism on chronic exposure of toluene

—GC/MS determination using stable isotopic method—

Asia-Pacific Symposium on Environmental and Occupational Toxicology, Singapore,
Oct. 4, 1987

4) Masui A, Matsui K, Watanabe N, Ando K, Kato N :

Concomitant increase of immunoreactive-cholecystokinin (IR-cck8) and somatostatin
(IR-SRIF) in the cerebellum of ataxic mutant mice

17th Annual Meeting Society for Neuroscience, New Orleans, USA, Nov. 16, 1987

5) O.A.C. Petroff, Ogino T, J.R. Alger, J.W. Prichard :

Regional variation in metabolite concentrations and the effect of post-mortem autolysis :

A ¹H magnetic resonance spectroscopy study of brain biopsy material

The 6th Annual Meeting of the Society of Magnetic Resonance in Medicine, New York,
USA, August 17, 1987

c. 一般学会

1) 上芝 元, 庄司 亨, 宮下 洋, 宮地幸隆, 入江 実, 林 時司, 成瀬 浩 :

HPLC/RIA による乾燥濾紙血中 17-OHP の定量

第15回代謝異常スクリーニング研究会, 大阪, 9.4-6, 1987

2) 市原 侃, 木崎節子, 松浦信夫, 藤枝憲二, 成瀬 浩, 鈴木恵美子, 辻 章夫, 前田昌子, 荒川秀俊 :

副腎皮質過形成症マスキングへの 17-OHP 測定試薬の応用

第15回代謝異常スクリーニング研究会, 大阪, 9.4-6, 1987

3) 鈴木恵美子, 熊田淳子, 成瀬 浩, 高橋和夫, 浜中広健, 鈴木信子, 白根秀夫 :

マイクロタイマーウエルを用いた TSH・ELISA 法によるスクリーニング

- 第15回代謝異常スクリーニング研究会, 大阪, 9.4-6, 1987
- 4) 花房和子, 鈴木恵美子, 渡辺倫子
BIA 法によるチロジンプレートの検討
第15回代謝異常スクリーニング研究会, 大阪, 9.4-6, 1987
- 5) 林 時司, 小高弘子, 成瀬 浩, 飯田芳男 :
負イオン化学イオン化質量分析法によるフェニルエチルアミン, チラミンの定量
日本薬学会第107年会, 京都, 4.2, 1987
- 6) 俣賀宣子, 林 時司, 成瀬 浩 :
負イオン化学イオン化質量分析法を用いたアントラニル酸の高感度測定法
日本薬学会第107年会, 京都, 4.3, 1987
- 7) 小池 亨, 久米章司, 土屋博紀, 山口秀樹, 林 時司 :
カテコールアミンの自動分析の基礎的検討
日本薬学会第107年会, 京都, 4.4, 1987
- 8) 土屋博紀, 巽 幹雄, 星野良行, 高木順彦, 林 時司, 成瀬 浩 :
HPLC を用いる尿中セロトニンおよびトリプタミンの分析
日本薬学会第107年会, 京都, 4.2, 1987
- 9) 等々力英美, 鎌田鉦八, 楠本昌子, 林 時司, 赤松 隆 :
安定同位体トレーサー法を用いたトルエン/馬尿酸の in vivo 代謝への応用
日本薬学会第107年会, 京都, 4.3, 1987
- 10) 土屋博紀, 巽 幹雄, 高木順彦, 小池 亨, 林 時司 :
カテコールアミン自動分析法の開発—前処理系と HPLC 分離系との接続に関する検討
日本分析化学会第36年会, 熊本, 10.14, 1987
- 11) 永田克己, 林 時司, 成瀬 浩, 土屋博紀, 小池 亨 :
GC/NICIMS によるカテコールアミンの高感度測定法の基礎的研究
日本分析化学会第36年会, 熊本, 10.15, 1987
- 12) 林 時司, 成瀬 浩 :
GC/MS による 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionic acid の定量
日本分析化学会第36年会, 熊本, 10.15, 1987
- 13) 池浦千秋, 林 時司, 成瀬 浩, 北谷照雄, 坂口 孝 :
5-ヒドロキシトリプトファンの高感度安定同位元素トレーサー法

II 研究業績

日本分析化学会第36年会, 熊本, 10. 15, 1987

- 14) 林 時司, 小高弘子, 池浦千秋, 永田克己, 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 (VII) フェニルエチルアミン, チラミンの生体内代謝

医用マス研究会, 大阪, 10. 29, 1987

- 15) 永木幸子, 永木 茂, 林 時司, 成瀬 浩 :

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 (VII) ヒト髄液中 γ -アミノ酪酸の定量

医用マス研究会, 大阪, 10. 30, 1987

- 16) 等々力英美, 楠本昌子, 神里みどり, 林 時司, 古見耕一, 赤松 隆 :

安定同位体トレーサー法を用いた有機溶剤暴露評価 (II)

第60回日本産業衛生学会, 東京, 4. 7, 1987

- 17) 成瀬 浩, 矢野登志雄, 渡辺倫子, 小川秀次郎, 江口恵二, 荻野孝史 :

in vivo ^{13}C NMR スペクトロスコピーと生理学的パラメータ

第3回 ^{13}C 医学応用研究会, 東京, 11. 28, 1987

- 18) 松井京子, 加藤昌邦, 渡辺倫子, 車地暁生, 高橋清久, 成瀬 浩, 安藤一也 :

各種運動失調マウスの脳内ソマトスタチンについて

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 28, 1987

- 19) 花房和子, 渡辺倫子, 鈴木恵美子 :

BIA 法によるチロジンプレートの検討

第15回代謝異常スクリーニング研究会, 大阪, 9. 4, 1987

- 20) 加藤進昌, 渡辺倫子, 樋口輝彦 :

ドパミン性神経伝達の遮断によるラット脳内コレシストキニン様物質の変化

第14回日本内分泌学会神経内分泌分科会, 東京, 10. 31, 1987

- 21) 松井京子, 増井 晃, 加藤進昌, 渡辺倫子, 向山昌邦 :

各種運動失調マウスの脳内 somatostatin および CCK8 について

第4回日本疾患モデル動物研究会総会, 和歌山, 11. 26, 1987

- 22) 松井京子, 加藤進昌, 渡辺倫子, 向山昌邦, 安藤一也 :

遺伝性運動失調マウスの運動失調発現と脳内ソマトスタチンとの関連について

第61回日本薬理学学会総会, 福岡, 3. 24, 1988

D. 研究会など

1) Naruse H :

Recent progress of neonatal screening

Special Lectures Series of Pediatric Association of the Republic of China, Taipei,

May 6, 1987

2) Naruse H :

Neonatal Screening in Japan

Special Lecture in Department of Experimental Medicine, Univ. of Roma, "La Sapienza",

April 6, 1987

3) Naruse H :

Study on metabolic changes in infantile autism

Lecture Series in IBR.

N.Y. State Institute of Basic Reserch on Developmental Disabilities., Oct. 16, 1987

4) 成瀬 浩 :

脳障害の研究とその対策

明治薬科大学公開講座 “やさしい脳と薬の話”

昭和62年5月16日, 明治薬科大学講堂

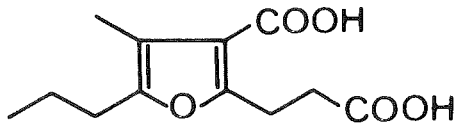
3. 主な研究報告

3-Carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionic acid の GC/MS 分析

林 時司

はじめに

生体内におけるセロトニン (5-HT) 合成の律速段階はトリプトファン (Trp) の 5-位が水酸化される過程であることが知られている。中枢におけるこの系は Trp で飽和されておらず、5-HT 合成は血液脳関門 (BBB) を透過して供給される Trp に依存している。また、血中の Trp にはアルブミンと結合した結合型と遊離型とがあり、大部分は結合型として存在していること、BBB を透過するのは遊離型のみであることが知られている。したがって、血中遊離 Trp の濃度に影響する因子の変化と各種精神疾患との関連性を検討することは極めて興味深いことであると考えられる。ところで、腎不全患者



の血中アルブミンは物質結合能が低下していることが知られているが、前田らは腎不全患者の血中アルブミンに対する主要な binding inhibitor の検索を行い、3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionic acid (CMPFPA) を同定している。そこで我々は、この様な観点のもとに CMPFPA と血中遊離 Trp あるいは精神疾患との因果関係の有無について検討を加えるため、今回は、GC/MS による血中あるいは尿中 CMPFPA の定量について検討を加えた。

実験方法

1. GC/MS 測定：本研究で利用した GC/MS は Finnigan 4000型である。CMPFPA の分離には OV-101 FS-WCOT キャピラリーカラム (25m X 0.25mm i.d., 200°C) を用いた。キャリアガスとしてはメタンを用い、カラムの出口がイオン源の直前にまではいるように接続し、さらにイオン源にメタンを追加し、イオン源圧を0.15 Torr とし、メタン CI 条件で分析をおこなった。また、イオン源温度、イオン化電圧はそれぞれ250°C, 90Vに設定した。2. CMPFPA の合成：CMPFPA は前田らの方法を参考にして合成した。また、定量の IS としては、同様の方法で合成した CMPFPA の重水素標識化合物を用いた。3. CMPFPA の分析：

血しょう100ul に IS を含むイソプロパノール400 ul を加え、十分に振とうした後、遠分離した。上清は、0.1M pH7.0のリン酸緩衝液 2 ml を加えた後、酢酸エチルで洗浄した。その後、水層に 1N HCl 0.5ml と食塩700mg とを加え、酢酸エチルで抽出した。有機層は乾燥後、乾固し、ジアゾメタンでメチル化した。また、尿の場合には、血しょうと同様に溶媒抽出、メチル化後、Sep-pak を用いて処理した。溶離液中の CMPFPA のメチル化物は溶媒抽出、乾固後、再び少量の酢酸エチルに溶解し、GC/MS 用の試料とした。

結果と考察

CMPFPA の分析に関しては、Liebich らが GC あるいは GC/MS による血しょう試料の分析を報告している。しかし、彼らの方法は、腎不全患者の血しょう中有機酸のプロファイルを把握する仕事の一環として行われた。したがって、多量の試料を必要とするだけでなく、CMPFPA の標準品がないために IS の回収率、GC での応答性に差がないという仮定のもとに定量値を算出している。我々は、信頼性の高い方法を確立するために CMPFPA だけではなく、IS として用いるために、その重水素標識体を新たに合成した。また、GC/MS 分析は SIM 法によって実施したため感度的にも著しく改善された。本法を用いた CMPFPA の Trp の生体内代謝に対する影響等については次年度の研究課題としたいと考えている。

参考文献

- 1) Gessa G.L., Biggio g., Fadda F., Corsini G.U., Tagliamonte A. : Acta Vitamin. Enzymol. 29, 72-78, 1975
- 2) Maeda K., Shinzato T., Miyata T., Tsuruta Y., Okumura Y., Yamada K., Ohki T., Yamanaka N. : Proc. Jap. Soc. Mass Spectrom. 11, 157-160, 1986
- 3) Liebich H.M., Pickert A., Tetschner B. : J. Chromatogr. 289, 259-266, 1984

in vivo NMR スペクトロスコピーにおける最適化多重パルス系列の開発 (その1)

荻野孝史, 矢野登志雄

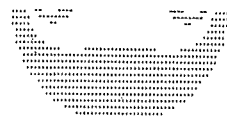
核磁気共鳴 (NMR) は, イメージング (MRI) 法による形態学的情報のみならず, スペクトロスコピー (MRS) 法により細胞・組織・動物において糖・アミノ酸代謝, バイオエナジェティクス・細胞内 pH, イオン輸送等に関する生化学的情報を測定できる極めて優れた無侵襲・非破壊的計測技術として注目を浴びている。また, 最近, 臨床用装置においても従来より遥かに磁場強度の高い全身用超伝導磁石の台頭により人体を対象にしても MRS 法により生化学的情報を得ることが可能となりつつある。しかし, このように優れた NMR においても個体とりわけ人体への応用においては, 現在の測定方法には 1) 感度 2) 分解能 (選択性) 3) シグナル局在化 4) 定量性等において多くの問題点があり, より正確に, より生体機能に密着した生化学的情報をもたらす新しい測定方法の開発が求められている。本研究は, これらの問題を克服するための最適化多重パルス系列を考案し, in vivo NMR スペクトロスコピーにおける新しい測定方法を開発することを目的とする。

結果と考察

1) in vivo NMR における多重パルス系列解析プログラムの開発。

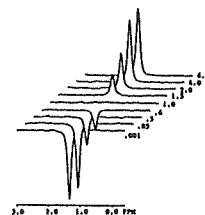
1980年に surface coil プローブが導入されたことにより, in vivo NMR スペクトロスコピーは動物, 人体への応用が可能となるなど大きく発展した。しかし, surface coil のような空間的に不均一な高周波磁場を作るコイルによる NMR 測定 (RF 励起, 検出) の場合には測定領域の形状, 大きさ, 位置が, パルス幅, 繰り返し時間, 緩和時間, オフ・レゾナンス周波数, 被測定物の空間的位置等に依存し, 更に多重パルス系列によるスピンの応答は, シグナル強度のみならず位相も空間的に変化する。従って, in vivo NMR における新しい多重パルス系列の開発にあたっては, これらの問題を考慮し, 任意の形状と大きさのコイル (空間的に任意の高周波磁場分布を作る) による任意の多重パルス系列に対するスピン系の応答を上述のパラメータを関数として空間分布を含めて解析できる方法を確立することが不可欠である。我々は, このような in vivo NMR に固有のスピン・ダイナミクスの解析を可能とする理論計算プログラムを開発した。図1にこのプログラムを用いて解析した円状の surface coil による

EXORCYCLE の phase cycle を含む spin echo パルス系列に対するスピン系の応答の XZ 面における空間分布 (シグナル強度) を表示した。このような解析から測定をさらに局在化し, 定量性を向上させるために, 位相が180度異なるコイル周辺の high flux 領域のシグナルをどの程度除去する必要があるのか明らかになり, 新しい多重パルス系列を構築するのが容易になった。



2) 脳内代謝物の縦緩和時間測定法の開発。

代謝物の緩和時間は, シグナルの定量的解釈に不可欠であるだけでなく, 細胞内における代謝物の存在状態を知るうえでも重要な情報を与える。これまで surface coil を用いた多くの縦緩和時間測定法が提案されてきたが, surface coil によっては完全な180度反転パルスを作ることが困難であるために, いずれの場合も正確さを欠くものであった。また, H-1 NMR により各代謝物の緩和時間を測定しようとする, 更に 1) 検出系のダイナミック・レンジの問題 2) スペクトル分解能の問題 3) シグナル同定の問題等の困難が生じ, この為これまで代謝物, 例えば脳内乳酸の縦緩和時間を測定することは不可能であった。我々は, これらのすべての問題を解決する新しい多重パルス系列を考案した。図2にこの新しい多重パルス系列によるウサギ脳内乳酸の縦緩和時間の測定例を示す。図から明らかなように脳内乳酸のシグナルが選択的に検出され, しかもシグナルは完全に反転しており, その緩和過程が正確に解析できることがわかる。また, 第1項で開発したプログラムによる解析によっても測定領域全体にわたって100%のシグナルの反転が確認された。更に, ここで開発した多重パルス系列を応用すれば個々の代謝物の変化に基づく新しい画像診断法も可能であり, spectroscopic imaging の道を開くものと思われる。



in vivo ¹³C NMR によるラット脳グルコース代謝の研究

矢野登志雄, 渡辺倫子, 荻野孝史

NMR スペクトロスコピー (MRS) 法は, 生体内の物質代謝を, 無侵襲・非破壊的に計測できる手段として注目されている。本研究は, 前年度において開発した in vivo NMR 測定のための基本システムの改良を行うとともに, ラット脳大脳皮質領域を対象として, 脳内のクエン酸回路の回転と密接につながっているグルタミン酸やグルタミン等のアミノ酸の代謝測定を可能とすることにより, 近年, 変性疾患との関連に於て注目されている, 興奮性アミノ酸神経伝達物質の代謝研究をも射程に収め得る, 脳内のグルタミン酸代謝コンパートメンテーションの in vivo 研究法の確立を目的とするものである。

方 法

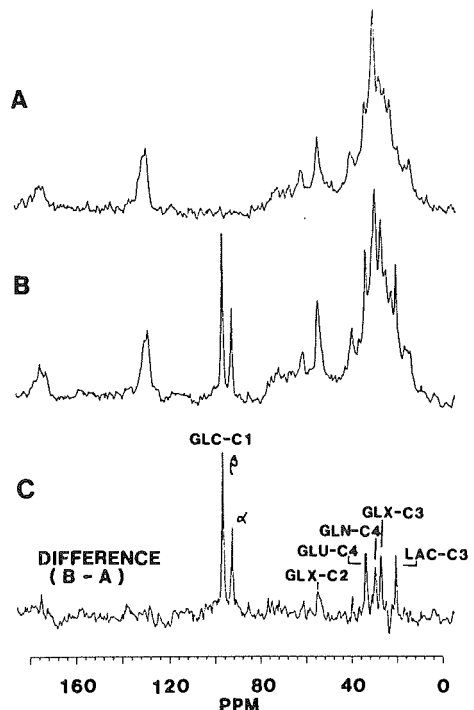
日本電子製 GX-270 ワイド・ボア NMR スペクトロメーター用として我々が開発した, in vivo ¹³CNMR 検出用高感度コイル/プローブに, 24時間絶食後の体重200g 前後のラットを自作の樹脂製ホルダーを用いて固定した。ラットは筋弛緩剤により無動化し, 気管カニューレを介し, 笑気62%, 酸素38%の混合気による調節呼吸とした。左脚大腿部動脈カニューレにより血圧測定を行い, 静脈カニューレにより¹⁻¹³C グルコースをインフュージョンポンプを用いて投与した。信号検出時4 W, それ以外は20mW の ¹H デカップリングを行いながら, 4分30秒で540回の信号積算を行い, この測定を5分毎に繰り返した。

結果と考察

¹⁻¹³C グルコース投与前の対照スペクトル (図1A) では, 脳の脂質成分に由来すると思われる C=O (175ppm), C=C (130ppm), C-N (60ppm), C-C (30ppm) のピークのみが観察された。¹⁻¹³C 標識グルコースを投与すると, β, αの各異性体由来するピークが97ppm及び93ppm に出現する。このピークは投与開始後5分以降, 40分に渡り極めて安定して観測された。これは, 標識グルコースの血中濃度安定化の為に作製したインフュージョン・スケジュールが, 所期の性能を発揮している事を示している。更に, 時間の経過と共に, 20~40ppm 付近に, 標識グルコース代謝物の新たなピークが出現した。また, 6%の低酸素負荷を行うことにより, 乳酸 (LAC) の生成を容易に追跡することができた。図1B に低酸素負荷後 10-15 分の時点でのスペクトルを示す。これと対照との差スペクトルが,

図1C に示されており, 容易にグルタミン酸 (GLU) とグルタミン (GLN) の C4 位のピークを分離・同定することができる。C-3位, C2位のピークは各々同定できるが, 使用した磁場強度では, 両アミノ酸間でのケミカルシフトが接近しているため, グルタミン酸とグルタミンを合わせたもの (GLX) となっている。

このように, 我々が開発した in vivo ¹³CNMR 検出用高感度コイル/プローブと動物実験系の組合せにより, 5分間の時間分解能で, ラット大脳皮質領域における, 標識グルコースとその代謝物の動態を追跡することが可能となった。今後, データのより詳細な解析を可能とするために, スペクトル採取と並行して, 脳波を始めとする更に多くの生理的パラメータの, 同時採取を行えるように, 改良を継続する必要がある。今回開発したシステムは, 横型超伝導磁石を持つ, 本格的動物実験用 NMR 装置への直接応用が可能であるのみならず, ヒト臨床用 NMR 装置の開発に対しても, 重要な測定技術を提供する点で, 意義の大きいものであると考えている。



9. 微細構造研究部

1. 研究部一年の歩み

本研究部では従来通り、神経筋疾患の病態生理、培養細胞を使用しての細胞生化学、神経疾患のモデル動物を用いての解析を中心とした活発な研究が進められた。

本年度は流動研究員の禹満が辞し、後任として大滝悦生（久留米大学小児科）が加わった。無給ではあるが週4日以上勤務している研究生も3人以上と、いつも多くの研究生が参加し研究室は活気に溢れている。

(1) ミトコンドリア脳筋症の病因解明に関する研究

ミトコンドリア病の疑いをもたれ筋生検を依頼される症例は年間100例を超える。ミトコンドリア異常の診断が確定した例では培養細胞による検索も行っている。本年度は特に複合体IVにつき、剖検筋のサブユニットの分析、電顕細胞化学染色の確立、DNA分析、培養細胞での活性の再現性につき検討した。

(2) 神経筋疾患の診断と組織及び細胞バンクの確立。

神経筋疾患患者の生検筋の検索依頼は年間400をこえる。これらの例に組織化学的染色を行い診断を確定し、検体は -70°C で保管している。研究に必要な時にこのバンクから他の部や全国の大学、研究所に資料を貸し出している。また各種神経筋疾患の皮膚、筋培養細胞についてもバンクを作り、供給を開始している。

(3) 胸線筋様細胞の生物学的研究

胸線筋様細胞をクローン化し、その生物学的作用について研究を進めている。筋様細胞からはIL-1様のTリンパ球に作用する因子と、造血系に作用する二種のコロニー刺激因子が産生されていることを明らかにした。

(4) 神経筋疾患モデル動物の病因解析

Shaking rat Kawasaki (SRK) は実験動物中央研究所で見出され、相川らが命名した中枢神経系の発生異常を示す新しい mutant である。この動物は神経細胞の migration の異常をみるもので、神経発生の研究に、また多くの神経疾患（福山型先天性筋ジストロフィー、lissencephaly）のモデル動物として今後広く活用されるものと期待されている。

そのほか先天性ミオパチーの病理学的研究、進行性筋ジストロフィーの再生に関する研究、中枢神経系に対する中毒物質によるモデル動物の作成など多くの研究が進行中である。

（部長 埜中征哉）

II 研究業績

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Woo M, Tanabe Y, Ishii H, Nonaka I, Yokoyama M, Esaki K :
Muscle fiber growth and necrosis in dystrophic muscles : a comparative study between *dy* and *mdx* mice
J Neurol Sci 82 : 111-122, 1987
- 2) 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 9 : 9-15, 1987
- 3) 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 14 : 525-530, 1987
- 4) 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 Inherited Metab Dis 10 : 284-288, 1987
- 5) Yamanaka R, Nomura Y, Segawa M, Nonaka I :
MELAS, myclonus, ataxia and deficiencies of complexes I and IV in muscle mitochondria
Acta Paediatr Jpn 29 : 761-767, 1987
- 6) Higuchi I, Nonaka I, Usuki F, Ishiura S, Sugita H :
Acid maltase deficiency in the Japanese Quail ; early morphologic event in skeletal muscle
Acta Neuropathol 73 : 32-37, 1987
- 7) Higuchi I, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
Immunohistochemical localization of AMP deaminase in rimmed vacuoles in human skeletal muscle
Muscle Nerve 10 : 790-800, 1987
- 8) Usuki F, Ishiura S, Nonaka I, Sugita H :
 α -glucosidase isoenzymes in normal and acid maltase-deficient human skeletal muscle

Muscle Nerve 11 : 365-371, 1988

- 9) Sugita H, Arahata K, Ishiguro T, Suhara Y, Tsukahara T, Ishiura S, Eguchi C, Nonaka I, Ozawa E :
 Negative immunostaining of Duchenne muscular dystrophy (DMD) and mdx muscle surface membrane with antibody against sythetic peptide fragment predicted from DMD cDNA
 Proc Jpn Acad 64-B : 37-39, 1988
- 10) Chung SJ, Nonaka I :
 A morphometric study of muscle mitochondria in cytochrome c oxidase deficiency
 J Neurol Sci 83 : 269-282, 1988
- 11) Hiroshima K, Nakahara H, Taga I, Nonaka I :
 Congenital contracture of quadriceps femoris muscle. A type of monomuscular involvement of neuropathic arthrogyriposis
 Neuro-Orthopedics 5 : 52-55, 1988
- 12) Inagaki M, Hashimoto K, Yoshino K, Ohtani K, Nonaka I, Arima M, Kobayashi M, Sugiyama N :
 Atypical form of Menkes kinky hair disease with mitochondrial NADH-Co Q reductase deficiency
 Neuropediatrics 19 : 52-55, 1988
- 13) 於保祐子, 鈴木義之, 埜中征哉 :
 低カリウム性周期性四肢麻痺, 近位筋力低下を呈し, 核崩壊を主病変とする筋原性変化を認めた1
 女児例
 脳発達 19 : 519-521, 1987
- 14) Ishiura S, Anraku H, Kamo I, Koizumi H, Arahata K, Sugita H :
 Isolation of a Ca-dependent erythrocytic protein (perfolin) from cytotoxic T-lymphocytes
 J Biochem 102 : 9-12, 1987
- 15) Sakuragawa N, Sato M, Kamo I, Arima M :
 Therapeutic effects of dipolar aprotic substances on Nieman-Pick cells
 Acta Paediatr Jpn 29 : 433-440, 1987
- 16) Aikawa H, Suzuki K :

II 研究業績

Experimental chronic subdural hematoma in mice :

