令和3年度

精神・神経疾患研究開発費による

研究報告集

Annual Research Report by

Intramural Research Grant for

Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP

2021

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

National Center of Neurology and Psychiatry

目　次

研究報告

（3年度班）

1－1	危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究	舩田　正彦	3
1－2	薬物使用障害に対する多様な治療法の開発	松本　俊彦	43
1－3	重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究	藤井　千代	59
1－4	てんかんの病態解明と併存症を含めた先駆的・包括的診断と治療方法の開発	中川　栄二	115
1－5	難治性神経疾患における免疫病態の解明と診断・治療法開発	山村　隆	169
1－6	精神医療政策への萌芽的取組と行政効果検証に関する研究	臼田　謙太郎	209

（2年度班）

2－1	睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築研究	栗山　健一	217
2－2	ストレス関連疾患の認知行動療法の治療反応性と遺伝子・バイオマーカーの探索	金　吉晴	237
2－3	双方向性のニューロモデュレーション機構の解明と臨床応用の基盤整備	水野　勝広	259
2－4	筋ジストロフィーの臨床開発推進、ならびにエビデンス構築を目指した研究	小牧　宏文	279
2－5	筋レポジトリーの拡充とそれを活用した筋ジストロフィー関連疾患の病態解明と診断・治療法開発	西野　一三	337
2－6	疾患モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発	青木　吉嗣	377
2－7	発達障害の治療法の確立をめざすトランスレーショナルリサーチ	一戸　紀孝	413
2－8	脳神経疾患研究に資する霊長類モデル動物の作出と評価に関する基盤的研究	関　和彦	439
2－9	神経系難病の臨床開発促進におけるナショナルセンターの果たすべき研究基盤整備の検討	中村　治雅	439

（初年度班）

3－1	バイオマーカーにもとづく精神疾患治療法の研究開発基盤構築	山田　光彦	477
3－2	デジタル技術等による認知行動療法の作用機序の解明と国民生活への実装拡張	久我　弘典	497
3－3	認知症・神経変性疾患の基礎・臨床融合研究	岩坪　威	517
3－4	疾患レジストリ・網羅的ゲノム解析を基盤とした神経変性疾患の融合的・双方向性研究	髙橋　祐二	537
3－5	神経変性・発達障害の病因・病態・治療法開発研究	荒木　敏之	551
3－6	小児期発症不随意運動症の克服に向けた研究	佐々木　征行	565
3－7	NCNPにおけるバイオバンク機能の統合・標準化と試料・情報の利活用推進のための基盤研究	後藤　雄一	575
3－8	NCNPブレインバンクの運営およびブレインバンク生前登録システムの推進	髙尾　昌樹	599
3－9	ゲノム編集技術を用いたモデル動物作出による精神神経筋疾患の病態解明	星野　幹雄	637
3－10	精神・神経疾患での脳画像撮像および解析手法の標準化と臨床応用に関する研究	佐藤　典子	659

３　年　度　班

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費

総括研究報告書

危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究（課題番号：1-1）

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所・薬物依存研究部

舩田正彦

【研究要旨】

本研究は、「危険ドラッグによる有害作用の予測に関する効率的な評価技術の開発」を目的とした。危険ドラッグとしては、最大の流通量が確認された合成カンナビノイドとカチノン系化合物を中心に研究を進めた。

合成カンナビノイド：合成カンナビノイドについては、慢性使用による薬物依存形成、情動に関する影響を検討した。合成カンナビノイド処置により薬物依存形成、行動異常、条件性恐怖記憶について各種実験動物モデルを作製し、脳内神経回路、機能タンパク質、神経伝達物質の変化を解析した。標準物質として、大麻成分 THC を使用した。THC を連続投与すると、体温降下作用、カタレプシー様不動状態の発現に耐性が生じ、脳内 CB１受容体が重要であることを明らかにした。また、扁桃体領域の CB1 受容体を介して条件性恐怖記憶が制御されることを明らかにした。毒性評価法としてヒト骨格筋細胞モデルを使用して合成カンナビノイドの筋毒性評価モデルを確立し、カンナビノイド CB１受容体を介して毒性が発現することを明らかにした。

カチノン系化合物：カチノン系化合物については、薬物依存形成と標的タンパク質機能調節との関連性を中心に解析を行った。その結果、カチノン系化合物による精神依存形成強度とドパミントランスポーター(DAT)阻害作用に相関性があることを確認した。DAT 発現細胞による評価から、細胞実験による DAT 阻害強度を指標として、精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。

コンピューター解析：合成カンナビノイドの作用点である CB1 受容体とリガンドのドッキングスタディによる活性予測の妥当性を検討した。その結果、水素結合エネルギーを指標に、リガンドの結合部位を固定することで、良好な活性予測が可能になることを見出した。コンピュータ解析による予測データは、合成カンナビノイドによる精神依存、筋毒性の発現強度との相関性も良好であり、合成カンナビノイドの化学構造に基づいた有害性の予測が可能であると考えられる。

本研究を通じて、細胞実験(in vitro)による評価データから、動物実験(in vivo)データを予測することが可能であり、細胞実験を主軸とした有害作用予測システムの導入は、データ収集の効率化が期待される。

1. 研究目的

本研究では､「危険ドラッグによる有害作用の発現機序を検討するとともに、有害作用の予測に関する効率的な評価技術の開発」を目的とした。

有害作用発現機序:危険ドラッグとしては、合成カンナビノイド、カチノン系化合物をメインターゲットとして、動物の行動解析、生体シグナルおよび培養細胞を利用した精神依存形成、細胞毒性等の有害作用の発現機序に関する検討を実施した。

有害作用の評価法：動物の行動解析、細胞による評価に加え、コンピュータ解析を含めた包括的な解析を行った。一方、危険ドラッグ慢性使用による脳内神経回路の変化については､脳内神経の可視化モデル動物を作成し、危険性予測のマーカー検索システムの構築を試みた。こうした総合的な評価法を構築することで､危険ドラッグの危険性を迅速に検出、予測することが可能になる。また、脳内神経回路可視化モデル動物を駆使することで、薬物慢性使用による依存症、精神疾患に対する治療薬開発のシードが得られると考えられる。

本研究を通じて、危険ドラッグの作用発現の分子基盤に基づいた乱用危険性等の有害性を評価するシステム確立を目指す。また、有害作用発現の分子メカニズムに基づいた薬物関連精神疾患に対する治療薬候補の探索を試みる。

2. 研究組織

主任研究者：
舩田正彦　国立精神・神経医療研究センター

分担研究者：
栗原正明　湘南医療大学　薬学部

橋本謙二　千葉大学社会精神保健教育研究センター

三島健一　福岡大学・薬学部・生体機能制御学教室

三輪秀樹　国立精神・神経医療研究センター

関口正幸　国立精神・神経医療研究センター

3. 研究成果

カチノン系化合物：舩田らは、カチノン系化合物の作用点であるモノアミントランスポーターに着目して培養細胞系による機能調節評価と動物実験より得られるデータとの相関性を検討した。着目した作用点としては、細胞膜トランスポーターとして dopamine transporter (DAT)、serotonin transporter (SERT)、norepinephrine transporter (NET)について検討した。動物実験としては、マウスを使用して条件付け場所嗜好性試験 conditioned place preference (CPP) 法による精神依存性評価を行った。モノアミントランスポーター阻害作用：8 種類のカチノン系化合物について、取り込み阻害作用は DAT＞NET＞SERT であり、DAT 取り込み阻害作用が強い傾向が確認された。報酬効果の評価：8 種類のカチノン系化合物 (4mg/kg, i.p.) の条件付けにより報酬効果が発現し、精神依存形成能を有することが明らかになった。相関性解析：8 種類のカチノン系化合物による報酬効果とモノアミントランスポーター阻害作用強度の相関性について検討したところ、DAT 阻害作用において有意な相関性 R^2=0.934 が認められた。本研究の解析から、カチノン系化合物による報酬効果の発現強度は、DAT 阻害作用強度と相関することが明らかになった。したがって、HEK-DAT 細胞による機能解析から、カチノン系化合物の精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。

栗原らは、カンナビノイド受容体とリガンドのドッキングスタディにより危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測法の開発にための基礎検討を行った。ターゲットとするカンナビノイド受容体構造は、これまでの研究でドッキングを用いた活性予測に適していることが明らかになった5XRA, 5XR8（CB1 受容体）とした。関連タンパク質構造をプロテインデータバンクからダウンロードし使用

した。カンナビノイドリガンドの選択は、CB１受容体親和性(Ki値)が高い化合物11種をドッキング対象とした。使用する合成カンナビノイドのデータは部分構造にアミノ酸を持つ基本骨格を有し、*R* 体及び *S* 体の活性値が得られている8組（16化合物）を用いた。ドッキングスタディは統合計算化学ソフト MOE を用いて行った。ドッキングの結果得られた S 値をリガンドの重原子数で除し、重原子による S 値への影響を補正した。S 値/重原子数を算出し、重原子による影響を補正することにより、決定係数 R^2＝0.5461 という結果が得られた。この結果より、ドッキング結果（横軸）と実測 Ki 値（縦軸）の間にある程度高い相関性が見られた。今後はさらにドッキング対象化合物を増やし、活性予測を行うことが必要である。さらに予測精度を向上させるため、スコアリング関数を変更したり、配座探索回数を増やしたりするなどの条件検討を行う必要があると考えられる。

橋本らは、合成カンナビノイドと腸内細菌叢の関連について解析した。マウスの思春期（P35-P45）に合成カンナビノイド系化合物 WIN55,2121-2 (2mg/kg/day)あるいは生理食塩水を投与した。その後、何も処置せず、成人期（P70）に炎症を惹起させるリポポリサッカライド（LPS: 0.5 mg/kg）を投与した。LPS 投与前に新鮮な糞を採取し、腸内細菌叢を解析した。投与 24 時間後に血液と脳部位（前頭皮質、海馬、側坐核）を採取した。血液は炎症性サイトカインとメタボローム解析で代謝物を測定した。前頭皮質および側坐核におけるミクログリアの活性化は、WIN55,2121-2 群の方が生理食塩水投与群より有意に高かった。一方、血液中の炎症性サイトカイン濃度は両群で差が無かった。腸内細菌叢解析では、α および β 多様性には有意な差は無かったが、両群で有意に差が認められた腸内細菌が見つかった。興味深いことに、腸内細菌の相対的分布と脳におけるミクログリア活性化の間に相関が認められた。さらに、腸内細菌の相対的分布と血液中の代謝物の間に相関が認められた。これらの結果は、思春期におけるカンナビノイド受容体の刺激は、成人期におけるストレス（炎症）に対して脆弱性を示すことが示唆され、長期にわたる腸内細菌の異常が関与している可能性が示唆された。腸内細菌-脳ミクログリアのクロストークが、思春期の大麻使用と成人期における精神病リスクに関わっている可能性が示された。

三島らは、大麻主要成分 Δ^9-tetrahydrocannabinol (THC）処置後の動物の行動変化ならびに脳内遺伝子発現変化を検討した。遺伝子発現変化はマイクロアレイを使用して解析した。マウスを個別飼育しておき、THC を投与すると THC はカンナビノイド受容体を介した攻撃行動を誘発することを明らかにした。また、THC を慢性処置（3 日間）しておくと、THC による直腸温降下作用は減弱していた。THC を連日投与する際に SR141716A を併用すると THC による薬理作用の減弱は見られなかった。よって、THC を連日投与することで、カンナビノイド CB1 受容体が刺激されると THC による直腸温降下作用に耐性が形成されることを明らかにした。また、THC を連日投与した後、耐性が形成されたマウスの脳の遺伝子発現量を解析した結果、多くの遺伝子発現量が増減していることが明らかとなった。本研究により、大麻の作用について、ストレス負荷や大麻使用経験などの生体がおかれた状況によって、カンナビノイド受容体を介した薬理作用が変化することが示唆された。今後、生体がおかれた状況がカンナビノイド受容体を介して起こる薬理作用に与える影響について、その制御機構を解析することは、大麻が示す作用の不安定さを表すエビデンスとなることが期待される。

関口らは、合成カンナビノイドの AB-FUBINACA が脳シナプス伝達（特に情動中枢扁桃体）や文脈性恐怖記憶の獲得などに対する影響を検討した。マウス脳スライス中の扁桃体錐体細胞におけるシナプス伝達に対する AB-FUBINACA の作用をパッチクランプ法にて検討したところ、AB-FUBINACA 投

与により扁桃体シナプス伝達が抑制される例が観察された。一方、マウスにAB-FUBINACAを腹腔内投与して恐怖条件づけ行動試験を行ったところ、濃度依存的かつ有意にマウスのすくみ反応時間が減少した。この減少はAM251（CB1 受容体阻害薬）前投与下でのAB-FUBINACA 投与では見られなかった。AB-FUBINACAの腹腔内投与はマウスの作業記憶もCB1受容体依存的に抑制した。さらに、AB-FUBINACAの腹腔内投与は、高濃度ではマウス心拍数を減少させた。本研究では、合成カンナビノイド AB-FUBINACA が扁桃体関連記憶である文脈性恐怖記憶の獲得を抑制することを明らかにした。

三輪らは、フェンサイクリジン（PCP）やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬が示す幻覚作用に関する研究の一環として、GluN2C, GluN2DサブユニットをふくむNMDA受容体の発現脳部位に着目し、脳機能解析を行った。メマンチンを用いて、さまざまな脳部位、細胞種に対するメマンチンの応答性を in vitro 電気生理学により検証した。その結果、細胞種毎に差異があり、特にGABA作動性ニューロンでの応答性が高いことが示唆された。幻覚・幻聴を主訴とする統合失調症でもGABAシステムの減弱が観察されているので、今後は共通の神経回路異常として関連性が注目される。また、新たな薬物依存症モデルの開発に取り組むため、ドパミン神経特異的に組み替え酵素 Cre を発現する、dopamine transporter-Cre (DAT-Cre)マウスを用いて、化学遺伝学 (DREADD)により、有用性の検証を行った。また、薬物依存症治療標的分子の候補として、オキシトシンシステムに着目しており、新たに開発されたオキシントシン受容体可視化マウスの評価を行った。DAT-Cre マウスの腹側被蓋野を化学遺伝学的手法(AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry をインジェクション)により神経活動を制御したところ、マウスはオープンフィールド試験に置いてコントロールマウスと比較して過活動を示した。これはドパミン細胞の活動上昇がオープンフィールド試験での過活動と関連するという知見と一致したものであり、実験系として確立することができた。さらに、オキシトシン受容体発現可視化遺伝子改変マウス(*Oxtr-T2A-tdTomato*マウスおよび*Oxtr-T2A-iCre*マウス) を用いてオキシトシン受容体発現細胞の脳内分布を調べた。オキシトンシン受容体発現細胞の脳内分布について、いままでの報告と合致している点（扁桃体中心核や中隔に発現が多い）や相違している点（大脳皮質2層に陽性細胞が局在する）が観察された。さらに、急性スライス標本を作成し、パッチクランプ法により tdTomato 陽性細胞から電気応答を記録し、オキシトシンへの応答を調べた。その結果、これらの蛍光タンパク質陽性細胞がオキシトシンアゴニストで電気応答に変化が生じることを電気生理学的解析により確認できた。DAT-Cre マウスとオキシトシン受容体発現可視化遺伝子改変マウスを交配させることで、薬物依存症の原因とされるドパミン神経と薬物依存症の治療標的候補であるオキシトシンシステムとの相互作用する可能性の脳部位を検証し、薬物依存症の病態基盤を明らかにするモデル動物となることが期待される。

本研究を通じて、細胞実験(in vitro)による評価データから、動物実験(in vivo)データを予測することが可能であり、細胞実験を主軸とした有害作用予測システムの導入は、データ収集の効率化が期待される。また、本研究の危険ドラッグに関する機能評価から、その作用強度を解析する評価システムは、危険ドラッグの中枢作用および有害作用発現の迅速な評価法として有用であり、得られる科学データは規制根拠として活用できると考えられる。

4. 研究成果刊行一覧

Tomiyama KI, Funada M., Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB1 receptors and L-type Ca^{2+} channels. Arch Toxicol. 2020. doi: 10.1007/s00204-020-02944-7.

Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y, Kurihara M, Risk Prediction Method for Anticholinergic Action Using Auto-quantitative Structure–Activity Relationship and Docking Study with Molecular Operating Environment. Chem Pharm Bull 68, 773-778, 2020. doi: 10.1248/cpb.c20-00249.

Moriya S, Shibasaki H, Kohara M, Kuwata K, Imamura, Y, Demizu Y, Kurihara M, Kittaka A, Sugiyama T Synthesis and characterization of PNA oligomers containing preQ1 as a positively charged guanine analogue. Bioorg Med Chem Lett. 39, 127850, 2021. doi.org/10.1016/j.bmcl.2021.127850.

Kuniishi H, Yamada D, Wada K, Yamada M, Sekiguchi M, Stress-induced insertion of calcium-permeable AMPA receptors in the OFC-BLA synapse modulates emotional behavior in mice. Transl Psychiat 10, 154-159, 2020. doi.org/10.1038/s41398-020-0837-3.

Witkin, J.M., Kranzler, J., Kaniecki, K., Popik, P., Smith, J.L., Hashimoto, K., Sporn, J., R-(-)-ketamine modulates behavioral effects of morphine predicting efficacy as a novel therapy for opioid use disorder. Pharmacol. Biochem. Behav. 194, 172927, 2020. doi: 10.1016/j.pbb.2020.172927.

Wan X, Fujita Y, Chang L, Wei Y, Ma L, Wuyun G, Pu Y, Hammock BD, Hashimoto K. Lack of rewarding effects of a soluble epoxide hydrolase inhibitor TPPU in mice: Comparison with morphine. Neuropsychopharmacology Report 40(4), 412-416, 2020. doi: 10.1002/npr2.12136.

三島健一、入江圭一. 大麻成分の中枢効果：有用性と危険性.薬学雑誌 140(2), 193-204, 2020. doi: 10.1248/yakushi.19-00195-3.

Takeuchi E, Yamada D, Suzuki S, Saitoh A, Itoh M, Hayashi T, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Participation of the nucleus accumbens dopaminergic system in the antidepressant-like actions of a diet rich in omega-3 polyunsaturated fatty acids. PLoS ONE 15(3), e0230647, 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0230647.

Hashimoto O, Kuniishi H, Nakatake Y, Yamada M, Wada K, Sekiguchi M. Early life stress from allergic dermatitis causes depressive-like behaviors in adolescent male mice through neuroinflammatory priming. Brain, Behavior and Immunity 90, 319-331, 2020. doi.org/10.1016/j.bbi.2020.09.013.

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

危険ドラッグの作用点に着目した有害作用評価方法の確立（1-1-01）

分担研究者：舩田正彦（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　薬物依存研究部）
研究協力者：富山健一（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　薬物依存研究部）

【研究要旨】
新しく合成された精神活性物質が危険ドラッグとして流通しており、その乱用拡大が社会問題となっている。代表的な危険ドラッグとしては、覚醒剤と類似作用を示すカチノン系化合物とオピオイド系化合物であるフェンタニル類縁化合物の広がりが深刻であり、次々に新規の化合物が登場している。迅速な流通規制を目指し、薬物の精神依存性を迅速に検出するシステム構築が急務である。本研究では、カチノン系化合物の作用点であるモノアミントランスポーターに着目して培養細胞系による機能調節評価と動物実験より得られるデータとの相関性を検討した。着目した作用点としては、細胞膜トランスポーターとして dopamine transporter (DAT)、serotonin transporter (SERT)、norepinephrine transporter (NET)について検討した。動物実験としては、マウスを使用して条件付け場所嗜好性試験 conditioned place preference　(CPP) 法による精神依存性評価を行った。
モノアミントランスポーター阻害作用：8種類のカチノン系化合物について、DAT阻害作用(IC50値：$5.2X10^{-8}$～$7.1X10^{-6}$M)、SERT阻害作用(IC50値：$2.0X10^{-6}$～$5.6X10^{-4}$M)、NET阻害作用(IC50値：$1.8X10^{-7}$～$7.6X10^{-6}$M)を有することが明らかになった。今回検討したカチノン系化合物について、取り込み阻害作用はDAT＞NET＞SERTであり、DAT取り込み阻害作用が強い傾向が確認された。
報酬効果の評価：8種類のカチノン系化合物 (4mg/kg, i.p.) の条件付けにより報酬効果が発現し、精神依存形成能を有することが明らかになった。
相関性解析：8 種類のカチノン系化合物による報酬効果とモノアミントランスポーター阻害作用強度の相関性について検討したところ、DAT 阻害作用において有意な相関性 R^2=0.934 が認められた。
本研究の解析から、カチノン系化合物による報酬効果の発現強度は、DAT 阻害作用強度と相関することが明らかになった。したがって、HEK-DAT 細胞による機能解析から、カチノン系化合物の精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。

A. 目　的

新しく合成された精神活性物質が危険ドラッグとして流通しており、その乱用拡大が社会問題となっている。代表的な危険ドラッグとしては、覚醒剤やコカインと類似作用を示すカチノン系化合物の広がりが深刻であり、次々に新規の化合物が登場している[1,2,3]。

カチノン系化合物は、モノアミントランスポーター [ドパミントランスポーター (dopamine transporter; DAT)、セロトニントランスポーター (serotonin transporter; SERT)、ノルエピネフリントランスポーター (norepinephrine transporter; NET)] 阻害作用により、モノアミン神経伝達物質（ドパミン、セロトニン、ノルエピネフリン）の細胞内取り込みを抑制することで、細胞間隙のモノアミン量を増加させることが、薬理作用発現に

関与することが明らかになっている[4,5]。

本研究では、カチノン系化合物の行動薬理学的特性と作用点であるモノアミントランスポーターDAT、SERT、NET に対する作用について検討し、行動薬理学的特性の発現とモノアミントランスポーター機能調節との関連性について検討した。また、本研究から得られる動物実験と細胞による実験からのデータの関係性を解析することで、有害作用予測の迅速化の可能性について考察した。

B. 方　法

使用動物 : すべての行動薬理実験には、ICR 系雄性マウス（Jcl、25 - 30g、日本クレア）を使用した。

使用薬物 : カチノン系化合物として、麻薬に指定されている 3-fluorophenmetrazine (3-FPM) 、 4-chloromethcathinone (4-CMC) 、 4-fluoro-amphetamine (4-FA) 、 β-keto-1,3-benzodioxolyl-N-ethylbutanamine (Eutylone) 、 3,4-methyl-enedioxypyrovalerone (MDPV) 、 N-ethylhexedrone (NEH) 、 α-pyrrolidinohexiophenone (PV-7) 、 α-pyrrolidinopentiophenone (α-PVP)の 8 種類を対象とした (Fig. 1)。

1. モノアミントランスポーター阻害作用

Human Embryonic Kidney 293 (HEK-293)ヒト胎児腎細胞 293 細胞にヒト-DAT cDNA、ヒト-SERT cDNA、ヒト-NET cDNA をトランスフェクションし、モノアミントランスポーター発現安定細胞 : HEK-DAT 細胞、HEK-SERT 細胞、HEK-NET 細胞を樹立した。各細胞を poly-D-Lysin コートした 96 well black plate (Greiner)に 5×10^4 cells/well となるように播種し、37℃・5.0% CO_2 条件下で培養した。カチノン系化合物を細胞に添加し 10 分間 37℃でインキュベーションした。その後 Neurotransmitter Transporter Uptake Assay Kit (Molecular Devices)* のプロトコルに従って DAT、SERT、NET に対する取込み阻害作用を解析した。機能の選択性に関しては、選択的 DAT 阻害薬: GBR-12909、選択的 SERT 阻害薬: Fluoxetine 、選択的 NET 阻害薬: Nisoxetine および選択的 VMAT2 阻害薬: Tetrabenazine を使用して確認した。

(*本 assay kit では、モノアミン類に類似した蛍光物質を使用する。本蛍光物質がモノアミントランスポーターを介して細胞内に取り込まれるため、細胞内における蛍光量の増加を測定することで取り込み能力の評価が可能となっている。)

2. カチノン系化合物の精神依存性評価

精神依存形成の評価には、conditioned place preference (CPP) 法を用いた。白黒 2 区画の CPP 装置（ENS-CPP, Neuroscience 社）を用いて、カチノン系化合物を 1 日おきに投与し、30 分間装置内に閉じ込め、6 日間にわたって条件付けを行った。対照群は溶媒である 0.1% DMSO 含有生理食塩液を投与し、薬物および溶媒投与の組み合わせはカウンターバランスの実験デザインとした（Table 1）。

Table 1. 薬物条件付けスケジュール

DAY	1	2	3	4	5	6	7
白 or 黒	◎	○	◎	○	◎	○	T
白 or 黒	○	◎	○	◎	○	◎	T

◎：薬物、○：溶媒、T：テスト（薬物、溶媒ともに処置せず）

テストセッションは、7 日目に薬物および溶媒ともに投与せず、15 分間の白区画および黒区画の滞在時間を測定した。

3. 相関性解析

8 種類のカチノン系化合物について、報酬効果スコアと細胞実験で得られたモノアミントランスポーター阻害作用強度（$1/IC_{50}$ 値）の相関性について検討した。

4.統計解析

全てのデータは、Prism 7 for Mac OS X に

より解析した。8 種類のカチノン系化合物について、行動薬理学的データは一元配置分散分析(one-way ANOVA)を行い、ポストホックテストとして Dunnett's multiple comparison test により比較した。報酬効果スコアと細胞実験で得られたモノアミントランスポーター阻害作用強度の相関性については、Prism 7 for Mac OS X: Linear Regression を使用して解析した。

C. 結　果

1. モノアミントランスポーター阻害作用

樹立した HEK-DAT 細胞、HEK-SERT 細胞、HEK-NET 細胞について、選択的 DAT 阻害薬である GBR-12909、選択的 SERT 阻害薬である Fluoxetine、選択的 NET 阻害薬である Nisoxetine および選択的 VMAT2 阻害薬である Tetrabenazine による取り込み阻害作用の選択性を検討した。HEK-DAT 細胞について、取り込み作用の選択性を確認したところ、選択的 DAT 阻害薬である GBR-12909 (IC_{50}=2.52×10^{-8} M)の作用がもっとも強力であったことから、樹立した HEK-DAT 細胞は DAT を介する伝達物質の取り込みを選択的に評価できることを確認した。同様に、HEK-SERT 細胞および HEK-NET 細胞についても機能選択性を確認した。機能確認後、HEK-DAT 細胞、HEK-SERT 細胞、HEK-NET 細胞を使用して解析を行った。

8 種類のカチノン系化合物について、DAT 阻害作用(IC_{50} 値 : 5.2X10^{-8}～7.1X10^{-6}M)、SERT 阻害作用(IC_{50} 値 : 2.0X10^{-6}～5.6X10^{-4}M)、NET 阻害作用(IC_{50} 値 : 1.8X10^{-7}～7.6X10^{-6}M)であった。8 種類のカチノン系化合物について、取り込み阻害作用は DAT＞NET＞SERT であり、DAT 取り込み阻害作用が強い傾向が確認された (Table 1)。

2. カチノン系化合物の精神依存性評価

マウスを使用して conditioned place preference (CPP) 法による精神依存性の評価を行った。カチノン系化合物の条件付けによって CPP の発現、すなわち報酬効果の発現が認められた (Table 1)。

3. 相関性解析

8 種類のカチノン系化合物による報酬効果とモノアミントランスポーター阻害作用強度($1/IC_{50}$ 値)の相関性について検討したところ、DAT 阻害作用において有意な相関性 R^2=0.94 (Slope: F(1,6)=85.1, P<0.0001) が認められた (Fig. 2)。一方、SERT 阻害作用(SERT: R^2=0.042)および NET 阻害作用(NET: R^2=0.001)においては、有意な相関性は確認されなかった。

D. 考　察

本研究では、麻薬に指定されているカチノン系化合物 8 種類について、行動薬理学的解析を行った。すべてのカチノン系化合物により報酬効果が発現し、精神依存性を示すことが確認された。

次に、モノアミントランスポーター機能調節に関する研究として、DAT、SERT、NET 発現細胞を用いてカチノン系化合物のモノアミン取り込み阻害作用について検討した。すべてのカチノン系化合物は、DAT、SERT、NET 取り込み阻害作用を示した。取り込み阻害作用の強度は、DAT＞NET＞SERT であり、DAT 取り込み阻害作用が強い傾向が確認された。カチノン系化合物に関する先行研究でも、DAT 阻害作用が強い傾向が確認されており、本研究での評価方法は妥当であると考えられる [5,6,7]。

本研究では、カチノン系化合物の行動薬理学的特性と作用点であるモノアミントランスポーター (DAT、SERT、NET) に対する作用について検討し、行動薬理学的特性の発現とモノアミントランスポーター機能調節との関連性について解析した。8 種類のカチノン系化合物による報酬効果とモノアミントランスポーター阻害作用強度の相関性について検討

したところ、DAT 阻害作用において有意かつ良好な相関性（R^2=0.934, P<0.0001) が認められた。一方、SERT 阻害作用および NET 阻害作用については有意な相関性は確認されなかった。

本研究の解析から、カチノン系化合物による報酬効果の発現強度は、DAT 阻害作用強度と相関することが明らかになった。したがって、HEK-DAT 細胞による機能解析から、カチノン系化合物の精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。現在のカチノン系化合物に関する包括指定対象薬物は、運動促進作用、報酬効果と DAT 阻害作用の関連性が示唆されている。本研究で解析対象としたカチノン系化合物群は、現在のカチノン系化合物包括指定範囲に含まれないものである。本研究の行動解析および細胞解析データを利用して、カチノン系化合物の包括指定範囲を拡大することが可能であると考えられる。

本研究で確認された動物実験と DAT 細胞による機能解析法は、総合的な有害作用評価システムとして、評価の迅速化のために有用な手法であると考えられる。さらに、カチノン系化合物包括指定範囲の拡大のために貢献できる解析手法であると期待される。

E. 結　論

本研究では、カチノン系化合物の行動薬理学的特性と作用点であるモノアミントランスポーター (DAT, SERT, NET) に対する作用について検討し、行動薬理学的特性の発現とモノアミントランスポーター機能調節との関連性について検討した。本研究の解析から、カチノン系化合物による精神依存性の発現強度は、DAT 阻害作用強度と相関することが明らかになった。したがって、HEK-DAT 細胞による機能解析から、カチノン系化合物の精神依存性などの有害作用を推測できる可能性が示唆された。本研究で確認された動物実験と細胞による総合的な有害作用評価システムは、カチノン系化合物包括指定範囲の拡大のために貢献できる解析手法であると考えられる。

F. 参考文献

1) Kelly JP. Cathinone derivatives: a review of their chemistry, pharmacology and toxicology. Drug Test Anal. 3(7-8): 439-453, 2011.
2) Ford LT, Berg JD. Analysis of legal high materials by ultra-performance liquid chromatography with time of flight mass spectrometry as part of a toxicology vigilance system: what are the most popular novel psychoactive substances in the UK? Ann Clin Biochem. 54: 219-229, 2017.
3) Fornal E. Identification of substituted cathinones: 3,4-Methylenedioxy derivatives by high performance liquid chromatography-quadrupole time of flight mass spectrometry. J Pharm Biomed Anal. 81-82, 13-19, 2013.
4) Baumann MH, Ayestas MA Jr, Partilla JS, Sink JR, Shulgin AT, Daley PF, Brandt SD, Rothman RB, Ruoho AE, Cozzi NV. The designer methcathinone analogs, mephedrone and methylone, are substrates for monoamine transporters in brain tissue. Neuro-psychopharmacology. 37(5): 1192-1203, 2012.
5) Simmler LD, Buser TA, Donzelli M, Schramm Y, Dieu LH, Huwyler J, Chaboz S, Hoener MC, Liechti ME. Pharmacological characterization of designer cathinones in vitro. Br J Pharmacol. 168(2): 458-470, 2013.
6) Eshleman AJ, Wolfrum KM, Reed JF, Kim SO, Swanson T, Johnson RA, Janowsky A. Structure-Activity Relationships of Substituted Cathinones, with Transporter Binding, Uptake, and Release. J Pharmacol Exp Ther. 360(1): 33-47, 2017.

7) Eshleman AJ, Nagarajan S, Wolfrum KM, Reed JF, Swanson TL, Nilsen A, Janowsky A. Structure-activity relationships of bath salt components: substituted cathinones and benzofurans at biogenic amine transporters. Psychopharmacology (Berl). 236(3): 939-952, 2019.

G. 研究発表

1. 論文発表

1) 舩田正彦，富山健一：大麻規制の現状と課題. 都薬雑誌, 43: 4-7, 2021.
2) Tomiyama K, Funada M.: Synthetic cannabinoid CP-55,940 induces apoptosis in a human skeletal muscle model via regulation of CB_1 receptors and L-type Ca^{2+} channels. Arch Toxicol. 95(2): 617-630, 2021.

2. 学会発表

1) Funada M, Tomiyama K: Effects of cannabinoids on ethanol-induced motor impairment using the rotarod performance test in mice. CPDD 83th Annual Scientific Meeting, U.S.A. June 22, 2021: Web Zoom.
2) 富山健一，舩田正彦 : 北米における嗜好用大麻の使用実態について，令和 3 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，三重，2021 年 12 月 17-19 日.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得、実用新案登録、その他
特になし

健康危険情報

本事業成果は、危険ドラッグおよび指定薬物の精神依存性および細胞毒性に関する評価解析であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

ß

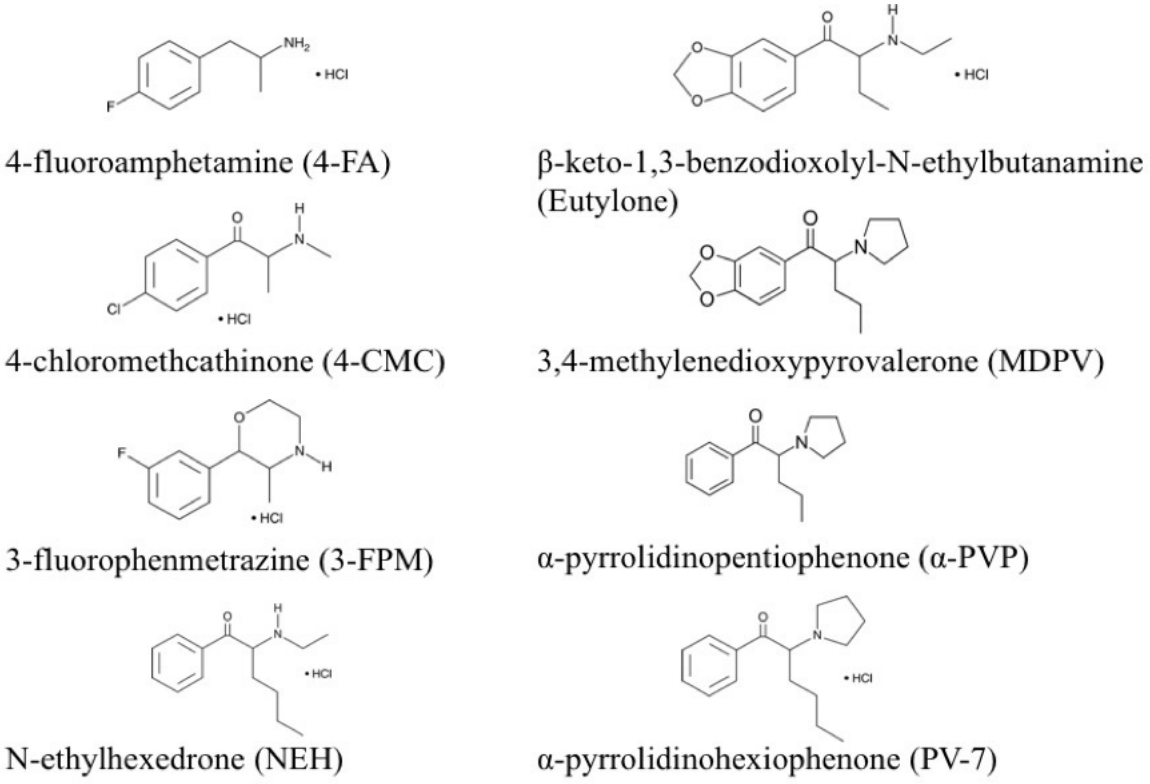


Fig. 1. Chemical structures of amphetamine-like drug and cathinones.

Table 1. Inhibition of monoamine transporter uptake by synthetic cathinones.

	Drug	CPP(score)	DAT	SERT	NET
1	4-FA	75	$7.05X10^{-6}$	$1.56X10^{-4}$	$1.96X10^{-6}$
2	4-CMC	70	$5.73X10^{-6}$	$2.18X10^{-4}$	$3.16X10^{-6}$
3	3-FPM	85	$5.28X10^{-6}$	$2.93X10^{-4}$	$7.59X10^{-6}$
4	NEH	90	$1.26X10^{-6}$	$3.89X10^{-4}$	$3.38X10^{-6}$
5	Eutylone	100	$8.24X10^{-7}$	$9.54X10^{-6}$	$7.18X10^{-6}$
6	MDPV	220	$5.21X10^{-8}$	$2.01X10^{-6}$	$5.52X10^{-7}$
7	α-PVP	198	$8.70X10^{-8}$	$5.72X10^{-5}$	$1.79X10^{-7}$
8	PV-7	190	$1.22X10^{-7}$	$5.60X10^{-4}$	$7.48X10^{-7}$

Effect of synthetic cathinones on neurotransmitter transporter uptake at DAT, SERT or NET. For transporter bioassay. The 50% inhibitory concentration (IC_{50}, M) values calculated using GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA).

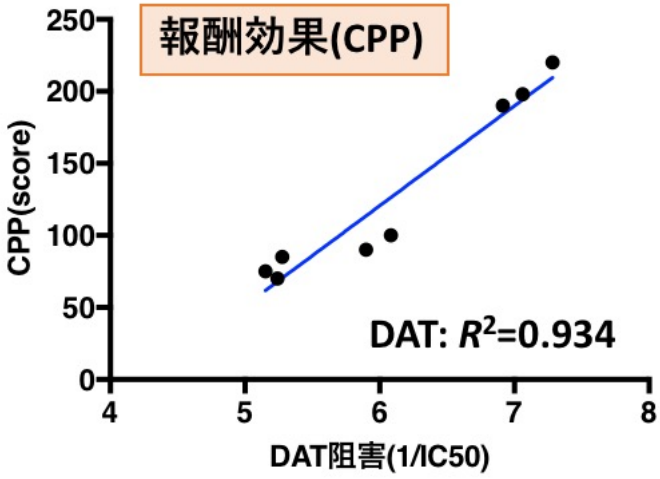


Fig. 2.

Correlation between potencies at inhibition of uptake at DAT and rewarding effects (CPP). The linear regression line is shown using GraphPad Prism 7 (Linear Regression). Correlation (R^2) is as follows: DAT: R^2=0.934, SERT: R^2=0.042, NET: R^2=0.001.

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

受容体とのドッキングスタディによる危険ドラッグのインシリコ活性予測（1-1-02）

分担研究者：栗原正明（湘南医療大学　薬学部）
研究協力者：湯山円晴（国際医療福祉大学　薬学部）

【研究要旨】
危険ドラッグの迅速な規制にはインシリコ活性予測法の開発が必要不可欠である。従来、危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測には定量的構造活性相関（QSAR）法が用いられてきた。
本研究では、カンナビノイド受容体を初めとする危険ドラッグのターゲット受容体とリガンドのドッキングスタディにより危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測法の開発を行うことを目的とする。
１）カンナビノイド受容体の構造：　これまでの研究でドッキングを用いた活性予測に適していることが明らかになった 5XRA, 5XR8 (CB1 受容体) のタンパク質構造をプロテインデータバンク（以下：PDB）からダウンロードし、使用した。
２）リガンドの選択：使用する合成カンナビノイドのデータは構造に類似性があるJ. W. Huffmanのチームが合成したJWHから始まる合成カンナビノイドで、Ki値が高い化合物11種をドッキング対象とした。次に使用する合成カンナビノイドのデータは部分構造にアミノ酸を持つ基本骨格を有し、*R*体及び*S*体の活性値が得られている8組（16化合物）を用いた。
３）ドッキングスタディ：ドッキングスタディは統合計算化学ソフトMOEを用いて行った。立体構造データの前処理としてStructure Preparationで構造安定化、Energy Minimizationで水素結合エネルギー最小化を行った。Site finderで構造からリガンドが結合しうる場所をDummy-siteとして登録した。ドッキングの結果得られたS値をリガンドの重原子数で除し、重原子によるS値への影響を補正した。
S 値/重原子数を算出し、重原子による影響を補正することにより、決定係数 R^2＝0.5461 という結果が得られた。この結果より、ドッキング結果（横軸）と実測 Ki 値（縦軸）の間にある程度高い相関性が見られた。今後はさらにドッキング対象化合物を増やし、活性予測を行うことが必要である。さらに予測精度を向上させるため、スコアリング関数を変更したり、配座探索回数を増やしたりするなどの条件検討を行う必要がある。

A. 目　的

危険ドラッグの迅速な規制にはインシリコ活性予測法の開発が必要不可欠である。
従来危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測には定量的構造活性相関（QSAR）法が用いられてきた。

本研究では、カンナビノイド受容体を初めとする危険ドラッグのターゲット受容体とリガンドのドッキングスタディにより危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測法の開発を行うことを目的とする。

B. 方　法

①近年、カンナビノイド受容体（CB1）の X 線構造解析が行われた。また、これまでに我々が行った研究により、5XRA[1] がドッキングを用いた活性予測に適していることが分かった。しかし、合成カンナビノイドと CB1 のドッキングにより得られる評価関数（S）と実際の生物活性の間に高い相関は見られなかった。そこで今回、相関性を高めるため、ドッキングの条件設定を検討する。

カンナビノイド受容体の構造

これまでの研究でドッキングを用いた活性予測に適していることが明らかになった 5XRA[1]（CB1 受容体）のタンパク質構造をプロテインデータバンク（以下：PDB）からダウンロードし、使用した。

リガンドの選択

使用する合成カンナビノイドのデータは構造に類似性がある J. W. Huffman のチームが合成した JWH から始まる合成カンナビノイドで、Ki 値が高い化合物 11 種 [2]をドッキング対象とした。

ドッキングスタディ

ドッキングスタディは統合計算化学ソフト MOE を使って行った。立体構造データの前処理として Structure Preparation で構造安定化、Energy Minimization で水素結合エネルギー最小化を行った。Site finder で構造からリガンドが結合しうる場所を Dummy-site として登録した。ドッキングの結果得られた S 値をリガンドの重原子数で除し、重原子による S 値への影響を補正した。

②近年の構造活性相関研究より、図 1 のような構造を持つ合成カンナビノイドは既存カンナビノイドに比べ強力なカンナビノイド受容体アゴニストとして作用することが示唆されている。[3]そこで今回、下記の基本骨格を有する化合物を対象にドッキングスタディの手法を用いた活性予測を試みた。

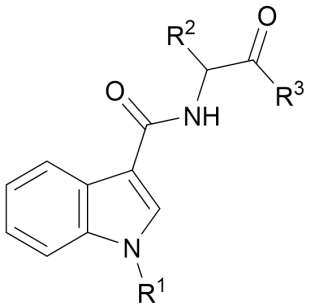


図 1. 基本骨格

カンナビノイド受容体の構造

これまでの研究でドッキングを用いた活性予測に適していることが明らかになった 5XR8[1]（CB1 受容体）のタンパク質構造をプロテインデータバンク（以下：PDB）からダウンロードし、使用した。

リガンドの選択

使用する合成カンナビノイドのデータは図 1 の基本骨格を有し、*R* 体及び *S* 体の活性値が得られている 8 組（16 化合物）を用いた。

ドッキングスタディ

ドッキングスタディは統合計算化学ソフト MOE を使って行った。立体構造データの前処理として Structure Preparation で構造安定化、Energy Minimization で水素結合エネルギー最小化を行った。Site finder で構造からリガンドが結合しうる場所を Dummy-site として登録した。ドッキングの結果得られた S 値を補正し、-S 値とした。

C. 結　果

①S 値/重原子数を算出し、重原子による影響を補正することにより、決定係数 R^2＝0.5461 という結果が得られた。この結果より、ドッキング結果（横軸）と実測 Ki 値（縦軸）の間にある程度高い相関性が見られた。（図 1）

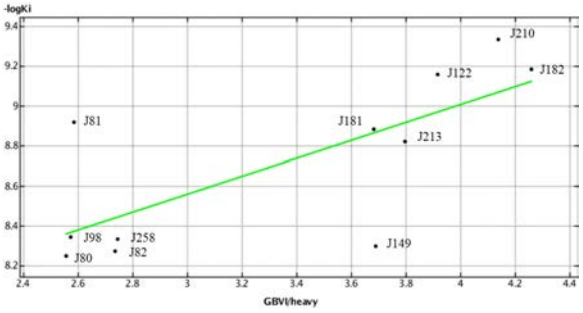


図 1

②ドッキングスコア-S 値と実測活性値 pEC_{50} の相関について検討したところ、実測値と同様に S 体の方が予測値も高くなる結果が得られた化合物は 8 組中 4 組に留まった。(図 2) 活性値と予測値の関連が良好な化合物は図 3 のような構造を有していた。

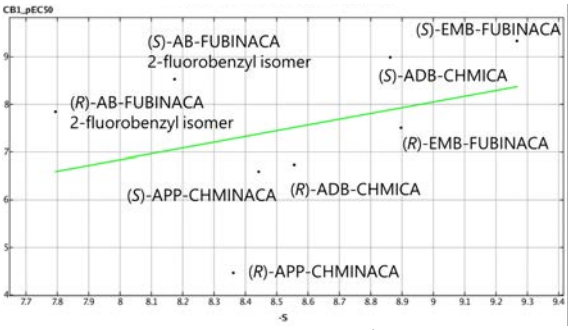


図 2. ドッキングスタディの結果

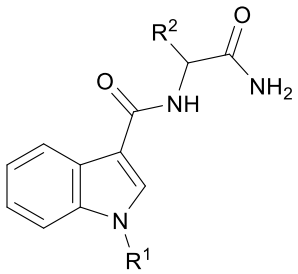


図 3 活性値と予測値の関連が良好な構造

D. 考　察

①今回使用したリガンドに関しては、S 値をリガンドの重原子数で除した補正 S 値を用いることで実測 Ki 値との相関が見られやすくなることが分かった。しかし、今回の対象化合物数は多くないため、今後はさらにドッキング対象化合物を増やし、活性予測を行うことが必要である。

②ドッキングについては 8 組中 4 組で立体異性体の違いによる活性差を反映するスコアが得られているが、さらに予測精度を向上させるため、スコアリング関数を変更したり、配座探索回数を増やしたりするなどの条件検討を行う必要がある。

E. 結　論

本研究により危険ドラッグのインシリコ活性予測にターゲット受容体とリガンドのドッキングスタディにより危険ドラッグ等の規制薬物のインシリコ活性予測法の開発を検討した。その結果、ドラッグスタディによる活性予測の可能性を示した。今後はさらにドッキング対象化合物を増やし、活性予測を行うことが必要である。さらに予測精度を向上させるため、スコアリング関数を変更したり、配座探索回数を増やしたりするなどの条件検討を行う必要がある。条件検討をまとめると以下のようになる。

①スコアリング関数の変更→系にあった計算法が見つかる
②スコアの規格化→原子数が多い場合の影響を補正できる
③ファーマコフォアの設定→ポーズを拘束できるので妥当な配座が見つかる
④Induced Fit での構造最適化→リガンドが元のリガンドサイズより大きい時に有効

F. 参考文献

1) Hua, T., Vemuri, K., Nikas, S.P., Laprairie, R.B., Wu, Y., Qu, L., Pu, M., Korde, A., Jiang, S., Ho, J.H., Han, G.W., Ding, K., Li, X., Liu, H., Hanson, M.A., Zhao, S., Bohn, L.M., Makriyannis, A., Stevens, R.C., Liu, Z.J., Crystal structures of agonist-bound human cannabinoid receptor CB1, *Nature*, 2017, 547: 468-471.

2) J. L. Wiley, V. J. Smith, J. Chen, B. R. Martin, J. W. Huffman, Synthesis and pharmacology of 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles: steric and electronic effects of 4- and 8-halogenated naphthoyl substituents, *Bioorg Med Chem*, 2012, 20:2067-81.

3) J. L. Wiley, J. A. Marusich, T. W. Lefever, K. R. Antonazzo, M. T. Wallgren, R. A. Cortes, P. R. Patel, M. Grabenauer, K. N. Moore, B. F. Thomas, AB-CHMINACA, AB-PINACA, and FUBIMINA: Affinity and potency of novel synthetic cannabinoids in Producing Δ9- tetrahydrocannabinol-like effects in mice, *J Pharmacol Exp Ther*, 2015, 354, 328–339.

4) Yuyama M, Ito T, Arai Y, Kadowaki Y, Iiyama, N, Keino A, Hiraoka Y, Kanaya T, Momose Y, Kurihara M, Risk prediction method for anticholinergic action using auto-quantitative structure–activity relationship and docking study with molecular operating environment, *Chem Pharm Bull*, 2020, 68(8), 773-778

健康危険情報

本事業成果は、危険ドラッグおよび指定薬物の精神依存性および細胞毒性に関する評価解析であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

オピオイド系薬物による精神障害の治療法の開発（1-1-03）

分担研究者：橋本謙二（千葉大学・社会精神保健教育研究センター　病態解析研究部門）
研究協力者：万夏雲（千葉大学・社会精神保健教育研究センター　病態解析研究部門）
研究協力者：江口哲史（千葉大学・予防医学センター　環境健康学）
研究協力者：森千里（千葉大学・予防医学センターおよび大学院医学研究院　環境生命科学）

【研究要旨】

多くの疫学研究から、思春期の大麻の使用は、成人期以降の精神病の発症リスクを高めることが知られている。しかしながら、思春期の大麻使用が成人期の精神疾患発症にどのように関わっているか不明であった。一方、様々な精神疾患の病因に腸内細菌叢の異常が報告され、脳-腸相関の重要性が提唱されている。今回、マウスの思春期（P35-P45）に合成カンナビノイド系化合物 WIN55,2121-2 (2mg/kg/day)あるいは生理食塩水を投与した。その後、何も処置せず、成人期（P70）に炎症を惹起させるリポポリサッカライド（LPS: 0.5 mg/kg）を投与した。LPS 投与前に新鮮な糞を採取し、腸内細菌叢を解析した。投与 24 時間後に血液と脳部位（前頭皮質、海馬、側坐核）を採取した。血液は炎症性サイトカインとメタボローム解析で代謝物を測定した。

前頭皮質および側坐核におけるミクログリアの活性化は、WIN55,2121-2 群の方が生理食塩水投与群より有意に高かった。一方、血液中の炎症性サイトカイン濃度は両群で差が無かった。腸内細菌叢解析では、αおよびβ多様性には有意な差は無かったが、両群で有意に差が認められた腸内細菌が見つかった。興味深いことに、腸内細菌の相対的分布と脳におけるミクログリア活性化の間に相関が認められた。さらに、腸内細菌の相対的分布と血液中の代謝物の間に相関が認められた。

これらの結果は、思春期におけるカンナビノイド受容体の刺激は、成人期におけるストレス（炎症）に対して脆弱性を示すことが示唆され、長期にわたる腸内細菌の異常が関与している可能性が示唆された。腸内細菌-脳ミクログリアのクロストークが、思春期の大麻使用と成人期における精神病リスクに関わっている可能性がある。

A. 目　的

大麻の安全性が確認されていないにも関わらず、欧米では、娯楽用大麻の合法化が加速している。これまでの多くの疫学研究から、若年層における大麻の使用は、成人期における精神疾患の発症リスクを高くすることが知られている（1,2）。しかしながら、生物学的機序は不明である。

近年、脳-腸相関の異常が多くの精神疾患の病態に関わっている知見が蓄積されている（3,4）。しかしながら、思春期における大麻の使用が、成人期の腸内細菌にどのような影響を与えるかは不明である。これまでマウスを用いた実験において、思春期（P35-P45）にカンナビノイド受容体作動薬 WIN55,212-2 を投与すると、成人期（P70-P74）における覚せい剤投与による運動量亢進が生じること、また側坐核の脳由来神経栄養因子の亢進が関与していることを報告し

た（5）。

本研究の目的は、思春期（P35-P45）にWIN55,212-2 を投与し、成人期（P70-P74）における腸内細菌叢に影響を与えるかを調べることである。さらに、成人期に炎症を引き起こす化合物リポポリサッカライド（LPS）を投与し、血液中の炎症性サイトカイン濃度や腸内細菌が生成する代謝物、脳におけるミクログリアの活性化を測定した。

B. 方　法

動物試験

実験には C57/B6 マウス（雄性、 4 週齢、日本 SLC 社）を使用した。P35 から P45 の間に生理食塩水（10 ml/kg）あるいは WIN55,212-2 (2 mg/kg/day)を合計 11 日間、腹腔内投与した。その後、通常の飼育を行い、成人期（P70）に新鮮な糞を採取した。その後、LPS (0.5 mg/kg)を腹腔内投与し、翌日に血液および脳部位（前頭皮質、海馬、側坐核）を採取した。脳におけるミクログリア Iba1 の発現をウエスタンブロット法にて測定した。血液中の炎症性サイトカイン（IL-6 and TNF-alpha）濃度は ELISA で測定した。腸内細菌叢解析は 16s rRNA 解析で実施した。短鎖脂肪酸は、ガスクロマトグラフィーで測定した。血液中の代謝物は、メタボローム解析で測定した。

C. 結　果

成人期に LPS を投与し、炎症を引き起こすと、両群の血液中の炎症性サイトカイン濃度には影響を与えないが、前頭皮質および側坐核における Iba1 の発現が増加し、ミクログリアの活性化が有意に増加した（図 1）。一方、海馬では差が無かった。

思春期における WIN55,212-2 の投与は、成人期における腸内細菌叢の多様性（αおよびβ）には影響を与えなかった。しかしながら、LEfSe 解析では WIN55,212-2 群に特有な腸内細菌が同定された（図２）。

さらに、両群で有意に異なる個別の腸内細菌を認めた。腸内細菌により生成される短鎖脂肪酸は両群で差が無かった。メタボローム解析により、両群で異なる代謝物を同定し、また代謝物と腸内細菌の間に相関が認められた（図 3）。

興味深いことに、ある種の腸内細菌の分布と脳内ミクログリアの発現の間に有意な相関関係が認められ、腸内細菌が脳ミクログリアに影響を与える可能性が示唆された（図 4）。

D. 考　察

本研究の結果より、思春期におけるカンナビノイド系薬剤の使用は、長期にわたり腸内細菌叢の異常を来し、腸内細菌が脳ミクログリアの発現に影響を与える可能性が示唆された（6）。最近の研究では、腸内細菌が脳内のミクログリア活性化に影響を与える可能性が示唆されている（7）。さらに、ストレス、炎症などに対する脆弱性が増加する可能性も示唆され、脳炎症の亢進が精神疾患の発症リスクを高める可能性がある。

E. 結　論

近年わが国おいて、若年層の大麻使用者が増加していることが新聞等で社会問題になっている。これまでの海外の多くの疫学研究から、大麻の使用は、精神病の発症リスクを高めることが知られており、その機序として、腸内細菌叢の異常が関わっている可能性がある。早期に腸内細菌叢の改善を目的とした治療を行うことにより、精神病の発症を予防できる可能性もある。

F. 参考文献

1) Andréasson S, Allebeck P, Engström A, Rydburg U: Cannabis and schizophrenia. A longitudinal study of Swedish conscripts. Lancet, 1987; 2:1483-1486.
2) Moore TH, Zammit S, Lingford-Hughes A, Barnes TR, Jones PB, Burke M, Lewis G: Cannabis use and risk of psychotic or affective mental health outcomes: a systematic review. Lancet 2007; 370: 319-328
3) Chang L, Wei Y, Hashimoto K: Brain-gut-microbiota axis in depression: A historical overview and future directions. Brain Res. Bull. 2022; 182: 44-56.

4) Wei Y, Wang T, Liao L, Fan X, Chang L, Hashimoto K: Brain-spleen axis in health and diseases: A review and future perspective. Brain Res. Bull. 2022; 182: 130-140.
5) Dong C, Tian Z, Zhang K, Chang L, Qu Y, Pu Y, Ren Q, Fujita Y, Ohgi Y, Futamura T, Hashimoto K: Increased BDNF-TrkB signaling in the nucleus accumbens plays a role in the risk for psychosis after cannabis exposure during adolescence. Pharmacol. Biochem. Behav. 2019; 177: 61-68.
6) Wan X, Eguchi A, Qu Y, Yang Y, Chang L, Shan J, Mori C, Hashimoto K: Gut-microbiota-brain axis in the vulnerability to psychosis in adulthood after repeated cannabis exposure during adolescence. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. In press.
7) Yang Y, Ishima T, Wan X, Wei Y, Chang L, Zhang J, Qu Y, Hashimoto K: Abnormalities in gut microbiota composition and short-chain fatty acids in mice after repeated administration of colony stimulating factor 1 receptor inhibitor PLX5622. Eur. Arch. Psychiatry Clin. Neurosci. 2022; 272: 483-495.

健康危険情報

本事業成果は、カンナビノイド系化合物の長期にわたる副作用（腸内細菌叢の異常）に関する評価解析であり、結果はすべて健康危険情報に該当する。

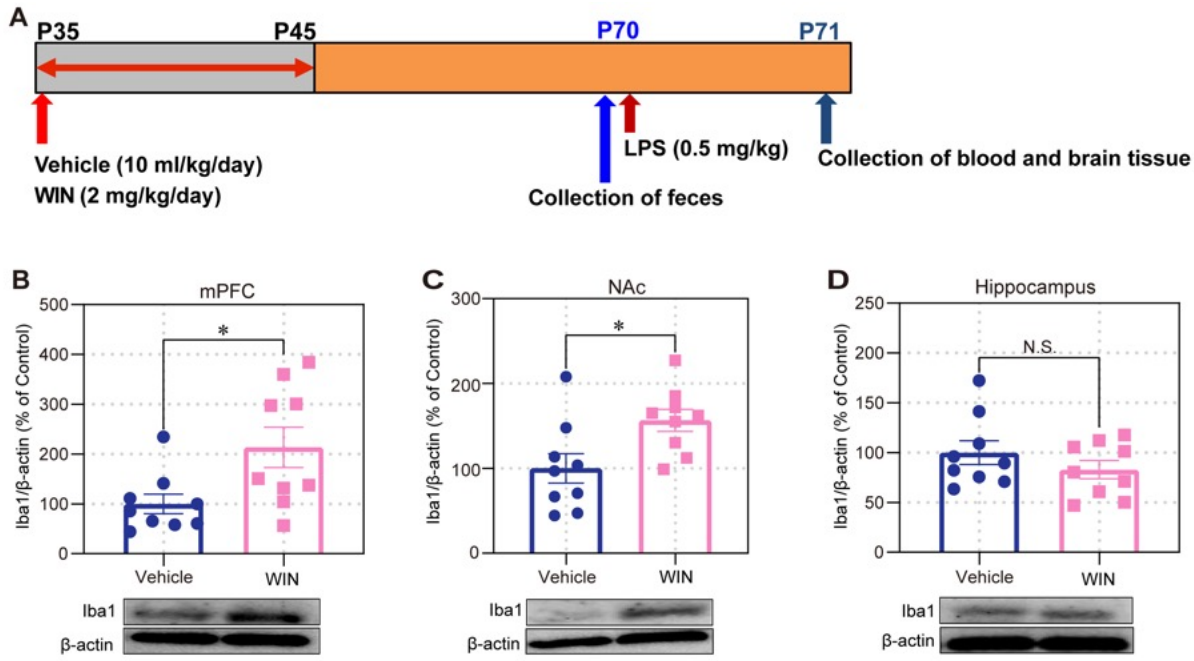


Figure 1. Experimental schedule and the expression of microglial marker in the brain

A: Experimental schedule. Vehicle (10 ml/kg/day) or WIN55,212-2 (2 mg/kg/day) was administered i.p. into mice from P35 to P45. On P70, fresh fecal samples were collected before LPS (0.5 mg/kg) administration. B, C, D: Western blot analysis of ionized calcium-binding adapter molecule 1 (Iba1) and β-actin in the medial prefrontal cortex (mPFC), nucleus accumbens (NAc) and hippocampus. The values represent the mean ± S.E.M. Unpaired Student's t-test (n = 9). *P < 0.05, N.S.: not significant.

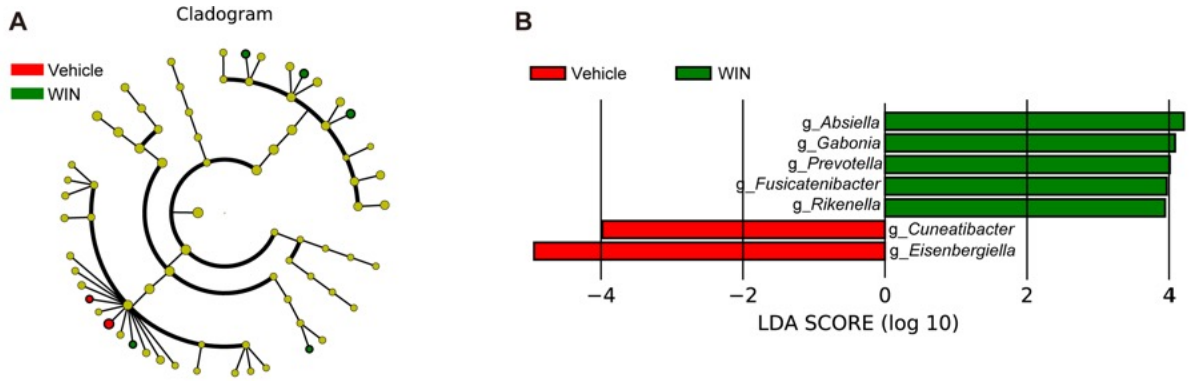


Figure 2. LEfSe analysis of gut microbiota

A: Evolutionary branching diagram obtained from LEfSe analysis. B: The histogram shows the overrepresented taxa with LDA score of 3.0 or higher. Wilcoxon rank-sum test (n = 9). LDA: linear discriminant analysis. LEfSe: linear discriminant analysis effect size. N.S.: not significant. WIN: WIN55,212-2.

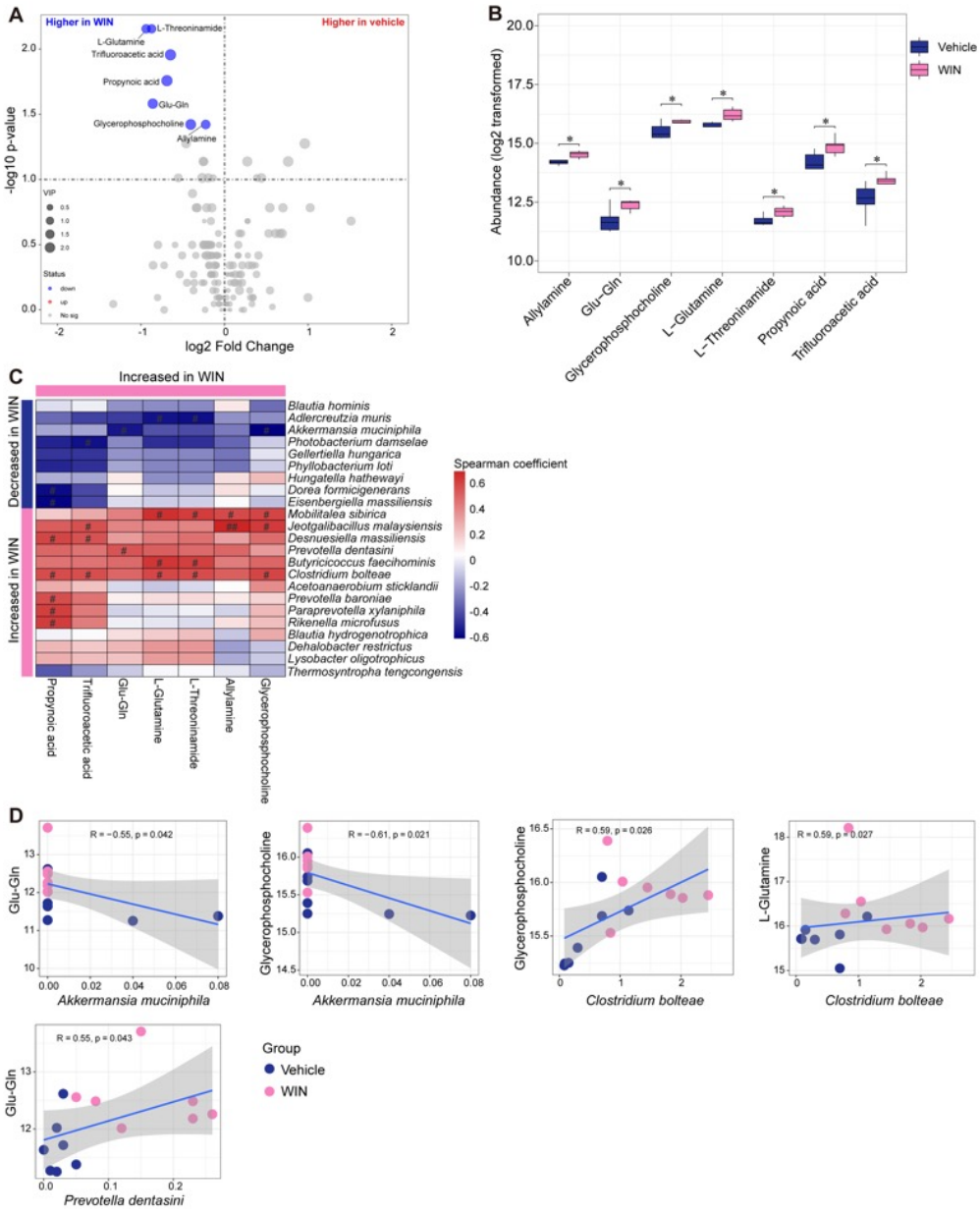


Figure 3. Effects of adolescent WIN 55,212-2 exposure on plasma metabolites in the adult mice

A: Volcano plot shows the differential metabolites between the two groups. The X-axis indicates the log2-transformed plasma metabolite abundance of fold change, and the y-axis indicates the -log10-transformed P value using the Wilcoxon rank sum test. Horizontal lines indicate $P < 0.05$. Metabolites with increased or decreased metabolites are marked in red and blue, respectively. The size of the dot represents the size of the VIP value. Metabolites with $P < 0.05$ and VIP > 1.0 are marked in text. B: Changes in metabolic characteristics associated with WIN 55,212-2 group (the relative abundance data of metabolites were transformed with log2, Wilcoxon Rank sum test). C: Spearman correlation between WIN55,212-2-associated bacteria and WIN55,212-2-associated plasma metabolites. D: Representative taxon - metabolite correlation diagram. $*P_{FDR} < 0.05$, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$. VIP: variable importance in projection.

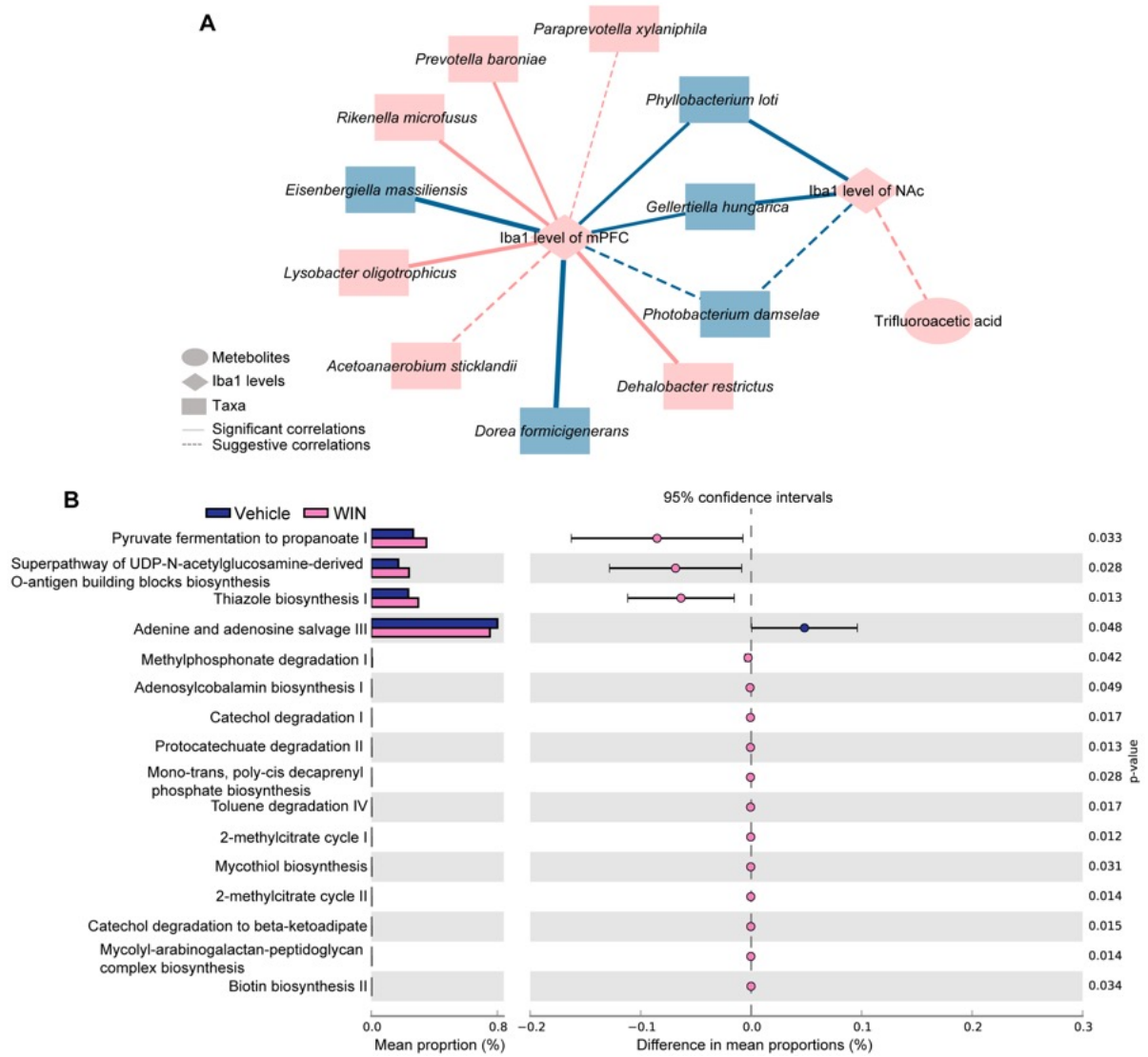


Figure 4. An integrated association network representing host-microbe interactions, gut microbiome, metabolic profiles and Iba1 levels in the brain regions

A: Network revealing the association between differentially abundant taxa or metabolites in the WIN 55,212-2 group and vehicle group and Iba1 expression in the mPFC and NAc, Spearman correlation analysis (absolute correlation coefficient > 0.4), nodes represent enriched (red) or depleted (blue) features in the WIN 55,212-2 group compared to vehicle group. The red line connecting the nodes indicates positive correlation and the blue line indicates negative correlation. Solid lines represent significant correlations ($P_{FDR} < 0.05$), and dashed lines indicate suggestive correlations ($P < 0.05$). B: PICRUSt2 predicted differential pathways between the WIN 55,212-2 group and vehicle group.

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

大麻受容体を介した薬理作用の解析（1-1-04）

分担研究者：三島健一（福岡大学薬学部　生体機能制御学研究室）

【研究要旨】

大麻主要成分（Δ9-tetrahydrocannabinol, THC）は、生体内の大麻受容体（カンナビノイド受容体、CB 受容体）を介し、様々な薬理作用を示す。CB 受容体には 2-Arachidonoylglycerol（2-AG）などの生体内リガンドが存在する。大麻は、同一人が同一量を服用しても作用が大きく異なることが知られている。その作用が一定でない原因は、服用者の期待感、性格、生活歴、摂取時の環境や気分、用量、代謝酵素の量などが関与していると考えられているが、科学的根拠は少ない。分担研究者らは大麻関連化合物が示す薬理作用に焦点をあてて研究してきた。マウスが脂質を多く含む食（高脂肪食）を摂食し続けた時に、脳内の 2-AG が増加することを明らかにした。加えて、個別に飼育した後、THC を投与すると THC は CB 受容体を介した攻撃行動を誘発した。また、THC を連続投与した際に THC の薬理作用には耐性が形成される。そのため、CB 受容体を介して発現する薬理作用は、生体がおかれた状況（摂食や飼育環境、THC の使用経験など）によって影響を受けやすいことが予想された。本研究は、マウスを用いて、THC の連日投与が大麻関連化合物の薬理作用に与える影響を検証した後、その制御機構を明らかにする目的で実施した。

THC の連日投与が CB 受容体を介した薬理作用に与える影響を検討するために、マウスに THC を 3 日間毎日、腹腔内投与して、直腸温を測定した。また、CB_1 受容体拮抗薬 SR141716A を使用した。その結果、THC は、マウスの直腸温を有意に降下させた。CB1 受容体拮抗薬 SR141716A は THC による直腸温降下作用を有意に抑制した。THC 投与 3 日目について、THC による直腸温降下作用は減弱していた。THC を連日投与する際に SR141716A を併用すると THC による薬理作用の減弱は見られなかった。よって、THC を連日投与することで、CB_1 受容体が刺激されると THC による直腸温降下作用に耐性が形成されることを明らかにした。また、THC を連日投与した後、耐性が形成されたマウスの脳の遺伝子発現量を解析した結果、多くの遺伝子発現量が増減していることが明らかとなった。

本研究により、大麻は使用経験などの生体がおかれた状況によって、CB 受容体を介した薬理作用が変化することが示唆された。今後、生体がおかれた状況が CB 受容体を介して起こる薬理作用に与える影響について、その制御機構を解析することは、大麻が示す作用の不安定さを表すエビデンスとなることが期待される。

A. 目　的

大麻主要成分（Δ^9-tetrahydrocannabinol, THC）は、生体内の大麻受容体（カンナビノイド受容体、CB 受容体）を介し、様々な薬理作用を示す。また、CB 受容体には 2-Arachidonoylglycerol（2-AG）などの生体内リガンドが存在する(1,2)。大麻は同一人が同一量を服用しても作用が大きく異なることが知られている。その作用が一定でない原因は、服用者の期待感、性格、生活歴、摂取時の環境や気分、用量、代謝酵素の量などが関与していると考えられているが、科学的根拠は少ない。分担研究者らは大麻関連化合物が示す薬理作用に焦点をあてて研究してきた。マウスが脂質を多く含む食（高脂肪食）を摂食し続けた時に、脳内の 2-AG が増加することを明らかにした。加えて、個別に飼育した後、THC を投与すると THC は CB 受容体を介した攻撃行動を誘発した。また、THC を連続投与した際に THC の薬理作用には耐性が形成される（3)。そのため、CB 受容体を介して発現する薬理作用は、生体がおかれた状況（摂食や飼育環境、THC の使用経験など）によって影響を受けやすいことが予想された。本研究は、分担研究者らが現在まで CB 受容体と生体内リガンドについて明らかにしている知見に基づき、マウスを用いて、THC の連日投与が大麻関連化合物の薬理作用に与える影響を検証した後、その制御機構を明らかにする目的で実施した。

B. 方　法

実験動物

実験には ICR 系マウス （九動; 佐賀）を用いた。 マウスは、プラスチックケージの中に、室温 23 ± 2 ℃、湿度 60 ± 2 %、および 12 時間の明暗サイクル（7:00AM 点灯）の動物室で飼育した。なお、餌には、 CE-2（日本クレア 株式会社 東京）を用い、水と共に自由に摂取させた。

薬物投与

CB_1 受容体拮抗薬 SR141716 を腹腔内投与した後、THC を腹腔内投与した。各薬物は 3 日間連続で併用した。薬物を投与している期間、THC を投与した後、直腸温を測定した。また、各薬物を 3 日間連続投与した後、4 日間休薬して（投与開始から 7 日目）、THC を単独で投与した。単独で THC を投与した後、直腸温を測定した。

直腸温の測定

マウスの直腸温は、動物体温記録計（マウス用体温記録計：KN-91-AD1687-M、マウス用プローブ：AX-KO4746-100、A&D, Inc.）を用いて測定した。室温条件下で、マウス専用のプローブを肛門から約 1 cm 挿入し、THC を投与したマウスの直腸温を 30 秒間記録した。

遺伝子発現量解析

THC を連日投与した後、THC による体温降下作用に耐性が形成されたマウスの脳を摘出した。摘出した脳から、TRIzol 試薬を用いて、total RNA を抽出した後、マイクロアレイキット(SurePrint G3 Mouse GE)を用いて解析した。

C. 結　果

1. THC 連日投与による耐性形成

THC の投与開始 1 日目について、THC を投与してから 2 時間目まで、マウスの直腸温を経時的に測定した結果、THC は投与 1 時間後のマウスの直腸温を有意に降下させた（Fig. 1)。THC は、投与 1 時間後、マウスの直腸温度を有意に降下させ、2 時間後には正常体温にまで回復した。また、THC 投与開始から 3 日目について、THC による直腸温降下作用は減弱しており、THC による有意な直腸温降下作用は認められなかった（Fig.1)。

2. THCの連日投与による耐性形成にCB_1受容体拮抗薬が与える影響

各薬物の投与開始1日目、THCは、マウスの直腸温を有意に降下させ、CB_1受容体拮抗薬SR141716AはTHCによる直腸温の降下を有意に抑制した（Fig. 2）。また、THCを3日間投与することで、THCによる直腸温降下作用は減弱した。各薬物の連日投与3日目、CB_1受容体拮抗薬SR141716AとTHCを併用したマウスの直腸温は降下しなかった。各薬物を3日間連続して投与した後、4日間投与を辞めた後（7日目）、THCを投与して、直腸温を測定した。その結果、THCのみ連日投与したマウスは3日目と同様にTHCによる直腸温降下作用が減弱していた。一方、THCを連日投与する際にSR141716Aを併用するとTHC投与時に直腸温が降下しており、THC連日投与による直腸温降下作用の減弱は見られなかった（Fig. 2）。

3. THC耐性形成時の遺伝子発現量の変化

THCを連続投与した後、THCによる直腸温降下作用に耐性が形成されたマウスの脳の遺伝子発現量を解析した結果、多くの遺伝子発現量が増減していることが明らかとなった（Fig. 3）。

D. 考　察

本課題により、THCを連日投与することで、THC投与開始3日目以降、体温降下作用に耐性が形成されることを明らかにした。また、薬理学的手法を用いて、THCの体温降下作用はCB_1受容体を介して起こることを確認した。更に、CB_1受容体拮抗薬を用いて、THCの薬理作用に耐性が形成される際、CB_1受容体を介して起こることを確認した。このとき、THCを連日投与したマウスの脳では多数の遺伝子発現量が増減することを明らかにした。THCの連日投与時に脳内環境が変化していることを示唆した。今後、薬理学的、分子生物学的手法を用いて、THCの薬理作用が減弱する機構について、詳細が明らかになることが期待された。

E. 結　論

本課題の成果によって、大麻は使用経験などの生体がおかれた状況によって、CB受容体を介した薬理作用が変化することが示唆された。このことから、大麻を使用した際にCB受容体が刺激されることで、CB受容体を介した薬理作用の強弱が変化することを予想され、大麻が示す作用の不安定さを表すエビデンスとなりうるため、有害作用の評価基準の策定に向けて有用な情報であると考えられる。また、THCを連日投与したマウスの脳内環境が変化していたことは合成カンナビノイドなどの中枢作用および有害作用を考える上で有用な情報となると考えられた。

F. 参考文献

4) Sugiura T, Kondo S, Sukagawa A, Nakane S, Shinoda A, Itoh K, Yamashita A, Waku K.: 2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain.: Biochem Biophys Res Commun 215:89-97, 1995

5) Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R. : Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. Science 258:1946-1949, 1992

6) Martin B. R., Role of lipids and lipid signaling in the development of cannabinoid tolerance, Life Sciences 77,1543-1558, 2005

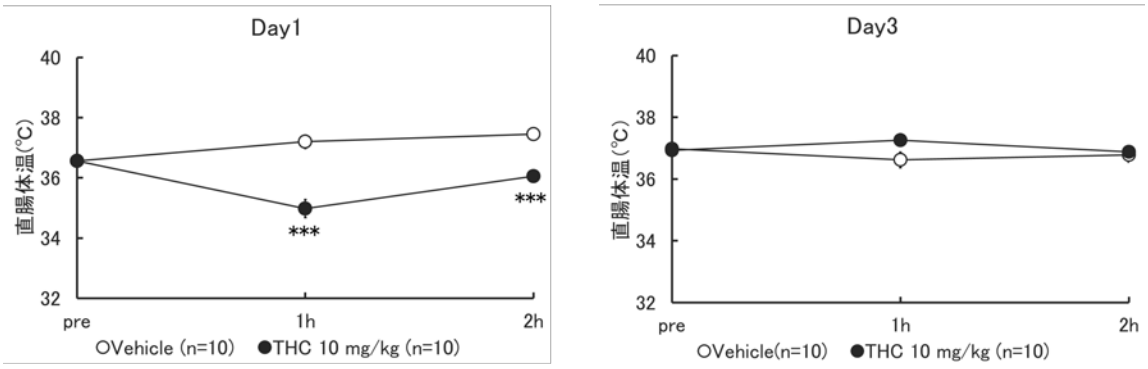


Fig. 1. Effect of daily treatment of THC on rectal temperature in mice.

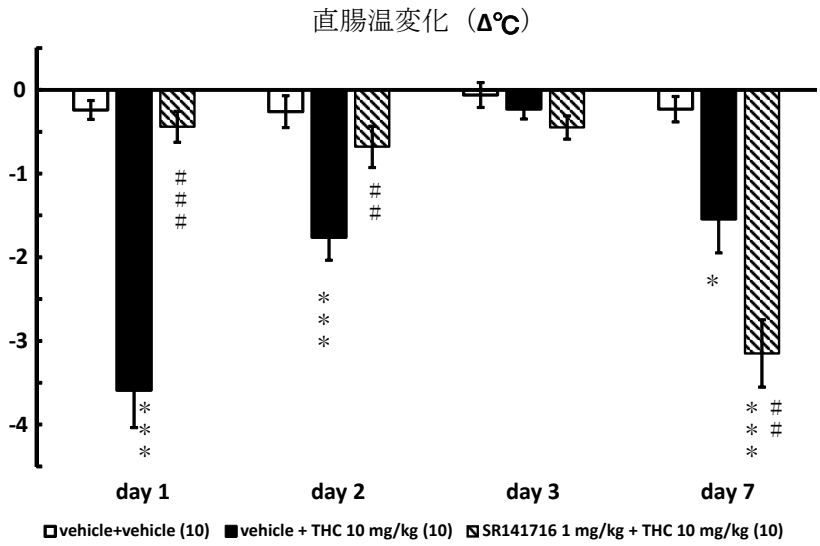


Fig. 2. Effect of SR141716A on tolerance to hypothermic effect of THC after daily treatment in mice.

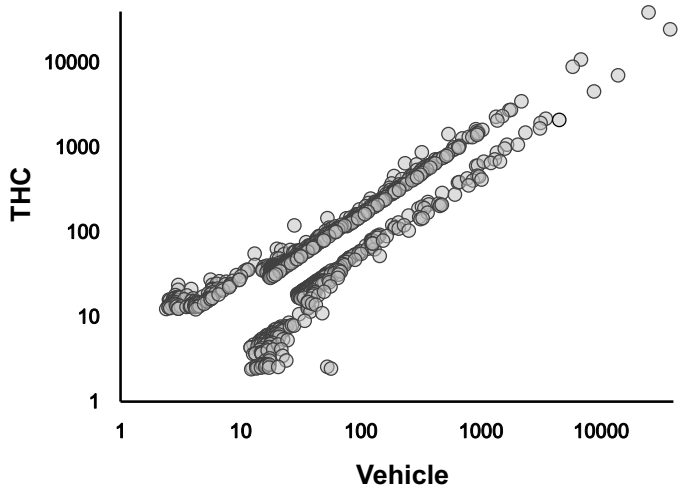


Fig. 3. Regulation of gene expression by daily treatment of THC in mice

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

合成カンナビノイドのシナプス伝達と行動に対する作用（1-1-05）

分担研究者　関口正幸（国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第 4 部）
研究協力者　竹内絵理（国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第 4 部）
山田大輔（東京理科大学薬学部薬学科薬理学教室）
高橋秀依（東京理科大学薬学部薬学科薬化学教室）
牧野宏章（東京理科大学薬学部薬学科薬化学教室）
荒木拡嗣（東京理科大学薬学部薬学科薬化学教室）
斎藤顕宜（東京理科大学薬学部薬学科薬理学教室）

【研究要旨】
危険ドラッグの成分のひとつである合成カンナビノイド AB-FUBINACA は大麻成分の Δ^9-tetra-hydrocannabinol (THC) よりも高いカンナビノイド CB1 受容体親和性を示し、動物実験の結果から少量で様々な身体症状を引き起こすことが報告されている。しかしながら、AB-FUBINACA の情動行動、特に情動性記憶・学習行動に対する作用については不明であった。これまでに、学術的研究のための試薬として市販されているカンナビノイド CB1 受容体作動薬 WIN55, 212-2 (WIN) は、げっ歯類への腹腔内投与により、情動性記憶の一種である「文脈性恐怖記憶」の獲得を減弱することが知られていた。本研究は、これら先行研究を基盤として、AB-FUBINACA が脳シナプス伝達（特に情動中枢扁桃体）や文脈性恐怖記憶の獲得などに影響を及ぼすかどうか評価することを目的として行われた。実験には C57BL/6J マウス（雄性, 8 週齢）を使用した。マウス脳スライス中の扁桃体錐体細胞におけるシナプス伝達に対する AB-FUBINACA の作用をパッチクランプ法にて検討したところ、AB-FUBINACA 投与により扁桃体シナプス伝達が抑制される例が観察された。一方、マウスに AB-FUBINACA を腹腔内投与して恐怖条件づけ行動試験を行ったところ、濃度依存的かつ有意にマウスのすくみ反応時間が減少した。この減少は AM251（CB1 受容体阻害薬）前投与下での AB-FUBINACA 投与では見られなかった。AB-FUBINACA の腹腔内投与はマウスの作業記憶も CB1 受容体依存的に抑制した。さらに、AB-FUBINACA の腹腔内投与は、高濃度ではマウス心拍数を減少させた。本研究では、合成カンナビノイド AB-FUBINACA が扁桃体関連記憶である文脈性恐怖記憶の獲得を抑制すること等が示された。

A. 目　的

本邦においては、2012-2014 年の間に 200 件を超える危険ドラッグ摂取によると思われる自動車事故が発生し社会問題となった。危険ドラッグのひとつである合成カンナビノイド AB-FUBINACA は大麻成分である Δ^9-tetra-hydrocannabinol よりも高いカンナビノイド CB1 受容体親和性を示し、動物実験の結果から少量で様々な身体症状を引き起こすことが報告されている [1)]。しかしながら、AB-FUBINACA の情動行動、特に情動性記憶・学習行動に対する

作用については不明であった。これまでに、学術的研究のための試薬として市販されているカンナビノイド CB1 受容体作動薬 WIN55, 212-2 は、げっ歯類への腹腔内投与により、情動性記憶の一種である「文脈性恐怖記憶」の獲得を減弱することが知られていた[2)]。

本研究は、これら先行研究を基盤として、危険ドラッグの成分である合成カンナビノイド AB-FUBINACA が脳シナプス伝達（特に情動中枢扁桃体）や文脈性恐怖記憶の獲得などに影響を及ぼすかどうか評価することを目的として行われた。

B. 方　法

1.マウス及び薬物

実験には C57BL/6J マウス（雄性, 8 週齢, 日本クレア）を使用した。合成カンナビノイドとして AB-FUBINACA（研究グループにて合成）を、カンナビノイド CB1 受容体阻害薬として AM251 を使用した。

2.脳シナプス伝達

マウス脳スライス中の扁桃体錐体細胞におけるシナプス伝達に対する AB-FUBINACA の作用をパッチクランプ法にて電気生理学的に検討した[3)]。

3.文脈性恐怖条件づけ試験

マウスに AB-FUBINACA を腹腔内投与した 15 分後に未知実験箱（条件刺激）と電気ショック（無条件刺激）による恐怖条件づけを行い、その 24 時間後に条件刺激のみによって引き起こされるすくみ反応を解析した。同様の実験において AM251 を AB-FUBINACA を投与する 20 分前に腹腔内投与し CB1 受容体の関与について検討を加えた。行動実験における投与量は先行研究を参考に、AB-FUBINACA（0.2, 0.5, 1.0, 5 mg/kg）、AM251（5 mg/kg）とした[1)]。対象としては、それぞれの薬物に関して溶媒投与群を用いた。

その他の行動実験や生理学的実験は既知の方法を用いて行った[3)]。

C. 結　果

1. 合成カンナビノイド AB-FUBINACA 投与により扁桃体シナプス伝達が抑制される例が観察された。

2. AB-FUBINACA を腹腔内投与し恐怖条件づけ試験を行ったところ、濃度依存的にマウスのすくみ反応時間が有意に減少した(Fig. 1)。さらに、AM251 を AB-FUBINACA 投与前に腹腔内投与すると、すくみ反応時間の減少が消失した。

3. AB-FUBINACA の腹腔内投与はマウスの作業記憶を抑制した。この抑制作用は AM251 前投与で消失した。

4. AB-FUBINACA の腹腔内投与は、高濃度（5 mg/kg）ではマウス心拍数を減少させた。

D. 考　察

本研究では、合成カンナビノイド AB-FUBINACA が扁桃体シナプス伝達に影響を及ぼす可能性や扁桃体関連記憶である文脈性恐怖記憶の獲得に抑制的に作用することが示された。この結果は、カンナビノイド CB1 受容体の活動増強により、恐怖記憶の獲得が減弱するという先行研究と良く一致するものであった[2)]。今後、AB-FUBINACA の情動関連脳部位におけるシナプス伝達や情動行動に関してさらに詳細な理解を得ることにより、合成カンナビノイドについての新たな理解の進展が期待される。

ただし本研究においては、情動系ではない記憶である作業記憶についても AB-FUBINACA により抑制がみられた点は注意が必要であり、今後情動関連脳部位以外の脳部位での検討も必要になろう。

一方、本研究では高用量の AB-FUBINACA によりマウス心拍数の減少が観察された。このことは、AB-FUBINACA の全身作用の複雑性を示唆すると思われ、これについても今後更に検討が必要である。

E. 結　論

合成カンナビノイド AB-FUBINACA が扁桃体関連記憶である文脈性恐怖記憶の獲得を抑制すること等が示された。

F. 参考文献

1) Canazza I, Ossato A, Vincenzi F, Gregori A, Di Rosa F, Nigro F, Rimessi A, Pinton P, Varani K, Borea PA, Marti M (2017) Pharmaco-toxicological effects of the novel third-generation fluorinate synthetic cannabinoids, 5F-ADBINACA, AB-FUBINACA, and STS-135 in mice. In vitro and in vivo studies. *Hum Psychopharmacol*, **32**, e2601.

2) Pamplona FA, Takahashi RN (2006) WIN 55212-2 impairs contextual fear conditioning through the activation of CB1 cannabinoid receptors. *Neurosci Lett*, **397**, 88-92.

3) Yamada D, Takeo J, Koppensteiner P, Wada K, Sekiguchi M (2014) Modulation of fear memory by dietary polyunsaturated fatty acids via cannabinoid receptors. *Neuropsychopharmacology*, **39**, 1852-1860.

Fear conditioning

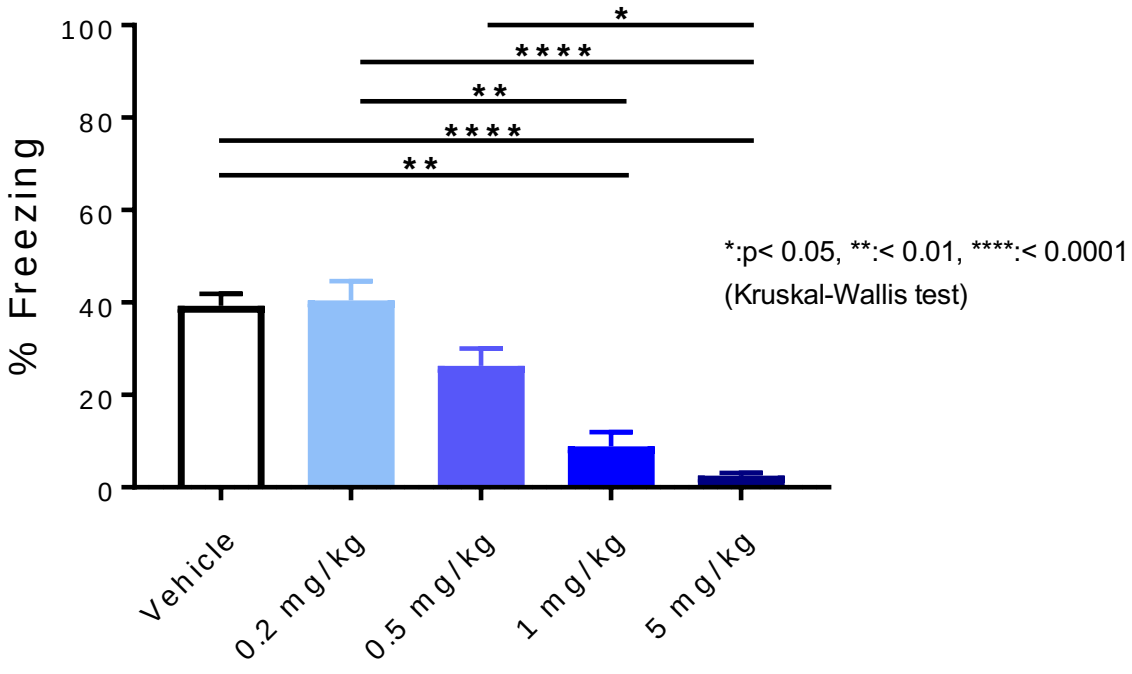


Fig. 1

Dose-dependent reduction of freezing rate (%) in mice by administration (i.p.) of AB-FUBINACA.

令和元年度～令和 3 年度
国立精神・神経医療研究センター　精神・神経疾患研究開発費
危険ドラッグによる有害作用の新規評価法開発に関する研究
（課題番号：1-1）

分担研究報告書

合成カナビノイドおよびPCP系薬物の中枢神経系への影響に関する脳波による評価（1-1-06）

分担研究者：三輪秀樹（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　精神薬理研究部）

【研究要旨】

フェンサイクリジン（PCP）やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬は幻覚作用を持つことが知られているが、その作用機序は不明な点が多い。Khlestova らの研究によると、ケタミンへの NMDA 受容体感受性は NMDA 受容体のサブユニットの中でも GluN2C, GluN2D サブユニットが他の GluN2A, GluN2B より高いことが報告されている（Khlestova et al., 2016）。これらを背景に、本研究では GluN2C, GluN2D サブユニットを含む NMDA 受容体の発現脳部位に着目し、脳機能解析を進めることは幻覚など精神病症状の理解を深めることを目指した。具体的には、PCP 系薬物の標的分子を探索する上で、その準備段階として、PCP と類似の作用点をもつメマンチンを用いて、さまざまな脳部位、細胞種に対するメマンチンの応答性を in vitro 電気生理学により検証した。そその結果、細胞種毎に差異があり、特に GABA 作動性ニューロンでの応答性が高いことを示唆する知見を得ることができた。幻覚・幻聴を主訴とする統合失調症でも GABA システムの減弱が観察されているので、今後は共通の神経回路異常として関連性を明らかにしていく。

また、行動レベルでの新たな薬物依存症モデルの開発に取り組むため、ドパミン神経特異的に組み替え酵素 Cre を発現する、dopamine transporter-Cre (DAT-Cre)マウスを用いて、化学遺伝学(DREADD)により、有用性の検証を行った。また、薬物依存症治療標的分子の候補として、オキシトシンシステムに着目しており、新たに開発されたオキシントシン受容体可視化マウスの評価を行った。実験方法は、DAT-Cre マウスの腹側被蓋野を化学遺伝学的手法により神経活動を人工操作した実験では、AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry をインジェクションをしたマウスはオープンフィールド試験に置いてコントロールマウスと比較して過活動を示した。これはドパミン細胞の活動上昇がオープンフィールド試験での過活動と関連するという知見と一致したものであり、実験系として確立することができた。さらに、オキシトシン受容体発現可視化遺伝子改変マウス（*Oxtr-T2A-tdTomato* マウスおよび *Oxtr-T2A-iCre* マウス）を用いてオキシトシン受容体発現細胞の脳内分布を調べた。*Oxtr-T2A-tdTomato* マウスについては、免疫組織化学的解析により、全脳における tdTomato 陽性細胞の分布を調べた。さらに、急性スライス標本を作成し、パッチクランプ法により tdTomato 陽性細胞から電気応答を記録し、オキシトシンへの応答を調べた。*Oxtr-T2A-iCre* マウスに関しては、アデノ随伴ウイルス PHP.eB-DIO-EGFP を眼窩静脈叢経由で投与した後、免疫組織化学的解析により、全脳における EGFP 陽性細胞の分布を調べることでオキシトシン受容体発現細胞分布を調べた。今後は、上記の DAT-Cre マウスとオキシトシン受容体発現可視化遺伝子改変マウスを交配させることで、薬物依存症の原因とされるドパミン神経と薬物依存症の治療標的候補であるオキシトシンシステムとの相互作用する可能性の脳部位を検証し、薬物依存症の病態基盤を明らかにするとともに、治療標的分子の更なる探索を行う。

A. 目　的

フェンサイクリジン（PCP）やケタミンなど

NMDA 受容体拮抗薬は幻覚作用を持つことが知られているが、その作用機序は不明な点が多い。Khlestova らの研究によると、ケタミンへの NMDA 受容体感受性は NMDA 受容体のサブユニットの中でも GluN2C, GluN2D サブユニットが他の GluN2A, GluN2B より高いことが報告されている（Khlestova et al., 2016）。これらを背景に、本研究では GluN2C, GluN2D サブユニットを含む NMDA 受容体の発現脳部位に着目し、脳機能解析を進めることは幻覚など精神病症状の理解を深めることを目指した。

また、行動レベルでの新たな薬物依存症モデルの開発に取り組むため、ドパミン神経特異的に組み替え酵素 Cre を発現する、dopamine transporter-Cre (DAT-Cre)マウスを用いて、化学遺伝学 (DREADD)により、有用性の検証を行った。また、薬物依存症治療標的分子の候補として、オキシトシンシステムに着目しており、新たに開発されたオキシントシン受容体可視化マウスの評価を行った。

B. 方　法

使用動物：急性スライス標本を用いた *in vitro* 電気生理学実験においては、C57BL/J 系雄性マウス（8-12 週齢、日本クレア）を使用した。DAT-Cre マウスは東京都医学総合研究所・学習記憶プロジェクトリーダー・齊藤実博士との共同研究により分与していただいた。オキシントシン受容体可視化マウス (Oxtr-T2A-tdTomato マウスおよび Oxtr-T2A-iCre マウス)は神経研究所・疾病研究第六部・井上由紀子博士との共同研究により分与していただいた。

使用薬物：急性スライス実験において、NMDA 受容体拮抗薬としてメマンチン(Tocris)を使用した。化学遺伝学実験において、Clozapine N-oxide (CNO, Tocris)を使用した。

。

1. メマンチンへの NMDA 受容体応答性の脳部位・細胞種での違い

脳スライス標本（海馬、扁桃体、前頭前野、視床）を用いて、パッチクランプ法により、電気応答を測定することで、各脳部位のNMDA受容体特性を解析することでGluN2C, GluN2Dサブユニットを含む特性かを推測した。また、メマンチンなどNMDA受容体拮抗薬によるNMDA受容体電流応答の抑制率を解析した。

2. ドパミン神経回路の可視化とドパミン神経の化学遺伝学による人工操作の評価

ドパミントランスポータ-特異的 Cre 発現マウス（DAT-Cre）にレポーターマウス Ai9(Cre による組換えで蛍光タンパク質 tdTomato を発現するマウス)を交配させて得られた DAT-tdTomato マウスの組織学的解析を行い、ドパミン神経の脳局在を解析した。また、化学遺伝学的手法により DAT-Cre マウスの腹側被蓋野にアデノ随伴ウイルス AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry あるいは AAV-DIO-hM4D(Gi)-mCherry をインジェクションし、腹側被蓋野の神経活動を活性化あるいは抑制することによる、行動変化をオープンフィール試験やプレパルス抑制試験など実施した。

3. オキシトシン受容体発現細胞の可視化: キシトシン受容体発現可視化遺伝子改変マウス（*Oxtr-T2A-tdTomato*マウスおよび*Oxtr-T2A-iCre* マウス）を用いて以下のことを行った。*Oxtr-T2A-tdTomato*マウスについては、免疫組織化学的解析により、全脳におけるtdTomato陽性細胞の分布を調べることでオキシトシン受容体発現細胞分布を調べた。さらに、急性スライス標本を作成し、パッチクランプ法によりtdTomato陽性細胞から電気応答を記録し、オキシトシンへの応答を調べた。*Oxtr-T2A-iCre*マウスに関しては、アデノ随伴ウイルス PHP.eB-DIO-EGFPを眼窩静脈叢経由で投与した後、免疫組織化学的解析により、全脳におけるEGFP陽性細胞の分布を調べることでオキシトシン受容体発現細胞分布を調べた。

C. 結　果

1. メマンチンへの NMDA 受容体応答性の脳部位・細胞種での違い

海馬CA1錐体細胞およびパルブアルブミン陽性GABA作動性ニューロン、扁桃体主要細胞、視床ニューロン、前頭前野からパッチクランプ法により電流-電圧曲線を作成した。その結果、電位依存性による反応の違いが観察された。さらに、メマンチン応答性について解析を行った。

2. ドパミン神経回路の可視化とドパミン神経の化学遺伝学による人工操作の評価

DAT-tdTomato マウスの組織学的解析により、tdTomato 陽性シグナルの脳内分布を観察した。その結果、これまでの報告と一致し、腹側被蓋野はもちろん、前頭前野、扁桃体中心核、視床にも tdTomato 陽性シグナルの神経終末を観察することができた (Fig.1)。

DAT-Cre マウスの腹側被蓋野を化学遺伝学的手法により神経活動を人工操作した実験では、AAV-DIO-hM3D(Gq)-mCherry をインジェクションをしたマウスはオープンフィールド試験に置いてコントロールマウスと比較して過活動を示した。これはドパミン細胞の活動上昇がオープンフィールド試験での過活動と関連するという知見と一致したものであった(Fig.2)。

3. オキシトシン受容体発現細胞の可視化

オキシトンシン受容体発現細胞の脳内分布について、いままでの報告と合致している点（扁桃体中心核や中隔に発現が多い）や相違している点（大脳皮質2層に陽性細胞が局在する）が観察された。また、これらの蛍光タンパク質陽性細胞がオキシトシンアゴニストで電気応答に変化が生じることを電気生理学的解析により確認できた (Fig.3)。

D. 考　察

本研究では、PCP 系薬物の薬理効果として NMDA 受容体特性に関する解析および薬物依存症の治療標的としてオキシトシン神経に着目して実施した。PCP やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬に関する細胞レベルでの解析は、培養細胞での解析は行われているが、実際の脳スライス標本や動物個体での解析は不明の点が多い。ケタミンや MK801 の細胞レベルでの作用機序に関して、パルブアルブミン陽性細胞の NMDA 受容体に特に作用するという報告もあるが、実際には再現性に問題があるのではないかという個人的な疑問もあり、これらの基本的な薬理学的特性をもとに幻覚の生物学的神経基盤の理解を今後深めていく予定である。

E. 結　論

今後の薬物依存症研究を展開する上で、基本的な知見を得ることができた。また、PCP 系薬物の標的分子を探索する上で、その準備段階として、PCP と類似の作用点をもつメマンチンを用いて、さまざまな脳部位、細胞種に対するメマンチンの応答性を in vitro 電気生理学により検証した。その結果、細胞種毎に差異があり、特に GABA 作動性ニューロンでの応答性が高いことを示唆する知見を得ることができた。幻覚・幻聴を主訴とする統合失調症でも GABA システムの減弱が観察されているので、今後は共通の神経回路異常として関連性を明らかにしていく。また、薬物依存性の新規治療薬の標的分子として、オキシトシンシステムに着目して知見を得た。今後は薬物依存症モデルでのオキシトシンシステムの異常などについて明らかにしていく。

F. 参考文献

7) Elizaveta Khlestova, Jon W Johnson, John H Krystal, John Lisman. (2016). The Role of GluN2C-Containing NMDA Receptors in Ketamine's Psychotogenic Action and in Schizophrenia Models. J Neurosci. 36(44), 11151-11157

8) Shawn E Kotermanski, Jon W Johnson. (2009). Mg^{2+} imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine. J Neurosci. 29(9), 2774-2779.

9) Yukiko U. Inoue, Hideki Miwa, Kei Hori, Ryosuke Kaneko, Yuki Morimoto, Eriko Koike, Junko Asami, Satoshi Kamijo, Mitsuhiko Yamada, Mikio Hoshino, Takayoshi Inoue. Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for

Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation. eNeuro. 2022;9(1):ENEURO.0423-21.2022. doi: 10.1523/ENEURO.0423-21.2022.

健康危険情報

特になし

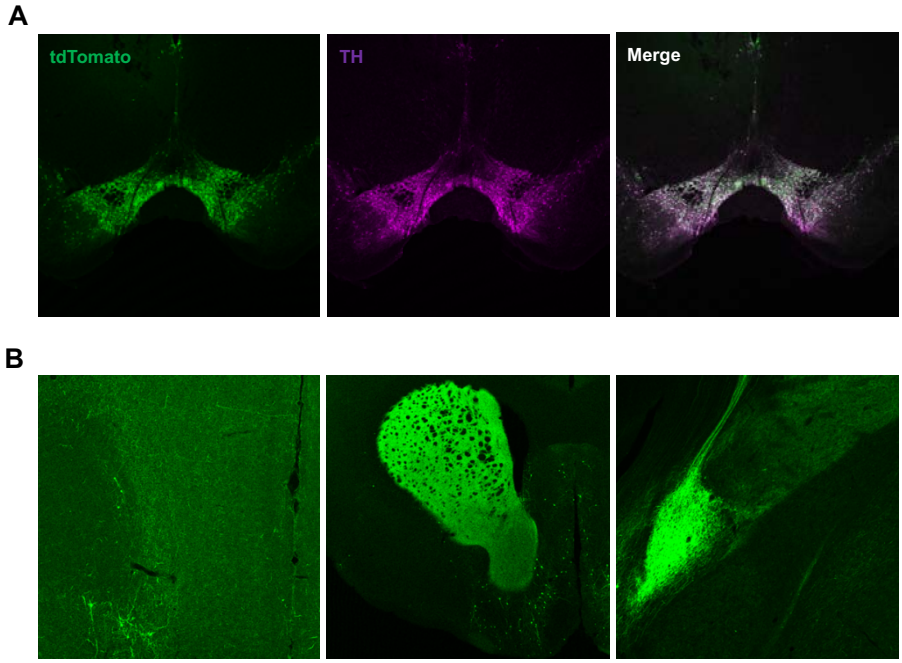


Fig. 1. Evaluation of dopamine transporter (DAT)-Cre mice. To confirm the expression pattern of Cre in the DAT-Cre mice, DAT-Cre mice were crossed with Ai9 (Gt(ROSASor$^{Ai9/+}$)) mice. **A**, a representative image of the ventral tegmental area (VTA) DAT-Cre:: Gt(ROSASor$^{Ai9/+}$ mice. tdTomao signals (green, left) were almostly merged with tyrosine hydroxylase (TH) immune-positive cells (magenta, middle). **B**, tdTomato signals were observed in the medial prefrontal cortex (left), the nucleus accumbens (middle), and the central amygdala (right).

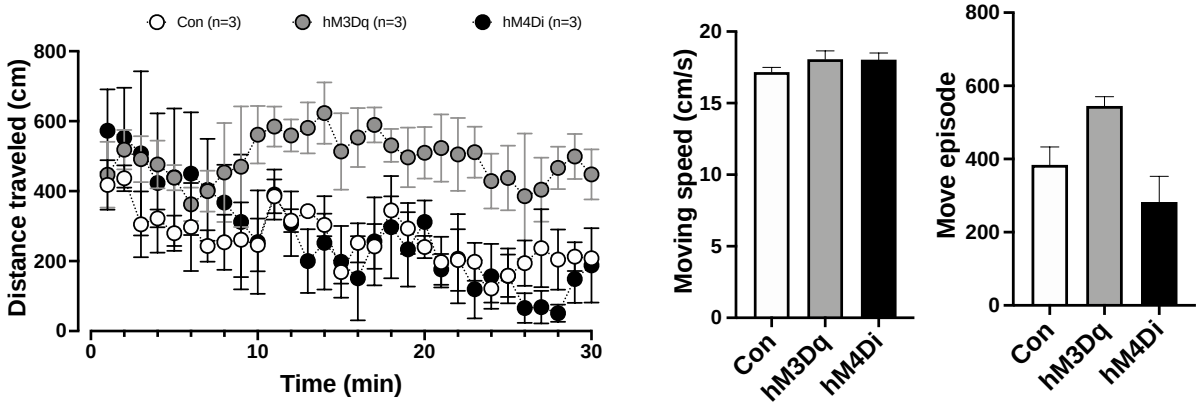


Fig. 2. Motor activity in an open field upon hM3Dq- and hM4Di-DREADD-mediated activation of ventral tegmental area (VTA) of DAT-Cre mice. Data were acquired were from DAT-Cre mice transduced with mCherry (control), hM3Dq, and hM4Di vector. CNO were injected 30 min before the beginning of the test. hM3Dq-mediated activation of VTAs of DAT-Cre mice by CNO injection tends to increase locomotor activity in the open filed, compared with control mice and hM4Di-mediated inactivation of VTA of DAT-Cre mice (Left). Moving speeds were comparable among three groups but move episodes of hM3Dq-mediated activation of VTAs of DAT-Cre mice tends to be higher than the other two groups.

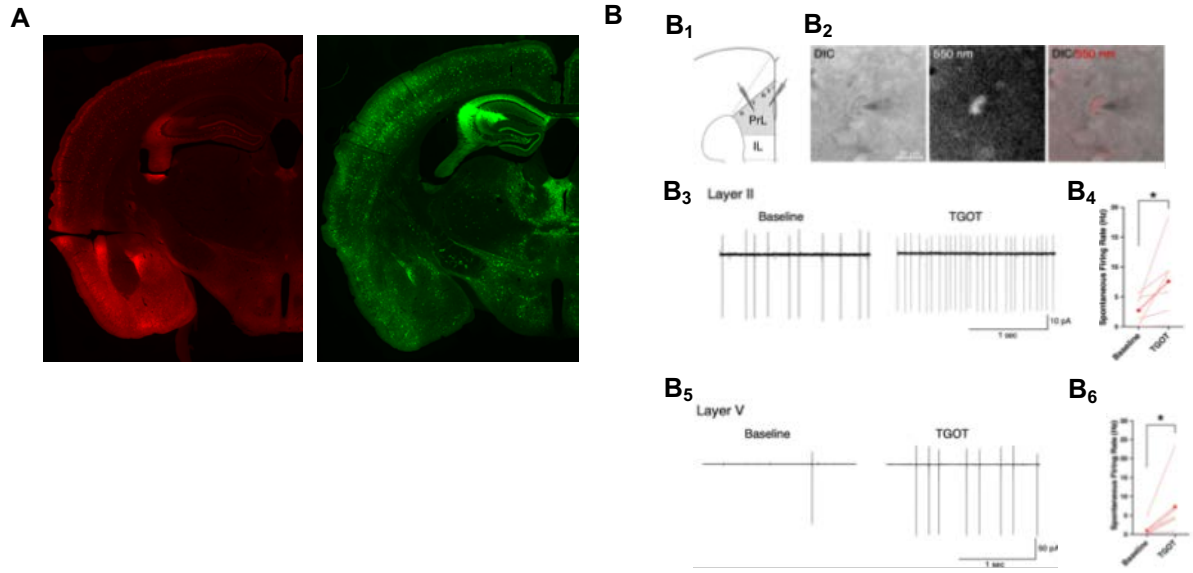


Fig. 3. Evaluation of Oxtr-T2A-tdTomato mice and Oxtr-T2A-iCre mice. **A**, a representative image of Oxtr-T2A-tdTomato mice. tdTomato-positive (red) are the cells expressing oxytocin receptors (left). A representative image of Oxtr-T2A-iCre mice. GFP-positive (green) are the cells expressing oxytocin receptors (right). AAV-PHP.eB vector harboring CBh_FLEX-GFP. GFP expression can be induced by Cre-dependent inversion. **B**, functional verification of tdTomato-positive neurons in Oxtr-T2A-tdTomato mice by *in vitro* electrophysiological analyses. ***B*$_1$**, Schematic diagram of a mouse brain coronal section which shows placement of recording electrodes in Layer II and Layer V of the PrL. IL, infralimbic cortex. ***B*$_2$**, Representative differential interference contrast (DIC; left), fluorescent (red; middle), and merged (right) images of a Layer V neuron in the PrL from four-week-old Oxtr-T2A-tdTomato homozygous male are arranged. ***B*$_3$**, Representative cell-attached recording traces from a Layer II tdTomato-positive cell in the PrL. Left panel shows the baseline firing rate. Upon treatment of Oxtr agonist, TGOT, the firing rates are significantly increased as shown in right panel. Scale bar: 10 pA, 1 s. ***B*$_4$**, Quantification of spontaneous firing activities from Layer II tdTomato-positive cells in the PrL ($n = 6$ cells from 6 mice). Light red lines represent individual neurons' responses. Red circles with line represent average response. Presence of 1 μM TGOT significantly increases the firing rate; $*p < 0.05$ by Wilcoxon's test. ***B*$_5$**, Representative cell-attached recording traces from a Layer V tdTomato-positive cell in the PrL. Left panel indicates the baseline firing rate. On treatment of TGOT, the firing rates are considerably increased as shown in right panel. Scale bar: 50 pA, 1 s. ***B*$_6$**, Quantification of firing activities from Layer V tdTomato-positive cells in the PrL ($n = 6$ cells from 6 mice). Administration of 1 μM TGOT considerably increases the spontaneous firing rate; $*p < 0.05$ by Wilcoxon's test.

Research Subject No.: 1-1

Research Subject Title: Research on the development of new methods to evaluate adverse effects of new psychoactive substances

Principal Investigator: Masahiko FUNADA, Ph.D.

Section Chief, Section of Addictive Drugs Research, Department of Drug Dependence Research,
National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry

In recent years, the abuse of new psychoactive substances, mainly synthetic cannabinoids and cathinones, has been expanding, primarily among the youth, and has now become a major social problem. The abuse of new psychoactive substances is associated with psychic dependence, mental disorders, and cytotoxicity, but no methods currently exist to evaluate their comprehensive harm, including outbreaks associated with their unpredictable toxicity. This study aimed to investigate the mechanisms underlying the adverse effects of new psychoactive substances and to develop an efficient evaluation technique for predicting their adverse effects.

Mechanisms underlying adverse effects: We will examine the mechanisms underlying adverse effects such as psychic dependence and cytotoxicity using animal behavior analysis, biological signals, and cultured cells, with a focus on synthetic cannabinoids, cathinone compounds, and opioid drugs as new psychoactive substances.

Evaluation methods for adverse effects: In addition to animal behavior analysis and cell-based evaluation, comprehensive analysis including computer analysis will be conducted. In order to examine changes in neural circuits in the brain caused by the chronic use of new psychoactive substances, we will create animal models to visualize neural circuits in the brain and construct a marker search system to predict risk. By constructing such a comprehensive evaluation method, it will be possible to detect and predict the danger of new psychoactive substances rapidly. In addition, by making full use of animal models with visualized neural circuits in the brain, we expect to provide a seed for the development of therapeutic drugs for addiction and psychiatric disorders caused by chronic drug use.

Through this research, we aim to establish a system to evaluate the abuse risk and other harmful effects of new psychoactive substances based on the molecular basis of the expression of their effects. We will also attempt to search for drug candidates for the treatment of drug-related psychiatric disorders based on the molecular mechanisms underlying their adverse effects.

Funada et al. established a myotoxicity evaluation model for synthetic cannabinoids using a human skeletal muscle cell model, and found that toxicity is mediated by cannabinoid receptor type 1 (CB_1). Mishima et al. continuously administered delta-9-tetrahydrocannabinol, the main psychoactive component of cannabis, to mice and reported the development of tolerance to the hypothermic effect and a catalepsy-like immobility state, indicating the importance of CB_1 receptors in the brain. In addition, Sekiguchi et al. conducted a fear conditioning test and found that the synthetic cannabinoid AB-FUBINACA regulates inhibitory conditioned fear memory via CB_1 receptors in the amygdala region. Miwa focused on dopaminergic neurons to identify the neural circuitry responsible for the hallucinogenic effects of new psychoactive substances, generated dopamine transporter (DAT) -Cre/tdTomato and oxytocin receptor

fluorescent tag mice, and activated the ventral tegmental gyrus by chemical genetic techniques. The mice showed increased locomotor activity and became important animal models for analyzing the role of the dopamine nervous system and oxytocin receptors in the development of adverse effects caused by new psychoactive substances.

Using a mouse-conditioned place preference test, Funada and Hashimoto et al. confirmed that cathinones exhibit central excitatory and psychic-dependent effects. They identified a positive correlation between the intensities of DAT inhibition and central excitatory and psychic-dependent effects, as assessed by DAT-expressing cells. The adverse effects of cathinones can be predicted from the functional evaluation of DAT-expressing cells. Funada et al. showed that CB_1 receptors are involved in the development of psychic dependence on synthetic cannabinoids, and that a positive correlation exists between CB_1 receptor activity intensity and CB_1 receptor-expressing cells. The toxic effects of synthetic cannabinoids can be predicted from the functional evaluation of CB_1 receptor-expressing cells. Using computer analysis, Kurihara et al. also examined the validity of activity prediction through docking studies of CB_1 receptors and ligands, which are the action points of synthetic cannabinoids. They found that good activity prediction could be achieved by fixing the binding site of the ligand using hydrogen bonding energy as an indicator. Prediction data by computer analysis also correlated well with the intensity of psychic dependence and myotoxicity induced by synthetic cannabinoids, suggesting that it is possible to predict toxicity based on their chemical structure.

These findings indicate that experimental (in vivo) animal data can be predicted from evaluation data based on cell experiments (in vitro). Therefore, the introduction of an adverse effect prediction system based mainly on cell experiments could be expected to improve the efficiency of data collection.

課題番号: 1-2

研究課題名: 薬物使用障害に対する多様な治療法の開発

主任研究者: 松本俊彦(NCNP 精神保健研究所薬物依存研究部部長)

分担研究者: 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 船田大輔, 村上真紀, 宇佐美貴士, 今村扶美, 森田三佳子, 沖田恭治

1. 研究目的

本研究班の目的は、すでに我々が開発した薬物依存症集団療法(SMARPP)ではカバーできない様々な問題――すなわち、併存精神障害や感染症、性差などの個別的要因、および、治療セッティングを含めた多様なニーズ――を抱える薬物使用障害患者に対する治療法を開発することである。

2. 研究方法

本研究班では、今年度、以下の 8 つの分担研究開発課題を設定し、個別的配慮を要する集団の臨床的特徴と治療上の配慮点を明らかにするとともに、SMARPP の代替となる治療プログラムの開発を進めた。

- 「HIV 感染症を伴う薬物使用障害の臨床的特徴と治療・回復支援に関する研究」(分担: 嶋根卓也, 精神保健研究所薬物依存研究部)
- 「薬物使用障害の治療転帰に関する個別的要因の影響に関する研究」(分担: 近藤あゆみ 精神保健研究所薬物依存研究部)
- 「薬物使用障害に対する精神科救急病棟での短期治療プログラムの開発に関する研究」(分担: 船田大輔, 病院第 2 精神診療部)
- 「発達障害を伴う薬物使用障害の臨床的特徴と治療法に関する研究」(分担: 村上真紀, 病院第 1 精神診療部)
- 「ベンゾジアゼピン受容体作動薬使用障害の臨床的特徴と治療法に関する研究」(分担: 宇佐見貴士, 病院第 1 精神診療部)
- 「薬物使用障害に対する個人心理療法の開発とその効果に関する研究」(分担: 今村扶美, 病院臨床心理部)
- 薬物使用障害に対する作業療法プログラムの開発と効果に関する研究」(分担: 森田三佳子, 病院精神リハビリテーション部)
- 「物質使用障害に対する薬物療法開発を目指した脳機能画像研究～パーキンソン病治療薬と PET スキャンを用いた特定臨床研究～」(沖田恭治 病院第1精神診療部, IBIC)

3. 研究結果と考察

本研究では、当院薬物依存症専門外来における治療関係を 1 年間継続する者の多くで薬物使用障害の重症度が改善することが示された一方で、従来の治療法では十分な効果が得られず、個別性への配慮を要する集団が同定された。その 1 つが、精神障害併存症例である。本研究班では、統合失調症スペクトラム障害および他の精神病性障害群、双極性障害および関連障害群、解離症群/解離性障害群を併存する者では、既存の治療法では十分な治療効果が得られない可能性が示唆された(近藤分担班)。薬物使用障害患者のなかには 3 割程度、発達障害を併存する者がおり、なかでも注意欠如・多動症(ADHD)の併存が多く、それに対する薬物療法は集団プログラムへの適応を促進することが確認された(村上分担班)。

そしてもう 1 つの集団が、性・ジェンダーへの配慮を要する集団である。覚せい剤使用はしばしば HIV 感染リスクを伴う危険な性的活動と関連するが、その関連の詳細には性差があり、治療に際しては配慮を要する可能性が示唆された(嶋根分担班)。

一方、本研究班では、精神科急性期病棟における短期入院治療プログラム（FARPP）の実施が、物質使用障害患者の治療継続に肯定的な効果があることが確認できた（船田分担班）。また、BZDs 関連障害患者の検討から 3 つの臨床類型を抽出するとともに、入院治療における BDZs 減薬プロトコールを開発した（宇佐美分担班）。依存症集団作業療法プログラムの開発研究では、プログラムが参加者の基本的なニーズである生活の再構成に有用である可能性が示唆された。個人心理療法プログラム（今村分担班）では、解離症群／解離性障害群などトラウマ関連障害併存症例に適応があった。

今年度新規に、選択的アデノシン 2A 受容体遮断薬イストラデフィリンによる覚醒剤使用障害患者における線条体 D2 受容体の変化に関する研究が追加され、研究体制の整備が行われた。この研究は、今後、覚醒剤使用障害に対する薬物療法の開発に資する知見が期待される。

4. 結論

本研究班では、既存の外来依存症集団療法では十分にカバーできない集団を同定し、そのような症例を想定した治療法として、外来個人心理療法、入院短期介入プログラム、入院 BZDs 減薬プログラム、依存症集団作業療法を開発した。また、ADHD 併存例に対する薬物療法の意義と効果を確認し、今後の覚醒剤使用障害に対する薬物療法開発の準備をした。

以上により、薬物使用障害に対する多様な治療法を開発することができた。

5. 研究発表

1） Yamada, R., Shimane, T., Kondo, A., Yonezawa, M. Matsumoto, T. The relationship between severity of drug problems and perceived interdependence of drug use and sexual intercourse among adult males in drug addiction rehabilitation centers in Japan. Substance Abuse Treat Prevention Policy 16, 5 (2021). https://doi.org/10.1186/s13011-020-00339-6

2） Toshihiko Matsumoto, Takashi Usami, Taisuke Yamamoto, Daisuke Funada, Maki Murakami, Kyoji Okita, Takuya Shimane: Impact of COVID-19-related stress on methamphetamine users in Japan. Psychiatry Clin Neurosci. 2021 Apr 19. doi: 10.1111/pcn.13220.

3） Shimane T, Takahashi M, Kobayashi M, Takagishi Y, Takeshita Y, Kondo A, Omiya S, Takano Y, Yamaki M, Matsumoto T. Gender Differences in the Relationship between Methamphetamine Use and High-risk Sexual Behavior among Prisoners: A Nationwide, Cross-sectional Survey in Japan. J Psychoactive Drugs. 2021 May 12:1-9. doi: 10.1080/02791072.2021.1918805. Epub ahead of print. PMID: 33977855.”

4） Chika Yamada, Kristiana Siste, Enjeline Hanafi, Youdiil Ophinni, Evania Beatrice, Vania Rafelia, Peter Alison, Albert Limawan, Tomohiro Shinozaki, Toshihiko Matsumoto, Ryota Sakamoto. (2021). Relapse prevention group therapy via video-conferencing for substance use disorder: protocol for a multicentre randomised controlled trial in Indonesia. BMJ Open 11, e050259. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-050259

5） Kyoji Okita, Koichi Kato, Yoko Shigemoto, Noriko Sato, Toshihiko Matsumoto, Hiroshi Matsuda: Effects of an Adenosine A2A Receptor Antagonist on Striatal Dopamine D2-type Receptor Availability: A Randomized Control Study using Positron Emission Tomography. Front. Neurosci., 13 September 2021 | https://doi.org/10.3389/fnins.2021.729153
6） Ayumi Kondo, Takuya Shimane, Masaru Takahashi, Yoshiko Takeshita, Michiko Kobayashi, Yuriko Takagishi, Soichiro Omiya, Youichi Takano, Mayuko Yamaki, Toshihiko Matsumoto: Gender Differences in Triggers of Stimulant Use Based on the National Survey of Prisoners in Japan. Substance use & misuse, 56(1), 54-60, 2021.
7） 松本俊彦：薬物依存症の今－乱用薬物の動向と今後の課題－. Animus 107：32-37, 2021.
8） 松本俊彦：アディクションと複雑性 PTSD. 精神療法 47(4)：475-477, 2021.
9） 松本俊彦：依存症は「孤立の病」－アディクションの対義語はコネクション－. 月刊福祉 104(11)：42-45, 2021.
10） 松本俊彦：特集 ハームリダクションとは何か？－その理念と意義, わが国での実施. 週刊 日本医事新報 5081：18-30, 2021.
11） 松本俊彦：ひとはなぜ「ドラッグ」を恐れ、嫌悪するのか. こころの科学 220：58-64, 2021.
12） 宇佐美貴士, 松本俊彦：3. 鎮静薬, 睡眠薬または抗不安薬使用症群. 精神科治療学 今日の精神科治療ハンドブック 36 増刊号：164-165, 2021.
13） 松本俊彦：わが国において薬物依存症に対する薬物療法の導入を妨げているものは何か? 臨床精神薬理 24：1191-1199, 2021.
14） 松本俊彦：依存症. 精神医学 63(11)：683-1690,2021.
15） 松本俊彦：物質使用症と接触症群. 講座 精神疾患の臨床 4 身体的苦痛症群 解離症群 心身症 食行動症または摂食症群, 中山書店, 東京, pp303-308, 2021.
16） 松本俊彦：乱用薬物の実態と診断. やってみたくなるアディクション診療・支援ガイド アルコール・薬物・ギャンブルからゲーム依存まで. 文光堂, 東京, pp172-180, 2021.
17） 松本俊彦：覚せい剤. やってみたくなるアディクション診療・支援ガイド アルコール・薬物・ギャンブルからゲーム依存まで. 文光堂, 東京, pp181-184, 2021.
18） 松本俊彦：薬物依存症と併存精神障害－自己治療仮説に基づく理解－. やってみたくなるアディクション診療・支援ガイド アルコール・薬物・ギャンブルからゲーム依存まで. 文光堂, 東京, pp195-200, 2021.
19） 松本俊彦：覚醒剤依存の治療上の留意点. やってみたくなるアディクション診療・支援ガイド アルコール・薬物・ギャンブルからゲーム依存まで. 文光堂, 東京, pp215-219, 2021.

6. 知的所有権の取得状況

なし

7. 自己評価

本研究班は、病院多職種も含めた「All NCNP」の分担構成とした分、研究に不慣れな者もおり、当初の計画よりは研究活動は難航したものの、研究班活動は、一定の学術的成果は得られ、また、多職種の臨床の意欲と質の向上に大きく貢献した。

HIV 感染症を伴う薬物使用障害の臨床的特徴と治療・回復支援に関する研究

嶋根卓也（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所薬物依存研究部）

1. 研究目的

依存症臨床では、HIV 感染等の感染症を併存する薬物使用障害がしばしば登場する。しかし、日本国内の薬物使用者における薬物使用と HIV 感染症や感染につながる危険な性行動との関係性は十分に研究されていない。そこで、本研究では、薬物使用者における HIV 感染症および感染につながる危険な性行動との関連性について検討することを目的とした。

2. 研究方法

本研究では以下の既存データベースを活用した。

【研究 1】覚醒剤事犯者研究

対象は、全国 78 庁の刑事施設における覚せい剤取締法違反の新規受刑者 699 名（男性 462 名、女性 237 名）であった。主たる観察項目は、覚醒剤使用行動、危険な性行動（コンドームを使わない性行動、多数の性的パートナー、HIV 感染を含む性感染診断歴、薬物使用に関連する売春経験）であった。

【研究 2】ダルク追っかけ調査

対象は、民間回復支援施設ダルクの利用者 695 名（男性 646 名、女性 48 名、その他 1 名）であった。主たる観察項目は、HIV 感染を含む性感染診断歴、薬物影響下でのコンドーム使用、薬物使用と性行為との相互関係（perceived interdependence of drug use and sexual intercourse; PIDS）であった。

研究実施にあたっては、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得た（A2016-022、A2017-107）。

3. 研究結果

【研究 1】性交時の覚せい剤使用は、男性受刑者（AOR= 5.86; 95%CI= 3.41-10.07）、女性受刑者（AOR= 2.58; 95%CI= 1.33-5.00）のいずれも、危険な性行動のリスクを有意に上昇させていた。女性については、注射器の共有経験も危険な性行動と有意な関連が認められた（AOR=1.60; 95%CI= 1.06-2.42）。

【研究 2】PIDS 強群は弱群に比べて HIV 感染の診断歴が有意に高かった（PIDS 強群 6.3%、弱群 0%、p=0.001）。薬物関連問題の重症度を示す DAST-20 スコア、および薬物影響下でのコンドーム不使用は、PIDS と有意に関連していた（AOR= 4.41; 95%CI= 2.44-7.96）。

４．考察・結論

研究 1：覚醒剤使用は危険な性行動のリスクを高める要因となっている。覚醒剤使用に伴う危険な性行動を健康被害（ハーム）と位置づけたハームリダクションに基づく支援プログラムが必要である。

研究 2：PIDS が強い者ほど、HIV 感染を含む性感染に罹患しており、薬物影響下でコンドームを使わない傾向にある。PIDS に対応した支援プログラムを開発していくことが必要である。

薬物使用障害の治療転帰に関する個別的要因の影響に関する研究

近藤あゆみ（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所薬物依存研究部）

1. 研究目的

国立精神・神経医療センター（以下、NCNP）病院薬物依存症専門外来を受診した患者の治療転帰を、特に重複障害の有無や内訳別に検討することを目的とした研究を実施した。

2. 研究方法

2017 年 1 月から 2020 年 4 月までの 40 ヶ月間に NCNP 病院薬物依存症外来を受診した新規患者 458 名のうち、治療の継続と研究参加に対して自発的に同意した者は 250 名であった。そのうち、治療開始から 1 年後に治療を継続、かつ、治療開始時と 1 年後の 2 時点における情報が得られた 72 名を分析対象とした。2 時点における薬物依存重症度は Addiction Severity Index コンポジットスコア（以下、ASICS）により評価した（得点範囲 0~1）。

3. 研究結果

対象者の初診時における DSM-5 による物質使用障害以外の診断によると、「重複障害なし」が 25 名(34.7%)、「重複障害あり」が 47 名(65.3%)であり、重複障害の内訳は、「抑うつ障害」14 名（29.8%)、「神経発達症群／神経発達障害群」9 名（19.1%)、「統合失調症スペクトラム障害および他の精神病性障害群」7 名（14.9%)、「双極性障害および関連障害群」7 名（14.9%)、「解離症群／解離性障害群」6 名（12.8%）等が多かった(重複あり)。次に、対象者の治療開始時および 1 年後の ASICS 中央値を比較した結果(Wilcoxon signed-rank sum test）、0.30[0.11/0.42]（以下、中央値[四分位範囲]を記載）と 0.13[0.06/0.28]であり、有意な改善が認められた（p<0.001)。また、主たる重複障害別に同様の分析を行った結果、「重複障害なし」では 0.26[0.09/0.40]と 0.15[0.06/0.30]であり、有意な改善が認められ（p=0.017）、「抑うつ障害」でも 0.40[0.31/0.49]と 0.13[0.06/0.29]であり、有意な改善が認められた（p=0.019)。しかし、「神経発達症群／神経発達障害群」では 0.17[0.06/0.31] と 0.15[0.08/0.23]（p=0.779)、「統合失調症スペクトラム障害および他の精神病性障害群」では 0.31[0.19/0.36] と 0.20[0.06/0.36]（p=0.686)、「双極性障害および関連障害群」では 0.12[0.06/0.24] と 0.27[0.16/0.38]（p=0.225)、「解離症群／解離性障害群」では 0.17[0.09/0.40] と 0.16[0.06/0.36]（p=0.917）と、いずれも改善が認められなかった。

4. 考察

SMARPP を主軸に据えた薬物依存症の外来治療は有効であるといえるが、神経発達症群/神経発達障害群、統合失調症スペクトラム障害および他の精神病性障害群、双極性障害および関連障害群、解離症群/解離性障害群などの重複障害を有する患者には、さらに付加的な治療および支援が必要かもしれず、今後は、これら重複障害を有する物質使用障害患者の対応ガイドラインの作成が求められる。

薬物使用障害に対する精神科救急病棟での短期治療プログラムの開発に関する研究

船田大輔（国立精神・神経医療研究センター病院）

1. 研究目的

精神科救急における物質使用障害患者への治療プログラムは現時点で作成されておらず、SMARPP を中心とした外来プログラムに依拠している。急性期の精神症状が介入の主体となっている物質使用障害患者にとって早期からの介入方法は限られていた。我々は短期入院治療プログラム（First Aid Relapse Prevention Program：以下 FARPP）を作成し、精神科救急病棟で行われる薬物使用障害の患者および、薬物使用障害を並存する精神疾患の患者に対する短期入院治療プログラムを実施し、その効果と治療転機について前向きに検証することを目的とした。

2. 研究方法

2017 年 10 月から 2019 年 9 月までの間に当院の精神科救急病棟に入院した精神疾患の患者（20 歳以上、認知機能が保たれている）を対象とした。薬物やアルコールの使用が入院と関係していた患者を対象に、入院期間中に FARPP への参加を求めた。入院中のプログラム開始前（エントリー時)、入院中プログラム終了後もしくは退院前、退院後 3 か月、及び退院後 6 ヶ月後、12 ヵ月後のデータ収集を行った。

研究実施にあたっては、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得た(A2017-34)。

3. 研究結果

12 ヶ月後の通院継続率は物質使用障害で FARPP 参加者 22 名（1 名死亡、1 名連絡取れず）中 19 名で 86.3%、精神疾患患者 78 名（3 名死亡、4 名連絡取れず）中 68 名で 87.1%だった。属性は年齢において FARPP 参加者 34.1 歳で精神疾患患者 43.3 歳より若く（$p<0.05$)、独居の割合が多かった（$p<0.05$）。薬物事犯での逮捕歴（$p<0.05$）および薬物以外の逮捕歴（$p<0.05$）が有意に高かった。性別、教育年数、婚姻状況、雇用状況、家族関係、経済的支援に有意差はなかった。入院日数は FARPP 参加者が 45 日、精神疾患患者が 65 日で有意に短かった（$t=2.06$, $p<0.05$)。退院時と 12 ヶ月時点で一貫して病気のことを家族に相談しない割合が FARPP 参加者は精神疾患患者より多かった（ $p<0.05$)。FARPP 参加者と 22 名と FARPP 非参加者 6 名を比較したところ、入院期間において FARPP 参加者 45.0 日は FARPP 非参加者 21．8 日に比べて入院期間が長かった（$p<0.05$）。通院継続率、DAST20 、 AUDIT 、 うつ病指標、SOCRATES に差はなかった。12 ヶ月後の FARPP 参加者 20 名と FARPP 非参加者 4 名において DAST20、AUDIT、うつ病指標、SOCRATES、過去 28 日間の薬物、アルコール使用に差は無かった。

4. 考察

一般の入院患者と比較し、物質使用障害患者は若年で、独居の割合が高い傾向が見られ、家族関係に差が無いにもかかわらず病気の相談を家族にしない傾向が見られた。物質使用障害患者が病気のことを相談しな

い理由は独居であることあるいは物質使用障害患者が逮捕されることによる社会的状況を反映しているのかもしれない。FARPPの参加者は 72．7%が併存する精神障害を有し、精神疾患患者と比べても入院期間が短かったが FARPP を導入することで物質使用障害患者において入院期間を長くし、必要な精神疾患の治療が行われ、高い通院継続率につながった可能性がある。

【結論】

FARPP 参加群は非参加群に比べ、有意に入院期間が延びていたが、それでも精神疾患患者と比較して短かった。本来必要な入院期間、入院治療が FARPP の参加によって少しでも物質使用障害患者が提供できた可能性を示せたといえるだろう。プログラムを行うことで「唯一話せる場所と感じた」「1 人で向き合う自信が無い」「自力では無理だと感じた」「1 人では止められない」「このプログラムで（人数的に）一杯一杯」という声が聞かれた。院内でのプログラムの必要性を今後も示さねばならない。

【限界】

本研究は本人同意による前向き研究である。故に本人の研究参加に動機付けが高い患者が選定された可能性がある。元々入院患者の 1-2 割程度が物質使用障害患者であるためサンプル数に不均衡が生じた。FARPP の物質使用障害患者への効果を明らかにするには参加群、不参加群のデータが少なく、サンプル数を多くして比較する必要がある。

【研究発表】

本研究の知見はアルコール・薬物依存関連学会合同学術総会で発表を予定している。

発達障害を伴う薬物使用障害の臨床的特徴と治療法に関する研究

村上真紀（国立精神・神経医療研究センター病院精神診療部）

1．研究目的

薬物依存症治療として認知行動療法による覚せい剤依存症治療プログラム（SMARPP）の普及均てん化が図られているが、患者の個別的要因を考慮した治療や支援の追加が必要である事が多く、発達障害傾向の有無は重要な要因と考えられる。

本研究では、発達障害併存薬物使用障害患者の対応ガイドラインの開発に寄与することを最終的な目的とし、その準備段階として薬物使用障害患者における発達障害傾向併存率と臨床的特徴、及び併存症例の治療転帰を明らかにすることを目的としている。

2．研究方法

本研究の対象は、2020 年 4 月から 2021 年 3 月までの間に当院薬物依存症センターを初診し薬物使用障害と診断された患者のうち、同意を得られた者である。初診時に実施する自記式質問紙である、「AQ 日本語版　自閉症スペクトラム指数　成人用 10 項目版（AQ-J-10）」、および「成人期の ADHD 自己記入式症状チェックリスト（ASRS-v1.1）」のいずれかがカットオフ値を超えた者に対して、児童精神科医である分担研究者が面接を行い、発達障害の臨床評価を行うとともに、初診後 6 か月時の臨床情報の収集を行った。収集される情報は、基本属性、子ども時代の逆境的体験スコア（以下、ACE スコア）、薬物使用の状況・重症度、うつ病自己評価尺度、経過中の薬物療法の内容、プログラム参加状況、通院継続の有無、再使用の有無などである。

3．研究結果

初診患者 199 名のうち、AQ-J-10 または ASRS-v1.1 いずれかのカットオフ値を超えた者は 51 人（25.6%）で、このうち面接を経て、同意取得した本研究の対象者は 30 人であった。AQ-J-10 が超えた者は 12 人（40.0%）、ASRS-v1.1 が超えた者は 29 人（96.7%）、その両方であったものは 11 人（36.7%）であった。また、ACE スコアが 0 点は 5 人（16.7%）、4 点以上は 7 人（23.3%）であった。

初診後 6 か月において、ADHD 傾向または ASD 傾向による症状緩和に対する薬物療法（抗 ADHD 薬及び抗精神病薬）がなされている群（あり, n=8）は、なされていない群（なし, n=22）に比べて、薬物療法治療プログラムに参加した者の割合が有意に高かった（あり 100%、なし 41%, p=0.014）。通院継続率及び再使用率について有意差は認めなかった。

4．考察

対象者は ADHD 傾向の者の頻度が高く、ASD 傾向の者の多くが ADHD 傾向を同時に認めていた。また、一般高校生の調査結果と比較すると、（88.9%が ACE スコア 0 点、4 点以上は 1%）、対象者の多くが子ども時代に虐待を含む不適切な養育体験が深刻であることが示唆され、生来の特性をこれらの体験が修飾している可能性を検討すべきである。

薬物依存症治療の経過中に発達障害に対する薬物療法がおこなわれることで、治療プログラムへの参加率が有意に向上した要因として、抱えている生きづらさが緩和されたり、集団適応が改善したりした可能性が考えられる。薬物依存症治療の現場において、自己治療としての薬物使用から依存症に至る経緯がうかがえる例を多く経験することからも、この可能性が支持される。

本研究の知見は、成人患者において幼少時の情報が十分に得難い状況であっても、発達障害特性の視点を意識することで注意深くアセスメントを行い、それらの特性に起因する症状緩和を目的とする薬物療法を積極的に行うことで、依存症治療のより良い転帰が得られる可能性を示唆している。

ベンゾジアゼピン受容体作動薬使用障害の臨床的特徴と治療法に関する研究

宇佐美 貴士（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所薬物依存研究部研究生）

１．研究目的

薬物使用障害の中でベンゾジアゼピン受容体作動薬（以下、BZDs 薬）使用障害患者は近年増加傾向にある。本研究では、BZD s 薬使用障害患者の臨床的特徴を明らかにし、減量方法について検討する。

２．研究方法

2015 年 4 月から 2019 年 12 月に、当院薬物依存症専門外来を受診し、主たる薬物が BZDs 薬であった患者を対象とし、診療録を参照し年齢や性別、BZDs 薬の内服量といった属性の類型化を行う。施行した減量法と転帰について検討する。(2020 年 1 月 31 日；承認番号 A2019-095)。

３．研究結果

対象者は 67 名で、診療録から使用障害と診断された者は 42 名、残りの 25 名は不安障害などの基礎疾患の治療のために BZDs 薬が必要で、所謂使用障害でなかった（常用量群)。使用障害と診断された 42 名の中で、耐性や離脱といった問題や薬物探索行動を有し依存症と診断された者が 24 名（依存症群)、挿話的な過量服薬が中心となる者が 18 名（乱用群）であった。依存症群で、入院し BZDs 薬の減量を行った 8 名について減量方法をまとめた。

（１）臨床的特徴

平均年齢は依存症群が 36.2 歳、乱用群が 36.3 歳、常用量群は 51.3 歳と常用量群は高く、有意差を認めた（p＜0.001)。乱用群は女性が多い傾向があった。平均使用量をジアゼパム（以下、DZP）換算で比較すると、依存症群は 82.8 ㎎、乱用群が 22.4 ㎎、常用量群が 12.0 ㎎と依存症群が高容量となり、有意差を認めた（p＝0.001)。

（２）減量方法

8 名の平均入院日数は 48.8 日、入院時の平均 DZ P 換算量は 134.6 ㎎、退院時の平均 DZ P 換算量は 52.8 ㎎であった。DZP 換算量が 50 ㎎を超える場合に入院加療を提案していた。全例で、入院時に減量の説明、及び外来加療を意識しどこまで減量を行うか相談の上実施した。全例で、最初の 5 から 7 日間でジアゼパム及びクロナゼパムにほとんどを置換し経過観察する期間を作った。置換した量の 5～20％を 1 週間で減量し、50 ㎎程度となったところで減量のペースを緩めた。離脱症状の緩和や不安への対処のためにクエチアピンやクロルプロマジンなどの抗精神病薬を併用した。すべての症例が入院目標を達成した。

４．考察

依存症群と乱用群、常用量群の 3 群には属性に差異があった。これらは臨床経験と照らし合わせても相違ない結果と考える。依存症群の BZDs 薬の減量では、DZP 換算で 50 ㎎を目安に入院か外来か、そして減量のペースについて治療方針を選択していた。減量法は既存にあるアシュトンマニュアルと比較しペースは早いと思われるものの減量は成功しており、減量法について参考となると思われる。

薬物使用障害に対する個人心理療法の開発とその効果に関する研究

今村扶美（国立精神・神経医療研究センター病院臨床心理部）

1. 研究目的

国立精神・神経医療研究センター（NCNP病院）薬物依存症センターでは、薬物依存症に対する構造化された依存症集団療法（SMARPP）の開発・運営を行っている。この治療プログラムは、集団療法ならではの力動が治療的に作用する特徴がある一方で、集団適応が難しく、診察や個人心理療法による対応が望ましい患者が一定数認められる。本研究では、SMARPPが適用されなかった患者について、その臨床的特徴を明らかにするとともに、個別心理療法の実施内容等について整理することを目的とする。

2. 研究方法

①2017年1月～2020年3月までにNCNP病院薬物依存症センターの初診を受け、当院にて治療継続となった患者250人をSMARPP適用群（157人）、非適用群（93人）に分け、診療録をもとに属性および基礎的診療情報を収集して分析する。②2019年4月～2021年5月までに個人心理療法が依頼された患者10人について、診療録をもとに治療内容等について整理する。

3. 研究結果

①SMARPP非適用群は、以下のような特徴を持つことが明らかになった。すなわち、女性が多く（$p<0.01$）、主たる使用薬物が医薬品であり（$p<0.01$）、薬物使用による逮捕経験がなく（$p<0.05$）、医療機関での依存症治療経験のある者（$p<0.05$）の割合が有意に高いことが示された。さらに、離脱症状を有し（$p<0.05$）、併存精神障害として統合失調症やPTSDに該当し（$p<0.01$）、BDIの得点が高い者（$p<0.05$）の割合が有意に高かった。

また、対象者250人のうち、主たる使用薬物が覚醒剤である157人（SMARPP適用群115人、非適用群42人）のみを分析した場合においても、SMARPP非適用群は医療機関での依存症治療経験がある者（$p<0.01$）、併存精神障害として統合失調症やPTSDに該当する者（$p<0.05$）の割合が有意に高かった。加えて、覚醒剤使用者については、薬物の使用年数が長く（$p<0.05$）、自助グループやリハビリ施設利用経験がある者の割合（$p<0.01$）が有意に高いという特徴も認めた。

②個別心理療法を実施した10人は、女性が7人、主たる使用薬物が医薬品の者が5人、PTSD、気分障害、統合失調症、摂食障害などの併存精神障害の該当者が7人であった。治療転帰としては、終結および介入中が5人、中断が5人であった。治療内容としては、個別性に配慮したSMARPPまたは依存症CBTの実施が7人、併存精神障害の治療および治療への準備性を高めることを目的とした心理療法の実施が3人であった。

4. 考察

集団によるSMARPPが適用されない群の臨床的特徴として、女性が多く、主たる薬物が医薬品であり、併存精神障害としてPTSDあるいは統合失調症に該当し、離脱

症状や抑うつを呈しており、医療機関での治療経験のある者が多いことが示された。主たる薬物が覚醒剤の症例に限定した場合でも、PTSD や統合失調症の併存、医療機関での治療経験がある者は SMARPP が導入されない割合が高いことが示されており、併存症の有無は集団プログラムの適否に大きく影響していると言える。ただし、主たる薬物が覚醒剤の症例に限ると、SMARPP 非適用群は自助グループや依存症リハビリ施設の利用経験がある者の割合が高いという特徴もみられ、すでに他の支援の選択肢を有しており、必ずしも SMARPP を必要としていない層も含まれていると考えられる。

個別心理療法が導入された症例に関しては、依存症のみならず併存精神障害を考慮した内容が提供されており、中断例が少なくないとはいえ、SMARPP 非適用群に対する選択肢として一定の意義がありそうである。

依存症に対する支援を多様化に際しては、処方薬・市販薬依存の患者や、依存症以外の併存精神障害を有する患者に対する、個別性や併存症に配慮した支援プログラムの開発が望まれる。

薬物使用障害に対する作業療法プログラムの開発と効果に関する研究

森田三佳子（国立精神・神経医療研究センター病院精神リハビリテーション部）

1. 研究目的

薬物使用障害患者への治療においては既存の集団プログラム（SAMRPP）があるが、多様なニーズに対応できるような種々のプログラム開発も望まれている。

本研究は、身近な作業活動（身体的活動、余暇活動、調理等の生活活動）に実際に取り組み、相互交流や役割をもたらす生活に焦点を当てた作業療法プログラム（リアル生活プログラム、以下、リア活）を開発・実践し、その参加者の特徴やニーズ、生活の困難さについて明らかにし、効果を検証することを目的とした。

2. 方法

本研究の対象は、2018 年 8 月から 2020 年 7 月までの間に、依存症回復支援プログラム（SMARPP・リア活）に参加した外来患者６３名である。

リア活参加者の臨床的特徴を SMARRP 参加者と比較分析するためにプログラムの出席状況により①「リア活」コア参加群 ②「SMARRP」コア参加群 ③「両プログラム」参加群にわけ、記述統計にて平均値、中央値、割合の差を検討した。リア活に参加している対象者（①③）については、より詳細な分析を行い、参加者のニーズや生活の困難さ・プログラムの効果について検討した。

研究実施にあたっては、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得た(A2020-087)。

3. 研究結果

63 名の対象者は①「リア活」コア参加群 21 名、②「SMARRP」コア参加群 33 名、③「両プログラム」参加群 9 名の 3 群に分け、「性別」「使用している主な薬物」「重複障害の有無」「学歴」「居住形態」「就労状況」等を 3 群間で比較するために χ^2検定を実施し、「年齢」は一元配置分散分析を実施した。結果、リア活参加群は、SMARPP 参加群に比べ、重複障害や女性の割合、覚醒剤以外の薬物（処方薬等）の使用が有意に高く、就労率が低かった。

ICF 項目で分類したリア活参加者の治療ニーズ・生活上の目標は、短期的には「日課の遂行」や「健康的な生活」、長期的には「人間関係の構築」や「就労」、「社会参加」と抽出された。

プログラムの効果は質的に分析し、129 の質的データから 18 の概念を生成し、「変化のプロセス」として図式化した。リア活には“安心で温かな場所”等の「土台」が存在し、その中で“自分一人だけじゃない”という中核的な概念に支えられながら自分自身やその生活に向き合い「変化に向けての動機づけ」を高めていた。そして、プログラムを通じて生活の「再構成」に向けた変化が確認された。プログラムの効果は生活の変化として 20%の参加者にみられ、“運動習慣”“生活リズム・日課”“対処行動”“食生活”“整理整頓”“薬を使わない”“就労”の項目に合致した。

4. 考察

重複障害、女性、未就労の特徴を持つ薬物使用障害患者は、様々な生活の困難さを抱えている。その治療においては、生活のバランスに目を向け、生活を再構成するプログラムが有用であることが示唆された。まずは安心できる温かな場で人とつながり、その中で所属意識や自己肯定感を高めることが変化への動機づけとなりえると考える。

物質使用障害に対する薬物療法開発を目指した脳機能画像研究　～パーキンソン病治療薬と PET スキャンを用いた特定臨床研究～

沖田恭治（国立精神・神経医療研究センター病院精神診療部・IBIC）

1. 研究目的

物質使用障害が社会に与える影響は大きく、とりわけ覚醒剤の使用は後天性免疫不全症候群（AIDS）の感染拡大の促進因子であり、致死性不整脈の原因となるなど、公衆衛生上も大きな問題である。

現在の標準治療は心理社会的な側面に焦点をあてたものであり、人的および時間的コストは決して小さくないものの、覚醒剤使用障害の治療成績は良好とは言えない。覚醒剤使用障害患者にとって心理社会的治療やアプローチが有効であることは確かである。ところが基礎研究において、疾患モデル動物による物質使用障害（薬物依存症）の症状再現は他の精神疾患よりも比較的容易であることを考えると理解しやすいが、この疾患が生物学的な精神疾患であることもまた明らかであり、そこに焦点をあてた治療開発も重要である。

覚醒剤使用障害患者の生体脳において認められる生物学的な異常所見は数多くあるものの、とりわけドパミンを介した神経伝達の機能低下を示す所見は再現性が高く、ドパミン D2 受容体結合能（受容体密度を反映する指標）が健常者と比較して低いことが過去の研究で繰り返し示されている。また、線条体 D2 受容体結合能が低いほど、覚醒剤使用障害で特徴的な衝動性や薬物希求行動が高いことも明らかとなっており、それらに鑑みれば、D2 受容体密度を高めることが覚醒剤使用障害に対して治療効果をもつ可能性が考えられる。

本研究の主目的は、動物を対象とした基礎的研究ではすでに確認されている、選択的アデノシン 2A 受容体遮断薬、イストラデフィリンによる線条体 D2 受容体密度増加作用が、覚醒剤依存症患者の生体脳でも再現されるかを評価することである。副次的な目的は、同薬剤による脳内の神経炎症への影響の評価である。

2. 研究方法

当院薬物依存症外来を受診しており、最近一年以内に使用歴があるアクティブな覚醒剤依存症患者（20～65 歳）を対象として、イストラデフィリン 40mg/日による 2 週間の薬物介入を行い、介入前後で 11C-raclopride をつかった陽電子断層撮像法（positron emission tomography: PET）をおこない、D2 受容体結合能を評価する。介入デザインはプラセボ対照なしのシングルアームで、単純な前後比較である。喫煙によって脳内炎症が影響を受けることと放射能被曝を鑑み、副目的である 11C-DAA1106 をつかった神経炎症の評価は、被験者が非喫煙者でかつ本人による希望があったときにのみ行う。

研究実施にあたっては、厚生労働省「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠し、かつ、国立精神・神経医療研究センターの臨床研究審査委員会の承認を得て実施している（承認番号：CR20-002）

3. 研究結果

2022 年 4 月 29 日時点で、8 名の候補者から同意を取得することが出来たが、3 名

がドロップアウトし、参加が完了した被験者は 2 名に（20 代女性と 40 代男性）止まる。今後 2 ヶ月以内に残りの 3 名が研究参加を完了させる見込みである。完了した被験者はいずれも喫煙者だったため、11C-DAA1106 スキャンはうけず、D2 受容体結合能のみの評価となった。

2 名の被験者ではそれぞれ線条体の各部位のドパミン D2 受容体結合能は次のように変化した。

20 代女性

側坐核 1.780→1.912（7.4%の増加）

尾状核 2.306→2.344（1.6%の増加）

被殻 2.973→3.045（2.4%の増加）

40 代男性

側坐核 1.909→1.935（1.3%の増加）

尾状核 2.035→2.091（2.7%の増加）

被殻 2.764→2.858（3.4%の増加）

4. 考察

現時点では 2 名しか研究参加を完了した被験者がいないが、いずれの被験者においても線条体ドパミン D2 受容体結合能は増加していた。今後もリクルートを続け、被験者数を増やしてゆく。目標被験者数は 20 例である。

5. 研究発表

本研究は、海外の研究ニュース媒体によるインタビュー記事発表済 （“Receptor research for the development of new drug therapies for stimulant addiction." Impact 2021(6): 43-45.)であり、また、プロトコール論文が英文誌 （Frontiers in Pharmacology）に投稿され、現在査読中である。

1-2

A study on development of tailor-made treatment programs for drug use disorder

Principle researcher: Toshihiko Matsumoto, M.D., Ph.D.
Department of Drug Dependence Research, National Institute of Mental Health,
Nation Center of Neurology and Psychiatry

Many of the patients with drug use disorder have various psychosocial, medical, psychiatric, and gender problems other than drug-related disorders Therefore, the “tailor-made” treatment programs for them considering individuality and caseness of each patient are required. However, such treatment programs have never existed in Japan, while the structured group therapy program, the “SMARPP” (Serigaya Methamphetamine Relapse Prevention Program), which we had developed and spread nationwide for treating the patients with drug use disorder, have exited as only one authorized and formulated program in Japan.

The purpose of our 3-years study is the following three points; first, to identify the clinical subgroups who need to be not intervened and treated in a group but individually, second, to examine clinical feature of such subgroups, and lastly, to develop the alternative, tailor-made treatment program. In order to achieve the first and second purposes, we set four studies on the clinical courses and treatment prognosis of patient with drug use disorder (divisional researcher, Kondo A),the relationships of drug abuse with risky sexual behaviors, and HIV infection (divisional researcher, Shimane T), the relationships with developmental disorder including autistic spectrum disorder and attention-deficit / hyperactive disorder (divisional researcher, Murakami M), clinical features of patients with abusing prescribed and OTC drugs (divisional researcher, Usami T). Further, in order to achieve the third purpose, we set three studies: the studies on development of alternative treatment programs for drug use disorder, such as an individual psychotherapy (divisional researcher, Imamura F), a brief intervention program for inpatients (divisional researcher, Funada D), and an occupational group therapy (divisional researcher, Morita M). Further, in final annual year, we added the study of brain imaging research for the development of pharmacotherapy for substance use disorders (divisional researcher, Okita K).

In the 3-years study, to develop the “tailor-made” treatment for drug use disorder, we have obtained findings on clinical courses and drug-using pattern with psychiatric comorbidities and sexuality. We have also developed the inpatient-program, individual psychotherapy and occupational therapy, and have prepared to brain imaging research for developing pharmacotherapy.

1-3　　重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究

主任研究者　藤井千代 1)
分担研究者　山口創生 1)、菊池安希子 1)、平林直次 2)
1)　国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 地域・司法精神医療研究部
2)　国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター病院 司法精神診療部

総括研究報告

【はじめに】

本研究の目標は、精神障害者とその家族を地域で支えるための効果的な制度構築のため、evidence-based practice および evidence-based policy making において考慮すべきアウトカムを見出すこと、および従来の研究で取り組まれにくい領域（家族支援や触法精神障害者のアセスメントなど）のエビデンスを発展させることである。近年国際的にも、当事者や一般市民と共に研究を実施することの重要性が注目されていることを踏まえ、本研究では、精神保健医療福祉関係者から一定の合意を得て、今後の研究で目指すべきアウトカムの提言につなげる。また、本研究の実施により、既存の訪問看護の枠組みを活用した個別家族支援の効果を検証し、有効かつ実装可能な家族支援の形を示すとともに、医療観察法通院処遇者の適切なモニタリングやリスクアセスメントのあり方を提示する。これらの研究目標のため、以下の分担研究班を組織した。

A：地域精神科医療・精神保健福祉実践におけるアウトカムについてのコンセンサスの模索（分担：山口創生）
B：アウトリーチによる家族支援の効果に関する研究（分担：藤井千代）
C：医療観察法通院処遇者における暴力および自傷・自殺の予測因子に関する研究（分担：菊池安希子）
D：医療観察法通院処遇者のモニタリングシステムの開発（分担：平林直次）

本総括研究報告においては、以上の研究の概要をまず示し、そののちに全体の考察を述べることにする。なお、各研究の詳細については、分担研究報告書を参照されたい。

【各研究の概要】

以下に、各分担研究の方法ならびに成果の概要を記す。

A：地域精神科医療・精神保健福祉実践におけるアウトカムについてのコンセンサスの模索

本分担研究の目的は、①我が国の地域精神保健研究における患者・市民参画（patient and public involvement: PPI）の実装や課題について検証すること、そして②多様なステークホルダー（利害関係者）を対象として、地域精神保健研究における重要なアウトカム領域を模索することである。

PPI の実装や課題の検証については、当事者(n=6)・家族（n=5）・支援者（n=7）・行政職員（n=5）・研究者（n=14）を対象としたフォーカスグループインタビューを実施し、録音データから日本での PPI の実施可能性や問題について質的に分析した。

その結果、対象者の多くが PPI の重要性を認め、研究の質を向上させるものとして認識していた。他方、全ての属性グループが当

事者と研究者との対等な関係構築の困難さを指摘しており、また家族グループは PPI による研究知見も制度に反映されないとする指摘もあった。

地域精神保健研究における重要なアウトカム領域の模索については、合意形成のための調査を実施した。

第 1 に、合意形成調査の前段階として、調査に用いるアウトカム領域のリストを作成した。具体的には、ステークホルダーに対するフォーカスグループインタビュー（2019 年度）、当事者や家族に対するオンライン調査（2020 年度）、関連するコクランレビューおよび無作為化比較試験のレビュー（2020 年度）を実施し、関連するアウトカム領域の候補を網羅的に把握した。これらの調査の結果、合計 1,025 の潜在的なアウトカム領域が抽出された。重複する領域の削除・統合した結果、最終的に 96 アウトカム領域にまとめられ、リストに収容された。

第 2 に、デルファイ法を用いたオンライン合意形成調査を実施した。当事者(n=60)・家族（n=60）・支援者（n=61）・行政職員（n=60）・研究者（n=61）、合計 302 名が本研究の説明 URL を受けとった。本研究は、参加者に 3 回のオンライン・アンケート調査への回答を依頼した。各回において、参加者はオンライン画面上でアウトカム領域のリストに掲載された 96 項目について、重要度（7 段階評価）やその理由コメントを記した。2 回目以降の調査において、参加者は前回の他者のコメントを見ながら各項目の重要度について再び評価した。各回において、参加者の 70%が重要度 6～7 と評価した項目を合意が形成された重要なアウトカム領域として判断した。297 名が調査に自発的に同意して参加し、3 回の調査全てに参加した者は 278 名（追跡率：93.6%）であった。最終的に以下の 24 項目が合意基準に達した（①ヘルプシーキング、②居場所がある、③希死念慮・自殺企図、④生活の満足度、⑤症状のコントロール感・コーピング、⑥有害事象・副作用、⑦家族の精神健康、⑧社会とのつながり、⑨治療の継続、⑩主体性・自己決定、⑪ニーズ充足度、⑫支援者との関係、⑬服薬・治療への態度、⑭当事者と家族の関係性、⑮家族の感情表出、⑯日常生活能力、⑰住居の安定性、⑱自己肯定感、⑲ストレス、⑳全般的な精神症状、㉑暴言・暴力、㉒服薬の遵守、㉓死亡、㉔精神疾患の再発）。

B：アウトリーチによる家族支援の効果に関する研究

本分担研究の目的は、精神科訪問看護師が提供する BFP が、統合失調症のある当事者をケアする家族の介護負担感を減少させるかに関して、cRCT により明らかにすることである。

統合失調症のある当事者をケアする家族は多くの介護負担感を抱えている。家族心理教育（Family Psychoeducation; FPE）は家族の介護負担感を減少させるが、長期間の実施が必要であること、スタッフの確保とトレーニングが困難であること、費用面の問題などから、日常的な臨床現場での普及は未だに不十分である。そのため今後は、簡易的で、既存の精神科医療システムの中で実施可能な FPE の開発とその効果検証が求められている。

簡易的な FPE として、Brief Family Psychoeducation(BFP)が介護負担感の減少に効果を示すことが複数の無作為化比較試験（RCT）で報告されているが、クラスター RCT（cRCT）が実施されていないこと、追跡期間が短いことの限界がある。また、既存の精神科医療システムの中における FPE の実施可能性を検討する場合、日本においては、精神科訪問看護サービスを用いることが有用であると考える。第 1 に、精神科訪問看護師は、当事者とその家族の日常生活に関わり、彼らのニーズを理解し、個別性の高い FPE を行うことができる。第 2 に、近年、

精神科訪問看護師の数は増加傾向にあり、FPE の実施者の確保が容易である。第 3 に、精神科訪問看護サービスにおいて、家族支援は、公的医療サービスの対象となり、費用面においても実施しやすい。

研究デザインは cRCT とした。47 の精神科訪問看護ステーションが研究に参加し、BFP 施行群（介入群）、通常の治療群（対照群）に無作為に割り付けられた。精神科訪問看護師が統合失調症のある当事者をケアする家族を、研究者が作成した乱数表に沿って、リクルートを行った。介入群は、精神科訪問看護師が 1 回 60 分の BFP を、週に 1 回、計 4 回施行した。主要評価項目は、家族の介護負担感とし、日本語版 Zarit 介護負担尺度を用いて測定した。効果評価は、ベースライン、ベースラインから 1 カ月後、ベースラインから 6 カ月後に行った。介護負担感に対する BFP の効果を検討するために、線形混合モデルを用い、Intention-To-Treat 分析を行った。

34 の精神科訪問看護ステーションと 83 人の統合失調症の当事者をケアする家族が本研究に参加した。研究参加者の脱落率は 20%以下であった。介入群のすべての研究参加者は 4 回とも BFP を提供された。対照群と比較して、介入群では、6 か月後調査（調整済み平均差［aMD］＝-2.12，95%CI＝-7.80～3.56，p＝0.45，Cohen's d＝0.11）において介護負担感の減少を認めたが、統計学的な有意差は認めなかった。

本研究で実施した BFP は家族の介護負担感軽減させたものの、対照群との有意差はなく、明確な効果を示すことができなかった。しかし、介入群のすべての家族が 4 回とも BFP の提供を受け、BFP の実施率は良好であり、feasibility の高さはうかがえた。今後は、BFP の改良やフィデリティ作成による質の担保、精神科訪問看護師の研修の再考や効果検証を行う必要がある。

C：医療観察法通院処遇者における暴力および自傷・自殺の予測因子に関する研究

本分担研究の目的は、医療観察法通院処遇者の地域生活中の暴力や自傷・自殺の予測因子を量的検討によって明らかにすることである。

医療観察法対象者の精神保健観察を担う社会復帰調整官に研究協力を依頼し、文書による同意を得られた者より、以下のデータを収集し、解析を行った

①担当する医療観察法通院処遇者についての HCR20V3 評価と社会復帰促進アセスメント、対象者の性別、年齢、対象行為、通院処遇の種類（直接通院、移行通院）などの基本属性

②6 ヶ月間の対象者の暴力および自傷・自殺の記録

全国より収集された 245 名分のデータのうち、有効回答は 231 名分であった。性別は男性 170、女性 61、平均年齢 46.7 歳（SD=11.9）、主診断（ICD-10）は F2：182（78.8%）、F3：27（11.7%）、F1：12（5.2%）、その他：10（4.3%）であった。6 ヶ月間の身体的暴力は 8 人（8 件）、自傷自殺が 5 人（6 件）に観察された。

HCR-20V3 日本版が、通院中の医療観察法患者の「他者への暴力」および「自分への暴力（自傷）」に対する予測妥当性を持つかどうかについての検討では、他者への暴力に対しては十分な予測妥当性が認められたが、自分への暴力（自傷・自殺）については示されなかった。

HCR20V3 が通院中の医療観察法対象者の身体的暴力にも予測妥当性を持つことが示されたため、以降の分析に用いた HCR20V3 の 20 項目の内、暴力を予測する項目と、自傷・自殺を予測する項目の間に重複はなかった。社会復帰促進アセスメントでは、暴力と自傷・自殺の予測因子には重複と、独自要因が見られた。「病状安定」「治療動機」「相談・対処技能」「生計の安定性」は共通して

いた。暴力のみの予測因子は「通院医療・服薬継続性」「居住・地域環境の安定性」「地域関係機関の支援等」「生計の安定性」「規範意識等」であり、自傷・自殺に特有な予測因子は、「嗜癖コントロール」と「生計の安定性」であった。

暴力や自傷・自殺の評価のためには、暴力リスク要因だけでなく、処遇ニーズに焦点をあてたモニタリングの有用性が高いことが示唆された。

D：医療観察法通院処遇者のモニタリングシステムの開発

医療観察法による通院医療に関する従来の報告はいずれも全数調査ではなく、通院医療の正確な実態は把握されておらず、経年的な全数調査の必要性が指摘されていた。また医療観察法終了後の転帰や予後調査はまったく実施されておらず、不明のままであった。このため、全数調査を継続的かつ安定的に実施し通院医療の実態を把握する方法や体制を検討することおよび処遇終了後の転帰および長期予後を把握することを目的として研究を実施した)。

1）医療観察法通院処遇者のモニタリング制度の検討

平成 31 年度には、通院処遇の悉皆調査方法として①電子通院処遇データベースの開発、②処遇終了届出制度の新設、③研究ベースの予後調査、④診療報酬請求(レセプト)の利用の 4 案について、実現可能性、費用対効果、倫理的課題などを明らかにした。しかし、令和 2 年 4 月 1 日現在、指定通院医療機関は全国で 662 施設にのぼり、いずれの案も実現可能性が乏しいことが判明した。

このため、令和 2 年度には、「官民データ活用推進基本法」に基づき、保護観察所が所有する通院処遇データの提供について、法務省と協議し内諾を得た。令和 3 年度には当センターの年度計画で法務省の保有個人情報の提供を受ける旨を明確化し、12 月 21 日倫理委員会の承認を得た。法務省と当センターとの間で「研究活動のための保有個人情報の提供に関する協定書」を締結したうえでデータの提供を受けた。本調査方法の長所は、全数データであること、既存のデータを活用するため費用対効果が高いこと、実現可能性が高いこと、短所としては提供されるデータの範囲が限定されることである。本研究を通じて、通院医療の全数調査方法として、「官民データ活用推進基本法」に基づき、法務省の保有個人情報の提供を受ける方法や、その具体的手続きが明らかとなった。

2）医療観察法通院処遇中および終了後の転帰および予後調査

平成 31 年度には東京都を調査対象地域として、通院処遇中から処遇終了 3 ヶ月後までの転帰および予後調査を予備的に実施した。令和 2 年度には、全国に分布し都市部から郡部まで含め、対象地域を東京、神奈川、山形、群馬、沖縄、島根まで拡大した。令和 2 年 7 月 15 日時点で医療観察法による通院処遇を終了して 1 年以上経過している者（平成 27 年 7 月 15 日～令和元年 7 月 15 日までに通院処遇を終えた者に限る）の医療・ケア状況についてアンケート調査を実施し、45 施設、156 名の個票を回収した。

性別は男性 73.7%、女性 26.3%、年代の最頻値は 40 代、主な対象行為の内訳は、傷害 55.1%、殺人(未遂を含む)19.9%、放火 15.4%であり、性別、年代、対象行為の内訳は従来の報告と差は無かった。処遇開始時の状況は、移行通院 92.9%。直接通院 7.1%であった。

再他害行為率は、通院処遇中 2.6%、処遇終了後 1 年間で 1.4%であり低値で推移していた。医療観察法による再入院は、通院処遇中 1.3%と低値であり、処遇終了後 1 年間で再他害行為を行って再処遇となった者は 0.7%であった。自殺率は通院処遇中 1.3%、

処遇終了後 1 年間で 1.4%であり低値であった。

通院医療の特徴は、処遇開始 1 ヶ月後にクロザピン処方率 14.1%、持効性注射製剤 23.1%と精神科一般医療よりも高率であり、処遇終了 1 年後も継続されていることが多かった。

通院処遇開始 1 ヶ月後と処遇終了 1 年後を比較して見ると、指定通院医療機関の訪問看護は減少し訪問看護ステーションの訪問看護が増加していた。通所施設では、デイケアや作業療法から就労支援事業所が増加していた。住居形態では、グループホーム入居者が減少し、単身者や入院中の者が増えていた。処遇終了後、社会復帰調整官の役割は、指定通院医療機関 35.3%、相談事業所 30.9%、その他に引き継がれていた。

以上のことから、通院処遇開始当初の危機介入モデルから、処遇終了 1 年後には生活障害支援モデルへと移行していた。また、再他害行為率、自殺率、再入院率、再処遇率の低さから、通院処遇制度は概ね良好に運用され、処遇終了後精神保健福祉法医療に円滑に移行している実態が明らかとなった。一方、今後の課題として、原則 3 年の処遇期間を延長する者が 7.7%に認められること、就労率は 11.7%と低値に留まっていることが明らかとなった。

【全体の考察】

本研究では、精神障害者とその家族を地域で支えるための効果的な制度構築に関連する課題について、多面的に検討した。

地域精神保健サービスに関して、研究でどのようなアウトカムを図るべきかについては、これまでその結論は出ていなかったが、今回 24 のアウトカム領域が重要な項目として抽出された。アウトカム領域を検証する過程では、いくつかの限界はあるものの、多様なステークホルダーが参画し、研究のあらゆる段階で患者・市民参画（Patient and public involvement: PPI）を取り入れており、その結果だけでなく、研究プロセス自体もわが国における PPI 研究としての意義を持つと考えられる。

精神科訪問看護師が提供する簡易的な家族心理教育（Brief Family Psychoeducation; BFP）について、家族の介護負担感については、有意に減少させなかった。しかし、介入群のすべての家族が予定された BFP の提供を受け、BFP の実行可能性は高いことが示唆された。精神科訪問看護師は、日常的に統合失調症をもつ当事者やその家族に対して訪問支援を提供しており、当事者への支援のみならず、家族への支援に対しても診療報酬上の評価がされている。BFP のプログラムの改良を行ったうえで精神科訪問看護師が BFP を提供することには意義があるものと考える。その際には、フィデリティ作成による質の担保も重要であろう。

精神障がい者のリカバリーを妨げる「心配な転帰」には様々なものがあり、その予測因子は重複することが知られている（Webster et al., 2009）。「心配な転帰」の中でも特に影響力が大きいのが、他者に対する身体的暴力や自分に対する暴力ともいえる自傷・自殺行動である。暴力や自傷・自殺を予防するためには、予測因子を明らかにすることが求められている。本研究の結果、HCR20V3 は暴力リスクアセスメントとしては使用可能であるが、本来目的と異なる自傷・自殺のリスクアセスメントとしての有用性は低いことが示された。暴力や自傷・自殺の観察のためには、暴力のリスク要因だけでなく、処遇ニーズに焦点をあてたモニタリングの有用性が高いことが示唆された。

医療観察法通院処遇に関しては、従来各種の研究班により、通院処遇の実態調査が行われてきた。しかしそれらは研究班の存続に依存し、通院処遇の実態を継続的かつ安定的に把握されてきたとは言いがたかった。また、全国規模の悉皆調査は実施されていない。本

研究では、法務省の所有する医療観察法通院処遇に関するデータの提供を受け、その過程を通して通院処遇の実態を調査する方法を具体的かつ現実的に明らかにした。既存の入院モニタリングシステムと併せて、医療観察による医療や制度の全体像を把握することが可能となったことの意義は大きいものと考える。

また、医療観察法処遇終了後の転帰に関する調査からは、医療観察法終了後、医療観察法対象者は通院処遇当初の指定通院医療機関による危機管理モデルから、地域関連機関による生活支援モデルに移行している可能性が示唆された。また指定入院医療機関による評価では、対象者の通院、服薬、金銭管理などの能力は通院処遇開始当初から処遇終了１年後になっても、「できない」と判断された者の比率は概ね変化しておらず、むしろ若干増加傾向を認めた。すなわち、医療観察法対象者の地域生活の維持、社会復帰の促進には、生活障害に対する医療やケアが重要であることが示唆された。多くの処遇修了者は、重大な他害行為を起こすことなく地域生活を継続しているが、経済的には自立に至っていない現状が明らかとなり、一般の精神医療と同様、さらに就労支援をはじめ社会参加を促進していく必要があると考えられた。

本研究を通じて、当初我々が想定した、効果的な制度構築のために考慮すべきアウトカム、従来の研究で取り組まれにくい領域（家族支援や触法精神障害者のアセスメントなど）の一定のエビデンスが得られたものと考えている。地域精神保健領域の研究におけるPPIに関しては、国際的にもまだ十分な取り組みが進んでいるとは言い難い状況であり、今後その進め方を含め、精神科領域の研究における当事者参画のあり方につき検討を重ねる予定である。

国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費
重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究
令和1-3年度　研究分担報告書

地域精神科医療・精神保健福祉実践におけるアウトカムについてのコンセンサスの模索

分担研究者：　山口創生[1)]
研究協力者：　塩澤拓亮[1)]、川口敬之[1)]、阿部真貴子[1)]、小川亮[1)]、五十嵐百花[1)]、安間尚徳[1)]、佐藤さやか[1)]、藤井千代[1)]

1)　国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 地域・司法精神医療研究部

2)

要旨

地域で生活する精神疾患当事者（以下、当事者）が増加するにつれて、地域精神保健サービスに関するアウトカムも多様化している。一方で、研究でどのようなアウトカムを測るべきかについての合意（コンセンサス）があるわけではなく、その結論は出ていない。そこで、本研究は、当事者や家族、支援者、行政職員、研究者の 5 属性の参加者を対象とし、地域精神保健サービスにおいて重要とされるアウトカム領域を模索することを目的としたデルファイ調査を実施した。なお、テーマ決めの段階を含め、研究のあらゆる段階で患者･市民参画(Patient and public involvement:以下 PPI)を取り入れた。デルファイ調査では、合計 3 ラウンドのオンライン調査が実施された。アウトカム領域の項目が記されたロングリストは、フォーカスグループインタビューや当事者や家族に対する Web アンケート調査、地域精神保健サービスに関する Cochrane review や無作為化比較試験のレビューを基に作成された。予備調査を通して、最終的に、アウトカム領域に関する 96 項目がロングリストに掲載された。調査の結果、297 名が調査の参加に同意し、第 1 ラウンドでは 291 名から回答を得た（当事者 54 名、当事者家族 59 名、支援者 57 名、行政職員 60 名、研究者 61 名)。第 2 および第 3 ラウンドで回答した参加者は、それぞれ 286 名と 278 名であった。3 ラウンド全てに回答した参加者の割合は、93.6%であった。3 ラウンドの調査を経て、最終的に 24 のアウトカム領域が重要な項目として選出された。具体的には、「ヘルプシーキング（援助希求)」、「居場所がある」、「希死念慮・自殺企図」、「生活の満足度」、「症状のコントロール感・コーピング」、「有害事象・副作用」、「家族の精神健康」、「社会とのつながり」、「治療の継続」、「主体性・自己決定」、「ニーズ充足度」、「支援者との関係」、「服薬・治療への態度」、「当事者と家族の関係性」、「家族の感情表出」、「日常生活能力」、「住居の安定性」、「自己肯定感」、「ストレス」、「全般的な精神症状」、「暴言・暴力」、「服薬の遵守」、「死亡（自殺)」、「精神疾患の再発」であった。重要なアウトカム領域と判断された項目には、症状評価だけでなく、地域生活やパーソナル・リカバリー、家族支援に関連する項目が含まれていた。また、「ヘルプシーキング（援助希求)」、「居場所がある」は日本の文化の影響を受けている項目と示唆された。当事者や家族をはじめとする様々なステークホルダーが参画し、協働のもとに実施された本研究は、その結果だけでなく、プロセス自体も日本における PPI 研究の一つの事例として意義を持つものと考えられる。

A.研究の背景と目的

精神疾患当事者（以下、当事者）に対する支援は過去半世紀で大きく変化してきた。具体的には、地域ケアの促進に伴い、地域で生活する当事者が徐々に増加している。また、過去 20 年においては、パーソナル・リカバリー（自身が希望する人生や生活に到達する過程）に関する概念が国際的な広まりをみせており、当事者の内面的な部分へのケアに関する重要性が高まっている。

当事者を取り巻く環境が変化する中で、地域精神保健サービスに関する研究も転換期を迎えている。特に、各研究で測定すべきアウトカムについては現在進行形で議論がなされている。例えば、精神症状や再入院の有無といった、臨床的アウトカムあるいはハードアウトカムは現在も重要なアウトカムの一つである。しかしながら、パーソナル・リカバリーが強調される現代においては、それらのみで地域ケアの効果検証を実施することが難しいかもしれない[1)]。具体的には、ソーシャルサポートや就労などの社会的アウトカムや主観的なアウトカムも重要になると予想される[2)]。また、当事者の家族も支援を必要とする存在である事実を鑑みると、家族に関するアウトカムも重要になると考えられる[3)]。一方で、アウトカムとなり得る評価項目は非常に多く、どのようなアウトカムを測るべきかについての合意（コンセンサス）があるわけでもなく、その結論は出ていない。

アウトカム選択の議論が活発化する中で、近年では、コアアウトカムセット（Core outcome set：以下 COS）の開発も関心を集めている。COS は各領域で測定すべきアウトカム指標を整理して提示するものである。精神科領域においては、うつ病や双極性障害の診断における COS がすでに出版されており[4, 5)]、退院促進に関する COS も提案されている[6)]。他方、これまで地域ケアあるいは地域精神保健サービスに焦点を当てた診断横断的なアウトカムに関する研究はない。その理由として、地域ケアは、アウトカムが非常に多様であることが関係しているかもしれない。そこで、アウトカム指標だけでなく、具体的な尺度やツールを特定する COS を開発するよりも、地域ケアの文脈においては、第 1 段階としてアウトカム領域の特定をすることが重要な研究テーマになると予想される。

アウトカム領域の特定については、研究者だけでは決められない。支援の受益者である当事者や家族、あるいはサービス提供者である支援者など様々なステークホルダーと協働することが重要と考えられる。特に、近年では、当事者のためではなく、当事者と一緒に研究をする患者・市民参画（Patient and public involvement：以下 PPI）の推進が国際的に取り組まれている[7)]。PPI は、研究の質の向上や倫理的な方法論の選択などにも貢献できると報告されている[7)]。この文脈から、アウトカム領域の調査においては、設計段階から当事者と協働することも欠かせない作業になると予想される。

そこで、本研究は、テーマ決めの段階から PPI に取り組み、そして当事者や家族、支援者、行政職員、研究者の 5 属性の参加者を対象としたデルファイ調査を実施した。本研究の目的は、多様なステークホルダーが重要と考える、地域精神保健サービスのアウトカム領域を模索することであった。

B.方法

<u>全体デザイン</u>

本研究は、5 属性の参加者を対象としたデルファイ調査であった。調査はオンラインで実施され、調査期間は 2021 年 8 月から 11 月であった。また、本研究のプトロコルはすでに公表されており[8)]、COMET および UMIN（No. UMIN000044680）に登録されている。

<u>参加者</u>

本研究では、当事者、家族、支援者、行政職員、研究者という 5 つの属性から研究参加者を募集した。属性横断的な共通する適格基準と各属性別の適格基準を下記に整理する。

1) 各属性の共通の適格基準

導入基準は、①参加の自由な発言を担保すため、調査に自発的に回答できる者、②日本在住の者とした。また、除外基準は、①入院中の者、②20 歳以下の者、③成年後見制度を利用している者とした。

2）属性別の適格基準

精神疾患当事者については、以下①-③の基準を満たす者とした。①精神疾患の診断を有し、地域で生活している者、②精神障害により日常生活もしくは社会生活に制限を受けている者、③地域精神保健サービスを現在利用している、または過去に利用したことがある者。①について、知的障害、認知症の診断を受けている者については、提供される支援やサービスの形態が異なる可能性がある為除外した。②について、外来診察利用のみの者は本調査の対象からは除外した。家族については、家族は、上記の当事者の条件を満たす者を主にケアする家族（親、兄弟・姉妹など）、あるいはそれに相当する者とした。

支援者は、以下①②を満たす者を対象とした（①地域精神保健サービスを提供する国家資格を有している者、②地域精神保健サービスを提供する業務に携わったことがある者）。また、行政職員は以下①②を満たす者を対象とした（①行政機関で勤務しているもしくは勤務していた経験のある者、②地域精神保健医療福祉サービスに関連する業務に携わったことがある者）。研究者については、地域精神保健分野に関わる研究に携わった経験がある者とした。

3) 参加者募集

全国規模の当事者団体・家族団体・職能団体・その他の支援専門職団体や学術団体に連絡を取り、参加者を募った。研究者については、地域精神保健に関する原著論文の著者にも連絡した。上記に加えて、2021 年 3 月に開催された研究報告会にてデルファイ調査の説明会を設け、研究協力依頼メールの送付を許可した者に対して参加を呼び掛けた。その他、研究参加者から対象者の選定基準に合致する候補者がいる場合には、候補者に許可を得たうえで紹介してもらい、個別に連絡をした。

4) 同意手続き

参加候補者は、オンライン上で研究の目的や概要、方法などの説明を得る機会を得た。調査への自発的な参加に同意した者だけが、本研究に参加した。研究班は、参加者が不明点や参加の取り消し等の希望が生じた場合に、いつでも連絡が取れるよう問い合わせ用窓口を設定し、対応できる体制を整えたうえで調査を実施した。

倫理的配慮

本研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会（No. A2021-005）および東京都立大学荒川キャンパス研究倫理委員会（No. 20083）の承認を得て実施した。

デルファイ調査の概要

デルファイ調査において、参加者は 3 ラウンドのオンライン調査に回答した。各ラウンドにおいて、参加者はあらかじめ準備されたロングリストの各アウトカム領域について、7 段階評価にて重要度を得点付けし、必要に応じてその理由を記述した。第 2 および第 3 ラウンドの調査において、参加者は前回ラウンドの全体結果や他者の理由コメントを参照したうえで、各アウトカム領域の重要性を再度評価した。

ロングリスト

ロングリストに掲載するアウトカム領域の項目は、アウトカムに関するフォーカスグループインタビューや当事者や家族に対する Web アンケート調査[9]、地域精神保健サービスに関する Cochrane review[10]や無作為化比較試験のレビューから、潜在的なアウトカム

領域の項目候補を抽出した（1063 項目）。その後、得られた項目リストを整理、カテゴリー化する作業を通して、94 のアウトカム領域項目で構成されるロングリストが作成された。その後、当事者や家族などに予備調査を実施し、最終的に 96 のアウトカム領域項目を設けた。なお、予備調査では、アウトカム領域項目の表記や説明文についても点検し、当事者や家族にも理解しやすい文言に修正された。

合意基準

参加者は各アウトカム領域項目について、7 段階で重要度を評価した。各アウトカム領域について 6-7 点をつけた場合「重要」という回答をしたと判断し、参加者全体の 70%以上が「重要」と回答した場合、合意が得られたと判断した。

C.結果

参加者

合計 421 名がデルファイ調査の参加登録をした。登録者を属性ごとに層化し、無作為抽出を行い、302 名の登録者が本調査の研究参加者として選出された。調査参加者 302 名に対してオンライン調査の URL を送付し、調査参加への同意および回答の提出を求めた。調査開始後、5 名が参加を辞退した。

第 1 ラウンドは、297 名が調査参加に同意し、291 名から回答を得た。属性ごとの内訳は、当事者 54 名、当事者家族 59 名、支援者 57 名、行政職員 60 名、研究者 61 名であった。第 2 および第 3 ラウンドで回答した参加者は、それぞれ 286 名と 278 名であった。最終的に 3 回全てに回答した参加者の割合は、93.6%（278/297）であった。

合意項目

表 1 は、各ラウンドの調査結果を示している。3 回の調査を通して、合計 24 のアウトカム領域が重要な項目として合意に至った。第 1 ラウンドでは、「ヘルプシーキング（援助希求）」、「居場所がある」、「希死念慮・自殺企図」、「生活の満足度」、「症状のコントロール感・コーピング」、「有害事象・副作用」、「家族の精神健康」、「社会とのつながり」、「治療の継続」、「主体性・自己決定」、「ニーズ充足度」、「支援者との関係」、「服薬・治療への態度」、「当事者と家族の関係性」、「家族の感情表出」の 15 項目が重要なアウトカム領域として合意を得た。第 2 ラウンドでは、「日常生活能力」、「住居の安定性」、「自己肯定感」、「ストレス」、「全般的な精神症状」の 5 項目が新たに合意を得た。第 3 ラウンドでは、さらに 4 つのアウトカム領域が合意項目となった。具体的には、「暴言・暴力」、「服薬の遵守」、「死亡（自殺）」、「精神疾患の再発」であった。

D.考察

本研究は、多様なステークホルダーが重要と考える、地域精神保健サービスのアウトカム領を検証するために、当事者、家族、支援者、行政職員、研究者を対象としたデルファイ調査を実施した。調査の結果、3 回の調査に回答した者は 270 名を超え、参加割合は 90%以上であった。海外の精神科領域のデルファイ調査と比較し[5,6]、規模が大きく、高い参加割合と考えられる。また、「地域精神保健領域の研究において重要と考えるアウトカム領域」として、合計 24 項目が重要な項目として合意に至った。本稿では、重要とされた項目について、考察を加える。

デルファイ調査にて合意に至った 24 項目には、「人や社会とのつながり」、「生活環境の安定」、「内面的な自己実現」、「症状の安定やマネジメント」、「治療や支援への満足度」といった、パーソナル・リカバリーや地域生活に関連する項目が多く選出されていた。診断などの臨床的なアウトカム領域ではなく、自己実現や安定した地域生活を達成するために必要なアウトカム領域は、様々な属性のステークホルダーに共通して関心が高いことが示唆された。

本研究で重要と判断されたアウトカム領域には、「ヘルプシーキング （援助希求）」、「居場所がある」といった日本の文化に影響を受けていることが予想される項目が含まれていた。海外の先行研究でこれらの項目は重要な項目として合意を得ておらず[4-6]、本調査で独自の項目となっている。他国と比較し、日本は精神疾患に関するスティグマが深刻である傾向が指摘されており[11]、参加者が援助希求をより重要なアウトカムと判断した可能性がある。また、居場所については、授産施設や小規模作業所（現在の就労継続支援事業所）、地域活動支援センター、精神科デイケアなどで、長らく主機能の一つとして提案されているものである。また、当事者自身もリカバリープロセスの一つとして心理的な居場所を求めている可能性もある[12]。また、集団に価値を置く文化が残る日本では[13]、集団的な帰属場所を求める傾向にあるのかもしれない。本研究では、それぞれのアウトカム領域が選出された決定的な理由は明らかにできないが、これらのアウトカム領域が重要とされた背景には、日本文化の影響があると推測される。

本調査では、「家族の精神健康」、「家族の感情表出」といった当事者家族が主語となっている項目も重要なアウトカム領域として選出された。この結果は、本研究の参加者に家族が含まれていたこと、日本では歴史的に家族が当事者のケアを担ってきたこと、そして家族と同居している当事者が多いことが影響していると予想される[14-16]。デルファイ調査によっては家族が含まれていない研究もあり[6]、この点は本研究の特徴の一つともいえるかもしれない。

本研究にはいくつか限界がある。第 1 に、アウトカム領域に関する 96 項目を記したロングリストの作成の際にレビューした研究は、Cochrane review と無作為化比較試験に限られていたことがあげられる。観察研究などに用いられるアウトカムを抽出するとより広いアウトカム領域を抽出できた可能性がある。第 2 に、参加者が調査に参加できるオンライン環境やインターネットスキルを持つ者に限定されたことがあげられる。特に、経済的状況やインターネット・リテラシー、症状や機能状態など何らかの理由でウェブサイトにアクセス出来ない者は本研究の参加者となることはできなかった。換言すると、本研究で重要とされたアウトカム領域は、オンライン調査に参加できる状態にある者によって選出された項目であるともいえる。よって、知見の一般化可能性は留意も必要である。

本研究にはいくつかの特徴がある。具体的には、当事者と研究者だけでなく、多様なステークホルダーを対象としたこと、十分な参加者数を確保したこと、PPI を取り入れたことなどがあげられる。特に、PPI については、テーマ設定、研究計画の作成、アウトカム領域の作成、調査手順の妥当性の検証、修正点の提案など、研究プロセスのあらゆる段階で当事者経験を持つ者と協働した。当事者をはじめとする様々なステークホルダーが参画し、協働のもとに実施された本研究は、その結果だけでなく、プロセス自体も日本における PPI 研究の一つの事例として意義を持つものと考えられる。

E.研究発表

論文発表

1) Yasuma N, Yamaguchi S, Ogawa M, Shiozawa T, Abe M, Igarashi M, Kawaguchi T, Sato S, Nishi D, Kawakami N, Fujii C: Care difficulties and burden during COVID-19 pandemic lockdowns among caregivers of people with schizophrenia: A cross-sectional study. Neuropsychopharmacology Reports 41(2):242-247, 2021.

2) Igarashi M, Yamaguchi S, Kawaguchi T, Ogawa M, Sato S, Fujii C: Outcomes frequently specified in Cochrane

reviews of community-based psychosocial interventions for adults with severe mental illness: A systematic search and narrative synthesis. Neuropsychopharmacology Reports 41(4):459-463, 2021.

3) Shiozawa T, Yamaguchi S, Ogawa M, Abe M, Kawaguchi T, Igarashi M, Yasuma N, Fujii C: Consensus development of priority outcome domains for community mental health cares by multiple stakeholders: Protocol for an online Delphi study in Japan. Neuropsychopharmacology Reports 41(4):554-561, 2021.

4) 山口創生, 小川亮, 阿部真貴子, 五十嵐百花, 川口敬之, 塩澤拓亮, 安間尚徳, 佐藤さやか: 保健医療福祉サービス領域の研究における患者・市民参画と共同創造の概要. 精神障害とリハビリテーション 25(1):6-17, 2021.

5) 山口創生, 小川亮, 川口敬之, 佐々木理恵, 鶴田英規, 宮本有紀, 安間尚徳: 当事者と研究者が共同して研究を行うことについての「ざっくばらんな」座談会. 精神障害とリハビリテーション 25(1):39-54, 2021.

6) 山口創生, 小川知子, 三ツ井幸子: 社会人としてみられたいのですが：社会とのかかわり. Progress in Medicine 41(6):539-543, 2021.

7) 山口創生: 海外の精神障害リハビリテーション研究の紹介. 精神障害とリハビリテーション 24(2):108-109, 2020.

8) 山口創生: 新理事からも言いたい放題：共同した研究. こころの元気+, 15;25, 2021.

9) 山口創生: 研究におけるコ・プロダクションと当事者参画の世界潮流と日本での可能性. 響き合う街で, 124:31-35, 2019.

学会発表

1) 山口創生, 阿部真貴子, 川口敬之, 五十嵐百花, 塩澤拓亮, 小川亮, 安間尚徳, 佐藤さやか, 宮本有紀 : 当事者・家族・支援者・行政職員・研究者の研究おける患者・市民参画に関する見解 : テーマ分析. 第 28 回日本精神障障害者リハビリテーション学会, 愛知大会, オンライン, 2021.12.11.

2) 塩澤拓亮, 小川亮, 川口敬之, 五十嵐百花, 阿部真貴子, 安間尚徳, 山口創生 : 精神疾患当事者や多様な関係者が地域精神保健研究において重要と考える評価項目の合意形成調査：デルファイ調査のプロトコル . 第 28 回日本精神障障害者リハビリテーション学会, 愛知大会, オンライン, 2021.12.11.

3) 山口創生：研究と実践がつながるためへの第1歩:研究を専門とする者の立場からの一見解. 第 28 回日本精神障障害者リハビリテーション学会, 愛知大会, オンライン, 2021.12.11.

文献

1) Thornicroft G, Slade M: New trends in assessing the outcomes of mental health interventions. World Psychiatry 13(2):118-124, 2014.

2) 山口創生, 松長麻美, 堀尾奈都記: 重度精神疾患におけるパーソナル・リカバリーに関連する長期アウトカムとは何か？. 精神保健研究 62:15-20, 2016.

3) Yasuma N, Sato S, Yamaguchi S, et al: Effects of brief family psychoeducation for caregivers of people with schizophrenia in Japan provided by visiting nurses: protocol for a cluster randomised controlled trial. BMJ Open 10(4):e034425, 2020.

4) Obbarius A, van Maasakkers L, Baer L, et al: Standardization of health

outcomes assessment for depression and anxiety: recommendations from the ICHOM Depression and Anxiety Working Group. Qual Life Res 26(12):3211-3225, 2017.

5) Retzer A, Sayers R, Pinfold V, et al: Development of a core outcome set for use in community-based bipolar trials-A qualitative study and modified Delphi. PLoS One 15(10):e0240518-e0240518, 2020.

6) Tyler N, Wright N, Grundy A, et al: Developing a core outcome set for interventions to improve discharge from mental health inpatient services: a survey, Delphi and consensus meeting with key stakeholder groups. BMJ Open 10(5):e034215, 2020.

7) 山口創生, 小川亮, 阿部真貴子, 他: 保健医療福祉サービス領域の研究における患者・市民参画と共同創造の概要. 精リハ誌 25(1):6-17, 2021.

8) Shiozawa T, Yamaguchi S, Ogawa M, et al: Consensus development of priority outcome domains for community mental health cares by multiple stakeholders: Protocol for an online Delphi study in Japan. Neuropsychopharmacol Rep 41(4):554-561, 2021.

9) Yasuma N, Yamaguchi S, Ogawa M, et al: Care difficulties and burden during COVID-19 pandemic lockdowns among caregivers of people with schizophrenia: A cross-sectional study. Neuropsychopharmacol Rep 41(2):242-247, 2021.

10) Igarashi M, Yamaguchi S, Kawaguchi T, et al: Outcomes frequently specified in Cochrane reviews of community-based psychosocial interventions for adults with severe mental illness: A systematic search and narrative synthesis. Neuropsychopharmacol Rep 41(4):459-463, 2021.

11) Ando S, Yamaguchi S, Aoki Y, et al: Review of mental health-related stigma in Japan. Psychiatry Clin Neurosci 67(7):471-482, 2013.

12) 山田裕貴: 精神障害のある人の居場所感とパーソナル・リカバリーとの相関：下位尺度に着目したリカバリー促進因子検討のための横断調査. 精神保健福祉学 9(1):4-15, 2021.

13) Ogihara Y: Temporal changes in individualism and their ramification in japan: Rising individualism and conflicts with persisting collectivism. Front Psychol 8:695-695, 2017.

14) 中坪太久郎: 統合失調症の家族研究の展望. 東京大学大学院教育学研究科紀要 48:203-211, 2009.

15) 田上美千佳, 糸川昌成: 統合失調症患者の家族研究. 精神科 7(2):125-129, 2005.

16) 半澤節子: 精神障害者家族研究の変遷 : 1940 年代から 2004 年までの先行研究. 人間文化研究 3:65-89, 2005.

表 1 デルファイ調査における合意項目

項目番号	項目名	第 1 ラウンド		第 2 ラウンド		第 3 ラウンド	
		回答数 (n)	合意率 (%)	回答数 (n)	合意率 (%)	回答数 (n)	合意率 (%)
24	ヘルプシーキング（援助希求）	236	81.1				
30	居場所がある	236	81.1				
8	希死念慮・自殺企図	231	79.4				
42	生活の満足度	226	77.7				
48	症状のコントロール感・コーピング	212	72.9				
78	有害事象・副作用	211	72.5				
79	家族の精神健康	211	72.5				
28	社会とのつながり	209	71.8				
55	治療の継続	209	71.8				
44	主体性・自己決定	208	71.5				
58	ニーズ充足度	208	71.5				
66	支援者との関係	208	71.5				
56	服薬・治療への態度	207	71.1				
63	当事者と家族の関係性	207	71.1				
88	家族の感情表出	204	70.1				
20	日常生活能力	196	67.4	208	72.7		
60	住居の安定性	197	67.7	205	71.7		
45	自己肯定感	200	68.7	203	71.0		
17	ストレス	199	68.4	203	71.0		
1	全般的な精神症状	201	69.1	201	70.3		
7	暴言・暴力	194	66.7	194	67.8	200	71.9
54	服薬の遵守	189	64.9	193	67.5	200	71.9
9	死亡（自殺）	190	65.3	194	67.8	199	71.6
3	精神疾患の再発	191	65.6	182	63.6	195	70.1

国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費
重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究
令和1-3年度　研究分担報告書

統合失調症のある当事者をケアする家族に対する精神科訪問看護師による簡易的な家族心理教育の効果：クラスター無作為化比較試験による検討

分担研究者：　藤井千代[1)]
研究協力者：　佐藤さやか[1)]、安間尚徳[1)]、松長麻美[1)]、塩澤拓亮[1)]
1)　国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所 地域・司法精神医療研究部

要旨

序文：本研究の目的は、精神科訪問看護師が提供する簡易的な家族心理教育（Brief Family Psychoeducation; BFP）が、統合失調症のある当事者をケアする家族の介護負担感を減少させるかに関して、cRCT により明らかにすることである。

方法：研究デザインは cRCT である。47 の精神科訪問看護ステーションが研究に参加し、BFP 施行群（介入群）、通常の治療群（対照群）に無作為に割り付けられた。精神科訪問看護師が統合失調症のある当事者をケアする家族を、研究者が作成した乱数表に沿って、リクルートを行った。介入群は、精神科訪問看護師が 1 回 60 分の BFP を、週に 1 回、計 4 回施行した。主要評価項目は、家族の介護負担感とし、日本語版 Zarit 介護負担尺度を用いて測定した。効果評価は、ベースライン、ベースラインから 1 カ月後、ベースラインから 6 カ月後に行った。介護負担感に対する BFP の効果を検討するために、線形混合モデルを用い、Intention-To-Treat 分析を行った。

結果：34 の精神科訪問看護ステーションと 83 人の統合失調症の当事者をケアする家族が本研究に参加した。研究参加者の脱落率は 20%以下であった。介入群のすべての研究参加者は 4 回とも BFP を提供された。対照群と比較して、介入群では、6 か月後調査（調整済み平均差［aMD］＝-2.12，95%CI＝-7.80～3.56，p＝0.45，Cohen's d＝0.11）において介護負担感の減少を認めたが、統計学的な有意差は認めなかった。

結論：精神科訪問看護師が提供する BFP は、家族の介護負担感を有意に減少させなかった。しかし、介入群のすべての家族が 4 回とも BFP の提供を受け、BFP の実施率は良好だった。今後は、サンプルサイズを満たし、より介護負担感の高い家族も含めた研究対象者に対して、ｃRCT の実施が求められる。また、BFP の改良やフィデリティ作成による質の担保、精神科訪問看護師への研修内容の再考や効果検証を行う必要がある。

A.研究の背景と目的

1.　統合失調症のある当事者をケアする家族の介護負担感

統合失調症のある当事者をケアする家族は、地域生活において多くの困難を抱えている[1]。家族はしばしば統合失調症に関する一般的な知識について知らないことが少なくない[2]。実際に多くの家族は、当事者の症状への対処、当事者とのコミュニケーションや適切な距離の取り方に悩んでいる[2,3,4]。そのため、家族は当事者のケアの際に、身体的・心理的な苦痛を感じていることが多い[4]。それゆえ、家族の介護負担感を減らす効果的な介入を行うことは、地域精神保健において重要な課題である。

2. 家族の介護負担感への家族心理教育（Family Psychoeducation; FPE)の効果

システマティックレビューによれば、家族心理教育（Family Psycho Education; FPE）は、介護負担感を減少させる効果的な方法であることが示されている[5,6]。FPE は主に、病気に関する一般的な知識、症状悪化のサイン、再発予防、当事者の症状への対処、コミュニケーションスキル、問題解決技法などの要素を含んでいる[7]。FPE が介護負担感を減少させるメカニズムとして、FPE が家族のケアに関する知識を高めることで[8]、家族のケアに対する自信や自己肯定感が増すためと考えられている[5]。

3. FPE の限界

FPE は介護負担感を減少させる科学的根拠があるにも関わらず、実施における障壁がある。精神科施設における FPE の実施率は、日本をはじめ諸外国でも低い傾向にある[9,10]。日本で行われた全国調査では、精神科医療機関における FPE の実施率は、入院で 35.9%、外来で 14.5%であった[9]。海外においても、統合失調症の Patient Outcomes Research Team (PORT)の初回報告では、入院患者の 31.6%、外来患者の 9.6%に FPE が提供された[10]。FPE の実施における課題の１つとして、介入期間の問題があげられる。FPE は通常、9 か月から 2 年の範囲で行われるが、医療スタッフ、当事者、その家族にとっては非現実的である[11]。その他の理由として、実施するための費用やスタッフの確保の問題、長期間に渡るトレーニングの必要性などがあげられる[12]。これらの問題に対処するために、簡便で、既存の精神保健システムの中で行える、実施可能性の高い FPE を開発する必要がある[13]。

4. 簡易的な家族心理教育（Brief Family Psychoeducation; BFP）の開発と先行研究の限界

これまでに、統合失調症のある当事者とその家族に対して、簡易的な家族心理教育（Brief Family Psychoeducation; BFP）の様々な効果が明らかとなっている。BFP は、5 回以下のセッション、もしくは 3 ヵ月以内に終了する FPE と定義される [14]。BFP は、家族の病気に関する知識を有意に高め、それに伴い再発率や再入院率を低下させる可能性がある[15]。さらに、少なくとも 5 つの無作為化対照試験（Randomized Controlled Trial; RCT）において、BFP は家族の介護負担感を減少させ[16,17,18,19,20]、 3 つの RCT では統計学的に有意であった[17,18,19]。しかし、BFP の介護負担感に関する効果を示す科学的根拠は、少なくとも 2 つの方法論的な問題があり、結論を導くには不十分と考える。第 1 に、これまでの研究は単施設の RCT であり、同じ施設内の医療従事者同士や患者同士で、介入内容に関する情報交換（コンタミネーション）が行われていた可能性がある。第 2 に、フォローアップ期間が介入後 1 カ月から 3 カ月と短く、介入の長期的な効果が明らかになっていない。これら先行研究の限界から、より長い追跡期間を持つクラスターRCT（cluster RCT; cRCT）の実施が求められている。

5. 精神科訪問看護師による BFP の実施

BFP の介護負担感への効果検証に加え、BFP の実施可能性に関して検討する必要がある。精神科訪問看護師による BFP の実施は、日本の臨床現場において、実施可能性の高い方法であると考える。精神科訪問看護師は、日常的に統合失調症のある当事者やその家族に対して訪問を行い、すでに当事者や家族との信頼関係が構築されている場合が多い。そのため、当事者や家族のニーズに応じた個別性の高い BFP が提供される可能性がある[21]。また近年日本では、精神科訪問看

護師の数が増加しており、実施者の確保も容易である[22]。さらに、家族支援は精神科訪問看護の対象サービスに含まれており、公的医療サービスの枠組みで BFP が行え、費用面の問題にも対応できると考える。以上より、精神科訪問看護師が BFP を行うことで、BFP の実施可能性が高まると考える。

6. 本研究の目的

本研究の目的は、精神科訪問看護師が統合失調症のある当事者をケアする家族に対して BFP を提供することで、家族の介護負担感が減少するかどうかを、追跡期間の長い cRCT により明らかにすることである。

B.方法

1. 研究デザイン

2 群間並行群間 cRCT を行った。試験プロトコル[23]は、大学病院医療情報ネットワーク（UMIN）の臨床試験登録簿（UMIN-CTR ID，UMIN000038044）に登録した。また、試験結果は、CONSORT(Consolidated Standards of Reporting Trials）2010 声明に準拠して報告した［24］。

実施に先立ち国立精神･神経医療研究センター倫理審査委員会の承認を受けた。

2. 精神科訪問看護ステーションの適格基準とリクルート

精神科訪問看護ステーションの適格基準は、精神科訪問看護師がサービスを提供する対象が、高齢者や身体疾患を持つ患者ではなく、主に精神疾患を持つ患者であることとした。各機関において、精神科訪問看護師は少なくとも 2 人以上、家族と同居している統合失調症患者をケアしなければならないとした。クラスターレベルでの除外基準を設けなかった。研究責任者は、1 つの企業が運営する、4 つの都道府県（東京、埼玉、神奈川、千葉）にある、68 の精神科訪問看護ステーションに研究依頼を行った。47 の精神科訪問看護ステーションが本研究の参加に同意した。

3. クラスターレベルにおける無作為化

精神科訪問看護ステーションを BFP 施行群（介入群）と通常の治療群（対照群）に無作為に割り付けた。無作為化は、各精神科訪問看護ステーションにおける精神科訪問看護師 1 人あたりの平均受け持ち患者数を調べ、全体の中央値で層別した。これは、精神科訪問看護師のサービス提供の質が受け持ち患者数に影響を受けるためである[25]。精神科訪問看護師の受け持ち患者数が多いと、家族支援が行われにくくなると考えたためである。プロトコル作成に関与していない研究者が無作為配列表を作成した。介入や分析に関与していない別の研究者が無作為化を行い、個人レベルにおけるリクルートが完了した後、各精神科訪問看護ステーションに無作為化の結果を伝えた。研究責任者は、すべての無作為化のプロセスにおいて盲検化された。

4. 研究参加者の適格基準とリクルート

統合失調症のある当事者をケアする家族の適格基準は以下の通りとした。1）主たる介護者、2）年齢が 20 歳以上、3）親、兄弟、配偶者、子供などの統合失調症のある当事者の家族、4）統合失調症のある当事者と同居していること。家族についての除外基準は設けなかった。統合失調症のある当事者に関する適格基準は以下の通りである。統合失調症のある当事者は、1）疾病及び関連保健問題の国際統計分類第 10 版（ICD-10）に基づく統合失調症の診断を受けていること、2）精神科訪問看護師によるサービスを受けていることとした。

研究参加者のリクルートに関して、まず各精神科訪問看護ステーションにおいて、研究参加候補者（統合失調症のある当事者とその家族）を全て調べ、番号を振った。次に、個

人レベルでの選択バイアスを避けるために、統計ソフト Stata バージョン 15 の乱数発生機能を用いて、研究参加候補者を無作為に並べたリストを作成した。第 3 に、研究責任者から研究方法と倫理的配慮に関する説明を受けた精神科訪問看護師が、上記リストに記載された参加者を、リストの上から順に 5 人の参加者が集まるまでリクルートを行った。また、精神科訪問看護師は、統合失調症のある本人とその家族から書面によるインフォームド・コンセントを得た。研究参加は自発的に同意した参加者のみを対象とした。

5. BFP の開発

BFP は、単家族家族心理教育の形式をとり、「統合失調症における家族介入と支援」[26]を参考とし、統合失調症家族会のメンバー、精神科訪問看護師、FPE の専門家、精神科医、精神科看護師、臨床心理士、精神保健福祉士が内容について議論し、作成した[27]。開発の過程において、長い文章は避け、平易な文章とし、文字を大きくし、多くの絵を用いるように工夫した。BFP は精神科訪問看護師と統合失調症をもつ当事者とその家族の 3 人で行われた。

BFP は、1 回 60 分の 4 回のセッションで構成され、期間は約 1 か月とした。少なくとも 1 つのセッションに出席することが求められた。 セッション I では、統合失調症の定義、原因、症状、予後など、統合失調症に関する一般的な知識について扱った。定義と原因については、ストレス脆弱性モデルやドパミン仮説を用いて、統合失調症が脳の病気であり、誰にでも発症する可能性があることを強調した。家族の中には、家族関係が原因で統合失調症を発症したと考えている家族が少なくなく、生物学的な原因を説明することは重要である[28]。症状に関しては、当事者が精神症状により自分らしい生活を送ることが困難になっていることを強調した。また、前駆期、急性期、回復期といった病気の経過を説明し、それぞれの時期の特徴や対応方法を説明した。予後については、統合失調症は必ずしも予後の悪い病気ではないことを説明した[29]。薬物療法に関しては、薬を毎日服薬することはとても難しいことであることに理解を示した上で、薬物療法の必要性、安全性について説明した。抗精神病薬の副作用については、イラストを用いて解説した。最後に、心理教育やデイケア等の心理社会的治療について説明し、知識の確認テストを行った。

セッション II では、家族が抱えるさまざまな困りごとと問題解決技法について扱った。内容として、幻覚・妄想への対応方法、再発のサイン、クライシスプランの作成、病状悪化時の対応、家に引きこもって外に出ない場合の対応、薬を飲みたがらないときの対応、暴力が起こりそうなとき、起こってしまったときの対応、自傷行為や自殺が疑われるときの対応について扱った。最後に、問題解決技法について学び、家族が日常的に当事者のケアで困っていることに関して、問題解決技法を用いて解決する練習を行った。

セッション III では、当事者へのかかわり方とコミュニケーション訓練について扱った。当事者の気持ちを理解すること、EE（Expressed Emotion）理論、コミュニケーションに関する基本的な知識とスキル、回復力を高める接し方について扱った。当事者は自分の将来に対して悲観的に考え、生きづらさを抱えていることに理解を示すことの重要性について説明した。また EE 理論では、家族が高 EE になるのも無理はないことに理解を示した上で、家族の接し方を変えることで当事者の症状や病状が変化する可能性があることを説明した。さらに、回復力を高める接し方においては、架空の症例ケースを用いて会話の練習を行い、よりよいコミュニケーションの方法を考える時間が設けられた。

セッション IV では、家族のリカバリーに焦点を当てた。内容として、家族のリカバリ

ーについて考える、家族が自分自身の人生を生きることの重要性、家族の心身の健康について考える、疲れない工夫・適切なストレス管理、家族会のメンバーの体験談・メッセージ、地域で利用可能な社会資源について扱った。このセッションでは、第 1 に、当事者と家族がそれぞれのライフスタイルや目標を持つことの重要性を強調した。第 2 に、家族が当事者のケアに一生懸命になるのではなく、様々な社会資源を利用して自分の人生を歩むことを促した。第 3 に、セルフケアやストレスマネジメントの知識を身につけることで、家族の心身の健康が向上することを期待した。第 4 に、統合失調症の家族会のメンバー3 人の体験談を紹介し、家族が「こんなにつらい思いをしているのは自分だけではない」ことを理解し、家族の悲しみや絶望感を緩和することを目標とした。最後に、地域で利用できる社会資源について説明し、多くの支援者とつながることの重要性を確認した。

6. 精神科訪問看護師の研修と BFP の実施率

介入群の精神科訪問看護師は、介入前に半日のグループ講義を受け、講義は 3 つのパートから構成された。第 1 に、当事者を実際にケアする家族から、日常生活の困りごとや精神科訪問看護師に対して求めている家族支援について話があった。第 2 に、家族の話を聴く練習として、基本的なコミュニケーション訓練を 3 人 1 組のロールプレイング形式で行った。第 3 に、研究責任者が精神科訪問看護師に対して BFP に関する基本的な知識を伝え、BFP の内容や研究責任者が強調したい点を説明した。研修は、研究責任者が看護師や心理士、精神保健福祉士と議論し、独自に開発した。

BFP の実施率に関しては、精神科訪問看護師が実際に家族と何回セッションを行ったかを確認するためのチェックリストを作成した。精神科訪問看護師が各セッションの終了時に、チェックリストに実施した日付を記載した。

7. 通常の治療群（対照群）

対照群の家族は、精神科訪問看護師による通常の支援を受けた。いかなる心理療法も受けなかった。

8. 効果評価の時期

ベースライン（T1）、介入終了直後（ベースラインから 1 ヵ月後、T2）、およびベースラインから 6 ヵ月後（T3）に、以下の評価項目を評価した。

9. 家族の主要評価項目

Zarit 介護負担尺度（ZBI-22）

ZBI-22 は、介護負担感の測定に用いられた。ZBI-22 は、0（全くない）から 4（いつも）までの 5 段階のリッカート尺度で回答し、22 項目から構成されている[30]。総得点は 0～88 点の範囲で、得点が高いほど介護負担感が大きいことを示す。カットオフ値は以下の通りである。0～21 点は、ほとんど負担がない、21～40 点は、軽度から中等度の介護負担感、41～60 は、中等度から重度の介護負担感、61～88 は、重度の介護負担感。日本語版の ZBI-22 に関する信頼性、妥当性は確認されている [31]。

10. 家族の副次評価項目

K6

K6 は、潜在的なうつ病および不安障害を測定するために開発された、自己記入式質問表であり、5 段階のリッカート尺度で回答し、6 項目から構成されている [32]。総得点は 0～24 点で、得点が高いほど潜在的なうつ病や不安障害の程度が高いことを意味する。日本語版の K6 に関する信頼性、妥当性は確認されている[33]。

一般的自己効力感尺度（GSES）

GSES は，日常生活における自己効力感を測定する尺度であり、二分法で回答し 16 項目から構成される[34]。得点が高いほど、自己効力感が高いことを意味する [34]。GSES に関する信頼性、妥当性は確認されている[34]。

WHO-5 精神的健康状態表（WHO-5）

WHO-5 は、主観的な幸福感や生活の質を測定する尺度であり、6 段階のリッカート尺度で回答し、5 項目から構成される [35]。得点が高いほど主観的な幸福感が高いことを意味する。日本語版の WHO-5 に関する信頼性、妥当性は確認されている[36]。

疾病・薬物知識度調査票 Knowledge of Illness and Drugs Inventory （KIDI）

KIDI は、精神疾患および精神疾患に対する薬の効果に関する知識を測定する尺度である[37]。2 つの下位尺度があり、精神疾患に関する知識を評価する 10 項目と、抗精神病薬の効果に関する知識を評価する残りの項目で構成される。
回答者に 3 つの選択肢から正しい答えを選んでもらう自己記入式質問票であり、得点が高いほど知識が豊富であること意味する。

11. 当事者の副次評価項目

行動および症状測定尺度 Behavior and Symptom Identification Scale （BASIS-32）

BASIS-32 は 5 段階のリッカート尺度で 32 項目から構成されており、精神科患者の行動および症状測定尺度である[38]。この尺度では、(1) 自己と他者との関係（7 項目）、(2) 抑うつと心配（6 項目）、(3) 日常生活と役割機能（9 項目）、(4) 衝動と依存的行動（6 項目）、(5) 精神病（4 項目）の 5 因子を測定した。日本語版 BASIS-32 の信頼性、妥当性は確認されている[39]。全体的な行動および症状の重症度については、32 項目の平均点を用いた。

WHO-5 精神的健康状態表（WHO-5）

WHO-5 は、主観的な幸福感や生活の質を測定する尺度であり、6 段階のリッカート尺度で回答し、5 項目から構成される [35]。得点が高いほど主観的な幸福感が高いことを意味する。日本語版の WHO-5 に関する信頼性、妥当性は確認されている[36]。

過去 6 ヵ月間の精神科病院への入院の有無

過去 6 か月間の精神科病院への入院の有無に関して独自に自己記入式質問票を作成した。この尺度は、統合失調症のある当事者が過去 6 ヵ月間に入院したかどうかについて、家族が、はい、いいえの二分法でベースラインとベースラインから 6 ヵ月後の追跡調査時に回答を行う。当事者が入院した場合、入院期間について記載する。

12. サンプルサイズ計算

CONSORT2010 声明[24]に従って、級内相関係数（ICC）を考慮に入れてサンプルサイズを計算した。先行研究における介護負担感に対する BFP の効果量は 0.46 であった[37]。サンプルサイズは、G*Power バージョン 3.1.9.2 [38,39]を用いて、有意水準 α 0.05、検出力（1-β）0.80 に基づいて、各群 76 人と推定した。cRCT の場合、この値にデザイン効果（1+[m-1] ρ）を乗じる必要があり、m は平均クラスターサイズ、ρ は ICC である[40]。本研究では、主要評価項目の推定 ICC を 0.05 とし、1 クラスターあたりの平均研究参加者数を 5 人とした。脱落率を 20%と仮定すると、必要なサンプルサイズは各群 110 人のとなった。したがって、少なくとも 44 の精神科訪問看護ステーションをリクルートする必要があった。

13. 統計解析

すべての解析は Intention To Treat（ITT）モデルに基づいて行われた。主要および副次評価項目に対する介入の効果は、線形混合モデルを用いた。本研究では、3 レベルモデルを使用し、時間（T1、T2、T3）をレベル 1、家族や当事者個人をレベル 2、クラスター（精神科訪問看護ステーション）をレベル 3 とした。固定効果として、条件（介入群 対 対照群）、時間（T1，T2，T3）、および条件と時間の交互作用を含めた。T2、T3 時点での介入効果については、T1 を基準として、条件 x 比較 1 (T2 vs T1)、条件 x 比較 2（T3 vs T1）の 2 つの交互作用項によりそれぞれ検定した。モデルは、年齢、性別、学歴、世帯収入、統合失調症のある当事者との家族関係、ケアの期間、精神科訪問看護利用期間など、家族の人口統計学的動態のベースラインにおける違いで調整した。サブグループ解析を、ベースラインにおける、介護負担感が軽度～重度の介護負担感の家族（ZBI-22 スコアが 21 以上）を対象に、精神科訪問看護師が提供する BFP の介護負担感に対する効果に関して解析を行った（表 4）。p 値が 0.05 未満の場合、統計学的に有意であるとした。統計解析には SPSS（Windows 版 27）を用いた。

14. プロトコルからの変更点

統計解析を行うにあたり、プロトコルからの変更点が 2 点ある。1 つは過去 6 ヵ月間の精神科病院への入院の有無に関する分析である。我々は、過去 6 ヵ月間の精神科病院への入院の有無に関して、マルチレベル Cox 比例ハザードモデルを実施する予定だった。しかし、入院となった者のうち、入院日が不明であった者が 1 人おり、分析を行うことができなかった。それゆえ、過去 6 ヵ月間の精神科病院への入院した者の数を記載し、カイ二乗検定を行った。もう 1 つの変更点は、介護負担感の有無（ZBI-22 スコア 21 以上）に基づく BFP の効果を明らかにするためのサブグループ解析を行った。本研究における家族は、先行研究の家族と比較して介護負担感が相対的に低く[17,18,19]、床効果により BFP の介護負担感に対する効果が減少している可能性があると考えたためである。

C.結果

1. 研究参加者のフローチャート

図 1 に参加者のフローチャートを示した。47 の精神科訪問看護ステーション（69%）が本研究の参加に同意した。無作為化の結果、25 の精神科訪問看護ステーションが介入群に、22 の精神科訪問看護師ステーション対照群に割り付けられた。13 の精神科訪問看護ステーション（介入群 8、対照群 5）が研究参加者を 1 人もリクルートできなかった。研究参加者のリクルートが行えた 34 の精神科訪問看護ステーションのうち、83 人の家族と 83 人の当事者がベースライン調査に回答した。ベースラインから 6 カ月後の追跡調査では、介入群では 17 機関（100%）、家族 43 人（100%）、当事者 40 人（93%）、対象群では 15 機関（88%）、家族 36 人（90%）、当事者 33 人（83%）が回答した。脱落の理由として、入院（n2=6）、COVID-19 の流行によるもの（k=2、n1=4、n2=4）だった。[k=精神科訪問看護ステーションの数、n1=統合失調症のある当事者をケアする家族の数、n2=統合失調症のある当事者の数]

2. ベースラインの特徴

表 1 は、ベースラインにおける家族（n=83）の人口統計学的特徴を示した。参加した家族の多くは、仕事をしていない高齢の母親であった。参加した家族の半数は 10 年以上のケアの経験を有していた。表 2 は、ベースライン時の当事者（n=83）の人口統計学的特徴を示した。参加した当事者の多くは無職、未婚、統合失調症に罹患してから 10 年以上経過しており、精神科訪問看護サ

ービスを 3 年以上利用していた。平均生涯入院回数は、介入群で 3.0 回、対照群で 4.7 回であった。介入群では 3 名（7%）、対照群では 2 名（5%）が、過去 6 カ月以内に入院していた。

3. 主要評価項目に対する BFP の効果

表 3 は、精神科訪問看護師による BFP の主要評価項目に対する効果を示した。介入群は、ベースラインから 6 か月後の追跡調査において、介護負担感の減少を認めたが、効果量は小さかった。また、両群間の調整済み平均差（aMD）は、1 カ月後の追跡調査でも（aMD = 0.27, 95% CI = -5.48 to 6.03, p = 0.93, Cohen's d = 0.01）、6 カ月後の追跡調査でも（aMD = -2.12, 95% CI = -7.80 to 3.56, p = 0.45, Cohen's d = 0.11）、有意ではなかった。表 4 にサブグループ解析を示した。介護負担感の有無（ZBI-22 スコア 21 以上）で層別化した場合、全ての研究参加者を対象とした場合と比較し、効果量が増加したが、グループ間に有意な差はなかった。

4. 副次評価項目に対する BFP の効果

表 3 は、BFP の副次評価項目に対する効果を示した。家族において、ベースラインから 1 ヵ月後および 6 か月後の追跡調査では、K6、GSES、WHO-5、KIDI のいずれに対しても、BFP は統計学的に有意な効果を認めなかった。当事者において、BASIS-32 および WHO-5 の得点は、ベースラインから 1 ヵ月後および 6 ヵ月後の追跡調査で、両群間に統計学的有意差を認めなかった。ベースラインから 6 ヵ月後の追跡調査までに精神科病院に入院した当事者の数は、介入群で 5 人（12%）、非介入群で 4 人（10%）だった（$\chi 2$＝0.06、p＝0.81）。

5. BFP の実施率

介入群の研究参加者全員が、プロトコルに従い BFP の 4 セッションを完了した。

D.考察

1. 主要な結果のまとめ

精神科訪問看護師が提供する BFP はベースラインから 6 か月後の家族の介護負担感を減少させたが、効果量は小さく(Cohen's d = ０.11)、統計学的に有意差を認めなかった。また、副次評価項目においても有意差を認めなかった。しかし、ベースラインから 6 か月後の追跡調査までの研究参加者の脱落率は、介入群で 7%，非介入群で 13.7%だった。また介入群の研究参加者全員が、プロトコルに従い BFP の 4 セッションを完了した。

2. BFP が介護負担感の減少に効果を示さなかった要因

精神科訪問看護師が提供する BFP は、家族の介護負担感に対して、有意な減少を認めなかった。Shinde ら(Cohen's d = 0.62)[16]および Shiraishi ら(Cohen's d = 0.21) [20]の研究においても、BFP は家族の介護負担に対して有意な減少を認めず、我々の研究結果と一致した。主要評価項目に有意な改善が見られなかった原因は 4 つあると考える。第 1 に、本研究に参加した家族は比較的軽度から中等度（21≦ZBI-22 スコア≦40）の介護負担感を呈しており、床効果が生じ、BFP の介護負担感に対する効果が減少した可能性がある。このことは、Sharif ら(Cohen's d = 1.03) [17]、Khoshknab ら(Cohen's d = 5.29) [18]、Hasan ら(Cohen's d = 0.94) [19]の研究では、介護負担感の高い集団を対象としており、有意な結果が得られたが、Shiraishi ら[20]の研究では、介護負担感の低い集団を対象としており、有意な結果が得られなかったことと一致する。また、サブグループ解析において、ベースラインの介護負担感が高い（ZBI-22 スコアが 21 以上）方が、効果量が大きいこととも一致する。第 2 に、精神科訪問看護師による BFP の提供が効果的に実施されなかった可能性がある。研究に参加した

精神科訪問看護師は半日の講義を受けたものの、BFP を十分に提供するために必要なスキルをすべて習得できなかった可能性が考えられる。第 3 に、対照群の精神科訪問看護師は、本研究に参加したことで、家族支援に対する意識が高まった可能性がある。これにより、対象群の通常支援における家族支援がより充実し、家族の介護負担感が減少した可能性がある。第 4 に、COVID-19 の流行も結果に影響を与えた可能性がある。ベースラインから 6 ヶ月後の追跡調査は、COVID-19 流行下の、緊急事態宣言中に行われた。今回の介入では減少することが困難な介護負担感が生じていた可能性がある[41]。

3. 本研究の強みと限界

本研究には、4 つの強みがある。第 1 に、本研究は cRCT の研究デザインを用い、日本の 4 つの都道府県（東京、埼玉、神奈川、千葉）における、34 の精神科訪問看護ステーションを対象とした。複数の施設で実施することで、研究参加者の代表性を高めることができる。第 2 に、ベースラインから 6 ヵ月後の追跡調査までの参加者の脱落率が 20%以下であり、脱落バイアスを少なくできた可能性がある。第 3 に、介入群の研究参加者全員がすべてのセッションに出席したことから、家族や当事者が BFP を意義のある介入であると考えている可能性がある。しかし、質的調査によってプログラムの有用性を評価しておらず詳細は不明である。最後に、本研究で用いた BFP は、家族や専門家を含む多様な関係者が参加し、共同創造のプロセスを経て開発された。専門家が認識しにくい、家族のユニークな経験に基づく視点を加えることで、プログラムが改善され、より充実した内容となったと考える。

一方で、本研究には 3 つの限界がある。第 1 に、予定していたサンプル数に比べて研究参加者が少なく、検出力に限界があったと考える。第 2 に、研究参加者の特徴として、介護負担感の比較的軽い家族であり、本研究の外的妥当性が低下した可能性がある。第 3 に、介入群と対照群の精神科訪問看護師は同じ企業で働いており、対照群の精神科訪問看護師が介入群の精神科訪問看護師から BFP に関する情報を共有している可能性を否定できず、介入効果が減弱した可能性がある。

4. 将来の研究への示唆

将来の研究への示唆を述べる。第 1 に、研究デザインに関しては、十分なサンプルサイズを満たし、より介護負担感の高い家族を含めた研究対象者に対してｃＲＣＴを行うことが求められる。サンプルサイズを満たすことが出来ず、介護負担感が軽度の家族が主な研究対象者になってしまった要因として、精神科訪問看護師が忙しい訪問の際にリクルートを行ったため、家族に研究内容や研究の必要性が十分に伝わらなかった可能性がある。今後は、研究責任者から家族に、研究内容や研究の必要性に関する説明を、オンライン説明会などを通じて行う工夫があると、より多くの様々な介護負担感を持った家族が研究に参加するかもしれない。

第 2 に、BFP のプログラムの改良が必要かもしれない。本研究で使用した BFP は、家族や専門家を含む多様な関係者が参加し、共同創造のプロセスを経て開発された。しかし、家族に関していえば、１つの家族会のメンバーの意見のみを反映しており、一般化可能性が担保されていなかった可能性がある。今後は、より多くの家族や精神科訪問看護師に対して、今回作成した BFP の満足度や改善点に関する質的な調査を行い、プログラムの改良が必要であると考える。

第 3 に、精神科訪問看護師により提供された BFP の質の評価、再現性の確認を行う必要がある。本研究では、BFP の実施率の評価は行ったが、質の評価、再現性の確認は行っていない。そのため、今後は、BFP のフィデリティ尺度の作成を行い、BFP の質の

評価、再現性について検討する必要がある。最後に、精神科訪問看護師に対する研修内容の再考と効果検証が必要である。今回の研修は、研究責任者が看護師や心理士、精神保健福祉士と議論し、独自に開発したものであるが、精神科訪問看護師による家族支援の研修に熟知した者の意見を取り入れておらず、また研修の効果検証も行っていない。今後は、精神科訪問看護師による家族支援の研修に熟知した、例えばメリデン版訪問家族支援の専門家などを含めて、研修内容の再考と研修の効果検証が必要と考える。

5. 実践への示唆

本研究より、精神科訪問看護師が提供するBFPは、家族の介護負担感に対して、効果量が小さく、低強度ではあるが、実施可能性が高いことが明らかになった。今後も、精神科訪問看護の枠組みでBFPを実践することで、日本における家族支援が進み、多くの家族の介護負担感が減少することが期待される。

結論

精神科訪問看護師が提供するBFPは、家族の介護負担感を有意に減少させなかった。しかし、BFPの実施率は良好であった。今後は、サンプルサイズを満たし、より介護負担感が高い家族も含めた研究対象者に対して、ｃRCTの実施が求められる。同時に、BFPのプログラムの改良とフィデリティ作成による質の担保、精神科訪問看護師への研修内容の再考や効果検証が必要であると考える。

E.研究発表

1.論文発表

原著

・安間尚徳、塩澤拓亮、松長麻美、佐藤さやか、藤井千代　統合失調症と心理社会支援　訪問看護による家族心理教育の提案　精神保健研究　65：5-10, 2019

・Yasuma, N., Sato, S., Yamaguchi, S., Matsunaga, A., Shiozawa, T., Tachimori, H., Watanabe, K., Imamura, K., Nishi, D., Fujii, C., & Kawakami, N. (2020). Effects of brief family psychoeducation for caregivers of people with schizophrenia in Japan provided by visiting nurses: protocol for a cluster randomised controlled trial. BMJ open, 10(4), e034425. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2019-034425

・Yasuma, N., Yamaguchi, S., Ogawa, M., Shiozawa, T., Abe, M., Igarashi, M., Kawaguchi, T., Sato, S., Nishi, D., Kawakami, N., & Fujii, C. (2021). Care difficulties and burden during COVID-19 pandemic lockdowns among caregivers of people with schizophrenia: A cross-sectional study. Neuropsychopharmacology reports, 41(2), 242–247. https://doi.org/10.1002/npr2.12171

・本研究をまとめた論文はSocial Psychiatry and Psychiatric Epidemiologyに投稿し、現在査読中である。

総説

・安間尚徳，佐藤さやか： 統合失調症の家族支援,家族心理教育．統合失調症の心理社会的治療-どのように使い分け、効果を最大化するか，精神医学 63(10) ：1445-1452, 2021.10.

2.学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

文献

1. Awad, A.G. and L.N. Voruganti, The burden of schizophrenia on caregivers: a review. Pharmacoeconomics, 2008. 26(2): p. 149-62.
2. Saunders, J.C., Families living with severe mental illness: a literature review. Issues Ment Health Nurs, 2003. 24(2): p. 175-98.
3. Gopinath, P.S. and S.K. Chaturvedi, Distressing behaviour of schizophrenics at home. Acta Psychiatr Scand, 1992. 86(3): p. 185-8.
4. McAuliffe, R., L. O'Connor, and D. Meagher, Parents' experience of living with and caring for an adult son or daughter with schizophrenia at home in Ireland: a qualitative study. J Psychiatr Ment Health Nurs, 2014. 21(2): p. 145-53.
5. Sin, J., et al., Effectiveness of psychoeducational interventions for family carers of people with psychosis: A systematic review and meta-analysis. Clin Psychol Rev, 2017. 56: p. 13-24.
6. Sin, J., et al., Psychoeducation for siblings of people with severe mental illness. Cochrane Database Syst Rev, 2015(5): p. Cd010540.
7. Dixon, L., et al., Evidence-based practices for services to families of people with psychiatric disabilities. Psychiatr Serv, 2001. 52(7): p. 903-10.
8. Birchwood, M., J. Smith, and R. Cochrane, Specific and non-specific effects of educational intervention for families living with schizophrenia. A comparison of three methods. Br J Psychiatry, 1992. 160: p. 806-14.
9. Lehman, A.F. and D.M. Steinwachs, Patterns of usual care for schizophrenia: initial results from the Schizophrenia Patient Outcomes Research Team (PORT) Client Survey. Schizophr Bull, 1998. 24(1): p. 11-20; discussion 20-32.
10. Oshima I, Mino Y, Nakamura Y, et al. Implementation and dissemination of family psychoeducation in Japan: nationwide survey on psychiatric hospitals in 1995 and 2001. Journal of Social Policy & Social Work 2007;11:5–16
11. Harvey, C., Family psychoeducation for people living with schizophrenia and their families. BJPsych Advances, 2018. 24(1): p. 9-19.
12. Fadden, G. and R. Heelis, The Meriden Family Programme: lessons learned over 10 years. J Ment Health, 2011. 20(1): p. 79-88.
13. McFarlane, W.R., et al., Family psychoeducation and schizophrenia: a review of the literature. J Marital Fam Ther, 2003. 29(2): p. 223-45.
14. Okpokoro, U., C.E. Adams, and S. Sampson, Family intervention (brief) for schizophrenia. Cochrane Database of Systematic Reviews, 2014(3).
15. Pitschel-Walz, G., et al., The effect of family interventions on relapse and rehospitalization in schizophrenia--a meta-analysis. Schizophr Bull, 2001. 27(1): p. 73-92.
16. Shinde SP. Short term effects of family psychoeducation in schizophrenia [PHD thesis]. National Institute of Mental Health and Neuro Sciences2005.
17. Sharif, F., M. Shaygan, and A. Mani, Effect of a psycho-educational intervention for family members on caregiver burdens and psychiatric symptoms in patients with

schizophrenia in Shiraz, Iran. BMC Psychiatry, 2012. 12(1): p. 48.
18. Fallahi Khoshknab, M., et al., The effects of group psychoeducational programme on family burden in caregivers of Iranian patients with schizophrenia. J Psychiatr Ment Health Nurs, 2014. 21(5): p. 438-46.
19. Hasan, A.A., P. Callaghan, and J.S. Lymn, Evaluation of the impact of a psycho-educational intervention for people diagnosed with schizophrenia and their primary caregivers in Jordan: a randomized controlled trial. BMC Psychiatry, 2015. 15: p. 72.
20. Shiraishi, N., et al., Effectiveness of the Japanese standard family psychoeducation on the mental health of caregivers of young adults with schizophrenia: a randomised controlled trial. BMC Psychiatry, 2019. 19(1): p. 263.
21. Huang, X.Y., et al., Roles and functions of community mental health nurses caring for people with schizophrenia in Taiwan. J Clin Nurs, 2008. 17(22): p. 3030-40.
22. Setoya N, Kayama M, Tsunoda A, et al. A survey of the family care provided in psychiatric home-visit nursing and related characteristics of clients. Japanese Bulletin of Social Psychiatry 2011;20:17–25.
23. Yasuma, N., et al., Effects of brief family psychoeducation for caregivers of people with schizophrenia in Japan provided by visiting nurses: protocol for a cluster randomised controlled trial. BMJ Open, 2020. 10(4): p. e034425.
24. Campbell, M.K., et al., Consort 2010 statement: extension to cluster randomised trials. Bmj, 2012. 345: p. e5661.
25. Mueser, K.T., et al., Models of community care for severe mental illness: a review of research on case management. Schizophr Bull, 1998. 24(1): p. 37-74.
26. Varghese M, Shah A, Kumar GSU, et al. Family intervention and support in schizophrenia: a manual on family intervention for the mental health professional, version 2. Bangalore, India: National Institute of Mental Health and Neurosciences.
27. Batalden, M., et al., Coproduction of healthcare service. BMJ Quality & Safety, 2016. 25(7): p. 509.
28. Ferriter M, Huband N. Experiences of parents with a son or daughter suffering from schizophrenia. J Psychiatr Ment Health Nurs 2003;10:552–60. doi:10.1046/j.1365-2850.2003.00624.x
29. Menezes NM, Arenovich T, Zipursky RB. A systematic review of longitudinal outcome studies of first-episode psychosis. Psychol Med 2006;36:1349–62. doi:10.1017/s0033291706007951
30. Zarit, S. H., Reever, K. E., & Bach-Peterson, J. (1980). Relatives of the impaired elderly: correlates of feelings of burden. The Gerontologist, 20(6), 649–655. https://doi.org/10.1093/geront/20.6.649
31. Arai, Y., et al., Reliability and validity of the Japanese version of the Zarit Caregiver Burden interview. Psychiatry Clin Neurosci, 1997. 51(5): p. 281-7.
32. Kessler, R.C., et al., Short screening scales to monitor population prevalences and trends in non-specific psychological distress. Psychol Med, 2002. 32(6): p. 959-76.
33. Sakurai, K., et al., Screening performance of K6/K10 and other screening instruments for mood and anxiety disorders in Japan. Psychiatry Clin

Neurosci, 2011. 65(5): p. 434-41.
34. Sakano Y, Tohjoh M. The general self-efficacy scale (GSES): scale development and validation. Japanese Journal of Behavior Therapy 1986;12:73–82.
35. Bonsignore, M., Barkow, K., Jessen, F., & Heun, R. (2001). Validity of the five-item WHO Well-Being Index (WHO-5) in an elderly population. European archives of psychiatry and clinical neuroscience, 251 Suppl 2, II27–II31. https://doi.org/10.1007/BF03035123
36. Awata, S., et al., Reliability and validity of the Japanese version of the World Health Organization-Five Well-Being Index in the context of detecting depression in diabetic patients. Psychiatry Clin Neurosci, 2007. 61(1): p. 112-9.
37. Maeda M, Renri T OM, et al. It is as a result of disease drug knowledge degree investigation (knowledge of illness and drugs inventory, KIDI) for a person with IIB-29 schizophrenia and the family. Japanese Bulletin of Social Psychiatry 1994;2:173–4.
38. Eisen, S. V., Dill, D. L., & Grob, M. C. (1994). Reliability and validity of a brief patient-report instrument for psychiatric outcome evaluation. Hospital & community psychiatry, 45(3), 242–247. https://doi.org/10.1176/ps.45.3.242
39. Setoya Y NY, Kurita H. Utility of the Japanese version of the BASIS-32 in inpatients in psychiatric hospital. Japanese Journal of Clinical Psychiatry 2002;31:571–5.
40. Amaresha, A.C. and G. Venkatasubramanian, Expressed emotion in schizophrenia: an overview. Indian J Psychol Med, 2012. 34(1): p. 12-20.
41. Faul, F., et al., Statistical power analyses using G*Power 3.1: tests for correlation and regression analyses. Behav Res Methods, 2009. 41(4): p. 1149-60.
42. Faul, F., et al., G*Power 3: a flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. Behav Res Methods, 2007. 39(2): p. 175-91.
43. Campbell, M.K., D.R. Elbourne, and D.G. Altman, CONSORT statement: extension to cluster randomised trials. BMJ, 2004. 328(7441): p. 702.
44. Yasuma, N., Yamaguchi, S., Ogawa, M., Shiozawa, T., Abe, M., Igarashi, M., . . . Fujii, C. (2021). Care difficulties and burden during COVID-19 pandemic lockdowns among caregivers of people with schizophrenia: A cross-sectional study. Neuropsychopharmacology Reports, 41(2), 242-247. doi:https://doi.org/10.1002/npr2.12171

表１．統合失調症のある当事者をケアする家族の人口統計学的特徴（n=83）

		介入群（n=43） N (%)	非介入群（n=40） N (%)
年齢　（平均値 ± 標準偏差）		69.4 ± 12.7	67.4 ± 12.3
性別	女性	28 (65.1)	30 (75.0)
学歴	中学校卒	9 (20.9)	2 (5.0)
	高校卒	17 (39.5)	22 (55.0)
	短大、専門学校卒	10 (23.3)	10 (25.0)
	大学、大学院卒	7 (16.3)	6 (15.0)
就労の有無	はい	11 (25.6)	14 (35.0)
世帯年収	< 300 万円	24 (55.8)	19 (47.5)
	< 500 万円	5 (11.6)	10 (25.0)
	< 750 万円	4 (9.3)	3 (7.5)
	≥ 750 万円	2 (4.7)	3 (7.5)
	不明、答えたくない	8 (18.6)	5 (12.5)
統合失調症のある当事者との関係	両親	33 (76.7)	33 (82.5)
	配偶者	6 (14.0)	2 (5.0)
	兄弟、姉妹	1 (2.3)	2 (5.0)
	子ども	1 (2.3)	3 (7.5)
	その他	2 (4.7)	0 (0)
ケアの年数	＜5 年	13 (30.2)	7 (17.5)
	＜10 年	7 (16.3)	8 (20.0)
	＜15 年	6 (14.0)	5 (12.5)
	＜20 年	3 (7.0)	6 (15.0)
	≥ 20 年	14 (32.6)	14 (35.0)

表２．統合失調症のある当事者の人口統計学的特徴（n=83）

		介入群（n=43） N (%)	非介入群（n=40） N (%)
年齢（平均値 ± 標準偏差）		45.1 ± 14.5	42.7 ± 9.9
性別	女性	24 (55.8)	22 (55.0)
学歴	中学校卒	11 (25.6)	11 (27.5)
	高校卒	20 (46.5)	18 (45.0)
	短大、専門学校卒	5 (11.6)	5 (12.5)
	大学、大学院卒	7 (16.3)	6 (15.0)
就労の有無	はい	9 (20.9)	5 (12.5)
婚姻歴	未婚	33 (76.7)	35 (87.5)
	結婚している	7 (16.3)	2 (5.0)
	離婚している	3 (7.0)	3 (7.5)
統合失調症の罹患期間	＜5 年	12 (27.9)	8 (20.0)
	＜10 年	9 (18.6)	8 (22.5)
	＜15 年	6 (14.0)	4 (10.0)
	＜20 年	3 (7.0)	5 (12.5)
	≥ 20 年	14 (32.6)	14 (35.0)
精神科訪問看護の利用期間	＜1 年	4 (9.3)	7 (17.5)
	＜3 年	19 (44.2)	13 (32.5)
	≥ 3 年	20 (46.5)	20 (50.0)
生涯における精神科病院への入院回数（平均値 ± 標準偏差）		3.0 ± 2.7	4.3 ± 5.0
過去 6 か月の精神科病院への入院の有無	はい	3 (7.0)	2 (5.0)

国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費
重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究
令和1-3年度　研究分担報告書

医療観察法通院処遇者における
暴力および自傷・自殺の予測因子に関する研究

分担研究者：　菊池安希子 1)
研究協力者：　相田早織 1)、岡野茉莉子 1)、阿部真貴子 1)
1)　国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所 地域・司法精神医療研究部

要旨
目的：先行研究によれば、暴力と自傷・自殺の予測因子は重複する。本研究では、医療観察法通院処遇者を直接通院者も含めて 6 ヶ月間追跡し、暴力及び自傷・自殺の予測因子について検討することを目的とした。
方法：研究協力の同意を得られた社会復帰調整官が担当する医療観察法対象者のうち、以下の適格基準、除外基準を満たす者のデータを収集した。 適格基準：①直接通院者、②移行通院者、除外基準： ①調査開始時点で精神保健福祉法入院をしている対象者、②調査開始時点で、6 ヶ月以内に医療観察法制度による処遇が終了する予定の対象者。評価因子は、暴力リスクアセスメントツールの HCR20V3 および、社会復帰の進捗を評価する社会復帰促進アセスメントの項目を用いた。研究協力に同意した社会復帰調整官担当する通院中の対象者について、HCR20V3 及び社会復帰促進アセスメントの評価を行った。また、評価から 6 か月間の暴力および自傷・自殺行動についてのデータを収集した。
結果：HCR20V3 が通院中の医療観察法対象者の身体的暴力にも予測妥当性を持つことが示されたため、以降の分析に用いた HCR20V3 の 20 項目の内、暴力を予測する項目と、自傷・自殺を予測する項目の間に重複はなかった。社会復帰促進アセスメントでは、暴力と自傷・自殺の予測因子には重複と、独自要因が見られた。「病状安定」「治療動機」「相談・対処技能」「生計の安定性」は共通していた。暴力のみの予測因子は「通院医療・服薬継続性」「居住・地域環境の安定性」「地域関係機関の支援等」「生計の安定性」「規範意識等」であり、自傷・自殺に特有な予測因子は、「嗜癖コントロール」と「生計の安定性」であった。
　暴力や自傷・自殺の評価のためには、暴力リスク要因だけでなく、処遇ニーズに焦点をあてたモニタリングの有用性が高いことが示唆された。

A.研究の背景と目的

　精神障がい者のリカバリーを妨げる「心配な転帰」には様々なものがあり、その予測因子は重複することが知られている（Webster et al., 2009）。「心配な転帰」の中でも特に影響力が大きいのが、他者に対する身体的暴力や自分に対する暴力ともいえる自傷・自殺行動である。暴力や自傷・自殺を予防するためには、予測因子を明らかにすることが求められている。

　心神喪失等の状態で重大な他害行為を行った者の医療及び観察に関する法律（以下、医

療観察法）の通院処遇者の自殺に関する先行研究によれば、わが国の一般人口に対する移行通院処遇対象者（医療観察法の入院処遇の後、退院して通院処遇中の者）の標準化死亡比（SMR）は 3.84 倍であり、従来の統合失調症研究でいわれる 1.5～6 倍であることと比べると、必ずしも高いとはいえなかった。また、移行通院者の追跡調査によれば、3 年間の推定再他害行為率は 3%未満であり、諸外国に比べて低い水準であった（永田ら、2016）。このように医療観察法対象者の自傷、自殺はベースレートとして一般精神科患者と比べて必ずしも高水準にはないことが示唆されている。

これまでの研究は移行通院者のみについての結果であり、直接通院者（医療観察法の初回審判で「入院によらない医療」の決定を受け、通院処遇中の者）について同様の量的検討はされていない。また、医療観察法通院処遇中の自傷・自殺行動や他害行為の予測因子については、今のところ、人口統計学的指標や、入院中の因子による検討が中心である。

本研究では、医療観察法通院処遇者を直接通院者も含めて 6 ヶ月間追跡し、暴力及び自傷・自殺の予測因子について検討することを目的とした。

B.方法

1. 研究方法

1）地域における医療観察法対象者の精神保健観察を担う社会復帰調整官に法務省保護局精神保健企画官室を通じて研究協力を依頼し、文書による同意を得られた者に対して、研究代表者が暴力リスクアセスメントツールである HCR20V3（Douglas et al., 2013）の評価研修を行い、その上で以下の情報を収集した：

① 担当する医療観察法通院処遇者（適格基準を満たす者）についての調査開始時点の HCR20V3 評価

② 調査開始時点の、対象者の性別、年齢、対象行為、通院処遇の種類（直接通院、移行通院）などの基本属性（既存資料）

③ 調査開始時点の社会復帰促進アセスメント（精神保健観察中に社会復帰調整官が業務として作成している評価用紙である（既存資料）。

④ 初回 HCR20V3 評価より 6 ヶ月間の対象者の暴力及び自傷・自殺の記録。

本研究では、精神保健観察の通常業務の一環として収集されている情報（既存資料）の一部について、一定の様式に添って記入することを依頼した。医療観察法対象者から直接、新たに収集された情報はなかった。

2. 対象者

研究協力の同意を得られた社会復帰調整官が担当する医療観察法対象者のうち、以下の適格基準、除外基準を満たす者のデータを収集した。

1）適格基準：

① 直接通院者

② 移行通院者

2）除外基準

① 調査開始時点で精神保健福祉法入院をしている対象者

② 調査開始時点で、6 ヶ月以内に医療観察法制度による処遇が終了する予定の対象者

3. 尺度

1）HCR-20V3（Douglas et al., 2013）は、暴力のリスクアセスメントであり、10 項目の静的要因（ヒストリカル尺度）と 10 項目の動的要因（クリニカル尺度 5 項目、リスクマネジメント尺度 5 項目）より構成される。HCR20V3 は、評価時点から 6 ヶ月から 1 年程度の期間の暴力リスクを見立て、治療計画をたてるために使用されている。英国のナショナルヘルスサービスをはじめとして、諸外国の司法精神科において、最も標準

的に使用されている暴力のリスクアセスメントツールである（Singh et al.,2014）。研究代表者は、HCR20V3 のトレーニング及びトレーナートレーニングを修了した後、原著者 Douglas 博士より研究版権を得て、マニュアルを翻訳した。この翻訳版は、医療観察法入院処遇対象者の 6 ヶ月以内の暴力に対する信頼性、予測妥当性を示した（Kikuchi et al., 2018）。

2) 社会復帰促進アセスメントは、13 項目の動的要因から構成されるツールであり、医療観察法通院処遇者の社会復帰の進捗について評価する。各項目は、問題なし～明らかな問題ありまで、0,1,2 の 3 段階で評価される。2014 年以来、精神保健観察中に社会復帰調整官が業務として評価している。社会復帰促進アセスメントは、暴力リスクアセスメントツールではなく、社会復帰の進捗を評価するためのニーズアセスメントであるが、医療観察法通院処遇対象者の暴力や自傷・自殺に対する予測妥当性が示されている（菊池ら，2015）。

4. 倫理的配慮

本研究は、国立精神･神経医療研究センターの倫理審査委員会の承認を受けて実施された。

5. 統計解析／分析方法

これまで、医療観察法通院処遇者の暴力に対する HCR20V3 予測妥当性が検討されていないため、Receiver Operating Characteristics (ROC)分析を行った。ROC 分析は、事象発現のベースレートに影響されにくいため、暴力等問題行動の予測妥当性に広く使用されている。ROC 分析の結果は Area Under the Curve（AUC）で示され、AUC＝0.5 は予測能力が無いことを意味し、1.0 が完全な予測を指す。暴力リスクアセスメントの領域では、およそ.56、.64、.71 がそれぞれ、低い、中等度、高い、予測力の指標とされている（Rice & Harris, 2005）。本研究では、6 か月間の身体的暴力または自傷・自殺企図をアウトカム、HCR20V3 の要因の存在有無評価の合計点（各項目は、問題なしが 0、部分的問題が 1、明らかに問題がある場合は 2 と評価される）を予測変数として、ROC 分析を行った。HCR20V3 の暴力に対する予測妥当性が確認された場合、以降の分析に用いた。

通院処遇中、何がリスク要因となっているかを検討するため、身体的暴力または自傷・自殺企図を従属変数、HCR20V3 の各項目を独立変数として単回帰のロジスティック回帰分析を実施した。また、保護要因の検討のために、身体的暴力または自傷・自殺企図を従属変数、社会復帰促進アセスメントの各項目を独立変数としてロジスティック回帰分析を実施した。有意水準は 5%に設定し、探索的分析のため補正は行わなかった。

今回の解析結果は、2022 年 1 月時点のデータに基づくものであり、今後のクリーニングによって結果が変わる可能性がある。

C.結果

1. 記述統計

初回調査時点では、245 名分のデータが収集され、そのうち、6 か月間の暴力及び自傷・自殺行動のデータが収集されたのは 231 名分であった。性別は男性 170、女性 61、平均年齢 46.7 歳（SD=11.9）、主診断（ICD-10）は F2：182（78.8%）、F3：27（11.7%）、F1：12（5.2%）、その他：10（4.3%）であった。

対象行為（未遂含）は、殺人 76（32.9%）、傷害 159（68.8%）、放火 65（17.89%）強盗 14（6.32%）、強制わいせつ 7（3.16%）であった。

6 ヶ月間の身体的暴力は 8 人（8 件）、自傷・自殺が 5 人（6 件）に観察された。

HCR20V3 の合計点は平均 15.05（SD=5.82)、ヒストリカル（H）スコアが 10.27（SD＝3.35)、クリニカル（C）スコア 2.61（SD=2.28)、リスクマネジメント（R）スコアが 2.18（SD＝1.97）であった。社会復帰促進アセスメントの合計点平均は 4.95（SD=3.69）であった。

2. HCR20V3 の通院処遇中の暴力に対する予測妥当性の確認（表 1）

HCR-20V3 日本版が、通院中の医療観察法患者の身体的暴力に対する予測妥当性を持つかどうかを検討した結果、HCR20V3 の存在有無評価の合計点は、他者への暴力に対しては有意かつ十分な予測妥当性が示された（AUC=.79, p=.005)。

HCR20V3 の下位尺度と暴力の関連を見た結果、H 尺度には関連がなかったが、C 尺度および R 尺度には、0.7 以上の AUC が認められた。

3. HCR20V3 項目から見た暴力および自傷・自殺に関連する因子（表 2）

HCR20V3 の下位項目のうち、単回帰のロジスティック回帰分析において身体的暴力と有意な関連を示したのは、「H9 暴力的態度」「C1 病識」「C2 暴力的観念または意図」「R1 専門的なサービス及び計画」「R2 生活状況」「個人的サポート」「治療または監督への反応性」「R5 ストレスまたは対処」であった。最大のオッズ比を示したのは、「C2 暴力的観念または意図」（OR＝8.73）と「R2 生活状況」（OR=4.66）であった。

これに対し、自傷・自殺行動との有意な関連を見せたのは、「C4 不安定性」（OR＝5.37）「C5 治療または監督への反応性」（OR＝2.99）であった。

関連を示した項目の内、身体的暴力と自傷・自殺行動に共通する項目はなかった。

4. 社会復帰促進アセスメント項目から見た暴力および自傷・自殺に関連する因子（表 3)

社会復帰促進アセスメントの下位項目のうち、単回帰分析において身体的暴力と有意な関連を示したのは、「病状安定」「通院医療・服薬継続性」「治療動機」「相談・対処技能」「居住・地域環境の安定性」「地域関係機関の支援等」「生計の安定性」「規範意識等」であった。最大のオッズ比を示したのは、「病状安定」（OR=17.58)、「規範意識」（OR=11.00）であった。

自傷・自殺行動との有意な関連を見せたのは、「病状安定」「治療動機」「相談・対処技能」「嗜癖コントロール」「生計の安定性」であった。最大のオッズ比を示したのは、「相談・対処技能」（OR=31.67)、「生計の安定性」（OR=8.32）であった。

関連を示した項目の内、身体的暴力と自傷・自殺行動に共通する項目は「病状安定」「治療動機」「相談・対処技能」「生計の安定性」であった。

D.考察

本研究の結果、HCR20V3 が通院処遇中の対象者の 6 か月以内の暴力の予測妥当性を持つことが確認された。HCR20V3 は医療観察法対象者について、入院処遇、通院処遇ともに 6 か月以内の身体的暴力の予測妥当性を持つといえる。

HCR20V3 項目で見る限り、暴力の予測因子と自傷・自殺の予測因子は、H 尺度項目には存在せず、動的要因である C 尺度項目と R 尺度項目に存在した。

社会復帰促進アセスメントでは、暴力と自傷・自殺の予測因子には重複と、独自要因が見られた。「病状安定」「治療動機」「相談・対処技能」「生計の安定性」は共通していた。暴力のみの予測因子は「通院医療・服薬継続性」「居住・地域環境の安定性」「地域関係機関の支援等」「生計の安定性」「規範意識等」であり、自傷・自殺に特有な予測因子

は、「嗜癖コントロール」と「生計の安定性」であった。

本研究の結果、HCR20V3 は暴力リスクアセスメントとしては使用可能であるが、本来目的と異なる自傷・自殺のリスクアセスメントとしての有用性は低いことが示された。HCR20V3 の暴力リスク要因から見る限り、医療観察法通院処遇者において、暴力のリスク因子と自傷・自殺のリスク因子に明らかな重複はないことが示された。

共通要因と独自要因は、むしろ、処遇ニーズ項目からなる社会復帰促進アセスメントの結果に示されていた。単回帰の結果は、見かけ上のつながりを示している。暴力に有意な関連因子が多くみられ、独自因子も自傷・自殺よりも多かったことは、暴力可能性の評価を相対的にしやすくしている可能性がある。これに対し、自傷・自殺については、独自の関連因子は少なく、その分、観察が困難になる可能性がある。過去の自傷・自殺企図歴のある
者には、相談対処技能の低さのオッズ比は 32 倍と突出しており、信頼区間が広いものの、生計の安定性とあわせた観察が必要だと考えられる。

本研究の結果、暴力や自傷・自殺の観察のためには、暴力のリスク要因だけでなく、処遇ニーズに焦点をあてたモニタリングの有用性が高いことが示唆された。

E.研究発表

1) Kikuchi A, Soshi T, Kono T, Koyama M, Fujii C: Validity of Short-Term Assessment of Risk and Treatability in the Japanese Forensic Probation Service. Frontiers in Psychiatry, 2021.5. doi:10.3389/fpsyt. 2021.645927
2) 菊池安希子：精神障害のある加害者の理解と介入．子どもの虐待とネグレクト 23(3)，274-279, 2021.
3) 菊池安希子：医療観察法【心理職の視点から】．下山晴彦：岡田裕子・和田仁孝（編）公認心理師への関係行政論ガイド．北大路書房，2021.11.20.
4) 菊池安希子：エビデンスから見た医療観察法処遇．「刑事司法分野のより良き実践をめざして」シンポジウム，日本犯罪心理学会主催第 3 回全国研修会，2021.7.4.
5) Kikuchi A, Hashimoto R, Fujii C: Changes observed in mentally disordered offenders during forensic community treatment in Japan. International Association of Forensic Mental Health Services 2021 Virtual Conference, Online, 2021.6.17.
6) Kikuchi A: Targets of intervention during forensic probation in Japan. Asian Criminological Society 12th Annual Conference 2020, Online & On-demand, 2021.6.18-8.30.
7) 菊池安希子，曽雌崇弘：Short-Term Assessment of Risk and Treatability (START)から見た医療観察法通院処遇中の自傷・自殺企図者の特徴．第 17 回日本司法精神医学会大会，Web 開催，2021.6.11-12.
8) 菊池安希子：医療観察法通院処遇者の自傷・自殺．第 174 回【東京】医療観察制度関係機関連絡協議会．オンライン．2021.8.12.

文献

1) Webster,C.D., Martin, M.L., Brink, J., Nicholls, T.L., & Desmarais, S. L. (2009). Manual for the Short-Term Assessment of Risk and Treatability (START) (Version1.1). Coquitlam, Canada: British Columbia Mental Health & Addiction Services.
2) 永田貴子，平林直次，立森久照　他：医療観察法指定入院医療機関退院後の予後

調査.精神医学 58(7)，633-643，2016.
3) Kevin S. Douglas, et al. HCR-20V3 Assessing Risk for Violence (2013). Mental Health Law and Psychiatry Institute, Simon Fraser University.
4) Singh, J. P., Desmarais, S. L., Hurducas, C., Arbach-Lucioni, K., Condemarin, C., Dean, K., Otto, R. (2014). International perspectives on the practical application of violence risk assessment: A global survey of 44 countries. International Journal of Forensic Mental Health, 13, 193-206. doi:10.1080/14999013.2014.922141
5) Kikuchi A, Kashiwagi H, Okano M, Takahashi F, Fujii C: Retrospective file-based study of HCR-20V3 in Japanese forensic inpatients: Interim report. 18th annual conference for International Association of Forensic Mental Health Services, Antwerp, Belgium, 2018.6.13.
6) 菊池安希子，鶴見隆彦，馬淵伸隆，國吉美也子，小山繭子，河野稔明，安藤久美子，岡田幸之：医療観察法制度における各種心理プログラムの現状把握と新たな手法の確立．平成 24 年度-平成 26 年度精神・神経疾患研究開発費総括研究報告書，pp53-57，2015.
7) Rice ME & Harris GT: Comparing effect sizes in follow-up studies: ROC area, Cohen's d, and r. Law and Human Behavior, 29, 615-620, 2005.

表 2.　HCR20V3 項目から見た暴力及び自傷・自殺の関連因子

				身体的暴力				自傷・自殺			
		Mean	SD	*p*		OR	95%CI	*p*		OR	95%CI
H1	暴力	2.00	0.00	—		—	— —	—		—	— —
H2	その他の反社会的行動	0.66	0.91	.509		1.28	0.61 2.69	.738		1.17	0.46 3.00
H3	人間関係	1.40	0.73	.708		1.22	0.44 3.38	.258		3.04	0.44 20.88
H4	就労	1.16	0.81	.441		1.44	0.57 3.68	.502		1.50	0.46 4.95
H5	物質使用	0.55	0.85	.517		1.29	0.60 2.77	.908		1.06	0.38 2.94
H6	主要な精神障害	2.00	0.00	—		—	— —	—		—	— —
H7	パーソナリティ障害	0.20	0.54	.997		0.00	0.00 a	.998		0.00	0.00 a
H8	外傷体験	0.72	0.84	.601		1.24	0.55 2.80	.217		1.92	0.68 5.40
H9	暴力的態度	0.54	0.82	.023	*	2.51	1.13 5.56	.996		0.00	0.00 a
H10	治療または監督への反応性	1.00	0.86	.688		1.18	0.52 2.70	.611		1.31	0.46 3.76
C1	病識	0.62	0.74	.024	*	2.87	1.15 7.18	.261		1.88	0.63 5.65
C2	暴力的観念または意図	0.10	0.38	.000	***	8.73	3.36 22.70	.998		0.00	0.00 a
C3	主要な精神障害の症状	0.84	0.84	.080		2.24	0.91 5.51	.071		3.42	0.90 12.97
C4	不安定性	0.68	0.75	.155		1.86	0.79 4.35	.022	*	5.37	1.27 22.67
C5	治療または監督への反応性	0.37	0.64	.105		2.10	0.86 5.18	.043	*	2.99	1.04 8.65
R1	専門的なサービス及び計画	0.17	0.44	.033	*	2.54	1.08 5.99	.897		1.13	0.17 7.35
R2	生活状況	0.33	0.59	.002	**	4.66	1.78 12.19	.092		2.64	0.85 8.18
R3	個人的サポート	0.49	0.66	.011	*	3.39	1.32 8.67	.344		0.38	0.05 2.79
R4	治療または監督への反応性	0.38	0.62	.032	*	2.67	1.09 6.57	.145		2.31	0.75 7.16
R5	ストレスまたは対処	0.81	0.70	.030	*	3.31	1.13 9.76	.548		1.46	0.42 5.06

* $p<.05$　** $p<.01$　*** $p<.001$　a 該当「なし」が HCR20V3 項目の存在有無評価の単一セルに分布

表 3. 社会復帰促進アセスメント項目から見た暴力及び自傷・自殺の関連因子

				身体的暴力				自傷・自殺			
		Mean	SD	*p*		OR	95%CI	*p*		OR	95%CI
1	生理的状態変化	0.44	0.56	.333		1.78	0.55 5.71	.152		2.81	0.68 11.59
2	病状安定	0.51	0.62	.000	***	17.58	4.34 71.27	.005	**	7.59	1.82 31.65
3	通院医療・服薬継続性	0.32	0.52	.026	*	3.40	1.16 9.94	.052		3.69	0.99 13.77
4	治療動機	0.35	0.52	.000	***	10.03	2.77 36.25	.012	*	6.23	1.49 26.08
5	相談・対処技能	0.60	0.57	.010	*	5.53	1.50 20.40	.000	***	31.67	4.83 207.56
6	嗜癖コントロール	0.18	0.42	.630		1.43	0.33 6.19	.041	*	4.12	1.06 16.00
7	家族・交友関係	0.36	0.52	.431		1.65	0.47 5.74	.854		1.17	0.22 6.16
8	社会生活能力	0.47	0.55	.147		2.43	0.73 8.05	.183		2.76	0.62 12.32
9	居住・地域環境の安定性	0.63	0.58	.001	**	10.45	2.72 40.17	.165		2.91	0.64 13.14
10	地域関係機関の支援等	0.20	0.42	.002	**	7.20	2.12 24.45	.288		2.39	0.48 11.93
11	生計の安定性	0.28	0.51	.004	**	5.26	1.71 16.24	.004	**	8.32	1.96 35.39
12	規範意識等	0.39	0.55	.000	***	11.00	3.60 33.62	.839		0.82	0.11 5.82
13	現在･将来的計画	0.24	0.50	.147		2.43	0.73 8.05	.183		2.76	0.62 12.32

* $p<.05$ ** $p<.01$ *** $p<.001$

国立精神・神経医療研究センター精神・神経疾患研究開発費
重症精神障害者とその家族の効果的な地域生活支援体制に関する基盤的研究
令和1-3年度　研究分担報告書

医療観察法通院処遇者のモニタリング方法の開発

研究分担者：平林直次[1)]
研究協力者：竹田康二[1)]、永田貴子[1)]、島田明裕[1)]、久保彩子[1)]、高尾碧[1)]、曽雌崇弘[2)]、藤井千代[2)]
１）国立精神･神経医療研究センター病院　司法精神診療部
２）国立精神･神経医療研究センター 精神保健研究所 地域・司法精神医療研究部

要旨
本研究では、法務省から医療観察法通院処遇に関するデータの提供を受け、医療観察法通院処遇の実態調査を全国規模で行った。その過程を通して、通院処遇の実態調査の方法を具体的かつ現実的に明らかにした。今後、同様の研究手法を用いて通院処遇実態調査を実施すれば、一定の間隔で全国の通院処遇状況をモニタリングできると考えられた。ただし、「個人情報の保護に関する法律」および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」などを遵守し、関係省庁とも綿密に連携して進める必要がある。なお、本年度行われた通院処遇の集計、解析結果については、通院処遇医療観察法統計資料として発刊予定である。
医療観察法通院処遇終了後１年間の重大な他害行為発生率は2.6%と低値であり予後は良好であった。危機介入モデルから生活支援モデルに移行し、地域生活への定着が進む一方、住居形態、就労率、主たる収入源から見ると地域での自立は進んでいない実態が明らかとなった。医療観察法制度においても、精神科医療一般と同様、地域生活の維持や自立を促進していく必要がある。

A.研究の背景と目的

研究１

欧米圏においては、政府から司法精神医療の基礎的なデータが白書として毎年報告されている。我が国においても、当院が幹事病院となり、いわゆる”入院データベース事業”が始まり、指定入院医療機関のネットワークが構築され、入院医療の調査体制が整備された。毎年、「パフォーマンス指標」として厚生労働省および各指定入院医療機関に報告される。一方、2020年4月1日現在、指定入院医療機関は全国で662施設に及び、個別の医療機関からの報告や症例報告にとどまり、全国規模の通院処遇の実態は不明のままである。ましてや悉皆調査は行われたことがない。

本研究の目的は、入院データベース事業の経験を活かして、通院医療の実態調査を全国規模で実施する具体的かつ現実的な方法や体制を示し、ひいては厚生労働省に事業化を提案することである。

研究２

医療観察法処遇終了後、多くの事例は精神保健福祉法による医療に移行する。しかし、移行後の実態調査はほとんど行われておらず、医療の内容、転帰や予後、課題など不明のままであり、移行後の医療の実態調査の必要性が指摘されている。

本研究の主たる目的は、継続的かつ安定的な通院処遇モニタリングを実現するための具

体的なモニタリングシステムや、その運用方法及び体制を明らかにすることである(研究1)。また、医療観察法処遇終了後の医療の実態や転帰・予後を明らかにすることである(研究2)。

B.方法

研究1

医療観察法通院処遇の実態に関するデータの収集方法あるいは既存のデータの活用方法につき、関係機関と協議・検討し、全数調査を継続的かつ安定的に実施(案)する方法や体制(案)を作成した。

「個人情報の保護に関する法律」および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に照らし合わせ修正を行った。

最終年度には作成された通院処遇の実態調査方法に基づき調査を実施し、収集可能性や継続可能性について検討した。

なお、研究の実施に先立って国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認(A2021-099)を得た。

研究2

研究初年度には、同センターの倫理委員会の承認(A2019-054)を得て、東京都内の指定通院医療機関を対象として予備的調査を実施しアンケート調査用紙(資料1)の作成を行った。次年度には、対象地域を拡大し、倫理委員会に変更申請を出し 同委員会の承認を得て下記の調査を実施した。

研究に同意の得られた全国指定通院医療機関の医療者(主に精神保健福祉士)に対し、2020年7月15日時点で医療観察法による通院処遇が終了して1年以上経過している者(2015年7月15日～2019年7月15日までに通院処遇を終えた者に限る)の医療・ケア状況についてアンケート調査を行った。回答者には、未記入項目、不適切回答に関する問い合わせを継続した。

最終的には、東京、神奈川、山形、群馬、沖縄、島根、北海道の指定通院医療機関を対象として、北海道を除く地域から回答を得た。なお、地域の選定にあたっては、全国に分布すること、市部と郡部から選択することとした。なお、診断基準はICD-10(国際疾病分類第10版)を使用し、統計学的解析はSPSS ®を用いた。

C.結果

研究1

初年度には、通院処遇のモニタリングシステムの構築に関して、「電子通院処遇データベースの開発」「処遇終了届出制度の創設」と2案について検討を行った。前者は、各指定入院医療機関に通院処遇の主要項目に関してWeb上から入力を求め、当センターに事務局を設置してデータベースを構築する案である。データ提供する指定通院医療機関が所属する関連団体(日本精神科病院協会、日本精神科診療所協会、自治体立病院協議会、国立病院機構)から意見聴取を行った。その結果、システム開発に加え662に及ぶ通院医療機関(2020年4月1日現在)からの確実なデータ収集、データクリーニングやシステムの維持管理の経済的および技術的困難さが明らかとなった。

また、後者では厚生労働省医療観察法医療観察体制整備推進室と協議し、行政目的のデータを研究利用する困難さが判明した。

2020年度には、法務省から(通院処遇)対象者に係る保有個人情報の提供を受け研究を進めるために、法務省保護局総務課 精神保健観企画官室との相談を実施した。

i) 国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センターの年度計画に「法務省から通院対象者に係る保有個人情報の提供を受け、通院処遇の実態等を把握するための研究を実施し、その過程も踏まえ継続的かつ安定的に通院処遇の実態を把握するためのモニタリング方法を提案する」ことを明示した。

ii) 提供を受けるデータ項目や期間(2005

年 7 月 15 日から 2020 年 12 月 31 日まで)、評価項目や評価方法、統計学的解析方法を定め、匿名化された既存情報を用いた探索的後ろ向き観察研究として倫理委員会の承認を得た。

iii) 当センターと法務省の間で「研究活動のための保有個人情報の提供に関する協定書」を締結した。

iv) 2022 年 2 月 7 日データの提供を受け、同年 3 月 31 日までに研究計画に基づいて解析を終えた。

v) 上記の手順を整理し、当センターの年度計画、倫理委員会申請書、協定書など必要な書類をまとめ電子データとして保存した。

研究 2

2021 年 8 月 31 日現在、調査対象者該当なし 2 施設、回答の得られなかった 2 施設を除いて、39 施設から施設表および 156 名の個票を回収した。

施設票の集計

医療観察法通院処遇においては、全施設が精神科医療一般よりも手厚いケアが必要であると回答した。しかし、手厚いケアが提供できていると回答した施設は 22 施設のみであった。

手厚いケアの内容は、ケア会議の開催 95.5%、院内多職種チームミーティング 50.0%、病状やケアのアセスメント、59.1%、服薬確認 50.0%、通院確認 81.8%、クライシスプランの確認 40.9%、声かけ 54.5%などであった。

また、手厚い医療が実施できない理由としては、本人の不同意をあげる施設が多かった。社会復帰調整官の役割を引き継ぐ担当者の不在、人手不足などをあげる意見もあった。医療観察法対象者の受け入れ後、増加した業務はケア会議の開催 68.2%、他機関との連絡調整 81.8%であった。

個票の集計

処遇終了者(n=156)の性別は男性 75.2%、女性 26.8%であり、年代の最頻値 40 代であり、対象行為の内訳は、傷害 55.1%、殺人(未遂を含む)19.9%、放火 15.4%であった。診断内訳は F2: 84.0%、F1:6.4%、F3:6.4%であった。性別、年代、対象行為の内訳は従来の報告[1]と大差はなかった。

通院処遇開始 1 ヶ月後(通院処遇開始時)、処遇終了 1 ヶ月前(通院処遇終了時)、処遇終了 1 年後の 3 時点での通院状況を**表 1** に示した。それぞれの時点で通院状況が明らかとなったのは、156 名、153 名、136 名であった。通院頻度の最頻値は、月 4 回から月 2 回としだいに減少していた。通院処遇開始時のクロザピン内服率は 14.1%であり、処遇終了後は 11.8%であった。持効性注射製剤は一貫して 23%台であった。すべての調査時点において約 9%の者が入院中であった。

表 2 に精神保健福祉法による入院回数を示した。通院処遇中 44.2%、処遇終了後 1 年間で 20.6%の対象者が入院を経験していた。

表 3 には訪問支援の状況を示した。通院処遇終了時には医療機関の訪問看護はわずかに減少し(27.7%→24.1%)、訪問看護ステーションの訪問看護が増加していた(16.1%→23.5%)。行政職員の訪問は医療観察法処遇終了と同時に減少し(32.9%→20.5%)、相談事業者等職員による訪問が増加した(16.4%→24.7%)。

表 4 には通所型支援の状況を示した。医療機関によるデイケアや作業療法は減少し、わずかであるが就労支援が増えていた。

表 5 には住居形態を示した。通院処遇開始時には 40.4%がグループホーム入居中であったが、処遇終了 1 年後には 21.6%に減少していた。一方、単身生活者は 28.8%から 43.2%に増加していた。

就労状況では、通院処遇開始時 98.7%が就労しておらず、処遇終了 1 年後も 90.1%が就労していなかった。

表 6 には主な収入源を示した。給与受給

者は通院処遇開始時1.5%から処遇終了1年後6.3%に増加した。一方、処遇開始時、家族の援助 17.1%、障害年金 35.6%、生活保護 36.1%については処遇終了後 1 年後も横ばいであった。

表 7 には指定入院医療機関から見た通院、服薬、金銭管理能力の評価を示した。いずれの能力も、それぞれ 4.5%から 8.8%、2.6%から 5.1%、7.1%から 8.0%とわずかであるが、できないと評価される者の割合が増えていた。

表 8 には重大な他害行為の累積発生件数を示した。通院処遇中では殺人・殺人未遂 1 件、傷害 2 件、放火 1 件、処遇終了後 1 年間では傷害 2 件が認められた。重大な他害行為の累積発生率は、通院処遇中 2.6%、処遇終了後 1 年間で 0.7%であった。

表 9 には問題行動の発生件数を示した。主な問題行動は通院不遵守 10.3%、服薬不遵守 10.3%、自殺既遂 1.2%であった。表には示さなかったが、アルコール有害使用は、通院処遇中 3.8%、処遇終了 1 年間で 2.8%に認めた。薬物の有害使用は通院処遇中 0.6%、処遇終了 1 年間で 0.7%に認めた。

表 10 にはケア会議の実施状況、モニタリングシートの活用状況、クライシスプランの活用状況を示した。ケア会議は通院処遇中、対象者のほぼ全例に行われていたが、処遇終了 1 年後には 49.6%に減少していた。モニタリングシートの活用状況は 71.8%から 27.3%に減少した。クライシスプランの活用状況は 77.6%のまま維持されていた。

D.考察

研究 1

従来、各種の研究班により、通院処遇の実態調査が行われてきたが、研究班の存続に依存し通院処遇の実態を継続的かつ安定的に把握されてきたとは言いがたい状況が続いていた。また、全国規模の悉皆調査は実施されて来なかった。

本研究では、法務省の所有する医療観察法通院処遇に関するデータの提供を受け、その過程を通して通院処遇の実態を調査する方法を具体的かつ現実的に明らかにした。今後、同様の研究手法を用いて 3-5 年間隔で通院処遇調査を実施すれば、全国の通院処遇の実態を経年的にモニタリング可能であると考えられた。ただし、「個人情報の保護に関する法律」および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」などを遵守し、関係省庁とも綿密に連携して進める必要がある。また実態調査自体は、国立精神・神経医療研究センターの年度計画に示し、組織的・計画的に実行する必要がある。

なお、本年度行われた通院処遇の集計、解析結果については、通院処遇統計レポートとして発刊予定である。

本研究により、既存の入院モニタリングシステムと併せて、医療観察による医療や制度の全体像を把握することが可能となった。今後、入院処遇と通院処遇に関するデータを連結し、入院処遇後の転帰や予後を明らかにし、入院医療や通院医療にフィードバックすることにより、医療観察法医療の向上が期待される。

研究 2

本研究では、市部や郡部を含め 6 つの都道府県を選び、医療観察法終了後 1 年間の後ろ向き調査を行った。個票の回収は 156 例と限られていたが、政府から発表される行政統計と比較すると、社会学的特性、診断、対象行為などにおいて大差はなく、これらの指標からは代表性が担保されていると考えられた。しかし、対象者数、調査期間、アンケートを用いた後ろ向き調査であることから、本研究には一定の限界が存在する。

入院処遇および通院処遇を含む医療観察法処遇中については医療の実態や転帰・予後調査が活発に行われ、対象者の予後は良好であることが判明する一方、処遇終了後の医療の

実態、転帰・予後は不明のままであった。

医療観察法終了後１年間の重大な他害行為の累積発生率 0.7%は、比較対象となる報告が見当たらないものの、通院処遇中の本研究の 2.6%、竹田らによる予後調査 1.7%[2)]と比較して同水準または低値と考えられた。以上のことから、医療観察法通院処遇中から処遇終了後まで一貫して重大な他害行為の累積発生率は低値に抑えられていることが明らかとなった。

医療観察法通院処遇中、医療機関による医療・ケア(訪問看護、デイケア、作業療法)の密度が減少し、保健福祉関連機関によるケア密度(訪問看護ステーションによる訪問、就労支援)が増加していた。この傾向は医療観察法終了１年後の調査時点でも続いていた。また、居住形態では施設入居者が減少し、単身生活者が増えていた。以上のことから、医療観察法対象者は通院処遇当初の指定通院医療機関による危機管理モデルから、地域関連機関による生活支援モデルに移行している可能性が示唆された。

指定入院医療機関による評価では、対象者の通院、服薬、金銭管理などの能力は通院処遇開始当初から処遇終了１年後になっても、「できない」と判断された者の比率は概ね変化しておらず、むしろ若干増加傾向を認めた。すなわち、医療観察法対象者の地域生活の維持、社会復帰の促進には、生活障害に対する医療やケアが重要である。

家族同居は 22.4%のまま変化せず、主たる収入源は、家族の援助、障害年金、生活保護を併せて 85.4%に及び、給与生活者は 6.3%に留まっていた。すなわち重大な他害行為を起こすことなく地域生活を継続しているが、経済的には自立に至っていない現状が明らかとなった。

医療観察制度により重大な他害行為を起こすことなく地域生活に定着しつつあるが、一般の精神医療と同様、さらに就労支援をはじめ社会参加を促進していく必要がある。

E.研究発表

1.論文発表

1) Koji Takeda, Norio Sugawara, Yuji Yamada, Takako Nagata, Hiroko Kashiwagi, Toshiaki Kono, Naotsugu Hirabayashi, Takayuki Okada: Employment-Related Factors of Forensic Psychiatric Outpatients with Psychotic Disorders. Neuropsychiatric Disease and Treatment, 2019; 15: 3341-3350 (doi: 10.2147/NDT.S228916)

2) Koji Takeda, Norio Sugawara, Taro Matsuda, Akihiro Shimada, Takako Nagata, Hiroko Kashiwagi, Naotsugu Hirabayashi, Takayuki Okada: Mortality and suicide rates in patients discharged from forensic psychiatric wards in Japan. Comprehensive Psychiatry, 2019; 95: (doi:10.1016/j.comppsych.2019.152131)

3) Yuki Kobayashi, Ayako Kanie, Atsuo Nakagawa, Yoshitake Takebayashi, Issei Shinmei, Noriko Nakayama, Keiko Yamaguchi, Chiaki Nakayama, Naotsugu Hirabayashi, Masaru Mimura and Masaru Horikoshi: An evaluation of family-based treatment for OCD in Japan: a pilot randomized controlled trial. Frontiers in Psychiatry, 2019.11.25(doi:10.3389/fpsyt.2019.00932)

4) Hiroko Kashiwagi, Yuji Yamada, Yayoi Umegaki, Koji Takeda, Naotsugu Hirabayashi: The Perspective of Forensic Inpatients With Psychotic Disorders on Protective Factors Against Risk of Violent Behavior. 2020; 11: 1-9

(doi:10.3389/fpsyt.2020.5)
5) Hiroko Kashiwagi, Junya Matsumoto, Kenichiro Miura, Koji Takeda, Yuji Yamada, Michiko Fijimoto, Yuta Yasuda, Hidenaga Yamamori, Manabu Ikeda, Naotsugu Hirabayashi, Ryota Hashimoto: Neurocognitive features, personality traits, and social function in patients with schizophrenia with a history of violence. Journal of Psychiatric Research, 2022; 147: 50-58
6) Yuji Yamada, Takuma Inagawa, Yuma Yokoi, Aya Shirama, Kazuki Sueyoshi, Ayumu Wada, Naotsugu Hirabayashi, Hideki Oi, Tomiki Sumiyoshi. Efficacy and Safety of Multi-Session Transcranial Direct Current Stimulation on Social Cognition in Schizophrenia: A Study Protocol for an Open-Label, Single-Arm Trial. J Pers Med. 2021 Apr 19;11(4):317
7) 永田貴子，平林直次：精神科診療のエビデンス　国内外の重要ガイドライン解説 第6章パーソナリティ障害②反社会性パーソナリティ障害　Antisocial personality disorder: prevention and management(NICE). 精神医学　増大号, 医学書院，東京，2020；601-605
8) 竹田康二，河野稔明，平林直次：医療観察法病棟の現況と展望. 精神医学, 2020；62(4)：445-454
9) 平林直次，竹田康二：重大な他害行為を行った精神障害者の社会復帰－医療観察法. 週刊 医学のあゆみ，2021；279(4)：293
10) 平林直次：措置入院患者・医療観察法対象者への服薬アドヒアランス不良への対応. 臨床精神薬理，2022；25(2)：175-179
11) 野村照幸，森田展彰，村杉謙次，大谷保和，斎藤環，平林直次：医療観察法入院処遇クライシス・プラン作成研修プログラムの開発と効果検証. 精神医学, 2022；64(2)：219-230

2.学会発表

1) 山下真吾，平林直次，田中央吾：人口動態調査に基づく精神科病棟での殺人・傷害致死事件件数調査について. 第15回日本司法精神医学会大会，岩手，2019.6.7
2) 柏木宏子，山下真吾，平林直次：刑事責任能力が争点となった死刑求刑事件（死亡者が3名以上で家族以外）の精神鑑定と責任能力判断の変遷. 第15回日本司法精神医学会大会，岩手，2019.6.7
3) 中島遊，田口寿子，平林直次：医療観察法第52条に定める鑑定を実施し処遇終了に至った一症例. 第15回日本司法精神医学会大会，岩手，2019.6.7
4) 柏木宏子，梅垣弥生，竹田康二，山田悠至，山下真吾，大森まゆ，平林直次：暴力の保護要因（SAPROF）をインタビューする意義－ストレングスに着目した、当事者参加型のアセスメント法の開発－. 第15回日本司法精神医学会大会，花巻，2019.6.8
5) 山下真吾，大森まゆ，平林直次：医療観察法の再入院処遇により疾病理解が進み円滑な社会復帰に至った一例. 第16回日本司法精神医学会大会，Web開催，会期2020.11.12-11.13
6) 山田悠至，竹田康二，河野稔明，小池純子，藤井千代，平林直次：医療観察法データベース研究利用プロトコル. 第16回日本司法精神医学会大会，Web開催，会期2020.11.12-11.13
7) 平林直次：重複精神障害を有する対象者の診断を超えた理解. 第116回日本精神神経学会学術総会，WEB開催，会期2020.9.29

8) 市橋佑香，竹田康二，山本壮則，柳恵美子，鈴木敬生，山田悠至，山下真吾，朝海摂，平林直次：医療観察法病棟における情報アクセス環境調査．第 17 回日本司法精神医学会大会，Web 開催，会期 2021.6.11-6.12

9) 鈴木敬生，今村扶美，山口まりこ，網干舞，平林直次：医療観察法指定入院医療機関における複雑事例に対する施設間コンサルテーションの手法開発とその有効性．第 17 回日本司法精神医学会大会，Web 開催，会期 2021.6.11-6.12

10) 山口まりこ，網干舞，今村扶美，鈴木敬生，平林直次：医療観察法指定入院医療機関における複雑事例にみられる治療課題とその対応～施設間コンサルテーションの結果より～．第 17 回日本司法精神医学会大会，Web 開催，会期 2021.6.11-6.12

11) 山田悠至，稲川拓磨，末吉一貴，和田歩，長谷川由美，平林直次，白間綾，住吉太幹：統合失調症の社会認知機能障害に対する経頭蓋直流刺激（tDCS）の効果．第 117 回日本精神神経学会学術総会，京都府（ハイブリッド形式），2021.9.20

12) Yuji Yamada, Takuma Inagawa, Yuma Yokoi, Kazuki Sueyoshi, Ayumu Wada, Naotsugu Hirabayashi, Hideki Oi, Aya Shirama, Tomiki Sumiyoshi: Efficacy and Safety of Multi-Session Transcranial Direct Current Stimulation on Social Cognition in Schizophrenia: A Study Protocol. The 51st Annual Meeting of the Japanese Society of Clinical Neurophysiology, Miyagi Pref., 2021.12,17

13) 柏木宏子，松本純弥，三浦健一郎，福永雅喜，根本清貴，岡田直大，竹田康二，長谷川尚美，藤本美智子，安田由華，山森英長，池田学，渡邉嘉之，平林直次，橋本亮太：暴力の既往のある統合失調症罹患者の、脳体積、大脳皮質厚および表面積の特徴．第 43 回日本生物学的精神医学会・第 51 回日本神経精神薬理学会合同年会，Web 開催，2021.7.15

F. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

2.実用新案登録

3.その他

文献

1) 安藤 久美子，中澤佳奈子，淺野敬子，津村秀樹，長沼洋一，菊池安希子：わが国における触法精神障害者通院医療の現状 2005～2013 年の全国調査の分析から．臨床精神医学 43 (9)：1293-1300, 2014

2) 研究分担者 竹田康二．厚生労働科学研究費補助金（障害者政策総合研究事業（精神障害分野））医療観察法の制度対象者の治療・支援体制の整備のための研究．平成 30 年度～令和 2 年度 総合研究報告書．療機関退院後の予後に影響を与える因子の同定に関する研究．

表1　通院状況

		通院処遇 開始1ヶ月後 n=156	終了1ヶ月前 n=153	終了1年後 n=136
通院	あり	89.7	88.8	86.5
	なし	1.3	1.3	5.0
精神保健福祉法による入院		9.0	9.9	8.5
通院回数/月	～1回	7.3	21.9	34.9
	～2回	24.1	53.9	48.1
	～4回	63.5	21.9	14.2
	4回～	5.1	2.3	2.8
クロザピン内服率	あり	14.1	12.4	11.8
持効性注射製剤使用率	あり	23.1	23.7	23.4

不明及び入院中を除く

表2　入院回数		処遇中	終了1年後
入院	あり	44.2	20.6
	なし	55.8	79.4
入院回数	0	12.8	0.0
	1	46.2	79.3
	2	23.1	13.8
	3	10.3	3.4
	4～	7.8	3.4

表3　訪問支援の状況	開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
医療機関_訪問診療	0.3	0.4	1.2
医療機関_訪問看護	27.7	24.4	24.1
訪問看護ステーション	16.4	18.0	23.5
行政職員	32.9	29.3	20.5
相談事業者等職員	16.4	19.5	24.7
ヘルパー	2.7	4.9	5.4
その他	3.4	3.4	0.6
	100.0	100.0	100.0

表4　通所型支援の状況	開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
医療	108	78	49
デイケア	93	69	44
作業療法	8	4	2
その他	7	5	3
障害福祉サービス等	83	94	71
地域活動支援センター	24	25	24
自律訓練	14	6	6
就労支援	27	49	37
自助グループ	5	2	1
民間リハビリ施設	5	3	2
その他	8	9	1

表5　住居形態	開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
家族同居	22.4	22.1	22.3
単身	28.8	42.2	43.2
施設（GH等）	40.4	23.4	21.6
入院中	7.1	11.0	10.1
その他	1.3	1.3	2.9
	100.0	100.0	100.0

表6　就労状況	開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
なし	98.7	94.8	90.1
一般就労	0.6	0.6	1.4
障害者枠正規雇用	0.0	0.6	3.5
パート・アルバイト	0.6	1.9	2.1
その他	0.0	1.9	2.8
	100.0	100.0	100.0

表7　収入源	開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
給与	1.5	2.5	6.3
家族の援助	17.1	16.2	15.6
障害年金	35.6	34.8	35.4
生活保護	36.1	38.2	34.4
その他	9.8	8.3	8.3
	100.0	100.0	100.0

表8　通院、金銭管理の能力		開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
通院の可否	できない	4.5	6.0	8.8
	助言や指導があればできる	13.5	14.7	14.7
	できる	82.1	79.3	76.5
服薬の可否	できない	2.6	3.3	5.1
	助言や指導があればできる	20.5	19.9	19.0
	できる	76.9	76.8	75.9
金銭管理の可否	できない	7.1	6.0	8.0
	助言や指導があればできる	36.5	35.8	30.7
	できる	56.4	58.3	61.3
金銭管理の有無	あり	38.6	34.2	32.3
	なし	61.4	65.8	67.7

表9　重大な他害行為	処遇中	終了1年後
殺人・殺人未遂	1	0
傷害	2	2
放火	1	0
強盗	0	0
強制わいせつ	0	0
強制性交等	0	0
	4	2

表10　問題行動	処遇中	終了1年後
通院不遵守	16	0
服薬不遵守	16	13
性的逸脱行動	3	2
自殺企図		
未遂	5	1
既遂	2	0
自傷	3	1
その他	11	9
	40	26

表11　ケアの実施状況		開始1ヶ月後	終了1ヶ月前	終了1年後
ケア会議の実施状況	あり	98.1	98.1	49.6
	なし	1.9	1.9	50.4
ケア会議の頻度	月1回未満	82.1	89.0	93.7
	月1回以上	17.9	11.0	6.3
モニタリングシートの活用状況	あり	71.8	60.1	27.3
	なし	28.2	39.9	72.7
クライシスプランの活用状況	あり	77.6	64.1	77.6
	なし	22.4	35.9	22.4

付録　調査票

医療観察通院処遇終了前後の医療およびケア体制に関するアンケート（施設票）

貴院で医療観察法通院処遇対象者に関わっている医療関係者（主に PSW）のご意見を聴取するものです。各施設につき１枚のアンケートです。

★本研究の内容をご理解いただいた上でご参加いただける場合は、以下の同意確認ボックス（□）に☑をご記入ください。　□同意します。

設問	当てはまるものに☑をつけてください。
Q１．医療観察法通院処遇が終了した元対象者は、平均的に他の患者に比べ、処遇後もより手厚いケアが必要であると感じていますか？	□はい □いいえ
Q2-1．Q1 で「はい」と答えた場合、そうした手厚いケアは既存の枠組みの中で既に行われていますか？	□はい □いいえ
Q2-2．Q1 で「はい」と答えた場合、どのような取り組みやケアが行われていますか？ （複数回答：他の患者に比べ平均的に多いと思われるものをチェックする）	□地域関係者を含むケア会議 □院内多職種チームによるミーティング □病状やケアのアセスメント □服薬の確認 □通院の確認 □クライシスプランの確認 □声かけ □その他（　　）
Q３．Q2で「いいえ」と答えた場合、手厚いケアが必要と感じているにも関わらず、実際に行えていないのはなぜですか？ （複数回答）	□他の業務が忙しく対象者に割く時間がない。 □調整官が外れたため調整をとるひとがいない。 □ケア会議がないため計画を立てられない。 □本人が支援を拒否すると行う根拠がない。 □処遇終了後は診療報酬が下がる。 □人手が足りない。 □その他（　　）
Q４．同院に通院する通院処遇終了者が増えたことにより業務にどのような変化が生じましたか？ （複数回答）	□多職種チームのミーティングが増えた。 □ケア会議が増えた。 □他機関との連絡・調整が増えた。 □緊急対応が増えた。 □上４つの回数がむしろ減った。 □その他（　　） □特に変化はない。

医療観察通院処遇～終了後の医療およびケア体制に関するアンケート(個別票)

別紙【記入例】を参考に、以下の設問で当てはまるものに☑をつけてください。

(　)内には数字や具体例をご記入ください。

No.

年代(歳代)	□20 代　□30 代　□40 代　□50 代　□60 代　□70 代　□80 代以上
性別	□男性　□女性
対象行為	□殺人　□傷害　□放火　□強盗　□強制わいせつ　□強制性交等
主診断	□F0　□F1　□F2　□F3　□F4　□F5　□F6　□F7　□F8 (別紙 ICD-10 参照)
副診断	□F0　□F1　□F2　□F3　□F4　□F5　□F6　□F7　□F8 (別紙 ICD-10 参照)
通院処遇開始状況	□移行通院　□直接通院　★通院処遇期間(　　)ヶ月
処遇終了の形態	□通院処遇早期終了(3 年未満で終了) □通院処遇満期終了(3 年(±1 ヶ月程度)で終了 □通院処遇延長終了(裁判所により通院処遇の延長が認められた)

転帰	通院処遇終了時	通院処遇終了 1 年後
	□精神保健福祉法による通院 □精神保健福祉法による入院 □医療観察法による再入院 □死亡　⇒(□事故　□病死　□自殺) □通院先の変更 □医療終了 □上記以外の状況(本人の意思等)で通院していない	□精神保健福祉法による通院 □精神保健福祉法による入院 □医療観察法による再入院 □死亡　⇒(□事故　□病死　□自殺) □通院先の変更 □医療終了 □上記以外の状況(本人の意思等)で通院していない

医療	通院処遇開始 1 ヶ月後	通院処遇終了 1 ヶ月前	通院処遇終了 1 年後
通院の有無	□あり □精神保健福祉法による入院 □なし(不遵守等)	□あり □精神保健福祉法による入院 □なし(不遵守等)	□あり □精神保健福祉法による入院 □なし(不遵守等)
通院の頻度 (通院☑ありの場合)	□1 ヶ月に 1 回未満 □1 ヶ月に 1 回以上 ⇒(　　)回／月	□1 ヶ月に 1 回未満 □1 ヶ月に 1 回以上 ⇒(　　)回／月	□1 ヶ月に 1 回未満 □1 ヶ月に 1 回以上 ⇒(　　)回／月
クロザピン内服	□あり　□なし	□あり　□なし	□あり　□なし
デポ剤の使用	□あり　□なし	□あり　□なし	□あり　□なし

入院	通院処遇中	通院処遇終了～1 年後
精神保健福祉法による入院 ☑ありの場合 A・B へ	□なし □あり ⇒(　　)回 ⇒内 措置入院(　　)回	□なし □あり ⇒(　　)回 ⇒内 措置入院(　　)回
A 調整入院	□あり　□なし	□あり　□なし
B 最も長い入院期間	(　　)ヶ月	(　　)ヶ月

支援内容		通院処遇開始１ヶ月後	通院処遇終了１ヶ月前	通院処遇終了１年後
訪問型支援【複数回答可】	【医療によるもの】訪問型支援	□なし □訪問診療（約＿＿＿回/月） □訪問看護（医療機関） ⇒（約＿＿＿回/月） □訪問看護（訪問看護ステーション） ⇒（約　　回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）	□なし □訪問診療（約＿＿＿回/月） □訪問看護（医療機関） ⇒（約＿＿＿回/月） □訪問看護（訪問看護ステーション） ⇒（約　　回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）	□なし □訪問診療（約＿＿＿回/月） □訪問看護（医療機関） ⇒（約＿＿＿回/月） □訪問看護（訪問看護ステーション） ⇒（約　　回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）
	【その他関係機関等】訪問型支援	□なし □行政職員（保健師等） □相談支援事業所等職員 □ヘルパー □その他（　　）	□なし □行政職員（保健師等） □相談支援事業所等職員 □ヘルパー □その他（　　）	□なし □行政職員（保健師等） □相談支援事業所等職員 □ヘルパー □その他（　　）
通所型・日中活動等の支援【複数回答可】	【医療によるもの】通所型支援	□なし □デイケア（約＿＿＿回/月） □外来 OT（約＿＿＿回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）	□なし □デイケア（約＿＿＿回/月） □外来 OT（約＿＿＿回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）	□なし □デイケア（約＿＿＿回/月） □外来 OT（約＿＿＿回/月） □その他（　　） ⇒（約＿＿＿回/月）
	【障害福祉サービス等】通所型支援	□なし □地域活動支援センター □自立訓練 □就労支援（事業所通所等） □自助グループ □民間リハビリ施設 □その他（　　）	□なし □地域活動支援センター □自立訓練 □就労支援（事業所通所等） □自助グループ □民間リハビリ施設 □その他（　　）	□なし □地域活動支援センター □自立訓練 □就労支援（事業所通所等） □自助グループ □民間リハビリ施設 □その他（　　）
要介護認定		□あり　□なし	□あり　□なし	□あり　□なし

生活状況	通院処遇開始１ヶ月後	通院処遇終了１ヶ月前	通院処遇終了１年後
住　居	□家族同居　□単身 □施設（GH 等）□入院中 □その他（　　）	□家族同居　□単身 □施設（GH 等）□入院中 □その他（　　）	□家族同居　□単身 □施設（GH 等）□入院中 □その他（　　）
就　労	□なし □一般就労 □障害者枠正規 □パート・アルバイト □その他（　　）	□なし □一般就労 □障害者枠正規 □パート・アルバイト □その他（　　）	□なし □一般就労 □障害者枠正規 □パート・アルバイト □その他（　　）
収　入 （複数回答可）	□給与　□家族の援助 □障害年金　□生活保護 □その他（　　）	□給与　□家族の援助 □障害年金　□生活保護 □その他（　　）	□給与　□家族の援助 □障害年金　□生活保護 □その他（　　）

日常生活の状況	通院処遇開始 1 ヶ月後	通院処遇終了 1 ヶ月後	通院処遇終了 1 年後
通 院	□できる □できない □助言や指導があればできる	□できる □できない □助言や指導があればできる	□できる □できない □助言や指導があればできる
服 薬	□できる □できない □助言や指導があればできる	□できる □できない □助言や指導があればできる	□できる □できない □助言や指導があればできる
金銭管理	□できる □できない □助言や指導があればできる （金銭管理の支援） □あり □なし	□できる □できない □助言や指導があればできる （金銭管理の支援） □あり □なし	□できる □できない □助言や指導があればできる （金銭管理の支援） □あり □なし

リスク影響要因	通院処遇中	通院処遇終了～1 年後
アルコールの使用	□なし □一時的な使用 □有害使用 □依存状態	□なし □一時的な使用 □有害使用 □依存状態
薬物等の問題使用	□なし □有害使用 □依存状態	□なし □有害使用 □依存状態
金銭管理の問題	□あり □なし	□あり □なし
問題行動等	**通院処遇中**	**通院処遇終了～1 年後**
重大な他害行為 （複数回答可）	□殺人・殺人未遂 □傷害 □放火 □強盗 □強制わいせつ □強制性交等 □なし	□殺人・殺人未遂 □傷害 □放火 □強盗 □強制わいせつ □強制性交等 □なし
通院の不遵守	□あり □なし	□あり □なし
服薬の不遵守	□あり □なし	□あり □なし
性的逸脱行動	□あり □なし	□あり □なし
自殺企図	□あり⇒（□未遂 ・ □既遂） □なし	□あり⇒（□未遂 ・ □既遂） □なし
自傷	□あり □なし	□あり □なし
その他の問題行動 ☑ありの場合はその内容	□あり □なし （ ）	□あり □なし （ ）

支援体制	通院処遇開始 1 ヶ月後	通院処遇終了 1 ヶ月前	通院処遇終了 1 年後
ケア会議	□あり □なし	□あり □なし	□あり □なし
ケア会議の頻度 ☑ありの場合	□月 1 回以上 □月 1 回未満 ⇒（ ）ヶ月に 1 回	□月 1 回以上 □月 1 回未満 ⇒（ ）ヶ月に 1 回	□月 1 回以上 □月 1 回未満 ⇒（ ）ヶ月に 1 回
モニタリングシート の活用	□あり □なし	□あり □なし	□あり □なし
クライシスプランの活用	□あり □なし	□あり □なし	□あり □なし
処遇終了後の社会復帰調整官の行っていた調整や観察の役割を引き継いだ機関はどこですか。 （主な 1 つ）	□指定医療機関（□Dr □Ns □CP □OT □PSW □その他（ ）） □保健所職員 □その他の行政職員 □訪問看護ステーション □相談支援事業所等職員 □施設（GH 等）職員 □地域活動支援センター職員 □その他（ ）		

1-3 Fundamental Research on Effective Community Life Support System for Persons with Severe Mental Disorders and Their Families

Principal investigator Chiyo Fujii, M.D., Ph.D.
Department of Community Mental Health and Law, National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry

This study aimed to identify outcomes that should be considered in evidence-based practice and policy-making to build effective systems to support persons with mental disorders and their families in the community. Additionally, it aims to develop evidence in areas that have not been addressed in previous research, such as family support and assessment of people with psychiatric disorders under the law. The research group conducted research in the following subgroups:

A: Searching for consensus on outcomes in community psychiatric and mental health care practice.

B: Research on the effectiveness of family support through outreach.

C: A study on predictors of violence and self-harm or suicide among outpatients treated under the Medical Probation Law.

D: Development of a monitoring system for outpatient treatment under the Medical Probation Act.

The research results of these subgroups are as follows:

A:

The objectives of this subprojects were (1) to examine the implementation and challenges of patient and public involvement (PPI) in community mental health research in Japan; and (2) to explore important outcome areas in community mental health research with a diverse range of stakeholders. To examine PPI implementation and issues, focus group interviews were conducted with patients (n=6), family members (n=5), supporters (n=7), government officials (n=5), and researchers (n=14), and recorded data were used to conduct a qualitative analysis of the feasibility and issues of PPI in Japan. The results showed that most of the subjects acknowledged the importance of PPI and recognized it as something that would improve their research quality. However, all attribute groups pointed out the difficulty of building equal relationships between the parties and researchers, and the family group also indicated that research findings from PPI are not reflected in the system.

A Delphi survey was conducted to reach a consensus on the key outcome areas for community mental health research, and the following 24 items finally reached the consensus criteria: (1) help-seeking, (2) having a place to stay, (3) suicidal ideation or attempts, (4) life satisfaction, (5) feeling of control or coping with symptoms, (6) adverse

events or side effects, (7) family mental health, (8) social connections, (9) continuation of treatment, (10) independence or self-determination, (11) satisfaction of needs, (12) relationship with supporters, (13) attitudes toward medication and treatment, (14) relationship between the patient and family, (15) expression of family feelings, (16) daily living ability, (17) housing stability, (18) self-esteem, (19) stress, (20) general psychiatric symptoms, (21) violence, (22) medication compliance, (23) death, (24) recurrence of psychiatric disorders.

B:

This subproject aimed to determine whether brief family psychoeducation (BFP) provided by visiting psychiatric nurses decreases the sense of caregiving burden for family members caring for a person with schizophrenia using cluster RCT. Families caring for a person with schizophrenia have many caregiving burdens. FPE can reduce the burden of caregiving on family members, but its widespread use in daily clinical practice is still insufficient due to the need for long-term implementation, difficulties in recruiting and training staff, and cost issues. Therefore, there is a need to develop and verify the effectiveness of FPE that is simple and can be implemented within the existing psychiatric care system. In this subproject, we used a cluster RCT (cRCT) to examine the effect of Brief Family Psychoeducation (BFP) as a simple FPE on the sense of care burden. Although the BFP implemented in this study reduced family members' sense of caregiving burden, there was no significant difference from the control group, and no clear effect could be demonstrated. However, all families in the intervention group received BFP on all four occasions, and its implementation rate was good, indicating a high feasibility. In the future, it will be necessary to improve BFP, ensure quality by creating fidelity, reconsider the training of psychiatric home care nurses, and verify the effectiveness of the program.

C:

The purpose of this subproject was to identify predictors of violence, self-harm, and suicide among persons treated as outpatients living in the community under the Medical Probation Act through a quantitative study.

The following data were collected and analyzed from those who requested research cooperation from the social rehabilitation coordinators in charge of mental health observation of the Medical Probation Act subjects and obtained written consent:

(1) HCR-20V3 evaluation and social reintegration promotion assessment for the outpatient treatment subjects of the Medical Probation Act that the coordinators were in charge of, and basic attributes such as sex, age, target behavior, and type of outpatient treatment (direct outpatient, transitional outpatient) of the subjects. (2) Records of violence and self-harm/suicide of the subject for a period of six months

An examination of the predictive validity of the HCR-20V3 Japan version for "violence against others" and "violence against self (self-harm and suicide)" in the outpatients

showed sufficient predictive validity for violence against others, but not for violence against self (self-harm and suicide). Although predictors of physical violence and self-injury/suicide differed among subjects, it was suggested that within the past three months, challenges in "livelihood stability" were commonly observed for both. The HCR-20V3 risk assessment for violence was useful for predicting violence, but had no predictive validity for self-injury suicide.

D:

Outcome and prognosis studies after the termination of medical observation were not conducted and remained unknown. Therefore, a subproject was conducted to determine the outcome and long-term prognosis after treatment termination.

A comparison of one month after the start of outpatient treatment and one year after the end of treatment showed a decrease in home-visit nursing from designated outpatient care facilities and an increase in home-visit nursing from home-visit nursing stations. Day care and occupational therapy increased, as did employment support facilities. In terms of housing type, the number of group home residents decreased, while the number of single residents and those in hospital increased. After the termination of treatment, the role of social rehabilitation coordinators was taken over by designated outpatient medical institutions (35.3%), counseling offices (30.9%), and others (33.8%). It was suggested that after the termination of the Medical Probation Act, the subjects of the Act may have shifted from the crisis management model (provided by designated inpatient medical institutions at the time of their initial inpatient treatment) to the life support model provided by community-related institutions. In the evaluation by designated inpatient institutions, the percentage of those who were judged "unable" to manage their hospital visits, medications, and finances did not change from the beginning of inpatient treatment to one year after the end of treatment, but rather showed a slight increase. In other words, the results suggest that medical treatment and care for life disabilities are important in maintaining community life and promoting social reintegration of subjects under the Medical Probation Law. Although many of those who had completed treatment continued to live in the community without committing any serious acts of harm, it was clear that they had not yet attained economic independence.