J Neurosurg 67 : 710-716, 1987

17) Kikuchi A, Kamo I, Fujisawa K, Nonaka I :

Semi-quantitative immunohistochemical studies on Thy-1 antigen expressed by thymic myoid cells

J Neuroimmunol 17 : 217-228, 1987

18) 赤堀 宏, 後藤真知夫, 山田満彦, 石井弘子, 埜中征哉 :

フリーズフラクチャー法による膜内粒子の観察

医生物走査電顕 16 : 49-50, 1987

b. 著 書

1) 埜中征哉 :

臨床のための筋病理入門, 日本医事新報社, 東京, 1987

2) 埜中征哉 :

筋生検

今日の小児診断指針 (前川喜平, 白木和夫, 土屋 裕編), 医学書院, 東京, p354-356, 1988

3) 埜中征哉, 石原博幸 :

筋疾患

新版看護のための臨床医学体系 (中村隆一編), 情報開発研究所, 東京, P210-223, 1988

4) Aikawa H, Suzuki K :

Experimental hydrocephalus induced by 6-aminonicotinamide in suckling mice

Stroke and Microcirculation, (ed by Cervos-Navarro J & Ferst R.) Raven Press, New York, p351-360, 1987

c. 総 説

1) 埜中征哉 :

ミトコンドリア病

総合臨床 36 : 1647-1648, 1987

2) 埜中征哉 :

筋細胞の核

臨床科学 23 : 889-896, 1987

3) 埜中征哉, 古賀 靖敏, 山本雅彦 :

ミトコンドリア脳筋症の病理

神経研究進歩 31 : 624-633, 1987

4) 埜中征哉 :

進行性筋ジストロフィーとモデル動物

日本小児科学会誌 91 : 1103-1106, 1987

5) 埜中征哉 :

小児のミトコンドリア脳筋症

臨床神経 27 : 1558-1560, 1987

d. 班会議報告書

1) 埜中征哉, 石浦章一, 荒畑喜一, 植田初江, 丸山哲弘 :

ネマリニンミオパチーの進行性

厚生省精神・神経疾患・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班, 昭和62年度研究報告書, 291-295, 1988

2) 埜中征哉, 禹 満, 横山峯介, 江崎孝三郎 :

筋ジストロフィー (mdx, dy) マウス骨格筋における血管変化

厚生省精神・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年度研究報告書, 7-14, 1987

3) 埜中征哉, 江崎孝三郎, 相川久志, 津金 隆夫 :

Shaking rat Kawasaki (SRK) の臨床・神経病理学的研究

厚生省精神・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年度研究報告書, 39-75, 1987

4) 加茂 功 :

胸腺 myoid cell の生物学的作用

厚生省ガン研究助成金による「胸腺腫の生物学的特性に関する研究」班, 昭和62年度研究報告書, 19-21, 1987

5) 相川久志 :

慢性硬膜下血腫の発現機序に関する実験神経病理学的研究

厚生省精神・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, 昭和62年度研究報告書, 25-29, 1987

6) 平山恵造, 小宮山純, 古川昭栄, 池上亮介 :

II 研究業績

培養シュワン細胞・線維芽細胞によるラミニンの産生・分泌

厚生省精神・神経疾患・ニューロパチーの成因及び治療に関する研究, 昭和62年度研究報告書,
19-22, 1988

7) 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

厚生省精神・神経疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度報告書, 404-407, 1987

8) 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た円形脱毛症

厚生省精神・神経疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 昭和61年度報告書, 139-143, 1987

e. その他

1) 桼中征哉 :

ミオチューブラーミオパチー

日本臨床 45 : 305, 1987

2) 桼中征哉 :

ミトコンドリア電子伝達系酵素活性の変動性

医学のあゆみ 143 : 147, 1987

3) 桼中征哉 :

Cytochrome c oxidase 欠損症の電顕細胞化学

Medical Way 5 : 12-13, 1988

B. 学会発表

a. 特別講演・シンポジウム

1) 桼中征哉 :

ミトコンドリア脳筋症. 臨床的特徴, 小児例をめぐって (シンポジウム)

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987

2) 赤堀 宏, 後藤真知夫, 山田満彦, 石井弘子, 桼中征哉 :

フリーズフラクチャー法による膜内粒子の SEM 観察

第16回医・生物 SEM シンポジウム, 別府, 11. 4, 1987

b. 国際学会

1) Aikawa H, Imai T, Nonaka I :

Shaking rat Kawasaki (SRK) : A new neurological mutant in the Wistar rat

63rd Annual Meeting of American Association of Neuropathologists. Seattle,
6. 11- 6. 14, 1987

c. 一般学会

- 1) 禹 満, 石井弘子, 埜中征哉, 横山峯介, 江崎孝三郎:
筋ジストロフィー (mdx, dy) マウス骨格筋における血管変化
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 2) 山本雅彦, 古賀靖敏, 禹 満, 埜中征哉, 石原傳幸:
いわゆる慢性進行性外眼筋麻痺 (CPEO) の筋組織化学的, 生化学的検討
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 3) 荒畑喜一, 埜中征哉, 杉田秀夫, 石原傳幸, 福永秀敏:
顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSH) に認められる細胞浸潤の表面マーカーによる解析
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 4) 武田伸一, 庄司進一, 柳沢信夫, 埜中征哉, 小口喜三夫:
先天性ミオパチーの筋構造蛋白に関する研究 - Central Core 病を中心に -
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 5) 春原経彦, 亀井敦行, 富 英明, 埜中征哉, 里吉栄二郎:
Rimmed vacuole を伴う家族性遠位ミオパチー
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 6) 古賀靖敏, 禹 満, 山本雅彦, 埜中征哉:
Complex I 欠損症の臨床および病理学的検討
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 7) 今井尚志, 埜中征哉, 平山恵造:
Kugelberg-Welander 病の生検筋の病理組織学的検討
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 8) 北 道子, 鈴木秀典, 岩川善英, 埜中征哉:
急性期にミトコンドリア代謝異常を伴った多発性筋炎の一例
第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987
- 9) 穴倉啓子, 大沢真木子, 鈴木暘子, 斉藤加代子, 山口規容子, 福山幸夫, 埜中征哉, 杉江秀夫:
Cytochrome c oxidase 欠損症における臨床的組織学的検討
第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

II 研究業績

10) 志倉圭子, 桵中征哉:

急性呼吸不全を繰り返すミトコンドリアミオパチーの一例 (Cytochrome c oxidase 欠損)

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

11) 内藤春子, 金 鐘栄, 池田喜久子, 花岡 繁, 二瓶健次, 桵中征哉:

急激な経過を辿り, NADH・CoQ reductase の低下を示した mitochondrial encephalomyopathy の乳児剖検例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

12) 佐藤誠一, 鳥越克己, 遠山 潤, 東條 恵, 桵中征哉, 古賀靖敏, 田中雅嗣, 小沢高将, 高橋亮一:

複合体 I 欠損症の1女兒例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

13) 佐々木俊, 志倉圭子, 熊谷公明, 須貝研司, 桵中征哉:

ミオチューブラーミオパチーの組織化学的検討

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

14) 内山由三, 片山 弘, 藤本清一, 依田忠雄, 古賀靖敏, 桵中征哉:

閉塞性脳血管障害を反復した mitochondrial myopathy, encephalopathy, lactic acidosis, and strokelike episodes (MELAS) の1例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

15) 武田伸一, 柳沢信夫, 桵中征哉:

Myotubular myopathy の筋構造蛋白に関する研究

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

16) 沖野栄蔵, 岡田良甫, 井幕充彦, 久原とみ子, 松本 勇, 桵中征哉:

神経・筋症状を呈した乳児重症型チトクローム c オキシダーゼ欠損症の同胞例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

17) 岩崎裕治, 須貝研司, 桜川宣男, 有馬正高, 桵中征哉:

Neuronal ceroid lipofuscinosis の一例——筋生検および TRH 療法を中心とした検討

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

18) 於保祐子, 鈴木義之, 桵中征哉:

低カリウム性周期性四肢麻痺, 近位筋力低下を呈し, 核崩壊を主病変とする筋原性変化を認めた一女兒例

第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987

- 19) 山田和孝, 岩崎裕治, 長 博雪, 舟橋満寿子, 鈴木康之, 古賀靖敏, 埜中征哉, 柿沼宏明, 山本重則:
糖代謝異常によって気付かれたカルニチン欠損症の一例
第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987
- 20) 稲垣真澄, 橋本和広, 吉野邦夫, 大谷恭一, 埜中征哉, 有馬正高, 杉山成司:
NADH・CoQ reductase 欠損を認めた Menkes kinky hair disease 非定型例
第29回日本小児神経学会総会, 東京, 7. 2, 1987
- 21) 大滝悦生, 古賀靖敏, 埜中征哉:
神経原性病変とミトコンドリア電子伝達系の関連性
第30回日本先天性代謝異常学会総会, 松山, 11.12, 1987
- 22) 古賀靖敏, 埜中征哉, 加茂 功, 大滝悦生, 菊池愛子, 田中雅嗣, 小沢高将:
複合体IV欠損症における臓器特異性
第30回日本先天性代謝異常学会総会, 松山, 11.12, 1987
- 23) 中山光喜, 森田 潤, 吉田一郎, 芳野 信, 山下文雄, 古賀靖敏, 埜中征哉:
骨格筋チトクローム c オキシダーゼ欠乏症の1例
第30回日本先天性代謝異常学会総会, 松山, 11.12, 1987
- 24) 埜中征哉, 古賀靖敏, 大滝悦生, 菊池愛子:
Cytochrome c oxidase 欠損症の酵素活性組織特異性に関する組織化学的研究
第30回日本先天性代謝異常学会総会, 松山, 11.12, 1987
- 25) 加茂 功:
マウス胸腺細胞の増殖
第46回日本癌学会, 東京, 9. 8, 1987
- 26) 相川久志, 鈴木衣子:
代謝拮抗剤 (6-AN) による実験的水頭症
第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 27, 1987
- 27) 相川久志, 鈴木衣子:
急性ニコチン酸欠乏動物の病理学的研究—実験的ペラグラについて—
第28回日本神経病理学会総会, 東京, 6. 2, 1987
- 28) 菊池愛子, 藤沢加津美, 加茂 功, 埜中征哉:
筋細胞分化と Thy - 1 抗原発現における変化
第60回日本生化学会総会, 金沢, 10. 13, 1987

II 研究業績

29) 赤堀 宏, 斉藤 司, 鈴木 叶, 石井弘子:

シャープペンシルの替芯を利用したカーボン蒸着法

第43回日本電子顕微鏡学会総会, 横浜, 5. 28, 1987

30) 小宮山純, 平山恵造, 新井 洋, 加茂 功, 古川昭栄:

重症筋無力症のステロイド治療に伴う初期増悪:免疫学的検討

第28回日本神経学会総会, 東京, 5. 24, 1987

C. 班会議発表

1) 埜中征哉, 大滝悦生, 古賀靖敏:

神経原性病変とミトコンドリア電子伝達系の異常

厚生省精神・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62年度班会議, 東京, 12. 8, 1987

2) 埜中征哉, 石浦章一, 荒畑喜一, 伊井邦雄, 植田初江:

ネマリンミオパチーの進行性

厚生省精神・神経疾患・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班, 昭和62年度班会議, 東京, 12. 5, 1987

3) 加茂 功, 藤沢加津美, 埜中征哉, 菊池愛子:

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, 東京, 1. 23, 1988

4) 里吉栄二郎, 古川昭栄, 加茂 功, 赤沢左衛子:

実験的筋炎モデル動物の作製に関する研究—自己免疫疾患抗原物質のモノクローナル抗体による解析

厚生省低分子酵素阻害物質による難病治療薬開発研究班, 東京, 3. 22, 1988

5) 加茂 功:

胸腺 myoid cell の生物学的作用

厚生省がん研究助成金による「胸腺腫の生物学的特性に関する研究」班 10. 30, 1987

6) 相川久志:

慢性硬膜下血腫の発現機序に関する実験神経病理学的研究

厚生省精神・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総会 東京, 1987

7) 平山恵造, 小宮山純, 古川昭栄, 池上亮介:

培養シュワン細胞, 線維芽細胞によるラミニンの産生・分泌 (第1報)

厚生省精神・神経疾患・ニューロパチーの成因及びに治療に関する研究班総会, 東京, 1. 21, 1988

8) 小宮山純, 平山恵造, 新井 洋:

重症筋無力症のステロイド治療に伴う初期増悪と日内変動の逆転現象

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班総会, 東京, 1. 23, 1988

9) 小宮山純, 平山恵造, 新井 洋:

全身型重症筋無力症におけるステロイド・胸腺摘除併用療法:長期経過観察例での検討

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班総会, 東京, 1. 23, 1988

D. 研究会など

1) 相川久志:

脳の神経細胞の配列について

第1回 Bioscience in Tokorozawa 所沢 3. 23, 1988

3. 主な研究報告

Cytochrome c oxidase 電顕染色の生検筋への応用

埜中征哉, 古賀靖敏, 大滝悦生

Cytochrome c oxidase (CCO) 欠損症は症状が多様であることが知られていて、臨床的、病理的所見より①乳児致死型、②乳児良性型、③脳筋型、④部分欠損、⑤その他 (Menkes, Alpers 病など) に分けられている。脳筋型でも発症が乳児期と早く、急速な進行をとるものから、学童期以降に発症し緩徐な進行を示すものまでと幅が広い。

このような症状の多様性は侵される組織が症例ごとにより異なること (組織特異性) が大きな意味を持つと考えられている。我々は生検筋内の組織 (筋線維, 血管, 筋紡錘) でも CCO 活性の有無が異なることを指摘してきた。その組織特異性をさらに細胞レベルで解析するため、CCO 活性を電顕的に証明することを試みた。生検組織に電顕細胞化学染色が応用できなかったのは、染色液の組織内への浸透が悪いためであった。そこで二つの方法でその問題を解決した。

方法

①筋線維ときほぐし法: 生検筋を 2% グルタル液 (15分) で固定後、燐酸緩衝液内で 1~数本の線維にときほぐし、その後 Seligman らの方法で CCO 染色を行い OsO₄ 固定, Epon 包埋した。

②凍結切片法: 組織化学用に凍結固定したブロックから 20 μm の切片を作成、グルタル液で固定してから Seligman らの方法で CCO 染色を行い OsO₄ で固定, 脱水 Epon 包埋した。

結果と考察

①②何れの方法でも正常筋では全てのミトコンドリアが陽性に染出された。凍結切片では組織の破壊は多少あったが、組織特異性を検索する上で支障はなかった。

ミトコンドリア脳筋症では症例ごとによりミトコンドリアの CCO 活性は著明な組織特異性を示した。乳児致死型では筋線維に CCO 活性はなかったが、血管、線維芽細胞には活性が存在した。脳筋型で急速増悪するものは筋内血管の内皮細胞、平滑筋のミトコンドリア CCO 活性はなかったが、脳筋型の軽症例では内皮細胞には活性を認めた (図 1)。今回検索した症例のまとめを表 1 に示した。このような組織特異性は何に起因するか未解決であるが、CCO を構成するサブユニットに組織特異性のあることも一因と思われる。

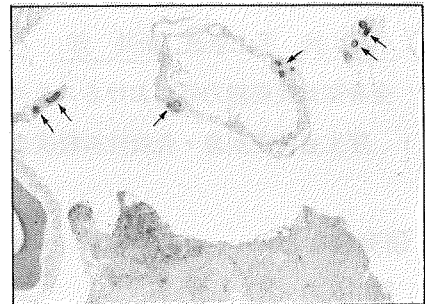


図 1: 血球, 血管のミトコンドリア (矢印) には活性はあるが, 筋内のミトコンドリアには活性 (-)。CCO 染色。

SUMMARY OF CCO ACTIVITY ON ELECTRON MICROSCOPY

Age/ Sex	Muscle Fibers	Fibroblasts	Arterioles	
			Endothelial Cells	Smooth Muscles
CONTROLS				
1 8m M	+	+	+	+
2 5y F	+	+	+	+
3 6y F	+	+	+	+
CCO DEFICIENCY				
Fatal infantile form				
4 28d M	-	+	+	+
Benign infantile				
5 2y M	M	+	+	+
Encephalomyopathic				
Severe (acute)				
6 2y M	-	-	-	-
7 2y F	-	-	+	-
Chronic				
8 14y M	M	+	+	M

M: Mosaic distribution of cco positive and negative cells

胸腺筋様細胞の産生するコロニー刺激因子

加茂 功

胸腺は免疫の中樞をなす T 細胞の成熟分化が行われる器官である。胸腺特有の微環境を形成するストロマ細胞がリンパ球の分化増殖に関与していることがクローン化上皮性細胞性を使って明らかになりつつある。胸腺骨格筋様細胞はストロマを構成する一員であるが、生物学的意義は不明な点が多かった。そこでこの細胞をクローン化し、これまで種々の生物学的作用について検討してきたところ、IL 1 様の胸腺リンパ球に対する因子と、造血系に作用するコロニー刺激因子 (CSF) が産生されていることが判明している。本報では CSF についてさらに検討した。

材料と方法

コンディションドメディアの作製:ウイスターラット胸腺由来 R615B 2 細胞を RPMI 1640+10% 牛胎児血清の条件で 3 日培養し、その上清を 3000 rpm 30 分遠心後、得これを出発材料とした。

CSF のアッセイ: 3 週令メス・ウイスター系ラットの胸腺又は骨髓細胞を使用し、それぞれ $1 \sim 2 \times 10^6$ / ディッシュ、 2×10^6 / ディッシュの割合で軟寒天上にまき $1 \sim 2$ 週目に出現するコロニーを同定した。

コロニー形成細胞のモノクローナル抗体による同定: sera lab, MAS 027 (anti-Thy 1.1); serotec MCA 44 (anti-Thymocyte, brain, follicular, dendritic cell, endothelium, smooth muscle, B cell); MCA 48 (anti-cytotoxic T/ suppressor T, Thymocyte, Natural Killer); MCA 55 (anti-helper T, Thymocyte, Macrophage); MCA 275 (anti-Macrophage, granulocyte, dendritic cell) 等のラット表面マーカーに対するマウスモノクローナル抗体を第一次抗体として用い、二次抗体としては抗マウス、ウサギを用いて、コロニー形成細胞の表面抗原を同定した。

培養上清の分画: 培養上清に硫酸を加え 0-45% 画分、45-90% 画分を得た後、生理食塩水に対して透析し、最後に RPMI 1640 に対して透析した。

結果と考察

未分画の胸腺筋培養上清を骨髓又は胸腺の液体培養に加えると細胞の増殖促進が認められた。アガロース培養中の細胞に加える主に 2 つの異なる形態を呈した比較的大型の細胞が 1 週前後より認められた。

硫酸画分 0-45% と 45-90% をそれぞれアガロース培養中の細胞に加えた時には 0.45% 画分の培養に

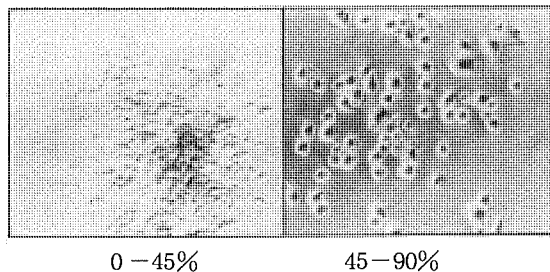
は中～小型の細胞が認められ、45-90% 画分の培養系ではやや大型の細胞を認めた。これらのコロニー形成細胞を集めて、それぞれの分画を加え、さらに $1 \sim 2$ 週培養後表面マーカーの検出を行った (表 1, 図 1)。

0-45% 画分で刺激増殖してくる細胞は用いたマーカーに対する抗体とは殆ど反応しないところからノーマーカー細胞、ヌル細胞、または Pro-thymocyte と考えられる。一方 45-90% 画分で増殖してくる細胞はマクロファージ、デンドリティック系細胞のマーカーを有する細胞であったが 2-3 週目の細胞には明確な貧食能はみとめられなかった。

以上のことからわかるようにラット胸腺筋様細胞からは T 細胞系に作用する因子の他に造血系にも作用する少なくとも 2 種の CSF を産生していることが判明した。現在のところ、0-45% 画分は IL 3 に類似するがリンパ球以外の細胞からの IL 3 の産生は知られておらずその類似性に興味を持たれる。

Table 1

Antibody	Specificity (respond to)	results	
		0-45%	45-90%
OX 7	Thy 1.1	0	0
MRC OX 2	Thymocyte, Neural, Endothelial and Follicular dendritic cell, B, Smooth muscle	2	13-27
MRC OX 8	Tc Ts, Thymocyte, NK	0	7
W 3 25	Th, Thymocyte, Macrophage		15-20
MRC OX42	Macrophage, Granulocyte, Dendritic cell	0	7-16



慢性硬膜下血腫の実験神経病理学的研究

相川久志

慢性硬膜下血腫は脳神経外科領域において、最も頻繁に見られる疾患の一つであり、原因として架橋静脈の破綻によると考えられているが、今日まで適当な実験系が無いため血腫形成の機転や再出血の機序に関して不明な点が少なくない。

筆者は近年ニコチン酸代謝拮抗剤(6-AN)による実験的水頭症モデル動物を開発し、形態学的特徴を明らかにしてきた。

この実験的水頭症マウスの研究過程で、水頭症マウスの多くに自然発症の硬膜下血腫が高率に合併し、末期には新生被膜をもった慢性硬膜下血腫に発展する事を発見したので報告する。

方法

本実験には総数48匹のICR系新生仔マウスを使用した。新生仔マウスを実験群38匹と対照群10匹の2群に大別し、生後5日目に、実験群のマウスにはニコチン酸の代謝拮抗剤である6-aminonicotinamide(6-AN)を体重当たり25 mg/kg、対照群のマウスには同量の生理食塩水を1回腹腔内注射した。両群のマウスは投与20日目以降、経時的に2.5%グルタル溶液にて灌流固定を行い、形態学的検索に供した。

結果

1. 血腫の肉眼的所見

使用した動物が白色マウスであった為、凡その出血時期を外から肉眼的に確認する事が可能であった。初期群のマウスは脳割断面において、側脳室の著名な拡大と脳室内出血に加えて、頭蓋骨と脳の間血液の貯留を認めた(subdural hemorrhage)。脳実質内には出血を認めなかった。硬膜下出血は頭頂葉から後頭葉にかけて薄く帯状に存在し、時に、脳底部にまで達していた。しかし、この初期の出血は器質化しておらず、固定・包埋の際、流失してしまう傾向があった。中間期になると徐々に器質化が見られ、レンズ状をした茶色の血塊が硬膜下に付着して認められた。後頭葉は膜様に薄くなり、多くの場合穿孔していた。後期には血塊は器質化された球状の血腫となり、周囲に器質化されていない血塊が残存していた。血腫は肥厚した外膜と薄い内膜の2葉の膜構造物に囲まれていた。多くの例で、拡張した側脳室は陥頓し変形していた(図)。

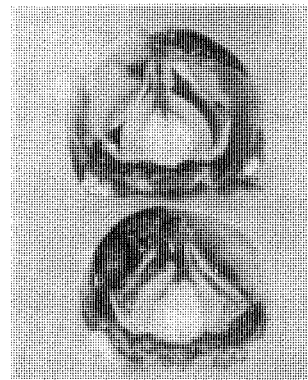
2. 血腫の光顕的観察

初期の出血は帯状の新鮮血として硬膜内、くも膜下、及び軟膜下に認められた。マクロファージなどの炎症性反応は早期にはみられなかった。中間期及び後期群のマウスでは紡錘型又は球状の器質化した血腫が肉眼的硬膜下に認められた。血腫の周囲、特に外膜部には多数の線維芽細胞やマクロファージが存在し、時に石灰化が認められた。内膜は数層の扁平な細胞と内壁の薄い血管より成り、外膜と連続していた。多くの場合、硬膜-くも膜境界部と思われる部分が内膜に認められた。初期に見られなくも膜下出血や軟膜下の出血はもはや認められなかった。血腫自体は無数の赤血球ゴーストや線維芽細胞より成り、中心部に索状のフィブリンの帯が存在していた。後期における新鮮血、すなわち、再出血は常に血腫の外膜部に認められたが、再出血周辺部の多数の血管には病的変化は認められなかった。典型的な硬膜内血腫は少数ながら大脳鎌の部分に認められた。

考察

本研究は自然発症的な硬膜下血腫を初めて動物に作製したものであり、血腫は形態学的にヒト慢性硬膜下血腫と酷似している。

6-AN 惹起性水頭症マウスに併発した硬膜下血腫は閉塞性水頭症が進展し、後頭葉の皮質が穿孔するため、大脳皮質が急激に圧縮され、その際、架橋静脈の牽引・破綻が起こり出血すると考えられる。本実験系は病理形態学的にヒト慢性硬膜下血腫に酷似する自然発症の慢性硬膜下血腫であり、今後の研究によりヒト慢性硬膜下血腫の種々の問題点が解明されるに違いない。



抗 Thy 1 抗体の筋管形成抑制能について

菊池愛子 松岡（藤沢）加津美

筋細胞は、細胞相互が接触、融合してはじめていわゆる筋肉を構成する。細胞が融合すると、細胞の内部に一連の変化が起こり、DNA 合成が停止し、CK 等の特異酵素タンパクがつくられ、次第に筋線維が作られていくといった一連の過程については、非常に研究が進んでいる。しかし、筋の融合にさいして、細胞相互の認識や、融合そのものに、どんな物質が関与するかは、いまだに不明である。

これまで私達は、この、細胞間の認識や融合に深く関わっていると思われ、細胞表面の構成要素である、抗原や接着に必要な物質を検索するための確立を目的として、数少ない筋細胞の表面抗原として知られる Thy 1 抗原に着目し、その検出方法を確立し、ついで Thy 1 抗原表現の筋分化に伴う動態を検討してきた。これまで確立した定量法を用いて、

Thy 1 抗原表現が筋細胞分化に伴い、細胞表面並びに細胞内抗原の存在量が変化することや、また、細胞外に分泌または放出される Thy 1 抗原を初めて見いだすなどの知見を得た。今回は其の抗原の機能を探る為に、抗 Thy 1 抗体の筋管形成におよぼす効果を調べた。

材料と方法

ラット胸腺由来筋様細胞クローン R615B2 細胞を対象に、予め Thy 1、モノクロナル抗体を透析し、グロブリン量を測定後、一定量の抗体を筋細胞培養に加えた。筋管形成は CK 値を指標として検討した。

結果

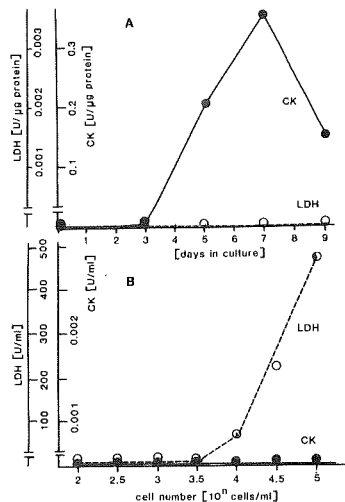
1. 筋分化の程度を、cellular CK を指標として調べた。R615B2 については、第1図の B のように、培養前には、いかなる細胞数でも、LDH(-)CK(-)であった。しかしこの R615B2 も、蛋白あたりの比活性を経時的に調べると第1図の B のように、LDH は培養日数に関わらず一定だが、CK は培養の進行と共に著しく上昇し、培養4日に最高値を示した。2. 抗 Thy 1 抗体の添加時期を培養直後、4、24、48、72、120の時間とかえたところ、4時間の点で、最も強く筋管形成が抑えられ、72時間以後では、殆ど筋管形成は阻害されず、コントロールと変わりなかった。3. 抗 Thy 1 抗体は、同じ、抗体濃度の、対照血清や腹水に比べ、R615B2 の筋管形成を明らかに抑制していた。別表は R615B2 細胞を 10^4 個、96ウェルマイクロプレートに培養して、培養開始4時間後に、抗 Thy 1 抗体を加え、5日後

CK 測定を行った結果である。

考察

Thy 1 抗原は immunoglobulin super gene family の中でも、最も古くから知られているにも関わらず、物質としては、完全な形での単離が出来なかったために、細胞膜との結合部位、いわば膜に対する礎の部分のアミノ酸配列が不明で、最近分子生物学的手法から明らかにされたばかりである。その生物学的機能は今だ不明だが、ごく最近自己免疫疾患の例が2、3知られるようになった。またミトコンドリア脳筋症には臓器間で異なる酵素欠損症が示されることがあるが、その機構は今だ明らかでない。Thy 1 抗原は、動物種によるアロタイプや、その組織特異性が近年免疫学的差異だけでなく、特に血球と神経間の異間については分子生物学的にもあきらかになった。今後は、筋 Thy 1 抗原について、本研究で明らかにした、液性 Thy 1 抗原、細胞内抗原の本体を究明し、神経、筋疾患の組織特異性の成立機序の解明に寄与して行きたい。

図 1



Aided at (hours after culturing)	Dose (μg/ ml)	Anti Thy 1 Antibody	CK activity		Cell protein (mU/ mg)
			Control ascites	Medium alone	
Exp. 1	4	200	N.D.	72.577 ± 10.970	-
		40	23.340 ± 1.264	139.132 ± 9.350	-
		8	104.742 ± 4.146	162.644 ± 2.192	-
		0	-	-	162.923 ± 29.011
Exp. 2	4	125	8.810 ± 0.882	123.093 ± 10.970	127.406 ± 5.029
		48	69.700 ± 0.611	128.033 ± 1.794	113.005 ± 11.226

複合体IV欠損症における臓器特異性

古賀靖敏, 埜中征哉, 大滝悦生

電子伝達系酵素欠損症に起因するミトコンドリア脳筋症では、酵素欠損の臓器または組織分布が症例により異なり、また各臓器、組織間でのエネルギー依存性および予備能に差があることから、その症状は極めて多彩である。今回、電子伝達系酵素欠損症のなかで複合体IV欠損症について、生検筋の組織化および生化学所見と培養皮膚線維芽細胞、培養筋細胞の複合体IV活性を比較検討し、本症での臨床病理学的分類について臓器特異性および培養系での再現性に着目して考察した。

研究対照

症例は、分離筋ミトコンドリアの酵素活性およびウエスタンブロッティング法にて複合体IV欠損症と診断した4例である。乳児致死型1例は、de-Toni-Fanconi-Debre型腎尿管障害を伴い、生後15カ月目に死亡した。脳筋型3例（急性型2例を含む）はいずれも臨床的にLeigh脳症と考えられた。

研究方法

1) 生化学的検索

a) 分離筋ミトコンドリアのCCO酵素活性

生検筋よりBookelmannらの方法¹⁾でミトコンドリアを分離し、Oriiらの方法²⁾に従いCCO酵素活性を測定した。

b) 培養細胞でのCCO酵素活性

生検時に得られた皮膚、筋は、10%胎児牛血清を加えた培養液にて培養を行い、皮膚線維芽細胞、筋細胞の各培養細胞についてCCO酵素活性を測定した。

2) 組織化学的検索

a) 生検筋のcytochrome c oxidase (CCO) 染色での染色性について、筋線維、筋紡錘内筋線維、血管壁、間質結合織で光顕レベルで検討した。

b) 培養細胞内ミトコンドリアの電顕CCO染色での染色性について、電顕細胞化学的に検討した。

結果

分離筋ミトコンドリアの複合体IV活性は、コントロールの4.4-14.7%といずれも著明に低下していた(コントロール; 270.7 ± 133.0 nmol/min/mg-mitochondrial protein)。ウエスタンブロッティングでは、すべての症例で複合体IVのサブユニットの全般的減少を認め、特に乳児致死型では、複合体I, III, IVの各サブユニットの減少も認めた。CCO染色性は、筋線維において全例びまん性に低下してい

たが、急性脳筋型2例では、血管壁、錘内線維、間質結合織でも染色性が欠如していた。培養筋細胞の酵素活性値は、コントロールの13.0-20.4%といずれも低下していた。培養線維芽細胞では、血管壁および間質の染色性が欠如した急性脳筋型にてコントロールの12.5, 28.9%と著明に低下していたが、他の症例では、ほぼ正常活性を示した。培養細胞の電顕CCO染色は、コントロールではミトコンドリアの染色性にモザイクを認めたものの、皮膚線維芽細胞、筋管形成細胞でCCO活性陽性のミトコンドリアは、62.2, 75.6%であった。急性脳筋型では、CCO活性陽性のミトコンドリアは皮膚線維芽細胞、筋管形成細胞ともに見られなかった。乳児致死型、慢性脳筋型では、筋管形成細胞では、ミトコンドリアに活性は認められなかったが、皮膚線維芽細胞では認められた。

考察

全ての複合体IV欠損症では、培養筋細胞にも著明なCCO酵素活性の低下が見られ、筋線維内のミトコンドリアCCO欠損は成長に従って変動しない遺伝に規制された酵素タンパク自体の異常と考えられる。脳筋型の2急性例では、皮膚線維芽細胞でも酵素活性の低下を認め、一方慢性例ではその活性低下はなく、臨床症状の重症度と相関した。脳筋型急性例では、全身臓器のCCO活性の低下が推測され、他の病型と一次的発生機序が異なると思われる。筋培養系では、多少とも線維芽細胞の混入があるため、CCO活性値の評価は電顕組織化学所見等と併せて今後慎重に行いたい。

結語

- 1) 複合体IV欠損症4例におけるCCO活性の臓器特異性について、培養細胞にて検討した。
- 2) 今回検索した複合体IV欠損症では、培養筋細胞でのCCO活性低下が再現された。
- 3) 培養皮膚線維芽細胞系では、病型により再現性が異なっていた。

文献

- 1) Bookelmann H, et al.: Biochem Med, 19; 366 (1978).
- 2) Orii Y, et al.: J Biochem, 58; 561 (1965)

Cytochrome c oxidase 活性低下を示す疾患の多様性について

大滝悦生

乳児脊髄性筋萎縮症 infantile spinal muscular atrophy Werdnig-Hoffmann disease (WHD) は、神経原性疾患としてよく知られている。最近、我々は、生検骨格筋にて群萎縮を認め WHDと診断した6歳男児例で筋線維内に著明な脂肪滴を認め、さらに cytochrome c oxidase (CCO) 染色にて活性低下を認め、ミトコンドリア機能異常を合併していると考えた。また Fukuyama type congenital muscular dystrophy (FCMD) にも CCO活性が低下を認めた例も経験した。一方、1986年 Kelly らは、尿中に異常量のジカルボン酸を認め、ミトコンドリア内の脂肪酸代謝系路の異常を合併した WHD の一例を報告した。これらにより神経・筋疾患の中では二次的条件下にもミトコンドリア機能異常をきたす可能性があるのではないかと考え、ミトコンドリアサイトパッチー以外で WHD, FCMDを含む神経筋疾患にて組織化学的、生化学的検討を加え、さらに動物実験で除神経筋を用いて同様に特に CCO活性を中心に検討した。

対象方法

1986年～1987年に当施設にてミトコンドリアサイトパッチー以外の神経・筋疾患9例について生検筋、凍結筋よりミトコンドリアを分離し、電子伝達系酵素 NADH-cytochrome c reductase (NCCR), succinate-cytochrome c reductase (SCCR), cytochrome c oxidase (CCO) を測定、および凍結切片標本より組織化学染色を行った。また動物実験では 180-200 g Wistar 系ラット雄24匹を用いて右坐骨神経切除し、左側を対照側として1週、2週、3週後の長指伸筋 (EDL), ヒラメ筋 (SOL) についてそれぞれ同様に検討した。なおミトコンドリア分離は、Bookelman らの方法、NCCR, SCCR 測定は、Macklarらの方法、CCO 測定は、Orii の方法に従った。

結果

CCO 活性が低下した9例の内訳は、FCMD 2例 (コントロールに対して14%・24%に低下)、WHD 2例 (15%・22%)、筋ジストロフィー2例 (28%・48%)、皮膚筋炎1例 (20%)、Lowe 症候群1例 (11%)、ミオチューブラーミオパチー1例 (46%) であった。また CCO 染色では生化学的な活性値の低下とほぼ比例して染色性の低下を認めた。

ラット除神経筋では、除神経後1, 2, 3週すべて CCO 活性は、EDL, SOL, ともに対照と比較して有意に低下を認めた ($P<0.05$)。これに対して NCCR, SCCR では一部に有意に低下が認められたにすぎなかった。組織化学染色でも生化学同様、CCO 染色生の低下を認めたが、NADH-TR染色、SDH染色については変化はみられなかった。また oil red O染色では筋線維内に脂肪滴は認めなかった。

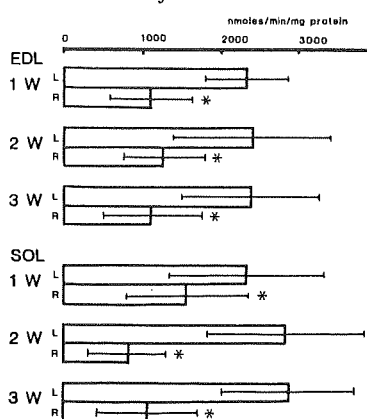
考察

WHD, FCMD は、重症の神経・筋疾患としてよく知られている。一方、ミトコンドリアサイトパッチーの中で CCO 欠損症は、多く報告されている。今回、原疾患がミトコンドリア異常と考えられていない WHD, FCMDなどの神経・筋疾患にてミトコンドリア電子伝達系酵素である CCO の活性低下が認められた。おそらく重症の神経・筋疾患の中には CCO 活性が低下している例が潜在していると思われる、動物実験の結果とあわせて考えると、二次的条件下にも電子伝達系酵素は、影響をうけ CCO 活性は、NCCR, SCCR より低下しやすいと考えた。

結論

- (1) WHD, FCMD などの重症神経筋疾患の中には、ミトコンドリア電子伝達系酵素である CCO 活性が低下をしめす例があった。
- (2) ラット除神経筋にて CCO 活性が低下した。
- (3) CCO 活性は、二次的要因により影響をうけやすいことがわかった。

CCO activity after denervation



10. 機能研究部

1. 研究部一年の歩み

昭和62年度において本研究部で研究にたずさわったのは、小沢鉄二郎、斎藤公司、吉田幹晴、萩原康子、野呂知加子、岡村和夫と後藤八重であり、川合陽子、山田圭津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、客員研究員として木村一郎（早稲田大学人間科学部 教授）および斎藤加代子（東京女子医科大学小児科学教室 講師）が参加した。また Dirk Pette（西ドイツ Konstanz 大学生物学教室 教授）が一ヶ月間滞在した。

吉田は昭和62年3月室長の木村一郎が、早稲田大学教授として転出した後を受けて昭和62年4月1日付にて北大理学部化学第二学科（八木康一教授）助手より室長として転入した。吉田は同学科大学院卒業後理学博士の称号を受け、昭和55年より57年迄 米国ミシガン州ヘンリー・フォード病院附属研究所に留学した。専門はミオシンの生化学。

岡村和夫は、当研究部において二年間、トランスフェリンの生化学およびトランスフェリンリセプターの生化学について研究した。昭和63年1月10日をもって本研究所を退職、翌日より生化学工業株式会社東京研究所に就職した。

野呂知加子は、三年間の期間にトランスフェリンと細胞周期との関係および筋サテライト細胞の増殖を促進する因子について研究を行った。昭和63年3月31日付で退職し、翌日より新技術開発事業団、古沢発生遺伝子プロジェクトに参加した。

川合陽子は二年間勤務し昭和62年7月退職、代りに山田圭津が同年同月より勤務についた。

本年も当部の年来の研究対象であるトランスフェリン、特にそのリセプターについて研究を進めた。これらは何れもまだ完成の域には達していないけれども、着実に進歩して来ている。特に現在迄トランスフェリンリセプターについては多くの研究が、細胞培養系を用いて行われて来たので、未分化の細胞の研究に限られ、分化した細胞のものは殆んどなかった。

この線上の研究とは異なるが、筋ジストロフィー症に特異的に欠乏するタンパク質が細胞膜に局在することを証明した研究を、疾病研究第一部及び微細構造研究部と共同で行った。

対外的には、小沢は厚生省 精神・神経疾患委託費による筋ジストロフィー症研究連絡協議会及び野々村班の運営幹事をつとめた。

（部長 小沢鉄二郎）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Sugita H, Arahata K, Ishiguro T, Suhara Y, Tsukahara T, Ishiura S, Eguchi C, Nonaka I,
Ozawa E :

Negative immunostaining of Duchenne muscular dystrophy (DMD) and mdx muscle surface membrane with antibody against synthetic peptide fragment predicted from DMD cDNA

Proc Japan Acad B. 64 : 37-39, 1988

- 2) Hagiwara Y, Saito K, Atsumi S, Ozawa E :

Iron supports myogenic cell differentiation to the same degree as does iron-bound transferrin

Dev Biol, 120 : 236-244, 1987

b. 著書

c. 総説

- 1) 小沢鋈二郎, 萩原康子 :

筋細胞の発生と分化

臨床科学, 23 : 751-759, 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, Hagiwara Y, Saito K :

A mechanism of action of transferrin on myotubes, differentiated cells

8th International Conference on Proteins of Iron Transport and Storage, Le Chateau Montebello, Canada, May 12, 1987

- 2) Ozawa E, Hagiwara Y :

Suppression of uptake and expulsion of transferrin in cultured rat muscle cells by dibucaine

Xth International Congress of Pharmacology, Sydney, Australia, August 24, 1987

II 研究業績

3) Saito K, Ozawa E :

Calcium sensitivity of contractile system in chemically skinned cultured chick myotube
Xth International Congress of Pharmacology, Sydney, Australia, August 27, 1987

4) Kobayashi T, Saito K, Askanas V, Engel WK, Ishikawa K :

Electrophysiologic abnormalities of myotonic atrophy (MA) muscle fibers cultured
aneurally and ones cultured and innervated by rat spinal cord

39th Annual Meeting of American Academy of Neurology, New York, USA, April
8, 1987

c. 一般学会

1) 野呂知加子, 小沢鎧二郎 :

筋サテライト細胞の増殖にかかわる因子

第40回日本細胞生物学会大会, 大阪, 11. 18, 1987

2) 斎藤公司, 吉田幹晴, 小沢鎧二郎 :

サポニン処理した培養ニワトリ筋管細胞収縮系のアルカリ土金属イオンに対する感受性

第61回日本薬理学会総会, 福岡, 3. 26, 1988 (Japan J Pharmacol 46 (suppl) : 311p, 1988

3) 小西史朗 宗時栄, 斎藤公司 :

ラット交感神経節分離ニューロンにおける伝達物質受容体反応のパッチクランプ法による解析

第61回日本薬理学会総会, 福岡, 3. 26, 1988 (Japan J Pharmacol 46 (suppl) : 103p, 1988

C. 班会議発表

1) 小沢鎧二郎, 野呂知加子 :

筋サテライト細胞の増殖にかかわる因子

厚生省精神・神経疾患：筋ジストロフィーの発症に関する遺伝子工学的基礎研究班, 昭和62年度
班会議, 東京, 12. 8, 1987

D. 研究会など

1) 小沢鎧二郎, 木村一郎, 萩原康子, 下岡正志 :

トランスフェリンの筋細胞成長促進作用と網特異性

第11回鉄代謝研究会, 東京, 11. 14, 1987

2) 萩原康子, 斎藤公司, 小沢鏝二郎 :

筋細胞の分化における鉄イオンの作用

第11回鉄代謝研究会, 東京, 11. 14, 1987

3) 野呂知加子, 小沢鏝二郎 :

細胞増殖・DNA 合成に対する効果

第11回鉄代謝研究会, 東京, 11. 14, 1987

4) 斎藤加代子, 伊井一夫, 小沢鏝二郎, 北村忠久 :

ヘモグロビンの筋細胞成長促進効果

第11回鉄代謝研究会, 東京, 11. 14, 1987

3. 主な研究報告

ニワトリ培養筋管細胞収縮系の性質

斎藤公司, 吉田幹晴, 小沢鉄二郎

我々は骨格筋の成長過程を明らかにするため、ニワトリ培養筋管細胞を用いて検討してきた。今回は収縮系のアルカリ土金属イオンに対する感受性を、新たに開発した張力記録法を用いて調べた。

方法

ニワトリ胚胸筋由来の培養筋管細胞をサポニン処理して膜に穴をあけた後、細胞をポリエステル糸で縛り張力変換器につないで張力を測定した。細胞外液の Ca^{2+} 濃度調節には EGTA buffer を用いた。troponin C (TnC) は成鶏の胸筋と心筋から調製した。

成績と考察

培養筋管細胞は外液中の Ca^{2+} 濃度を上げると図1 Aa-d に示すごとく張力を発生した。張力は $10^{-6}M$ 以上で発生し、 $2 \times 10^{-5}M$ で最大になった(図1 A●)。 Ca^{2+} を Sr^{2+} で置き換えると張力はより高濃度の $10^{-5}M$ 以上で発生し、 $10^{-3}M$ でほぼ最大に達した(○)。しかし Ba^{2+} の場合、張力の発生は $10^{-3}M$ においても不完全であった(■)。このような張力のアルカリ土金属イオンに対する感受性は、成鶏の遅筋線維(図1 C)よりも速筋線維(図1 B)のものに似ていた。さて筋原線維 ATPase 活性のアルカリ土金属イオンに対する感受性は、TnC の性質が反映していると考えられている。培養筋管細胞においても同じことが言えるかどうかを確かめる

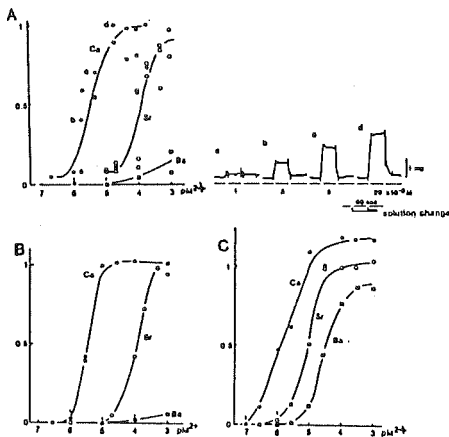


図1. 収縮系のアルカリ土金属イオンに対する感受性 A, 培養筋管細胞; B, 胸筋線維(速筋); C, 前広背筋線維(遅筋)

ため、その TnC を遅筋型の TnC (心筋のもので代用) で入れ換え、その効果を張力測定によって調べた。始めに成鶏の速筋線維を使い、その TnC を遅筋型の TnC で入れ換える実験をしたところ、 Sr^{2+} ($10^{-5}M$) や Ba^{2+} ($3 \times 10^{-4}M$) による張力の発生が認められ、この線維が遅筋型に変わったことを示した(図2 Bb, d)。この線維の TnC を再び速筋型(胸筋)の TnC で入れ換えるとこの効果は消失し、速筋型に復帰した(図2 C)。次に培養筋管細胞を使い、その TnC を遅筋型の TnC で入れ換えたところ、成鶏の速筋線維の場合と同様、遅筋型に変化することがわかった(図3)。以上のことから、培養筋管細胞収縮系は速筋型に分化しており、その型は TnC に依存していることがわかった。

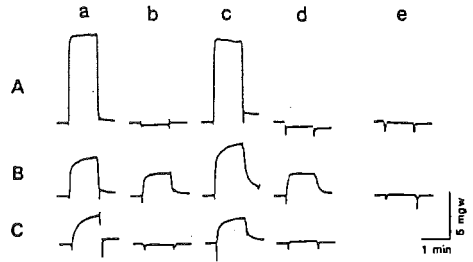


図2. 胸筋(速筋)線維収縮系の TnC 依存性。

A, 対照; B, 遅筋型 TnC 入れ換え後; C, 速筋型 TnC 入れ換え後。a, $10^{-6}M Ca^{2+}$ b, $10^{-5}M Sr^{2+}$ c, $3 \times 10^{-4}M Sr^{2+}$ d, $3 \times 10^{-4}M Ba^{2+}$ e, CyDTA を含む低イオン強度液で TnC を除去後、 $10^{-5}M Ca^{2+}$

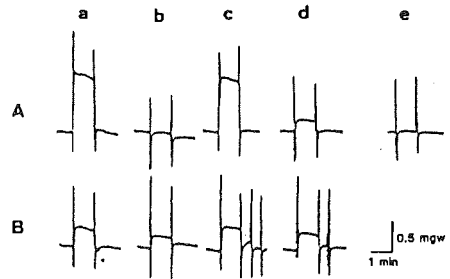


図3. 培養筋管細胞収縮系の TnC 依存性。A, 対照; B, 遅筋型 TnC 入れ換え後。a-e は図2と同じ。

骨格筋におけるトランスフェリン受容体発現

後藤八重, 斎藤公司, 小沢鎭二郎

トランスフェリン (Tf) は鉄結合性タンパク質で細胞表面に存在する Tf 受容体と結合し coated pit を形成し endocytosis で細胞内に取り込まれる。骨格筋は赤筋と白筋に大別され、組織化学的には ATPase 染色によってタイプ分けがなされている。鉄を必要とする cytochromes を含むミトコンドリアはタイプ 1, 2A に多く、タイプ 2B には少ない。また、ミオグロビンはタイプ 1 には多くタイプ 2A, 2B には少ない。未分化なタイプ 2C ファイバーではミトコンドリア数は中程度である。今回、ミトコンドリア、ミオグロビン含量の異なるファイバータイプによる Tf 取り込みと Tf 受容体発現を組織化学的に調べた。

材料と方法

8週令 Wistar male rats の soleus muscle と EDL muscle を凍結切片用標品とし、クリオスタットで 8 μm 切片を作製した。ATPase 染色, 抗ラット Tf 抗体と抗ラット Tf 受容体抗体を用いて ABC 法で DAB を基質として発色した。Desitizer で筋直径を測定した。

結果

抗 Tf 抗体による染色では、細胞間隙や細胞膜が濃染し細胞質は淡染した (図 1A)。抗 Tf 受容体抗体では細胞膜が濃染し細胞質内に濃染する点が認められ coated pit と考えられた (図 1B)。ファイバータイプによる細胞質内 Tf 受容体濃度にかたよりが認められたが Tf 取り込みは Tf 受容体濃度と比例しなかった (図 1)。各ファイバータイプにおける Tf 受容体濃度の分布は soleus のタイプ 1 ファイバーは98%が淡染し、タイプ 2 ファイバーは soleus, EDL 共に約98%が濃染した。EDL のタイプ 2B ファイバーは33%が濃染した (表 1)。筋直径と Tf 受容体濃度の関係は、EDL では Tf 受容体濃染ファイバーと淡染ファイバーの筋直径の平均は、それぞれ28.3と43.2 μm で差が認められたが、soleus では、それぞれ34.6と36.2 μm で差がほとんど認められなかった。

考察

Tf 受容体発現の度合いがファイバータイプにより差が認められた。Tf 受容体濃度はミトコンドリアやミオグロビンが多いタイプ 1 ファイバーでは低く、ミトコンドリアは多いがミオグロビンは少ないタイプ 2A ファイバーでは高く、同じタイプ 2 ファイバーでもミトコンドリア、ミオグロビンの少ないタイプ

2B ファイバーは1/3が濃度が高かったことから、Tf 受容体発現は各ファイバータイプの生化学的性質とは independent に発現していると考えられた。Tf 取り込みは Tf 受容体濃度に比例せず各ファイバーで同程度であったことから、細胞内への Tf 取り込みは Tf 受容体発現と independent に調節されていると考えられた。筋直径と Tf 受容体濃度の関係で EDL では Tf 受容体濃度によって筋直径に差が認められたが、soleus では差が認められなかった理由は不明である。

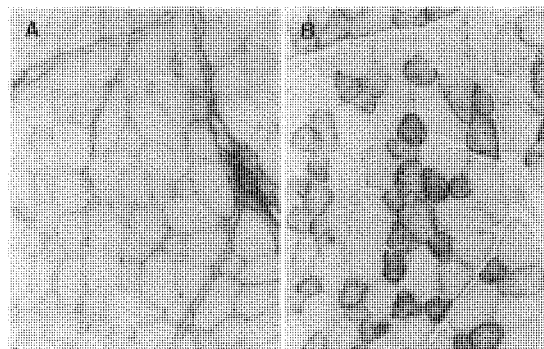


図 1. EDL muscle の A : 抗 Tf 抗体 B : 抗 Tf 受容体抗体による染色

Table 1
High and Low Transferrin Receptor Concentration Fiber Distribution.