1-4　てんかんの病態解明と併存症を含めた先駆的・包括的診断と治療方法の開発

国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部、総合てんかんセンター
主任研究者名：中川栄二

総括報告書

１．研究目的

てんかん診療全国拠点機関として、当センターでのてんかんに関するリソース・レポジトリーシステムを構築することにより、てんかん発症の病態解明、診断と治療方法の開発・提言を行うことが本研究班の目的である。てんかんの診断、治療に関しては、てんかんセンターを核として精神科、脳神経内科、小児神経科、脳神経外科、放射線科のてんかん医療体制を活かして、特に神経発達症および精神症状を併存するてんかん患者に関するソフト、ハードの両面から望ましい診療体制を提言し、てんかん治療のモデル医療の実現に向けた研究を行う。てんかん患者臨床データベースの質の高い集積を継続して行うことに加え、脳波データベースを新たに構築し脳波から診断、治療ができるシステムを提言し、全国規模での脳波診療ネットワークを構築する。てんかん診療実態調査では、民間レセプト情報データベースから、全国てんかん有病率（受療率）の調査を行う。より実際の疾患有病率に近くなるような解析を行うことで、本邦におけるてんかん有病率を明らかにできる。これらの調査結果は、疾病対策や啓発活動、医療政策構築に役立つ情報となる。

てんかんと併存する精神症状、神経発達症を様々な脳形態・機能画像解析や神経生理学的解析を用いて可能な限り早期に適切な評価と診断を行い、効果的な内科的、外科的治療方法導入の確立を目指す。研究成果をもとにてんかん市民公開講座や全国の医師やメディカルスタッフ、患者向けの研修会、講演会で積極的に発信して啓発活動を行う。

てんかんの基礎研究に関しては、すでに当センターTMC でリサーチ・レポジトリーとして確立された利用可能な試料・情報を利用することにより、てんかんの分子病理学的研究、神経生理学的研究、遺伝学的基礎研究によるてんかんの病態解明等の基礎研究を行う。

2.研究成果：

Ⅰ．てんかん臨床情報データベースの構築

① てんかん臨床情報データベースの整備：てんかんの診療・疾患研究に有効に活用しうる臨床情報データベースの整備を行うと共に、データの効率的な収集・有効な活用のための課題について検討した。JASPHER（精神疾患レジストリ等プロジェクト）では、当センター含め 4 つの NC からの症例情報の集積がすでに開始され、収集されたデータは、6NC 統合診療情報データベースとして、NC 医療研究連携推進本部（JH）によるデータ管理および利活用の運用が予定されている。電子カルテの定型入力を対象とし、異なる電子カルテシステムで共通利用できる汎用規格を

策定し、効率的な情報収集の基盤を整備することを検討している。
② てんかん臨床情報データベースおよび脳神経外科データベースの構築： 当センターにおけるてんかんを対象とする臨床研究、共同研究および治験を促進するための患者データベースを構築する。2021 年 9 月末までに外来延べ患者数 4680 名、入院延べ患者数 5706 名の 2017 年の新しいてんかん国際分類に準拠したデータベースを構築した。脳神経外科手術データベースは、1999 年以降 2021 年 10 月末時点で 2181 件のデータベースとなっている。バイオバンクへてんかん患者を登録する体制を築いた。外科治療を受ける難治てんかん患者を対象に、2017 年 6 月から 2021 年 9 月末時点で 395 名から 同意を取得し、脳検体 297 件、血漿 340 件、血清 186 件が登録されている。同バイオバンクを利活用する形で、てんかん原性腫瘍や皮質形成障害の遺伝子解析を行う研究が実施され、競争的資金の獲得にも役立てている。

Ⅱ．てんかん疫学研究
レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査： 本邦では、成人を含む全年齢層を対象とした本格的なてんかん疫学調査は未だ行われていない。JMDC 社のレセプトデータを用いて 18 歳未満の患者を対象として 2018 年にてんかんとして治療を受けた患者数を推定した。患者数は 9,487、被保険者（家族）は 165,9736、受療率は 1,000 人あたり 5.7 （受療率 0.57%）であった。抗てんかん薬では、バルプロ酸、レベチラセタム、カルバマゼピンが多かった。処方薬剤数では、1 剤が 70%以上で、3 剤以上投与されているのは 20%以下であった。

Ⅲ．てんかん患者における脳波記録のデータベース化に向けた基盤構築：脳波判読ツール作成を目指し、基礎データとなるべく脳波記録をデータベース化するための基盤構築を行った。脳波データ登録の形式や、脳波データ登録に付随する臨床情報シートの内容について、検討、選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を容易に行えるよう European data format (EDF)形式にて登録することし、登録様式として臨床情報シートを作成し、登録システムを構築した。今後は、他施設から登録体制を整え、さらなる発展を目指したい。

Ⅳ．てんかんの適切な診断と治療戦略の研究
① T1WI-CHESS 法を用いた結節性硬化症の中枢神経病変の評価：T1WI-CHESS 法を用いた結節性硬化症の中枢神経病変の評価：結節性硬化症（tuberous sclerosis complex：TSC）の中枢神経病変の検出における T1WI-CHESS の有用性を検討した。結節性硬化症の白質病変の検出能は T1WI-CHESS が最も高かった。従来のルーチンである T2WI や FLAIR に T1WI-CHESS を加えることにより、TSC の中枢神経病変をより正確に検出することが可能に なると考えられた。本研究の中で、通常のシークエンスでは solitary cortical tuber と考えられたが、T1WI-CHESS により複数の白質病変が指摘され、TSC と診断できた症例があった。従来 FCD type Ⅱb や solitary cortical tuber と診断されていた症例の中にも、画像で指摘できていない白質病変があり、TSC を見ていた可能性がある。T1WI-CHESS は日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と

考えられた。 FCD type Ⅱb と同様に、TSC においても T1WI 高信号と balloon cell との関連が示唆された。今後は balloon cell の T1 短縮に寄与する物質を同定し、balloon cell の由来の糸口を掴みたい。

② 片側巨脳症における半球離断術後の脳波の検討：片側巨脳症（HME）の脳波では、suppression-burst（SB）パターン を認めることがあり、半球離断術によって視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も、巨脳側で SB が持続する症例を経験する。現在のところ SB の発生機序は解明されていない。大脳の異常のみによって SB が発生し得ることを明らかにするために、HME における半球離断術後の脳波について検討した。HME の脳波を解析した結果、半球離断術によって巨脳側が対側大脳・大脳基底核・視床・ 脳幹から機能的に切断された後にも巨脳側で SB が認められる症例が多数あり、大脳の異常のみ によって SB が発生し得ることが明らかとなった。SB 発生機序に関する仮説には、視床皮質ネットワーク仮説、皮質過敏性仮説、代謝仮説 などがあるが、今回我々は視床皮質ネットワーク仮説を否定する画期的な結果を得た。

③ てんかんのある患者の抑うつ・不安に関する研究：精神科治療や介入が必要なてんかん患者のうつ病や不安障害の実態を明らかにした。抑うつ・不安を認めるてんかん患者の約半数は 自閉スペクトラム症と知的障害（ASD/ID） を合併しており、ASD/ID の評価は重要である。 うつ病のてんかん患者の半数は心理社会的問題が多く、心理士・ソーシャルワーカーの連携強化が必要 である。 Psychosocial group（P 群)は 心因性非てんかん性発作（PNES）合併が多く、PNES の影響が予想される。ASD/ID 合併、PNES 合併の影響の解析を引き続き進める。

④ 自己免疫性てんかんの研究：成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析として、てんかんと自己免疫性機序の解明のため、複数の自己抗体を一度に検索できる手法の開発検討を行い診断と治療に有効活用することができた。また、広域の周波数帯域の脳波 wide-band EEG では 200 Hz 以上の高周波数帯域の活動、1 Hz 以下の低周波数帯域の活動の記録が可能となり、高周波数律動(HFOs)、直流(DC)電位と呼ばれる脳波活動が新たな情報として得られるようになり、両指標がてんかん原性領域の同定に役立つことが明らかになった。

⑤ てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明：小児てんかん患者を対象に中途覚醒を含めた睡眠の状況について終夜睡眠ポリ グラフ検査（PSG）を用いて評価を行い、客観的バイオマーカーの一つである脳波解析や認知機能検査と睡眠との関連について明らかにした。脳波解析では、てんかん症例では覚醒時の脳機能低下がある可能性が示唆された。また不注意、実行機能異常、学習の 問題などの認知機能障害を認めた前頭葉てんかんでは、12Hz slow spindle のパワー値が高かった。また CSWS や全般焦点合併てんかんでは、前頭部優位の 12Hz spindle が認められなかったことは、覚醒時の脳機能障害や前頭-視床のループ回路の異常を示す可能性が考えられた。てんかん児では、睡眠の質の悪さが、脳機能 障害を呈し認知機能障害を呈する可

能性が考えられた。

Ⅴ． てんかん基礎研究

① 難治性てんかんの遺伝学的解析：難治性てんかんの外科的切除標本を免疫組織染色により、グリア細胞特有のチャンネルや受容体について免疫組織化学的解析による発現解析を行った。海馬硬化および瘢痕脳回のグリア細胞の抗原提示性は非てんかん性疾患による反応性グリア細胞のそれとは異なり、グリア細胞のてんかん原性への関与が示唆された。新生児期より難治性てんかんを来す early-onset progressive leukodystrophy を発見し報告した。また結節性硬化症の遺伝学的解析では、皮質結節の dysmorphic neuron、balloon cell、normal-looking neuron に分けて microdissection を行い、DNA を抽出して PCR で増幅することを確認した。塩基配列解析を進めている。Joubert syndrome-related disease （JSRD）に併発するてんかんについての病態解明を行った。JSRD 患者の遺伝子解析で 46 例中 11 例（約 24%） のてんかんを併発していた。4 例に *CEP290* 遺伝子異常、1 例に *TMEM67* 遺伝子異常、1 例に *TCTN1* 遺伝子異常、5 例が VUS （variants of uncertain significance）であった。今回解析した *CEP290* 遺伝子異常を伴う JSRD 患者は 9 例であり、このうち 4 例にて んかんを併発していたことは既報告に比して高い割合であった。

② てんかんモデル動物を用いた病態解明：(i)*AUTS2* 遺伝子について:脳内の神経細胞は、神経活動を促す「興奮性シナプス」と、逆にそれを抑え込む「抑制性シナプス」で繋がっており、これらの数がバランスよく保たれることで、健やかな精神活動が営まれる。*AUTS2* が興奮性シナプスの新規形成を抑え、刈り込みを促進することで、結果的に興奮性シナプスの数が増えすぎないように調整していることを見出した。一方で、抑制性シナプスに対してはこのような働きが認められなかった。*AUTS2* の機能が失われると、興奮性シナプスの数は増えるが抑制性シナプスは変わらないため、興奮性／抑制性のバランスが破綻してしまい、脳が常に興奮した状態になることがわかった。これがてんかん病理の背景にあることが示唆された。自閉スペクトラム症と小脳との関連が示唆されてきているため、さらに小脳における *AUTS2* の機能についても調べた。*AUTS2* が、プルキンエ細胞の成熟、登上線維シナプスの発生、平行線維シナプスの数の制限、等に関わることによって、社会性行動に関与することを小脳特異的コンディショナルノックアウトマウスを使った実験により明らかにした。(ii)イハラてんかんラット（IER）および *DSCAML1* 遺伝子について： IER の原因遺伝子として *Dscam11* を同定し、また「てんかん症例リサーチリソース」から、いくつかのゲノム変異を同定した。C 末端側のアラニンがスレオニンに変異した症例では、その変異 DSCAML1 蛋白質のフォールディング異常により細胞表面に出ることができず、DSCAML1 蛋白質が機能しない。相同なゲノム変異を持つノックインマウスを作成したところ、IER と同様な表現型が見られたので、ヒトのこのアミノ酸変異が疾患の原因となっている可能性が示唆された。さらに統合失調症、知的障害、自閉スペクトラム症、（てんかん症例を含む）のデータベースから *DSCAML1* 遺伝子の変異を多数抽出した。さらに、代表的な三変異のコードする変異 DSCAML1 タンパク質について、立体構造予測、細胞内局在、タンパク質安定性、細胞接着機能、シナ

プス数制限機能について調べることによって、その変異が精神疾患やてんかんの発症に関連する可能性について調べた。また、4PBA のような分子シャペロンをマウスに投与したところ、DSCAML1 の細胞内局在や神経細胞配置、異常脳波などがレスキューされた。これは、新たな治療法の開発につながると考えている。

（iii）発達障害・てんかんではゲノムの遺伝的変異あるいは体細胞変異によって mTOR 経路の遺伝子に変異が入ることが多いと報告されているこれまでの精神疾患、神経疾患の患者検体を用いた研究は、主として死後脳を用いたものが多く、しかもそれはゲノム・エピゲノム解析およびトランスクリプトーム解析に留まっているものが多い。しかし、mTOR 経路はリン酸化を介した細胞内の伝達カスケードが主体であり、細胞内タンパ ク質のリン酸化状態を包括的に調べない限りは、その疾患で生じている細胞の 病理の実態を理解することはできない。NCNP バイオバンクは、てんかん患者の 多数の手術検体を有している。本研究では、「トランスクリプトーム解析」、「プ ロテオミクス解析」、「リン酸化プロテオミクス解析」を行いビッグデータの収集を行い、「mTOR 関連遺伝子の塩基配列解析」および「mTOR シグナル の活性化の測定」を行う予定である。

③ てんかん原性獲得におけるグリア細胞機能変調との因果関係の研究：てんかん原性型グリア細胞の視点によるてんかん分子病態研究：ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん病態 におけるグリア細胞の役割を検討してきた。モデルマウスを用いて IP3 受容体タイプ 2（IP3R2）依存的な Ca2+過活動依存的にてんかん原生を誘導する「てん かん原生型アストロサイト」の存在を明らかにした。ピロカルピンによるけいれん重積(SE)誘発下に *in vivo* で全脳の Ca2+ imaging を施行し、てんかん重積（SE）中にほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca2+シグナル（超広 域 Ca2+シグナル）が惹起されることを見出した。SE 後のてんかん原生獲得期には、生理的条件と異なり、複数の脳領域にまたがる広い領 域にアストロサイトの Ca2+シグナルが拡散していた。これは、てんかん病態時にアストロ サイトネットワークの機能的再編が起きていることを示唆する可能性がある。今後、無麻酔覚醒下脳波同時記録全脳 Ca2+ imaging を行い、超広域 Ca2+シグナルと神経活動（てんかん発作）の因果関係を解明する。また、薬理学的な介入実験を行うことで、てんかん発作の起始・拡散・抑制過程における超広域 Ca2+シグナルの役割を引き続き解明を行う。

VI. 社会的貢献

日本てんかん学会、日本てんかん協会本部・てんかん協会東京支部と協賛して、東京都てんかん講座、全国てんかん基礎講座の共同開催を行い、てんかんに関する普及啓発活動を行った。

厚労省てんかん地域診療連携体制整備事業の全国てんかん支援拠点として、てんかん診療コーディネーターWEB 研修会を 8 月 1 日と 12 月 12 日に主催した。2021 年 2 月 13 日～14 日に第 9 回全国てんかんセンター協議会総会（JEPICA)を主催した。

国立精神・神経医療研究センター病院てんかんセンター編集.「患者のギモンに答える！

てんかん診療のための相談サポート Q&A.」診断と治療社. 2021.を発刊してんかん啓発活動を行った。

3. 今後の研究の進め方について

厚労省てんかん地域診療連携体制整備事業の全国てんかん支援拠点として、「てんかん診療支援ネットワーク」を整備し、約 1,000 医療機関の医療機関の登録を行った。今後、てんかん診療支援ネットワークを通じて、遠隔医療事業を発展させ、てんかん診療デバイスを用いて、AI 技術を活用した、てんかんと併存する精神症状、神経発達症における画像・血液・脳波等の検査データと、発作症状、行動、身体所見等のデジタルフェノタイピングデータを組み合わせた解析を行い、早期診断が可能となる医療機器プログラム等の研究開発を推進し、早期に適切な評価と診断を行い、効果的な内科的、外科的治療方法導入の確立を目指す。

本てんかん研究班を核として、AMED 星野班（手術検体を用いた発達障害・てんかんの脳内細胞内情報伝達機構の把握）が開始された。引き続き外部研究資金の獲得を目指す。

2023 年度には、第 56 回日本てんかん学会学術集会を開催する予定である。より一層の研究のレベルアップを図りたい。

4. 倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）

個人情報保護法、生命倫理・安全対策に関するガイドライン等に準拠し、倫理基準を遵守して研究を行っている。それぞれの研究分担者が倫理委員会に申請を行い承認された。

5. その他希望事項

特になし

6. 研究成果の発表（原著論文、講演）

2019 年度～2021 年度 3 年間のまとめ

１．主任研究者分　中川栄二

論文 80 編（英文論文 40 編、和文論文 11 編、総説 28 編、査読付論文計 43 編、書籍 1 編）

学会 242 回（国際学会 15 回、国内 107 回、シンポジウム 24 回（国際 3 回、国内 21 回、講演　96 回（国際 2 回、国内 94 回））

２．研究班全体合計

論文 197　編（英文論文 125 編、和文論文 42 編、総説 30 編、うち査読付論文計 120 編）

学会　339　回（国際学会 40 回、国内 259 回、計 299 回、シンポジウム 40 回（国際 3 回、国内 37 回））

【論文】　計（197 編）件　うち査読付論文　計（120）件

1. Itoh M, Dai H, Horike S, Ganzalez J, Kitami Y, Meguro-Horike M, Kuki I, Shimakawa S, Yoshinaga H, Ota Y, Okazaki T, Maegaki Y, Nabatame S, Okazaki S, Kawawaki H, Ueno N, Goto Y, Kato Y. Biallelic KARS pathogenic variants cause an early-onset progressive leukodystrophy. *Brain* 2019:142;560-573. doi.org10.1093/brain/awz001
2. Saito Y, Kaga Y, Nakagawa E, Okubo M, Kohashi K, Omori M, Fukuda A, Inagaki M. Association of inattention with slow-spindle density in sleep EEG of children with attention deficit-hyperactivity disorder. *Brain Dev.* 2019;41(9):751-759. (小児医学新興財団優秀論文賞、イーライリリー賞受賞)
3. Visualization of AMPA receptors in living human brain with positron emission tomography.Miyazaki T, Nakajima W, Hatano M, Shibata Y, Kuroki Y, Arisawa T, Serizawa A, Sano A, Kogami S, Yamanoue T, Kimura K, Hirata Y, Takada Y, Ishiwata Y, Sonoda M, Tokunaga M, Seki C, Nagai Y, Minamimoto T, Kawamura K, Zhang MR, Ikegaya N, Iwasaki M, Kunii N, Kimura Y, Yamashita F, Taguri M, Tani H, Nagai N, Koizumi T, Nakajima S, Mimura M, Yuzaki M, Kato H, Higuchi M, Uchida H, Takahashi T. *Nat Med.* 2020 Feb;26(2):281-288. doi: 10.1038/s41591-019-0723-9. Epub 2020 Jan 20.
4. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kaido T, Kimura Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Takahashi A, Otsuki T.Cognitive and developmental outcomes after pediatric insular epilepsy surgery for focal cortical dysplasia.*J Neurosurg Pediatr*. 2020 Aug 7:1-9. doi: 10.3171/2020.5.PEDS2058. Online ahead of print.
5. Ueda R, Takeichi H, Kaga Y, Oguri M, Saito Y, Nakagawa E, Maegaki Y, Inagaki M. Atypical gamma functional connectivity pattern during light sleep in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Brain Dev.* 2020;42(2):129-139. (小児医学新興財団優秀論文賞)
6. Sone D, Sato N, Shigemoto Y, Kimura Y, Maikusa N, Ota M, Foong J, Koepp M, Matsuda H. Disrupted White Matter Integrity and Structural Brain Networks in Temporal Lobe Epilepsy With and Without Interictal Psychosis. *Front Neurol.* 2020 Sep 24;11:556569. doi: 10.3389/fneur.2020.556569. eCollection 2020.
7. Hori K, Yamashiro K, Nagai T, Shan W, Egusa SF, Shimaoka K, Kuniishi H, Sekiguchi M, Go Y, Tatsumoto S, Yamada M, Shiraishi R, Kanno K, Miyashita S, Sakamoto A, Abe M, Sakimura K, Sone M, Sohya K, Kunugi H, Wada K, Yamada M, Yamada K, Hoshino M. AUTS2 Regulation of Synapses for Proper Synaptic Inputs

and Social Communication. *iScience*. 2020 Jun 26;23(6):101183. doi:10.1016/j.isci.2020.101183. Epub 2020 May 18.

8. Arimura N, Okada M, Taya S, Dewa KI, Tsuzuki A, Uetake H, Miyashita S, Hashizume K, Shimaoka K, Egusa S, Nishioka T, Yanagawa Y, Yamakawa K, Inoue YU, Inoue T, Kaibuchi K, Hoshino M. DSCAM regulates delamination of neurons in the developing midbrain. *Sci Adv.* 2020 Sep 2;6(36):eaba1693. doi: 10.1126/sciadv.aba1693. Print 2020 Sep.
9. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: surgical and developmental outcomes. *J Neurosurg Pediatr*. 2021 Aug 13;28(4):395-403. doi: 10.3171/2021.4.PEDS21123.
10. Yamamoto H, Nakagawa E, Kita Y, Kaga Y, Inagaki M.Effect of anti-attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) medication on clinical seizures and sleep EEG: A retrospective study of Japanese children with ADHD. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2021 Dec;41(4):511-521. doi: 10.1002/npr2.12215. Epub 2021 Oct 20. (日本てんかん学会優秀発表賞受賞)

【学会発表】 計 (299) 件

1. Morimoto E, Matsuda H, Kimura Y, Shigemoto Y, Suzuki F, Fujii H, Nakagawa E, Sasaki M, Iwasaki M, Saito Y, Sato N. Hypermetabolism in the Cerebellar Vermis and the Ipsilateral Red Nucleus Indicates Possible Hyperactivity of the Epileptogenic Focus in Pediatric Epilepsy. American Epilepsy Society 2019 Annual Meetings. Baltimore, USA December 6-10, 2019.
2. Nakagawa E. The Efficacy of Anti-epileptic Drugs for Sleep Disturbance and EEG Abnormality in Developmental Disorders. 24th Conference of Asian Federation on Intellectual Disabilities. Kathmandu, Nepal, December 2-6, 2019.
3. Iwasaki M, Iijima K, Takayama Y, Yokosako S, Kosugi K, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Kimura Y, Kaneko Y, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Seizure Outcome and Complications in Surgical Treatment of Infantile Epilepsy. American Epilepsy Society 2020 Annual Meeting. Dec 5, 2020 (Virtual, USA)
4. Watanabe S, Ming Lei, Nakagawa E, et al. ST3GAL5 mutation in two Chinese sisters with epilepsy, developmental delay, and involuntary movements.The 21st Annual Meeting of the ISS, the International Symposium on Pathophysiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy (ISDEE2020). Tokyo, Japan, June 19-21, 2020.

5. Nakagawa E, Yamamoto H. Effect of methylphenidate and atomoxetine on electroencephalogram sleep studies in children with attention deficit hyperactivity disorder. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
6. Nakagawa E, Fukumura S, T. Language ominance in Children with epilepsy using near-infrared spectroscopy. 34th International Epilepsy Congress, Virtual Congress, 28 August-1 September, 2021.
7. Ueda R, Iwasaki M, Kita Y, Takeichi H, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Okada T, Sasaki M. Improvement of brain function after surgery in infants with posterior quadrant cortical dysplasia. 75th American Epilepsy Society Annual Meeting (AES), Dec 3-7, 2021.
8. Watanabe S, Nakagawa E, Saito T, Iwasaki M. A clinical report on the pathogenesis of suppression-burst by analyzing EEG from hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy. The Lancet Summit: Presymptomatic Prevention and Treatment of Neurodegenerative Diseases., Dec 14-16, 2021.
9. Tabata K, Ishiyama A, Sugai K, Iwasaki M, Sumitomo N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M. A predictor for developmental and epileptic postsurgery prognosis in patients with hemimegalencephaly; A pre- and postsurgery study with N20 at non-HME side of median nerve short latency somatosensory evoked potentials. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
10. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kimura Y, Iijima K, Takayama Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M. Neuropsychological and neurological sequelae after pediatric insular epilepsy surgery. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.

【図　書】　計（7）件

1. 国立精神・神経医療研究センター病院てんかんセンター編集.「患者のギモンに答える！てんかん診療のための相談サポート Q&A.」診断と治療社. 2021.
2. 伊藤雅之. MECP2 Rett 症候群. 小児遺伝子疾患辞典. 小児科診療特集. vol.84 (11), 診断と治療社. 東京. 1484-1486pp, 2021.
3. 伊藤雅之.　病理解剖検査.　小児神経科診断・治療マニアル（改訂第 4 版）.　診断と治療社. 東京. 236-240pp, 2021.
4. 伊藤雅之. Rett 症候群. 遺伝子医学 37 巻. メディカルドウ. 112-119pp, 東京. 2021 年 7 月.
5. 伊藤雅之.　乳児期より重度精神運動発達遅滞をきたし、特徴的な画像を呈した姉妹例.

小児神経疾患の遺伝学的アプローチ. 日本小児神経学会編集. 診断と治療社. 東京. 184-188pp., 2019.

6. 伊藤雅之. ジュベール症候群関連疾患. 生涯教育シリーズ 96. 水澤英洋, 五十嵐隆, 北川泰久, 高橋和久, 弓倉整（監修・編集）. 日本医師会雑誌 148（特別号 1）. 日本医師会. 東京. 131pp., 2019.
7. 谷口豪、宮川希、兼子直（編集）. ラコサミド（lacosamide: LCM): てんかんの薬物療法 効果的な治療薬選択のために, 新興医学出版社, 東京、pp 177-193, 2021

7. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出　願】　計（　2　）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番	出願年月日	国内・外国の別
新生児低酸素性虚血性脳症の重症度判定方法と予後予測方法	伊藤雅之 赤松智久	NCNP	特許権、 特願 PCT/JP2019/013927	2019.3.29	外国
ミクログリア含有中枢神経系内移動剤、及びこれを含む中枢神経系疾患治療薬、並びにミクログリア導入動物、及びその製造方法	小泉修一 パラジュリ ビージェイ 繁冨英治 篠崎陽一 斎藤弘樹	小泉修一 パラジュリ ビージェイ 繁冨英治 篠崎陽一 斎藤弘樹	特願2020-196642	2020.11.27	国内

【取　得】　計（　1　）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番	取得年月日	国内・外国の別
脳循環障害検出マーカー、それを用いた脳循環障害検出方法、及び脳循環障害抑制剤	伊藤雅之 赤松智久	NCNP	特許権、 特許第6941888号	2021.9.9 出願年月日 2015.2.17	国内

片側巨脳症における半球離断術後の脳波の検討

国立精神・神経医療研究センター病院
外来部　中川　栄二

【研究協力者】
国立精神･神経医療研究センター病院　小児神経診療部、脳神経外科*
渡辺　詩絵奈、斎藤　貴志、岩崎　真樹*

【要旨】
背景：片側巨脳症（HME）の患者は生後早期から難治なてんかんを発症し、しばしば発作間欠期の脳波で suppression-burst（SB）を示す。SB の発生機序は未解明である。我々は片側巨脳症患者の脳波所見を長期的に観察し、SB の発生機序を検討した。
方法：2009 年 10 月から 2019 年 3 月に、国立精神・神経医療研究センター病院において 2 歳未満で半球離断術を施行した片側巨脳症 18 例（男児 10 例、女児 8 例）を対象とした。脳波記録から SB の有無を確認した。
結果：巨脳側では、術前に 9 例、術後に 12 例で SB が認められた。非巨脳側では、術前に 5 例で SB が認められたが、術後に SB が認められた症例はなかった。
結論：半球離断術により視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も、巨脳側で SB が出現していることは、SB が大脳皮質の異常のみによって発生し得ることを示している。

【緒言】片側巨脳症（HME）は、一側大脳半球の肥大と脳回形成異常を示す先天性疾患で、生後早期から難治性てんかんを発症し、不全片麻痺、精神運動発達遅滞を伴う。発症時の発作間欠期の脳波は suppression-burst パターンを示すことが多い。薬物療法が無効である場合が多く、早期に大脳半球離断術を行うことで、てんかん発作の消失や発達予後の改善が期待できる。Suppression-burst（SB）は、相対的静止期（suppression）と群発した脳活動（burst）が数秒間隔で交互に出現する脳波パターンであり、大田原症候群や早期ミオクロニー脳症、深麻酔時、低酸素時、低体温時などに認められるが、その発生機序は解明されていない[1,2]。我々は、半球離断術後に視床・対側大脳半球との連絡を断たれた巨脳側において SB パターンが持続している症例があることに注目し、SB の発生機序について検討した。

【対象・方法】2009 年 10 月から 2019 年 3 月に、国立精神・神経医療研究センター病院において 2 歳未満で半球離断術を施行した片側巨脳症 18 例（男児 10 例、女児 8 例）を対象とした。脳波記録から、巨脳側における SB パターンの有無と持続期間を確認した。さらに、SB パターンが認められた症例では、suppression 時間と burst 時間を計測した。

【結果】対象症例のてんかん発症年齢の中央値は日齢 7（日齢 0-2 か月）、手術時年齢の中央値は 3 か月（2-17 か月）だった。術前は規則的な SB パターンのみだったが、術後は suppression が 1-2 秒と短く、burst が 20 秒以上持続する不規則なパターンも認められた。術前術後ともに規則的な SB が認められた 7 例は「suppression 時間 10 秒未満、burst 時間 20 秒未満」であったことから、「burst 時間 20 秒以上」の症例を「SB–(s+)」と定義し、3 例を「SB-(s+)」と判定した。巨脳側では結果的に、「SB+」が術前 9 例・術後 12 例、「SB-(s+)」が術前 0 例・術後 3 例、「SB-」が術前 9 例・術後 3 例だった。術前に SB があり、術後に SB が消失した症例はなかった。非巨脳側では、術前に 9 例で SB が認められたが、術後に SB が認められた症例はなかった。巨脳側における SB の持続期間は、最長術後 6 年 11 か月だった。

【考察】SB の発生機序の有力な仮説には、「視床皮質ネットワーク仮説」「皮質過敏性仮説」

「代謝仮説」の 3 つがある[3-6]。本研究では、半球離断術により対側大脳・大脳基底核・視床・脳幹とのネットワークが消失しても巨脳側で SB が生じており、「視床皮質ネットワーク仮説」で本研究の結果は説明できず、「皮質過敏性仮説」「代謝仮説」によって説明可能と考えた。

【結論】半球離断術により視床・対側大脳半球との連絡が断たれた後も巨脳側で SB が出現しており、SB は大脳皮質の異常のみによって発生し得ると言える。

【参考文献】

[1] Ohtahara S, et al. The early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-burst: developmental aspects. Brain Dev. 1987;9(4):371-376.

[2] Shanker A, et al. Etiology of Burst Suppression EEG Patterns. Front Psychol. 2021 Jun 10;12:673529.

[3] Japaridze N, et al. Neuronal Networks during Burst Suppression as Revealed by Source Analysis. PLoS One. 2015;10(4):e0123807.

[4] Zhang Z, et al. Isoflurane-Induced Burst Suppression Increases Intrinsic Functional Connectivity of the Monkey Brain. Front Neurosci. 2019;13:296.

[5] Kroeger D, et al. Hypersensitivity of the anesthesia-induced comatose brain. J Neurosci. 2007 Sep 26;27(39):10597-607.

[6] Ching S, et al. A neurophysiological-metabolic model for burst suppression. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012;109(8):3095-3100.

てんかん臨床情報データベースおよび脳神経外科データベースの構築

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経外科
岩崎　真樹

【要旨】
てんかんの臨床研究、共同研究および治験を促進するために患者データベースの改善を行った。先行事業において 2011 年 1 月から 2017 年 5 月の期間に、てんかんセンターにおける外来初診患者 5769 件、入院患者 4924 件のデータベースが構築されていた。2017 年 6 月からは医療情報室とバイオリソース部研究補助員による協力体制が築かれており、本研究課題ではその登録を継続した。
データベースソフトウェアによる管理に移行し、ICD10 病名コードを付与することで、病名による患者抽出と集計を可能にした。2017 年てんかん国際分類に準拠した専用テンプレートを診療情報システム上に用意して診断情報を収集し、入院症例の臨床的特徴を明らかにした。2021 年 9 月までに外来 4680 件、入院 4993 件のデータベースが構築されている。
脳神経外科手術データベースは、1999 年以降計 2181 件のデータベースとなっている。2017 年てんかん国際分類に準拠した診断情報を含む豊富な臨床情報を備えており、データベースソフトウェアでの管理と各種クエリの整備によって、臨床研究に活用しやすい体制を整えた。2017 年 6 月から、NCNP バイオバンクへてんかん患者を登録する体制を築いている。外科治療を受ける難治てんかん患者を対象に登録を開始し、2021 年 9 月時点で計 395 名から同意を取得し、脳試料 297 検体が登録された。脳試料は、てんかん原性腫瘍の分子遺伝学的解析の研究課題に利活用されている。今後も継続的に、効率的なデータ構築の仕組みを検討し、バイオバンクの利活用を促進する。手術患者データベースや長時間脳波台帳、小児てんかんデータベースなど、既存データベースとの連携を持たせることでデータの二次利用を可能にする。

【はじめに】
臨床研究、共同研究および治験を促進するためには、その基盤となるデータベース構築が必要である。過去の研究班から継続して、脳神経外科データベースおよびてんかんセンターデータベースの整備が課題となっている。
外科治療の対象となる難治てんかんは術前精査による豊富な臨床情報を有しており、脳神経外科におけるてんかんの臨床情報データベースは極めて重要である。外科的に切除される脳検体は研究用試料として貴重であり、これを効率的に利活用する体制が求められる。
てんかんの共同研究や治験を促進するためには、基本的な診断情報について継続して十分な大きさのデータベースを構築する仕組みが求められる。患者基本情報の取得は容易だが、医師の判断を要する診断項目について、一定の質を担保しつつ悉皆性をもって情報を蓄積するのは困難であった。診断分類等には汎用性の高い用語を用い、必要度の高い項目を選択してデータとする必要がある。
上記の課題を克服することを目的に、本研究を行った。

【方法】
１．脳神経外科データベース
エクセルフォーマット上に構築されていたデータベースを、Microsoft Access®に移行した。患者基本情報に加えて術前診断の各項目（MRI、脳波など）、術後の発作転帰、病理所見、手術分類を加えた。てんかん診断については、国際抗てんかん連盟（ILAE）の 2017 年新てんかん分類に基づいた項目を整備している。[1)]
手術検体の利活用を促進するために、同意取得できた外科治療患者を NCNP バイオバンクに登録する仕組みを 2017 年 6 月に構築した。標本は、ホルマリン固定と凍結保存が解剖学的に対応するように切り出され、将来的に病理学的所見と分子遺伝学的所見が対応するようにした。
２．てんかんセンターデータベース
バイオリソース部の支援を得て、診療支援システムから外来新患と入院新患の基本情報をデータベース化するワークフローを構築した。2019 年 10 月から ICD10 病名コードを付与し、病名をもとにてんかん患者を抽出して整理で

きるようにした。病名コードによる患者抽出の正確性を検証するため、2021 年 3 月から外来帳簿との突合作業を行っている。診療支援システム上にテンプレートを作成し、入院患者を対象に 2017 年新てんかん分類に基づく診断情報をデータベース化した。

【結果】

１．脳神経外科データベース

1999 年以降 2021 年 10 月末までに臨床診断と術式を含む 2181 件のデータベースとなっている。2017 年 4 月以降は新てんかん分類に基づいた診断項目が追加されている。Microsoft Access®に移行し、各種のクエリを用意することで、期間や手術分類などに基づく抽出や集計を容易にした。当センター内の共同研究者に情報提供することで、外科症例を対象にした臨床研究を支援した。

2019 年 4 月 1 日から 2021 年 12 月 31 日までの期間に 192 件のてんかん関連手術が実施され、その内根治目的の手術が 86 件(44.8%)、緩和手術（脳梁離断，迷走神経刺激装置植込）が 55 件(28.6%)、検査目的手術（頭蓋内電極留置）が 29 件(15.1%)であった。根治術に対する検査手術の割合は 33.7%であった。治療目的の手術を受けた患者（n=141）の手術時平均年齢は 13.4 歳で、15 歳以下の小児が 107 件(75.9%)と、小児手術を主体とする当院の特徴が見られた。

NCNP バイオバンクには、2021 年 9 月 30 日現在で脳試料として 297 検体、血漿として 340 検体、血清として 186 検体が登録された。電話説明と郵送による同意取得も併用し、過去に外科治療を受けた患者の登録も進めた。脳試料検体は、てんかん原性腫瘍や皮質形成障害の分子遺伝学的解析（「分子遺伝学的・病理学的・画像的解析による低悪性度てんかん原性腫傷および関連する皮質形成障害の診断に関する研究」[A2018-050]）、てんかん焦点診断に至適な麻酔深度を探る脳波研究（「慢性頭蓋内電極留置中の難治性てんかん患者を対象として、全身麻酔中の脳波変化の統計学的解析によりてんかん焦点領域を同定する探索的臨床研究」）に利活用された。

２．てんかんセンターデータベース

医療情報室およびバイオリソース部研究補助員との協力体制を築き、2017 年てんかん国際分類に準拠したデータベースへの登録体制を 2017 年 6 月から開始した。これに先行して 2011 年 1 月から 2017 年 5 月の期間に外来台帳 5769 件、入院台帳 4924 件が登録されている。今回、2017 年 6 月から 2021 年 9 月までに、外来台帳として 4680 件、入院台帳として 4993 件の登録がされた。外来台帳については、性別、年齢、診療科、病名、居住地、紹介施設、入院台帳については、性別、年齢、診療科、病名、入院目的に基づく集計を行った。外来帳簿との突合作業の結果、月に 3〜5 件の頻度で抽出漏れあるいは過抽出があることが分かったが、多くは保険病名の扱いなどに起因するもので、抽出される患者総数に大きな誤差はないと考えている。

外来患者の 66.4%、入院患者の 83.7%を小児神経科が占めた。外来病名は、てんかんが 60.5%、難治性てんかんが 27.7%、てんかん疑いが 16.9%を占めた。入院目的は検査が 54.6%、経過観察が 26.2%と、非治療目的の入院が 80.8%を占めた。

入院患者を対象にしたテンプレート入力による診断情報からは以下の結果が得られた（n = 611）。てんかん分類は、焦点性てんかんが 67.8%、全般性てんかんが 22.1%を占めた。また、診断の 11.9%は非てんかんであった。

てんかんの病因は、構造的原因の 58.9%に次いで、原因不明が 28.3%を占めた。臨床症候群として多かったのは、皮質形成障害(25.9%)、原因不明(15.5%)、海馬硬化症を伴う内側側頭葉てんかん(6.4%)、Lennox-Gastaut 症候群(5.4%)、腫瘍(5.1%)であった。

【考察】

先行する事業から継続して、てんかんおよび脳神経外科のデータベース構築を進めた。てんかんの診断情報は、2017 年国際抗てんかん連盟（ILAE）国際分類に準拠した。近年は国際分類に準拠した研究発表や論文が強く求められており、重要な対応である。てんかん外科のうち緩和外科が 28.6%と比較的多く、難治性全般てんかんが多い小児を対象とする NCNP の特徴と考えられた。根治術に占める頭蓋内電極留

置の割合は 33.7%と、国際的な報告と一致しており、適応基準に大きな問題がない実態が明らかになった。てんかんの病因としては皮質形成障害が最も多く、これも小児例を主体とする当センターの特徴を反映していた。また、病因を不明とするてんかんが入院例の 28%を占めることが分かった。これも、成人てんかんの約 3 割は病因が不明であるとする過去の報告と矛盾しない実態である。[2]

バイオバンクとの連携により、外科検体を用いた研究の発展が期待される。バイオバンクを利活用することにより、外部への研究の機会を広げられる。過去検体についても同意取得と登録を進めることにより、研究への利用価値が更に高まると思われる。

てんかんセンター台帳からは、小児神経科が診療ボリュームの大半を占める当センターの特徴が明らかになった。厚生労働省のてんかん地域診療連携体制整備事業に参画する自治体が増えるとともに、日本てんかん学会による包括的てんかん専門医療施設の施設認定が 2021 年 4 月に開始された。欧米と異なり、わが国では神経内科を中心とするてんかん診療体制が発展しておらず、施設ごとに小児科や脳神経外科など得意とする専門性が異なる。各施設の診療機能の特徴を明確にし、不足する診療機能を補完するような連携の構築が重要になると思われる。診療データベースは、診療機能を明確にする上で重要な役割を果たす。

バイオリソース部の支援による新しいワークフローを構築したが、質の高い診断情報をどのように効率よく取得するかが、依然として課題である。てんかんに関連する保険病名は実臨床にそぐわない面が多い。また、てんかんの診断には時間を要し、初診時には診断がつかない例も多い。本研究においては、入院症例を対象にして、診療支援システム上の診断テンプレートから診断情報を収集した。今後は、脳神経外科データベースとてんかんセンターデータベース、他診療科データベースとの連携を図ることによって、更に利用価値が高められると考えられる。

【結論】

バイオバンク・バイオリソース部との連携により、研究試料の二次利用を容易にした。医師の負担を最小限に抑えたデータベース構築については、更に方法を検討する必要がある。また、データベースの二次利用を容易にする体制の構築も求められている。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

データベース構築は継続されるべきであり、今後もバイオリソース部との連携を維持する。データベース間の連携、診断情報入力の効率化に向けた工夫を継続して行う。これらは、質の高い研究開発の計画と実施に貢献すると思われる。

【参考文献】

1. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al: ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. Epilepsia 58:512–521, 2017

2. Abramovici S, Bagic A. Epidemiology of epilepsy. Handb Clin Neurol. 2016;138:159-71.

レセプトデータを使用したてんかんの診療実態の調査

国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部
齋藤　貴志

【要旨】
民間のレセプトデータを使用して、てんかん患者数の推定を行なった。健康保険組合のレセプトであるために、小児患者のみを対象とした。保険請求のための病名を除外し、真のてんかん患者数に近づけるためのフローチャートを作成して推計を行った結果、2018 年にてんかんとして医療機関を受診している 18 歳未満の患者数は 5.7/1,000 と推定された。多くの患者では抗てんかん薬は 1 剤のみで治療されていた。5 歳以降では 5-10%の患者で、中枢神経治療薬などの合併症に対する治療が行われていた。脳神経外科的治療の頻度は 1%以下であった。レセプトデータの利用により、本邦での小児てんかん患者の患者数及び林菱実態を明らかにすることが可能であった。

【目的】
てんかんは、最も患者数の多い神経疾患の一つである。諸外国でのデータをもとに、日本でも全年齢層の有病率は少なくとも 0.5～0.8％程度、60 万～100 万人ほどと推測される(1)(2)が、大規模な疫学調査はこれまでに行われていない。小児を対象とした有病率の調査は 1999 年に岡山県で行われた 13 歳未満を対象とした調査がある。その結果では、単発または発熱時の発作を除くと 5.3/1000 となる(3)。日本全国を対象とした、あるいは成人を含む全年齢層を対象とした本格的な疫学調査は未だ行われていない。患者数とその医療需要を明らかにすることは、てんかんに対する対策を行なっていくためにも重要である。
近年、様々な疾患の疫学的調査にレセプトデータが使用されることが増えてきており、神経疾患でも応用されているが(4)(5)、てんかんに関する本邦での調査はない。本研究では、てんかんの疫学的調査の手段として、保険診療にて作成されるレセプトデータを使用することが実現可能かどうか検討し、その後実際にレセプトデータを利用した解析を行う予定とした。

【方法】
レセプトデータは、診療行為に対する保険請求のためのデータであり、研究目的のデータではない。このため、単純に「てんかん」に関連する傷病名を使用した患者をカウントすると、保険請求のために付与された「保険傷病名」の患者もカウントされるため、過大に計算される。てんかん患者数の集計にできるだけ保険傷病名の患者が含まれることを可能な範囲で減らす必要がある。このため、診療行為、処方された薬剤などを組み合わせることで真のてんかん患者に近づけることが必要である。
レセプトデータとしては、母集団が最も多く、研究目的でよく用いられる JMDC 社より 2005 年 11 月から 2019 年までの期間で、てんかん病名（ICD-10 コード G40*）を付与されたレセプトデータを購入した。同社のレセプトデータは健保組合のデータであるため、社会経済的地位が高い集団である。また、65 歳以上のデータはほとんどなく、75 歳以上は基本的にない。一方、日本では、小児のてんかん患者の発症率や診療（受療率、治療方法など）は、被保険者の社会的経済的地位に大きな影響を受けにくいと考えられる。このため、まず小児期の患者の診療実態の調査を計画した。
先に述べたように、てんかんの病名は、保険請求を目的として付与されており、必ずしもてんかん患者に限って与えられているわけではない。このため、てんかんの病名を付与された小児期の患者のうち、真のてんかん患者数に最も近似した患者数を抽出するフローチャート作成した。
次に、てんかんと考えられる患者の診療実態を

明らかにするために、抗てんかん薬の内服数、多く内服されている薬剤、発達障害の治療、外科治療について明らかにした。

【結果】
てんかん患者数を推定するためのフローチャートは、以下のような点に留意し作成した。てんかん（ICD10 コード G40*）を含む傷病名を付与された患者の、病名、診療行為、処方から以下のような手続きを行い、てんかん患者数を集計することが可能であると考えられた。
診療行為：「てんかん指導料」と「在宅迷走神経電気刺激治療指導管理料」はてんかん患者以外では請求ことはないと考えられ、どちらかが請求されていれば、てんかんと考えられる。なお、特定疾患、指定難病の病名のつくてんかん患者（ウエスト症候群などの難治てんかんあるいは、他の難病等の合併がある場合、てんかんであっても、難病指導料が請求され、てんかん指導料が請求されていないことがあるため、この項目の有無のみではてんかんかどうかを判定できない。
処方：一時的な抗てんかん薬の処方は、てんかんではない可能性が高く、4 週間未満の抗てんかん薬処方はてんかん患者の集計から除外する。なお、小児では、双極性障害、神経痛、頭痛など、てんかん以外の疾患に、保険適応外使用される機会は少ないと考えられるため、この点は考慮しないこととした。
これらの点に留意し、フローチャートを作成し検討を行なった。2018 年にてんかん（G40*）の病名を付与された 18 歳未満の小児患者は 19,827 名、母集団は 165,9736 名であった。てんかん患者数を推定すると、患者数 9,487 名、受療率 5.7/1,000 と計算され、過去の報告と同等であり、妥当な推定と考えられた。
処方された薬剤について検討した。抗てんかん薬では、 バルプロ酸が最も多くの患者に処方され、次いでレベチラセタム、カルバマゼピンが多かった。12 歳以上では、女性患者に対し、バルプロ酸処方頻度がやや減少し、ラモトリギン処方頻度が増える傾向があった。

2018 年の初回受診月で処方薬剤数の見津等を行った。1 剤が 70%以上で、3 剤以上投与されているのは 20%以下であった。
薬剤の組み合わせでは、バルプロ酸、カルバマゼピン、レベチラセタムの単剤使用が多く、多剤併用でもこれらの薬剤を中心とした組み合わせが多かった。
抗精神病薬や ADHD 治療薬の併用は年齢の上昇とともに増える傾向があった。
外科的治療に関しては、迷走神経刺激装置埋込術を含む手術は 33 件（脳刺激装置植込術と焦点切除術が行われた 5 例、脳梁離断術が 2 度行われた 1 例あり、患者数自体は 27 例）であった。全てんかん患者数対して、外科治療を受けた割合は 0.28%であった。

【考察】
抗てんかん薬を処方されていない患者、2018 年に医療機関に受診をしていない患者などは把握できないため、実際のてんかん患者数よりは過小に評価されている可能性があるが、概ね過去の報告と同様であった。薬剤コントロールされる患者は 70-80%とされるが、多くの患者が 1-2 剤の抗てんかん薬を処方されている処方実態は、それを反映していると思われる。一方、外科治療が行われた患者は少なく、難治てんかんの患者の中治療の選択肢としての外科治療がまだまだ浸透していない可能性が考えられた。思春期男女に対するバルプロ酸、ラモトリギンの処方の差は、妊娠に向けた薬剤変更が浸透してきていることが反映されていると考えられた。5-10%程度のてんかん患者では薬剤治療が必要な行動上の問題が併存していると考えられた。

文献
1. Bell GS et al. An unknown quantity-The

worldwide prevalence of epilepsy. Epilepsia. 2014 Jul;55(7):958–62.
2. Fiest KM et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. Neurology. 2017 Jan;88(3):296–303.
3. Oka E et al. Prevalence of Childhood Epilepsy and Distribution of Epileptic Syndromes: A Population-based Survey in Okayama, Japan. Epilepsia. 2006 Mar;47(3):626–30.
4. Toyokawa S, et al. Estimation of the number of children with cerebral palsy using nationwide health insurance claims data in Japan. Developmental Medicine & Child Neurology. 2017 Mar;59(3):317–21.
5. Ogino M, et al. Prevalence, treatments and medical cost of multiple sclerosis in Japan based on analysis of a health insurance claims database. Clin Exp Neuroimmunol. 2017 Nov;8(4):318–26.

てんかん患者における脳波記録のデータベース化に向けた基盤構築

国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部
石山　昭彦

【要旨】
脳波記録をデータベース化する目的で、その基盤構築を行った。脳波データベースのハードウェアとしては、日本光電社製の脳波データベースシステムを採用し導入した。脳波データの登録の形式や脳波データ登録に付随する臨床情報の内容について選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を行えるよう European data format（EDF)形式にて登録することし、付随する臨床情報としては臨床情報シートを作成し、各項目について Comma Separated Value (CSV)出力が可能な登録シートのシステムを構築した。センター内の脳波記録データベース化の体制を整え、将来的に全国の多施設からのデータベース化を視野に入れた体制を整え脳波データの登録を開始した。登録体制の拡充をはかり更なる発展を目指したい。

【緒言】
てんかん診療において脳波は中核的な役割を果たす重要な検査である。しかし判読には熟練を要し、かつ軽微な異常所見は見落とされる可能性も高い。てんかん医療水準の均てん化には、そのような問題を解決すべく自動解析などの補助的な判読ツール作成が求められる。本研究では脳波判読ツール作成を目指し、基礎データとなるべく脳波記録をデータベース化するための基盤構築を行うことを目的とした。まず当センター内の脳波記録のデータベース化を行い、将来的には全国の多施設からのデータベース化を視野に入れ、データベース構築が可能なシステム作りを行うことを目指すものである。それにより、臨床研究の発展が期待され、てんかんの病態解明と診断、治療方法の開発の推進につながるものと考えられる。

【方法】
（1）脳波記録のデータベース化を行うが、それにあたり脳波データ登録の形式を検討し、かつ脳波記録に付する臨床情報を選定し、臨床情報シートを作成した。脳波記録の登録のためのサーバの構築を行い、登録を行っていく。
（2）また脳波記録データの研究として、環状20番染色体症候群(r(20))の脳波について発作時の脳波所見の特徴についての検討もあわせて行った。難治てんかんのうち、non-convulsive seizures（NCS)を示し発作中に前頭葉優位の律動的な高振幅徐波を認め、r(20)を疑った症例で、r(20)の確定診断となった5例（r(20)群）、および r(20)を疑ったが染色体異常を認めなかった5例（non- r(20)群）の2群に分け、長時間ビデオ脳波での間欠期脳波の解析、および NCS 発作時脳波の解析を行い①徐波成分の周波数変化、②棘波成分の振幅高について、各々の群間の脳波所見の相違について後方視的に検討した。

【結果】
（1）脳波データベースのハードウェアとしては、日本光電社製の脳波データベースシステムを採用し導入した。脳波データ登録の形式や、脳波データの登録に付随する臨床情報の内容について検討および選定を行い、脳波データは登録後に種々の解析を行えるよう European data format（EDF)形式にて登録することし、付随する臨床情報としては臨床情報シートを作成し、各項目について Comma Separated Value（CSV)出力が可能な登録シートのシステムを構築した。登録項目については脳波データ登録用の Research ID、年齢、性別、検査日、診断名を採用した。それらを構築後、まず脳波データベース構築の第一段階として当施設での脳波データの登録を開始した。

（2）環状 20 番染色体症候群の脳波について発作時の脳波所見の特徴についての検討では、環状 20 番染色体症候群 5 例のうち周波数変動は全例で認め、その変動幅は 2.5～7 Hz の δ～θ 帯域であった。徐波成分の振幅高が棘波成分と比して高い徐波振幅成分優位型は 5 例中の 4 例であった。一方、非環状 20 番染色体症候群群の 5 例のうち周波数変動を認めたのは 2 例であり、徐波振幅成分優位型の例は認めなかった。周波数変動を示し、振幅高の比較で棘波よりも徐波の振幅が高振幅を示す脳波所見を示すことが環状 20 番染色体症候群を疑う際の有用な所見であると考えられた。

【結語】

データベース構築の体制が整い、脳波データの登録を開始した。最終的には他施設から登録体制も整え更なる発展を目指したいところである。脳波データの登録が発展していくことで、今回の解析例に挙げたような環状 20 番染色体症候群のような、てんかんの中でも希少な疾患についても母集団を大きくし、よりエビデンスレベルの高い脳波解析、検討がなされていくことが期待される。

【社会的貢献】

てんかんの脳波解析に関連する臨床的研究を行い、てんかんの国内学会、および国際学会での発表や論文投稿を行ってきた。てんかんや脳波の研究を行うことは、日本におけるてんかん医療に関する政策に貢献でき、それらを発表していくことで最新知見等について広く啓発活動を行えるものと考える。

【倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）】

個人情報保護法、生命倫理・安全対策に関す るガイドライン等に準拠し、倫理基準を遵守 して研究を行った。

【参考文献】

1. 小野博也、石山昭彦、須貝研司、竹下絵里、本橋裕子、斎藤貴志、中川栄二、佐々木征行、環状 20 番染色体症候群の非けいれん性てんかん発作時脳波の検討、てんかん研究 38 巻、2020、19～27

てんかんの成立機序の解明と診断・治療法開発のための基礎・臨床の融合的研究

国立精神・神経医療研究センター病院放射線科
佐藤　典子

【要旨】

我々は限局性皮質異形成（FCD）の MRI 所見である transmantle sign（TMS)の信号評価を行った。術前 MR を検討したところ、約 6%に T1WI 高信号を示す TMS を認め、そのすべてが type IIb であった。病理と比較するとその高信号は Balloon cell の密度を反映していた。この所見は FCD type IIb の鑑別に有用であり、MR のみで subtype を推測することが可能であると思われる。さらに結節性硬化症においても TMS は T1 高信号にみられ、日常診療で頻繁に使用される脂肪抑制法CHESS を付加することで、より明瞭に描出することが推測された。結節性硬化症における脳内病変を T2WI や FLAIR 、T1、T1-MTC、T1WI-CHESS と比較したところ、白質病変の TMS の検出能は、T1WI-CHESS が最も優れていた。さらに通常のシークエンスでは solitary cortical tuber と考えられていた症例が、T1WI-CHESS により複数の白質病変の TMS が指摘され、結節性硬化症と診断できた症例があった。T1WI-CHESS はてんかんの日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と考えられた。またグラフ理論にて 3 DT1 を用いたネットワーク解析では、海馬硬化症を伴う側頭葉てんかん患者（TLE）のネットワークは全脳レベルでは保たれていたが、局所レベルでは健常者と比べて両側 TLE 群で Clustering coefficient の低下、左 TLE 群で Shortest path length の低下を認め、それぞれ、機能分離の低下と、局所的な効率の上昇を意味した。海馬硬化症を伴う TLE において脳内のネットワークは局所的にランダム化している可能性が示唆される。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海馬硬化症を伴う TLE の病態解明に貢献するものと思われる。

【目的】

FCDのMRI所見として知られるTMSは、皮質から脳室に向かう帯状の異常信号で、FCD type IIbでよく認められ、特徴的な所見とされている。TMSは時に、T1WIで高信号を示す症例がある。またこのT1高信号は、結節性硬化症においては、より頻繁に認める所見である。我々は画像所見と病理学的所見を評価し、FCDのTMSにおけるT1WI高信号の成因を検索する。また結節性硬化症の中枢神経病変の検出におけるT1WI-CHESSの有用性も検討する。またグラフ理論を用いたネットワーク解析は、脳内ネットワーク異常を検出する手法であり、てんかん分野でも広く検討されている。近年登場した灰白質の類似度に着目した手法は、ルーチンで取得可能な3D-T1強調画像を用いて脳内ネットワークを個人レベルで評価可能である。我々は海馬硬化症を伴う側頭葉てんかん（TLE）患者にこの手法をはじめて適用することで、特徴的なネットワークパターンを抽出し、その潜在的な有用性を確立することを目的とする。

【方法】過去に NCNP にて手術を行い FCD と病理診断され、かつ術前に MRI 検査を行っている 141 症例の症例から、さらに MRI にて TMS を伴う FCD 患者を検索したところ、25 人の手術例を認めた。この 25 人を後方視的に、臨床、TMS の画像と病理を評価した。FCD type 分類と TMS の T1WI の信号によりグループ分けをした。画像評価は 2 名の神経放射線科による視覚評価である。臨床評価としては、発症年齢と術後発作予後について、グループ間で比較した。発作予後の評価は観察期間を 12 か月以上とし、ILAE outcome　score: 1,2 を good、3〜6 を poor とした。また 2 名の神経病理医により、TMS 部の病理学的評価を行った。TMS 部位の顕微鏡観察 200 倍視野で評価した。評

価項目は balloon cell の数、dysmorphic neuron の数、gliosis の程度、石灰化の程度で、それをグループ間で比較した。

結節性硬化症における CHESS 法の有用性の検討であるが、2018 年 7 月-2021 年 6 月の間に、T1WI, T1WI-MTC, T1WI-CHESS, T2WI, FLAIR を含んだ MRI を撮像された TSC 患者 25 例を評価対象とした。2 名の神経放射線科医で皮質結節、白質病変、上衣下結節の数をシークエンス毎にカウントした。皮質結節、白質病変では周囲正常皮質・白質とのコントラスト比を算出した。病変検出能、コントラスト比の比較を①T1WI、T1WI-MTC、T1WI-CHESS 間、②T2WI、FLAIR、T1WI-CHESS 間で行った。③中枢神経病変数と発作頻度・知的障害との相関性を解析した。④手術症例では画像と病理像との比較を行った。

海馬硬化症における側頭葉てんかんにおけるネットワーク検索であるが、2014 年 2 月～2017 年 10 月に TLE で MRI を撮像し、片側海馬硬化症が確認された 51 例（右 TLE 29 例、左 TLE 22 例）、健常者 51 例を対象とした。SPM12 を用いて 3D-T1 強調画像から灰白質画像を抽出し、2mm 大の等大ボクセル化後、灰白質の類似性を用いたネットワーク解析を用いて、全脳のネットワーク指標である small-world network δ、局所のネットワーク指標である Clustering coefficient、Shortest path length、Betweenness centrality を算出した。3 群間（右 TLE、左 TLE、健常者）でこれらの指標の違いを比較検討した。さらに、これらのネットワーク指標と罹病期間および発作頻度との相関を検討した。

【結果】

TMS を有する 25 人の FCD の内、type II a は 3 人で、いずれも T1 で TMS の高信号は示さなかった。残りの 22 人は全て type II b であった。さらにその 22 人のうちで TMC が T1 での高信号を示した type II b の症例は 9 人でであった。高信号を示さなかった type II b は 13 人であった。T1 高信号で type II b を A 群、T1 非高信号で type II b を B 群、T1 非高信号で type II a を C 群とした。年齢はそれぞれ 6.6±5.9 歳、21.7±14.1 歳、13.3±8.6 歳と A 群で低く、B 群で高かった。病理では A 群は B 群に比べて、優位に Balloon cell が多かった（p=0.007）。しかし dysmorphic neuron の数、gliosis の程度、石灰化の程度は 3 群では優位な差は認めなかった。発症年齢、術後発作予後に有意差はなかった。

結節性硬化症において T1WI、T1WI-MTC、T1WI-CHESS 間での皮質結節の検出能・コントラスト比は、T1WI-CHESS と T1-MTC で有意差はなく、いずれも T1WI よりも有意に高かった。白質病変の検出能・コントラスト比は T1WI-CHESS が T1-MTC よりも有意に高く、いずれも T1WI よりも有意に高かった。T2WI、FLAIR、T1WI-CHESS 間での皮質結節の検出能・コントラスト比は、T2WI と FLAIR で有意差はなく、いずれも T1WI-CHESS よりも有意に高かった。白質病変の検出能・コントラスト比は T1WI-CHESS が T2WI、FLAIR よりも高く、T2WI と FLAIR の間では有意差は認めなかった。中枢神経病変数と発作頻度、知的障害との間に有意な相関性は認めなかった。手術症例の画像と病理像との対比では、T1WI-CHESS で高信号を示した部位に balloon cell を認め、同部には石灰化は認められなかった。

全脳のネットワーク指標 δ は正常、右海馬硬化症による TLE、左海馬硬化症による TLE の 3 群間で有意差は認めなかった（p>.05）。局所レベルでは、右 TLE、左 TLE ともに健常者と比べて Clustering coefficient の低下を認めた（p<.001, uncorrected）。これらの低下は、同側側頭葉だけでなく、前頭葉や対側側頭葉にも分布し、左 TLE の方が右 TLE より広範な低下を認めた。Shortest path length は左 TLE で両側脳梁・帯状回周囲の低下を認めたが

（p<.001, uncorrected）、右 TLE では低下は認めなかった。Betweenness centrality は、右 TLE、左 TLE ともに有意な変化は認めなかった。全脳、局所のネットワーク指標と臨床情報（罹病期間、発作頻度）との間に有意な相関は認めなかった。TLE のネットワークは全脳レベルでは保たれていたが、局所レベルでは健常者と比べて両側 TLE 群で Clustering coefficient の低下、左 TLE 群で Shortest path length の低下を認めた。Clustering coefficient の低下は機能分離の低下をあらわし、TLE では同側側頭葉だけでなく、前頭葉や対側側頭葉などの局所的な機能分離の低下が示唆される。このような広範な Clustering の低下は、過去の functional MRI や DTI を用いた解析結果と一致し、構造 MRI を用いた解析でも脳機能を反映した結果が得られると期待される。左 TLE で認めた脳梁・帯状回周囲の Shortest path length の低下は、同部の局所的な効率の上昇をあらわす。効率が上昇することで、分離していたクラスター同士がつながって機能分離が低下し、右 TLE と比べて広範な Clustering coefficient の低下に至った可能性が示唆される。海馬硬化症を伴う TLE において脳内のネットワークは局所的にランダム化している可能性が示唆される。

【結語】

FCD の MR と病理との比較により、MR での T1 信号は Balloon cell の密度を反映している可能性があり、この所見は FCD type IIb の鑑別に有用で、つまり FCD のサブタイプ鑑別に有用である。結節性硬化症の白質病変の検出能は T1WI-CHESS が最も高かった。従来のルーチンである T2WI や FLAIR に T1WI-CHESS を加えることにより、TSC の中枢神経病変をより正確に検出することが可能になると考えられた。T1WI-CHESS はてんかんの日常臨床で積極的に活用すべき撮像法と考えられた。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海馬硬化症を伴う TLE の病態解明に貢献する可能性がある。

【今後の研究計画と期待される研究】

FCD や皮質結節の Balloon cell のどの成分が T1 高信号の原因となるかは未だ明らかではなく、今後さらに探求を行うことによって、balloon cell の由来の糸口を掴み、FCD の発生や分類に貢献したい。灰白質の類似度を用いたネットワーク解析は、海馬硬化症を伴う TLE 以外のてんかん疾患にも広く応用可能で、FDG-PET や脳血流、脳波との関係性も絡めて、病態研究を進めていきたい。

成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科
金澤　恭子

【要旨】
本研究では、成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について、潜因性てんかん症候群の患者等において自己免疫の関与、wide-band EEG の 2 つの点について解析した。主に内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究、自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究、Wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究を行った。

【目的】
本研究では、成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について、以下の 2 つの点について解析する。

- 潜因性てんかん症候群の患者等において自己免疫の関与が示唆されているが[1]、活動性の炎症所見に乏しい症例も多く、診断が困難である。自己免疫の関与が明らかにできれば、免疫治療によりてんかん発作を抑制できる可能性がある。我々はこれまでに、自己免疫性脳炎の臨床像等について検討・報告を行ってきた[2]。

- デジタル脳波計の進歩により、従来のいわゆる Berger 帯域より広域の周波数帯域の脳波が臨床的に記録可能となり、これを wide-band electroencephalography(EEG)と呼ぶ[3]。通常の脳波で記録される周波数活動に加え、wide-band EEG では 200 Hz 以上の高周波数帯域の活動、1 Hz 以下の低周波数帯域の活動の記録が可能となり、高周波数律動(HFOs: high frequency oscillations)、直流(DC: direct current)電位と呼ばれる脳波活動が新たな情報として得られるようになった。両指標はともにてんかん原性の中核領域を示唆することが予想され、てんかん焦点のバイオマーカーとして注目されるとともに、てんかん診療への応用が期待される。我々はこれまでに、発作時 DC 電位と HFOs がてんかん原性領域の同定に役立つことを報告した[4]。DC 電位と HFOs との関連、臨床的有用性を評価し、てんかん原性の病態を検討できれば、新たな治療法や薬剤の創造に貢献できる可能性がある。

【方法】
主に以下の 3 つの研究を行った。
1. 内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究
2. 自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究
3. Wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究

【結果】
1. 内側側頭葉の画像異常と自己免疫性炎症性機序との関連についての観察研究：てんかんや記銘力障害などを発症し、頭部 MRI にて片側もしくは両側内側側頭葉の画像異常を認める症例が存在し、自己免疫性炎症性機序が関与している可能性がある。髄液検査や FDG-PET、ECD-SPECT 等で活動性の炎症を示唆する所見を呈さないこともしばしばあるが、免疫治療が効果を示す場合があり、診断が困難である[5]。内側側頭葉の画像異常は、特に片側性の場合はてんかん重積後の変化や腫瘍などでも見られるため判断が難しい[6, 7]。内側側頭葉の画像異常を認める症例の臨床経過や治療反応性を検討することにより、同異常を認めた場合の検査・治療方針の選択について有用な知見を得られる可能性がある。
   本研究では、てんかんや記銘力障害を発症し、頭部 MRI にて片側もしくは両側内側側頭葉の画像異常を認め自己免疫性脳炎が疑われる症例の臨床経過、髄液検査や画像検査等の所見の変化、治療反応性等を後方視的に検討し、同異常を認めた場合の検査・治療方針の選択について有用な知見が得られた。

2. 自己免疫性脳炎における遺伝的素因を検討する共同研究：自己免疫性脳炎の中でも辺縁系脳炎は早期診断・加療が必要となるが、抗神経抗体の測定が本邦では時間がかかること、また抗体陰性症例では診断に至らないことなどが問題で、不十分な治療による認知症・難治性てんかんの原因となっている現状がある。これまで難治性てんかんを呈する自己免疫性辺縁系脳炎の臨床症状・画像所見などを用いた臨床的な診断基準を作成する取り組みが行われてきたが 1、volumetry を加えた 3TMRI や FDG-PET、長時間ビデオ脳波、SPECT などの画像・生理的検査を加えた評価や、血液・髄液のリンパ球解析などを含めた病態評価、発症の危険因子となる遺伝子解析はなされておらず、抗神経抗体毎に自己免疫性辺縁系脳炎のバイオマーカーの解明が必要である。

   本研究は、急性期の病態を反映した血液・髄液・唾液検体、画像・神経生理学的検査などを用いて、自己免疫性辺縁系脳炎の新規バイオマーカー発見を目的としており、倫理申請を完了し、症例登録を開始した。
3. wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究：薬剤抵抗性部分てんかんのてんかん焦点摘出術等の目的で頭蓋内電極を慢性に留置した患者を対象とし、wide-band EEG の手法を用い DC 電位、HFOs を含め解析を行い、その性状と時間的・空間的相関、臨床的有用性とヒトのてんかん原性の病態を検討する。

   発作時 DC 電位は一般的に時定数を 0.1 から 10 秒にするとより明瞭となる、陰性あるいは陽性の 3 秒以上持続する電位で、出現部位、波形、持続時間、振幅に再現性があるものとされる。HFOs は短時間フーリエ変換でバンド状のパワー上昇として同定される高周波数活動である。

   国外では時定数 10 秒で記録できる脳波計は少なく 2 秒で記録されることが一般的であるため、時定数 2 秒で記録されたデータでの DC 電位の有用性について多施設共同研究を開始した。

【考察】

その他、難治部分てんかん患者の焦点検索における、発作時 DC 電位・HFO の記録および解析の標準化案について報告した[8, 9]。発作時 DC 電位、HFOs は定義、記録・解析方法などがコンセンサスの形成の途上であり、評価の方法も様々であるため、比較検討することが難しいことがある。頭蓋内電極記録を施行されたてんかん患者の発作時脳波を多施設合同で解析し、その際生じた問題点を議論し、記録・解析の標準化へ向けて共通の試案を作成した。

また、自己免疫性脳炎の遺伝的な素因についての研究、前方視的に症例を登録し臨床経過を検討する研究について、他施設と共同で進めている。

【結語】

てんかんの有病率は 0.4-0.9%、米国や先進国では 1.2%といわれている。認知症や脳梗塞にも合併するため、社会の高齢化に伴い今後成人のてんかん患者は増加すると考えられる。70%の患者では抗てんかん薬で発作がコントロールされるが、就業、結婚等を含め社会的な不利益を被ることも少なくない。またてんかんの患者以外でも抗生物質、抗菌薬などの薬剤の副作用としてもてんかん発作は生じうる。成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について解析することは患者の QOL の向上に資すると考えられる。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

1. 自己免疫性脳炎については、遺伝的素因を検討する共同研究を継続して進める。前方視的に症例を登録し臨床経過を検討する多施設共同研究については、主機関との契約について調整を進める。

2. wide-band EEG の手法を用いたヒトのてんかん原性の病態に関する観察研究：術前評価のため頭蓋内に電極を留置した難治性部分てんかんの症例において、発作時

DC 電位と HFOs の性状と時間的・空間的相関、臨床的有用性とヒトのてんかん原性の病態を検討する。また、抗てんかん薬やけいれん重積が DC 電位及び HFOs に与える影響等についても検討する。

【行政政策への貢献度】

てんかんが今後 10 年間で解決を図るべき重要な疾患であることが 2015 年に WHO で決議された。てんかんが治療可能な疾患であることが諸国で理解されつつあり、日本でも一般社会の理解が少しずつ改善してきた。成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療について検討を進めることは日本におけるてんかん医療に関する政策に貢献すると考えられる。

【参考文献】

1.Toledano M, et al.: Autoimmune Epilepsy. Semin Neurol 35:245-258, 2015
2.Kanazawa K, et al.: Persistent frequent subclinical seizures and memory impairment after clinical remission in smoldering limbic encephalitis. Epileptic Disord 16:312-317, 2014
3.Worrell GA, et al.: High-frequency oscillations in human temporal lobe: simultaneous microwire and clinical macroelectrode recordings. Brain 131:928-937, 2008
4.Kanazawa K, et al.: Intracranially recorded ictal direct current shifts may precede high frequency oscillations in human epilepsy. Clin Neurophysiol 126:47-59, 2015
5.Dubey D, et al.: Evaluation of positive and negative predictors of seizure outcomes among patients with immune-mediated epilepsy: a meta-analysis. Ther Adv Neurol Disord 9:369-377, 2016
6.Malter MP, et al.: Suspected new-onset autoimmune temporal lobe epilepsy with amygdala enlargement. Epilepsia 57:1485-1494, 2016
7.Reyes A, et al.: Amygdala enlargement: Temporal lobe epilepsy subtype or nonspecific finding? Epilepsy Res 132:34-40, 2017
8.中谷 光, et al.: 難治部分てんかん患者の焦点検索における、発作時 DC 電位・HFO の記録および解析の標準化案. てんかん研究 35:3-13, 2017
9.中谷 光, et al.: 難治性部分てんかん患者の焦点検索における、発作時 DC 電位・発作時 HFO の記録および解析の手引きに向けて（多施設合同による解析手法）. てんかん研究 37:38-50, 2019

てんかん臨床情報データベースの整備

国立精神・神経医療研究センター病院　臨床研究・教育研修部門 情報管理・解析部　医療情報室
波多野　賢二

【要旨】
インハウスてんかん臨床情報データベースと、電子カルテの患者基本情報・受診情報・診断情報等を連携するシステムを開発し、診療情報を用いた患者抽出の効率化・精緻化が実現した。さらにデータベースの RDB サーバ移行等の改善を行い、データベースの環境整備を行った。さらに、てんかん臨床情報データベースの外部データベース連携を視野に、当センター病院の診療データとセンター外で構築されている疾患レジストリ・症例データベースとの連携の環境整備を進めた。6NC の共同研究事業である JASPEHR プロジェクトでは、当センター病院として初めて診療データのオンライン外部連携を実施し、その成果と課題について検討を行った。

【はじめに】
センター病院に電子カルテが導入され約 10 年が経過し、蓄積される診療情報の量的・質的な価値は日々大きなものになっている。近年進歩がめざましい AI の診療への活用の試みも多く行われるようになり、診療情報の活用のニーズが益々大きくなっている。てんかんセンターでは、診療科横断的な患者台帳の整備が進んでおり、電子カルテの診療情報を活用した効率的な疾患データ収集・管理が望まれている。また、Real World Data としての電子カルテの診療情報やレジストリデータの活用が注目され、多施設の診療情報収集プロジェクトが立ち上がっている。

【目的】
てんかんの診療・疾患研究に有効に活用しうる、インハウスてんかん患者データベースの整備および、データの効率的な収集・有効な活用のための課題について検討する。病院電子カルテシステムの診療データを、リアルワールドデータとして外部の疾患レジストリ・症例データベースと連携し、二次活用を可能にするシステムの開発整備と課題検討を行う。

【方法】
インハウスてんかん患者データベースの整備ついて、データベースの基礎情報となる受診患者情報を電子カルテデータベースから抽出するシステムを開発し、抽出データの精度向上のための条件検討を行う。さらに、てんかん患者データベースの環境改善を目的にデータベースのオンラインサーバ化を行う。診療情報の外部データベースとの連携に関して、電子カルテシステムからの臨床データ取り出しの標準形式である、SS-MIX2 標準ストレージを整備し、6 ナショナルセンターの電子カルテ統合データベースプロジェクト（JASPEHR）等の外部データベース・レジストリとデータ連携を行う環境を構築する。

【結果】
・インハウスてんかん臨床情報データベースの整備
電子カルテから抽出する外来・入院患者の名簿に、病名のコード・属性情報を追加した。これにより、てんかん患者の判別が容易になり、データベース登録患者の選択作業の効率化とデータベース情報の精緻化が図られた。現在も、外来受診患者の抽出条件の見直し等、改善を継続的に実施している。データベース環境は、デスクトップアプリケーションから、診療系ネットワークに配置するリレーショナルデータベースサーバ（MS SQL Server2019）に移行した。これにより、データ管理機能の向上、セキュリティの強化が実現された。
・Real World Data としての診療情報活用の環

境構築
JASPEHR プロジェクトにおいて、2015 年度以降の当センター病院の全受診患者（約 45,000 人）の診療データをオンラインでデータセンターに送信し、継続的にデータ更新を実施している。この案件は、当センター病院の診療情報の初のオンライン外部連携事例となる。データ送信と並行して、データ内容の点検を行い、不足しているコード情報の整備などの改善を実施している。他に、精神疾患レジストリに電子カルテの精神科退院サマリのデータの送信を開始するなど、診療情報と外部レジストリの連携を徐々に進めている。

【考察】

てんかんは、多様な病因と病態・症候を持ち、他の神経疾患・発達障害等との合併も多く、データベースとして管理すべき情報は他疾患に比べ多く、内容も複雑である。本研究およびてんかんグループのメンバーの協力により、当センターにおける疾患情報データベースの構築と臨床情報との連携について、基本的な環境整備ができたと考えるが、今後てんかんの複雑多岐な疾患情報を管理できるシステムの構築を進める必要がある。また、今後の課題として、インテリジェントな手法によるフリーテキストからの情報自動抽出・部門サブシステムに蓄積されている画像・波形・レポートデータへの対応を進めることで、疾患データベースの質・量の充実が図れると考えている。

JASPEHR プロジェクトや、精神疾患レジストリ等の外部レジストリ研究との連携の実践を踏まえて、リアルワールドデータとしての電子カルテデータ活用の環境構築をさらに進める必要があると考えている。てんかん臨床情報データベースについては、現状はインハウスでの構築を行っているが、将来的に外部レジストリとの連携や多施設データベースへの展開が課題となることが考えられる。これまでの本研究の成果により、データベースの外部連携に向けた技術的・データ管理的な環境作りができたと考えている。

難治性てんかんの分子病理学的病態解明

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所疾病研究第二部
伊藤　雅之
【研究協力者】
北見欣一、大島拓也、代紅梅

【要旨】
本研究では、多岐にわたる難治性てんかん疾患の分子病理学的研究を行い、原因遺伝子と病態の解明を行った。①新生児期より難治性てんかん、難聴、重度発達遅滞で発症し、石灰化を伴う大脳白質変性症の臨床像を明らかにし、原因遺伝子としてLysRSをコードするKARS遺伝子を同定した。変異KARS遺伝子産物は、対照群に比して有意に活性低下があった。これらの成果をKARS-related leukodystrophyとして報告した。②海馬硬化の病巣部のグリア細胞のイオンチャンネルと受容体の発現解析を行ない、瘢痕脳回のグリア細胞と比較検討した。その結果、病因、病巣の違いによるグリア細胞の発現に明らかな相違はないことがわかった。難治性てんかんのグリア細胞では共通の病態があるものと考えられた。また、結節性硬化症のloo-of-heterogenityについて、病巣部の特異的細胞のsingle cellの遺伝子解析を行なった。これらの成果により、難治性てんかんの多角的に分子病理学的及び遺伝学的解析により病因・病態を明らかにした。

【目的】
難治性てんかんは多剤併用でもてんかん発作のコントロールが困難な疾患であり、その原因には様々な基礎疾患がある。近年の遺伝子解析技術の進展により、多くの疾患の原因遺伝子が解明されているが、これまで解明されていない疾患も少なくない。本研究では、難治性てんかん疾患の原因遺伝子と発症病態の解明を遺伝子解析や分子病理学的手法によって解明する。具体的には、次の疾患について多角的な病態解明をおこなう。
①新生児期より難治性てんかん、難聴、重度発達遅滞で発症し、石灰化を伴う大脳白質変性症（KARS-related leukodystrophy）の原因遺伝子を明らかにし、その発症病態を解明する。②海馬硬化症（HS）や結節性硬化症（TSC）の病理検体を用いた発症病態の解明を行う。海馬硬化症の病理像は神経細胞の脱落とグリオーシスであるが、脳波異常を伴う難治性てんかんを呈する。病巣部のグリア細胞のてんかん原性について分子病理学的に解析する。また、結節性硬化症の発症には、loss-of-heterogeneity(LOH)が想定されている。microdissectionにより、皮質結節の特徴的なdysmorphic neuronとballoon cellのsingle cell DNA sequencing技術によりLOHの機序を解明する。

【対象と方法】
難治性てんかんと診断され治療目的で外科的に摘出された病理検体及び剖検による病理検体を用いて、次の実験を行った。
①難治性てんかんを伴う特異な大脳白質変性症の原因遺伝子と病態解明：症状の類似性が高い7例の患者DNAを用いて、HiSeq2000によるエキソームシークエンス解析を行った。異常遺伝子の共通性とin silico解析から原因遺伝子を探出し、リジンtRNA合成酵素（LysRS）をコードするKARS遺伝子異常を同定した。さらに、患者にみられた変異KARS遺伝子を発現ベクターに組み込み異常タンパクを合成し、ATP消費測定による活性測定を行なった。アフリカツメガエル胚へのantisense morpholino oligomerへのinjectionおよび発現ベクターによるrescue実験などを行った。
②HSのグリア細胞のてんかん原性の分子病理学的解明では、HSと臨床病理診断された20例のパラフィン切片を用いて、グリア細胞のイオンチャンネル及び受容体（P2RY1とP2RY2、P2RY4、Kir4.1、Kv4.2、mGluR1、mGluR5）

の免疫組織化学とウエスタンブロットによる発現解析を行った。対照4例の結果と比較検討した。また、TSCの遺伝学的解析では、研究同意を得た3例のTSC患者の手術検体を固定後、4-6μm厚切片を作成し、ヘマトキシリン染色を行い病変部のdysmorphic neuron、balloon cell、その他の細胞について、microdissection（Leica; LMD6500）により取り出した。収集した各細胞群からゲノムDNAを抽出し、TSC2遺伝子のPCR増幅を行い、次世代シークエンサー（Life Technologies社, Ion Torrent）とサンガーシークエンス解析を行った。得られたデータをCLC workbenchにより分析した。

倫理面の配慮：生体試料を用いた遺伝子解析については、すでに当センターの倫理問題検討委員会の承認を得ている。また、遺伝子解析にあたって患者あるいは代諾者への説明と同意のもとに行った。本研究の生物学的研究は当該施設に設置されている組換えDNA実験安全委員会および小型実験動物倫理審査委員会の承認のもとで行なった。また、動物の倫理を尊重し、最小限の負担で遂行した。

【結果】

①小児期に発症する難治性てんかん疾患の新規原因遺伝子と発症病態の解明：全例でKARS遺伝子異常をホモ接合体あるいは複合ヘテロ接合体で発見した。いずれの遺伝子変異も、SIFTやMutationTasterなどで高い病因性を予測した。また、変異KARS遺伝子産物は、対照群に比して有意に活性低下があった。Xenopus胚の解析結果から臨床表現型を再現することができた。臨床および特徴的な画像の類似性から新規疾患と考えられ、KARS-related leukodystrophyと命名し臨床像と病因遺伝子異常を明らかにした。aminoacyl tRNA合成酵素の遺伝子異常は、神経系疾患で報告されているが、我々の報告した疾患は表現型と遺伝子の新規性があり、KARS遺伝子異常による新しい疾患概念を提唱した（Brain 2019:142;560-573）。

②難治性てんかん病巣のグリア細胞のてんかん原性：難治性てんかんの診断下に病変部を外科的切除標本を免疫組織染色により、グリア細胞特有のチャンネルや受容体について免疫組織化学的解析による発現解析を行った。その結果、海馬硬化および瘢痕脳回のグリア細胞の抗原提示性は非てんかん性疾患による反応性グリア細胞のそれと同様のパターンがあることが分かった。グリア細胞のてんかん原性への共通した病態が示唆された（Pediatr Dev Pathol 2019;22(6):532-539）。

また、結節性硬化症の遺伝学的解析では、皮質結節の dysmorphic neuron、balloon cell、normal-looking neuron に分けて microdissection を行い、各 20 細胞から DNA を抽出して PCR で増幅し、塩基配列解析を行った。これらの試料について、TSC2 遺伝子の PCR を行い、増幅産物をサンガーシークエンスにより配列を確認した。

【考察】

難治性てんかんの患者検体を用いて、分子病理学的及び遺伝学的解析を行い、多角的に病因・病態を調べた。

①新しく小児期に発症する難治性てんかん疾患の臨床像と病因遺伝子異常を明らかにした。aminoacyl tRNA 合成酵素の遺伝子異常は、広く神経系疾患で報告されているが、今回見つかった表現型はこれまでにない。KARS 遺伝子異常の報告は 1 例報告が多く、そのスペクトラムが広いことから疾患概念が確立できなかったが、今回の研究から LysRS 活性の残存が表現型に影響を及ぼしている可能性が示唆され、新しい疾患概念を提唱することができた。

今後、本研究で明らかにした KARS-related leukodystrophy の疾患のモデル動物を作成し、その発症病態の解明と新規治療法開発を行う。

②既報告の瘢痕脳回病巣のグリア細胞のイオンチャンネルと受容体の免疫組織化学とウエスタンブロットによる発現解析の結果（J

Neuropathol Exp Neurol 2014;73(8):798-806)と比較検討を行なった。病因、病巣の違いによるグリア細胞の発現に明らかな相違はないことがわかった。難治性てんかんのグリア細胞では共通の病態があるものと考えられた。

また、TSCはてんかんや知的障害、腎障害、不整脈など多彩な症状を呈し、乳幼児期より多彩な障害をきたす疾患である。遺伝形式は常染色体優性遺伝で、原因遺伝子TSC1あるいはTSC2異常がheterozygousに存在する。変異を持つalleleの対立alleleに変異が体細胞レベルで入ることにより病態が形成づけられる。すなわち、細胞レベルでTSC1あるいはTSC2の機能喪失によりmTOR活性亢進状態となり、様々な細胞活動に影響すると考えられている。TSCの病態を細胞レベルで解析し、TSCの発症機序とLOHの関連性を分子遺伝学的に解明し、分子機構を明らかにすることが重要である。現在までの解析では、病的細胞の遺伝子配列の確認を終えている。LOHの関与について検討中であり、今後培養細胞への遺伝子導入などにより、生物学的意義を解明する。

【参考文献】

1. Itoh M, Dai H, Horike S, Ganzalez J, Kitami Y, Meguro-Horike M, Kuki I, Shimakawa S, Yoshinaga H, Ota Y, Okazaki T, Maegaki Y, Nabatame S, Okazaki S, Kawawaki H, Ueno N, Goto Y, Kato Y. Biallelic KARS pathogenic variants cause an early-onset progressive leukodystrophy. Brain 2019:142;560-573. doi.org10.1093/brain/awz001
2. Aoki Y, Hanai S, Sukigara S, Otsuki T, Saito T, Nakagawa E, Kaido T, Kaneko Y, Takahashi A, Ikegaya N, Iwasaki M, Sugai K, Sasaki M, Goto Y, Oka A, Itoh M. Altered Expression of Astrocyte-Related Receptors and Channels Correlates With Epileptogenesis in Hippocampal Sclerosis. Pediatr Dev Pathol 2019;22(6):532-539. doi: 10.1177/1093526619855488.
3. Sukigara S, Dai H, Nabatame S, Otsuki T, Hanai S, Honda R, Saito T, Nakagawa E, Kaido T, Sato N, Kaneko Y, Takahashi A, Sugai K, Saito Y, Sasaki M, Goto Y, Koizumi S, Itoh M. Expression of astrocyte-related receptors in cortical dysplasia with intractable epilepsy. J Neuropathol Exp Neurol 2014;73(8):798-806. doi: 10.1097/NEN.0000000000000099.

【行政施策への貢献度】

難治性てんかんは治療の困難さに加えて、社会生活や家庭生活への影響が大きい。その病因・病態解明は有効な治療法の開発には必須である。今回の研究では、KARS-related leukodystrophy の臨床像と原因遺伝子、細胞生物学的意義について世界で初めて報告した。これまで未知とされていた疾患の概念を確立した。また、てんかん病巣部のグリア細胞は、その疾患により特徴的な遺伝子発現パターンがあることがわかった。

これらの結果は、病態に合った治療法の開発について提言することが可能となることが期待される。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

今後の研究は、①KARS-related leukodystrophy のモデル動物を作成し、その発症病態を明らかにすることにより、新規治療法開発の基盤を作る。②グリア細胞のてんかん原性を in vivo で再現し、治療法の開発を行う。また、LOH の分子遺伝学的な病的意義を培養細胞を用いて解明する。

これらの成果により、多彩な病因・病態を有する難治性てんかんの治療法開発の基盤となることが期待される。

てんかんモデル動物を用いた病態解明と治療法の開発

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　病態生化学研究部
星野　幹雄

【研究協力者】
田谷　真一郎、堀　啓、川内大輔

【要旨】
我が国にも多数のてんかん患者がいるが、その中には、未だに病態がわかっておらず、それ故に診断法、治療法が確立されていないてんかんも少なく無い。そこで、てんかんの原因遺伝子の一つである *AUTS2* の遺伝子改変動物、およびてんかんモデル動物の一つであるイハラてんかんラット (IER)の解析を通して、てんかんの発症と病態進展に関わる病理を明らかにすることを目指した研究をおこなった。終脳特異的な *Auts2* ノックアウトマウスの解析から、AUTS2 タンパク質が興奮性シナプスの数を制限する機能を持つこと、その異常により興奮性/抑制性のバランスが崩れてんかんの原因となりうることが示唆された。また、*Auts2* の小脳特異的 KO マウスの解析から、AUTS2 が小脳発生に関与し、その異常により社会性行動異常が引き起こされることも明らかになった。さらに、IER の原因遺伝子として Dscaml1 を同定し、またヒトてんかんにおいて *DSCAML1* 遺伝子に変異を持つ症例を同定した。その変異によって作られる異常 DSCAML1 タンパク質はタンパク質フォールディングに異常を来たし、細胞表面へと露出できないために正常な機能を失うことが示唆された。以上から、この二つの遺伝子のヒトてんかんの病態との関連の一端が明らかにされた。

【諸言】
我が国にも多数のてんかん患者がいるが、その中には、未だに病態がわかっておらず、それ故に診断法、治療法が確立されていないてんかんも少なく無い。しかし、もしもそのようなてんかんの良いモデル動物を開発することができれば、病態の理解や診断法・治療法を検討することができる。我々は過去に、イハラてんかんラット (IER), *Auts2* ノックアウト (KO)マウス、などの複数種類のてんかん動物モデルを作製し、その解析などを行ってきていた。本研究では、これらの動物モデルをさらに解析・利用することにより、ヒトてんかんの発症・病態進展機構を理解し、さらに診断法・治療法の開発に道を拓くことを目指した。ヒトてんかんリサーチリソースからのヒト相同疾患を同定も本研究の目的とした。

【方法】
(i) AUTS2-flox 系統を用いて終脳特異的 (Emx1-Cre)および小脳特異的 (En1-Cre)ノックアウト(KO)マウスを作成し、その表現型を解析する。
(ii) IER の原因遺伝子(Dscaml1)を同定し、そのノックアウトマウスを作成し、その表現型を解析する。
(iii)ヒトてんかんにおける DSCAML1 遺伝子の変異を同定し、それと相同なノックインマウス(A2105T 型変異 Dscaml1 マウス)を作成、解析し、その表現型を解析する。

【結果】
(i) *AUTS2/Auts2* 遺伝子について
我々は、終脳特異的ノックアウト(KO)マウスの解析及び in vitro 培養細胞実験から、AUTS2 タンパク質が興奮性シナプスの新規形成を抑え、刈り込みを促進することで、結果的に興奮性シナプスの数が増えすぎないように調整していることを見出した(Hori et al, 2020)。一方で、抑制性シナプスに対してはこのような働きが認められなかった。AUTS2 の機能が失われると、興奮性シナプスの数は増えるが抑制性シナプスは変わらないため、興奮性／抑制性のバランスが破綻してしまい、脳が常に興奮した状態になることがわかり、これがてんかんの原因となっていることが示唆された。また、小脳特異的 KO マウスの解析から、AUTS2 がプルキンエ細胞の成熟とプルキンエ細胞に投射する興奮性シナプスの形成に関わることを見出した。この KO マウスは運動学習に障害を示し、さらには、仲間のマウスとうまくコミュニケーションが取れないなど、自閉症によく似た症状

も示すことも分かったため、小脳機能異常による ASD などのモデルマウスとなることが期待された（Yamashiro et al,2020）。さらに、終脳特異的 KO マウスの解析から、大脳皮質浅層神経細胞の産生に関与することが示唆された（投稿準備中）。

(ii) IER（イハラてんかんラット）について

我々は、IER の原因遺伝子として *Dscaml1* を同定し、また「てんかん症例リサーチリソース」から、いくつかのゲノム変異を同定した。C 末端側のアラニンがスレオニンに変異した症例では、その変異 DSCAML1 蛋白質のフォールディング異常により細胞表面に出ることができず、DSCAML1 蛋白質が機能しない。相同なゲノム変異を持つノックインマウスを作成したところ、IER と同様な表現型が見られたので、ヒトのこのアミノ酸変異が疾患の原因となっている可能性が示唆された（Hayase et al, 2020）。さらに、薬理学的シャペロンによるレスキュー実験から新たな治療法開発に努めている。また、いくつかのヒト精神疾患（統合失調症、ASD 等）で見つけられた DSCAML1 遺伝子の変異型について、培養細胞を使ってその機能を検証した（Ogata et al., 2021）。さらに、ファミリー分子 DSCAM が脳発生において神経細胞の終足の脳室面からの離脱にかかわることを明らかにした(Arimura et al., 2020)

【考察】

AUTS2については、大脳皮質の浅層神経細胞の産生に関わる分子メカニズムを明らかにすると共に、てんかん、精神疾患の病態との関連についてさらに調べる必要がある。また、DSCAML1のタンパク質フォールディング異常型については、分子シャペロンを用いた治療法の開発を試みる必要がある。将来的には、タンパク質の立体構造異常による疾患に広く適用できる治療法となる可能性が期待される。

【行政政策への貢献度】

AUTS2 ノックアウトマウスおよびイハラてんかんラットと *Dscaml1* ノックアウトマウスを動物モデルとして用いて、新たな診断法および治療法を開発することができれば、てんかんや精神疾患患者に対して大きく貢献できると考えられる。

【今後の研究計画】

てんかんの手術脳検体を用いた、多層オミックス（ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム、リン酸化プロテオーム）を行い、ビッグデータ解析することにより、てんかんの病態をさらに明らかにしていく予定である。

てんかんのある患者の抑うつ・不安に関する研究

国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部てんかん診療科・精神科
谷口　豪

【要旨】
てんかんに合併する精神障害としては抑うつと不安が多い。抑うつと不安のスクリーニング検査で抽出したてんかん患者の臨床的特徴、選択された治療法、精神症状の改善度などを後方視的に検討した。
スクリーニング検査で抽出され精神科診断で抑うつ、不安はそれぞれてんかん外来初診患者 168 人において 55 人（33%）、53 人（32%）に認めた。これらの患者を精神科診断に基づき分類したところ、うつ病 31 人が最も多く、次いで知的障害・発達障害 27 人、精神病 12 人、不安障害 4 人だった。
31 人のうつ病患者で、27 人は抑うつスクリーニング検査で陽性だったが、4 人は不安のスクリーニング検査でのみ陽性だった。うつ病患者で生物学的要因が大きい群は心理社会的要因が大きい群に比べては受診時の年齢が高い、症候性局在関連てんかんが多い、発作抑制が少ない PNES 合併が少なかった。両群ともに、治療には抗てんかん薬の調整や外来精神療法が施行されて軽度改善することが多かった。

【はじめに】
てんかん患者はてんかん発作のみならず様々な心理社会的な困難を抱えており、一般人口に比べて高率に精神障害が合併する。てんかん患者に合併する精神障害としては抑うつが最も多く、次いで不安が多いことが知られている 1)。抑うつや不安の合併はてんかん発作以上に患者の QOL に影響を与えることがあるだけでなく、抑うつや不安が合併することによって発作のコントロールが不良になる、自殺のリスクが高くなるなどの影響もあり、てんかん患者における抑うつや不安を適切な診断・治療することが求められている 2)。そのため、てんかん診療医が抑うつや不安を評価するスクリーニング検査が欧米を中心に汎用されている。しかし、てんかんに合併する抑うつや不安の背景は多様であり、実際にスクリーニングで抽出した患者に対してどのような治療や介入が必要・有効なのかは不明なままである。

【方法】2020 年 4 月から 2021 年 10 月までに当院てんかんセンター精神科外来を受診した 239 人の患者から、心因性非てんかん性発作などの非てんかん発作（PNES）のみの患者やスクリーニング検査未回答（知的障害、認知症）の患者を除いた、てんかん患者 168 人を対象患者とした。
それぞれの患者の病歴、検査所見、てんかん診断、精神科診断、NDDI-E（Neurological Disorders Depression Inventory for Epilepsy: 抑うつスクリーニング検査）、GAD-7（Generalized Anxiety Disorder-7:不安スクリーニング検査）、CGI-S（Clinical Global Impression-Severity: 臨床全般重症度）、向精神薬の使用の有無、環境調整の有無、精神療法の有無、CGI-I（Clinical Global Impression-Improvement: 臨床全般改善度）などを後方視的に解析した。
本研究は国立精神・神経医療研究センター倫理委員会より実施の承認を受けている。

【結果】
1．対象群の患者背景
168 人（男性 69 人、女性 99 人）の平均年齢は 35 歳（12-78 歳）であった。
紹介元の診療科は精神科（86 人：51%）、脳神経外科（47 人：28%）、小児科（19 人：11%）、脳神経内科（12 人：7%）、その他（4 人：2%）であった。

てんかん診断は症候性局在関連てんかんが最も多かった（109 人：65%；側頭葉てんかん 86 人、前頭葉てんかん 47 人、後頭葉てんかん 12 人、局在不明 38 人)。特発性全般てんかん（17 人：10%)、症候性全般てんかん（6 人：4%)、その他（2 人：1%）となり、症候群分類不明（34 人：20%）も含まれた。37 人の患者に PNES が合併していた（22%)。

2．スクリーニング検査陽性および精神科診察で抑うつ・不安を認めた患者

対象患者のうち NDDI-E でカットオフ（16 点）以上だった 62 人中で精神科診察の結果、抑うつ症状ありと診断されたのは 55 人（33%）であった。GAD-7 でカットオフ（10 点）以上だった 60 人中で精神科診察の結果、不安症状ありと診断されたのは 53 人（32%）であった。

カットオフ以上の抑うつ状態を認めたが不安症状はカットオフ以下だった患者(Dep-only)は 21 人、カットオフ以上の不安症状を認めたが抑うつはカットオフ以下だった患者(Anx-only)は 19 人、カットオフ以上の抑うつと不安症状を認めた患者(Dep & Anx)は 34 人であり、対象患者の 44%にあたる合計 74 人の患者が抑うつあるいは不安の症状を認めていた。

3．精神科診断

抑うつあるいは不安症状を認めた 74 人の患者を、精神科診断に基づき分類した。

その結果、うつ病 31 人が最も多く（42%)、次いで知的障害・発達障害 27 人（36%)、精神病 12 人（16%)、不安障害 4 人（5%）だった。

各精神科疾患の抑うつ症状・不安症状の内訳は以下の通りであった。

うつ病 31 人は、Dep-only 12 人(38%)、Anx-only 4 人(13 %)、Dep & Anx 15 人(48%)。知的障害・発達障害 27 人は、Dep-only 5 人(19%)、Anx-only 10 人(37 %)、Dep & Anx 12 人(44%)。

精神病 12 人は、Dep-only 4 人(33 %)、Anx-only 3 人(25%)、Dep & Anx 5 人(42%)。不安障害 4 人は、Dep-only 0 人(0%)、Anx-only 2 人(50%)、Dep & Anx 2 人(50%)。

4．うつ病患者 31 人の解析

うつ病患者 31 人を対象としてその病因分析を行った。

てんかん発作関連因子(Ictal factor)、抗てんかん薬関連因子(AED factor)、脳器質的因子(Biological factor)、心理社会的因子(Psychosocial factor)の 4 つの病因の中から最も患者のうつ病発症に影響を与えたと考えられるものを最大 2 つまで選択し評価し、うつ病の重症度に関しては Clinical Global Impression-Severity scale (CGI-S)で評価した。

その結果、Psychosocial factor のみ 13 人、Psychosocial + Biological factors 5 人、Biological factor のみ 5 人、Psychosocial +AED factors 4 人、Biological +AED factors 3 人、Biological + Ictal factors 1 人という 6 つのパターンを示した。

このうち、Psychosocial factor のみ 13 人と Psychosocial + AED factors 4 人を Psychosocial Depression 群（P-D 群)、それ以外の 14 人を Biological Depression 群（B-D 群)とした。そして、両者の臨床的特徴について統計学的手法を用いて比較した（P 値 0.05 未満は統計的有意差あり。P 値 0.05 以上 0.1 未満を傾向があるとした)。

受診時平均年齢は B-D 群 39.3 (SD: 13.3)歳、P-D 群 30.2 歳（SD: 10.6）と統計的有意差を認め（P=0.042)、Biological 群の受診時年齢は高かった。症候性局在関連てんかんの割合は B-D 群が 86%、P-D 群は 53%であり、B-D 群においては症候性局在関連てんかんが多い傾向がみられた（P=0.068)。発作抑制の

割合は B-D 群 7%、P-D 群 35%と、B-D 群は発作抑制が少ない傾向がみられた(P=0.094)。PNES の合併は、B-D 群 14%、P-D 群 47%と、B-D 群は PNES の合併が少ない傾向がみられた（P=0.068)。

５．治療継続したうつ病患者の解析

上記 31 人のうつ病のあるてんかん患者のうち、3 か月以上当院で治療継続した患者 21 人(B-D 群 11 人、P-D 群 10 人)について解析した。

主たる治療法としては、抗てんかん薬の調整、向精神薬の開始、外来精神療法、環境調整、認知行動療法（本格的な精神療法）の中から最大 2 つまで選択して評価し、うつ病の改善度は Clinical Global Impression-Improvement scale (CGI-I)で評価した。抗てんかん薬の調整は B-D 群 45%、P-D 群 40%、向精神薬の開始は B-D 群 64%、P-D 群 30%、外来精神療法は B-D 群 55%、P-D 群 60%、環境調整は B-D 群 9%、P-D 群 30%、認知行動療法は B-D 群 0%、P-D 群 20% といずれも統計的有意差を認めなかった。

CGI-I は B-D 群平均 2.8 (SD 1.1)、P-D 群は平均 3.3（SD 0.9）で、統計的有意差を認めなかった。

【考察】

１．てんかん患者における抑うつ症状

てんかんの抑うつに関する研究ではしばしば、抑うつ症状（状態像）とうつ病（精神科診断）が混同されていることが多い。てんかん患者における抑うつ症状（うつ病）は 11～44%と報告によって幅広いが、これは調査対象や評価方法の違い、そして抑うつとうつ病を混同していることを反映していると考えられる **1)2)**。近年本邦から発表された研究では 18.3～18.6%と報告されている **3)4)**。

今回の研究では抑うつ症状は全体の 33%に認め、実際にうつ病の診断に至ったのは全体の 18.4%という結果であったが、うつ病の割合は本邦からの報告と一致する。また、今回の調査では抑うつ症状はうつ病以外にも精神病、知的障害・発達障害の二次性障害などにも認めるのが明らかとなっており、スクリーニング検査で陽性となった患者をそのまま、うつ病として治療するのではなく、精神科診断をする必要がある可能性が示唆された。

てんかんのうつ病の背景は多様であり、今回の我々の結果でも生物学的要因が大きい群と心理社会的要因が大きい群に 2 分することができた。両群にはいくつかの臨床的背景の差があったが、選択された治療法や治療による改善度には差がなかった。これは必ずしも選択された治療法が適していないのが理由の一つとして考えられる。特に心理社会的要因の場合は本来ならば環境調整や心理療法を優先すべきであるが、実際にはそれを施行できるリソースが不足しているため向精神薬の追加や外来精神療法をする頻度が増えている可能性がある。うつ病の改善度が軽度にとどまったのもそれらが影響しているのかもしれない。

第二の理由としては観察期間が短いこと、症例数の少なさが考えられる。

２．てんかん患者における不安症状

不安はてんかん患者の 15～25%にみられる、うつ病に次いで 2 番目に多い精神障害である。今回の我々の研究では不安はてんかん患者の 2%という結果であり、既存の報告と大きく異なる。その理由としては我々の研究では、うつ病、精神病、知的障害・発達障害といった不安障害以外で不安症状を呈する精神疾患を除外したため既存の報告よりも低い数値になったと考える。

GAD 7 は不安のスクリーニング検査として開発されたが、てんかん患者において NDDIE と併用することによって相補的に抑うつと不安を評価することが示されている **5)**。今回の我々の研究でもうつ病 31 人の中で NDDIE で

はカットオフ以下だったが GAD 7 とカットオフ以上でうつ病と診断された患者が 4 人いる(4/31: 13 %)。さらに知的障害・発達障害の患者では GAD7 のみでカットオフ以上の患者におけるその割合は 37%と高く、精神病患者においても 25%認めている。このように簡易なスクリーニング検査である GAD 7 を実施するのは不安障害のみならずその他の精神障害の評価にも役立てられる可能性が考えられた。
GAD7 および精神科診断で不安障害と診断に至った症例は 4 人と少ないため、その臨床的特徴や治療経過に関しては検討できておらずこれは今後の課題である。

【今後の研究計画と期待される研究成果】
１．引き続き、精神科てんかん新患症例で NDDIE と GAD7 を施行し症例数を増やし解析を進めていく。
症例数が増えることにより「うつ病」と「不安障害」の診断に至る症例が増え、これらの精神科的合併症のあるてんかん患者の臨床的特徴、背景因子、治療法、予後などの項目について解析することにより、非精神科のてんかん診療医でも最適な精神科治療を選択することができるようになることが期待できる。
２．環境調整や心理療法などの非薬物療法が必要なうつ病患者の特徴や数が明らかになることで、現在のてんかん診療におけるうつ病治療のアンメットニーズが明確になり、改善度の向上が期待できる。
３．不安や抑うつ症状のある知的障害・発達障害の患者についても臨床的特徴、背景因子、治療法、予後などの項目について解析する。

【行政政策への貢献度】
本研究が計画した目標を達し成果をあげることで、てんかん患者の精神症状の過少評価が減り、適切な治療が行われる可能性が高くなり精神症状の改善が期待できる。その結果、てんかん患者の QOL は改善し社会参加が促進されることも期待できる。

【参考文献】
1) Schimitz B. Depression and mania in patients with epilepsy. Epilepsia 46 (Suppl 4): 45-49, 2005
2) Micoulaud-Franchi JA, Bartolomei F, Duncan R et al. Evaluating quality of life in epilepsy: The role of screening for adverse drug effects, depression, and anxiety. Epilepsy Behav 75: 18-24, 2017
3) Mori Y, Kanemoto K, Onuma T et al. Ander is a distinctive feature of epilepsy patients with depression. Tohoku J Exp Med 232: 123-128, 2014
4) Azuna H and Akechi T. Effects of psychosocial functioning, depression, seizure frequency, and employment on quality of life in patients with epilepsy. Epilepsy Behav 41: 18-20, 2014
5) Micoulaud-Franchi JA, Lagarde S, Barkate G et al. Rapid detection of generalized anxiety disorder and major depression in epilepsy: validation of the GAD-7 as complementary tool to the NDDI-E in a French sample. Epilpsy Behav 57: 211-216, 2016

てんかん原性型グリア細胞の視点によるてんかん分子病態研究

山梨大学　大学院総合研究部　医学域　[1]薬理学講座、[2]山梨 GLIA センター、3 小児科
小泉修一[1,2]、佐野史和[1,2,3]

【要旨】
本研究では、グリア細胞依存的なてんかん原生および発作原生機構の解明を目指して検討を行った。具体的には、ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、我々が以前に報告した「てんかん原生型アストロサイト」においては、RNA-seq 解析による表現型解析から代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)の発現亢進が特徴的であることを見出した。さらに、細胞外 ATP が adenosine A2b 受容体を介して mGluR5 の再発現に関与すること、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスを用いて、アストロサイトにおける mGluR5 の発現亢進が苔状繊維異常発芽を介してんかん原生獲得に寄与することを解明した。また、in vivo 全脳 Ca^{2+} imaging 法を用いて、ピロカルピンによるけいれん重積(SE)誘発中および、SE 後のてんかん原生獲得期には、ほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca^{2+}シグナル（超広域 Ca^{2+}シグナル）が惹起されることを見出した。これらの成果は、アストロサイトを標的とする新規創薬に繋がりうる基礎的な成果となる可能性がある。

【緒言】
我々は、これまで過剰な神経興奮（けいれん発作）の結果として引き起こされると解釈されてきたてんかん病巣におけるアストログリオーシス（アストロサイト活性化）に着目し、てんかん病態の原因にアストロサイトがより能動的に関与している可能性を検討してきた。

前回研究班でも報告してきたように、実際にはピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん原性獲得過程におけるグリア細胞の役割を検討してきた。前回研究班においては、前述のモデルマウスを用いて、活性化ミクログリアが誘導する IP_3受容体タイプ 2（IP_3R2）依存的な Ca^{2+}過活動依存的にてんかん原生を誘導する「てんかん原生型アストロサイト」の存在を報告した。

しかし、この Ca^{2+}過活動から、てんかん原性および発作原生に至る分子メカニズムは解明されていなかった。そこで今回研究班においては、グリア細胞依存的なてんかん原生および発作原生機構の解明を目指して、さらなる検討を追加した。具体的には、てんかん原性型アストロサイト依存的なてんかん原生獲得機構解明のため、「てんかん原生型アストロサイト」の RNA-seq 解析による表現型解析を行い、てんかん原生型アストロサイトに高発現する分子として、シナプス新生関連遺伝子としてしられる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)を同定した。また、アストロサイト初代培養系を用いて mGluR5 の発現亢進分子機構を解明すると共に、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスを用いて、アストロサイトにおける mGluR5 の発現亢進が苔状繊維異常発芽を介してんかん原生獲得に寄与することを解明した。

さらに、てんかん病態におけるグリア細胞の役割の視点を広げ、上記のような長期的なてんかん原生獲得に与える影響とは異なる、グリア細胞がてんかん発作の起始・拡散・終結など(発作原生)に果たす役割を解明するための予備実験を開始した。

【方法】
てんかん原生プロジェクト：ピロカルピン誘導側頭葉てんかんモデルマウスを用いて、てんかん原性を獲得した野生型マウスの海馬から、磁気分離法によりアストロサイトを分離した。これまでの研究で、IP_3R2-KO マウスは、てんかん原性を認めないことから、同様にピロカルピンによるけいれん重積（SE）誘発後の IP_3R2-KO マウスのアストロサイトも分離し RNA-seq 解析を行った。RNA-seq 解析の結果、

てんかん原生型アストロサイトに高発現する分子として同定された、シナプス新生関連遺伝子としてしられる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)について、アストロサイト初代培養系を用いて mGluR5 がアストロサイトで発現亢進する分子機構を検討した。また、アストロサイト特異的 mGluR5 欠損マウスの表現型解析を行った。

発作原生プロジェクト：Aldh1l1-creERT2::GCaMP6f マウスを用いて、ピロカルピンによるけいれん重積(SE)誘発下に、in vivo で全脳の Ca^{2+} imaging を施行した。また、自発てんかん発作の起始・拡散・抑制などにアストロサイトの Ca^{2+}過活動が果たす役割を解明するため、ピロカルピンによる SE 誘発 1 日後、7 日後、28 日後（てんかん原生獲得期）に同様の手法で in vivo 無麻酔覚醒下で全脳の Ca^{2+} imaging を施行した。

【結果】

てんかん原生プロジェクト

1）RNA-seq によるてんかん原生型アストロサイトの表現型解析

野生型マウスにおいては SE により、438 遺伝子発現が亢進し、150 遺伝子の発現が低下した。しかし、IP_3R2KO では SE により 105 遺伝子の発現が亢進し、324 遺伝子で発現が低下した。さらに SE により野生型マウスで発現亢進し、かつ、IP_3R2KO では変化しない分子、つまりてんかん原性型アストロサイトの実行分子候補として、50 の遺伝子を抽出し、その中にシナプス新生関連遺伝子としてしられる代謝型グルタミン酸受容体(mGluR5)を見いだした。

2）アストロサイトにおける mGluR5 発現亢進分子機構の解明

まず、mGluR5 が生後発達初期のアストロサイトには発現しているが、正常アダルトアストロサイトではほぼ発現していないこと注目し、生後 21 日目程度までの幼若野生型マウスを用いて、生後発達に伴う mGluR5 発現低下と逆相関するシグナル経路を探索し、adenosine A2b 受容体を見いだした（なお、A2b 受容体は中枢ではアストロサイトに特異的に発現している)。さらに、アストロサイト初代培養系を用いて、細胞外 ATP が adenosine A2b 受容体を介して mGluR5 の再発現に関与することを見出した。

3）アストロサイト mGluR5 依存的なてんかん原生獲得機構の解明

まず、蛍光免疫組織化学染色法を用いて、野生型マウスにおいてはアストロサイトにおける mGluR5 の発現は生後 21 日目にほぼ消失する一方で、てんかん原生を獲得した野生型マウスの成獣では（つまりてんかん原生型アストロサイトでは)、mGluR5 が再発現することを確認した。次に、mGluR5 がシナプス新生関連遺伝子であることから、側頭葉てんかんの特徴的病理像の一つとして知られる苔状繊維異常発芽に注目して解析を行った。野生型マウスではけいれん重積 4 週間後に苔状繊維異常発芽を認め、けいれん閾値が低下していたが、アストロサイト特異的 Grm5cKO マウス（Glast-creERT2::floxGrm5）では、同時期の苔状繊維異常発芽は有意に抑制され、けいれん閾値の低下も認められないことを見出した。

発作原生プロジェクト

1）ピロカルピンによる SE 中の in vivo 全脳 Ca^{2+} imaging

Aldh1l1-creERT2::GCaMP6f マウスを用いて、ピロカルピンによる SE 誘発下に、in vivo で全脳の Ca^{2+} imaging を施行した。その結果、ピロカルピンにより誘導した SE 中に、ほぼ全脳に広がる極めて同期性の高い Ca^{2+}シグナル（超広域 Ca^{2+}シグナル）が惹起されることを見出した。

2）SE 後のてんかん原生獲得期の in vivo 全脳 Ca^{2+} imaging

ピロカルピンにより誘導した SE 誘発後には、経時的に複数の脳領域でアストロサイトの Ca^{2+}活動が亢進していくことを見出した。特に、

SE 誘発 7 日後・28 日後では、生理的条件下では観察されない超広域 Ca^{2+}シグナルに類似するような、複数の脳領域にまたがる同期性の高い Ca^{2+}シグナルが惹起されることを見出した。また、今後の脳波同時記録実験の予備的検討のため、全脳 Ca^{2+} imaging の時間解像度の技術的な限界を検討し、25msec/frame までの撮影は可能であることを見出した。

【考察】

てんかん原生プロジェクトを通じて、てんかん原生型アストロサイト依存的なてんかん性神経回路（興奮性神経回路）形成機構を分子レベルで解明した。具体的には、1）てんかん原生型アストロサイトでは mGluR5 の発現が亢進しており、2）mGluR5 依存的に苔状繊維異常発芽を介してんかん原生獲得（けいれん閾値の低下）に関与する可能性が示唆された。また、発作原生プロジェクトを通じて、薬物誘導けいれん重積発作中およびてんかん原生獲得期には、生理的条件下では認められない超広域 Ca^{2+}シグナルが惹起されることを見出した。この超広域 Ca^{2+}シグナルが過剰に同期した神経細胞の過興奮（すなわちけいれん発作）と関連する可能性はあるが、今回の検討ではその因果関係までは言及できなかった。

【行政政策への貢献度】

これらの結果は、アストロサイトの mGluR5 を標的とする新規創薬に繋がりうる成果である。また、今後の研究で超広域 Ca^{2+}シグナルの発生機構及び神経細胞の活動との因果関係が解明されれば、アストロサイトを標的とする新規抗けいれん薬の開発につながりうるさらなる基礎的なデータを創出できる可能性があると考えられた。

【参考文献】

1）Shigetomi E et al. Int J Mol Sci 2019; 20: 996
2）Koizumi S et al, Int J Mol Sci 2021; doi: https://doi.org/10.3390/ijms23010149
3）Sano F et al. JCI Insight. 2021; 6: e135391(2021)
4）Tanaka M et al. GLIA, 2021; 69（11), 2546-2558. doi: 10.1002/glia.24006
5）Kim SK et al, J Clin Invest, 2016; 126, 1983-1997.

てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明

山梨大学医学部小児科
加賀佳美

【研究協力者】
上田理誉、田中美歩（国立精神・神経医療研究センター　知的・発達障害研究部）
齋藤貴志、中川栄二、佐々木征行（国立精神・神経医療研究センター病院　小児神経科）
岩崎真樹（国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経外科）
田丸径，犬丸淑樹，佐野史和，深尾俊宣，石井佐綾香，青柳閣郎（山梨大学医学部小児科）

【要旨】
てんかんと睡眠と認知機能は密接な関連がある事が知られているが、小児てんかん児の睡眠が認知機能に及ぼす影響について客観的に評価した報告は少ない。そこでこの研究では、小児てんかん患者の睡眠の実態を明らかにし、その認知機能について神経生理学的心理学的手法を用いて明らかにすることを目的とした。検討 1：小児てんかん例に対して睡眠習慣と認知機能の関連について調べるために 5〜19 歳までの 91 例に質問紙調査を行ったところ、てんかん児では、中途覚醒例が 35%に認められ、睡眠習慣の悪さが明らかとなった。また中途覚醒例では、干渉抑制機能障害、ことばの読み書きの学習習得の低下、適応行動の低さ（特に内在化障害）を認めることがわかった。検討 2：てんかん児 6 例について、終夜睡眠ポリグラフ検査（PSG）を用いて睡眠の評価を行い、脳波周波数解析と実行機能との関連について調べた。認知機能障害のある例では、REM 睡眠が短く、前頭部優位の 12Hz slow spindle のパワー値が高くなっていた。てんかん児全例で覚醒時脳波の徐波化を認め、日中の脳機能の低下および、前頭葉機能障害の可能性が考えられた。以上より、てんかん児では、睡眠の質の悪さが症状としても脳機能解析からも存在することがわかり、睡眠の質の低下が認知機能障害をひきおこす可能性が考えられる。

【はじめに】
従来、てんかんと睡眠の関係についてはその密接な関連性について報告されている。徐波睡眠時に発作波が出現する徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症（CSWS）や、夜間の発作の多い前頭葉てんかん（FLE）、睡眠時に特徴的な脳波所見を示す中心・側頭部に棘波を持つ良性小児てんかん(BECT)など、小児特有のてんかんは、睡眠と密接な関係がある。また睡眠障害が発作を増悪したり、認知機能障害を来したりすることもあるといわれ [1]、睡眠、てんかん、認知機能との関連性を明らかにする事は非常に重要である。従来の報告では、てんかん患者では、不眠症や過眠症、閉塞性睡眠時無呼吸（OSA）、中枢性無呼吸、睡眠時随伴症などの睡眠障害が多く、OSA に対する CPAP や不眠症に対するメラトニン治療で発作が改善するという報告もある [2]。また、これまでのわれわれの検討により、小児てんかんでは、適応行動が低く、とくに自閉スペクトラム症(ASD)様行動と睡眠時発作が関連していたことを報告した [3]。特に適応行動は、睡眠時に発作が多い群で低下しやすいことから、認知機能や適応行動は睡眠の影響が大きく関与することが想定された。しかし、睡眠と認知機能がどのように関連しているのか、神経生理学的な方法を用いた客観的な解析法での詳細な検討はほとんどない。そこで本研究では、小児てんかんにおける睡眠と認知機能の関連について、神経生理学的、心理学的な客観的な方法を用いて明らかにすることを目的とした。

【方法】
検討 1：てんかん児の睡眠の実態と認知機能障害との関連

対象は 2017 年 7 月～2019 年 12 月までにてんかん精査のため NCNP 病院に入院した 5～19 歳の小児発症てんかん例 91 名(男性 46 名)。方法は、①質問紙 (睡眠習慣調査票, PARS-TR, ASSQ, SNAP-IV) ②適応行動 (Vineland-Ⅱ)、③実行機能検査 (DN-CAS 表出の制御、Wisconsin Card Sorting test: WCST, 持続的注意課題; もぐらーず)、④学習検査 (K-ABC2 のことばの読み, 書き) を行い、睡眠問題行動と認知機能の関連について比較検討した。睡眠週間調査票については全例で施行し集計を行った。中途覚醒が認知機能に及ぼす影響を調べるために、WISC-IV 知能検査で全検査知能指数 (FSIQ)が 80 以上の小中学生のてんかん児 33 例について②～④を行い、中途覚醒あり群となし群の 2 群に分けて比較検討を行った。2 群の比較については t-test を行い、$p<0.05$*, $p<0.01$** を有意差ありとした。この検討は NCNP の倫理委員会で承認を得て施行した (承認番号 A2017-019)。

検討 2: てんかん児の睡眠時ポリグラフ (PSG) による脳波解析と認知機能

対象は山梨大学病院に 2020 年 4 月～2021 年 10 月までに入院した 8～15 歳の小児前頭葉てんかん (FLE) 4 症例と CSWS1 例、睡眠時 50%以上の全般性局徐波複合を伴う全般焦点合併てんかん 1 例。これらの症例に対し①質問紙 (PARS-TR, ASSQ, SNAP-IV) ②実行機能検査 (持続的注意課題; もぐらーず, DN-CAS 表出の制御)、③学習検査 (K-ABC2 のことばの読み, 書き) ④PSG 検査、⑤PSG で採取した脳波を用いた脳波周波数解析 (覚醒時 θ/β 比、12Hz、14Hz spindle のパワースペクトラム解析) を行った。この検討は山梨大学医学部倫理委員会で承認され、被験者および代諾者より同意を得て施行した (承認番号 2334)。

【結果】

検討 1: てんかん児の睡眠の実態と認知機能障害との関連

(1)てんかん児の睡眠の特徴

対象者の患者背景として、発作焦点部位は前頭 47%、側頭 27%、頭頂 2%、後頭 11%、全般 12%だった。抗てんかん薬の数は 1 剤 17%、2 剤 33%、3 剤以上 47%と多剤併用の難治例の割合が比較的高かった。発作頻度は、発作なし 15%、月単位 28%、週単位 19%、日単位 37%と比較的発作頻度は高い群が多かった。47%に発達障害の併存、13%に不登校を認めた。WISC-IV による FSIQ80 以上が 48%だった。また学年分布としては、小学生 48%、中学生 41%、高校生以上 12%であった。

睡眠状況として、35%に就寝時間の不規則があり、睡眠潜時も長くなっていた。35%に中途覚醒例を認め、中途覚醒時間が平均 34 分と長くなっていた。一方、睡眠総時間は小学生は、定型児と同様であったが、中学生では比較的長い傾向を認めた。てんかん児では、寝付きの行動 (入床をいやがる、暗室恐怖) や睡眠中の行動 (体動多く、ぴくつき、息止まり、息つまり, 夜驚、悪夢など) に問題例が多かった。また、起床時の問題としては、離床困難、目覚め不良、昼間の眠気などを示す例が多く見られた。

(2)中途覚醒が認知機能に及ぼす影響

FSIQ80 以上の小中学生を中途覚醒の有無で 2 群に分けたところ、中途覚醒あり 12 例、なし 21 例で、それぞれ FSIQ、注意欠如多動症 (ADHD) の指標である SNAP-IV、自閉スペクトラム症 (ASD) の質問紙である PARS-TR では 2 群間に有意差は認められなかった。認知機能検査では、干渉抑制課題である DN-CAS 表出の制御 (標準得点 あり 8.3、なし 9.9、p=0.049)、K-ABC2 のことばの読み(あり 7.2、なし 9.3、p=0.024)で中途覚醒群が有意に低下していた。持続的注意機能課題では、両群で明らかな有意差は認められなかった。また Vineland-Ⅱの結果は、中途覚醒群で適応行動尺度が低く、特に内在化の不適応行動が多くなっていた。

検討 2：小児てんかん患者の睡眠時ポリグラフ（PSG）による脳波解析と認知機能

検討2患者背景

症例	性別	年齢	分類	睡眠時脳波所見	病因	睡眠時発作	睡眠随伴症
1	F	9	FLE	Rt F-C spike, diffuse S&W	不明	なし	なし
2	M	12	FLE	Fp-Fにspike, S&W, Lt>Rt	家族性	あり	あり
3	M	12	FLE	Fp-Fにspike, Lt>Rt	不明	あり	なし
4	M	15	FLE	Rt F, aT S&W	脳症後遺症	あり	なし
5	M	8	CSWS	Continuous diffuse S&W	不明	なし	なし
6	F	10	全般焦点合併	Diffuse slow S&W50%以上	FCD	なし	なし

FLE; Frontal lobe epilepsy, CSWS;徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症, S&W slow spike and waves

表に患者背景を示す。PSG 所見では、FLE の症例 1－3、CSWS、全般焦点合併てんかんで、REM 睡眠時間の短縮が認められた。また CSWS では、Stage1 が低下し、Stage3～4 が増加していた。FLE 症例 4 では、REM の低下は認めなかった。認知機能の検討は、FLE3 例と CSWS1 例で行い、FLE の症例 1 と 2、CSWS1 例で不注意や実行機能障害、読み書き能力の低下を認めた。REM 睡眠の異常がなかった FLE の症例 4 では、認知機能異常を認めなかった。

脳波解析では、てんかん群全例で覚醒時の θ/β 比の増加を認めた。Stage2 の spindle の検討では 12Hz slow spindle パワー値増加を FLE4 例中 3 例で認めた。実行機能障害のない 1 例（症例 4）では、増加を認めなかった。一方、睡眠時脳波の持続的な異常を伴う CSWS と全般焦点合併てんかんでは、前頭部優位の slow spindle を認めなかった。14Hz spindle は、中心部優位に出現し、パワー値の高い例と低い例が認められたが、臨床的な関連性については明らかではなかった。

【考察】

検討 1 の結果より、小児てんかん患者の睡眠の実態について明らかにする事が出来た。小児てんかん例では、中途覚醒や睡眠潜時の延長、昼間の眠気など睡眠の質の低下を示唆する状態を呈していた。特に中途覚醒のある症例ではない症例に比較し、干渉抑制機能などの実行機能、ことばの読み書きの成績が低く、実行機能や学習習得に影響を及ぼしていることが示唆された。これまでの報告でも、小児てんかん児の睡眠の質の低下が、記憶の形成に異常を来すという報告があり [4]、記憶の定着の悪さが学習の困難さを来している可能性が考えられた。

脳波解析による検討では、いずれの例においても TDC に比較して覚醒時の θ 波の増加を認めたことから、てんかん症例では覚醒時の脳機能低下がある可能性が示唆される。これまでの ADHD 児の報告では、覚醒時の θ/β 比が増加するといわれており [5]、覚醒時基礎脳波の徐波化は ADHD の脳機能に関連し、ADHD の生理的マーカーとして臨床応用されている。今回の検討では、てんかん児全例で θ/β 比が高かったことから、覚醒時脳機能低下を反映している可能性があるが、一方で睡眠の脳波異常が覚醒時に影響を与えている可能性もあることから今後、睡眠と覚醒時脳波との関連、さらに認知機能との関連についてさらに症例数を増やして検討していく必要がある。また今回の対象は FLE や CSWS など比較的夜間発作や睡眠時の脳波異常を伴いやすいてんかん症例のみの検討であったが、比較的脳波異常のない群での比較検討も合わせて行っていく必要がある。

Spindle に着目した脳波解析で、不注意、実行機能異常、学習の問題などの認知機能障害を認めた前頭葉てんかんの 3 例では、12Hz slow spindle のパワー値が高かった。認知機能障害の比較的少ない例では、12Hz slow spindle のパワー値は TDC と同等であった。一方、CSWS や全般焦点合併てんかんの睡眠時の持続的脳波異常を示す例では、実行機能障害を呈し、むしろ前頭部優位の 12Hz spindle が認められなかった。これまでのわれわれの ADHD 児の spindle の検討では、中心部優位の 14Hz spindle は TDC と差がなかったが、前頭部 12Hz slow spindle のパワー値が増加しており、ADHD 児の覚醒時脳機能障害や前頭-視床のループ回路の異常を示す可能性について報告した [6]。前頭葉機能障害を認める FLE 症例では ADHD と同様に 12Hz slow spindle のパワ

ー値の増加を認めたことより、てんかん児でも同様な前頭葉機能障害を示唆する結果の可能性がある。逆に CSWS 症例などでは、spindle は中心部優位であり、前頭部優位の spindle を stage2 全ての期間において認めなかった。このことは前頭―視床ループが CSWS などの脳波異常によって遮断され、認知機能低下につながっている可能性が考えられた。

以上より、てんかん児では、睡眠の質の悪さが症状としても脳機能解析からも存在することがわかり、睡眠の質の低下が認知機能障害を呈する可能性が考えられる。

【行政施策への貢献度】

てんかん児の睡眠と認知機能に着目した研究はこれまでにない。睡眠の質の向上に着目したてんかん診療を行うことにより、てんかん児の認知機能の改善、および生活の質（QOL）の向上する可能性があり、てんかん患者の QOL 向上に寄与する研究である。

【今後の研究計画】

PSG 検査と認知機能検査を同時に行った症例データが少ないことかからさらに症例数を蓄積していく。また検討するてんかん症候群の種類についても、睡眠による影響の少ない症候群などにも対象群を広げて検査を行い、比較検討する必要がある。また CSWS 例での spindle に着目して検討を行っていく予定である。

【文献】

1）Gibbon FM, Maccormac E, Gringras P. Sleep and epilepsy: unfortunate bedfellows. Arch Dis Child. 2019;104:189-192.
2）Jain SV, Kothare SV. Sleep and Epilepsy. Semin Pediatr Neurol. 2015;22:86-92.
3）Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Adaptive behavior and its related factors in children with focal epilepsy. Epilepsy Behav. 2020; 108: 107092.
4）Chan S, Pressler R, Boyd SG, Baldeweg T, Cross JH. Does sleep benefit memory consolidation in children with focal epilepsy? Epilepsia. 2017;58:456-466.
5）Snyder SM, Rugino TA, Hornig M, Stein MA. Integration of an EEG biomarker with a clinician's ADHD evaluation. Brain Behav. 2015;5:e00330.
6）Saito Y, Kaga Y, Nakagawa E, Okubo M, Kohashi K, Omori M, Fukuda A, Inagaki M. Association of inattention with slow spindle density in sleep EEG of children with attention deficit hyperactivity disorder. Brain Dev 2019; 41:751-759.

1-4 Elucidating the Pathology of Epilepsy and Comorbidities for the Development of Pioneering and Comprehensive Diagnostic and Therapeutic Methods

Eiji Nakagawa, M.D., Ph.D.
Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center,
National Center Hospital,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)
Tokyo, Japan

***Background*:** Rapid advances in molecular genetics, neuroimagings and neurophysiology over the last 10 to 20 years have been a catalyst for epilepsy research in neurobiology, developmental psychopathology, and translational neuroscience. Whereas integrative study on pathomechanism, diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy relevant to congenital factors do not have well established.

***Purpose*:** The purpose of our research group is to clarify the pathomechanism, diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy and to establish a reliable diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy. Our final goal is to build up resource repository system for epilepsy research in NCNP. This should include various clinical disciplines as well as basic neurosciences.

Members of the research group

Principal Investigator: Eiji Nakagawa (NCNP)

Co-Investigator: Masaki Iwasaki (NCNP), Kenji Hatano (NCNP), Takashi Saito (NCNP), Akihiko Ishiyama (NCNP), Noriko Sato (NCNP), Kyoko Kanazawa (NCNP), Yoshimi Kaga (University of Yamanashi), Masayuki Itoh (NCNP), Mikio Hoshino (NCNP) and Schuichi Koizumi (University of Yamanashi).

Research Results

The purpose of this research team is to elucidate the pathology of epilepsy and develop and propose diagnostic and therapeutic methods for this disease by building a resource repository system for epilepsy at the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), which can be a national centre for epilepsy medical care in Japan. Using this Epilepsy Center as the core of the epilepsy diagnosis and treatment, we can take advantage of our epilepsy care system in various departments, including the departments of psychiatry, neurology, paediatric neurology, neurosurgery and radiology. While proposing a desirable medical care system for patients with epilepsy, particularly for those with

comorbid neurodevelopmental disorders and psychiatric symptoms, from both software and hardware aspects, we conducted research aimed at forming a medical care model for epilepsy. In addition to accumulating high-quality data of patients with epilepsy in our clinical database, we proposed building a new electroencephalogram (EEG) database system that enables EEG-based diagnosis and treatment, thus helping to establish a nationwide EEG medical care network in Japan. In the epilepsy medical fact-finding survey, we examined the nationwide epilepsy prevalence rate (treatment recipient rate) based on the non-governmental National Database of Health Insurance Claim Information and Specified Medical Check-ups. By performing an analysis that approximately estimates the actual prevalence rate, we can elucidate the epilepsy prevalence in Japan. These survey results can provide useful information for disease control, awareness-raising activities and health policy formulation.

The team works to appropriately evaluate and diagnose epilepsy, comorbid psychiatric symptoms and neurodevelopmental disorders as early as possible using various brain morphological and functional imaging and neurophysiological analyses. Thus, we aim to establish effective medical and surgical therapeutic methods for these conditions. To disseminate these research results, we have actively conducted awareness-raising activities, such as public lectures on epilepsy, workshops and lectures for doctors, medical staff and patients, throughout Japan. For basic research on epilepsy, we utilised samples and information available from a research repository that was already established at the NCNP's Translational Medical Center. Using molecular, pathological, neurophysiological and basic genetic research on epilepsy, we are conducting basic research to elucidate the pathology of epilepsy.

Allotment studies

1) Development of patient database is essential to promoting joint research and clinical trials. Here we report progress in developing Neurosurgical database and Epilepsy patient database of the NCNP Epilepsy Center.

Masaki Iwasaki
Department of Neurosurgery, National Center Hospital, NCNP

NCNP Neurosurgical database was developed with Microsoft Access®. Clinical information including patient basic profiles, diagnostic findings, seizure outcome, pathological diagnosis, and classification of surgical procedures was registered. The 2017 international classification system of epilepsy and seizures was used for the diagnostic classification of patients. A total of 2181 surgeries have been registered in the database by the end of year 2021. The database was shared on multiple occasions with fellows and staffs for conducting clinical studies. Surgically-treated patients with epilepsy were registered to the NCNP Biobank after written informed consent. Blood samples and surgical specimen, if available, were prospectively stored for utilization in future research. A total of 395 patients have been registered to the Biobank by the end of year 2021. Epilepsy outpatient and

inpatient database was generated from electric medical records based on the ICD-10 diagnostic codes. Specific epilepsy diagnosis was obtained from the information entered in the other template. Total 4680 and 4993 cases have been entered to the outpatient and inpatient databases, respectively from June 2017 to September 2021. Analysis of the database elucidated patient characteristics in the NCNP epilepsy center. Efficient data entry of diagnostic information continues to be a priority issue for building high-quality database. Further improvement in the data entry system is required.

2) The number of epilepsy patients was estimated using health claim database containing health insurance claims of employees and their families.

Takashi Saito
Department of Child Neurology, National Center Hospital, NCNP

In this study, we aim to estimate number of patients with epilepsy under 18 years of age. To exclude patients who are not actually epilepsy but given disease name "epilepsy" for insurance claims, we created a flowchart. We estimated that the number of patients under 18 years of age visiting a medical clinic for epilepsy in 2018 was 5.7/1,000. Most patients were treated with only one antiepileptic drug. 5-10% of patients older than 5 years of age were treated for behavioral complications with central nervous system stimulants and/or typical antipsychotics. The frequency of neurosurgical treatment was less than 1%. By using receipt data, it was possible to estimate the number of patients with pediatric epilepsy and the actual condition of epilepsy management in Japan.

3) Construction of a platform for the database construction of electroencephalography records of patients with epilepsy

Akihiko Ishiyama
Department of Child Neurology, National Center Hospital, NCNP

Objectives: This study aimed to construct a platform for the database construction of EEG records, which would be used as basic data to develop tools for reading EEG data, to standardize the quality of the treatment for epilepsy, supplementary reading tools. The study was first to construct the database of EEG records collected at National Center Hospital, National Center of Neurology and Psychiatry, with the aim of developing a system that would enable us to construct the database of EEG records collected from multiple institutions across Japan in the future. Methods: To construct the database of EEG records, we selected clinical information to be attached to EEG records, and prepared a clinical information sheet. Then, we constructed a server for the EEG database and registered EEG records. Results: The hardware used for the EEG database was the EEG database system manufactured by Nihon Kohden. We examined and selected formats for registering EEG data and the contents of clinical information to be attached to EEG records. EEG data were to be registered in the European data format

(EDF) so that various analyses could be performed with the registered data. A clinical information sheet was prepared for registering the attached clinical information. For registration of data in this sheet, we developed a system that could export data on each item in the Comma Separated Value (CSV) file. The items of the clinical information to be registered with EEG data were research identification (ID), age, sex, date of test, and diagnosis. After this registration system was developed, we started registration of EEG data collected at our center as the first stage of the construction of the EEG database. Summary: We developed a system to construct the EEG database and started registering EEG data. Ultimately, we would like to further expand this system to register data from other institutions. Expansion of registration of EEG data is expected to promote analysis and evaluation of EEG findings in epilepsy.

4) MR detection of CNS lesions in tuberous sclerosis complex: the usefulness of T1WI-CHESS

Noriko Sato

Department of Radiology, National Center Hospital, NCNP

The transmantle sign (TMS) is one of the important MRI findings of focal cortical dysplasia (FCD) and sometimes the TMS shows T1-high-signal. We examined MR and pathology of FCD with TMS. The TMS showing T1WI high signal was found in about 6%, and all of them were type IIb. The hyperintensity reflected the density of Balloon cells when compared to pathology. This finding is useful for differentiating FCD type IIb, and it seems possible to infer the subtype only by MR. Furthermore, TMS was also seen as T1 hyperintensity in tuberous sclerosis. We speculated that it could be visualized more clearly by adding the fat suppression method, CHESS, which is frequently used in daily practice. The detectability of intracerebral lesions in tuberous sclerosis was compared with T2WI, FLAIR, T1, T1-MTC, and T1WI-CHESS. T1WI-CHESS had the best detection ability of TMS. T1WI-CHESS was considered to be an imaging method that should be actively utilized in the daily clinical practice of epilepsy. In addition, in the network analysis using 3DT1 in graph theory, the network of patients with temporal lobe epilepsy (TLE) with hippocampal sclerosis was maintained at the whole brain level, but at the local level, both right and left TLE groups were damaged comparing with healthy subjects. In the left TLE group, a decrease of the Clustering coefficient and the short test path length was observed, which meant a decrease in functional separation and an increase in local efficiency, respectively. It is suggested that the network in the brain may be locally randomized in TLE with hippocampal sclerosis. Network analysis using gray matter similarity may contribute to the elucidation of the pathophysiology of TLE with hippocampal sclerosis.

5) Analysis of the clinical condition of a patient and treatment of an adult, elderly epilepsy

Kyoko Kanazawa

Department of Neurology, National Center Hospital, NCNP

Clinical pathophysiology and treatment of epilepsy in the adult and elderly were analyzed from the following two viewpoints in the present study: Autoimmune pathophysiology in patients with cryptogenic epilepsy syndrome, and wide-band EEG. The observational study on the autoimmune pathophysiology in relation to imaging abnormality in mesial temporal lobes, multi-center study on the genetic predisposition in autoimmune encephalitis, and the pathophysiology of epileptogenicity in the human using the method of wide-band electroencephalography (EEG) were carried out.

6) Maintenance of the epilepsy clinical information database

Kenji Hatano
Department of Clinical Epidemiology, Translational Medical Center, National Center Hospital, NCNP

We have developed a system that links the in-house epilepsy clinical information database with patient clinical information in electronic medical records, and have realized efficiency and refinement of patient extraction using medical information. Furthermore, the environment of the database was improved by improving the migration of the database to the RDB server. With a view to linking the epilepsy clinical information database to an external database, we have promoted the development of an environment for linking the medical data of NCNP Hospital with the disease registry or case database constructed outside the center. In the JASPEHR project, which is a joint research project of 6NC, we first carried out online external collaboration of medical data of NCNP hospital, and examined the results and issues.

7) The condition of a patient elucidation of the molecular pathology of intractable epilepsy

Masayuki Itoh
Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience, NCNP

Intractable epilepsy id defined by uncontrolled epilepsy with polypharmacy. Some of them consist of metabolic errors and brain malformation from birth. We studied a molecular mechanism of KARS-related leukodystrophy and a pathological system of loss-of-heterogeneity (LOH) of tuberous sclerosis complex (TSC), as well as an alteration of astrocyte specific ion-channels and receptors (P2RY1, P2RY2, P2RY4, Kir4.1, Kv4.2, mGluR1 and mGluR5) expression of hippocampal sclerosis (HS).

We discovered a novel epileptic syndrome with KARS gene (encoding LysRS) mutations. The clinical features were characteristically intractable epilepsy after birth, severe developmental delay, congenital deafness and progressive leukodystrophy with intracranial calcification. The abnormal

LysRSs due to the genetic variants were those dysfunctions. We made some various patients' based-mutation expression vectors. Then, we measured mutated LysRS activities and transfected them into Xenopus oocytes to reproduce the phenotypes of patients. As results, we revealed significant decreasing LysRS activities and pathological reproduction. Here, we can propose a novel severe progressive leukodystrophy caused by KARS gene mutation. We revealed that all 7 astrocytic receptors and channels in HS lesions were significantly increased. We previously described unique astrogliosis in epileptic lesions similar to what was observed in this study. This phenomenon is considered to trigger activation of the related signaling pathways and then contribute to epileptogenesis. Thus, astrocytes in epileptic lesion may show self-hyperexcitability and contribute to epileptogenesis through the endogenous astrocytic receptors and channels. These findings may suggest novel astrocytic receptor-related targets for the pharmacological treatment of epilepsy. We performed TSC2 genetic analysis of dysmorphic neurons, balloon cells and the other cells, extracted from the pathological lesions of cortical tubers of 3 TSC individual patients. The samples were collected each 20 cells' DNAs with microdissection technique. We confirmed TSC2 mutations. The result of LOH analysis suggests that the TSC pathological cells were made excessive activation of mTOR. We need further study to clarify the molecular mechanism of LOH.

8) The condition of a patient elucidation using the epilepsy model animal and development of the cure

Mikio Hoshino

Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience, NCNP

Although there are many epilepsy patients in Japan, the pathogenesis is still unknown, and therefore, diagnostic and therapeutic methods have not yet been established. In this study, we aimed to elucidate the pathology of epilepsy through the analysis of genetically engineered mice for *AUTS2/Auts2* (a causative gene of epilepsy) and Ihara epilepsy rats (IER, model rat of epilepsy). Analysis of the telencephalon-specific Auts2 knockout mice suggested that AUTS2 protein has a function to limit the number of excitatory synapses and that its abnormality may cause an imbalance between excitatory and inhibitory synapses, putatively leading to epilepsy. Analysis of cerebellum-specific KO mice of *Auts2* revealed that AUTS2 is involved in cerebellar development and that its abnormality causes abnormal social behavior. In addition, we identified *Dscaml1* as the causative gene of IER, and also identified one case of human epilepsy with a mutation in the *DSCAML1* gene. It was suggested that the abnormal DSCAML1 protein produced by that mutation has a defect in protein folding and cannot be exposed to the cell surface, resulting in loss of its function. These results suggest that these two genes may be involved in the pathogenesis of human epilepsy.

9) Depression and anxiety are the most common mental disorders associated with epilepsy.

Go Taniguchi

Department of Psychiatry, National Center Hospital, NCNP

We retrospectively reviewed the clinical characteristics, selected treatments, and improvement of psychiatric symptoms in epilepsy patients selected by screening for depression and anxiety. Depression and anxiety were detected in 55 (33%) and 53 (32%) of 168 outpatients with epilepsy, respectively. When these patients were classified according to psychiatric diagnosis, depression was the most common diagnosis in 31 patients, followed by intellectual and developmental disabilities in 27, psychosis in 12, and anxiety disorders in 4. Of the 31 depressed patients, 27 were positive on the depression screening test, while 4 were positive only on the anxiety screening test. The group of depressed patients with greater biological factors was less likely to have PNES complications than the group with greater psychosocial factors: older age at presentation, more symptomatic localization-related epilepsy, and less seizure control. In both groups, treatment included adjustment of antiepileptic drugs and outpatient psychotherapy, which often resulted in mild improvement.

10） Elucidation of molecular pathogenesis of epileptogenesis mediated by glia

Schuichi Koizumi[1,2], Fumikazu Sano[1,2,3]

Department of Neuropharmacol[1], Yamanashi GLIA center[2], Department of Pediatrics[3], Faculty of Medicine, Yamanashi University

Using pilocarpine-induced status epilepticus (SE) model, we found that astrocytes in the hippocampus became reactive with excitable Ca2+ signals mediated by IP3 receptor type 2 (IP3R2). The time-course of SE-evoked reactive astrocytes was well associated with induction of epileptogenesis. Importantly, the Ca2+ excitation in the reactive astrocytes was a cause of epileptogenesis because when the Ca2+ signals were inhibited by IP3R2-deleted mice, the epileptogenesis was inhibited as well. Therefore, we termed these reactive astrocytes as “epileptogenic astrocytes”. RNA-seq analysis showed that eplileptogenic astrocytes increased expression of various genes including metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) which is known to cause network remodeling via induction of synaptogenic molecules. However, it remains unclear how epileptogenic astrocytes are induced and leads to epileptogenesis. As for mechanisms underlying SE-evoked induction of epileptogenic astrocytes with upregulation of mGluR5, the initially activated microglia and extracellular ATP were responsible. In addition, adenosine, a metabolite of ATP, controls mGluR5 expression via adenosine A2b receptors in astrocytes. The epileptogenic astrocytes caused mossy fiber sprouting in a mGluR5-dependent mechanism(s) in the hippocampus, which would cause misconnection and remodeling of hippocampal networks, thereby leading to abnormal network excitation. These were demonstrated by Glast-

CreERT2::flx-mGluR5 mice (astrocyte-specific mGluR5 knockout mice). In addition, the mechanisms underlying this seizure spreads or abnormal synchronization remain also poorly understood. To clarify whether astrocytic Ca2+ signals, associated with neural activity, are implicated in the initiation or spreads of epileptic seizure, a new Ca2+ imaging method, i.e., a transcranial widefield Ca2+ imaging was developed. We performed Ca2+ imaging at the whole cortex in awake Aldh1l1-CreERT2::flx-GCaMP6f mice under a fluorescence dissection microscope. Astrocytes showed sporadically appeared Ca2+ signals at various cortical regions randomly in control, whereas they showed highly synchronous Ca2+ signals in SE, which traveled from the frontal lobe to the occipital lobe cortex (Ultra-wide Ca2+ spreads). Similar Ca2+ signals were also observed at 7 and 28 days after SE. The ultra-wide Ca2+ spreads were never observed in control mice, and thus they are unique phenomenon to SE and epileptogenic mice, suggesting its involvement in seizure spreads and/or abnormal synchronization in epileptic seizures (ictogenesis). In the future study, we plan to elucidate the causal relationship between Ultra-wide Ca2+ spreads and ictogenesis, and to clarify the molecular mechanisms.

11) The clarification of pathophysiological findings and exploration study of neurophysiological biomarker for epileptic children

Yoshimi Kaga

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yamanashi University

It is known that epilepsy, sleep and cognitive function are closely related, but there are few reports that objectively evaluate the effects of sleep on cognitive function in children with epilepsy. Therefore, the purpose of this study was to clarify the actual state of sleep in pediatric epilepsy patients and to clarify their cognitive functions using neurophysiological and psychological methods.

Study 1: In order to investigate the relationship between sleep habits and cognitive function in pediatric epilepsy cases, a questionnaire survey was conducted on 91 cases between the ages of 5 and 19 years old. 35% of the epileptic children showed mid-waking cases, indicating poor sleep habits. In addition, the mid-waking cases were found to have interference suppression dysfunction, poor learning of reading and writing, and poor adaptive behavior (especially internalization disorder).

Study 2: Six children with epilepsy were evaluated for sleep using all-night polysomnography (PSG), and the relationship between EEG frequency analysis and executive function was examined. Cases with cognitive dysfunction had shorter REM sleep and higher power values of the frontally dominant 12 Hz slow spindle. All children with epilepsy showed a slow wave in the waking EEG, suggesting a decrease in brain function during the day and possible frontal lobe dysfunction.

These results indicate that poor sleep quality is present in children with epilepsy, both as a symptom and in brain function analysis, and that poor sleep quality may present as a cognitive dysfunction.

12) The pathogenesis of suppression-burst by analyzing EEG from hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy

Eiji Nakagawa
Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center,
National Center Hospital, NCNP

Background: Hemimegalencephaly (HME) is a congenital cortical malformation that shows an enlargement of one cerebral hemisphere. Patients with HME develop intractable epilepsy early in life and often show suppression-burst (SB) on EEG during the interictal period. When the hemisphere on the affected side is separated from the basal ganglia, thalamus, and contralateral cerebral hemisphere by hemispherotomy, the EEG on the non-affected side normalizes and the patient becomes seizure-free. On the affected side, strong excitotoxicity remains after surgery, SB and epileptic discharges persist, and cerebral atrophy progresses. The pathogenesis of SB remains unresolved. Since SB is a relatively regular pattern in which the entire cerebrum synchronizes and repeats suppression and burst every few seconds, it is thought that not only the cerebral cortex but also the basal ganglia, thalamus, and brainstem networks must be involved in SB generation. We aimed to investigate the generating mechanism of SB by long-term observation of EEG obtained from HME patients. Method: We retrospectively evaluated 18 patients (10 boys, 8 girls) with HME who underwent hemispherotomy under 2 years of age at the NCNP between October 2009 and March 2019. The presence of SB was confirmed from EEG records.
Results: SB was observed in the affected side in 9 cases preoperatively and in 12 cases postoperatively. SB was observed in the non-affected side in 5 cases preoperatively, but in no cases postoperatively.
Conclusion: We confirmed that SB can be generated only by abnormalities of the cerebral cortex in the human brain, so the network of the basal ganglia, thalamus, and brainstem is not essential for SB generation.

Conclusion

These comprehensive and interdisciplinary research of epilepsy will continue next second year. Each research will bring further evidence to establish a reliable diagnostic methodology and therapeutics for epilepsy.

１－５　難治性神経疾患における免疫病態の解明と診断・治療法開発

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター神経研究所

山村 隆

総括研究報告

１．研究目的

本研究班は、NCNPの研究組織を活用して、脳神経内科学、免疫学、放射線医学、病理学、分子生物学などの専門家が連携し、痛みや疲労症状などを主徴とする難治性疾患（ME/CFSなど）、原因不明の脳炎・脳症（NINJAなど）、自己免疫性てんかん、難治性免疫性ニューロパチー（CIDP）などの難病において画期的な診断・治療法の開発につながる知見を得ることを目的とした。患者血液や髄液、剖検例の中枢神経組織を材料としたリンパ球解析を実施するとともにMRI拡散テンソル画像解析など新しいイメージング解析手法を用い、難治性神経疾患の病態解明研究を進めた。NCNPだけで対応できない研究開発について、外部機関の協力を得て研究を実施した。

２．研究組織

主任研究者
山村 隆　国立精神・神経医療研究センター
分担研究者
北條浩彦　国立精神・神経医療研究センター
荒木敏之　国立精神・神経医療研究センター
大木伸司　国立精神・神経医療研究センター
佐藤和貴郎　国立精神・神経医療研究センター
岡本智子　国立精神・神経医療研究センター病院
林　幼偉　国立精神・神経医療研究センター病院
佐藤典子　国立精神・神経医療研究センター病院
漆谷　真　滋賀医科大学
髙嶋　博　鹿児島大学大学院
近藤誉之　関西医科大学医学部
三宅幸子　順天堂大学医学部
千原典夫　神戸大学医学部
齊藤祐子　国立精神・神経医療研究センター
（異動のため令和元年で終了）
田中章景　横浜市立大学大学院医学研究科
（令和二年度より開始）

３．研究成果

病態未解明の自己免疫性神経疾患に対する学際的アプローチとして、基礎研究、病理組織を活用した研究、リンパ球解析研究、画像研究等を研究班横断的に進めてきた。3年間でそれぞれの研究分野について進展がみられ、成果発表につながった。詳細は各分担報告に譲ることとし、本総括報告書では班として横断的に進めている研究プロジェクトを中心に紹介する。

1）免疫性神経疾患における病原性リンパ球研究

臨床研究に発展した基礎研究として、神経系の慢性炎症形成の分子機序解明（NCNP 免疫研究部 大木）がある。この研究は、MS 患者末梢血の病原性リンパ球として NR4A2 陽性ヘルパーT 細胞を同定したことから始まり、NR4A2 ノックアウトマウスの研究から進行型 MS の促進に関連する病原性リンパ球として Eomes 陽性 T 細胞を同定し（B. Raveney et al. Nat Comm. 2015）、さらに発生機序に関する検討を進めてきた。その結果、ミクログリア活性化に引き続いて産生される type Ⅰ インターフェロンが抗原提示細胞の Prolactin 産生を促し、Prolactin を介して Eomes 陽性 T 細胞が誘導される機序が明らかとなった

（C. Zhang et al. PNAS, 2019）。

2021年度には、Eomes陽性T細胞が二次進行型MSの疾患活動性を反映するバイオマーカーとして有用であるとの成果発表を行った（B. Raveney, et al. PNAS, 2021）。本論文は脳病理組織におけるEomes陽性細胞の集積やMRIによる脳萎縮との関連を示す解析データを含み、本研究班員（斎藤、佐藤典、佐藤和、岡本、林）が協力し結実した成果である。さらに難治性免疫性神経疾患（視神経脊髄炎二例）の剖検脳組織におけるEomes陽性細胞集積も示すことができた（岡本, 佐藤和、齊藤）。またCIDP等難治性ニューロパチー患者末梢血におけるEomes陽性細胞の寄与についても明らかにできた（佐藤和）。

2）腸内細菌叢と免疫性神経疾患

NCNPでは無菌マウスの行動実験を可能とする国内唯一の施設が稼働を開始し、腸内細菌研究が山村、北條・荒木らによって進められている。その施設を活用した研究で、北條らは血液中のセルフリー核酸であるmiR-21a-5pが腸内細菌依存性にMSの動物モデルEAEの増悪因子として働くこと、その機序としてIL-17等の炎症性サイトカインを誘導することを明らかにした。MS患者における miR-21a-5pの増加も確認された。山村らはAMED-CREST研究で、MS患者の腸内細菌研究を推進しており、この成果を活用する研究に進む予定である。

3）免疫介在性脳炎/脳症の統合的理解

自己免疫性脳炎・脳症は、HPVワクチン後関連神経症状や筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群（ME/CFS）さらにNINJAとの臨床的・免疫学的に共通点が多いと考えられるものの、その機序が解明されておらず、重要な研究課題である。なおNINJAはMRI画像正常であるがMSの臨床診断基準を満たす疾患群であり、NCNP発の新しい免疫介在性中枢神経疾患である（Takewaki et al. Neurology NN, 2018）。

鹿児島大の高島らは、HPVワクチン後関連神経症状多数例について検討し、血液浄化療法の有効性、血清/髄液中炎症性サイトカインの増加、ME/CFSを合併する一群の同定などの成果を上げた。

ME/CFS研究は山村/佐藤和が外来診療および免疫解析研究を継続し多数例の解析を行っている。放射線科の佐藤典は、新たなMRI画像解析である構造ネットワーク解析の手法を用い、ME/CFSの特定の部位の異常と血清中の抗自律神経受容体抗体との有意な相関を明らかにした（Fujii et al. J Neuroimaging. 2020）。同論文はその雑誌で最も引用回数の多い論文と認定された。

NINJAについて、脳神経内科の林は血液浄化療法による治療を進めてきた。林は患者末梢血のリンパ球解析を進め、その病態理解が進んだ。NINJAも含め、原因不明の免疫介在性神経疾患では、抗神経抗体の存在が推定されるが抗原が明らかでないものも多い。これに関しNCNPの荒木は基礎的手法を用いた抗原同定法の手法の検討を行った。荒木はヒトiPS細胞を用いた末梢神経髄鞘化モデルの作成に成功し、今後の難治性ニューロパチー疾患解析に有用な成果が得られた。

4）その他の関連研究

脳神経内科の岡本は、神経核内封入体病12例についてまとめ報告した（Ishihara et al. Neurol Genet . 2020）。同疾患が難治性ニューロパチーの重要な鑑別疾患であることを指摘する貴重な成果である。

NCNPでは対応できない分野について、外部の分担研究者もそれぞれ成果を上げている。関西医大の近藤らは重症筋無力症における濾胞性T細胞の重要性を示したが（Ashida et al. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2021）、抗アセチルコリン受容体や抗MuSK抗体陰性例においても同様の変化を認めることから、診断に難渋する症例での活用も考えられ重要な成果である。

順天堂大の三宅は、抗AQP4抗体陽性を特徴

とする視神経脊髄炎について解析を進め、B 細胞がその分化の初期の段階で偏倚していること新たに見出し、病態解明に向けて前進する成果を上げた (Hoshino et al. J Neuroinflammation. 2022)。

代表的な神経変性疾患である筋萎縮性側索硬化症 (ALS) における神経炎症の寄与が近年指摘されている。横浜市大の田中は、モデルマウスにおける単球系炎症細胞およびインターロイキン 19 の寄与を示す成果を発表した (Komiya et al. Mol Brain. 2020; Nakata et al, Res Vet Sci, 2021)。

滋賀医大の漆谷は、ALS の全く新しい免疫治療として、ALS の病原蛋白特異的な一本鎖抗体を用いた除去療法の開発を進めており、臨床試験へ向けて着実に成果が挙がっている。細胞移植治療と組み合わせることによって高い治療効果を得たことは新しいパラダイムと言える。

近年新たなてんかんの分類として、自己免疫性てんかんの存在が認められた。神戸大の千原は、関西圏で多施設共同研究を立ち上げ希少疾患の免疫病態解析を進めた。その結果、抗体産生性 B 細胞である Plasmablasts と活性化した循環型濾胞性 T 細胞(circulating follicular T cells (cTfh))の増加などの変化を見出した。今後の発展が期待されるとともに、将来的に診断基準に活用されうる成果である。

4．考察と結論

近年、我が国でもようやく「神経免疫」についての正しい理解と関心が広がり、商業雑誌（実験医学)。や医師向け新聞（週刊医学会新聞）で特集号や座談会が組まれるようになった。神経内科学および精神医学における免疫学の重要性は、もはや無視できないものとなっている。また 2025 年には、国際神経免疫学会（ISNI）の日本開催が決まったこともあり、臨床に根付いた神経免疫の意義について多くの研究者が関心を寄せている。

本研究班で取り上げた、中枢神経および末梢神経疾患は、従来の研究班では充分な取り組みがなされて来なかった。しかし本研究班では、MRI 拡散テンソル画像、フローサイトメーター解析、B 細胞レパトア解析等の新しい手法を導入して、ME/CFS における脳器質異常や免疫学的異常を証明し、自己免疫性てんかんや CIDP における免疫機序についても理解を深めることができた。これらは当該疾病におけるパラダイム・シフトを迫る大きな成果であり、専門家集団のネットワークがうまく機能した例と言えよう。今後の研究では、研究成果の臨床への還元、同様の免疫学的アプローチによる他の神経疾患の解明、新規治療や診断法開発を目指すべきであり、充分な予算措置が望まれる。

本研究班の活動は今後も継続されるべきものであり、柔軟かつ戦略的な配慮による、研究班の再出発を強く願うものである。統合失調症における自己免疫機序も報告されている昨今、免疫病態の解析に基づく神経疾患や精神疾患の治療法開発は、これからますます重要なものになるであろう。

神経変性疾患の剖検脳を用いた脳内炎症病態解明と新たな治療標的の同定

分担研究者：山村　隆
所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所　特任研究部長

緒言：

難治性神経疾患では中枢神経組織へ免疫細胞が浸潤し、炎症や脱髄、軸索障害に関与しうる。免疫細胞間相互作用やミクログリア・アストロサイト連関により、免疫反応が形作られる。自己免疫性炎症性脱髄疾患である多発性硬化症は、獲得免疫系が主な役割を果たす再発寛解型の他に、徐々に進む神経障害と脳脊髄の萎縮—神経細胞死の進行を反映する—を特徴とする進行型（SPMS）がある。SPMS において、我々のグループは転写因子 Eomes 発現を特徴とするヘルパーT 細胞が MS の動物モデルの進行病態を形成し、かつ SPMS 患者の末梢血中で増加していること、さらに同細胞が細胞障害性因子 GranzymeB を発現していることを見出した（Raveney ら Nat. Comm 2015, PNAS 2021）。本研究では、剖検組織を用いた組織浸潤免疫細胞解析による同細胞の同定や機能解析を進める。また代表的な神経変性疾患である筋委縮性側索硬化症およびアルツハイマー病患者の末梢血における同細胞の評価を行う。

方法：

NCNP 病院にて剖検が実施された 5 症例について、フローサイトメーター解析を行い、中枢神経組織における浸潤細胞の評価を行った。経過 20 年の急性呼吸不全で死亡した SPMS の 51 歳女性、急性呼吸不全で死亡した抗 AQP4 抗体陽性視神経脊髄炎（NMOSD）の 54 歳女性、抗体陰性 NMOSD の 52 歳男性、パーキンソン病の 88 歳男性、脳炎疑いの 5 例である。また、SPMS 症例について T 細胞受容体レパトア解析を実施し、多様性やクローナリティーについて評価した。

末梢血の検討では、対象は ALS 患者 27 名・AD 患者 19 名と健常者 23 名とし，末梢血 Eomes 陽性 Th 細胞の頻度や表面抗原等をフローサイトメーターで測定して臨床情報との関連について検討した．また，同細胞の細胞障害性について ELISPOT 法を用いて確認した．

結果：

SPMS および NMOSD においては、脳脊髄組織での広範なリンパ球浸潤を認め、病変部位のみならず Normal appearing white matter（NAWM）において Eomes 陽性 Th 細胞が広範に浸潤していた。また抗体陽性 NMOSD の視神経病巣には CD4+T 細胞と B 細胞の両者の浸潤が認められた。抗体陰性 NMOSD は陽性例と異なり、脳および視神経の浸潤細胞のメインは CD4＋T 細胞であった。T 細胞受容体レパトア解析の結果、末梢組織（脾臓・リンパ節）と比較し、SPMS 脳組織（NAWM・病変部）では顕著な多様性の低下を認めた。また、各脳部位を構成する T 細胞受容体ファミリーは異なっていた。

末梢血中の Eomes 陽性細胞については、ALS 患者の末梢血 Th 細胞中 Eomes 陽性細胞の頻度は 14.2±8.5%（健常者 7.0±3.4%），AD 患者は 13.5±6.9%（健常者 7.3±3.7%）であり，健常者と比較して有意に高かった

($P<0.01$). Eomes 陽性 Th 細胞の頻度と Granzyme B 陽性 Th 細胞の頻度には正の相関を認め，Th 細胞の Granzyme B 発現率は AD・ALS 群でそれぞれ健常群よりも高かった(ALS: $P<0.0001$，AD: $P<0.05$)．ELISPOT 法では，患者群 Th 細胞の Granzyme B スポット形成数は健常者より有意に多かった(ALS: $P<0.01$，AD: $P<0.01$)．また，AD 患者において，認知機能障害の程度と Eomes 陽性 Th 細胞の頻度との間に正の相関を認めた．

考察：

MS や NMOSD において、Eomes 陽性 Th 細胞が両疾患の病態形成に寄与していることが示唆された。遺伝子発現解析など詳細な解析を行うことにより、同細胞の細胞障害性などの機能が明確になることが期待される。また、SPMS と同様に，Eomes 陽性 Th 細胞が神経変性疾患の病態へも関与している可能性が示唆された．

結論：

ヒト剖検例での免疫解析による病原性リンパ球の同定と解析は病態解明に有用であり、Eomes 陽性 Th 細胞の神経変性病態への関与についてさらなる研究が必要である。

参考文献：

Raveney, B. J., et al. (2021). Involvement of cytotoxic Eomes-expressing CD4+ T cells in secondary progressive multiple sclerosis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 118(11).

難治性神経疾患における免疫関連バイオマーカーの探索

分担研究者：北條浩彦
所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所

研究協力者：Mallahalli Manu
所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所

緒言

神経疾患と関連してその症状を反映する生体内分子は、疾患の早期診断・治療・予後の経過観察において、疾患の状態を客観的に捉える有用な指標、すなわちバイオマーカーに成りえる。本研究は、その様な有用な生体内分子を見つけ出すために細胞外マイクロ RNA（セルフリーmiRNA）に着目し、免疫炎症を伴う神経変性の血液中のセルフリーmiRNAを解析した。多発性硬化症モデルマウスを用いて、疾患関連セルフリーmiRNA の探索と共に、近年注目されている腸内細菌叢との関連も調べた。

Biomolecules that are associated with neurological diseases may become useful biomarkers for early diagnosis, early medical treatment and catamnestic observation of the diseases. To find such biomarkers, cell-free nucleic acids are considered as promising candidates. Cell-free nucleic acids are extracellular and may play an important role in cell-to-cell communication. In our research, we search for cell-free nucleic acids related to neurological diseases with immune inflammation as candidate biomarkers and we examined Multiple sclerosis (MS) as a target disease.

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune neurodegenerative disease of the central nervous system (CNS), and many factors are involved in lesion formation. Recent studies suggest that gut microbiota affects the pathogenesis of MS. On the other hand, exosomal miRNAs, a type of cell-free RNA circulating in the blood, are also involved in MS. However, it is not yet fully understood how the microbiota is related to the immune responses and if there is any association between microbiota and circulating miRNAs in MS.

方法 (Methods)

We hypothesized that gut microbiota might control the host immune system through blood-circulating miRNAs. We generated gut microbiome dysbiosis model mice by oral administration of non-absorbing antibiotics cocktail (ABX) containing kanamycin, vancomycin and colistin. The model mice were subjected to experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) by a conventional method. Lymphocytes were isolated from the CNS, spleen and blood to see the percentage of $CD40^+$ T cells. For cell-free miRNA analysis, total RNA was isolated from the plasma by a Plasma/Serum circulating and exosomal RNA Purification kit and miRNA expression analysis was performed by a DNA chip of mouse miRNAs (3D-gene chip; TORAY INDUSTRIES, INC) and real-time (quantitative) PCR. Inhibition of miRNAs in model mice was performed by intravenous administration of antisense oligonucleotides of miRNAs. In vitro LPS stimulation to epithelial cells was done and miRNA expression was examined. Microbial abundances were analysed by 16S V3–V4 amplicon sequencing.

結果と考察 (Results & Discussion)

The results indicated that changes in gut microbiome by ABX administration ameliorated EAE. Fecal microbiome analysis by 16S V3–V4 amplicon sequencing indicated that gram-negative strains were much more in EAE mice than in ABX-treated (dysbiosis) EAE mice. MiRNA profiles and real-time PCR analysis confirmed that miR-21a-5p and miR-146a-5p were present as a cell-free miRNA in the blood of EAE mice, and markedly decreased in ABX-treated EAE mice. In addition, administration of an inhibitor (antisense oligonucleotides) for miR-21a-5p to EAE models

resulted in the reduction of the EAE severity and T cell frequency in the CNS. When gut epithelial cells were treated with LPS derived from gram-negative strains, the cells secreted more exosomes and cell-free miR-21a-5p, i.e., LPS stimulation induced secretion of exosomes and miRNAs. Transfection of naïve T cells with miR-21a-5p mimics increased the proinflammatory cytokines IL17 and GM-CSF. When taken together, the findings presented here suggest the possibility that exosomal or cell-free miRNAs may be involved in the association between gut microbiome and auto immune responses in the EAE models.

結論 (Conclusion & future plans)

Our study provides us with a new insight into the relationship between gut microbiome and EAE with the addition of blood-circulating miRNAs as potential messengers. To further clarify the relationship, the target genes for miRNAs need to be determined in the future.

参考文献 (References)

1. Manu M.S., Hohjoh H., Yamamura T. Extracellular Vesicles as Pro- and Anti-inflammatory Mediators, Biomarkers and Potential Therapeutic Agents in Multiple Sclerosis. Aging Dis, 12:1451-1461, 2021.
2. Zhang J, et al., Exosome and exosomal microRNA: trafficking, sorting, and function. Genomics Proteomics Bioinformatics. 13: 17-24, 2015.
3. Kimura K, et al., Circulating exosomes suppress the induction of regulatory T cells via let-7i in multiple sclerosis. Nat Commun. 9: 17, 2018.
4. Yokote H, et al., NKT cell-dependent amelioration of a mouse model of multiple sclerosis by altering gut flora. Am J Pathol. 173: 1714-1723, 2008.

自己免疫性脳炎・神経炎の発症機序の解析と末梢神経疾患モデル化に関する研究

分担研究者：荒木　敏之
所属：国立研究開発法人　国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第五部

緒言：

脳炎の少なくとも一部には、自己免疫機序を原因とするものが存在している。また末梢神経系では慢性炎症性脱髄性多発神経炎（CIDP）は自己免疫的機序を背景としていると考えられる。

本研究では、1）臨床的に自己免疫機序が疑われる脳症・神経炎患者の血清と臨床情報を収集し、2）自己抗体の標的抗原を同定することによる病因・病態の解明と、疾患マーカーとしての自己抗体の意義の検討を実施することにより、自己免疫性脳症・脳炎の疾患概念と診断法の確立に貢献することを目指す。また、末梢神経疾患評価手法の一つとして、ヒト iPS 細胞から神経系細胞を分化させることにより、ヒト細胞による神経系細胞培養モデルを作出し、モデルとしての妥当性を評価したいと考えた。

方法：

1）自己免疫性機序が疑われる脳炎患者、および、CIDP 患者からそれぞれ血清検体を取得した。患者血清中に存在すると考えられる、自己抗体に対する抗原の同定を行う目的で、齧歯類の脳・末梢神経、ヒトの脳・末梢神経組織由来の蛋白を用いた Immunoblot 法により、患者血清中に存在する抗体成分が脳・神経組織中の蛋白と反応するかどうかを検討した。さらにこれに加えて、脳・神経組織中の発現量に依存しない unbiased な抗原蛋白スクリーニングとして、蛋白アレイを用いた網羅的スクリーニングを実施した。

2）ヒト細胞を用いた末梢神経系培養モデル作出は、標準 iPS 細胞から分化させた神経堤細胞を神経細胞の培養条件で培養することにより、末梢感覚神経細胞・Schwann 細胞を誘導することを基本とし、高効率かつ再現性の高い分化条件を検討した。

結果：

1）自己免疫機序が疑われる脳炎患者、末梢神経炎患者から採血し、血清を分離して研究に使用した。解析方法としてマウス脳、末梢神経中の蛋白、さらに、ヒト大脳皮質を構成する蛋白を抗原として結合する抗体成分が存在するかどうかを、患者血清を抗体として用いるImmunoblot法により検討した。また、マウス末梢神経髄鞘切痕領域に存在する蛋白、マウス大脳皮質の細胞膜蛋白の濃縮を行い、Immunoblot法により解析したが、これらの検討においては、患者血清と結合する蛋白を同定することができなかった。

次に、脳・神経における発現量に依存しない網羅的解析法として、蛋白アレイを用いたスクリーニング解析を行った。蛋白アレイスクリーニングでは、各被検者血清から、いくつかの蛋白との比較的弱い反応を検出したが、異なる患者血清から同じ抗原蛋白に対する強い反応を検出することはできなかった。

2）ヒト細胞を用いた末梢神経髄鞘化モデル作出のため、標準ヒトiPS細胞を神経堤

細胞に分化させ、その細胞塊を神経細胞の培養条件で維持することによって末梢神経を自己組織化させて誘導する方法を試みた。神経細胞・シュワン細胞を別々に分化誘導した後に共培養によって髄鞘化を誘導するという一般的な方法では、シュワン細胞の分化誘導・純化が困難であったが、今回の方法では個々の構成細胞を別々に誘導する必要がなく、髄鞘化シュワン細胞を含めた末梢神経構成細胞を誘導可能であることが確かめられた。

考察：

1）については、脳炎検体を追加し、抗原蛋白アレイの網羅的探索による検討を更に実施し、追加的な抗原候補を得たが、検出された抗原性はいずれも弱く、同定には至っていない。既報では、Immunoblot 法を用いた解析を中心とする方法で抗原の同定を報告している例があるが、血清中の抗体成分と抗原との反応性が非常に強くなければ、この方法で抗原を確定することは困難であると考えられた。また、蛋白アレイを用いた網羅的スクリーニングにおいて得られる抗原候補蛋白と血清中の抗体成分との反応性は一般に低く、この方法で得られた抗原候補に関して個別の詳細な検討を行う上では、多数例の患者検体において共通する抗原であるなどの追加情報が得られることが望ましいと考えられた。

2）に関しては、神経堤細胞から末梢感覚神経細胞・Schwann 細胞を個別には分離しない、いわばオルガノイド培養のような形で髄鞘化末梢神経を誘導する方法の最適化を進め、髄鞘化セグメントの観察に至った。ヒト幹細胞から末梢神経組織の誘導についてはこれまでの報告例は少ないが、特に Schwann 細胞の分化誘導方法が確立していない。またそもそもヒト Schwann 細胞の維持培養手技自体も十分理解されていない。我々の方法は、こうした状況下で、末梢神経組織を構成する個別の細胞種を分離培養することなしに、末梢神経組織全体を誘導することを可能にするもので、簡便な末梢神経組織誘導法となる。また、今後、この培養中のシュワン細胞のフェノタイプと分化過程の検討から、ヒトシュワン細胞の分化誘導方法、培養方法を確立し、更に効率的なヒト末梢神経疾患モデル作出に資することを目指す。

結論：

自己免疫性脳炎・神経炎患者血清中の抗体成分が認識する抗原の同定に関しては、これまでに得られた結果をもとに、さらに検体数を増やして検討を継続する。

また、ヒト幹細胞からの末梢神経組織誘導では、髄鞘化の高効率化とともに、ヒトシュワン細胞の分化誘導方法、培養方法を確立するとともに、末梢神経疾患患者由来細胞を用いた疾患のモデル化を進める。

参考文献：

1. Tsubota M, Fukuda R, Hayashi Y, Miyazaki T, Ueda S, Yamashita R, Koike N, Sekiguchi F, Wake H, Wakatsuki S, Ujiie Y, Araki T, Nishibori M, Kawabata A. Role of non-macrophage cell-derived HMGB1 in oxaliplatin-induced peripheral neuropathy and its prevention by the thrombin/thrombomodulin system in

rodents: negative impact of anticoagulants. Journal of Neuroinflammation 16: 199 2019

2. Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H, Kurosawa T, Yoshimoto Y, Nakatani M, Hitachi K, Yamaguchi H, Wakatsuki S, Araki T, Morita M, Yamada H, Toyoda M, Kanazawa N, Nakazawa N, Hino J, Fukada S, Tsuchida K. Mesenchymally expressed Bmp3b maintains skeletal muscle integrity and reduction of its expression contributes to sarcopenia. J Clin Invest 131(1) e139617, 2021.
3. Funakoshi M, Araki T. Mechanism of initiation and regulation of axonal degeneration with special reference to NMNATs and Sarm1. Neuroscience Research in press.

中枢神経疾患の病態形成に関わる慢性炎症の分子機序の解明

分担研究者：大木　伸司
所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所免疫研究部

緒言：

神経疾患における免疫依存性の慢性炎症の分子機序は極めて複雑であり、その分子機序は不明である。とくに慢性炎症と密接に関わるⅠ型インターフェロン(IFN-I)は、種々の神経難病との関連が指摘されているが、その作用は context-dependent であり、疾患修飾作用の全容は依然不明なままである。本研究は、IFN-I 依存性の中枢神経系(CNS)の慢性炎症の分子機序の解明を目的とし、中枢神経疾患の素地となる慢性炎症環境の全容の理解を目指す。神経難病の多様な病態機序と IFN-I との関連が明らかになることで、病態解明と治療薬開発をつなぐ画期的な成果が期待できる。とくに二次進行型 MS(SPMS)の病原性因子である Eomes 陽性 Th 細胞は、その生成に IFN-I が深く関わることが明らかになりつつあり、我々が確立した SPMS モデルマウスにおける IFN-I の性状解析、IFN-I を高産生する遺伝子改変マウスにおける Eomes 陽性 Th 細胞の挙動解析と、IFN-I の高産生に至る分子機序の究明を進める。

方法：

・SPMS モデルマウスから、CX3CR1 発現を指標としてミクログリアを分離し、RNA を抽出後、QPCR 法を用いて遺伝子発現定量解析を行った。
・Zymosan 存在下にミクログリアを培養し、Clec7a 発現について定量解析を行った。
・IFN-α/β受容体欠損マウスに EAE を誘導し、CNS 内の Eomes 陽性 Th 細胞頻度と抗原提示細胞の異所性 PRL 産生を、QPCR 法を用いてそれぞれ定量した。
・Trex1 欠損マウスの二次リンパ組織及び CNS の Th 細胞の Eomes 発現を定量した。
・MRL-lpr マウスの二次リンパ組織及び CNS の Th 細胞の Eomes 発現を定量した。

結果：

SPMS モデルマウス由来ミクログリアの網羅的遺伝子発現解析から、IFN-I と CXCL13 発現の顕著な増加を見出した。CXCL13 は、CNS 内に分布した活性化リンパ球などの CCR2 または CXCR5 発現細胞に作用して、ミクログリアと免疫細胞の相互作用を促進するものと考えられた。
IFN-I の作用により、B 細胞を含む抗原提示細胞の異所性プロラクチン(PRL)産生が亢進し、この PRL 刺激を受けたが Th 細胞の Eomes 発現が増強することがわかり、ミクログリア/T 細胞/B 細胞(抗原提示細胞)間の相互作用の重要性が示された。
シングルセル解析から SPMS マウス由来ミクログリアの Clec7a 遺伝子の発現増強を見出し、zymosan 刺激により、Clec7a 陽性ミクログリア IFN-I 産生亢進を確認した。病態下のアストロサイトが産生するガレクチンなどにより、Clec7a 依存性に生じたミクログリアの IFN-I 産生増強が、CNS 内の慢性炎症環境を形成し、神経細胞障害性の Eomes 陽性 Th 細胞の生成による神経変性病態の促進に中心的な役割を果たす可能性が示された。

IFN-α/βRKO マウスでは、SPMS 相当病態下の CNS に浸潤した Eomes 陽性 Th 細胞と抗原提示細胞の異所性 PRL 産生がともに低下し、SPMS 相当病態において IFN-I 産生が中心的な病態修飾作用を示すことが明らかとなった。

Crispr/Cas9 法を用いて樹立した Trex1 欠損(KO)マウスは、IFN-I 発現が全身性に亢進し、いわゆる Interferonopathy の症状を呈する。Trex1 欠損 KO マウスの二次リンパ組織では軽度の、CNS では顕著な Eomes 陽性 Th 細胞が検出された。同様に IFN-I 産生亢進を伴って全身性ループス(SLE)を発症する MRL-lpr マウスでも、二次リンパ組織と CNS で Eomes 陽性 Th 細胞の増加を認め、普遍的な IFN-I の作用が確認された。

考察：SPMS モデルマウスの病態形成と Eomes 陽性 Th 細胞の生成に、IFN-I が中心的な役割を果たすことが示された。とくに Trex1 欠損 KO マウスの二次リンパ組織と CNS で Eomes 陽性 Th 細胞の増加を認めたことから、IFN-I の単独刺激のみで Th 細胞の Eomes 発現が誘導可能であることが示された。Trex1KO マウスの二次リンパ組織と CNS で、Eomes 陽性 Th 細胞誘導の程度が異なることから、CNS が IFN-I 依存性の Eomes 陽性 Th 細胞生成により適した環境を提供する可能性が考えられた。今後、IFN-I 依存性の Eomes 陽性 Th 細胞生成に関わる CNS 環境の性状解析を行うことで、その詳細を明らかにする。また Trex1KO マウスの Interferonopathy は、CNS にも強い慢性炎症を引き起こし、ヒト SLE では Neuro-psychiatric SLE として知られる、特徴的な中枢神経病態を発症する。そこで、それらの中枢神経症状の発症に対する Eomes 陽性 Th 細胞の関与を明らかにする。

結論：

中枢神経疾患の病態形成に関わる慢性炎症因子としての IFN-I の役割が明らかとなった。とくに IFN-I の単独刺激のみで、Th 細胞の Eomes 発現が誘導可能であることが明らかとなり、そのようにして誘導された Eomes 陽性 Th 細胞と中枢神経症状との関連を解明するための手がかりを得た。

参考文献：

1. Takahashi, F., Zhang, C., Hohjoh, H., Raveney, B., Yamamura, T., Hayashi, N., & Oki, S. (2022). Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element-1. iScience, 104278.
2. Chenyang Zhang, Ben J. E. Raveney, Hirohiko Hohjoh, Chiharu Tomi, Shinji Oki, Takashi Yamamura. Extrapituitary prolactin promotes generation of Eomes-positive helper T cells mediating neuroinflammation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 116 (42) 21131–21139 (2019)
3. Ben J. E. Raveney, Wakiro Sato,Daiki Takewaki,et al.Involvement of cytotoxic Eomes-expressing CD4+ T cells in secondary progressive multiple sclerosis. Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 118(11) e2021818118 (2021)

免疫性ニューロパチーの統合的解析

分担研究者：佐藤　和貴郎
所属：国立精神・神経医療研究センター神経研究所　免疫研究部

緒言：慢性炎症性脱髄性多発神経根炎（chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy：CIDP）をはじめとする免疫性ニューロパチーでは、自己免疫学的機序の関与が考えられている。多くの症例で標的抗原は同定されていないが、液性免疫と細胞性免疫の両者の関与が示唆されている。

我々は、多発性硬化症（MS）とそのモデル動物である実験的自己免疫性脳脊髄炎の解析から、病原性 CD4 陽性 T 細胞に関連する分子として Eomes および NR4A2 を同定した（(PNAS 2008、PLoS One 2013, Nat Commun 2015)。前者は進行型 MS との関連が、後者は MS の再発との関連を示唆する結果が得られている。

また海外では難治例に対する Rituximab の有効性が報告されるなど B 細胞を介した病態機序が想定されるが、特定の自己抗体や確立した標的抗原は同定されておらず、CIDP 患者における B 細胞の機能に関する知見は乏しい。

また、Sjogren 症候群や Sarcoidosis などの CIDP 以外の難治性ニューロパチーは頻度も低く研究も乏しいため病態未解明な点が多い。

本研究では、当研究部で発見された多発性硬化症における病原性リンパ球の難治性免疫性ニューロパチーにおける意義について検討し、病態解明に資する結果を得ることを目的としている。

方法：対象は国立精神・神経医療研究センター病院に通院中の CIDP 患者とし、末梢血から末梢血単核球細胞を分離し、フローサイトメーターを用いて、T 細胞・B 細胞亜分画解析を行った。具体的には、、CD4 陽性 T 細胞中の Eomes 陽性細胞の頻度および memory CD4 陽性 T 細胞（CD3+CD4+CD45RA-）における NR4A2 陽性細胞の頻度を測定した。B 細胞については Memory B、Double Negative B、Naïve B、Transitional B、Plasmablast、Plasma cell、Age Associated B 細胞について評価した。健常対照者との比較および患者の臨床症状・臨床所見との関連について検討した。

結果：CIDP 患者末梢血における Eomes 陽性 Th 細胞の頻度は、健常者のデータにより高値例（14%以上）と正常値例の二群に分かれた。高値例は CIDP の初発例（2 例）および治療抵抗例（4 例）であり、正常値例はいずれも免疫治療により安定している症例であった。発症年齢や罹病期間、INCAT 等の重症度スコアと Eomes 頻度の間に有意な相関は見られなかった。

NR4A2 陽性 Th 細胞の頻度については、60%の症例で高値であった。高値例と正常値例の間に臨床的に有意な相関は認めなかったが、IVIG 治療直後の症例および少量経口ステロイド治療で長期寛解が得られている症例では正常値であった。NR4A2 陽性細胞頻度と Eomes 陽性細胞頻度の間に相関関係は認めなかった。

B 細胞亜分画の中では、Plasmablast が患

者群で増加しており($p < 0.01$)、CD138 陽性の mature な plasmablast、CXCR3 陽性の Plasmablast が増加していた($p < 0.01$)。その他、 Memory B cell の増加($p < 0.01$)を認める一方で Naïve B cell は相対的に減少していた($p < 0.05$)。近年全身性エリテマトーデス(SLE)や一部の多発性硬化症(MS)患者で増加していることが報告されている Age-associated B cell は一部の患者で増加しているものの有意差は認めなかった($p = 0.08$)。

考察：

血液浄化療法や定期的 IVIG を必要とする難治性ニューロパチー患者において Eomes 陽性細胞の頻度の高い症例が存在する。細胞は、多発性硬化症においてのみならず各種の難治性ニューロパチーにおいても病態形成に関連していると考えられ、また病態マーカーとして有用な可能性がある。MS の疾患活動性と関連する NR4A2 陽性細胞は Th17 細胞の一つであり、CIDP においても疾患活動性を反映している可能性がある。

Plasmablast の増加は SLE や視神経脊髄炎といった B 細胞を介した自己免疫性疾患に共通して認める現象であることから、自己抗体の産生や B 細胞の分化異常を示唆する結果であると考えられる。

本研究の Limitation として、対象患者のほとんどが免疫療法を受けており、治療の影響が否定できない点、また疾患活動性や重症度など臨床的に多様な症例を含んでおり、CIDP 一般の病態を明らかにするには不十分であることが挙げられる。さらに症例を集積し検討を継続することが重要と考えられる。

結論：CIDP やその他の免疫介在性ニューロパチーにおいても、多発性硬化症やその動物モデルにおける病原性リンパ球の関与が示唆され、共通する免疫病態が存在する可能性がある。疾患活動性のバイオマーカーとして、あるいは治療標的として有用である可能性があり、今後さらに検討を進めることが必要である。

参考文献：

1. Raveney, J.E.B., S. Oki, H. Hohjoh, M. Nakamura, Sato W, M. Murata, and T. Yamamura: Eomesodermin-expressing T-helper cells are essential for chronic neuroinflammation. Nature Comm 6:8437, 2015
2. Raveney, B. J., Sato, W., Takewaki, D., Zhang, C., Kanazawa, T., Lin, Y., ... & Yamamura, T. (2021). Involvement of cytotoxic Eomes-expressing CD4+ T cells in secondary progressive multiple sclerosis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 118(11).
3. Doi, Y., Oki, S., Ozawa, T., Hohjoh, H., Miyake, S., & Yamamura, T. (2008). Orphan nuclear receptor NR4A2 expressed in T cells from multiple sclerosis mediates production of inflammatory cytokines. Proceedings of the National Academy of Sciences, 105(24), 8381-8386.

免疫介在性ニューロパチー・脳炎の診断と治療

分担研究者：岡本智子
所属：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科

緒言

神経疾患の病態が解明することで，確定診断の手法が確立し，新規治療が可能になることが期待される．難治性神経疾患における患者の臨床的特徴を詳細に検討し，病態の解明，診断の確立，新規治療に寄与する研究を行う．令和元年度は，神経細胞核内の好酸性封入体形成を特徴とし，認知機能障害，小脳性運動失調，末梢神経障害を合併する神経核内封入体病（NIID）について，近年の遺伝子解析の進歩による確定診断に基づき，免疫介在性ニューロパチーとの鑑別の重要性について検討した．また令和 2 年度は，抗アクアポリン 4（AQP4）抗体が病態の機序に大きく関与する視神経脊髄炎関連疾患（NMOSD）で，抗 AQP4 抗体陽性 NMOSD 例と陰性 NMOSD 例の剖検例からその臨床的病理学的相違について検討した．令和 3 年度は，中枢神経の炎症性脱髄性疾患である多発性硬化症に対する新規治療薬の医師主導治験に関して報告した．

方法

[令和元年度]当院で NIID と診断された 12 例についての臨床的経過，電気生理学的所見，脳 MRI 所見の特徴を後方視的に検討した．

[令和 2 年度]急死後剖検を実施した NMOSD 2 例の臨床・病理学的検討を後方視的に行った．

[令和 3 年度]再発性多発性硬化症（RMS）患者 30 人を対象とした，週 1 回経口反復投与（24 週間），多施設共同 2 群ランダム化二重盲検第 II 相臨床試験で，被験薬：OCH-NCNP1 顆粒 0.3 g（OCH-NCNP1; 3.0 mg 含有）を 15 人，または対照薬（プラセボ）を 15 人に投与し有効性及び安全性を検討した．主要評価項目は MRI 画像 T2 強調画像による，新規病巣又は既存の病巣の拡大が認められた被験者の割合であり，副次評価項目は，有効性に関しては第 I 相試験で変動が認められた T 細胞・NK 細胞系統の探索的バイオマーカーと，臨床上重要な有効性評価項目である再発，機能障害，MRI 画像上の変化である．安全性評価は有害事象発現とその程度を検討した．

結果および考察

[令和元年度]NIID 12 例(男 5 例，女 7 例)，発症年齢は 31～68 歳，発症から診断確定までは 1～17 年，家族歴は 2 例に認めた．初期症状は認知機能低下，振戦，四肢筋力低下，排尿障害などであった．10 例は脳 MRI で特徴的な病変を認めたことから NIID が疑われ，皮膚生検で診断が確定された．頭部 MRI 所見は，全例に大脳萎縮，小脳萎縮を認め，DWI 皮髄境界高信号 10 例，FLAIR 画像で広範な白質高信号 9 例，小脳虫部高信号 8 例，小脳脚高信号 7 例に認められた．2 例は認知機能低下なく，上記 NIID に特徴的な MRI 画像所見[1]を認めず，末梢神経障害が前景にたち，初期に慢性炎症性脱髄性ニューロパチーと診断されていた．うち 1 例は経過中急激な頭痛，めまい，視野異常が出現，頭部 MRI で広範な病変を認めた．

急性期画像所見は Mitochondrial myopathy, Encephalopathy, Lactic Acidosis, and Stroke-like episodes（MELAS）に類似していたが，ミトコンドリア全周シークエンスで変異を認めなかった．末梢神経障害，脳卒中様エピソード，縮瞳を認めたことからNIID を疑い，皮膚・神経生検を施行し診断が確定した.近年，NIID の原因遺伝子として *NOTCH2NLC* の GGC expansion が同定され [2]，本例においても同様の遺伝子異常を認めた．

[令和 2 年度]症例 1： 54 歳女性；45 歳 右視力障害，46 歳 感覚障害，四肢麻痺，膀胱直腸障害が進行し MRI で頸髄長大病変（C1-6）を指摘，他院で抗アクアポリン 4（AQP4）抗体陽性 NMO と診断．呼吸困難のため人工呼吸器管理を実施．ステロイドパルス(SP)，血液浄化療法(PP)を繰り返し，経口ステロイド(OS)，免疫抑制剤(IS)併用，約 10 か月後に人工呼吸器離脱．46 歳 当院受診後約 8 年間再発なく経過．54 歳 呼吸状態悪化，自宅にて心肺停止状態で発見され当院へ救急搬送．死亡を確認．

症例 2： 52 歳男性；43 歳 左顔面麻痺で発症．両側難聴・めまいを繰り返す．48 歳 視力障害，複視，歩行障害増悪し，頭部 MRI で視交叉～両側視神経，左基底核～側頭部内側，脳梁膨大部に一部造影効果ある異常信号を認めた．抗 AQP4 抗体陰性．HLA-B51 陽性，髄液：リンパ球優位の細胞数増多，蛋白高値， IL-6 著名高値．PET・ランダム皮膚生検行うも原因不明．その後も視神経炎，脳幹，頸髄，胸髄病変を繰り返し，MRI で延髄頚髄移行部から上位胸髄に至るまでの長大脊髄病巣を呈した．種々の免疫治療(SP,PP,OS,IS)を施行するも，視力障害，難聴，歩行障害は増悪．52 歳肺炎罹患，総胆管結石，膵炎合併し敗血症性ショックで死亡した．

神経病理所見としては，症例 1 は片側性視神経線維脱落，症例 2 は両側性視神経線維脱落と高度な視神経萎縮を認めた．両者ともに高度な脊髄萎縮，壊死病変，軸索の破壊消失を認めたが，症例 1 は脊髄中心優位，症例 2 は脊髄辺縁部位優位であった．NMO に特徴的な病理像である抗 AQP4 抗体反応の消失，抗 GFAP 抗体反応の消失は両者ともに認めなかったが，末梢性の髄鞘が脊髄内に侵入する像は症例 1 にみられた．

[令和 3 年度]治験実施状況は，2019 年 12 月～2021 年 11 月までに延べ 35 人が同意し，スクリーニング検査を実施．登録された 30 人（男性 10 人/女性 20 人，再発寛解型 18 人/二次進行型 12 人，平均年齢 45 歳，平均発症年齢 33 歳，平均罹病期間 13.5 年，平均 EDSS4.2)の患者のうち 25 人が完遂，5 人中止し，その理由は，MS 再発に対する治療継続のため（3 人），検査値基準範囲外のため（2 人）であった．本治験では治験参加患者を募ることが重要な課題のひとつで，様々な広報活動を行い，他施設から 6 人の患者をご紹介いただき，3 人組み入れることができた．

結論

[令和元年度]NIID の中には DWI における皮髄境界高信号などの特徴的な頭部 MRI 所見を呈しない症例が存在し，末梢神経障害，急性発症の中枢神経症状を呈する症例の鑑別診断として NIID を考慮することは重要である.近年の遺伝子異常の同定は，今後臨床的多様性を示す NIID の診断に重要

な役割を果たすと考える.
[令和 2 年度]典型的及び，非典型的NMOSD の剖検例を経験した．抗 AQP4 抗体陰性 NMOSD の病態把握には，病理を含めた症例の蓄積とさらなる検討が必要である.
[令和 3 年度]OCH-NCNP1 は免疫制御性に作用するユニークな機序の経口薬剤であり，MS の新規治療薬として有望である．30 例の登録が達成でき,今後解析をすすめる.

参考文献

1) Sugiyama A.et al. AJNR Am J Neuroradiol. 2017;38(11):2100-2104.
2) Sone J.et al. Nat Genet. 2019 ;51(8):1215-1221.

NINJAの病態解明と治療手段に関する研究

分担研究者：林 幼偉
所属：国立精神・神経医療研究センター
1)病院　脳神経内科診療部 2)神経研究所 免疫研究部

緒言：

多発性硬化症（MS）は自己免疫機序によって中枢神経症状の再発・寛解を繰り返す脱髄疾患であり、臨床経過により再発寛解型(RR-MS)、二次進行型(SP-MS)、一次進行型(PP-MS)に分けられ、多くが再発寛解期を経て二次進行期に移行する。各病期の病態は解明されているが、移行期の機序は明らかになっていない。RR-MS に関しては疾患修飾薬の導入により多くの症例で疾患活動性の制御が可能になったが、疾患修飾薬が無効でむしろステロイド製剤や免疫抑制剤が有効な疾患群は少なくない。そのような非典型的な疾患群の中で抗 AQP4 抗体の同定により視神経脊髄炎類縁疾患(NMOsd)として分類された。しかしいずれの疾患においても再発・増悪症状に対してステロイドパルスを複数クール施行しても充分に寛解しない難治症例も少なくなく、またいずれについて非典型的な疾患群が想定されている。その中で明らかな神経学的所見を認め他覚的に神経学的な責任病変の存在が想定でき臨床的には MS と考えられるものの通常の MRI 画像でほとんど病変を指摘できない疾患群を Normal brain imaging accompanies neuroimmunologically justified, autoimmune encephalomyelitis (NINJA) という MS とは異なる疾患群として報告した(Takewaki D. et.al 2018)。

NINJA は抗体産生を担う血中の plasmablast の数値が高く、ステロイド治療や血液浄化療法などの免疫学的治療が有効で、通常の MRI 撮影方法でなく拡散テンソル画像解析を行えば白質の異常があることを指摘しうることまでは判明した。本研究は NINJA の病態を明らかにして治療手段の適正化を図ることを目標とし、A)患者検体を感作マウスに移入して病原性を確認し、B)末梢血リンパ球サブセットのパターンを解析し、C)患者検体から病因物質を同定し、D)診断基準を確立することを計画した。

自己抗体同定に関する解析手段が入手困難となったことや研究における時間的制約ができたことから、今回の研究では NINJA の病態解析に絞った。まず①MS や NMOSD の難治症例における血液浄化療法の有効性とその免疫学的な予測指標について解析し、②末梢血リンパ球サブセットのパターンと、③MS の各病型を反映し全経過に共通な治療反応性を反映できる T 細胞サブセットのパターンについて、それぞれ MS や NMOSD と比較した。

方法：

① ステロイドパルス後も症状が残存する症例に対し、当院では 2005 年から血液浄化療法を導入しており、2005 年度から 2011 年度の初期 5 年間に行った MS 77 人(再発型(=RRMS) 45 人; 進行型(=SPMS) 32 人)；NMO 20 人と 2016 年度から 2017 年度の後期 2 年間に行った MS 73 人(RRMS 41 人; SPMS 32 人)；NMO 44 人を解析した。原則血漿免疫吸着療法(IAPP)から開始し、反応次第で二重濾過型血漿交換療法(DFPP)や単純血漿交換療法(PE)に変更した。他覚的な指

標として EDSS が軽減した症例を改善群、FS のみが軽減した症例を軽快群、自覚的症状のみが軽減した症例を有効群、それ以外を不変・悪化群と判定し、複数回の施行で判定が異なる場合は別症例とした。免疫学的指標として施行前の末梢血 B 細胞中の plasmablast と IFNγ^{+}Th1 細胞あるいは IL-17^{+}Th17 細胞の割合を測定した。

② NINJA 9 名、健常者（HS）20 名から採取した末梢血細胞より Ficoll 法でリンパ球分画を分離し、CD45RA 陰性の memory CD4 陽性T細胞をケモカイン受容体の発現パターンに基づいて CXCR3 陽性 CXCR5 陰性群を Th1 細胞、CXCR3 陰性 CXCR5 陰性 CCR6 陰性群を Th2 細胞、CXCR3 陰性 CCR6 陽性群を Th17 細胞、CD25^{high} 群を regulatory T 細胞（Treg）とし、頻度を比較した。

③ MS 患者（RR-MS 32 名、SP-MS 28 名、PP-MS 5 名），NINJA 患者 10 名の末梢血における CD4^{+}CD25^{+}T 細胞について CD25^{high} 分画と CD25^{low} 分画に分けて頻度と推移を比較した。また各分画における Foxp3 の発現頻度と IL-10 または IL-17 産生能を測定した。

結果：

① 血液浄化療法の有効性とその免疫学的な予測指標について、他覚的所見が改善した症例の割合が、前期では IAPP を施行した場合は RRMS 37.0%；SPMS 27.3%/；NMO 47.8%、DFPP や PE を施行した場合は RRMS 25.0%；SPMS 35.3%；NMO 45.5%であり、後期では IAPP を施行した場合は RRMS 65.9%；SPMS 39.4%；NMO 26.3%、DFPP や PE を施行した場合は RRMS 50.0%；SPMS 50.0%；NMO 57.7%であった。RR-MS では IAPP でも改善する症例が多いが、SP-MS や NMOSD では DFPP や PE の追加で効果が期待できること、IAPP 有効例では plasmablast が低く、DFPP/PE 有効例では plasmablast が高いことが判明した。

② 末梢血リンパ球サブセットのパターンの解析について、Th2 細胞、Th17 細胞、Treg については健常群と NINJA 群で有意差は認めなかったが、健常群に比べ NINJA 群では plasmablast が多く、CXCR3 陽性 CXCR5 陰性群の Th1 細胞が優位に低いことがわかり、先行研究での MS の IAPP 有効例では無効例に比べて IFNγ産生 Th1 細胞が多く、plasmablast が少ないことと逆であることが判明した。

③ T 細胞サブセットを用いた病型分類と治療反応性の指標として、末梢血の CD4^{+}CD25^{+}T 細胞における CD25^{high} 分画 CD25^{low} 分画の多寡と推移により MS の各病型(RR-MS、SP-MS、PP-MS)、NMOSD, NINJA の活動性（寛解期か再発期・増悪期）を評価することができ、再発・増悪期に RR-MS では CD25^{high} が減少し、SP-MS では CD25^{low} が増加し、NMOSD と NMO では両者が関与すること、CD4^{+}CD25^{high}/CD4^{+}CD25^{low} 比で治療反応性を評価することができること、CD25^{high} 分画が充分に回復しない RR-MS では多くが SP-MS へ移行していたこと、CD25^{high} 分画はほとんどが Foxp3 を発現する Treg であり一部は IL-10 あるいは IL-17、または IL-10 と

IL-17 を産生する effector Treg であり、$CD25^{low}$ 分画は Foxp3 発現頻度が低く IL-17 を産生する Th17 を含んでいることを明らかにした。

考察：

① IAPP は IgG1, IgG3 サブクラスを選択的に除去することから、plasmablast の活性化レベルにより自己抗体の IgG サブクラスの発現に選択性の違いが生じる可能性がある。Th1 細胞をメインとする病態には IgG1 や IgG3 型の自己抗体が関与していることを示唆する。前期と後期の反応性の違いとしては MS では過去の施行において効果を示している患者が多く含まれていたが NMO では新規の患者が多かったこと、MS では疾患修飾薬の選択肢が増えたことが理由として考えられる。

② 先行研究では、MS の IAPP 有効例では無効例に比べて IFN□産生 Th1 細胞が多く、plasmablast が少ない傾向にあるという結果が得られている。Th1 細胞の解析方法が異なるため単純比較はできないが、MS と NINJA では plasmablast と Th1 細胞の関与が逆である可能性があり、病態的に異なる疾患群であることを示唆するものと考える

③ RR-MS と SP-MS では再発・増悪時における $CD25^{high}$ 分画の推移が異なるが、これは RR-MS から SP-MS への移行期では Treg の抑制能低下による炎症の遷延で effector Treg が Th17 に変化することを示唆する。NINJA の $CD25^{high}$ 分画は RR-MS と SP-MS の中間にあり、MS 治療薬への抵抗性を反映すると考えられた。

結論：

① ステロイドパルス治療抵抗性の MS・NMO において血液浄化療法が効果的な症例が存在する。RRMS では IAPP で軽快する症例が多いが、SPMS や NMO では DFPP・PE で効果が期待できる。IAPP と DFPP・PE の有効性は plasmablast の多寡で異なり、特に IAPP では Th1 の割合で予測が可能である。

② T 細胞サブセットの解析では NINJA 群で Th1 細胞が優位に低かった。

③ $CD4^+CD25^+$T 細胞における $CD25^{high}$ 分画と $CD25^{low}$ 分画のバランスは MS の各病型と NINJA の病態を反映する。$CD4^+CD25^{high}/CD4^+CD25^{low}$ 比は治療反応性を反映し、特にこの値の回復が不充分な RR-MS は SP-MS に移行しやすい。

参考文献：

1. Takewaki D, Lin Y, Sato W, et al. Normal brain imaging accompanies neuroimmunology justified, autoimmune encephalomyelitis. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm. 2018 Apr 2;5(3):e456.
2. Chihara N, Aranami T, Oki S, et al. Plasmablasts as migratory IgG-producing cells in the pathogenesis of neuromyelitis optica. PLoS One. 2013; 8(12): e83036.
3. Kimura K, Lin Y, Yamamura T, et al. Th1-$CD11c^+$B Cell Axis Associated with Response to Plasmapheresis in Multiple Sclerosis. Ann Neurol. 2021 Oct;90(4):595-611.
4. Weiner HL, Dau PC, Khatri BO, et al. Double-blind study of true vs. sham plasma exchange in patients treated with immunosuppression for acute attacks of

multiple sclerosis. Neurology 1989; 39: 1143-1149.

5. Weinshenker BG, O'Brien PC, Petterson TM, et al. A randomized trial of plasma exchange in acute central nervous system inflammatory demyelinating disease. Ann Neurol 1999; 46: 878-886.
6. Keegan M, Pineda AA, McClelland RL, et al. Plasma exchange for severe attacks of CNS demyelination: predictors of response. Neurology 2002; 58: 143-146.
7. Watanabe S, Nakashima I, Misu T, et al. Therapeutic efficacy of plasma exchange in NMO-IgG-positive patients with neuromyelitis optica. Mult Scler 2007; 13:128-132.
8. Khatri BO, McQuillen MP, Hoffmann RG, et al. Plasma exchange in chronic progressive multiple sclerosis: a long-term study. Neurology 1991; 41: 409-414.
9. Hauser SL, Dawson DM, Lehrich JR, et al. Immunosuppression and plasmapheresis in chronic progressive multiple sclerosis. Design of a clinical trial. Arch Neurol 1983; 40: 687-690.
10. Canadian Cooperative MS Study Group. The Canadian cooperative trial of cyclophosphamide and plasma exchange in progressive multiple sclerosis. Lancet 1991; 337: 441-446.
11. Schmitt E, von Appen K, Behm E et al. Immunoadsorption with phenylalanine-immobilized polyvinyl alcohol versus plasma exchange - A controlled pilot study in multiple sclerosis. Ther Plasmapheresis 1993; 12: 239–242.
12. Schimrigk S, Faiss J, Köhler W, et al. Escalation therapy of steroid refractory multiple sclerosis relapse with tryptophan immunoadsorption - Observational multicenter study with 147 patients. Eur Neurol. 2016; 75: 300-306.

MRI によるネットワーク手法および Free water imaging を用いた筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群（ME/CFS）の脳画像解析

分担研究者：佐藤典子
所属：国立精神・神経医療研究センター病院放射線診療部

緒言

筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群（ME/CFS）は原因不明の強度の疲労が長期間継続する病気である。我々は脳MRIデータからグラフ理論ネットワーク解析や、自由水イメージング（Free water imaging：FWI)と呼ばれる最新の拡散MRI解析を用いて脳内の微細構造変化を検出し、客観的診断確立に貢献することを目的とした。患者群と正常群での二群間比較に加え、免疫研究部で解析した血中の免疫細胞データを基に相関解析を行った。

方法

脳内ネットワーク MRI 解析については、ME/CFS 患者 89 人(男性 13 名、女性 76 例、；平均年齢 37.3±12.7 歳、すべて右利き手)を対象とした。SPM 12 を用いて 3D-T1WI から灰白質画像を抽出し、2×2×2mm 大の等大ボクセル化したのちに、灰白質の類似性を用いた個人構造ネットワーク解析(https://github.com/bettytijms/Single_Subject_Grey_Matter_Networks; Tijms et al., 2012; version 20150902)を用いて、局所脳のネットワーク指標である次数、クラスタリング係数、媒介中心性、特徴的経路長およびスモールワールド性を算出した。こられを自律神経受容体に対する自己抗体（抗 β1 アドレナリン受容体抗体 β1AdR、抗 β2 アドレナリン受容体抗体 β2AdR、抗 M3 アセチルコリン受容体抗体 M3AchR、抗 M4 アセチルコリン受容体抗体 M4AchR）価と相関解析を実施した。

FWI 解析については、ME/CFS 患者 58 名(女性 44 名、男性 14 名；年齢 35.6 ± 12.5 歳)を対象に行った。拡散 MRI は b 値（0, 1000, 2000 sec/mm^2)、MPG32 軸にて撮影し、解析は MATLAB による tensor-model fitting アルゴリズムを用い、自由水の体積分率 FW、自由水の影響を除外した異方性比率（Fat）と平均拡散（MDt）の３つの指標を算出した。これらを健常者との群間比較、自己抗体（β1AdR、β2AdR、M3AchR、M4AchR）との相関解析を行った。

結果

脳内ネットワーク解析については、β1AdR と右背外側前頭前野（BA9）の媒介中心性との間に正の相関、β2AdR と右中心前回（BA4）の特徴的経路長との間に負の相関を認めた。FWI 解析については、群間解析では右弁蓋部に FW 低下域を、近接する右弁蓋部に FA t 低下域を、その上部の上縦束に FAt 上昇域を認めた。相関解析では β1AdR および β2AdR は同様の挙動を示し、右弁蓋部において FW、MDt にて負の相関を認めた。M3AchR および M4AchR とは有意な相関はなかった。

考察

ネットワーク解析で異常が検出された BA9 は意思決定やワーキングメモリなどの認知機能、痛みの制御に関連しており、さらに BA9 の白質は右上縦束の一部であり、我々が以前右上縦束の異常を報告したが(Kimura et al. JMRI. 2019)、同部位にネットワーク異常が再現されたと言える。また、FWI 解析でも右上縦束の異常が検出され、上縦束は前頭葉頭頂後頭側頭連合野を結ぶ連合野で認知機能や言語機能のほか、ワーキングメモリと関連が知られており、その障害が ME/CFS の症状と関連している可能性がある。さらに右弁蓋部の異常については、うつ関連指標(ストレス、抑うつ、意欲低下、不安)と強い関連性を示した報告や慢性的な職業性ストレスによる疲労症候群において右弁蓋部皮質厚の低下（菲薄化）を認めた報告などがあり、同領域も症状との関連性が示された。

結論

ネットワーク手法や FWI を用いた脳 MRI 解析は、ME/CFS 病態の解明に有用なツールであり、右上縦束の異常は ME/CFS における biomarker となる可能性がある。

参考文献

1. Tijms B.M., Seriès P., Willshaw D.J. Similarity-based extraction of individual networks from gray matter MRI scans. Cereb Cortex. 2012;22(7):1530–1541.
2. Kimura Y, Sato N, Ota M, et al. Brain abnormalities in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome: Evaluation by diffusional kurtosis imaging and neurite orientation dispersion and density imaging. J Magn Reson Imaging. 2019 Mar;49(3):818-824.
3. Fujii H, Sato W, Kimura Y, et al. Altered Structural Brain Networks Related to Adrenergic/Muscarinic Receptor Autoantibodies in Chronic Fatigue Syndrome. J Neuroimaging 2020;30(6):822-827.

一本鎖抗体を用いた神経変性疾患の治療法開発研究

分担研究者：漆谷　真
所属：滋賀医科大学内科学講座脳神経内科

緒言：

家族性 ALS（FALS）の我が国最大の変異遺伝子 SOD1 が産生する変異タンパク質、孤発性 ALS（SALS）の病的封入体構成タンパク質 TDP-43 はともにその構造異常を背景とした毒性獲得（GOF）が主要病態である。我々は両タンパク質の異常構造を特異的に認識するモノクローナル抗体を独自に作成し筋萎縮性側索硬化症（ALS）に対する新規抗体療法の開発を進めている。さらにモノクローナル抗体ハイブリドーマ由来の scFv は小型であるのみならず、分泌シグナル、分解シグナルなどの分子修飾が自在で有り、用いるベクターによっては直接投与やドラッグデリバリーとしての細胞に感染させることで、病原タンパク質の局在の場に応じた分子標的治療のツールに資する高い潜在性を有する。我々は本研究班の前進班「神経疾患における免疫病態の解明と治療法開発に関する研究」において、ミスフォールド TDP-43 に対するモノクローナル抗体 3B12A 由来の scFv にシャペロン介在性オートファジー（CMA）シグナルを付与した自己分解型 scFv の in vitro での治療効果を報告した。本研究では scFv の前臨床評価に資する TDP-43 プロテイノパチーマウスの作製と、変異 SOD1 scFv を細胞移植と融合させるという免疫再生治療の有効性を検討した。

方法：

1. 抗 TDP-43 細胞内抗体の前臨床研究に資するモデル動物の作出

臨床型と病理所見の両者において TDP-43 プロテイノパチーを忠実に再現するモデル動物は存在しない。そこで TDP-43 cDNA 上下流に発現効率を増強させたプロモーター、polyA を配置させたコンストラクトを作出した。TDP-43 として核移行シグナル（NLS）の変異体（LQ）、LQ 変異に RNA 認識モチーフのアミノ酸置換により凝集体形成効率を上げた LQ-DCS (Shodai, 2012 JBC)を導入した。LQ、LQ-DCS の両者で脊髄と脳にて外来性 TDP-43 を発現するラインを得たため、運動機能と認知機能と病理所見について表現型解析を行った。

2. 家族性 ALS の原因タンパク質変異 SOD1 に対する抗体治療開発研究

我々は SOD1 変異を有する家族性 ALS で共通して認めるミスフォールド型 SOD1 を認識するマウスモノクローナル抗体（D3-1）の作出に成功した。まず全長 H46R SOD1 トランスジェニックラットの髄腔への D3-1 の全長抗体を 1 ヶ月持続投与によって進行抑制、運動機能改善効果を観察した。さらに D3-1 抗体のハイブリドーマより VH、VL の可変領域遺伝子を単離し、一本鎖抗体 scFvD3-1 を作出した。遺伝子導入による外来遺伝子の恒久的影響に対する懸念と、細胞移植治療の組み合わせによる相乗効果を得るため、scFvD3-1 の cDNA をボルナウイルス病（BoDV）ベクターに組み込み、オリジナリティ前駆細胞（OPC）に感染させ、scFvD3-1 を分泌する OPC（D3-1-OPC）を作出した。

結果：

1. 抗 TDP-43 細胞内抗体の前臨床研究に資するモデル動物の作出

生後 6 ヶ月で脳脊髄での TDP-43 の異所性局在が見られ、アストロサイトの異常増殖を認めた。LQ-DCS マウスでは脊髄で界面活性剤不溶性の TDP-43 が増加したが、ともに明らかな表現型は見られなかった。生後 400 日齢で行ったオープンフィールド検査にて LQ、LQ-DCS で異常な探索行動を認めたが両者の相違はわずかであった。

2. 家族性 ALS の原因タンパク質変異 SOD1 に対する抗体治療開発研究

D3-1 全長抗体を H46R SOD1 トランスジェニックラットの髄腔内に 1 ヶ月間持続投与したところ、生存期間、体重減少、握力、両下肢伸展反射のいずれも改善効果を示した。次に、OPC（D3-1-OPC）の感染効率がほぼ100%であることを確認し、培養培地中の分泌、Brefeldin による分泌抑制を確認した。D3-1-OPC を発症直前の H46R ラットの脳室内に投与したところ、全長抗体単独に比し、寿命延長、進行抑制、種々の運動機能の進行抑制についてより顕著な効果を示し、この効果には運動ニューロン数や神経筋接合部の保持、さらにミスフォールド SOD1 の減少、グリオーシスの抑制を伴っていた。OPC-D3-1, OPC のみ、生食対照群脊髄のトランスクリプトーム解析によって炎症関連分子の発現が OPC-D3-1 で著明に抑制されていることを確認した。

考察：

1. TDP-43トランスジェニックマウスの表現型解析の結果から、細胞質異所性局在の TDP-43に与える病態が明らかとなってきた。特に細胞質の凝集体形成は一義的な病態でないことがin vivoで証明された。そして、FTD-ALSスペクトラムと考えられているTDP-43であるが、市販の高発現型のTDP-43マウスとの比較によって認知機能と運動機能の障害におけるTDP-43の分子病理の解明が期待される。

2. SOD1 抗体治療研究については、すでに抗体の特許出願を終えた。本研究から移植治療と抗体治療のカップリングというあらたなパラダイムが提案できた。First in human に向けてのハードルは高いが、iPS 細胞研究を取り入れた方向性が必要と考える。さらに SOD1 の核酸治療（Tofersen）の臨床使用が視野に入り、D3-1 は未知の変異や孤発性 ALS における SOD1 の構造評価にも利用可能と考え、知財活用予定である。

結論：

我々はこの 3 年間で、我が国の筋萎縮性側索硬化症（ALS）の 2 大原因タンパク質とも言うべき TDP-43 と変異 SOD1 の物性解析を in vitro、in vivo の両者で進め、タンパク質構造学知見に基づいて作出した一本鎖抗体による分子標的治療の開発を進めた。そして変異 SOD1 に対する D3-1 全長抗体の髄腔内投与と、ボルナウイルス病ベクターを用いて D3-1-scFv の分泌能を付与したオリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）の大槽内移植による ALS モデルラットの治療に成功した。TDP-43 は適切な前臨床モデルが現存しない中、新たなモデルを作出し、凝集体形成の ALS 病態に及ぼす栄養を検討したところ、意外にもその病的意義について考え方を改める必要があるような知見が

得られた。SOD1 に対する一本鎖抗体はOPC という腫瘍原性と炎症原性の少ない細胞に分泌させるという新たなパラダイムの実現に成功した。臨床応用を視野に置いた場合、iPS 由来の OPC ということになり、あらたな技術革新に向けて研究を推進する必要がある。

参考文献：

1. Nakamura R, Kurihara M, Ogawa N, Kitamura A, Yamakawa I, Bamba S, Sanada M, Sasaki M, Urushitani M. Investigation of the prognostic predictive value of serum lipid profiles in amyotrophic lateral sclerosis: roles of sex and hypermetabolism. Sci Rep 12: 1826, 2022, DOI: 10.1016/j.pneurobio.2022.102229
2. Nakamura R, Kurihara M, Ogawa N, Kitamura A, Yamakawa I, Bamba S, Sanada M, Sasaki M, Urushitani M. Prognostic prediction by hypermetabolism varies depending on the nutritional status in early amyotrophic lateral sclerosis. Sci Rep 2021 Sep 9;11(1):17943. doi: 10.1038/s41598-021-97196-5.
3. Kurihara M, Bamba S, Yasuhara S, Itoh A, Nagao T, Nakanishi N, Nakamura R, Ogawa N, Kitamura A, Yamakawa I, Kim H, Sanada M, Urushitani M, Sasaki M. Factors affecting energy metabolism and prognosis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. Ann Nutr Metab, 2021, doi: https://doi.org/10.1159/000518908
4. Aizawa H, Kato H, Oba K, Kawahara T, Yoshihiko Okubo Y, Saito T, Naito M, Urushitani M, Tamaoka A, Nakamagoe K, Ishii K, Kanda T, Katsuno M, Atsuta, Maeda Y, Nagai M, Nishiyama K, Ishiura H, Toda T, Kawata A, Abe K, Yabe I, Takahashi-Iwata I, Sasaki H, Warita H, Aoki M, Sobue G, Mizusawa H, Matsuyama Y, Haga T, Kwak S. Randomized phase 2 study of perampanel for sporadic amyotrophic lateral sclerosis. J Neurol 2021 Jun 30. doi: 10.1007/s00415-021-10670-y.
5. Tanaka N, Kimura S, Kamatari Y, Nakata K, Kobatake Y, Inden M, Yamato O, Urushitani M, Maeda S, Kamishina H. In vitro evidence of propagation of superoxide dismutase-1 protein aggregation in canine degenerative myelopathy. Vet J 2021, Jun 21;274:105710. doi: 10.1016/j.tvjl.2021.105710.
6. Asada-Utsugi M, Uemura K, Kubota M, Noda Y, Tashiro Y, Uemura M, Yamakado H, Urushitani M, Takahashi R, Hattori S, Miyakawa T, Ageta-Ishihara N, Kobayashi K, Kinoshita M, Kinoshita A. Mice with a cleavage-resistant N-cadherin exhibit synapse anomaly in the hippocampus and outperformance in spatial learning tasks. Mol Brain. 2021 Jan 25;14(1):232
7. Nakata K, Namiki M, Nishida H, Sakai H, Yamato O, Urushitani M, Maeda S, Kamishina H. Up-regulated spinal microRNAs induce aggregation of

superoxide dismutase 1 protein in canine degenerative myelopathy. Res Vet Sci, 2021 Mar;135:479-485

8. Nakamura R, Kitamura A, Tsukamoto T, Ogawa N, Yamakawa I, Kim H, Sanada M, Urushitani M. A case of spinal muscular atrophy type 3 showing a specific pattern of selective vulnerability on muscle ultrasound: a case report. Int Med 2021, DOI: 10.2169/internalmedicine.6396-20
9. Kawamoto Y, Ayaki T, Urushitani M, Ito H, Takahashi R. Accumulation of HAX-1 and PARL in brainstem- and cortical-type Lewy bodies in Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. J Neurol Sci 2020, 15;415:116928. https://doi.org/10.1016/j.jns.2020.116928
10. Ayaki T, Murata K, Kanazawa N, Uruha A, Ohmura K, Sugie K, Kasagi S, Li F, Megumi Mori M, Nakajima R, Sasai T, Nishino I, Ueno S, Urushitani M, Furukawa F, Ito H, Takahashi R. Myositis with sarcoplasmic inclusions in Nakajo-Nishimura syndrome: a genetic inflammatory myopathy. Neuropathol Appl Neurobiol. 2020, 46(6):579-587
11. Minamiyama S, Ueda S, Nakashima R, Yamakado H, Sakato Y, Yamashita H, Sawamoto N, Fujimoto Ry, Nishino I, Urushitani M, Mimori T, Takahashi R. Thigh muscle MRI findings in myopathy associated with anti-mitochondrial antibody. Muscle Nerve 2020,61:81-87
12. Kobashi S, Terashima T, Katagi M, Nakae Y, Okano J, Suzuki Y, Urushitani M, Kojima H. Transplantation of M2-deviated microglia promotes recovery of motor function after spinal cord injury in mice. Mol Ther 2020, 28:254-265
13. Zong C, Hasegawa R, Urushitani M, Zhang L, Nagashima D, Sakurai T, Ichihara S, Ohsako S, Ichihara G. Role of microglial activation and neuroinflammation in neurotoxicity of acrylamide in vivo and in vitro. Arch Toxicol. 2019, 93(7):2007-2019.
14. Yamaguchi Y, Li F, Tsujimura A, Kamada M, Ito H, Maki T, Sawamoto N, Urushitani M, Takahashi R. Phosphorylated NF-kB subunit p65 aggregates in granulovacuolar degeneration and neurites in neurodegenerative diseases with tauopathy. Neurosci Lett 2019, 704: 229-235.
15. Hishizawa M, Yamashita H, Akizuki M, Urushitani M, Takahashi R. TDP-43 levels are higher in platelets from patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis than in healthy controls. Neurochem Int. 2019, 124, 41-45.

自己抗体介在性神経疾患の診断と治療に関する研究（ワクチン後脳炎・脳症など）

分担研究者：髙嶋 博
所属：鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
神経病学講座　脳神経内科・老年病学

緒言：

HPV ワクチン後関連神経症状の多くは精神的反応と理解され機能性神経障害（FNSD）/転換性障害（CD）と診断されているのが現状であり、血液検査などによる他覚的異常は検出されないと考えられている。我々は HPV ワクチン後関連神経症状の病態を解明するために HPV ワクチン後関連神経症状と FNSD/CD を比較し、HPV ワクチン関連神経症状の特徴を明らかにする。免疫学的に血液および髄液を解析し、病態解明を行う。

方法：

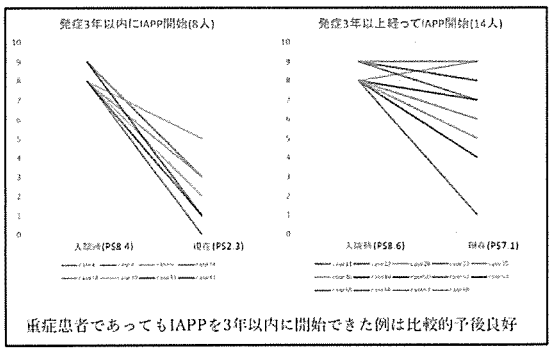
1 年目は全国から紹介され当科に入院精査した 58 人の HPV ワクチン後関連神経症状患者（HPV 後患者）の臨床症状や治療反応性を ME/CFS と比較した。また、患者の血液・髄液中の自己抗体について探索した。

2 年度目は HPV 後患者の神経症状と類似するとされる機能性神経障害（FNSD）患者/転換性障害（CD）患者の神経症状の解析を行い、HPV 後患者のそれと比較した。当科に入院し神経学的に説明困難な症状を呈した 233 人について検討したところ、78 名は HPV ワクチン接種関連の患者で次に多いのは橋本脳症関連の患者 54 名であった。HPV 後患者と橋本脳症の関与が疑われる患者を除いた残り 112 名（男 39 人：女性 73 人）は一般に狭義の FNSD/CD と考えられ、症状の種類と誘引・合併症について調査した。

3 年度目は HPV 後患者の血液及び髄液中サイトカインについて網羅的に検討した。血液中・および　髄液中サイトカインは HPV 患者群 8 人と HPV ワクチン接種歴のある健常者群 5 人とワクチン未摂取群 10 人の 3 郡で比較検討した。

結果：

県内在住 24 人、県外 34 名の併せて 58 例の HPV 後患者（12～19 歳）について検討した。使用された HPV ワクチンはサーバリックス 48 人、ガーダシル 10 人であった。頻度の高い症状は順に頭痛 91%、慢性疲労 81%、運動障害 78%、睡眠障害 73%、起立性低血圧/POTS 66%、学習障害・記憶障害 63%、音過敏/光過敏 40%などであった。ME/CFS における主症状は順に慢性的疲労感 89%、睡眠障害 88%、頭痛/四肢疼痛 79%と報告されており、症状の類似性がうかがわれた。また、ME/CFS 患者はステロイドに対する反応性が高くないことが知られているが、当院での HPV 後患者に対するステロイド治療で改善した患者は少数で、概してステロイド反応性は低いと考えられた。一方、免疫吸着療法に対



する反応性は比較的高く、特に発症 3 年以

内に同治療を行った場合、臨床症状のより大きな改善が見られた（PS8.4→PS2.3）。

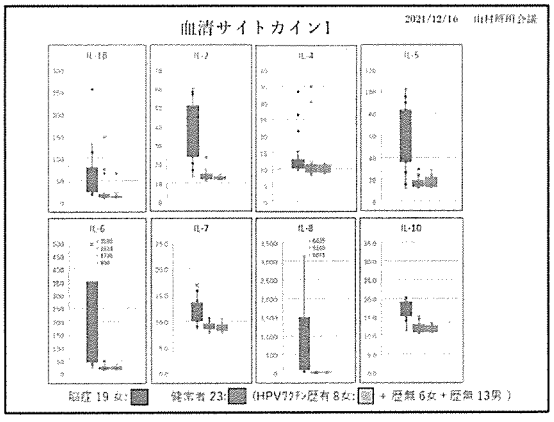
3年経過後に同治療を開始した患者において臨床的改善は乏しかったことから（PS8.6→PS7.1）早期の治療介入が有用である可能性が高い。

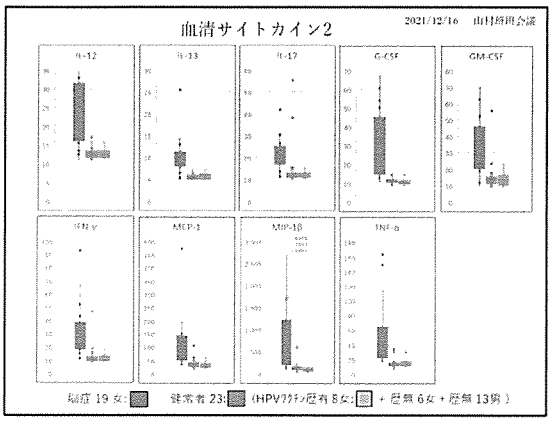
次に行った血液・髄液中の自己抗体の検討では、通常検出されない各種の自己抗体が HPV 後患者に多数認められることが判明した。抗ガングリオシド抗体は測定した患者の 38%に認められた。自己免疫性自律神経障害の原因とされる抗ガングリオニック AchR 抗体（抗 g AchR 抗体）は、測定した患者 37 人中 10 人（27%）が陽性であった。なお、抗 gAchR 抗体は既存研究で健常者 73 人では 1 名も検出されなかったと報告されている。髄液中 GluR 抗体も 23 人中 18 人（78%）で陽性であった。

2年目の検討として、HPV 後患者ではない FNSD/CD 患者についてその臨床症状の広がりを、運動障害系・感覚障害系・いたみ系・脳神経系・自律神経系・倦怠感の 6 系統に分け、検討した。6 系統すべてに異常を呈したのは 1 例(1%未満）で、5 系統 13%、4 系統 26%、3 系統 32%、2 系統 24%、1 系統 12%であった。多系統に渡る障害の場合、不随意運動と感覚低下は合併しにくく、麻痺と感覚低下は合併しやすいなど組み合わせに一定の傾向が見られた。

次に一般に狭義の FNSD/CD と考えられている 112 人において、誘引は術後や外傷後が 39 人（35%）で次に合併基礎の増悪が 29 人（26%）、感染後・炎症後が 14 人（13%）であった。疾患発症誘引がはっきりしないものは 30 人（37%）いた。合併疾患については最も多い合併症は気管支喘息で 112 人中 12 名（10%）であった。SPECT を行った患者ではほぼすべての患者で異常所見を確認した（46 名）。明らかな先行因子や大きな合併症がない 30 人（27%）の原因としては 15 人がミトコンドリア機能異常と考えられたが、残りの 15 人は原因不明であった。免疫・アレルギー素因や炎症誘発性のイベントも多く、脳血流 SPECT の異常所見を含めて、器質的な脳障害がある可能性が高い。

3年目の検討として測定した HPV 後患者の血液中サイトカインは IL-1β、IL-2・5・6・7・8・10・12・13・17、G-CSF、GM-CSF、IFN-γ、MCP-1、MIP1β、TNF-αで顕著に上昇しており、一方でワクチン摂取済み健常者群と健常者群に差はなかった。HPV 後患者の髄液検査でもほぼ同じ傾向で、多くのサイトカインの上昇がみられた。血液と髄液をほぼ同時期に採取できた 7 人の患者について血液中と髄液中のサイトカイン値を比較したところ髄液中サイトカインが血液中サイトカインと比べて著しく上昇していたのは MCP-1 であった（serum 165.7pg/ml vs CSF 913.8pg/ml）。





考察：

HPV 後患者の症状は ME/CFS と重なっている部分が多いことが判明した。症状の解析では不随意運動や自発的疼痛などの陽性症状と、運動麻痺や感覚脱失などの陰性症状は共存しにくい傾向がある一方、倦怠感と痛みは共存する割合が高く ME/CFS 類似の症候を呈する一群が示唆された。治療反応性についてはステロイドに対する反応性の乏しさは、ME/CFS と同様であるが、免疫吸着療法には比較的良好に反応した。一方、発症後 3 年以上経過すると治療反応性が低下することが明らかとなった。血液、髄液検査では HPV 後患者では軒並みサイトカインの上昇が認められ、何らかの免疫賦活による一種のサイトカインストーム状態にある可能性が示唆された。本研究の血清および髄液の採取時期は、ほとんどが発症後 1 年以上を経過しているので、長期的な免疫状況を示していると推定される。このことは、ＨＰＶ後患者において多くの自己抗体が高率に陽性であることを裏付ける所見と考えられ、抗体産生性のアジュバントを注射していることと、関連する可能性がある。特に HPV 後ワクチンの接種歴のある健常者は、非接種群と変わらないことからサイトカイン上昇は症状と関連があると考えられた。ＨＰＶワクチン接種者内でサイトカイン上昇をきたす場合と来さない場合の差が生じる原因は不明であるが、その個人の免疫学的バックグラウンドに違いがあるのであろう。

結論：

HPV ワクチン接種後神経症状を呈している患者は、通常検出されない自己抗体を高頻度に有し、加えて血液・髄液中の多数のサイトカインが著しく上昇していることから、単純な心因反応ではなく、何らかの免疫学的反応が生じていることが確認された。

参考文献：

1) American Psychiatric Association. Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fifth Edition (DSM-5), American Psychiatric Association, 2013.

2) Vernino S, Low PA, Fealey RD, Stewart JD, Farrugia G, Lennon VA. Autoantibodies to ganglionic acetylcholine receptors in autoimmune autonomic neuropathies. N Engl J Med. 2000 Sep 21;343(12):847-55.

3) Kinoshita T, Abe R, Hineno A, Tsunekawa K, Nakane S, Ikeda S. Peripheral Sympathetic Nerve Dysfunction in Adolescent Japanese Girls Following Immunization with the Human Papillomavirus Vaccine. Internal Medicine 53: 2185-2200, 2014

CXCR5 陽性 T 細胞は重症筋無力症のバイオマーカーや治療標的になりうるか

分担研究者：近藤誉之
所属：関西医科大学総合医療センター

研究協力者：芦田真士
所属：京都府立医科大学

緒言：重症筋無力症（Myasthenia gravis: MG）は、その 80%にアセチルコリン受容体への自己抗体（acethylcholine receptor: AchR 抗体）を認めるが、AchR 抗体値と臨床症状は必ずしも相関しない。また、既存の治療の有効性が不十分な患者が一定数存在し、新たな免疫機序を標的とした治療法が望まれている。

本研究では、MG において、CXCR5 陽性 T 細胞（末梢血中濾胞 T 細胞：Tfh）を解析し、抗体陰性例も含めて、Tfh の免疫学的偏倚が臨床的指標になるか、Tfh および関連分子が治療標的になるかを検討した。

方法：免疫療法導入前の AchR 抗体陽性患者、陰性患者、健常人より末梢血単核球を分離し、Flow cytometry によって Tfh の CD4 T 細胞中頻度、発現分子を解析した。Tfh/CD4T 頻度や $ICOS^{high}$Tfh/CD4T 頻度と重症度（QMg スコア）と相関するかを検討した。さらに、Tfh を in vitro で刺激をして、サイトカイン産生能を検討した。また、RT-PCR によって測定された末梢血単核球 microRNA146a や MiR155 の発現量と Tfh の発現型や機能と相関しているかを検討した。

結果：AchR 抗体陽性の MG 患者において末梢血中 Tfh（cTfh）の頻度、中でも inducible T cell costimulator（ICOS）を高発現した cTfh の頻度が上昇しており、重症度と相関することをまず明らかにした。AchR 抗体，抗筋特異的チロシンキナーゼ抗体陰性の MG（double seronegative MG: dSNMG）患者においても同様に、ICOShighcTfh の頻度は健常群と比較して上昇しており、抗体陰性者においても、診断における免疫学的指標になる可能性が示唆された。

MG 患者において、健常群と比較して cTfh による IL-21、IL-17、IL-4 の産生は亢進しており、特に MG 患者の ICOShighcTfh においての産生亢進は顕著であった。in vitro では、IL-21 存在下で B 細胞上の CXCR5 と ICOS ligand（ICOSL）発現は亢進した。また、IL-21 は in vitro で B 細胞による IL-6,、IL-10、IL-2、BAFF（B-cell activating factor）の産生を促進した。

末梢血単核球中 miR-146a, miR-155 の発現頻度は、MG において有意に上昇していた（$p= 0.0015$, $p= 0.0003$）。cTfh と mRNA の解析では、miR-155 と $ICOS^{high}$cTfh の頻度が正の相関を示した（$R^2=0.2$, $p= 0.03$）.

考察：MG において Tfh はその頻度が増加し、ICOS を強発現し、炎症性あるいは B 細胞の分化を促進するサイトカインを強く産生した。また、Tfh の頻度は疾患活動性に相関し、疾患活動性のバイオマーカーになりうるかの検討が必要である。Tfh の偏倚はより抗体産生事象より上流の異常と考えられるが、この偏倚には microRNA の変化が影響を与えている

結論：Tfh は MG の免疫病態に強く関与し、疾患活動性にも相関をする。

炎症性中枢神経疾患におけるリンパ球異常の解析

分担研究者：三宅　幸子
所属：順天堂大学免疫学講座

緒言：視神経脊髄炎(NMOSD)は中枢神経系自己免疫性疾患であり、疼痛や倦怠感が問題となる疾患の1つである。NMOSDではアストロサイト足突起に発現する水チャネルであるAQP4に対する自己抗体が産生され、病態の形成に深く関与していることが知られているが、自己抗体が産生されるメカニズムは未だ解明されていない。そこで我々は自己抗体産生のメカニズムに焦点をあて、NMOSD患者末梢血リンパ球、特に抗体産生に関与するB細胞の異常を解析することを目的とした。

方法：健常人(HC)24例、多発性硬化症(MS)24例、AQP4抗体陽性NMOSD22例、ミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質(MOG)抗体関連疾患(MOG-AD)12例の患者から得られた末梢血単核細胞(PBMC)または脳脊髄液(CSF)のT細胞およびB細胞サブセットの頻度を分析した。また、B細胞とT細胞サブセットの共培養における抗体分泌細胞(ASC)への分化と免疫グロブリンの産生を分析した。さらに、B細胞の質的異常を解析するためAQP4抗体陽性NMOSD患者4名および健常人(HC)4名から末梢血を採取、cell sorterを用い末梢血中B細胞をnaïve B細胞、switched memory B(SMB)細胞、double negative B細胞を分取しRNA-seq解析を行い遺伝子発現について比較検討を行った。さらに、HC10名、NMOSD10名から末梢血を採取し、B細胞分画についてフローサイトメトリーを用い解析した。

結果：NMOSD患者末梢血において、既報のとおり[1]、plasmablastの増加を認めると共に、SMB細胞の頻度がMS, HCに比べて有意に増加していた。さらに、自己免疫疾患患者3次リンパ組織における抗体産生への関与が報告されたT peripheral helper(T_{PH})細胞[2]が、NMOSD患者末梢血では、HC、MS、MOG-ADと比較して有意に増加していた。またNMOSD患者CSFにおいて、T_{PH}細胞がMS患者と比較して増加していることが明らかとなった。これらの細胞の自己抗体産生への寄与を評価するため、試験管内でSMB細胞とT_{PH}細胞を共培養し、ASCへの分化とIgG産生を評価したところ、ASCへの分化の割合がHCと比較してNMOSDにおいて有意に増加し、培養上清中のIgG濃度も高い傾向にあった。さらにNMOSD患者B細胞の質的異常を解析するために行ったRNA-Seq解析により、NMOSD患者では、B細胞サブセット特異的転写因子のプロファイルがHCと比較してASC側に偏位していること、さらにこの異常が、SMB細胞だけではなくnaïve B細胞においても認められることが明らかとなり、NMOSDではB細胞分化の早期からB細胞系列に質的異常が存在することが示唆された。またGene set enrichment analysisの結果から、NMOSD患者naïve B細胞では、IL-2により誘導される遺伝子群の発現が亢進していることが明らかとなった。またIL-2受容体α鎖であるIL2RA(CD25)がHCと比較し有意に上昇していた。フロ

ーサイトメトリーを用いた解析からNMOSD患者ではCD25陽性naïve B細胞がHCと比較し有意に増加していること、さらにIL-2のシグナル分子であるリン酸化STAT5とCD25の発現が正の相関を示すことが明らかとなった。またNMOSD患者からCD25陽性naïve B細胞とCD25陰性naïve B細胞を分取し、試験管内で刺激培養を行うとCD25陽性naïve B細胞で有意に抗体産生細胞が増加することが分かった。

考察：以上の結果からSMB細胞とT_{PH}細胞がNMOSDにおける自己抗体産生に関与することが示唆された。さらに、RNA-seq分析から、NMOSD患者ではSMB細胞だけでなく、naïve B細胞の段階から、転写因子の発現プロファイルがASCへと偏倚しており、IL-2誘導遺伝子の発現亢進が認められることが明らかとなった。B細胞分化におけるIL-2の役割については不明な点が多いが、ヒトB細胞を試験管内でB細胞受容体刺激と共にIL-2で刺激することでASCへの分化が亢進するとの報告があり[3]、我々の結果と一致する。また、CD25陽性naïve B細胞は自己抗体産生細胞への分化傾向をもつnaïve B細胞サブセットである可能性が示唆された。これらの結果は、NMOSDおよび自己抗体関連自己免疫疾患の病態を明らかにし、新しい治療標的薬の発見に寄与する可能性がある。今後、CD25陽性naïve B細胞の自己抗体産生への関与を検証するため、CD25陽性naïve B細胞産生抗体の自己抗原反応性を確認する。さらに、NMOSD患者末梢血B細胞サブセットのB細胞受容体レパトア解析を行うことで、自己抗体産生CD25陽性naïve B細胞のSMB細胞やplasmablastへの分化について解析を行う。また、CD25陽性naïve B細胞のトランスクリプトーム解析を行い、その分化、機能異常に関与する分子を同定する。さらに明らかになった分子について動物モデルを用いてその役割について検証するとともに、自己免疫疾患の新たな治療標的の開発を目指す。

結論：NMOSD患者ではB細胞分化の早期から転写因子発現に異常があることが明らかとなった。NMOSD患者では抗体産生細胞への分化傾向をもつCD25陽性naïve B細胞がHCと比較し有意に増加していた。

参考文献：

1. Chihara N, Aranami T, Sato W, Miyazaki Y, Miyake S, Okamoto T, Ogawa M, Toda T, Yamamura T. Interleukin 6 signaling promotes anti-aquaporin 4 autoantibody production from plasmablasts in neuromyelitis optica. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(9):3701-6.
2. Rao DA, Gurish MF, Marshall JL, Slowikowski K, Fonseka CY, Liu Y, Donlin LT, Henderson LA, Wei K, Mizoguchi F, Teslovich NC, Weinblatt ME, Massarotti EM, Coblyn JS, Helfgott SM, Lee YC, Todd DJ, Bykerk VP, Goodman SM, Pernis AB, Ivashkiv LB, Karlson EW, Nigrovic PA, Filer A, Buckley CD, Lederer JA, Raychaudhuri S, Brenner MB. Pathologically expanded peripheral T helper cell subset drives B cells in rheumatoid arthritis. *Nature.* 2017;542(7639):110-114.
3. Hipp N, Symington H, Pastoret C, Caron G, Monvoisin C, Tarte K, Fest T, Delaloy C. IL-2 imprints human naive B cell fate towards plasma cell through ERK/ELK1-mediated BACH2 repression. *Nat Commun.* 2017;8(1):1443.

自己免疫性てんかんの免疫動態の探索

分担研究者：千原　典夫
所属：神戸大学医学部附属病院　脳神経内科

緒言：自己免疫性てんかん(Autoimmune Epilepsy (AE))は自己免疫性脳炎の症候群の一つで、早期の診断・治療介入が必要であるが、診断の根拠となる抗神経抗体の測定が本邦では時間がかかること、また抗体陰性症例では診断に至らないことなどが問題で、不十分な治療による難治性てんかんの原因となっている現状がある。炎症を示唆する髄液所見が特徴の一つであることから、本研究では末梢血及び髄液のリンパ球フェノタイプやその機能解析を行うことで、抗神経抗体陽性症例の免疫動態の特徴を解明することを目的とする。本研究は、未だ十分な解析が行われていない抗神経抗体陽性症例の免疫動態を明らかにするとともに、抗体陰性例においても同様の免疫動態であれば一連の疾患群と考える一つの根拠になる可能性があり、ひいては AE に関連する新規抗神経抗体の同定に繋がると考える。

方法：本疾患は希少疾患であるため、神戸大学を中心に京都大学、関西医科大学などと連携した多施設共同研究を展開した。本研究では新たにけいれんを疑う症状を呈した症例のうち、Graus らの自己免疫性脳炎診断基準 [1] で possible と診断された症例 20 例に対して抗神経抗体の網羅的なスクリーニングを行なった。さらに、疾患活動期の末梢血及び髄液検体を用いてフローサイトメトリーによるリンパ球のフェノタイプ解析を行った。また血清及び髄液中のサイトカインについてマルチプレックスアッセイを用いて解析した。末梢血については、健常対照者(healthy control(HC))11例についても解析を行なった。

結果および考察：AEが疑われた症例の内、12名が抗神経抗体陽性でAEと診断、8例が抗神経抗体陰性でSeizure群とした。AE群では複数の抗神経抗体を認める例もありB細胞トレランスの異常を疑うものであった[2]。両群で扁桃体腫大を主な所見とする画像変化がほぼ全例で認められた一方で髄液細胞数増多(>5cell/mm3)が認められた例は両群ともに1例ずつであった。しかし、詳細な解析を行うとAE群では有意に末梢血の抗体産生性B細胞であるPlasmablastsと活性化した循環型濾胞性T細胞(circulating follicular T cells (cTfh))が他の群と比して増加していた。また、血清中の炎症性サイトカインがAE群でSeizure群と比して有意に増加していた。今後、今回得られたAEにおける急性期の免疫動態は抗神経抗体陰性例においても同様の免疫動態であれば一連の疾患群と考える一つの根拠になる可能性があり、既存の診断基準に付加的な所見として用いることができるか、国内外の連携をさらに強化して検討する。また、現時点では抗神経抗体陰性例とされる同様の免疫動態を呈する患者由来の血清から、自己免疫性てんかんに関連する新規抗神経抗体の同定を目指す。

結論：難治性てんかんを呈する症例では髄液細胞数増多や画像所見が非炎症性の焦点てんかんとの鑑別に有用でない例がある。B細胞やcTfh細胞のフェノタイプや血液の

炎症性サイトカインプロファイルが両者を鑑別する特徴となりうる。

参考文献：

1. Graus F, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. Lancet Neurol. 15(4):391-404, 2016
2. Nakano T, Chihara N, et al. A Case of Immunotherapy-responsive Non-paraneoplastic Encephalitis with Antibodies Against GAD, LGI1, and GABAA Receptor. Internal Medicine 61(3):419-423, 2022

NMO 剖検例の病理解析

研究分担者：齊藤祐子
国立精神・神経医療研究センター
病院臨床検査部病理部門

研究協力者：水谷真志[1]、佐野輝典[1]、髙橋祐二[2]
1 国立精神・神経医療研究センター
病院　臨床検査部病理部門、
2 同　脳神経内科

緒言

NMO は本邦に多い疾患であるが、剖検例は非常に稀である。今年度は、NMO の症例がブレインバンクに登録された。ブレインバンクプロトコールに則り、視神経を含む半脳をホルマリン固定、半脳を凍結、(脊髄も一部を凍結) した。さらに凍結前にリンパ球の解析を行うためのサンプリングを行うことが出来たので、これまでに判明している病理解析の結果を報告する。

方法

対象は 54 歳女性。45 歳時、右優位の視神経炎、第一頚髄から第六頚髄までの上部頚髄炎にて A 病院にて加療。抗 AQP 抗体陽性であり NMO と診断された。一時人工呼吸器管理となったが、離脱し、翌年から当院外来フォローとなった。ADL は車いす移動、上肢は肩までの挙上可能レベルで会話も可能であった。その後ステロイド+免疫抑制剤内服にて NMO の再発は無く、経過良好。54 歳、右慢性心不全、肺うっ血により死亡。御遺族の承諾を得て、死後 23 時間 40 分後に病理解剖を施行。

結果および考察

神経病理学的：脳重は 1377g と減少は認めないが、前頭葉皮質に軽度萎縮あり。視神経は右優位に高度の萎縮を認めた。頚髄では第 1～第 4 頚髄が高度に萎縮し、褐色調を呈していた。光顕では、視神経に強い脱髄を認め、AQP4 抗体陰性。血管周囲に T 細胞の cuffing を認めた。頚髄では脊髄前成中裂に強い脱髄を認めたが、T 細胞の cuffing は全般的に認められた。大脳では、明らかな脱髄は認められないものの、前頭葉優位に T cell の cuffing を軽度認めたが、他の皮質では明らかではなかった。

結論

光顕については解析途中であるが、臨床症状に合致して、視神経と脊髄の脱髄の時相はほぼ同時期と考えられる陳旧性の病変のみであった。

なお、大脳の前頭葉優位に脱髄所見は明らかではないもののリンパ球の cuffing を認めた点は興味深い。

今後、フローサイトメトリーとの結果とも照らし合わせ、リンパ球の染め分け、剖検時に採取したリンパ節の解析も進めてゆく予定である。

また昨年度に経験した SPMS や、疾患コントロール、健常コントロールとの比較も行う予定である。

分担研究課題名：**神経変性病態における単球系細胞の役割解明**

分担研究者：田中　章景

所属：横浜市立大学大学院医学研究科神経内科学・脳卒中医学

緒言：

神経変性疾患に共通の病態機序として、神経系へ浸潤した単球系細胞が異常に活性化され炎症性因子を分泌することで、慢性神経炎症を誘導し、神経系恒常性を破綻させ神経細胞機能不全から神経細胞死へ至る「非自律性」機序が提唱されている。そこで、我々は筋萎縮性側索硬化症（ALS）を研究対象とし、ALSモデルマウスの病変部位である腰髄において、CCR2陽性骨髄単球系炎症細胞（CCR2陽性単球）の経時的局在解析を行うことで、ALSの病態形成におけるCCR2陽性細胞の役割を検討した。さらに、ALSモデルマウスにおいて、我々がミクログリア活性化に伴い発現が増加するサイトカインとして同定したinterleukin-19を欠損させることで表現型、病理所見がどのように変化するかを検討した。これらの研究により、各臓器恒常性センサーとして全身に分布する単球系細胞の神経変性疾患の病態形成における役割を解明することをめざした。

方法：ALSモデルであるSOD1 Tgマウスを、CCR2およびCX3CR1の各レポーターマウスである$Ccr2^{rfp/rfp}$マウスおよび$Cx3cr1^{gfp/gfp}$マウスと交配することでSOD1 Tg-$Ccr2^{rfp/+}$-$Cx3cr1^{gfp/+}$を作成し、免疫組織学的解析を用いて、病初期（12週齢）、病中期（16週齢）、病後期（20週齢）、病末期（24週齢）での腰髄におけるCCR2の細胞局在についての経時的検討を行った。

また、$SOD1^{G93A}$ Tgマウスと、IL-19欠損マウスとの交配により$IL\text{-}19^{-/-}$/$SOD1^{G93A}$ Tgマウスを作出し、生存期間、Rotarodでの運動機能の解析に加え、各病期での病理学的解析を行った。さらに、同マウスの初代培養細胞と病変部位である腰髄を用いて、神経障害因子、神経保護因子の発現、産生を検討した。

結果：SOD1Tg-$Ccr2^{rfp/+}$-$Cx3cr1^{gfp/+}$マウスはSOD1 Tgマウスと同様の病勢推移を呈し、病期進行に伴った腰髄へのCCR2陽性単球細胞浸潤の経時的増加を認めた。病勢進行に伴って、CCR2の局在は、Iba1陽性細胞（浸潤単球およびミクログリア）に加えて、CX3CR1陽性細胞（ミクログリア）やNeuN陽性細胞（神経細胞）にも認められるようになったが、既報告とは異なりGFAP陽性細胞（アストロサイト）には認められなかった。

$SOD1^{G93A}$マウスの腰髄では、病勢進行に伴ったIL-19 mRNA発現増加を認めた。$IL\text{-}19^{-/-}$/$SOD1^{G93A}$ Tgマウスは、$SOD1^{G93A}$ Tgマウスに比べ、生存期間に有意差は認めなかったが（173日 vs. 178日、n = 30）、有意な運動機能の改善を認めた。腰髄でのmRNA発現解析ではTNF-α、IL-1β、GDNF、TGF-β1の発現増加を認め、病理学的にはCD68陽性ミクログリアの減少とarginase1陽性ミクログリアの増加を認めた。$IL\text{-}19^{-/-}$/$SOD1^{G93A}$ Tgマウス由来の初代培養ミクログリア、アストロサイトでは、$SOD1^{G93A}$ Tgマウスに比べ、TNF-α産生増

加と、それに伴うアストロサイト由来のGDNF放出増加を認めた。

考察：ALS患者の髄液における末梢血単球の遊走因子であるMCP-1（CCL2）の上昇や末梢血におけるCD14高発現の炎症性単球系細胞の上昇など神経変性疾患における単球系細胞の役割が示唆されている。しかし、神経変性疾患モデルマウスを用いた単球系細胞の解析はほとんど行われていない。本研究では、CCR2陽性単球細胞の疾患進行に伴う中枢神経系への浸潤に伴い、CX3CR1陽性細胞（ミクログリア）やNeuN陽性細胞（神経細胞）にもCCR2の発現が誘導されることが明らかとなった。この理由として、活性化ミクログリアからCCL2が放出されることでCCR2陽性単球の浸潤を引き起こし、これによりCX3CR1陽性の常在ミクログリアがCCR2を発現するミクログリアに毒性変換され、さらに神経細胞にもCCR2発現を誘導したと考えられた。

IL-19欠損は、ミクログリアのフェノタイプを抗炎症性に変化させ、かつ、アストロサイト由来のGDNF放出を増加させることで、神経保護効果をもたらし、運動機能改善に寄与している可能性が考えられた。

結論： ALSの病態機序において、病勢進行に伴ったCCR2陽性単球の中枢神経浸潤の増加と、ミクログリアや神経細胞におけるCCR2の発現誘導が、神経炎症の悪循環を惹起することで、ALSの病態形成の一機序を担っている可能性が示唆される。IL-19シグナル伝達阻害によるALS治療法開発の可能性が示唆された。

参考文献：

1. Komiya H, Takeuchi H, Ogawa Y, Hatooka Y, Takahashi K, Katsumoto A, Kubota S, Nakamura H, Kunii M, Tada M, Doi H, Tanaka F. CCR2 is localized in microglia and neurons, as well as infiltrating monocytes, in the lumbar spinal cord of ALS mice. Mol Brain. 13(1):64, 2020
2. Komiya H, Takeuchi H, Ogawa Y, Suzuki K, Ogasawara A, Takahashi K, Azuma YT, Doi H, Tanaka F. Ablation of interleukin-19 improves motor function in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. Mol Brain. 14(1):74, 2021

1-5 Development of novel therapy and diagnostics for understanding of the intractable neurological diseases

Principal Investigator:

National Institute of Neuroscience, NCNP

Takashi Yamamura

The purpose of this study is to elucidate the immune/inflammatory mechanisms, underlying intractable neurological diseases, which have not consistenty been categorized as a neuroimmunological disorder. Given the recent progress of neuroimmunogy as an interdisciplinary science, new theories, novel diagnostic methods and therapeutic strategies, relying on the immunology background, have lately emerged, aiming to improve the prognosis of the patients. The target disorders assigned to this research group include autoimmune encephalomyelitis, NINJA (normal brain neuroimaging accompanies neuroimmunologically justified autoimmune encephalomyelitis) and autoimmune encephalopathy/encephalitis and ME/CFS (myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome), intractable neuropathy among others. For this purpose, we take a strategy to combine basic and clinical researches, including neurologists, radiologists, immunologists, and neuroscientists to promote inter-disciplinary collaborations. By applying state-of-the-art methodologies, including flow cytometric analysis, searching anti-neuronal autoantibodies, brain MRI network analysis, cell-free miRNA analysis and B cell repertoire analysis, we have obtained provocative findings

which suggest the efficacy of immune-targeted drugs in some disorders. This project, in line with the current academic trend, should be encouraged and promoted without interruptions.

研究課題名：精神医療政策への萌芽的取組と行政効果検証に関する研究
主任研究者：臼田 謙太郎
所属施設：国立精神・神経医療研究センター
総括研究報告

1. 研究目的

本研究では、わが国の精神医療政策を社会に効果的に実装する方法を確立することを目標として、精神医療の運用の度合いを測る指標と考えられる診療記録と医療従事者に焦点を当て、以下の 3 つの研究目的にそって研究者を組織した。

萌芽的な取り組みとして、課題1では、患者のレセプトデータから入院中の診療行為を指標として退院時の臨床診断病名を推定する指標を探索することにより、医療政策の立案に不可欠な有病率などを大規模データから推計するため診断の妥当性を検証することを目的とした。課題 2 では、医療観察法データベースの入院初期のテキストデータから自然言語処理により当該患者の退院までにかかる日数を予測する手法を試行することにより、医療政策上重要な課題のうち患者に過不足なく医療資源を投入すること、患者の長期在院化を予防することについて評価方法を確立することを目的とした。課題 3 では、令和 3 年度には新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）にり患した経験のある一般住民を対象に心身の中長期的な後遺症(Post-COVID symptoms, Long-COVID symptoms)を調査することにより、精神医療が COVID-19 に対応した医療政策の中で果たし得る役割について提案することを目的とした。

研究組織

主任研究者
臼田 謙太郎
国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所　公共精神健康医療研究部　研究員　(課題 2　分担研究者)

分担研究者
堀口寿広
国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所　公共精神健康医療研究部　保健福祉連携室長（課題 1)

羽澄恵
国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所　公共精神健康医療研究部　研究員（課題 3)

2. 研究成果

課題１：昨年度の成果に基づき、引き続き国立精神・神経医療研究センター病院に 3 か月以上継続して入院した患者についてデータを抽出し解析した。その結果、退院時の主診断が統合失調症のものは他の診断のものに比べて入院中の診療行為のうち医療保護入院等診察料と隔離室管理加算の算定されていたものが多く、医療情報をもとに統合失調症であるものを抽出する際には指標の一つになると考えた。

課題２：令和3年度は、①各入院患者について入院時に記載された文章を対象とした構文解析、②分類された単語をニューラルネットワークで学習、③長期入院の因子となりうる単語を特定し、学習のパラメータを変更して、特定の精度を高めていく等の順序を踏み、複数の自然言語処理方法でモデルを開発した。本課題で 5 種類の自然言語処理方法を試行し、そのうち BERT（Bidirectional Encoder Representations from Transformers）が、医療観察法データベースの入院初日のカルテ記述から長期入院を予測する上で最適であると考えた。

課題３：令和 3 年度は新型コロナウイルス感染症り患者を対象としてオンラインでの横断的調査を行った。期間中に7,760人から回答があり、うち6,017人を有効回答として解析した。

解析の結果、K6 が 13 点以上の者は 548 名(9.11%)、PHQ-9 が 10 点以上の者は 1196 名(19.88%)、GAD-7 が 10 点以上の者は 690 名 (11.47%) だった。特に、抑うつ症状（PHQ-9）については約 5 人に 1 人がうつ病疑いにあると示唆され、抑うつへの精神科的治療の提供は一層重要と考えられる。

3. 研究成果刊行一覧

・研究発表

1.論文発表
　特になし
2.学会発表
　特になし

課題 1 分担研究課題名：レセプト病名等情報から臨床診断を推定するロジックの開発に関する研究
分担研究者氏名：堀口寿広
所属施設：国立精神・神経医療研究センター

【研究の背景と目的】
医療情報を用いた研究の精度を高める目的で、各種疾患において診断の妥当性を検証するバリデーション研究が国際的に進められている。
本研究は、臨床診断と入院中の診療行為を突合し、レセプトデータベース等から臨床診断を推定し得るロジックの確立を目指す。退院時のレセプト病名が統合失調症であるものについて、レセプトから把握できる入院中の診療行為と病名との関連性を分析し、特定の診療行為の算定の有無から統合失調症の臨床診断をもつものを絞り込むアルゴリズムを構築する。

【方法】
本年度は、昨年度に引き続きプロトコルにそって精神病床で 3 か月以上継続して入院治療を受け平成 31（令和元（2019））年度（2019 年 4 月 1 日～2020 年 3 月 31 日）に退院した患者について、電子カルテシステムおよび医事システムを参照した。
初診から退院時までに付与されたレセプト病名、入院中に実施された特定の診療行為 18 項目と非定型抗精神病薬（クロザリルとリスペリドン）の使用についてデータを抽出した。
研究の実施に当たり国立精神・神経医療研究センター倫理審査委員会より承認を受けた（承認番号：A2020-093）。

【結果】
対象期間内に退院した 970 件のうち該当者として選定条件を満たすものとして 98 人（男性 38 人、女性 60 人）を抽出したところ、そのうち退院時の主診断が統合失調症であったものは 40 人であった。
この 40 人のうち医療保護入院等診療料の算定のあったものは 38 人、隔離室管理加算の算定のあったものは 28 人であった。統合失調症が主診断の患者は、その他の診断に比べて入院中の診療行為における医療保護入院等診察料（Fisher's $p=0.0002$）と隔離室管理加算（Fisher's $p<0.0001$）が算定されている割合が高かった。

【考察】
医療情報を用いた精神疾患の診断バリデーション研究が実施可能であることを確認した。
レセプト情報として取得できる診療行為のうち「医療保護入院等診察料」と「隔離室管理加算」は、医療情報から統合失調症のものを抽出する指標の一つになると考えた。「医療保護入院からの隔離室使用」という経過を指標として検索することで退院時の診断が統合失調症である人をある程度推定はできる可能性が示唆された。しかし、どちらも診療行為としては統合失調症に特有のものではなく、また、統合失調症であってもこの経過をたどる患者は限定されてしまう。入院中のレセプト情報から統合失調症の診断のものを推測するためには、診断に関連した項目を引き続き検索する必要がある。また、検索の対象範囲を個別の項目に限定せず、複数の項目の組み合わせにも広げることで、パターンとして各精神科疾患を弁別して抽出できるようにすることを期待する。

課題 2 分担研究課題名：医療記録を用いた医療観察法病棟入院患者の入院長期化予測に関する研究
分担研究者：臼田謙太郎

【研究の背景と目的】
入院初期のデータをもとに、患者の退院に要する日数を推計する技術を開発することは、各患者に対して過不足なく医療資源を投入することや、患者の長期在院化を予防することに直結するため、医療政策上の重要な課題である。これまで、電子カルテなどに医療情報として記載されたテキストデータを、自然言語処理を用いて患者の予後（入院期間、再入院、症状改善、医療コストなど）を予測する取り組みは国外で一定の成果を挙げている。ただし、従来行われてきた研究は、日本語とは言語・論理構造が異なる言語のテキストデータを対象に分析が行われており、国外での方法論をそのまま我が国に適用するのは容易ではない。そこで本研究では、入院の長期化が世界的な課題とされる司法精神医療領域を対象に、入院初期の医療記録内のテキストデータを用いて、「長期入院者」と「非長期入院者」とを分類するためのモデルを構築する。同時に、「長期入院者」と分類されるために感度の高いセンテンスおよび単語を同定することによって、精神病床に入院している者の長期在院化に関与する要因を明確化することを目指す。

【方法】
「医療観察法における指定入院医療機関モニタリング調査研究」において収集された、2005 年 7 月 15 日から 2014 年 7 月 14 日までに、30 の指定入院医療機関において医療観察法入院処遇が開始された者を対象としたコホートのデータを用いて解析を行った。本研究では、在院日数をエンドポイントした。モデルの構築に使用したテキストデータは、各患者の入院初日の記録のうち、医療必要性の評価項目である「共通評価項目」に記録されたテキストデータを使用した。
なお、この研究は、国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を受けて実施された（承認番号: A2018-063）。

【結果】
2005 年 7 月 15 日から 2014 年 7 月 14 日までのデータを用いて解析を行った。対象者であった2,148名のうち、観察期間終了日（2014 年 7 月 14 日）までに退院がなされなかった 652 名を解析対象から除外した。また残りの 1,496 名のうち、608 名については、入院初日の医療記録に有効なテキストデータが得られなかったため、それらの者のデータを除外した。最終的な解析対象は 888 名であった。3 年度では①入院患者ごとに入院時に記載された文章についての構文解析②分類された単語をニューラルネットワークを用いて学習する③長期入院の因子となりうる単語を特定し、学習のパラメータの変更を行い、特定の精度を高めていく等の手順を踏まえて、複数の自然言語処理方法でモデルの開発を行った。本課題では 5 種類の自然言語処理方法を試行したところ、BERT と呼ばれる手法が医療観察法データベースの入院初日のカルテ記述から長期入院を予測するために最適である可能性が見出された。

【考察】
本課題では BERT が最適な学習方法であることが見いだされたため、今後は形態素解析を行った後に単語およびセンテンスの特徴量を抽出し、機械学習の手法を用いてモデル開発を継続する。BERT は、その領域の多量なテキストデータを用いて事前学習することで、精度を向上させることが可能であるため、テキストデータによる学習を継続することでさらに精度の高い予測モデルの開発を進めることが有用であると考える。

課題 3 分担研究課題名：精神保健指定医の研修実施に関する政策評価
分担研究者：羽澄　恵
所属施設：国立精神・神経医療研究センター

【研究の背景と目的】
わが国の精神医療の実情を把握と将来の精神保健医療福祉政策へのシーズを見出すという点において、現在世界的に大きな課題となっている SARS-CoV-2 の感染拡大とそれに伴う COVID-19 罹患者に関する中長期的なメンタルヘルスの問題は、我が国も例外なく検討する必要があると考えた。そこで、3 年度においては COVID-19 罹患者経験者を対象とした調査を課題として匿名オンライン横断調査を行った。

【方法】
研究デザイン：Web による横断的質問紙調査（楽天インサイトに委託）
測定項目：現在の精神症状(K-6, PHQ-9, GAD-7 他)、急性期および現在の身体症状、感染や治療に伴う体験、既往歴、基礎情報等
倫理：国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を受けて実施した

【結果】
7760名から回答を得て、6017名が解析対象となった。感染後経過年数については、1か月未満1138名(18.91%)、1443名(23.98%)、6 か月未満 1370 名(22.77%)、6 か月以上 2066 名(34.34%)、だった。精神症状については、K6 平均 4.50(SD=5.3)、PHQ-9 平均 5.20(SD=5.9)、GAD-7 平均 3.30(SD=4.7)だった。K6 が 13 点以上の者は 548 名(9.11%)、PHQ-9 が 10 点以上の者は 1196 名(19.88%)、GAD-7 が 10 点以上の者は 690 名(11.47%)だった。

【考察】
特に、抑うつ症状（PHQ-9）については約 5 人に 1 人がうつ病疑いにあると示唆され、抑うつへの精神科的治療の提供は一層重要と考えられる。本課題の中で得られた成果により、従来の精神科医療体制については一定の質を均一な状態で維持されていることが示唆された。また、今後については COVID-19 感染者への精神科的治療提供等も精神医療の役割として新たに発生しうることから、今後は感染症の発生時の精神科関係医療機関の患者受け入れ等の体制づくりについても検討が必要であると考える。

Aiming innovative indices monitoring the quality of psychiatric services, our investigation team consisted of three following researches.

Subject1: To validate the diagnosis of schizophrenia, we explored candidate items on the receipt charged during hospitalization. By the data search, we extracted patients diagnosed as schizophrenia after hospitalization 3 months or more. Then we reviewed case records of 98 patients including 40 those with final diagnosis of schizophrenia. Out of prepared items, blood inspection (Glycated Hemoglobin A), occupational therapy and admission consented by the guardians were candidate markers predicting diagnosis of schizophrenia. Nevertheless, those items were not specific to schizophrenia. Thus, an algorithm applicable to large databases requires further researches such as combination of candidate items and alternative logics responsible to data from hospitals without requirements.

Subject2: To establish the system forecasting the duration of psychiatric hospitalization employing deep-learning of descriptives on the case records, we analyzed the records of forensic cases derived from a cohort study. We reviewed 888 records of discharged cases out of 2,148 cases hospitalized in total. We searched specific sentences or words for constructing logical model to distinguish patients with long hospitalization from others. Raw descriptions in evaluation areas in especially early phase of hospitalization were modified according to informatics, and then decoded by sentences and words. We extracted features of descriptions by several method including the tf-idf. Consequently, we completed the processing data applicable to automated learning.

Subject3: In Japan, seclusion and physical restraint in nonvoluntary treatment are prescribed by designated mental health doctors. To secure expertism of such psychiatrists, we planned to evaluate their perspectives on seclusion and restraint when they update the certification. Although our assessment had before confirmed more than three quarters of participants satisfied with each curriculum of the update program, evaluation of the program should correlate with effects to their attitudes on seclusion and restraint leading to good practice. Therefore, we planned to create a questionnaire to ascertain the level of achievement by referring to previous studies overseas, which was reviewed by the institutional review board.

To establish methodology in implementation of the mental health policies, we designed three following researches:

Research 1: To validate the diagnosis of schizophrenia, we explored candidate items on the receipt charged during hospitalization. By the data search, we extracted patients diagnosed as schizophrenia after hospitalization 3 months or more. Then we reviewed case records of 98 patients including 40 those with final diagnosis of schizophrenia. Out of prepared items, both of involuntary admission and seclusion appeared more frequently in records of patients with final diagnosis of schizophrenia. Although such prescriptions are not exclusively provided to patients with schizophrenia, these items will work in distinguishing persons with diagnosis schizophrenia out of the accumulated receipt data.

Research 2: To establish the system forecasting the duration of psychiatric hospitalization employing deep-learning of descriptions on the case records, we analyzed the records of forensic cases derived from a cohort study. We reviewed the record of 888 patients of discharged cases out of 2,148 cases hospitalized in total. Our procedure started with an analysis on sentences of descriptions of the record at the first day of admission, then learning classified words using the neural networks, and finally identifying candidate words associated to long hospitalization. Out of five models we tried, processing natural language, the Bidirectional Encoder Representations from Transformers (BERT) was the optimal model for forecasting the duration of hospitalization.

[ここに入力]

Research 3: To explore psychiatric impact of the infection of the SARS-CoV-2 (COVID-19), we surveyed mental health condition among persons recovered from the COVID-19. When we encouraged monitors of an outsourced service to fill our questionnaire on the web, we obtained 6,017 valid responses of 7,760 replies. Numbers and prevalence of persons with high scores on our items were 548 persons (9.11%) on the K6 (score: 13 or more), 1,196 (19.88%) on the PHQ-9 (10 or more), and 690 (11.47%) on the GAD-7 (10 or more) respectively. Mental health services for the persons recovered from the COVID-19 are required.

[ここに入力]

２　年　度　班

2-1　睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築研究

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所　睡眠･覚醒障害研究部
栗山　健一

統括研究報告

1. 研究目的

睡眠ポリグラフ（Polysomnography: PSG）検査は睡眠中の脳活動（脳波）をはじめとした各種生理情報の観察に極めて優れたモダリティとして1980年代より活用されている。日本国内では研究機器として導入された後に、1990年代後半より本格的に臨床に応用され、全国の拠点施設を中心に臨床診断・評価ツールとして活用されている。様々な睡眠障害の診断、重症度評価に寄与する客観指標（バイオマーカー）として有用性が示唆されているものの、正確な評価のための検査施行には一泊以上の入院を要することから、継続的な運用は一部の専門機関に留まる。このため、PSGが臨床診断上必須とされる疾患は一部の睡眠障害にとどまり、不眠症等の臨床表現型を主たる診断指標とする疾患や睡眠障害を高頻度に併発する精神疾患への応用を含め、バイオマーカーの開発と連動したさらなる適応拡大が期待されている。このため、本研究では日本国内の主要なPSG実施機関と連携した睡眠障害・PSGデータバンクを構築し、上記課題を達成するための基盤構築を目的とする。

本データバンク構築により、睡眠障害の診断・重症度評価を客観的なPSG指標に基づくものに発展させ、より詳細な生理学的病態の解明、睡眠薬や過眠症治療薬の不適切処方を減少させること等が可能となる。また、精神・神経疾患の客観的診断マーカーの開発にも寄与可能であり、病態解明の進歩にも貢献することが期待される。

将来的には、携帯型脳波計・PSG機器を用いた睡眠データの集積も行い、従来のPSGデータとの整合性を確認し、自宅で簡便に行えるPSG検査の臨床・研究実用化を目指し、客観的診断手法の普及・社会実装および、大規模コホートデータの収集に基づく、睡眠指標の標準化を実現させる。

研究事業は以下の２ステップで行う。

【睡眠障害・PSGデータバンク構築】

国内で大規模にPSG検査を実施している医療・研究機関と提携し、わが国初にして最大の睡眠障害･PSGデータバンクを構築する。NCNP内にデータサーバを整備し、提携する医療・研究機関よりPSGデータおよび、これに紐づいた睡眠障害患者背景情報・関連生体メタデータを収集するシステムを構築する。連携医療機関のアクセス権限やアクセス情報をNCNPで管理し、多施設データを用いた臨床研究を行う中核施設として運営を行う。運営資金は、外部資金獲得も併せて行い、獲得資金規模に応じて連携医療・研究機関数を順次増加させていく。

初期連携機関は、関東地区最大のPSG実施施設である睡眠総合ケアクリニック代々木（東京医科大学睡眠学講座と連携）をはじめとし、日本大学医学部附属板橋病院睡眠センター、秋田大学大学院医学系研究科病態制御医学系精神科学講座、久留米大学神経精神医学講座の東北、九州地方のPSG中核施設で構成される4施設とする。

【睡眠障害バイオマーカー開発】

収集したPSGデータおよびこれに紐づくメタデータを用い、診断・病態評価において客観的指標に乏しい睡眠障害、精神障害の客観指標を開発する。連携機関ごとに臨床研究課題を設定し、全研究機関より収集したデータを用い、全機関で協議を重ねながら各課題を遂行する。初期課題設定として、各機関に以下のような研究テーマを割り振る。NCNP : 睡眠相後退障害（概日リズム睡眠・覚醒障害）におけるPSG関連診断･病態指標の開発。睡眠総合ケアクリニック代々木（東京医科大学）: 睡眠時随伴症におけるPSG関連診断・病態指標の開発。日本大学：うつ病に合併する睡眠障害におけるPSG関連診断・病態指標の開発。秋田大学：不眠症におけるPSG関連診断・病態指標の開発。久留米大学：過眠症におけるPSG関連診断・病態指標の開発。

2. 研究組織

主任研究者

栗山健一　国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　睡眠･覚醒障害研究部

分担研究者

井上　雄一　睡眠総合ケアクリニック代々木（東京医科大学睡眠学講座）

鈴木　正泰　日本大学医学部精神医学系

三島　和夫　秋田大学大学院医学系研究科精神科学講座

小曽根基裕　久留米大学医学部神経精神医学講座

3. 研究成果

I. 睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築（栗山・井上・鈴木・三島・小曽根）

クラウドに PSG データサーバを設定し、各共同研究施設がネットワークを通じてデータをアップロード可能なシステムを構築した。クラウドデータサーバには、Amazon ウエブサービス（AWS）のクラウドストレージ（Amazon S3）を利用し、3 省 2 ガイドラインに準拠する形式で、JMA システムズ（日本能率協会グループ）に委託して、NCNP およびその他の拠点（各大学）からサーバへの通信（VPN 接続）およびストレージのすべてが暗号化されたインフラを構築した。さらに、各拠点にアクセス制限及び識別化を目的としたクライアント証明書を発行し、セキュアな運用が可能となるようサーバシステムを設計した。クラウドサーバの運営・管理は JMA システムズの援助のもとで睡眠・覚醒障害研究部が行うこととした。2022 年 3 月 17 日に、NCNP 倫理委員会より、多施設共同研究の実施許可を得（B2021-128）、各共同研究施設の実施承諾を得た。東京医科大学のみ、NCNP による多施設共同研究の一括審査を受容せず、自施設の倫理審査委員会による審査プロセスを進めている。

共同研究施設が有する既存の PSG データおよび、今後実施する PSG 検査の結果データを、共通フォーマット（European Data Format: EDF）形式で収集する。また、睡眠障害患者の臨床情報、背景情報に関するメタデータは、エクセル形式のシートを同クラウドサーバを介して受渡しを行い、各施設のデータを統合したファイルをサーバ上で管理する。メタデータと PSG データサーバ情報の紐づけは、暗号化の後、当部担当者により厳重に管理する。各施設の PSG データおよびメタデータは、個人情報を匿名化したのちに、順次アップロードされるが、ダウンロードの権限は NCNP 睡眠・覚醒障害研究部におかれ、共同研究施設との協議の後、研究課題ごとに必要なデータに限りダウンロード権限を付与する予定とした。

現在、各施設が保有・管理している臨床・研究 PSG データおよびメタデータを本データベースに格納することとともに、今後施行するデータに関しても順次データベースに組み込む。

データバンク運営委員会を組織し、データバンク運営の方針及び、PSG・メタデータ共通フォーマットの策定を行った。PSG データの共通フォーマットを全施設で共有し、既存 PSG データの EDF 形式への変換が可能であるかを各施設で試行した。メタデータに関し、精神疾患レジストリ研究に準じた臨床情報、背景情報の共通フォーマットを作成し、共同研究施設と共有した。

前向きで PSG データを蓄積する研究に関しては、新たなデータ採取も可能であることから、精神疾患レジストリ研究と同等のデータセットを収集していく計画を検討しており、既存データ研究と 2 階建て構造とすることを決めた。

上記建付けのもと、データの組み入れを開始した。AASM2.0 版基準（もしくは R&K 基準）で収集された過去 9 年間の PSG およびこれに紐づくメタデータが、NCNP では約 3,000 件、睡眠総合ケアクリニック代々木では約 17,900 件、日本大学では約 1,900 件、秋田大学では約 500 件、久留米大学では約 3,000 件の PSG、メタデータを収集可能であった。

II. 睡眠障害バイオマーカーの開発

① カタスレニア（catathrenia）の夜間睡眠中の出現

分布について（井上）

睡眠中の呼気性うなりを主徴とするカタスレニアは、睡眠センターを受診する患者の 0.063％-0.54％と比較的まれな疾患であり、過去の報告症例数は 250 例に満たない。本疾患は、睡眠障害国際診断分類第 3 版（ICSD-3）では睡眠関連呼吸障害群に分類されているが、前版である ICSD-2 ではパラソムニアに分類され、病態生理上の特徴が明確でないことが診断分類の混乱に起因する。本研究では、カタスレニア出現頻度の睡眠段階間での変動と体位による症状変化に注目して生理学的マーカーの検討を行った。

2015 年 10 月～2019 年 4 月の間に睡眠総合ケアクリニック代々木を受診し、ICSD-3 におけるカタスレニアの診断基準を満たした 24 症例を対象とした。全ての症例で、睡眠中呼気時に低呼吸・無呼吸が 2 秒以上認められ、音声記録によりうなりが 2 回以上確認された。また全例において、周期性四肢運動（周期性四肢運動指数 15 回/時間以上）および OSA(無呼吸低呼吸指数 5 回/時間以上)は併存しなかった。カタスレニアの頻度を単位時間あたりの回数（catathrenia index：CI）として睡眠段階毎／体位（仰臥位/側臥位）毎に集計した。また、カタスレニアの発症年齢、性別、肥満度（body mass index：BMI）の情報を収集した。なお、睡眠段階ならびに体位ごとの CI 比較にあたっては、それぞれのデータが 30 分以上存在する 19 例を解析対象とした。

Kruskal‐Wallis test と post hoc の Bonferroni/Dunn test により、N1 期（10.9 回/時）と REM 期（3.9 回/時）において、N2 期（1.38 回/時）・N3 期（0.00 回/時）に比べて有意に CI が低いことが示された（all $p<0.001$）。また、仰臥位（4.60 回/時）では側臥位（0.51 回/時）に比べて有意に CI が高いことも示された（$p<0.01$）。本研究では、先行研究で指摘されている様に、カタスレニアが、若年かつ低肥満度の女性に有病率が高いことも確認された。この傾向は、中年層以上の肥満男性に多い OSA（閉塞性睡眠時無呼吸）とは明らかに異なる。また、カタスレニアの発生頻度が、側臥位に比べて上気道の虚脱性が高まる仰臥位において高いことが示され、NREM 深睡眠期に比べて上気道筋トーヌスが低下し虚脱性が上昇する REM 期に高かったことを含めると、本病態は上気道虚脱と関連している可能性がある。さらに、深睡眠期に比べて呼吸覚醒閾値が低く呼吸イベントを生じやすい N1 期において、イベントの発生頻度が多かったことも、本疾患と OSA の生理学的共通性を示す。なお、深睡眠期にイベント発生頻度が少なかった点は、一般的な NREM パラソムニアの特性とは大きく異なる。従って、カタスレニアはパラソムニアと OSA の両要素を併せ持つ疾患であるとの推測が可能である。

今後、PSG データバンクを利用し、症例数を増やして検討することで、カタスレニアの病態マーカーの創出が可能となる。

② うつ病に合併する睡眠障害の生理的解析（鈴木）

WHO は 2030 年には、うつ病が疾患負荷の最も高い疾患になると予想しており、診断や治療法選択、予後予測等に資するバイオマーカーの開発が強く求められているが、現時点では存在しない。うつ病は睡眠障害を高頻度に認め、中でも不眠は 8 割以上の患者で合併する。うつ病ではレム睡眠圧の上昇といった疾患特異的な睡眠異常を認めることから、PSG をバイオマーカー開発に利用するという考えは以前からあったが、通常の臨床研究の規模で安定したマーカーを開発するために必要なデータ数を収集することは困難であった。本研究では、日本全国の複数の施設から集積された膨大な PSG データおよび紐付けされた臨床情報を利用することにより、うつ病臨床に資する安定した生物学的マーカーの開発を目指す。

うつ病と睡眠障害との併存に関連した PSG バイオマーカーを探索するために、米国の既存コホートデータを利用し検討を行った。米国地域住民 1196 人を対象に調査開始時点における不眠関連症状の有無と 1～2 年後のうつ病発症との関連を検討したところ、「休養感のない睡眠」（nonrestorative sleep: NRS）は他の不眠関連症状（入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒、再入眠困難）よりも強い危険因子であることが明らかとなった。NRS のうつ病発症予測能

が高い理由として、NRS は不眠症状よりも心身の回復機能不全を直接的に反映する指標である可能性が考えられた。今後、本研究で構築された PSG データバンクを利用し、うつ病の診断、重症度評価、治療反応性、予後予測などに資するバイオマーカー開発を行う上でも睡眠による休養感に着目することが重要と考えられた。

③ PSG データに基づく不眠症診断カテゴリ開発（三島）

睡眠状態誤認（Sleep State Misperception; SSM）は不眠症の病態特性の一つであり、客観的睡眠が改善しているにも関わらず主観的な睡眠評価が低く留まる病態像で、薬物療法が奏功せず難治性である。SSM は睡眠薬の多剤併用・長期投与に陥る原因となり、その抑止の観点からも SSM のリスク要因分析、臨床診断および治療法の開発が求められている。今回は予備調査として、不眠症群と健常対照群における睡眠の主観・客観指標の比較に基づく SSM 病態の検討を行った。

睡眠記録は任意の 14 日間とし、睡眠日誌とアクチグラフ（腰部装着型活動量計 MTN）での同時記録を行った。調査項目には、①デモグラフィックデータ（年齢、性別）、②病歴，③不眠重症度（アテネ不眠尺度［AIS］）、④社会機能/QOL（Sheehan Disability Scale［SDISS］）、⑥睡眠状態（ピッツバーグ睡眠質問票［PSQI］）が含まれた。アクチグラフの活動量データから固有の解析アルゴリズムを用いて、客観的総睡眠時間（TST）、客観的睡眠潜時（SOL）、客観的中途覚醒時間（WASO）を算出した。また対応する主観的睡眠パラメータを睡眠日誌データからそれぞれ算出した。SSM の程度を表す指標として各睡眠パラメータの主観と客観の差異を⊿TST、⊿SOL、⊿WASO として算出した。

不眠症群は対照群に対して、⊿TST が有意に短く（101 分、p<0.001）、⊿WASO（34 分、p=0.003）、⊿SOL（31 分、p<0.001）はそれぞれ有意に長く、睡眠状態をより悪く認識していた。不眠症群は対照群と比較して、就床時刻が有意に早かったが（33 分、p=0.037）、起床時刻は両群間で差を認めず（p=0.304）、総就床時間（Time in Bed; TIB）は有意に延長していた（45 分間、p=0.002）。不眠症群は対照群と比較して、AIS（9.0 vs. 5.0 点、p<0.001）、SDISS（8.1 vs. 3.9 点、p=0.003）、PSQI（11.3 vs. 5.5 点、p<0.001）と、全ての尺度で有意に睡眠および日中機能障害が不良であった。対照群(R=0.627、p<0.001)では主観的 TST と客観的 TST に強い有意な正の相関を認めた一方で、不眠症群では相関を認めなかった(R=-0.061、p=0.743)。不眠症群では、TIB と⊿TST との間に負の相関を認めた(R=-0.428、p=0.016)。すなわち就床時間が長いほど主観的および客観的 TST の解離が大きくなった。また不眠症群では、就床時刻と⊿TST との間に正の相関を認めた(R=0.375、p=0.038)。すなわち就床時刻が早いほど睡眠時間を過小評価しやすい傾向を認めた。一方、対照群では両者間の有意な相関は認められなかった（R=0.028、p=0.859; R=-0.049、p=0.757）。

以上の結果から、不眠症群は客観的な睡眠状態（客観的不眠重症度）に比較して、主観的睡眠状態をより重篤に評価していた。また、不眠症患者の就床行動が SSM に関連し、長い総就床時間や早い就床時刻が総睡眠時間の低評価に関連していた。このことは不眠症に対する認知行動療法（Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia; CBT-I）の主要コンポーネントである睡眠制限法の理論的根拠とも合致している。

本研究事業で収集した PSG データ及び臨床指標を用いて SSM のより詳細なリスク要因分析を進める。

④ 特発性過眠症をはじめ眠気の生理学的指標としての睡眠ポリグラフマーカーの開発（小曽根）

過眠を生じる疾患には中枢性過眠症、睡眠呼吸障害、睡眠不足症候群に加え、概日リズム睡眠・覚醒障害、気分障害や発達障害など精神疾患などによるものがある。その鑑別診断を行う際、睡眠呼吸障害では PSG による睡眠呼吸指数により、また睡眠不足症候群や概日リズム睡眠・覚醒障害では睡眠日誌やアクチグラフなど用いる。中枢性過眠症にはナルコレプシーや特発性過眠症、反復性傾眠症などが含

まれるが、ナルコレプシーは髄液中のオレキシン濃度の測定やPSGと反復睡眠潜時検査（Multiple Sleep Latency Test: MSLT）により入眠時REM睡眠期（sleep onset REM period ; SOREMP）検出などで診断する（ICSD-3）。しかし特発性過眠症には特異的指標を用いた診断基準がないため、他の過眠を生ずる疾患を除外することで診断される。また睡眠呼吸障害において持続陽圧呼吸などによる治療後 PSG 睡眠指数が回復しても眠気が残る（残遺眠気）の問題があり、その病態は明らかでない。本研究では多施設のPSGデータを集積し、日中の眠気を反映し得る、主観的・客観的尺度（MSLT）、PSGデータから得られる睡眠指数、k 複合数、紡錘波数、周波数解析値、自律神経活動指数（心拍変動による）などあらゆる指標との相関を検討することにより、疾患特異的なものと過眠の程度に関連するものを抽出し、病態解明や、客観的な診断、治療効果判定に役立つ精度の高い指標を見いだすことが目標である。

久留米大学附属病院における過去のデータを用いた検討から、ナルコレプシー診断のゴールドスタンダードである MSLT 診断基準における眠気指標（平均入眠潜時）は、睡眠不足症候群などの他の眠気をきたす疾患との鑑別が困難であり、MSLTの各種パラメータでナルコレプシーType2 と他の眠気をきたす疾患とを鑑別することは困難であることが示唆された。さらに、過眠症以外の主観的な眠気を認める疾患群において、MSLT で判明する病的眠気の有無を予測しうるパラメータは見いだせなかった。これらの結果より、診断精度の向上や治療方針の決定に係る眠気関連因子の探索は急務である。

このため、過眠症を呈する疾患（ナルコレプシー、特発性過眠症、周期性過眠症、睡眠時無呼吸など）で MSLT およびエプワース眠気尺度を行っているデータを PSG データバンクより抽出しデータ解析を行う。解析内容として、最終的には約 1000 件を目的として、各々につき従来法による睡眠解析、周波数分析、CAP（cyclic alternating pattern）解析、紡錘波数測定、心拍変動値の解析を実施する。

III.まとめ

日本国内の主要な PSG 実施機関と連携した睡眠障害・PSG データバンクを構築し、上記課題を達成するための基盤構築を進めている。データバンク共通フォーマットを確定し、全施設でのフィージビリティを確認している。すでに一部のデータは各施設で格納可能な形態に変換し、保存・整理を進めている。NCNP における中央一括審査により倫理審査を受け、承認を得た。一部、クラウドサーバにデータのアップロードを開始している。収集した PSG データおよびこれに紐づくメタデータは、診断・病態評価において客観的指標に乏しい睡眠障害、精神障害の客観指標開発研究に使用する。

連携機関ごとに設定した臨床研究課題は、検討を進める上で妥当であると判断された。今後、全研究機関より収集したデータを用い、全機関で協議を重ねながら各課題を遂行していく。

倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）

研究の実施に当たっては、被験者の生命、健康、プライバシー及び尊厳を守ることを最優先として、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」、国立精神・神経医療研究センター「ヒトを対象とする医学系研究に関する業務手順書」および「人体から取得された試料及び情報等の保管に関する手順書」に従って、研究の遂行ならびに個人情報の取り扱いを行っている。

研究成果

論文　　計（３６）件　うち査読付論文（２０）件

1. Saitoh K, Yoshiike T, Kaneko Y, Utsumi T, Matsui K, Nagao K, Otsuki R, Aritake-Okada S, Kadotani H, Kuriyama K, Suzuki M. Associations of nonrestorative sleep and insomnia symptoms with incident depressive symptoms over 1-2 years: Longitudinal results from the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos and Sueño Ancillary Study. Depress Anxiety 39(5): 419-428, 2022. doi: 10.1002/da.23258
2. Yoshiike T, Utsumi T, Matsui K, Nagao K, Saitoh

K, Otsuki R, Aritake-Okada S, Suzuki M, Kuriyama K. Mortality associated with nonrestorative short sleep or nonrestorative long time-in-bed in middle-aged and older adults. Sci Rep 12(1): 189, 2022. doi: 10.1038/s41598-021-03997-z

3. Matsui K, Yoshiike T, Nagao K, Utsumi T, Tsuru A, Otsuki R, Ayabe N, Hazumi M, Suzuki M, Saitoh K, Aritake-Okada S, Inoue Y, Kuriyama K. Association of Subjective Quality and Quantity of Sleep with Quality of Life among a General Population. Int J Environ Res Public Health 18(23): 12835, 2021. doi: 10.3390/ijerph182312835
4. Matsui K, Komada Y, Okajima I, Takaesu Y, Kuriyama K, Inoue Y. A Cross-Sectional Study of Evening Hyperphagia and Nocturnal Ingestion: Core Constituents of Night Eating Syndrome with Different Background Factors. Nutrients 13(11): 4179, 2021. doi: 10.3390/nu13114179
5. Aoki Y, Takaesu Y, Suzuki M, Okajima I, Takeshima M, Shimura A, Utsumi T, Kotorii N, Yamashita H, Kuriyama K, Watanabe N, Mishima K. Development and acceptability of a decision aid for chronic insomnia considering discontinuation of benzodiazepine hypnotics. Neuropsychopharmacol Rep 42(1): 10-20, 2021. doi: 10.1002/npr2.12219
6. Kurimoto N, Inagaki T, Aoki T, Kadotani H, Kurimoto F, Kuriyama K, Yamada N, Ozeki Y. Factors causing a relapse of major depressive disorders following successful electroconvulsive therapy: A retrospective cohort study. World J Psychiatry 11(10): 841-853, 2021. doi: 10.5498/wjp.v11.i10.841
7. Matsui K, Yoshiike T, Tsuru A, Otsuki R, Nagao K, Ayabe N, Hazumi M, Utsumi T, Yamamoto K, Fukumizu M, Kuriyama K. Psychological burden of attention-deficit/hyperactivity disorder traits on medical workers under the COVID-19 outbreak: a cross-sectional web-based questionnaire survey. BMJ Open 11(10): e053737, 2021. doi: 10.1136/bmjopen-2021-053737
8. Inoue Y, Tabata T, Tsukimori N. Efficacy and safety of modafinil in patients with idiopathic hypersomnia without long sleep time: A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group comparison study. Sleep Med Apr;80, 315-21, 2021. DOI: 10.1016/j.sleep.2021.01.018
9. Sasai-Sakuma, T, Kayaba M, Kanai Y, Inoue Y. Heart rate change and clinical characteristics in patients with neck myoclonus: An observational study. Clin Neurophysiol Pract 6: 229-33, 2021. DOI: 10.1016/j.cnp.2021.06.005
10. Inoue Y, Hirata K, Hoshino Y, Yamaguchi Y. Difference in background factors between responders to gabapentin enacarbil treatment and responders to placebo: pooled analyses of two randomized, double-blind, placebo-controlled studies in Japanese patients with restless legs syndrome. Sleep Med 85: 138-46, 2021. DOI: 10.1016/j.sleep.2021.07.004
11. Kayaba M, Sasai-Sakuma T, Takaesu Y, Inoue Y. The relationship between insomnia symptoms and work productivity among blue-collar and white-collar Japanese workers engaged in construction/civil engineering work: a cross-sectional study. BMC Public Health 21(1):1244, 2021. DOI: 10.1186/s12889-021-11273-y
12. Okajima I, Komada Y, Ito W, Inoue Y. Sleep Debt and Social Jetlag Associated with Sleepiness, Mood, and Work Performance Among Workers in Japan. Int J Environ Res Public Health 18(6): 2908, 2021. DOI: 10.3390/ijerph18062908
13. Kaneko Y, Suzuki M, Kawae A, Saitoh K, Gon Y, Uchiyama M: Exploding head syndrome accompanied by repeating panic attacks: A case report, Frontiers in Psychiatry, 2021 Jan 22;11:613420. doi: 10.3389/fpsyt.2020.613420
14. Kanamori T, Kaneko Y, Yamada K, Suzuki M: Successful Combination Therapy of Trazodone and Fluvoxamine for Pica in Alzheimer's Disease: A Case Report, Frontiers in Psychiatry, 2021 Jul

1;12:704847.doi: 10.3389/fpsyt.2021.704847

15. Kaneko Y, Suzuki M, Nagai K, Uchiyama M: Diffrential effects of aging and cognitive decline on visual exploration behavior in the elderly, Neuroscience Research, 2021 Oct;171:62-66. doi: 10.1016/j.neures.2021.03.007
16. Yamato K, Inada K, Enomoto M, Marumoto T, Takeshima M, Mishima K. Patterns of hypnotic prescribing for residual insomnia and recurrence of major depressive disorder: a retrospective cohort study using a Japanese health insurance claims database. BMC Psychiatry. 2021;21:40.
17. Takeshima M, Otsubo T, Funada D, Murakami M, Usami T, Maeda Y, Yamamoto T, Matsumoto T, Shimane T, Aoki Y, Otowa T, Tani M, Yamanaka G, Sakai Y, Murao T, Inada K, Yamada H, Kikuchi T, Sasaki T, Watanabe N, Mishima K, Takaesu Y. Does cognitive behavioral therapy for anxiety disorders assist the discontinuation of benzodiazepines among patients with anxiety disorders? A systematic review and meta-analysis. Psychiatry Clin Neurosci. 2021.
18. Narisawa H, Inoue Y, Kobayashi M, Okajima I, Kikuchi T, Kagimura T, Matsui K, Inada K, Mishima K. Development and validation of the Benzodiazepine Hypnotics Withdrawal Symptom Scale (BHWSS) based on item response theory. Psychiatry Res. 2021;300:113900.
19. Motomura Y, Katsunuma R, Ayabe N, Oba K, Terasawa Y, Kitamura S, Moriguchi Y, Hida A, Kamei Y, Mishima K. Decreased activity in the reward network of chronic insomnia patients. Sci Rep. 2021;11:3600.
20. Inada K, Enomoto M, Yamato K, Mishima K. Prescribing Pattern of Hypnotic Medications in Patients Initiating Treatment at Japanese Hospitals: A Nationwide, Retrospective, Longitudinal, Observational Study Using a Claims Database. Drugs Real World Outcomes. 2021.

分担研究課題名：カタスレニア（catathrenia）の夜間睡眠中の出現分布について
分担研究者：井上雄一
研究協力者： 谷岡洸介、中山秀章、平澤俊之
所属施設： 東京医科大学睡眠学講座

緒言

睡眠中の呼気性うなりを主徴とするカタスレニアは、睡眠センターを受診する患者の 0.063%-0.54%と比較的まれな疾患であり [1]、過去の報告症例数は 250 例に満たない [2]。本疾患を度の疾患カテゴリ-に含めるかという点については、議論が続いており、睡眠障害交際診断分類第二版（ICSD 2nd）ではパラソムニアに分類されていたが、症状が呼吸運動に随伴すること、鼻腔持続陽圧呼吸や口腔内装置などの閉塞性睡眠時無呼吸（OSA）の治療機器が本疾患治療に奏功するケースが存在すること [2][3]から、睡眠障害国際診断分類第三版（ICSD 3rd）では睡眠関連呼吸障害群に含められている [4]。しかしながら、カタスレニアイベントの夜間睡眠中の分布について体位を含めて検討し、ＯＳＡとの病態生理上の関連性について検討した研究はみられない。この点を考慮して、本研究では、カタスレニア出現頻度の睡眠段階間での変動ならびに体位による変化に注目して検討を行った。

方法

対象例は、2015 年 10 月から 2019 年 4 月までの間に当院を受診した患者の中で ICSD 3rd におけるカタスレニアの診断基準を満たした 24 症例である（table1）。全例において、周期性四肢運動（周期性四肢運動指数 15 回/時間以上）と OSA(無呼吸低呼吸指数 5 回/時間以上)は存在しなかった。これらの症例はすべて、睡眠中呼気時に低呼吸ないし無呼吸が 2 秒以上認められ、しかも併用した音声記録によりうなりが 2 回以上確認された [5]。本研究では、カタスレニアの頻度を単位時間あたりの個数（catathrenia index ; CI）として睡眠段階毎ならびに体位（仰臥位/側臥位）毎に集計した。また、家人からの問診により聴取したカタスレニアの発症年齢、性別、肥満度（body mass index; BMI）の情報を収集した。なお、睡眠段階ならびに体位ごとの CI 比較にあたっては、それぞれのデータが 30 分以上存在する 19 例を解析対象とした。

結果

本研究対象例では、女性の割合が高く、発症年齢・初診年齢は比較的若年であり、肥満度は正常範囲にとどまった（table1）。Kruskal–Wallis test と post hoc の Bonferroni/Dunn test により、CI が N1 と REM 期において低く、N2・N3 に比べて有意差が存在することが示された（それぞれ p<0.001）（Fig.1）。また、仰臥位での CI が側臥位でのそれに比べて有意に高いことも確認された (p<0.01)

Table1 Descriptive variables of the subject patients (n=24)

Sex (Male:Female)	8 : 16
BMI (kg/m²)	20.4 ± 2.6
JESS (points)	9.2 ± 4.5
Age (years)	30.3 ± 8.1
Age(at self reported onset)[a]	20.0 ± 4.3 years

Abbreviations: BMI; body mass index, JESS; Japanese version of the Epworth Sleepiness Scale.
Values are expressed as means ± standard deviation.
[a] n=14

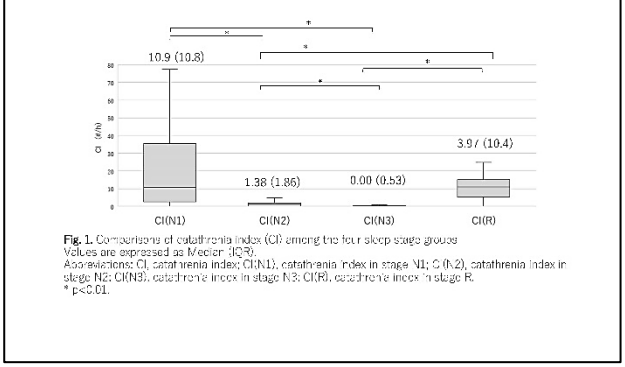


Fig. 1. Comparisons of catathrenia index (CI) among the four sleep stage groups
Values are expressed as Median (IQR).
Abbreviations: CI, catathrenia index; CI(N1), catathrenia index in stage N1; CI (N2), catathrenia index in stage N2; CI(N3), catathrenia index in stage N3; CI(R), catathrenia index in stage R.
* p<0.01.

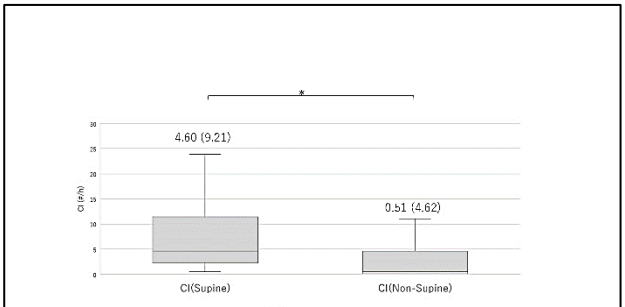


Fig. 2. Comparisons of catathrenia index (CI) between supine and non-supine postures.
Values are expressed as Median (IQR).
Abbreviations: CI, catathrenia index; CI (Supine), catathrenia index in the supine posture; CI(Non-Supine), catathrenia index in the non-supine posture.
* p<0.01.

考察

本研究においては、カタスレニアが先行研究と同様、若年かつ低肥満度で発症し女性での有病率が高いこと [5] が確認された。これらの傾向は、中年層以上の肥満男性に多い OSA とは明らかに異なり、女性に多い点を除くとパラソムニア（特に NREM 期のパラソムニア）に近い。しかしながら、本研究において、カタスレニアの発現頻度が、側臥位に比べて上気道の虚脱性が高まる仰臥位 [7] において高いことがはじめて示された。これまでの報告と同様 [8] NREM 深睡眠期に比べて上気道筋トーヌスが低下し虚脱性が上昇する REM 期 [9]に高かったことを含

めると、本病態は上気道虚脱と関連している可能性があるだろう。また、呼吸覚醒閾値が高い深睡眠期に比べて閾値が低く呼吸イベントを生じやすいN1[10]において、カタスレニアイベントの頻度が多かったことも、本疾患とOSAの生理学的共通性を示すものと言えよう。なお、深睡眠期にイベントが少なかった点も、一般的なNREMパラソムニアの特性とは大きく異なる[11]と言えるだろう。従って、症例数が現時点では不十分で結論づけることは困難だが、カタスレニアはパラソムニアとOSAの両要素を併せ持つ疾患であるとの推測が可能であろう。

本研究対象カタスレニア症例に対し、OSA治療手技である前述の鼻腔持続陽圧呼吸[12]ないし口腔内装置[2]による治療ならびにパラソムニアに対する定型的な治療を試み、その効果と初診時点での背景指標との関係について検討し、OSAならびにパラソムニアとの関連性に関する追加考察を加える予定である。

結論

カタスレニアは、非肥満の若年者に多いという点ではパラソムニアに近いという印象を持たれる。しかしながら、側臥位に比べて仰臥位睡眠中に多いという点、深睡眠期に少なく、REM期とN1に多いという点はOSAと共通している。これらの出現分布特性が、OSAの標準的治療によりどのように変化するか、今後の検討が必要であろう。

参考文献

1. Dirk A Pevernagie: Why catathrenia is a parasomnia. Sleep Med 2017 Apr;32:227-228.
2. Yu M., et al. Mandibular advancement device as treatment trial for catathrenia (nocturnal groaning). J Clin Sleep Med. 2021 Sep 1;17(9):1767-76.
3. Songu M., et al. Effect of CPAP therapy on catathrenia and OSA: a case report and review of the literature. Sleep Breath 2008 Nov;12(4):401-5.
4. 米国睡眠医学会: 睡眠障害国際分類第 3 版 Ⅱ. 睡眠関連呼吸障害群 D. 睡眠関連低酸素血障害 カタスレニア PP. 98-104, 2018.
5. Guilleminault C., et al. Catathrenia: parasomnia or uncommon feature of sleep disordered breathing? Sleep. 2008 Jan;31(1):132-9.
6. Oksenberg A,et al.Prevalence and characteristics of positional obstructive sleep apnea (POSA) in patients with severe OSA. Sleep Breath. 2020 Jun;24(2):551-559.
7. Oksenberg A,et al.Prevalence and characteristics of positional obstructive sleep apnea (POSA) in patients with severe OSA. Sleep Breath. 2020 Jun;24(2):551-559.
8. Drakatos P.,et al. Catathrenia, a REM predominant disorder of arousal? Physiol Res. 2013;62(5):569-75.
9. Peregrim I., et al. Does obstructive sleep apnea worsen during REM sleep? Physiol Res. 2013;62(5):569-75.
10. Edwards BA, et al. Clinical predictors of the respiratory arousal threshold in patients with obstructive sleep apnea. Am J Respir Crit Care Med. 2014.
11. Irfan M., et al. NonREM Disorders of Arousal and Related Parasomnias. Neurotherapeutics. 2021 Jan;18(1):124-139.
12. Songu M., et al. Effect of CPAP therapy on catathrenia and OSA: a case report and review of the literature. Sleep Breath 2008 Nov;12(4):401-5.

分担研究課題名：うつ病に合併する睡眠障害の生理的解析

分担研究者：鈴木正泰
研究協力者：新井行平、伊佐浩紀、金森 正、金子宜之、神津 悠、権 寧博、斎藤かおり、鈴木貴浩、武居宣尚、陳和夫、中山智祥、藤井伸邦（50 音順）
所属施設： 日本大学医学部附属板橋病院

緒言

うつ病の罹患者数は全世界で3億人を突破し､WHOは、2030 年にはうつ病が疾患負荷（経済的コスト、死亡率、疾病率で計算される特定健康問題の指標）の最も高い疾患になると予想している [1]。そのため、診断や治療法選択、予後予測等に資するバイオマーカーの開発が強く求められているが、現時点で有用性の高い指標の開発には至っていない。

うつ病においては睡眠障害を高頻度に認め、中でも不眠は 8 割以上の患者で合併する [2]。うつ病ではレム睡眠圧の上昇といった疾患特異的な睡眠異常を認めることから、PSG をバイオマーカー開発に利用するという考えは以前からあったが [3]、通常の臨床研究の規模で安定したマーカーを開発するために必要なデータ数を収集することは困難であった。

本研究では、日本全国の複数の施設から集積された膨大な PSG データおよび紐付けされた臨床情報を利用することにより、うつ病臨床に資する安定した生物学的マーカーの開発を目指す。

方法

過去に日本大学医学部附属板橋病院睡眠センターで収集した既存の PSG データおよび臨床データを国立精神・神経医療研究センター（NCNP）が管理するデータサーバーにアップロードする。並行して、新たに取得する PSG データおよび臨床データについても随時アップロードする。

本事業に参画する施設に保管されている既存データのアップロードが終了次第、分担課題に着手する。うつ病のほか、対照として、他の精神疾患や原発性睡眠障害の PSG データおよび紐付けされた臨床データを利用し、うつ病の診断、重症度評価、治療反応性、予後予測などに有用な指標を同定する。PSG データの解析に当たっては、睡眠構築に関する一般的な睡眠指標のほか、帯域別パワー値も使用する。

結果

昨年度に引き続き、PSG データバンク構築方法の詳細について他の研究者と議論し、アップロードするデータの内容やその方法を決定した。代表研究機関にて研究計画の倫理申請（一括申請）が行われ、承認を得た。その後、当院における研究実施についても許可が得られ、既存データの入力を開始した。

上記と並行して、うつ病と睡眠障害との関連の理解を深めることを目的とした疫学的検討も行った。この検討にあたっては、米国の既存コホートデータを利用した。1196 人を対象に調査開始時点における不眠関連症状の有無と 1～2 年後のうつ病発症との関連を検討したところ、「休養感のない睡眠」（nonrestorative sleep：NRS）は他の不眠関連症状（入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒、再入眠困難）よりも強い危険因子であることが明らかとなった。この結果については論文化し、米国の科学雑誌にて発表した [4]。

考察

国内初の PSG データバンクを構築するための運用方法を確定し、既存データの入力を開始することができた。今後、既存データの入力を進めるとともに、新規の PSG データの収集も行なっていく。

米国のオープンデータソースを利用した疫学的検討において、種々の不眠関連症状のうち NRS が最も強いうつ病発症の危険因子であることが明らかとなった。NRS の発症予測能が高い理由として、NRS は不眠症状よりも心身の回復機能不全を直接的に反映する指標である可能性が考えられた。今後、本研究で構築された PSG データバンクを利用し、うつ病の診断、重症度評価、治療反応性、予後予測などに資するバイオマーカー開発を行う上でも睡眠による休養感に着目することが重要と考えられた。

結論

国内初にして最大の PSG データバンクの構築を開始することができた。疫学検討の結果から、うつ病のバイオマーカー開発においては、睡眠による休養感にも着目することが重要と考えられた。

参考文献

1) World Health Organization, 2008. The global burden of disease:2004,update. (https://apps.who.int/iris/handle/10665/43942).
2) Sunderajan P, Gaynes BN, Wisniewski SR et al : Insomnia in patients with depression: a STAR*D report. CNS Spectr 15 : 394-404, 2010
3) Steiger A, Kimura M: Wake and sleep EEG provide biomarkers in depression. J Psychiatr Res 44 : 242-252, 2010
4) Saitoh K, Yoshiike T, Kaneko Y et al : Associations of nonrestorative sleep and insomnia symptoms with incident depressive symptoms over 1–2 years: longitudinal results from the Hispanic Community Health Study/Study of Latinos and Sueño Ancillary Study. Depress Anxiety, in press.

分担研究課題名：PSG データに基づく不眠症診断カテゴリ開発

分担研究者：三島和夫[1]
研究協力者：工藤瑞樹[1]、綾部直子[2]、北村真吾[3]、竹島正浩[1]
所属施設：
1. 秋田大学大学院医学系研究科精神科学講座
2. 秋田大学教育文化学部地域文化学科地域社会・心理実践講座
3. 国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所睡眠・覚醒障害研究部

緒言

本研究課題では多施設共同でバンキングした PSG データおよび臨床データを活用して、睡眠-覚醒障害患者の日中機能（認知・社会、気分）の障害に関わる睡眠特性を抽出し、その病態を解明する。その課題の一つとして、アクチグラフ、標準型睡眠ポリグラフ検査および携帯型脳波計を用いて原発性不眠症および精神疾患に伴う二次性不眠症患者における主観的／客観的睡眠状態の乖離（睡眠状態誤認、Sleep State Misperception; SSM）の連続例調査を実施し、睡眠脳波、活動量、日中機能データを蓄積する。SSM は客観的睡眠が改善しているにも関わらず主観的な睡眠評価が低く留まる病態像で、薬物療法が奏功せず難治性である。睡眠薬の多剤併用・長期投与に陥る主な原因の一つであり、その抑止の観点からも SSM のリスク要因分析、臨床診断および治療法の開発が求められている。

方法

対象者：不眠症群として、睡眠障害の専門外来へ通院中の原発性不眠症と診断され、かつ薬物療法を 3 ヶ月以上受けても症状が残存する人を対象として、35 歳～79 歳の 31 名（平均年齢 63.2 歳、男性 6 名）が研究に参加した。参加者は、口頭と文書で研究の目的と内容について十分に説明を受け、自発的な参加に同意した。また対照群として、チラシ、ポスター、インターネット等を通じて被験者募集に応じた地域在住の 35 歳～74 歳の 42 名（平均年齢 59.6 歳、男性 16 名）が研究に参加した。全ての参加者は Web 上での研究説明を読み書面で同意した。睡眠薬（市販薬を含む）を内服しておらず、DSM-IV-TR による原発性不眠症やその他の精神疾患の診断をされていない事が確認された。

研究方法：睡眠記録は任意の 14 日間とし、睡眠日誌とアクチグラフ（腰部装着型活動量計 MTN）での同時記録を行った。調査項目には、①デモグラフィックデータ（年齢、性別）、②病歴, ③不眠重症度（アテネ不眠尺度［AIS］）、④社会機能/QOL（Sheehan Disability Scale［SDISS］）、⑥睡眠状態（ピッツバーグ睡眠質問票［PSQI］）が含まれた。アクチグラフの活動量データから固有の解析アルゴリズムを用いて、客観的総睡眠時間（oj-TST）、客観的睡眠潜時（oj-SOL）、客観的中途覚醒時間（oj-WASO）を算出した。また対応する主観的睡眠パラメータ（sj-TST、sj-SOL、sj-WASO）を睡眠日誌データからそれぞれ算出した。SSM の程度を表す指標として各睡眠パラメータの主観と客観の差異を⊿TST（sj-TST−oj-TST）、⊿SOL（sj-SOL−oj-SOL）、⊿WASO（sj-WASO−oj-WASO）として算出した。各パラメータに関して、不眠症群と対照群の比較をするとともに就床行動と睡眠パラメータ、日中機能障害との関連を調べた。

結果

1）睡眠パラメータの比較

不眠症群と対照群の間で睡眠パラメータを比較した。不眠症群は対照群に比較して、sj-TST は 62 分短く（$p<0.001$）、sj-WASO は 39 分長く（$p<0.001$）、sj-SOL を 28 分長く報告していた（$p<0.001$）。一方で不眠症群は対照群に対して、oj-TST は 39 分長く（$p=0.007$）、oj-WASO（$p=0.561$）、oj-SL（$p=0.219$）は有意な差を認めなかった。不眠症群では対照群に対して、⊿TST が有意に短く（101 分、$p<0.001$）、⊿WASO（34 分、$p=0.003$）、⊿SOL（31 分、$p<0.001$）はそれぞれ有意に長く、睡眠状態をより悪く認識していることが明らかになった。

2）就床行動の比較

不眠症群と対照群の間で就床行動を比較した。不眠症群は対照群に比較して、就床時刻が有意に早かったが（33 分、$p=0.037$）、起床時刻は両群間で差を認めず（$p=0.304$）、その結果、総就床時間(Time in Bed; TIB)は有意に延長していた（45 分間、$p=0.002$）。

3）睡眠および日中機能障害

不眠症群と対照群の間で睡眠および日中機能障害を比較した。不眠症群は対照群に比較して、AIS（9.0 vs. 5.0 点、$p<0.001$）、SDISS（8.1 vs. 3.9 点、$p=0.003$）、PSQI（11.3 vs. 5.5 点、$p<0.001$）と、全ての尺度で有意に睡眠および日中機能障害が不良であった。

4）睡眠時間の認知

sj-TST と oj-TST 間の相関関係を調べた結果、対照群($R=0.627$、$p<0.001$)では強い有意な正の相関を認めた一方で、不眠症群では全く相関を認めなかった($R=-0.061$、$p=0.743$)。すなわち睡眠時間を正しく認知できていないことが示唆された。

5）就床行動と SSM との関連

不眠症群と対照群において就床行動と SSM との関連を

検討した。不眠症群では、TIB と⊿TST との間に負の相関を認めた(R=-0.428、p=0.016)。すなわち就床時間が長いほど主観的および客観的TSTの解離が大きくなっていた。一方、対照群では両者間の有意な相関は認められなかった（R=0.028、p=0.859）。

不眠症群では、就床時刻と⊿TST との間に正の相関を認めた(R=0.375、p=0.038)。すなわち就床時刻が早いほど睡眠時間を過小評価しやすい傾向を認めた。一方、対照群では両者間の有意な相関は認められなかった（R=-0.049、p=0.757）。

考察

以上の結果から、不眠症群は客観的な睡眠状態（客観的不眠重症度）に比較して、主観的睡眠状態をより重篤に評価していた。いわゆる不眠症患者に特徴的とされる睡眠状態誤認（Sleep State Misperception; SSM）が本研究における対象患者においても確認された。また本研究では、不眠症患者の就床行動がSSMに関連していることも明らかになった。具体的には長い総就床時間や早い就床時刻が総睡眠時間の低評価に関連していた。このことは不眠症に対する認知行動療法（Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia; CBT-I）の主要コンポーネントである睡眠制限法の理論的根拠とも合致した所見である。

結論

本研究の結果、不眠症患者にしばしば認められる早い就床時刻、長い就床時間などの睡眠習慣とSSMの関連性が示唆された。今回の知見はCBT-Iに代表される不眠症に対する睡眠習慣の改善によるアプローチの有効性を示している可能性がある。今後の展開として、本研究事業で収集したPSGデータ及び臨床指標を用いてSSMのより詳細なリスク要因分析を進める。

分担研究課題名：睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築研究
特発性過眠症をはじめ眠気の生理学的指標としての睡眠ポリグラフマーカーの開発
分担研究者：小曽根基裕
研究協力者： 内村直尚、土生川光成、小鳥居望、比江嶋啓至、森裕之、和佐野研二郎、大島勇人、加藤隆郎、水木慧、瀧井稔、横山遼、藤井優樹
所属施設： 久留米大学医学部神経精神医学講座

緒言

過眠を生じる疾患には中枢性過眠症、睡眠呼吸障害、睡眠不足症候群に加え、概日リズム睡眠・覚醒障害、気分障害や発達障害など精神疾患などによるものがある。その鑑別診断を行う際、睡眠呼吸障害ではPSGによる睡眠呼吸指数により、また睡眠不足症候群や概日リズム睡眠・覚醒障害では睡眠日誌やアクチグラフなど用いて診断が可能である。中枢性過眠症にはナルコレプシーや特発性過眠症、反復性傾眠症などが含まれるが、ナルコレプシーは髄液中のオレキシン濃度の測定やPSGとMSLTによりSOREMP検出などで診断が出来る（睡眠障害国際分類第三版）。しかし特発性過眠症には客観的指標を用いた診断基準がないため、他の過眠を生ずる疾患を除外することで診断される。また睡眠呼吸障害において持続陽圧呼吸などによる治療後 PSG 睡眠指数が回復しても眠気が残る（残遺眠気）の問題があり、その病態は明らかでない。本研究では多施設のPSGデータを集積し、日中の眠気については主観的・客観的尺度（MSLT）を用いて、PSGデータから得られる睡眠指数、k複合数、紡錘波数、周波数解析値、自律神経活動指数（心拍変動による）などあらゆる指標との相関を検討することにより、より強く関連する因子を抽出し、疾患特異的なものと過眠の程度に関連するものを抽出、その病態解明や、客観的な診断、治療効果判定に精度の高い指標を見いだすことが本研究の目標である。見いだされた疾患特異的指標を用いることで、特発性過眠症を積極的に診断したり、また眠気の程度と関連する指標については、病態が不明な過眠（残遺眠気等）を客観的に評価し、治療効果の予測や評価に用いることが出来る

方法

令和4年度も継続してPSGデータバンク作成を推進していく。当院倫理委員会の承認が完了したため、現在院内の PSG および MSLT データを直近1年間のものから収集・処理を開始しており、最終的に過去10年間のデータを共通フォーマット化しデータバンクに登録、診療データとの紐付けが出来るように処理を行う。年度中盤からは、得られた多施設のデータバンク内データより、当院分担研究課題である、眠気の睡眠ポリグラフマーカーの探索を開始する。具体的には、過眠症を呈する疾患（ナルコレプシー、特発性過眠症、周期性過眠症、睡眠時無呼吸など）でMSLTおよびエプワース眠気尺度を行っているデータをデータバンクより抽出しデータ解析を開始する。解析内容として、最終的には約1000件を目的として、各々につき従来法による睡眠解析、周波数分析、CAP解析、紡錘波数測定、心拍変動値の解析を施行する。解析結果は翌年の日本睡眠学会定期学術集会、米国睡眠学会で発表し、その後英文雑誌に論文投稿する

結果・考察・結語

現在データ集積中である。

参考文献

1. 米国睡眠医学会著，日本睡眠学会診断分類委員会訳. 睡眠障害国際分類第3版. 日本睡眠学会. 2018.
2. Avellar AB, Carvalho LB, Prado GF, Prado LB. Pharmacotherapy for residual excessive sleepiness and cognition in CPAP-treated patients with obstructive sleep apnea syndrome: A systematic review and meta-analysis. Sleep medicine reviews. 2016;30:97-107.
3. Lechat B, Hirotsu C, Appleton S, Younes M, Adams RJ, Vakulin A, Hansen K, Zajamsek B, Wittert G, Catcheside P, Heinzer R, Eckert DJ. A novel EEG marker predicts perceived SLEEPINESS AND poor sleep quality. Sleep. 2022 Mar 4:zsac051.
.