Fiber Type	1		2A		2B		2C		Total	
	H	L	H	L	H	L	H	L	H	L
* Soleus										
No. of Fiber	11	565	220	10	11	1	41	41	283	617
% of each										
Fiber Type	1.9	98.1	95.7	4.3	91.7	8.3	50.0	50.0	31.4	68.6
* EDL										
No. of Fiber	24	6	110	6	242	498	11	3	387	513
% of each										
Fiber Type	8.0	20.0	94.8	5.2	32.7	67.3	78.6	21.4	43.0	57.0

H: High Tf Receptor Concentration Fiber
L: Low Tf Receptor Concentration Fiber

Marcaïne 処理再生筋におけるトランスフェリン取り込みとトランスフェリン受容体発現

後藤八重, 斎藤公司, 小沢鉄二郎

局所麻酔剤の Marcaïne を筋肉注射すると筋線維は壊死を起こし, 貪食細胞が壊死線維の周囲に集まり, 衛星細胞が分裂, 増殖する。壊死後3-4日目には再生線維の形態を示す。5日目を過ぎると再生線維は急速にその直径を増す。トランスフェリン(Tf)は鉄運搬のタンパク質で細胞の増殖, 分化, 生存に必須の myotrophic factor の一つで, 細胞膜に存在する Tf 受容体と Tf-Tf 受容体複合体を形成, 集合して endocytosis で細胞内へ取り込まれ細胞に鉄を供給する。今回, 筋再生時の分布をそれぞれの抗体を用いて免疫組織化学的に調べ Tf と Tf 受容体の果たす役割について調べた。

材料と方法

8週令 Wistar male rat の soleus muscle に 0.5% Marcaïne を, コントロールとして生理食塩水を筋肉注射し, 2日, 4日, 6日後の筋肉を凍結切片用標品とし, クリオスタットで8 μ m section に切り ATPase 染色, 酵素抗体染色を行った。酵素抗体染色は一次抗体に抗ラット Tf 抗体と抗ラット Tf 受容体抗体を用い ABC 法で DAB を基質として発色した。

結果

Marcaïne 注射後, 2日目では Tf は壊死ファイバー内に不均一に染まるが Tf 受容体は染まらず, 壊死ファイバー付近に抗 Tf 受容体抗体で淡染する衛星細胞と思われる単核細胞が認められた。4日目では, Tf は細胞質でコントロールと同程度あるいはそれ以上に濃染し, 細胞間隙も染まっている(図1A)。Tf 受容体はコントロールより再生筋の方が濃染し細胞質内の染まり方は不均一で, 各細胞で濃淡があり細胞間隙は染まらなかった(図1B)。6日目には Tf は細胞質で均一にコントロールよりはやや濃染し, 細胞膜は部分的に濃染した。Tf 受容体はコントロールより濃染し, 各細胞は同程度に染まった。細胞内に大きな濃染のかたまりや, 細胞膜に部分的に濃染した。細胞質内の濃染のかたまりはコントロールで細胞質に認められる濃い点より大きい。コントロールでは, Tf は細胞質では均一に染まり, 細胞膜や細胞間隙は細胞質より濃染した部分があった。Tf 受容体は, 細胞質が濃染するファイバーと淡染するファイバーが認められ, 濃染ファイバーの細胞質には濃染した黒点が淡染ファイバーより多く存在した。

考 察

Marcaïne による筋肉の壊死, 再生過程での Tf と Tf 受容体の発現は, 壊死の起こった2日目では Tf 受容体は衛星細胞で発現して Tf を取り込んで増殖の準備をしていると考えられる。4日目になると Tf 受容体発現が増大した再生筋が認められ Tf 取り込みも増大した。6日目になると各ファイバーでコントロールより増大した Tf 取り込み, Tf 受容体発現が認められた。以上のことから筋再生初期の衛星細胞や再生線維で Tf 受容体を多く発現させて Tf を盛んに取り込みが行われ Tf や Tf 受容体が筋再生に重要な役割を果たしていると考えられる。正常筋は再生時の線維より Tf 取り込み, Tf 受容体発現はファイバー維持に必要な程度に減少すると考えられた。

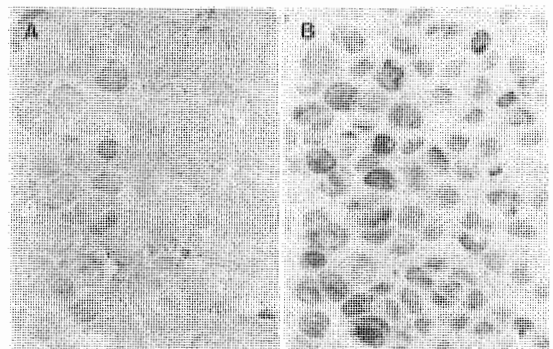


図1 Marcaïne 注射後4日目の Soleus muscle

- A : 抗 Tf 抗体による染色
- B : 抗 Tf 受容体による染色

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。生体膜構成の蛋白質としてはミエリン形成細胞とされるオリゴデンドロサイト (OLG) におけるミエリン特異的蛋白質を、また膜構成の脂質としては近年その情報応答系活性が知られたポリホスホイノシチドとその分解産物およびそのレセプターを分析し、神経系障害時のこれらの役割を考察しつつある。

一方、脳の発達障害にしばしば伴うてんかんについて、その発現機序を神経細胞の生体膜の生化学的作用 (レセプター、酵素、イオンチャネルなど) の面から研究しつつある。

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質

単離、培養した OLG 中では、ミエリン蛋白質としてのミエリン塩基性蛋白質 (MBP) の増量がほとんど認められない。しかし神経系細胞の混合培養では MBP 増量が認められたため、各種神経系細胞を単離、検討し、ニューロン (Neu) の添加が MBP 増量を促進することを認めた。この作用は Neu 生体膜の接触作用、および Neu 培養上清中の蛋白質因子の両者に認められ、現在その性質を検討中である。この研究の一部を日本生化学会に報告した。

2) 脳・神経系の生体膜脂質

近年情報応答作用が知られた微量酸性リン脂質であるポリホスホイノシチドとその分解により生じるイノシトールトリリン酸 (IP₃) の分離、定量法を確立した。これを応用し、IP₃ のレセプター活性を測定し、小脳に多い同レセプターの性質および発達時の変化を検討した。この研究の一部を日本生化学会および日本神経化学会に報告した。

3) 脳生体膜作用とてんかん

けいれん発現機序について、脳生体膜のイノシチド (PI) レスポンス、ムスカリン性アセチルコリンやグルタミン酸のレセプターなどに対するけいれん関連物質の影響から検討してきた。今回は細胞内反応のモジュレーターとして生体膜機能との関連性を示しうるサイクリックヌクレオチドを検討し、種々のけいれん興奮性物質により cGMP が上昇し、この上昇はけいれん剤ペンチレンテトラゾールにより抑制されることを認めた。この研究は 2nd World Congress of Neuroscience および日本てんかん学会に報告した。

本年の人事の動きとしては、昭和62年4月より賃金研究員として甲有理 (明治薬大、昭62卒) が参加した。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を行った。

本年は神経研究所開設以来、代謝研究部部长として務めた宮本侃治 (昭53.1~63.3) が定年退官したため、大巾な人事移動があり、流動研究員である大原たかね (昭61.4~63.3) および田口文子 (昭61.4~63.3、さきに賃金研究員として昭58.4~61.3在職した)、また賃金研究員である佐藤七枝 (昭55.12~63.3) がそれぞれ転出した。 (部長 宮本侃治)

II 研究業績

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

1) Miyamoto K, Ogawa N :

Approaches to epilepsy via biological chemistry—A step toward elucidating the biochemical mechanisms of epileptic seizures

Jpn J Psychiat Neurol 41 : 377-379, 1987

2) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :

Effects of various seizure-associated compounds on biochemical functions related to inositide cycle

Jpn J Psychiat Neurol 41 : 387-389, 1987

3) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :

The seizure-associated substances on the inositide response using a cortex slice of the rat brain

Neurosci Res 5 : S39, 1987

4) Imazawa M, Taguchi F, Miyamoto K :

Facile preparative method of myoinositol 1,4,5-trisphosphate from bovine brain

Neurosci Res 5 : S103, 1987

d. 班会議報告書

1) 宮本侃治, 中嶋一行, 今澤正興 :

培養オリゴデンドロサイトの MBP 量促進物質について

厚生省精神・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62年度研究報告書, 89-94, 1988

2) 宮本侃治, 田口文子, 今澤正興 :

けいれん関連物質とサイクリックGMP (cGMP)

厚生省精神・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62年研究報告書, 11-15, 1988

B. 学会発表

b. 国際学会

1) Miyamoto K, Taguchi F, Imazawa M :

Seizure-associated compounds and biochemical functions related to biological membranes of the brain

The 2nd World Congress of Neuroscience, Budapest, Hungary Aug. 16-21, 1987

2) Imazawa M, Okumura N, Taguchi F, Miyamoto K :

Facile preparation and chemical characteristics of myoinositol 1,4,5-trisphosphate and its 2,4,5-isomer

11th ISN/ 18th ASN Meeting, La Guaira, Venezuela May 31-June 5, 1987

c. 一般学会

1) 田口文子, 今澤正興, 宮本侃治 :

刺激性アミノ酸の大脳皮質サイクリックGMP (cGMP) に対する影響

第2回日本てんかん学会, 高松, 10.2, 1987

2) 中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治 :

培養オリゴデンドロサイトにおける MBP 量の変動について

第60回日本生化学会, 金沢, 10.13, 1987

3) 今澤正興, 奥村展枝, 田口文子, 宮本侃治 :

イノシトール 1,4,5-トリスリン酸 ((1,4,5) IP₃) の解離状態について

第60回日本生化学会, 金沢, 10.15, 1987

4) 今澤正興, 奥村展枝, 田口文子, 宮本侃治 :

脳の Polyphosphoinositides およびその水解に対する inositoltrisphosphate の簡便調製法

第30回日本神経化学会, 東京, 10.29, 1987

C. 班会議発表

1) 宮本侃治, 中嶋一行, 今澤正興 :

培養オリゴデンドロサイト中の MBP 増量に対する神経系細胞の影響

厚生省精神・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62年度班会議,

東京, 2.20, 1988

2) 宮本侃治, 田口文子, 今澤正興 :

II 研究業績

けいれん発現と生体膜機能—けいれん関連物質とサイクリックGMP (cGMP)—

厚生省精神・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62年度班会議,
東京, 2.18, 1988

D. 研究会など

1) 宮本侃治 :

てんかんへの生化学的接近

ヒューマンサイエンス官民共同プロジェクト研究セミナー (生体防御の科学)

東京, 9.28, 1987

2) 宮本侃治 :

てんかんの発現機構解明の現況—てんかんはどこまでわかっているのか—

てんかん協会第14回全国大会, 浦和, 10.31—11.1, 1987

3) 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官民共同プロジェクト研究セミナー, 東京, 1.20, 1988

4) 宮本侃治, 中嶋一行, 今澤正興 :

神経細胞と各種グリア細胞の相互認識と生体防御反応に関する研究—オリゴデンドログリアのミエリン蛋白に対する神経系細胞の影響

ヒューマンサイエンス官民共同プロジェクト 第3分野 第4テーマ (脳神経系機能の生体防御機構の解明) 研究報告会, 東京, 1.21, 1988

3. 主な研究報告

培養オリゴデンドロサイトのMBP生成に対するニューロンの促進効果

中嶋一行, 今澤正興, 宮本侃治

中枢神経系のミエリン形成と維持の機能をもつとされるオリゴデンドロサイト (OLG) の成熟とその機能発現の関連性を検討中である。既報のように単離, 培養した OLG では, 2',3'-cyclic nucleotide 3'-phosphodiesterase (CNP) 活性が増加するが, ミエリン塩基性タンパク (MBP) の増量がほとんど認められなかった。一方, アストロサイト (Ast), ニューロン (Neu) を含む混合培養では MBP の増量が認められたため, OLG の成熟には Ast, Neu など他の神経系細胞が関与することが示唆された。今回は Ast および Neu と OLG を共培養し, MBP 増量を促す因子について検討した。

方法

OLG は既報のようにパーコール法により分離した。Ast はマッカーシーらの方法¹⁾により, 脳細胞混合培養系より OLG および Neu を振とう除去する方法により調製した。Neu は孵卵7日のニワトリ胚脳より調製した²⁾。OLG と他細胞の共培養は, まず OLG (5×10^6 個) を播種, 接着後, 調製した他細胞 (5×10^6 個) を添加することにより行った。

結果と考察

OLG に Ast, Neu, ファイブロブラスト (Fib) を共培養して MBP 量を測定すると, Neu の添加により OLG の MBP 量は顕著に増加したが, 他の細胞では増加が認められなかった (表1)。Neu の共存する場合, 9日間の培養で OLG の MBP 量は約2倍増加し, この増加は添加した Neu の数に依存性であった。この Neu 添加の効果としては細胞接触によるものと, Neu 由来の液性因子によるものが推測される。前者については, Neu をホルムアルデヒドにより固定した後 OLG を播種しても MBP 増量効果が認められ, Neu への接触も OLG 成熟に影響することが認められた。後者については, Neu を無血清培地で培養し, その培養上清の効果を検討した。培養上清の20%量の添加により OLG の MBP は約1.4倍増加し, 形態的観察により OLG の突起形成が盛んであることが認められた (図1)。以上認められた Neu 培養上清中の効果成分は, 硫酸沈澱に回収されること, 熱に不安定なことなどによりタンパク性のものと推測された。セファロース6B によるゲルろ過により, 分子量数万~十数万のこの成分の分離, 性質について現在検討を行いつつある。

文 献

- 1) McCarthy K.D., De Vellis J. : J.Cell Biol. 85, 890-902, 1980
- 2) Aizenman Y., Weichsel M.E.Jr, De Vellis J. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 2263-2266, 1986

	culture (days)	MBP
OLG	5	1.59±0.50ng/dish
OLG+Neu	5	190
OLG+Ast	5	110
OLG+Fib	5	110

表1 オリゴデンドロサイトと他の神経系細胞の共培養による MBP 量の変動

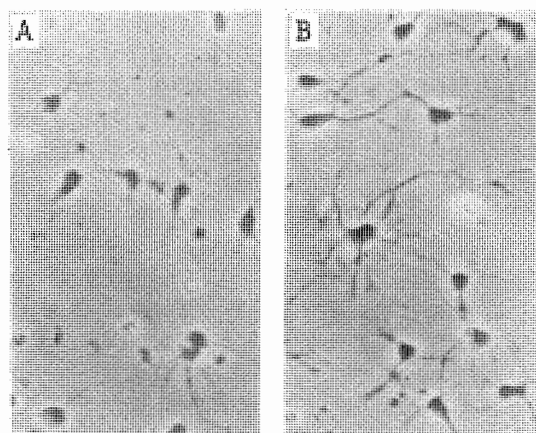


図1 オリゴデンドロサイトに対するニューロン培養上清の効果

A : コントロール

B : ニューロン培養上清の添加後

けいれん関連物質とサイクリックGMP (cGMP)

田口文子, 今澤正興, 宮本侃治

けいれん発現機序について, 生体膜の生化学的機能の面から検討中である。従来, けいれん関連物質とイノシチド (PI) レスポンスの関連性を検討し, けいれん促進性とされているムスカリン性アセチルコリン (mACh) のレセプターアゴニスト (カルバコール, CCh) による PI レスポンスの促進が, けいれん誘発剤のペンチレンテトラゾール (PTZ) または N-メチル-D-アスパラギン酸 (NMDA) により阻害されることを認めた。今回は諸反応のモジュレーターとなりうるサイクリックヌクレオチド (cGMP と cAMP) の変化に対する種々のけいれん物質の影響, および PTZ の効果についても検討した。

方 法

cGMP 測定にはヤマサのキットを, cAMP 測定にはアマシャムのキットを使用した。ラット大脳皮質スライスを用い, 種々の薬物のサイクリックヌクレオチドに対する効果を, サイクリックヌクレオチドホスホジエステラーゼ阻害剤 (イソブチルメチルキサンチン, IBMX) 存在下, TCA 処理後に測定した。

結果および考察

大脳皮質スライスにおけるサイクリックヌクレオチド含量は, IBMX 存在下で, cGMP と cAMP がそれぞれ0.7および9.9pmol/mg 蛋白であった。この値に対する各種けいれん関連物質の影響を%表示して表1に示した。検討した各種けいれん関連物質の cAMP 値に対する影響は一定の方向の変化は示さなかった。一方 cGMP は興奮性アミノ酸の NMDA (1mM), L-グルタミン酸 (L-glu, 5mM), イボテン酸 (Ibot, 1mM) により130~140%程度に上昇した。他のけいれん促進性と考えられている mACh のレセプターのアゴニスト CCh (1mM), および同じく促進性とされている高濃度 (50mM) 塩化カリウム, 神経ペプチドのソマトスタチン (1 μ M) によっても cGMP 値が上昇することを認めた (表1)。以上用いた限りのけいれん促進物質により cGMP の上昇が認められた。一方, 抑制性アミノ酸の γ -アミノブチル酸 (GABA, 1mM), およびけいれん抑制性とされるノルエピネフリン (NE, 1mM) では cGMP の上昇は認められなかった (図1)。

けいれん誘発剤 PTZ (10mM) は単独では cGMP 値を変化させないが (図1), 今回認められたけいれん促進物質による cGMP の上昇に対しては阻害

作用を示した。PTZ のけいれん発現作用と, けいれん促進物質による cGMP の上昇を PTZ が阻害するメカニズムとの関連性を明らかにするため, グルタミン酸レセプター, mACh レセプター, cGMP 合成・分解酵素, GTP 結合蛋白などについて現在検討中である。

表1. 大脳皮質スライスのサイクリックヌクレオチドに対する薬物の影響

drugs	conc (mM)	cGMP (pmol/mg protein)	cAMP (pmol/mg protein)
control		0.7 \pm 0.1	9.9 \pm 2.0
		(%)	
NMDA	0.1	140.3	102.4
+AP 5	1	93.3	97.6
+PTZ	10	103.0	117.0
L-Glutamate	5	127.7	130.3
+PTZ		87.6	114.0
Ibotenate	1	129.5	144.0
+PTZ		87.2	
Kainate	1	120.5	106.0
Quisqualate	1	109	99
Carbachol	1	116.1	99.3
+PTZ		93.2	117.0
KCL	65	363.5	158.3
+PTZ		287	145
Somatostation	0.001	125	129
+PTZ		79	129
PTZ	10	98.8	137
AP 5	1	92.0	107

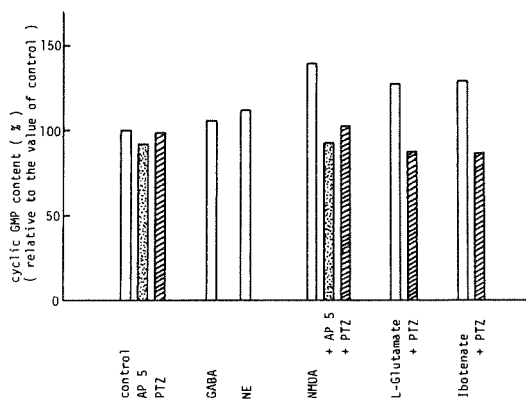


図1. 大脳皮質スライスのサイクリック GMP に対する薬物の影響

脳内イノシトールトリリン酸レセプターについて

今澤正興, 甲有理, 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。昨年までに、細胞の情報応答機構に重要な役割を果たしているトリホスホイノシチド (TPI) を脳より効率よく分離し、その水解により細胞内カルシウムを動員する second messenger であるイノシトールトリリン酸 (IP₃) を単離する方法を開発した。今回我々は中枢神経系における IP₃ の役割を明らかにし、更に障害発生との関連を検索する目的で、上述方法を用い脳内 IP₃ レセプターの検討を行った。

材料と方法

Worley らの条件¹⁾に従いラット脳より膜分画を分離し、1 mM EDTA 存在下に [³H]IP₃ と共に 0°C, 15分間インキュベートした。GF/C フィルター濾過後、膜結合放射活性を液体シンチレーションカウンターで測定した。非特異的結合は、脳より得た TPI を水解後セルロース HPLC にて精製した IP₃ (5 μM) 存在下に測定した。 [³H]IP₃ は NEN より得たものを用いた。

結果および考察

成熟ラットの脳内各部位の IP₃ 結合能を分析すると、IP₃ レセプターは小脳に多く、小脳における結合能は大脳皮質のその約15倍の値を示した。この結果は Worley らの報告¹⁾と一致する。

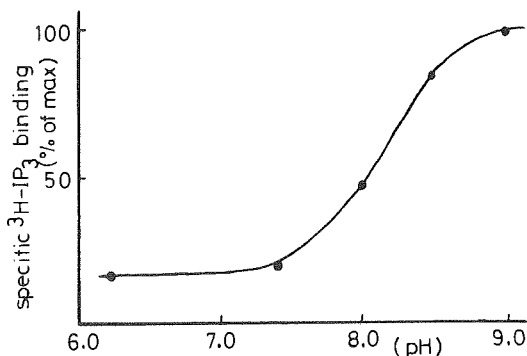
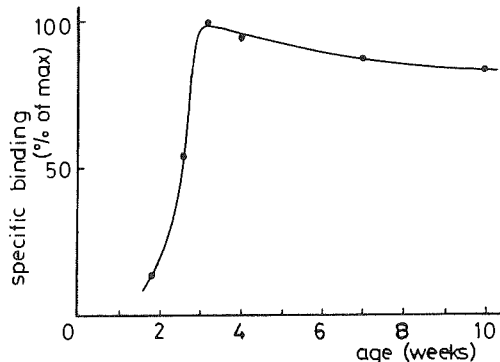
IP₃ のレセプターへの結合能の pH 依存性を全脳、脳分画を用いて pH 6~9 の間で検討した。図 1 に示したように、特異的結合能は pH 7.0~9.0 の間で著明に (約 5~6 倍) 増大した。Worley らは最近ほぼ同様な IP₃ 結合の pH 依存性を報告している²⁾。更に Scatchard プロット解析により、この pH の範囲では最大結合能 (Bmax) はほぼ 10 pmol/mg 蛋白と一定であるが、解離定数 (Kd) が pH 7.3 における 6 nM から pH 9.0 における 2 nM へと減少することを認めた。

次に IP₃ の結合能の発達に伴う変化をラット脳を用いて生後 2 週から 10 週まで検索した。図 2 に示したように、IP₃ 結合能は 2 週から 3 週にかけて約 10 倍と急激に増加し、その後はわずかに減少傾向を示すが、ほぼ一定となった。生後 3 週は小脳皮質の層構造が完成する時期とほぼ一致する。正常な小脳の層構造発達と、小脳に特異的に高い IP₃ 結合能の発現との関連性が存在することも推測される。小脳変性モデル動物などを用いて、小脳の神経細胞の障害と IP₃ 結合能との関連を検討することは、

IP₃ レセプターの機能を明らかにする上で興味深い課題であろう。

文 献

- 1) Worley P.F. et al : Nature 325, 159-161, 1987
- 2) Worley P.F. et al : J. Biol. Chem. 262, 12132-12136, 1987

図 1. IP₃ 結合能の pH 依存性図 2. 小脳 IP₃ 結合能の発達に伴う変化

12. 免疫研究部

1. 研究部一年の歩み

里吉栄二郎部長（事務取扱）以下、免疫異常研究室では渡辺里仁室長を中心に、脳内ウイルス感染による自己免疫現象の研究が精力的に行われている。今年度の成果の一つは AIDS モデルラットの作出の成功である。組織培養研究室では古川昭栄室長らが神経成長因子及び、重症筋無力症関連抗原物質の生化学的研究を行っている。多少の人事の移動があり、松原豊が流動研究員、北田陽子が賃金研究助手、野沢資亜利（実験動物中央研究所）、玉田耕一（北里研究所付属病院小児科）が研究生として新たに研究活動に加わった。古川美子流動研究員は民間企業研究所へ転出した。池上亮介研究生（慈恵医科大学整形外科）、赤沢左衛子賃金研究員は引続き在任した。

本年度の主な研究成果は以下の通りである。

1) レトロウイルスによる脳炎と免疫異常

フレンド白血病ウイルス（FLV）よりラット中枢神経に親和性のあるウイルス産生性細胞株を樹立した。分離したウイルス株の中から、ラットの免疫不全を引き起こす AIDS の動物モデル作成に有用な株も見だされた。

2) コロナウイルス JHM 株による脳脊髄炎と付随する免疫反応の解析

感染後の初期病変の解析により、*in vivo* 感染防御機構における単球系の細胞の重要性を確認した。

3) 神経成長因子（NGF）の合成制御機構

カテコール化合物によるアストログリアの NGF 分泌の亢進は、細胞内 NGF mRNA 量の増加によることがわかった。この現象は脳の培養組織片でも観察され、カテコール化合物による脳内 NGF の合成制御機構の存在が強く示唆された。

4) 重症筋無力症の抗原物質の研究

骨格筋抽出物中の MG 抗原物質は、融合筋細胞で発現すること、細胞外へ分泌されることを見だし、細胞外マトリックス構成成分である可能性が高まった。

（事務取扱 里吉栄二郎）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :
Comparative analysis of coronavirus JHM induced demyelinating encephalomyelitis
in Lewis and BN rats
Laboratory Investigation 57 : 375-384, 1987
- 2) Furukawa S, Furukawa Y, Satoyoshi E, Hayashi K :
Regulation of nerve growth factor synthesis/secretion by catecholamine in cultured
mouse astroglial cells
Biochem Biophys Res Commun 147 : 1048-1054, 1987
- 3) Nakata Y, Nomoto H, Takahashi I, Furukawa Y, Furukawa S, Hayashi K :
Comparison of the biochemical and immunological properties of nerve growth factors
from various animals
J Clin Biochem Nutr 4 : 73-86, 1988
- 4) Mori K, Ibaragi S, Kurobe M, Furukawa S, Hayashi K :
Production of hEGF-like immunoreactive factor by human gastric cancer cells depends
on differentiatlional state of the cells
Biochem Biophys Res Commun 145 : 1019-1025, 1987
- 5) Mori K, Yoshimura T, Ibaragi S, Kurobe M, Furukawa S, Kurosawa K, Katoh M,
Tanaka S, Hayashi K :
Aberrant synthesis and secretion of a human epidermal growth factor-like
immunoreactive factor by human breast cancer cells
J Clin Biochem Nutr 4 : 49-64, 1988
- 6) Takahashi K, Goto N, Matsubara Y, Fujiwara K :
Postinflammatory remyelination in the spinal cord of mice infected with mouse
hepatitis virus, JHM strain
Japan J Exp Med 57 : 145-151, 1987

II 研究業績

b. 著 書

1) 斎藤洋, 古川昭栄 :

動物細胞を用いる NGF 測定法

新基礎生化学実験法—生物活性を用いる測定法— (中嶋ら編集), 丸善, 東京, p210-217, 1987

2) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三 :

Nerve Growth Factor

細胞成長因子 part II (日本組織培養学会編), 朝倉書店, 東京, p5-10, 1987

c. 総 説

1) Doerries R, Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :

Intrathecal humoral immune response in coronavirus induced encephalomyelitis of Lewis and BN rats

Adv Exp Med and Biol 218 : 373-381, 1987

2) Doerries R, Watanabe R, Wege H, ter Meulen V :

Analysis of the intrathecal immune response in coronavirus induced encephalomyelitis of rats.

In : Cellular and Humoral Immunological Components of CSF in Multiple Sclerosis.

(Eds. Löwenthal A, Raus J)

Plenum Press. New York and London, 37-46, 1987

3) 古川昭栄, 古川美子, 林恭三 :

カテコラミン類による神経成長因子の合成・分泌の制御

月刊薬事 29 : 1409-1416, 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, 林恭三 :

カテコラミン類による神経成長因子の合成・分泌の制御

日本薬学会第107年会シンポジウム, 京都, 4. 4, 1987

c. 一般学会

1) 渡辺里仁, 里吉栄二郎, 田口文広 :

ラットにおける, AIDS 感染モデルの確立

エイズ研究会第1回学術集会, 京都, 12. 21, 1987 (抄録102)

2) 古川美子, 古川昭栄, 里吉栄二郎, 富岡登, 中山重信, 池田典秋, 深山裕喜雄, 島田静雄, 林恭三 :

カテコール環をもつ種々の化合物の NGF 合成促進効果

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

3) 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎, 池上亮介, 中村信之, 室田蔭久, 林恭三 :

脊髄後根神経節および坐骨神経由来の非神経細胞による NGF の合成・分泌

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

4) 竹内理恵, 篠田一三, 黒部真章, 古川昭栄, 林恭三 :

マウス神経成長因子の高感度酵素免疫測定法の確立と血中 NGF の挙動

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

5) 森和俊, 黒部真章, 林恭三, 古川昭栄 :

beta-Estradiol による上皮細胞増殖因子様物質の誘導

第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

6) 吉川泰弘, 落久保文子, 山内一也, 松原豊, 代田欣二, 野村靖夫 :

ニホンザルにおけるイヌジステンパーウイルス (CDV) の自然感染

第104回日本獣医学会, 江別, 8. 26, 1987

7) 松原豊, 落久保文子, 吉川泰弘, 山内一也 :

サルの実験的イヌジステンパーウイルス (CDV) 脳炎における脳脊髄液 (CSF) の性状について

第104回日本獣医学会, 江別, 8. 26, 1987

C. 班会議発表

1) 渡辺里仁, 松原豊, 里吉栄二郎 :

コロナウィルス JHM 株による中枢神経の初期病変

厚生省特定疾患・免疫性神経疾患調査研究班, 東京, 1. 22, 1988

II 研究業績

2) 渡辺里仁, 田口文広, 里吉栄二郎, 池田秀利 :

フレンド白血病ウイルスによる中枢神経の炎症と変性

厚生省神経疾患・レトロウィルスによる神経障害発現の機序に関する研究班,

東京, 2. 20, 1988

3) 渡辺里仁 :

フレンド白血病ウイルス感染マウス及びラットの脾細胞由来細胞株の樹立とその解析

文部省がん特別研究・ウイルス性(白血病)の発症機構の解析班, 箱根, 12. 12, 1987

4) 里吉栄二郎, 古川昭栄, 赤沢左衛子, 加茂功 :

実験的筋炎モデル動物の作成に関する研究—自己免疫疾患抗原物質のモノクローナル抗体による解析—

厚生省新薬開発・低分子化合物による難病治療薬の開発研究班班会議, 東京, 3. 22, 1988

D. 研究会など

1) 古川昭栄 :

神経成長因子の合成・分泌とその制御

神経再生と機能再建の研究会, 東京, 10. 10, 1987

2) 古川昭栄 :

神経成長因子 (NGF)

東京脳血管障害勉強会, 東京, 2. 20, 1988

3. 主な研究報告

マウスコロナウイルス JHM 株による中枢神経の初期病変化

松原豊, 渡辺里仁, 里吉栄二郎

我々はマウスコロナウイルス JHM 株が宿主の遺伝的背景の違いにより免疫応答が異なった結果、中枢神経系病変に差異が生じることを明らかにした(1)。近年, *in vitro* での JHM 感染により星状膠細胞に Ia 抗原が誘導され(2), 中枢神経での抗原提示細胞としての役割が注目されている。感染初期の宿主における生体防御反応としての炎症像とこれにともなう *in vivo* での免疫反応を解析した。

材料および方法

動物は SPF のルイスラット, 4-5 週令を用いた。マウスコロナウイルス JHM 株の野生型を 1×10^6 PFU, 或は変異株 cl-2 (3) 6×10^4 PFU を脳内接種した。接種後 3, 5, 7, 9, 10, 12, 15, 20日に、灌流固定した組織を光顕用にパラフィン包埋し、酵素抗体法及び組織化学用には、パラフィン迅速包埋及び凍結保存した。

組織酵素抗体法では、T 細胞 (W3/13) およびそのサブセット (W3/25, OX8), Ia 抗原陽性細胞 (OX6), 星状膠細胞 (抗 GFAP), B細胞 (抗 IgM), ウイルス抗原 (抗 JHM) の分布について検索した。組織化学的に non-specific esterase (α -naphthyl butyrate esterase) 反応にて、単球系細胞を同定した。

結果

感染後、最初に浸潤してくるのは non-specific esterase (NSE) 陽性の単球であった。接種後3日目には髄膜に少数の細胞浸潤がみられ、そのほとんどが NSE 陽性であった。接種後7日目には、血管周囲性に単核球の浸潤がみられ、NSE 強陽性の単球が80-100%を占めていた。やや遅れて W3/13陽性の T 細胞浸潤がみられ、このほとんどが CD4 (W3/25) 陽性の Helper 細胞であった。接種後10日目には髄膜に浸潤する単核球のほとんどが、T 細胞であった。また亜急性脱髄性脳脊髄炎のものではより顕著に T 細胞の血管周囲性の浸潤がみられた。

ウイルス抗原は接種後7日目くらいより顕著になり、神経細胞及び膠細胞に検出された。組織破壊や炎症反応の認められない部位においても限局性に検出された。接種後10日目には、破壊性病変の周囲または脊髄白質の膠細胞で著明であった。血管周囲性の細胞浸潤が始まると同時に血管周囲の星状膠細胞

の肥大が生じ、抗 GFAP 抗体により検出された。血管周囲の浸潤細胞 (主として NSE 強陽性の単球) には Ia 抗原が表現されているにもかかわらず、この星状膠細胞は Ia 抗原陰性であった。ウイルス抗原が検出されるが、組織破壊や炎症反応がほとんどない部位あるいは時期においては星状膠細胞の肥大増殖は認められなかった。また細胞浸潤がウィルヒョウロバン (VR) 腔に留まっている間は肥大した星状膠細胞の突起が GFAP 陽性であるが、VR 腔を越えた細胞浸潤が始まるとすぐに星状膠細胞は浮腫状の変性を来し GFAP も陰性となり、血管周囲の炎症部位から更に遠位部で GFAP 陽性細胞が著明となった。この時期になって脳実質内にも Ia 抗原陽性細胞が検出されるようになり、そのほとんどは単球と考えられた。破壊性病変では髄鞘を貪食したマクロファージには、Ia 抗原が様々な強度で検出され、病変が進んだ古い病巣のマクロファージのほとんどは陰性であった。

考察

コロナウイルス JHM 株感染によるルイスラットの中枢神経病変では、最初に Ia 抗原陽性細胞の単球の浸潤があり、やや遅れて T 細胞の浸潤がみられ、星状膠細胞や血管内皮細胞は Ia 抗原陰性であったことから、*in vivo* における免疫応答は、末梢由来の単球が主要な役割を担っていると考えられた。急性脳脊髄炎でも亜急性脳脊髄炎でも初期病変は同様であった。亜急性脱髄性脳脊髄炎では著しい T 細胞の浸潤がみられたことは、その発症には宿主のウイルス感染に対する細胞性免疫の反応性が重要であり、反応性の高かったものは免疫異常をおこし自己免疫疾患としての脱髄性脳脊髄炎を起こすと考えられた。

血管周囲性の星状膠細胞の肥大増殖は、必ずしもウイルス抗原の局在とは関係がなく、血管周囲性の細胞浸潤がみられる病変と関係があることから、星状膠細胞の活性化は炎症に付随したものと考えられた。

参考文献

- 1) Watanabe R, et al., Lab Invest 57 : 375, 1987
- 2) Massa PT, et al., Nature 320 : 543, 1986
- 3) Taguchi F, et al., J Virol 54 : 429, 1985

脳の異なる部位から培養したアストログリア細胞における NGF 合成とカテコール化合物によるその制御

古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎

これまでに、培養アストログリア細胞は神経成長因子 (NGF) を合成・分泌すること、合成量は細胞の増殖依存性であること、カテコール化合物の存在下で合成が促進されること、を明らかにした。今回、脳の3種の部位からアストログリア細胞を培養し、その NGF 合成・分泌能とカテコール化合物に対する応答性を検討した。

方法

2日齢ラット脳の皮質、海馬、線条体のアストログリア細胞を、10%仔牛胎児血清を含む Dulbecco's MEM 培養液で培養した (96穴マルチウエルプレート)。接触阻害によって増殖が停止するまで培養を続け、その後血清を除いて約10日間培養した。この操作により静止期に導入された細胞を実験に用いた。培養液中に分泌される NGF は、酵素免疫測定法によって測定した。

結果と考察

皮質、海馬、線条体のアストログリア細胞の静止期における NGF 合成・分泌量は10⁴細胞1日あたり29~36 pg であり、部位間に差はなかった。結果を以下に示す (図)。1) dopamine は線条体細胞に弱い効果を認めたが、海馬では全く効果がなかった。脳内で線条体には dopamine ニューロンが高密度に投射しており、関連が興味深い。2) dopamine, norepinephrine, epinephrine の作用は10 μM で認められ、生理的濃度に近い。3) 応答性は皮質、海馬、線条体のアストログリア細胞の順で低い。以上の結果から、脳内アストログリア細胞の NGF 合成がカテコールアミンによって制御されている可能性が強く示唆された。

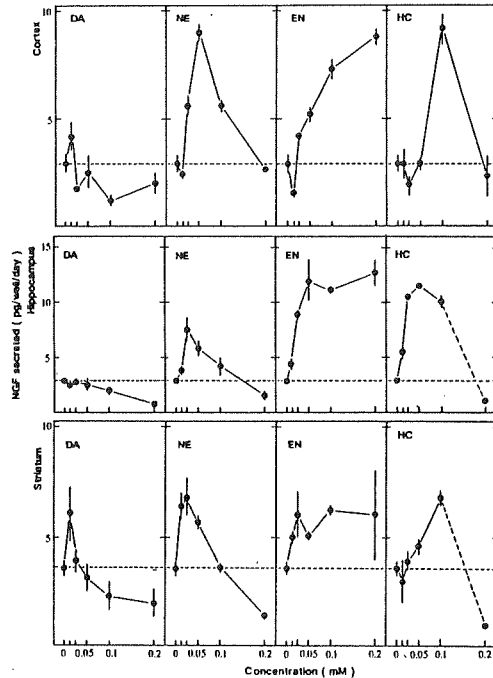


図1 脳の皮質 (上段), 海馬 (中段), 線条体 (下段) 由来アストログリア細胞の NGF 合成・分泌に及ぼすカテコール化合物の効果

DA : dopamine, NE : norepinephrine, EN : epinephrine, HC : homocatechol

ラット坐骨神経再生時における神経内 NGF レベルの経時的変化

池上亮介, 古川昭栄, 古川美子, 里吉栄二郎

神経成長因子 (NGF) は末梢知覚神経, 交感神経の分化, 成長, 機能維持に必須の因子であり, 培養下でこれらの神経細胞の発芽, 生存を促進することが知られている。著者らは, ラット坐骨神経を切断後, 経時的に神経内 NGF 含量を測定し, 神経再生時の NGF 分布, 動態を検討した。

方法

4-10週齢 Wistar 系ラットの坐骨神経を一側のみ, 麻酔下に1ヶ所 (A 群), または, 2ヶ所 (B 群) 切断した。切断後2時間から3週間にわたって坐骨神経を再び露出させ, 切断部を中心に2mm長に細断した。坐骨神経断片をホモジナイズした後10万×Gで遠心した上清中の NGF 濃度を酵素免疫測定法で決定した。

結果と考察

NGF レベルは, 切断中枢側部分では A, B 群ともに対側の対照と同レベルに保たれていた。しかし, 1) A, B 群の末梢側では, 24時間をピークに著明な NGF レベルの上昇がみられた。これは神経内を末梢から中枢側に逆行性に運ばれる NGF が, 末梢切断点に蓄積したためと思われる。切断48時間後から, 2) A, B 群末梢側の, 切断点から離れた部分や, B 群中間部分でも NGF レベルの上昇が始まった。2) の現象は坐骨神経内での NGF 合成そのものと考えることができる。なぜならば, 2ヶ所切断によってできる B 群中間の島状部分は, 逆行性輸送される NGF の蓄積がないからである。A, B 群それぞれの坐骨神経内 NGF 含量の経時的变化を示したのが図1である。

以上の結果から, 坐骨神経切断後, NGF の神経内合成が起こり, その後の再生に有利な環境が作られていることが示された。

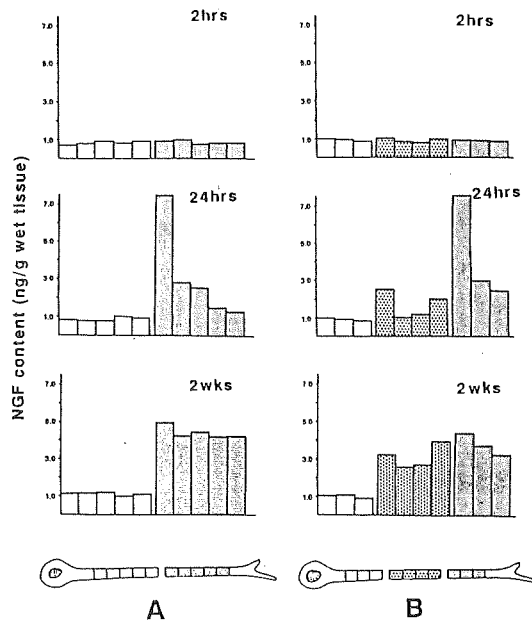


Fig.1 Distribution of NGF content
2-hr 24-hr 1-wk after transection
A:one point transection B:two point transection

13. 遺伝子工学研究部

1. 研究部一年の歩み

62年度より遺伝子工学研究部（一部三室）が開設されることとなり、62年11月に発足した。

研究部は神経研究所にスペースがないため、第2研究棟が完成するまで実験動物研究施設の一部を改造して使用することになり、基本的に必要な備品、消耗品の発注と共に電気工事等を行い、63年3月、ようやく基本的な実験が行えるようになった。セットアップに御協力いただいた方々に深謝したい。しかしながら、現在の研究のスピードからすれば、約半年間のブランクは、我々のプロジェクトの進展に計り知れない損失を与えており、改善されるべき点が多々あることを痛感させられた半年間であった。

癌研究生化学から藤沢淳子（63年1月、室長）東大医科研から植月太一（63年4月、流動研究員）を迎え、鍋島曜子（63年1月、賃金研究員）を採用した。東大・医・大学院生、小宮透、都立大助手；松田良一、九州大学助教授；伊藤肇躬の3名が共同研究者として、研究部を構成している。他に2名の室長と1名の流動研究員の採用を希望しており、順次、当研究部に参加してもらえものと考えている。

我々の研究のゴールの一つは神経・筋細胞系の分化を支配する遺伝子群の解析とそれらの遺伝子にコードされる蛋白質の機能的ヒエラルヒーの解明である。もう一つのゴールは神経系の発生・構築を支配する遺伝子群の単離とその産物の神経系の発生と構築における生理的役割の解明である。

この二つの研究を通して、神経・筋細胞系の基本的な課題を解明すると共に現代生物学の基本命題の一つである生物界の多様性の解明に貢献したいと考えている。又、神経、筋細胞をめぐる基礎的理解の進展は神経・筋疾患の解明にとって不可欠な要素であり、当研究部の基礎的研究が疾患の解明に生かされるならば幸いである。

現在、上記のような目標にむかって実験を開始し、又、新しいプロジェクトの準備を進めているところである。スタッフ全員が着任しておらず、重要な機器類の整備も完了していないので、研究部の本来の機能を発揮するにはもうしばらく時間が必要であるが着実な第一歩を踏み出したことを申し添えて報告に代えたい。

（部長 鍋島陽一）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原書

- 1)
- Nabeshima Y
- ,
- Nabeshima Y
- , Nonomura Y, Fujii-Kuriyama Y :

Nonomuscle and smooth muscle myosin light chain mRNAs are generated from a single gene by the tissue-specific alternative RNA splicing

J Biol Chem 262 : 10608-10612, 1987

- 2) Kawashima M,
- Nabeshima Y
- , Obinata T, Fujii-Kuriyama Y :

A common myosin light chain is expressed in embryonic skeletal, cardiac and smooth muscles and continuously in brains of embryo and adult

J Biol Chem 262 : 14408-14414, 1987

- 3) Matsuzaki F, Harada F,
- Nabeshima Y
- , Fujii-Kuriyama Y, Yahara I :

Cloning of cDNAs for two beta-tubulin isotypes expressed in murine T cell lymphoma, L5178Y and analysis of their translation products

Cell Str Func 12 : 317-325, 1987

- 4)
- Fujisawa-Sehara A
- , Sogawa K, Yamane M, Fujii-Kuriyama Y :

Characterization of xenobiotic responsive elements upstream from the drug-metabolizing cytochrome P-450c gene : a similarity to glucocorticoid regulatory elements

Nucleic Acids Res 15 : 4179-4191, 1987

- 5) Fujii-Kuriyama Y, Sogawa K,
- Fujisawa-Sehara A
- , Gotoh O :

Structure and regulation of cytochrome P-450 genes

Proceedings of the Yamada Conference XVII : 93-95, 1987

b. 著書

- 1)
- 鍋島陽一
- :

生物科学の新しい展開—分子から細胞へ—(分担執筆)

岩波書店, p60-69, 1987

- 2)
- 鍋島陽一
- :

バイオテクノロジー実験法／遺伝子工学

羊土社, p39-45, 1987

II 研究業績

c. 総説

1) 鍋島陽一 :

ミオシン遺伝子の発現と制御—スルスおよびトランス作用の機構—
実験医学 5 : 11-17, 1987

2) 鍋島陽一 :

筋蛋白質遺伝子の発現調節
細胞 19 : 355-359, 1987

d. 班会議報告書

1) 鍋島陽一 :

筋蛋白遺伝子の構造
文部省特定研究 I (血管代謝) 班会議報告書 28~30 62年

2) 鍋島陽一 :

筋細胞分化プロセスにおける遺伝子発現の制御機構の研究
厚生省精神・神経・疾患研究委記費, 筋ジストロフィー症解明のための遺伝子発現の基礎的研究
班会議報告書 144-148, 62年

B. 学会発表

c. 一般学会

1) 白形正樹, 鍋島陽一, 小西和彦, 藤井義明 :

骨格筋型ミオシン軽鎖遺伝子 (LC1/LC3) の転写調節にかかわる遺伝子上流領域
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 13, 1987

2) 藤沢淳子, 十川和博, 山根美由紀, 藤井義明 :

P-450c遺伝子のエンハンサーに結合する核タンパク質の薬物による誘導
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 13, 1987

3) 十川和博, 藤沢淳子, 広政貴子, 山根美由紀, 藤井義明 :

メチルコランスレンで誘導されるチトクローム P-450c 遺伝子の誘導発現に必要な領域
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 13, 1987

4) 植月太一, 長田重一, 上代淑人 :

ヒトペプチド鎖延長因子 $EFI\alpha$ の染色体遺伝子の単離とその構造
第60回日本生化学会大会, 金沢, 10. 12, 1987

5) 白形正樹, 鍋島陽一, 小西和彦, 藤井義明 :

骨格筋型ミオシン軽鎖遺伝子の発現誘導に関する領域とそこに結合する因子

第10回日本分子生物学会年会, 京都, 11. 25, 1987

6) 藤沢淳子, 山根美由紀, 十川和博, 藤井義明 :

P-450c 遺伝子のエンハンサー結合因子の薬物による誘導

第10回日本分子生物学会, 京都, 11, 25, 1987

7) 植月太一, 長田重一, 上代淑人 :

ヒトペプチド鎖延長因子 EFI の染色体遺伝子の構造

第10回日本分子生物学会, 京都, 11, 25, 1987

C. 班会議発表

1) 鍋島陽一 :

ミオシン軽鎖遺伝子の発現を制御する因子の解析

厚生省神経疾患・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・班会議, 東京, 12.