2-1

Establishment of a Sleep Disorders and Polysomnography Databank

Principal investigator: Kenichi Kuriyama, M.D., Ph.D.
Department of Sleep-Wake Disorders, National Institute of Mental Health,
National Center of Neurology and Psychiatry

Research Objectives

Polysomnography (PSG) has been used since the 1980's as an excellent modality for observing brain activity (EEG) and other physiological information during sleep. In Japan, PSG was initially introduced as a research device, and then applied to clinical practice for diagnosis and evaluation mainly at medical institutions specializing in the treatment of sleep disorders nationwide in the late 1990s. Although PSG has been suggested to be useful as an objective indicator (biomarker) that contributes to the diagnosis and severity assessment of various sleep disorders, its operation is limited to a few specialized institutions because it requires hospitalization for more than one night for accurate evaluation. Therefore, PSG is essential for clinical diagnosis of just a few sleep disorders, and it is expected to be applied to further expansion of indications in conjunction with the development of biomarkers, including diseases for which clinical phenotype is the main diagnostic indicator, such as insomnia, and psychiatric disorders that frequently coexist with sleep disorders. Therefore, this study aims to establish a databank for sleep disorders and PSG in collaboration with major PSG operating institutions in Japan, and to build a foundation for achieving the above tasks.

The databank will make it possible to develop diagnosis and severity assessment of sleep disorders based on objective PSG indices, to elucidate physiological pathology in more detail, and to reduce inappropriate prescription of hypnotics and wake-promoting agents. It is also expected to contribute to the development of objective diagnostic markers for psychiatric and neurological disorders and to the advancement of pathological clarification.

We will also accumulate sleep data using portable electroencephalographs and PSG devices, confirm the consistency with conventional PSG data, and aim for the practical application of PSG that can be easily performed at home for clinical and research purposes in the future. We will also aim for the spread and social implementation of objective diagnostic methods and the standardization of sleep indices based on the collection of large-scale cohort data.

The research project is being collaborated with the following facilities of sleep medicine.

A) Yoyogi Sleep Disorder Center (in collaboration with Tokyo Medical University)
B) Nihon University Itabashi Hospital
C) Akita University Graduate School of Medicine
D) Kurume University

Using the collected PSG data and the associated metadata, we will develop objective biomarkers for sleep disorders and mental disorders for which objective indices are lacking in diagnosis and pathological evaluation. Each collaborating institution will set its own clinical research agenda, and each agenda will be carried out in consultation with all the institutions using the data collected from all the research institutions.

As an initial task set, the following research topics will be assigned to each institution.

A) Development of PSG-related diagnostic and pathological markers in parasomnias
B) Development of PSG-related diagnostic and pathophysiological markers in sleep disorders associated with major depressive disorder

C) Development of PSG-related diagnostic and pathological markers in insomnia disorder
D) Development of PSG-related diagnostic and pathological markers in central disorders hypersomnolence

Research outcomes

I. Establishment of a Sleep Disorders and Polysomnographic Databank

A PSG data server was set up in the cloud, and a system was constructed to allow each collaborating research facility to upload data through the network. Cloud storage (Amazon S3) provided from Amazon Web Services (AWS) was used for the cloud data server, in a format compliant with the Medical Information System Security Management Guideline established by the Ministry of Health, Labour and Welfare, the Ministry of Internal Affairs and Communications, and the Ministry of Economy, Trade and Industry. The JMA Systems (Japan Management Association Group) was commissioned to build an infrastructure in which all communications from NCNP and other sites (each university) to the server (An infrastructure was established in which all communications (VPN connections) and storage from NCNP and other sites (at each university) to the servers were encrypted. Furthermore, the server system was designed to enable secure operation by issuing client certificates to each site for the purpose of access restriction and identification. The cloud server was operated and managed by the Department of Sleep-Wake Disorders, National Institute of Mental Health, NCNP under the auspices of the JMA Systems. On March 17, 2022, permission was obtained from the NCNP Ethics Committee to conduct the multicenter collaborative study (B2021-128), and each collaborative site agreed to conduct the study. Only Tokyo Medical University did not accept the batch review of the multicenter collaborative research by NCNP and is proceeding with the review process by its own Ethics Review Committee.

Existing PSG data from the collaborating facilities and the data from the PSG tests to be conducted in the future will be collected in a common format (European Data Format: EDF). In addition, metadata regarding clinical and background information on patients with sleep disorder will be transferred via the cloud server in the Excel format, and a file integrating data from each facility will be managed on the server. The metadata and PSG data server information will be encrypted and strictly managed by the staff in this department. After anonymizing personal information, PSG data and metadata from each facility will be uploaded sequentially, but the Department of Sleep-Wake Disorders, NCNP will be authorized to download only the necessary data for each research project after consultation with the collaborating facilities.

The Data Bank Management Committee was organized to formulate policies for the operation of the Data Bank and a common format for PSG and metadata; a common format for PSG data was shared among all facilities, and each facility tested the feasibility of converting existing PSG data to the EDF. We also developed a common format for clinical and background metadata in accordance with the Mental Illness Registry Study, and shared it with the collaborating institutions. With regard to studies that are prospective and accumulate PSG data, we are considering plans to collect a data set comparable to the Mental Illness Registry Study, and have decided to use a two-story structure with existing data studies.

Based on the above construction, data incorporation was started: PSGs and the associated metadata for the past 9 years, collected by the AASM 2.0 version criteria (or the R&K criteria), were collected at the NCNP for approximately 3,000 cases, at the Yoyogi Sleep Disorder Center for approximately 17,900 cases, at the Nihon University for approximately 1,900 cases, at the Akita University had approximately 500 cases, and the Kurume University had approximately 3,000 cases of PSG and the associated metadata that could be collected.

II. Development of Biomarkers for Sleep Disorders

① The distribution of catathrenia during nighttime sleep

Catathrenia, characterized by expiratory groaning during sleep, is a relatively rare disorder that accounts for 0.063%-0.54% of patients seen at sleep centers, with fewer than 250 cases reported in the past. This disorder is classified as a sleep-related breathing disorder group in the International Classification of Sleep Disorders, Third Edition (ICSD-3), but was classified as parasomnia in the previous edition, ICSD-2, and the lack of clear pathophysiological features is attributed to the confusion in the diagnostic classification. In this study, we examined physiological markers focusing on the variation in frequency of catathrenia occurrence between sleep stages and the change in symptoms with body position.

Twenty-four patients who visited the Yoyogi Sleep Disorder Center between October 2015 and April 2019 and met the diagnostic criteria for catathrenia in the ICSD-3 were included. All patients had hypopnea/apnea for at least 2 seconds during sleep expiration, and at least 2 grunts were confirmed by voice recording. In all cases, periodic limb movements (> 15 times/hour) and apnea-hypopnea (> 5 times/hour) were not comorbid. The frequency of catathrenia was tabulated for each sleep stage/position (supine/lateral) as the number of times per unit time (catathrenia index: CI). Information on age at onset of catathrenia, gender, and body mass index (BMI) was also collected. For the comparison of CIs for each sleep stage and position, 19 cases with at least 30 minutes of data for each were included in the analysis.

The CIs were significantly lower in the N1 (10.9 cycles/h) and REM (3.9 cycles/h) phases than in the N2 (1.38 cycles/h) and N3 (0.00 cycles/h) phases (all $p<0.001$). It was also shown that the CIs were significantly higher in the supine position (4.60 cycles/hour) than in the side lying position (0.51 cycles/hour) ($p<0.01$). This study also confirmed that catathrenia is more prevalent in younger and less obese women, as noted in previous studies. This trend is clearly different from that of OSA (obstructive sleep apnea), which is more common in middle-aged and older obese men. In addition, the frequency of catathrenia was higher in the supine position, where upper airway collapsibility is increased compared to the side-lying position, and this condition may be related to upper airway collapse, including the fact that it was higher during the REM period, when upper airway muscle tonus is decreased, and collapsibility is increased compared to the NREM deep sleep period. Furthermore, the higher frequency of events during the N1 period, when the respiratory arousal threshold is lower and respiratory events are more likely to occur, compared to the deep sleep period, also indicates the common physiological nature of this disease and OSA. The fact that the frequency of events was low during the deep sleep period is very different from the general characteristics of NREM parasomnia. Therefore, it can be inferred that catathrenia is a disease that has elements of both parasomnia and OSA.

Future studies using the PSG data bank and increasing the number of cases will enable the creation of pathological markers for catathrenia.

② Physiological analysis of sleep disorders associated with major depressive disorder

WHO predicts that major depressive disorder (MDD) will be the disease with the highest burden by 2030, and there is a strong need to develop biomarkers that contribute to diagnosis, treatment selection, and prognosis prediction. MDD is frequently associated with sleep disorders, with insomnia being a complication in more than 80% of patients. Since MDD is associated with disease-specific sleep abnormalities such as elevated REM sleep pressure, the idea of using PSG for biomarker development has existed for some time, but it has been difficult to collect the necessary number of data to develop a stable marker on the scale of a normal clinical study. In this study, we aim to develop stable biological markers for MDD by utilizing a large amount of PSG data and linked clinical information collected from multiple centers across

Japan.

To explore PSG biomarkers associated with comorbidity between MDD and sleep disorders, we used existing U.S. cohort data. The study examined the association between the presence of insomnia-related symptoms at study entry and the development of MDD one to two years later in 1,196 U.S. community residents, and found that nonrestorative sleep (NRS) was a stronger risk factor than other insomnia symptoms (difficulty falling asleep, wake up often during the night, early morning awakening, and difficulty resume sleep). The high predictive value of NRS for MDD may be due to the fact that NRS may be a more direct indicator of mental and physical restorative dysfunction than insomnia symptoms. In the future, it is important to focus on restfulness from sleep in order to develop biomarkers for diagnosis, severity assessment, treatment responsiveness, and prognosis of MDD using the PSG databank established in this study.

③ Development of diagnostic categories for insomnia disorder based on PSG data

Sleep state misperception (SSM) is one of the pathological features of insomnia, in which subjective sleep evaluation remains low despite objective sleep improvement, and is refractory to drug therapy. From the viewpoint of deterrence, analysis of risk factors, clinical diagnosis, and development of treatment methods for SSM are required. In this preliminary study, we examined the pathophysiology of SSM based on a comparison of subjective and objective measures of sleep in insomniacs and healthy controls.

Sleep was recorded for 14 arbitrary days, and was simultaneously recorded with a sleep diary and an actigraph (MTN, a waist-worn activity meter). Survey items included (1) demographic data (age, sex), (2) medical history, (3) insomnia severity (Athens Insomnia Scale [AIS]), (4) social function/quality of life (Sheehan Disability Scale [SDISS]), and (6) sleep status (Pittsburgh Sleep Questionnaire Index [PSQI]). Objective total sleep time (TST), objective sleep latency (SOL), and objective wake after sleep onset (WASO) were calculated from the actigraph data using a unique analysis algorithm. The corresponding subjective sleep parameters were calculated from the sleep diary, and the differences between subjective and objective sleep parameters were calculated as ⊿TST, ⊿SOL, and ⊿WASO as an index of the degree of SSM.

The insomnia group had significantly shorter ⊿TST (101 min, $p<0.001$), significantly longer ⊿WASO (34 min, $p=0.003$), and significantly longer ⊿SOL (31 min, $p<0.001$) than the control group, indicating a worse perception of sleep state. The insomnia group had a significantly earlier bedtime compared to the control group (33 min, $p=0.037$), but there was no difference in wake-up time between the two groups ($p=0.304$), and total time in bed (TIB) was significantly longer (45 min, $p=0.002$). The insomnia group had significantly poorer sleep and daytime dysfunction on all scales compared to controls: AIS (9.0 vs. 5.0, $p<0.001$), SDISS (8.1 vs. 3.9, $p=0.003$), and PSQI (11.3 vs. 5.5, $p<0.001$). The control group ($R=0.627$, $p<0.001$) showed a strong and significant positive correlation between subjective and objective TST, while the insomnia group did not ($R=-0.061$, $p=0.743$). In the insomnia group, there was a negative correlation between TIB and ⊿TST ($R=-0.428$, $p=0.016$). In other words, the longer the bedtime, the greater the dissociation between subjective and objective TST. In the insomnia group, there was a positive correlation between bedtime and ⊿TST ($R=0.375$, $p=0.038$). In other words, the earlier the bedtime, the more likely the subjects were to underestimate their sleep duration. On the other hand, there was no significant correlation between the two in the control group ($R=0.028$, $p=0.859$; $R=-0.049$, $p=0.757$).

These results indicate that the insomnia group rated their subjective sleep status more severely compared to their objective sleep status. In addition, bedtime behavior of patients with insomnia disorder was related to SSM, with longer

total bedtimes and earlier bedtimes associated with lower ratings of TST. This is consistent with the rationale for sleep restriction methods, a key component of cognitive behavioral therapy for insomnia (Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia; CBT-I).

We will proceed with a more detailed risk factor analysis of SSM using PSG data and clinical indicators collected in this research project.

④ Development of PSG markers as physiological indicators of somnolence, including idiopathic hypersomnia

In addition to central hypersomnia, sleep-disordered breathing, insufficient sleep syndromes, circadian rhythm sleep-wake disorders and psychiatric disorders such as mood disorders and developmental disorders can also cause hypersomnolence. Differential diagnosis is made by PSG apnea-hypopnea index for sleep-disordered breathing, and by sleep diary and actigraphy for insufficient sleep syndrome and circadian rhythm sleep-wake disorders. Narcolepsy is diagnosed by measuring orexin levels in spinal fluid, and by conducted multiple sleep latency test (MSLT) to detect short sleep onset latency and sleep onset REM period (SOREMP) (ICSD-3). However, since there are no specific diagnostic criteria for idiopathic hypersomnia, the diagnosis is made by excluding other diseases that cause hypersomnia. In sleep-disordered breathing, there is a problem of residual sleepiness even after treatment with continuous positive airway pressure (CPAP). The goal is to find a highly accurate index that is useful for elucidating pathological conditions, objective diagnosis, and judging the effectiveness of treatment of central hypersomnia including somnolence per se. and idiopathic hypersomnia.

Based on past data from Kurume University Hospital, we found that the sleepiness index (mean sleep onset latency) in the MSLT diagnostic criteria, the gold standard for narcolepsy diagnosis, has difficulty differentiating narcolepsy from other disorders with somnolence such as insufficient sleep syndrome, and that various parameters in the MSLT are not sufficient to differentiate narcolepsy. The results also suggest that it is difficult to differentiate narcolepsy Type 2 from other disorders with somnolence using various MSLT parameters. Furthermore, no marker was found to predict the presence or absence of pathological sleepiness as revealed by the MSLT in patients with somnolence other than hypersomnia. Based on these results, there is an urgent need to explore sleepiness-related factors for improving diagnostic accuracy and determining treatment strategies.

For this reason, we will extract data from the PSG data bank on MSLT and Epworth Sleepiness Scale in diseases that present with hypersomnia (narcolepsy, idiopathic hypersomnia, recurrent hypersomnia, sleep apnea, etc.), and analyze the data. The analyses will include sleep analysis using conventional methods, frequency analysis, cyclic alternating pattern (CAP) analysis, spindle wave count measurement, and heart rate variability analysis for each of the approximately 1000 cases to be analyzed.

Summary:

We are establishing a databank of sleep disorders and PSG in collaboration with major PSG operating institutions in Japan, and are building a foundation to accomplish the clinical research tasks. We have finalized a common format for the databank and are confirming its feasibility at all facilities. We have already converted some of the data into a format that can be stored at each facility, and are working to store and organize the data. We have started uploading some of the data to the cloud server. The collected PSG data and the associated metadata will be used for research on the development of objective indices for sleep disorders and mental disorders, for which objective indices are lacking in diagnosis and pathological evaluation.

The clinical research topics set for each collaborating institution were judged to be appropriate for further study. In the future, data collected from all research institutes will be used to carry out each research project through repeated discussions among all institutes.

2-2　ストレス関連疾患の認知行動療法の治療反応性と遺伝子・バイオマーカーの探索

主任研究者
国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所
金　吉晴

1. 研究目的

PTSD、摂食障害はいずれも重度ストレス障害であり、精神症状の他に脳機能、遺伝子発現、免疫機能などにも影響を生じている。いずれの疾患に対しても薬物療法の効果は不十分であり、認知行動療法（CBT)が推奨され、日本でも保険適用となっているが、これまでの効果研究では上述の身体的な治療マーカーは効果指標に挙げられてこなかった。そこで、はじめに当研究部におけるトラウマレジストリ研究の検体を用いて網羅的遺伝子解析・発現解析を行い疾患関連遺伝子をスクリーニングした後に、両疾患に対して保険適用となっている標準的な CBT である持続エクスポージャー療法（PE)と摂食障害のために構造化された CBT（CBT-E)を実施し、これらのマーカーを治療前後で測定することにより①治療効果の厳密な検証②治療反応性の予測③治療後の再発、社会適応の予測に役立てる。また摂食障害、PTSD の CBT 前後の縦断的観察研究を実施し、CBT による脳神経回路機能の縦断的な変化を計測し、CBT 前後の臨床データ、遺伝子多型・遺伝子発現、神経回路機能の変化との関係性を多変量機械学習アルゴリズム等による解析を用いて明らかにすることで、CBT 効果の神経科学的エビデンスを創出することを目指す。PTSD、ED の疾患横断的な重症化要因を検討することで、トラウマ、食行動異常の複合的病態理解と治療対応の知見が進展すると期待される。

2. 研究組織

主任研究者：金 吉晴（国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所）

分担研究者：
堀 弘明（国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 行動医学研究部）
関口 敦（国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 行動医学研究部）
安藤 哲也（国際医療福祉大学　成田病院心療内科）
吉内 一浩（東京大学大学院 ストレス防御・心身医学分野）
福土 審（東北大学大学院 心療内科学）
須藤 信行（九州大学大学院 医学研究院心身医学）
河合 啓介（国立国際医療研究センター 国府台病院　心療内科）

研究協力者：
成田恵[1)]、丹羽まどか[1)]、林明明[1)]、高村恒人[1)]、小原千郷[1)]、船場美佐子[1)]、上田奈津貴[1)]、野原伸展[2)]、佐藤康弘[3)]、髙倉修[5)]、中谷有希[7)]、山中結加里[2)]、松岡美樹子[2)]、山崎允宏[2)]、山口雄

平[3], 馬上峻哉[3], 阿部麻衣[3], 山田晶子[4], 村椿智彦[4], 金澤素[3,4]、波夛伴和[5]、山下真[5]、戸田健太[5]、麻生千恵[6]、横山寛明[6]小島夕佳[7]、田村奈穂[7]、出水玲奈[7]、石戸淳一[7]

1）国立精神･神経医療研究センター　精神保健研究所　行動医学研究部
2）東京大学医学部附属病院 心療内科
3）東北大学病院心療内科
4）東北大学大学院 医学系研究科心療内科学
5）九州大学病院心療内科
6）九州大学大学院医学研究院
7）国立国際医療研究センター 国府台病院 心療内科

3. 研究成果

PTSD 患者血液とモデルマウス海馬におけるトランスクリプトームを統合した解析により、共通に発現変動を示す最上位遺伝子として、cyclic AMP の分解酵素である phosphodiesterase 4B をコードする *PDE4B* 遺伝子が同定された。*PDE4B* 遺伝子の 125 箇所のメチル化部位のうち 5 つの部位が再体験症状と *PDE4B* 発現の両方と有意に相関した。その中で enhancer と推定される DNA メチル化部位を対象として媒介分析を行ったところ、本部位の DNA メチル化が *PDE4B* 遺伝子発現に影響し、その結果、再体験症状の悪化が生じるという関連が見出された。

脳画像研究については令和 3 年度までに、ED 患者のベースラインデータ 13 例を収集して、CBT 導入に至った患者の縦断データ 6 例の収集を完了した。PTSD 患者に関しては、ベースラインデータ 10 例、縦断データ 7 例を収集した。

	ベースライン	除外/中断	縦断
東北大学	4	0	2
東京大学	2	0	0
NCNP	6	0	3
九州大学	1	0	1
計	13	0	6

予備的な解析結果であるが、PTSD 症状は有意な改善を認めた。予備的な脳形態画像解析も実施し、memantine 投与前後で、右海馬体積の減少を、閾値下ではあるが認められた。

	ベースライン（n=10）	投与後（n=7）	P 値（2 sample t- test）
年齢（全例女性）	35.3±5.4	-	-
PDS：合計	**31.6±11.7**	**12.6±8.9**	0.002
再体験	*8.5±4.0*	*2.9±3.6*	0.009
回避	*13.4±5.2*	*5.6±4.4*	0.005
過覚醒	*9.7±3.8*	*4.1±3.2*	0.006
IESR：合計	**47.7±18.8**	**19.4±18.8**	0.009
再体験	*16.1±8.8*	*6.0±5.2*	0.010
回避	*17.8±10.3*	*9.0±10.3*	0.107
過覚醒	*13.8±6.2*	*4.4±4.3*	0.002

治療研究については、PTSD に対する PE はトラウマ体験について 30 分以上話すということを含む治療であり、トラウマ焦点化治療の代表的なものである。国際ガイドラインで常に第一選択として推奨されていながら、普及に困難があったが、本研究を通じて、安全に PE を実施するためのマニュアルが作成されつつあり、このことによって PE の指導、普及が容易になるものと考えられる。令和 3 年度は Covid-19 感染流行のため、リクルートの抑制を余儀なくされたが、NCNP で 2 例に実施し、指導者マニュアルを作成し、4 名にスーパーバイズを行った。今後は遠隔での P E 実施を検討する必要がある。

摂食障害の認知行動療法については、令和 2～3 年度の 2 年間で神経性過食症（BN）患者 8 例を新規登録し、6 例に CBT-E 介入実施、4 例で 20 週間のプログラムを終了した。令和元年度からのトータルでは、19 例を登録、14 例に CBT-E 実施し、

12 例でプログラムを終了、8 例で終了後 20 週間後、5 例で終了後 60 週間後のアウトカム評価を行った。令和 4 年度はさらに例数を増やし、治療研究の成果を提出したい。

分担研究課題名：**統括、PTSD への CBT 指導**

主任研究者：金　吉晴 [1)]

研究協力者：成田 恵 [1)]、丹羽 まどか [1)]、林 明明 [1)]

所属施設：1）国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所　行動医学研究部

緒言

PTSD は日本での生涯有病率が 1.3%であり、パニック障害の 1.0%より多く、ありふれた精神疾患である。現在保険適用となっている治療法としては sertraline, paroxetine による薬物療法と、持続エクスポージャー療法（PE）と呼ばれる認知行動療法がある。薬物療法の効果量は 0.5 に満たないが、PE の効果量は 1.5 を超えており、極めて有効な治療である。筆者はこの開発者である Pennsylvania 大学の Foa 教授に学び、現在は自分でワークショップを開催することの許された指導者資格を得、また臨床家、指導者の育成体制を整備し、それぞれ Foa 教授から認定を受けられる制度を定着させた。しかし同治療法は 1 セッション 90 分、毎日 1−2 時間の宿題をこなす必要があり、治療者、患者とも負担が大きい。他方、合計で 9−15 セッション（毎週行った場合）で治療可能であるので、不完全な治療を行うよりは長期的な恩恵が大きい。本研究を通じて治療効果を客観的に検証することで普及を推進したい。

方法

Zoom を用いた臨床家のスーパーバイズを実施した。患者の治療記録は同意のもとにビデオで撮影し、その記録に基づいて 1 回のセッション毎に 1 時間のスーパーバイズを実施し、臨床家の技能向上を図った。このために、すでに筆者らが作成したＰＴＳD3 項目スクリーニング、妥当性を検証したＰＴＳＤ自記式尺度（ＰＤＳ）、翻訳を行ったスーパーバイザー育成ワークショップの資料、また治療のモニタリング用紙を用いた。

結果

今年度は Covid19 のため、NCNP に患者を呼ぶことに制約があり、研究組み入れは 2 名であった。治療者育成のためのスーパーバイズは 4 名に実施した。また筆者がこれまでに行ったスーパーバイズの経験、記録を参照して、当研究班におけるマニュアルの作成を行った。また次年度以降、遠隔での PE を実施するための予備的考察を行った。

考察

PE はトラウマ体験について 30 分以上話すということを含む治療であり、トラウマ焦点化治療の代表的なものである。国際ガイドラインで常に第一選択として推奨されていながら、普及に困難があったが、本研究を通じて、安全に PE を実施するためのマニュアルが作成され、また遠隔 PE の実現に向けた検討を行うことによって PE の指導、普及が容易になるものと考えられる。

結論

日本での指導経験を通じた PE 指導のマニュアル作成が行われ、また遠隔 PE 通じて、ポスト Covid19 における PE 治療の普及に貢献できることが期待される。

参考文献

1. 金吉晴, 小西聖子. PTSDの持続エクスポージャー療法. (Foa, E.,. 星和書店; 2009.
2. McLean CP, Foa EB. Prolonged exposure therapy for post-traumatic stress disorder: a review of evidence and dissemination. Expert Rev Neurother [Internet]. 2011 Aug [cited

2012 Feb 15];11(8):1151–63.
3. Foa B, SP C. Psychological Theories of PTSD. In: Friedman M, Keane T, Resich P, editors. Handbook of PTSD. Guilford press; 2007. p. 55–77.
4. Itoh M, Ujiie Y, Nagae N, Niwa M, Kamo T, Lin M, et al. The Japanese version of the Posttraumatic Diagnostic Scale : Validity in participants with and without traumatic experiences. Asian J Psychiatr [Internet]. 2017;25:1–5.
5. Itoh M, Ujiie Y, Nagae N, Niwa M, Kamo T, Lin M, et al. A new short version of the Posttraumatic Diagnostic Scale: validity among Japanese adults with and without PTSD. Eur J Psychotraumatol [Internet]. 2017;8(1):1364119.

分担研究課題名：**トランスクリプトーム、DNA メチローム、炎症マーカー解析**

分担研究者：堀　弘明
所属施設： 国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 行動医学研究部

緒言

PTSD や摂食障害を含むストレス関連疾患の発症には、環境要因に加え遺伝要因が関与すると想定されている。PTSD および摂食障害に関する遺伝子解析・バイオマーカー研究は広く行われているが、治療前後での変化についての研究は少なく、特に治療効果指標としての意義を検討したものは少ない。本研究は、遺伝子発現に焦点を当て、網羅的解析と候補分子解析を統合することで最重要遺伝子を精選することにより、並行して実施している認知行動療法およびメマンチン治療[1)]における治療効果予測マーカーとサロゲートマーカーの開発を目指している。このように病態解明と治療マーカー開発を相補的に推進することによって、PTSD 患者および摂食障害患者のより良い治療に資するエビデンスを創出することが本研究の最終的な目標である。

方法

分担研究者らは、PTSD 患者および健常対照者を対象に、詳細な心理臨床評価、認知実験、炎症系分子等の血中濃度測定、末梢血 DNA・RNA 解析を包含した研究プロジェクトを実施している。現在までに PTSD 患者･健常対照者合計約 240 例についてのデータ・サンプルを取得済みである。このうち患者 32 名および健常者 16 名を対象に、RNA を用いたトランスクリプトーム解析、および DNA を用いた DNA メチローム解析を実施し、網羅的な遺伝子発現データ・DNA メチル化データを取得した。このデータを用い、PTSD の中核症状である再体験症状についての網羅的遺伝子発現解析を行い、疾患の本態に関与する遺伝子をスクリーニングした。さらに基礎研究グループとの連携により、本研究における PTSD 患者の末梢血トランスクリプトームデータを PTSD モデルマウスの海馬トランスクリプトームデータと統合した解析を行い、ヒト-マウスデータに共通して発現変動を示す遺伝子を同定した。この遺伝子が PTSD に関与するメカニズムの一端を明らかにする目的で、再体験症状および遺伝子発現に関連する DNA メチル化部位を探索した。

結果

PTSD 患者血液とモデルマウス海馬におけるトランスクリプトームを統合した解析により、共通に発現変動を示す最上位遺伝子として、cyclic AMP の分解酵素である phosphodiesterase 4B をコードする *PDE4B* 遺伝子が同定された。*PDE4B* 遺伝子の 125 箇所のメチル化部位のうち 5 つの部位が再体験症状と *PDE4B* 発現の両方と有意に相関した。その中で enhancer と推定される DNA メチル化部位を対象として媒介分析を行ったところ、本部位の DNA メチル化が *PDE4B* 遺伝子発現に影響し、その結果、再体験症状の悪化が生じるという関連が見出された。

考察

本研究の結果から、*PDE4B* 遺伝子が PTSD の中核的病態に関与する可能性が示唆された。

結論

今後、上記遺伝子マーカーが PTSD に対する認知行動療法およびメマンチン治療の効果予測マーカーおよびサロゲートマーカーになり得るかを検討する必要がある。摂食障害についても、サンプル集積後に同様の検討を行う計画である。

参考文献

1) Hori H, Itoh M, Matsui M, et al. The efficacy of memantine in the treatment of civilian posttraumatic stress disorder: an open-label trial. Eur J Psychotraumatol. 2021; 12: 1859821.

分担研究課題名:**CBT 効果を予測する脳画像バイオマーカーの検証**

分担研究者：関口敦 [1)]
研究協力者：高村恒人[1)]、小原千郷[1)]、船場美佐子[1)]、上田奈津貴 [1)]
所属施設：1）国立精神･神経医療研究センター精神保健研究所　行動医学研究部

緒言

PTSD および摂食障害（ED）の有効な治療法であるメマンチン（Hori 2021）および認知行動療法（CBT）において、治療ターゲットとなり得る認知心理学的特徴は、自己記入式の質問紙や構造化面接、認知課題などにより計測されている。しかし、これらは患者の意図や操作に依存する測定方法であり、診断や治療の指標として活用しうるバイオマーカーとしてはやや客観性に欠けるとの懸念がある。客観的なバイオマーカーを特定するには、患者の操作が介在しない脳画像データが有用であり、過去の研究においては、PTSD では情動処理や情動抑制に着目した研究　（Lanius, 2006；Francati, 2007；Etkin, 2007；New, 2009）などが行われている。また、米国の NIMH で提言された Research Domain Criteria（RDoC)では、精神疾患は疾患横断的なバイオマーカーを基軸とした疾患再定義が必要と提言されており（Insel 2015)、PTSD および ED を疾患横断的に扱う本研究はこの流れに沿うものである。

方法

代表施設（NCNP）と共同研究施設（東北大、東大、九大）で PTSD に対するメマンチン投与および ED に対する CBT 前後に、脳 MRI 撮像（T1WI、T2WI、DWI、Resting state fMRI）の撮像、心理評価を行う。PTSD および ED 群の組み入れ予定数を 20 名とし、治療前後の縦断データが 20 例以上集まった時点で縦断画像データを用いた解析に着手する。CBT の主要アウトカムである PTSD および摂食障害の症状尺度（PDS および EDE 面接）を予測する因子を、脳画像データから得られる多様な変数から推定することにより、治療反応性予測マーカーを特定の特定を目指す。

倫理的配慮

本研究は、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（令和 3 年 4 月 1 6 日施行）を順守し、各分担研究者・研究協力者所属施設の倫理委員会承認のもと研究を実施する。脳画像研究に関しては、NCNP、東北大、九州大の倫理審査の承認を既に受けている。

MRI 撮像には米国 FDA 基準･JIS 規格(JISZ4951)を満たしたパルスシークエンスを用い、安全性を担保する。体内金属・医療機器の危険性に関しては、事前のチェックシートで確認し、対象から除外する。実験者／被験者が不用意に検査室に持ち込む磁性体の危険性ついては、計測前の十分なチェックにより防止する。認知心理テストに関しては、汎用されている認知心理テストを採用するため、被験者は過度な負荷は少ないと考えている。

結果

令和 3 年度までに、ED 患者のベースラインデータ 13 例を収集して、CBT 導入に至った患者の縦断データ 6 例の収集を完了した。

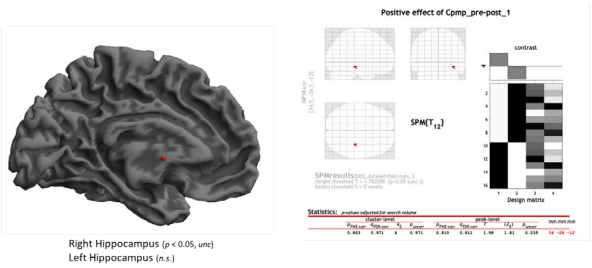
	ベースライン	除外/中断	縦断
東北大学	4	0	2
東京大学	2	0	0
NCNP	6	0	3
九州大学	1	0	1
計	13	0	6

PTSD 患者に関しては、ベースラインデータ 10 例、縦断データ 7 例を収集した。

予備的な解析結果であるが、PTSD 症状は有意な改善を認めた。

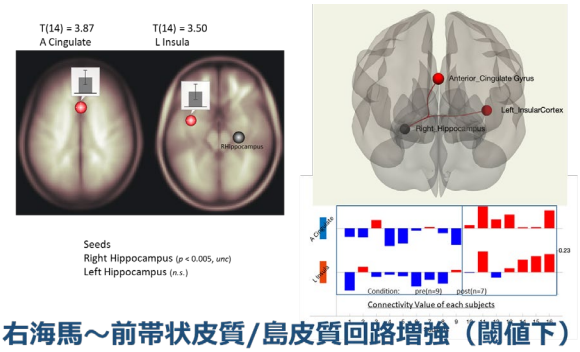
	ベースライン (n=10)	投与後 (n=7)	P 値 (2 sample t- test)
年齢（全例女性）	35.3±5.4	-	-
PDS：合計	**31.6±11.7**	**12.6±8.9**	0.002
再体験	*8.5±4.0*	*2.9±3.6*	0.009
回避	*13.4±5.2*	*5.6±4.4*	0.005
過覚醒	*9.7±3.8*	*4.1±3.2*	0.006
IESR：合計	**47.7±18.8**	**19.4±18.8**	0.009
再体験	*16.1±8.8*	*6.0±5.2*	0.010
回避	*17.8±10.3*	*9.0±10.3*	0.107
過覚醒	*13.8±6.2*	*4.4±4.3*	0.002

予備的な脳形態画像解析も実施し、メマンチン投与前後で、右海馬体積の減少を、閾値下ではあるが認められた。



右海馬体積の減少（閾値下）

続いて、右海馬を基軸とした脳回路変化も検証したところ、メマンチン投与後に右海馬～前帯状皮質及び島皮質の回路の増強が、閾値下ではあるが認められた。



右海馬～前帯状皮質/島皮質回路増強（閾値下）

考察

ED データは多施設共同で収集しており、今後 20 例のデータ収集が完了した段階で、データフリーズ、MRI 画像の施設間補正などを行ってから解析を行う予定である。

PTSD データは、少数例ではあるが単群前後比較で有意な治療効果が認められている。予備的な閾値下の解析結果ではあるが、メマンチンの治療のターゲットとなる海馬の体積および海馬を基軸とした脳回路の変化が検出されている。今後、例数を重ねる中で、海馬を基軸とした回路の変化がより広範に認められることを期待している。

結論

今後も、継続的なデータ収集を行い、例数を重ねる中でよりロバストな結果が得られることが期待できる。ただし、次年度以降も引き続き COVID19 の影響が続くことが懸念される。患者の受診控えによる症例登録の遅れが続く恐れがあり、随時研究計画の修正も視野に入れる必要があると考えている。

参考文献

1. Hori H, Itoh M, Matsui M, Kamo T, Saito T, Nishimatsu Y, Kito S, Kida S, Kim Y.(2021) The efficacy of memantine in the treatment of civilian posttraumatic stress disorder: an open-label trial. European Journal of Psychotraumatology, 12; 1859821
2. Lanius RA, Bluhm R, Lanius U, Pain C (2006) A review of neuroimaging studies in PTSD: heterogeneity of response to symptom provocation. J Psychiatr Res 40 (8):709-729.
3. Francati V, Vermetten E, Bremner JD (2007) Functional neuroimaging studies in posttraumatic stress disorder: review of current methods and

findings. Depress Anxiety 24 (3):202-218.
4. Etkin A, Wager TD (2007) Functional neuroimaging of anxiety: a meta-analysis of emotional processing in PTSD, social anxiety disorder, and specific phobia. Am J Psychiatry 164 (10):1476-1488.
5. New AS, Fan J, Murrough JW, Liu X, Liebman RE, Guise KG, Tang CY, Charney DS (2009) A functional magnetic resonance imaging study of deliberate emotion regulation in resilience and posttraumatic stress disorder. Biol Psychiatry 66 (7):656-664.
6. Insel TR, Cuthbert BN. (2015) Medicine. Brain disorders? Precisely. Science 348(6234):499-500

分担研究課題名：**ED への CBT-E 指導**

分担研究者：安藤哲也 [1)2)]

研究協力者：吉内一浩 [3)]、福土　審 [4)]、須藤信行 [5)]、河合啓介 [6)]、野原伸展 [7)]、佐藤康弘 [8)]、高倉　修 [9)]、中谷有希 [6)]

所属施設：1）国際医療福祉大学成田病院心療内科、2）国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所行動医学研究部、3）東京大学大学院ストレス防御・心身医学分野、4）東北大学大学院心療内科学、5）九州大学大学院心身医学、6）国立国際医療研究センター国府台病院心療内科、7）東京大学医学部付属病院心療内科、8）東北大学病院心療内科、9）九州大学病院心療内科

緒言

摂食障害（ED）は頻度が高く、重篤で慢性化しやすい生物学的基盤をもつ疾患である。海外では ED に焦点化された認知行動療法の有効性が報告されているが、我が国では科学的に証明されていない。分担研究者は摂食障害患者に対し、Fairburn らが開発した認知行動療法改良版（CBT-E）を実施し、前後での症状の改善およびバイオマーカーの変化を検討する。分担研究者は ED に対する CBT-E 介入を統括する。分担研究者関口、堀と連携して介入前後の脳画像やゲノム・炎症マーカーの資料収集を行う。

方法

1）CBT-E 共同研究施設を統括し、介入研究を管理する。NCNP および共同研究施設のワーキンググループの会議を行う。

2）CBT-E 実施者を教育育成するとともに、CBT-E 介入の質を担保するため、CBT-E 実施者を直接指導することに加えて、2 週間に 1 回程度の CBT-E 開発者によるグループスーパービジョン（SV）を実施する。

3）摂食障害の症状評価、特に EDE 面接者の育成と指導を行う。

4）CR 業務を統括する。すなわちデータマネジメントシステムの管理、被験者のリクルート、エントリー、登録、介入、アウトカム評価、フォローアップを統括する。

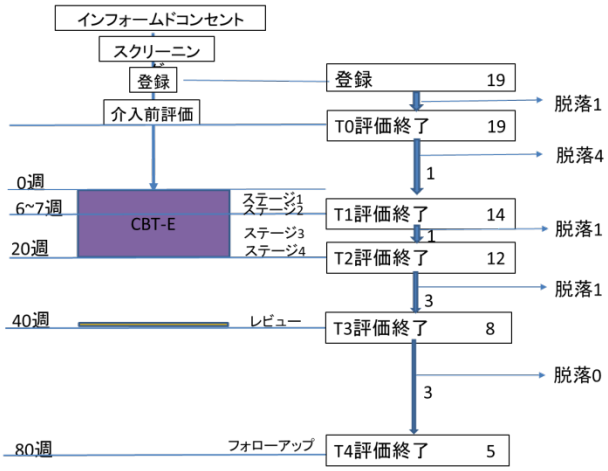
結果

1）ワーキンググループ会議を令和 2 年度に 5 回、3 年度に 4 回開催し、進捗管理等を行った。

2）開発者 Zafra Cooper 教授による SV を令和 2 年度に 18 回、3 年度に 13 回実施し、3 名がトレーニングを受けた。トレーニング終了後の治療者の SV も実施した。

3）摂食障害評価法（Eating Disorder Examination、EDE）の実施者を NCNP に 2 名養成した。

4）令和 2～3 年度の 2 年間で神経性過食症（BN）患者 8 例を新規登録し、6 例に CBT-E 介入実施、4 例で 20 週間のプログラムを終了した。令和元年度からのトータルでは、19 例を登録、14 例に CBT-E 実施し、12 例でプログラムを終了、8 例で終了後 20 週間後、5 例で終了後 60 週間後のアウトカム評価を行った。



考察

コロナ下において積極なリクルートや介入が難しかったが、感染状況の改善とともに、エントリーをスピードアップする必要がある。脱落例の

3 分の 2 はプログラム開始前または開始直後に生じている。CBT-E 導入前後の手続き（例：動機づけや CBT-E の心理教育）に改善の必要がある。

結論

CBT-E 実施者の指導と BN 患者に対する CBT-E 介入を実施した。プログラムの改善と、被検者リクルートの促進が必要である。

参考文献

1）Ohara C, Sekiguchi A, Takakura S, Endo Y, Tamura N, Kikuchi H Maruo K, Sugawara N, Hatano K, Kawanishi H, Funaba M, Sugawara A, Nohara N, Kawai K, Fukudo S, Sudo N, Cooper Z, Yoshiuchi K, Ando T. Effectiveness of enhanced cognitive behavior therapy for bulimia nervosa in Japan: a randomized controlled trial protocol. BioPsychoSocial Medicine 14:2, 2020

2）安藤哲也: 摂食障害の認知行動療法改良版（CBT-E). 精神神経学雑誌 122: 643-657, 2020

3）安藤哲也：食行動症または摂食症群の疫学. 身体的苦痛症群　解離症群. 心身症　食行動症または摂食症群. 講座　精神疾患の臨床. pp278-292, 2021.

分担研究課題名：**ED への CBT-E 実施、CBT-E 治療反応性バイオマーカー特定を目指した脳画像・遺伝子発現研究**

分担研究者：吉内一浩[1)] 研究協力者：野原伸展[1)]、山中結加里[1)]、松岡美樹子[1)]、山崎允宏[1)]

所属施設： 1)東京大学医学部附属病院 心療内科

緒言

摂食障害（Eating Disorder; ED）は、複数の有効性を認めた治療法はあるものの治療は困難を極めることが多く、慢性化しやすい精神疾患の１つである。日本は欧米先進国と同様 ED の多発国であるが、ED の医療体制は十分とは言えず、研究資源も少ない[1)]。現在、ED 特有の病理に有効な薬物は存在せず、食事・栄養療法、身体管理、心理社会的治療（精神療法）が主たる治療となっている[2)]。 心理社会的治療（精神療法）の１つとして、2008 年に Fairburn らによって開発された摂食障害の認知行動療法「改良版」（enhanced cognitive behavior therapy : CBT-E）[3)] は、その効果検証が世界中で進められてきている。Fairburn らは、神経性過食症(Bulimia nervosa; BN)に対する CBT-E はプログラム完遂者の 60%に有効であり、対人関係療法[4)] や精神分析[5)] よりも治療効果が高いことを報告している。また、最も治療困難とされる成人の神経性やせ症（Anorexia nervosa; AN）に対しても、CBT-E は従来の専門家による最適化された外来治療と同等以上の効果があるという報告もある[6)]。現在、日本においては、マニュアル化された ED の心理社会的治療ほとんど実施されておらず、日本人に対する上記の治療法の有効性についてのエビデンスは存在していない。この状況を鑑み、日本人の ED 患者を対象に摂食障害のための認知行動療法 CBT-E の有効性の検証を目的とする研究を行うと同時に、治療反応性バイオマーカー特定を目的とした研究を多施設共同で実施することとした。

方法

摂食障害のための認知行動療法 CBT-E 治療の有効性評価を目的に、研究参加者を摂食障害のための認知行動療法 CBT-E を受ける群と、通常治療 (Treatment as usual; TAU)を受ける群にランダムに割り付けを行う無作為化比較試験の形式を採用した。割り付けについては施設と重症度で層別化を行っている。治療反応性バイオマーカーの候補については、共同研究施設（NCNP、 東北大学、千葉大学、京都大学、産業医科大学、九州大学）で共通に規定した頭部 MRI 画像(T1WI, T2WI, DWI, resting state fMRI)、遺伝子多型・遺伝子発現解析（DNA メチローム、RNA トランスクリトーム解析）を用いた。

結果

2022 年 3 月現在、本施設での研究対象者数は CBT-E 群 4 名（1 名は 40 週時点で脱落）、TAU 群 1 名である。現時点では目標とした症例数分の結果が得られていないため、研究期間を延長して対応している。

考察

結果が得られていないため、データ解析は行えていないが、信頼性の高い治療介入研究とするためには、サンプルサイズを大きくする必要があり、摂食障害患者の研究脱落率が高いことを考慮すると、引き続き多施設共同研究の枠組みで研究を進めることが重要であり、研究の枠組みを構築し、進行中であるという意義は大きいと考えられる

結論

引き続きリクルートを継続、多施設共同研究の枠組みによる研究の意義は大きく研究を継続する。

参考文献

1.安藤哲也. (2017). 【メンタルヘルス研究と社会との接点】 厚生労働省摂食障害治療支援センター設置運営事業の背景,現状と課題. 精神保 健研究
(30), 43-51.
2. 日本摂食障害学会. (2012). 摂食障害治療ガイドライン. 東京: 医学書院.
3. 切池信夫. (2010). 摂食障害の認知行動療法. 東京: 医学書院.
4. Fairburn, C. G., Bailey-Straebler, S., Basden, S., Doll, H. A., Jones, R., Murphy, R., Cooper, Z. (2015). A transdiagnostic comparison of enhanced cognitive behaviour therapy (CBT-E) and interpersonal psychotherapy in the treatment of eating disorders. Behaviour Research and Therapy, 70, 64-71.
5. Poulsen, S., Lunn, S., Daniel, S. I., Folke, S., Mathiesen, B. B., Katznelson, H., & Fairburn, C. G. (2014). A randomized controlled trial of psychoanalytic psychotherapy or cognitive behavioral therapy for bulimia nervosa. American Journal of Psychiatry, 171(1),109-116.
6. Zipfel, S., Wild, B., Gross, G., Friederich, H. C., Teufel, M., Schellberg, D., Herzog, W. (2014). Focal psychodynamic therapy, cognitive behaviour therapy, and optimised treatment as usual in outpatients with anorexia nervosa (ANTOP study): randomised controlled trial. Lancet, 383(9912),127- 137.

分担研究課題名：**ED への CBT-E 実施、バイオマーカー測定**

分担研究者：福土　審 [1)]
研究協力者：佐藤康弘[1)], 山口雄平[1)], 馬上峻哉[1)], 阿部麻衣[1)], 山田晶子[2)], 村椿智彦[2)], 金澤素[1,2)]

所属施設： 東北大学
1）東北大学病院心療内科
2）大学院医学系研究科心療内科学

緒言

摂食障害に対する心理療法としてエビデンスがあるのは認知行動療法(cognitive behavior therapy: CBT)であり、特にその強化型の CBT-enhanced (CBT-E)の効果が優れている 1)。これは日本でもプログラム化されている 2)。本研究においては、多施設無作為化比較臨床試験の一環として CBT-E を実施したので報告する。

方法

東北大学病院心療内科を受診した神経性過食症患者を対象とした。既報 2)の適格基準を満たし、除外基準に該当しない患者を CBT-E もしくは通常治療(treatment as usual: TAU)に無作為に割り付けた。CBT-E は 20 回のプログラムを 20 週間の内に十分な専門訓練を受講した医師または公認心理師が実施した。TAU は通常の心身医学的診療を同期間に実施した。治療前後にて、既報 2)の評価項目を計測した。

結果

東北大分担分のここまでの累積の結果を示す。本研究にて東北大でスクリーニングを行ったのは 14 名である。うち 6 人を不適格で除外した。8 名の説明・同意が得られ、TAU 群 5 例、CBT-E 群 3 例に無作為に割り付けられた。TAU 群の 2 例が新型コロナウイルス感染流行の影響などで脱落したが、3 例が通常診療を完遂した。CBT-E 群も 2 例が新型コロナウイルス感染流行の影響などで脱落したが、1 例が CBT-E を完遂した。

考察

摂食障害の病態研究は脳画像を中心に進歩している 3)。薬物療法として神経性やせ症患者に対してエビデンスがあるのは、亜鉛の補充と olanzapine（平均用量 7.77 mg/日）である 1)。olanzapine はドパミン D2 受容体、5-HT2A 受容体、5-HT2C 受容体、5-HT6 受容体、α1-アドレナリン受容体、ヒスタミン H1 受容体およびムスカリン M1-M5 受容体など多様な受容体にほぼ同等の親和性を示し、拮抗作用を示す。神経性やせ症の単独診断への保険適応はない。神経性過食症患者に対してエビデンスがあるのは選択的セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)である 3)。これら摂食障害患者に併存してうつ病がある場合にはその他の抗うつ薬も含めて投与可能である。また、摂食障害に対する日常診療での身体ケア 4)、重症化からの回復 5)、栄養療法の改善と工夫 6)の重要度はいずれも非常に高いものがある。

問題は、摂食障害の病態の理解やメタ解析・系統レビューの結果が実臨床の治療成績にまだ十分には結びついていない所である。CBT-E は奏功した場合、長期間に渡って摂食障害の認知と行動を修正できる優れた治療法として注目されている 2)。そのエビデンスの集積と同時に変化する脳機能、病態関連分子が同定されれば医学的意義が大きい。

結論

今後、多施設共同研究の各施設にて CBT-E の適用例を積み上げてゆくことにより、その治療効果を科学的に証明し、合わせて、分子機序が明ら

かになることが期待される。

参考文献・研究成果

1) Hay P. Current approach to eating disorders: a clinical update. Intern Med J 50: 24–29, 2020.

2) Ohara C, Sekiguchi A, Takakura S, Endo Y, Tamura N, Kikuchi H, Maruo K, Sugawara N, Hatano K, Kawanishi H, Funaba M, Sugawara A, Nohara N, Kawai K, Fukudo S, Sudo N, Cooper Z, Yoshiuchi K, Ando T. Effectiveness of enhanced cognitive behavior therapy for bulimia nervosa in Japan: a randomized controlled trial protocol. BioPsychoSoc Med 14: 2, 2020.

3) 福土 審. 摂食症の病態生理. 久住一郎, 編集. 新シリーズ. 講座: 精神疾患の臨床. 身体的苦痛症群, 解離症群, 心身症, 食行動症または摂食症群. 中山書店, 東京, pp293-302, 2021.

4) 佐藤 康弘, 福士 審. かかりつけ医に必要な心療内科の知識　摂食障害. 日本臨床内科医会会誌 36(1): 33-37, 2021.

5) 馬上 峻哉, 佐藤 康弘, 山口 雄平, 福土 審. 脱水・腎機能障害の治療中にうっ血性心不全をきたした重症遷延神経性やせ症患者の 1 例. 日本心療内科学会誌 23(別冊): 102, 2021.

6) 田中 千尋, 佐々木 まなみ, 遠藤 由香, 佐藤 康弘, 山口 雄平, 馬上 峻哉, 伊関 雅裕, 岡本 智子, 布田 美貴子, 福土 審. 心療内科 NST 加算算定開始前後の栄養介入状況の変化とその効果に関する検討. 日本心療内科学会誌 23(別冊): 98, 2021.

分担研究課題名：**摂食障害の治療プログラムの開発**

分担研究者：須藤信行 [1) 2)]
研究協力者：髙倉修 [2)]、波夛伴和 [2)]、山下真 [2)]、戸田健太 [2)]、麻生千恵 [1)]、横山寛明 [1)]
所属施設：
1）九州大学大学院医学研究院
2）九州大学病院心療内科

緒言

摂食障害(ED)は先進国で増加傾向にあり、本邦も例外ではない。現在のところ標準的治療法が存在しないが、近年、拡大版認知行動療法(CBT-E)の有効性を示す結果が海外から報告され、注目されている。

本研究は、多施設共同で日本人の神経性過食症（BN）患者に対して適用可能な CBT-E の有効性を検証し（ランダム化比較試験)、さらに本治療に有効な患者群を同定および治療反応性のバイオマーカーを特定することを目的とする。

方法

摂食障害（ED）の治療プログラムの効果検証 CBT-E 実施または通常治療（TAU)を実施する。CBT-E実施前後でのバイオマーカー測定(脳MRI撮像(T1WI、T2WI、DWI、Resting state fMRI)の撮像、遺伝 子多型・遺伝子発現解析のための採血、心理評価）する予定（各群 20 例を予定)。

結果

1.国立精神・神経医療研究センター、東北大学、東京大学、国立国際医療研究センターおよび九州大学病院すべての施設での倫理申請が終了し、介入を開始した。

2.月に 1 回、各施設の代表者による Web 会議が行われ、進捗などを共有している。

3.九州大学病院では CBT-E 群 3 例、通常治療（TAU）群 2 例に介入が開始された。現在、TAU 介入待ちが 1 例で、参加者は次第に増加している。これに伴い CBT-E 実施群については治療前の頭部 MRI 撮像、採血サンプル採取が行われた。

4.治療者育成、治療の進行確認のために開発者によるスーパービジョンが月に 2 回ウェブ会議方式進行中である(開発者の一人である Cooper教授による)。

5.ホームページへの分かり易い表示や摂食障害治療支援センター関連ホームページへの掲載などの広報の工夫により、比較的継続的に研究参加希望者が得られている。

考察

申請者らは、これまで一部の AN 入院患者に対し、従来の「行動制限を用いた認知行動療法」1)に加え、Fairburn の開発した CBT-E の技法を取り入れる試みを行っており、患者及び治療者の病態理解の深化と有効性を実感している。

研究参加者リクルートに困難があったが、摂食障害基幹センターや治療支援センターのホームページを活用するなどの工夫により、参加者が集まりつつある。引き続き患者リクルートを継続し、研究参加者を増加させる必要がある。

CBT-E が有効であることは欧州各国から報告されており 2)3)、今回の研究でも比較的良好な治療経過が得られている印象である。我が国での ED に対する標準的治療法を確立する上で、CBT-E が重要な規範となる可能性が考えられる。

結論

ED に対する有効な治療法の開発には、本研究のさらなる継続・展開が重要である。今後も症例数を増やしていく。

参考文献

1) Amemiya N, Takii M, Hata T, Morita C, Takakura S, Oshikiri K, et al. The outcome of Japanese anorexia nervosa patients treated with an inpatient therapy in an internal medicine unit. Eating Weight Disord EWD. 2012;17(1):e1–e8.
2) Poulsen S, Lunn S, Daniel SI, Folke s, Mathiesen BB, Katznelson H, Fairburn CG, Arondomiszed controlled trial of psychoanalytic psychotherapy or cognitive-behavioral therapy for bulimia nervosa. Am J Psychiatry. 2014; 171:109-16
3) Dalle Grave R, Calugi S, Conti M, Doll H, Fairburn CG. Inpatient cognitive behaviour therapy for anorexia nervosa: a randomized controlled trial. Psychother Psychosom. 2013;82(6):390–8.

分担研究課題名：**ED への CBT-E の指導法の研究**

分担研究者：河合啓介[1)]
研究協力者：中谷有希[1)]、小島夕佳[1)]、田村奈穂[1)]、出水玲奈[1)]、石戸淳一[1)]
所属施設： 1）国立国際医療研究センター国府台心療内科

緒言

摂食障害（Eating disorders; ED）は頻度が高い疾患で、治療が困難で慢性化しやすい。現在、食事・栄養療法、身体管理、心理社会的治療（精神療法）が治療の主である[1)]。心理社会的治療のうち、欧米でエビデンスが証明されているのは青年期の AN に対する Family based treatment（FBT）や、成人の神経性過食症患者（Bulimia nervosa; BN）や過食性障害（Binge eating disorder; BED）に対する ED に特化した認知行動療法（cognitive behavior therapy; CBT）等である。日本では、日本人を対象にした心理社会的治療の有効性のエビデンスは皆無である。ED に対する CBT のプロトコールのうち、2008 年に Fairburn CG らによって開発された摂食障害の認知行動療法「改良版」（enhanced cognitive behavior therapy; CBT-E）[2)]は、その効果検証が世界中で進められている。本研究の日本人の神経性過食症患者を対象に、摂食障害に特化した CBT の有効性を多施設共同研究による無作為化比較対象試験（Randomized Controlled Trial; RCT）によって検証することである。

方法

介入研究：ED の CBT-E の効果を多施設共同無 RCT で検証するための研究体制およびプロトコールを構築した[3)]。参加施設は国立精神・神経医療センター、東北大学、東京大学、国立国際医療研究センター国府台病院、九州大学である。対象者：Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders（DSM）-5 に基づく BN 患者。研究対象者数：140 例（試験治療群 70、対照治療群 70）。分担の国府台病院での研究対象者数：24 例（試験治療群 12、対照治療群 12）である。CBT-E 群に対しては CBT-E を、TAU（Treated as usual） 群においては各施設でこれまで BN になされてきた通常の治療を実施する。評価は介入実施前、介入開始 6 週間後（T1）、20 週後（T2）、40 週後（T3）、80 週後（T4）に実施する。主要評価項目は、EDE による面接評価や Body mass index（BMI）などによる神経性過食症の寛解である。

本研究は、倫理委員会の承認（国立国際医療研究センター倫理委員会：NCGM-G-003044-01）を受けている。さらに、新型コロナウイルス感染症の感洗拡大を鑑み、来院が困難な事情・状況が生じた場合は電話やオンラインでの遠隔で実施することも許容するオンライン診療が可能になるようにプロトコールを変更して倫理委員会の承認を得た。

結果

適格性評価を実施し、9 例が本研究にエントリーしている。CBT-E 群は 5 例であり、1 例目は T3 終了、2 例目は T4 まで終了、5 例目はまもなく T2 が終了予定である。 この 1 例目は、新型コロナウイルス感染症の影響もあり、外来受診回数が減少し、心理面接回数はプロトコールより遅延している。3, 4 例目は、研究参加を保留している状態である。TAU 群は 4 例 であり、1 例目は T3、2 , 3 例目とも T2、4 例目は T0 を終了している。

さらに、本研究で養成した CBT-E 実施者が講師として「神経性過食症に対する認知行動療法(CBT-E)研修会（第 7 回目）が 2020 年 12 月 20 日本年度を開催し、91 名が Web 形式の講習会に

参加した。

考察

本研究により CBT-E の有効性の多施設共同 RCT が開始された。新型コロナウイルス感染症の影響もあり、本研究へのエントリー数や修了数は予定より少ない。プロトコールを現況にあわせて改変してオンライン診療も可能になったため、今後は症例数の増加が期待される。本研究は我が国におけるエビデンスに基づく ED の治療法の普及に貢献するように研究を推進する。

結論

CBT-E の有効性を RCT で検証する研究を進めている。症例数の増加が望まれる。

参考文献

1. Mitchell, JE and Peterson, CB, Clinicalpractice :Anorexia nervosa. N Engl J Med. 2020 Apr 2;382(14):1343-1351. doi: 10.1056/NEJMcp1803175.
2. Fairburn, CG. Cognitive behavior therapy and eatingdisorders. The Guilford Press, New York, 2008.
3. Ohara C, Sekiguchi A, Takakura S, Endo Y, Tamura T,Kikuchi H, Maruo K,Sugawara N, Hatano K, Kawanishi H, Funaba M, Sugawara A, Nohara N, Kawai K, Fukudo S, Sudo N, Cooper Z, Yoshiuchi K and Ando T Effectiveness of enhanced cognitive behavior therapy for bulimia nervosa in Japan: a randomized controlled trial protocol BioPsychoSocial Medicine 2020 14:2. https://doi.org/10.1186/s13030-020-0174-z

2-2 Bio-genome markers of treatment responsiveness of severe-stress related mental disorders

Kim Yoshiharu

National Institute of Mental Health
National Center of Neurology and Psychiatry

Post-traumatic stress disorder (PTSD) and eating disorders are both severe stress disorders that affect not only psychological symptoms but also brain function, gene expression and immune function. Cognitive-behavioral therapy (CBT) has been recommended and is now covered by insurance in Japan, but studies of its effectiveness have not included the physical markers mentioned above. In this study, we first screened for disease-related genes using samples from the Trauma Registry Study in our department, and then compared the results with those of standard CBT (PE) and structured CBT for eating disorders (CBT-E), both of which are covered by insurance. These markers will be measured before and after treatment to (1) rigorously validate treatment effects, (2) predict treatment response, and (3) predict post-treatment relapse and social adjustment. We will also conduct a longitudinal observational study before and after CBT for eating disorders and PTSD to measure the longitudinal changes in brain neural circuit function caused by CBT, and clarify the relationship between clinical data, gene polymorphisms and gene expression, and changes in neural circuit function before and after CBT using multivariate machine learning algorithms and other analyses. By examining cross-disease factors that contribute to the severity of PTSD and ED, we hope to advance our understanding of the complex pathophysiology of trauma and eating disorders and our knowledge of how to treat them.

Integrated analysis of the transcriptomes in PTSD patient blood and model mouse hippocampus identified the PDE4B gene, encoding phosphodiesterase 4B, a degrading enzyme of cyclic AMP, as the top gene commonly showing expression variation. Five of the 125 methylation sites were significantly correlated with both re-experiencing symptoms and PDE4B expression. Mediation analysis of the DNA methylation sites that were presumed to be enhancers revealed an association between DNA methylation at this site and PDE4B gene expression, resulting in the exacerbation of re-experiencing symptoms. As for the brain imaging study, we collected baseline data on 13 ED patients and longitudinal data on 6 patients who had been introduced to CBT by FY2021. 10 baseline data and 7 longitudinal data were collected for PTSD patients. Preliminary analysis showed significant improvement in PTSD symptoms. Preliminary

morphological brain imaging analysis also showed a subthreshold decrease in right hippocampal volume before and after treatment with memantine. Regarding treatment research, PE for PTSD is a treatment that involves talking about traumatic experiences for at least 30 minutes and is representative of trauma-focused treatment. Although it is always recommended as the first choice in international guidelines, there have been difficulties in its dissemination. Through this study, a manual for the safe implementation of PE is being developed, which will facilitate the teaching and dissemination of PE. In FY2021, we had to curtail recruitment due to the Covid-19 infection outbreak, but we conducted PE in 2 cases at NCNP, created a manual for instructors, and provided supervision to 4 persons. In the future, we need to consider conducting PE remotely. Regarding cognitive-behavioral therapy for eating disorders, 8 patients with bulimia nervosa (BN) were newly enrolled during the 2-year period from 2020 to 2013, 6 patients received CBT-E intervention, and 4 patients completed the 20-week program. In total, 19 patients were enrolled, 14 patients received CBT-E, 12 patients completed the program, 8 patients completed the program 20 weeks after completion, and 5 patients completed the program 60 weeks after completion. In FY2022, we would like to increase the number of cases and submit the results of the treatment study.

2－3　双方向性のニューロモデュレーション機構の解明と臨床応用の基盤整備

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター病院
水野勝広

1. 研究目的

反復経頭蓋磁気刺激(transranial magnetic stimulation: TMS)、経頭蓋直流刺激(transcranial direct current stimulation:　tDCS)などのニューロモデュレーション(NM)手法は top-down に行動変化を起こすことが可能であり、うつ病をはじめとする精神疾患や脳卒中、パーキンソン病などの神経疾患治療に応用される。一方、brain-machine interface(BMI)や末梢神経の機能的電気刺激(funcional electrical stimulation: FES)、プリズム適応療法など末梢神経への刺激や運動学習により bottom up に脳の可塑性が誘導され、広義の NM と捉えることができる。

本研究では精神疾患に対する rTMS、tDCS、電気痙攣療法(electroconvulsive therapy: ECT)や、神経疾患に対する深部脳刺激(deep brain stimulation: DBS)、DBS,spinal cord stimulation (SCS)、BMI、FES、ボツリヌス療法、プリズム適応療法などによる改善メカニズムの解明や治療技術の向上を目指した研究を行う。研究を通じて病院と研究所との相互連携を促進し、精神・神経疾患の病態・治療メカニズムの解明、新規治療法開発・臨床応用をシームレスに行える研究基盤を整備し、エビデンスの蓄積、ガイドライン収載までを見据える。

2. 研究組織

＜主任研究者＞
水野勝広
国立精神・神経医療研究センター　病院
身体リハビリテーション部
＜分担研究者＞
鬼頭伸輔
国立精神・神経医療研究センター　病院
第一精神診療部
高橋祐二
国立精神・神経医療研究センター　病院
脳神経内科診療部
岩崎真樹
国立精神・神経医療研究センター　病院
脳神経外科診療部
松井彩乃
国立精神・神経医療研究センター　病院
整形外科
住吉太幹
国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所
児童・予防精神医学研究部
関和彦
国立精神・神経医療研究センター　神経研究所
モデル動物モデル動物開発研究部
阿部十也
国立精神・神経医療研究センター
脳病態統合イメージングセンター先進脳画像研究部

＜研究協力者＞
花川隆
国立精神・神経医療研究センター
脳病態統合イメージングセンター先進脳画像研究部

3. 研究成果
1) ニューロモデュレーション手技の神経疾患リハビリテーション治療への応用に関する研究

健常者に対して、両側頭頂葉に対して tDCS を施行し、一時的に左半側空間無視様の状態を再現し、その際の機能的 MRI における安静時機能結合の変化と空間的探索課題の変化の相関を解析した。その結果、右背側注意経路の安静時機能結合と探索課題の成績の間に有意な相関を見出した。この結果は、半側空間無視が注意ネットワークの半球間不均衡により生じるという仮説と矛盾しないものであった。

パーキンソン病、脊髄小脳変性症、筋ジストロフィーなどの神経・筋疾患に対するニューロリハビリテーションの効果を詳細に検討するため、動作解析装置（VICON）の設置、ワイヤレス筋電計による筋シナジー解析などのシステム整備を行った。

2) 気分障害のニューロモデュレーション療法に関する研究

NCNP 病院で、電気けいれん療法（ECT）を受けた患者を対象とし、当該患者カルテをもとに、その有用性を検証する。試験デザインは、単施設後ろ向き観察研究である。ECT の治療効果は、電子カルテから後方視的に確認する。対象患者の年齢、性別、診断、入院期間、重症度、社会生活機能障害度と入院中に実施された ECT の施行回数、治療期間、刺激条件および有害事象の有無について調査する。患者の各臨床特性をもとに、ECT の治療効果に寄与する因子について各種回帰分析を行い、ECT の治療効果、副作用と患者の臨床特性との関連を明らかにする。また、次世代のけいれん療法である磁気けいれん療法（MST）の探索的試験を行い、予備的知見を得る。
令和 3 年度中にデータ収集、解析を行った。結果は令和 4 年度に学会、論文等で成果を公表する予定である。

3) 難治性不随意運動症に対する脳神経外科ニューロモジュレーションのエビデンス創出

令和 3 年度中に難治性トゥレット症候群患者に対する DBS 療法を新たに4例実施した。これまで、NCNP病院で難治性トゥレット症候群に対して DBS 療法を行った 36 症例のデータを解析し、Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS)が 1 年後に平均 48.7%、術後3年時点で 57.6%低下し、術前と比べて有意な改善であった。一方で、デバイス感染が 11.4%で生じていた。

本研究において、難治性トゥレット症候群患者の疾患レジストリを構築し、リアルワールドデータによるエビデンス構

築を目指す。将来的に、DBS 適応基準の標準化や、治療効果の予測、安全な手術のためのガイドライン策定の基礎とする。同時に DBS を実施しない患者群の長期的経過と比較評価することで、DBS による症状改善寄与の程度や具体的効果、予後予測因子を探る。令和 3 年度までに、組み入れ基準、評価項目、評価時期が決定し、EDC 構築について情報管理室と相談しながら研究計画書を準備している。

4)　脳神経疾患におけるニューロモデュレーションのエビデンス創出

本研究では、パーキンソン病のうつ・不安症状に着目し、ニューロモデュレーションによる治療エビデンスの創出を目指す。本年度は、パーキンソン病のうつ・不安症状の現状分析に基づき、経頭蓋磁気刺激法（TMS）の有効性と安全性の検証を目指したランダム化二重盲検偽刺激対照比較試験(TMS-PD 試験)のプロトコールを作成した。多施設共同研究の研究計画を立案して外部資金獲得を試みた。今後は TMS の効果量推定の為のパイロットスタディを実施する予定である。

5)　ニューロモデュレーション治療が運動器に及ぼす影響に関する研究ー脊髄刺激療法を中心にー

NCNP病院に通院中のパーキンソン病患者で難治性疼痛に対して脊髄刺激療法（Spinal cord stimulation: SCS）を施行された 22 例の歩行分析結果を解析した。結果、歩行時のストライド長が有意に増加していた。疼痛に対する SCS 療法がパーキンソン病患者の運動・歩行機能に影響を与える可能性が示唆された。

6)　経頭蓋直流刺激の精神疾患治療における有用性に関する研究

高次な認知機能への tDCS への影響について調べるため、統合失調症における記憶の構造化への tDCS の効果を検討した。対象は当センターで加療中の統合失調症患者 28 名（男/女=16/12）とした。tDCS 施行は既報（Narita et al. Front Psychiatry 2017）に従った。tDCS 施行前に、カテゴリ（動物）流暢性課題（一分間にできるだけ多くの動物名を挙げさせる）を施行した。最終 tDCS 施行から一か月後にカテゴリ流暢性課題を再度施行した。このようにして得た発話データに対しテキストマイニング分析を行った。結果として、動物の生態や属性（捕食性など）に基づくクラスターが、tDCS 施行後に明確となり、tDCS が統合失調症における記憶の構造化を改善する可能性が示唆された。

7)　神経筋疾患患者を対象とした筋シナジー解析の技術支援

本年度は、ヒトトレッドミル歩行時の筋電図測定を支援し、筋電図記録から筋シナジーが抽出できるよう、リハビリテーション科や整形外科の研究を方法論的に支援した。また、筋シナジー脳内表現

に関する外科的手術方法を脳外科と連携して開発した。

8) 精度の高い脳波ブレイン・マシン・インターフェース(BMI)技術の開発

BMI で利用される運動感覚野近傍のアルファ（8−12Hz）、ベータ（13−30Hz）帯域の自発的な律動と全脳回路との関係を明らかにし、BMI の精度を向上させるため、令和 3 年度は健常者の安静時脳波において、アルファ帯域とベータ帯域のそれぞれの成分のパワー変化と神経相関する部位を個人レベルで解析した。解析結果をもとに、律動変化の調整に関わる回路を同定し高精度 BMI 技術開発を進める。

3. 研究結果刊行一覧

＜論文＞

1. Iwata R, Inagawa T, Noda T, Takahashi Y, Kito S: Spinocerebellar ataxia type 6 presenting with hallucination. Psychogeriatrics 21: 446, 2021. 2.440

2. Matsuda Y, Terada R, Yamada K, Yamazaki R, Nunomura A, Shigeta M, Kito S: Repetitive transcranial magnetic stimulation for treatment-resistant depression in an elderly patient with an unruptured intracranial aneurysm: A case report. Psychogeriatrics 21: 681-682, 2021. 2.440

3. Yamazaki R, Ohbe H, Matsuda Y, Kito S, Morita K, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H: Early electroconvulsive therapy in patients with major depressive disorder: A propensity score-matched analysis using a nationwide inpatient database in Japan. J ECT 37: 176-181, 2021.

4. Matsuda Y, Yamada K, Terada R, Yamazaki R, Nunomura A, Shigeta M, Kito S: A case of treatment-resistant depression with psychogenic movement disorder during repetitive transcranial magnetic stimulation. Asian J Psychiatr 62: 102737, 2021. 3.543

5. Matsuda Y, Yamazaki R, Kishi T, Iwata N, Shigeta M, Kito S: Comparative efficacy and acceptability of 3 repetitive transcranial magnetic stimulation devices for depression: A meta-analysis of randomized, sham-controlled trials. Neuropsychobiology (in press). 2.328

6. 鬼頭伸輔：精神疾患・神経疾患における脳刺激法の現状と期待. rTMS 療法の現状と開発の動向. 最新精神医学 26: 379-383, 2021.

7. Matsuda Y, Yamazaki R, Shigeta M, Kito S: Transcranial magnetic stimulation modalities for psychiatric disorders: Publication trends from 1985 to 2019. Neuropsychopharmacol Rep (in press). 1.797

8. 鬼頭伸輔：うつ病のニューロモデュレーション治療の新展開. うつ病の磁気けいれん療法（MST）. 精神医学（in press）.

9. Ota M, Noda T, Sato N, Hidese S, Teraishi T, Matsuda H, Kunugi H, Structural brain network differences in bipolar disorder using with similarity-based approach. Acta Neuropsychiatr.

33(3):121–125, 2021.
10. Stickley A, Shirama A, Katamura A, Kamio Y, Takahashi H, Saito A, Haraguchi H, Kumazaki H, Mishima K, Sumiyoshi T. Attention–deficit/hyperactivity disorder symptoms and sleep problems in preschool children: the role of autistic traits. Sleep Medicine, 2021; 83:214–21
11. Higuchi Y, Sumiyoshi T, Tateno T, Nakajima S, Sasabayashi D, Nishiyama S, Mizukami Y, Takahashi T, Suzuki M.: Prolonged P300 Latency in Antipsychotic–Free Subjects with At–Risk Mental States Who Later Developed Schizophrenia. Journal of Personalized. Medicine 2021, 11(5), 327
12. Yamada Y, Inagawa T, Yokoi Y, Shirama A, Sueyoshi K, Wada A, Hirabayashi N, Oi H, Sumiyoshi T. Efficacy and safety of multi–session transcranial direct current stimulation on social cognition in schizophrenia: A study protocol for an open–label, single–arm trial. Journal of Personalized Medicine. 2021; 11(4):317.
13. Sumiyoshi T, Hoshino T, Mishiro I, Hammer–Helmich L, Ge H, Moriguchi Y, Fujikawa K, Fernandez J: Prediction of residual cognitive disturbances by early response of depressive symptoms to antidepressant treatments in patients with major depressive disorder. Journal of Affective Disorders 2022;296:95–102
14. Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. Clinical EEG and Neurosicence (in press)
15. Kyoka Hoshi,…Mitsunari Abe(7 番著者),…Yasuhiro Hashimoto. Transferrin Biosynthesized in the Brain Is a Novel Biomarker for Alzheimer's Disease. 2021 11(9):616.
16. Tsuyoshi Saito, Naomichi Ogihara*, Tomohiko Takei and Kazuhiko SEKI (2021): Musculoskeletal modeling and inverse dynamic analysis of precision grip in the Japanese macaque, Frontiers in Systems Neuroscience, in press. 3.289
17. Moeko Kudo, Sidikejiang Wupuer, Shinji Kubota and Kazuhiko SEKI* (2021): Distribution of large and small dorsal root ganglion neurons in common marmosets, Frontiers in Systems Neuroscience, in press.
18. Kudo M, Sidikejiang W, Fujiwara M, Saito Y, Kubota S, Inoue K, Takada M, Seki K (2021). Specific gene expression in unmyelinated dorsal root ganglion neurons in nonhuman primates by intra–nerve injection of adeno–associated virus 6 vector. Molecular Therapy Methods & Clinical Development. Volume 23, 10 December 2021, Pages 11–22.
19. Vincent C. K. Cheung, Kazuhiko Seki (2021): Approaches to revealing the neural basis of muscle synergies: a review and a critique. J. Neurophysiol., 27 APR, 2021
20. Koizumi M, Nogami N, Owari K,

Kawanobe A, Nakatani T, Seki K (2021): Motility profile of captive-bred marmosets revealed by a long-term in-cage monitoring system. Front. Syst. Neurosci. 645308, 15 April 2021.

21. Nishida D, Mizuno K, Yamada E, Tsuji T, Hanakawa T, Liu M. Correlation between the brain activity with gait imagery and gait performance in adults with Parkinson's disease: A data set. Data Brief. 2021 Mar 23;36:106993

＜著書＞

1. Sumiyoshi C, Narita Z, Inagawa T, Yamada Y, Sueyoshi K, Hasegawa Y, Shirama A, Hashimoto R, Sumiyoshi T. Facilitative effects of transcranial direct current stimulation on semantic memory examined by text-mining analysis in patients with schizophrenia. In Catone M, Lanza G, Ranieri F, Opie GM, Lanza CG (Eds). Non-Invasive Brain Stimulation in the Study and Modulation of Metaplasticity in Neurological Disorders. Lausanne: Frontiers Media. 2021. pp. 45-53

2. 辻本憲吾, 水野勝広.【脳血管障害の診断・治療の進歩とリハビリテーション診療】半側空間無視に対する最新のリハビリテーション治療. MEDICAL REHABILITATION 264 号 Page35-43, 2021

3. 加藤研太郎.(2021) 脊髄小脳変性症. 諸橋 勇, 有馬 慶美, 加藤 研太郎(編). 神経障害理学療法学 pp196-214

4. 水野勝広.【神経疾患を克服する-わが国の戦略(2)】研究手法の最新の話題 ニューロリハビリテーション. Clinical Neuroscience 39 巻 10 号 Page1260-1263, 2021

5. 水野勝広.【空間認知のニューロサイエンス】空間認知障害の治療 半側空間無視のリハビリテーション. Clinical Neuroscience 40 巻 1 号 Page111-114, 2022

<分担研究課題＞ニューロモデュレーション手技の神経疾患リハビリテーション治療への応用に関する研究

研究テーマ
健常者に対する両側後部頭頂葉への経頭蓋直流電流刺激が視覚探索課題と安静時機能的結合に与える影響

研究分担者
国立精神・神経医療研究センター病院
身体リハビリテーション部
水野勝広、西田大輔、辻本憲吾

【緒言】
半側空間無視の神経メカニズムとして、注意ネットワークの左右半球間の不均衡が原因であるという説が有力である。これまでの先行研究では、健常者に対して右後部頭頂葉領域に経頭蓋磁気刺激または経頭蓋直流電流刺激により、一過性の無視様症状が誘発されることが示されている。そこで、我々は左右半球間の不均衡を経頭蓋直流電流刺激で生じさせることにより、無視様症状が誘発され、注意ネットワークの安静時機能的結合が変化するかを検討した。
【方法】
本研究は健常成人 19 名（男性 8 名、女性 11 名、平均年齢 28.6±7.3 歳）を対象とした。経頭蓋直流電流刺激の陽極電極は左後部頭頂葉、陰極電極は右後部頭頂葉に配置し、2mA で 20 分間刺激した。刺激前後で、半側空間無視評価で用いられる２種類の視覚探索課題と安静時磁気共鳴画像を測定した。解析は課題の反応時間と背側および腹側注意経路の安静時機能的結合、課題の反応時間と安静時機能的結合間の相関を算出し、刺激前後で比較を行った。
【結果】
２種類の視覚探索課題において左標的に対する反応時間が刺激後では刺激前と比較して有意に延長した。安静時機能的結合は、刺激後では背側注意経路が有意に増加し、腹側注意経路が有意に減少した。また、背側注意経路と腹側注意経路間の安静時機能的結合に有意な負の相関が認められた。さらに、１種類（選択的注意課題）の左標的に対する反応時間と背側および腹側注意経路の安静時機能的結合間に有意な相関が認められた。
【考察】
両半球の後部頭頂葉領域への経頭蓋直流電流刺激は、電極下の皮質領域の興奮性が変化することにより、注意経路全体の結合性が変化し、無視様症状が誘発されることが示唆された。この結果は、無視の原因が注意経路の半球間不均衡であるという仮説とも一致する。
【結語】
本研究は、健常者において皮質局在刺激が脳局在機能の変化だけでなく、皮質ネットワークの変化も誘発することを示した初めての研究である。この知見は、半側空間無視などの注意障害の神経機構を明らかにし、様々な注意障害のリハビリテーション戦略を開発するために重要である。

令和 3 年度　分担研究報告

気分障害のニューロモデュレーション療法に関する研究（ECT）

国立精神・神経医療研究センター病院
精神科　鬼頭伸輔、野田隆政、林大祐

緒言

精神疾患に対する脳激療法は、薬物療法と相補的な役割を果たしてきた。中でも電気けいれん療法（electroconvulsive therapy, ECT）は、高い治療効果と即効性を有する治療法である。自殺念慮が切迫している症例や薬物療法を行っても改善が得られない症例に対して推奨される。一方、現在までに、ECT の刺激条件に関する報告や少数例の探索的研究は行われているが、包括的観察研究は報告されていない。

本研究では、後ろ向き観察研究を行い、ECT の治療効果、副作用と患者の臨床特性との関連を明らかにする。得られた知見をもとに、関連学会の適正使用指針やガイドラインに反映させ、本邦の政策提言とすることを目的とする。

方法

当院で ECT を受けた患者を対象とし、患者カルテを調査し、その有用性を検証する。試験デザインは、単施設後ろ向き観察研究である。ECT の治療効果は、患者カルテを調査し、研究者が患者の機能障害を ECT 前後で 0〜4、計 5 段階でスコアリングする。対象患者の年齢、性別、診断、入院期間、重症度、社会生活機能障害度と入院中に実施された電気けいれん療法の施行回数、治療期間、刺激条件および有害事象の有無について調査する。患者の各臨床特性をもとに、ECT の治療効果に寄与する因子について各種回帰分析を行い、治療効果、副作用と患者の臨床特性との関連を明らかにする。予定する研究対象者数は 350〜400 例である。

結果および結言

研究計画を立案し、令和 2 年 6 月倫理委員会の承認を得た。令和 2 年 3Q から令和 3 年 1Q にかけてデータ収集を行い、令和 3 年 2Q〜4Q にデータ解析を行う。令和 4 年に成果発表し、論文作成・投稿を行う予定である。また、鬼頭、野田が、下記の研究成果を発表した。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）

1. 野田隆政, 電気けいれん療法,「標準的医療説明 インフォームド・コンセントの最前線」, 医学書院, 238-242.　2021 年 8 月
2. 野田隆政：電気けいれん療法（ECT）の基礎と実践、日本精神神経学会 第 15 回 ECT 講習会. 2022 年 2 月
3. 野田隆政：電気けいれん療法（ECT）の基礎と実践、日本精神神経学会 第 14 回 ECT 講習会. 2021 年 8 月
4. 鬼頭伸輔：NCNP 病院における包括的うつ病治療の実際. 第 117 回日本精神神経学会学術総会、2021 年 9 月
5. 鬼頭伸輔：うつ病への維持 rTMS 療法：再燃・再発を防げるか. 第 117 回日本精神神経学会学術総会、2021 年 9 月
6. Matsuda Y, et al: Transcranial magnetic stimulation modalities for psychiatric disorders: Publication trends from 1985 to 2019. Neuropsychopharmacol Rep 41: 538-543, 2021.

脳神経疾患におけるニューロモデュレーションのエビデンス創出

分担研究者：高橋　祐二
国立精神・神経医療研究センター
病院・脳神経内科
研究協力者：雑賀玲子 1)、大庭真梨 2)、小居秀紀 2)、野田隆政 3)、鬼頭伸輔 3)
1)国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経内科、2)同臨床研究・教育研修部門、3)同精神科

緒言

脳神経疾患の治療においては薬物療法が中心であるが、それだけでは十分に解決できない'Unmet needs'が依然数多く存在する。特にパーキンソン病においては、うつ・不安、痛みといった非運動症状に対する治療の患者満足度は運動症状に比して低い。本研究では、ニューロモデュレーションの手法を用いて、これらの Unmet needs を解決し、治療法に関する新たなエビデンスを創出することを目的とする。本研究により、脳神経疾患に対するニューロモデュレーションのエビデンスが創出され、ガイドラインの改訂に貢献し、患者 QOL の向上に資する。将来的には、本研究に立脚した特定臨床研究・医師主導治験を展開することを目標とする。

方法

初年度はパーキンソン病のうつ・不安症状の現状分析を行い、経頭蓋磁気刺激法(TMS)の治療計画立案のための基盤的情報を収集する。分析に基づき TMS のプロトコールを作成する。2 年目以降は RCT の実施に向けた準備を進める。具体的には、まずはパイロットスタディを行い、効果判定を行うとともに、最適な刺激条件の探索を行う。最終年度は RCT を実現することを目標とする。

結果

初年度に PD 患者にはうつ・不安症状が高頻度に合併することを明らかにし、不安を呈する症状の多くはうつを合併していないという PD 患者の特性を明らかにした。本年度は、PD のうつ・不安症状に対する TMS の有効性と安全性の検証を目指したランダム化二重盲検偽刺激対照比較試験（TMS-PD 試験）のプロトコールを作成した。東京大学、東京慈恵会医科大学との多施設共同研究の研究計画を立案して AMED エビデンス創出研究に応募した. 書類審査は通過してヒアリングまで進んだものの結果的には不採択であった。

考察

TMS-PD 試験の実施のためには、まずはパイロット試験を実行し、TMS の効果量に関する基礎データを取得することが必要であることを痛感した。そのデータを元に必要症例数試算・パワー計算を行い、TMS-PD 試験のプロトコールを改定して再度外部グラント獲得を試みる。

結論

PD-TMS の治験プロトコールを作成した。今後 RCT の実施に向けて、パイロット試験を行い効果量に関する基礎データを取得する。

参考文献　なし

分担課題名
難治性不随意運動症に対する脳神経外科ニューロモジュレーションのエビデンス創出

研究分担者：
木村唯子，岩崎真樹
国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経外科

【諸言】

脳深部刺激療法（DBS）はパーキンソン病、ジストニア、振戦といった不随意運動症に適応がありその有効性は確立されている。一方、難治性トゥレット症候群に生じる重度チックに対しても DBS の効果が知られているが、その長期的有効性や安全性はまだ十分に明らかになっていない。トゥレット症候群は DSM-V で神経発達症群に分類され、強迫性障害（チック関連）を合併することも多い。自然寛解の可能性や、精神症状への影響などから、手術リスクと効果を十分考慮した慎重な手術適応が求められる。本研究では、難治性トゥレット症候群に対する DBS の効果を明らかにし、その適応基準の標準化を目指す。

重度のトゥレット症候群では、チックや不随意運動症による外傷や、通学就労が妨げられるなど生活に多大な支障をきたしている症例も多い。本研究の成果によって適切な DBS 治療が確立することで、患者の身体損傷のリスクが減り、社会進出が進むなど大きな意義が期待される。また、将来的に精神科領域の疾患に脳神経外科ニューロモジュレーションを導入する際の倫理的課題や実施可能性に対する知見が得られる。

【方法】

重度チックを伴う難治性トゥレット症候群に対して DBS を実施した患者のレジストリを構築し、多施設で前向きに患者登録を進める。学会等を通じてレジストリへの参加を促進することで、DBS の治療効果や安全性を明らかにするとともに、その適応基準を標準化し、ガイドライン等策定に向けたエビデンスを構築する。

DBS 非実施群との比較により自然経過、予後予測因子を探る。精神科との連携を図り、衝動性など精神的要素に対する効果も検討する。また、強迫神経症や重度抑うつに対する脳神経外科ニューロモジュレーション（定位的凝固術、DBS、VNS など）の倫理的課題や実施可能性について調査を行う。

【結果】

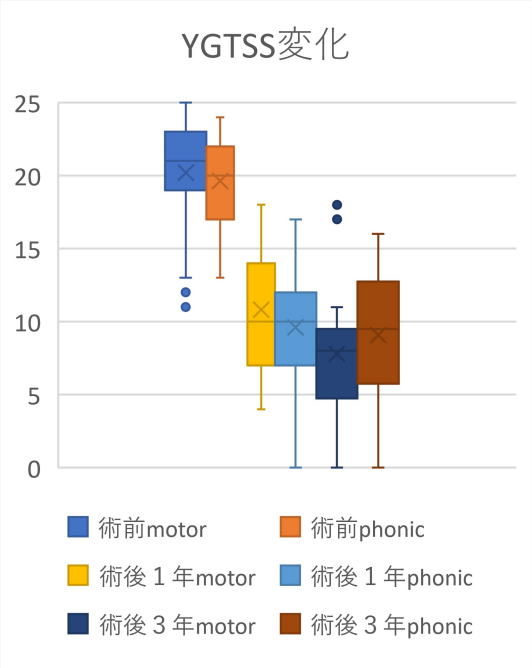
2021 年は、トゥレット症候群に対する DBS が新たに 4 件、パーキンソン病に対する DBS が 2 件実施された。DBS 適応判断には脳神経内科との合同カンファランスを月 1 回定期開催を行い判断された。

レジストリの対象および登録項目について共同研究者と討議を行っている。DBS 非実施群との比較を想定し、対象者は手術適応に関わらず Yale Global Tic Severity Scale (YGTSS) 35 以上の難治性トゥレット症候群にする方針とした。初回登録時の項目（基本情報）として 15 項目、follow-up 時の登録として 32 項目（任意項目含む）を現時点で定めている。Follow-up は登録後 6 か月、12 か月、以後 1 年毎に 5 年までを予定している。EDC の運用方法

について情報管理室と相談しながら、研究計画書を準備中である。

また、精神科鬼頭伸輔先生と月 2 回定期的なカンファレンスを開催し、強迫性障害（OCD）に対する外科治療の臨床研究の実施に向けて準備を開始した。

これまで連続 36 症例の Touretet 症候群に対して DBS が実施された。DBS によって、YGTSS は 1 年後に平均 48.7%、術後 3 年時点で 57.6%低下し、術前と比べて有意な改善であった。一方で、デバイス感染が 11.4%で生じていた。



図：術前後におけるチック重症度スコア（YGTSS）の変化

【考察】

難治性トゥレット症候群に対する DBS の効果については既に多数の報告があるものの、長期的な効果と安全性のエビデンスが確立していない。現在、フロリダ大学が主催する Tourette Syndrome Deep Brain Stimulation Working Group による症例登録が進行しており、これまでに世界中から 350 例を超える症例が蓄積されている。NCNP も 2017 年から参加し、19 例の登録を行っている。現在、米国では HDE（humanitarian device expemtion）を適用する形で限られた施設で本治療が保険適応となっているが、レジストリの成果をもって FDA 承認を得る交渉が続けられている。また、同様の国際グループがトゥレット症候群に対する DBS 実施にかかるガイドラインを論文発表している。

わが国では、平成 30 年度 AMED 難治性疾患実用化研究事業「難治性トゥレット症候群に対する脳深部刺激治療(DBS)のエビデンス創出」によって、多施設の治療成績が後方視的に収集された。登録された 29 例のうち、自傷を伴うチックを有する症例において手術による症状改善率が大きい傾向にあることが明らかとなっている。また今後わが国でも前向きにデータを収集し、本治療の長期的な有効性と安全性を明らかにする必要がある。DBS を実施しない患者も登録するという点は、国際グループとは一線を画すユニークな点である。盲検ではないものの、内科的治療との比較検討が期待される。また、わが国の DBS は全ての施設で現在視床 CM-Pf 核をターゲットにしており、国際グループに比べて治療条件がコントロールされたデータが得られる。

レジストリの成果をもって学会に働きかけ、将来的にはガイドラインへの収載を目指す。保険収載および改正には、新たなエビデンスとともにガイドラインでの位置

づけが重視されるようになっている。

参考文献

1. Kimura Y, Iijima K, Takayama Y, et al. Deep Brain Stimulation for Refractory Tourette Syndrome: Electrode Position and Clinical Outcome. **Neurol Med Chir (Tokyo)** 2021;61:33-39.
2. 木村 唯子, 岩崎 真樹: 【精神科領域におけるニューロモデュレーションとその応用】トゥレット症候群に対する脳深部刺激療法の効果と実際. **臨床精神医学** 49: 789-795, 2020
3. Schrock LE, Mink JW, Woods DW, et al. Tourette syndrome deep brain stimulation: a review and updated recommendations. **Mov Disord** 2015;30:448-471.
4. Deeb W, Rossi PJ, Porta M, et al. The International Deep Brain Stimulation Registry and Database for Gilles de la Tourette Syndrome: How Does It Work? **Front Neurosci** 2016;10:170.

ニューロモデュレーション治療が運動器に及ぼす影響に関する研究ー脊髄刺激療法を中心にー

松井彩乃
国立精神・神経医療研究センター病院
整形外科

【緒言】精神神経疾患患者に発生する疼痛は，原疾患との鑑別が困難であり，また疾患特異的な疼痛の病態が十分把握されているとは言い難い．当院では全国的にも精神神経疾患の疼痛診療に対する経験が深く，特に脊髄刺激療法では多施設にはない経験を多く有している．当院の診療の現状を明らかにするとともに，アルゴリズムを確立し，将来的な多施設共同研究によるエビデンス構築の準備を行う．

【方法】当院通院中のパーキンソン病患者のうち難治性疼痛を有し脊髄刺激療法を実施した患者に対し，刺激開始前後での床反力による歩行パラメーター分析（アニマ社製 Walkway）を行った２２例を対象とした．各パラメーターについて増加量の前後比較をｔ検定及び９５％信頼区間にて行った．

【結果】歩行速度（ｐ＝0.08，0.3-13.1）において有意な傾向，ストライド長（ｐ＜0.01，3.2-12.1）において有意差がみられた．ケイデンス，及び時間因子（立脚期時間，遊脚期時間，両脚支持期時間）には有意差がみられなかった．

【考察】

パーキンソン病では一般に，歩行速度，ケイデンスの低下，ストライド長短縮，両脚支持期時間の延長が起こることが知られている[1]．パーキンソン病に対する脊髄刺激療法では実施前後で歩行速度や姿勢の改善がみられることが知られているが[2,3]，歩行パラメーターの詳細な分析の報告はない．今回，疼痛に対する脊髄刺激療法により歩行速度及びストライド長の変化に有意差がみられたことは興味深い．

【結論】パーキンソン病の難治性疼痛治療としての脊髄刺激療法により，一部の歩行パラメーターの改善がみられた．

【参考文献】

1. Svehlik M, Zwick EB, Steinwender G, Linhart WE, Schwingenschuh P, Katschnig P, et al. Gait analysis in patients with Parkinson's disease off dopaminergic therapy. Arch Phys Med Rehabil. 2009;90(11):1880-6.

2. Agari T, Date I. Spinal cord stimulation for the treatment of abnormal posture and gait disorder in patients with Parkinson's disease. Neurol Med Chir (Tokyo). 2012;52(7):470-4.

3. de Andrade EM, Ghilardi MG, Cury RG, Barbosa ER, Fuentes R, Teixeira MJ, et al. Spinal cord stimulation for Parkinson's disease: a systematic review. Neurosurg Rev. 2016;39(1):27-35; discussion

2-3「双方向性のニューロモデュレーション機構の解明と臨床応用の基盤整備」
（分担課題名）経頭蓋直流刺激の精神疾患治療における有用性に関する研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 児童・予防精神医学研究部
職名 部長　氏名　住吉 太幹

【緒言】

経頭蓋直流電気刺激（tDCS）とは、頭皮上に置いた電極から 1-2mA 程度の微弱な電流を流すことで脳の神経活動を修飾する、簡便で低侵襲な電気刺激法である。主として左前頭部への陽性刺激でうつ病や統合失調症の幻聴・陰性症状に対する改善効果が報告されている。われわれはこれまで、統合失調症の認知機能障害に対する左前頭部への tDCS が、陽性症状、運動機能、言語記憶、言語流暢性などを改善することを確認した。一方、患者の社会機能に影響を及ぼすとされる社会認知機能（心の理論、表情認知など）への tDCS の影響に関する知見は乏しい。社会認知の神経基盤としては、前頭前野-上側頭回-扁桃体からなる脳内神経ネットワークが注目される。以上の背景より、本研究では、統合失調症患者の社会認知への、左側上側頭回/溝をターゲットとした tDCS の効果を調べる。

【方法】

本研究は NCNP 臨床研究審査委員会の承認を得て行った(「統合失調症の社会認知機能障害に対する経頭蓋直流電気刺激の効果に関するパイロット研究」CR18-003)。対象は国立精神・神経医療研究所センター（当センター）病院を受診した統合失調症患者とした。本研究は当センターなどの倫理委員会で承認され、参加者全員から書面による同意を得て行った。tDCS 施行は、アノード（陽極）電極を F3 に置く手法を用い、5 日間で 10 回の 2 mA 刺激を行った（Yamada et al, 2021）。社会認知の評価には、Social Cognition Screening Questionnaire (SCSQ) (Kanie et al 2014), Facial Emotion Selection Test (FEST)(Hagiya, Sumiyoshi et al 2015)を用いた。

【結果】

2021 年度は目標症例数 15 名の患者からデータ収集を完了した。また、本研究のプロトコール論文を国際誌に公表した（Yamada et al, 2021）。

【結論】

社会認知の脳内基盤に基づく、上側頭回/溝への複数回 tDCS 施行の効果の検討は、国内外で初めての試みである。本研究から得られる知見は、統合失調症患者の社会復帰に向けた tDCS の合理的な運用につながると期待される。

【参考文献】

1) Narita Z, Stickley A, DeVylder J, Yokoi Y, Inagawa T, Yamada Y, Maruo K,Koyanagi A, Oh H, Sawa A, Sumiyoshi T. Effect of multi-session prefrontal transcranial direct current stimulation on cognition in schizophrenia: A systematic review and meta-analysis. *Schizophr Res*. 216:367-373, 2020
2) Yamada Y, Inagawa T, Yokoi Y, Shirama A, Sueyoshi K, Wada A, Hirabayashi N, Oi H, Sumiyoshi T. Efficacy and safety of multi-session transcranial direct current stimulation on social cognition in schizophrenia: A study protocol for an open-label, single-arm trial. *J Pers Med*. 2021; 11(4):317
3) Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. *Clin EEG Neurosci* (in press)

2-3「双方向性のニューロモデュレーション機構の解明と臨床応用の基盤整備」
（分担課題名）神経筋疾患患者を対象とした筋シナジー解析の技術支援

分担研究者　関　和彦
（所属）　国立精神・神経医療研究センター神経研究所モデル動物開発研究部

緒　言

本研究班の目的は、NCNP 病院において運動異常を呈する異なった疾患患者の筋シナジー解析をおこなうための技術支援を行う。疾患横断的な運動異常の定量評価を確立し、さらに、筋シナジーフィードバックを用いた新たな治療法の開発を支援する。主としてヒトの近縁種であるマカクサルにおける実験結果をヒトに演繹する手法を用いる。

表記疾患における異常運動の評価は定性的に行われる場合が多く、定量的評価が求めれられている。しかし現実には疾患別に、医師による定性評価に留まる事例が大多数である。運動異常を各種疾患の表現型として捉えた場合、それらの疾患横断的な評価軸の確立は、疾患横断的な病態解明に発展する点で有意義である。

筋シナジーを用いた神経筋疾患の運動異常の評価は近年国内外で始まっているが、数は少ない。また、疾患横断的な評価、また疾患横断的な神経基盤を視野に入れた研究は殆ど報告されていない。

本研究班では、これまでヒトの近縁種であるマカクサルを対象に、各種運動時における筋シナジー解析技術を開発し、その神経基盤について報告してきた。また、文部科学省基盤研究の枠組みで、上記の解析をヒトに応用するための技術や装置の開発を完成した。これらの背景から、昨年度は NCNP リハビリ、整形外科、脳外科と連携し、NCNP 病院にこの解析を導入する準備を進めてきた。

方法と結果

前年度に本研究班も加わって導入した DELSYS 社の筋電計の立ち上げを支援した。その後、まず、ヒトトレッドミル歩行時の筋電図測定を支援した。ヒトの歩行は頑強な数の筋シナジーで構成されているため、典型的な歩行関連筋群の選択を行った。次に、歩行の周期を計測するためのタイミング信号の取得について開発した。歩行周期は立脚相と遊相相から構成されるが、それらは一ステップごとに異なり、特に片側性の疾患を呈する患者の場合、このステップサイクルがステップごとに大きく異なるので、筋シナジー解析には歩行相の基準化が必要である。そのため、測定部に物理スィッチを有する靴を用いて、歩行周期の計測に成功した。次に、本班で開発した筋シナジー解析装置をリハ室に導入して、リハ PT スタッフに、機器操作方法を指導した。数回のレクチャーを行い、またマニュアルを作成して、自律的にトラブルシューティングできるよう配慮した。その結果、患者を対象とした筋電図計測が開始された。

考察

詳細な解析を行うには、より多チャンネルの筋電電極の購入が必要であるが、通常歩行程度であれば解析に耐えるシステムが構築された。

結論

本年度は、ヒトトレッドミル歩行時の筋電図測定を支援し、筋電図記録から筋シナジーが抽出できるよう、リハビリテーション科や整形外科の研究を方法論的に支援した。

今後の展望

筋電図計測は非侵襲的に運動系神経機能を評価できる有力な指標である。

研究発表

1. Tsuyoshi Saito, Naomichi Ogihara, Tomohiko Takei and Kazuhiko SEKI (2021): Musculoskeletal modeling and inverse dynamic analysis of precision grip in the Japanese macaque, Front. Syst. Neurosci., https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.774596,
2. Moeko Kudo, Sidikejiang Wupuer, Shinji Kubota and Kazuhiko SEKI (2021): Distribution of large and small dorsal root ganglion neurons in common marmosets, Front. Syst. Neurosci., 02 December 2021,
3. Koizumi M, Nogami N, Owari K, Kawanobe A, Nakatani T, Seki K (2021): Motility profile of captive-bred marmosets revealed by a long-term in-cage monitoring system. Front. Syst. Neurosci.https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.645308.

分担課題名：精度の高い脳波ブレイン・マシン・インターフェース(BMI)技術の開発

研究分担者：IBIC 先進脳画像研究部・阿部十也

研究概要（和文）

【背景】
頭皮上電極から脳波信号を記録すると、中心溝近傍（電極の C3, C4 に相当）からアルファ（８−１２Hz）、ベータ（１３−３０Hz）帯域の自発的な律動を観察する。この律動をミュー波と呼ぶ。この律動は運動想像を行うことで随意的に調整することが可能で BMI の操作に利用されている。この律動変化にどの脳部位が関与するのか未だ理解が乏しい。律動変化に関係する全脳回路を理解することは高精度の BMI 技術開発に役立つ。
【目的】
脳波記録と同時に MRI 神経活動を計測する技術を確立する。脳波・MRI 同時計測系を用いて脳波律動の変化と対応する脳部位を同定する。
【方法】
若年健常者右利き２０名がこの研究に参加した。運動・認知課題を行わない安静時状態で脳波と MRI 機能画像の同時計測を１０分間行った。脳波は 5000Hz, ３２チャンネルで計測した。MRI は全脳を繰り返し時間 RT３秒で全脳を撮像した。脳波データは中心溝近傍の C3, C4 電極から記録した活動電位を解析した。MRI 撮像一枚一枚に対応した時間帯を一つの bin として区切り、bin ごとに周波数に対応したパワースペクトル密度関数を算出した。アルファ、ベータ帯域の各成分パワーを変量として用いて、パワー変化と相関する脳部位を MRI 機能画像解析で求めた。
【結果および考察】
データ収集２０例中、アルファ帯域とベータ帯域のそれぞれの成分のパワー変化と神経相関する部位を個人レベルで解析中である。
【結論】
中心溝近傍のアルファ（８−１２Hz）、ベータ（１３−３０Hz）帯域の自発的な脳波律動は古くから報告されているが、その脳回路基盤は未だ理解が乏しい。律動変化の調整に関わる回路を同定し、高精度 BMI 技術開発を進める。

2－3　Basic and clinical study for elucidating the mechanism and establishing infrastructure for clinical application of interactive neuromodulation treatments.

National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)
Katsuhiro Mizuno, Shinsuke Kito, Yuji Takahashi, Masaki Iwasaki, Ayano Matsui, Tomiki Sumiyoshi, Kazuhiko Seki, Mitsunari Abe, Takashi Hanakawa

The aim of this study is to investigate the mechanism and the best clinical operation of neuromodulation therapy in patients with neurologic and psychiatric disorders. The achievements of this year are as follows.

1. Research on the application of neuromodulation techniques to rehabilitation treatment of neurological diseases

We performed tDCS on bilateral parietal lobes in healthy subjects to temporarily reproduce a neglect-like effect, and analyzed the correlation between changes in resting-state functional connectivity (rsFC)on functional MRI and changes in a spatial exploratory task during this condition. We found a significant correlation between rsFC in the right dorsal attentional network and performance in the exploratory task. The results were consistent with the hypothesis that unilateral spatial neglect is caused by an interhemispheric imbalance in the attentional network.

In order to investigate the effects of neurorehabilitation on neuromuscular diseases such as Parkinson's disease, spinocerebellar degeneration, and muscular dystrophy, we developed systems for a motion analysis and muscle synergy analysis with wireless electromyography.

2. Study on Neuromodulation Therapy for Mood Disorders

Patients who received electroconvulsive therapy (ECT) at NCNP hospitals will be included in the study, and its usefulness will be verified based on the patients' medical records. The study design is a single-center, retrospective, observational study; the therapeutic efficacy of ECT will be confirmed retrospectively from the electronic medical records. Age, gender, diagnosis, length of hospitalization, severity of illness, and degree of impairment in social functioning of eligible patients and the number of ECT procedures performed during hospitalization, duration of treatment, stimulation

conditions, and presence of adverse events will be investigated. Based on each patient's clinical characteristics, regression analyses will be performed on the factors contributing to the therapeutic efficacy of ECT to determine the association between the therapeutic efficacy and adverse effects of ECT and the patient's clinical characteristics. In addition, an exploratory study of magnetic seizure therapy (MST), the next generation of convulsive therapy, will be conducted to obtain preliminary findings.

3. Establishing evidence of the effectiveness of neuromodulation for neurological disorders.

In this study, we focus on the depression and anxiety symptoms of Parkinson's disease and aim to create therapeutic evidence by neuromodulation. This year, based on the analysis of the current state of depression and anxiety symptoms of Parkinson's disease, a protocol for a randomized, double-blind, sham stimulation-controlled comparative study (TMS-PD) aimed at verifying the efficacy and safety of transcranial magnetic stimulation (TMS) was designed. We made a research plan for multicenter collaborative research and tried to obtain external funding. We are planning to conduct a pilot study to estimate the effect size of TMS.

4. Generating evidence for neuromodulation therapy for intractable movement disorders.

Deep brain stimulation (DBS) is known to be effective in the treatment of severe tics occurring in refractory Tourette syndrome, but its long-term efficacy and safety have not been fully elucidated. In this study, we aim to clarify the efficacy of DBS for refractory Tourette syndrome and to standardize the criteria for its indication.
Patient registry for severe Tourette syndrome will be developed in this study. We decided to include patients with severe tics presenting YGTSS score 35 or higher, regardless of the indication of DBS. This enables us to compare the efficacies between DBS and medical therapies. The type of clinical information to be registered and the timing of information collection were discussed and determined. The research plan of the registry is currently in preparation and will be submitted to the Ethics Committee shortly. In our retrospective cohort of 36 patients, DBS reduced the tic severity scale (YGTSS) by an average of 48.7% 1 year later and 57.6% 3 years after surgery, showing

the significant improvement by DBS surgery. Device infections occurred in 11.4% of our cases.

An international registry by the Tourette Syndrome Deep Brain Stimulation Working Group is operated by the University of Florida. In the United States, DBS therapy for Tourette syndrome is only approved in a limited number of centers under the HDE (humanitarian device exemption) pathway. It is expected to gain FDA approval based on the result of the registry. The international group has published guidelines on the indication of DBS for Tourette syndrome.

In Japan, the AMED research project “Evidence Generation of DBS Therapy for Intractable Tourette Syndrome” has collected retrospective multicenter data and the results are scheduled to be published. Our registry is very unique in that patients who do not undergo DBS will also be enrolled. Although it is not a blinded design, we expect to generate an evidence for the efficacy of DBS over medical therapy. DBS is targeted to the thalamic CM-Pf nucleus in all centers in Japan, which provides more controlled data compared to the international groups.

With the result of the registry, we will approach academic societies to develop the guideline for the indication of DBS for the treatment of severe Tourette syndrome.

5. Study on spinal cord stimulation therapy for pain associated with neuropsychiatric disorders.

We performed gait analysis of 22 patients with Parkinson's disease who underwent spinal cord stimulation (SCS) for intractable pain. The results showed a significant increase in step length after SCS. The results suggest that SCS therapy for pain may affect not only pain but also the motor and gait functions in patients with Parkinson's disease.

6. Study on the effectiveness of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders.

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a safe, inexpensive, and feasible neuromodulation that modifies nerve activity by providing a weak current of 1–2 mA for about 5–30 min/session. Several domains of neurocognition, such as learning memory, working memory, executive functioning, verbal fluency, and attention/information processing, are known to be impaired in schizophrenia. Likewise, it has been noted in recent years that social cognition, i.e., mental operations underlying

social behavior, is also impaired in schizophrenia. It has been reported that improvement of social cognition is directly linked to improvement of social function.

In the 2021 annual year, we aimed to determine whether multi-session tDCS targeting the superior temporal sulcus (STS), a brain region closely related to social cognition, would improve social cognitive performance in patients with schizophrenia. So far, data from 15 patients have been obtained.

7. Technical assistance for muscle synergy analysis in patients with neuromuscular diseases.

This year, we supported the measurement of EMG while walking on the human treadmill, and methodologically supported the research of rehabilitation department and orthopedics so that EMG synergies could be extracted from the EMG records. We also developed a surgical method for expressing muscle synergies in the brain in collaboration with neurosurgery.

8. Development of high-precision EEG brain-machine interface (BMI) technology.

The sensorimotor mu rhythm has been referred to the synchronized patterns of electrical activity is localized to the central sulcus. The oscillatory patterns repeat at a frequency of 7.5–12.5 Hz (alpha band) in electroencephalogram (EEG), and are most prominent when the body is physically at rest. In this study, we examined the resting networks in the brain underlying modulation of the mu rhythm. We acquired simultaneous recording of functional magnetic resonance imaging (fMRI) and EEG under a rest condition. We investigated the regions of the brain where activity was correlated with the power of the alpha band frequencies. We have finished individual analyses.

2－4　筋ジストロフィーの臨床開発推進、ならびにエビデンス構築を目指した研究

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
小牧宏文

総括研究報告書

1. 研究目的

（目的）核酸医薬品などの革新的手法の臨床開発が進展している現状を踏まえ、臨床開発を推進するため、2009 年から運用している患者レジストリ（Remudy）、2012 年から運用している臨床研究ネットワーク（MDCTN）を神経筋疾患先端医療推進協議会（CCNMD）として発展的に改組し本研究費でその運営を担っている．CCNMD の基盤を活用し臨床開発、ならびに標準的診療の向上を目指したエビデンス創出のための臨床研究を推進する．

2. 研究組織

（主任研究者）小牧宏文

（分担研究者）国立精神・神経医療研究センター（NCNP）：有江文栄、瀬川和彦、竹下絵里、中村治雅、西野一三、水野勝広、本橋裕子、森まどか、山本敏之．神戸大学：栗野宏之、東京女子医科大学：石垣景子、NHO 北海道医療センター：石川悠加、NHO 東埼玉病院：尾方克久、NHO 鈴鹿病院：久留聡、北里大学：高相晶士、大阪大学：高橋正紀、兵庫医科大学：竹島泰弘、NHO まつもと医療センター：中村昭則、横浜労災病院：中山貴博、NHO 刀根山医療センター、日本筋ジストロフィー協会：矢澤健司、熊本大学：山下賢

3. 研究成果

<u>臨床開発</u>

・福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）を対象としたステロイドの有効性に関する研究（石垣）：臨床試験開始に向けてプロトコル骨子を作成し、多施設共同研究体制を構築した．プロトコルを完成させ PMDA の RS 戦略相談の対面助言を終えた．臨床試験実施のため AMED 研究費（ステップ 2）に応募した．本年度は採択されなかったが、引き続き新たな公募に挑む予定である．

・CCNMD 施設調査：MDCTN 加盟施設を対象に患者数、施設の状況について年次調査を行い、症例数は 7115 で，筋強直性ジストロフィー1 型（25.7%），デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）（23.0%），ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）（10.7%），顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー（FSHD）（8.3%），脊髄性筋萎縮症（5.3%），先天性ミオパチー（5.2%），分子診断で病型確定した肢帯型筋ジストロフィー（4.7%），未確定の肢帯型筋ジストロフィー（4.3%），FCMD（4.3%）であった（尾方）．

<u>レジストリ研究</u>

・ジストロフィン症（DMD,BMD）、GNE ミオパチー、筋強直性ジストロフィー(DM)、先天性筋疾患、FSHD を対象に、NCNP 内に事務局を設置し事業を継続している．再編、事務局機能の統合を昨年度までに終え、一体的運用体制が整った．2022 年 3 月末時点の登録数はそれぞれ 2062、238、1135、72、136 名と増加している（中村治、森、髙橋、松村ら）．

・製造販売後調査など薬事下での活用も見越した多施設共同研究の Remudy-DMD レジストリ（中村治）：2022 年 3 月末時点の登録数 103 名となり研究を継続中である．

・DM レジストリ：大阪大学で運用されていた DM レジストリデータを NCNP に移行した．レジストリに登録されている項目を用い有症状の患者 809 名を対象に日本における治療の現状を snapshot 的、横断的に解析した（高橋）．

・眼咽頭型筋ジストロフィーのレジストリ構築（山下）：自施設の症例の検討で病因遺

伝子 *PABPN1* のエクソン 1 領域での GCN リピート（野生型 10 回）数が 15 リピート症例は、13 リピート症例に比して眼瞼下垂や嚥下障害が早期に発症することを示唆する結果などをもとにレジストリ構築に向けた準備を進めている.

・ジストロフィン症、GNE ミオパチー、および、FSHD について、保険診療外の遺伝学的解析、およびキュレーションを実施した.FSHD についてハプロタイプ解析が行われていない症例について追加解析を行った（西野）.

<u>自然歴・アウトカムメジャー研究</u>

・DMD 前向き自然歴研究（竹下）： 32 例が登録され研究を実施している．中間的解析では North Star Ambulatory Assessment（NSAA）の平均値は 1 年で 3.4 点、2 年で 6.9 点、3 年で 14.7 点低下、2 分間歩行テストの平均値は 10m、2 年で 28m、3 年で 62m 低下しているなどデータの蓄積が得られている.

・歩行可能な DMD の長期間における活動量の変化（水野）: ベースラインから 36 ヶ月後の値は、運動量は 190±218 kcal から 174±217 kcal、METs は、2.01±0.43 METs から 1.53±0.30 METs、Sedentary Time は、443±119 分から 513±136 分、運動量に有意差はなかったが、Sedentary time、 METs で有意な変化を認めた．活動量計による評価は日常生活活動を反映し、新たな信頼できるアウトカムメジャーになり得ることを示した.

・GNE ミオパチーの前向き自然歴研究（森）: 5 年間の前向き観察研究を実施、summed MMT、GMFM、握力、ピンチ力、 %FVC、 CK、脚部体組成測定、SF-36 の physical function は長期で有意に進行するデータを得た.

・BMD の自然歴調査多施設共同研究（中村昭）: 正確な遺伝子情報が得られた 305 名のうち発生頻度が高かった exon45-47del（69 名）、exon45-48del（40 名）、exon45-49del（14 名）、exon45-55del（12 名）、exon3-7del（10 名）、及び exon45-53del（9 名）の 6 欠失変異および他の変異（151 名）の表現型および治療効果について分析統計的に検討したところ、歩行機能および呼吸機能は遺伝子型と関連している可能性が示唆された.

<u>バイオマーカー研究</u>

・尿中 miRNA 解析（本橋）: 歩行不能期にある DMD 患者と，年齢をマッチさせた健常男性の尿中 miRNA を microarray 法で網羅的に検証したところ，患者群で有意に上昇している miRNA が同定された．また，同 miRNA の機能を線維芽細胞と筋芽細胞を用いて解析したところ、細胞増殖抑制と筋線維サイズを制御する可能性が示唆された.

・FCMD における尿中タイチン（石垣）: 尿中タイチン濃度は，FCMD18 例全例において，健常コントロールと比較し有意な上昇、尿中タイチン濃度は，血清 CK 値と有意な相関を示した．創始者ハプロタイプの homozygote 患者において，FCMD の運動評価スケールである GMFM と有意な相関を示した.

・DMD における尿タイチンの検討（粟野）: 尿中タイチン値と大腿広筋、大腿二頭筋の CT 値に強い負の相関を認めた. いずれも膝関節の運動に関わる筋であり、歩行時などに収縮を繰り返すことで、筋が崩壊し変性をきたすことが考えられた.

・GNE ミオパチーのバイオマーカー確立を目指した研究（森）: 前向き研究に参加した GNE ミオパチー患者の血小板数、血小板関連 IgG (PAIgG), ヘリコバクター・ピロリ抗体と運動機能評価指標, 粗大運動機能評価尺度、大腿四頭筋筋力、18 筋の合計筋力、握力、ピンチ力, 努力肺活量、血清 CK、体組成測定の対比を調べたところ、PAIgG 値が筋力やシアル酸代謝

障害のバイオマーカーになる可能性があることを見いだした.

エビデンス構築研究

・神経筋疾患の National database を用いた疫学研究（本橋）: 対象疾患の設定、評価項目の設定（主要評価項目：有病者数、副次評価項目：疾患の罹患率，診療の質）とし、傷病名・医薬品・診療行為コードを決定した．NDB データ取り扱う環境整備を行なった．研究実施に向けての倫理申請も行い承認された．これらを踏まえ厚労省へ NDB データ利用申請を行った.

・高 CK 血症女児症例の診断・フォローアップにおける倫理的・臨床的・分子遺伝学的検討（竹島）: ジストロフィン症診断時には無症状例が多いものの一部の症例で幼少期から様々な症状を呈し、症例に応じた診断アプローチが必要であった．50 歳台での心不全発症を機に診断された症例もあり、遺伝リスクや健康管理についての情報提供が不十分な症例も見られた．診断・フォローアップにおいて、遺伝カウンセリングはもとより女性自身の健康管理を適切に行う体制構築が求められる.

・筋ジストロフィーの発症前・早期診断および早期治療における倫理的課題の検討（有江）: 社会学者、倫理学者、遺伝カウンセリングを行っている医師等の専門家だけではなく、当事者家族も交えた意見交換会を行い遺伝について当事者や家族に伝えることの難しさ、関係者の価値観の違い、遺伝の病気という意味の受け止めの違い、患者の自律性の問題等が重要なテーマとして明らかになった.

・DMD 患者に対する長下肢装具(KAFO)を用いた在宅立位訓練の導入とその長期効果の検討（水野）: KAFO を用いた在宅立位訓練の継続は歩行可能期間の延長、側弯の進行抑制、呼吸機能の維持に寄与する可能性を示唆.

・筋ジストロフィーの病型による嚥下造影所見の検討（山本）: 筋ジストロフィー286 人中, 嚥下障害の合併は 184 人（64%）で, そのうち誤嚥 46 人（16%），喉頭蓋谷の残留 104 人（36%），梨状陥凹の残留 133 人（47%）であった．BMD, LGMD, FSHD1 では嚥下障害の合併頻度が低く，DMD, DM1, OPMD では合併頻度が高いことを示した． FSHD1 は自覚から嚥下障害の合併を診断できたが，他の疾患では診断できなかった．DM1，OPMD は自覚がなくても，嚥下障害の合併を疑うべきと考えた.

・DMD の心筋障害（瀬川）: 369 例の解析を行い、心不全が 10～20 才代の DMD 患者の主要な死因、心不全死例では、左室収縮能低下に加えて、左室拡大または心嚢水貯留を認める、左室拡大、心嚢水貯留のない例では左室収縮能低下があっても無症状で経過する、現在の心筋障害治療では症候性心不全、心不全死への効果は不十分であることを明らかにした.

・DM の呼吸管理：国際ガイドラインの実践と研究（石川）: 2020 年に公表された DM1 の呼吸ケアの国際コンセンサスに基づき、咳機能低下例に対して咳介助を適応したが、理解度と介護力が不十分な患者において 推奨される呼吸ケアの適応が困難なことが今後の課題と考えられた.

・筋画像を用いた肢帯型筋ジストロフィーの診断アルゴリズム作成(中山):アルゴリズムを作成し、脳神経内科専門医が試用しその実用性について一定の評価が得られた.

・AI を利用した骨格筋画像を用いた筋量測定に関する自動化ソフトの開発（中山）: IT 企業と共同で筋量定量自動化ソフトの開発を行っている.

・BMD の CT を用いた骨格筋評価（久留）: 今後予定されている本疾患の自然歴研究で収集予定の骨格筋画像評価を踏まえ施設例の検討を行った．新たに作成した簡易評価スケールを用いて検討し、先に障害を受ける骨格筋の同定、遺伝子変異の種類による相違などを検討した結果、本スケールの有

用性を見いだした.

・神経筋性脊柱側彎症の術後成績と周術期合併症の危険因子に関する研究（高相）：Flaccid type の神経筋原性側弯症（NMS）に対する後方矯正固定術は周術期合併症率が高いことが報告されているが、高度脊柱変形を呈した NMS 患者の手術成績について検討したところ、これらの患者は骨盤傾斜角も不良であり、術前から重度の拘束性換気障害を呈し、高侵襲な手術を要していた.

・患者・家族会と密に連携し、患者・家族の視点に立った臨床研究（矢澤）：本研究班は患者会と連携を密にしており、今年度も講演会、レジストリ、アウトカムメジャー研究などで連携を図りつつ研究を行った.

4. 研究成果刊行一覧

【論文】　計 14 件　うち査読付論文 14 件

1）Mori-Yoshimura M, Kimura A, Tsuru A, et al. Assessment of thrombocytopenia, sleep apnea, and cardiac involvement in GNE myopathy patients.Muscle Nerve. 2022 Mar;65(3):284-290.

2）Ben Yaou R, Yun P, Komaki H, et al. International retrospective natural history study of *LMNA*-related congenital muscular dystrophy.Brain Commun. 2021 Apr 11;3(3):fcab075.

3）Sugimoto M, Kuru S, Takada H, Horie R, Yamauchi K, Kubota T, Matsumura T, Nakamura H, Kimura E, Takahashi MP. Characteristics of myotonic dystrophy patients in the national registry of Japan. J Neurol Sci. 2022 Jan 15;432:120080.

4）Hama M, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP, Takada H. Metabolic complications in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional survey using the National Registry of Japan. J Neurol Sci. 2021 Aug 15;427:117511.

【学会発表】　計 28 件

1. 松村剛, 中村治雅, 小牧宏文.顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー患者登録.第 75 回国立病院総合医学会.2021.10
2. 原田裕子, 石塚量見, 中村治雅, 小居秀紀, 小牧宏文.日本神経治療学会.2021.10
3. 神内済, 本橋裕子, 竹下絵里, 小牧宏文ら.早期進行型心筋症を合併した Duchenne 型筋ジストロフィー7 例の臨床的検討.第 63 回日本小児神経学会学術集会. 2021 年 5 月
4. 栗野宏之, 斎藤良彦,小牧宏文, 飯島一誠, 西野一三 ら.アジア人において、FKRP 遺伝子変異は先天性筋ジストロフィー1C と肢帯型筋ジストロフィー2I を発症する. 第 63 回日本小児神経学会学術集会. 2021 年 5 月

2-4 Research to Promote Clinical Development of Muscular Dystrophy and Establish Evidence

Principal Investigator, National Center of Neurology and Psychiatry
Hirofumi Komaki

Overall Research Report

1. Research Objective

（Objective） To promote the clinical development of innovative methods such as nucleic acid medicine, the Patient Registry (Remudy), which has been in operation since 2009, and the Clinical Research Network (MDCTN), which has been in operation since 2012, will be reorganized as CareCure-NMD (CCMND) and operated under this research fund. Promote clinical research to develop clinical practice and create evidence to improve the standard medical care by utilizing the CCNMD's infrastructure.

2. Research Outcomes

Clinical Development

・A study on the efficacy of steroids in patients with Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD): A protocol framework was developed, and a multi-institutional research structure was established to start the clinical trial. The protocol was completed, and face-to-face consultation on the RS strategy of PMDA was finalized. We applied for AMED research funding (Step 2) to conduct the clinical tests. The application was not accepted this academic year, but we will continue to challenge another open call for applications.

・CCNMD Survey: An annual survey of MDCTN member facilities was conducted on the number of patients and facility status. There were 7115 cases, including myotonic dystrophy type 1 (25.7%), Duchenne muscular dystrophy (DMD) (23.0%), Becker muscular dystrophy (BMD) (10.7%), facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD) (8.3%), spinal muscular atrophy (5.3%), congenital myopathy (5.2%), limb-girdle muscular dystrophy with confirmed molecular diagnosis (4.7%), undetermined limb-girdle muscular dystrophy (4.3%), and FCMD (4.3%).

Registry Studies

・We have established an office within the NCNP and have continued operations for dystrophinopathies (DMD, BMD), GNE myopathy, myotonic dystrophy (DM), congenital muscular diseases, and FSHD. The reorganization and integration of the office functions were completed by the end of the last fiscal year, and an integrated operational structure is now in place. As of March 31, 2022, the number of registered patients has increased to 2062, 238, 1135, 72, and 136, respectively.

・The Remudy-DMD Registry, a multi-institutional research study that foresees the use in post-marketing surveillance: As of March 2022, the number of enrolled patients was 103, and the research is ongoing.

・ ・DM Registry: We migrated DM registry data from Osaka University to NCNP. We conducted a snapshot and cross-sectional analysis of the current treatment status in Japan for 809 symptomatic patients using the registry data.

・Registry of oculopharyngeal muscular dystrophies: We are preparing for the development of a registry based on the results of an examination of cases at our institution, which suggest that cases with 15 GCN repeats (10 wild-type repeats) in the exon one region of the etiologic gene PABPN1 develop ptosis and dysphagia earlier than those with 13 repeats.

・Uninsured genetic analysis and curation were performed for dystrophinosis, GNE myopathy, and FSHD. Additional analyses were performed for FSHD cases for which haplotype analyses were not

conducted.

Natural History and Outcome Measure Studies

・DMD Prospective Natural History Research: 32 patients were registered in the research. The interim analysis showed that the mean North Star Ambulatory Assessment (NSAA) dropped 3.4 points at 1 year, 6.9 points at 2 years, and 14.7 points at 3 years, and the mean of the 2-minute walk test decreased by 10 meters, 28 meters at 2 years, and 62 meters at 3 years. The accumulation of data has been obtained as described above.
・Changes in the activity volume of walkable DMDs over time: Values at baseline and after 36 months are as follows: exercise volume from 190±218 kcal to 174±217 kcal; METs from 2.01±0.43 METs to 1.53±0.30 METs; sedentary time from 443±119 minutes to 513±136 minutes; there were no significant differences in the amount of exercise; however, there were significant changes in sedentary time and METs. The results showed that assessment by activity meters reflects daily life activities and can be a new reliable outcome measure.
・Prospective natural history research of GNE myopathy: A 5-year prospective observational research was conducted. The results showed that summed MMT, GMFM, grip strength, pinch strength, %FVC, CK, leg anthropometry, and SF-36 physical functions showed significantly progressive data over the long term.
・A multi-institutional research of BMD natural history: The phenotypes and treatment efficacy of the following six types of deletion mutations and other mutations (151 patients), which frequently occurred among 305 patients for whom accurate genetic information was available, were examined by analytical statistics: exon45-47del (69 patients), exon45-48del (40 patients), exon45-49del (14 patients), exon45-55del (12 patients), exon3-7del (10 patients), and exon45-53del (9 patients). It was suggested that gait and respiratory function might be related to genotype.

Biomarker Studies

・Urinary miRNA analysis: Urinary miRNAs were comprehensively analyzed in patients with DMD in the ambulatory stage and age-matched healthy men using a microarray method. We identified significantly elevated miRNAs in the patient group. The miRNAs function was analyzed using fibroblasts and myoblasts, suggesting that miRNAs may control cell growth inhibition and myofiber size.
・Urinary titin in FCMD: Urinary titin levels were significantly elevated in all 18 patients with FCMD compared to healthy controls and showed a significant correlation with serum CK levels. It also showed a significant correlation with GMFM, the motor assessment scale of FCMD, in homozygote patients with the founder haplotype.
・A study of urinary titin in DMD: We found a strong negative correlation between urinary titin levels and CT values of the Vastus lateralis thigh and biceps femoris muscles. Both muscles are involved in the movement of the knee joint. Repeated contraction during walking and other activities may cause muscle disintegration and degeneration.
・Research aimed at establishing biomarkers for GNE myopathy: We compared platelet count, platelet-associated IgG (PAIgG), and Helicobacter pylori antibody with motor function assessment indices, gross motor function assessment scale, quadriceps muscle strength, total muscle strength of 18 muscles, grip strength, pinch strength, effort lung capacity, serum CK, and anthropometric measurements in GNE myopathy patients who participated in a prospective study. We found that PAIgG values are potential biomarkers of muscle strength and sialic acid metabolic disorders.

Evidence-Building Studies

・Epidemiological study of neuromuscular diseases using the National Database of Neuromuscular Diseases: Target diseases and evaluation items (primary endpoint: the number of prevalent patients, secondary endpoints: morbidity of diseases, quality of medical care) were determined. The names of diseases, drugs, and medical practice codes were determined. The environment for handling NDB data was organized. An ethical review application was submitted to implement the research, and was approved. Based on the above, we applied to the Ministry of Health, Labour, and Welfare to use the NDB data.

・Ethical, clinical, and molecular genetic considerations in the diagnosis and follow-up of a girl with hyperCKemia: Although many cases were asymptomatic at the time of diagnosis of dystrophinosis, some cases presented various symptoms from childhood and required a case-specific diagnostic approach. Some patients were diagnosed when they developed heart failure at the age of fifties, and inadequate information about genetic risk and health care was provided in some cases. In the diagnosis and follow-up, it is necessary to establish a support system for women to manage their health appropriately as well as to provide genetic counseling.

・Examination of ethical issues in the pre-onset/early diagnosis and treatment of muscular dystrophy: We held a meeting to exchange opinions not only with sociologists, ethicists, doctors who provide genetic counseling, and other specialists but also with the families of the concerned patient. We identified the difficulties in communicating about genetics to the patients and their families, differences in the values of the people involved, differences in understanding of genetic diseases, and the issue of patient autonomy as essential themes.

・Examination of the introduction of home standing exercise using a knee-ankle-foot orthosis (KAFO) for patients with DMD and its long-term effects: Continuation of home standing exercise using KAFO may contribute to the prolongation of ambulation, suppression of scoliosis progression, and maintenance of respiratory function.

・Investigation of the findings of dysphagia according to the type of muscular dystrophy: Of 286 patients with muscular dystrophy, 184 (64%) had dysphagia, including 46 (16%) with aspiration, 104 (36%) with a residual glottal valley, and 133 (47%) with residual pear-shaped depression. BMD, LGMD, and FSHD1 showed a low frequency of dysphagia complications, while DMD, DM1, and OPMD showed a high frequency. Dysphagia could be diagnosed in FSHD1 based on subjective perception, but not in the other diseases. We should suspect dysphagia complications in DM1 and OPMD even if the patient is unaware.

・Myocardial damage in DMD: We analyzed 369 cases. Heart failure is the leading cause of death in DMD patients in their 10s to 20s. Cases of death from heart failure show left ventricular systolic dysfunction and left ventricular enlargement or pericardial effusion. Patients without left ventricular enlargement or pericardial effusion are asymptomatic despite left ventricular systolic dysfunction. The current treatment of myocardial injury is ineffective in treating symptomatic heart failure and death from heart failure.

・Respiratory management of DM: Practice and study of international guidelines: Based on the international consensus on respiratory care for DM1 published in 2020, cough assistance was applied to patients with reduced cough function. However, it is difficult to apply the recommended respiratory care to patients with inadequate comprehension and caregiving skills. This is an issue for the future.

・Creation of an algorithm to diagnose limb-girdle muscular dystrophy using muscle images: The algorithm was created and tested by a neurologist, and a

certain evaluation of its practicality was obtained.

・Development of automation software for muscle mass measurement by skeletal muscle images using AI: We are developing automation software for muscle mass measurement in collaboration with an IT company.

・Skeletal muscle evaluation using CT of BMD: We examined facility cases based on the skeletal muscle imaging scheduled to be collected in this disease's upcoming natural history study. A newly developed quick evaluation scale was used in the study. In addition, identification of skeletal muscles affected first, and differences by type of genetic mutation were examined. As a result, we found the usefulness of this scale.

・A research on postoperative outcomes and risk factors for perioperative complications in neuromuscular scoliosis: Posterior corrective fusion for neuromuscular scoliosis (NMS) of the flaccid type has been reported to have a high perioperative complication rate. We investigated the surgical outcomes of patients with NMS who presented with severe spinal deformity. These patients also had a poor pelvic tilt angle, presented with severe preoperative restricted ventilation problems, and required highly invasive surgery.

・Clinical research from the viewpoint of patients and families in close cooperation with patient and family associations: This research team has been working closely with patient groups. The team continued to collaborate on lectures, registries, and outcome measure studies this academic year.

筋ジストロフィーの発症前・早期診断および早期治療における倫理的課題の検討

国立精神・神経医療研究センター
臨床研究支援部　倫理相談・教育研修室
有江文栄

緒言

筋ジストロフィーに特化した早期診断・早期治療に関する倫理的問題の検討は少なく、国民の意識調査も十分に行われていない。臨床開発促進は、社会、国民の価値観・理解と深く関係するため、社会との対話は必須である。そのためにはこの問題の基本的情報を整理し、情報を発信することが重要である。

本分担研究の目的は、筋ジストロフィーの早期診断・早期治療に関し、国内外の医療・研究の状況や法規制の把握をしたうえで、我が国における国民の意識調査、関係者の意識調査等行い、既存及び起こりうる倫理的・法的・社会的課題（ELSI）の検討を行うことである。その上で、アウトリーチ・インリーチ活動を通じた社会との対話に参画することとする。

本年度も引き続き、この問題に対する倫理的・社会的問題について検討を行ったので報告する。

方法

文献調査を実施するとともに専門家等を交えて意見交換会を開催し早期診断・早期治療に関する倫理的・社会的課題の調査を行った。

結果

希少・難治性疾患における ELSI（倫理的・法的・社会的問題）は、現在国内外で研究が進みつつあり、課題分類が Harman らによって 2020 年に公表された。これまで行った文献調査と昨年実施した意見交換会で抽出された課題と、Harman らが分類した課題は「希少疾患として生きるための課題」で抽出されたカテゴリと概ね一致していることが分かった。

出生前・着床前診断における ELSI に関する研究は少なくはないが、筋ジストロフィーの遺伝子診断に特化したものはごく少数である。国内の生命倫理の分野では、出生前・着床前診断に関心のある研究者が主であり、発症前診断・早期治療に関する生命倫理学研究は殆ど公表されていない。

そこで、本年度も引き続き遺伝子難病、早期診断等で研究を行ってきた臨床及び人文社会学の専門家等を交えて意見交換会を開催した。この活動は、本分担研究の目的の一つであるアウトリーチ活動としても位置付け、今回は専門家だけではなく、患者会のスタッフも参加して実施した。

意見交換会に先立ち、患者会のスタッフと面談し、意見交換会のテーマ等を話し合い、「遺伝を伝えるということの意味を伝える側と、伝えられるがそれぞれのView」を主テーマに意見交換会を開催することを決定した。

意見交換会では、遺伝について当事者や家族に伝えることの難さ、関係者の価値観の違い、遺伝の病気という意味の受け止めの違い、患者の自律性の問題等が重要なテーマとして明らかになった。

考察

これまでの調査や意見交換会で、筋ジストロフィーのELSIは、一般の希少・難治性疾患と共通していることが明らかになって

おり、とりわけ、「希少疾患として生きるための課題」について概ね一致しているが、筋ジストロフィー特有の問題がどのようなものかは明らかになっていない。

筋ジストロフィーとともに生きることの意味や課題について指摘している論文はあるものの、当事者側からこれらの問題を明らかにした研究はほとんど無い。よって、この課題を患者や家族の側から、当事者らの体験の語りを通して、筋ジストロフィーと共に生きる意味や課題を明らかにすることが重要である。

意見交換会では、今回当事者家族である患者会のスタッフを交え情報提供とディスカッションを行ったが、遺伝について伝える側、伝えられる側双方に倫理的なジレンマを抱いていることが分かった。この意見交換会によって、医療者の体験と当事者家族の語りの一端が得られたが、更にインタビューなどを通じて彼らの体験の意味を分析することで、筋ジストロフィーの早期診断・早期治療における倫理的な課題に取り組むための問題の本質を明らかにすることができるだろう。

結論

今回は社会学者、倫理学者、遺伝カウンセリングを行っている医師等の専門家だけではなく、当事者家族も交えた意見交換会を行ったが、このような活動を通じて、当事者や家族、社会との対話を促進されることが期待できる。今後も患者や社会が参画するような方法で、情報共有だけではなく、研究やアウトリーチ活動を協働して行っていることが重要であると思われる。

Duchenne 型筋ジストロフィーの心筋障害-NCNP で実施した 10 年間の心エコー検査より-

瀬川　和彦
国立精神・神経医療研究センター

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー(Duchenne muscular dystrophy: DMD)は、人工呼吸の進歩により生命予後が改善している一方、心筋障害の死因に占める割合が増加している。心筋障害は加齢とともに進行するが、個人差が大きい。

目的

年齢層別の心筋障害、症候性心不全、心不全死、その他の死亡の頻度を調査すること。

方法

2011 年 1 月～2020 年 12 月に国立精神・神経医療研究センター病院で心エコー検査を実施した DMD 患者 375 例のうち、女性 DMD2 例、クラインフェルター症候群 1 例、心房中隔欠損症 2 例、描出困難 1 例を除いた 369 例を対象とした。1 患者につき調査期間内に実施した最後の検査時の年齢、左室内径短縮率(%fractional shortening: %FS)、左室拡張末期径(left ventricular end-diastolic dimension: LVDd)を調査した。また、診療録より調査期間中の症候性心不全、心不全死、その他の死亡の有無を調査した。

結果

年齢分布は、0～9 才 74 例、10～19 才 162 例、20～29 才 92 例、30～39 才 36 例、40～49 才 5 例であった。

左室収縮能低下の指標である%FS<27%は、0～9 才 0%、10～19 才 35.2%、20～29 才 78.3%、30～39 才 75.0%、40～49 才 80%に認められた。

左室拡大の指標である LVDd>54mm は、0～9 才 0%、10～19 才 10.5%、20～29 才 18.5%、30～39 才 11.1%、40～49 才 20.0%にみられた。

症候性心不全、心不全死、その他の死亡はそれぞれ、0～9 才 0%、0%、0%、10～19 才 1.9%、3.7%、3.1%、20～29 才 1.1%、8.7%、9.8%、30～39 才 0%、2.8%、16.7%、40～49 才 0%、0%、20%であった。

症候性心不全または心不全死の 19 例中 17 例(89%)で左室の拡大(LVDd>54mm)を認め、左室拡大のない 2 例(11%)では心嚢水の貯留を認めた。

考察

当施設では、心筋障害治療として 10 才～ACE 阻害薬を開始し、左室収縮能の低下がみられた時点で β 遮断薬を追加し、さらに左室拡大がみられた時点でミネラルコルチコイド受容体拮抗薬を追加している。心筋障害治療を行っても左室収縮能の低下は 10 才代～20 才代の多くの例で顕在化するが、正常に保たれる例も 2 割程度認められた。症候性心不全、心不全死は左室拡大または心嚢水貯留例にみられ、それらを伴わない左室収縮能低下例は無症状で経過した。DMD 患者の心筋障害治療の目的は、症候性心不全、心不全死の予防であり、そのリスク因子である左室の拡大、心嚢水貯留を防ぐことである。心不全は 10 才代～20 才代の DMD 患者の主要な死因である。心筋障害治療に対する臨床研究は、10 才代、20 才代を対象に、症候性心不全、心不全死、左室拡大、心嚢水貯留をエンドポイントにして実施することが望ましいと考えられる。

Study Limitation

当施設は外来診療が中心であり、高齢患者の通院困難などにより年齢分布が偏在化している可能性がある。また後方視的研究のため、調査期間中に他院へ転院するなどして転帰が不明の例も含まれる。

結論

心不全は 10 才代～20 才代の DMD 患者

の主要な死因である。

心不全死例では、左室収縮能低下に加えて、左室拡大または心嚢水貯留を認めた。

左室拡大、心嚢水貯留のない例では左室収縮能低下があっても無症状で経過する。

現在の心筋障害治療では症候性心不全、心不全死への効果は不十分であり、さらなる治療法の開発が望まれる。

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの自然歴
研究と新規治療薬有効性評価への応用

分担研究者
国立精神・神経医療研究センター病院　小児神経科　竹下絵里

【諸言】

日本で標準的医療を受けているデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）の自然歴データは臨床開発を進める上で重要であり、2018 年 1 月から多施設共同前向き観察研究「歩行可能なデュシェンヌ型筋ジストロフィーの自然歴研究」を実施している。DMD では 2020 年 5 月にエクソン 53 スキッピング治療薬ビルトラルセンが発売され、市販後の有効性評価の上でもDMDの自然歴情報は参考になりうる。

本研究では、DMD 自然歴研究の当院登録患者の今までの集計データを報告し、当院でエクソン 53 スキッピング治療を導入した中で歩行可能例への有効性評価への応用について検討する。

【方法】

DMD 自然歴研究の当院登録患者 15 例を対象に、North Star Ambulatory Assessment（NSAA; 床からの立ち上がり時間、10m 走行/歩行時間を含む）、Timed Up and Go テスト（TUG）、2 分間/6 分間歩行テスト、定量的筋力評価（膝関節伸展/屈曲・肘関節伸展/屈曲・握力）についての経時的なデータを集計した。当院でエクソン 53 スキッピング治療を導入した中で歩行可能な5例のデータを集計し、有効性評価への応用について検討した。

【結果】

DMD 自然歴研究の当院登録患者 15 例のうち、全例がベースラインから 1 年後までの 3 回の評価、13 例が 2 年後までの 5 回の評価、11 例が 3 年後までの 7 回の評価を実施していた。NSAA の平均値は 1 年で 3.4 点、2 年で 6.9 点、3 年で 14.7 点低下、2 分間歩行テストの平均値は 10m、2 年で 28m、3 年で 62m 低下、6 分間歩行テストの平均値は 40m、2 年で 92m、3 年で 186m 低下した。床からの立ち上がり時間の平均値は、1 年で 1.53 秒、2 年で 3.08 秒、3 年で 11.85 秒延長、10m 走行/歩行時間の平均値は、1 年で 0.70 秒、2 年で 2.00 秒、3 年で 4.46 秒延長、TUG の平均値は、1 年で 0.67 秒、2 年で 2.39 秒、3 年で 8.25 秒延長した。定量的筋力評価の平均値は、膝関節伸展は 1 年で 7.2N 低下、1 年で 15.5N 低下、3 年で 29.1N 低下と経年的に低下したが、膝関節屈曲と肘関節伸展/屈曲については 1 年、2 年では横ばい（3.4N 上昇～1.4N 低下）、3 年で低下（7.8～9.6N 低下）、握力は 3 年までやや上昇～横ばい（0.1～4.9N 上昇）で推移した。当院でエクソン 53 スキッピング治療導入例の中で歩行可能な 5 例については、10m 走行/歩行時間、定量的筋力評価が治療導入 6 か月時まではほぼ横ばいで維持できていた。

【考察】

DMD 自然歴研究では過去の臨床試験を参考に運動機能評価の項目を設定している。選択基準として床からの立ち上がりが可能で自力で歩行可能である患者としており、ベースラインの時点で運動機能が良いため、1 年程度の短期間では実施している運動機能評価項目に大きな変化はなく、約 3 年程度の経過を追うことで自然経過の推移が明らかになることが考えられた。エクソン 53 スキッピング治療導入例では歩行可能でも床からの立ち上がりが困難である例も含まれ、DMD 自然歴研究と同様の項目を定期的に評価することで、今後長期的な新規治療薬による有効性が明らかになる可能性がある。

【結論】

DMD の自然歴研究は、今後の DMD 新規治療薬の有効性評価に応用できる可能性がある。

【参考文献】

1) Ricotti V, Ridout DA, Pane M, Main M, Mayhew A, Mercuri E, Manzur AY, Muntoni F;

UK NorthStar Clinical Network. The NorthStar Ambulatory Assessment in Duchenne muscular dystrophy: considerations for the design of clinical trials. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016;87:149-55.
2) McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Duong T, Joyce NC, Hu F, Clemens PR, Hoffman EP, Cnaan A, Gordish-Dressman H; CINRG Investigators. Long-term effects of glucocorticoids on function, quality of life, and survival in patients with Duchenne muscular dystrophy: a prospective cohort study. Lancet. 2018;391:451-61.

筋ジストロフィーの臨床開発における疾患登録の効率的運営と薬事制度下での有効活用の検討

中村治雅
臨床研究支援部
病院　臨床研究・教育研修部門
国立精神・神経医療研究センター

緒言

希少疾患領域において、臨床開発研究基盤としての患者レジストリの有用性については疑う余地がない。しかしながら、多くの患者レジストリの運営は個々の研究者や施設に任せられているのが現状である。

当センターにおいては、国内でも有数の神経・筋疾患者登録システム（Remudy: Registry of Muscular Dystrophy）を有しており、これまでにも有効に機能し、国内での臨床研究、治験、国際共同治験の実施において効果を上げてきた。しかしながら、Remudy が運用する患者レジストリは DMD、GNE myopathy、DM などの数疾患に限定されており、他に多く存在する筋疾患の患者レジストリの構築までは十分に取り組めていない。

本研究においては、筋疾患領域における患者レジストリの運用についての効率化を目指して、すでにある Remudy を発展させ、新たな希少疾患臨床研究基盤モデルを提示する。

方法

神経・筋疾患者登録システム（Remudy: Registry of Muscular Dystrophy）の事務局により、レジストリ登録情報の薬事制度下での利活用が可能な構築、運用を見据えつつ、様々な筋ジストロフィー領域のレジストリの運用統合化を目指す。

本研究においては、現在の Remudy の仕組みをより効率的な形へと再編し筋ジストロフィー領域の患者レジストリの効率的運用、統合化を視野に入れた体制構築と、希少疾患領域でのレジストリ構築のモデルも目指す。

令和 2 年度：現在存在する筋ジストロフィー領域レジストリの統合的運用体制の検討、具体的疾患レジストリの新たな立ち上げと Remudy での統合的運用

令和 3 年度：現存 Remudy の再編と、統合的運用のための手順作成

令和 4 年度：一体的運用体制の確立

結果

昨年度の大阪大学から筋強直性ジストロフィーのレジストリ事務局機能移転、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録の開始をへて順調に事務局機能統合が進んだ。2022 年 3 月末現在、ジストロフィノパチー2,062 名、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(GNE ミオパチー)238 名、筋強直性ジストロフィー1,135 名、先天性筋疾患 72 名、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー136 名の登録依頼がある。また、製造販売後調査への活用も見越した新たに多機関共同研究の Remudy-DMD 研究については 3 月末で登録症例数 103 例となった。現在、医薬品医療機器総合機構のレジストリ活用相談に向けて事前相談は終了、2022 年 6 月レジストリ活用相談申し込み済みである。

Remudy 委員会を毎月 1 回開催し、Remudy の患者登録進捗状況の共有、今後の Remudy のあり方について議論を進めている。これらにより、筋ジストロフィー領域

のレジストリの運用統合化をすすめ、新たな疾患へと患者レジストリを広げてゆくことも含めて、Remudy の方向性を引き続き検討している。

考察

国内でも有数の神経・筋疾患者登録システムである Remudy の効率的運用に向けて、これまでの既存疾患のレジストリ事務局統合と、新たな疾患の開始、さらには薬事制度下での条件付き早期承認制度の条件解除に資するレジストリを目指して Remudy-DMD 研究も開始し、順調に登録が進められた。

レジストリの統合運用と、クリニカルイノベーションネットワーク構想でうたわれているレジストリを用いた臨床開発促進に向けた一つのモデルを提示している。

しかしながら、未だ疾患数においては不十分な拡大でもあり、より広範囲な筋疾患の登録に向けた取り組み（悉皆的な取り組み）と、薬事制度下でも活用できるいわゆる階層的なレジストリ構造構築（より薬事制度に適応した品質確保の取り組み）の両立、そして臨床現場でも持続可能な体制を目指して検討を進めていく必要がある。

結論

筋ジストロフィー領域のレジストリの運用統合化を目指して、新たな疾患への拡大と薬事制度下での活用可能なレジストリの構築・運用を進めている。Remudy および Remudy-DMD をモデルとして、クリニカルイノベーションネットワーク構想の実現を目指す。

参考文献

1. Sugimoto M, Kuru S, Takada H, Horie R, Yamauchi K, Kubota T, Matsumura T, Nakamura H, Kimura E, Takahashi MP. Characteristics of myotonic dystrophy patients in the national registry of Japan.J Neurol Sci. 2021 Dec 11;432:120080. doi: 10.1016/j.jns.2021.120080. Online ahead of print.
2. Okubo M, Noguchi S, Hayashi S, Nakamura H, Komaki H, Matsuo M, Nishino I. Exon skipping induced by nonsense/frameshift mutations in DMD gene results in Becker muscular dystrophy. Hum Genet. 2020 Feb;139(2):247-255. doi: 10.1007/s00439-019-02107-4. Epub 2020 Jan 9.
3. Ishigaki K, Nakamura H, et al. National registry of patients with Fukuyama congenital muscular dystrophy in Japan. Neuromuscul Disord. 2018 Oct;28(10):885-893. doi: 10.1016/j.nmd.2018.08.001. Epub 2018 Aug 10.
4. Harumasa Nakamura, Shin'ichi Takeda & Masaru Iwasaki. Identification of approval conditions for orphan drugs for neurological disorders by the Japanese regulatory agency. Expert Opin Orphan Drugs.2018; 6: 441-447
5. Komaki H, Nagata T, Saito T, Masuda S, Takeshita E, Sasaki M, Tachimori H, Nakamura H, Aoki Y, Takeda S. Systemic administration

of the antisense oligonucleotide NS-065/NCNP-01 for skipping of exon 53 in patients with Duchenne muscular dystrophy. Science Translational Medicine. 2018 Apr 18;10(437).

6. Nakamura H, Kimura E, Mori-Yoshimura M, Komaki H, Matsuda Y, Goto K, Hayashi YK, Nishino I, Takeda SI, Kawai M. Characteristics of Japanese Duchenne and Becker muscular dystrophy patients in a novel Japanese national registry of muscular dystrophy (Remudy). Orphanet J Rare Dis. 2013 Apr 19;8(1):60. doi: 10.1186/1750-1172-8-60
7. 中村治雅、武田伸一. クリニカル・イノベーション・ネットワーク. 整・災外 61：419−424, 2018

Remudy 登録例のキュレーションおよび遺伝学的解析

西野一三
国立精神・神経医療研究センター

緒言

遺伝性筋疾患は、希少である一方で、原因となる遺伝子の数が多く、更にはしばしば原因遺伝子が巨大である。そのため、商業的な遺伝学的解析サービスが提供されていない疾患も少なくない。一方で、変異特異的な筋ジストロフィーの新規治療法が開発されつつあることから、遺伝学的診断を確定することが急務である。また Remudy への登録に際しても遺伝子変異情報が必要であり、Reumudy 運営上も遺伝学的診断の提供が必要である。本申請研究では、Remudy 対象筋疾患の登録時にキュレーションおよび未診断例の遺伝学的解析を行い、未診断例の診断確定、変異の病的意義の検討、病態解明を行う。また、疾患遺伝子データベースの構築、新規原因遺伝子や遺伝子変異の特定、より精度の高い診断システムの確立を目指す。

方法

ジストロフィノパチー、GNE ミオパチー、および、本年度より登録が開始された FSHD について、保険診療外の遺伝学的解析、および、キュレーションを行った。さらに、各疾患の下記の通り個々の疾患の解析を行った。

[ジストロフィノパチー]

疾病研究第一部/メディカルゲノムセンター において、筋病理診断により診断が確定した DMD,BMD のうち、従来の遺伝学的解析法(MLPA 法、サンガーシークエンス法、次世代シークエンサーによる DMD ターゲットリシークエンス法)にて変異が同定できなかった 25 例に対し RNA-seq を行い、変異の同定を試みた。

[GNE ミオパチー]

GNE ミオパチー日本人患者で 2 番目に頻度が高い p.D207V バリアントの特徴に関して解析した。本バリアントをホモ接合体で有する患者の頻度が極端に少ないことに着目し、同バリアントを有する健常者 1 名、および、患者 3 名について、RMAseq、Whole genome sequencing、シアル酸濃度測定、および、同バリアントの構造解析を行い、発症を規定する因子の同定を試みた。

[FSHD]

FSHD におけるこれまでの遺伝学的解析結果を検討した。かつては D4Z4 リピートが 1-6 回と著明に短縮した例は FSHD1 と診断していたが、近年は、更に 4qA ハプロタイプを示す例のみを FSHD1 と診断している。従って、過去に FSHD1 と診断した例の中には、ハプロタイプが 4qA であることを確認していない例がある。そのような例のうち Remudy 登録を希望する例では、4qA ハプロタイプを有するかどうかの確認を行った。

一方、D4Z4 リピートが 7-10 回と僅かに短縮し、更にメチル化低下を伴う例は、*SMCHD1/DNMT3B/LRIF1* 遺伝子解析を行い、変異を同定した例を FSHD2 と診断している。しかし、メチル化の値は測定誤差が大きいという問題点があり、メチル化低下が 25%を超える例でも SMCHD1 遺伝子変異を認め、臨床的にも FSHD2 が疑われる例が存在した。そのため、メチル化低下の cutoff 値の再検討が必要と考え、これまで用いたメチル化 25%という cutoff 値を緩め、25-50%の例でも上記遺伝子のパネルシークエンスを行った。

結果

[ジストロフィノパチーの解析実績]

2019 年度 66 症例、2020 年度 41 症例、2021 年度 28 症例の DMD 遺伝子全シークエンスを行った。2016 年 4 月に DMD および BMD が疑われる場合、患者 1 人につき 2 回の遺伝学的検査の実施が保険診療で認められ、国内例に関しては公益財団法人かずさ DNA 研究所で DMD

遺伝子全シークエンスを行うことになったことより、日本人解析数は減り、本年度の日本人解析数は3例のみであった。

[ジストロフィノパチー研究実績]

25 例の未解決例のうち、24 例に deep intron 変異による偽エクソン、ジストロフィンの発現低下を認めた。またエクソンの最後と最後から2番目の塩基でミスセンス変異が生じた例のエクソンスキップを確認した。

[GNE ミオパチーの解析実績]

2019 年度 39 症例、2020 年度 24 症例、2021 年度 20 症例の GNE 遺伝子解析を行った。

[GNE ミオパチー研究実績]

本バリアントのホモ接合体患者には、同変異以外にはシアル酸代謝経路の遺伝子に病的変異はなかった。また本変異を有するホモ接合体のシアル酸濃度は健常者より低く、他の遺伝子変異を有する GNE ミオパチー患者よりは高かった。構造解析では本バリアントは基質の活性部位や触媒部位から離れており、epimerase 部位から kinase 部位への ManNA c の受け渡しや多量体形成が部分的に障害されていると考えられた。

[FSHD の解析実績]

2019 年度 148 症例、2020 年度 176 症例、2021 年度 182 症例の新規診断を行った。2020 年 9 月 Remudy 登録が開始され、D4Z4 リピート 1-6 回で 4qA ハプロタイプ未確認の症例は本登録の為に 4qA ハプロタイプの確認が必須であることより、依頼があった症例を対象に 4qA ハプロタイプの解析を行った。2020 年 9-月-2021 年 3 月 50 例、2021 年度 47 例確認した。

[FSHD の研究実績]

メチル化が 25-50%である症例のうち 11 例で SMCHD1 遺伝子変異が見いだされた。

考察

[ジストロフィノパチー]

MLPA 法、サンガーシークエンス法、次世代シークエンサーによる DMD ターゲットリシークエンス法には、RNA-seq、全ゲノム解析、ロングリードシークエンスを組み合わせることで遺伝学的に未解決なジストロフィノパチーのほぼ全例で原因を同定することができた。今後このような例では同様に変異を同定する方針である。

[GNE ミオパチー]

GNE:p.D207V バリアントを有する例は他の変異を有する GNE ミオパチー患者よりシアル酸濃度が高く、ホモ接合体でも発症しないことは、同バリアントは活性部位が保たれ、epimerase 部位から kinase 部位への ManNA c の受け渡しや多量体形成が部分的に障害されていることから説明可能であった。また多量体平衡が環境因子等により変わることが発症に関わる可能性が考えられた。このような変異は小化合物による多量体形成を修飾することで治療可能な可能性が示唆された。

[FSHD]

メチル化の cutoff 値の再検討が必要と考えられた。今後、リピート回数が 7-10 回でメチル化低下がないとされて上記遺伝子検索なしに FSHD1 疑いと判断されている全例に対し、パネルシークエンス解析を行い、メチル化低下の cutoff 値に関して後方視的に検討していく。

結論

ジストロフィノパチーの診断未確定例に RNA-seq を用いることで変異を同定することができた。さらにミスセンス変異による病態を理解する上でも RNA-seq は有効であった。GNE ミオパチーp.D207V が軽症型変異であり、ホモ接合体では極一部しか発症しないこと

が構造解析より説明できた。FSHD はメチル化の cutoff 値を見直し、診断フローチャートの再作成が必要と考えられた。

また、今後登録対象疾患の拡大や、指定難病登録システム運用のための遺伝子診断の利用などを踏まえると、IonPGM を用いた筋疾患患者の遺伝子解析システムの保険収載を目指し、企業と協力体制を結ぶことでより効率的かつ経済的な解析方法を立ち上げることが望ましいと考えられた。

参考文献

Okubo M et al.: Exon skipping induced by nonsense/frameshift mutations in DMD gene results in Becker muscular dystrophy. Hum Genet. 2020 Feb;139(2):247-255. DOI: 10.1007/s00439-019-02107-4.

Okubo M et al.: Comprehensive analysis for genetic diagnosis of Dystrophinopathies in Japan. ORJD.12;149:2017.

歩行可能なデュシェンヌ型筋ジストロフィーの長期間における活動量の変化

水野勝広
国立精神・神経医療研究センター病院
身体リハビリテーション部

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy: DMD）の臨床試験では、有効性を示すアウトカムメジャーとして、6 分間歩行テスト（6MWT）が主要評価項目として利用されることが多かったが、近年、床からの立ち上がりや North Star Ambulatory Assessment に変わりつつある。臨床試験に於いて病院に来院して実施される運動機能評価は、DMD の実生活における日常生活活動全てを反映している訳ではない。2018 年 1 月から実施している多施設共同前向き観察研究「歩行可能なデュシェンヌ型筋ジストロフィーの自然歴研究」（UMIN000030562）の中で、病院で実施される運動機能評価と共に、日常生活に於いて活動量計による計測を行い 3 年間の長期経過を観察し、アウトカムメジャーとしての活動量の有用性を検討した。

方法

対象は、当院でDMDの自然歴研究に参加している自力で床からの立ち上がり、および歩行可能なDMD男児9名（8.3±0.86歳）とした。活動量計は、ActiGraph Link GT9X（ActiGraph、FL、US）を使用し、サンプリングレートは、30Hzで行った。活動量計は、ベルトで右側腸骨稜の上に装着し、起床から就寝まで、入浴時間を除いて装着した。活動量計による計測は、自然歴研究における6か月毎の運動機能評価日の翌日から、14日間とした。ベースラインから、6か月毎に36か月までを評価した。日常の活動内容について学校や運動内容について、家族によって行動記録を記載した。分析は、ActiLife 6（ActiGraph、FL、US）を使用し、装着した日数で平均した運動量（kcal）、METs（運動強度）、Sedentary Time（座位時間; 分）を評価した。統計解析は、一元配置分散分析（analysis of variance: ANOVA）と多重比較検定（Bonferroniの補正）を用いて算出した。

結果

ベースラインから 36 ヶ月後の値は、運動量は 190±218 kcal から 174±217 kcal、METs は、2.01±0.43 METs から 1.53±0.30 METs、Sedentary Time は、443±119 分から 513±136 分であった。ベースラインから 36 か月の期間で、運動量には有意な差はなかった（ANOVA: $F(1, 6)=0.5549$, $p>0.05$）が、Sedentary time（$F(1, 6)=4.5255$, $p<0.01$）、 METs（$F(1, 6)=13.0263$, $p<0.001$,）では有意な変化を認めた。多重比較検定の結果、Sedentary Time は、ベースラインに対し 30 か月の期間で（$p<0.05$）、METs（$p<0.01$）は、ベースラインに対し 18 か月（$p<0.05$）、24 か月（$p<0.01$）、30 か月（$p<0.01$）、36 か月（$p<0.01$）で有意な変化を認めた。

考察

3 年間の活動量計による計測から日常生活における歩行可能な DMD における運動

強度の低下が明らかとなった。消費カロリーには明らかな変化は認めず、運動強度（METs）の低下や、座位時間の延長が認められていたことから、自然歴経過に伴い日常生活の中で高い強度の運動を行えなくなり、座っている時間が長くなることが示唆された。

自宅での運動強度の評価は、病院での運動機能評価では見られない日常生活活動における運動量を正確に反映しており、DMD患者の運動機能の自然歴経過を鋭敏に反映する指標の一つであることが示唆された。

結論

活動量計による評価は DMD における自然歴経過と共に変化する日常生活活動を反映し、病院で行われる運動機能評価を補完する新たなアウトカムメジャーになり得る可能性が示唆された。

参考文献

1. Kwon JM, Abdel-Hamid HZ, Al-Zaidy SA, Mendell JR, Kennedy A, Kinnett K, Cwik VA, Street N, Bolen J, Day JW, Connolly AM. Clinical Follow-Up for Duchenne Muscular Dystrophy Newborn Screening: A Proposal. Muscle Nerve. 2016;54:186-91.
2. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Duong T, Joyce NC, Hu F, Clemens PR, Hoffman EP, Cnaan A, Gordish-Dressman H; CINRG Investigators. Long-term effects of glucocorticoids on function, quality of life, and survival in patients with Duchenne muscular dystrophy: a prospective cohort study. Lancet. 2018;391:451-61.
3. Ricotti V, Ridout DA, Pane M, Main M, Mayhew A, Mercuri E, Manzur AY, Muntoni F; UK NorthStar Clinical Network. The NorthStar Ambulatory Assessment in Duchenne muscular dystrophy: considerations for the design of clinical trials. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2016;87:149-55..
4. Arteaga D, Donnelly T, Crum K, Markham L, Killian M, Burnette WB, Soslow J, Buchowski MS. Assessing Physical Activity Using Accelerometers in Youth with Duchenne Muscular Dystrophy. J Neuromuscul Dis. 2020;7(3):331-342..

神経筋疾患の National database を用いた疫学研究，並びにバイオマーカー開発研究

本橋裕子
国立精神・神経医療研究センター
小児神経科

【緒言】筋ジストロフィーを代表とする神経筋疾患の多くは，患者の数が少なく，根治療法が存在しない希少難治性疾患に該当する．近年，核酸医薬品や遺伝子治療といった，新しい治療薬の開発が進んでいるが，希少難治性疾患の正確な患者数は分かっていない．また，現時点で開発された治療法・治療薬では解決しきれない課題もあり，さらなる治療開発研究の遂行が必要である．その際に，治療効果を正しく判定できるバイオマーカーが必要であるが，現在そのようなマーカーが乏しい．本研究では，筋ジストロフィーを初めとする神経筋疾患を対象として，患者数把握を目的とした疫学研究と，治療効果判定を可能とするバイオマーカー開発研究を実施する．

【方法】疫学研究においては National database (NDB)特別抽出データを用いた後ろ向き研究となり， NDB を用いて患者数調査を行う．また，使用されている医薬品，診療行為に関するデータも収集し，現在の診療実態を把握する．バイオマーカー開発研究においては，筋ジストロフィー患者と健常者の尿中 miRNA を microarray 法で網羅的に検証し，患者において変化している miRNA の同定と病勢との相関を検証する．

【結果】疫学研究に関しては，調査対象とする疾患を代謝性ミオパチー，筋ジストロフィー，運動ニューロン病，先天性ミオパチーとすることを決定した．主要評価項目は各疾患における有病者数で，副次評価項目は疾患の罹患率，診療の質とした．これらデータを抽出可能とする傷病名・医薬品・診療行為コードを決定した．また，NDB データ取り扱う環境整備を行なった．研究実施に向けての倫理申請も行い，承認された．現在，厚労省へ NDB データ利用申請を行なったところである．

バイオマーカー研究に関しては，歩行不能期にある Duchenne 型筋ジストロフィー患者と，年齢をマッチさせた健常男性の尿中 miRNA を網羅的に検証したところ，患者群で有意に上昇している miRNA が同定された．また，同 miRNA の機能を線維芽細胞と筋芽細胞を用いて解析したところ、細胞増殖抑制と筋線維サイズを制御する可能性が示唆された．

【考察】NDB は匿名レセプト情報・匿名特定健診等情報データベースであり [1]，疾患に関する調査・提言を行う上で重要な情報源である．バイアスとしては，実際にその者が疾患を持つかどうかと，電子カルテから抽出・推定可能な疾患情報にはどうしてもずれがあり，その差が情報バイアス（誤分類）と考えられるが，専門家としての疾患についての知識から蓋然性の高い定義を作成し，加えて複数の定義を用いて感度分析を行うことによって，疾患定義の頑健性

を検証する必要がある.

Duchenne 型筋ジストロフィー患者における尿中 miRNA を検証した報告は限られており，PCR array 法によって miRNA-29, -23, -21 が患者群で有意に低下している報告がある [2]．本研究ではより網羅性の高い microarray 法を実施した結果が得られており、患者検体で有意に発現が上昇している miRNA は病勢を反映している可能性がある.

【結論】NDB により，悉皆性が高い疫学データが得られる可能性がある.

DMD 患者の尿を用いて,病勢を反映するバイオマーカーを開発できる可能性がある.

【参考文献】

1)https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/iryouhoken/reseputo/index.html

2) Catapano, F., Domingos, J., Perry, M. et al. Downregulation of miRNA-29, -23 and -21 in urine of Duchenne muscular dystrophy patients. Epigenomics. 2018 Jul;10(7):875-889.

GNEミオパチーのバイオマーカー確立を目指した研究

森まどか
国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科

A.緒言

GNE ミオパチーは成人発症の常染色体劣性遺伝形式を取る遠位優位のミオパチーで、GNE遺伝子がコードするシアル酸合成障害により発症する。シアル酸補充療法の治験が複数進行し、将来治療可能な疾患になる可能性が高い。病態を反映したバイオマーカーが存在しないことが評価を困難にしていた。シアル酸欠乏により生じる現象を探り、筋障害との関連を検討した。

B.研究方法

前向き研究に参加した、遺伝子診断で確定された GNE ミオパチー患者での血小板数、血小板関連 IgG (platelet-associated IgG, PAIgG), ヘリコバクター・ピロリ抗体と運動機能評価指標 (6 分間歩行（6 minutes walk tests, 6MWT）, 粗大運動機能評価尺度（Gross Motor Function Measure, GMFM)、大腿四頭筋筋力（Hand Held Dynamomator of Quadriceps, HHD)、18 筋の合計筋力（ Summed Manual Muscle Testing, Summed MMT)、握力、ピンチ力, 努力肺活量（%Forced Vital Capacity, %FVC)、血清クレアチンキナーゼ（Creatine Kinase, CK)、体組成測定)の対比を調べた。

C.研究結果

33 人（男女比 1:2)、初回評価時の平均年齢 43.2 ± 13.4 歳、罹病期間 26.6 ± 11.3 年だった。11 人が 6MWT 施行可能、20 名が歩行不能だった。運動機能評価では summed MMT, %FVC, 握力、CK 値が時系列で低下した。血小板数は 22.0 +/- 6.2, 5 年間を通じて有意な変化無く、低値 3 名であった。出血傾向は 2 名に見られた。また血小板数と運動評価指標との関連は見られなかった。　一方 PAIgG 陽性 17 例（65.4%）は上記の指標が陰性例より有意に少なく、また血小板数も少なかった。抗ヘリコバクター・ピロリ抗体は PAIgG 陽性と陰性の間で差がなかった。

D.考察

GNEミオパチーで各症例に自然歴研究のような精緻な運動機能評価は困難であることから、バイオマーカーは治療効果や病勢評価のために非常に有用である。

GNE遺伝子変異は先天性血小板減少を生じることがあることが知られていたが、ミオパチー症例での運動機能との対比の検討はなく、今後臨床に有用と考える。PAIgGは免疫機序によらず血小板のクリアランス亢進を反映すると考えられるため、過去に自己免疫機序による特発性血小板減少症と診断された症例もあり、不要な免疫療法のリスクがある。病態の周知に努めたい。

E.結論

GNEミオパチーにおいてはPAIgG値が筋力やシアル酸代謝障害のバイオマーカーになる可能性がある。さらなる機序の解明を検討する。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1. 論文発表

Mori-Yoshimura M, Kimura A, Tsuru A, et al. Assessment of thrombocytopenia, sleep apnea, and cardiac involvement in GNE myopathy patients.Muscle Nerve. 2022 Mar;65(3):284-290.

Yoshioka W, Shimizu R, Takahashi Y,et al. Extra-muscular manifestations in GNE myopathy patients: A nationwide repository questionnaire survey in Japan. Clin

Neurol Neurosurg. 2022 Jan;212:

2．学会発表

Madoka Mori-Yoshimura, Yasushi Oya, Hiroyuki Yajima, Satoru Noguchi, Katsuhiro Mizuno, Ichizo Nishino, Yuji Takahashi : A long-term natural history study of GNE myopathy. 第 62 回日本神経学会学術大会. 京都：20210519-0522

M. Mori-Yoshimura, Y. Yajima, A. Kimura, K. Segawa, Y. Oya, K. Mizuno, S. Noguchi, I. Nishino, Y. Takahashi：Long-term evaluation parameters for and complications of GNE myopathy:a five-year observational follow-up natural history study. World Muscule Society 2020 Virtual Congress. Web: 20210920-20210924

2022 年 4 月 17 日日本内科学会総会プレナリーセッションおよび一般演題にて発表予定。

筋ジストロフィーの病型による嚥下造影所見の検討

山本敏之
国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科

緒言

筋ジストロフィーではしばしば嚥下障害を合併し, 栄養失調の原因になる. しかしながら, 病型によって合併頻度はさまざまで、嚥下障害の合併頻度やその症状については十分な知見がない(1). 本研究では，成人筋ジストロフィーの嚥下について，病型別に嚥下造影検査所見と自覚を評価した．対象とした筋ジストロフィーは，ベッカー型筋ジストロフィー(BMD)，デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)，顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1 型(FSHD1)，肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)，筋強直性ジストロフィー1 型(DM1), 眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD) とした.

方法

2010 年 11 月 1 日から 2020 年 6 月 30 日までの間に，当院で嚥下造影検査を実施した成人筋ジストロフィー患者 286 人（年齢中央値 40.5 歳，男 185 人，女 101 人）を対象とした．ベッカー型筋ジストロフィー（BMD） 12 人（年齢中央値 37.5 歳、男 12 人），デュシェンヌ型筋ジストロフィー61 人（年齢中央値 26.0 歳、男 61 人），顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1 型（FSHD1） 36 人（年齢中央値 49.0 歳、男 13 人、女 23 人），肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）35 人（年齢中央値 53.0 歳、男 17 人、女 18 人），筋強直性ジストロフィー1 型（DM1） 135 人（年齢中央値 46.0 歳、男 76 人、女 59 歳），眼咽頭型筋ジストロフィー（OPMD） 7 人（年齢中央値 67.0 歳、男 6 人、女 1 人）であった．すべての患者は日常の食事を経口摂取していた.

嚥下造影検査では液体バリウム 10ml の嚥下を評価した. そして, 誤嚥, 喉頭蓋谷の残留，梨状陥凹の残留のいずれかを認めた患者を嚥下障害群，異常所見がなかった患者を嚥下正常群に分類した．嚥下障害の自覚について, 日本語版嚥下障害質問票（SDQ）で評価した(2)．SDQ は 15 の質問で構成された自己回答式質問票で, 総点は 0.5～44.5 点で，点数が悪いほど嚥下が悪いと判定される．疾患別に嚥下造影検査の所見と自覚しやすい症状を評価した. なお, すべての患者から文書同意を得て，検査を実施した.

疾患別に嚥下障害の合併頻度を調査し、嚥下障害群と嚥下正常群について、自覚の違いを検討した（Mann-Whitney U 検定）。また、嚥下障害がある患者に現れやすい症状を検定した（ロジスティクス回帰分析。強制投入法）。

結果

筋ジストロフィー286 人中，嚥下障害の合併は 184 人（64%）で，そのうち誤嚥 46 人（16%）, 喉頭蓋谷の残留 104 人（36%），梨状陥凹の残留 133 人（47%）であった. SDQ は 257 人から回答が得られ, 総点中央値は全体で 6.5 点，嚥下障害群 90 人は 7.5 点，嚥下正常群 167 人は 7.5 点であった. 筋ジストロフィー全体では，嚥下障害群は有意に SDQ の点数が高かった（$p < 0.01$）.

疾患別の誤嚥, 喉頭蓋谷の残留, 梨状陥凹

の残留の合併頻度は，それぞれ BMD: 0%, 17%, 8%, DMD: 8%, 25%, 62%, FSHD1: 6%, 8%, 8%, LGMD: 0%, 9%, 0%, DM1: 26%, 56%, 62.2%, OPMD: 57%, 86%, 100%であった．嚥下障害群/嚥下正常群の SDQ の総点中央値は，それぞれ BMD: 6.5 点/3.5 点, DMD: 9.0 点/5.5 点, FSHD1: 14.5 点/3.5 点，LGMD: 5.5 点/2.5 点，DM1: 7.5 点/8.5 点, OPMD: 5.5 点/-であった. FSHD1 のみ嚥下障害群と嚥下正常群とで有意差があった（$p < 0.02$）.

嚥下障害を合併した成人筋ジストロフィー患者に現れやすい症状は、「質問 6 噛んだ食べ物がのどを通過するとき, 数回, 飲み込みを繰り返す　($p = 0.01$)」「質問 10 水分を飲むときに咳き込む($p = 0.04$)」であった。

考察

成人筋ジストロフィー患者の 64%に VFG で異常所見を認め, 誤嚥 16%, 喉頭蓋谷の 36%, 残留梨状陥凹の残留 47%であった．嚥下関連筋の筋力低下が原因であると考えた．疾患別の嚥下障害の合併頻度は, BMD, LGMD, FSHD1 は低く, DMD, DM1, OPMD は高かった．そのうち，誤嚥の合併頻度が高いのは，DM1 25.9%と OPMD 57.1%であった．DM1 と OPMD は重篤な嚥下障害を合併することを示した．FSHD1 は自覚から嚥下障害の合併を診断できた．嚥下障害を合併した成人筋ジストロフィーは, 複数回嚥下と飲水でのむせを, 有意に自覚した. それぞれ, 嚥下における食物輸送の異常と気道防御の異常を反映していると考えた.

結論

BMD，LGMD，FSHD1 では嚥下障害の合併頻度が低く，DMD，DM1，OPMD では合併頻度が高いことを示した． FSHD1 は自覚から嚥下障害の合併を診断できたが, 他の疾患では診断できなかった．DM1, OPMD は自覚がなくても，嚥下障害の合併を疑うべきと考えた.

参考文献

1. 山本敏之. 筋ジストロフィーの嚥下障害・胃瘻. MD Frontier. 2021;1(3):34-8.
2. Yamamoto T, Ikeda K, Usui H, Miyamoto M, Murata M. Validation of the Japanese translation of the Swallowing Disturbance Questionnaire in Parkinson's disease patients. Qual Life Res. 2012;21(7):1299-303.

尿中タイチンは Becker 型筋ジストロフィー患者の大腿広筋と大腿二頭筋変性のバイオマーカーとなる

粟野宏之
神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学

緒言

Becker 型筋ジストロフィー（BMD）は、ジストロフィン遺伝子変異により生じる遺伝性筋疾患で筋崩壊を主病態とする。私たちは本研究班で、骨格筋のサルコメアで分子バネの役割を果たすタイチンの分解産物（尿中タイチン）が BMD の筋崩壊を示すバイオマーカーとなることを発表してきた(1)。

筋 CT 値は、CT 検査において得られる組織の放射線密度の定量値である。水の放射線密度を 0 と定義し、骨格筋は約 40-50HU である。筋ジストロフィーにおいて骨格筋の低い CT 値は筋変性を示唆する。今回、我々は、BMD 患者における尿中タイチン値と筋 CT 値の関連を検討した。

方法

対象は、当院で尿中タイチンを測定し、かつ筋 CT 検査を施行した BMD 患者 18 人。尿を 77 個、CT 画像を 18 個得た。尿中タイチンは松尾雅文らが開発した ELISA 法(Human Titin-N fragment Assay kit-IBL, 株式会社免疫生物研究所)を用いて測定した(2)。尿中クレアチニンを測定し、尿中タイチン濃度は pmol/mg Cr で表した。筋 CT 値は上腕部の 2 個（上腕二頭筋、三頭筋）、臀部の 1 個（大殿筋）、大腿部の 7 個（大腿直筋、大腿広筋、縫工筋、薄筋、内転筋、半腱様筋/半腱膜筋、大腿二頭筋）の筋から得た。統計学的検討は、Spearman の順位相関係数を用い、相関係数(|r|)が 0.7 以上を強い相関と定義した。

結果

BMD 患者の尿中タイチン値は 0.4～1046.4pmol/mg Cr と幅広い分布を示した。尿中タイチンと年齢(3～24 歳)に強い相関を認めなかった（r=0.16）。骨格筋の CT 値は-18.1～65.5HU であった。各骨格筋の CT 値と年齢（6～24 歳）に強い相関を認めなかった(|r|=0.02～0.20)。筋 CT 撮影日に測定した尿中タイチン値と筋 CT 値の関連を検討したところ、上腕部や臀部の筋に強い相関を認めなかった(r=-0.25～-0.61)。大腿部の筋では、大腿広筋と大腿二頭筋の相関係数はそれぞれ-0.82、-0.71 であり、強い相関を認めた。

結論

尿中タイチン値と大腿広筋、大腿二頭筋の CT 値に、強い負の相関を認めた。大腿広筋は膝関節を伸展する一関節筋であり、立位や歩行の際に絶えず強い力を要する。また大腿二頭筋は股関節、膝関節の屈曲に重要な役割を果たす。いずれも膝関節の運動に関わる筋であり、歩行時などに収縮を繰り返すことで、筋が崩壊し変性をきたすことが考えらた。

参考文献

1. Awano H, Matsumoto M, Nagai M, Shirakawa T, Maruyama N, Iijima K, et al. Diagnostic and clinical significance

of the titin fragment in urine of Duchenne muscular dystrophy patients. Clin Chim Acta. 2018;476:111-6.

2. Maruyama N, Asai T, Abe C, Inada A, Kawauchi T, Miyashita K, et al. Establishment of a highly sensitive sandwich ELISA for the N-terminal fragment of titin in urine. Sci Rep. 2016;6:39375.

福山型先天性筋ジストロフィーの臨床開発

石垣　景子
東京女子医科大学小児科

I.　福山型先天性筋ジストロフィー患者を対象としたステロイドの臨床試験

【緒言】ステロイド療法は, Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）において保険適用があり，進行性筋力低下に対する有効性のエビデンスが報告されている．福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）は脳奇形を伴う重度の筋ジストロフィーであり，20 歳前後に呼吸不全，心不全が原因で死亡するが治療法はまだない．退行が始まった 9 例の FCMD 患者に対するステロイド投与の臨床試験を行い，粗大運動能力尺度（GMFM）を用いた運動機能評価にて維持または改善することを報告した [1]．本研究では，FCMD におけるステロイド療法の保険適用承認を最終目標として，多施設共同試験を行うことを目的としている．

【方法】昨年度末には，2021 年度 AMED「臨床研究・治験推進研究事業」に係る公募（ステップ１）に採択され, 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター　病院臨床研究・教育研修部門臨床研究支援部と情報管理・解析部の ARO 支援を受け準備を進めた．【結果】退行が始まった 9 例の FCMD 患者に対するステロイド投与の臨床試験結果を論文報告した．2022 年 4 月～2024 年 3 月の予定で, ①ホモ接合型 FCMD 患者を対象としたステロイドの臨床試験（ホモ接合型 15 症例）および，②ホモ接合型およびヘテロ接合型を対象としたステロイド臨床試験（①に加え, 複合ヘテロ接合型 5 例）を作成した．非対照非盲検の第Ⅱ相試験で，プレドニゾロンを 1mg/kg 隔日（0.5mg/kg/日）で 6 カ月経口投与し，治療前後の GMFM による運動機能評価の変化を主要評価項目とした．治験実施協力施設全 7 施設での患者リクルート，実施可能性調査を完了し, 各施設の評価者が GMFM の講義および試験，　FCMD 患者における GMFM 評価の注意点の講義受講を完了した．

【考察】ARO 支援により，臨床試験準備は滞りなく完了した．特に，PMDA の RS 戦略相談の対面助言は，事前面談とその後の機構意見への回答書により両者同意に至り, 実際に対面助言をせずに相談記録が確定に至った. 製薬会社との治験薬提供の契約, 筋量測定機器の貸与に関し契約を進め, ほか, 来年度の治験開始に向け，安全評価委員会などの各メンバーに関しても決定している．AMED 公募（ステップ 2）に応募し，採択されれば来年度に治験を開始する予定としていたが, 残念ながら不採択となった. 今回の応募では, 採択に至らなかったが, 競争的研究費に応募する際には，現在治療薬のない筋ジストロフィーにおける治療開発の重要性に関して, 強調していく必要がある. 治験前準備は全て完了しており，新たな公募に挑む予定である．

【結論】ARO 支援を受け，プロトコール作成，PMDA との合意にも至り，治験準備は滞りなく完了した．

【参考文献】

1）Murakami T et al. Efficacy of steroid therapy for Fukuyama congenital

muscular dystrophy. Sci Rep. 2021 Dec 20;11(1):24229. doi: 10.1038/s41598-021-03781-z.
2) Murakami T et al. Severe muscle damage following viral infection in patients with Fukuyama congenital muscular dystrophy. Brain Dev. 2012;34(4):293-7.
3) 豊野美幸ら．歩行可能な福山型先天性筋ジストロフィーに対する経口ステロイド治療の効果. 脳と発達 2015; 47(suppl): S245-S245

II.　筋ジストロフィーにおける BNP と NT-proBNP との相関性

【緒言】BNP は，筋ジストロフィーの心合併症診療において，有用なマーカーの一つとされる．一方で，NT-proBNP についての知見集積は乏しく，その有用性は明らかでない. 昨年, 我々は当科で経過観察中の筋ジストロフィー患者の BNP 値と NT-proBNP 値とに有意な相関があることを示し，BNP 値, NT-proBNP 値とも左室収縮能と有意な相関を持つことを報告した. その後, さらに症例を蓄積し, 若干の知見を得たので, 報告する．

【方法】2019 年 10 月から 2021 年 10 月までの間, 当科に受診歴のある, 急性期症状のない福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）患者及びデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者の BNP 値，NT-proBNP 値及び左室短縮率（LVSF）について，後方視的に調べた．

【結果】FCMD のべ 54 名，DMD のべ 18 名が対象となった．BNP 値と NT-proBNP 値は, いずれにおいても, 正の相関を示した（R2=0.8402，P<0.0001）．BNP 値，NT-proBNP 値と LVSF とは，いずれも指数関数的な相関を示し，特に FCMD において，BNP>40 [pg/mL] ， NT-proBNP>125 [pg/mL]の例は，LVSF<0.2 を示した．

【考察】昨年と同様，FCMD 及び DMD において，BNP と NT-proBNP とは良好な相関を示した．NT-proBNP 値は BNP 値の凡そ 5 倍程度の値を示した．FCMD においても，DMD での既報告と同様，BNP 値と LVSF は指数関数的な挙動を示し, BNP>40 [pg/mL]または NT-proBNP>125 [pg/mL] での左室収縮能低下が示唆された．

【結論】筋ジストロフィーの心合併症診療において，NT-proBNP は BNP と同様に有用であり，その値は BNP 値の 5 倍程度であることが示唆された．

【参考文献】

1) Nakanishi T et al. Cardiac involvement in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. Pediatrics. 2006;117(6):e1187-92.
2) Schade van Westrum S et al. Brain natriuretic peptide is not predictive of dilated cardiomyopathy in Becker and Duchenne muscular dystrophy patients and carriers. BMC Neurol. 201;13:88

筋強直性ジストロフィーの呼吸管理：国際ガイドラインの実践と研究

石川悠加
国立病院機構北海道医療センター
神経筋／成育センター

【緒言】

2020 年に 1 型筋強直性ジストロフィー（ Myotonic dystrophy type1=DM1）の呼吸管理の国際コンセンサスが公表された[1)2)]。

【目的】

DM1 患者の咳機能を評価し、有効な咳介助方法について検討する。

【対象】

当センター開設の 2020 年 9 月から 2021 年 11 月までに理学療法処方があった DM1

【方法】

以下の項目を診療記録より調査する。年齢、性別、入院/在宅、遺伝子検査情報、歩行能力、日常生活能力（Barthel Index=BI）、誤嚥や呼吸関連情報、肺活量、咳のピークフロー（peak cough flow=PCF）、

咳介助の方法、非侵襲的陽圧換気療法（ noninvasive positive pressure ventilation=NPPV)使用状況

【結果】

DM1 患者 17 名のうち、呼吸機能検査不可能だった 1 名を除いた 16 名。年齢平均 31.9±14.1 歳（12～56 歳）。男性 4 名、女性 12 名。入院 3 名、在宅 12 名、他施設入所 1 名。CTG リピート数(中間値)平均 1168.3±656. 5（100～2400）。歩行可能（支持歩行含む）14 名、歩行困難 2 名 。Barthel Index (BI) 71.9±33.2 点（5~100 点）。誤嚥のエピソードあり 6 名、なし 10 名。肺活量平均 1705.0±811.2ml(500~3200ml)。PCF 平均 187.9±88.7L/min（65~355L/min）。NPPV 適応なし 4 名、導入 6 名、導入途中 3 名、導入予定 1 名（手術予定）、導入困難 2 名。VC と PCF の関係は、相関係数＝0.889。デュシェンヌ型筋ジストロフィー62 例での相関係数＝0.953 より低い。BI と PCF の相関係数＝0.663。誤嚥のエピソードの有無と PCF は、p＝0.2233 と有意差なし。CTG リピート数と CPF の相関係数＝-0.569、咳介助の方法は、適応なし 2 名、徒手による咳介助 3 名、機械による咳介助(mechanical insufflation exsufflation=MIE)8 名、咳介助導入困難 3 名（理解度不十分、介助者不在）。

【考察】

DM1 では歩行能力、日常生活活動、肺活量が比較的維持され、誤嚥やムセのエピソードがない場合でも PCF が低い患者が多い。誤嚥時には MIE を要すると考えられた。

【結語】

DM1 の呼吸ケアの国際コンセンサスに基づき、咳機能低下例に対して咳介助を適応したが、理解度と介護力が不十分な患者において 推奨される呼吸ケアの適応が困難なことがあり、今後の課題と考えられた。

【参考文献】

1) Boentert M, Cao M, Cao M, Mass D, et al. Consensus-Based Care Recommendations for Pulmonologists Treating Adults with Myotonic Dystrophy Type 1. Respiration 2020;99:360-368

2) Hawkins AM, Hawkins CL, Razak KA, et al. Respiratory dysfunction in myotonic dystrophy type 1: A systematic review . Neuromuscul Disord 2019;29: 198-212

神経・筋難病の臨床開発推進基盤と診療エビデンス創出を目的とする臨床試験ネットワークの展開

尾方 克久
国立病院機構東埼玉病院

緒言

神経・筋難病，とくに筋ジストロフィーを含む神経・筋変性疾患は，その病態機序を修飾する治療の開発に至らず，また機能低下の進行を抑制する治療の有効性を検出できる評価指標の確立が困難で，希少疾病であることと相俟って，治験や臨床研究の推進が容易でない領域であった[1]。近年，疾患修飾療法の開発が進み，神経・筋難病の治験や臨床研究の推進が図られるようになった。筋ジストロフィー領域では，GCP 準拠の治験や臨床研究を推進する目的で，筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク（MDCTN）が 2012 年に設立され，活動してきた[2,3]。2019 年には，神経・筋疾患患者登録事業 Remudy とともに，神経筋疾患先端医療推進協議会（CCNMD）における事業として発展的に改組された。患者登録事業と臨床試験ネットワークの効果的な連関による，治療開発や診療エビデンス創出の更なる推進が期待されており，そのための課題と方策を検討した。

方法

① CCNMD 施設調査

加盟施設の臨床試験実施体制整備状況を把握し開発企業等に資するため，MDCTN では 2012 年の設立以来毎秋に施設調査を実施してきた。CCNMD への改組後も引き続きこの施設調査を実施しており，この回答が加盟施設にとって実質的に唯一の加盟条件となっている。CCNMD 施設調査の回答の内容と状況を集計した。

② 患者登録事業と臨床試験ネットワークの効果的な協働体制の確立

患者登録事業 Remudy と臨床試験ネットワーク MDCTN が CCNMD のもとに運営統合され，両者の連関による，治療開発や診療エビデンス創出のいっそうの推進が期待される。そのための効果的な協働体制を確立する方策を検討した。

結果

① CCNMD 施設調査

2012 年の設立以来，9 回の施設調査を行った。2016 年以降は，施設群を構成し「診療症例数調査」をとりまとめて回答する制度を導入したため，「治験・臨床研究実施体制調査」と分け 2 部構成とした。

加盟 36 施設（うち 5 施設が 1 施設群を構成）のうち，すべての調査に回答したのは 29 施設（81%，2022 年 3 月 31 日現在）であった。

2021 年度の「治験・臨床研究実施体制調査」に回答した 29 施設のすべてで，「努力性肺活量」「動脈血ガス分析」「経時的パルスオキシメトリ」「12 誘導心電図」「ホルター型心電図」「経胸壁断層心エコー」を実施可能であった。機能測定として「10m 歩行／走行」「床からの起き上がり時間」の測定が全施設で実施可能であった。倫理審査委員会は 28 施設に，治験審査委員会と利益相反審査委員会は 25 施設に設置され，20 施設が筋ジストロフィーを対象とする介入試験を経験していた。24 施設が「入院での治験実施可能」と回答し，治験実施体制の整備が進んでいた。26 施設が小児－成人医療の連携があると回答したが，「共同で診療する体

制がある」のは 6 施設に留まり，20 施設は「医師同士で個人的に対応」していた。

2021 年度の「診療症例数調査」に回答した 26 施設と 1 施設群における症例数の単純合計は 7,115 人で，病型は多い順に筋強直性ジストロフィー1 型（25.7%），デュシェンヌ型（23.0%），ベッカー型（10.7%），顔面肩甲上腕型（8.3%），脊髄性筋萎縮症（5.3%），先天性ミオパチー（5.2%），分子診断で病型確定した肢帯型筋ジストロフィー（4.7%），病名未確定の肢帯型筋ジストロフィー（4.3%），福山型先天性筋ジストロフィー（4.3%）であった。

② 患者登録事業と臨床試験ネットワークの効果的な協働体制の確立

MDCTN における多機関共同研究の推進を目的に，2020 年に Remudy 委員会と MDCTN 委員会が共管する臨床研究企画・運営のための作業部会が設置され，研究計画立案や課題運営を担当することになった。この作業部会において，診療ガイドライン策定において未解決の Clinical Question とされた課題を Research Question とし，診療エビデンス創出を目指す研究計画を立案すること等が想定された。デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン作成委員会が改訂作業のため再編成され，その委員長に MDCTN 委員会委員長が就任することとなったため，ガイドライン改訂と並行して作業を進める。

また，Remudy の対象となっていない病型の治療開発や，具体的な Remudy 利用に至る前のコンセプトについて，研究者や開発企業からの相談に対応する窓口を設けることが望まれる。

臨床研究企画・運営のための作業部会の運営や，研究者や開発企業からの相談への対応に協働してあたるため，Remudy 委員会と MDCTN 委員会の正副委員長で構成する協働協議会（仮称）を CCNMD の組織上に設置することについて，CCNMD 総務委員会に提言した。

考察

2020 年度は，コロナ禍のため施設調査の回答依頼の発出が遅くなり，回答入力も遅延気味であった。CCNMD 施設調査から，加盟施設の治験・臨床研究実施体制整備が進んでいることが裏付けられた。加盟施設で普及し広く実施可能な機能測定を有効性評価指標として標準化できるような検証研究が望まれる。施設調査への回答率が著しく低い加盟施設が複数見受けられ，対応が必要である。コロナ禍の中，開発企業が試験実施施設選定にあたって各施設の実施体制整備状況を調査することが困難になっていると思われ，この施設調査は試験計画立案や施設選定に資するものと思われる。施設調査の結果に関する広報を推進し，治療開発推進に役立てたい。

加盟施設で診療する筋ジストロフィー関連疾患患者の約 5%が「病型未確定の肢帯型筋ジストロフィー」とされており，この中に新たな病型や異なる疾病（先天性筋無力症候群，免疫介在性壊死性ミオパチー等）が含まれている可能性がある [4]。これらの症例の診断に関する大規模調査研究を実施する価値があると思われる。

患者レジストリと臨床試験ネットワークの連関に実効性を持たせるため，Remudy 委員会と MDCTN 委員会の協働の主体として両委員会正副委員長による協議会を CCNMD の組織上に設置することを提言した。コロナ禍が長引き加盟施設間の意見交

換や具体的活動に至っておらず，速やかに運営体制を整えたい。

結論

CCNMD 加盟施設における治験・臨床研究実施体制は向上しており，その継続と広報推進を進める。患者登録事業 Remudy と臨床試験ネットワーク MDCTN の効果的協働により，治療開発や診療エビデンス創出の更なる推進を図る。

参考文献

1) 祖父江 元．神経変性疾患の病態抑止治療は可能か．内科 2007;100:1060.
2) Ogata K. Muscular Dystrophy Clinical Trial Network in Japan. *In*: Translational research in muscular dystrophy. Springer, 2016, pp.179-188.
3) Shimizu R, Ogata K, Tamaura A, et al. Clinical trial network for the promotion of clinical research for rare diseases in Japan: Muscular dystrophy clinical trial network. BMC Health Serv Res 2016;16:241.
4) 尾方 克久: 肢帯型筋ジストロフィー. 筋ジストロフィーの標準的医療普及のための調査研究班（編）：ジストロフィーの病型診断を進めるための手引き（肢帯型・先天性・筋強直性ジストロフィーを念頭に）, 2019, pp17-27

ベッカー型筋ジストロフィーのＣＴを用いた骨格筋評価

久留聡
国立病院機構鈴鹿病院脳神経内科

【目的】
我々はベッカー型筋ジストロフィー（BMD）自然歴研究（AMED 中村班）において骨格筋画像評価を実施する予定である。通常 CT は全身７スライスの撮影を行うが、この中で肩甲帯、上肢における骨格筋評価は他の部位に比較して難しい。スライスレベルの統一が難しく、筋の同定が必ずしも容易ではなく、骨のアーチファクトの影響が大きいため個々の筋の評価法である Mercuri 法は応用しにくい。しかしながら、BMD では進行期には多くの例で肩甲帯、上肢筋は障害されるため、自然歴を記述するためには適切に筋群の障害程度を評価する評価法が必要である。そこで、今回我々は簡易評価スケールを考案し、自験例に対してこれを応用しその有用性を検証した。
【対象と方法】
簡易評価スケールとして、スライス内の筋を総合的に
Ａ．全ての筋に異常所見認められず
Ｂ．一部の筋に軽度の異常所見
Ｃ．ＢとＤの中間
Ｄ．大部分の筋が高度萎縮ないし脂肪置換
の４段階評価を用いた。
対象は国立病院機構鈴鹿病院で 2014～2021 年に骨格筋 CT を実施した BMD(遺伝子確定)症例 30 例（複数回実施されている場合は直近の画像）。評価は肩甲帯、上腕、大腿、下腿の４スライスで行った。画像評価の結果と撮影時年齢および genotype(ジストロフィン遺伝子変異)との関係について検討した。
【結果】
撮影時年齢は平均 36.2±18.6 歳（8～78 歳）。欠失変異 25 例、重複変異 3 例、ミスセンス変異 1 例、ナンセンス変異 1 例であった。歩行不能年齢が 15 歳以上で臨床的には BMD であるが out of flame 変異を有する例が 3 例であった。
例外なく大腿が最も早く障害され、ついで下腿であり、その後に肩甲帯、上腕であった。
1. 正常･軽症例: 3 例（17 歳Δ45-47del、22 歳 Δ48 del、36 歳 Δ24−48 del）は全スライス正常（A）であった。77 歳例（Δ10 del）は大腿の中等度の障害（C）のみであった。
2. Hot spot 変異
(1) Exon45-47 欠失例（Δ45-47del、n=9、8～78 歳）: 20 歳以下の３例は下肢の障害（C）のみ、50 歳以降の２例は全スライス高度障害（D）であった。ただし、上肢の障害程度は 30～40 代で幅が認められた。肩甲帯に障害（B）が見られた最小年齢は 26 歳、肩甲帯、上腕とも正常（A）の最高年齢は 46 歳であった。
(2) Exon45-48 欠失例（Δ45-48 del、n=7、17～68 歳）: 20 歳以下の１例は全スライス正常（A）、20 代の１例は下肢の障害（B）のみ、68 歳例は全スライス高度障害（D）であった。肩甲帯・上肢に障害（B）が

見られた最小年齢は 29 歳、肩甲帯、上腕とも正常（A）の最高年齢は 39 歳であった。

3. 重症例

全スライス高度障害（D）の最小年齢は 28 歳例（Δ 2 dup）であった。out of flame 変異例は in flame 例に比して明らかに重症であった。

【考察】

BMD の自然歴において、上肢筋がどの時期からどの程度障害されるのかについて十分な検討はなされてない。BMD 自然歴研究では主に Mercuri 法を用いた半定量評価を基本とする予定であるが、上肢筋に厳密に適用しようとすると欠損データが多くなってしまう恐れがある。今回新たに考案した簡易評価スケールを用いたパイロット研究では、肩甲帯、上肢近位、下肢近位、下肢遠位の相対的な障害程度の比較、年代毎の全身罹患状況の把握、遺伝子型と臨床型との関係の検討もある程度可能であることを示すことができた。

【文献】

1. Barp A, Bello L, Caumo L,et al. Muscle MRI and functional outcome measures in Becker muscular dystrophy. Sci Rep. 2017:22;7(1):16060.
2. Tasca G, Iannaccone E, Monforte M, et al. Muscle MRI in Becker muscular dystrophy. Neuromuscul Disord. 2012 Oct 1;22 Suppl 2:S100-6.

神経筋性脊柱側彎症の術後成績と周術期合併症の危険因子に関する研究

髙相　晶士
北里大学医学部整形外科学

緒言

筋ジストロフィー、脊髄性筋萎縮症などの神経・筋疾患は進行性の筋力低下により歩行困難となり、しばしば進行性の神経筋性脊柱側弯症（NMS）を呈する。側彎症の進行を防ぐための手術治療は脊柱側弯の矯正や座位保持困難の改善など高い有効性が報告されている。しかし一方で、神経筋性側彎症の高い周術期合併症率が報告されるなど安全性について懸念がある。本年は、高度脊柱変形を呈した NMS 患者の手術成績について検討した。

方法

手術時に Cobb 角 100 度以上の高度脊柱変形を呈し、後方矯正固定術を試行した弛緩型神経筋性脊柱側弯症患者 30 例（男児 13 例、女児 17 例、平均年齢 13.8 歳、脊髄性筋萎縮症 11 例、ドゥシェンヌ型筋ジストロフィ 8 例、その他 11 例）を対象とした。術前呼吸機能として%肺活量と 1 秒率を、術前心機能として左室駆出率（EF）を、手術因子として手術時間、出血量、固定範囲、周術期合併症を調査した。また、画像所見として、術前・術後 1 ヶ月の Cobb 角と骨盤傾斜角（PO）を調査し、それぞれ矯正率を調査した。また、手術時に骨盤まで固定した P 群（6 例）と L5 までの固定とした L5 群（24 例）において術後成績を 2 群比較した。

結果

対象患者の術前平均 Cobb 角は 121.9 度、PO は 42.9 度と高度の脊柱変形を呈しており、術前%肺活量 34.1%、1 秒率 91.5%、EF66.1%と術前から重度の拘束性換気障害を呈していた。平均手術時間は 339 分、平均出血量は 1440ml と高侵襲の手術を要しており、8 例 26.7%に周術期合併症を認め、Cobb 角・PO の矯正率は 48.5%、42.0%であった。骨盤固定の有無による 2 群間比較では、P 群は L5 群と比べて手術時間が有意に長く、PO の術後矯正率が有意に良好であった。

結論

高度脊柱変形を呈した神経筋性疾患患者は PO も不良であり、術前から重度の拘束性換気障害を呈し、高侵襲な手術を要していた。我々は重度拘束性換気障害や高度脊柱変形が NMS 手術の周術期合併症などの危険因子となりうることを報告[1-3]しており、手術リスクが高まる前の早期からの手術介入が望ましい。高度脊柱変形に対して、骨盤まで固定を行うことは良好に PO を矯正することができる一方で手術侵襲が高くなる可能性があり、術前の患児の全身状態に応じた術式選択が必要である。

参考文献

1. 宮城正行、松本光圭、三村悠祐ら　神経筋性脊柱側弯症に対する後方固定手術における周術期合併症の検討 Journal of spine research 2021 年 12 巻 11 号 p.1332-1337
2. Saito W, Inoue G, Shirasawa E, et al. Risk factors associated with prolonged intensive care unit stay after posterior spinal fusion for Duchenne muscular dystrophy. J Orthop Sci. 2021 May;26(3):332-336.
3. Matsumoto M, Miyagi M, Saito W, et

al. Perioperative Complications in Posterior Spinal Fusion Surgery for Neuromuscular Scoliosis. Spine Surg Relat Res. 2018 Apr 7;2(4):278-282.

筋強直性ジストロフィーの臨床開発推進の基盤的研究

分担研究者　高橋正紀
大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学

緒言

希少疾患の臨床開発を円滑に進めるためにも疫学や自然歴を明らかにすることが重要であり、ジストロフィノパチーを皮切りに神経筋疾患の患者登録が国立精神・神経医療研究センターによるRemudyとして開始された。

筋強直性ジストロフィーの患者登録については、国立精神・神経医療研究センターと大阪大学とが共同で、2014年10月2日より運用開始し、TREAT－NMDの国際レジストリとも協調している。2022年3月末現在で、343 の医療機関、654 名の医師の協力により、1135 例の患者登録があり、世界的にも有数の規模となっている 1,2)。また昨年度に、事務局業務の統合による効率化、データのweb入力化が進んだ。また、初めて医師主導治験へのリクルートにも活用されたり、脂質など代謝障害についての二次調査にも活用されている 3)。

筋強直性ジストロフィーにおいても治療開発が進んでおり、標準治療ケアの確立、既存治療の均霑化が重要な課題となっている。2021年に診療ガイドラインが策定されたことから、治療の均霑化が進むことが期待されている。そこでガイドラインの効果を検証するための基礎資料として、診療ガイドライン策定前のレジストリデータについて、治療を中心に解析した。

方法

2020年3月現在の登録患者のうち、登録時に20歳以上であり、サザンブロット法によって DM1 と確認されている患者を対象とした。尚、cDMは除外した。

解析のために使用した項目は、背景情報として、登録時年齢、発症年齢、性別、身長、体重、サザンブロット法で測定したCTGリピート数、歩行能力、車椅子の使用と使用開始年齢である。呼吸に関しては、%FVC、人工呼吸器使用歴とその方法。心臓に関しては、心電図におけるPR間隔、QRS幅、心エコー検査でのLVDd、EF%値、心伝導障害の有無、心筋症の有無、心臓合併症に対する薬物治療内容、ペースメーカーまたは植え込み型除細動器の有無と植え込み時年齢、アブレーション術の有無。良性・悪性腫瘍とその内容。糖代謝に関しては、耐糖能異常の有無、HbA1c、糖尿病服薬治療の内容、インスリン使用の有無。自覚的な筋強直の程度、筋強直に対する薬物治療の内容。自覚的な眠気の程度、眠気に対する薬物治療の内容。胃ろう・経管栄養施行の有無と開始年齢、白内障手術の有無と手術時年齢。その他合併症である。

結果

対象患者は809名で年齢は20歳から78歳にわたり、平均年齢は44.2歳で性差は見られなかった。2.5%(101/809)の患者は歩行不能であり、車椅子は23%(186/809)が使用していた。

人工呼吸器の使用率は 15.2%であり、使用者の約 4 割が歩行不能であった。また使用群の 88%が非侵襲の人工呼吸器を使用していた。使用開始年齢の平均は46.6歳であ

った。人工呼吸器不使用群にて%FVC が 50%を下回る患者は 12.8%であり、30%をも下回る患者は 2%存在した。

心伝導障害に関する指標であり、心臓突然死のリスクとされる PR interval 240ms 以上または QRS duration 120ms 以上の指標に当てはまる患者は 31.7%であった。ペースメーカーや ICD などのデバイスの植え込みやアブレーション術はそれぞれ 2.8%と 2.3%であった。

心不全に関する指標である LVDd が 55mm 以上の患者は 1.6%、EF%が 50%未満の患者は 3.3%であった。心不全に対する薬物治療は全体の 9.6%で行われており、内訳としてはβブロッカー、ACE-ARB、利尿剤の順に多かった。

耐糖能異常があると医師が判断していた患者は全体の 21.2%であった。薬物治療を受けていないのが 42%、経口薬物治療群が 42.9%、インスリン治療群が 5.7%、経口薬とインスリン併用治療群が 9.1%であった。経口薬物の内訳として DPP4 阻害剤、ビグアノイド、SU 薬、アルファグルコシダーゼ阻害剤、チアリゾン、グリニド薬の順で多かった。

筋強直症状を訴えているのは全体の 96%で筋強直に対する処方としてメキシレチンの投与を受けている患者は全体の 1.9%であった。

日中の眠気を訴えている人は全体の 71%であり、眠気に対する処方としてモダフィニルもしくはメチルフェニデートの投与を受けている患者は全体の 1%であった。

考察

本研究は、日本における治療の現状を、患者レジストリデータを用いて、snapshot 的、臓器横断的に報告した。これまで患者登録を活用した研究が多数報告されているが、本研究のように治療状況を多臓器にわたり横断的にまとめた報告はみあたらない。

呼吸関連死は死因の第一位であり、呼吸関連死の減少は生命予後改善の最大の課題の一つである。ガイドラインによれば%FVC が 50%を切り最大吸気圧が 60cmH2O を下回る場合 or 日中の高二酸化炭素血症(PaCO2 が 45mmHg 以上) or 夜間低換気が示されると人工呼吸器の使用が推奨される。しかし我々のデータ中には%FVC が 50%以下にも関わらず人工呼吸器を使用していない患者がある程度存在し、2%の人工呼吸器不使用患者は 30%を下回っている。患者の自覚が乏しいことや、人工呼吸器使用が主観的な改善につながらないこと、理解の問題などにより、コンプライアンスが不良になったり、人工呼吸器の導入が断念されたりしていると考えられる。一方、%FVC が 50%以上だが人工呼吸器を使用している患者も存在する。これは夜間低換気や睡眠時無呼吸症候群の改善を目的とした利用が考えられる。本症の呼吸障害の機序には骨格筋障害だけでなく中枢神経障害も関与し複雑である。呼吸は生命予後に関係する最重要課題であり、病態の解明と人工呼吸導入の最適化の検討の必要がある。

本研究では日本・海外における本症の診療ガイドラインが普及する以前の日本における治療の現状を snapshot 的、横断的に解析した。Remudy 患者登録においては毎年データの更新を行っており、今後ガイドライン策定後のデータとの比較が可能である。

本研究の限界としてコレクションバイアスがあげられる。全数登録ではなく、患者主導の登録であるため、自覚症状の乏しい軽症患者や、身体症状・中枢神経症状の重い患者の登録が少ない可能性がある。また、登録に熱心な患者や、登録に関心のある医師を受診している患者が多い可能性があり、治療内容も我が国の平均を反映していないかもしれない。検査施行のバイアスも考えられ、有症状者・重症者を中心に検査が施行され、軽症者では検査そのものが実施されていない傾向もあると想定される。

結論

日本における治療の現状を snapshot 的、横断的に解析した。Remudy 患者登録においては毎年データの更新を行っており、今後ガイドライン策定後のデータとの比較が可能である。

参考文献

1. Wood L, Bassez G, Bleyenheuft C, et al. Eight years after an international workshop on myotonic dystrophy patient registries: case study of a global collaboration for a rare disease. Orphanet J Rare Dis. 2018 Sep 5;13(1):155.

2. Sugimoto M, Kuru S, Takada H, Horie R, Yamauchi K, Kubota T, Matsumura T, Nakamura H, Kimura E, Takahashi MP. Characteristics of myotonic dystrophy patients in the national registry of Japan. J Neurol Sci. 2022 Jan 15;432:120080.

3. Hama M, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP, Takada H. Metabolic complications in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional survey using the National Registry of Japan. J Neurol Sci. 2021 Aug 15;427:117511.

新生児期から小児期における高 CK 血症男児女児症例の診断・フォローアップにおける倫理的・臨床的・分子遺伝学的検討

竹島泰弘
兵庫医科大学小児科学

ジストロフィン遺伝子変異を保有する女性の診断・フォローアップにおける倫理的・臨床的検討

【緒言】Duchenne/Becker 型筋ジストロフィー（DMD/BMD）はジストロフィン遺伝子変異による X 連鎖性遺伝性筋疾患であり、主に男児に発症する。一方、ジストロフィン遺伝子変異を有する女性では、多くは無症状であるが一部に筋症状や心筋障害などを認める。しかし、その診療体制は十分には確立していない。ジストロフィン遺伝子変異を有する女性の診断状況・臨床像について検討した。

【対象と方法】当院小児科・遺伝子診療部に 2014 年 4 月～2021 年 10 月までに受診歴のあるジストロフィン遺伝子変異を有する女性 43 例（39 家系）を対象とし、診断背景や臨床像について、診療録をもとに検討した。

【結果】初診時年齢は 0～57 歳であった。診断契機は、DMD/BMD 家族歴 : 32 例、機会採血での高 CK 血症 : 6 例 、筋症状 : 5 例であった。筋生検は 5 例で実施され、うち 1 例は診断に至らず遺伝子検査により確定診断した。遺伝子変異は、1 ないし数エクソンの欠失 : 22 例、重複 : 3 例、微小変異 : 17 例、染色体異常 : 1 例（46, X, t(X;19)(p21;q12)）であった。家族歴を有する 28 例（未測定 4 例除く）のうち 15 例に高 CK 血症を認めた。2 名で 20 歳台以降に筋力低下を認め、6 名では 10 歳台までに運動発達の遅れや筋痛などの症状を呈した。2 例では言語の遅れを合併していた。心臓超音波検査は 17 例で実施され、30 歳台以降に 4 例で心機能低下を認めた。うち 1 例は心不全発症後に家族歴から診断された。

【考察と結語】女性ジストロフィン遺伝子変異保有者の診断における問題点の一つに、筋症状や偶発的高 CK 血症を主訴に受診する未成年女児への診療体系が確立していないことがある。未成年のジストロフィン遺伝子変異保有女性診断に対する倫理的配慮が必要である一方、炎症性筋疾患、肢帯型筋ジストロフィーなどとの鑑別は臨床的に困難なことが多い。不必要な検査を避け、適切に診断するための診療体系を確立する必要がある。

ジストロフィン遺伝子変異保有女性の多くは無症状であるが、一部は幼小期～成人期に症状出現が診られる。どのような症例にいつどのような症状が出てくるのを予測することは困難であり、また、ステロイド内服など治療のコンセンサスは確立していない。さらに、心機能障害の合併は筋症状の有無や CK 値では予測できない。フォローアップを行う上において、これらの点に留意する必要がある。

今回の検討では、無症状例が多いものの一部の症例では幼少期から様々な症状を呈しており、症例に応じた診断アプローチが必要であった。また、家族歴を有しながら、50 歳台での心不全発症を機に診断された症例もあり、遺伝リスクや健康管理についての情報提供が不十分な症例も見られた。ジストロフィン遺伝子変異を有する女性の診断・フォローアップにおいて、遺伝カウンセリングはもとより女性自身の健康管理を適切に行う体制構築が求められる。

【参考文献】

Lee T, Tokunaga S, Taniguchi N, Misaki M, Shimomura H, Nishino I, Itoh K, Takeshima Y. Underlying diseases in sporadic presentation of high creatine kinase levels in girls. Clinica Chimica Acta 2021; 519: 198-203.

ベッカー型筋ジストロフィーの自然歴調査研究の結果と将来展望

中村　昭則
国立病院機構まつもと医療センター
脳神経内科・臨床研究部

緒言

ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）はデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）の軽症型であることからDMD治療開発における一つの目標となっている。しかしながら、BMDの経過や重症度は患者間で大きく異なり、遺伝子型と表現型の相関関係の詳細は未だ不明である。そこで全国23の医療機関との共同で305名のBMD患者データを収集し、その臨床像と、遺伝子型-表現型との関連について検討を行ってきた。昨年度の本会議ではBMD全体の臨床像に関する記述統計解析の結果および遺伝子変異の分布について報告した。今回、発生頻度の高い遺伝子変異の臨床像について分析統計解析を行った。

方法

発生頻度が高かったexon45-47del（69名）、exon45-48del（40名）、exon45-49del（14名）、exon45-55del（12名）、exon3-7del（10名）、及びexon45-53del（9名）の6欠失変異および他の変異（151名）の表現型および治療効果について分析統計的に検討した。

結果

各遺伝子変異群間で年齢、BMI、血清CK値に有意差は見られなかった。車椅子使用者の割合は、exon3-7delが60%（平均開始年齢17.8歳）と最も高かく、次いでexon45-49delが57.1%（平均開始年齢が31.6歳）、exon45-47del、exon45-53del、exon45-48delであった。一方でexon45-55delは49歳まで歩行可能であった。%FVCはexon3-7delで最も低く（人工呼吸器装着率は最も高い）、次いでexon45-53del、exon45-49delの順であったがexon45–47delとexon45–55delには人工呼吸器装着者は1例もいなかった。ステロイド治療は13%で行われており、一部で血清CK値の低下、%FVCの改善を認めた。

心機能パラメータ（BNP値、LVEF値）は変異内でのばらつきが大きく変異間の差は少なかったが、骨格筋障害が比較的軽いexon 45-48del、exon45-55delで心機能の低下や心不全症状出現の時期が早い傾向にあった。心保護薬（ACE阻害薬やβ遮断薬）の投与は一般に心機能悪化例に対して投与されていると思われ、変異間の差を見出すには至らなかった。

考察

本邦のBMD患者の臨床像および遺伝子型-表現型の関係を検討した結果、歩行機能および呼吸機能は遺伝子型と関連している可能性が示唆された。一方、exon3-7del以外の骨格筋障害の軽い変異で心機能が早期より低下する傾向を認めたが、心機能パラメータは変異内のばらつきが大きく変異間の差も少なかったことから変異以外の関与も示唆された。約3割以上の例で診断時には何らかの心電図異常が認められることから、BMDでは骨格筋症状の有無に関わらず定期的な心機能検査の実施が必要である。将来的には心筋保護薬の早期介入研究も必要であると考えられる。今回の結果は、患

者や臨床医への提供すべき情報が多く含まれており、定期検査による予防・精密医療の確立、新しい治療法の開発へ展開していくことが期待される。

参考文献

1. Nakamura A, Shiba N, Miyazaki D, et al. Comparison of the phenotypes of patients harboring in-frame deletions starting at exon 45 in the Duchenne muscular dystrophy gene indicates potential for the development of exon skipping therapy. J Hum Genet 62. 2017: 459–463.
2. Nakamura A: X-linked dilated cardiomyopathy: a cardiospecific phenotype of dystrophinopathy. Pharmaceuticals (Basel) 8. 2015: 303–320.
3. Nakamura A: Moving towards successful exon-skipping therapy for Duchenne muscular dystrophy. J Hum Genet 62. 2017: 871–876.

筋画像を用いた，筋量測定の自動化

中山　貴博

（1） 3年間の研究目標及び研究計画の概要

① IBIC を用いた筋疾患データベース：久留先生と共同して，筋画像を用いた病型診断アルゴリズムをまとめた．筋画像アトラスには 2022 年度中にまとめる予定である．

② 筋ジストロフィー患者の骨格筋 CT 画像について，推定関数を用いた筋量定量方法を報告した．その際，骨格筋外の皮膚や皮下血管を手動消去する必要があった．それらの処理を自動化するため，非対象物消去ロジックを構築し，非対象物を消去した部位の位置，形状，面積などと手動で修正した教師データを人工知能(ＡＩ)に機械学習させることで，誤検出した組織を非対象物として消去する，ＡＩを利用した自動化ソフトの開発中である．

（2） 本年度の研究成果

① 「筋画像を用いた肢帯型筋ジストロフィーの診断アルゴリズム」を作成し，脳神経内科専門医試験受験レベルの医師に Google Form を用いた本アルゴリズムの研修及び試験を実施した．正答率は 6 割と予測値に一致した．本アルゴリズムは実用に値すると考えられる．

② 深層学習のニューラルネットワーク中間層で使用することを想定した，筋輪郭自動抽出プログラムを開発し検証した．本プログラム処理で得られた画像と手動で処理した画像による大腿筋量は誤差は 0.25%程度とわずかであった．

（3） 今後の研究の進め方について

① 本アルゴリズムで鑑別に挙がらなかった症例数が少ない筋疾患について，筋画像アトラスを編集中である．

② 深層学習のニューラルネットワークに必要な連携データとして，画像から算出される大腿骨の長さや年齢・性別のほか，拡張性のあるデータ構造を考慮した．大量の教師データによる単純機械学習より、誤差の少ない正解ラベルを使用したほうが短時間で精度の高い全自動の骨格筋量測定が可能となることが予想される．今後はニューラルネットワークの動作検証を行うことを予定している．

（4） 研究成果の発表（原著論文、学会発表他）

①②とも小牧班班会議で発表した．①については 2022 年度での論文化を予定している．

COVID-19 の感染状況が予想できないため，学会発表は予定していない．

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録と活用

松村　剛
国立病院機構大阪刀根山病院医療センター

緒言

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(Facioscapulohumeral muscular dystrophy: FSHD)は、筋ジストロフィーの中では、ジストロフィノパチー、筋強直性ジストロフィーに次いで患者数の多い疾患であるが、発症年齢や重症度の幅が大きいこと、呼吸不全や心不全など致死的な合併症が少ないと思われていること、根本的な治療薬が無いことなどから、医療機関を受診していない患者も多く、臨床像には不明な点も多い。

FSHD の発症メカニズムは近年明らかにされつつあり、4 番染色体の 3.3kb 繰返し配列(D4Z4)の短縮(FSHD1)やメチル化制御因子(*SMCHD1*, *DNMT3B*, *LRIF1* など)の変異(FSHD2)によって、この領域のメチル化が低下することで、成人では通常発現しない *DUX4* 遺伝子が発現するようになることが、主な原因と考えられるようになってきた。こうした知見に基づいて、新規治療薬の開発も進められており、海外では治験が行われているものもある。このような背景の下、16 か国以上で FSHD の患者登録が稼働している。このような背景の下、患者グループからも Remudy で本症の患者登録を開始するよう要望が提出された。

本邦では、これまでも Registry of muscular dystrophy (Remudy) や Muscular dystrophy clinical trial network (MCTN)などの基盤整備が進められており、これらを基盤として、難病全体における clinical innovation network (CIN)や難病プラットフォーム整備が進められてきた。登録疾患が増えてきたこと等を踏まえ、登録にかかる効率や利便性の向上を目指して、登録・臨床ネットワーク事業の再構築を進め、2020 年から事務局の統合、新登録システムでの運用を開始している。この新しいシステムを用いて、FSHD の登録を 2020 年 9 月 1 日から開始した。患者グループと連携して広報活動などを行うことで、医療機関を受診していない患者にも登録を促し、定期的医療管理に結びつける。また、本症の主観的臨床評価指標である、Facioscapulohumeral muscular dystrophy health index (FSHDHI)の日本語版作成・検証作業に、患者登録を利用するなど臨床研究への活用も進める。

方法

COVID-19 パンデミックが続く中、ホームページや Web セミナー、Remudy 通信、班員施設・ネットワーク参加施設などを活用し、患者グループとも協力して登録等についての継続的な周知活動を行う。関連他班と共催で筋ジストロフィーの CNS 障害研究会や画像診断セミナーなどを実施する。

FSHDHI の検証作業(内的妥当性、外的妥当性評価)に、患者登録を活用し登録患者の協力を得て実施する。

自然歴調査では歩行可能な Duchenne 型筋ジストロフィーについて、治験対照群として使用可能な自然歴調査、市販後調査レベルの Remudy-DMD への参加を行う。また、デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の代替栄養法導入時期に関する多施設共同研究にも参加する。

結果

FSHD の患者登録は、2022 年 1 月末時点までに 125 名に達している。ジストロフィノパチーや筋強直性ジストロフィーに比べると初期の登録者数は少ないが、患者数自体がこれらより少ないこと、本症では軽症例が多く受診頻度が低いこと、遺伝学的診断を受けていない患者も多いこと、遺伝学的診断技術の進歩により過去に遺伝学的診断を受けた患者でも追加検索が必要な場合があることなど、直ぐに登録者数が増えに

くい要素があるため、継続的な周知活動が重要と考える。

FSHDHI の妥当性評価については、作成元の Rochester 大学、INQoL の版権を有する Mapi Research Trust との連絡・契約等に時間を要しているが、日本語版を確定し、登録患者を含めた調査開始を間もなく開始する予定である。

Duchenne 型自然歴調査については、1 例で調査を実施中である。Remudy-DMD については、5 例を登録し実施中である。デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の代替栄養法導入時期に関する多施設共同研究の一次、二次調査にも協力した。

アウトリーチ活動については、実地での開催は困難な状況が続いており、Web セミナーの形で筋ジストロフィーの CNS 障害研究会や画像セミナーを実施した。

考察

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録を開始した。これにより、国際共同治験への参加や、疫学データ蓄積、臨床研究への活用が期待される。TREAT-NMD において FSHD core dataset の改定が予定されており、それにも参画することとなった。患者グループとも共同し、patient oriented の活動発展を図りたい。

Duchenne 型自然歴調査、Remudy-DMD については、対象患者の登録・データ収集を順次実施することで、治験対照群、市販後調査に資するデータの蓄積が期待される。

代替栄養法導入調査など、患者登録や臨床研究ネットワークを活用した臨床研究の推進によりエビデンス構築を図っていく。

筋ジストロフィーの臨床開発推進、ならびにエビデンス構築を目指した研究

矢澤　健司
日本筋ジストロフィー協会

はじめに

患者会として、患者･家族の QOL 向上を求め、一日も早い治療法の開発のための協力が必要です。このため、患者･家族の現状把握や意識調査は重要で、全国からの問い合わせに対応できる相談機能を設置し、病型ごとの分科会を設けて情報を集め、会員からの要望に応えています。早期に診断して適切な治療を早期に始めることは重要で、研究の理解促進に努め、研究の基礎となる遺伝子データベースを整備し、治験や研究開発に協力しています。医療や福祉の社会的環境を整えるための運動も行っています。

方法

･分科会活動

福山型分科会[1)]

福山型の遺伝子登録は 2011 年10 月から始まり、2021 年 8 月 1 日現在の福山型筋ジストロフィーの遺伝子登録件数は 282 件です。福山型の分科会はふくやまっこ家族の会として 2012 年に立ち上げました。分科会では遺伝子登録や福山型筋ジストロフィーの解説、お困りごとの解決情報など様々な情報が掲載されています。

2022 年 2 月 26 日（土）に大澤真木子先生のオンライン講演会が行われ、福山型先天性筋ジストロフィーの日常生活の注意点や、医学情報登録等について話されました。引き続きふくやまっこの交流会が行われました。

デュシェンヌ型（DMD）分科会[2)]

2021 年 10 月 9 日（土）、10 日（日）の 2 日間で第 35 回全国筋ジストロフィー北海道大会が竹田保実行委員長の下で行われました。医療、福祉、教育と多くの問題に焦点を当てた講演や分科会が開かれました。福祉分科会では、昨年八雲病院が北海道医療センターに移転し、「入所･在宅生活の問題･改善について」北海道医療センター　ハーモニーの会の村上英樹さんと原田義孝さんの発表があり,新しい病棟の紹介の他、入所･在宅生活の問題について指摘がありました。

顔面肩甲上腕型（FSHD）分科会[3)]

FSHD 分科会は、FSHD 克服の為、患者、研究者及び筋ジス協会等の関係者が連携して情報発信を行うとともに、基礎研究と臨床現場等の関係者が積極的に参画出来る専門グループを作ることと、患者同士の情報共有･交流ができる場をつくることを目的として設立しました。 現在は、Facebook のグループページを中心に交流しています。

2022 日 2 月 27 日に第 3 回 FSHD オンライン交流会が開催されました。講演は東海大学の三橋弘明先生が最新の FSHD の治療開発研究が紹介されました。この動画は協会の会員限定のページで紹介されています。

ベッカー型（BMD）分科会[4)]

2022 年 1 月 30 日にベッカー型分科会の立ち上げの会開かれました。ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）は、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）と同じジストロフィン遺伝子の変異により筋の膜に局在するジストロフィンが欠損して発症する難病です。

ベッカー型については 2021 年 6 月 26 日から 4 回にわたり、中村昭則先生に講演して頂きました。この筋ジストロフィー･オンライン講演会（ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）、ウエアラブル機器による機能評価）の動画が公開されています。

DMD ではジストロフィンが完全に欠損するため重篤な経過をとりますが、BMD では不完全ながらもジストロフィンが産生されるため、一般的には軽症と理解されています。しかしながら、症状や経過は患者間で大きく異なり、中には筋症状は軽くとも心筋障害が強く出現して心不全から心移植に至る例もあります。

BMD 分科会は、現在、鳥越勝さん、遠藤光さん、柴﨑浩之さんが中心になってホームページを立ち上げています。
（https://www.bmd-jp.org/）

・電話相談による医療相談室実績報告書[5)]

石原傳幸

平成 3 年度の医療相談室の実績を以下に報告する。

1.ホームページの医療相談室へのアクセスは 0 件であった。電話相談は総計 29 件に上った。

2. 疾患で分類するとDMDと強直性が7件ずつ、ベッカー型が4例、肢帯型が3例、福山型が2例、顔面肩甲上腕型が1例、未確定者が4例。筋ジストロフィーという診断名が1名などであった。全国から相談が寄せられたが、一件中国から電話があったが、日本人家族であった。

3. 相談者を見ると本人からの相談は9件で31%を占めている。母親から10件で34%、父親からは3件、妻からが2件、妹からが1件

知人は施設職員や友人が占めていた。母親から聞かれた病気についてはやはり DMD が5件と半数を占めていた。福山型が2件、強直性が3件であった。父親からは DMD,強直性、顔面肩甲上腕型がそれぞれ1例であった。DMD,強直性が多いのは患者数が多いことが反映されているのだろう。

・患者の QOL 調査[6)]

療養介護病棟（筋ジストロフィー病棟）の QOL 調査は 2016 年に国立病院機構と共同で行いましたが、今回改めて令和 2 年度障害者総合福祉総合事業「国立病院機構が運営する病院の療養介護（筋ジストロフィー病棟）利用者の地域移行に関する実態調査」について協力依頼がきましたので調査内容の検討から参加しました。令和 3 年 3 月に報告書が届きましたのでその内容について概略を報告いたします。

筋ジストロフィー疾患による入院患者本人の地域生活に関する意向や地域で生活する場合の支援体制に関する実態は十分に把握されていない。国立病院機構が運営する病院の療養介護（筋ジストロフィー病棟）利用者の地域生活に関する意向や、地域生活への移行に当たっての課題等及び、市町村における筋ジストロフィー疾患のある障害者の地域生活を支える地域資源（サービス）の現状や課題を把握することを目的として実施された。

調査は3つの種類で行われた。

① 療養介護利用者に関する質問紙調査、ア. 意向等調査：調査対象者 1,805 名中有効回答数 416 件（23%）の回答を得た。イ. 基礎情報調査（入退院期間等） 有効回答数 479 件（26.5%）

② 療養介護利用者に関するヒアリング調査、調査協力に同意した調査対象者に対し、対応可能なヒアリング実施日時を確認し、メールや利用可能なオンラインツールを使って行われた。

ヒアリング調査 30 名（7.2%）

③自治体に対する質問紙調査（自治体質問紙調査）

自治体 （1,741 団体）回答 934（53.6%）

調査結果

① 入院生活について

満足+やや満足	49.7%、
どちらともいえない	21.4%
満足していない+あまり満足していない	27.7%

② 楽しみにしていること

1）インターネット	57.2%
2）面会	52.6%
3）余暇活動	45.4%
4）入浴	45.0%
5）外出、散歩	44.0%
6）病院内での行事	43.3%

③ 不満に思うこと

1）ナースコールを押してもすぐ来てくれない	52.6%
2）面会が思うようにできない	45.7%
3）外出や文化活動が思うようにできない	43.0%

④ 入院に至った経緯

1）家族による介護または養育が困難	47.8%
2）近隣に筋ジストロフィーの専門医がいない	30.8%
3）医師の勧めで	28.1%

4) 家族の勧めで　23.8%
5) 住宅に十分なスペースが無く、バリアフリーで無かった　21.9%

⑤ 今後の希望する生活
1) このまま入院を継続したい／せざるを得ない　63.0%
2) 入院以外の生活を体験してみたい　10.6%
3) 地域で生活をしたい　9.9%
4) 分からない　9.6%
5) その他　4.1%

⑥ 自治体質問紙調査
1,741 自治体　有効回答数　934 (53.6%)
筋ジストロフィー患者の人数も把握　143　15.3%
筋ジストロフィー患者の人数不明　459　49.1%
筋ジストロフィー患者はいない　143　15.3%
筋ジストロフィー患者把握していない 189　20.2%
無回答 0 0.0%　合計 934　100.0%
問題点:
「日常生活における医療的ケア体制が十分でない」との回答が最も多く　71.3%
次いで「グループホームが不足」　62.3%
「重度訪問介護等の訪問系サービスが不足」　60.3%
該当者がいる自治体　34.6%
地域移行について:
自治体全体では「不可能ではないが困難だと思う。

調査のまとめ;
療養介護(筋ジストロフィー病棟)利用者の今後の生活の希望に関しては、意向等 調査における調査協力者全体の 63.0%が「今後も入院生活を継続したい／せざるを得 ない」と考えている一方で、20.5%の方が「入院以外での生活の体験」又は「地域での 生活」を希望していることが把握された。

過去3年間の各年度において筋ジストロフィー病棟から地域生活へ移行された患者の人数については、26 病院を合わせ年間 10 人程度で推移しており、療養介護(筋ジストロフィー病棟)利用者数は26 病院において過去3年間で-0.6%の減 少率であった

・治験における患者負担軽減の為の評価法の検討(ウエアラブル機器)[7]

臨床開発を目指したベッカー型筋ジストロフィーの自然歴調査研究につてのオンライン講演会の第4 回目にウエアラブル機器を用いた評価について講演をして頂きました。ウエアラブル機器を用いた身体活動量、心機能、自律神経評価を行うもので、R3 年度はパイロット研究を行い、R4 年度からの研究計画の立案し実施する。研究の実施体制はまつもと医療センターの中村昭則先生を中心に研究班の先生方に参加してもらい、製薬会社及び日本筋ジストロフィー協会も参加する体制で行われます。小型軽量なウエアラブル機器で24時間連続計測が可能で多くの項目を計測評価できるもので日常生活の活動から治験必要なデータを取得するものです。この他に BMD 患者・家族・支援者が抱えている課題の解決と社会資源についての検討も行います。

・口腔内ぬぐい液方法による遺伝子検査法の検討[8]

新型コロナウイルス感染症の拡大の中「PCR 検査法について」加藤慎吾先生にオンライン講演会をお願いして 2021 年 3 月 27日 Zoom で行った。

この中で加藤先生の考案した「舌背拭い液法」は唾液による方法に比べ 10 倍感度が高いことが新潟大学医歯学部顎顔面口腔外科学分野の高木律男教授との共同研究で明らかになった。今後、新型コロナウイルスの PCR 検査法の中で安全で簡便な方法として期待が寄せられる。講演の動画は協会ホームページで紹介されている。

2021年7月ごろから増え始めたコロナ感染の第5波が 9 月に入り急激に減ってきました。この現象をどの様に説明するか加藤慎吾先生に 2021 年 11 月 27 日に「新型コロナウイルス感染症の検査及び動向」についてオンライン講演会をお願いしました。この動画は協会ホームページに公開されている。

考察

・ 各分科会の活動については治療薬の開発が進み、治験が行われてきている状態で重要な活動です。各病型の遺伝子データベースも構築され、研究班や製薬会社からも重要視され、多くの問い合わせが協会に来ている。また、各分科会でも詳しい情報について患者･家族から質問や要望が寄せられている。これからの協会の活性化からも重要な要素の1つと言える。

・ 電話相談による医療相談は全国的にも専門医が少なく、多くの患者･家族が悩みを抱えている中で、気軽に相談できる場所として重要です。特に、コロナ禍で移動が難しい中で安心して専門的な話が聞ける場所が今後とも必要とされる。

・ 患者のQOLに関する調査は、以前協会と国立病院機構本部と共同で行ったものと、ほぼ同様な結果が出ている。今回は地域移行を主なテーマとして、全国の自治体に筋ジストロフィー患者の福祉サービス体制を調べたところに大きな意味がある。1,741 自治体の中で有効回答数 934 (53.6%) あり、人数を把握している自治体が143 (15.3%) あり、多くの患者･家族が福祉サービスを使っていることが分かった。しかし、病院から地域に移行するための24時間介護を担っている重度訪問介護や病院との連携が不十分であることも判明した。この課題は患者会としても重要な項目であるので今後検討して行きたい。

・ ウエアラブル機器による患者の運動量測定技術は筋生検や6分間歩行など被験者に過酷な負担をかける評価方法に比べ、日常の活動の中から運動量が評価できることから福山型などの重度な患者に対する評価ができる可能性があることから今後とも期待して行きたい。

・ 口腔内ぬぐい液方法による遺伝子検査法の検討では、2年以上も続くコロナ禍で比較的に簡易な方法で安全に採取できPCR検査ができることは必要な技術と言えます。また、加藤先生の第5波の感染推移のモデルは急激な感染の変化をよく表しています。今年に入ってからの第6波のピークが2月ごろに来ると予測されていましたが今後の研究に期待を寄せています。

今後も研究班の先生方や製薬会社の方々や国立病院機構の方々と協力して行きたいと考えています。また、厚生労働省や各自治体とも連絡を取って患者･家族に良い環境を作ることを目指したいと思います。

参考文献

1）大澤真木子、療育研修会「福山っ子感性豊かな素敵なお子さんたち～脳 眼 筋の異常の併存と感受性豊かな心～」、東京女子医科大学 名誉教授／日本てんかん学会元理事長／日本小児神経学会元理事長、2022-2-26

2）竹田 保、第 35 回全国筋ジス北海道大会、第 2 分科会（福祉分科会）報告、北海道地方本部長、2022-4-26

3）八代 弘、早期診断、早期治療への新たな取り組み（FSHD 分科会の活動について）、FSHD 患者分科会報告、2022-4-27

4）遠藤 光、ベッカー型分科会の立ち上げについて、BMD 分科会報告、2022-4

5）石原傳孝、電話相談による医療相談室実績報告書、日本筋ジストロフィー協会専属医／国立病院機構あきた病院神経内科、2022-4-15

6）PwC コンサルティング合同会社、国立病院機構が運営する病院の療養介護（筋ジストロフィー病棟） 利用者の地域移行に関する実態調査、令和 2 年度障害者総合福祉推進事業、2021-3

7）中村昭則、第 4 回ウエアラブル機器の評価について、日本筋ジストロフィー協会オンライン講演会、2021-08-07

8）加藤慎吾、新型コロナウイルス感染症の検査及び動向、2021 年度小牧班班会議、2021-12-3

当施設における眼咽頭型筋ジストロフィーの新規診断症例について

山下　賢
熊本大学大学院生命科学研究部
脳神経内科学

【緒言】

眼咽頭型筋ジストロフィー（Oculopharyngeal muscular dystrophy: OPMD）は 40 歳代以降に発症し、進行性の嚥下障害、眼瞼下垂、四肢近位筋の筋力低下を来す常染色体顕性あるいは潜性遺伝性の難治性筋疾患である。原因として *Poly (A) binding protein, nuclear 1 (PABPN1)* 遺伝子のエクソン 1 領域での GCN リピート（野生型 10 回）が 12～17 回に伸長することが報告されている[1]。

OPMD の自然歴として、ケベック州の症例の調査によると 54 歳頃に眼瞼下垂と嚥下障害で発症し、次第に 58 歳頃から下肢近位筋の筋力が低下すると報告されているが[2]、症状の進展には個人差が大きい。さらに主たる死因として呼吸器系疾患や悪性腫瘍の関与が報告されているが[2]、生命予後への影響は不明である。本疾患の臨床的多様性に基づいて、将来的な臨床試験への展開を可能にするレジストリの構築が必要である。

一方、眼咽頭遠位型ミオパチー（Oculopharyngodistal myopathy: OPDM）は、同じく成人発症の常染色体顕性あるいは潜性遺伝性筋疾患であり、進行性の外眼筋麻痺や咽頭筋、四肢遠位筋の筋力低下を特徴とする。長年原因は不明であったが、最近 *Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Protein 12 (LRP12)* や *GIPC PDZ Domain Containing Family Member 1 (GIPC1)*、*Notch 2 N-Terminal Like C (NOTCH2NLC)* 遺伝子の非翻訳領域に存在する三塩基繰り返し配列の異常伸長が同定された[3-5]。ただし臨床症状のみから OPMD と OPDM を区別することは困難であり、ときに両者は類似の表現型を呈する可能性がある。

本研究は、Remudy 登録項目案に基づいて、2020～2021 年に当施設において新規に診断した OPMD 症例の臨床病理学的特徴を解明することである。

【方法】

＜対象＞

2020～2021 年に当施設で新規に診断した OPMD3 症例（男性 2 例、女性 1 例）を対象とした。15 リピート症例と 13 リピート症例の比較のために、2009～2019 年に診断した OPMD6 症例（男性 3 例、女性 3 例））を併せた 9 症例を評価した。

＜方法＞

患者登録項目案に基づいて、家族歴、血族婚の有無、合併症、筋生検所見、遺伝子診断、発症年齢、初発症状、症状の伸展パターン[下肢筋力低下や歩行障害、車椅子使用、上肢筋力低下、上肢機能、眼瞼下垂、外眼筋麻痺、構音障害、嚥下障害、経管栄養使用の有無と発症年齢]、呼吸機能、心機能、心臓合併症、CK 値、MRI 画像所見（頭部、上下肢骨格筋）、嚥下機能検査（嚥下内視鏡検査）

などの各項目を評価した。

【結果】

1）2020～2021 年に診断した 3 症例全てで家族歴を有し、遺伝子検査ではヘテロ接合性の GCN リピート伸長 13 回が 1 例（症例 1）、15 回が 2 例（症例 2、症例 3）であった。症例 1 は 74 歳男性で、母親に類症があり、糖尿病を合併し、筋生検では縁取り空胞を伴う筋原性変化を認めた。頭部 MRI では舌に高度脂肪変性を認め、咽頭周囲や内側外側翼突筋、頸椎周囲筋に萎縮がみられ、下肢骨格筋 MRI では両側大内転筋・大腿二頭筋・半膜様筋・半腱様筋に脂肪変性および萎縮が顕著であった。発症年齢は 50 歳、診断時年齢は 74 歳、罹病期間は 24 年であった。呼吸機能検査において%VC 33.3%、%FVC 31.2%と拘束性障害を認め、当院から転院直後に誤嚥性肺炎で永眠した。症例 2 は 63 歳女性で、母や姉、弟、母方伯母が同疾患と診断されており、発症年齢は 46 歳、診断時年齢は 63 歳、罹病期間は 17 年であった。症例 3 は 59 歳男性で、症例 2 の弟であり、発症年齢は 54 歳、診断時年齢は 59 歳、罹病期間は 5 年であった。

各症状の出現時期については、症例 1 は 50 歳時に眼瞼下垂で発症し、64 歳で嚥下障害を呈し、69 歳より経管栄養が開始され、74 歳時に下肢筋力低下、歩行障害、構音障害を指摘された。症例 2 は 46 歳で眼瞼下垂を発症し、58 歳で嚥下障害、60 歳で下肢筋力低下、63 歳で上肢筋力低下、眼筋麻痺、構音障害を認めた。症例 3 は 54 歳で眼瞼下垂を呈し、56 歳で嚥下障害、59 歳で下肢筋力低下、眼筋麻痺、構音障害を発症した。

2）2009 年以降に診断した 9 症例について、15 リピート症例（2 例）と 13 リピート症例（7 例）を比較したところ、15 リピート症例は全例眼瞼下垂で発症し、平均発症年齢 50.0 歳、嚥下障害の平均発症年齢 57.0 歳であり、13 リピート症例の平均発症年齢 60.0 歳、嚥下障害の平均発症年齢 62.5 歳に比して若年の傾向を示した。

3）15 リピートを有する症例 3 は、発症後 5 年にも関わらず、嚥下内視鏡検査で舌根運動および咽頭収縮がきわめて不良で、喉頭周囲への唾液・痰貯留が著明で、誤嚥リスクが非常に高い状態にあった。

【考察】

PABPN1 遺伝子の GCN リピート数は診断時の年齢と相関するという既報告があるが[6]、GCN リピート数による臨床症状の差違は十分には解明されていない。OPMD に関する患者レジストリとして、ニュー・メキシコ大学が中心となり全米 OPMD 患者レジストリが構築され、患者 QOL への影響を解明し、将来的な臨床研究への患者リクルートを可能とし、患者および家族と研究者が情報交換することを目的に運営されている[7]。本邦でのレジストリは未構築であるが、すでに 2009 年 7 月より REMUDY が運用されている。今後、このシステムを活用して本邦独自の OPMD および OPDM 患者レジストリを確立し、日本における両疾患の疫学的実態を解明し、円滑に臨床試験を導入するための臨床データを収集する予定である。

【結論】

15 リピート症例では、13 リピート症例に比して、眼瞼下垂や嚥下障害が早期に発症することが示唆された。GCN リピート数が臨床症状に及ぼす影響を解明するために、より大規模な症例数での解析が必要であり、レジストリ研究が有用と期待される。

【参考文献】

1. Brais B, Bouchard JP, Xie YG, Rochefort DL, Chretien N, Tome FM, et al. Short GCG expansions in the PABP2 gene cause oculopharyngeal muscular dystrophy. Nat Genet 1998;18:164-167.
2. Brisson JD, Gagnon C, Brais B, Cote I, Mathieu J. A study of impairments in oculopharyngeal muscular dystrophy. Muscle Nerve 2020;62:201-207.
3. Ishiura H, Shibata S, Yoshimura J, Suzuki Y, Qu W, Doi K, et al. Noncoding CGG repeat expansions in neuronal intranuclear inclusion disease, oculopharyngodistal myopathy and an overlapping disease. Nat Genet 2019;51:1222-1232.
4. Deng J, Yu J, Li P, Luan X, Cao L, Zhao J, et al. Expansion of GGC Repeat in GIPC1 Is Associated with Oculopharyngodistal Myopathy. Am J Hum Genet 2020;106:793-804.
5. Ogasawara M, Iida A, Kumutpongpanich T, Ozaki A, Oya Y, Konishi H, et al. CGG expansion in NOTCH2NLC is associated with oculopharyngodistal myopathy with neurological manifestations. Acta Neuropathol Commun 2020;8:204.
6. Richard P, Trollet C, Stojkovic T, de Becdelievre A, Perie S, Pouget J, et al. Correlation between PABPN1 genotype and disease severity in oculopharyngeal muscular dystrophy. Neurology 2017;88:359-365.
7. Daneshvari S, Youssof S, Kroth PJ. The NIH Office of Rare Diseases Research patient registry Standard: a report from the University of New Mexico's Oculopharyngeal Muscular Dystrophy Patient Registry. AMIA Annu Symp Proc 2013;2013:269-277.

2 - 5　筋レポジトリーの拡充とそれを活用した
筋ジストロフィー関連疾患の病態解明と診断・治療法開発

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所
西　野　一　三

総括研究報告

1. 研究目的

本邦を代表する筋疾患研究者の力を結集し、国立精神・神経医療研究センターを中心とする筋診断ネットワークと筋レポジトリーを将来的に維持・発展させつつ、最大限活用し、医学的・科学的に重要な成果を生み出すことで、社会に貢献することを目的とする。具体的には、下記の4つを柱として研究を進めた。

(1) 筋疾患診断ネットワークおよび筋レポジトリーの維持と発展：　これまでに形成してきた筋病理診断を中心とする筋疾患診断ネットワークを国内のみならず、アジア諸国を中心とする海外拠点施設にも拡大して支援を行うことで、筋疾患診断体制をさらに充実させ国際的筋疾患診断拠点とする。またそのことにより、国立精神・神経医療研究センターの筋レポジトリーを更に充実させる。

(2) 病因・病態解明：　筋疾患には依然として原因不明のものが多い。本邦の基礎研究者および筋疾患研究者の力を結集して、筋炎など周辺疾患も含みつつ、筋ジストロフィー関連疾患の分子レベルの病因・病態を明らかにする。

(3) 診断法開発と活用：　病因・病態解明研究で得られた成果を活用して診断法を開発し、これまで確定診断が困難であった筋疾患の診断を可能にする。さらにその方法を活用して、国内外の臨床の現場を後方支援する。

(4) 治療法開発：　病因・病態解明研究で得られた成果を活用して、分子病態に基づく治療法開発を進める。特にこれまで研究開発費で研究が進められてきている本邦独自のリードスルー薬および筋線維肥大薬の実用化を推進する。

2. 研究組織

主任研究者

西野一三	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部

分担研究者

大澤　裕	川崎医科大学 医学部 神経内科学
青木正志	東北大学大学院医学系研究科 神経内科学
戸田達史	東京大学大学院医学系研究科 神経内科学
大野欽司	名古屋大学大学院医学系研究科 神経遺伝情報学分野
林由起子	東京医科大学医学部医学科 病態生理学分野
平澤恵理	順天堂大学大学院医学研究科
土田邦博	藤田医科大学 総合医科学研究所 難病治療学
林　良雄	東京薬科大学薬学部薬品化学教室
原　雄二	静岡県立大学教育研究推進部 地域・産学連携推進室
村山　尚	順天堂大学医学部
三橋弘明	東海大学工学部生命化学科
中森雅之	大阪大学大学院医学系研究科
竹田哲也	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科
飯田有俊	国立精神・神経医療研究センター メディカル・ゲノムセンター 臨床ゲノム解析部
林晋一郎	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第一部
株田智弘	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第四部
今村道博	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 遺伝子疾患治療研究部
本橋紀夫	国立精神・神経医療研究センター 神経研究所遺伝子疾患治療研究部

3.研究成果

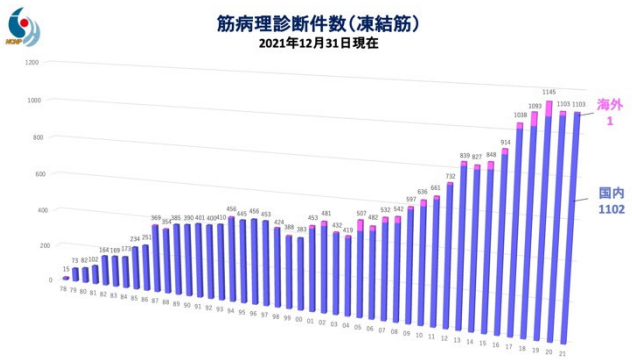
我々は、肢帯型筋ジストロフィー関連疾患の分子病態、次世代技術等を活用することにより、国立精神・神経医療研究センターを初めとする機関に蓄積

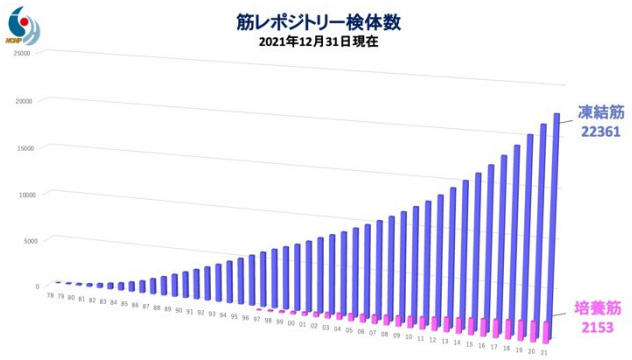
された患者検体を有効活用して解明し、さらに治療法開発の基盤を形成することを目指している。具体的には、1) 原因不明の各種遺伝性筋疾患の病因・病態解明研究、2) ハイスループット診断法開発研究、3) 分子病態に基づく治療法開発研究、4) 以上を可能にするための基盤的研究、の4つを柱として研究を進めた。

1) 筋疾患診断ネットワークおよび筋レポジトリーの維持と発展

a) 筋病理診断と検体数

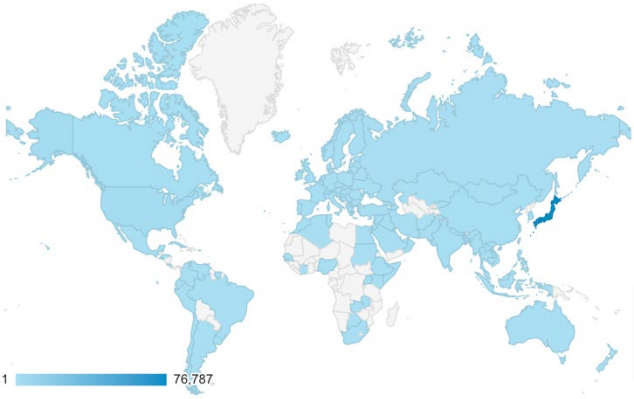
2021 年（暦年）の総筋病理診断件数は、2020 年と同じ 1103 件であった。2020 年は 2019 年と比較すると 42 件減少していたがこれは、コロナ禍により海外からの凍結筋運搬が困難になったためであり、国内例だけで見ると 2019 年以降も診断件数は増加している。このことは、コロナ禍においても我々の筋病理診断が必要とされており、本邦筋疾患医療を下支えしている実態がより明らかとなった。総検体数は、2021 年末で 22361 検体となった。また培養筋も 2153 検体となり、世界最大規模の筋レポジトリーが更に充実した。神経・筋疾患研究支援基盤として各種研究活用されることで、筋疾患学の発展に寄与した。





b) 国際的均てん化と筋疾患教育

2018 年以来タイ・マヒドン大学との共同で開催している国際筋病理セミナーは、コロナ禍の影響で中止とした。また同病院と共同で作製した、筋生検および検体固定方法の解説ビデオ（日本語版・英語版・タイ語版）は、2018 年 1 月の疾病研究第一部 HP 上での公開以来世界 118 カ国／地域よりアクセスがあり、全世界の筋疾患医療均てん化に寄与している（図はアクセスがあった国、2022 年 3 月 31 日現在)。昨年同時期は 106 ヵ国であり、新たに 12 ヵ国からのアクセスがあったことになる。



2) 病因・病態解明

a) 眼咽頭遠位型ミオパチー

2019 年、東京大学の石浦らとの共同研究で、これまで原因が不明であった眼咽頭遠位型ミオパチーが *LRP12* 遺伝子の 5'非翻訳領域の CGG リピートの異常伸長によることを明らかにした（Ishiura H, et al. Nat Genet. 2019 Aug;51(8):1222-1232)。この発見を元に、更に *GIPC1* 遺伝子（Deng J, et al. Am J Hum Genet. 2020 Jun 4;106(6):793-804）（中国との共同研究）および *NOTCH2NLC* 遺伝子（Acta Neuropathol Commun. 2020 Nov 25;8(1):204）の 5'非翻訳領域の CGG リピートの異常伸長によっても同様に眼咽頭遠位型ミオパチーを来すことを見いだした。更に、本邦では *LRP12* 遺伝子リピート伸長例が半数以上を占めること、また腓腹筋・ヒラメ筋が障害されやすいこと、左右差を伴う例が多いことを明らかにした（Kumutpongpanich T, et al. JAMA Neurol. 2021 Jul 1;78(7):853-863)。また従来、神経核内封入体病の診断的所見とされてきた皮膚生検での核内封入体が眼咽頭遠位型ミオパチーでも認められることを初めて明らかにした（Ogawasara M, et al. Neuropathol Appl Neurobiol. 2022

Apr;48(3):e12787. doi: 10.1111/nan.12787. Epub 2021 Dec 28）。またつい最近、国際共同研究により *HNRNPA2B1* 遺伝子のヘテロ接合性のフレームシフト型変異が早発型 OPDM を引き起こすことを見いだした（Kim HJ, et al. Nat Commun, in press）。

b) ACTN2 ミオパチー

ACTN2 遺伝子の c.1439A>G (p.Asn480Ser)バリアントをホモ接合型に有する血縁関係のない日本人筋疾患患者 3 家系を同定し、ACTN2 遺伝子の劣性（潜性）変異によりミオパチーを来たし得ること、さらに、いずれの患者においても、不規則なコア構造を認めることを世界で初めて明らかにした（Acta Neuropathol. 2021 Oct;142(4):785-788）。

c) Pompe 病

Pompe 病は遺伝性筋疾患でありながら治療が可能な疾患であり、見逃すことなく、早期に診断を付けることが望まれている。特に台湾では既に 2005 年から全新生児の酵素活性スクリーニングが実施されており、本邦よりも数倍〜10 倍程度高い頻度で患者が見いだされている。ここで問題となるのは、本邦では患者が本当に少ないのか、見逃されているのかという点である。そこで、2015 年 7 月〜2018 年 1 月に筋病理診断を実施した全 2408 例を対象に、病利用標本を作製する際に、未染のスライドグラス標本を1枚余分に作製し、その切片を用いて酵素活性スクリーニングを実施した。その結果、Pompe 病患者は 1 例も存在していなかった。一方、過去の筋病理診断例について調べてみると 1978 年〜2020 年までの 43 年間に Pompe 病と診断した例は 41 例あった。5 年ごとに評価すると、2000 年以前の頻度は 5 年につき 5 例であったが、2001 年〜2005 年には 10 例と倍増していた。その後は漸減し、2015 年以降は 1 例も同定されていないことが明らかとなった。これは、Pompe 病が治療可能となり、さらにその後、乾燥濾紙血スクリーニングが実施されるようになった時代背景を反映しているものと考えられた。すなわち、本邦においては、乾燥濾紙血スクリーニングなどにより、筋生検を実施することなく Pompe 病の診断が行われていること、実際に、本邦では有病率が低いことが明らかとなった（Saito Y, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry, Epub ahead of print）。

d) MLIP ミオパチー

国際共同研究により、*MLIP* 遺伝子の両アレル性変異により横紋筋融解や筋痛を伴うミオパチーが起こることを明らかにした（Lopes Abath Neto O, et al. Brain. 2021 Oct 22;144(9):2722-2731）。

e) JAG2 関連筋ジストロフィー

国際共同研究により、*JAG2* 遺伝子の両アレル性変異を伴いジストロフィー性変化を来した 13 家系 23 名の患者を初めて見いだし報告した（Coppens S, et al. Am J Hum Genet. 2021 May 6;108(5):840-856）。

f) その他

福山型筋ジストロフィーを初めとする各種筋ジストロフィーの病態解明研究が班員によって行われた。

3) 診断法開発と活用

a) 筋炎マーカー開発

皮膚筋炎ではミクソウイルス抵抗性タンパク質 A（MxA）が筋線維に発現し、皮膚筋炎の組織診断に有用であることを報告した。この成果を基に MxA 発現を確認して皮膚筋炎と病理診断され、かつ、皮膚筋炎特異的自己抗体を検討した例が 2020 年末までに 256 例集積した。これは世界最大の病理学的に診断が確定した皮膚筋炎コホートである。このコホートを用いることで、これまでに皮膚症状を伴わない皮膚筋炎（dermatomyositis sine dermatitis: DMSD）が確かに存在すること（Inoue M, et al. JAMA Neurol. 2020 Jul 1;77(7):872-877）、また、抗 Mi-2 抗体陽性の皮膚筋炎では、筋線維膜上への MAC 沈着を伴う perifascicular necrosis, 筋周鞘のアルカリホスファターゼ活性、筋周鞘結合組織断片化を呈すること（Tanboon J, et al. Neurology. 2021 Jan 19;96(3):e448-e459）を明らかにしてきたが、今年度はさらに、皮膚筋炎では、陽性自己抗体で分類したサブタイプごとに筋病理学的特徴が異なることを初めて明らかにした（Neurology. 2022 Feb 15;98(7):e739-e749）。さらには、抗合成酵素症候群の筋病理所見についても陽性自己抗体ごとの特徴があることを同定し、現在論文投稿中である。

b) 眼咽頭遠位型ミオパチーの病理診断

従来、神経核内封入体病の診断的所見とされてきた皮膚生検での核内封入体が特に *NOTCH2NLC* 遺伝子に CGG リピート伸長を有する OPDM3 を中心に、眼咽頭遠位型ミオパチーでも認められることを初めて明らかにした（Ogawasara M, et al. Neuropathol Appl Neurobiol. 2022 Apr;48(3):e12787. doi: 10.1111/nan.12787. Epub 2021 Dec 28）。さらに筋生検検体を用いて検討を進めたところ、眼咽頭遠位型ミオパチーと臨床病理学的に類似する眼咽頭筋ジストロフィーでは有意に筋核内の p62 陽性封入体の出現頻度が高いことが明らかとなった。この所見は、筋病理標本上で両疾患を鑑別する際に有用であると考えられる（論文準備中）。

4)治療法開発

a) 悪性高熱症

村山班員らは、RYR1 変異体の CICR 簡易測定系を樹立することにより、悪性高熱症素因の簡便な評価方法を確立した。

村山班員らは、悪性高熱症変異導入マウスにおいて、RyR1 チャネル活性を抑制する新規オキソリン酸誘導体に悪性高熱発症予防効果があることを明らかにした（Yamazawa T, et al. Nat Commun. 2021 Jul 13;12(1):4293）。今後 RyR1 関連筋疾患に対する効果を in vivo および in vitro 実験において更に詳細に検討していく予定である。

b) その他

当班で開発されたアルベカシンによるリードスルー療法が医師主導型治験へと結びついている。その他の病態に基づく各種の治療法開発研究が班員によって行われた。

4. 研究成果刊行一覧

1) Munekane A, **Ohsawa Y**, Fukuda T, Nishimura H, Nishimatsu SI, Sugie H, Saito Y, **Nishino I**, Sunada Y: Maximal Multistage Shuttle Run Test-induced Myalgia in a Patient with Muscle Phosphorylase B Kinase Deficiency. ***Intern Med***. 15;61(8):1241-1245, Apr, 2022
2) Okada Y, Izumi R, Hosaka T, Watanabe S, Shijo T, Hatchome N, Konishi R, Ichimura Y, Okiyama N, Suzuki N, Misu T, **Aoki M**: Anti-NXP2 antibody-positive dermatomyositis developed after COVID-19 manifesting as type I interferonopathy. ***Rheumatology (Oxford)***. 61(4):e90-e92, 2022
3) Konomatsu K, Izumi R, Suzuki N, Takai Y, Shirota Y, Saito R, Kuroda H, **Aoki M**: A rare case of sporadic inclusion body myositis and rheumatoid arthritis exhibiting ectopic lymphoid follicle-like structures: a case report and literature review. ***Neuromuscul Disord***. 31(9):870-876, 2021
4) Ohkawara B, Ito M, and **Ohno K**: Secreted Signaling Molecules at the Neuromuscular Junction in Physiology and Pathology. ***Int J Mol Sci***. 22:2455, 2021
5) Hitachi K, Nakatani M, Kiyofuji Y, Inagaki H, Kurahashi H, **Tsuchida K**: An analysis of differentially expressed coding and long non-coding RNAs in multiple models of skeletal muscle atrophy: ***Int. J. Mol. Sci.*** 22:2558, March, 2021
6) Kobayashi T, Kurebayashi N, **Murayama T**: The ryanodine receptor as a sensor for intracellular environments in muscles. ***Int J Mol Sci***, 22: 10795, 2021
7) Hu Y, Iyer KA, Nayak AR, Kurebayashi N, **Murayama T**, Samso M: Purification of recombinant wild type and mutant ryanodine receptors expressed in HEK293 cells. ***Bio-protocol***, 11(15): e4112, Aug, 2021
8) Hasuike Y, Tanaka H, Gall-Duncan T, Mehkary M, Nakatani K, Pearson CE, Tsuji S, Mochizuki H, **Nakamori M**: CAG repeat-binding small molecule improves motor coordination impairment in a mouse model of Dentatorubral-pallidoluysian atrophy. ***Neurobiol Dis***. 163:105604, Feb, 2022
9) Hasuike Y, Mochizuki H, **Nakamori M**: Cellular Senescence and Aging in Myotonic Dystrophy. ***Int J Mol Sci***. 23(4):2339, Feb, 2022
10) Hasuike Y, Mochizuki H, **Nakamori M**: Expanded CUG repeat RNA induces premature senescence in myotonic dystrophy model cells. ***Front Genet***. *in press*
11) Fujii K, Hirano M, Terayama A, Inada R, Saito Y, **Nishino I**, Nagai Y: Identification of a novel mutation and genotype-phenotype relationship in MEGF10 myopathy. ***Neuromuscul Disord.*** 2022 Jan 31:S0960-8966(22)00025-6. [Online ahead of print]
12) Hiramatsu Y, Okamoto Y, Yoshimura A, Yuan JH, Ando M, Higuchi Y, Hashiguchi A, Matsuura E, Nozaki F, Kumada T, Murayama K, Suzuki M, Yamamoto Y, Matsui N, Miyazaki Y, Yamaguchi M, Suzuki Y, Mitsui J, Ishiura H, Tanaka M, Morishita S, **Nishino I**, Tsuji S, Takashima H: Complex hereditary peripheral neuropathies caused by novel variants in mitochondrial-related nuclear genes. ***J Neurol***. 2022 Mar 2. [Online ahead of print]
13) Sehara Y, Tsuchiya K, **Nishino I**, Sato H, Ando Y: Resection of Gastric Cancer Remitted Anti-signal Recognition Particle Myopathy. ***Intern Med.*** 2022 Feb 1. [Online ahead of print]
14) Kobayashi T, Nakano T, Ogata H, Sato N, Yamaide F, Yamashita Y, Chikaraishi K, Hino M, **Nishino I**, Ichimura Y, Okiyama N, Hamada H: A 10-year-old girl with low-grade B cell lymphoma complicated by anti-nuclear matrix protein 2 autoantibody-positive juvenile dermatomyositis. ***Rheumatology (Oxford)***. 2021 Dec 13:keab922. [Online ahead of print]
15) Ito M, Shima S, Ryunosuke N, Nakano S, Esaka K,

Ueda A, Maeda S, Moriya R, Kondo M, Imaizumi K, Noda S, Katsuno M, **Nishino I**, Watanabe H: Nemaline Myopathy Initially Diagnosed as Right Heart Failure with Type 2 Respiratory Failure. ***Intern Med***. 2021 Nov 13. [Online ahead of print]

16) Kabeya Y, Okubo M, Yonezawa S, Nakano H, Inoue M, Ogasawara M, Saito Y, Tanboon J, Indrawati LA, Kumutpongpanich T, Chen YL, Yoshioka W, **Hayashi S**, Iwamori T, Takeuchi Y, Tokumasu R, Takano A, Matsuda F, **Nishino I**: Deep convolutional neural network-based algorithm for muscle biopsy diagnosis. ***Lab Invest***. 102(3):220-226. Mar, 2022
17) Oda S, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Sato N, **Nishino I**, Takahashi Y: A case of delayed diagnosis of Becker muscular dystrophy due to underlying developmental disorders. ***Brain Dev***. 44(3):259-262. Mar, 2022
18) Fujise K, Okubo M, Abe T, Yamada H, Takei K, **Nishino I, Takeda T**, Noguchi S: Imaging-based evaluation of pathogenicity by novel DNM2 variants associated with centronuclear myopathy. ***Hum Mutat***. 43(2):169-179. Feb, 2022
19) Kawazoe T, Tobisawa S, Sugaya K, Uruha A, Miyamoto K, Komori T, Goto YI, **Nishino I,** Yoshihashi H, Mizuguchi T, Matsumoto N, Egawa N, Kawata A, Isozaki E: Myoclonic Epilepsy with Ragged-red Fibers with Intranuclear Inclusions. ***Intern Med.*** 61(4):547-552. Feb, 2022
20) Tanboon J, Inoue M, Saito Y, Tachimori H, **Hayashi S**, Noguchi S, Okiyama N, Fujimoto M, **Nishino I**: Dermatomyositis: Muscle Pathology According to Antibody Subtypes. ***Neurology.*** 98(7):e739-e749. Feb, 2022
21) Nishimori Y, **Iida A**, Ogasawara M, Okubo M, Yonenobu Y, Kinoshita M, Sugie K, Noguchi S, **Nishino I**: *TNNI1* Mutated in Autosomal Dominant Proximal Arthrogryposis. **Neurol Genet**. 8(1):e649. eCollection. Feb, 2022
22) Masuzawa R, Takahashi K, Takano K, **Nishino I**, Sakai T, Endo T: DA-Raf and the MEK inhibitor trametinib reverse skeletal myocyte differentiation inhibition or muscle atrophy caused by myostatin and GDF11 through the non-Smad Ras-ERK pathway. ***J Biochem***. 171(1):109-122. Jan, 2022
23) Miyahara H, Okiyama N, Okune M, Konishi R, Miyamoto M, Hara M, Iwabuchi A, Takada H, **Nishino I**, Nomura T: Case of anti-nuclear matrix protein 2 antibody-positive juvenile dermatomyositis preceded by linear cutaneous lupus erythematosus on the face. ***J Dermatol***. 49(1):e18-e19. Jan, 2022
24) Yoshioka W, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, Yoshida S, Ishihara N, **Nishino I**, Nakamura H, Mori-Yoshimura M: Extra-muscular manifestations in GNE myopathy patients: A nationwide repository questionnaire survey in Japan. ***Clin Neurol Neurosurg***. 212:107057. Jan, 2022
25) Saito M, Ogasawara M, Inaba Y, Osawa Y, Nishioka M, Yamauchi S, Atsumi K, Takeuchi S, Imai K, Motobayashi M, Misawa Y, **Iida A, Nishino I**: Successful treatment of congenital myasthenic syndrome caused by a novel compound heterozygous variant in RAPSN. ***Brain Dev***. 44(1):50-55. Jan, 2022
26) Yasui T, Nagaoka U, Oya Y, Uruha A, Karashima J, Funai A, Miyamoto K, Matsubara S, Sugaya K, Takahashi K, Inoue M, Okubo M, Sugie K, **Nishino I:** Mild form of Danon disease: two case reports. ***Neuromuscul Disord***. (11):1207-1211. Nov, 2021
27) Inoue-Shibui A, Niihori T, Kobayashi M, Suzuki N, Izumi R, Warita H, Hara K, Shirota M, Funayama R, Nakayama K, **Nishino I**, **Aoki M**, Aoki Y: A novel deletion in the C-terminal region of HSPB8 in a family with rimmed vacuolar myopathy. ***J Hum Genet***. 66(10):965-972. Oct, 2021
28) Inoue M, Noguchi S, Sonehara K, Nakamura-Shindo K, Taniguchi A, Kajikawa H, Nakamura H, Ishikawa K, Ogawa M, **Hayashi S**, Y, Kuru S, **Iida A, Nishino I**: A recurrent homozygous ACTN2 variant associated with core myopathy. ***Acta Neuropathol***. 142(4):785-788. Oct, 2021
29) Awano H, Saito Y, Shimizu M, Sekiguchi K, Niijima S, Matsuo M, Maegaki Y, Izumi I, Kikuchi C, Ishibashi M, Okazaki T, Komaki H, Iijima K, **Nishino I**: FKRP mutations cause congenital muscular dystrophy 1C and limb-girdle muscular dystrophy 2I in Asian patients. ***J Clin Neurosci.*** 92: 215-221. Oct, 2021
30) Sugiyama A, Onishi Y, Ito K, Shibuya K, Nakamura K, Oda F, **Nishino I**, Suzuki S, Kuwabara S: Marked Respiratory Failure in an Ambulant Patient with Immune-mediated

Necrotizing Myopathy and Anti-Kv1.4 and Anti-titin Antibodies. ***Intern Med***. 60(16):2671-2675. Aug, 2021

31) Lee T, Tokunaga S, Taniguchi N, Misaki M, Shimomura H, Nishino I, Itoh K, Takeshima Y: Underlying diseases in sporadic presentation of high creatine kinase levels in girls. ***Clin Chim Acta***. 519:198-203. Aug, 2021
32) Kumutpongpanich T, Ogasawara M, Ozaki A, Ishiura H, Tsuji S, Minami N, **Hayashi S**, Noguchi S, **Iida A, Nishino I**; OPDM_LRP12 Study Group: Clinicopathologic Features of Oculopharyngodistal Myopathy With LRP12 CGG Repeat Expansions Compared With Other Oculopharyngodistal Myopathy Subtypes. ***JAMA Neurol.*** 78(7):853-863. Jul, 2021
33) Matsuzono K, Kumutpongpanich T, Kubota K, Okuyama T, Furuya K, Yagisawa T, Horikiri A, Igarashi T, Miura K, Ozawa T, Mashiko T, Shimazaki H, Koide R, Tanaka R, Shimizu H, Imai Y, Kario K, **Nishino I**, Fujimoto S: Noteworthy Cardiovascular Involvement with Sporadic Late-onset Nemaline Myopathy. ***Intern Med***. 60(14):2327-2332. Jul, 2021
34) Yamazawa T, Kobayashi T, Kurebayashi N, Konishi M, Noguchi S, Inoue T, Inoue YU, **Nishino I**, Mori S, Iinuma H, Manaka N, Kagechika H, Uryash A, Adams J, Lopez JR, Liu X, Diggle C, Allen PD, Kakizawa S, Ikeda K, Lin B, Ikemi Y, Nunomura K, Nakagawa S, Sakurai T, Murayama T: A novel RyR1-selective inhibitor prevents and rescues sudden death in mouse models of malignant hyperthermia and heat stroke. ***Nat Commun***. 12(1):4293. Jul, 2021
35) Nishii YS, Noto YI, Yasuda R, Kitaoji T, Ashida S, Tanaka E, Minami N, **Nishino I**, Mizuno T: A Japanese case of oculopharyngeal muscular dystrophy (OPMD) with PABPN1 c.35G > C; p.Gly12Ala point mutation. ***BMC Neurol.*** 21(1):265. Jul, 2021
36) Fujise K, Okubo M, Abe T, Yamada H, **Nishino I**, Noguchi S, Takei K, Takeda T: Mutant BIN1-Dynamin 2 complexes dysregulate membrane remodeling in the pathogenesis of centronuclear myopathy. ***J Biol Chem***. 296:100077. Jan-Jun, 2021
37) Inoue M, Saito Y, Yonekawa T, Ogawa M, **Iida A, Nishino I**, Noguchi S: Causative variant profile of collagen VI-related dystrophy in Japan. ***Orphanet J Rare Dis***. 16(1):284. Jun, 2021
38) Asaoka K, Watanabe Y, Itoh K, Hosono N, Hirota T, Ikawa M, Yamaguchi T, Hatta S, Imamura Y, **Nishino I**, Yamauchi T, Iwasaki H: A case of eosinophilic fasciitis without skin manifestations: A case report in a patient with lupus and literature review. ***Clin Rheumatol***. 40(6):2477-2483. Jun, 2021
39) Tanboon J, Uruha A, Arahata Y, Dittmayer C, Schweizer L, Goebel HH, **Nishino I**, Stenzel W: Inflammatory features in sporadic late-onset nemaline myopathy are independent from monoclonal gammopathy. ***Brain Pathol***. (3):e12962. May, 2021
40) Ando T, Nakamura R, Kuru S, Yokoi D, Atsuta N, Koike H, Suzuki M, Hara K, Iguchi Y, Harada Y, Yoshida Y, Hattori M, Murakami A, Noda S, Kimura S, Sone J, Nakamura T, Goto Y, Mano K, Okada H, Okuda S, **Nishino I**, Ogi T, Sobue G, Katsuno M: The wide-ranging clinical and genetic features in Japanese families with valosin-containing protein proteinopathy. ***Neurobiol Aging.*** 100:120.e1-120.e6. Apr, 2021

筋ジストロフィーにおけるカベオリン-3-TGF-βシグナルの解明と分子標的医薬の開発

分担研究者　大澤　裕

所属　川崎医科大学神経内科学

緒言

カベオラは細胞膜の特殊陥入構造物で、その構成蛋白質であるカベオリンは、カベオラの形態形成を司るだけでなく、様々なシグナル分子と結合し、その活性を制御するシグナル伝達の足場蛋白質として機能している。筋鞘膜ではカベオリン-3 が発現するが、興味深いことに、ジストロフィン欠損デユシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)をはじめとした様々な筋ジストロフィーでは、筋鞘膜のカベオリン-3 は著明に増加し、一方、カベオリン-3 遺伝子変異による肢帯型筋ジストロフィー(LGMD1C)では著減する。このカベオリン-3 の筋ジストロフィー病態における役割の全容は明らかとなっていない。

われわれは、これまでに、カベオリン-3 が、骨格筋量を負に制御する TGF-beta 分子マイオスタチンの I 型膜受容体を抑制して筋萎縮を抑制する、一方、神経型一酸化窒素合成酵素(nNOS)を抑制して筋肥大を阻害することを明らかとしてきた。本研究は、①カベオリン-3 欠損および高発現 DMD モデルマウスの作出・解析によりカベオリン-3 が DMD 病態シグナルを促進するのか抑制するのかを検証する、②独自に同定したマイオスタチン阻害ペプチド医薬を、DMD モデルマウスに全身投与し、非臨床 POC 取得・ペプチドによる disease modifying therapy の基盤を確立する。③LGMD1C モデルマウスに nNOS を高発現させ nNOS 活性化による LGMD1C 病態シグナル制御機構を解明する。

方法

①カベオリン-3 欠損・高発現 DMD モデルマウスの作出・解析：骨格筋特異的プロモーター下に LGMD1C 型変異カベオリン-3 (P104L)、および野性型カベオリン-3 を繋いだトランスジーンを作製した。これを、最重症型 DMD モデル DBA/2-mdx マウス受精卵に注射し、トランスジェニックマウスを作出した。②マイオスタチン阻害ペプチド医薬の DMD モデルマウス投与解析：全身皮下投与によって、ジストロフィー変化が改善するかについて解析した。③nNOS 活性化による LGMD1C 病態シグナル制御機構解析：LGMD1C モデルマウスに nNOS を高発現させた。nNOS 活性化が LGMD1C 病態にどのように関与するかを検証した。

結果

①カベオリン-3 欠損・高発現 DMD モデルマウスの作出・解析：それぞれのトランスジーンを作出して、最重症型 DMD モデル DBA/2-*mdx* 受精卵への注射をおこなった。Genotyping では、いずれも 2-3 ストレインが得られており、骨格筋ノザンブロット・ウエスタンブロット解析によって、カベオリン-3 トランスジーンの発現量を検討した。カベオリン-3 高発現によって、DBA/2-*mdx* マウスのジストロフィー変化が軽減した。②マイオスタチン阻害ペプチド医薬の DMD モデルマウス投与解析：研究開始時と比較して、1,000 倍の阻害活性を示し、高い血中安定性（ADME 試験、PK 試験）を示す、マイオスタチン阻害特殊ペプチドを同定した。このペプチドの週 3 回、合計 12 回の皮下投与（Vehicle, 1 mh/kg, 10 mg/kg）によって、用量依存性に、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD) モデルマウス横隔膜のジストロフィー変化（壊死・線維化・脂肪化）が軽減した。また、生理学的解析でも、握力・走力、および筋張力の改善が達成され、このペプチド医薬の非

臨床 POC を取得できたものと考えている。このペプチドの、ワンショット投与による血行動態解析では、48 時間後に血中濃度の 3-4 倍という極めて高い骨格筋集積性が示された。そこで、このペプチドを開発物として、 将来の First-in-human 治験に向けた非臨床パッケージングの策定を開始した。③nNOS 活性化による LGMD1C 病態シグナル制御機構解析：トランスジーンを作出して LGMD1C モデルマウスの受精卵への注射をおこなった。Genotyping で陽性ストレインが得られた。骨格筋のノザンブロット解析によりトランスジーン発現を確認した。

考察

ジストロフィンの発見から現在までに、30 種類以上の筋ジストロフィーの原因遺伝子が同定され、その遺伝子修復治療、mRNA 修復治療などのテーラーメイド療法が世界的に盛んに研究されている。ところが、これまでに DMD 等への糖質ステロイド剤の部分的効果を除けば、この遺伝性難病に対して共通に有効性を示す疾患修飾療法は開発されていない（Takeuchi, et al. J Neurol 260, 2013)。一方、DMD モデルマウス等の「ジストロフィー変化」を示す様々な骨格筋において、カベオリン-3 発現の上昇が認められることは、このシグナル伝達の足場蛋白質が、各種筋ジストロフィー病態シグナルを共通に制御する機構が想定できる。カベオリン-3 欠損、および高発現 DMD モデルマウスで、ジストロフィー変化が改善するか否かを検討することで、カベオリン-3 を起点とする筋ジストロフィー病態シグナルを解明するとともに、治療介入への糸口を探りたい。

カベオリン-3 高発現 DMD モデルマウスでジストロフィー変化の改善が得られたことから、カベオリン-3 は DMD や他の筋ジストロフィー病態に対し、抑制的に機能している可能性が考えられ、その機構を探っている。

マイオスタチン阻害医薬の世界的な開発競争が行われているが、これら医薬には依然として検討事項も山積している。下肢筋のマイオスタチンを条件付きでノックアウトすると、血中のマイオスタチン濃度は半減するにも関わらず、下肢筋のみの筋肥大が達成され、一方、上肢筋には骨格筋量の変化がないという。この結果からは、マイオスタチンは筋組織内での autocrine/paracrine の作用が主体であり、血中のマイオスタチンリガンドによる endocrine 作用阻害する戦略が有効か否かについて、検討する必要がある。本研究で得られたマイオスタチン阻害特殊ペプチドは、プロトタイプであるプロドメインの IC ペプチドと比較して、マイオスタチン阻害活性、および血中安定性が卓越している。さらに 2021 年度に証明した極めて高い骨格筋集積性を鑑み、2022 年度は皮下投与法（用量・間隔）の条件を設定する。さらに、ペプチドの用量漸増試験により、有効域・安全域を確定して、毒性試験を中心とした非臨床試験内容を策定する予定としている。

カベオリン-3 は、これまでの我々の検討から、神経型一酸化窒素合成酵素（nNOS）を抑制して、その筋肥大を阻害すると考えられる。nNOS 高発現トランスジーンを導入したカベオリン-3 欠損 LGMD1C モデルマウスで筋萎縮が抑制されるか否かについて、2022 年度は骨格筋解析により検討する。これにより、nNOS による筋肥大機構、さらには、その治療介入の可能性について検討していきたい。

本研究は、骨格筋シグナル伝達の足場蛋白質カベオリン-3 と、その結合分子であるマイオスタチンの膜受容体および nNOS を介した筋ジストロフィー病態の解明を目標とする。病態の解明から、その治療介入を実現したい。

結論

本研究は、これまでに 2020 年度に設定したマイルストン:①カベオリン-3 欠損・高発現 DMD モデルマウスの作出、②マイオスタチン阻害特殊ペプチドによる DMD マウスのジストロフィー変化の改善、③nNOS 活性カベオリン-3 欠損 LGMD1C モデルマウス作出を、それぞれ達成できた。2022 年度は、モデルマウス解析、ペプチド上市に向けた非臨床パッケージ策定に取り組む予定である。

参考文献

1. Munekane A, **Ohsawa Y**, Fukuda T, Nishimura H, Nishimatsu SI, Sugie H, Saito Y, **Nishino I**, Sunada Y. Maximal Multistage Shuttle Run Test-induced Myalgia in a Patient with Muscle Phosphorylase B Kinase Deficiency. Intern Med. 2022 Apr 15;61(8):1241-1245.
2. Takayama K, Noguchi Y, Aoki S, Takayama S, Yoshida M, Asari T, Yakushiji F, Nishimatsu S, **Ohsawa Y**, Itoh F, Negishi Y, Sunada Y, **Hayashi Y**. Identification of the minimum peptide from mouse myostatin prodomain for human myostatin inhibition. J Med Chem, 58(3):1544-1549, Feb, 2015
3. **Ohsawa Y**, Takayama K, Nishimatsu S, Okada T, Fujino M, Fukai Y, Murakami T, Hagiwara H, Itoh F, **Tsuchida K**, **Hayashi Y**, Sunada Y. The Inhibitory Core of the Myostatin Prodomain: Its Interaction with Both Type I and II Membrane Receptors, and Potential to Treat Muscle Atrophy. PLoS One, 10(7): e0133713, Jul, 2015
4. Fukai Y, **Ohsawa Y**, Ohtsubo H, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Noda M, Sasaoka T, Murakami T, Sunada Y. Cleavage of β-dystroglycan occurs in sarcoglycan-deficient skeletal muscle without MMP-2 and MMP-9. Biochem Biophys Res Commun, 492(2):199-205, Oct, 2017

Dysferlinopathy および類似疾患の次世代シークエンサーを用いた診断および結合蛋白に注目した病態研究

分担研究者　青木正志

所属　東北大学 神経内科

研究協力者

井泉瑠美子 1)、小野洋也 1)、中村尚子 1)、鈴木直輝 1)、菅野新一郎 2)、髙橋俊明 3)、割田 仁 1)、加藤昌昭 1)、西山亜由美 1)、島倉奈緒子 1)、舟山 亮 4)、中山啓子 4)、新堀哲也 5)、青木洋子 5)、三宅克也 6,7)、林 由起子 8)、川原玄理 8)

所属

1 東北大学 神経内科
2 東北大学 加齢医学研究所
3 仙台西多賀病院
4 東北大学 細胞増殖制御学
5 東北大学 遺伝医療学
6 香川大学 組織細胞生物学
7 国際医療福祉大学 基礎医学研究センター
8 東京医科大学 病態生理学

緒言

Dysferlinopathy は、筋細胞膜蛋白質 dysferlin の欠損によって引き起こされる成人発症の筋ジストロフィーの総称である。dysferlin 欠損によって筋細胞膜の修復機構が損なわれ、そのため筋細胞の変性、壊死が生じると考えられている。これまで dysferlin のほかにも筋細胞膜修復に関与する dysferlin 結合蛋白質が複数報告されているが、細胞膜修復機構の全容はいまだ不明である。明らかになっていない鍵分子の存在が考えられる。本研究では、新規結合蛋白質を同定し、レーザー膜損傷の実験系を用いて、筋細胞膜修復機構を解明する。得られた知見をもとに治療法開発に取り組む。さらに dysferlinopathy 疑い症例の遺伝子診断・臨床病型の解析を進める。

方法

Dysferlin のドメイン構造に着目し、特定領域のアフィニティカラムを作成する。このカラムに細胞抽出物を反応させて相互作用する蛋白質を抽出し、SDS-PAGE により分離して、質量分析にかけることで結合蛋白質を同定する。そしてレーザー膜損傷の実験系を用いて膜修復機構への関与を評価する。さらに薬剤スクリーニングにより細胞膜修復の治療候補を探索し、動物モデルへの薬剤投与による運動機能や骨格筋構造の異常回復効果の検証を経て、治療応用につなげる。

Dysferlinopathy の症例の収集も継続し、次世代シーケンサーを用いた変異の同定を行った。

結果

細胞抽出物を dysferlin 特定領域のアフィニティカラムと反応させて相互作用する蛋白質を抽出した。SDS-PAGE により分離して、質量分析にかけることで、複数の dysferlin 結合蛋白質を同定した。同定した結合蛋白質の一つである AMPK 複合体に注目し、レーザー膜損傷の実験系を用いて解析を行った。dysferlin 変異をもつ患者培養細胞やモデル動物としてゼブラフィッシュおよびマウスにおいて骨格筋を評価し、昨年度発表している。同様の手法を用いて、別の dysferlin 結合蛋白についての解析を進めている。

臨床遺伝学的解析については、2021 年度も順調に症例の収集を継続しており、219 家系に 92 種の変異を見出している。臨床病型に関しては人類遺伝学会でも発表を行った。

考察

AMPK 複合体をはじめとした新規結合蛋白質について、筋細胞膜修復に関与する既報の分子との関連についても今後解析をすすめ、膜修復機構の全容解明と dysferlinopathy の病態解明につなげていく。ゲノム創薬など低分子薬以外のカテゴリーの薬剤や薬物送達法に関する検討も今後行っていく。

臨床遺伝学的な解析も継続的な症例の蓄積が将来的な治療開発には重要である。

結論

本研究の成果は根治療法がいまだない dysferlinopathy の治療法の開発に結びつく可能性がある。引き続き筋細胞膜修復機構の全容解明とそこから得られた知見をもとにした治療法開発に取り組んでいく。

参考文献

1. Li Y, Chen W, Ogawa K, Koide M, Takahashi T, Hagiwara Y, Itoi E, Aizawa T, Tsuchiya M, Izumi R, Suzuki N, **Aoki M**, Kanzaki M. Feeder-supported in vitro exercise model using human satellite cells from patients with sporadic inclusion body myositis.Sci Rep. 12(1):1082, 2022
2. Okada Y, Izumi R, Hosaka T, Watanabe S, Shijo T, Hatchome N, Konishi R, Ichimura Y, Okiyama N, Suzuki N, Misu T, **Aoki M**. Anti-NXP2 antibody-positive dermatomyositis developed after COVID-19 manifesting as type I interferonopathy. Rheumatology (Oxford). 61(4):e90-e92, 2022.
3. Konomatsu K, Izumi R, Suzuki N, Takai Y, Shirota Y, Saito R, Kuroda H, **Aoki M**. A rare case of sporadic inclusion body myositis and rheumatoid arthritis exhibiting ectopic lymphoid follicle-like structures: a case report and literature review. Neuromuscul Disord. 31(9):870-876, 2021.

福山型筋ジストロフィーおよび類縁疾患の分子病態および治療に関する研究
（CDP-リビトールのプロドラッグ治療はISPD欠損筋ジストロフィーを改善する）

分担研究者
戸田 達史 1）

研究協力者
徳岡 秀紀 2）、金川 基 3）、小林 千浩 2）

所属
1）東京大学大学院・医学系研究科・神経内科学
2）神戸大学大学院・医学研究科・脳神経内科学/分子脳科学
3）愛媛大学大学院・医学系研究科・医化学・細胞生物学

緒言

ジストログリカン（DG）異常症は、ジストロフィン糖タンパク複合体の中心に位置する膜タンパク質DGの糖鎖異常によって生じる筋ジストロフィーの総称で、*fukutin* を原因遺伝子とする福山型先天性筋ジストロフィーが代表的であるが、いずれも有効な治療薬は開発されていない。

最近、我々はDG糖鎖にリビトールリン酸と呼ばれる特異的な修飾構造が含まれていることを報告した(1)。DG糖鎖中のリビトールリン酸が欠失すると、DG糖鎖の伸長不全が生じ、細胞膜-基底膜間の結合力が低下して筋細胞が脆弱化することにより、DG異常症の原因になると考えられている。DG糖鎖のリビトールリン酸修飾に関わるDG異常症の原因遺伝子として、現在までに *fukutin*、*FKRP (fukutin-related protein)*、*ISPD (Isoprenoid synthase domain-containing protein)* の3種類が同定されており、ISPDはCTPとリビトール5リン酸からCDPリビトール（CDP-Rbo）を生合成する酵素、fukutinやFKRPはCDP-Rboを基質としてDG糖鎖にリビトールリン酸を付加する酵素であることが試験管内で示されている(1)。

これまで欧米を中心に *ISPD* 遺伝子の常染色体潜性変異によってWalker-Warburg症候群や筋-眼-脳病といった中枢神経異常を伴う重症筋ジストロフィーや肢帯型筋ジストロフィーを発症することが報告されているが、生体筋組織においてIPSDの異常が筋ジストロフィー発症に直結するDG糖鎖異常を引き起こすという証拠はなかった。ISPD欠損に伴う筋ジストロフィーモデルマウスを確立すること、およびその疾患モデルを用いてISPD遺伝子異常に伴う筋ジストロフィーに対する有効な治療薬候補を開発することを本研究の目的とした。

方法

ISPD欠損を伴う疾患モデルを確立するため、Myf5-Creを用いた筋特異的Ispd欠損マウス（コンディショナルノックアウトマウス: cKO）を作出した。握力や体重、血清クレアチニンキナーゼ(CK)値などを解析するとともに、骨格筋について生化学的解析、病理学的解析を行った。4週齢のcKOマウスに対してヒト *ISPD* 遺伝子を組み込んだアデノ随伴ウイルス（AAV）ベクターを 2.0×10^{12} vector genome 静脈注射し、体重、握力、筋肉中CDP-Rbo濃度、DG糖鎖及び筋ジストロフィー病理の改善について評価した。

次に膜透過性や安定性向上を目的としたCDP-Rboのプロドラッグ化合物を複数作製し、スクリーニングで糖鎖回復活性が高かった誘導体を4週齢のcKOに対して3週間繰り返し筋肉注射して、局所での治療効果を評価した。

最後に *ISPD* 変異を持つ2人の患者由来の皮膚線維芽細胞に対して、200μMのTetAおよびCDP-Rboを添加し、糖鎖回復活性を比較した。

結果

cKOはWT、Hetと比較して4週齢より握力が低く、体重も低下しており、有意なCK値上昇を認めた。また、20週齢までに約8割の個体が死亡した。筋肉中CDP-Rbo濃度はWT、Het、cKOの順に低下した。cKOは骨格筋DG糖鎖の伸長不全と基底膜ラミニンとの結合活性低下を認め、筋病理では壊死再生や中心核線維の増加、筋線維の大小不同、結合組織の増加などの典型的な筋ジストロフィー病理を示した。

AAVを投与した遺伝子治療群では、cKOと比較して12週齢で体重および握力の増加とCK値の低下を認めた。筋肉中CDP-Rbo濃度は増加し、DG糖鎖の回復および筋ジストロフィー病理の改善を認め、発症後のcKOであっても遺伝子治療により筋ジストロフィー症状が改善することが示された。

水酸基をアシル化したり、リン酸基を保護したCDP-Rboのプロドラッグを10種類作製した。マウス筋で明らかな毒性を認めず、CDP-Rboよりも糖鎖回復が高かったプロドラッグとしてCDP-Rboテトラアセチル体(TetA)を選定した。 TetAの長期局所投与実験では、生食を注射した群と比べて、

CDP-Rbo 群、TetA 群ともに壊死線維の減少を認めたが、再生線維およびマクロファージ浸潤は TetA 群のみ有意な低下を認め、結合組織浸潤は CDP-Rbo 群と比較して TetA 群で有意な改善を認めた。

最後に *ISPD* 変異を伴う患者由来ヒト線維芽細胞に対するプロドラッグ添加実験では、CDP-Rbo と比較して TetA では有意な糖鎖回復を認めた。

考察

本研究によって、ISPD の機能不全により筋肉中 CDP-Rbo 濃度が低下することが示され、哺乳類の骨格筋細胞において ISPD が CDP-Rbo 合成の主体を担っていることが示唆された。また骨格筋における ISPD の機能不全によって、DG 糖鎖の伸長不全が生じ、重度の筋ジストロフィー症状が生じることを示した。また、AAV を用いた遺伝子治療により、この病態が発症後でも改善することを示した。

さらに ISPD が CDP-Rbo 合成を担っている酵素であることに着目し、ISPD 機能不全の病態に対して、低分子薬である CDP-Rbo プロドラッグ補充療法の有効性を証明することに成功した。

結論

本研究では ISPD 欠損に伴う筋ジストロフィーの疾患モデルマウスを確立し、マウスに対する AAV を用いた遺伝子治療および CDP-Rbo プロドラッグによる低分子治療が有効であることを示した。CDP-Rbo 補充療法の実用化に向けて、さらに DDS を向上させていく必要がある。

参考文献

(1) Kanagawa *et al. Cell Rep.* **14**, 2209-2223 (2016)
(2) Tokuoka *et al. Nat Commun.* **13,** 1847 (2022)

-

神経筋接合部・筋の信号伝達障害の病態機構解明と治療研究

分担研究者　大野欽司 [1)]
研究協力者　大河原美静 [1)]、小早川晃範 [1)]、神原俊輔 [1)]
[1)] 名古屋大学大学院医学系研究科神経遺伝情報学

緒言

先天性筋無力症候群(CMS)は神経筋接合部(NMJ)に発現する遺伝子の先天的な遺伝子変異によって神経筋接合部信号伝達が障害される疾患群であり、原因遺伝子によって臨床症状と治療方法が大きく異なる [1-4]。CMS の臨床症状として、筋の易疲労性・持続的な筋力低下・筋萎縮・筋低形成に加えて、耳介低位・高口蓋などの顔面小奇形が時に認められる。自己免疫機序による重症筋無力症と異なり日内変動や易疲労性が明らかでなく、日差変動を呈する症例がある。CMS の多くは、2 歳以下に発症するが、出生直後の数日間のみに認められた筋力低下が軽快し思春期・成人期に再増悪し成人発症と判断される例や、新生児期に全く症状がない成人発症例も存在する。特に常染色体優性遺伝性疾患であるスローチャンネル症候群では成人発症例が認められる [5]。さらに、*SYT2*-CMS[6] と *SNAP25B*-CMS [7] の 2 型も常染色体優性遺伝形式であるが報告症例数が少なく成人発症の有無は不明である。他の CMS はいずれも常染色体劣性遺伝形式を示す。

次世代シークエンサの活用により CMS の原因遺伝子の同定が飛躍的に進展し、34 種類の遺伝子における原因遺伝子変異が同定されてきおり 14 の病型に分類が可能である。特に以下の 7 病型は近年明らかにされてきた病型である。

i. シナプス間隙の構造分子の変異による CMS (*COLQ*[8-10], *LAMB2*[11], *COL13A1*[12])
ii. 神経終末のアセチルコリンの再合成に関わる分子の変異による CMS (*CHAT*[13])
iii. 神経終末のアセチルコリンの放出に関わる分子の変異による CMS (先天性ランバートイートン筋無力症候群) (*SYT2*[6], *SNAP25*[7], *VAMP1*[14], *UNC13A*[15], *RPH3A*[16], *LAMA5*[17])
iv. アセチルコリン小胞の再充填の欠損による CMS (*PREPL*)[18]
v. 神経終末形成障害による CMS (*MYO9A*[19], *SLC25A1*[20])
vi. 核膜ラミン関連タンパク 1 (LAP1)分子の欠損による CMS (*TOR1AIP1*[21])
vii. クロマチンリモデリング酵素の欠損による CMS (*CHD8*[22])

本研究においてさらなる CMS 原因遺伝子の解明に資するべく神経筋接合部を構築する新た分子の同定を行なった。

方法

Laser capture microdissection ならびに Ribotag マウスの RNA-seq 解析により筋終板に特異的に発現する分子の同定を行った。同定した connective tissue growth factor (Ctgf)/cellular communication network factor 2 (Ccn2)の C2C12 筋管解析、ならびに *Ctgf/Ccn2* ノックアウトマウスの解析を行った。

結果

Laser capture microdissection と Ribotag マウスの解析にて *Ctgf/Ccn2* は筋終板に 1.60-1.83 倍多く発現することを明らかにした。*Ctgf/Ccn2* はマウス胎児筋終板に集積しており、E17.5 に発現がピークに達した。

Deletion mutant を用いた免疫沈降実験にて Ctgf/Ccn2 の CT ドメインが LRP4 の第 3 β プロペラドメインに結合することを明らかにした。*In vitro* plate-binding assay、ならびに cell surface-binding assay にて Ctgf/Ccn2 の CT ドメインが MuSK と LRP4 の結合を増強することを見出した。Ctgf/Ccn2 は agrin 処理した C2C12 筋管膜に発現する LRP4 の量を増加させるとともに LRP4 のリン酸化を促進した。同時に、Ctgf/Ccn2 は C2C12 筋管において MuSK リン酸化を亢進させアセチルコリン受容体のクラスタリングも増強した。逆にレンチウイルスによる *Ctgf/Ccn2* ノックダウンにより C2C12 筋管の MuSK リン酸化が低下し、アセチルコリン受容体のクラスタリングも低下した。これらの低下を LRP4 の ectodomain がレスキューした。

マウス *Ctgf/Ccn2* ノックアウトにより骨格筋膜に発現する LRP4 が減少し MuSK リン酸化も低下した。ノックアウトはマウスの骨格筋分化と運動ニューロン分化には弱拡大レベルでは影響を与えなかったが、共焦点顕微鏡による観察では運動神経終末の synaptophysin の軸索への異常な進展とアセチルコリン受容体クラスタの形成障害を認めた。電顕における観察でも神経終末のミトコンドリアが著減し、シナプス小胞数とアクティブゾーンの現象を認めた。反復神経刺激による微小終板電位の異常減衰を認めるとともに、微小終板電位の頻度の顕著な低下を認めた。

考察

LRP4 は agrin 受容体として筋終板で LRP4/MuSK 共受容体を形成するとともに、神経終末にも発現し神経終末の分化に必須の分子であることが報告されているが、そのリガン

ドは不明である[23, 24]。Ctgf/Ccn2 は NMJ における LRP4 の retrograde signal のリガンドである可能性が示された。

結論

さらなる CMS 原因遺伝子の解明に資するべく神経筋接合部を構築する新たな分子の検討を行い、Ctgf/Ccn2 が神経終末に作用する NMJ 形成に必須の分子であることを同定した[25]。

参考文献

1. Ohno K, Ohkawara B, Ito M, et al. Molecular Genetics of Congenital Myasthenic Syndromes, . DOI: 10.1002/9780470015902.a9780470024314, eLS. John Wiley & Sons, Inc. 2014.
2. Ohno K, Ohkawara B, and Ito M: Recent advances in congenital myasthenic syndromes. Clin Exp Neuroimmunol. 7:246-259, 2016
3. Ohno K, Ohkawara B, and Ito M: Agrin-LRP4-MuSK signaling as a therapeutic target for myasthenia gravis and other neuromuscular disorders. Expert Opin Ther Targets. 21:949-958, 2017
4. Ohkawara B, Ito M, and Ohno K: Secreted Signaling Molecules at the Neuromuscular Junction in Physiology and Pathology. Int J Mol Sci. 22:2455, 2021
5. Shen XM, Okuno T, Milone M, et al.: Mutations Causing Slow-Channel Myasthenia Reveal That a Valine Ring in the Channel Pore of Muscle AChR is Optimized for Stabilizing Channel Gating. Hum Mutat. 37:1051-1059, 2016
6. Herrmann DN, Horvath R, Sowden JE, et al.: Synaptotagmin 2 mutations cause an autosomal-dominant form of lambert-eaton myasthenic syndrome and nonprogressive motor neuropathy. Am J Hum Genet. 95:332-339, 2014
7. Shen XM, Selcen D, Brengman J, et al.: Mutant SNAP25B causes myasthenia, cortical hyperexcitability, ataxia, and intellectual disability. Neurology. 83:2247-2255, 2014
8. Ohno K, Brengman J, Tsujino A, et al.: Human endplate acetylcholinesterase deficiency caused by mutations in the collagen-like tail subunit (ColQ) of the asymmetric enzyme. Proc Natl Acad Sci U S A. 95:9654-9659, 1998
9. Ohno K, Brengman J, and Engel A: How does an A-to-G splice donor site mutation at position+3 result in aberrant splicing? A lesson learned from a mutation in the COLQ gene. Am J Hum Genet. 65:A80-A80, 1999
10. Nakata T, Ito M, Azuma Y, et al.: Mutations in the C-terminal domain of ColQ in endplate acetylcholinesterase deficiency compromise ColQ-MuSK interaction. Hum Mutat. 34:997-1004, 2013
11. Maselli RA, Ng JJ, Anderson JA, et al.: Mutations in *LAMB2* causing a severe form of synaptic congenital myasthenic syndrome. J Med Genet. 46:203-208, 2009
12. Logan CV, Cossins J, Rodriguez Cruz PM, et al.: Congenital Myasthenic Syndrome Type 19 Is Caused by Mutations in COL13A1, Encoding the Atypical Non-fibrillar Collagen Type XIII alpha1 Chain. Am J Hum Genet. 97:878-885, 2015
13. Ohno K, Tsujino A, Brengman JM, et al.: Choline acetyltransferase mutations cause myasthenic syndrome associated with episodic apnea in humans. Proc Natl Acad Sci U S A. 98:2017-2022, 2001
14. Salpietro V, Lin W, Delle Vedove A, et al.: Homozygous mutations in VAMP1 cause a presynaptic congenital myasthenic syndrome. Ann Neurol. 81:597-603, 2017
15. Engel AG, Selcen D, Shen XM, et al.: Loss of MUNC13-1 function causes microcephaly, cortical hyperexcitability, and fatal myasthenia. Neurol Genet. 2:e105, 2016
16. Maselli RA, Vazquez J, Schrumpf L, et al.: Presynaptic congenital myasthenic syndrome with altered synaptic vesicle homeostasis linked to compound heterozygous sequence variants in RPH3A. Mol Genet Genomic Med. 6:434-440, 2018
17. Maselli RA, Arredondo J, Vazquez J, et al.: Presynaptic congenital myasthenic syndrome with a homozygous sequence variant in LAMA5 combines myopia, facial tics, and failure of neuromuscular transmission. Am J Med Genet A. 173:2240-2245, 2017
18. Regal L, Shen XM, Selcen D, et al.: PREPL deficiency with or without cystinuria causes a novel myasthenic syndrome. Neurology. 82:1254-1260, 2014
19. O'Connor E, Topf A, Muller JS, et al.: Identification of mutations in the MYO9A gene in patients with congenital myasthenic syndrome. Brain. 139:2143-2153, 2016
20. Chaouch A, Porcelli V, Cox D, et al.: Mutations in the Mitochondrial Citrate Carrier SLC25A1 are Associated with Impaired Neuromuscular Transmission. J Neuromuscul Dis. 1:75-90, 2014
21. Cossins J, Webster R, Maxwell S, et al.: Congenital myasthenic syndrome due to a TOR1AIP1 mutation: a new disease pathway for impaired synaptic transmission. Brain Commun. 2:fcaa174, 2020
22. Lee CY, Petkova M, Morales-Gonzalez S, et al.: A spontaneous missense mutation in the chromodomain helicase DNA-binding protein 8 (CHD8) gene: a novel association with congenital myasthenic syndrome. Neuropathol Appl Neurobiol. 46:588-601, 2020
23. Wu H, Lu Y, Shen C, et al.: Distinct roles of muscle and motoneuron LRP4 in neuromuscular junction formation. Neuron. 75:94-107, 2012
24. Yumoto N, Kim N, and Burden SJ: Lrp4 is a retrograde signal for presynaptic differentiation at neuromuscular synapses. Nature. 489:438-442, 2012
25. Ohkawara B, Kobayakawa A, Kanbara S, et al.: CTGF/CCN2 facilitates LRP4-mediated formation of the embryonic neuromuscular junction. EMBO Rep. 21:e48462, 2020

核膜病の病態解明、ならびに小型魚類を用いた筋疾患治療法の探索

分担研究者　林　由起子

所属　東京医科大学

病態生理学分野

緒言

核膜関連タンパク質の異常による遺伝性疾患を総称して核膜病と呼ぶ。我々は核膜病の代表的疾患である Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィーを中心に、モデルマウスを用いた解析を進めている。

今年度は核膜病の特徴の 1 つである核の形態異常と金編成との関連について検討したので報告する。

方法

筋変性の軽い A 型ラミン変異導入マウス(H222P)と顕著な筋変性を示すエメリン欠損マウス(Emd)と H222P との重複変異マウス(EH)を用いて、単離単一筋線維、培養筋細胞、筋壊死・再生モデルを用いて、筋核の形態変化と筋変性との関連を検討した。

結果

単一筋線維の核形態は H222P、EH 共に若齢期から認められ、週齢に伴い、増悪すること、培養筋芽細胞では、形態異常を示す核は目立たないが、分化に伴い核の形態異常が増加することを明らかにした。また、筋壊死・再生モデルにおいて、H222P も EH も共に筋再生能に異常はなく、再生筋では核の変形が改善するが、筋変性は進行することを見出し、報告した。

考察

H222P と E H は共に筋核の顕著な形態変化を特徴とするが、筋変性の程度とは関連しなかった。また、H222P、E H マウスともに筋再生能も野生型と同様であった。再生筋では筋核の形態異常は改善するが、筋変性は再生筋でも進行することが明らかとなった。

以上の結果より、筋核の形態異常と筋変性との間には明らかな関連は見出されなかった。今後、機械刺激やクロマチンの制御と遺伝子発現変化について検討を進めることで、核膜関連筋疾患の筋変性メカニズムを明らかにしていく。

結論

核膜病における筋核の形態異常と筋変性の間には明らかな関連は見出されなかった。

参考文献

なし

筋疾患におけるメカノトランスダクション機構の解明

分担研究者
平澤恵理１）
研究協力者
中田智史２），山下由莉１）
所属
１）順天堂大学大学院・医学研究科老人性疾患病態・治療研究センター/老化・疾患生体制御学
２）順天堂大学大学院スポーツ健康科学研究科女性スポーツ研究センター

緒言

健常筋は、適切なメカニカルストレスにより維持されているが、疾患筋においては、メカニカルストレスへの脆弱性が筋崩壊の原因になることが知られる。病的及び老化骨格筋に特徴的なメカノカスケードを解明し、最適化することで筋ジストロフィー治療におけるリハビリテーションや高齢者へ筋肥大を促すトレーニングのオーダーメイド提供が可能になると期待される。本研究では、３年間を通し、疾患筋における適正なメカニカルストレスの提案を目指す。

方法

過去の本研究班においてこれまでに行った腱切除、神経切除術に加え、今期３年間を通して尾部懸垂も検討し、異なるメカニカルストレス免荷モデルにおける萎縮シグナルを検討している。メカニカルシグナル伝達の違いにより、筋量変化の有無や程度が異なる可能性を検討する。トレッドミル使用による運動負荷モデルも開始した。令和 3 年度は、マウスによる *in vivo* モデルに加えて細胞モデルを検証した。一軸伸展装置を用いて、C2C12 細胞を用いたメカニカルストレスを定性定量的に負荷する *in vitro* 系モデルを確立し、Duchenne 型筋ジストロフィー患者由来 iPS 細胞由来の筋細胞（DMD-筋細胞）で検証した。

結果

Duchenne 型筋ジストロフィー患者由来 iPS 細胞由来の筋細胞(DMD-筋細胞)で検証した。DMD-筋細胞では一軸伸展刺激により、メカニカルストレスに対して培養液中の Creatin Kinase(CK)が有意に上昇した(P<0.05, N=8)。

考察

今後 DMD-筋細胞モデルを使って、電気刺激による収縮と一軸伸展を組み合わせ、生理的運動負荷を模倣する系を確立し、定性定量的なメカニカルストレスによる疾患筋の変化を検証する。今後、筋細胞の成熟度の形態学的確認も進める。

結論

病的骨格筋においては、*in vitro* の一軸伸展刺激に対し、脆弱性を示した。今後、特徴的なメカノカスケードを解明し、最適化する。

参考文献

1 Nakada S, Yamashita Y, Machida S, Miyagoe-Suzuki Y, Arikawa-Hirasawa E Perlecan facilitates neuronal nitric oxide synthase delocalization in denervation-Induced muscle atrophy Cells. 2020 Nov 23;9(11):2524 doi: 10.3390/cells9112524

2 平澤 恵理、 山下 由莉　難治性疾患(難病)を学ぶ シュワルツ・ヤンペル症候群 遺伝子医学 10(3) 98 - 100 2020 年 7 月

3 Yamashita Y, Nakada S, Yoshihara T, Nara T, Furuya N, Miida T, Hattori N, Arikawa-Hirasawa E. Perlecan, a heparan sulfate proteoglycan, regulates systemic metabolism with dynamic changes in adipose tissue and skeletal muscle.Sci Rep. 2018 May 17;8(1):7766. doi10.1038/s41598-018-25635-x.

4 *Ning L, Xu Z, Furuya N, Nonaka R, Yamada Y, Arikawa-Hirasawa E. Perlecan

inhibits autophagy to maintain musclehomeostasis in mouse soleus muscle. *Matrix Biol.* 2015 Aug 28.

5 Arikawa-Hirasawa E, Watanabe H, Takami H, Hassell JR, Yamada Y 1999. Perlecan is essential for cartilage and cephalic development. Nat Genet 23:354-8

6 Arikawa-Hirasawa, E., Le, A.H., Nishino, I. et al. Structural and functional mutations of the perlecan gene cause Schwartz-Jampel syndrome, with myotonic myopathy and chondrodysplasia. *Am J Hum Genet* 70, 1368-75 (2002).

7 Xu Z, Ichikawa N,et al.Perlecan deficiency causes muscle hypertrophy, a decrease in myostatin expression, and changes in muscle fiber composition *Matrix Biol.* 2010 Jul;29(6):461-70.

8 Furuya N, Ikeda S, Sato S, Soma S, Ezaki J, Oliva JA Trejo, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, Arikawa-Hirasawa E, Tada N, Komatsu M, 7 Tanaka K, Kominami E, Hattori N and Ueno T, PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to the proteasome 2 activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy* 2014 Apr;10(4):631-41.