8, 1987

2) 鍋島陽一 :

収縮蛋白質遺伝子の発現と細胞の癌化

文部省ガン特別研究 I ・矢原班・班会議, 東京, 1. 21, 1988

D. 研究会など

1) 鍋島陽一 :

心臓・血管研究における分子生物学的アプローチ

日本学術会議・心臓血管シンポジウム, 札幌, 8. 29, 1987

2) 鍋島陽一 :

真核細胞遺伝子の発現制御

筋細胞分化過程におけるミオシン遺伝子の発現制御

大阪大学蛋白研究所セミナー, 大阪, 2. 23, 1988

3. 主な研究報告

P-450c 遺伝子のエンハンサー結合因子の薬物による誘導

藤沢淳子, 藤井義明*

チトクローム P-450 には各種の分子種があり、これらが分担的に外来の薬物の代謝に関与している。とりわけ、メチルコランスレン (3-MC) や TCDD で誘導されるタイプの P-450 (ラット P-450c) は、多くの発癌剤の代謝活性化に関与することが知られる。この遺伝子の薬物による転写誘導機構を探る目的で、外来 P-450c 遺伝子を培養細胞内に導入し、その発現を試みた。その結果、①遺伝子の上流約 1 kb に、20-30bp の薬物誘導型エンハンサー (Xenobiotic Responsive Elements, XRE-1 および XRE-2 (図 1) が存在すること。②組織特異的エンハンサーであること。さらに、③Hankinson らによって単離された 3-MC/TCDD リセプター欠損と思われる劣性変異細胞でも発現しないことから、この XRE には少なくともひとつの正の制御因子が作用して、遺伝子の活性化が起こっていることが示された¹⁾。今回は、この遺伝子の転写誘導に関与すると思われる XRE 結合因子を同定した結果について報告する。

結果・考察・展望

(1) 3-MC 誘導肝細胞の核に存在する XRE 結合因子: XRE のエンハンサー活性の高いマウス Hepa-1 細胞の核抽出物と、末端ラベルした XRE-1 の DNA フラグメントとをインキュベートし、Gel Retardation Assay を行ったところ、数本の結合型バンドのうちの 1 本が次のような性質を示した。① 3-MC で誘導した細胞の核抽出物に見られ、非誘導細胞の核抽出物には殆んど見られない。② P-450c が誘導されない L929 線維芽細胞、および先に述べた Hepa-1 由来薬物リセプター欠損細胞の核抽出物には存在しない。③ プローブの結合は、大過剰に加えた XRE-1 あるいは XRE-2 を含む DNA フラグメントにより特異的に阻害される。④ [³H] TCDD でラベルされた Hepa-1 細胞核抽出物で Gel Retardation Assay をおこなうと、結合型 TCDD と結合型プローブのピークが重なる。これらの結果から、この結合因子が、P-450c 遺伝子上流のエンハンサーに特異的に結合することによりその転写誘導に関与していること、さらにそれは薬物リセプター自身であろうことが示唆された。

(2) XRE 結合因子は非誘導 Hepa-1 細胞の細胞質

* 癌研究所生化学部

に pre-activated form で存在する: 上記 DNA プローブと非誘導 Hepa-1 細胞の細胞質画分とをインキュベートし Gel Retardation Assay を行なうとこのバンドは検出されない。しかし、この画分に 3-MC を加えて予めインキュベートした後 Gel Retardation Assay を行くと、誘導細胞の核抽出液に特異的に見られるものと同じ位置にバンドが現れた。(図 2, lane 4)。それに対して誘導後に調整した細胞質画分はこれをさらに 3-MC とインキュベートしても XRE 結合因子を誘導することはできなかった。このことから、XRE 結合因子は、①非誘導細胞の細胞質に pre-activated form で存在し、②細胞質を 3-MC 存在下 in vitro でインキュベートすることによってその因子の XRE に対する結合性は著しく増大する。③ 3-MC 処理により細胞質中で活性型になると核内へ移行するという性質をもつことが明らかになった。

今後、この因子の in vitro における活性化は、P-450c 遺伝子の薬物誘導機構のみならず、リガンドによる DNA 結合蛋白質 (ステロイドホルモンリセプターなど) の活性化のメカニズムを知る上で、有用な系となりうると考えられる。

文 献

- 1) Fujisawa-Sehara, A., Sogawa, K., Yamane, M., & Fujii-Kuriyama, Y. (1987) Nucleic Acids Res. 15, 4179-4191.

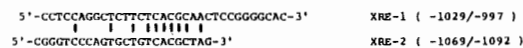


図 1

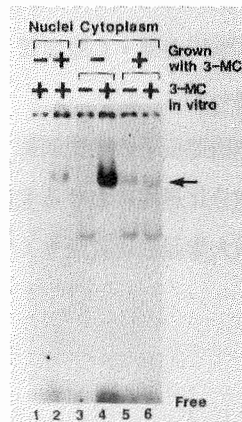


図 2

ヒト EF1 α 染色体遺伝子の構造とその発現

植月太一, *長田重一, **上代淑人

タンパク質の生合成反応には、mRNA, リボソーム, tRNA, アミノアシル tRNA 合成酵素の他に開始因子, 延長因子, 終結因子など多くのタンパク質因子が関与している。その中で延長因子 EF1 α は、GTP 依存性のアミノアシル tRNA のリボソームへの結合反応を促進する。EF1 α は、これまでに種々の細胞から高度に精製されている。また、その遺伝子構造の解析も数種報告されている。1986年に Nagata ら及び Brands らによりヒト EF1 α cDNA が単離されその塩基配列の決定によりヒト EF1 α は462アミノ酸から成る Mr.50300のタンパク質であることが示された。本研究ではヒト EF1 α の染色体遺伝子を単離し、その構造を明らかにした。またプロモーター領域の構造を解析し発現機構を研究した。

[方法と結果] ヒト EF1 α 染色体遺伝子を単離するには、[32p] により標識したヒト EF1 α cDNA をプローブとしてヒト胎盤染色体 DNA より作成した遺伝子ライブラリー (約 1.5×10^6 コのプラークを含む) をブランクハイブリダイゼーション法により検索した。その結果218コの本ジティブクローンを得た。これらの内、117クローンについて制限酵素地図を作成し、Sanger 法により塩基配列を一部決定した。その結果これらのクローンは、いずれも cDNA の塩基配列と完全には一致しないこと、翻訳領域に終止コドンをもつこと等から偽遺伝子であることが明らかになった。またこれらの偽遺伝子はイントロンを有していなかった。その中に一つのクローン (λ EF8) の全塩基配列を決定したこと cDNA と約97%の相同性を示した。さらに cDNA と相同的な領域の3'末端には A 残基の cluster が存在する他、5'末端と3'末端には15 bp から成る反復配列が存在していた。またヒト EF1 α の染色体上の位置を同定する目的でヒト-マウス雑種細胞から調整した DNA をヒト EF1 α cDNA をプローブとしてサザンハイブリダイゼーション法により解析したところ多種の染色体 DNA 上にバンドが検出され、EF1 α 様遺伝子が多数存在することを示していた。

活性を有する真の EF1 α 染色体遺伝子を単離するため、偽遺伝子上で高頻度に変異の生ずる領域で cDNA の配列と一致するオリゴヌクレオチドを合成し、これをプローブとして上記ポジティブクローンをさらに検索し、イントロンを有する真の EF1 α 染色体遺伝子 (λ EF58) を単離し、全塩基配列を

決定した。 λ EF58に含まれる EF1 α 染色体遺伝子は全長約5 kb で8エクソンから構成されている。全てのイントロンは「GT」で始まり「AT」で終る Chambon の規則と一致していた。ついで mRNA の開始部位を Primer extension 法により決定した。開始部位から24bp 上流には、TATA 配列が存在している。次いで、このプロモーター領域を含む DNA を鋳型として、HeLa 細胞の核抽出液を用いた in vitro での転写反応を試みた。その結果、in vitro の転写系においても in vivo での mRNA の開始部位と同じ部位より転写された RNA 産物が検出された。転写産物の合成量は、対照として用いたアデノウイルスの主要後期プロモーターにらるものより多量であり EF1 α 遺伝子のプロモーター活性がかなり高いことが示唆された。EF1 α mRNA の開始部位から上流400bp までに Sp1 結合部位が3コ存在し、また第一イントロン内には5コの Sp1 結合部位と1コの Ap1 結合部位が存在していた。Ap1 が EF1 α 遺伝子の発現調節に関与しているかどうかを検討する目的でヒト培養細胞 (FL 細胞, HeLa 細胞) を用いて TPA 処理によって EF1 α mRNA が誘導されるかどうかを調べた。その結果、TPA 処理後 EF1 α mRNA の経時的増加が確認された。このことから Ap1 が EF1 α 遺伝子の発現制御に関与しているものと推定された。

[考 察] 本研究によりヒト染色体上には約40コ of EF1 α 様遺伝子が存在することが明らかとなった。この大部分は、mRNA が逆転写されて構成された偽遺伝子と推定される。偽遺伝子にイントロンが無かったこと、3'末端にポリ A 由来と考えられる配列が存在すること、反復配列が5'末端と3'末端に存在することは、この推論を示すものである。

EF1 α は細胞増殖に重要な働きをするタンパク質である。ヒト EF1 α 遺伝子のプロモーター部位に癌遺伝子 jun の産物として同定された Ap1 の結合部位が存在し転写制御に関与していることは、発癌と細胞増殖との関連を検討する上で興味深い。今後、単離した EF1 α 遺伝子を用いた、細胞増殖と EF1 α の発現制御との関連について解析を進める計画である。

参考文献
Brands. H.G.M., Maasen. J.A., Van Hemert. F.J., Amors. R. and Moeller. W. (1986) Eur. J.Biochem. 155. 167-171

* 大阪バイオサイエンス研究所

** 東京大学医科学研究所

骨格筋ミオシン軽鎖遺伝子の発現を制御する因子の解析

白形正樹*, 鍋島陽一

骨格筋は分化の表現形質として多種類の収縮蛋白質を発現する。これらの発現は筋細胞の分化を支配する遺伝子群のヒエラルヒーの最下位に位置しており、その発現を制御する因子の遺伝子の単離は分化を制御する遺伝子群のヒエラルヒーの解析にとって重要なステップの一つといえる。

方法

骨格筋ミオシン軽鎖 (LC₁) 遺伝子の 5' 端上流部位と大腸菌の CAT 遺伝子を連結したキメラ遺伝子を構築し、骨格筋細胞にリン酸カルシウム法にて導入した。キメラ遺伝子を導入した細胞より蛋白質を抽出し、CAT 活性を測定することにより、ミオシン軽鎖遺伝子の転写活性を測定した。又、連結する 5' 端上流の配列を順次けずりとして、どの領域に転写に必須のシスに作用するエレメントが存在するかの検討を行った。このシスのエレメントに結合し、その発現を調節するトランスに作用する要素を蛋白と DNA の結合をアッセイする方法により検討した。

結果、考察

1) シスに作用する要素の検索

ミオシン軽鎖遺伝子の 5' 端上流 3.4kb と CAT 遺伝子からなるキメラ遺伝子を骨格筋細胞に導入したところ、高い転写活性が得られた。又、転写産物の 5' 端をプライマー伸展法で検索し、本発現系では正しい位置より転写開始がおこなうことを確認した。そこで、5' 端より連結する DNA を順次けずりとして、その転写活性を測定したところ、上流 2 kb 付近をけずりとしたキメラ遺伝子では転写活性がほとんど失われ、-2 kb 付近に重要なシスの要素が存在すると結論された。(Fig. 1)

ひきつづく実験により、このシスの要素は筋細胞の分化に伴いミオシン軽鎖遺伝子の発現が高く誘導されることに必須であり、エンハンサーとして作用することが明らかにされた。おな、本エンハンサーは LC₁ のプロモーターの上流、下流、及び正、逆の両方向どちらでも作用するが、異種のプロモーターである SV40 のプロモーターに連結した場合は全く作用せず、プロモーターを選択するエンハンサーであることが明らかにされた。

2) トランスに作用する要素の検索

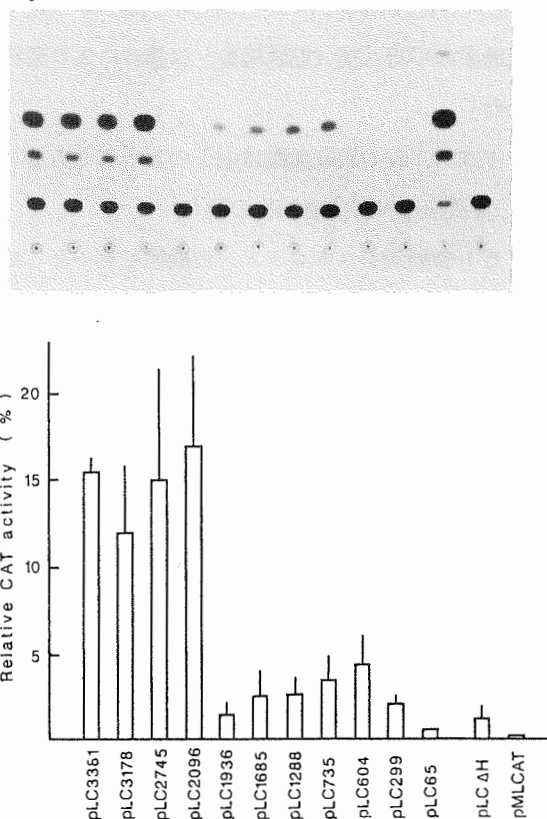
エンハンサーに働きかけ、その作用を誘導するトランスの因子を検索したところ、骨格筋細胞に特異な結合蛋白質が存在することを示唆する結果が得ら

れた。その分子量は約 45K と推定されているが、この蛋白質が真の調節因子であるかどうかは更なる検討が必要である。

3) エンハンサー及びプロモーターの塩基配列

エンハンサー、プロモーターの領域全体の構造を明らかにするために全塩基配列を決定した。エンハンサー領域には 12 塩基からなるリピート配列が存在する。しかしながら、エンハンサーとカップルするプロモーター領域の配列の特徴については、その位置の詳細な特定が進んでいないので、今後の課題として残されている。

Fig. 1 Transient expression analysis of MLC1-CAT fusion genes in chicken myoblast cultures



* 癌研究所生化学部

14. 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成因の究明、治療法の確立のために重要な疾患モデル動物を探索したり、遺伝子および胚操作を応用して人為的にモデル動物を作成することを目的として発足し、昭和62年10月をもって満2年目を迎えた。研究室の整備は、実験動物研究施設の内部整備と平行して進行し、施設開所式を催した4月16日以降、待望の動物実験が可能となり、研究活動は一層加速されている。同年8月、かねて申請中の「遺伝子導入動物の作成」に関する実験が科学技術庁より認可され、発生工学を応用した実験が開始された。

研究部は新しいスタッフとして、4月に流動研究員として余田 明（北海道大学）、賃金研究員として守屋弘美（麻布大学）を迎えた。さらに従来外部より応援して頂いている併任（1）、客員（2）研究員に加え、昭和63年1月より併任研究員として田内雅規（国立身体障害者リハビリセンター）を迎えた。研究助手の平野弘美（旧姓鳴島）は都合により昭和62年12月に退職し、代って梅田道子、田岸敦子が採用された。

主な本年度の研究活動は以下のとおりである。

1) 遺伝性神経疾患動物の開発

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 GAD マウスについて遺伝解析を行った。gad 遺伝子は第5常染色体にあり、Pgm -1とW遺伝子と連鎖していた。筋ジストロフィーマウス（mdx）はヒト疾患との相同性が強いとされる。本年度は筋線維の壊死、再生過程について検討を加えた。

2) 胚性幹細胞（ES）株の樹立

動物個体への遺伝子導入の担体として期待される ES 細胞株の樹立を試み、そのキメラ形成能を検討した。8-細胞期マウス胚と接着させた後2日間培養し、得たキメラ胚を GPI をマーカーに解析した結果、ES 細胞株由来の細胞が存在することが解った。

3) MHV 遺伝子発現

新規購入した DNA 合成装置により MHV・RNA ポリメラーゼに対する anti-sense RNA を作る double stranded DNA を合成し、MHV 感受性L細胞へ transfection し、いくつかの細胞クローンについて抵抗性のあるものを認めた。さらに JHMV・E2 遺伝子の発現がバキュロウィルスベクターを介して培養細胞へ導入され、E2 蛋白産生とその構造を解析した。

（部長 菊池建機）

2. 研究業績

A. 論文

a. 原著

- 1) Yamazaki K, Sakakibara A, Tomita T, Mukoyama M, Kikuchi T :
Location of gracile axonal dystrophy (gad) on chromosome 5 of the mouse
Jpn J Genet 62 : 479-484, 1987
- 2) Yamazaki K, Wakasugi N, Tomita T, Kikuchi T, Mukoyama M, Ando K :
Gracile axonal dystrophy (GAD), a new neurological mutant in the mouse
Proc Soc Exp Biol Med 187 : 209-215, 1988
- 3) Hanaoka K, Hayasaka M, Noguti T, Kato Y :
Viable chimeras between embryonal carcinoma cells and mouse embryos :
comparison of aggregation and injection methods
Develop Growth Diff 29 : 263-270, 1987
- 4) Hanaoka K, Kondo S, Hayasaka M, Kato Y :
Internalization of embryonal carcinoma cells when aggregated with normal mouse embryos
Develop Growth Diff 29 : 307-315, 1987
- 5) Takahashi Y, Hanaoka K, Hayasaka M, Katoh K, Kato Y, Okada T.S, Kondoh H :
Embryonic stem cell-mediated transfer and correct regulation of the chicken crystallin
gene in developing mouse embryos
Develop 102 : 259-269, 1988

b. 著書

- 1) 花岡和則 :
キメラマウスの作成法
新基礎生化学研究法 (第9巻, 遺伝子工学, 丸善), p243-252, 1988

c. 総説

- 1) Kikuchi T, Moriya H, Matuzaki T, Katoh M, Takeda S :
The development of laboratory animal science for the study of human muscular and
nervous diseases in Japan
Cong Anom 27 : 447-462, 1987
- 2) 菊池建機, 杉田秀夫 :

II 研究業績

筋神経疾患の動物モデル

総合臨床 36 : 1833-1890, 1987

3) 菊池建機 :

筋ジストロフィー症モデル動物の開発に関する研究班(野村班)の歩み

ZSZ 研究 659 : 21-35, 1987

4) 花岡和則, 加藤淑裕 :

動物胚への遺伝子の移入と発現

遺伝 41 : 49-53, 1987

d. 班会議報告書

1) 菊池建機, 長浜嘉孝, 榎佳之, 加藤淑裕, 山内一也 :

発生工学を応用した医療研究用実験動物の開発

昭和61年度長寿関連基礎科学研究事業報告書(第一分野), 293-310, 1987

2) 富田 武, 山崎一斗, 若杉 昇, 菊池建機, 向山昌邦, 安藤一也 :

GAD (gracille axonal dystrophy) マウスの遺伝育種学的研究

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年度研究報告書, 49-58 1987

3) 菊池建機, 向山昌邦, 山崎一斗, 富田 武 :

軸索ジストロフィーのモデル動物としての GAD (gracille axonal dystrophy) マウス

厚生省精神・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62年度研究報告書, 59-64 1987

B. 学会発表

a. 特別講演, シンポジウム

1) 菊池建機 :

日本における疾患モデル動物の開発

第27回日本先天異常学会, 東京, 7. 18, 1987

(第27回日本先天異常学会学術集会抄録集, P31-33, 1987)

b. 一般学会

1) 向山昌邦, 菊池建機, 安藤一也, 山崎一斗, 富田 武 :

GAD (gracile axonal dystrophy) マウスの病理形態的研究

第28回日本神経病理学会, 神戸, 6. 2, 1987

2) 余田 明, 菊池建機, 田口文広 :

マウス肝炎ウイルス peplomer 蛋白 (E2) のバキュロウイルスベクターによる産出
第105回日本獣医学会, 東京, 4. 4, 1988

3) 田口文広 :

マウス肝炎ウイルス JHMV 株のラットに対する向神経性について : E2蛋白との関連性
第35回日本ウイルス学会総会, 京都, 11. 5, 1987

C. 班会議発表

1) 吉田瑞子, 工藤佳久, 菊池建機 :

fura-2 による骨格筋細胞内の Ca 濃度測定を試み
厚生省精神・神経疾患・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班,
東京, 12. 5, 1987

2) 菊池建機, 守屋弘美, 松崎哲也 :

筋ジストロフィーマウス (max) 骨格筋線維の再生
厚生省精神・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,
東京, 12. 8, 1987

3) 菊池建機 :

疾患モデル動物の開発並びに初期胚操作による病態解明
厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班,
大阪, 9. 26, 1987

4) 菊池建機, 田口文広 :

神経親和性マウス肝炎ウイルス (MHV) 変異株のラットに対する病原性について
厚生省厚生科学研究・DNA 関連技術の保健, 医療分野への応用に関する研究班,
東京, 8. 3, 1987

5) 余田 明, 田口文広, 菊池建機 :

マウス肝炎ウイルスE2タンパクの昆虫多角体病ウイルスベクターを用いた発現
厚生省精神・神経疾患・遺伝性神経病発現の機構調節解明に関する研究班,
東京, 1. 21, 1988

II 研究業績

- 6) 杉田秀夫, 石浦章一, 須原芳宏, 塚原俊文, 荒畑喜一, 菊池建機 :
糖原病II型ウズラの EST 治療の試み
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,
東京, 3. 4, 1988
- 7) 花岡和則, 菊池建機 :
奇形腫細胞を介した外来遺伝子導入による運動疾患モデル動物の作成及び解析
文部省重点領域研究・運動系の分子生物機構, 東京, 12. 16, 1987
- 8) 花岡和則 :
精巢性奇形腫幹細胞の個体構成能について
文部省がん特別研究 I・遺伝子の発現, 調節の研究のための実験動物の開発,
名古屋, 11. 30, 1987

D. 研究会など

- 1) 菊池建機, 守屋弘美, 松崎哲也 :
老化促進モデルマウス (SAM) の繁殖と病理組織学的所見
第5回老化促進モデルマウス (SAM) 研究協議会, 京都, 3. 18, 1988
- 2) 菊池建機 :
神経-筋疾患のモデル動物の開発
昭和62年度第一回長寿関連基礎科学講習会, 東京, 8. 20, 1987

3. 主な研究報告

筋ジストロフィーマウス (mdx) 骨格筋線維の再生

守屋弘美, 松崎哲也, 菊池建機

1984年, Bulfield 等によって発見されたX染色体劣性遺伝の形式をとる筋ジストロフィーマウス (mdx) は, ヒトの Duchenne 型また Becker 型筋ジストロフィー症のモデル動物として注目されている。本報告は mdx マウスの成長と骨格筋の病理組織学的変化に焦点をあて検討を加えたもので, 一部従来研究されてきた常染色体劣性遺伝を示す dy マウスとの比較を試みた。

材料および方法

C57BL/10 ScSn-mdx (mdx マウス), C57BL/6-dy (dy マウス) と正常対照コントロールとして C57BL/10 ScSn を用い各々の体重, 前脛骨筋 (m. tibialis anterior) とヒラメ筋 (m. soleus) の筋比体重の変化と各筋の組織学的変化を経時的に検討した (mdx マウスは15, 20, 30, 40, 50, 60, 80, 90, 120日齢 dy マウスは30, 60日齢, 正常対照マウスは20, 30, 50, 60日齢)。筋線維面積および中心核出現率は H.E 染色組織標本において Kontron MOP-videoplan 画像解析装置を用いて測定した。骨格筋線維の collagenase 酵素消化による単離は47日齢において Kopriwa & Moss 法 (1971) により作成した。

結果

mdx マウスの体重は生後, 正常対照マウスとはほぼ同様に増加する。しかし, dy マウスの成長は著しく抑制されており, 60日齢では他のマウスの約 $\frac{1}{2}$ 程度である。前脛骨筋の筋比体重値は60日齢頃, ヒラメ筋のそれは40日齢頃まで増加するが, これ以後はほぼ一定となる。骨格筋線維横断面積の値は, 前脛骨筋, ヒラメ筋とも経時的に増加する傾向にあるが, 前脛骨筋は50~80日齢頃, ヒラメ筋は40~50日齢頃に減少し, 再び増加する。中心核の出現率は, 正常対照マウスの前脛骨筋, ヒラメ筋の筋線維の中心核は殆んどみられないが, mdx マウスの筋線維の中心核は20日齢以後に目立つようになる。そして以後著しい増加を示す。前脛骨筋, ヒラメ筋を比較すると, 前脛骨筋の方が成長に伴う核数の増加が顕著である。一方, dy マウスも同様な傾向があるが, mdx マウスほどの増加は示さない。mdx マウスの骨格筋組織は20日齢頃まで大きな異常はみられないが, この日齢の前後から小さな壊死巣が散在しているのが観察できるようになる。変性壊死の病変は20

~30日齢にかけて急激に顕著となる。筋線維は群をなして過収縮や硝子様変性を示す。90日齢頃になると, 大部分の筋線維は再生部分をもっていることが縦断切片で観察される。鎖状配列した中心核が頻繁にみられるようになるが, それらの筋線維も以前と同様に壊死に陥いつているのが観察される。単離筋線維において, 縦軸に沿った構造を観察した。正常対照マウス筋線維の核は主に線維周辺にみられる。mdx マウス筋線維では, 胞体内にしばしば鎖状配列した核, 並列した鎖状配列や組織標本でも観察された過収縮部 (図. 1) が観察された。また, 鎖状配列した核が途中で絶え, 正常の分布に戻り, 再び鎖状配列する像や1つの筋線維が, 数本に枝分れした像や一度親線維から分枝した線維が再び親線維に合流する像も観察された。連続した組織切片で観察しても, 単離筋線維で得られた結果と同様に, 親線維から分枝する筋線維が多数みられる。

まとめ

mdx マウスの骨格筋は従来の dy マウスのそれと比較して, 成体重や筋比体重の病気の進行に伴う減少が殆んどみられないという点で, 大きな違いがある。しかし, 組織病変をみると, 変性・壊死とそれに続く活発な再生がみられ, fibrosis による脂肪化や筋線維の消失は殆んど認められない。この組織の活発な修復は, ここでみられる強い再生反応と深く関係していると思われるが, その詳しいメカニズムは今後検討を要する。

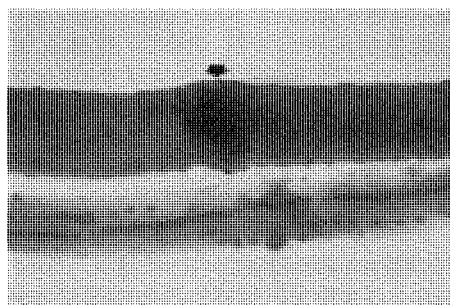


図. 1 mdx マウス(47日齢)前脛骨筋線維。胞体内に鎖状配列する中心核, 並列する鎖状配列の中心核が観察される。矢印は過収縮部を示す。

マウス肝炎ウイルス peplomer 蛋白 (E2) の
バキュロウイルスベクターによる産生

余田 明, 菊池建機, 田口文広

マウス肝炎ウイルスは株により多様な病原性を示すが、主に、マウスに肝炎、脳脊髄膜炎および下痢をおこすことが知られている。マウス肝炎ウイルスの表面には、E2蛋白と呼ばれる分子量約150,000のスパイク状の糖蛋白が存在する。E2蛋白は、感受性細胞のレセプターへの結合活性及び膜融合活性を有し、ウイルスの病原性に関与していると考えられているがその詳細は明らかにされていない。一方、バキュロウイルスベクターの発現系は蛋白の産生量が多く、糖鎖が付加されるという点で最近注目されている。¹⁾²⁾そこで、E2蛋白の構造及び機能をより詳しく検討する目的で、バキュロウイルスベクターを用いたE2蛋白の産生を試みた。

材料と方法

マウス肝炎ウイルス (JHMOV) E2遺伝子に BamHI リンカーを付加し、これをトランスフェーベクター (pAcYMI)²⁾のポリヒドリン遺伝子プロモーターの下流にある BamHI 認識部位に挿入した。ベクタープラスミド DNA とバキュロウイルス (AcNPV) DNA を昆虫由来培養細胞にリン酸カルシウム法によりトランスフェクションし、E2遺伝子を含むリコンビナントバキュロウイルス (AcE2) を得た。E2遺伝子の発現は抗 JHMOV 抗体を用いた間接蛍光抗体法、免疫沈降法及び ELISA で確認した。ELISA の抗原は、リコンビナントウイルス感染細胞の lysate を用いた。

結果と考察

リコンビナントウイルスが感染した昆虫由来培養細胞には分子量約150,000の蛋白が認められ、この蛋白は免疫沈降法で抗 JHMOV 抗体と反応した (図1)。また間接蛍光抗体法及び ELISA によっても抗 JHMOV 抗体と反応する抗原が検出され、その量は感染後3日目に最高値に達した。これらの結果は、バキュロウイルスベクターによりE2蛋白が産生されたことを示している。

リコンビナントウイルスによって昆虫由来培養細胞内に産生されたE2蛋白の分子量は、JHMOV が感染したマウス由来培養細胞内のE2蛋白の分子量と一致したが、糖鎖の蛋白への結合を阻害する tunicamycin 存在下では、リコンビナントウイルスにより分子量約130,000の蛋白が産生された。この結果から、産生されたE2蛋白は、糖鎖が付加されていると考えられる。また、産生されたE2蛋白は、

昆虫由来培養細胞表面に局在していることが蛍光抗体法により示された。このことは、E2蛋白のシグナルペプチドが昆虫由来培養細胞内で除去されたことを示唆している。

以上の結果から、バキュロウイルスベクターの発現系によって、JHMOV 感染細胞内のE2蛋白と同様の分子量及び抗原性をもったE2蛋白が産生されることが示された。今後、産生されたE2蛋白の免疫原性、構造及び機能を解析する予定である。

文 献

- 1) Smith, G. E, Summers, M. D. and Fraser, M. J. (1983), Molecular and Cellular Biology 3, 2156-2165
- 2) Matsuura, Y., Possee, R. D. Overton, H. A. and Bishop, D. H. L., (1987) J. gen. Virol. 68, 1233-1250
- 3) Van Wyke Coelingh, K. L, Murphy, B. R., Collins, P. L., Lebacqz-Verhelden, A.-M., and Battey, J. F. (1987) Virology 160, 465-472

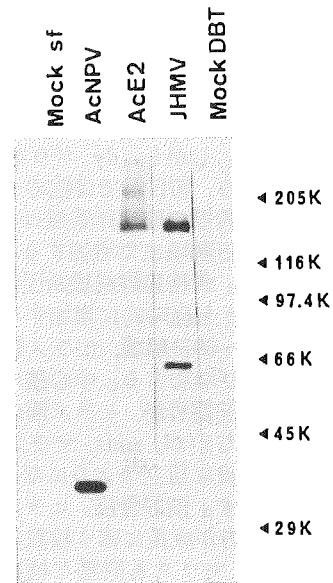


図1. リコンビナントウイルス産生蛋白の抗 JHMOV 抗体を用いた免疫沈降

マウス胚性幹細胞株樹立の試み

花岡和則, 早坂美智子

マウス奇形腫の幹細胞である胚性癌腫細胞 (EC細胞) は, 初期胚細胞や始源生細胞が末分化状態を維持したまま無限増殖能を獲得したものと考えられる。奇形腫の初代培養によりEC細胞の株化が試みられ多くの細胞株が樹立されている。EC細胞は, 通常の培養細胞として取り扱える上, 正常胚との間で, キメラを形成する能力を示す点で特異な細胞株であり, 初期胚発生解析のための材料として, またマウス胚への外来遺伝子導入の担体として多大の貢献をしてきている。

近年, 奇形腫細胞が卵円筒期胚の胚体外胚葉細胞に類似していることに着目し, 初期胚を直接培養系に移すことにより, 多分化能を持つ細胞株樹立の試みが報告されている。これらの細胞 (胚性幹細胞 (ES細胞) 株) は, 奇形腫の段階を経ていることからより初期胚に近い性質を保持していることが期待でき遺伝子導入の担体として有利な点が多いことが予想される。しかし, ES細胞樹立の方法はまだ確立されたものとはいえないのが現状である。そこで, キメラ法によるより有効な遺伝子導入の担体を探索するという観点から, 初期胚から直接多分化能を持つES細胞株を樹立するための培養条件について検討した。

方法

1) 初代培養 マウス初期胚 (胚盤胞期胚, 129または B6C3F1) を培養条件下 (15% FCS を含む DMEM) に移す。胚は通常 4 日目には発達した卵円筒様構造を形成した。これらの胚から, トリプシン / EDTA 処理により胚体外胚葉細胞を単離した。これらの細胞を軽くピペティングした後フィーダー細胞上に移した。

2) 培地 DMEM 培地に, 10^{-4} Mメルカプトエタノール, 2.1g/l炭酸水素ナトリウム, 0.3g/lグルタミン, 10ml/l非必須アミノ酸, 10mg/lインシュリン, 5mg/lトランスフェリン, 10^{-8} M亜セレン酸ナトリウムを加えたものを使用した。

3) フィーダー細胞 STO, 3T3細胞株およびマウス12-15日胚繊維芽細胞にマイトマイシン処理を施した後, 末分化細胞のフィーダーとして使用した。

結果

1) 胚性幹細胞株の樹立

上記の方法により培養条件下に移された胚細胞は多くの場合極めて不安定であり, 数週間後にはその増殖性を失った。培地の組成, 継代方法, フィーダー

細胞などについて様々な検討を加えた結果, 数千個に及ぶマウス胚の培養から僅か3株ではあるが, きわめてEC細胞と形態的に類似した細胞株を得た。

2) 得られた細胞株の性質

a. キメラ形成能 これらの細胞を用いてキメラ胚盤胞が形成された。フィトヘムアグルチニン存在下で, 8-細胞期マウス胚と接着させた後2日間培養し, 多数のキメラ胚を得た。GPI をマーカーに解析を行った結果, この胚盤胞期胚の中に胚性幹細胞株由来の細胞が存在することを確認した。

b. レクチン受容体 蛍光ラベルレクチンを用いて, 樹立された胚性幹細胞株の細胞表面のレクチン受容体の分布を, 生細胞を用いた膜蛍光法で調べた。樹立された幹細胞株で発現しているレクチン受容体は, 胚体外胚葉細胞や奇形腫細胞に一致していることが明らかになり, 表面糖鎖についても初期胚細胞の性質を保持していることが示唆された。

考察

培養細胞株を用いキメラ法により外来遺伝子を導入する方法は, 胚に直接遺伝子を注入する方法に比べていくつかの有利な点がある。1) 遺伝子の導入操作が容易である。2) 胚への導入操作に移る前に, 培養下で導入遺伝子のコピー数や染色体での位置などの情報を得ることができる。3) 遺伝子を導入した細胞は容易に凍結保存できる。4) 細胞工学的手法を適用することも可能である。しかし, 発生的多能細胞株の樹立技術が確立していない点が最大の問題点であり, それを克服することにより, 遺伝子発現の調節機構を研究するうえで重要な実験系としてさらに発展することが期待できる。本年度研究を行った胚性幹細胞株は, 全ての系統のマウスで作成が可能なこと, マウス以外の種でも作成が原理的には可能なこと, 腫瘍の段階を経ないことからより正常胚細胞に近いと考えられ, 奇形腫以上に有用であることが期待できる。今後さらに効率的な作成法の確立に取り組む予定である。

III 中 央 施 設

I 実験動物研究施設

昭和61年7月に竣工した実験動物研究施設は、その後飼育室関係領域と共通実験室の整備が進み、昭和62年4月16日に開所式が催され、関係者の祝福と期待の下に活動を開始した。委員会は施設利用者の使いやすさと、優れた実験素材としての実験動物を維持するための感染防御の立場からの意見とを勘案しながら、「施設の利用の手引き」の作成に入った。作成された施設の管理規程と利用の手引きは部長会で承認され、6月1日付で施行の運びとなった。

第1回施設利用者講習会は6月22日に開催された。開設当初、施設の利用申請者は90名、月当り延入館者数は273名であった。本年度末3月には申請者は117名となり、月当り延入館者数は506名に急増し、動物を用いた研究が活発に展開している。

施設内には研究室を整備中のモデル動物開発部に加えて、新たに発足した遺伝子工学研究部が昭和62年11月以降入ることになり、第2研究棟へ移転するまでの間未整備の飼育室と共通実験室を使うことになった。

本年度の施設整備は感染動物実験や発生工学を応用した実験領域を広げることにあった。さらに、検疫やミュータントの維持に重要なビニールアイソレーター（V.I.）を増やすことにした。整備の内訳は、一階検疫室に V.I. 6台、二階飼育室1室にV.I. 28台、洗滌滅菌室にケージウォッシャー1台を設置する。三階 CONV 飼育室2室増設とクリーンラック設置、感染動物実験室1室と同飼育室1室への感染実験用陰圧アイソラック2台の設置、SPF 飼育室3室へのクリーンラック（木製）の設置である。次年度夏までにはこれらの室が使用可能となる。

（実験動物研究施設管理委員長 菊池建機）

II RI 研究施設

神経研究所の RI 施設（270㎡+焼却施設24㎡）を、現在14研究部、75名の研究員が共同使用している。当 RI 研究施設の管理運営は放射線障害防止法（昭和55年5月改訂）及び国立精神・神経センター放射線障害予防規定（昭和61年10月）に従って行われているが、具体的運営に関する諸問題は各部選任の RI 委員によって構成される RI 委員会によって討議決定している。なお、本年度末より RI 委員長が宮本代謝研究部部長から高橋疾病研究第三部部長に交代した。RI 取り扱い主任者は今沢代謝研究部室長が併任し、古川免疫研究部室長および西川疾病研究第三部室長が副主任者として補佐を行っている。

現在使用可能な承認核種は ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{45}Ca 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{59}Fe 、 ^{64}Cu 、 ^{75}Br 、 ^{18}F である。本年度の年間使用量は ^3H ：64.4mCi、 ^{14}C ：0.435mCi、 ^{32}P 52.25mCi、 ^{35}S ：4.0mCi、 ^{125}I ：19.9mCi、 ^{45}Ca 1.0mCiであり、昨年度と大差のない使用量であった。

現在当施設で解決が望まれている問題は下記の二点である。

Ⅲ 中央施設

1) 専任職員の確保

専任職員の必要性は早くから叫ばれていたが未だに実現せず、現在でも RI 排水処理、管理区域内表面汚染検査、RI 機器整備、使用法の監督などの業務を各部ならびに RI 委員会で分担している。今後、RI 使用研究の増大とともに RI 研究施設の管理、監督業務も増大し、主任者免許を有する専任職員を確保することの重要性が一層増す状態であり、この問題の早期解決が望まれる。

2) 施設の拡充

現在の RI 実験施設は RI 実験の必要性ならびに使用頻度、利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年度に着工した神経研究第二研究棟内の RI 研究施設の早期開設が望まれる。

最後に本年度 RI 共同使用のために整備された機器を表示する。

昭和62年度購入 RI 機器（昭和56年度年報 p263 参照）

- ① 液体シンチレーションカウンター パッカード 2200CA 2台
- ② フリーザー サンヨー MDF-535D
- ③ RI 有機廃液蒸留装置 アロカ WDS-101B

（RI 委員会委員長 高橋清久）

Ⅲ 電子顕微鏡室

1) 施設及び機器

設置されている機種は、従来通り、透過型として日立 H 700, H 600, 走査型として日立 S 700, S 430 である。今年度、一番使用頻度の高かった日立 H 300が日立 H 7000に更新された。この新型機は、オートアノードにより、低加速で高輝度が得られ、観察室内倍率表示、視野中心回転機構など操作性に優れ、初心者の使用に適している。

又、ライヘルト社のウルトラミクロームが搬入され、共同利用されている。

2) 運営上の問題点

建物の老朽化と共に、床面の振動が年々大きくなり、重心位置が上部にある走査型電子顕微鏡の性能低下が著しく、さまざまな防震対策を試みたが、いまだ良策はなく、床振動の最も少い一階への移転が望まれる。

電子顕微鏡の可動絞りの焼き出しに利用されている真空蒸着装置の摩耗が進み、高真空を一定時間保つのが困難になり、電子顕微鏡の非点補正に苦慮している。

（電顕委員会委員長 埜中征哉）

Ⅳ 安全委員会

昭和63年2月18日に安全委員会を開催した。現在委員長鍋島陽一、委員鈴木義之、田平武、古川昭栄、桃井隆、花岡和則、木村一郎（早稲田大学）、宮澤真（運営部・庶務第一課長）で構成している。当センターの安全規定より一名多いが、これは最近のトランスジェニックマウス研究の進展に対応するために専門家（花岡）に委員として加わっていただいたためである。本年度は、38件の申請が提出され、基本的には全ての計画が許可されたが、トランスジェニックマウスを用いる実験計画に関しては、動物実験室の整備状況にあわせて、科技庁の許可を得なければならない。今回提出された全ての計画が安全に実行され、多くの結果を生み出すことを期待したい。

（安全委員会委員長 鍋島陽一）

Ⅴ 第二研究棟建設委員会

第二研究棟の建設に関しては、現在の第一研究棟が建設された時点より計画されていた。当初の計画としては第一研究棟の北側、第七病棟との間に、二つの研究棟が東西に長く平行に並ぶ形が考えられていた。しかし発足間もなくから機能訓練棟が予定地にくい込むような形で建てられて、この案は捨てられ代わりに第一研究棟の玄関前に第二研究棟を建てるという暫定的な案が建てられていた。

第二研究棟の建設を望む声は高く、早くも数年前から小沢鏝二郎を委員長に、田平武、埜中征哉、高木昭夫、今沢正興、及び古川昭栄による委員会が発足し、玄関前案について種々検討がなされた。その後高木昭夫の転出があり、高橋清久が加わった。

昭和62年度の予算案に第二研究棟設立の予算が計上されたことから実質的審議に入った。7千数百平米の建物を建てる場所の選定については、第一案として従来の玄関前案、第二案として第一研究棟と第七病棟間に南北に縦に建てる案、第三案として第一研究棟の真西で第一病棟の更に西に建てる案とが出された。第一案は将来への発展の余地がないこと、第二案は西陽をまともに受けること及び第七病棟の内部がみえてしまうことによるプライバシー侵害の問題から捨てられ、第三案が研究所案として出された。

センター全体としてこの案が検討されたが、仲々病院側の承諾を得るに至らなかった。その後総長案や病院長案が出されたが、問題も多く、結局第三案を手直しして第一病棟への影響を少なくするということが最終センター案となった。その後本省整備課の検討を経て実質的には研究所案に戻り、現在施行中のものとなった。

建物の案については、整備課から地下一階地上六階とするという案が提示された。十部門が移転することは、以前より研究所内部で同意が得られていたので、地下 RI、1階管理・共通部処とし、2階から6階迄を各階二部門に当てることとした。内訳は2階南遺伝子工学研究部、同北疾病研究第五部、3階南診

III 中央施設

断研究部, 同北代謝研究部, 4階南機能研究部, 同北疾病研究第三部, 5階南発生生物学研究部(予定), 同北疾病研究第四部, 6階南疾病研究第六部, 同北免疫研究部である。

実際の間取り等については建設委員会案のレイアウトを整備課に示し, 何度か会合を重ねてレイアウトの最終案が決められた。その後これを各該当部に提示し部屋割り, 給排水, 電源その他の詳細を計画して貰った。本省整備課および設計担当のエース設計事務所と当該部と何度かの打ち合わせを重ねて一応の最終案が作られた。それによれば, 研究棟延面積が7,374平米, それに加えて機械棟が480平米となっている。

その後本省で担当建築業者として佐藤工業株式会社を指名した。そして当初の研究所案とほぼ同じ位置に土掘りなどの工事が始められている。

(第二研究棟建築委員長 小沢鉄二郎)

VI 感染実験安全委員会

昭和63年1月26日, 里吉栄二郎委員長, 鍋島陽一, 田平 武, 渡辺里仁, 加茂功, 田口文広(菊池建機代理)および予防衛生研究所の北村敬腸内ウイルス部部長の出席のもとで開催された。

事実上は, 初めての委員会ということで, 委員会の運営方針, 国立精神・神経センター神経研究所病原体等安全規程(以下安全規程と略す)の内容について様々な角度から検討が加えられた。安全規定第4条では, 研究所内で取り扱える病原微生物の範囲が危険度2bまでとされているが, これは現在および将来の研究の実状に合わないので3aまでとすべきであるという意見が北村委員より出され了承された。また, 安全規程第13条第1項の危険度1に属する病原体等の届出は, 安全委員会に提出するとあるが, 届出先は神経研究所所長宛とし, 所長が安全委員会に報告することとするという改正案が, 鍋島委員より出され了承された。

免疫研究部の渡辺里仁室長が危険防止主任者に指名された後, 6研究部より提出された18件のクラス2以上の病原体取扱申請案件について審議し一部条件付きで了承された。

(感染実験安全委員会委員長 里吉栄二郎)

VII 図書委員会

1階事務室うらの書庫が手狭になったため5階旧動物舎を書庫に改修し, 1974年以前の雑誌を移動した。以下に図書室で購入中の定期・不定期刊行物のタイトルを列記する。

(委員長 小沢鉄二郎)

洋雜誌名

1. Acta Histochemica et Cytochemica (1983~) vol.16~
2. Acta Neurologica Scandinavica (1967~) vol.43~
3. Acta Neuropathologica (1978~) vol.41~
4. Acta Physiologica Scandinavica (1968~) vol.72~
5. AIDS (1987~) vol.1
6. American Journal of Anatomy (1968~) vol.122~
7. American Journal of Human Genetics (1968~) vol.20~
8. American Journal of Medical Genetics (1977~) vol.1~
9. American Journal of Pathology (1968~) vol.52~
10. American Journal of Physiology (1968~) vol.214~
11. Analytical Biochemistry (1968~) vol.22~
12. Annals of Neurology (1978~) vol.3~
13. Annals of New York Academy of Science (1968~) vol.146~
14. Anatomical Record (1968~) vol.160~
15. Anatomy & Embryology (1978~) vol.153~
16. Advances in Neurology (1973~) vol.1~
17. Annual Review of Genetics (1974~) vol.8~
18. Annual Review of Physiology (1974~) vol.36~
19. Annual Review of Neuroscience (1978~) vol.1~
20. Annual Review of Biochemistry (1974~) vol.43~
21. Annual Review of Cell Biology (1985~) vol.1~
22. Annual Review of Immunology (1983~) vol.1~
23. Annual Review of Pharmacology & Toxicology (1984~) vol.24~
24. Archives of Biochemistry & Biophysics (1968~) vol.123~
25. Archives of Neurology (1959~) vol.1~
26. Archives of Pathology & Laboratory Medicine (1983~) vol.107~
27. Archives of Virology (1986~) vol.87~
28. Biochemical Biophysica Acta (1968~) vol.150 ~
29. Biochemical Journal Acta (1968~) vol.106~

Ⅲ 中央施設

30. Biochemical Society Transactions (1978～) vol.6～
31. Biochemical Pharmacology (1958～) vol.1～
32. Biochemical Biophysical Research Communications (1960～) vol.1～
33. Biochemistry (1962～) vol.1～
34. Biochemistry International (1980～) vol.1～
35. Biological Psychiatry (1969～) vol.1～
36. Biomedical Mass Spectrometry (1974～) vol.1～
37. Biomedical Research (1980～) vol.1～
38. Biomedical Reports (1983～) vol.3～
39. Biophysical Journal (1960～) vol.1～
40. Brain (1968～) vol.1～
41. Brain Research Reviews (1976～) vol.1～
42. Brain Journal of Pharmacology (1968～) vol.34～
43. Biochemistry & Cell Biology (1987～) vol.65～
44. Biochemical Genetics (1987～) vol.25～
45. Biochemical Medicine & Metabolic Biology (1987～) vol.37～
46. Biology of Neonate (1987～) vol.51～
47. Biosis Cas Selects : Alzheimer's Disease & Senile Dementias (1987～) vol.1～
48. Blood : Journal of Hematology (1987～) vol.69～
49. Brain Research Bulletin (1987～) vol.18～
50. British Journal of Haematology (1987～) vol.65～
51. Brain Research (1985～) vol.349～
52. Brain Research Development Brain Research (1982～) vol.281～
53. Cancer Research (1968～) vol.28～
54. Cell (1974～) vol.1～
55. Cell Calcium (1985～) vol.6～
56. Cell Differentiation (1983～) vol.12～
57. Cell Biology : International Reports (1983～) vol.7～
58. Cellular Immunology (1970～) vol.1～
59. Cell Motility & Cytoskeleton (1983～) vol.3～

60. Cell & Tissue Research (1978~) vol.186~
61. Cell & Tissue Kinetics (1983~) vol.16~~
62. Cellular & Molecular Neurobiology (1983~) vol.3~
63. Chemical Reviews (1968~) vol.68~
64. Chemical Titles (1968~) vol.1~
65. Chromosoma (1986~) vol.93~
66. Chronobiology International (1986~) vol.3~
67. Clinical Chemistry (1975~) vol.21~
68. Clinical Genetics (1970~) vol.1~
69. Clinical Neuropathology (1983~) vol.2~
70. Clinica Chimica Acta (1968~) vol.19~
71. Computers & Biomedical Research (1987~) vol.20~
72. Cytogenetics & Cell Genetics (1983~) vol.35~
73. Canadian Journal of Genetics & Cytology
74. Canadian Journal of Physiology & Pharmacology (1987~) vol.65~
75. Cell Biochemistry & Function (1987~) vol.5~
76. Clinical & Experimental Immunology (1987~) vol.67~
77. Clinical Immunology & Immunopathology (1987~) vol.42~
78. Clinical Neuropharmacology (1987~) vol.10~
79. Cytobiology (1969~1979) vol.1~18
80. Cumulated Index Medicus (1968~) vol.9~
- 改名前の名称 Journal of Embryology and Experimental Morphology (1986) vol.91~98.
81. Development (1987~) vol.99~
82. Development Brain Research (1986~) vol.24~
83. Developmental Biology (1968~) vol.17~
84. Differentiation (1973~) vol.1~
85. Electromyography & Clinical Neurophysiology (1983~) vol.23~
86. The EMBO Journal (1983~) vol.2~
87. Endocrinology (1968~) vol.82~
88. European Journal of Biochemistry (1967~) vol.1~

III 中央施設

89. European Journal of Cell Biology (1979~) vol.19~
90. European Journal of Immunology (1983~) vol.13~
91. European Journal of Pharmacology (1967~) vol.1~
92. Experientia (1968~) vol.24~
93. Experimental Brain Research (1966~) vol.1~
94. Experimental Cell Biology (1983~) vol.51~
95. Experimental Cell Research (1968~) vol.49~
96. Experimental Neurology (1959~) vol.1~
97. Experimental Pathology (1983~) vol.23~
98. Epilepsia (1987~) vol.28~
99. Epilepsy Research (1987~) vol.1~
100. European Journal of Medical Chemistry (1987~) vol.22~
101. European Neurology (1987~) vol.26~
102. Experimental Gerontology (1987~) vol.22~
103. FASEB Journal (1987~) vol. 1~
104. FEBS Letters (1968~) vol.1~
105. Federation Proceedings of the Federation of American Societies of Experimental
Biology (1968~) vol.27~
106. Gene (1986~) vol.41~
107. Gene & Development (1987~) vol.1~
108. Genetical Research (1987~) vol.49~
109. Genetics (1987~) vol.115~
110. Genome (1987~) vol.29~
111. Histochemistry (1983~) vol.77~
112. Human Genetics (1964~) vol.1~
113. Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur Physiologische Chemie, Biological Chemistry
(1983~) vol.364~
114. Immunology (1968~) vol.14~
115. Immunology Today (1983~) vol.4~
116. Infection & Immunity (1970~) vol.1~