骨格筋分化と筋萎縮を標的とした筋疾患の病態解明と治療法開発

分担研究者　土田邦博 1)

所属　藤田医科大学総合医科学研究所

難病治療学

研究協力者　常陸圭介 1)，中谷直史 2)，高山健太郎 3)， 林良雄 4)， 上田洋司１)， 永岡唯宏１),宇根隼人 5)， 西野一三 5)

所属

１）藤田医科大学総合医科学研究所

難病治療学研究部門

２）星城大学リハビリテーション学部

３）京都薬科大学生命薬科学系衛生化学分野

４）東京薬科大学薬学部薬品化学

５）国立精神・神経医療研究センター　神経研究所疾病研究第一部

緒言

骨格筋は、筋特異的転写制御因子や細胞増殖因子の秩序だった巧妙な発現制御により形成される。損傷時には、転写制御因子が再誘導されユビキチン・プロテアーゼ系による筋のタンパク分解が生じる。骨格筋は、可塑性に富んだ組織であり、筋ジストロフィーを中心とした神経筋疾患、神経遮断、栄養不足、非活動、老化、慢性炎症やがんによる悪液質では萎縮し、運動負荷では肥大する。社会的な問題となった COVID-19 の流行による運動不足、座りがちなライフスタイルにより、骨格筋の萎縮、柔軟性の喪失が生じ、腰痛、身体活動の抑制の原因ともなっている。超高齢社会を迎えた本邦では、サルコペニア・フレイルの増加も問題となっている。近年、200 塩基以上からなら長鎖非翻訳 RNA(lncRNA)の骨格筋における機能解析が進んでいる。本研究では、筋分化経路と筋萎縮における lncRNA の役割を詳細に解析した。さらに、複数の筋萎縮系と筋肥大系で発現に変動の見られる因子を絞り込んだ。老化による筋萎縮に寄与する増殖因子の作用について精査した。ミオスタチン阻害では顕著な筋肥大が見られる。その系で発現上昇が見られる翻訳後修飾因子について詳細な解析を開始した。

方法

筋分化制御転写因子の一つであるミオジェニン (MyoG)のプロモーター領域から発現する lncRNA の *Myoparr* (Myogenin-promoter-associated lncRNA)を発見した。*Myoparr* は、RNA 結合タンパク質 (RBP)の Ddx17 とヒストンアセチル化酵素 PCAF との相互作用を強め、Myog の発現を調節し筋分化を決定していることを、Ribo トラップ法とクロマチン免疫沈降法を駆使して精査した。RNA 結合タンパク質(RBP)は非常に多くの細胞活性に影響を与える。*Myoparr* 結合分子をさらに幅広く探索する目的で Ribo トラップ法と SILAC 法を駆使し質量分析計を用いて同定を試みた。Ddx17 以外に heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNPK)が同定された。筋分化における役割をマウスやヒトの筋芽細胞分化系を転写アッセイ系、免疫沈降法、筋分化アッセイなどを用いて解析した。hnRNPK は筋分化に対して抑制的に作用することを見出した。hnRNPK の作用には、*Myoparr* 依存性と *Myoparr* 非依存性の両方の機構が働いていた。hnRNPK は正常な筋管形成に必須であることが示唆された [1)]。筋萎縮系として、廃用性群として坐骨神経遮断、ギブス固定、全身性筋萎縮群として大腸がん担がん悪液質モデル、飢餓を選択した。筋肥大モデルとしてミオスタチン遺伝子破壊・代償性足底筋肥大系を用いて、共通に発現変動する lncRNA, mRNA 群を絞り込んだ。RNA-seq で変動遺伝子を探索した。各刺激に共通してあるいは刺激特異的に発現変動する lncRNA, mRNA 群を絞り込んだ [2)]。

ミオスタチン阻害による筋肥大で発現上昇が見られる翻訳後修飾因子について、基質の同定に取り組んだ。骨格筋には，筋衛星細胞以外に、間質に間葉系前駆細胞 (FAP 細胞)が存在する。間葉系前駆細胞の除去が新たな筋萎縮モデルとなることを見出した [3)]。間葉系前駆細胞の数は萎縮老化筋で減少する。老化によ

る筋萎縮に寄与する細胞増殖因子・分泌因子を探索した。

結果

ミオジェニン遺伝子の上流から発現誘導される lncRNA である *Myoparr* の RNA 結合蛋白として hnRNAP-K を見出した。*Myoparr* 依存性にミオジェニンの発現を調節する効果とともに、*Myoparr* 非依存性に小胞体ストレスに影響することを示した[1)]。筋萎縮の中で、廃用性筋萎縮群と全身性筋萎縮群の 2 つがあるが LncMyod と linc-MD1 や新規の lncRNA の発現を指標に差別化可能であることを示した[2)]

間葉系前駆細胞由来の分泌因子である BMP3b の発現低下が筋萎縮の要因になり、老齢筋萎縮モデルに BMP3b(Gdf10)を持続投与することで筋萎縮を改善できるという結果を得た[3)]。老化によって生じる神経筋接合部周辺のシュワン細胞の変性も改善するという知見も得られた[3)]。筋萎縮の治療として、ミオスタチンを標的とする手法が有望であるが臨床応用にはいまだ至っていない。ミオスタチンやアクチビンの細胞外結合タンパク質であるフォリスタチンや前駆体ペプチド誘導体の薬効を東京薬科大学の林教授、京都薬科大の高山先生と共同で詳しく調べ強力な筋肥大効果を呈するペプチドを見出した[4)]。ミオスタチン阻害による筋肥大で発現上昇が見られる翻訳後修飾因子については、ミオシンを基質とするという知見が得られた。研究の課程で、Myh１、4 の二重遺伝子破壊マウスが得られ、単独の KO よりも顕著な筋萎縮を示し、筋力も低下することが示された。今後、翻訳後修飾因子の詳細な解析を行い、独創性のある研究へと展開していきたいと考えている。

考察

筋萎縮は、様々な病態で生じるが、生命活動や生活の質に大きな影響を及ぼす。超高齢社会を迎えた日本では、その対策は急務である。近年のパンデミックによる外出規制も運動不足から筋骨格系に甚大な影響を及ぼしている。本研究の成果から、筋分化・筋萎縮の新たな分子機構が解明され、臨床応用への発展が期待される。

結論

長鎖非翻訳 RNA(lncRNA)による筋形成および筋萎縮に関与する機構を明らかにする研究を進行させた。筋萎縮および筋肥大モデルで発現変動する lncRNA 群を抽出し差別化可能であることを示した。筋萎縮・肥大解析からミオシンの新しい翻訳後修飾を見出した。筋レポジトリー試料でも病態によって翻訳後修飾が変化することが観察されている。本研究から筋萎縮のトランスレーショナル研究が進行することを目指している。

参考文献

1. Hitachi K, Nakatani M, Funasaki S, Hijikata I, Maekawa M, Honda M, **Tsuchida K:** Expression levels of long non-coding RNAs are related to skeletal muscle mass in mice. Int. J. Mol. Sci. 21:1628, Feb, 2020
2. Hitachi K, Nakatani M, Kiyofuji Y, Inagaki H, Kurahashi H, **Tsuchida K**: An analysis of differentially expressed coding and long non-coding RNAs in multiple models of skeletal muscle atrophy: Int. J. Mol. Sci. 22:2558. March, 2021
3. Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H, Kurosawa T, Yoshimoto Y, Nakatani M, Hitachi K, Yamaguchi H, Wakatsuki S, Araki T, Morita M, Yamada H, Toyoda M, Kanazawa N, Nakazawa T, Hino J, Fukada S-i., **Tsuchida K**: Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. J. Clin. Invest. 131(1):e139617, Jan, 2021
4. Saitoh M, Takayama K, Hitachi K, Taguchi A, Taniguchi A, **Tsuchida K**, Hayashi Y: Discovery of a follistatin-derived myostatin inhibitory peptide. Bioorg. Med. Chem. Lett. 30(3):126892, Feb, 2020
5. Takayama K, Keisuke H, H. Okamoto H, Saitoh M, Odagiri M, Ohfusa R, Shimada T, Taguchi A, Taniguchi A, Tsuchida K, **Hayashi Y**. Development of myostatin inhibitory D-peptides to enhance the potency increasing skeletal muscle mass in mice. ACS Med. Chem. Lett. 2022, 13, 3, 492–498, Feb, 2022

有機化学を基盤とする筋ジストロフィー治療薬の創製研究

分担研究者　林　良雄

所属　東京薬科大学

薬学部　薬品化学教室

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)は、ジストロフィン遺伝子変異による重篤な進行性筋変性疾患であり、本疾患の約 20%はナンセンス変異に起因する。我々は、ナンセンス変異読み飛ばし（リードスルー）活性を有するジペプチド型抗生物質（+）–ネガマイシン（**1**）を礎としたリードスルー薬創製研究を展開してきた。これまでに天然類縁体 3-エピ-5-デオキシネガマイシン（TCP-107, **2**）[1] や合成誘導体 TCP-112 (**3**) [2] が良好な活性を示すことを見出した。更に、誘導体 **2** の 3 位アミノ基に非天然アミノ酸を導入した誘導体 TCP-1109（**4**）では、TGA 変異において **1** の約 10 倍強力なリードスルー活性を有することを見出した。一方、これら誘導体は単純かつ柔軟な分子構造を有し、結合の自由回転により生体内で様々な分子空間的配座をとることが予想される。そこで、分子を活性配座に固定することができれば、さらなるリードスルー活性の向上が期待できると考えた。

方法、結果、考察

本研究では、TCP-107 構造中の β-アミノ酸部位にシクロプロパン環を導入することで、分子のコンホメーションの固定化を図った。シクロプロパン構造がとりうる 4 種の配座異性体について検討した。得られた合成誘導体は、PTC として TGA を含む DMD モデルマウス由来の cDNA 配列をトランスフェクションした COS-7 細胞を用い、リードスルー活性を算出した。その結果、異性体 4 種のうち、*down-cis* 配座のシクロプロパン構造を有する TCP-304 (**5**) において顕著なリードスルー活性の上昇が確認された [3]。本結果より、シクロプロパン環による分子固定がリードスルー活性の向上に寄与していることが示唆された。さらに、**5** の 3 位アミノ基部の誘導化により **2** の約 10 倍もの強力な活性を有する TCP-306 (**6**) の獲得にも成功した [3]。この活性はアミノグリコシド G418 のリードスルー活性値よりも約 2.5 倍高いものであった。

高活性誘導体 **5** および **6** の詳細なリードスルー活性を調べるために、濃度依存性試験を実施した。両誘導体ともに 6.25 から 200 μM において、濃度依存的なリードスルー活性を示した。さらに、PTC として他の TAG、TAA 配列についても同様に評価を行なった。その結果、アミノグリコシド G418 は 3 種類の PTC に対して、比較的類似したリードスルー活性を示した。一方で、ネガマイシン誘導体 **5** および **6** は、最もリードスルーを起こし易いとされる TGA 配列に対し、顕著な活性を示すことがわかった。

結論

本研究では、TCP-107 にシクロプロパン環を導入することで、*down-cis* 配座を有する TCP-304 が高いリードスルー活性を有することを見出した。TCP-304 の更なる誘導化により、新規高活性誘導体 TCP-306 の創製にも成功した。今後、これら誘導体の詳細な活性評価により、DMD におけるリードスルー薬の創製に繋げていく予定である。

参考文献

1. Taguchi A, Hamada K, Kotake M, Shiozuka M, Nakaminami H, Pillaiyar T, Takayama K, Yakushiji F, Noguchi N, Usui T, Matsuda R, **Hayashi Y**: Discovery of natural products possessing selective eukaryotic readthrough activity: 3-*epi*-deoxynegamycin and its leucine adduct. ChemMedChem 9(10):2233-2237, Oct, 2014
2. Hamada K, Omura N, Taguchi A, Baradaran-Heravi A, Kotake M, Arai M, Takayama K, Taniguchi A, Roberge M, **Hayashi Y**: New negamycin-based potent readthrough derivative effective against TGA-type nonsense mutations. ACS Med. Chem. Lett. 10(10):1450-1456, Sep, 2019
3. **林　良雄**、田口晃弘、大村紀子、他: ネガマイシン誘導体. PCT/JP2021/012992. WO/2021/200694.

骨格筋における膜リン脂質分布制御の意義解明

分担研究者　原雄二

所属　静岡県立大学薬学部

統合生理学分野

緒言

膜融合は骨格筋線維の形成や膜修復機構など、骨格筋における恒常性維持に必須な現象である。筋線維の形成過程では、筋衛星細胞から派生した筋芽細胞同士が融合し、筋管と呼ばれる長大な管状の構造体が形成される。また、絶え間ない筋収縮・弛緩により発生する筋線維膜の損傷は、小胞融合を介して修復されることが知られており、膜修復の破綻は筋疾患発症をもたらす。しかし細胞膜融合の根幹ともいえる「脂質の局在変化、膜融合後の脂質再配置がいかに膜構造・膜物性変化に影響を与え、骨格筋機能を統御するか」について、未だその全容は明らかではない。本年度はこれまでの知見のもと（文献１）、細胞膜の張力により活性化される「機械受容イオンチャネル」についてその役割解明を目指してきた。特に筋幹細胞に高く発現する機械受容イオンチャネル PIEZO1 のさらなる機能およびイオンチャネル群がもたらす細胞内情報伝達経路の解明を試みた。

方法

Piezo1 欠損マウス (*Piezo1*$^{tm1c(KOMP)Wtsi}$) を UCDavis マウスリソースセンターより入手した。筋衛星細胞特異的に Cre レコンビナーゼを発現する *Pax7-Cre*^{ERT2}（小野悠介先生より供与いただいた）と掛け合わせを行った。Cre レコンビナーゼの誘導のためタモキシフェンを腹腔内に 5 回（1 日 1 回）注入し、さらに 5 日後に筋線維融解作用を持つヘビ毒（カルジオトキシン）を前脛骨筋に注入することで、筋再生能を評価した。また筋幹細胞の性状解析について、増殖能、分化能等を検討した。内在性 PIEZO1 の C 末端に tdTomato タグを付加するマウスについては、野々村恵子博士（東京工業大）より供与いただいた。

また、機械受容イオンチャネルとも知られる TRPM7 について、その遺伝子欠損マウス（森泰生教授・京都大学より供与、文献 2）についても同様な解析を行った。

また、細胞内情報伝達経路の解明を目指し、単離筋幹細胞を用いて RNA-seq 解析を試みた（理研・新宅博文博士との共同研究）。

結果

これまで申請者の研究（文献 1）をもとに、骨格筋線維の再生過程全般での PIEZO1 の機能解明を試みた。タンパク質レベルでの PIEZO1 の発現を検討するため、内在性 PIEZO1 の C 末端に tdTomato が融合した形で発現する Piezo1-tdTomato マウスを用いて、PIEZO1 の骨格筋での発現を検討した。実際、同マウスより FACS にて単離した筋衛星細胞にて PIEZO1-tdTomato の発現が強く認められた。

続いて、CreERT2/loxP システムを用いてタモキシフェン誘導型の筋衛星細胞特異的 *Piezo1* 欠損マウスの作出・解析を行った。まずカルシウム測光にて筋衛星細胞でのカルシウム動態を検討したところ、PIEZO1 依存的な微細なカルシウム振動が認められた。またカルジオトキシンを用いて筋線維壊死後の筋再生過程を検討したところ、*Piezo1* 欠損マウスでは、筋再生能が著しく低下していることを見出した。さらに単離筋衛星細胞では、増殖能の低下が認められ、PIEZO1 は幹細胞の増殖に関わることが示された。

この表現型の原因を追究すべく、PIEZO1 下流経路の同定を目指した。筋衛星細胞を単離し RNA-seq 解析を行ったところ、*Piezo1* 欠損マウスでは、細胞骨格（アクトミオシン）の形成に関わる因子群の著しい現象が認められた。さらに我々のこれまでの知見のもとが損なわれていた。また *Piezo1* 欠損で見られた幹細胞の増殖能の低下は、RhoA 経路の活性化剤にてレスキューされたことから、PIEZO1-RhoA 経路が筋幹細胞に重要な役割を果たすことが示唆された。尚、上記研究は現在投稿中でありる。（https://biorxiv.org/cgi/content/short/2021.03.18.435982v1 ）。

一方、PIEZO1 の局在は幹細胞の状態で著し

く変化することが認められたことから、幹細胞に掛かる物理的な力を感知して自身の局在を変化させ、幹細胞の活性化、分裂、増殖など適切な機能をもたらすと考えられる。

また、PIEZO1 以外の機械受容イオンチャネルとして、TRPM7 チャネルについて、その機能解明を試みた。興味深いことに *Trpm7* 欠損マウスでは、*Piezo1* 欠損と比較してより強い表現型が認められた。カルジオトキシン注入後、同遺伝子欠損により筋線維の再生は著しく阻害された。一方で免疫染色解析の結果、TRPM7 イオンチャネルは顕著な局在・発現変動は示さなかったことから、TRPM7 は PIEZO とは異なる作用機序により細胞内情報伝達をもたらすものと考えられる。

考察

本研究では PIEZO1 を中心とした、機械受容チャネルの機能解析を行った。幹細胞は外界からの刺激により活性化を受けると考えられており、物理的な力を感知する機構として、PIEZO1 をはじめとした機械受容チャネルが関わることを見出した。

筋衛星細胞は筋線維の再生過程に重要であるが、一方で Rhabdomyosarcoma においても筋衛星細胞と類似した経路が異常に活性化されることが報告されている。本研究で明らかにされた PIEZO1 が機械刺激を感知するメカニズムは、筋衛星細胞による筋再生能のみならず、骨格筋における多様な病態発症においても関わる可能性が考えられる。また我々の検討では機械受容イオンチャネルは成熟筋線維にはほとんど発現していなかったが、一方でわずかに発現するイオンチャネル分子が筋機能に関わる可能性も存在する。今後、膜修復機構を含め、筋機能と機械受容チャネルの相関を明らかにしていきたい。

結論

リン脂質動態により制御される機械受容イオンチャネル PIEZO1 は、骨格筋再生能に重要な役割を果たすことが示された。また機械受容イオンチャネルである *Trpm7* 欠損マウスは重篤な表現型を示すことが明らかになった。今後の研究により、機械受容イオンチャネル間での機能的なすみ分けなどを明らかにしていきたい。

参考文献

1. Tsuchiya M, Hara Y, Okuda M, Itoh K, Nishioka R, Shiomi A, Nagao K, Mori M, Mori Y, Ikenouchi J, Suzuki R, Tanaka M, Ohwada T, Aoki J, Kanagawa M, Toda T, Nagata Y, Matsuda R, Takayama Y, Tominaga M, Umeda M. Cell surface flip-flop of phosphatidylserine is critical for PIEZO1-mediated myotube formation. Nat. Commun., 9, 2049 (2018).
2. TRPM7 channels mediate spontaneous Ca^{2+} fluctuations in growth plate chondrocytes that promote bone development. Qian N, Ichimura A, Takei D, Sakaguchi R, Kitani A, Nagaoka R, Tomizawa M, Miyazaki Y, Miyachi H, Numata T, Kakizawa S, Nishi M, Mori Y, Takeshima H. Sci Signal. 2019 Apr 9;12(576):eaaw4847.

リアノジン受容体関連筋疾患の病態解明と治療法開発

分担研究者　村山　尚

研究協力者　呉林　なごみ

所属　順天堂大学医学部薬理学講座

緒言

1 型リアノジン受容体（RyR1）は骨格筋筋小胞体の Ca^{2+}遊離チャネルであり、筋収縮に重要な役割を果たしている。最近、さまざまな先天性ミオパチーにおいて RyR1 の突然変異が疾患の原因であることが分かってきたが、それらの疾患に対する治療法は未だ確立していない。この原因の一つは、創薬スクリーニング系の確立の遅れにあると考えられる。RyR1 の生理的 Ca^{2+}遊離機構（脱分極誘発性 Ca^{2+}遊離 ; DICR）は T 管膜上の電位センサー（Cav1.1）と RyR1 との相互作用により起こるが、少なくとも 5 種類の必須因子からなる機能的複合体の形成が必要である。本研究では HEK293 細胞に DICR を再構成することで、新たな創薬候補化合物をスクリーニングするシステムの開発を行った。

方法

RyR1 と小胞体内 Ca^{2+}インジケータ（R-CEPIA1er）を安定発現する HEK293 細胞に DICR 必須因子（Cav1.1、β1a、junctophilin 2, Stac3）および内向き整流性カリウムチャネル（Kir2.1）をバキュロウイルスで感染させた。小胞体内 Ca^{2+}濃度を蛍光プレートリーダー（FlexStation3）でタイムラプス測定し、高カリウム溶液を添加して脱分極刺激を行い、蛍光変化を観察した。

結果

VSV-G バキュロウイルスは哺乳類細胞に高効率で遺伝子導入を行うことが可能である。RyR1/R-CEPIA1er 発現 HEK293 へ DICR 必須因子を導入したところ、ほとんどすべての細胞に発現が確認された。HEK293 細胞は静止膜電位が浅い（−20 mV）ため、Kir2.1 を発現させて静止膜電位を−70 mV まで低下させた。この細胞に脱分極刺激を行ったところ、カリウム濃度に依存した小胞体内 Ca^{2+}濃度の低下が観察された。各必須因子を除くと小胞体内 Ca^{2+}濃度低下は見られなくなった。以上の結果から、HEK293 細胞を用いた DICR の再構成に成功したことが示唆された。

考察

現在は 96 ウェルプレートを用いたアッセイ系であるが 384 ウェルプレート等のさらに多検体測定への拡張も可能である。

薬物スクリーニング系として使用可能かどうかを知るためには、RyR1 活性化薬や RyR1 阻害薬などの対照薬物で評価する必要があり、今後、実験を行っていく予定である。

結論

今回開発した DICR 再構成系は RyR1 関連ミオパチーの治療薬開発に大きな進歩をもたらすことが期待される。

参考文献

1. Yamazawa T et al: A novel RyR1-selective inhibitor prevents and rescues sudden death in mouse models of malignant hyperthermia and heat stroke. Nat Commun, 12: 4293, 2021
2. Kobayashi T, Kurebayashi N, Murayama T: The ryanodine receptor as a sensor for intracellular environments in muscles. Int J Mol Sci, 22: 10795, 2021.
3. Hu Y et al: Purification of recombinant wild type and mutant ryanodine receptors expressed in HEK293 cells. Bio-protocol, 11: e4112, 2021.

筋ジストロフィー関連疾患モデルとしてのゼブラフィッシュの活用

分担研究者：三橋弘明
所属　東海大学工学部生命化学科

緒言

筋ジストロフィー関連疾患には原因遺伝子が不明のものも多く、エクソーム等により新たな原因遺伝子の候補が見つかることがある。また、既知の原因遺伝子であっても新規な変異を持つ１例症例が見つかることもあり、変異の病原性の評価が重要である。分担研究者は遺伝子改変が容易で発生が早く、多個体の飼育が可能なゼブラフィッシュを筋ジストロフィー関連疾患のモデルとして活用することを目指している。令和３年度はラミンＡミオパチーのモデルゼブラフィッシュについて運動による力学的なストレスと核膜への影響を解析した。

方法

当研究室で作製した、アクチンプロモーター制御下に野生型及び疾患変異型 EGFP-ラミン A を発現するトランスジェニックゼブラフィッシュ(WT-LMNA, Mut-LMNA)より子世代を得て、受精後 3, 5 日目の稚魚について観察をおこなった。筋収縮による力学的なストレスの影響を調べるために、ゼブラフィッシュに 20mM pentylenetetrazol(PTZ)を投与して激しく運動させた後、DNA 損傷マーカーである H2AX 抗体による免疫染色をおこない、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。また、ラミンＡは遺伝子発現にも関与することが知られているため、生後 5 日の疾患変異型ラミンＡゼブラフィッシュから RNA を抽出し、次世代シークエンサーによる RNA-seq を行った。塩基配列データはゼブラフィッシュリファレンスゲノムにマッピングし、統計的に有意な遺伝子発現の変化をリストアップした。

結果

WT-LMNA フィッシュの核は正常であったのに対し、Mut-LMNA の核には形態の異常が観察された。形態異常は 3 日目より 5 日目で進行していた。PTZ 処理により水泳運動を誘発すると Mut-LMNA での核の形態異常の頻度が増加した。形態異常の核では高頻度に H2AX が陽性であった。RNA-seq による遺伝子発現解析の結果、mut-LMNA を発現するゼブラフィッシュでは、野生型に比べて２倍以上の発現増加を示す遺伝子が 66 個、減少を示す遺伝子が 52 個検出され、ラミン A ミオパチーの疾患変異が筋線維の遺伝子発現に影響を与えることが示された。DNA 損傷、アポトーシス、炎症、代謝関連の遺伝子群が発現増加する傾向にあり、チャネル遺伝子群が発現減少する傾向にあった。

考察

ラミンＡには核膜の支持と遺伝子発現調節の足場の２つの代表的な機能が提唱されているが、本研究よりラミンＡミオパチーの疾患変異はその両方の機能を低下させることが示唆された。筋線維は常に筋収縮の力学的な刺激に曝されており、核膜は他の臓器の細胞よりも強い力学的ストレスを受けるものと推測される。筋収縮による核膜ストレスが慢性的な DNA 損傷応答を引き起こしていることが示唆され、病態との関連性が考えられた。

結論

ラミン A ミオパチー変異は核膜の脆弱化と DNA 損傷応答を引き起こし、それに対応した遺伝子発現変化を誘発することが示唆された。鍵となる遺伝子を追求し、病態の解明と治療法の開発へ発展させたい。

筋強直性ジストロフィーの病態解明と治療研究

分担研究者　中森　雅之

所属　大阪大学　医学系研究科　神経内科学

緒言

筋強直性ジストロフィー(myotonic dystrophy, DM)は、CTG 繰り返し配列が異常に伸長する DM1 型（DM1）と、CCTG 繰り返し配列の異常伸長による DM2 型（DM2）からなる。DM1、DM2 ともに異常に伸長したリピートをもつ RNA が、MBNL 蛋白をはじめとする核内のスプライシング制御因子を障害する。このため DM は、さまざまな選択的スプライシング調節機構の破たんをきたすスプライシング異常症とされている。DM では多くのスプライシング異常が報告され、症状との関連が示唆されているが、ADL 阻害要因となる進行性筋萎縮や心伝導障害、認知機能障害など中枢神経症状の原因はいまだに不明である。また、スプライシング障害の他にも、DM では早期老化が指摘されており、その病態への関与が示唆されている。本研究では、こうした治療開発に不可欠な DM の病態を解明する。また、異常 RNA の毒性を低減して、スプライシング制御障害を抑制する低分子化合物の開発も進める。

方法

DM1 において病態の中核のなる、異常伸長 CUG リピートを持つ RNA の細胞老化への直接的な影響を調べるため、ヒト初代線維芽細胞に conditional に異常 RNA を発現させることが可能な transgene を挿入した DM1 モデル細胞を作成した。同一の遺伝的バックグラウンドをもつヒト初代細胞系で、異常 RNA の発現の有無で細胞増殖速度を検討した。また qPCR 法によりテロメア長測定を、RNA-seq 解析により遺伝子発現変化を、ウエスタンブロット法による蛋白発現変化を評価した。また Comet assay やγH2-AX 免疫染色により DNA damage を、Mito-SOX assay によりミトコンドリア機能障害を評価した。

CTG/CAG リピート長を短縮させることができる核酸標的低分子ナフチリジンアザキノロン(NA)の長期投与による効果を、DM1 と同じリピート病モデルである DRPLA モデルマウスに Alzet ポンプを留置し、16 週間にわたり脳室内持続投与することで評価した。治療効果は脳各組織でのリピート長、生存期間、Rota rod 試験などの運動機能評価で判定し、RNA-seq による遺伝子発現解析や免疫染色による異常蛋白の定量もおこなった。

結果

われわれが構築した DM1 モデル細胞において、異常 RNA の発現により細胞増殖速度の低下および早期細胞分裂停止が誘導された。異常 RNA 発現細胞では SA-βGal 陽性細胞の増加がみられ、早期老化現象が確認された。テロメア長の短縮はみられず、テロメア非依存的な細胞老化が示唆された。また遺伝子発現解析の結果から、p16, p21, p51 などの cell cycle regulator、IGFBP3 など secreted mediator of senescence の発現亢進が同定され、蛋白レベルでもこれらは異常 RNA 発現細胞で増加がみられた。さらに、Comet assay やγH2-AX 免疫染色より異常 RNA 発現細胞で DNA damage が増加していること、Mito-SOX assay によりミトコンドリア機能の障害が確認された。

DRPLA モデルマウスへの NA の脳室内長期持続投与により、モデルマウス線条体でのリピート長の短縮と、生存期間の延長効果が確認された。線条体では異常蛋白の発現が治療群で有意に低下していた。また Rota Rod 試験でも治

療群で有意な運動機能改善効果がみられた。RNA-seq による網羅的遺伝子発現解析では、リピート長依存的に発現変化する遺伝子群について、NA 治療群で発現異常改善効果がみられた。

考察

DM1細胞モデルをもちいた老化研究により、異常伸長 CUG をもつ RNA は、細胞内でミトコンドリア機能を障害し、ROS の発現亢進、DNA damage および DNA damage response を介して p16, p21, p51 などの cell cycle regulator、IGFBP3 などの secreted mediator of senescence の発現を増加させ、早期老化を誘導する機構が示唆された。

また核酸標的低分子 NA のモデルマウスへの長期脳室内持続投与は、伸長リピート短縮、異常蛋白減少効果だけでなく、異常リピートによる遺伝子発現異常を網羅的に改善し、運動機能や生存期間も改善することが実証された。

結論

DM1 において、異常伸長 CUG 含有 RNA が早期老化を誘導することが示唆された。また核酸標的低分子による異常伸長リピート短縮治療は、DM1 などのリピート病において有用であることが示唆された。

参考文献

1. Hasuike Y, Tanaka H, Gall-Duncan T, Mehkary M, Nakatani K, Pearson CE, Tsuji S, Mochizuki H, **Nakamori M**: CAG repeat-binding small molecule improves motor coordination impairment in a mouse model of Dentatorubral-pallidoluysian atrophy. Neurobiol Dis. 163:105604, Feb, 2022
2. Hasuike Y, Mochizuki H, **Nakamori M**: Cellular Senescence and Aging in Myotonic Dystrophy. Int J Mol Sci. 23(4):2339, Feb, 2022.
3. Hasuike Y, Mochizuki H, **Nakamori M**: Expanded CUG repeat RNA induces premature senescence in myotonic dystrophy model cells. Front Genet. *in press*

膜リモデリング分子に生じる先天性ミオパチー型 SNV の多階層的解析システムの構築

分担研究者　竹田　哲也

所属　岡山大学　学術研究院　医歯薬学域（医）

緒言

先天性ミオパチーは、筋力や筋緊張の低下を伴う筋疾患である。中心核ミオパチー（Centronuclear Myopathy; CNM）は先天性ミオパチーの一つで、T 管と筋小胞体からなる Triad の形成異常により、骨格筋の興奮-収縮連関が正常に起こらない。先行研究より、膜リモデリングに関わる BAR ドメイン蛋白質（BIN1）、ダイナミン（DNM2）の各遺伝子の一塩基変異（SNV）が、CNM 発症に関与することが知られていた。しかし、膜リモデリング異常に起因する CNM の発症機序は不明である。

方法

本研究では、CNM 変異型 DNM2、BIN1 の膜リモデリング機能異常について、①in vitro 再構成系による分子レベルの解析、②筋芽細胞を用いた細胞レベルの解析、③モデル生物を用いた個体レベルの解析を行い、CNM の発症機序をマルチスケールで解明し、診断や治療法、創薬開発に向けた学術的基盤の創生を目指した。

結果

分担研究者は現在までに、(1) BIN1 と DNM2 の膜リモデリング機能の定量的な解析に適した、in vitro および in cellulo における T 管様構造の再構成系を確立した。またこれらの再構成系を用いて、(2) CNM 変異型の BIN1 および DNM2 が膜リモデリング機能異常を示すこと、(3) DNM2 の膜切断機能に必要な GTP アーゼ活性が、CNM 変異型 DNM2 では恒常的に亢進し、T 管様構造が切断されることを明らかにした。これらの研究成果については、主任研究者と共著で、原著論文 2 報を発表した（Fujise et al., JBC 2021 ; Fujise et al., Human Mutation 2021）。さらにモデル生物である線虫を用い、(4) 線虫の内在性ダイナミンの機能がヒト DNM2 によって代替可能であること、(5) 変異型 DNM2 を発現したトランスジェニック線虫が、筋機能不全を示唆する行動異常を顕すことを明らかにした（投稿準備中）。

考察

CNM 変異型 BIN1 や DNM2 によって膜リモデリング異常が誘導されるメカニズムについては、今後クライオ電子顕微鏡や高速 AFM を用いた構造生物学的なアプローチも取り入れて明らかにしていく。さらに，線虫の内在性のダイナミン遺伝子（dyn-1）および BIN1 遺伝子（amph-1）のコーディング領域を、CNM 変異型のヒト由来 DNM2 や BIN1 遺伝子で置換した CNM モデル線虫を確立し、その表現型の解析により、CNM の発症機序を個体レベルでも解明していく。

結論

本研究で用いた *in vitro*、細胞、モデル生物を用いた多階層の解析アプローチは、CNM 発症機序の分子・細胞・個体レベルの解明や、疾患責任 SNV の簡便かつ迅速な同定、さらに創薬シーズ化合物のスクリーニング系としての利用など、CNM の新規治療法や創薬開発に寄与できる可能性がある。

参考文献

1. Fujise, K., Okubo, M., Abe, T., Yamada, H., Takei, K., Nishino, I., ***Takeda, T.** and Noguchi, S. Imaging-based evaluation of

DNM2 pathogenicity associated with centronuclear myopathy. *Human Mutation* 2021 Nov 27. doi: 10.1002/humu.24307.

2. Fujise, K., Okubo, M., Abe, T., Yamada, H., Nishino, I., Noguchi, S., *Takei, K., and ***Takeda, T.** Mutant BIN1-Dynamin 2 complexes dysregulate membrane remodeling in the pathogenesis of centronuclear myopathy. *J. Biol. Chem.* 2021; 296: 100077.

統合的ゲノム解析による遺伝性筋疾患原因遺伝子の探索

分担研究者　飯田　有俊

所属　国立精神・神経医療研究センター　メディカル・ゲノムセンター　臨床ゲノム解析部

緒言

遺伝性筋疾患は、臨床的、遺伝学的にも異質性が高い進行性の希少難病である。それゆえ、根本的な治療法も確立されていない。本研究では、NCNP の筋レポジトリーで管理される疾患検体を用いて統合的ゲノム解析を行い、新規の疾患原因遺伝子を同定する。疾患の病態経路を明らかにすると共に新しい遺伝子診断法を開発する。疾患遺伝子データベースを構築する。

方法

本研究では、遺伝性筋疾患遺伝子解析パネル（パネル解析）、エクソームシークエンス(exome seq)、全ゲノムシークエンス（WGS)、RNA シークエンス（RNA seq)を用いて、筋疾患原因遺伝子を同定する。パネル解析、exome seq から病因性バリアントを検索する。exome seq で発見出来なかった場合には、WGS と RNA seq から、イントロンや調節領域の病因性バリアント、さらには大規模な染色体構造異常を探索する。候補遺伝子（変異）については、フォローアップシークエンスや追加検体を用いた解析を行なう。*in house* 解析パイプラインを管理、運用する。変異頻度と臨床情報との関連を解析する。疾患遺伝子の確証が取れ次第、主治医、共同医療研究者にデータを報告し、臨床現場の後方支援を行なう。

結果

1. 遺伝性筋疾患のパネル解析
   NCNP の筋レポジトリーで管理される遺伝性筋疾患の臨床、病理学的診断及び遺伝子診断を行い、臨床後方支援と臨床ゲノム医療実装のための基盤構築を行なっている。本年度、パネル解析を行なった総症例数は、341 例であった。一方、診断率は約 40% (2021 年 12 月末データ)であった。
2. 眼咽頭遠位型ミオパチー (OPDM)_LRP12 症例の臨床病理学的解析
   LRP12 遺伝子の CGG 反復配列の異常伸長を呈する症例について、臨床病理学的解析を行なった。OPDM_LRP12 は日本で最も頻度の高く、眼咽頭筋の筋力低下、特にヒラメ筋と腓腹筋を侵す遠位型ミオパチー、筋病理における縁取り空胞の存在が特徴的であった。
3. OPDM の遺伝学的解析診断
   先年度の報告書で、「国内外の医療研究機関に対して OPDM の遺伝子診断サービスを開始した」と記載した。今年度、原因遺伝子 3 遺伝子について解析し、診断率は 12.5%であった。
4. 新規の関節拘縮原因遺伝子 TNNI1 の発見
   近位部に拘縮があり、血清 CK 値がある日本人 14 歳の男児とその家系（常染色体優性遺伝形式）についてゲノム解析を行なった。トロポニン I1 をコードする TNNI1 遺伝子にヘテロ接合型のナンセンスバリアント c.523A>T (p.K175*)を同定した。
5. ドライ解析システムの効率化
   in house 解析パイプラインの運用に際して、refseq に登録されているヒト全遺伝子の全エキソンを特異的に増幅できるプライマーデザイン自動化ツールを構築した。

考察

昨年度に引き続き、NCNP 筋リポジトリーの検体を用いて、遺伝性筋疾患の新規原因遺伝子、新規病因性バリアントと臨床像の関連を提示した。疾患遺伝情報を共有することで研究ならびに診断に大きな進歩をもたらした。

結論

NCNP 筋レポジトリーは、これまで本邦ならびに諸外国の筋疾患研究、診断法に重要な役割を果たしてきた。今年度もまた、新規の原因遺伝子、病因性バリアントを発見し、病理学的解析、臨床像との相関を明らかにした。

参考文献

1. Nishimori Y, Iida A, Ogasawara M, Okubo M, Yonenobu Y, Kinoshita M, Sugie K, Noguchi S, Nishino I: *TNNI1* Mutated in Autosomal Dominant Proximal Arthrogryposis. Neurol Genet. 8(1): e649, Feb, 2022
2. Saito M, Ogasawara M, Inaba Y, Osawa Y, Nishioka M, Yamauchi S, Atsumi K, Takeuchi S, Imai K, Motobayashi M, Misawa Y, Iida A, Nishino I: Successful treatment of congenital myasthenic syndrome caused by a novel compound heterozygous variant in RAPSN. Brain Dev. 44(1):50-55, Jan, 2022
3. Matsumura T, Inoue K, Toyooka K, Inoue M, Iida A, Saito Y, Nishikawa T, Moriuchi K, Beck G, Nishino I, Fujimura H: Clinical trajectory of a patient with filaminopathy who developed arrhythmogenic cardiomyopathy, myofibrillar myopathy, and multiorgan tumors. Neuromuscul Disord. (12):1282-1286, Dec, 2021
4. Motoda A, Takahashi T, Watanabe C, Tachiyama Y, Ochi K, Saito Y, Iida A, Nishino I, Maruyama H: An autopsied case of ADSSL1 myopathy. Neuromuscul Disord. (11):1220-1225, Nov, 2021
5. Inoue M, Noguchi S, Sonehara K, Nakamura-Shindo K, Taniguchi A, Kajikawa H, Nakamura H, Ishikawa K, Ogawa M, Hayashi S, Okada Y, Kuru S, Iida A, Nishino I: A recurrent homozygous ACTN2 variant associated with core myopathy. Acta Neuropathol. 142(4):785-788, Oct, 2021
6. Matsubara T, Saito Y, Kurashige T, Higashihara M, Hasegawa F, Ogasawara M, Iida A, Nishino I, Adachi T, Kubota A, Murayama S: Neuropathy/intranuclear inclusion bodies in oculopharyngodistal myopathy: A case report. eNeurologicalSci. 24:100348. eCollection, Sep, 2021
7. Kumutpongpanich T, Ogasawara M, Ozaki A, Ishiura H, Tsuji S, Minami N, Hayashi S, Noguchi S, Iida A, Nishino I; OPDM_LRP12 Study Group: Clinicopathologic features of oculopharyngodistal myopathy with LRP12 CGG Repeat Expansions compared with other oculopharyngodistal myopathy subtypes. JAMA Neurol. 78(7):853-863, Jul, 2021
8. Inoue M, Saito Y, Yonekawa T, Ogawa M, Iida A, Nishino I, Noguchi S: Causative variant profile of collagen VI-related dystrophy in Japan. Orphanet J Rare Dis. 16(1):284, Jun, 2021

骨格筋幹細胞の分化決定メカニズムの解明と筋疾患治療への応用

分担研究者　林 晋一郎
所属　国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　疾病研究第一部

緒言

筋ジストロフィーの根本的治療法の一つとして、骨格筋幹細胞（筋衛星細胞）を用いた再生医学的治療法が挙げられる。移植された筋幹細胞は増殖・分化・融合して筋再生に寄与するだけでなく、その一部は移植先の筋組織内で再び休止状態となり、組織幹細胞として定着することができる。しかしながら生体外で幹細胞機能を維持したまま増幅させることが困難なことや移植後の定着率の低さなど乗り越えるべき課題も多く、実現に至っていない。Pax3 と Pax7 は筋幹細胞に発現する転写因子であり、筋幹細胞の機能維持に必須であるが、その共役因子、標的因子、および発現制御機構については殆ど明らかにされていない。この理由の一つとして、市販の Pax3/Pax7 抗体に有用なものが無く、免疫沈降法による共役因子の探索やクロマチン免疫沈降-シークエンシング（ChIP-seq）による標的因子の同定を行うことが非常に困難であることが挙げられる。この問題を解決するため、本分担研究者は世界に先駆けて Pax7 に HA タグを付加したノックインマウス（Pax7-HA KI マウス）を作出した。本研究では、この新規 KI マウスを活用し、筋幹細胞における Pax7 の転写調節共役因子および標的因子を明らかにすることで骨格筋幹細胞の機能調節・機能維持メカニズムを明らかにすることを目的とした。

方法

1) Pax7HA KI ホモマウス(Pax7HA/HA)および野生型マウス（6-8 週齢）から筋衛星細胞をセルソーターにより単離し、筋衛星細胞初代培養系を作製した。増殖期の培養筋衛星細胞を回収し、抗 HA 抗体を用いた免疫沈降-ウェスタンブロット法により Pax7 結合タンパク質を同定した。

2)Pax3 の N 末端に PA タグを付加したノックインマウス(Pax3PA KI)の作出を CRISPR-Cas9 システムにより試みた。得られた Pax3PA KI マウス胚（E10.5 日齢胚）について、Pax3 および PA の発現を免疫染色法およびウェスタンブロット法により解析し、さらに筋発生における *Myod1* の発現を *in situ* hybridization 法により解析した。

結果

1) 培養筋衛星細胞を用いた免疫沈降-質量分析法により、Pax7-HA/HA由来筋衛星細胞で野生型マウス由来筋衛星細胞と比較して2倍以上有意に検出されたタンパク質を267種同定した。Gene Ontology解析の結果、eIF2、eIF3サブユニットを中心とした翻訳開始関連因子が多く見出された。一方、前年度に行ったE12.5胚を用いた免疫沈降-質量分析の結果と同様に、これまでPax7の共役因子として報告されたMLL1/2およびCarm1 (Cell Stem Cell 11, 333-345, 2012) は検出されなかった。

2)今回新たにPAタグが挿入されたPax3PA KIマウスを計6ライン作出した。シークエンスの結果から、計画通りPAタグはPax3のN末端に挿入されていることを確認した。次に、Pax3-PAマウス胚（E10.5）でPax3とPAの発現を解析した。ヘテロマウス胚（Pax3-PA/+）ではPAタグタンパク質は検出されなかったが、ホモ胚（Pax3-PA/PA）においてPax3とPAの共局在を確認した。しかしなが

ら、その後の解析から全てのラインでPax3-PA/PAは胎生致死であることが明らかとなった。Pax3のターゲットである*Myod1*の発現および体節の筋発生をWhole mount *in situ* hybridizationによって解析した結果、*Myod1*の発現量は大きく変化しないものの、前肢への筋前駆細胞の移動不全や、体節の発生異常が見られた。

考察

抗 HA 抗体と Pax7HA/HA マウス由来培養筋衛星細胞を用いた免疫沈降-質量分析法の結果、Pax7 と結合する因子として、eIF2 および eIF3 サブユニットを中心としたタンパク質翻訳開始に関わる因子が最も多く検出された。Zismanov らは eIF2 の翻訳制御が筋衛星細胞の自己複製に重要であり、eIF2 のリン酸化を促進することで筋衛星細胞の再生寄与率を上げることができると報告している（Cell Stem Cell 18:79-90, 2016）。これまで eIFs を含む翻訳関連因子と Pax7 との結合についての報告はなく、今回の結果は非常に興味深い。eIF2 や eIF3 などは細胞質だけでなく核にも局在すること知られているが、翻訳関連因子の多くは細胞質に局在しており、核に限局する Pax7 と結合するという今回の結果はバックグラウンドノイズを検出している可能性も高い。今後、免疫沈降-ウェスタンブロット法により確認をする必要がある。過去に Pax7 と結合すると報告されたクロマチン制御関連因子である MLL1/2 や Carm1 は E12.5 日齢胚を用いた結果同様今回も検出されなかった。これらは Pax7 を強制発現させた細胞で同定された因子であり、内因性の Pax7 を用いた今回の結果とは実験系が異なることに起因すると考えられる。

新たに作出した Pax3PA KI マウスの解析では、E10.5 日齢ホモ胚（Pax3PA/PA）で筋前駆細胞の移動不全・体節の発生異常が見られた。また、Pax3PA/PA は胎生致死であり、Pax3 の KO マウスは Pax3 を発現する神経堤細胞の移動不全に起因する円錐動脈管異常により致死となることから(Development 124(2):505-14, 1997)、Pax3PA/PA も PA タグ挿入による Pax3 機能不全により同様に致死となることが考えられた。Pax3 の N 末端への PA タグのノックインにより Pax3 の発現量、DNA 結合能、あるいは転写活性に影響が出たものと考えられた。

結論

本研究により新規の Pax7 と結合するタンパク質を同定した。本研究の進展に伴い、骨格筋幹細胞の増殖・分化制御、筋形成の全容が解明されるとともに、その成果が再生医療へと応用されることが強く期待される。

参考文献

1. Y Kawabe, YX Wang, IW McKinnell, MT Bedford, MA Rudnicki. Carm1 regulates Pax7 transcriptional activity through MLL1/2 recruitment during asymmetric satellite stem cell divisions. Cell Stem Cell. 11(3):333-45, 2012.
2. V Zismanov , V Chichkov, V Colangelo, S Jamet, S Wang, A Syme, A E Koromilas, C Crist . Phosphorylation of eIF2α Is a Translational Control Mechanism Regulating Muscle Stem Cell Quiescence and Self-Renewal. Cell Stem Cell 18:79-90, 2016.
3. S J Conway, D J Henderson, A J Copp. Pax3 is required for cardiac neural crest migration in the mouse: evidence from the splotch (Sp2H) mutant. evelopment 124(2):505-14, 1997.

細胞内分解機構に基づく筋疾患の病態解明

分担研究者　株田　智弘

所属　国立精神・神経医療研究センター

神経研究所 疾病研究第四部

緒言

これまでの国内外の研究から、細胞内分解機構は神経系や骨格筋の維持に必要であり、その破綻は神経・筋疾患の原因となることがわかってきていることから、細胞内分解機構の解明は極めて重要な研究課題である。オートファジー系はリソソームによる細胞内分解機構であり、恒常性の維持に必須の役割を果たしているが、マクロオートファジー以外のオートファジー系に関する研究は立ち遅れているのが現状である。申請は近年、リソソームが直接的に RNA、DNA を取り込み分解するという新規経路 RNautophagy/DNautophagy (RDA)を発見し、その分子メカニズムを解明してきた。さらに、リソソームがタンパク質を直接取り込み分解する新規分解経路も見いだし、RDA とあわせて DUMP と呼んでいる。これまでに、RNA トランスポーターファミリーであるリソソーム膜タンパク質 SIDT2 は DUMP において、リソソームへの基質の取り込みを仲介することを明らかにした。また、我々は、SIDT2 を介した DUMP の破綻が neuropathy and distal myopathy with rimmed vacuoles を引き起こすことを見いだし、研究中である。本研究では、これらの新規経路の分子メカニズムや筋疾患との関連性の解明を行う。

DUMP の分子メカニズムについては、二次構造を形成した RNA がリソソーム内に取り込まれる際に RNA helicase が関与すると推測される。今回、現在までに不明なこの点について解析を進めた。

方法

リソソームにおける存在が報告されている RNA helicase 6 種類に着目した。これら helicase を siRNA を用いて培養細胞で knockdown (KD)し、pulse-chase 実験により細胞内 RNA 分解に影響する helicase を探索した。影響の認められた helicase について、DUMP との関連性を詳細に解析した。

結果

Pulse-chase 実験の結果、RNA helicase 6 種類のうち 2 種類 (helicase A, helicase B と呼ぶ)の KD により、それぞれ細胞内分解が抑制された。リソソーム内分解の阻害剤クロロキンを用いた結果、クロロキン存在下では helicase A の KD による分解抑制効果は観察されず、helicase B KD では観察された。このことから、helicase A, B はそれぞれリソソーム、リソソーム外における RNA 分解に関与することがわかった。さらに、SIDT2 KO 細胞では、helicase A の KD による分解抑制効果が観察されなかったことから、helicase A は DUMP における RNA 取り込みを仲介することが示唆された。SIDT2 KO 細胞では、helicase B の KD は RNA 分解を抑制し、クロロキンを用いた実験結果と一致した。

考察

DUMP においてリソソーム膜上のポアを基質 RNA が通過する際、RNA helicase A が RNA の二次構造を解きほぐすことによって通過を容易にしている可能性がある。

結論

RNA helicase A は DUMP における RNA 取り込みを仲介すると考えられる。

遺伝性筋疾患における E3 ユビキチンリガーゼの機能と病態の解明

分担研究者　今村道博
所属　国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　遺伝子疾患治療研究部

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子とその産物であるジストロフィンが同定されて以来、様々な種類の筋疾患について原因遺伝子が明らかにされてきた。これと並行して既に自然発生により樹立されていた種々の筋疾患実験動物の原因遺伝子も明らかにされ、ヒト疾患を再現する動物モデルとして、病態の解明や診断及び治療研究に大きな役割を果たしている。しかしながら、その中にあって筋ジストロフィーニワトリ（NH-413）についてはヒト筋疾患との関連が未だ明らかでない。そのため我々は、原因遺伝子として同定された *Wwp1* 遺伝子[1)]から発現する変異型 WWP1 E3 ユビキチンリガーゼがヒトの筋疾患と関連するのか、という問いを明らかにする目的で研究を行っている。マウス *Wwp1* 遺伝子に NH-413 ニワトリと同じ R441Q ミスセンス変異（マウスでは R436Q）を導入したノックインマウスを作製すると、WWP1 タンパク質の分解や筋形質膜からの消失、また、骨格筋組織でのユビキチン化亢進など、NH-413 に認められる生化学的、免疫組織化学的特徴は再現されるが、筋線維の変性は認められなかった。マウス骨格筋では WWP1 に加え、これに酷似した 2 種類の HECT 型 E3 ユビキチンリガーゼ、WWP2 と ITCH、が発現しているため、本研究ではこれらが機能代償的に働く可能性を検討した。

方法

Wwp1 と *Wwp2*、*Itch* 遺伝子それぞれに変異を持つマウスを用いて筋肉の発生および再生、メンテナンスについて生化学的、組織学的解析を行った。マウスモデルとしては *Wwp1* 遺伝子に NH-413 ニワトリに認められる R441Q ミスセンス変異を模倣し、436 番目のアルギニンがグルタミンに置換されるように遺伝子改変した R436Q ノックインマウス（WWP1-KI）を用いた。*Wwp2* 遺伝子ではエクソン 10 を、*Itch* 遺伝子ではエクソン 11 をゲノム編集し、WW ドメイン 2 をインフレームで欠失し、自己消化を生じるようにした遺伝子改変マウス（WWP2-del と ITCHI-del）を使用した。これらのマウスを単独、あるいは WWP1-KI マウスとの交配により二重変異体にして用い、組織学的および生化学的解析を行った。なお、本研究は国立精神・神経医療研究センターの実験動物倫理問題検討委員会による審査と承認を受けて行われた。

結果

WWP2-del と ITCH-del マウスの下肢骨格筋について調べたところ、どの筋肉においても顕著な組織学的異常は認められなかった。横隔膜や舌、そして心筋についても同様であった。WWP1 を特異的に認識する抗体を用いたイムノブロットでは、いずれのマウス骨格筋でも WWP1 の著しい発現上昇が認められた。一方、WWP2 と ITCH 分子にも一部交差反応する抗 pan-WWP1 抗体を用いて調べたところ、WWP1-KI の骨格筋では WWP1 以外の E3 ユビキチンリガーゼの発現上昇が認められた。WWP1-KI と WWP2-del の 2 重変異体（WWP1-KI/WWP2-del）においても、発現の上昇が示されたが、1 年齢を超えた個体では筋線維内に空胞様の構造が認められた。更に長期に飼育したマウスの筋組織を調べたところ、空胞はまず後脛骨筋に現れ、その後加齢に伴って周辺の筋肉へも広がって行くものと推察された。さらに、WWP1-KI /WWP2-del マウスで *Itch* 遺伝子を ITCH-del ヘテロにした場合には、1 年齢未満のより若い月齢であっても空胞が出現してくる

のが確認された。

考察

NH-413 の胸筋では WWP1 が消失するにも関わらず全体のユビキチン化が亢進する。WWP1-KI においても同様の現象を再現するが、これは WWP1 の機能喪失が結果的に他の E3 ユビキチンリガーゼを活性化したものと推察される。また、今回、我々は WWP2-del と ITCH-del の両方の筋肉において WWP1 の発現上昇を認めている。また、抗 pan-WWP1 抗体を使ったイムノブロットでは WWP1-KI マウス骨格筋で WWP1 類似タンパク質の発現が認められた。これらの結果は WWP1 喪失時には WWP2 や ITCH などの HECT 型 E3 ファミリータンパク質の発現が上昇していることを示唆していた。ただし、この抗体で検出されたタンパク質は WWP1 とほぼ同じ大きさであったため、WWP2 や ITCH ではなく NEDD4 E3 である可能性も考えられた。筋組織では WWP1-KI/WWP2-del の二重変異マウスでは、筋線維内に空胞の出現を認めたが、さらにこのマウスの *Itch* 遺伝子の一方のアレル（対立遺伝子）を WW2 ドメインのインフレーム欠失とした場合にはより早期に空胞が認められるようになることから、これら 3 種類の HECT 型 E3 ユビキチンリガーゼの機能的相互関係が筋変性に関係するのではないかと推察された。ただし、抗 pan-WWP1 抗体への反応性は上昇しているため、空胞出現との関係については更に詳細な解析が必要である。また、C57BL/6 系統の遺伝子背景を持つ雄マウスの筋肉では 1 年齢近辺から管状構造凝集隊（tubular aggregate）と呼ばれる空胞が現れるため、それとの関連についても注意深く検討する必要がある。

結論

我々は *Wwp1* 遺伝子に NH-413 筋ジストロフィーニワトリと同じミスセンス変異を導入した WWP1-KI マウスの筋変性について、WWP1 の類似分子である WWP2 および ITCH が及ぼす影響を検討した。マウス骨格筋では WWP1 と WWP2、そして ITCH の 3 分子が発現しており、そのうちどれか 1 つの機能が失われると、残りの分子の発現が上昇して相互に機能を補うよう働く可能性が示唆された。これらが筋組織変性へ及ぼす影響についてはより詳細な解析を行う必要がある。

参考文献

1. Matsumoto H, *et al.* The ubiquitin ligase gene (WWP1) is responsible for the chicken muscular dystrophy.FEBS Lett. 582:2212-2218, 2008
2. Hirata Y, *et al.* Hyperglycemia induces skeletal muscle atrophy via a WWP1-KLF15 axis. JCI Insight, 21:4(4),2019
3. Imamura M, *et al.* Characterization of WWP1 protein expression in skeletal muscle of muscular dystrophic chickens. J Biochem, 159:171-179, 2016

部位特異的な筋幹細胞に着目した骨格筋維持機構の解明

分担研究者：本橋　紀夫

所属：国立精神・神経医療研究ｾﾝﾀｰ・神経研究所 遺伝子疾患治療研究部

＜緒言＞

骨格筋は肥大・萎縮の可塑性を有する．同時に筋衛星細胞と呼ばれる筋幹細胞が存在し，増殖・分化して新しい筋線維を形成する筋再生能を持つ．しかし加齢や筋疾患に伴い骨格筋は萎縮を惹き起こし，筋幹細胞の数は減少する[1]．これらは運動機能の低下を誘発する要因となり，さらには重度傷害後の再生遅延が寝たきりを惹起する要因にもなり得る事から，筋機能あるいは筋幹細胞数の維持は必須であると考えられる[2,3]．一方，加齢に伴う筋萎縮，或いは筋幹細胞数の減少は，筋線維タイプあるいは骨格筋部位毎に異なる可能性がある事から[4-6]，それに付随する筋幹細胞の機能についても骨格筋部位や筋線維タイプ毎に異なる可能性が考えられる．これまで我々は筋線維タイプと筋幹細胞の関係性に着目し，遅筋・速筋線維由来の筋細胞を比較した結果，遅筋由来筋幹細胞は高い自己複製能を持つ事を見出してきた[7]．今年度は，プロテオミクス解析により同定したミトコンドリア複合体構成タンパク質の一つである Ndufs8 が遅筋由来筋細胞において発現が高く，さらにその細胞特性を決定づける重要な因子である可能性を示した．

＜方法＞

各筋線維タイプの骨格筋組織(速筋：前脛骨筋，遅筋：ヒラメ筋)から由来する筋幹細胞を単離・培養した後，抽出したタンパク質を液体クロマトグラフ質量分析計(LC-MS/MS)により解析した．得られたデータは Proteome Discoverer 2.4 software を用いて解析し，各細胞に特徴的に発現するタンパク質の定量を行なった．また KeyMolnet を用いてパスウェイ解析を行なった．

Ndufs8 遺伝子の過剰発現あるいは発現抑制については，筋細胞に対してレトロウィルス・レンチウィルスベクターを用いて行なった．その後 BrdU を用いた細胞増殖，筋管に分化した割合を示す筋分化能，及び MyHC(-)EdU(-)リザーブ細胞(*In vitro* で筋幹細胞に相当する)の産生能評価を行った．併せて，切断型カスパーゼ３抗体で染色し,アポトーシス細胞数も評価した．

筋細胞における NAD+および NADH は，NAD/NADH-Glo Assay kit を用い，またアセチル化 p53 タンパク質発現はウェスタンブロット法を用いて解析した．

＜結果＞

1．遅筋および速筋線維由来筋細胞を用いてプロテオミクス解析を行なった結果，遅筋由来の培養筋芽細胞では，より多くのミトコンドリア関連タンパク質を同定する事ができた．特にミトコンドリア複合体 I の構成分子である Ndufs8 発現が高い事が明らかになったが，その発現は加齢と共に減少する事も認めた．

2．*Ndufs8* 過剰発現により，筋細胞の自己複製能とアポトーシス耐性が向上する事を認めた．同時にミトコンドリアの形態変化，および代謝機能が変化する事も認めた．一方 shRNA による *Ndufs8* 発現抑制は，それら機能を低下させた．

3．shRNA による *Ndufs8* 発現抑制により，細胞内 NAD/NADH 比は低下しており，その結果 NAD+依存性タンパク質脱アセチル化酵素である Sirtuin 活性[8]が低下している事が予想された．さらに Sirtuin の標的分子であるアセチル化 p53 タンパク質を解析した結果，*Ndufs8* 発現抑制に

よりその発現が増加していた.

4. *Ndufs8* を発現抑制した筋細胞に対して, NAD+ の前駆体である Nicotinamide mononucleotide (NMN)を添加した結果, 細胞内 NAD/NADH 比が上昇する事が確認され, さらにアセチル化 p53 タンパク質量が低下していた. この時, *Ndufs8* が発現抑制された筋細胞は, 自己複製能とアポトーシス耐性能において改善傾向を示した.

＜考察および結論＞

遅筋由来筋細胞において認められる高い自己複製能は, ミトコンドリア複合体 I 構成分子である *Ndufs8* の高発現による NAD+/NADH 比の上昇と, それに伴うアセチル化 p53 発現の低下に起因する可能性が示唆された. さらに NMN 添加による NAD+補充療法が, 筋細胞の機能を改善する事からも, 細胞内で産生される NAD+が筋細胞の機能維持に重要である事が予想された. 一方で, ミトコンドリアを中心とした筋細胞の維持機構が, 加齢や筋疾患で認められる筋細胞の機能低下にどのように関与しているかは未だ不明であり, 今後さらなる研究が必要である.

＜参考文献＞

1) Shefer, G.; Van de Mark, D. P.; Richardson, J. B.; Yablonka-Reuveni, Z. Satellite-cell pool size does matter: defining the myogenic potency of aging skeletal muscle. *Dev Biol*, *294* (1): 50-66.(2006)

2) M. M. Murphy, J. A. Lawson, S. J. Mathew, D. A. Hutcheson, G. Kardon, Satellite cells, connective tissue fibroblasts and their interactions are crucial for muscle regeneration. *Development* **138**, 3625-3637 (2011).

3) J. von Maltzahn, A. E. Jones, R. J. Parks, M. A. Rudnicki, Pax7 is critical for the normal function of satellite cells in adult skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* **110**, 16474-16479 (2013).

4) Day K, Shefer G, Shearer A, Yablonka-Reuveni Z. The depletion of skeletal muscle satellite cells with age is concomitant with reduced capacity of single progenitors to produce reserve progeny. *Dev Biol*, 340(2): 330-343 (2010).

5) Verdijk LB, Snijders T, Drost M, Delhaas T, Kadi F, van Loon LJ. Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. Age (Dordr) (2013).

6) Yoshioka, K.; Nagahisa, H.; Miura, F.; Araki, H.; Kamei, Y.; Kitajima, Y.; Seko, D.; Nogami, J.; Tsuchiya, Y.; Okazaki, N.; et al. Hoxa10 mediates positional memory to govern stem cell function in adult skeletal muscle. *Sci Adv*, *7* (24) (2021)

7) Motohashi N, Uezumi A, Asakura A, Ikemoto-Uezumi M, Mori S, Mizunoe Y, Takashima R, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Shigemoto K: Tbx1 regulates inherited metabolic and myogenic abilities of progenitor cells derived from slow- and fast-type muscle. *Cell Death Differ.* 26(6):1024-1036 (2019)

8) Chen, D.; Bruno, J.; Easlon, E.; Lin, S. J.; Cheng, H. L.; Alt, F. W.; Guarente, L. Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev*, *22* (13), 1753-1757 (2008)

2 - 5

The expansion of muscle repository and the development of diagnostic methods and therapies for muscular dystrophy related diseases utilizing the muscle repository

Ichizo Nishino, M.D., Ph.D.

Department of Neuromuscular Research,
National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry

Not only therapy is unavailable but even the cause is unknown for many of most muscle diseases including limb girdle muscular dystrophy. To overcome this situation, we should elucidate the mechanism and develop therapies for muscle disease by maximally utilizing our muscle repository. In this project, we aim: 1) to maintain and further improve the diagnostic network system for muscle disease and muscle repository; 2) to elucidate the cause and mechanism of muscle diseases; 3) to develop diagnostic markers; and 4) to develop therapies for muscle diseases. The number of muscle biopsy samples we receive has been steadily increasing in the last 10 years with more than 1000 samples per year in 2017-2021. As a result, the total number of frozen and cultured muscle samples has reached 22361 and 2153, respectively, by the end of 2021, which constitute the world-leading muscle repository. Using this muscle repository, we have made a number of achievements including: 1) the identification of 65 Japanese oculopharyngodistal myopathy (OPDM) with CGG expansion in LRP gene, in addition to 11 OPDM patients with CGG expansions in GIPC1 and 7 with CGG expansions in NOTCH2NLC2; 1) identification of 63 Japanese ADSSL1 myopathy patients from 59 families; 2) identification of 4 Japanese patients from 3 families with recessive myopathy due to homozygous c.1439A > G (p.Asn480Ser) variant in ACTN2 gene; 3) prospective comprehensive screening of frozen muscle biopsy sections for Pompe disease from July 2015 to January 2018, resulting in no patient identification; 4) characterization of pathological phenotype of dermatomyositis according to positive autoantibodies; and 5) identification of several new causative genes for muscle disease through international collaboration, including MLIP, JAG2 and HNRNPA2B1.

2-6　疾患モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
青木　吉嗣

総括研究報告

1. 研究目的

希少神経・筋難病の Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）は、全身の骨格筋と心筋のみならず、末梢および中枢神経系も障害される疾患であり、全身的な治療法を開発することが最も重要である。DMD を対象に、エクソン 53 スキップ薬（NS-065/NCNP-01）に続く、エクソン 44 スキップ薬（NS-089/NCNP-02）の開発を、精神・神経疾患研究開発費を財源に整備した NCNP の治験実施基盤を活用し推進した。R3 年度中に NS-089/NCNP-02 の医師主導治験パート 2 の投与と解析は完了し、協力製薬企業による継続試験が進行中である。今後は心筋も治療可能な次世代エクソン・スキップ薬の開発に加えて、ウイルスベクターや、RNA あるいはゲノム編集治療等の遺伝子治療の有効性と安全性を検証し、治験のプロトコルやマニュアルの準備を進めて、社会的、倫理的問題についても充分な検証を進めながら、新規治療モダリティーを臨床応用することを目標とする。さらに、エクソン・スキップ薬の開発技術を、DMD 以外の遺伝性神経・筋疾患に応用することを目的に、エクソン・スキップのデータベースおよび機械学習モデルに基づいた予測システムである eSkip-Finder を世界で初めて開発のうえ、ウェブ上で公開した（https://eskip-finder.org/cgi-bin/input.cgi）。

また、筋前駆細胞への分化誘導法を確立する必要がある尿由来細胞や間葉系幹細胞を用いた幹細胞移植治療ならびに筋ジストロフィーの病態解明に基づく薬物治療についても、これまで研究班で開発したモデル動物を駆使して研究を進め、臨床に展開することを目標に、以下の構成で研究を進めた。

1.　疾患モデル動物を用いた新たな治療法の開発

a. エクソン・スキップ、遺伝子治療、ゲノム編集技術など遺伝子発現制御法の開発（青木、宮田、越後谷、堀田、岡田、中村、千葉）

b. 骨格筋の幹細胞の増殖・分化・移植の制御技術の確立（林、深田、上住、鈴木）

c. 新たな発想、技術に基づく分子病態、薬剤開発、バイオマーカー開発研究（野口、村松、関、川内、金川、山田、進藤、森）

2.　筋ジストロフィーモデル動物の維持（保田）

3.　新たな治療法を臨床に展開するための倫理的、社会的研究（貝谷）

2. 研究組織

主任研究者

青木　吉嗣

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

分担研究者

野口　悟

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

村松　里衣子

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

関　和彦

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

川内　大輔

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

林　晋一郎

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

森　まどか

国立精神・神経医療研究センター病院

鈴木　友子

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

堀田　秋津

京都大学　iPS 細胞研究所

上住　聡芳

東京都健康長寿医療センター

深田　宗一朗

大阪大学　大学院薬学研究科

宮田　完二郎

東京大学大学院工学系研究科

稲田　全規

東京農工大学大学院工学研究院

岡田　尚巳

東京大学 医科学研究所

越後谷　祐介

日本大学生物資源科学部

金川　基

愛媛大学大学院医学系研究科

山田　崇史
　札幌医科大学保健医療学部理学療法学科
中村　昭則
　国立病院機構まつもと医療センター
進藤　英雄
　国立国際医療研究センター研究所
千葉　峻太郎
　理化学研究所計算科学研究センター
保田　昌彦
　実験動物中央研究所
貝谷　久宣
　日本筋ジストロフィー協会

3. 研究成果

2021年度開発費研究班会議を11月27日～28日にかけてウェビナーで開催し、参加登録者数は約250名であった。さらに、11月27日午前中を中心に、班会議との合同開催として、産官学患の連携を促し希少難病の治療法開発を促進させる取り組みである第2回希少疾患カンファランスを、多数のアカデミアに加えて製薬系企業人、患者会、官からの参加を得て行った。同カンファランスは、希少神経筋難病の克服に向けて、非臨床・非競合領域での連携を強化する取組みであると共に、国民との科学・技術対話に対する取り組みでもある。創薬エコシステムや、研究への患者・市民参画等の重要なテーマについて活発な意見交換を行った。

1.　疾患モデル動物を用いた新たな治療法の開発

a. エクソン・スキップ、遺伝子治療、ゲノム編集技術など遺伝子発現制御法の開発（青木、千葉、横田、堀田、宮田、越後谷、岡田）

① mdx52マウスを対象にDp140 mRNAを扁桃体に直接投与しDp140を発現させると，興奮性シナプス応答や社会性行動異常が改善した．さらに，エクソン53スキップ薬を脳室内に投与すると，扁桃体でDp140が回復し，これらの異常も同様に改善した（橋本、青木）（revised）．

② アンチセンス核酸配列データベース・配列予測のための機械学習モデルであるeSkip-Finderの作成およびウェブ一般公開・運用を実現した（Nucleic Acids Res. 2021:gkab442）（千葉班員）。

③ 新規CRISPRシステムとして、DNA二本鎖切断を誘導せずに標的の一塩基を変換可能な一塩基編集システム(Base Editor)の開発を進めた。ウイルス様粒子送達システムNanoMEDICに各種Base Editorを搭載し、エクソンスキップレポーターを用いてエクソン45スキップ誘導活性を測定した（堀田班員）。

④ 2分岐型ポリエチレングリコールとポリリシンから成るY字型高分子を合成し、1分子の核酸医薬を封入する最小スケール（約18 nm径）のナノ医薬（ユニットポリイオンコンプレックス：uPIC）を創製した。マウスへ静脈内投与されたuPICは核酸医薬単体と比して、10倍以上の高い筋組織集積効率を示すこと、筋肉内投与されたuPICは2倍のエクソン・スキップ効率を示すことを確認した（宮田班員）。

⑤ DG9ペプチド付加モルフォリノ核酸を用いた心筋治療およびマルチエクソン・スキップ治療の可能性を、ヒト細胞およびマウスを対象に実証した（越後谷班員、横田協力班員）(in press)。

⑥ AAVを用いたμDys補充療法の実用化に向けて、固相支持担体を用いたAAV発現培養系の構築、同発現系で作製したAAVベクターの精製方法の検討および純度解析系構築を行った。間葉系幹細胞治療について、臨床試験に向けた準備を行った（*Mol Ther Methods Clin Dev.* 2021）。

b. 骨格筋の幹細胞の増殖・分化・移植の制御技術の確立（青木、川内、深田、上住、鈴木、林、若月、稲田）

① 尿由来細胞から運動ニューロンを分化させる手法を確立した。ヒト多能性幹細胞を用いた3Dオルガノイド研究を開始した（邦武、青木）。

② CRISPR-Cas9と電気穿孔法を組み合わせた生体内ゲノム編集法を用いて小児脳腫瘍に特異的に発現する融合遺伝子の発がん能を検証した。結果として、小児悪性脳腫瘍である上衣腫においてZFTA型融合遺伝子の発がん能と腫瘍進展に関わる下流遺伝子を同定した（川内班員）。

③ 運動に依存的な筋サテライト細胞増殖メカニズムとして、Yap1/Taz依存的な間葉系前駆細胞由来因子が筋サテライト細胞を増殖し、その中の一つThrombospondin-1アゴニストはCalcitonin receptorの発現低下した全身の筋サテライト細胞を増殖可能であることを示した（深田班員）（*Cell Stem Cell*, 2022）。

④ レチノイン酸（RA）は間葉系前駆細胞で産生され、間葉系前駆細胞自信にシグナル伝達するとともに筋幹細胞にもシグナルを伝えることを明らかにした（上住班員）（*J Clin Invest*, 2021）。

⑤ ヒト iPS 細胞から誘導した間葉系前駆細胞が分泌する uPAR がヒト筋前駆細胞の DMD モデルマウスへの移植効率を上げることを明らかにした（Stem Cell Res Ther.12:532, 2021)(鈴木班員)。

⑥ シングル核 RNA-seq 解析により、DMD では健常者と比較して筋幹細胞の割合が増加したが、増殖期の筋幹細胞は殆ど存在せず、その多くは休止期にあることが明らかとなった(林班員)。

⑦ ヒト iPS 細胞を分化させた運動ニューロン、骨格筋細胞の共培養系を確立した。60 日間に渡る長期培養過程での神経筋接合部の成熟化過程を調べた(若月班員)。

⑧ ヒト骨格筋を対象に質量分析計によるジストロフィン高度定量法を確立した(稲田班員)。

c. 新たな発想、技術に基づく分子病態、薬剤開発、バイオマーカー開発研究(山田、村松、中村、越後谷、横田、野口、進藤、関、森、金川)

① 九州大学医学研究院と静岡県畜産技術研究所との共同研究として、ゲノム編集により新規作出した DMD マイクロブタの病理解析と論文作成を進め、NCNP への個体導入準備を進めた。

② イヌ用およびマウス用の下肢筋トルク測定のための刺激・評価系を2種類新たに開発した。DMD マウスにおいて，伸張性収縮に対する損傷感受性の亢進が高感度に検出できること，そのメカニズムに，Ca2+依存性の三つ組み構造タンパク質の分解が関与することを明らかにした(山田班員)。

③ ALS モデルマウス(SOD1G93A)で認める血中脂肪酸量の低下は、オリゴデンドロサイトの細胞死を誘導することで ALS 症状の発症や悪化に寄与する可能性を見出した(村松班員)。

④ ベッカー型筋ジストロフィーの自然歴を踏まえ、ゲノム編集により、exon 45-49 欠失(ヒトでは重症)、exon 45-47 欠失(ヒトでは中等症)、exon 45-48 欠失(ヒトでは軽症)を有するマウスを作製した(中村班員)。

⑤ Rogers 博士らと共に、エクソン 52 欠失変異を有する DMD ミニブタを作製し、エクソン 51 または 53 スキップの検証に有用であることを示した(越後谷班員、横田協力班員)(*Int. J. Mol. Sci.* 2021).

⑥ PolyQ 病トランスジェニックマーモセットの骨格筋力低下は、脱神経、核内及び筋線維内の封入体形成により、主に速筋の萎縮を介して、引き起こされることが判明した(野口班員)。

⑦ リン脂質生合成酵素であるリゾホスファチジルコリンアシル転移酵素 2 の構造予測を行い、阻害剤開発への道筋をつけた(進藤班員)(FASEB J. 2021)。

⑧ 齧歯類の下肢筋群にワイヤー電極を植え込み、無線で自由行動下の筋電図活動を記録する実験系を構築し、歩行だけでなく、跳躍運動時においても安定的な記録が可能なことを確認した(関班員)。

⑨ CDP-リビトールのプロドラッグ治療は ISPD 欠損筋ジストロフィーを改善することを示した(金川班員)。

⑩ DMD 患者脳を対象に、MRI、CT、血流 SPECT 画像所見を調査したところ、DMD 患者の過半数に前頭葉優位の脳萎縮・脳血流低下が見られ、進行性である可能性が示唆された(森班員)。

4. 筋ジストロフィーモデル動物の維持(保田)

筋ジストロフィー関連モデルマウスを継続的に高品質で維持し、班内外の研究機関に供給した。令和 3 年において 24 機関に、のべ 109 回、動物 983 匹および胚 60 個の過去最高数の供給を実施した(保田班員)。

5. 新たな治療法を臨床に展開するための倫理的、社会的研究(貝谷)

遺伝子治療への患者の意識調査を実施し、さらには患者と家族が円滑に新規治療を受け入れるための教育として、令和 3 年度オンラインセミナー「筋ジストロフィーと遺伝子(DNA)教育講座」を開催した。

今後の研究の進め方

NCNP が誇るマウス、イヌ、マイクロブタ等の神経筋疾患モデル動物を対象に、引き続き以下を検討する。

① モデル動物の作出/維持(マウス、イヌ、マイクロミニブタ等)と評価系の作成

② 治療効果および組織標的性向上のための遺伝子・核酸医薬のデリバリー研究

③ 骨格筋幹細胞の増殖・分化・移植の制御技術の確立

④ 骨格筋、心筋、神経筋接合部、脳等の 3D 組織モデルを用いた疾患病態研究

⑤ 実験モデル動物の安定供給と、研究成果の臨床展開のための社会環境整備

最後に、学際性、国際性、公平性、倫理性、公開性を原則として、筋ジストロフィーに対して治療を開発するための伝統ある開発費研究班（武田伸一班）を引き継ぐ機会を頂いたことに深く感謝したい。

ポリグルタミン病モデルマーモセットの骨格筋内神経束の超微細構造解析

国立精神・神経医療研究センター神経研究所疾病研究第一部
野口　悟

緒言

ポリグルタミン病は遺伝子コーディング領域にある CAG 反復配列の伸長によって引き起こされる遺伝性の神経疾患である。ハンチントン病、球脊髄性筋萎縮症、遺伝性の脊髄小脳失調症、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症）などが知られており、不随意運動や認知症（ハンチントン病）、歩行障害（遺伝性脊髄小脳変性症）などの症状が引き起こされる。このうち、ハンチントン病や球脊髄性筋萎縮症では、骨格筋にも障害が起こることが知られている。これまでモデルマウスが作製され、骨格筋病態が分子レベルで解析されてきた。それらの研究から、①CAG が伸長した RNA の核内蓄積により引き起こされる遺伝子発現変化、②ポリグルタミン発現による細胞毒性、③末梢神経障害による脱神経、の３つの病態機序が提唱されてきた。昨年度、モデルマーモセットの骨格筋病理解析から、脱神経が主たる病態機序である可能性を示唆する所見が得られた。本年度は、筋内神経をより緻密に解析することを目的に、光学顕微鏡および電子顕微鏡による解析を進めた。

方法

マーモセット骨格筋

CMV プロモーター下に CAG リピートが 120 回伸長したヒト Atxn3 ORF を発現するトランスジェニックマーモセット（PQD11（1y4m）及び PQD16（1y5m））から骨格筋を採取した。同齢の正常個体（2y3m）から骨格筋を同様に採取し、実験に供した。

組織染色、電子顕微鏡観察

定法に従って、凍結骨格筋組織から切片を作製し、化学染色および抗ミエリン塩基性タンパク質およびニューロフィラメント H 鎖抗体染色を行った。骨格筋組織のグルタルアルデヒド固定サンプルを用いて、定法に従って、電子顕微鏡用のサンプルを調製し、semi-thin section トルイジンブルー染色、および透過型電子顕微鏡での超微細構造の観察を行った。

結果

ポリグルタミン病モデルマーモセット腓腹筋の免疫染色では、骨筋内神経束内に間質の増生が見られ、神経の脱落が観察された。semi-thin section では、ミエリン（髄鞘）の肥厚と神経線維の形態異常が観察された。電子顕微鏡観察では、間質の増生、ミエリンの肥厚、comma-shaped outfoldings, tomacula 様構造など髄鞘の形態異常が観察されたが、軸索自体の変性の所見は得られなかった。

考察

これまでの結果から、モデルマウスにて提唱されてきたようにポリグルタミン病モデルマーモセット骨格筋でも、伸長 RNA の核内蓄積、ポリグルタミン細胞毒性、脱神経の３つの病態機序の可能性が示唆されていた。その中でも、末梢神経障害による脱神経が引き起こす筋萎縮が生理学的、病理学的所見であり、筋力低下に寄与するものと思われていた。今回の解析から末梢神経の異常は主にミエリン髄鞘の形態変化によって引き起こされているものと考えられた。さらに慢性的な変化により神経線維自体の脱落を引き起こしているものと思われる。また、免疫染色でのポリグルタミンタンパク質の核内の蓄積はシュワン細胞核では明確でなかったが、p62、LC3 の免疫染色が神経束内で観察された。このことから、筋内神経は、筋線維と同様に、タンパク質の異常蓄積と分解経路の不全によって、変性が引き起こされているものと考えられた。

結論

ポリグルタミン病モデルマーモセット骨格筋の筋内神経の観察から、髄鞘の構造異常により末梢神経障害が引き起こされている可能性が示唆された。

参考文献

Inoue M et al. A recurrent homozygous ACTN2 variant associated with core myopathy. Acta Neuropathol 142, 785-788, 2021.

神経筋疾患の臓器間ネットワーク解明ならびに低分子薬開発

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　神経薬理研究部
村松　里衣子

緒言

筋萎縮性側索硬化症は難治性の神経筋疾患で患者の一部は遺伝的素因を有することから、疾患の原因遺伝子の機能解析という形で知見が蓄積している。これらで得られたメカニズムに基づき治療薬の開発が試みられているが、現時点で根本的な治療薬は見出されていない。我々は、筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子が病巣以外の部位にも発現する点に着目し、原因遺伝子の病態における作用の解明を通して、疾患形成のメカニズムの新しい機序の存在を検討している。

臓器間連関の制御機構には神経回路と液性因子を介した経路が存在するが、病態では、病巣で器質的な変化が生じる。血管のバリア機能の破綻は多くの病態に共通する器質的な変化で、その結果、血液を介した液性因子が患部に届きやすい状態になる。液性因子が筋萎縮性側索硬化症の病態形成に関わる可能性を考え、初年度に、筋萎縮性側索硬化症モデルマウス($SOD1^{G93A}$)の血液に対する網羅的な解析を実施した。症状の発症前、発症時、重症化した後のサンプルを対象にした血中の成分解析とpathway 解析の結果、複数の分子や pathway が症状が現れる前から減少・減弱する様子を見出した。そこで、本年度は、これらの変動があった分子群の神経系細胞に対する作用を in vitro で検討した。

方法

筋萎縮性側索硬化症の患者検体およびモデルマウスの組織解析の既報から、グリア細胞の一種であるオリゴデンドロサイトの細胞死が生じることが知られる。本研究でも、見出した分子群のオリゴデンドロサイトの細胞死への作用を検討した。幼若マウス脳より採取したオリゴデンドロサイト初代培養に対して、グルタミン酸興奮毒性による細胞死を誘導し、候補分子を補充することで細胞死が抑制できるか検討した。候補分子の機能を抑制するため、候補分子に対する受容体の siRNA ライブラリーを作成し、各 siRNA を導入したオリゴデンドロサイトのおける細胞死は Propidium iodide (PI)染色で検出した。

結果

筋萎縮性側索硬化症では成熟オリゴデンドロサイトでの細胞死が検出されることから、まず in vitro でオリゴデンドロサイトを分化させ、成熟したオリゴデンドロサイトの細胞死を誘導する条件を確立した。本手法に対して候補となる siRNA 20 種類の作用を検討した結果、複数の遺伝子に対する siRNA 導入群で、グルタミン酸興奮毒性に対する細胞死に対する抑制効果が認められた。それらの遺伝子が単独で（グルタミン酸興奮毒性なしで）細胞死に対して影響を与えるか検討し、グルタミン酸興奮毒性に対してのみ細胞死抑制効果を発揮する受容体を一種類同定した。また、本受容体に対する siRNA のノックダウン効果をオリゴデンドロサイトで確認した。

考察

血中因子がオリゴデンドロサイトに直接作用して、その機能を制御することが示唆される。血中因子が中枢へ作用するには、作用部位周辺で血管の透過性が亢進するか、あるいは中枢移行性を高める機序（トランスポーターなど）が亢進する必要がある。今後リガンドの同定とその機能解析を通じて、血中因子のオリゴデンドロサイトの細胞死への作用を、in vivo で検討する。

結論

筋萎縮性側索硬化症のモデルマウスの血液に含まれ、オリゴデンドロサイトの細胞死を制御する分子を見出した。

参考文献

なし

2-6「脳神経疾患研究に資する霊長類モデル動物の作出と評価に関する基盤的研究」
（分担課題名）ラットやマウスを対象とした筋電図記録や神経刺激の技術供与

分担研究者　関　和彦
（所属）　国立精神・神経医療研究センター神経研究所モデル動物開発研究部

緒　言

本研究班では筋疾患の病態解明や治療法解明が主目的であるが、筋機能の発現や維持は中枢神経系からの持続的な制御、及び運動感覚連関によって実現している。従って、上記の包括的な理解のためには、骨格筋だけでなく、骨格筋活動を左右する中枢神経系機能の評価が必要となる。そこで本研究では、筋電図計測・誘発電位計測などヒト患者においても行われている電気生理学的診断技術をモデル動物においても確立することを目的とする。確立された技術を、本研究班で用いられる様々な動物モデルにおいて適用することにより、筋疾患病態やその遺伝子治療戦略について、より広い視点からの理解が得られる。

方法と結果

まず、前年度確立したラットの下肢筋群にワィヤー電極を外科的手術によってインプラントし、無線で自由行動下の筋電図活動を記録する実験系を拡張した。具体的には足関節筋群に加えて膝関節に関わる筋にも、ステンレスワイヤー(cooner wire)を外科的手術によって慢性的に埋め込み、電極中枢端についているコネクタをラット頭部に固定した。頭部コネクタに Multichannel Systems 社の無線記録装置のトランスミッターを頭部に接続し、歩行時の筋活動を非拘束下で記録した。大腿と足首の筋は連続的な交代性の活動が認められた。

次に、ラットの末梢感覚神経に慢性的にカフ電極を設置する実験技術を確立した。具体的にはドイツ Cortec 社と共同で、ラットジャンプ実験用のマイクロカフ電極を設計し、それを慢性留置する手術及び個体管理方法を開発した。そして、前年度確立した筋電図記録と同様、刺激ー記録をすべてオンラインで行うことができる実験系を確立した。そのシステムを用いて、ケージ内で自由行動を行っているラットへの電気刺激が可能なことを実証した。

考察

本研究によって確立されたシステムは広く歩行や跳躍運動時の神経系の活動評価に利用可能である。そこで今後は、ラット皮質上に ECoG 電極を埋め込む技術を確立し、感覚誘発反応や皮質運動出力の運動中の変化を評価できる実験系を確立する。

結論

行動下のげっ歯類を対象とした、慢性的筋電図記録と同時に、末梢神経を刺激する実験技術が確立された。

今後の展望

筋疾患病態などの評価のためには、歩行だけでなく、より多くの部分を用いるタスクが必要である。また、筋萎縮などの形態面の評価との相関を確認するためには、最大筋力に近い筋力発揮様式（ジャンプ）や、低重力下での計測（tail suspension)などが筋病態研究では用いられているので、そのようなタスク下でも筋活動記録が可能なように、技術を発展させる。さらに筋疾患に並行した中枢神経系の変性評価に、運動出力と直接連関するような末梢神経刺激に対する応答は有用である。同技術は、運動系の異常をもたらす多くの疾患モデル動物の表現系解析に有効なので、本研究班の他研究者との共同研究によって同技術の供与を行なってゆく。

研究発表

1. Kudo M, Sidikejiang W, Fujiwara M, Saito Y, Kubota S, Inoue K, Takada M, Seki K (2021). Specific gene expression in unmyelinated dorsal root ganglion neurons in nonhuman primates by intra-nerve injection of adeno-associated virus 6 vector. Molecular Therapy Methods & Clinical Development. Volume 23, 10: pp 11-22.
2. Saito T, Ogihara N, Takei T, and Seki K (2021): Musculoskeletal modeling and inverse dynamic analysis of precision grip in the Japanese macaque, Front. Syst. Neurosci., 08 December 2021, https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.774596,
3. Kudo M, Wupuer S, Kubota S and SEKI K (2021): Distribution of large

and small dorsal root ganglion neurons in common marmosets, Front. Syst. Neurosci., 02 December 2021, https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.801492,

4. Koizumi M, Nogami N, Owari K, Kawanobe A, Nakatani T, Seki K (2021): Motility profile of captive-bred marmosets revealed by a long-term in-cage monitoring system. Front. Syst. Neurosci. https://doi.org/10.3389/fnsys.2021.645308, 15 April 2021.

知的所有権の出願・取得状況

なし

モデル動物を基盤とした脳腫瘍の新しい治療法開発に関する研究

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所・病態生化学研究部
川内大輔

緒言

上衣腫は小児脳腫瘍のうち主要な悪性脳腫瘍の一つであり、腫瘍発生部位と分子解析データを元に分類されている。大脳皮質に生じるテント上上衣腫のうち約 7 割を占める ZFTA 型上衣腫は、上衣腫の中でも悪性度が高く、主に外科的手術による腫瘍の除去率に依存する形になっている。そこで上衣腫モデル動物を開発し ZFTA 型上衣腫の腫瘍形成メカニズムを理解することにより、腫瘍増殖シグナルを見出し、それらを基盤とした新規の分子標的薬を用いた治療法の確立を目指す。

方法

ZFTA 型上衣腫では腫瘍特異的な融合遺伝子が発現することが知られている。前年度は、ヒトテント上上衣腫>1000 検体から同定した複数の ZFTA 融合遺伝子をマウス脳内に誘導することで、発がん性を検証した。ヒト初代腫瘍組織と本研究で開発したマウス腫瘍の遺伝子発現解析から共通して働く細胞増殖シグナル GLI2 を治療標的分子として同定したが、今年度は生体内で GLI2 を抑制する核酸医薬を開発する目的でアンチセンスオリゴ(ASO)に着目し、高分子ミセルで輸送する技術の開発準備を行う。

結果

GLI2 遺伝子の ASO を高分子ミセルに封入する方法論は、共同研究者の東京大学安楽泰孝先生によって開発される。特に上衣腫の表面に CD276 抗原が発現することを踏まえ、高分子ミセルの表面に抗体を付加した上衣腫特化型 DDS システムを開発する。一方で、生体内でこの DDS をテストするモデル系を開発するために、陽性対照として Grp4 髄芽腫 OTR396 を培養下でレンチウイルスにより感染させ、GFP と Luciferase 遺伝子を発現させる。感染した細胞は免疫不全マウスの大脳に移植し、その腫瘍増殖を Luciferin により非侵襲的に解析する系を確立した。この技術を基盤として ZFTA 型上衣腫細胞株 EP1NS にウイルスを感染させた細胞株を作成中である。

考察

現存する治療に使用可能な GLI2 阻害剤は一般的に副作用が多く特異性が低い。核酸医薬を用いた腫瘍特化型 DDS を開発することで効果的な脳腫瘍の治療につなげることが可能になると思われる。

結論

悪性度の高い ZFTA 型上衣腫細胞株を用いたプレクリニカルモデルの開発を順調に進めている。

参考文献

Zheng T, Ghasemi DR, Okonechnikov K, Korshunov A, Sill M, Maass KK, Benites Goncalves da Silva P, Ryzhova M, Gojo J, Stichel D, Arabzade A, Kupp R, Benzel J, Taya S, Adachi T, Shiraishi R, Gerber NU, Sturm D, Ecker J, Sievers P, Selt F, Chapman R, Haberler C, Figarella-Branger D, Reifenberger G, Fleischhack G, Rutkowski S, Donson AM, Ramaswamy V, Capper D, Ellison DW, Herold-Mende CC, Schüller U, Brandner S, Driever PH, Kros JM, Snuderl M, Milde T, Grundy RG, Hoshino M, Mack SC, Gilbertson RJ, Jones DTW, Kool M, Deimling AV, Pfister SM, Sahm F*, Kawauchi D*, Pajtler KW*. Cross-species genomics reveals oncogenic dependencies in ZFTA/C11orf95 fusion-positive supratentorial ependymomas. *Cancer Discov.* 11(9):2230-2247.(2021) (IF:39.397) *Co-corresponding author.

Kupp R, Ruff L, Terranova S, Nathan E, Ballereau S, Stark R, Sekhar Reddy Chilamakuri C, Hoffmann N, Wickham-Rahrmann K, Widdess M, Arabzade A, Zhao Y, Varadharajan S, Zheng T, Murugesan MK, Pfister SM, Kawauchi D, Pajtler KW, Deneen B, Mack SC, Masih KE, Gryder BE, Khan J, Gilbertson RJ. ZFTA-translocations constitute ependymoma chromatin remodeling and transcription factors. *Cancer Discov.* (IF:29.497) 11(9):2216-2229. (2021)

Arabzade A, Zhao Y, Varadharajan S, Chen HC, Jessa S, Rivas B, Stuckert AJ, Solis M, Kardian A, Tlais D, Golbourn BJ, Stanton AJ, Chan YS, Olson C, Karlin KL, Kong K, Kupp R, Hu B, Injac SG, Ngo M, Wang PR, De Leon LA, Sahm F, Kawauchi D, Pfister SM, Lin CY, Hodges HC, Singh I, Westbrook TF, Chintagumpala MM, Blaney SM, Parsons DW, Pajtler KW, Agnihotri S, Gilbertson RJ, Yi J, Jabado N, Kleinman CL, Bertrand KC, Deneen B, Mack SC. ZFTA-RELA Dictates Oncogenic Transcriptional Programs to Drive Aggressive Supratentorial Ependymoma. *Cancer Discov.* (IF:29.497) 11(9):2200-2215. (2021)

R3 開発費青木班　報告書

分担研究課題名

骨格筋幹細胞の未分化性維持機構の解明と筋ジストロフィー治療への応用

分担研究者　林 晋一郎

所属　国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　疾病研究第一部

緒言

筋ジストロフィーの根治療法として骨格筋幹細胞を用いた移植療法が期待されている。移植された筋幹細胞は、増殖した後に分化・融合して筋再生に寄与するだけでなく、一部は休止状態に入り、組織幹細胞として定着することができる。しかしながら、生体外で培養した筋幹細胞の多くは移植後に融合も幹細胞としての定着もせず、その寄与率の低さが問題となっている。一方、単離直後の筋幹細胞は高い寄与率を示すが、筋幹細胞の未分化な状態を維持したまま長期培養することが難しく、移植に必要な数の未分化性を維持した筋幹細胞の確保が本治療法の課題となっている。これまで申請者は、レチノイン酸受容体アゴニストを添加した培養法により、骨格筋幹細胞の未分化性を高く保持したまま長期間培養可能であることを新たに見出している。しかしながら、過去にはレチノイン酸が筋分化を促進するとの報告もあり(Skeletal Muscle. 2015)、筋細胞に対するレチノイン酸の作用に関するコンセンサスは得られていない。そこで本研究では骨格筋幹細胞の未分化性維持および分化制御機構におけるレチノイン酸シグナルの解明を目的とした。さらに本年度はシングル核 RNA-seq を用いた、筋ジストロフィー病態における筋幹細胞の性状解析も行った。

方法

1)野生型 C57BL/6J マウスよりセルソーターで筋幹細胞を単離した。30%FBS を含む増殖培地にオールトランス型レチノイン酸を添加して 48 時間培養後、totalRNA を抽出し、筋分化関連因子の発現を解析した。同様に C2C12 でもレチノイン酸処理後、同様に解析した。さらに、ヒト筋幹細胞を同様にレチノイン酸添加培地で培養し、NOG-mdx マウスに移植して移植効率を解析した。

2)ヒト DMD および正常凍結筋組織からセルソーターで細胞核のみを単離し、10X genomics 社のマニュアルに従いシングル核 RNA-seq ライブラリを作製した。シークエンス後、Seurat R パッケージにより筋幹細胞集団について解析を行った。

結果

1) 初代筋幹細胞ではオールトランス型レチノイン酸によりPax7の発現の上昇とMyogenin, Ckmの発現低下が見られ、筋分化の抑制が顕著に見られた。一方、C2C12は従来の報告にあるようにMyogeninの発現の増加が見られ、レチノイン酸による筋分化促進効果が確認された。さらにヒト筋幹細胞においてもレチノイン酸添加によって通常培養したものと比較してヒトSpectorin陽性の筋線維数増加が見られ、移植効率が上昇した。

2) 新鮮凍結筋組織より細胞核のみを単離し、シングル核RNA-seqライブラリを作製する手法を確立した。Seuratパッケージにより解析した結果、DMDの骨格筋では、筋細胞核の割合は正常コントロール筋と比較して減少する一方で、筋幹細胞や再生筋の筋核、マクロファージなどが増加した。興味深い事に、DMDの筋幹細胞は殆どがMKI67やPCNAといった細胞増殖マーカーを発現しておら

ず、休止状態のマーカーであるCALCRを発現しており、休止状態にあると考えられた。また、MyoD1やMyogeninを発現する活性化および分化途中にある筋細胞も殆ど存在しないことが明らかとなった。

考察

筋幹細胞および C2C12 を用いた今回の実験結果から、レチノイン酸の筋分化に対する作用は両者で異なることが明らかとなった。レチノイン酸レセプターには RAR-α,- β, -γと RXR が存在することが知られており、オールトランス型レチノイン酸は主に RAR-αに結合し、下流のシグナルを伝達する。筋細胞におけるこれらレセプターの正確な発現量および筋細胞に対するレチノイン酸の効果の分子メカニズムを理解するには網羅的トランスクリプトーム解析が必要であると考え、現在は RNA-seq ライブラリを作製し、解析を進めている。また、ヒトにおいてもマウス筋幹細胞と同様にレチノイン酸添加培地による培養で移植効率が上がり、本培養法は有用であると考えられた。

シングル核 RNA-seq を用いた結果では、DMD 患者筋における筋幹細胞では、細胞数は増加しているもののその殆どが休止状態にあることが明らかとなった。これまで mdx マウスなどを用いた研究から DMD 病態では筋幹細胞はマクロファージなどの炎症性細胞が産生するサイトカインなどに応答し、活発に増殖するものと考えられてきた。しかしながら今回の結果では炎症性細胞数が増加している環境においても筋幹細胞は増殖せず、筋再生に寄与しないということが明らかとなった。この発見は、幹細胞治療を考える上で非常に重要な発見である。今後 DMD 病態での筋幹細胞トランスクリプトームの変化を詳細に解析することでこれまで Dr. Rudnicki が提唱している、筋ジストロフィーにおける筋幹細胞の極性の異常などの”質の低下”（Trends Mol Med. 2016）がヒトでも起こっているのかを解析する予定である。

結論

本研究により初代培養筋幹細胞と C2C12 ではレチノイン酸の筋分化に対する作用が全く異なることが明らかとなった。また、DMD 患者筋における筋幹細胞は殆どが休止状態にあることが明らかとなった。

参考文献

1. Lamarche É, Lala-Tabbert N, Gunanayagam A, St-Louis C, Wiper-Bergeron N. Cite Share Retinoic acid promotes myogenesis in myoblasts by antagonizing transforming growth factor-beta signaling via C/EBPβ. Skelet Muscle. 2015 Mar 18;5:8.
2. Chang NC, Chevalier FP, Rudnicki MA. Satellite Cells in Muscular Dystrophy - Lost in Polarity. Trends Mol Med. 2016 Jun;22(6):479-496

新規治療開発に有用な臨床情報の抽出

国立精神･神経医療研究センター病院
脳神経内科　　森まどか

緒言

Dystrophinopathy は筋骨格を担う dystrophin 遺伝子変異によって生じる筋疾患で、重症な Duchenne 型(Duchenne Muscular Dystrophy, DMD)と軽症な Becker 型(Becker Muscular Dystrophy, BMD)、および中間型(Intermediate Muscular Dystrophy, IMD)とそれぞれの保因者から成る。近年、DMD の骨格筋・心筋障害に対する新規および既存集学的治療が導入され、筋障害に対する予後は改善していくことが期待出来る。しかし、dystrophinopathy は中枢神経障害も伴っておりこちらも治療が必要な可能性があるが、病態・病状や自然歴が十分解明されているとは言えない。Dystrophinopahty の中枢神経障害について現状・背景因子を調査することを目的とした。DMD 画像研究の研究として、背景因子について検討した。

方法

頭部画像検査を行ったことのある当院脳神経内科の DMD 患者を抽出し、偶発症を除外した頭部画像所見の特徴と臨床像との関連を探った。歩行喪失年齢・人工呼吸器装着年齢、遺伝子診断、発達障害歴､IQ が利用出来る患者についてはこれらの臨床情報との関連を検討した。

結果

当院脳神経内科受診歴のある dystrophinopathy 患者のうち 12 歳以下で歩行喪失した 92 名のうち、画像検査が行われたのは 41 名、うち脳血管障害の合併があった 2 名を除外し 39 名だった。画像検査の平均年齢 24.9 +/- 76.6 (13-38, median 24)､歩行喪失年齢 9.8 +/- 1.6 (7-12, 10)歳、37 名が人工呼吸器利用しており導入年齢 19.9 +/- 4.8 (12-32, 19)であった。

検査人数は頭部 MRI　13 名、頭部 Singe Photon Emission CT (SPECT) 17 名､頭部 CT 32 名､SPECT は全例 CT と同時撮影されていた。MRI では 13 名中 7 名、CT では 32 名中 20 名に前頭葉優位の脳萎縮が見られたが、萎縮と IQ や発達障害の間に有意な関連は見られなかった。12 例で 3 年以上の間隔を開けて CT が撮像され、6 名で萎縮の悪化が見られた。SPECT では全例に局所の血流低下を認め、18 例中 17 名は前頭葉だった。同時撮像 CT では血流低下部位主体の軽度の脳萎縮を 18 例中 9 例に認めた。CT と MRI の間に所見の乖離は見られなかった。1 名のみ経時的に SPECT が検索され、17 歳から 22 歳の間で血流低下の増悪が見られた。

遺伝子変異との関係で、dystrophin の isoform である Dp140 を欠くことが想定される変異を持っている患者は、CT で有意に萎縮を呈した。

考察

DMD 患者の SPECT 検査では全例、CT 検査では 32 例中 20 例、MRI では 13 名中 7 例に脳萎縮を認め、進行性が示唆された。Dp140 は CT 萎縮例で発現していない割合が高かったが、全例ではなく萎縮を説明する要因は他にも存在する。

DMD に対する画像検査は通常の T1, T2 画像等で波異常を認めず、拡散テンソル MRI [Doorenweerd 2014]や MRI 脳血流画像[Doorenweerd 2017]、PET[Lee 2002]など臨床の場では使用しにくい方法だった。過去に DMD に対し保険収載されているこれらの検査方法で異常を検出した研究はない。本研究で異常の頻度が高かった理由として、対象患者が成人であり年齢が高かった可能性がある。今後は機能との関係や経時的変化を精査する予定である。

今回､SPECT が前頭葉優位の脳血流低下を呈し、脳萎縮に先行したことから､SPECT が最も鋭敏かつ早期に DMD の中枢神経障害を抽出できると考える。

研究の限界として、検査バイアス、高次機能評価が不十分であること、進行につれ MRI や SPECT 検査が困難になることから再検が難しいことがある。CT は比較的拘束時間が短く人工呼吸器を利用しながら検査できるため継続検査法として有用と考えた。

結論

DMD 患者の過半数に前頭葉優位の脳萎縮・脳血流低下が見られ、進行性である可能性がある。

参考文献

1. Lee JS, Pfund Z, Juhász C, et al. Altered regional brain glucose metabolism in Duchenne muscular dystrophy: a pet study. Muscle Nerve. 2002 26:506-12

2. Doorenweerd N, Straathof CS, Dumas EM, Spitali P, Ginjaar IB, Wokke BH, et al.
Reduced cerebral gray matter and altered white matter in boys with Duchenne muscular dystrophy. Ann Neurol. 2014;76:403-11.

分担研究報告書

（課題名）疾患 iPS 細胞を利活用した神経筋疾患の病態解明

（所属）疾病研究第五部

（氏名）若月 修二

緒言

神経筋接合部 (Neuromuscular junction, NMJ) は運動ニューロンの神経終末と骨格筋細胞をつなぐシナプスである。NMJ 形成メカニズムを明らかにする研究は、これまで主にマウスなどの実験動物モデルを用いて進められ、さまざまな有用な知見が得られてきた。そのなかで見つかった NMJ 形成に関わる分子群はヒトにおいても極めて重要であり、遺伝子変異によるそれら分子群の機能の変容・喪失は先天性筋無力症候群（congenital myasthenic syndromes, CMS）などの筋疾患の発症と強く関連することも明らかにされている一方、NMJ の形態や分子構成を詳細に比較検討した研究報告では、ヒトとマウスとの間に明確な違いがあることが示唆されている。これらのことから、ヒト細胞を用いた NMJ モデルを開発することはヒトの NMJ 形成メカニズムを扱えるという点で、CMS などの病態解明ならびに治療法開発において極めて有用であると考えらえれる。本研究では、ヒト多能性幹細胞（iPS 細胞）を分化させた運動ニューロン、骨格筋細胞の共培養により、形態的・組織化学的に NMJ と判断される構造を作出し、NMJ 構造作出の再現性、ならびに運動ニューロン側の電気的興奮による筋管側の応答性を有する、構造的・機能的評価に資するヒト NMJ モデルを確立を目指した。

方法と結果

ヒト iPS 細胞を分化させた運動ニューロン、骨格筋細胞を個別に誘導し共培養した。共培養には Campenot チャンバーを用いた区画化培養法を採用し、運動ニューロン、骨格筋細胞を個別の培地で栄養することにより、従来より長期の培養期間を実現した。形成される NMJ 数は培養日数に応じて増加し、個々の NMJ サイズが大きくなる傾向が確認された。また、NMJ 形成が確認された骨格筋細胞にカルシウム指示薬 fluo-4 を取り込ませて、細胞内カルシウム動態をモニタリングしたところ、運動ニューロンの興奮により fluo-4 蛍光強度の有意な増大を確認した。

結論と考察

本年度の研究では、区画化培養法や蛍光イメージングなどを駆使し、NMJ 構造作出、運動ニューロン側の電気的興奮による骨格筋細胞（筋管）側の応答を検討し、ヒト NMJ を作り出すことに成功した。前述のように、ヒト NMJ 培養モデルは神経筋疾患の病態生理の理解、ならびに治療法の探索に極めて有用であり、構造的・機能的評価に資するモデルの確立が求められる。近年、患者由来 iPS 細胞を用いた NMJ 形成モデルが報告されているが、多くは定量的再現性に乏しく、評価系として未だ十分とは言い難い。来年度以降の研究では、再現性をさらに向上させるとともに、客観的な定量法を確立する必要があると考えている。

参考文献（業績）

1. Wakatsuki S and Araki T.
Novel Molecular Basis for Synapse Formation: Small Non-coding Vault RNA Functions as a Riboregulator of MEK1 to Modulate Synaptogenesis.
Front Mol Neurosci. (2021) 14: 748721.

2. 若月修二
small non-coding vault RNA によるシナプス形成の調節機構
生化学 (2022) 94: 78–81.

3. Hagihira H., *et al*. (Wakatsuki S. as co-authors)
Systematic analysis of brain lactate and pH levels in 65 animal models related to neuropsychiatric conditions.
bioRxiv. doi: 10.1101/2021.02.02.428362

筋ジストロフィーに対する細胞移植治療法の開発

鈴木 友子
国立精神・神経医療研究センター神経研究所
遺伝子疾患治療研究部

緒言

ヒト iPS 細胞から誘導される筋前駆細胞は、筋ジストロフィーに対する細胞移植治療法の細胞源として期待されている。我々は sphere 法（文献１）を用いてヒト iPS 細胞から筋前駆細胞を誘導し、Duchenne 型筋ジストロフィーのモデルマウス *NSG-mdx^{4Cv}* マウス（文献２）の骨格筋に移植する実験を行っているが、移植効率の低さが実用化を阻んでいる。そこで令和３年度はヒト iPS 細胞から誘導した間葉系幹細胞(iMSCs)から放出される可溶性因子が筋前駆細胞の移植効率を上げるかを検討した。

方法

１．ヒト iPS 細胞由来筋前駆細胞誘導

文献１で発表した sphere 法を更に改良し(論文準備中)、京都大学で樹立されたヒト iPS 細胞 (201B7,409B2, 454E2)から筋前駆細胞を誘導し、FACSAria Fuaion (BD) を用いて CD271+CD82+分画をソーティングした。

2．ヒト筋前駆細胞の入手と培養条件

ヒト筋前駆細胞株 (Hu5/KD3) は橋本らの方法に従い培養した (文献 3)。ヒト骨格筋初代培養細胞は LONZA から入手した。

３．ヒト iPS 細胞からの iMSC の誘導

STEMCELL™ Technologie のキットを用いて iMSC を誘導した。間葉系幹細胞のマーカーCD105, CD73, CD90 の発現を FACS で解析した。human MSC functional identification kit (R & D Systems) を用いて脂肪細胞、骨細胞、軟骨細胞系譜への分化能を評価した。比較対象としてヒト骨髄由来間葉系幹細胞(BM-MSC) (LONZA) を用いた。

４．間葉系幹細胞とヒト筋前駆細胞の共培養とマウスへの移植

ヒト筋前駆細胞と iMSC を transwell (Corning) 用いて共培養した後、ヒト筋前駆細胞の増殖能を MTT アッセイで解析した。筋分化能は muscle myosin に反応する MF20(R&D)を用いて免疫染色し、Fusion index を算出して評価した。ヒト筋前駆細胞を免疫不全 DMD モデルマウス (*NSG-mdx^{4Cv}*) あるいは免疫不全 *NOD/Scid* マウスの前脛骨筋内へ 29G シリンジを用いて移植した。以下の抗体を用いた、免疫組織化学的手法を用いて移植したヒト筋前駆細胞の筋再生への寄与を調べた。

抗ヒト・ラミン A/C 抗体	マウス mAb、Santa Cruz
抗ヒト・スペクトリン抗体	マウス mAb、Leica
抗ラミニンα2 鎖抗体 (4H8-2)	ラット mAb, Enzo Life Science
抗ヒト・ラミン B1 抗体	ウサギポリクローナル抗体 HistoSure
抗ジストロフィン抗体	ウサギポリクローナル抗体, abcam

５．iMSC 由来サイトカインの同定

骨髄 MSC と iMSC の培養上清を用いて、120 個のサイトカインの発現を検出できるサイトカイン抗体アッセイを行った(abcam)。リコンビナント uPAR (urokinase-type plasminogen activator receptor)(R&D systems),BDNF (Peprotech), IGF-BP6(Peprotech),uPA (urokinase-type plasminogen activator) (R&D Systems)存在下で Wound healing assay を行い、細胞の移動能を評価した。

結果

1. iMSC との共培養により、ヒト筋前駆細胞の増殖や分化が促進され、ヒト筋前駆細胞の移植効率が向上した。骨髄間葉系幹細胞との共培養では移植効率は変化なかった。
2. iMSC は、骨髄由来間葉系幹細胞に比べて、uPAR、BDNF、IGFBP-2 を細胞外に多く分泌していた。
3. uPAR、BDNF は筋前駆細胞の移動を *in vitro* で促進した。
4. uPAR をヒト筋前駆細胞株である Hu5/KD3 細胞の培養系へ加えて培養した後、*NOD/Scid* マウスの前脛骨筋に移植したところ、移植細胞の生着と筋分化が促進した。
5. uPAR のリガンドである uPA は、uPAR の効果をさらに向上させた。

考察

ヒト iPS 細胞から誘導した間葉系幹細胞は、uPAR を分泌することで、ヒト筋前駆細胞の DMD モデルマウス骨格筋への移植効率を上げたと考えられる。uPA はさらにその効率を上げたことから、uPAR が、uPA を活性化することで筋前駆細胞の移植効率を上げることが示唆された。

結論

ヒト iPS 細胞から誘導した間葉系幹細胞は、ヒト筋前駆細胞の DMD モデルマウス骨格筋への移植効率を上げた。筋ジスに対する細胞移植効治療への応用が期待される。本研究成果は Stem Cell Research ＆Therapy 誌に原著論文として発表した（文献４）。

参考文献

１． Sakai-Takemura F, et al., *Sci Rep.* 2018; 8:6555.
２． Arpke RW, et al. *Stem Cells*. 2013; 31:1611-1620.
３． Shiomi, K, et al. *Gene Ther.* 2011; 18:857-866.
４． Elhussieny A,et al. *Stem Cell Res Ther.* 2021; 12:532.

ゲノム編集技術を用いた筋ジストロフィー治療法の開発研究

堀田　秋津
京都大学 iPS 細胞研究所

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィーは、ジストロフィン遺伝子変異が原因となって引き起こされる。したがって、この原因たる遺伝子変異を修復できれば根治に繋がると期待される。しかしながら、ジストロフィン遺伝子は巨大で、従来の遺伝子治療用ベクターでは導入することは困難であった。一方、アンチセンスオリゴを利用してジストロフィン遺伝子の特定のエクソンをスキッピングさせることによりジストロフィンの蛋白質読み枠を回復できることが知られており、世界中で研究開発と臨床研究が進められている。しかしながら、アンチセンスオリゴは mRNA に作用するため、効果は一過性であり、治療効果を生涯にわたって継続させるためには、頻回繰り返し投与が必要となる。そこで我々は、新たに登場した CRISPR ゲノム編集技術に注目し、ゲノムレベルでエクソンスキッピングを誘導する事を目指す。特に、DNA の二本鎖切断を伴わない Base Editor 技術は、より安全性の高いシステムとして注目されており、実際ジストロフィン遺伝子のエクソンスキッピングへの応用についても研究報告があるが、どのように細胞や生体組織へ送達するかが鍵である[Taha E et al., J Cont Release, 2022]。

世界的には AAV ベクターを用いて CRISPR-Cas9 ヌクレアーゼや Base editor の送達が行われているが、AAV ベクターは数年以上にも渡って外来遺伝子が発現するため、Cas9 を発現させた場合にはオフターゲット変異導入やベクター断片挿入のリスクが高まる。我々はウイルス様粒子 NanoMEDIC を用いた独自の一過性導入技術[Gee P et al., Nat Commun, 2020]の開発を進めており、安全性の高い治療法開発を目指す。特に、Base Editor は Cas9 単独と比較しても更にサイズが大きく、通常のウイルスベクター(AAV 等)での送達は困難である。そこで、我々が以前開発したウイルス様粒子を用いたタンパク質送達システム NanoMEDIC を活用し、Base Editor の搭載および送達を目指す。

方法

Base Editor にはアデニンを変換する Adenine Base Editor と、シトシンを変換する Cytosine Base Editor に大別されるが、融合するドメインやリンカー構造などに応じて複数のタイプが知られている。また、NanoMEDIC 中に標的タンパク質を内封して送達するためには、化合物によりヘテロ二量体形成を誘導する FRB ドメインを融合する必要がある。我々は Base Editor に FRB ドメインを融合する方法として、N/C 末端の他、様々なリンカー配列を検討し、NanoMEDIC 画分への Base Editor 内封効率をウェスタンブロット解析した。また、VSV-G 外皮タンパク質に加えて、BaEV 外皮タンパク質を添加することにより、NanoMEDIC 粒子の産生性および Base Editing 活性について検証を行った。エクソンスキッピング活性測定については、エクソンスキッピングが誘導されるとルシフェラーゼが発光するレポーターベクターを使用した。

結果

Base Editor に複数のリンカー(AS リンカー、GS リンカー、XTEN リンカー)を介して FRB ドメインを融合した所、何れのリンカーでも NanoMEDIC 粒子中に Base Editor を内封できることを見出した。また、従来の VSV-G 外皮に加えて、BaEV 外皮を添加した所、適切な比率で混合した時に、VSV-G 単独よりも NanoMEDIC の産生能力および一塩基編集能力が向上することを見出した。

考察

Base Editor はヌクレアーゼタイプの Cas9 と比較して分子サイズが大きく、従来の NanoMEDIC 送達技術だけでは送達効率が十分でなかった。

結論

NanoMEDIC 送達システムを改良することにより、Base Editor を細胞内へと送達可能なシステムの開発に成功した。現在、論文執筆を準備中である。

参考文献

Taha E et al., J Control Release, 2022
Gee P et al., Nat Commun, 2020

間葉系前駆細胞を標的とした新たな筋ジストロフィーの治療法開発

上住聡芳
徳島大学

緒言

筋ジストロフィーでは、骨格筋の脂肪化・線維化が起こる。脂肪化・線維化はそれ自体が筋力・筋機能低下の要因となるだけでなく、他の治療法（細胞移植治療や遺伝子治療）の効率を低下させることにもつながり問題となる。骨格筋の脂肪化・線維化の原因は長らく不明であったが、分担研究者らは筋間質に存在し筋衛星細胞とは異なる間葉系前駆細胞の同定に成功し、この細胞が脂肪化・線維化の起源となることを世界で初めて明らかにした [1, 2]。間葉系前駆細胞は病態に寄与する一方、再生過程では筋衛星細胞を支持するニッチ細胞として機能し、筋再生を促進する [3]。さらに、分担研究者らは定常状態の筋の維持に間葉系前駆細胞が必須の役割を果たしていることも明らかにしている [4]。このことから、脂肪化・線維化の抑制を目的とする場合、単に間葉系前駆細胞の死滅を図るだけでは、間葉系前駆細胞の良性の機能を阻害することにつながりかねない。よって、真に効率的な筋ジストロフィーの治療には間葉系前駆細胞の二面性を理解し、制御することが必要になる。本研究では、脂肪化・線維化の原因となる間葉系前駆細胞を制御する手法の開発に取り組む。脂肪化・線維化の責任細胞に焦点を当て、研究開発を行うことで、これまで不可能であった脂肪化・線維化を抑制する画期的治療が可能になると期待される。また、間葉系前駆細胞による筋衛星細胞支持機能を明らかにできれば、筋再生促進療法へ発展することも期待できる。さらに、原因遺伝子の発現回復を図る他の根本的治療法の治療効果を向上させることにもつながるため、本研究は筋ジストロフィー治療の実現に資する有益な成果をもたらすと考えられる。

方法

本研究では、間葉系前駆細胞を制御することで脂肪化・線維化を抑制し、筋再生を促進する筋ジストロフィーの治療法開発を目指す。

すでに、間葉系前駆細胞の二面性の解析、および、ヒト骨格筋由来の高品質な間葉系前駆細胞を利用した薬剤スクリーニングからレチノイン酸シグナルが間葉系前駆細胞の病的表現型を抑制することを見出している。また、間葉系前駆細胞に効率よくレチノイン酸シグナルを活性化させる化合物を同定している。そこで、筋ジストロフィーモデルマウスを用いて本化合物の治療効果を検討するとともに、筋再生におけるレチノイン酸シグナルの機能的意義を追究し、本シグナルに基づいた筋ジストロフィー治療のさらなる効率化を図る。

結果

レチノイン酸シグナルの機能的意義を精査するため、間葉系前駆細胞特異的にレチノイン酸シグナルが阻害されるマウスを用いて筋再生過程を精査した。コントロールマウスと比較して、間葉系前駆細胞特異的レチノイン酸シグナル阻害マウスでは、間葉系前駆細胞における炎症関連遺伝子が高発現していた。この遺伝子発現を反映し、間葉系前駆細胞特異的レチノイン酸シグナル阻害マウスでは、炎症の収束に遅延が見られた。

考察

間葉系前駆細胞特異的レチノイン酸シグナル阻害マウスの表現型から、間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルが炎症関連遺伝子の発現を抑制しており、筋再生に伴う炎症の収束に必要であることが明らかとなった。

結論

間葉系前駆細胞は炎症の収束に必須の役割を果たしており、間葉系前駆細胞における cell-autonomous なレチノイン酸シグナルが、この炎症制御の中心的な分子機構であると考えられた。

参考文献

1) Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N et al., Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. Nat Cell Biol 12(2):143-52. 2010.

2) Uezumi A, Ito T, Morikawa D et al., Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. J Cell Sci 124(Pt 21):3654-64. 2011.

3) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Tsuchida K. Roles of nonmyogenic mesenchymal progenitors in pathogenesis and regeneration of skeletal muscle. Front Physiol 5: 68. 2014.
4) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H et al., Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. J Clin Invest. 131(1):e139617. 2021.

筋サテライト細胞を用いた筋ジストロフィー治療開発の基盤研究
ー負荷依存的に筋サテライト細胞が増殖する分子機構ー

深田　宗一朗
大阪大学大学院薬学研究科
筋幹細胞創薬プロジェクト
金重　紀洋*, 斎藤　隼人*, 中村　彩沙*,
上住 聡芳**
*大阪大学大学院薬学研究科
筋幹細胞創薬プロジェクト
**徳島大学医歯薬研究部

緒言
筋ジストロフィー治療開発において「遺伝子・核酸・ゲノム治療」,「薬物治療」,「幹細胞・再生治療」が 3 本柱としてあげられる。他の治療法にはない「幹細胞・再生治療」の最大の利点は，失った筋線維を新たに作ることができる点である。しかし，細胞移植による「幹細胞・再生治療」は局所に限定されるため，全身性の疾患である筋ジストロフィーにおいては常に課題となっている。筋サテライト細胞の機能低下は筋ジストロフィーの病態進行と密接に関わっているため，人為的に全身の筋サテライト細胞の再生能力を改善することができれば，新しい幹細胞・再生治療に資することが期待される 1)。申請者はマウス筋肥大モデルや運動モデルなどにおいて，負荷筋の筋サテライト細胞が実質的に増殖することを見出している 2)。実験的な筋再生モデルと比較してこれらモデルの筋サテライト細胞の周辺環境の変化は劇的には変化しないため，筋サテライト細胞の増殖・自己複製機構解明において非常に優れたモデルと考えた 3-5)。本年度は，外科的な過負荷モデルにおける筋サテライト細胞の増殖に間葉系前駆細胞が必須であることを明らかにした。

方法
マウス
C57BL/6, *Pα*^{CreERT}*-Rosa-DTA* 6), *Pα*^{CreERT}*::Yap*$^{flox/flox}$*:: Taz*$^{flox/flox}$, *Pax7*^{CreERT2}*::CD47* $^{flox/flox}$ マウスを当該施設の倫理規定に従い飼育，実験を行なった。

Tenotomy および SA モデル
マウス右後肢足首の皮膚を一部切開し同筋の協働筋である腓腹筋およびヒラメ筋の遠位腱であるアキレス腱をイソフルラン麻酔下にて約 1 ㎜切除した後に皮膚を縫合した。また，同マウス左後肢には Sham 処置として皮膚の切開および縫合のみを実施した。長期的な筋肥大効率を検証するために，アキレス腱だけでなく，腓腹筋・ヒラメ筋の 80%を切除する synergistic ablation (SA)モデルも併用した。

筋サテライト細胞由来筋線維核の同定
EdU (5-ethynyl-27-deoxyuridine; Thermo Fisher Scientific) を 0.5 mg/mL となるよう PBS に溶解し、10 mL/kg の投与容量で一日一回解剖日まで腹腔内投与した。Tenotomy 7 日目に足底筋を摘出し，切片を作成後, 添付書に従い EdU 検出を行なった。また，同時に dystrophin に対する染色と核染色も実施した。

間葉系前駆細胞由来分泌因子の同定
C57BL/6, *Pα*^{CreERT}*::Yap*$^{flox/flox}$*:: Taz*$^{flox/flox}$ マウスなどから，間葉系前駆細胞を単離し，RNA-seq 解析を行うことで，Yap/Taz 依存かつ間葉系前駆細胞由来の分泌因子を同定した。

結果
1. 筋肥大効率
間葉系前駆細胞の除去マウス，間葉系細胞特異的な Yap/Taz 欠損マウス，筋サテライト細胞特異的な CD47 欠損マウスでは，SA12 週後にそれぞれのコントロールと比較して，筋重量の増加抑制，筋線維サイズの増加抑制が観察できた。

2. 筋サテライト細胞由来筋線維核
Tenotomy 7 日目の足底筋において, sham ではほとんど検出できない EdU 陽性の筋サテライト細胞由来筋線維核が Ope 群で増加していた。しかし，間葉系前駆細胞の除去マウス，間葉系細胞特異的な Yap/Taz 欠損マウス，筋サテライト細胞特異的な CD47 欠損マウスとも，それぞれのコントロールと比較して EdU 陽性筋線維核数は顕著に抑制されていた。

3. 間葉系前駆細胞由来分泌因子
過負荷依存的に間葉系前駆細胞は沢山の分泌因子を発現することが明らかとなった。その中に

Yap により制御されている遺伝子が数多くふくまれており，さらに，Yap/Taz 欠損の間葉系前駆細胞では Tenotomy 群であっても，変動する遺伝子がコントロールと比較して激減することも観察した。さらにCD47のリガンドとして働き, Yap/Taz によりその発現が制御される Thrombospondin-1 (Thbs1) を同定した。Thbs1 の C 末端由来ペプチド (PKHB1) を用いた実験より，in vitro, in vivo において CD47 刺激は筋サテライト細胞の増殖を促進することも明らかとなった。さらに，筋サテライト細胞の静止期シグナルとして機能するカルシトニン受容体 (7-9)欠損マウスに PKHB1 を投与すると，損傷も負荷のない状態で筋サテライト細胞の増殖および筋線維核数の増加が実現できることも明らかとなった。

考察

過負荷依存的な筋サテライト細胞の増殖には間葉系前駆細胞が必須であり，間葉系前駆細胞由来 Thbs1 が筋サテライト細胞上の CD47 を刺激することでその増殖を制御していることが明らかとなった。また，間葉系前駆細胞内の Yap/Taz も必須であることから，過負荷による力学的刺激を間葉系前駆細胞が機械刺激センサーである Yap/Taz により感知しているモデルが考えられた。

結論

過負荷依存的な筋サテライト細胞増殖およびそれに伴う筋線維核数の増加，さらには筋肥大に，間葉系前駆細胞が必須である。また，骨格筋にかかる力学的負荷の変化を感知している細胞としても，間葉系前駆細胞は機能している (10)。

参考文献

1) Fukada S, Morikawa D, Yamamoto Y, et al.: Genetic background affects properties of satellite cells and mdx phenotypes.
Am. J. Pathol. 176:2414-2424. 2010

2) Fukuda S, Kaneshige A, Kaji T, et al.: Sustained expression of HeyL is critical for the proliferation of muscle stem cells in overloaded muscle.
eLife 8. pii: e48284. 2019

3) Fukada S, Akimoto T, Athanassia: Role of damage and management in muscle hypertrophy: different behaviors of muscle stem cells in regeneration and hypertrophy.
BBA-Mol Cell Res., (Review) 1867(9):118742. 2020

4) Fukada SI, Ito N. Regulation of muscle hypertrophy: Involvement of the Akt-independent pathway and satellite cells in muscle hypertrophy.
Exp Cell Res. (Review) 409(2):112907. 2021

5) Fukada SI, Nakamura A. Exercise/Resistance Training and Muscle Stem Cells. ***Endocrinol Metab*** (Seoul). (Review) 36(4):737-744. 2021

6) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H, Kurosawa T, Yoshimoto Y, Nakatani M, Hitachi K, Yamaguchi H, Wakatsuki S, Araki T, Morita M, Yamada H, Toyoda M, Kanazawa N, Nakazawa T, Hino J, Fukada SI, Tsuchida K**.** Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia.
J Clin Invest. 131(1):e139617. 2021

7) Yamaguchi M, Watanabe Y, Ohtani T, Uezumi A, Mikami N, Nakamura M, Sato T, Ikawa M, Hoshino M, Tsuchida K, Miyagoe-Suzuki Y, Tsujikawa K, Takeda S, Yamamoto H, Fukada S. Calcitonin Receptor Signaling Inhibits Muscle Stem Cells from Escaping the Quiescent State and the Niche.
Cell Rep. 13(2):302-14. 2015

8) Zhang L, Noguchi YT, Nakayama H, Kaji T, Tsujikawa K, Ikemoto-Uezumi M, Uezumi A, Okada Y, Doi T, Watanabe S, Braun T, Fujio Y, Fukada SI. The CalcR-PKA-Yap1 Axis Is Critical for Maintaining Quiescence in Muscle Stem Cells.
Cell Rep. 29(8):2154-2163.e5. 2019

9) Baghdadi MB, Castel D, Machado L, Fukada SI, Birk DE, Relaix F, Tajbakhsh S, Mourikis P. Reciprocal signalling by Notch-Collagen V-CALCR retains muscle stem cells in their niche.
Nature. 557(7707):714-718. 2018

10) Kaneshige A, Kaji T, Zhang L, Saito H, Nakamura A, Kurosawa T, Ikemoto-Uezumi M, Tsujikawa K, Seno S, Hori M, Saito Y, Matozaki T, Maehara K, Ohkawa Y, Potente M, Watanabe S, Braun T, Uezumi A, Fukada SI. Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load.
Cell Stem Cell. 29(2):265-280.e6. 2022

筋組織を標的化する核酸医薬デリバリーシステムの開発

宮田　完二郎、内藤　瑞
東京大学大学院工学系研究科
マテリアル工学専攻

緒言

筋ジストロフィーに代表される難治性筋疾患治療に向けては、疾患原因遺伝子の発現を選択的に調節することができる核酸医薬に大きな注目が集まっている。一方で、核酸医薬などの中分子医薬は、血流を通じて腎臓から速やかに排泄されるため、筋組織への集積効率が非常に低いことが課題として挙げられる。

本研究では、核酸医薬を効率良く筋組織に集積させることを目指し、核酸医薬デリバリーシステムの開発に取り組んだ。本年度は、デリバリーシステムのサイズに注目し、筋組織への集積効率が最大となるサイズを明らかにする評価に取り組んだ。すなわち、8–32 nm の範囲でサイズの異なる高分子材料(モデルデリバリーシステム)を調製し、マウスの尾静脈投与後の筋組織集積量(Area Under Curve, AUC)を比較した。

方法

モデルデリバリーシステムの合成

サイズが異なるデリバリーシステムのモデルとして、分子量の異なるポリエチレングリコール(PEG)がポリアスパラギン酸(PAsp)の側鎖に導入されたグラフト共重合体 PAsp-*g*-PEG を合成した。合成の確認は、サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)により反応前後での free PEG 量の変化を測定することで行った。また、各 PAsp-*g*-PEG を蛍光標識し、蛍光相関分光法(FCS)により流体力学径を測定した。

血中滞留性評価

各種蛍光標識 PAsp-*g*-PEG および PEG 単体(分子量 12 kDa)を正常マウス尾静脈より投与し、24, 48, 72 時間後に採血し、血液サンプルの蛍光強度を測定することで、血液中の PAsp-*g*-PEG(あるいは PEG 量)を算出した。

臓器分布

各種蛍光標識 PAsp-*g*-PEG および PEG 単体(分子量 12 kDa)を正常マウス、あるいは筋ジストロフィーモデルマウス(*mdx* マウス)の尾静脈より投与し、一定時間経過した後に、各種臓器を摘出・ホモジナイズし、組織懸濁液の蛍光強度を測定した。得られた各時間の蛍光強度値に基づいて AUC を算出した。

筋組織切片観察

蛍光標識 PAsp-*g*-PEG および PEG 単体(分子量 12 kDa)を *mdx* マウス尾静脈より投与し、48 時間後に筋組織を摘出・切片を作成し、核および細胞膜を染色した後に蛍光顕微鏡観察を行った。

結果と考察

SEC による解析から、得られた一連の PAsp-*g*-PEG は、100 量体の PAsp の側鎖カルボキシ基の 60–80% に PEG が導入されており、分子量分布が 1.3 以下の分布の狭いグラフト共重合体であることが確認された。また、FCS 解析より、各 PAsp-*g*-PEG の流体力学直径は、11 nm (分子量 2 kDa の PEG)、15 nm (分子量 5 kDa の PEG)、22 nm (分子量 12 kDa の PEG)、32 nm (分子量 20 kDa の PEG)と算出された。

各蛍光標識 PAsp-*g*-PEG を尾静脈投与したところ、投与後 96 時間後においては 10%以上が血流中を滞留していることが確認された。分子量の 12 kDa(8 nm)の PEG は投与後 24 時間以内に血中から消失したことから、PAsp-*g*-PEG の高い血中滞留性は、サイズが大きくなったことにより腎排泄を大きく抑制したためと考えられる。また、この際の閾値は、8-11 nm にあることが示唆された。

次いで、筋組織への集積量を比較したところ、8 nm の PEG はほとんど集積しなかった(< 0.1 %)一方で、一連の PAsp-*g*-PEG は～2%と相対的に高い修正量を示した。また、有意差は見られなかったものの、PAsp-*g*-PEG 同士の比較では、小さいもの程高い筋組織集積量を示すことが明らかになった。興味深いことに、PAsp-*g*-PEG の筋組織集積量は、正常マウスに比べ、*mdx* マウスでは 2–3 倍増加することが見出された。*mdx* マウスの筋組織切片観察より、PAsp-g-PEG は炎症性筋細胞を中心に集積している様子が観察されたことから、炎症性の筋組織においては、高分子量物質の透過性が大幅に亢進していることが明らかになった。

以上、本研究を通じて、11–15 nm 前後のデリバリーシステムは正常および炎症性筋組織への集積性に優れることが明らかになった。

研究課題名：疾患モデル動物を基盤とした筋ジストロフィーの新しい治療法開発
分担研究課題名：筋量制御におけるプロスタグランジンの関与
東京農工大学　工学研究院　稲田　全規

緒言

本研究の目的は、筋量制御におけるプロスタグランジンファミリー因子の機能を解析し、廃用性筋萎縮、筋ジストロフィー、サルコペニアなどの筋萎縮性疾患の治療法の開発につなげることである。プロスタグランジンである PGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2α の産生動態と機能解析を行い、筋萎縮の主因となっているプロスタグランジンを明らかにする。さらに、標的となるそれぞれのプロスタグランジンの産生阻害剤を用い、筋萎縮性疾患の治療薬開発を目指す。

検討項目：

<u>質量分析を用いた筋組織におけるプロスタグランジンの分布解析</u>

昨年度、プロスタグランジン（PGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2α）の検出法について、最適なマトリクスを用いてプロスタグランジンのイオン化最適条件の決定と質量分析イメージングへの適用条件を決定した。この測定方法を用いて、筋組織におけるプロスタグランジンの分布解析するため、下腿三頭筋および大腿四頭筋のサンプルの最適化を実施した。液体クロマトグラフィーを用いた分子カラムワークの後に、質量分析装置を用い、筋組織において産生されるプロスタグランジンとして、PGE2、PGD2、PGJ2、PGI2、PGF2αの産生を解析した。

<u>筋萎縮モデルマウスにおけるプロスタグランジンの産生動態</u>

筋萎縮モデルマウスとして、尾部懸垂マウスを用い、筋組織サンプルとして下腿三頭筋および大腿四頭筋の切片を作製した。その後、これまでに確立した MALDI-TOF-MS を用いた定量解析法を用い、筋萎縮で影響する測定ポイントの設定について、最適な条件検討を進め、筋組織におけるプロスタグランジン産生を検出・同定した。

結論

今年度、研究課題では、筋組織における PGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2α ファミリー因子の産生動態を MALDI-TOF-MS 質量分析を駆使して、その検出法の予備検討と測定を行った。これらの結果、下腿三頭筋および大腿四頭筋の切片を用い、筋組織において産生されるプロスタグランジンとして、PGE2、PGD2、PGJ2、PGI2、PGF2αの産生を解析した。また、筋萎縮におけるプロスタグランジンの産生解析では、尾部懸垂マウスにおける筋萎縮の進展に伴って、PGE2 と PGD2 が産生されることを見出した。質量分析により PGE2 と PGD2 産生細胞の解析を行ったところ、PGE2 と PGD2 の共発現が認められた。今後の詳細な検討を進めてゆく。

さらに、次年度では、筋萎縮モデルマウスにおけるプロスタグランジン阻害剤の効果を検証する。前年度までに得られた筋萎縮におけるプロスタグランジンの解析結果をもとに、標的プロスタグランジン候補の産生阻害剤を尾部懸垂マウスに投与し、筋萎縮の抑制効果を判定する。

さらに、これら同定されたプロスタグランジンの阻害剤を用いて、筋細胞分化の機能性実験を進め、将来の廃用性筋萎縮治療薬の開発につなげる。

参考文献

1. Tominari T, Ichimaru R, Taniguchi K, Yumoto A, Shirakawa M, Matsumoto C, Watanabe K, Hirata M, Itoh Y, Shiba D, Miyaura C and Inada M. Hypergravity and microgravity exhibited reversal effects on the bone and muscle mass in mice. (2019) *Sci. Rep.* 9: 6614.
2. Tominari T, Akita M, Matsumoto C, Hirata M, Yoshinouchi S, Tanaka Y, Karouji K, Itoh Y, Maruyama T, Miyaura C, Numabe Y, Inada M. Endosomal TLR3 signaling in stromal osteoblasts induces prostaglandin E2-mediated inflammatory periodontal resorption. (2022) *J. Biol. Chem.* 298:101603.

分担研究課題名：DMD に対する遺伝子細胞治療の基盤技術開発

岡田　尚巳
東京大医科学研究所
遺伝子・細胞治療センター
分子遺伝医学分野

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)に対する根治療法は未だ開発段階で薬物治療による対症療法が主であるが、AAV を用いた遺伝子治療の開発が期待される。本研究では、*mdx* マウスや筋ジストロフィー犬 $CXMD_J$ に対しマイクロ・ジストロフィン発現 AAV ベクター(AAV-μDys)を用いたマイクロ・ジストロフィン補充療法の開発を進めることを目的とする。AAV を用いた遺伝子治療において、transgene に対する免疫応答が問題となっている。この課題を克服するために、1) 固相支持担体を用いた AAV 発現培養系の構築、2) 治療遺伝子の配列最適化、3)カニクイザルでの検討、4)Exosome-AAV(Vexosome)を用いた検討を行った。

方法

1. 固相支持担体を用いて AAV 発現培養系の構築と大量精製法の開発を行った。
2. ヒトおよびイヌマイクロ・ジストロフィン配列の最適化を検討した。
3. カニクイザルに対して体性幹細胞と AAV8-LacZ を併用投与を行うため、AAV ベクターの大量精製を行った。
4. MSC 由来 Vexosome による無細胞系免疫寛容誘導の技術開発を行った。

結果

1. 接着細胞系で大量に細胞を培養し、AAV を作製する手段として、日本ポール株式会社の iCELLis Nano バイオリアクターを用いて AAV の作製を行った。また、培養上清から AAV を精製する方法の開発を行った。
2. 臨床用ベクターの規格決定に向けた取り組みとして、これまで検討を行ってきた SPc5-12 [1] に加え、CK7, 8, 9 プロモーター [2] を検討した。マイクロ・ジストロフィン配列についても、ループ構造を取りにくい配列に最適化し、発現ベクターを構築、大量精製を行い、投与実験を行う準備が整った。
3. カニクイザル成体に MSCs と AAV-LacZ を併用投与し免疫寛容を誘導する実験を行うため、AAV-LacZ を大量精製した。また、国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所で飼育中のカニクイザルの血清について、AAV 中和抗体価のスクリーニングを行った。
4. 前年度まで $CXMD_J$ に対し MSC と AAV の併用投与法を用いて免疫寛容誘導の検討を行っていた項目について、MSC 由来のエクソソームを介した miRNAs、サイトカインによる免疫寛容誘導が可能かどうかについて実験系の構築、MSC 由来エクソソームおよびベクソソームの形態観察を行った [3),4)]。

考察

1. ヒトおよびイヌにおける発現を最適化した AAV-μDys を作製し、投与実験を行うための準備が整った。
2. カニクイザルにおいて MSCs と AAV を併用投与する実験の準備が整った。
3. エクソソーム封入・結合 AAV ベクターについて、分離と定量を行った。

結論

ヒトおよびイヌ AAV-μDys の規格について検討を行い、構築、精製した。今後、これらのベクターを用いて *in vitro*, *in vivo* における発現および機能を確認し、治療用ベクターの規格を決定する。AAV ベクター投与時の免疫寛容誘導法についてはカニクイザルを用いた検討を行うが、さらに発展して MSC 由来ベクソソームを用いた無細胞系で同様の効果があるかどうかについて今後検討を行う。

参考文献

1) Li X., Eastman E. M., Schwartz R. J., et al: Synthetic muscle promoters: activities exceeding naturally occurring regulatory sequences, *Nature Biotech.*, 17:241-245, 1999
2) Hauser M. A., Robinson A., Hartigan-O'Connor D., et al: Analysis of Muscle Creatine Kinase Regulatory Elements in Recombinant Adenoviral Vectors, *Mol. Ther.*, 2:16-25, 2000
3) Matsuzaka Y., Tanihata J., Ooshima Y., Yamada D., Sekiguchi M., Miyatake S., Aoki Y.,Terumitsu M., Yashiro R., Komaki H., Ishiyama A., Oya Y., U-Inoue Y., Inoue T., Takeda S., Hashido: The nSMase2/Smpd3 gene modulates the severity of muscular dystrophy and the emotional stress response in mdx mice, BMC Medicine, 18:343, 2020
4) Matsuzaka Y, Hirai Y, Hashido K, Okada T. Therapeutic Application of Extracellular Vesicles-Capsulated Adeno-Associated Virus Vector via nSMase2/Smpd3, Satellite, and Immune Cells in Duchenne Muscular Dystrophy. Int J Mol Sci. 23(3):1551, 2022

筋ジストロフィーモデル動物の病態に基づいたアンチセンス療法の開発

越後谷　裕介
日本大学生物資源科学部 獣医学科

緒言

RNA のスプライシング制御または分解を誘導できるアンチセンス人工核酸(ASO)は、遺伝子変異が原因で発症する様々な疾患に対して有望な治療法になることが期待されている。スプライシング制御型 ASO においては、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の原因遺伝子であるジストロフィン(*DMD*)遺伝子のアミノ酸の読み枠修正(エクソン・スキッピング)を目的とした核酸医薬が上市されており、現在では異なる変異に対する ASO の開発が期待されている(1)。一方、RNA 分解型 ASO については、筋強直性ジストロフィー1 型(DM1)に対して臨床試験が実施された実績はあるが、製剤化には至っていない。ASO の実用化を促進するためには、効果的な修飾核酸の開発と共に、ASO の配列特異的な効果を効率的かつ正確に評価できるスクリーニング系の開発や、ASO の効果を適切に評価できる動物モデルとその詳細な特徴づけが必要とされる。

有効性に関わる ASO の細胞への取り込み効率は、骨格筋細胞の状態によって異なる(2)。そのため、より効果的な ASO 療法の開発には、加齢と共に変化する筋ジストロフィー骨格筋の分子・組織病態を正確に理解する必要がある(3)。特に異常伸長した CTG リピート変異が原因で発症する DM1 は、成人で発症し病態進行が緩徐であること、異常リピート数に応じて重症度が異なることが特徴として挙げられる。このような変動要因を標準化し、病態の本質的要素を抽出するためには、モデル動物を用いた詳細な研究が不可欠である。そこで本分担研究では、DMD および DM1 におけるモデル動物の開発、および加齢に伴う病態変化を解析することで、ASO 療法の開発を促進する基礎的知見を得ることを目的とした。

方法

DM1 骨格筋の加齢性病態を調べるため、FVB/N 系統を遺伝的背景に持ち、異常 CTG リピートが付加されたヒト骨格筋アクチン遺伝子が導入された DM1 モデルマウス(HSA*LR マウス)を用いた。一連の実験は、研究実施機関に設置された動物実験委員会および遺伝子組換え実験安全委員会の承認を得て実施した。2, 6, 12 および 18 ヶ月と月齢の異なる HSA*LR マウスから、麻酔下の圧迫排尿または安楽死処置時の失禁尿を採取し、尿中タイチンを Mouse Titin N-Fragment Assay Kit (株式会社免疫生物研究所)を用いて測定した。HSA*LR マウス骨格筋におけるミオトニア電位は、筋電位測定計(ニューロパック n1, 日本光電株式会社)を用いて測定した。*Dmd* エクソン 52 欠損ミニチュアブタモデルの開発は、アルバータ大学 横田俊文教授および Exemplar Genetics 社 Christopher Rogers 博士らと共同で実施した。

結果

HSA*LR マウスにおいて、尿中タイチンは雌雄共に 6、12 および 18 ヶ月齢で増加することが明らかとなった。特に 12 ヶ月齢で最も高い値が示され、18 ヶ月齢においてもコントロールの FVB/N マウスと比べて、顕著に高い値を示した。

筋電位測定では、HSA*LR マウスの筋強直の指標であるミオトニア電位(活動電位の異常延長)の簡易測定系を構築した。本測定系により、前脛骨筋、腓腹筋および大腿四頭筋の筋電位を測定したところ、ミオトニア電位は前脛骨筋および大腿四頭筋に比べて、腓腹筋において発生頻度が高く、持続時間が長いことが示された。

今年度は *Dmd* エクソン 52 欠損ミニチュアモデルブタの開発研究を論文化した(4)。本ジストロフィン欠損ミニチュアブタが、生後すぐの高い血清クレアチンキナーゼ値など、早期にジストロフィノパシー症状を呈するモデルであることを報告した。また、*in vitro* ではあるが、PMO を用いたエクソン 51 および 53 スキッピングがエクソン 52 欠損ブタ *Dmd* 遺伝子において評価可能であることを報告した。

考察

HSA*LR マウスの尿中において骨格筋由来のタイチン分解産物の上昇が初めて確認された。CTG リピートによる骨格筋変性は、ジストロフィン欠損骨格筋に比べて、患者およびモデル動物共に顕著ではないことが報告されている(5)。HSA*LR マウスの尿中タイチン値の上昇から、CTG リピートが低侵襲的に骨格筋変性を誘導し

ている可能性が示唆された。

本研究において、HSA*LR マウスにおけるミオトニア電位は腓腹筋で効率的に観察されることが示された。HSA*LR マウスを用いた病態または治療効果をミオトニア電位で評価する場合には、適切な骨格筋部位で実施する必要が示唆された。また 18 ヶ月齢の高齢 HSA*LR マウスにおいても明らかなミオトニア電位が検出されたことから、本 HSA*LR マウスは、CTG リピートが原因となる骨格筋病態と加齢の関連性を解明するための有用なモデルになる可能性が示唆された。今後は、上記測定系やモデル動物を活用し、加齢骨格筋における表現型と CTG リピートによる分子病態メカニズムの関連性を詳細に解析し、効果的なアンチセンス療法の開発を目指す。

Dmd エクソン 52 が欠損したブタモデルは他のグループからもいくつか報告されている(6)。今年度の青木班班会議でも報告されたように、静岡県畜産技術研究所の大竹 正剛先生らのグループによるジストロフィン欠損マイクロブタモデルなど、中型大型動物におけるジストロフィン欠損モデルの開発が進められ、DMD を中心に動物モデルを基盤とした新たな筋ジストロフィー研究の発展が期待される。本報告(4) は今後の DMD モデルブタの研究発展の一助になると考えられる。

結論

尿中タイチンが DM1 の代表的なモデルである HSA*LR マウス骨格筋の新たなバイオマーカーになることが示唆された。また、本研究において HSA*LR マウスのミオトニア放電を検出するための簡易の筋電位測定系を構築し、本モデルが加齢に伴う筋強直症状の解析に有用である可能性を示した。

参考文献

1. Takeda S, Clemens PR, & Hoffman EP (2021) Exon-Skipping in Duchenne Muscular Dystrophy. *J Neuromuscul Dis*.
2. Aoki Y*, et al.* (2013) Highly efficient in vivo delivery of PMO into regenerating myotubes and rescue in laminin-alpha2 chain-null congenital muscular dystrophy mice. *Hum Mol Genet* 22(24):4914-4928.
3. Echigoya Y*, et al.* (2013) Mutation types and aging differently affect revertant fiber expansion in dystrophic mdx and mdx52 mice. *PloS one* 8(7):e69194.
4. Echigoya Y*, et al.* (2021) A Dystrophin Exon-52 Deleted Miniature Pig Model of Duchenne Muscular Dystrophy and Evaluation of Exon Skipping. *International journal of molecular sciences* 22(23).
5. Mankodi A*, et al.* (2000) Myotonic dystrophy in transgenic mice expressing an expanded CUG repeat. *Science (New York, N.Y.)* 289(5485):1769-1773.
6. Yu X, Bao B, Echigoya Y, & Yokota T (2015) Dystrophin-deficient large animal models: translational research and exon skipping. *American journal of translational research* 7(8):1314-1331.

糖鎖の修飾機序の解明と生理活性の治療応用

金川　基
愛媛大学大学院医学系研究科

緒言

福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）は、重度の筋ジストロフィーに加え、脳奇形や精神発達遅滞等の中枢神経障害、心筋症を伴う常染色体性劣性遺伝性疾患で、フクチン遺伝子の変異によって発症する。FCMD では基底膜ラミニンの受容体であるジストログリカン（DG）の糖鎖に異常が生じている。同様の糖鎖異常を示す筋ジストロフィーも世界的にみられ、DG 異常症と総称される。分担者らは、DG 糖鎖にはリビトールリン酸という修飾体が含まれており、フクチンは糖鎖にリビトールリン酸を組み込む酵素、DG 異常症遺伝子のひとつ ISPD はリビトールリン酸の糖鎖前駆体 CDP-リビトールの合成酵素であることを解明した(1)。つまり、リビトールリン酸糖鎖の欠落によって、ラミニン結合性の糖鎖が伸長できず、基底膜－細胞膜の連携が破綻することが発症要因となる。本分担課題においては、糖鎖修飾の分子機序に着目し、糖鎖異常の解消を基盤とする DG 異常症の治療法を開発する。

方法

DG 異常症、特に ISPD 欠損型に対する治療法の開発を目指し、ISPD 酵素反応に基づく糖鎖補充療法の基礎研究を実施する。具体的には、①ISPD 欠損および点変異マウスを作出し、②CDP-リビトール補充療法およびリビトール補充療法の有効性を明らかにする。ISPD はリビトール 5 リン酸から CDP-リビトールを合成する酵素である。従って、ISPD 欠損型には CDP-リビトールの補充が有効と考えられる。また、リビトール 5 リン酸への親和性が低下するような病原性変異体では、リビトール 5 リン酸の投与も有効と考えられる。本計画では、ISPD の骨格筋特異的 conditional KO （cKO）マウスと点変異のゲノム編集マウスを作出し、その病態を解析する。次いで、これらのマウスへの CDP-リビトールやリビトール 5 リン酸の投与で治療効果が認められるか検証する。

結果

本年度は、骨格筋選択的な ISPD-cKO マウスを用いて CDP-リビトール補充療法を検証した。ISPD-cKO マウスは、筋組織内 CDP-リビトール量の低下と DG 糖鎖異常をみとめ、典型的な筋ジストロフィー病変を示した(2)。発症後の ISPD-cKO マウスにアデノ随伴ウイルスベクターを用いて正常 ISPD 遺伝子を発現させたところ、CDP-リビトール量と糖鎖の回復が認められ、筋病変も劇的に改善した(2)。この結果は、治療後の介入であっても ISPD 欠損型 DG 異常症は治療可能であることを示唆しているとともに、CDP-リビトール補充療法が有効であることも示唆された。

そこで、CDP-リビトールを筋組織内に送達するために、プロドラッグ化した CDP-リビトール誘導体を合成し、糖鎖回復を指標にしたプロドラッグ活性と毒性の点から治療に有効と考えられるテトラアセチル型 CDP-リビトールを選択した。テトラアセチル型を 3 週にわたり連続投与したところ、部分的ではあるが糖鎖の回復が認められ、筋病変も有意に改善した(2)。以上の結果から、CDP-リビトール補充療法の有効性が示唆された。

考察

CDP-リビトール補充療法はどのような ISPD 変異であっても適応可能であり、また、フクチン（福山型）や FKRP（肢帯型 2I）など CDP-リビトールを基質として用いる酵素に対しても、変異の種によっては残存酵素活性を増強させ治療につながることが考えられる。一方で、プロドラッグとしては更なる改良を加え、低用量で治療効果を発揮する誘導体を開発する必要がある。

結論

ISPD 欠損型筋ジストロフィーに対する CDP-リビトール補充療法の有効性を実証した。

参考文献

(1) Kanagawa, M., et al. Identification of a post-translational modification with ribitol-phosphate and its defect in muscular dystrophy. Cell Rep. 14, 2209-2223 (2016).
(2) Tokuoka, et al. CDP-ribitol prodrug treatment ameliorates ISPD-deficient muscular dystrophy mouse model. Nat Commun. 13, 1847 (2022)

ジストロフィン欠損モデル動物における Ca^{2+}依存性 STAC3 および JP1 の分解

山田　崇史
札幌医科大学

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）に伴う筋力低下には，ジヒドロピリジン受容体（DHPR）からリアノジン受容体（RyR）への興奮収縮連関不全を要因とした，筋小胞体からの Ca^{2+}放出量の低下が関与する．しかしながら，DMD 筋において，DHPR-RyR の連関不全が，どのような分子メカニズムで生じているかは不明である．また，筋が引き伸ばされながら収縮する伸張性収縮（ECC）は，筋に強い機械的負荷が加わる収縮様式として知られており， DMD 筋では，ECC に対する感受性が増大することが報告されている (Allen *et al.*, 2016)．そこで本研究では，DMD モデル動物である mdx52 ならびに DMD-null/NSG マウスを用い，骨格筋の興奮収縮連関機能に重要な役割を果たす SH3 and cysteine-rich domain 3（STAC3）および junctophilin 1（JP1）に焦点をあて，DMD に伴う筋力低下や ECC に対する脆弱性亢進のメカニズムを検討した．

方法

本研究は，札幌医科大学動物実験委員会の承認を受け実施した（承認番号：20-084）．実験には，8-11 週齢の野生型 C57BL/6J（WT，n=8）および mdx52 マウス（n=8），NSG（n=6）および DMD-null/NSG（n=6）を用いた．マウスの飼育は，12 時間の明暗サイクルの照明下で室温 24 ± 2℃を常時維持した飼育室にて行い，水および試料は自由摂取とした．

麻酔下にてマウスを背臥位とし，予め剃毛した左後肢を小動物用トルク測定器（竹井機器工業社製）に，足関節角度が底背屈 0 度となるように固定した (Yamada *et al.*, 2021)．その後，表面電極を下腿後面と下腿内側面の皮膚上から下腿三頭筋を挟むように貼付した．等尺性収縮トルクは，最大上刺激強度（45V），パルス幅 0.5 ms の電気刺激を，1-200 Hz の刺激頻度で 600 ms 間負荷することで測定した. 一方，ECC トルクは，最大上刺激強度（45Ｖ）の電気刺激をパルス幅 0.5 ms，刺激頻度 50 Hz で与えると同時に，足底板と連結したモーターによって，マウスの足関節を角速度 150°/s で背屈させることで測定した(Himori *et al.*, 2021). なお, 関節の運動範囲は，底背屈 0°から背屈 40°とし，4 秒おきに 100 回の ECC を負荷した．

結果

1. ジストロフィン欠損筋における等尺性トルクの低下とカルパイン活性化を伴う STAC3/JP1 の分解

WT マウスに比べ，mdx52 マウスでは，ISO トルクの著しい低下が認められた．また，mdx52 マウス骨格筋における機能障害は，カルパイン 1 の活性化と, STAC3 および JP1 の減少を伴っていた. さらに，DMD-null/NSG マウスにおいても，mdx52 マウスと同様の変化が観察された．

2. ジストロフィン欠損筋における DHPR からの STAC3/JP1 の解離

免疫沈降法を用いた検討の結果，mdx52 ならびに DMD-null/NSG の骨格筋では，DHPR からの STAC3/JP1 の解離が生じることが明らかとなった．

3. Ca^{2+}依存性の STAC3/JP1 の分解

STAC3/JP1 が Ca^{2+}依存性の分解を受けるかどうかを, in vitro の系で検討した. NSG マウス骨格筋では，0.1 μM 以上の Ca^{2+}溶液に 60 分間曝露することで，STAC3 の分解が生じた．一方，DMD-null/NSG マウスの骨格筋においても Ca^{2+}依存性の STAC3 分解が観察されたが，それは 20 μM 以上の Ca^{2+}溶液において生じた．また，JP1 に関しても同様の傾向が認められ，NSG マウス骨格筋では 0.2 μM 以上の Ca^{2+}溶液で，一方，DMD-null/NSG マウスの骨格筋では，2.5 μM 以上の Ca^{2+}溶液において分解が生じた．

ジストロフィン欠損筋において，Ca^{2+}依存性の STAC3/JP1 の分解が抑制されるメカニズムを検討するために，内因性のカルパイン抑制物質である calpastatin の発現量を測定したところ，NSG に比べ DMD-null/NSG において約 2 倍の発現量増大が認められた．

4.ジストロフィン欠損筋における伸張性収縮（ECC）による Ca^{2+}依存性の STAC3/JP1 の分解促進

DMD-null/NSG の骨格筋では, NSG 骨格筋に比べ，ECC 中のトルクが急激に低下した．また，ECC 負荷

後 3 時間における等尺性トルクは，NSG に比べ DMD-null/NSG において顕著に減少し，それは，Evans blue day 陽性線維数の増大，カルパイン 1 の活性化増大，DHPR, STAC3, JP1 の発現量低下を伴っていた．

考察

この 20 年ほどの間に，STAC3 ならびに JP1 が，DHPR と RyR との機能連関を担う重要なタンパク質であることが示され，興奮収縮連関の理解が大きく前進した(Ito *et al.*, 2001; Horstick *et al.*, 2013)．本研究の結果，安静時のジストロフィン欠損筋において，STAC3 および JP1 の減少や，STAC3/JP1 の DHPR からの解離が認められたことから，これが DHPR と RyR の連関不全や，それを原因とする筋小胞体からの Ca^{2+}放出量の低下に寄与することが示唆された．また，in vitro の実験系において，STAC3 および JP1 が Ca^{2+}依存性タンパク分解酵素であるカルパインの基質となることが示された．一方，ジストロフィン欠損筋では，内因性のカルパイン抑制物質である calpastatin の増加により，カルパイン依存性の分解を受けにくくなることが示唆された．さらに，ジストロフィン欠損筋における ECC に対する脆弱性にも，細胞外からの Ca^{2+}流入によるカルパイン依存性の STAC3/JP1 の分解が関与することが示された．

結論

本研究では，２つの系統の DMD モデルマウスを用い，ジストロフィン欠損筋における Ca^{2+}/カルパイン依存性の STAC3/JP1 分解が，安静時の興奮収縮連関障害，ひいては筋力低下に寄与することを明らかにした．また，ジストロフィン欠損筋における ECC に対する脆弱性の亢進にも，これらの経路の活性化が関与することが示された．

参考文献

Allen DG, Whitehead NP & Froehner SC. (2016). Absence of Dystrophin Disrupts Skeletal Muscle Signaling: Roles of Ca2+, Reactive Oxygen Species, and Nitric Oxide in the Development of Muscular Dystrophy. *Physiol Rev* **96,** 253-305.