117. International Journal of Biochemistry (1983～) vol.15～
118. International Journal of Neuroscience (1983～) vol.18～
119. In Vitro (1983～) vol.19～
120. Immunological Reviews (1987～) vol.95～
121. International Archives of Allergy & Applied Immunology (1987～) vol.82～
122. International Journal of Cancer (1987～) vol.39～
123. Immunochemistry (1964～1974) vol.1～17
124. Journal of Affective Disorders (1986～) vol.10～
125. Journal of American Chemical Society (1968～) vol.90～
126. Journal of Anatomy (1967～) vol.102～
127. Journal of Biochemistry (1922～) vol.1～
128. Journal of Biological Chemistry (1968～) vol.243～
129. Journal of Cell Biology (1968～) vol.36～
130. Journal of Cell Science (1966～) vol.1～
131. Journal of Cellular Physiology (1968～) vol.71～
132. Journal of Chromatography (1958～) vol.1～
133. Journal of Clinical Investigation (1984～) vol.73～
134. Journal of Comparative Neurology (1898～) vol.1～
135. Journal of Electron Microscopy (1978～) vol.27～
136. Journal of Experimental Medicine (1968～) vol.127～
137. Journal of Experimental Zoology (1986～) vol.237～
138. Journal of General Physiology (1919～) vol.1～
139. Journal of Heredity (1986～) vol.77～
140. Journal of Histochemistry & Cytochemistry (1968～) vol.16～
141. Journal of Immunology (1968～) vol.100～
142. Journal of Immunological Methods (1971～) vol.1～
143. Journal of Inherited Metabolic Disease (1978～) vol.1～
144. Journal of Lipid Research (1968～) vol.9～
145. Journal of Membrane Biology (1969～) vol.1～
146. Journal of Mental Deficiency Research (1957～) vol.1～

III 中央施設

147. Journal of Molecular Biology (1969~) vol.39~
148. Journal of Morphology (1983~) vol.175~
149. Journal of Muscle Research & Cell Motility (1983~) vol.4~
150. Journal of Neural Transmission (1968~) vol.31~
151. Journal of Neurobiology (1983~) vol.14~
152. Journal of Neurochemistry (1968~) vol.15~
153. Journal of Neurogenetics (1983~) vol.12~
154. Journal of Neuroimmunology (1981~) vol.1~
155. Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry (1926~) vol.1~
156. Journal of Neurological Sciences (1964~) vol.1~
157. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology (1987~) vol.46~
158. Journal of Neurophysiology (1938~) vol.1~
159. Journal of Neuroscience (1986~) vol.6~
160. Journal of Neuroscience Methods (1979~) vol.1~
161. Journal of Neuroscience Research (1983~) vol.9~
162. Journal of Pathology (1983~) vol.139~
163. Journal of Pediatrics (1968~) vol.72~
164. Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics (1967~) vol.156~
165. Journal of Physiology (1968~) vol.194~
166. Journal of Tissue Culture Methods (1983~) vol.8~
167. Journal of Ultrastructure Research & Molecular Structure Research (1968~)
vol.22~
168. Journal of Virology (1967~) vol.1~
169. Journal of American College of Neuropsychopharmacology (1987~) vol.1~
170. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism (1981~) vol.1~
171. Journal of Child Neurology (1987~) vol.2~
172. Journal of Chromatographic Science (1987~) vol.25~
173. Journal of Cyclic Nucleotide & Protein Phosphorylation Research (1987~)
vol.12~
174. Journal of Developmental Physiology (1987~) vol.9~

175. Journal of Experimental Psychology (1987~) vol.13~
176. Journal of Magnetic Resonance (1969~) vol.1~
177. Journal of National Cancer Institute (1987~) vol.78~
178. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology
179. Journal of Pharmacy & Pharmacology (1987~) vol.39~
180. Journal of Toxicology : Toxin Reviews (1987~) vol.6~
181. Journal of Embryology & Experimental Morphology (1986~) vol.91~
182. Journal of General Virology (1986~) vol.67~
183. Laboratory Animal (1986~) vol.20~
184. Laboratory Animal Science (1986~) vol.36~
185. Laboratory Investigation (1968~) vol.18~
186. Lancet (1968~)
187. Life Science (1968~) vol.7~
188. Lipids (1966~) vol.1~
189. Molecular & Cellular Biology (1983~) vol.3~
190. Molecular & Cellular Biochemistry (1973~) vol.1~
191. Molecular Immunology (1979~) vol.16~
192. Molecular Pharmacology (1965~) vol.1~
193. Muscle & Nerve (1978~) vol.1~
194. Mutation Research (1964~) vol.1~
195. Membrane Biochemistry (1987~) vol.7~
196. Metabolic Brain Disease (1987~) vol.2~
197. Molecular Biology Reports (1987~) vol.12~
198. Molecular Brain Research (1986~) vol.1~
199. Methods in Enzymology vol.1~
200. Nature (1968~) vol.217~
201. Naunym-Schmiedberg's Archives of Pharmacology (1985~) vol.331~
202. Neurology (1970~) vol.20~
203. Neurochemical Research (1976~) vol.1~
204. Neuropathology & Applied Neurobiology (1975~) vol.1~

Ⅲ 中央施設

205. Neuropediatrics (1978～) vol.9～
206. Neuropeptides (1983～) vol.4～
207. Neuroscience (1983～) vol.8～
208. Neuroscience Letter (1975～) vol.1～
209. Neuroscience Research (1984～) vol.1～
210. New English Journal of Medicine (1967～) vol.276～
211. Nucleic Acids Research (1974～) vol.1～
212. Neurobiology of Aging (1987～) vol.8～
213. Neurochemical Pathology (1987～) vol.6～
214. Neurochemical International (1987～) vol.10～
215. Neuroendocrinology (1987～) vol.45～
216. Neuroscience Abstracts (1987～) vol.5～
217. Neurotoxicology (1987～) vol.8～
218. Pathology (1983～) vol.4～
219. Pediatric Research (1967～) vol.1～
220. Peptides (1983～) vol.4～
221. Pflugers Archiv European Journal of Physiology (1947～) vol.249～
222. Pharmacological Reviews (1968～) vol.20～
223. Pharmacology Biochemistry & Behavior (1983～) vol.18～
224. Physiological Reviews (1968～) vol.48～
225. Proceedings of Japan Academy (1944～) vol.20～
226. Proceedings of National Academy of Sciences (1968～) vol.59～
227. Proceedings of Royal Society of London Ser.B : Biological Science ()
vol.217～
228. Psychopharmacology (1959～) vol.1～
229. Pediatric Neurology (1987～) vol.3～
230. Physiology and Behavior (1987～) vol.39～
231. Proceedings Society of Experimental Biology & Medicine (1987～) vol.184～
232. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (1966～) vol.1～
233. RAMBIOS (1986～) vol.3～

234. Regulatory Peptides (1986～) vol.14～
235. Revue Neurologique (1978～) vol.134～
236. Roux's Archives of Developmental Biology (1969～) vol.162～
237. Review of Magnetic Resonance in Medicine (1987～) vol.2～
238. Sciences (1968～) vol.159～
239. Studia Biophysica (1983～) vol.93～
240. Somatic Cell & Molecular Genetics (1986～) vol.12～
241. Subcellular Biochemistry (1987～)
242. Synapse (1987～) vol.1～
243. Theriogenology (1986～) vol.25～
244. Trends in Biochemical Science (1983～) vol.8～
245. Trends in Genetics (1986～) vol.25～
246. Trends in Neurosciences (1983～) vol.6～
247. Trends in Pharmacological Sciences (1983～) vol.4～
248. Tissue & Cell (1983～) vol.15～
249. Toxicology Letters (1987～) vol.35～
250. Transplantation (1987～) vol.43～
251. Tohoku Journal of Experimental Medicine (1984～)
252. Veterinary Record (1986～) vol.118～
253. Virchows Archiv A : Pathological Anatomy & Histology (1947～) vol.314～
254. Virchows Archiv B : Cell Pathology (1968～) vol.1～
255. Virlogy (1986～) vol.148～
256. Virus Research (1986～) vol.4～

和雑誌名

1. 遺伝 (1981～) vol.35～
2. 科学 (1981～) vol.51～
3. 化学 (1981～) vol.36～
4. 細胞工学 (1985～) vol.4～
5. 神経研究の進歩 (1981～) vol.25～

III 中央施設

6. 神経内科 (1982～) vol.16～
7. 生体の科学 (1981～) vol.32～
8. 総合臨床 (1981～) vol.30～
9. 組織培養 (1981～) vol.7～
10. 蛋白質・核酸・酵素 (1981～) vol.24～
11. 治療 (1981～) vol.63～
12. 脳と発達 (1981～) vol.13～
13. ラボラトリーアニマル (1986～) vol.3～
14. サイエンス (1987～) vol.17～
15. 神経精神薬理 (1987～) vol.9～
16. 実験医学 (1987～) vol.4～
17. 代謝 (1987～) vol.24～
18. 臨床神経学
19. Clinical Neuroscience (1987～) vol.5～
20. 続・生化学実験講座

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。このために、患者はもちろん家族の苦悩は、測り知れないものがある。

これらの難治疾患に対する医療と研究を速かに整備、充実すべきだとする世論に応えて、厚生省は昭和39年以降、筋ジストロフィーおよび重症心身障害の専門病床の整備を進めるとともに、「進行性筋ジストロフィーの成因と治療」、「心身障害の発生予防」の研究の強化を計り、また昭和47年度以後には、重症筋無力症、筋萎縮性側索硬化症、多発性硬化症などの神経系難病の研究を推進して今日に至っている。しかし、その成果は必ずしも満足すべきものではないとして、これらの難治疾患の原因解明と治療開発をより一層推進するために、医学のみならず、関連諸科学を含めた大規模な総合的研究機構を、国家的見地に立って建設する必要があることが各方面から要望された。

このような状況のもとで、昭和43年には国立脳・神経センターの構想が国立武蔵療養所から厚生省に提出され、さらに昭和48年からは患者家族と研究者の協力により、この種の研究機構の構想が検討された。昭和49年には厚生大臣官房科学技術審議官室が、精神・神経・筋・発達障害研究体制検討会（委員長森山豊）を設置し、昭和50年に中間報告をまとめた。翌昭和51年、国立精神・神経・筋・発達障害センター（仮称）発足のための施設整備費が認められ、具体化の第一歩を踏み出した。昭和51年1月、本センター設立準備委員会の設置が決まり、16名の委員が厚生省事務次官より委嘱された（表1）。

本委員会は昭和51年1月から8月迄に8回（その他小委員会2回）開催され、毎回長時間の熱心な討議が行なわれた。細部についてはまだ十分検討が加えられていない憾みがあるが、現在迄に得られた本委員会の結論の大綱をここに報告する。

2. 目標と使命

本センターが対象とする精神疾患、神経・筋疾患、発達障害は各種の解明困難な疾患を含んでいるが、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、各部門の連繋と円滑な運営をはかるものとする。

(1) 研 究 所

イ. 次に掲げる疾患研究部門8部及び基礎部門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、心理などのバ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，看護師，パラメディカル要員については，センターの使命にふさわしい高度の医療水準の確保にこと欠かないだけの定員が設定されなければならない。

なお研究所と病院の人事交流を緊密にするために併任制度を活用すべきである。

6. 設 立 計 画

患者，家族の方々の期待に応えるためにも，センターの構想が一気に実現することを望むものであるが，現在の諸般の状況からは設立計画を段階的に遂行せざるを得ない。

まず研究所については，表2に示す18研究部門，共同利用部門，図書館，動物管理室などを完成するためには少なくとも17,000㎡の規模を必要とする。昭和52年10月に予定された開設のための第一次計画としては，昭和51年度予算7億円で4,400㎡（4階建）の建物が建設されることになった。また第一次計画として本委員会は基礎4部門（神経・筋微細構造研究部，神経機能研究部，代謝研究部，感染・免疫研究部）および疾患研究7部門（筋疾患，先天性代謝異常，周産期・胎内発達障害，精神疾患，変性性神経疾患，脳器質疾患の各疾患研究部および心身障害診断研究部）の計11部門をもって発足することを決定した。しかし，厚生省の要請により，第一次計画は基礎4部門，疾患研究4部門の計8部門で発足することになった。

研究のために必要な機器類の経費として27億円が計上されたが，初年度は13億円が予定されている。

研究要員については本委員会は8研究部で108名程度の専任職員が必要であるとしたが，第一次計画では8研究部門で26名（他に事務職員3名）が予定されているにすぎない。

病院部門には当面現在の国立武蔵療養所が充当されるが，センターの病院の機能としては不十分であるため，第一次計画として神経・筋疾患病棟（120床）の新設と，外来，中央検査部，病理部の拡充，整備を行なう。さらに第二次計画以後，リハビリテーション部の新設および神経・筋疾患の病床を300床に増設させるために必要な改築，整備を順次行なう。

第一次計画につづく第二次，第三次整備計画（表3）を一日も早く完成し，構想に示されたセンターの機能が十分に発揮できるようにすべきである。

7. おわりに

患者、家族の方々と関係者の多年の努力が実って、本センターが建設の第一歩を踏み出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

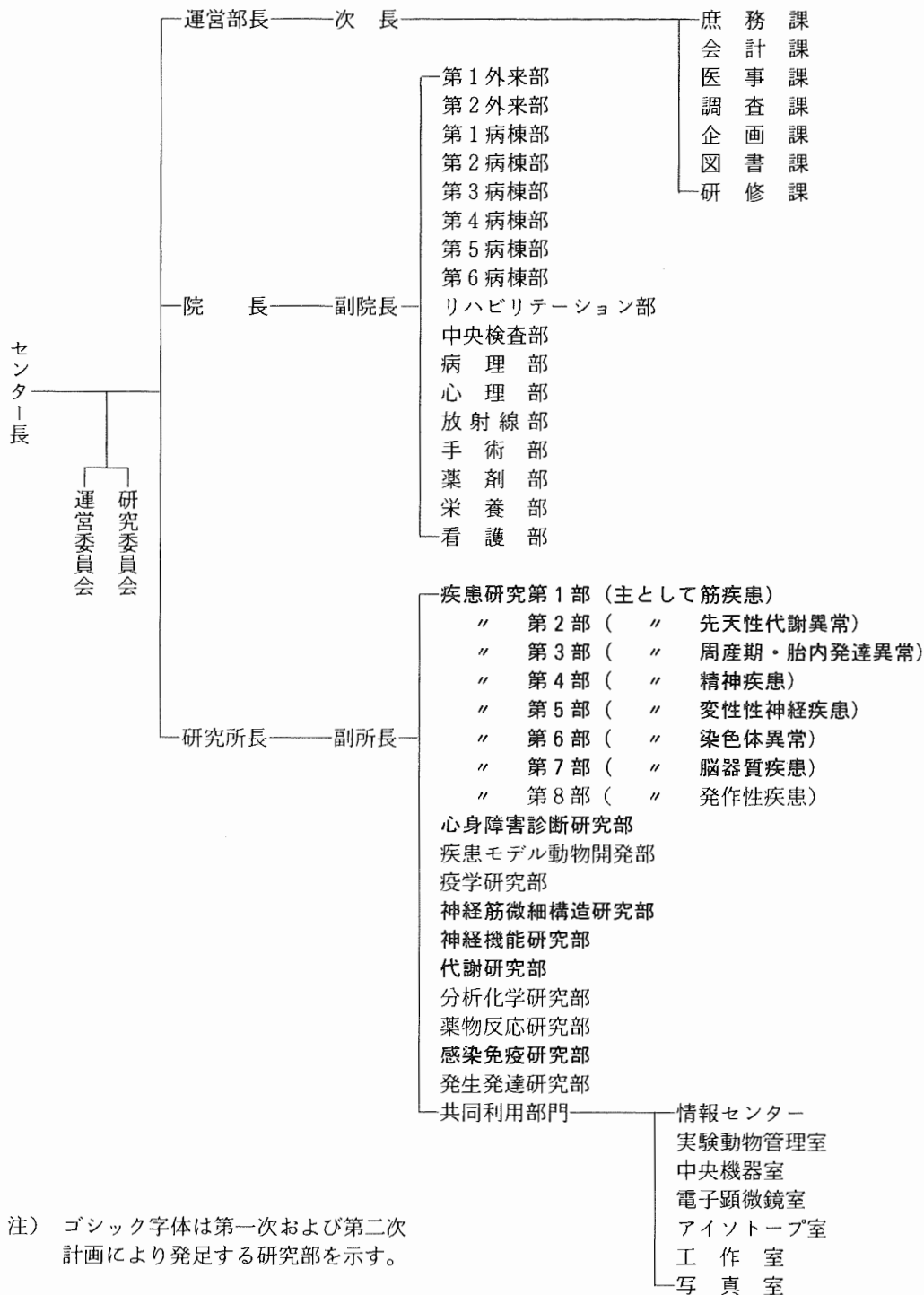
氏 名	所 属
◎ 秋 元 波留夫	国立武蔵療養所所長
○ 里 吉 栄二郎	東邦大学医学部教授（神経内科）
島 藺 安 雄	東京医科歯科大学教授，附属病院長（精神科）
椿 忠 雄	新潟大学医学部教授，脳研究所長（神経内科）
豊 倉 康 夫	東京大学医学部教授，附属脳研究施設長（神経内科）
祖父江 逸 郎	名古屋大学医学部教授，附属病院長（神経内科）
成 瀬 浩	国立精神衛生研究所優生部長
森 山 豊	日本母性保護医協会長
福 山 幸 夫	東京女子医科大学教授（小児科）
塚 田 裕 三	慶応義塾大学医学部教授（生理学）
勝 沼 信 彦	徳島大学教授，附属酵素研究施設長（生化学）
江 橋 節 郎	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2 国立神経センター（仮称）の組織



注) ゴシック字体は第一次および第二次計画により発足する研究部を示す。

表 3. 整備計画

	研 究 所	病 院
第 一 次 計 画 (52~53年度)	一期工事 (約 4,400 ㎡) 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、募集要綱に関連する大学、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核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よう心掛ける。
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. 精神・神経疾患研究委託費 運営委員会運営要領

1. 目 的

精神・神経疾患研究委託費運営委員会(以下「運営委員会」という。)の適正な運営を図るため、運営委員会要領を定める。

2. 運営委員会の業務

- (1) 精神・神経疾患研究委託費(以下「委託費」という。)の委託の対象となる研究課題及び研究者の選考並びにそれぞれの課題に対して、委託しようとする研究費についての審議に関すること。
- (2) 委託費の事業実績(研究成果)の審査に関すること。
- (3) その他委託費の適正な運用に関すること。

3. 組織及び委員の構成

- (1) 運営委員会は、委員22名以内をもって組織し、会長1名を置く。
- (2) 運営委員会の委員は次の者のうちから保健医療局長が委嘱する。
 - イ. 関係行政機関及び国立精神・神経センターの職員
 - ロ. 学識経験のある者
- (3) 会長は、国立精神・神経センター総長の職務にある者とし、会長に事故あるときは、委員のうちからあらかじめ会長が指名する者がその職務を代理する。
- (4) 委員の任期は2年とする。ただし関係行政機関及び国立精神・神経センターの職員は当該職務に在職の期間とする。また委員に欠員を生じたときは、それを補充することができるものとし、当該委員の任期は残任期間とする。

なお、原則として継続した再任は認めない。

- (5) 運営委員会に評価部会を置くことができる。
 - イ. 評価部会は研究成果の評価を行い運営委員会に報告しなければならない。
 - ロ. 評価部会の委員は、運営委員会の委員の中から運営委員会会長が保健医療局長と協議のうえ依頼する者若干名とし、部会長を置く。
 - ハ. 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。

4. 運営委員会の開催

運営委員会(評価部会を含む)は、必要に応じ、会長が保健医療局長と協議のうえ招集する。

5. 運営委員会の庶務

運営委員会の庶務は、国立精神・神経センター運営部において処理する。

IV 別 項

6. 雑 則

この要領に定めるもののほか、運営委員会の運営に関し必要な事項は、会長が保健医療局長と協議のうえ定める。

7. (附 則)

- (1) この要領は、昭和62年4月1日より施行し、従前の神経疾患研究推進委員会規程は、廃止する。
- (2) この規定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らず1年とする。

(別項6)

6. 研究部門将来計画

部	室 名	主として行う研究テーマ
疾病研究第1部 (主として筋疾患)	1. 筋ジストロフィー 2. 筋炎および筋無力症 3. 先天性筋疾患	筋ジストロフィーの病因の解明と治療法の研究 筋炎および筋無力症の病因, 病態生理, 治療法の研究 先天性筋疾患の分類, 成因, 代謝, 治療の研究
疾病研究第2部 (主として発生・発達障害疾患)	1. 精神遅滞 2. 運動感覚発達障害 3. 奇形症候群	精神遅滞の機序の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策 運動感覚発達障害の生化学, 形態学, 症候学的研究と対策 脳奇形および随伴症状の発現機序の研究と予防対策
疾病研究第3部 (主として精神疾患)	1. 精神分裂病 2. 躁うつ病 3. 非定型精神病	精神分裂病の成因の生化学的および薬理学的研究 躁うつ病の成因の生化学的および薬理学的研究 非定型精神病の病態と成因に関する生理学および生化学的研究
疾病研究第4部 (主として変性神経疾患)	1. 脊髄小脳変性症 2. 運動ニューロンおよび末梢神経疾患 3. 錐体外路疾患	脊髄小脳変性症の成因, 病態の解明と治療法の研究 運動ニューロン・末梢神経疾患の成因, 病態の解明と治療法の研究 パーキンソン病などの錐体外路疾患の原因, 病態の解明と治療法の研究
疾病研究第5部 (主として先天代謝異常症)	1. 遺伝生化学 2. 分子病 3. 治療開発	先天代謝異常症の遺伝生化学に関する研究 酵素蛋白異常などを伴ういわゆる分子病の本態解明に関する研究 先天代謝異常症の治療の開発に関する研究
疾病研究第6部	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關 する研究
疾病研究第8部 (主として発作 性疾患)	1. 本態性てんかん 2. 症候性てんかん 3. 発作性脳幹障害	原因不明(本態性)てんかんの成因に関する生理 学および生化学的研究 種々の脳障害に基づくてんかん, 特に難治性てん かんの本態, 治療に関する研究 ナルコレプシーなど脳幹性の意識・睡眠障害の本 態, 治療に関する研究
診断研究部	1. 微量定量 2. 新生児スクリーニング 3. 発達異常診断開発	生体異常成分の微量測定法の開発に関する研究 代謝異常等の新生児期早期診断に関する研究 精神発達障害, 自閉症などの早期診断に関する研究
疾患モデル 動物用開発 研究部	1. モデル動物診断 2. モデル動物遺伝解析 3. モデル動物生産	神経・筋疾患モデル動物の開発に関する研究 神経・筋疾患モデル動物の遺伝的因子の分析 神経・筋疾患モデル動物の生産と維持
疫学研究部	1. 疾患統計調査 2. 遺伝疫学 3. 実験疫学	神経・筋疾患の発生率, 有病率, 死亡率等に関す る調査 神経・筋疾患の遺伝, 遺伝子頻度, 外因等の分析 疫学的に推定される諸因子と疾病の関連に関する 実験的研究

部	室 名	主として行う研究テーマ
微細構造研究部	1. 超微構造 2. 微細組織化学 3. 生体膜	神経・筋組織における正常および病的構造の電子顕微鏡による研究 細胞・組織内の元素分布の変動の分析電顕による解析と構造・機能の関連に関する研究 生体膜の構造および抗原・レセプター分布の免疫学的手法による解析
機能研究部	1. 筋生理学 2. 神経生理学 3. 病態生理学	筋収縮およびそれに関連する機能の生理学的研究 神経の興奮・伝導およびそれに関連する機能の生理学的研究 神経系・筋疾患における機能変化の生理学的研究
代謝研究部	1. 神経化学 2. 発達生化学 3. 細胞化学	神経系の化学的構成および代謝機構の研究 神経系の発達に伴う生体物質の代謝機構の変動に関する研究 ニューロン・グリアなどの神経系の細胞における生化学的調節機構の研究
免疫研究部	1. 免疫発現機構 2. 免疫化学 3. 免疫異常	免疫発現機構の細胞学および免疫化学的研究 免疫関連因子の化学的構造と機能に関する研究 神経・筋疾患における免疫異常の解析と制御機構に関する研究
分析化学研究部	1. 生体物質分析 2. 物質構造解析 3. 生物有機化学	未知の生体物質の分離および化学構造の研究 生体高分子物質の構造の X 線回折, 核磁気共鳴, 電子スピン共鳴などによる研究 生体物質とその近縁物質の化学合成と, これを用いて生体物質の化学反応機構の研究
薬物作用研究部	1. 細胞薬理 2. 発生薬理 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2号(通巻10号)〔昭和62年度〕

発行 昭和63年3月31日
発行者 里吉栄二郎
編集者 鈴木義之
菊池建機
印刷 有限会社新和印刷

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