Himori K, Ashida Y, Tatebayashi D, Abe M, Saito Y, Chikenji T, Westerblad H, Andersson DC & Yamada T. (2021). Eccentric Resistance Training Ameliorates Muscle Weakness in a Mouse Model of Idiopathic Inflammatory Myopathies. *Arthritis Rheumatol* **73,** 848-857.

Horstick EJ, Linsley JW, Dowling JJ, Hauser MA, McDonald KK, Ashley-Koch A, Saint-Amant L, Satish A, Cui WW, Zhou W, Sprague SM, Stamm DS, Powell CM, Speer MC, Franzini-Armstrong C, Hirata H & Kuwada JY. (2013). Stac3 is a component of the excitation-contraction coupling machinery and mutated in Native American myopathy. *Nat Commun* **4,** 1952.

Ito K, Komazaki S, Sasamoto K, Yoshida M, Nishi M, Kitamura K & Takeshima H. (2001). Deficiency of triad junction and contraction in mutant skeletal muscle lacking junctophilin type 1. *J Cell Biol* **154,** 1059-1067.

Yamada T, Kimura I, Ashida Y, Tamai K, Fusagawa H, Tohse N, Westerblad H, Andersson DC & Sato T. (2021). Larger improvements in fatigue resistance and mitochondrial function with high- than with low-intensity contractions during interval training of mouse skeletal muscle. *Faseb j* **35,** e21988.

DMD 遺伝子エクソン 3-9 スキップ治療の開発と BMD モデルマウスの作製

中村　昭則
国立病院機構まつもと医療センター
臨床研究部、脳神経内科

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー（DMD）は、DMD 遺伝子変異によりジストロフィンが欠損する致死性筋疾患である。DMD 遺伝子変異の約 10%が exon 3~7 の領域に集積しており、この領域内に変異を有する DMD に対し、exon 3-9 skip 治療が有望な治療法になる可能性について検討する。

また、BMD の重症度は遺伝子変異により異なることが分かってきたが、ジストロフィンの構造、機能、発現量の違いによるものか否かについて未だ明らかになってはいない。この検証は患者で行うことが困難であるため、ヒトで軽症や重症の遺伝子変異を持つ BMD モデルマウスを作製し、重症化メカニズムを解明する。

方法

1. *DMD* exon 3-9 スキップ治療の開発

令和 2 年度では理研 BRD から入手した健常者の iPS 細胞を用いゲノム編集により DMD の表現型を示す exon 3-7 欠失型及び exon 3-9 欠失型 iPS 細胞を作製した。本年度はこれらの iPS 細胞から分化誘導した骨格筋、心筋細胞について①両欠失型の RNAseq による網羅的遺伝子発現解析、②exon 3-7 欠失型細胞に対してアンチセンス核酸（AO）およびゲノム編集による exon 8, 9 skip 治療の治療効果の比較および exon 3-9 skip 治療の有効性について検討した。

2. BMD モデルマウスの作製

BMD 自然歴調査研究（MDCTN プロジェクト研究、AMED 難治性疾患実用化研究）の結果から、BMD では遺伝子型により、骨格筋、呼吸、心臓、中枢神経機能に違いが見られることが明らかになった。特に発生頻度の高い変異の中で exon 45-49 欠失は重症、exon 45-47 欠失は中等症、exon 45-48 欠失は軽症、exon 45-55 欠失は最軽症であったことから、各々のモデルマウスをゲノム編集により作製を行い、その表現型について解析した。

結果

1. *DMD* exon 3-9 スキップ治療の開発

RNA-Seq による網羅的遺伝子解析による exon 3-7 欠失（DMD 型）と exon 3-9 欠失（BMD 型）の比較では axon guidance、splicesome などの遺伝子群の発現が増加していた一方で、cAMP signaling pathway、regulation of actin pathway などの遺伝子群の発現が低下していた。また、exon 3-7 欠失型心筋細胞に対し、exon 8, 9 の skip を誘導する PMO により量依存性にジストロフィンの発現回復を認めた。

2. BMD モデルマウスの作製

exon 45-47 欠失および exon 45-48 欠失マウスの作製に成功した。4 週齢で解析した結果、体重は野生型と同じで、mdx に比して有意に軽量であった。一方、上肢筋力は強い順から野生型、exon 45-48 欠失、exon 45-47 欠失、mdx であった。筋病理は中心核線維数、大小不同、間質の細胞浸潤は mdx、exon 45-45 欠失、exon 45-48 欠失で目立っていた。

考察

1. *DMD* exon 3-9 スキップ治療の開発

Exon 3-9 skip 治療はゲノム編集で作製した iPS モデル細胞を対照にして PMO による改善効果の検討が可能とする基盤ができた。このモデルを用いて治療後の機能的および遺伝子発現レベルでの検討を行うことが可能と考えている。

2. BMD モデルマウスの作製

各種の変異を有する BMD モデルマウスの作製に成功した。ヒト BMD の表現型の再現性を確認した上で重症化メカニズムを解明するとともに、臨床への応用とエクソン・スキップ治療を含めた治療法開発研究を行いたいと考えている。

参考文献

1. Nakamura A., et al. Deletion of exons 3-9 encompassing a mutational hot spot in the DMD gene presents an asymptomatic phenotype, indicating a target region for multiexon skipping therapy. J Hum Genet 2016; 61:663-7.
2. Kyrychenko V., et al. Functional correction of dystrophin actin binding domain mutations by genome editing JCI Insight 2017; 2(18):e95918.

筋ジストロフィー関連モデルマウスの生産・供給システムの検討

保田 昌彦

公益財団法人実験動物中央研究所

緒言

筋ジストロフィーの要因究明や治療研究のために、我々は継続して、筋ジストロフィー関連モデルマ動物ならびにそのコントロール系統を微生物学的および遺伝学的統御のもとで維持し、研究班をはじめとする多くの研究グループに供給してきた。また、筋ジストロフィー研究に適したモデルマウスの育成を目的に育種繁殖技術ならびに生殖工学技術の開発に努め、これらの技術を応用した実験動物学的改良を行ってきた。

1 として、より高い精度と再現性を得られる動物実験のために維持動物の品質管理を継続的に実施してきた。2 として、モデルマウスおよびコントロール系統マウスを永続的に維持し、国内研究機関へ継続的な供給を行った。3 として、既存モデルマウスの背景系統の改良ならびに置換、新規モデルマウスの作出を行った。

方法・結果

維持動物の品質管理

維持動物の品質管理のため、ビニールアイソレーター（VI）装置内で管理している維持動物の定期的な微生物学的および遺伝学的なモニタリング検査を定期的に継続的に実施している。令和 3 年度も微生物モニタリングは、VI あたり 1 ヶ月もしくは 3 ヶ月に 1 回の頻度で、実中研 ICLAS モニタリングセンターの全検査項目の検査を実施し、全項目陰性であることを確認した。遺伝モニタリングは、年 1 回もしくは 2-3 世代に 1 回の頻度で、STR マーカーによる遺伝的プロファイルを作成し、遺伝学的品質が守られていることを確認した。

2. 筋ジストロフィーモデルマウスの維持とタネ動物の供給

我々は、筋ジストロフィー関連モデルマウスの C57BL/6J (B6)-*dy*、C57BL/10ScSn-*mdx* (B10-*mdx*)、B10-*mdx*.utrophin KO、NOG-*mdx*、DBA/2N (D2)-*mdx* およびこれらのコントロール系統マウスを VI 内での交配ならびに胚の凍結保存によって維持し、原則として繁殖用タネ動物を当班員もしくは外部研究者の要望に応じて供給してきた。令和 3 年の供給実績は、国内 24 機関に 109 回供給し、B10-*mdx* を 933 匹、B10 を 40 匹、NOG-*mdx* を 10 匹等の累計 983 匹を分与・供給した。

3. 筋ジストロフィーモデルマウスの管理・供給体制の確立と新規モデルマウスの作出

モデルマウス供給数増加に対応するため、B10-*mdx* マウスの生産を実中研から日本クレア株式会社に移管した。また B10-*mdx* のコントロール系統の改良のため、C57BL/10ScN と B10 (C57BL/10ScSn)-*mdx* との戻し交配を 8 回実施し、*Tlr4* 変異および *mdx* を排除した B10-*mdx* の背景コントロール系統として C57BL/10ScSnJic を樹立した。加えて、B10-*mdx* の背景系統を C57BL/6JJcl に置き換えた C57BL/6J-*mdx*/Jic を新たに樹立した。

再生医療研究により有用な筋ジストロフィー・モデル動物を作出することを目的として、筋ジストロフィーの免疫不全モデルである NOG-*mdx* (1) に加え、筋力低下を呈する D2-*mdx* を背景とした免疫不全モデル DBA/2N-*mdx*-IL-2RgKO,RAG2KO 系統を樹立し、頒布のための準備に取り掛かった。

考察・結論

筋ジストロフィーモデル動物の品質管理については、高い水準の微生物・遺伝モニタリング検査を定期的に実施することで、再現性あるモデル動物を研究班の班員を含めた筋ジストロフィー研究者に継続的に供給し、再生医療を含めた筋ジストロフィー治療の基礎研究に寄与することができた。その供給実績は、機関数および匹数ともに過去最多であった。近年の特徴として国内製薬メーカーへの供給数の増加が挙げられる。維持しているモデル動物について、既存の B10-*mdx* の背景コントロール系統の改良ならびに B6J 系統への置換を実施し、モデルマウスの遺伝的な信頼性の強化に努めた。また新規免疫不全モデルである DBA/2N-*mdx*-IL-2RgKO,RAG2KO 系統を樹立し、筋ジストロフィーの再生医療等研究に寄与するための供給体制整備を開始した。

参考文献

1) Nalbandian M, Zhao M, Sasaki-Honda M, Jonouchi T, Lucena-Cacace A, Mizusawa T, Yasuda M, Yoshida Y, Hotta A, Sakurai H. Characterization of hiPSC-derived muscle progenitors reveals distinctive markers for myogenic cell purification toward cell therapy. Stem Cell Reports, 16: 1-16, 2021.

筋ジストロフィー医療に対するアンケート調査について

貝谷 久宣
一般社団法人 日本筋ジストロフィー協会

【研究協力者】
矢澤 健司[1)]、貝谷 嘉洋[2)]、池上 香織[1)]、川﨑 奈緒子[3)]
1）一般社団法人 日本筋ジストロフィー協会
2）NPO 法人 日本バリアフリー協会
3）医療法人和楽会 心療内科・神経科 赤坂クリニック

【緒言】

(社)日本筋ジストロフィー協会は、「一日も早く」をスローガンとして、筋ジストロフィーの根治療法の実現を願い活動している。本研究班における我々の主な任務は、遺伝子治療をはじめとする本研究班の成果が実現するための社会的環境を作ることである。

【はじめに】

日本筋ジストロフィー協会は、精神・神経疾患研究開発費の助成を受けて、平成 4 年から 3 年毎に筋ジストロフィー患者・家族を対象としたアンケート調査を実施している。患者・家族の視点から、遺伝子治療の現状を把握し、遺伝子治療などの先進医療に対するニーズや期待の一端を明らかにすることを目的として、同様の内容で改訂を加えながら継続的に調査している。

筋ジストロフィーの遺伝子治療をめぐる状況は、近年めまぐるしく変化してきている。患者や家族の意識の変遷を定期的に調査・記録することは、現在の課題の抽出に加えて、将来、遺伝子医療が社会に与えた影響について考察する際に重要な示唆を与えるデータとなり得る。

筋ジストロフィー協会会員の多くの皆様にご協力を頂きながら、今回で 10 回目となる遺伝子医療アンケート調査の集計結果を報告する。

【方法】

対象：日本筋ジストロフィー協会に属する患者・家族 1,500 世帯
対象者の抽出方法：支部長（36 支部）に委任
アンケート形式：無記名、自記式、郵送
1 世帯に 1 部配布（患者用／家族用の区別なし）
回収期間：令和 2 年 6 月 5 日～7 月 31 日
回答率：670 部を回収（44.7%）
質問内容：基本的属性（14 問）、遺伝子検査について（4 問）、遺伝子治療による改善効果への期待について（1 問）、治験への参加に関する検討事項について（7 問）、遺伝子治療への関心（2 問）

【結果と考察】

本調査の結果、患者 290 名（18～85 歳、平均年齢 48±15 歳）、家族 374 名（19～83 歳、平均年齢 50±12 歳）の回答が得られた。患者は 40～50 歳代が多く、前回（平成 29 年時）の調査と比較すると年齢層は上がっていた。一方で家族は 40 歳代が多く、前回より年齢層が下がっていた。病型は患者・家族ともにデュシェンヌ型筋ジストロフィーが最も多く（患者 22%、家族 47%）、次いで患者は肢体型、家族は福山型が多く、これは前回とほぼ同じ結果となった。また、患者・家族ともに在宅者が 8 割以上で、前回よりも在宅者の割合が増加していた。

遺伝子検査に関する知識について、遺伝子検査で診断できる筋ジストロフィーがあることを「知っている」と回答した者は患者・家族とも 8 割以上と高い割合で、ともに年々増加しており、遺伝子検査に関する知識の広まりが確認された。「筋ジストロフィ

一の医療において遺伝子検査は必要だと思いますか」という問いに対して、「はい」と回答した者は患者 80%、家族 86%であり、前回とほぼ同程度であった。「遺伝子検査を受けたことがあるか」に対しては、「はい」と答えた者は患者 59%、家族（介護している患者が受けたことがあるかと質問）74%と前回よりやや増加しており、多くの人が遺伝子検査の必要性を感じ、検査も受けていることが示唆された。

遺伝子治療に関して、最低限どの程度の治療効果があれば治療を受けるかという質問に対して、患者・家族ともに最も多かった回答は「自覚症状は改善しなくても、検査により治療による改善が示され、進行が止まること」（患者 23%、家族 36%）であった。その他、検査による治療効果の証明、特に運動機能の改善を求める声が多く、病状の進行阻止への期待が高いことが示唆された。

治験参加を判断するための情報源としては、日本筋ジストロフィー協会（患者・家族含め全体の 36%）や Remudy（18%）の利用者が多かった。治験参加に関する検討事項に関して、5 件法の調査の結果、治験に関する詳細情報は全体の 8 割以上が「是非／少し欲しい」と回答し、治験に関する詳細情報の必要性が認められた。一方、治験に関する募集情報が入手出来ているかどうかは、患者や家族・病型・登録先によらず、ほぼ全ての群で「全く／あまり入手していない」と回答する者が 6 割を超し、情報不足と感じている者が多いことが示唆された。

治験薬単回投与後の通院頻度により参加懸念に差があるかどうかを調査したところ、「全く／あまり懸念がない」と回答したのは「毎月」が 45%、「3 か月に 1 回」が 56%となり、通院頻度がより少なく済む方が治験参加しやすい可能性が示唆された。そのため、将来は通院頻度の少なくて済む治療（例えばウェアラブルデバイス等）の導入も期待される。

遺伝子治療への関心について、5 件法での調査によると、患者・家族とも筋ジストロフィーの遺伝子治療を「是非受けたい／受けたい」と回答した者は 6 割近く、研究の発展や効果への期待の声が散見された。一方、「どちらともいえない」が約 3 割、「絶対に受けたくない／受けたくない」が 1 割弱であった。自由回答も踏まえると、遺伝子治療に対して否定的または懸案が必要と考える理由として、患者・家族ともに遺伝子治療の効果、費用、副作用、進歩や成果に関する疑問や心配が多く挙がり、高齢者または幼児への治療の安全性、通院や介護の負担に対する懸念、情報不足・理解が追い付いていないこと等も挙がった。また、倫理的な観点や、本人が治療の意思決定を出来ない場合に家族の選択が難しいという懸念、治験に参加することで将来遺伝子治療が受けられなくならないかという疑問も見受けられた。それらの情報提供を患者や家族が求めていることが明らかとなった。

【結論】

本調査の結果から、筋ジストロフィーの患者・家族ともに、遺伝子治療をはじめとする先進医療への関心が総じて高く、基本的には遺伝子診断・治療の普及と発展が期待されていることが確認出来た。しかし、遺伝子治療に関する疑問・不安は未だに多くみられるため、遺伝子治療における費用や副作用、進歩や成果、安全性など先進医療に関する情報を、今後さらに提供していく必要がある。また、検査や治療法の発展とともに、患者・家族の身体的・精神的な負担軽減への対策（通院頻度の軽減、治療の選択判断指標の考慮、倫理的な配慮等）を検討していく必要性も示唆された。

今後も引き続き、筋ジストロフィーの治療発展のため、定期的な調査によって患者・家族の意見や動向、ニーズを調査する必要があると考える。さらにピアカウンセラー養成講座や教育講義のように、専門の医師から最新の情報を得る機会や、筋ジストロフィーの当事者やその家族が集まり、生活の様子について情報を共有し、意見を交わす場を設けることは、各個人が症状や治療にどのように向き合っていけばいいのか考えるきっかけとなる上、患者や家族が今後の選択・意思決定をする際の考慮に入れる材料を得る機会となり、有効な取り組みであると考える。

【参考文献】

なし

リン脂質組成による筋機能調節に関する研究

進藤　英雄
国立国際医療研究センター

緒言

生体膜リン脂質はグリセロール骨格に一つの極性基と二種の脂肪酸が結合している。脂肪酸は結合様式や炭素数、二重結合数が様々で組み合わせから１０００種程度のリン脂質が存在する。これらは各組織機能に影響すると考えられているが、分子レベルでの研究は未解決である。また、膜成分だけでなくリン脂質メディエーター、その貯蔵、他にも肺サーファクタント成分など様々な役割がある。

多様なリン脂質の生合成最終ステップを担う酵素はリゾリン脂質アシル転移酵素であり、近年１３種同定された。我々は８種同定し欠損マウスも複数保有している。骨格筋機能やDuchenne muscular dystrophyなどの筋疾患とリン脂質組成の関連を研究できる。

今回、１４種のリゾリン脂質アシル転移酵素の構造予測を行った。基質であるアシルCoAとの結合ポケットも予測した。また、リゾリン脂質アシル転移酵素は重複があり混乱を招いている。新たな名称提案も行った。

方法

リゾリン脂質アシル転移酵素の配列情報からAlphaFold2を用いて予測を行った。既知のリゾリン脂質アシル転移酵素ホモログ構造との比較も行った。

結果

AlphaFold2より、１４種の酵素の膜貫通領域、膜表在性領域などがわかった。２つのファミリーのうち、AGPATファミリーは０から２、MBOATファミリーは１１回膜貫通領域があった。それぞれ活性に必須な、AGPAT motifとMBOAT motifの場所も確認され、基質（アシルCoA）との結合部位を囲っているような配置と予測できた。

考察

今回、構造予測ではあるが１４種のリゾリン脂質アシル転移酵素の基質結合部位や膜貫通領域などが明らかとなった。また、構造情報の更新は、今後の阻害剤探索に有益である。本論文改訂中LPLAT12(LPCAT3)の構造解明論文が別のグループから発表された。私たちの予測と基質のアクセスする向きが逆であったが、おおよその構造はほぼ一致していた。AlphaFold2により、精度良く構造予測できた。

酵素名提案では、(i)LPLATx (xは番号)とし、基質情報を含まない、(ii) xは酵素活性を示した論文が発表された順番にする、(iii) AGPATとMBOATファミリーに属する酵素の名前とする、の３種のクライテリアを決めた。酵素名が異分野の研究者にもわかりやすくなった。

結論

リゾリン脂質アシル転移酵素の構造予測から基質結合ポケットや膜貫通領域を予測し、今後阻害剤開発に有益な情報となった。今後、筋組織における膜リン脂質生合成解析にも貢献できる。

参考文献

Valentine, WJ, Yanagida, K., Kawana, H., Kono, N., Noda-N, N., Aoki, J., **Shindou, H.**. Update and nomenclature proposal for mammalian lysophospholipid acyltransferases which create membrane phospholipid diversity. ***J. Biol. Chem.*** 2022 Jan;298(1):101470. doi: 10.1016/j.jbc.2021.101470.

エクソンスキッピングのためのアンチセンス核酸データベースの構築およびスキッピング予測に関する研究

千葉　峻太朗
理化学研究所

緒言

スプライシング制御（エクソンスキッピング）を利用した疾患の治療のためのアンチセンス核酸は、新しい創薬モダリティとして期待されている。スキップの対象とする mRNA 前駆体上のエクソンを、効率よくスキップさせるアンチセンス核酸の標的部位や長さは、通常、網羅的な実験によって決定されている。そこで、本研究では、この網羅的実験による開発期間とコストの増大を抑制するため、高効率アンチセンス核酸のデザインを補助する計算ツールおよびデータベース構築を行っている。すでに、予測モデルとデータベースをウェブサーバーに実装・公開（https://eskip-finder.org）するとともに、論文としても公開した [1]。この予測モデルは、比較的少数の実験データに基づき構築した。現在は、予測モデルを様々な遺伝子のスキップ効率予測に対して適用するために、学習データの拡充を行っている。

結果

論文及び特許などの文献からエクソンスキッピングに関連する情報を収集およびマニュアルキュレーションすることで、配列情報、スキップ効率、実験条件などをデータベースとしてまとめた（表１）。今回の更新によって、エントリー数が約 11,000、固有アンチセンス核酸の配列数が約 4,300 となった。前回更新時（2021 年 4 月、エントリー数：約 6,000、固有配列数：約 2,200）と比較して大幅に情報を拡充することができた。このデータは、ウェブサーバー上で公開されている。また、データベース更新に加えて、インターフェースの改善も実施した。

結論

本研究で公開したエクソンスキッピングのためのアンチセンス核酸データベースおよびアンチセンス核酸デザインのための予測ツールが、エクソンスキッピングの研究開発を加速するために有用であると期待している。現在もデータベースに収載すべき特許などの文献から情報抽出を継続しており、より多様な遺伝子、スキップデータを登録する予定である。今回の更新までに、データベースに多くの遺伝子のスキップ効率の情報が蓄積されたため、今後は複数の遺伝子の情報も学習に取り組むことで、予測モデルの適用範囲を広げていきたい。

参考文献

1. S. Chiba, K. Lim, N. Sheri, S. Anwar, E. Erkut, M.N.A. Shah, T. Aslesh, S. Woo, O. Sheikh, R. Maruyama, H. Takano, K. Kunitake, B. Duddy, Y. Okuno, Y. Aoki, T. Yokota, eSkip-Finder: a machine learning-based web application and database to identify the optimal sequences of antisense oligonucleotides for exon skipping, Nucleic Acids Res (2021) 49, W193.

表１. データベース登録済みのスキップ効率のデータ数および固有配列数（2021 年 11 月 25 日現在。）

Available genes					
DMD, MSTN, DYSF, SCN1, COL7A1, LAMA2, MAPT, USH2A, DMPK, MS4A2, ATM, ALK2/ACVR1, NF1, PMM2, NPC1, NF2, MLC1, MFSD8					
# of skipping data (# of unique sequence of ASOs)					
DMD	MSTN	DYSF	SCN1	COL7A1	LAMA2
10076 (3829)	795 (276)	112 (69)	143 (49)	42 (14)	25 (23)
MAPT	USH2A	DMPK	MS4A2	ATM	ALK2/ACVR1
18 (13)	10 (3)	48 (21)	4 (2)	4 (4)	4 (1)
NF1	PMM2	NPC1	NF2	MLC1	MFSD8
3 (3)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)

Development of Molecular Therapies for Muscular Dystrophy using cellular and animal models

Principal Investigator: Yoshitsugu Aoki, MD, PhD

Director, Department of Molecular Therapy, National Institute of Neuroscience
National Center of Neurology and Psychiatry

Project period: FY2020-FY2022

Human genetic therapies have come of age in curing rare neuromuscular diseases. The nationwide research group aims to better understand and improve the treatment of fatal and currently untreatable muscular dystrophies, including Duchenne muscular dystrophy (DMD). We are dedicated to elucidating the molecular pathogenesis of muscular dystrophies, especially Duchenne muscular dystrophy, and the development of advanced gene- and stem cell-based therapeutics for the diseases. For this purpose, we integrate molecular, pharmacologic, proteomic, and genomic methodologies using various types of unique animal models, including dystrophic dogs, mice, rats, and common marmosets. We are combating these diseases through research aimed at implementing promising novel therapeutic strategies, including oligonucleotide-based exon-skipping therapy and mesenchymal stem cell therapy, into clinical practice. One of the significant achievements of our research group is a successful completion of our antisense oligonucleotide-based exon 44-skipping drug, NS-089/NCNP-02, for DMD in Japan. In the trial, we succeeded first in the world in recovering the expression of human dystrophin protein over on average 15%, and attained results suggesting sufficient efficacy for motor function. Moreover, we have published an online resource eSkip-Finder (https://eskip-finder.org/cgi-bin/input.cgi) for helping researchers identify optimal sequences of antisense oligonucleotides for exon skipping (Nucleic Acids Res. 2021;49:W193-W198.).

RESEARCH & RELATED Senior/Key Person Profile

- Principal Investigator
  - National Center for Neurology and Psychiatry
    - Yoshitsugu Aoki, Director
- Co-Investigators
  - National Center for Neurology and Psychiatry
    - Satoru Noguchi, Section Chief
    - Rieko Muramatsu, Director
    - Kazuhiko Seki, Director
    - Daisuke Kawauchi, Section Chief
    - Shin'ichiro Hayashi, Section Chief
    - Madoka Mori, Section Chief
    - Yuko Suzuki, Section Chief
  - Kyoto University
    - Akitsu Hotta, Lecturer
  - Tokyo Metropolitan Health and Longevity Medical Center
    - Akiyoshi Uezumi, Associate Director

Osaka University
Soichiro Fukada, Associate Professor
Tokyo University
Kanjiro Miyata, Associate Professor
IMSUT, Tokyo University
Takashi Okada, Professor
Tokyo University of Agriculture and Technology
Masaki Inada, Associate Professor
Nihon University
Yusuke Echigoya, Lecturer
Ehime University Graduate School of Medicine
Motoi Kanagawa, Professor
Sapporo Medical University
Takashi Yamada, Associate Professor
National Hospital Organization Matsumoto Medical Center
Akinori Nakamura, Director
National Center for Global Health and Medicine
Hideo Shindo, Associate Professor
RIKEN
Shuntaro Chiba, PhD
Central Institute for Experimental Animals
Masahiko Yasuda, PhD
Japan Muscular Dystrophy Association
Hisanobu Kaiya, President
Tohoku University
Naoki Suzuki, Assistant Professor
Alberta University
Toshifumi Yokota, Professor

STATEMENT OF WORK

Specific Aim 1

Development of new therapeutic interventions using animal models of neuromuscular diseases

a. Development of genetic therapies for muscular dystrophies
Investigators: Aoki, Miyata, Echigoya, Hotta, Okada, Nakamura, Chiba, Yokota
b. Development of stem cell-based therapies for muscular dystrophies
Investigators: Hayashi, Fukada, Uezumi
c. Discovery of new pathological mechanisms in neuromuscular diseases
Investigators: Noguchi, Muramatsu, Seki, Kawauchi, Kanagawa, Yamada, Shindo, Mori, Suzuki N

Specific Aim 2

Quality Control of Experimental Animals
Investigator: Yasuda

Specific Aim 3

Ethical and social studies to develop new treatments for muscular dystrophies
Investigator: Kaiya

2－7　発達障害の治療法の確立をめざすトランスレーショナルリサーチ

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター

一戸紀孝

総括研究報告

1. 研究目的

自閉スペクトラム症(ASD)は、人口の１％以上を占める発達障害で、人生早期より認められる対人相互作用と限局した興味、関心、活動によって特徴付けられる。しかしASDは極めて異質性が大きく、ASDの治療のためには、ヒトの発達軸に沿った診断法およびその診断にともなう適切な治療法の開発が望まれる。

当研究は、遺伝学的・行動学的・構造的にヒトに近い霊長類マーモセットのASDモデルによる研究と、ヒトのASDの研究を並行して行い、それぞれのメリットを活かして、ASDの病因・病態・機能障害に関する理解を深め、診断法・バイオマーカー・治療法の開発とその病態生理に迫ろうとするものである。

1995年に初めてASDのマウスモデルが作成されて以来、げっ歯類モデルによる精力的な研究が行われてきたが、ASDの治療法の開発は遅々として進んでいない。その理由の一つとして、げっ歯類がヒトASDをうまく再現できないからではないかと考えられるようになった。霊長類のマーモセットは進化的にヒトに近く、高度な社会的スキルを持ち、それを支える前頭前野がヒトと同様に高度に発達している。また、マーモセットは脳内の遺伝子発現パターンもヒトと類似しており、ASDのモデル動物として高いポテンシャルを持つと近年期待されてきた。

我々は10年前より、バルプロ酸（VPA）の母体投与によるASDモデルマーモセットの開発を続けてきた。2021年、我々はこのASDモデルマーモセットの発達過程における遺伝子発現パターンの探索を行いヒトASDと極めて近いフェノタイプを示すことがわかり、Nat Communicationにて発表をおこなった(Watanabe et al., 2021)。この先進的なASDマーモセットモデルを生物学的レベルでの表現型やその背景にある病因・病態を包括的に探求し、臨床グループの得意とするヒトに近い非侵襲的な手法によるトランスレータブルな多面的・縦断的研究を展開し、ASDのバイオマーカーや治療法の開発を目指す。

臨床グループは、ASDの異質性に着目する。臨床グループはこれまでASDの異質性の問題を解決するために、操作的診断基準で診断された自閉症スペクトラムの表現型（対人反応性、注意欠陥・多動性障害の特性)、社会適応（内面化・外面化症状)、その背景にある認知特性、電気生理的手法やバイオイメージングにより得られた遺伝子型に関するデータを蓄積してきた。ASDの表現型（対人反応性の特性）と社会適応（内面化・外面化症状)、その背景にある認知特性、電気生理学的手法やバイオイメージングで得られる遺伝子型についてデータを蓄積し、その関係を明らかにする。この過程において、VPA誘導ASDモデルマーモセットの多面的な情報との統合を行う。

上記の様に臨床研究班と動物研究班は緊密に情報交換を行いトランスレーショナル・リバーストランスレーショナルリサーチを展開する。

2. 研究組織

主任研究者
一戸紀孝　　国立精神・神経医療研究センター

分担研究者
岡田　俊　　国立精神・神経医療研究センター
中川栄二　　国立精神・神経医療研究センター
熊崎博一　　国立精神・神経医療研究センター
井上　健　　国立精神・神経医療研究センター
川合伸幸　　名古屋大学
郷　康広　　自然科学研究機構・生命創成探求センター
山末英典　　浜松医科大学
高橋英彦　　東京医科歯科大学
高橋秀俊　　高知大学

3. 研究成果

ASDモデルのマーモセットグループ：モデルマーモセットを用いて、大脳皮質の発達に沿った遺伝子発現異常を調べた。調べた時期は新生児期、ASD症状の現れる小児期、思春期であった。これらのデータを、米国のOrphan ASD Genetic Aberration BankのASDの死後脳皮質の遺伝子発現異常と比較した。その結果、小児期と思春期の発現異常遺伝子は、ヒトの孤発性ASDの異常遺伝子とよく相関していた。異常遺伝子をさらに25個の共発現モジュールによって解析すると、モデルマーモセットの遺伝子発現異常は神経細胞、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイトそれぞれの細胞種に関連するモジュールにおいてヒトASDと類似の遺伝子発現異常がみられることがわかった。これは、これまで開発されたASDモデルラット・マウス（Fmr1 KO, MeCP2 KO, BTBR mouseなど）のどれも４つの細胞種に関するモジュー

ルでヒトと類似したケースがなかったことと対照をなし、モデルマーモセットが孤発性 ASD のトランスレーショナル・リサーチに有用な動物であることが示唆された (Watanabe et al, 2021, Nat Commun)。

新生児期に発現異常を示す遺伝子は、シナプス形成関連遺伝子が多く、それらの遺伝子は down-regulation していた。これと一致して、モデルマーモセットのシナプスの形成異常が新生児で起っていることを見出した。また、新生児期に down-regulaiton していた遺伝子は、思春期には up-regulation しており、これはモデル動物の思春期でシナプスが過形成していることと一致する。小児期は ASD の症状が発達し診断される時期であり、この時期またはその前からの治療が効果的であることが知られており重要である。この時期にモデルマーモセットで異常を示す遺伝子は臨界期関連遺伝子が多く含まれており、脳の可塑性に関する小児期 ASD 脳の異常があることを示唆していると思われる。ASD の症状は初期の注意や認知の障害が経験依存的な脳回路の異常をきたし社会性・言語発達に影響を与えると考えられているが、この回路形成発達異常における臨界期の重要性が示唆された。

班員の郷とともに、モデル動物の皮質の遺伝子異常を single cell level で調べている。班員の川合は、モデル動物への oxytocin の投与による行動異常の改善効果を探った。班員の高橋（秀俊）との協力で 92ch マーモセット用の ECoG をモデルマーモセットに装着し、多様な音刺激パラダイムを用いて脳活動を記録し、他個体の行動を認識する電気活動の減弱が起こっていることが分かった。また、聴覚反応において、高次脳から来る予測信号が、実際の感覚応答を予測する程度が大きいことが分かった。これは、班員の高橋（秀俊）のヒトでの結果と矛盾しない。

臨床グループ では：脳波（中川、高橋秀俊）、fMRI (高橋英彦、山末)、PET (山末)、ゲノム解析（井上)、認知機能検査 （岡田)、ロボットを用いた ASD 治療法の評価（熊崎）と多様な手法を用いてヒト ASD の検討をおこなった。これと並行して、動物グループは ASD モデルマーモセットの脳波（ECoG)、構造 MRI の研究をおこなった。現在、PET 研究を始めている。脳波研究は高橋（秀俊）が、小さな聴覚刺激に対する聴覚驚愕反応（ASR）の大きさや ASR のピークの潜時などの指標を発見した。中川は、ASD における入眠時脳波異常と睡眠障害に対する少量バルプロ酸（VPA）の治療効果について検討した。脳波異常を認める ASD に VPA 少量投与を行うことで、睡眠障害の改善と昼間の指示の入りやすさ、興奮性、衝動性の軽減などの行動面での改善が認められた。高橋秀彦は ASD 群では TD 群と比較して、損得勘定に関する意思決定を行なっている最中の左下前頭回の脳活動が低下していることを示した。山末はドパミン D2/3 受容体へのリガンドを用いた PET 実験によって、広い領野における D2/D3 のバインディングの低下を観察した。とりわけ、扁桃体、前部帯状皮質において中等度以上、視床枕で、効果量が最大であることを示した。また、D2/3 受容体密度低下は ASD 者に特異的に視床-上側頭溝の安静時機能結合性と関連していることを示した。井上健はゲノムの解析から ACTR2 と言語発達障害との関連性について新たな知見を見出した。これらの知見は将来 ASD モデルマーモセットのデータと比較・統合されていく予定である。

4. 研究成果刊行一覧

1. Satoshi Watanabe , Tohru Kurotani, Tomofumi Oga , Jun Noguchi, Risa Isoda, Akiko Nakagami,Kazuhisa Sakai, Keiko Nakagaki, Kayo Sumida, Kohei Hoshino , Koichi Saito, Izuru Miyawaki,Masayuki Sekiguchi, Keiji Wada, Takafumi Minamimoto & Noritaka Ichinohe：Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. Nature Communications 12, 5388 (2021)
2. Yamasue H* (Corresponding author), Kojima M, Kuwabara H, Kuroda M, Matsumoto K, Kanai C, Inada N, Owada K, Ochi K, Ono N, Benner S, Wakuda T, Kameno Y, Inoue J, Harada T, Tsuchiya K, Umemura K, Yamauchi A, Ogawa N, Kushima I, Ozaki N, Suyama S, Saito T, Uemura Y, Hamada J, Kano Y, Honda N, Kikuchi S, Seto M, Tomita H, Miyoshi N, Matsumoto M, Kawaguchi Y, Kanai K, Ikeda M, Nakamura I, Isomura S, Hirano Y, Onitsuka T, Kosaka H, Okada T. Effect of a novel nasal oxytocin spray with enhanced bioavailability on autism: A randomised trial. Brain, 145(2):490-499(2022)
3. Ueda R, Okada T, Kita Y, Ukezono M, Takada M, Ozawa Y, Inoue H, Shioda M, Kono Y, Kono C, Nakamura Y, Amemiya K, Ito A, Sugiura N, Matsuoka Y, Kaiga C, Shiraki Y, Kubota M, Ozawa H: Quality of life of children with neurodevelopmental disorders and their parents during the COVID-19 pandemic: A one-year follow-up study. Scientific Reports 12-4298(2022)
4. Murayama C,...（途中 12 名）, Yamasue H* Extrastriatal dopamine D2/3 receptor binding, functional connectivity, and autism socio-communicational deficits: a PET and fMRI study. Molecular Psychiatry 2022 Feb 18. doi: 10.1038/s41380-022-01464-3. Online ahead of print.

マーモセット自閉症モデルを用いたトランスレーショナルリサーチ

分担研究者　一戸　紀孝

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　微細構造研究部

緒言

1995年に初めてASDのマウスモデルが作成されて以来、げっ歯類モデルによる精力的な研究が行われてきたが、ASDの治療法の開発は遅々として進んでいない。その理由の一つとして、げっ歯類がヒトASDをうまく再現できないからではないかと考えられるようになった。霊長類のマーモセットは進化的にヒトに近く、高度な社会的スキルを持ち、それを支える前頭前野がヒトと同様に高度に発達している。また、マーモセットは脳内の遺伝子発現パターンもヒトと類似しており、ASDのモデル動物として高いポテンシャルを持つと近年期待されてきた。我々は昨年度までの開発費研究により、妊娠中のマーモセットにバルプロ酸を投与することによりASD様の行動を示すマーモセットの子供を得ることができることを世界で初めて示した。今年度は、このASDモデルマーモセットの発生過程における遺伝子発現パターンの探索を行い、ヒトASDと極めて近いフェノタイプを示すことがわかり、Nat Communicationにて発表した。二光子によるシナプス動態の観察、行動解析、ECoGによる電気生理学的解析などを行った。また、血液バイオマーカーを探索する研究も行った。

方法・結果・考察

1）マーモセットモデル動物の脳内遺伝子発現の検討

ASDの発症メカニズムとして、遺伝子の異常と母性環境因子が考えられている。我々のASDモデルは、遺伝子発現に影響を与えるHDAC阻害剤であるバルプロ酸を用いたエピジェネティックなアプローチで作成されたものである。この動物モデルにおける遺伝子発現の異常を調べ、ヒトの孤発性ASDのデータと比較した。ヒト孤発性ASDは全ASDの85%を占め、臨床上重要である。遺伝子発現解析のための試料は、P0、2、3、6ヶ月、成人（1歳6ヶ月以降）の発達軌道に沿って大脳皮質の6箇所から採取した。P0はヒトの新生児、2、3ヶ月はヒトの児童期、6ヶ月はヒト思春期初期である。検体からマイクロアレイを用いて遺伝子発現データを取得した。解析の結果、モデルマーモセットはヒトASDの遺伝子発現異常と高い相関（r＝0.63）を示した。一方、バルプロ酸モデルラットでは、ヒトASDとの相関はほとんど見られなかった（r＝0.12）。WGCNA解析の結果、マーモセットモデルでは、脳の主要な細胞種であるニューロン、ミクログリア、アストロサイト、オリゴデンドロサイト関連モジュールについて、ヒトASDと一致した発現パターンを示した。一方、トランスジェニックマウスを含む齧歯類ASDモデルとヒトASDと比較すると、齧歯類モデルは最大2つの細胞関連モジュールでのみ一致したパターンを示した。この結果は予測された様に霊長類ASDモデルはげっ歯類モデルよりもヒトASDを優れて再現することが示された世界で初めてのケースである。この結果は、Nat Communに掲載され、プレスリリースが行われた。

2）二光子顕微鏡による生体モデルマーモセットの樹状突起スパインの出現・消失の観察

ASDにおいては学習の障害があるとされている。樹状突起スパインは興奮性入力を受ける小さな構造であり、生体においても出現・消失というダイナミックな構造変化を繰り返しており、学習による回路の変化を表していると考えられている。我々は、生きたASDモデルマーモセットの大脳皮質においてスパインのダイナミックな構造変化を観察した。その結果、モデルマーモセットでは、スパインの出現と消失の速度が速くなることがわかった。また、同時に出現したスパインは近傍に集まる（クラスタリング）傾向がASDモデルマーモセットには見られた。このことはモデルマーモセットで新たに形成された神経回路が冗長性を持っている可能性を示している。さらに、ASDモデルマーモセットにおいて一度出現したスパインは長期に残存することが示された。この傾向は、特にクラスター状に出現するスパインで顕著であった。これは、モデルマーモセットやヒトの自閉症で観察される高い記憶力や固執的な行動と関係があると推定された。オキシトシンは、このクラスター化傾向をなくす方向に働くことがわかった。このことは、オキシトシンがヒトのASDにおける固執性の症状を軽減させるという報告と一致する。現在、投稿の準備中である。

3）自閉症様マーモセットの作出と高次社会認知機能解明に向けた行動テストの開発と評価

これまでの研究で、VPAマーモセットでは互恵性の認識の障害などの高次社会性が損なわれていること、日中の活動量が非暴露群に比べ有意に高いことが示されており、この動物モデルはASDに見られる社会的特性や生体機能リズムの異常を再現していることが示唆されてきた。本年度の研究において、唾液中のコルチゾール濃度の上

昇や、仲間から離れたときに発する Phee コールの頻発が VPA モデルマーモセットに観察された。これは、VPA モデルマーモセットがヒト ASD と同様のストレス状態にさらされている可能性を示しおり、VPA モデルマーモセットのヒト ASD のストレス研究においても有用であるということを示した。ヒトの臨床試験で自閉症の治療に有効であることが報告されているオキシトシンは、この動物モデルにおける社会性障害の治療に有効である可能性が示された。今後、オキシトシンの VPA マーモセットにおける治療効果の検証を進めるとともに、AI を用いた 2 頭のマーモセットの視線計測の自動化手法を開発する予定である。2 頭同時の視線計測は、視線逸脱という ASD の特徴を検出するために重要であり、治療効果のアッセイ系として重要であると考えられる。

4) 社会性などの高次脳機能が生成される神経メカニズムの解明

我々はこれまで霊長類の ASD マーモセットモデルを用いて、ASD に関連する皮質領域の機能と構造を研究してきた。用いてきた手法は、in vivo 神経結合イメージング、多細胞同時記録、 ECoG、 MRI という多様なもので、それらを用いてシステムレベルの研究を展開してきた。今年度は、ASD モデルマーモセットの ECoG 記録実験を行い、広範囲の皮質領域で脳機能を測定した。定型発達群と ASD モデル群を比較したところ、他者の行動を視覚的に認識する際の神経反応に変化があることがわかった。また、Diffusion Tensor Imaging によりモデルマーモセットの白質の FA 値の減少が見られ、これはヒト自閉症と同様にミエリンの減少と関連していることが示される。

結論

本研究は、VPA ASD モデルマーモセットがヒト孤発性 ASD と極めて似た病態を持っていることを示唆している。この事実は本モデルマーモセットはバイオマーカーの探索や、病態の解明、治療法の開発にとってこれまでにないパワフルなツールであることを示している。動物モデルにおける遺伝子発現とそれに対応する分子・細胞・システム構造・生理学・行動の研究によって、最適な治療薬開発のための新たな道を開くと考えている。

参考文献

1. Takaaki Kaneko,Misako Komatsu,Tetsuo Yamamori,Noritaka Ichinohe & Hideyuki Okano : Cortical neural dynamics unveil the rhythm of natural visual behavior in marmosets. Communications Biologi,108 (2022)
2. Satoshi Watanabe , Tohru Kurotani, Tomofumi Oga , Jun Noguchi, Risa Isoda, Akiko Nakagami,Kazuhisa Sakai, Keiko Nakagaki, Kayo Sumida, Kohei Hoshino , Koichi Saito, Izuru Miyawaki,Masayuki Sekiguchi, Keiji Wada, Takafumi Minamimoto & Noritaka Ichinohe : Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. Nature Communications 12, 5388 (2021)
3. Uyeda A, Quan L, Kato Y, Muramatsu N, Tanabe S, Sakai K, Ichinohe N, Kawahara Y, Suzuki T, Muramatsu R : Dimethylarginine dimethylaminohydrolase 1 as a novel regulator of oligodendrocyte differentiation in the central nervous system remyelination. Glia. 69(11) : 2591-2604(2021)
4. Komatsu H, Nishio A, Ichinohe N, Goda N : Structure and function of neural circuit related to gloss perception in the macaque inferior temporal cortex: a case report..Brain Struct Funct. 226(9):3023-3030(2021)

発達障害の認知神経科学的アプローチに基づく病態解明

国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所　知的・発達障害研究部
岡田　俊

緒言

発達障害（神経発達症）は、生得的な脳機能の障害を基盤とした認知と行動の偏りにより日常生活に支障を来す状態であり、個々の発達障害に応じた神経心理学的機能の障害が示唆される。たとえば、自閉スペクトラム症では、視線や表情、身振り、他者の思考内容の表象化などの対人認知、注意欠如・多動症では、実行機能、報酬系、時間感覚、デフォルトモードネットワークの障害、学習症では文字認識、語認識、聴覚系のフィードバックの障害など、多様な障害が存在する。しかしながら、個々の神経発達症は異質性が大きく、他方、複数の神経発達症あるいは閾値下の発達障害特性を合わせもつことも多い。

そのため、個々の障害カテゴリーを超えて、神経発達症のある児童青年・成人の認知機能により中間表現型を確立するとともに、介入効果との関係についても検討する。また、齧歯類モデルマウスについても検討を実施し、新規行動指標を確立することを目的とした。

方法

社会性課題として情動的表情の認識、各種の表情と視線方向を同時呈示する視線手がかり課題、実行機能系課題として報酬系を絡めたGo/No-Goタスク、時間知覚課題（時間識別課題、時間再生課題）を作成し、対人反応尺度、Conners等の発達障害症状尺度との関連を調べる。その際、ウェクスラー知能検査、不安、抑うつを交絡因子とする。

また、齧歯類モデルでは、バルプロ酸自閉症モデル動物を用いてリーチング行動が社会性のモデルとなり得るかを検討した。

結果

実行機能と報酬系の相互作用、表情と視線認知の相互作用、多様な時間知覚に焦点を当ててデータ取得を進めた。本年度は219例の定型発達ならびに神経発達症のデータを取得でき、現在、一部の知見を解析し、投稿中である。さらに、国立国際医療研究センター国府台病院との連携で併存障害との関連を、また脳病対統合イメージングセンターとの連携でバイオマーカーを取得する基盤を整備した。

また、請園らは、リーチング行動試験にて、健常個体は、リーチング行動を行っている他個体に対して注視することを報告した。バルプロ酸（VPA）自閉症モデル動物に対して、リーチング行動試験を実施しており、本モデルの妥当性を示す複数の有用な知見を得た。

COVID-19感染拡大という想定外の事態が生じたことから、神経発達症を持つ児童と家族の不安、抑うつと生活の質についても調べた。島田療育センターはちおうじと共同して2020年5月よりコホートを確立し、1年ごとの評価を実施している。本年度の調査では、子どもの生活の質は改善傾向にあるが、親の生活の質は悪化していること、特に子どもの生活の質の改善は親の育児ストレスの改善、抑うつ傾向の軽減とかかわることを明らかにした。

考察

従前の研究では、対照群と個別の発達障

害群を比較し、その際を検討した研究が多いが、発達障害の当事者の実態は、その特性や発達障害、他の精神疾患の併存においても多様性のある一群である。一連の研究において、障害カテゴリーを超えた発達障害特性とその神経基盤を明らかにしつつあり、このような検討は、発達障害の病態の多様性の理解に資する地券と思われる。

また、齧歯類においてはバルプロ酸による実験動物は頻用されている。しかしながら、治療薬開発に支障となっているのが、齧歯類における行動指標が確立していないことである。請園らのリーチング行動を用いた検討は、この状況に突破口を与えることになると思われる。

結論

神経心理学的指標を用いた発達障害病態解明を進めていくことは、病態の細分化とその病態の解明を可能にして、今後の個別化治療に道を開くものと考えられる。さらに前方視的検討や脳画像との連携により、病態解明をさらに進めることが可能になる。

また、齧歯類の行動指標を確立し、今後の治療薬開発に資する成果とする予定である。

参考文献

〔口頭発表〕

1) Egashira Y, Hayashi S, Ukezono M, Uono S, Kaga Y, Kitamura Y, Kita Y, Yamashita Y, Okada T, Inagaki M: A closer look at impairments of time perception function in individuals with attention-deficit/hyperactivity disorder. Neuroscience 2021, 2021.11.9.
2) 林　小百合，江頭優佳，魚野翔太，岡田　俊：社会的報酬を用いたフィードバックの確実性が行動抑制に与える影響．日本心理学会第 85 回大会, 2021.9.1-8.
3) 江頭優佳，林　小百合，魚野翔太，高田美希，請園正敏，岡田　俊：複数の時間知覚課題を用いた注意欠如・多動症の時間知覚機能の検討．日本生理人類学会第 82 回大会，2021.10.31.
4) 林　小百合，江頭優佳，魚野翔太，高田美希，請園正敏，岡田　俊：注意欠如・多動症の成人では実行機能に対する社会的報酬の効果が減弱している．日本 ADHD 学会第 13 回総会，2022.3.5.

〔英文論文〕

1) Ukezono M, Takano Y: Dataset of reaching behavior for reward in social situations in mice. Data in Brief 35(2021)106773
2) Ueda R, Okada T, Kita Y, Ozawa Y, Inoue H, Shioda M, Kono Y, Kono C, Nakamura Y, Amemiya K, Ito A, Sugiura N, Matsuoka Y, Kaiga C, Kubota M, Ozawa H: Psychological status associated with low quality of life in school-age children with neurodevelopmental disorders during COVID-19 stay-at-home period. Frontiers in Psychiatry 12(2021)676493
3) Ueda R, Okada T, Kita Y, Ukezono M, Takada M, Ozawa Y, Inoue H, Shioda M, Kono Y, Kono C, Nakamura Y, Amemiya K, Ito A, Sugiura N, Matsuoka Y, Kaiga C, Shiraki Y, Kubota M, Ozawa H: Quality of life of children with neurodevelopmental disorders and their parents during the COVID-19 pandemic: A one-year follow-up study. Scientific Reports 12-4298(2022)

研究課題
自閉スペクトラム症における入眠時脳波評価と治療法の開発

分担研究者
国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部、小児神経診療部
中川栄二
研究協力者
国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部、小児神経診療部
渡辺詩絵奈、住友典子

1．研究の概要

自閉スペクトラム症（ASD)に伴う睡眠障害の臨床病態の解明を目的として、内科的治療前後における脳機能の変化を長時間ビデオ脳波や睡眠ポリソムノグラフィー検査（PSG）を用いて客観的所見に基づいた治療介入を行い、治療薬剤の解析（抗てんかん薬、抗精神病薬）と長期治療効果について検討を行う。研究の最終目的は、睡眠障害をともなうASDに対する新たな診断と治療法を提案し、その効果を脳科学知見から検討することである。ASDに伴う情緒・行動上の問題、多動、興奮、衝動性ならびに睡眠障害の改善を目指した安全で有効な発達障害に対する診断と薬物治療指針を提示する。

2．研究の目的、必要性及び期待される成果

ASDの小児が示す情緒・行動上の問題、不安、興奮、抑うつ症状ならびに睡眠障害の問題に対して、抗精神病薬をはじめとして様々な薬物治療が行われている。ASDに付随する精神神経症状に対する小児への他の向精神薬の投与は高頻度で認められ、投与されている薬剤も抗精神病薬、抗うつ薬、抗不安薬、睡眠薬、抗てんかん薬など多岐にわたっている。このため、本研究では、長時間ビデオ脳波やPSGを用いて客観的所見に基づいた診断と治療指針を構築することで、有効で安全な薬物治療が行われることが期待される。

3．この研究に関する国内・国外における研究状況及びこの研究の特色・独創的な点

睡眠障害をともなう発達障害患者への向精神薬による薬物療法については、欧米では1980年代から薬物療法に関する有効性を実証する臨床研究が行われてきた。近年では、新規抗精神病薬が導入され、発達障害への情緒、行動上の問題に対する有効性が積極的に検証されてきている。しかしながら、わが国では欧米諸国と同様に発達障害の小児に薬物療法が行われているのにもかかわらず、有効性や安全性に関する客観的指標に基づく臨床研究にいたっては皆無に等しい状況である。そこで本研究班では、長時間ビデオ脳波やPSG等を用いた脳機能解析を行い、わが国における客観的評価に基づいた睡眠障害をともなう発達障害の新たな治療方法の提案を行う。

4．今年度の研究報告

自閉スペクトラム症の睡眠障害における少量バルプロ酸の効果

（はじめに）

自閉スペクトラム症（ASD）は社会的コミュニケーションおよび相互関係における持続的障害と限定された反復する様式の行動、興味、活動を特徴とし、これらの症状は発達早期の段階で必ず出現するが、後になって明らかになるものもある。睡眠は脳の成熟にも重要な因子として知られており、ASD、睡眠障害、睡眠時脳波異常は密接に関係していると想定される。神経発達症では、てんかんの合併を認めることが多く脳波異常を認める割合はさらに高い。入眠時の脳機能の評価について脳波を用いて定量的な評価を行い、客観的所見に基づいた診断と治療指針を構築することで、有効で安全な薬物治療が行われることが期待される。

（方法と対象）

ASDにおける入眠時脳波異常と睡眠障害に対する少量バルプロ酸（VPA）（5-10 mg/kg/日　夕食後）の治療効果について検討した。当院てんかん・神経発達症外来通院中の神経発達症患者608人を対象として、入眠時脳波異常とVPAの内服状況と睡眠障害に対する薬物治療の検討を行った。睡眠障害の判定は、本人又は養育者が睡眠障害に対する問題意識を持っており、入眠時刻が8歳未満で22:00以降、9-11歳で22:30以降、12歳以上で23:30以降である入眠潜時が30分以上の状態が週3日以上、3か月以上継続している患者を対象とした。薬物治療効果判定は、臨床全般改善度（Clinical Global Impression-Improvement :CGI-I）

の家族による評価を指標としてCGI-Iの中等度改善以上を効果ありと判定した。

（結果）

神経発達症患者608人のうちASD患者数は261人で、ASD患者にVPAを投与している総数は216人(男性178人、女性38人、平均年齢　13.2歳（3-33歳））であった。てんかんとASD併存例71人（27.2%）、てんかんとASD、ADHD併存例29人（11.1%）であった。ASD患者に対するVPAを投与している割合は82.8%であった。少量VPA投与により193人（89.4%）で睡眠障害と生活の質の改善が認められた。中止は39例で副作用として易興奮性、夜尿、下痢が認められた。VPA血中濃度の検討では、生活の質が改善した患者での血中濃度平均は、43.4 μg/mlで、てんかんが併存している患者では、56.5 μg/ml、てんかんの併存のない患者では29.0 μg/mlであった。脳波異常を認めるASDにVPA少量投与を行うことで、睡眠障害の改善と昼間の指示の入りやすさ、興奮性、衝動性の軽減などの行動面での改善が認められた。特に、幼児期からのVPA内服はASDにおける睡眠障害を改善させる可能性が認められた。

（考察）

入眠時脳波異常を認めるASDに対する少量バルプロ酸の投与が、睡眠障害の改善と指示の入りやすさ、興奮性、衝動性の軽減など昼間の行動面での改善が認められた。また、入眠時脳波による神経機能評価を行うことで、客観的な評価指標に乏しいASD診断のバイオマーカーになる可能性が示唆された

5. 今後の研究の進め方について

ASDの睡眠時脳波を解析し、年齢を合わせた定型発達、ASDを伴わないADHDやてんかんの睡眠時脳波と比較することで、ASDに特有の所見を探索的に調査する。神経発達症外来に通院・入院中の患者の中から、診断基準に基づき、被験者の候補患者の選定が行われる。脳波が実施済みの対象患者については、stageⅡの最低10分の脳波データから各種脳波成分（δ、θ、α、β、γ波）の強度およびコヒーレンスの解析を行い、ASDの児に特有な脳波を探索的に調査する。ASDとそのほかの群（ADHDのみ、てんかんのみ、ADHD＋てんかん、定型発達群）で強度解析を行い、ASDで特有な所見を探索する。群ごとの特徴として、年齢分布、性別、眠剤の影響がないかを統計学的に検討する。ASDで有意な所見が得られれば、ASD群の中で年齢ごとに変化があるか、PARSの結果、合併症などに相関があるかどうかを探索する。解析には、Matlab（Mathworks社）を用い、強度の解析にはpwelch関数、コヒーレンス解析にはmscohere関数を用いて計算する。各種脳波成分の強度とコヒーレンスは周波数帯域範囲の平均値として算出する。また、ASD児に関して各種脳波成分の強度もしくはコヒーレンスとPARS得点の間のPearsonの相関係数の算出および回帰分析により相関性を評価する。

6. 倫理面における配慮の状況（生命倫理・安全対策等の遵守）

当センター倫理委員会（A2020-104 神経発達症に関する脳波研究）で承認を得た。

7. その他希望事項

特になし

8. 研究成果の発表（原著論文、学会発表他）

【論文】英文（22）編、

（1）英文論文　すべて査読有

1. Tabata K, Iida A, Takeshita E, Nakagawa E, Sato N, Sasaki M, Inoue K, Goto Y. A novel pathogenic NFIX variant in a Malan syndrome patient associated with hindbrain overcrowding. Journal of the Neurological Sciences. 2020 May 15;412:116758. doi: 10.1016/j.jns.2020.116758. Epub 2020 Feb 22.
2. Ozaki A, Sasaki M, Hiraide T, Sumitomo N, Takeshita E, shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sato N, Nakashima M, Saitsu H. A case of CLCN2-related leukoencephalopathy with bright tree appearance during aseptic meningitis. Brain Dev. 2020 Jun;42(6):462-467. doi: 10.1016/j.braindev.2020.02.008.
3. Miura M, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kurosawa K, Inoue K, Goto Y. 13q13.3 Microdeletion Associated With Apparently Balanced Translocation of 46,XX,t(7;13) Suggests NBEA Involvement. Brain Dev. 2020

Jun 4;S0387-7604(20)30147-9. doi: 10.1016/j.braindev.2020.05.006. Online ahead of print.

4. Ishikawa M, Omachi Y, Sato N, Nakagawa E. Bipolar disorder in megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: a case report. BMC Psychiatry. 2020 3;20(1):349. doi: 10.1186/s12888-020-02750-6.
5. Kaga Y, Ueda R, Tanaka M, Kita Y, Suzuki K, Okumura Y, Egashira Y, Shirakawa Y, Mitsuhashi S, Kitamura Y, Nakagawa E, Yamashita Y, Inagaki M. Executive dysfunction in medication-naïve children with ADHD : A multi-modal fNIRS and EEG study. Brain & Development 2020 Sep;42(8):555-563. doi: 10.1016/j.braindev.2020.05.007. Epub 2020 Jun 10.
6. Ueda R, Kaga Y, Kita Y , Tanaka M , Iwasaki M , Takeshita E , Shimizu-Motohashi Y , Ishiyama A , Saito T , Nakagawa E , Sugai K , Sasaki M , Okada T , Inagaki M. Postoperative improvement of executive function and adaptive behavior in children with intractable epilepsy. Brain Dev. 2020 Aug 29;S0387-7604(20)30218-7. doi: 10.1016/j.braindev.2020.08.005. Online ahead of print.
7. Ogasawara M, Nakagawa E, Takeshita E, Hamanaka K, Miyatake S, Matsumoto N, Sasaki M. Clonazepam as an Effective Treatment for Epilepsy in a Female Patient with NEXMIF Mutation: Case Report. Molecular Syndromology. 2020 Nov;11(4):232-237. doi: 10.1159/000510172. Epub 2020 Sep 1.
8. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kaido T, Kimura Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Takahashi A, Otsuki T. Cognitive and developmental outcomes after pediatric insular epilepsy surgery for focal cortical dysplasia. J Neurosurg Pediatr. 2020 Aug 7;1-9. doi: 10.3171/2020.5.PEDS2058. Online ahead of print.
9. Hayase Y, Amano S, Hashizume K, Tominaga T, Miyamoto H, Kanno Y, Ueno-Inoue Y, Inoue T, Yamada M, Ogata S, Balan Shabeesh, Hayashi K, Miura Y, Tokudome K, Ohno Y, Nishijo T, Momiyama T, Yanagawa Y, Takizawa A, Mashimo T, Serikawa T, Sekine A, Nakagawa E, Takeshita E, Yoshikawa T, Waga C, Inoue K, Goto Y, Nabeshima Y, Ihara N, Yamakawa K, Taya S, Hoshino M. Down Syndrome Cell Adhesion Molecule Like-1 (DSCAML1) links the GABA system and seizure susceptibility. Acta Neuropathologica Communications. 2020 8:206. doi.org/10.1186/s40478-020-01082-6
10. Ueda R, Kaga Y, Takeichi H, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Association of lack of functional connectivity between fronto-parietal pairs in children with frontal lobe epilepsy and poor executive function. Epilepsy & Behavior. 10.1016/j.braindev. 2020.08.005
11. Ishihara S, Okamoto Y, Tanabe H, Yoshimura A, Higuchi Y, Yuan JH, Hashiguchi A, Ishiura H, Mitsui J, Suwazono S, Oya Y, Sasaki M, Nakagawa M, Tsuji S, Ohya Y, Takashima H. Clinical features of inherited neuropathy with *BSCL2* mutations in Japan. J Peripher Nerv Syst. 2020 Jun;25(2):125-131.
12. Toki T, Shimizu-Motohashi Y, Komaki H, Takeshita E, Ishiyama A, Saito T, Mori-Yoshimura M, Sumitomo N, Hirasawa-Inoue A, Nakagawa E, Nishino I, Goto YI, Sasaki M. Hyperglycemic crisis in patients with mitochondrial encephalopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes (MELAS). Pediatr Neurol. 2021 Jan;114:1-4.
13. Ueda R, Iwasaki M, Kita Y, Takeichi H, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Okada T, Sasaki M. Improvement of brain function after surgery in infants with posterior quadrant cortical dysplasia. Clin Neurophysiol. 2021

Feb;132(2):332-337.

14. Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Adaptive behavior and its related factors in children with focal epilepsy. Epilepsy Behav. 2020 Apr 19;108:107092. doi: 10.1016/j.yebeh.2020.107092. Epub ahead of print. PMID: 32320922.
15. Abe-Hatano C, Iida A, Kosugi S, Momozawa Y, Terao C, Ishikawa K, Okubo M, Hachiya Y, Nishida H, Nakamura K, Miyata R, Murakami C, Takahashi K, Segawa K, Sakamoto H, Ohta S, Kubota M, Takeshita E, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kato M, Matsumoto N, Kamatani Y, Kubo M, Takahashi Y, Natsume J, Inoue K, Goto Y. Whole genome sequencing for 45 Japanese patients with intellectual disability. American Journal of Medical Genetics Part A. DOI: 10.1002/ajmg.a.62138
16. Yokosako S, Muraoka N, Watanabe S, Kosugi K, Takayama Y, Iijima K, Kimura Y, Kaneko Y, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Iwasaki M. Corpus callosotomy in pediatric patients with non-lesional epileptic encephalopathy with electrical status epilepticus during sleep: experience with three cases. Epilepsy Behav Rep. 2021 Jun 8;16:100463. doi: 10.1016/j.ebr.2021.100463.
17. Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Adaptive behavior and its related factors in children with focal epilepsy. Epilepsy Behav. 2020 Jul;108:107092. doi: 10.1016/j.yebeh.2020.107092. Epub 2020 Apr 19.
18. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kaido T, Kimura Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Takahashi A, Otsuki T. Cognitive and developmental outcomes after pediatric insular epilepsy surgery for focal cortical dysplasia. J Neurosurg Pediatr. 2020 Aug 7;1-9. Online ahead of print.
19. Abe-Hatano C, Iida A, Kosugi S, Momozawa Y, Terao C, Ishikawa K, Okubo M, Hachiya Y, Nishida H, Nakamura K, Miyata R, Murakami C, Takahashi K, Segawa K, Sakamoto H, Ohta S, Kubota M, Takeshita E, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kato M, Matsumoto N, Kamatani Y, Kubo M, Takahashi Y, Natsume J, Inoue K, Goto Y. Whole genome sequencing for 45 Japanese patients with intellectual disability. American Journal of Medical Genetics Part A. 2021 May;185(5):1468-1480. doi: 10.1002/ajmg.a.62138. Epub 2021 Feb 24.
20. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: surgical and developmental outcomes. J Neurosurg Pediatr August 13, 2021.
21. Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Nakagawa E, Okada T, Inagaki M. Clinical profile of reading ability and reading and writing achievement of children with borderline full-scale intellectual quotient: a prospective study. BMC Pediatr. 2021 Sep 7;21(1):389. doi: 10.1186/s12887-021-02865-z.
22. Yamamoto H, Nakagawa E, Kita Y, Kaga Y, Inagaki M. Effect of anti-attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD) medication on clinical seizures and sleep EEG: A retrospective study of Japanese children with ADHD. eceived: 15 July 2021 | Revised: 23 September 2021 | Accepted: 4 October 2021 DOI: 10.1002/npr2.12215

【学会発表】 国際学会 (12) 回

国際学会

1. Iwasaki M, Iijima K, Takayama Y, Kimura Y, Muraoka N, Yokosako S, Sumitomo N, Saito T,

Nakagawa E, Sasaki M. Seizure Outcome and Complications in Surgical Treatment of Infantile Epilepsy. The 21st Annual Meeting of the ISS, the International Symposium on Pathophysiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy (ISDEE2020). Tokyo, Japan, June 19-21, 2020.

2. Watanabe S, Ming Lei, Nakagawa E, Takeshita E, Mitsuhashi S, Matsumoto N, Takahashi Y, Mizusawa H, Sasaki M. ST3GAL5 mutation in two Chinese sisters with epilepsy, developmental delay, and involuntary movements. The 21st Annual Meeting of the ISS, the International Symposium on Pathophysiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy (ISDEE2020). Tokyo, Japan, June 19-21, 2020.
3. Yamamoto A, Komaki H, Segawa K, Shimizu-Motohashi Y, Takeshita E, Ishiyama A, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M. Variability of cardiac function in patients with Duchenne muscular dystrophy experiencing sudden onset of chest pain and electrocardiographic changes. The 25th International Annual Congress of the World Muscle Society. 28.Sep-2.Oct, 2020. https://www.wms2020.com/
4. Tabata K, Ishiyama A, Sugai K, Iwasaki M, Sumitomo N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Saito T, Komaki H, Nakagawa E, Sasaki M. A predictor for developmental and epileptic postsurgery prognosis in patients with hemimegalencephaly; A pre- and postsurgery study with N20 at non-HME side of median nerve short latency somatosensory evoked potentials. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC) 第13回アジアオセアニアてんかん学会. WEB形式, June 10-13, 2021.
5. Ikegaya N, Iwasaki M, Kaneko Y, Kimura Y, Iijima K, Takayama Y, Yamamoto T, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M. Neuropsychological and neurological sequelae after pediatric insular epilepsy surgery. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
6. Watanabe S, Nakagawa E, Saito T, Iwasaki M. The analysis of suppression-burst pattern in hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
7. Nakagawa E, Yamamoto H. Effect of methylphenidate and atomoxetine on electroencephalogram sleep studies in children with attention deficit hyperactivity disorder. 13th Asian & Oceania Epilepsy Congress (AOEC), June 10-13, 2021.
8. Nakagawa E, Fukumura S, T. Language ominance in Children with epilepsy using near-infrared spectroscopy. 34th International Epilepsy Congress, Virtual Congress, 28 August-1 September, 2021.
9. Sugai K, Otsuki T, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M, Iwasaki M, Takumi I. Outcome of medical treatment of postsurgical residual or relapsing seizures. 75th American Epilepsy Society Annual Meeting (AES)第75回米国てんかん学会. WEB形式, Dec 3-7, 2021.
10. Ueda R, Iwasaki M, Kita Y, Takeichi H, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Okada T, Sasaki M. Improvement of brain function after surgery in infants with posterior quadrant cortical dysplasia. 75th American Epilepsy Society Annual Meeting (AES)., Dec 3-7, 2021.
11. Watanabe S, Nakagawa E, Saito T, Iwasaki M. A clinical report on the pathogenesis of suppression-burst by analyzing EEG from hemimegalencephaly patients who underwent hemispherotomy. The Lancet Summit: Presymptomatic Prevention and Treatment of Neurodegenerative Diseases. WEB形式, Dec 14-16, 2021.
12. Sugai K, Arai N, Saito T, Nakagawa E, Sasaki M, Yamamoto H. Medical treatment of focal epileptic spasms. 34th International Epilepsy Congress., 34th International Epilepsy

Congress. Aug 28-Sep 1, 2021.

9. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況
特になし

10. 受賞
（1）2020年度日本小児神経学会　令和2年度福山幸夫アワード（上田理誉）
小児医学研究振興財団　優秀論文賞（上田理誉）
表彰論文
Ueda R, Kaga Y, Kita Y, Iwasaki M, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Sasaki M, Inagaki M. Adaptive behavior and its related factors in children with focal epilepsy. Epilepsy Behav. 2020 Apr19;108: 107092. doi: 10.1016/j.yebeh.2020.107092. Epub ahead of print. PMID: 32320922.

(2) 2021年乳幼児けいれん研究会国際シンポジウム JCSN 2021 Young Investigator Award Infantile Seizure Society（10月22～24日）にて、JSCN Young Investigator Award（橋本和彦）。
Secretariat of the International Symposium on Genetic Role of Neurometabolic Diseases with Infantile Epilepsy (ISGNIE). The 22nd Annual Meeting of the Infantile Seizure Society (ISS)

The overtime changes of electroencephalogram findings in a girl with a nonsense variant in *SMC1A*: A case report
Kazuhiko Hashimoto , Shimpei Baba , Eiji Nakagawa , Noriko Sumitomo , Eri Takeshita , Yuko Shimizu-Motohashi , Takashi Saito , Chihiro Abe-Hatan, Ken Inoue , Aritoshi Iida, Masayuki Sasaki , Yu-ichi Goto

自閉スペクトラム症者への会話補助ロボットの開発

国立精神・神経医療研究センター　精神保健研究所　熊崎博一

緒言

外見がヒトに酷似したヒト型ロボットであるアンドロイドは、眉寄せ、頬引き、呼吸といった自律動作の他に喜び、驚き、悲しみといった表情を呈することが可能である。声の音量・高さ・声質を調整することで感情的要素を軽減でき、状況・場面・体調・感情によって対応がぶれることもなく、不安が強く変化に敏感な自閉スペクトラム症(ASD)者にとっても安心して関わることが期待できる。一方でASD者は多様性が大きいのも事実である。本研究では、多くのASD者にとって心地の良いアンドロイドのノンバーバルコミュニケーションを設定し、面接練習に用いることを目的とする。

方法

ASD者とアンドロイドが対面し、予め設定されたスクリプトに基づいてインタラクションした。アンドロイドのノンバーバルな表出は、そのパラメータを調整可能な形で事前にプログラミングして行った。被験者の対人恐怖症状評価、認知機能・言語能力・感覚特性及び当日の精神状態評価といった患者情報を収集した。対人恐怖症患者にアンドロイドとインタラクションしていただき、1)インタラクションの際の安心感に関する自己記入質問紙、2)ビデオカメラによるインタラクションの質の分析を行った。ビデオカメラデータについては2名のトレーニングを受けた心理士が収集したデータを総合的に分析し、収集したデータに対し被験者の状態(集中度合い(Arousal))、快-不快度合い(Valence)、興味度合い(Engagement))を表すラベル付けを行いデータから被験者の状態を推定できるモデルを作成した。また、アンドロイドの振る舞い方の違いによって、ASD者の話やすさや心地よさはどのように変化するか、収集したデータをもとに分析し、考察を行った。

結果

18名のASD者が参加した。IQについては，IQが高いほど、アンドロイドとの親和性が高くなる傾向が見られた．感覚プロファイルの低登録指標については、その特性が特に弱い群で、アンドロイドへの評価が低い傾向が見られた。PANAS (NA)については，その特性が特に強い群とアンドロイドの親和性の高さの相関が明らかになった.

また Arousal (AUC 値 0.82), Valence (AUC 値 0.70), Engagement (AUC 値 0.87) の分類精度を示す SVM モデルが実現できた。

考察

ASD者の個人特性を考慮したロボット支援の重要性を改めて示すことができた。Arousal (AUC 値 0.82), Valence (AUC 値 0.70), Engagement (AUC 値 0.87) の分類精度は何れも高値であった。本結果は

今後 SVM モデルにより、ASD 者の状態に
合わせて自動で振る舞い方を調整できるア
ンドロイドの構築につながると考えている.

発達障害を伴う知的障害児の遺伝学的多様性に関する研究

分担研究者：
国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第二部　井上　健
研究協力者：
国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第二部　後藤雄一
国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科　田畑健士郎、竹下絵里、中川栄二

【緒言】

発達障害の原因と病態には遺伝学的な因子が大きな要因となっている。しかし、発達障害の臨床的多様性と遺伝的異質性や多因子遺伝に伴う複雑性から、分子レベルでの解明を進めることが困難となっている。発達障害者の多くに知的障害を合併することが知られている。知的障害は遺伝的異質性が高いが、単一遺伝子異常が原因であることが多く、分子レベルでの病態解明へのアプローチが比較的容易であることから、知的障害を合併する発達障害を対象とする遺伝学的解析により、発達障害の病態に解明に関する重要な知見を見いだすことができる可能性が高い。そこで本研究では、知的障害の遺伝学的解析研究の一環として実施しているアレイ CGH を用いたゲノム構造異常解析や全エクソーム／全ゲノム解析を用いた SNV 解析の結果から、知的障害を発達障害の症例を抽出し、発達障害に関連する遺伝子異常に関する分子遺伝学的知見を明らかにする。

【方法】

NCNP 知的障害バイオバンクに登録されている症例のうち、発達障害を合併する症例が本研究の対象となる。バイオバンクにはこれまで 600 家系以上の症例が蓄積されており、これらの約３割に発達障害が合併することが知られている。これらの症例の多くは、遺伝学的診断のための解析として、バイオバンクに登録された後にアレイ CGH 解析、全エクソーム／全ゲノム解析による網羅的ゲノム解析を実施し、疾患原因遺伝子のゲノム構造異常や塩基配列置換の探索を行う。本年度はアレイ CGH 解析により、言語発達障害を呈する３世代１家系において、疾患原因と思われる欠失を同定し、特に *ACTR2* と言語発達障害との関連性について新たな知見を見出した。発端者に対しアレイ CGH を実施した後、Q-PCR を用いた家系解析、STS マッピング、サンガーシーケンスを用いた欠失断点の同定を実施した。家族は精神科医または小児科医による診察で知的機能を評価し、WISC、K-ABC などで小児の知能および言語発達評価を行った。

【結果】

本家系の発端者は 5 歳男児で、言語発達遅滞を認めていたが運動発達に遅れなし。生後 7 か月時に焦点てんかんを発症し、抗てんかん薬治療が開始されたが、難治に経過。1 歳頃から自傷行為、睡眠障害が目立つようになった。家系内に 5 名の知的発達症（患児、母方祖父母、母、母方伯父）、特異的言語発達障害（姉、兄）を認め、IC のもと、9 名（患児、母方祖父母、母、母方伯父、母方叔母、姉、兄、妹）の臨床的・遺伝学解析を行った。発端者で 2p14 に多型登録がない新規の 144Kb の欠失を認め、*ACTR2* と *RAB1A* の２つの遺伝子のみが部分欠損していた。同欠失は家族 9 名中 6 名（母方祖父、母方伯父、母、姉、兄、患児）に認め、6 名全てに軽度知的発達症または特異的言語発達障害を認めた。欠失の組換え断点は、近位遠位端とも *Alu* 配列内であり、30 塩基の完全一致配列内で生じた相同性組換えと判明した。

【結論】 ３世代に渡る特異的言語発達障害を伴う知的発達症の１家系に新規の 2p14 欠失を同定した。

【考察】本家系において、144kb の欠失と言語発達障害の表現型が相関していることから、本欠失に含まれる *ACTR2* と *RAB1A* のいずれかが本領域の疾患の候補責任遺伝子であると推測した。過去の同領域を含む症例において *ACTR2* が minimal overlapping interval に含まれる唯一の遺伝子であること、*ACTR2* は強い LoF 不耐性を呈することから、我々は *ACTR2* が本家系の言語発達障害における責任遺伝子であると推測した。*ACTR2* は Arp2/3 complex の主要なコンポーネントである。Arp2/3 complex は actin filament の polymerization における分岐構成の起点となることが知られているが、神経系においては corticogenesis、growth cone structure、

synapse formation など多岐にわたる事象において必須である。神経細胞の発達ステージに関連した「動き」に必須の機能を有する Arp2/3 complex の主要コンポーネントをコードする *ACTR2* と言語発達障害との関連性は興味深い。発達性言語障害に関連する既知の遺伝子の中には、Arp2/3 complex の機能と関連するものも存在することから、今後、発達性言語障害と Arp2/3 complex を結びつける神経機能の解明が望まれる。

【参考文献】

1. Tabata K, Ishiyama A, Nakamura Y, Sasaki M, Inoue K, Goto YI. A familial 2p14 microdeletion disrupting actin-related protein 2 and Ras-related protein Rab-1A genes with intellectual disability and language impairment. *Eur J Med Genet.*2022; 65(3):104446. doi: 10.1016/j.ejmg.2022.104446. Epub 2022 Feb 5. PMID:35134569.

自閉症様マーモセットの高次社会認知機能解明に向けた行動評価系の開発

川合伸幸・佐藤知子・中村月香
名古屋大学大学院 情報学研究科

緒言

自閉症は 1000 人に 1-2 人の割合で生じる先天性の脳機能発達障害と考えられているが、脳機能上の異常から行動の問題へと至る具体的なメカニズムは未だ解明されていない。これまで多くのげっ歯類モデルと候補遺伝子は提案されているが、いずれも症候群のある一面を再現・説明しようとするものであり、ヒト自閉症モデルとして確立しているとは言いがたい。そのため、ヒト高次機能のモデル動物は、ヒトに近縁な動物で、かつ高次な知能と高い社会性を有する動物で検討する必要がある。コモン・マーモセットを用いた本研究による行動評価系の確立は、ヒト実症例に近いモデルの開発に繋がる研究を目指した。

方法

①オキシトシン投与による高次社会認識の行動変容評価

ある個体が別の個体と同じ課題をしたときに、別の個体の方がより価値の高い餌を得るのを見ると、それを見た個体が従来と同じ餌がもらえるのに課題を遂行しなくなる（あるいは餌の受け取りを拒否する）ことを「不公平忌避」という。我々は平成 29 年度に世界ではじめてマーモセットが雌雄ともに不公平忌避を示すことを証明し、同時に自閉症モデル動物である、胎児期バルプロ酸曝露群（VPA 群）は不公平忌避を示さない（他個体への関心が弱い）という社会認知機能障害を明らかにした。近年、ヒトの臨床治験などから自閉スペクトラム症のコミュニケーション障害に対する治療薬として効果を示すことが示唆されているオキシトシン（脳下垂体後葉から分泌されるホルモンの一種）を、社会認知機能障害をもつ VPA 群に投与することで、オキシトシンが VPA 群の自閉症様行動（他個体への関心が弱く不公平忌避を示さないこと）に対して治療効果を発揮するのかを検討する。初年度（令和 2 年度）は VPA 群 3 例の実験を実施し、オキシトシンが他個体に対する関心を高めるために有効である可能性が示唆されたため、本年度（令和 3 年度）は VPA 群 2 例、UE 群 1 例、計 3 例の実験を実施し、現在は VPA 群 1 例の実験前トレーニングを実施中である。

②ストレス事象に対する応答性の検証

軽度のヒト自閉症者においても認められる症状の一つに、ストレスへの脆弱性が挙げられる。自閉症をはじめとする発達障害では、その障害特性がストレス脆弱性を高めていることも報告されている。初年度では、マーモセットのストレス事象となり得る映像（天敵であるヘビが動く様子）とコントロール映像を同時呈示しながら他個体の警戒音声を再生し、各映像への注視時間を調べた。そのために、ヘビのオモチャを提示し警戒音声の記録・切り出しを行った。

③他個体の脅威状況の認識テスト

警戒音声は、他個体に脅威が差し迫っていることを伝える役割を担う。マーモセットは他個体の側にヘビ（のオモチャ）があるときに警戒音声を発するか、またその頻度に定型発達マーモセット（UE 群）個体と VPA 個体で違いがあるかを調べた。まず実験(1)として、被験個体にゴム製のヘビを模した玩具を呈示し 2 分間の録画・録音を行った。次に実験(2)として、非血縁個体が入った装置の上に(1)で呈示したゴム製のヘビ玩具を設置し、被験個体と非血縁個体が互いに向かい合わせになる位置で 2 分間の録画・録音を行った。

④過活動抑制効果の検証

マーモセットに首輪型の加速度センサーを装着し、ホームケージでの活動量を 3 週間測定し、UE 群と VPA 群に分け活動量の解析を行った。また、加速度センサー装着期間外に起床直後と就寝直前に採取した唾液からコルチゾール値を計測し、コルチゾール分泌と過活動性との関連を調べた。

⑤VR 映像を用いたパーソナルスペースの比較検証

パーソナルスペースとは、ヒトが他者と接する際にとる対人距離の範囲のことである。先行研究から、自閉スペクトラム症者はそうでない人と比較して、対人距離が短いことが明らかになっている。本年度は、我々が作出した VPA 群も UE 群と比較してパーソナルスペースの範囲が狭くなっているのかどうかを検証した。被験個体がチューブから放出される液体報酬（10%ブトウ糖液）を舐めている間、チューブの目先にマーモセットを模した 2 種類（静止または前進）の二次元 VR 映像を呈示した。

結果

①オキシトシン投与による高次社会認識の行動変容評価

被験個体（ターゲット）と、目の前で同じ課題を行う個体（パートナー）が、同等の報酬を得られる条件を 2 日間（ET session）、パートナーだけが高価値な報酬を得られる条件を 2 日間（IT session）実施し、計 4 日間は投与前に生理食塩水を投与した。その後パートナーを交代しオキシトシン投与後に同様の流れ（ET→IT）で行動試験を 4 日間実施したところ、VPA 群では生理食塩水投与時と比較して、オキシトシン投与時に IT session での不公平忌避を示す傾向が認められたが有意な差は認められなかった。

②ストレス事象に対する応答性の検証

初年度（令和 2 年度）の実験結果から、ヘビとキ

リン（ゾウ）を同時に提示しているときにコンタクトコールか警戒音声を提示すると、UE 群ではストレス事象の映像が再生されると画面とは体を背け視線を外す時間が長くなったが、VPA 群では各映像への注視時間に差が見られなかった。このことから VPA 群では他個体の発する警戒音声とストレス事象との連合に障害があることが示唆された。ただし統計的に有意な差ではなかった。本年度はストレス事象に関する追試等を実施せず、関連のある③の脅威状況の認識テストの実施へと移行した。

③他個体の脅威状況の認識テスト

28 個体に 3 種類のヘビ玩具を見せた結果、1 度でも警戒音声を発したのはオス 6 個体、メス 1 個体であった。これらの 7 個体が発した警戒音整数は、1)単独・ヘビあり（385）、2)単独・ヘビなし（38）、3)非血縁個体・ヘビあり（310）、4)血縁個体・ヘビあり（432）、と血縁個体がいるときに警戒音声がもっとも多く発せられた（$F(3, 15) = 3.64$, $p < .05$）。しかし個別の条件間では有意な差は見られなかった。

④過活動抑制効果の検証

VPA 群では、UE 群と比較して日中の活動量が有意に高いことは昨年度までに明らかにした。今年度は詳細な活動量解析から、VPA 群のオスにおいて、間欠性の増大（休息が一定時間続いた後に急激な過活動が出現すること）が認められ、行動ダイナミクスに変化が出ていることが明らかとなった。また、エントロピーを指標にした活動量の解析では、VPA 群のオスにおいて、他の 3 群（VPA メス、UE オス、UE メス）と比較して複雑性の増大が認められた。さらに、VPA 群のオスでは起床時のコルチゾール値と日中（7時-19時）の活動量に有意な相関がみられた。このことから、過活動性活動量には性差（オスにおいて有意な差）が認められた。今後は過活動性の抑制効果の検証に向けて、候補治療薬の投与などを試行する予定である。

⑤VR 映像を用いたパーソナルスペースの比較検証

UE 群では、マーモセットが静止している VR 画像呈示中は液体報酬を止めることなく舐め続けたが、前進（被験個体の方へ近づいてくる）映像を呈示すると呈示中に舐めるのを止めた。一方、VPA 群では前進映像呈示時も止めることなく舐め続けた。このことから、UE 群では、二次元映像による個体接近に応じて行動を変化させたが、VPA 群ではそれが生じなかったため、ヒトでの先行研究と同様に VPA 群は対個体の距離が短いことが示唆された。

考察

上記の結果から、ヒトの臨床治験において自閉スペクトラム症の治療薬として効果を示すと報告されているオキシトシンが、自閉症モデルマーモセットである VPA 群に対しても、コミュニケーション障害に対して有効な治療薬である可能性が示唆された。また、VPA 群では警戒音声とストレス事象との連合に障害が認められる可能性が示唆された。どちらの実験においても例数が十分でないため、次年度には更なる追加実験を行い、十分な統計結果が得られるかを確認する予定である。

今後の研究の進め方

今後の研究の進め方として、先述した①オキシトシン投与による行動変容評価と、⑥他個体の行動を見て、みずからの行動を調整できるかを UE および VPA 個体で検討する。この研究は、他個体への注意が弱いとみられる VPA 個体に、他個体の行動に注意を払わなければ、自身の報酬が得られないという状況を設定することで他個体への注意が向きやすくなるか、また薬効効果が得られるかを検討するものである。

①については、現状、自閉症の治療薬として用いられている医薬品はいずれもコミュニケーションの障害を根本的に改善する効果は明らかとなっていない。そのため、コミュニケーション障害の治療に貢献する薬の開発は急務であり、ヒトの臨床治験に加えて、コミュニケーション障害を示す自閉スペクトラム症動物モデルを用いた治療薬の検証が必要である。よって、令和 3 年度内にオキシトシンの経鼻投与実験を継続して行い、治療効果があるかを検証するために複数の行動試験を実施した上で、オキシトシン以外の治療候補薬の検討も行う予定である。⑥については、まずは 1 個体で位置弁別を習得させ、その後、対面での実験を実施する。

参考文献

[1] Kawai, N., Yasue, M., Banno, T., & Ichinohe, N. (2014). Marmoset monkeys evaluate third-party reciprocity. *Biology letters*, *10*(5), 20140058.
[2] Yasue, M., Nakagami, A., Banno, T., Nakagaki, K., Ichinohe, N., & Kawai, N. (2015). Indifference of marmosets with prenatal valproate exposure to third-party non-reciprocal interactions with otherwise avoided non-reciprocal individuals. *Behavioural Brain Research*, *292*, 323-326.
[3] Yasue, M., Nakagami, A., Nakagaki, K., Ichinohe, N., & Kawai, N. (2018). Inequity aversion is observed in common marmosets but not in marmoset models of autism induced by prenatal exposure to valproic acid. *Behavioural Brain Research*, 343, 36-40.
[4] Kawai, N., Nakagami, A., Yasue, M., Koda, H., & Ichinohe, N. (2019). Common marmosets (*Callithrix jacchus*) evaluate third-party social interactions of human actors but Japanese monkeys (*Macaca fuscata*) do not. *Journal of Comparative Psychology*.

自閉症様モデルマーモセットを用いた遺伝子解析によるトランスレータブル指標の開発

郷康広
自然科学研究機構

緒言

ヒトの疾患，特に高次認知機能に関わる病態機序の解明を目的とした研究においては，ヒト脳との形態や機能分化に大きな差異があるマウス脳で得られた結果を，ヒトに外挿する方法論の限界も指摘されている．一方，ヒトにおいては、実験的な操作や侵襲的な実験が不可能なため，病態と遺伝子・分子の因果律の解明まで踏み込むことが極めて難しい現状にある．そこで本研究では，ヒトにより近縁で，高度の社会性・認知機能をもつマーモセットを対象とし，ヒト自閉症スペクトラム症の分子基盤解明およびトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした．国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部の一戸研究室においては，世界に先駆けてバルプロ酸曝露マーモセットの作出に成功しており，作出されたマーモセットは自閉症様行動を示すことが明らかになっている．また，自閉症スペクトラム症の一つの中間表現型と考えられるシナプスの刈り込み不全によるシナプス形成異常がバルプロ酸曝露マーモセットでは観察されており，マウスではこのシナプス形成異常は観察されないため，その点においても本研究で用いるマーモセットの有用性は非常に高いものと考えられる．本研究では，それらの利点を最大限に活かし，薬理学的に作出された自閉症様マーモセット脳におけるトランスクリプトーム・エピゲノムの動態変化を次世代シーケンサーを用いたオミックス解析により明らかにするとともにヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害へのトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした．

方法

国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部において薬理学的に作出された自閉症様行動を示す胎生期バルプロ酸曝露マーモセット（VPA 個体）の脳を用いた単一細胞核遺伝子発現解析を行った．定型発達群（バルプロ酸非曝露マーモセット：UE 個体）との比較解析により，霊長類疾患モデルとしてのマーモセット脳内における遺伝子動態を単一細胞レベルで明らかにし，ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害の治療法の基盤となるトランスレータブル分子マーカーの開発を行った．

バルプロ酸を母体投与した 3 ヶ月齢のマーモセット脳の眼窩前頭前野（area12）と前部帯状皮質（area24）を対象とし，それぞれの脳領野から調整した細胞核を用いた解析を行った．

結果

胎生期バルプロ酸曝露マーモセット（以後，VPA マーモセット）と定形発達・バルプロ酸非暴露マーモセット（以後，UE マーモセット）を比較対象とし，最もシナプス形成が盛んな 3 ヶ月齢の 2 脳領域（内側前頭前野，前帯状皮質）の脳試料（合計 8 サンプル）を用いた 1 細胞遺伝子発現解析を行った．各サンプルから 1900~29000 個の 1 細胞発現データと平均 4500 遺伝子の発現データを取得した．取得した発現データをもとに，UMAP 法による次元圧縮・グラフクラスタリングによる細胞のクラスタリングを行った．その結果，13 種類の興奮性ニューロン，10 種類の抑制性ニューロン，3 種類のアストロサイト，2 種類のミクログリアに加えてそれぞれ 1 種類のオリゴデンドロサイト前駆細胞，オリゴデンドロサイト，内皮細胞，周皮細胞に分類されるクラスターを同定することができた．興奮性・抑制性ニューロンに関しては皮質層構造や発生過程を反映したクラスタリン

グパターンを同定することができた．同定した細胞タイプごとに，VPA マーモセットと UE マーモセットの発現比較を行った結果，興奮性ニューロンにおいては 224~554 遺伝子，抑制性ニューロンにおいては 59~243 遺伝子，アストロサイトにおいては 147 遺伝子，オリゴデンドロサイト前駆細胞においては 117 遺伝子，オリゴデンドロサイトにおいては 444 遺伝子，ミクログリアにおいては 85 遺伝子においてそれぞれ有意な発現変動を認めた．特に VPA マーモセットにおいては，興奮性ニューロンでの発現低下，逆に抑制性ニューロンにおいて発現亢進が認められた。このことは，興奮性・抑制性ニューロンの適切なバランスの乱れがヒト自閉症の要因の一旦として考えられている点と類似した現象を捉えていると考えられた。

また，先行研究によりデータが公開されているヒト自閉症患者の死後脳から得られた 1 細胞発現データとの比較統合解析を行った結果，ヒト自閉症患者脳とバルプロ酸暴露マーモセット脳で細胞タイプごとに共通して認められる発現変動遺伝子を多数同定することができた．同定された遺伝子には，自閉症関連遺伝子が多数含まれていた．

多今後は，自閉症と関連が多く報告されている，抑制性ニューロンやマイクログリアなどを中心とした解析をさらに進める．

考察

胎生期バルプロ酸暴露による自閉症マーモセットモデルの 1 細胞発現解析を行ったところ，各細胞タイプにおいて定型発達群と比較して数十から数百の発現差を示す遺伝子が同定できた．これらの遺伝子オントロジー，生物学的パスウェイは自閉症スペクトラムを含む多くの精神疾患との関連が示されているため，今回の作出されたマーモセットモデルは，自閉症スペクトラム症のモデル動物となる可能性を示唆する．また，ヒト自閉症患者死後脳からの 1 細胞発現データとの統合解析を行うことで，細胞タイプかつ遺伝子特異的なトランスレータブルな分子マーカー候補の発見が可能となった．これらの分子マーカー候補の発見は今後の核酸医療に向けた大きな一歩である．

過去 5 年間の研究開発費により行ったトランスクリプトーム解析において興味深い遺伝子候補が同定できた．今後は，1 細胞レベルの遺伝子発現解析に加えて，1 細胞レベルのクロマチン動態解析を加えたマルチオミックス解析を展開し，より精度の高いトランスレータブル分子マーカーの同定をさらに推進する．

結論

本研究では，シナプス刈り込み不全，およびヒト自閉症スペクトラム症様の行動を示すバルプロ酸暴露マーモセットの発達に応じた脳内遺伝子発現変動を明らかにし，その分子基盤とトランスレータブル指標の開発を目的とした．定型発達個体群とバルプロ酸暴露個体群との発現変動を示す遺伝子がシングルセルレベルで同定することが可能となった．その多くがシナプス機能と関連し，また自閉症スペクトラム症との関連が示唆される遺伝子であったことは特筆すべき点である．これらの研究結果から，今回作出された自閉症様マーモセット個体群は自閉スペクトラム様のモデルとなり，精度の高いトランスレータブル分子マーカーの開発につながる可能性を示すことができた．

発達障害の治療法の確立に向けたトランスレーショナルリサーチ

山末英典 浜松医科大学 精神医学講座

緒言 自閉スペクトラム症（ASD）中核症状に対する初の治療薬としてオキシトシンは大きな期待を集めているが、その治療効果発現のメカニズムは十分に解明されていない（1,2）。セロトニン系やドパミン系の神経伝達は ASD の病態にもオキシトシンの中枢作用にも関与していると考えられており、動物研究から側坐核のセロトニン 1B 受容体やドパミン D2 受容体が媒介メカニズムとして注目されている。本研究では、ヒト ASD 当事者を対象に、セロトニン／ドパミンなどの分子系とオキシトシンの相互作用と ASD 中核症状改善の関連を明らかにし、MRI 測定を含む多角的な生理情報から ASD 中核症状に対する新たな治療シーズの創出を図ることをねらいとしている。

方法 ASD 当事者 20 名と定型発達者 20 名を対象に、セロトニン 1B 受容体やドパミン D2/3 受容体に対するトレーサーによる頭部 PET 測定を行い、ASD 当事者と定型発達者で結合能の差異及び、ASD 中核症状、トリプトファン代謝物、脳内のグルタミン酸・GABA 濃度、内側前頭前野をシーズとした安静時機能的結合性（rsFC）と相関する脳部位を明らかにする。

結果 令和 3 年度は、方法に記載した症例対照研究のデータ収集を行なった。そして、セロトニン 1B 受容体の PET については年度内で ASD 当事者 13 名と定型発達者 13 名までの研究参加について書面での説明同意を得て、臨床評価と MRI および PET 撮像を行なった。ドパミン D2/3 受容体の PET については 22 名の ASD 当事者と 24 名の定型発達者のデータを収集して解析し、ASD 者ではドパミン受容体が豊富な領域全般で D2/3 受容体密度が低下しており、中でも効果量が中等度以上であった扁桃体や前部帯状皮質よりも効果量が最大であった視床枕では、その D2/3 受容体密度低下は社会的コミュニケーションの障害が顕著であることと相関していた。また、この D2/3 受容体密度低下は ASD 者に特異的に視床-上側頭溝の安静時機能結合性と関連していた（3）。

考察 視床枕は、扁桃体や上丘と視覚的社会選好

を形成する高速調節路を形成し、この障害によって ASD の社会的コミュニケーションの障害が形成されると提唱されている。今回の D2/3 受容体 PET による研究成果は、この仮説を支持すると共に、さらにドパミンの関与を示唆した。ドパミン系特に D2/3 受容体は比較的創薬標的としやすく、今後の治療薬開発への発展が期待される。

参考文献（*Corresponding author）

1. Yamasue H* et al. Effect of a novel nasal oxytocin spray with enhanced bioavailability on autism: a randomized trial. Brain 2022 Jan 24;awab291. doi: 10.1093/brain/awab291. Online ahead of print.
2. Benner S, （途中 12 名）, Yamasue H*. Neurochemical evidence for differential effects of acute and repeated oxytocin administration. Molecular Psychiatry 2021 Feb;26(2):710-720.
3. Murayama C,…（途中 12 名）, Yamasue H* Extrastriatal dopamine D2/3 receptor binding, functional connectivity, and autism socio-communicational deficits: a PET and fMRI study. Molecular Psychiatry 2022 Feb 18. doi: 10.1038/s41380-022-01464-3. Online ahead of print.

2-7 発達障害の社会的行動障害に関するマルチモーダル MRI 研究

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
精神行動医科学分野
高橋英彦

【緒言】自閉スペクトラム症（ASD）などの発達障害では、共感性や意思決定などの障害が広く認められる[1]。こうした社会行動には、道徳観・曖昧性・公平性などの葛藤を引き起こす要素が影響する。これまで、このような要素を質問紙で評価することに留まっていることが多く、質問紙法では様々なバイアスの他、実際の行動を予測しきれないという問題を指摘されてきた[2]。

近年、経済数理モデルを用い、このような意思決定や行動選択を実証的に評価する行動経済学、その神経基盤を検証する神経経済学が興隆した。これに伴い、同手法を用いて、精神疾患の意思決定を検証する研究が急増している。申請者らも、行動経済学アプローチを応用し、ASD における柔軟性や文脈感受性の低下を明らかにしてきた[2-4]。しかし、その背景にある神経メカニズムに関しては十分に明らかになっていない。

【方法】申請者らは、ASD における柔軟性や文脈感受性の低下に関する神経基盤を検証することを目的に、成人男性の ASD 当事者と定型発達(TD)者を対象に、機能的 MRI（fMRI）実験を行なってきた。

fMRI 課題では、道徳的葛藤を伴う場面で、損得勘定と情状酌量を考慮して柔軟な意思決定を行う際の脳活動を、認知的および情動的側面から検証した。

損得勘定に関するセッションでは、例示された行動が道徳的に正しいか正しくないか判断する条件と、現実的な問題を考慮したうえで道徳的に正しくなくてもその行動を起こすか起こさないか、選択する条件を評価した。情状酌量に関するセッションでは、例示された行動が道徳的に許されるか許されないか判断する条件と、道徳的に許されなくてもそうせざるを得ない心情を考慮したうえで、例示された行動が許されるか許されないか、判断する条件を評価した。

両群の年齢、利き手、知能指数(IQ)をマッチし、fMRI の解析には SPM12(Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK)を用いた。

【結果】TD (n = 28、29.4 ± 6.9 歳), ASD (n =22、30.4 ± 6.2 歳)が解析対象となった。

行動解析より、ASD において、損得勘定に関する柔軟性が低下していることが示された（$p < 0.05$）（図 1）。情状酌量に関する意思決定に関しては、TD 群と ASD 群で有意な差を認めなかった。

また、ASD 群では TD 群と比較して、損得勘定に関する意思決定を行なっている最中の左下前頭回の脳活動が低下していた（図 2）

図1

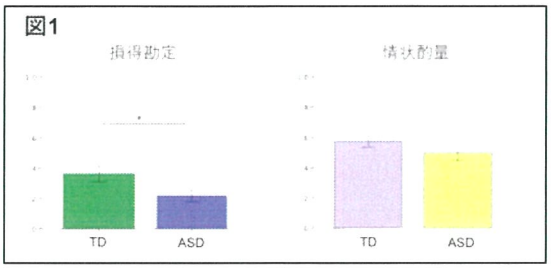
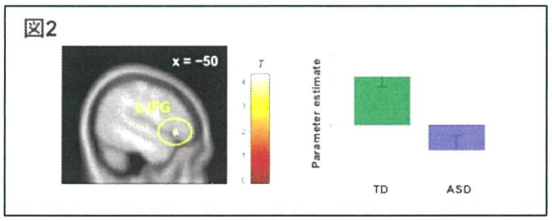


図2



【考察および今後の展望】

ASD では、特に、損得勘定を考慮した意思決定に変調があり、その神経基盤に左下前頭回を中心とした神経ネットワークの関与が示唆された。今後、課題 fMRI のみならず、安静時脳活動・灰白質体積および白質線維の統合性との関連についても調べることで、同疾患群の心理社会的介入、新規治療法開発の基盤としたい。

【参考文献】

1. Farmer GD, Baron-Cohen S, Skylark WJ (2017) People with autism spectrum conditions make more consistent decisions. *Psychol Sci* 28:1067–1076.
2. Fujino J, Tei S, Hashimoto RI et al (2017) Attitudes toward risk and ambiguity in patients with autism spectrum disorder. *Mol Autism* 8:45.
3. Tei S, Fujino J, Itahashi T et al (2019) Egocentric biases and atypical generosity in autistic individuals. *Autism Res* 12:1598–1608.
4. Fujino J, Tei S, Itahashi T et al (2020) Impact of past experiences on decision-making in autism spectrum disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 270:1063–1071.

分担研究課題名
発達障害の聴覚情報処理特性に応じた治療法の確立をめざす臨床的基盤研究

分担研究者：高橋秀俊 [1,2,3]
1) 高知大学医学部寄附講座児童青年期精神医学
2) 国立精神・神経医療研究センター 精神保健研究所 児童・予防精神医学研究部
3) 国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター 先進脳画像研究部

緒言

本研究の目的は、発達障害や併存精神障害に関わる聴覚情報処理特性に応じた治療法の開発である。近年、都市化の進展やインターネットの普及などにより聴覚情報処理に関する環境的負荷はますます増している。発達障害や精神障害における聴覚情報処理の脆弱性は古くから報告されているが、ともに病因の異種性が大きいこと、発達障害における思春期・成人期発症精神障害の高い併存率のため、治療には個々の特性に応じたアプローチが必要である。そのため聴覚情報処理特性の簡便な生理学的評価法と、それを基に動物実験でも応用可能な神経生理学的マーカーを特定し、治療法の開発につなげる必要性は高く、このような成果は社会実装にもつなげやすい。

方法および結果

本分担研究課題では、これまで分担研究者らが主に多摩地域で行ってきたコホート研究の参加児童（ASD・定型発達）を対象として取得した、発達障害や併存精神障害に関連する臨床指標（精神医学的診断、定量的自閉症特性、精神症状、社会機能）、神経生理学的指標（聴覚性驚愕反応検査・ミスマッチ陰性電位・聴覚誘発脳磁界反応等）、アクチグラフを用いた行動動態指標、腸内・唾液内細菌などのデータをもとに、発達過程におけるASDの病態メカニズムの変遷を検討し、ASDや併存精神障害の発症や介入に有用な神経生理学的マーカーの同定を行う。有力なマーカーに関しては、マーモセットで皮質脳波やアクチグラフなどを用いて類似の指標を検証し、聴覚情報処理特性に関する神経生理学的指標や音環境調整法の確立に向けた研究に着手する。なお、本研究課題で行った研究は全て臨床研究に関する倫理指針及びヘルシンキ宣言の指針に基づく手続きを遵守し、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得ている。全ての被験者およびその保護者に対して研究の目的及び内容を十分に説明し書面によるインフォームド・コンセントを得て行われた。これまで倫理的な問題は特に生じていない。

2年度である令和3年度は、初年度にひき続きこれまでのコホート研究で得たデータを中心に英文論文発表にむけて解析を進めながら、マーモセットにおける脳皮質電位や行動動態に関するデータを主任研究者の一戸らと検討した。

これまで分担研究者らは、小さな聴覚刺激に対する聴覚性驚愕反応（ASR）の大きさやASRのピークの潜時などのASRの指標が、ASD特性や情緒・行動上の問題などの臨床指標[1]やアクチグラフで評価した身体活動動態[2]と関連することを報告してきたが、糞便・唾液内の様々な細菌叢と関連する結果も得つつある。

安静開眼時脳波において、α帯域の電位源は、右縁上回を中心とする右側頭頭頂接合部（心の理論などと関連）において、定型発達児に比べASD児で亢進していたが、1年後に有意差は認めなかった、そして、安静開眼時脳波において、ASD児は定型発達児に比べ、右側頭葉から前頭葉にかけてconnectivity (coherence)が有意に低下していたが、1年後に有意差は認めなかった。

音環境調整法の確立に向け、廊下側に壁のないオープンプラン教室を採用している小学校や僻地の小学校および児童精神科入院病棟などの視察を行い、建築音響工学に関する知見の応用について検討し、教職員のヒアリングなど行った。

考察および結論

ASD児に認める聴覚過敏性など低次知覚処理の非定型性を反映するASRの指標は、ASDの重要な臨床指標と関連するエンドフェノタイプ候補と考えられ[1]、開眼時脳波やアクチグラフで評価された身体活動動態、腸内・口腔内細菌叢の菌種など基礎研究に応用しやすい指標も同様にASDの有用な生物学的マーカーの候補と考えられた。特に安静開眼時脳波の活動源やconnectivityが、ASD児において非定型的な発達過程をたどる可能性が考えられ、感覚情報処理特性の発達状況に関連して簡便に測定できる指標の候補と考えられた。さらに、聴覚過敏のある子どもには、生活環境の中の音環境保全が簡便に実施でき有用である可能性が考えられた。今後、これらの神経生理学的指標の発達的変化を多次元的・総合的に評価しながら、マーモセットにおける類似の指標を用いて、発達過程におけるASDの病態メカニズムの変遷や、併存精神障害の発症や介入時期の予測への応用について主任研究者らと検討することで、非定型的なASDの臨床特性の発達に影響する脳内神経ネットワークを解明し、生活環境調整など、ASDの聴覚特性や併存精神障害への有効な支援法の開発につながると考えらえる。

参考文献

1) Takahashi H, Kamio Y. Acoustic startle response and its modulation in schizophrenia and autism spectrum disorder in Asian subjects. Schizophr Res. 2017; in press. doi: 10.1016/j.schres.2017.05.034.
2) Takahashi H, Nakamura T, Kim J, et al. Acoustic Hyper-Reactivity and Negatively Skewed Locomotor Activity in Children With Autism Spectrum Disorders: An Exploratory Study. Front Psychiatry. 9, 355, 2018.

2－7

Translational Research for developing of therapy of developmental disorder

Noritaka Ichinohe
National Institute of Neurological and Psychiatry

In 2021, we explored gene expression patterns during the development of a VPA-maternally administered ASD model marmoset and found that it showed a phenotype very close to that of human ASD, which was published in Nat Communication (Watanabe et al., 2021). In particular, analysis of 25 co-expression modules of aberrant genes revealed that differentially expressed genes in the model marmoset were similar to that of human ASD in modules associated with neurons, astrocytes, microglia, and oligodendrocytes. As opposed to previously developed rat and mouse models (e.g., Fmr1 KO, MeCP2 KO, and BTBR mice), only modules associated with at most two cell types are related to humans, suggesting that VPA-exposed marmosets are powerful translational research models for idiopathic ASD. In collaboration with group member Dr. Takahashi, we attached a 92-channel ECoG to a model marmoset and recorded brain activity under various sound stimulation paradigms. The results showed that the strength of predictive signals coming from the higher brain predominated actual sensory responses. In addition, based on discussions with the clinical group, we analyzed model animals using DTI and found that FA values, which indicate a decrease in myelin, were reduced. The ECoG data and DTI data were consistent well with human data. In order to develop ASD therapeutics further and to understand ASD pathophysiology, we will continue to compare and integrate studies of ASD model marmosets and human ASD.

2-8　脳神経疾患研究に資する霊長類モデル動物の作出と評価に関する基盤的研究

主任研究員　国立精神・神経医療研究センター
関　和彦

総括研究報告

1　研究目的

アルツハイマー型（AD)認知症の患者数は国内300万、また世界では1800万人と推測されている。また、広く認知症を含めると全国で500万人とも言われている。本研究では世界で初めてサルを用いた同疾患のモデル動物系統を確立し、発症と病態進行を反映するバイオマーカーを確立する目的である。3 つの変異を持つAPP遺伝子と2つの変異を持つPS1遺伝子とを併せ持つ早期発症型遺伝子改変 AD モデルマーモセットを作出し、生化学バイオマーカー（CSF、血中Aβ）及びアミロイドイメージング（PET)などによって遺伝子改変個体の表現型を発症前から評価し、ヒトーサル共通のバイオマーカーを確立して将来的な治療研究に有効なモデル動物ラインを確立する。次に、AD以外の認知症や、その他高次脳機能障害モデルサル研究を複数同時に規模の小さいNCNPで行う研究環境を実現するため、ウイルスベクター静注を用いた新たな疾患モデル動物作出方法を開発する。最後に、前年度から継続しているポリグルタミン病モデルマーモセットを対象としたヒトーサル間共通バイオマーカーの確立を目的とした研究を完結させる。

2　研究組織

主任研究者

関　和彦　国立精神・神経医療研究センター

分担研究者

加藤孝一　国立精神・神経医療研究センター

髙橋祐二　国立精神・神経医療研究センター

齊藤祐子　国立精神・神経医療研究センター

皆川栄子　国立精神・神経医療研究センター

高田昌彦　京都大学・霊長類研究所

永井義隆　大阪大学・大学院医学系

研究協力者

窪田慎治　国立精神・神経医療研究センター

小杉亮人　国立精神・神経医療研究センター

Roland Philipp　国立精神・神経医療研究センター

小泉昌司　国立精神・神経医療研究センター

中谷輝実　国立精神・神経医療研究センター

川野邊哲代　国立精神・神経医療研究センター

種田久美子　国立精神・神経医療研究センター

工藤もゑこ　国立精神・神経医療研究センター

YARON Amit　国立精神・神経医療研究センター

江川史朗　国立精神・神経医療研究センター

吉田純一郎　国立精神・神経医療研究センター

古本祥三　東北大学大学院サイクロトロンラジオアイソトープセンター

齊藤勇二　国立精神・神経医療研究センター

盆子原紘子　国立精神・神経医療研究センター

宮崎将行　国立精神・神経医療研究センター

武内敏秀　大阪大学・大学院医学系

張　暁曼　大阪大学・大学院医学系

小倉淳　国立精神・神経医療研究センター

菊地里美　国立精神・神経医療研究センター

中村泰子　国立精神・神経医療研究センター

三村京子　国立精神・神経医療研究センター

大谷暢子　国立精神・神経医療研究センター
宮本絵美　国立精神・神経医療研究センター

3　**研究成果**（非公開）

Intramural Research Grant (2-8) for
Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP
Basic research on the creation and evaluation of primate models for the study of neurological diseases
Principle investigator: Kazuhiko SEKI (NCNP)

Research Objective

The number of patients with Alzheimer's disease (AD) is estimated to be 3 million in Japan and 18 million worldwide. It is also estimated that there are as many as 5 million people in Japan with AD, including those with dementia more broadly. The purpose of this study is to establish the world's first animal model strain of AD in monkeys, and to establish biomarkers that reflect the onset and progression of the disease. The phenotype of the genetically modified individuals will be evaluated by biochemical markers (CSF, Aβ in blood) and amyloid imaging (PET) before the onset of disease to establish a common biomarker for human monkeys and to establish an effective model animal line for future therapeutic studies. Next, we will develop a new method of producing animal models of diseases using intravenous viral vectors in order to realize a research environment in which multiple studies on monkeys with dementia other than AD and other higher brain dysfunction models can be conducted simultaneously at NCNP on a small scale. Finally, we will complete the research that has been ongoing since the previous year to establish a common biomarker among human monkeys for the polyglutamine disease model marmoset.

This year's research topics include: 1) overall management and development of new animal models for disease, 2) phenotypic analysis of a monkey model of dementia by PET, 3) development of biochemical biomarkers for a monkey model of ataxia, 4) analysis of neuropathology in a monkey model of dementia, 5) development of biochemical biomarkers for a monkey model of dementia, 6) development of novel viral vectors for the generation of a monkey model of disease, and 7) search for common biomarkers for marmosets and humans. 4) Neuropathological analysis of monkey models of dementia, 5) Development of biochemical biomarkers for monkey models of dementia, 6) Development of novel viral vectors for creating monkey models of disease, and 7) Search for common biomarkers for marmosets and humans.

(Research result is not for public release.)

精神・神経疾患研究開発費 （課題番号）2-9

総括研究報告書

神経系難病の臨床開発促進におけるナショナルセンターの果たすべき研究基盤整備の検討

主任研究者：病院　臨床研究・教育研修部門　臨床研究支援部

中村治雅

1. 研究目的

難治性・希少性疾患においては、病態の解明が不十分であることや患者の希少性から、研究・治療法開発が進まない領域と言われている。

本研究は、国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）の研究支援部門に加え、医師・研究者、臨床研究中核病院および非中核病院の研究支援人員、行政・レギュラトリーサイエンスに精通した専門家で構成し、各専門家による現状分析と課題抽出を行い、NCNP が整備すべき神経系難病領域における Academic Research Organization（以下、ARO）としての役割、研究支援体制について提言する。

2. 研究組織

（主任研究者）
中村　治雅
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　臨床研究支援部

（分担研究者）
小牧　宏文
国立精神・神経医療研究センター　トランスレーショナル・メディカルセンター

小居　秀紀
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　情報管理・解析部

石塚　量見
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　臨床研究支援部

波多野　賢二
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　情報管理・解析部
データマネージメント室

大庭　真梨
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　情報管理・解析部
生物統計解析室

立森　久照
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　情報管理・解析部

有江　文栄
国立精神・神経医療研究センター　病院　臨床研究・教育研修部門　臨床研究支援部　倫理相談・教育研修室

髙橋　祐二
国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経内科

水野　勝広
国立精神・神経医療研究センター病院　身体リハビリテーション部

清水　忍
名古屋大学医学部附属病院　先端医療開発部

浅田　隆太
岐阜大学医学部附属病院　先端医療・臨床研究推進センター

成川　衛
北里研究所・北里大学薬学部臨床医学（医薬開発学）

3. 研究結果

本研究においては、各領域における専門性を生かし以下の通り分析、検討した。

- TMC 臨床研究支援部・情報管理解析部の支援状況に関する検討（中村、小居、石塚、波多野、大庭、立森、有江）

主任研究者、分担研究者により、NCNP が主導する研究所シーズの First in Human 試験を含む医師主導治験支援（NS−069/NCNP-01, NS-089, OCH 等）、NS−069/NCNP-01（ビルトラルセン）の早期条件付き承認支援に加え、新たに慢性疲労症候群に対するリツキシマブの医師主導治験の準備、他機関主導（東京女子医大）の多施設共同医師主導治験（福山型筋ジストロフィー患者を対象とした医師主導治験）の ARO 支援を開始した。さらに、医師主導治験、特定臨床研究のみでなく薬事制度化での活用を視野に入れたリアルワールドデータ（RWD：レジストリ、コホート研究、EHR など）の構築・利活用支援（Remudy-DMD、DMD 自然歴、精神疾患レジストリなど）に続き、新たに J-CAT PRIME(脊髄小脳変性症レジストリ、製造販売後調査への活用が期待される)についても積極的に支援を行なっている。医薬品等開発支援において非介入研究から介入研究までの幅広い研究を支援、各種 SOP の整備、NCNP 内の QMS 体制整備のための病院臨床研究マネジメント委員会運用も開始していることは、NCNP として大きな強みであると考えられる。

なお、主任研究者、分担研究者は AMED 研究等においても、医師主導治験、レジストリ構築・データ利活用研究の品質管理・QMS（Quality Management System）の整備、実装に関わっており国内においても重要な支援体制が構築されている。

生物統計関連支援では、上記研究支援のみでなく方法論（ベイズ流の逐次的なモニタリング、アダプティブ・ランダム化）の提示、さらに本年度から神経系難病または希少疾患に特有の課題とその解決策を検討するための委員会を起ち上げた（首都圏国立高度専門医療研究センター、東京大学医学部附属病院，北海道大学病院の生物統計家から構成)。

生命・研究倫理支援についても年間 50 件以上の相談を受け付けた。相談支援は継続するとともに、共通した相談課題について取りまとめる予定である。

これらの実績、人員体制は、国内における特定領域（希少疾患、神経難病）の臨床研究中核病院 ARO として求められる機能と合致すると考えられる。今後の支援強化が必要な点は、多施設共同医師主導治験（小規模多施設共同は支援中)、他施設主導医師主導治験、大規模レジストリ・コホート研究支援であるが、これらも現在着手している。支援人員については十分ではないものの、他中核病院との連携も視野に入れつつ体制整備を継続する。また、希少疾患・神経難病特有の生物統計学的問題や生命倫理的課題は、NCNP が積極的に提言すべきと考えられる。

- NCNP 研究者、臨床研究・治験実施者としての検討（小牧、髙橋）

NCNP 研究者、企業関係者等のインタビューを踏まえ、ARO 機能として、臨床研究教育研修の充実、研究早期からの支援（プロジェクトマネジメント)、データセンターとしてのレジストリ支援、レジストリの学会連携推進・バイオリソース連携等挙げられた。また神経系難病のレジストリ現状分析が行われ、「未診断疾患イニシアチブ IRUD」、「運動失調症の患者レジストリ J-CAT」、「パーキンソン病発症予防のための運動症状発症前 biomarker の特定研究(J-PPMI)」が順調に実施、さらに薬事制度化の活用を見据えた J-CAT PRIME が ARO 支援の元で順調に開始されていることは、NCNP ARO としての強みであると考えられた。

- 身体機能評価の標準化および評価者育成等についての検討（水野）

ALS、パーキンソン病・症候群、脊髄小脳変性症、筋ジストロフィー評価法を整理統一し NCNP 内で電子カルテ上へのデータセット作成・運用開始、標準的バランススケール（Balance Evaluation Test: BESTest）の脊髄小脳変性症の最小可検変化量算出、パーキンソン病すくみ足評価法の日本語版作成・発表、Box and Block Test のデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者での連続的評価の実施可能性確認を行った。これらは神経系難病の身体機能評価を多く経験する NCNP の強みであり、今後は国内の均てん化に向け統一手順書等の作成、講習会の実施など含めて国内外への発信を行う予定である。

- 外部支援機関からの検討（浅田、清水）

臨床研究中核病院、非中核病院の神経系難病への ARO 支援状況が報告され、研究者が求める支援内容と、ARO として提供可能な支援内容・方策について、意見交換を行った。NCNP に期待する点として小児神経領域と神経内科領域の研究分野交流促進、精神・神経疾患患者への臨床研究・治験情報提供窓

ロ（リクルート機能含む）、海外研究グループとの橋渡し、レジストリ・バイオバンク SOP 策定、ゲノム・オミックスデータなどのバンキング、上記データの企業提供手順策定、Patient and Public Involvement 推進、外部参入可能な NCNP 独自の研究費等が挙げられた。特に臨床試験・治験患者リクルート促進、レジストリ等研究基盤構築、研究スタートアップ資金提供などは強く期待された。主任研究者と共同し、脳神経内科医、小児神経科医に向け学会とも連携したアンケート調査概要を策定し、ウェブアンケート作成終了、来年度実施予定である。

- 行政、レギュラトリーサイエンス的検討（成川）

昨年度に続き、今年度は米国 NIH（国立衛生研究所）による希少疾病用薬等の開発促進に向けた取組みに関する情報を、NIH のウェブサイトや発出文書、文献等に基づいて収集し、整理した。また、昨年度に引き続き、商用データベース（明日の新薬）を用いて神経系難病に対する新規医薬品等の開発状況を調査した。

米国 NIH の National Center for Advancing Translational Sciences（NCATS）における様々な疾患分野におけるトランスレーショナルリサーチの促進・サポート業務、中でも Therapeutics for Rare and Neglected Disease（TRND）プログラムによる希少疾病に対する新規治療薬等の早期の IND 申請を目指した非臨床試験の最適化などの研究者との共同作業の状況が確認できた。アカデミア創薬シーズの早期の臨床入り（治験の開始）のためには、資金的なサポートの他、開発プログラムを的確かつ効率的に進めていくための知識や技術の利用可能性が重要な役割を果たす。今後のナショナルセンターの機能・役割を考えていく上で検討していくべき事項と考えられた。

指定難病のうち、「神経疾患の医療ニーズ調査（第 2 回）」（2018 年度）において「新規治療法の開発が急務な疾患・症候」の上位 10 疾患に含まれた以下の 8 疾患を調査対象とし、商用データベース及び希少疾病用医薬品等の指定品目リストを検索した結果、国内での臨床開発が Phase Ⅱ以降に進んでいる品目又は希少疾病用医薬品等の指定を受けている品目（再生医療等製品を含む）として、筋萎縮性側索硬化症 5 品目、パーキンソン病 2 品目、多系統萎縮症 1 品目、脊髄小脳変性症 3 品目、筋ジストロフィー4 品目が確認できた。一方、調査対象 8 疾患のうち、進行性核上性麻痺、プリオン病、前頭側頭葉変性症については、該当する開発品目は確認できなかった。

- NCNP の神経難病領域における研究開発戦略策定についての調査（中村）

NCNP における神経難病領域の今後の開発戦略を検討する上で、昨年度の NCNP の論文数、開発実績、市場性などからの戦略ポートフォリオ作成に続き、クラリベイト株式会社（「Clarivate」）の持つ Cortellis Clinical Trials Intelligence (CTI)等活用し、海外で研究開発が進んでいるが日本で開発が進んでいない神経疾患を特定、それらのパイプラインデータ一覧を作成した（別紙参照、非公開資料）。本資料は、今後の NCNP 開発戦略策定にとっての重要な資料と考えられる。

- 今後の研究の進め方について

本年度の NCNP の現状分析を元に、希少疾患・神経難病における臨床研究中核病院としての果たすべき役割と整備すべき事項をまとめる。

来年度は、学会、製薬関連団体との情報共有、情報交換を含めて連携、学会等と協力した脳神経内科医、小児神経科医に対してのアンケート調査も予定する。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】

- Takahashi Y, Mizusawa H. Initiative on Rare and Undiagnosed Disease in Japan. JMA J.4(2):112-8. doi:10.31662/jmaj.2021-0003
- Nakamura K, Ozawa H, Shibata T, Ushirozawa N, Hata T, Okita N, Fuse N, Sato N, Ikeda K, Hanaoka H, Maruyama T, Wada M, Shimizu S, Kasai H, Yamamoto Y, Sakurai J, Todaka K, Tashiro S, Yamamoto H. Survey Results and Recommendations from Japanese Stakeholders for Good Clinical Practice Renovation. Ther Innov Regul Sci. 2021 Nov; 1-10. doi: 10.1007/s43441-021-00350-4
- Ben Yaou R, Yun P, Dabaj I, Norato G, Donkervoort S, Xiong H, Nascimento A, Maggi L, Sarkozy A, Monges S, Bertoli M, Komaki H, Mayer M, Mercuri E, Zanoteli E, Castiglioni C, Marini-Bettolo C, D'Amico A,

Deconinck N, Desguerre I, Erazo-Torricelli R, Gurgel-Giannetti J, Ishiyama A, Kleinsteuber KS, Lagrue E, Laugel V, Mercier S, Messina S, Politano L, Ryan MM, Sabouraud P, Schara U, Siciliano G, Vercelli L, Voit T, Yoon G, Alvarez R, Muntoni F, Pierson TM, Gómez-Andrés D, Reghan Foley A, Quijano-Roy S, Bönnemann CG, Bonne G. International retrospective natural history study of LMNA-related congenital muscular dystrophy. Brain Commun. 2021 Apr 11;3(3):fcab075.

- Komaki H, Takeshima Y, Matsumura T, Ozasa S, Funato M, Takeshita E, Iwata Y, Yajima H, Egawa Y, Toramoto T, Tajima M, Takeda S. Viltolarsen in Japanese Duchenne muscular dystrophy patients: A phase 1/2 study. Ann Clin Transl Neurol. 2020 Dec;7(12):2393-2408.
- Sugimoto M, Kuru S, Takada H, Horie R, Yamauchi K, Kubota T, Matsumura T, Nakamura H, Kimura E, Takahashi MP. Characteristics of myotonic dystrophy patients in the national registry of Japan.J Neurol Sci. 2021 Dec 11;432:120080. doi: 10.1016/j.jns.2021.120080. Online ahead of print.PMID: 34923335
- Yoshioka W, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, Yoshida S, Ishihara N, Nishino I, Nakamura H, Mori-Yoshimura M.. Extra-muscular manifestations in GNE myopathy patients: A nationwide repository questionnaire survey in Japan. Clin Neurol Neurosurg. 2022 Jan;212:107057. doi: 10.1016/j.clineuro.2021.107057. Epub 2021 Nov 25.PMID: 34871992
- Matsumura T, Takada H, Kobayashi M, Nakajima T, Ogata K, Nakamura A, Funato M, Kuru S, Komai K, Futamura N, Adachi Y, Arahata H, Fukudome T, Ishizaki M, Suwazono S, Aoki M, Matsuura T, Takahashi MP, Sunada Y, Hanayama K, Hashimoto H, Nakamura H. A web-based questionnaire survey on the influence of coronavirus disease-19 on the care of patients with muscular dystrophy. Neuromuscul Disord. 2021 Sep;31(9):839-846. doi: 10.1016/j.nmd.2021.04.008. Epub 2021 May 7.PMID: 34462178 Free PMC article.
- Hama M, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP, Takada H. Metabolic complications in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional survey using the National Registry of Japan. J Neurol Sci. 2021 Aug 15;427:117511. doi: 10.1016/j.jns.2021.117511. Epub 2021 May 27.PMID: 34082146
- Asada R, Shimizu S, Nakamura H, Ono S, Yamaguchi T. Comparison of Successful and Unsuccessful Cases of New Drug Approvals Based on the International Council on Harmonization E5 Guidelines in Japan. Clin Pharmacol Drug Dev. 2021 May;10(5):434-439. doi: 10.1002/cpdd.942. Epub 2021 Mar 30.PMID: 33787062
- 近藤 夕騎, 望月 久, 加藤 太郎, 鈴木 一平, 板東 杏太, 滝澤 玲花, 吉田 純一朗, 西田 大輔,水野 勝広；日本語版 Characterizing Freezing of Gait questionnaire（C-FOGQ）の作成. Jpn J Rehab Med, 58 巻 2 号, 208-214
- 加藤 太郎, 板東 杏太, 有明 陽祐, 勝田 若奈, 近藤 夕騎, 小笠原 悠, 西田 大輔, 水野 勝広；歩行可能な脊髄小脳変性症患者の運動失調に対する短期集中リハビリテーション治療―Scale for the Assessment and Rating of Ataxia の総得点と下位項目得点による検証―Jpn J Rehab Med, 58 巻 3 号, 326-332

【図　書】

中村治雅. 医学書院. ＣＲＣテキストブック 各領域の臨床試験の特徴　精神・神経疾患. 2021. 317-319

【出　願】　なし

【取　得】　なし

神経系難病（小児神経領域）の臨床開発促進のための研究者からの課題検討

国立精神・神経医療研究センター
トランスレーショナル・メディカルセンター
小牧宏文

緒言

国立高度専門医療研究センターの今後の在り方検討会報告書（2018年12月）では国立精神・神経医療研究センター（NCNP）は国内の中心的機関として特に難病患者等、担当領域のナショナルデータベースの整備を進め、希少疾患・難病の国際的拠点をめざすべきであることが示されている。既存の臨床研究中核病院や製薬企業等では進まない神経難病領域でNCNPが取り組むべき支援方策、研究基盤のあり方について提言する。

方法

今年度は文献検索、並びに同僚の小児神経科医、企業関係者等へのインタビュー、主任研究者によって実施された、NCNPにおける神経難病領域の研究開発戦略の策定に関する調査報告書を参考に、課題整理を行った。

結果

小児神経疾患は、単一遺伝子変異による希少疾病、難治性疾患が非常に多く、小児神経領域の希少疾病で現在活発に臨床開発が行われているデュシェンヌ型筋ジストロフィー、ならびに脊髄性筋萎縮症はNCNPが得意としている疾患であるが、今後はより多くの疾患に焦点が得られる可能性が高い。海外のシーズ、企業主体で開発が行われているものにコミットしている場合が大半であるが、国内での開発を推進するために、NCNP内外向けにコンサルテーション機能があるとよいと考えた。

臨床試験を検討する際の課題としては、疫学情報の不足、被験者組み入れの難易度が高い、目的に応じた試験デザインの設定が重要などの課題があり、プロジェクトマネジメントを含めて研究早期の段階から支援できると理想的である。

NCNP では神経筋疾患レジストリであるRemudyを2009年以来運営しているが、そのノウハウを活かして、内外の研究者へのノウハウ、基盤を提供できるとよいと思われる。具体的には構築に関するコンサルテーション機能、フォーマットが提供できるとよい。さらに今後はレジストリとバイオリソースの連携が重要となってくると思われ、情報管理連携を含む体制構築が検討課題である。

独自のシーズ開発という観点での検討としては、核酸医薬について基礎、臨床両面において NCNP で開発経験を有しており、核酸医薬を用いて究極の個別化医療を提案できるポテンシャルを有するので体制を進めていく価値がある。NCNP内で研究所との連携を強化できるとよい、その次に NCNP 外部研究者との連携。先進医療を進めるという観点で病院機能の充実も今後の課題としてあげられる。

考察

これらを踏まえて現段階で ARO に求める機能としてまとめてみた。

・教育・研修機能の充実、特に精神・神経領域、難病領域を念頭においた臨床研究の教育プログラムを提供できるとよい

・研究を早期から一貫して進める支援体制、プロジェクトマネジメント

・レジストリに関して NCNP がデータセンターとして機能することで貴重な患者データを安定的に維持、利活用することができるのではないか

個々の希少疾病から疾患群毎のレジストリを学会などと連携し進める

個々の疾患に応じ、目的を定めて作る

バイオリソースと連携したものであればよりよいものとなる

結論

今年度の検討を踏まえ、最終年度である次年度で小児神経領域としての提言ができるように研究を進める。

神経系難病の臨床開発促進のための品質管理、QMS に関する開発支援策の検討

国立精神・神経医療研究センター
病院　臨床研究・教育研修部門
情報管理・解析部
小居　秀紀

緒言

日本では、クリニカル・イノベーション・ネットワーク構想のもと、疾患レジストリ等の医療リアルワールドデータ（RWD）の薬事制度下（治験対照群、製造販売後の長期有効性確認・安全性監視）での利活用の検討が進んでいる [1,2]。また、米国では、「21st Century Act」[3]において臨床試験の合理化等による薬事承認迅速化の課題として取り上げられ、適応拡大の承認審査の際に医療 RWD が用いられる事例も出てきている。さらに、医薬品規制調和国際会議（ICH）では、「GCP Renovation（E8、E6 ガイドラインの刷新・見直し）」[4]の取り組みが開始され、医療 RWD の薬事制度下での利活用がさらに推進すると思われる。ただし、新規医薬品シーズでの成功事例はほぼなく、国立精神・神経医療研究センター（NCNP）では、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するビルトラルセンの薬事承認取得、その際の「医薬品の条件付き早期承認制度」[5]の指定等、ノウハウ・経験がある。この分野の課題や対応策を整理し提言することは、日本における難治性・希少疾患領域の研究開発が加速することにつながるもので、本研究課題の意義は大きいと考える。

方法

以下の日本医療研究開発機構（AMED）研究、国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部（JH）支援研究、並びに NCNP トランスレーショナル・メディカルセンター（TMC）情報管理・解析部としての、医師主導治験、特定臨床研究、レジストリ構築研究等の研究支援活動を通じて、神経系難病の臨床開発促進のための品質管理、品質マネジメントシステム（QMS）に関する開発支援策の検討を実施した。

1）AMED 難治性疾患実用化研究事業、「未診断疾患イニシアチブ（IRUD）：希少未診断疾患に対する診断プログラムの開発に関する研究（研究開発代表者：水澤英洋）」・研究協力者、令和 3 年度～令和 4 年度

2）AMED 橋渡し研究戦略的推進プログラム、「デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する新規配列連結型核酸医薬品の医師主導治験（研究開発代表者：青木吉嗣）」・研究開発分担者、令和元年度～令和 3 年度

3）AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業、「患者レジストリデータを活用した，臨床開発の効率化に係るレギュラトリーサイエンス研究（研究開発代表者：柴田大朗（国立がん研究センター）」・研究開発分担者、令和元年度～令和 3 年度

4）AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業、「リアルワールドエビデンスの薬事制度化での利活用促進と国際規制調和に向けての課題整理と国内におけるあるべき体制の提言に向けた研究（研究開発代表者：中村治雅）」・研究開発分担者、令和 3 年度～令和 4 年度

5）国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部（JH）支援研究、「6NC 連携によるレジストリデータの活用基盤の構築事業（研究代表者：杉浦亙（国立国際医療研究センター）」・共同研究者、令和元年度～令和 3 年度

結果

① 医師主導治験に係る品質管理・QMSの整備・実装

QMS実装の前提となる医師主導治験のSponsor機能（治験の準備、管理）に関する、NCNP-AROの担当者の役割・業務内容に関する標準業務手順書（SOP）を、2020年10月に制定したが、その妥当性について引き続き検討した。また、臨床研究法下で実施する特定臨床研究のQMS体制整備の一環として整備した病院臨床研究マネジメント委員会の役割として追加した、医師主導治験におけるプロトコル逸脱・被験者安全性確保に係る是正措置・予防措置（CAPA）管理に関して運用を開始した。

② レジストリ構築研究・レジストリデータ利活用研究に係る品質管理・QMSの整備・実装

AMED・中村班、AMED・柴田班、並びにJH・杉浦班等の活動を通じ、医薬品医療機器総合機構（PMDA）、日本製薬工業協会、日本医療機器産業連合会、再生医療イノベーションフォーラム、日本製薬医学会とも協業し、神経系難病領域等の希少疾患におけるレジストリ等の薬事制度下での利活用（治験外部対照群、条件付早期承認制度の条件解除のための製造販売後長期有効性・安全性確認）に関連し、GCP Renovationの国内導入時の課題整理、レジストリ構築研究に係るQMSのあり方等の検討、実務支援のための課題整理や支援資材の作成・公開を実施した。AMED・柴田班「品質マネジメントシステムのあり方及び留意事項の検討」分担班（分担班代表：小居秀紀）では、PMDAから2021年3月23日に発出された2つのガイドラン[6,7]を踏まえ、最終の成果物として、レジストリ保有者に対する「レジストリデータを医薬品等の承認申請資料等として活用する場合におけるデータの信頼性担保に資する運営・管理に関する留意点」を作成した。NCNPにおいては、その文中に別紙として整理した「レジストリの設計、運用に関する事項（レジストリ保有者が備える手順書等の例）で求めている記載すべき事項[8]の概要と代替SOP等規定類の例の対比表」を参考に、「歩行可能なデュシェンヌ型筋ジストロフィーの自然歴研究（DMD自然歴研究）（研究代表者：竹下絵里）」及び「デュシェンヌ型筋ジストロフィーを対象とした新たな患者レジストリを構築するための研究（Remudy-DMD）（研究代表者：中村治雅）」において、レジストリデータの薬事制度下での利活用、企業での二次利用・第三者提供（研究対象者個別データ提供）のプロセスの検討を実施した。特に、DMD自然歴研究においては、代替SOP等規定類の対比表を事前提出資料とし、レジストリデータ提供を前提とする申請者となる製薬企業の実地による信頼性調査対応を行い、実際に外部対照を目的とした自然歴データ（研究対象者個別データ）の提供を実施した。また、Remudy-DMDにおいては、PMDAレジストリ活用相談の資料として、代替SOP等規定類の対比表をベースとした資料（添付資料1）を作成し、それを基に協議した。

③ 活動成果の学会等での発表・啓発

これらの活動の成果を、日本臨床薬理学会学、DIA日本年会、AMED・柴田班主催のシンポジウム、レジストリフォーラム等で、現状と課題、今後の方向性等を発表し、その推進について啓発した。

【学会等での発表（シンポジウム・国内）】

1. 小居秀紀, 日本における治験環境改善への取り組みー国立高度専門医療研究センターの活動を中心にー. 第4回日本臨床薬理学会北海道・東北地方会, 2021年6月
2. Hideki Oi, Utilization of registry data for regulatory application～Focusing

on the activities of National Center of Neurology and Psychiatry～, 18th DIA Japan Annual Meeting 2021, October, 2021

3. 小居秀紀, レジストリデータの薬事制度下での利活用. 第 42 回日本臨床薬理学会学術総会, 2021 年 12 月
4. 小居秀紀, 研究班での検討内容の実装例：国立精神・神経医療研究センターの事例, AMED 研究班シンポジウム「臨床開発の効率化を目指した患者レジストリの活用：データ利活用のための留意点と課題」. 2022/1/26, Web 開催（東京）

考察

神経系難病領域の臨床開発では、対象患者集が少なく、検証的治験での対照群設定が困難な場合も多く、条件付き早期承認制度も見据えた、疾患レジストリを中心とした医療 RWD の薬事制度下での利活用（治験外部対照群、製造販売後の長期の有効性確認と安全性監視）の方策が検討されている。一方、早期探索的治験では、医師主導治験のスキームでの治験実施が基本であり、より効率的かつ質の高い医師主導治験の実施が期待される。

現行の ICG E6（R2）で明記された QMS やそれに基づく品質管理活動は、今後の GCP Renovation においても議論の根幹となると考えており、本研究課題における具体的な医師主導治験、レジストリ構築に関する主たる研究で抽出した課題や解決策に基づき、その具体的な運用・管理体制、企業での二次利用・第三者提供の手法・手続き等を提言することで、日本における難治性・ 希少疾患領域の研究開発が加速し、海外と同様 に多くのオーファンドラッグ開発、エビデンス創出が実現できる体制構築につながるものと考える。

結論

令和 3 年度の本検討課題の成果として、①医師主導治験に係る品質管理・QMS の整備・実装においては、2020 年 10 月に制定した医師主導治験の Sponsor 機能（治験の準備、管理）に関する SOP に関して、その妥当性について引き続き検討した。また、臨床研究法下で実施する特定臨床研究の QMS 体制整備の一環として整備した病院臨床研究マネジメント委員会の役割として追加した、医師主導治験におけるプロトコル逸脱・被験者安全性確保に係る是正措置・予防措置（CAPA）管理に関して運用を開始した。

また、②レジストリ構築研究・レジストリデータ利活用研究に係る品質管理・QMSの整備・実装においては、AMED・中村班、AMED・柴田班、並びにJH・杉浦班との検討と連携し、特に、DMD自然歴研究において、レジストリデータの薬事制度下での利活用、企業での二次利用・第三者提供（研究対象者個別データ提供）を実現し、また、Remudy-DMDにおいては、PMDAレジストリ活用相談の資料として、代替SOP等規定類の対比表をベースとした資料（添付資料1）を作成した。

さらに、③これらの活動の成果を、日本臨床薬理学会学、DIA日本年会、AMED・柴田班主催のシンポジウム、レジストリフォーラム等で、現状と課題、今後の方向性等を発表し、その推進について啓発した。

参考文献

1) 小居秀紀, 中村治雅, リアルワールドデータの医薬品等の承認審査、製造販売後安全性監視に関する薬事制度下での利活用の進展, 薬剤疫学, 24 (1)：2-10, 2019.
2) 中村治雅, 武田伸一, クリニカル・イノベーション・ネットワーク, 整形・災害外科, 61 (4)：419-424, 2018.
3) U.S. Food and Drug Administration.

21st Century Cures Act. URL: https://www.fda.gov/regulatoryinformation/lawsenforcedbyfda/significantamendmentstothefdcact/21stcenturycuresact/default.htm

4) The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH). ICH Reflection on "GCP Renovation": Modernization of ICH E8 and Subsequent Renovation of ICH E6、January 2017. URL: https://www.ich.org/products/gcp-renovation.html

5) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長、医薬品の条件付き早期承認制度の実施について、薬生薬審発 1020 第 1 号: 平成 29 年 10 月 20 日.

6) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長／厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長、「承認申請等におけるレジストリの活用に関する基本的考え方」について、薬生薬審発0323第1号／薬生機薬審発0323第1号: 令和3年3月23日.

7) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課長／厚生労働省医薬・生活衛生局医療機器審査管理課長、「レジストリデータを承認申請等に利用する場合の信頼性担保のための留意点」について、薬生薬審発0323第2号／薬生機薬審発0323第2号: 令和3年3月23日.

8) 柴田大朗, AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業研究開発課題名：患者レジストリデータを用い，臨床開発の効率化を目指すレギュラトリーサイエンス研究「患者レジストリデータを医薬品等の承認申請資料等として活用する場合におけるデータの信頼性担保に関する提言」Jpn Pharmacol Ther（薬理と治療），vol. 47, suppl.1, 2019.

添付資料１

研究課題名：デュシェンヌ型筋ジストロフィーを対象とした新たな患者レジストリを構築するための研究（Remudy-DMD）

研究代表者：国立研究開発法人　国立精神・神経医療研究センター　中村　治雅

2021年12月6日作成

番号	該当文書 ／ レジストリに係る業務手順書	レジストリ保有者 規定			機関SOP				EDC関連（システム固有）																
		神経筋疾患先端医療推進協議会（CareCure-NMD）　規約	CareCure-NMD　運営委員会運営要綱	CareCure-NMD　情報提供審査委員会運営要綱	TMC・SOP-DM-001　データマネジメント業務、モニタリング業務担当者の教育研修に関するSOP	TMC・SOP-DM-002　データマネジメント業務に関するSOP	TMC・SOP-DM-003　データマネジメント業務における電磁的記録媒体の保存に関するSOP	TMC・SOP-DM-004　モニターリストの発行に関するSOP	EDCシステム運用に関する業務手順書　eClinical Base用	eClinical Baseユーザ管理手順書	EDCシステムベンダー調査に関する業務手順書	TRIシステムベンダー調査計画書	TRIシステムベンダー調査報告書	eCliniacl Baseトレーニング計画書 *開発担当者等を対象としたもの	eClinical Baseバリデーション計画書	eClinical Baseバリデーション報告書	eCB変更管理計画書	eClinical Baseサービス品質合意書	eCB NCNP専用環境　IQ計画書	eCB NCNP専用環境　IQ報告書	eCB NCNP専用環境　PQ計画書	eCB NCNP専用環境　PQ報告書	eCB NCNP専用環境　OQ計画書	eCB NCNP専用環境　OQ報告書	eCBリリースノート
①	コンピュータシステムの運用管理に関する手順										●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●
②	入力者（レジストリ）/利用者（DB）へのアカウント発行手順・教育手順					●			●	●															
③	医療機関におけるEDCの入力手順（レジストリの場合）								●	●															
④	システムの品質管理手順					●			●																
⑤	データ品質管理手順（モニタリングを実施している場合はその手順を含む）																								
⑥	データ品質管理手順のうち、レジストリ保有者又はDB事業者が実施するデータクリーニングやコーディング手順					●																			
⑦	品質保証手順																								
⑧	利活用者からの依頼に基づくデータ抽出の手順	●	●	●																					
⑨	記録の保存に関する手順	●	●	●		●																			
⑩	個人情報の取扱い、倫理面への配慮等																								
⑪	その他				●			●																	

番号	該当文書 ／ レジストリに係る業務手順書	DM関連（研究固有）												当該研究の個別文書											
		Remudy-DMD研究　データマネジメント計画書	Remudy-DMD研究　症例報告書の見本	Remudy-DMD研究　電子症例報告書の作成・変更又は修正の手引き	Remudy-DMD研究　症例報告書（紙媒体）の作成・変更又は修正の手引き	Remudy-DMD研究　データレビューマニュアル	Remudy-DMD研究　ロジカルチェック仕様書	Remudy-DMD研究　マニュアルチェックリスト	Remudy-DMD研究　開発計画書	Remudy-DMD研究　開発計画書（支援業務）	Remudy-DMD研究　設定要望書	Remudy-DMD研究　UAT計画書、UAT報告書	Remudy-DMD研究　レジストリデータ提供に関する手順書	Remudy-DMD研究　研究事業計画書	Remudy-DMD研究　運動機能評価手順書	スタートアップミーティングの記録	Remudy-DMD研究　説明文書	Remudy-DMD研究　同意文書	Remudy-DMD研究　アセント文書（低年齢用、高年齢用）	倫理審査結果通知書及び研究機関長実施許可書	モニタリングに関する手順書	モニタリング計画書	中央モニタリング計画書	監査の実施に関する手順書	監査計画書
①	コンピュータシステムの運用管理に関する手順								●	●	●	●													
②	入力者（レジストリ）/利用者（DB）へのアカウント発行手順・教育手順	●	●	●	●									●		●	●								
③	医療機関におけるEDCの入力手順（レジストリの場合）	●		●	●									●		●	●								
④	システムの品質管理手順	●							●	●	●	●		●											
⑤	データ品質管理手順（モニタリングを実施している場合はその手順を含む）	●	●	●	●	●	●	●						●	●	●					●	●	●		
⑥	データ品質管理手順のうち、レジストリ保有者又はDB事業者が実施するデータクリーニングやコーディング手順	●				●	●	●						●											
⑦	品質保証手順													●										●	●
⑧	利活用者からの依頼に基づくデータ抽出の手順	●											●	●			●								
⑨	記録の保存に関する手順	●											●	●			●				●	●	●	●	●
⑩	個人情報の取扱い、倫理面への配慮等													●			●	●	●	●					
⑪	その他																								

5

神経系難病の臨床開発促進のためのデータマネジメント部門における支援に関する検討

病院臨床研究・教育研修部門
情報管理・解析部
波多野賢二

緒言

情報管理・解析部データマネジメント室（当室）は、2013 年の発足以来、NCNP のみならず多施設も含めた多くの臨床研究・医師主導治験のデータマネジメント支援を行ってきた。神経系難病領域においても、臨床研究・医師主導治験合わせて 10 件の支援経験を有している（支援中の試験を含む）。本分担研究では、神経難病領域の臨床研究・治験のデータマネジメント支援の経験を踏まえ、当室が神経系難病の臨床研究開発の促進に果たすべき役割と解決すべき課題・ARO 他部門との連携の在り方等について、検討を行う。

方法

これまで行ってきた神経難病領域の研究のデータマネジメント支援の経験を踏まえ、当室が神経系難病の臨床研究開発の促進に果たすべき役割と解決すべき課題・ARO 他部門との連携の在り方等について、以下の通り検討を行う。

1. これまで実施した神経系難病の臨床研究・治験のデータマネジメント業務の内容を整理し、研究における本部門の果たしてきた役割を再整理する。
2. 前項で整理した当室の役割について、ARO 他部門との連携も含め、よりよい研究支援に資するための課題・問題点を抽出する。
3. それらを踏まえて、当室の望ましい将来像とそれに向けて必要なタスクについて整理・提言を行う

結果

R2 年度の本研究では、当室でこれまで実施した神経系難病の臨床研究・医師主導治験に対する支援業務の内容を整理した。支援業務に関する直近の課題として、以下の 3 点を抽出した。

1. 大規模レジストリ研究への対応
2. 長期間研究への対応
3. データセンター機能の拡充

今年度は、新たに以下の課題を抽出し、対応に取り組んでいる

・レジストリ研究特有の業務への対応

研究途中での、企業・研究者向けのデータ提供業務が度々発生しているため、手順を整備した上で対応を実施している。

・デジタルデバイスを活用する研究への対応

主に精神科領域であるが、ウエラブルデバイスからのデータ収集やプロクラム診断機器研究への支援等、従来とは異なるデジタルデータを直接扱う研究が増えている。EDC への CSV データ取り込み機能を整備するなど、対応を行っている。

・NCNP ARO 他部門との連携

NCNP ARO の一員として ARO 他部門と共同で対応する包括的な支援案件が増えており、PM・モニター・統計担当者と連携して対応を行っている。

考察

NCNP ARO の中でも、DM 部門は研究者と密接に連携し支援を実施する部門である。デジタル化で臨床研究・レジストリで取り扱うデータの種類・量も増えている中、本部門が果たしうる役割について、さらなる検討を行う予定である。

結論

データマネジメント部門これまで実施した

神経系難病の臨床研究・医師主導治験に対する支援業務の経験に基づき、果たすべき役割と課題に関して検討を行った。

英文概要

The Data Management Division of the Department of Clinical Epidemiology supports data management for clinical studies and trials in NCNP and other medical research facilities. In the area of rare nervous system diseases, we have supported over 10 clinical research and trials. The role that our division is promoting clinical research and development of rare nervous system diseases by collaboration with the NCNP ARO (Academic Research Organization) and other related research departments of NCNP. In this study we review our support work for clinical research and clinical trials of nervous system diseases and examine the issues to be solved for future improvements.

神経系難病の臨床開発促進のための生物統計における開発支援策の検討

国立研究開発法人
国立精神・神経医療研究センター
病院 臨床研究・教育研修部門
大庭真梨・立森久照

緒言

本研究の３年間の研究目標は,(1)希少疾患から構成される神経系難病を対象に効率的に臨床試験を行うための生物統計学的方法論の整備および (2)臨床試験実施上の，神経系難病または希少疾患に特有の課題とその解決策に精通した生物統計の専門家のネットワークの構築である。対象症例数が少ない,対照群の設定が容易ではないなどの神経系難病での臨床開発で特に問題となる点を踏まえて，当該領域の臨床開発促進のための生物統計的な観点からの開発支援策を検討する。

方法

本研究は次の2つの方法で実施する。

1. 希少疾患から構成される神経系難病を対象に効率的に臨床試験を行うための方法論の文献的検討
2. 臨床試験実施上の，神経系難病または希少疾患に特有の課題とその解決策に精通した生物統計の専門家のネットワークの構築

昨年度は主に1について，文献的な調査を行い，希少疾患から構成される神経系難病を対象に効率的に臨床試験を行うために活用できる可能性のある方法について整理した。

今年度は，希少疾患を対象とした臨床試験の実施経験の豊富な生物統計家からなる臨床試験実施上の神経系難病または希少疾患に特有の課題とその解決策を検討するための委員会を起ち上げ，それぞれの経験の共有と共通の課題を整理した。

結果

「希少疾患特有の統計的課題検討班」検討委員会を結成した。現在の委員会のメンバーは首都圏全ての国立高度専門医療研究センター（4箇所）と東京大学医学部附属病院，北海道大学病院に所属する生物統計家から構成されている。本委員会の活動目的は，(1)神経系難病または希少疾患などの臨床試験での経験や知識の共有，および（2）臨床試験実施上の神経系難病または希少疾患に特有の課題の整理と解決策の検討，である。委員会メンバーで臨床試験実施上の神経系難病または希少疾患を対象とした臨床試験の経験・知識を共有し，これらを対象とした臨床試験での論点整理を行い次のことが明らかになった。

1つ目の論点は，罹患者数と実現する研究デザインである。研究対象者数が少ない領域では，同時対照比較試験による精度の高い有効性の評価を短期的に実行することが困難である。現実の試験でも，実施可能性に応じた試験デザインが採用されていた。委員会で議論すべき代表的なデザインとしては，超希少疾患のfeasibility 試験，希少疾患の単群試験，希少疾患の並行群間比較試験，外部対照が置かれる単群試験が挙げられた。

開発対象の疾患に応じてどの試験によるエビデンスが要求されるかと実現可能性のバランスを考慮することが大事であるが，それぞれの試験で設定すべきestimandや試験デザイン上の生物統計学的なパラメータの設定は異なる上に必ずしも絶対的な基準はないため，これまで経験・知識の共有が非常重要で，今回の委員会のような生物統計家の

ネットワークでの情報共有の有用性が確認された。

2つ目の論点は，試験実施後を踏まえた戦略的な計画の必要性である。これは神経系難病または希少疾患に限った話しではないが，神経系難病または希少疾患では特に重要であることで意見が一致した。外部対照をおく，あるいは大きいαエラーを許容した試験の一つ目のゴールは，条件付き承認の取得をへて実用化に進むことであるが，実用化を並行しながら，条件付き承認制度5年～7年で検証的データが要求されており，条件付き承認を取得後に製造販売後比較調査を行う必要があるとの経験が共有された。

治療薬の画期性，極めて高い有効性が示された場合には，そのまま薬事承認が検討される可能性もあるため，安全性評価を中心とした早期・小規模の研究であっても有効性の評価指標についても適切な根拠をもって設定する必要がある。一方，小規模試験や妥当性が確立していないエンドポイントにおいて統計的有意差が示されなかった場合においても，患者さまの評価がよい場合には，疾患の重篤性や治療法の乏しさによっては，学会要望リストに掲載し，二課長通知に基づく承認に向けた活動が展開されるケースも存在する。治験実施までのプロセスとして，治療薬等の画期性，対象疾患の重篤性，対象疾患に係る極めて高い有効性が見込まれる場合には先駆的医薬品等指定制度（先駆け審査指定制度）を活用することで，薬事承認に係る相談・審査における優先的な取扱いの対象となり迅速な実用化が促される場合がある。

考察

特に神経系難病または希少疾患では並行群間比較試験による第3相試験からの実用化に限らない可能性のある出口を見据えて，生物統計学的な面も含めた試験計画を戦略的に考えることがとても大切で，そのために今回の委員会のような生物統計家のネットワークで経験や知識を共有，整理することに意味があると言える。

承認申請のプロセスでは実施可能な限り（無作為化）並行群間比較試験が求められる，または少なくとも試験計画を検討する際に一度は実施可能性を検討することになると思われる。しかし，神経系難病または希少疾患では，疾患の希少性に起因する試験組み入れ症例数が潤沢でないことが大きな制約であるため，そうした制約がない試験でのデザインを単純に参考とするだけでは解決できない点がある。頻度論に基づいて行う場合には，有意水準または検出力を調節することで，ある程度のエラー（第1種または第2種の過誤）を許容する代わりに試験の実施可能性を確保する必要が生じる。しかし，具体的にどこまで緩めることが許容されるかは個別性もあり，明確な基準はないため，目安などをこれまでの経験や開発状況の周辺知識を基に検討したい。ベイズ流の方法も活用できれば，組み入れ症例数が潤沢でない場合に一定の解決策となり得るが，その診療科の方法論の理解，周辺の類似疾患のエビデンスの使用可能性などに影響を受けるため，活用の際のハードルの高さも分野による個別性が大きい。

並行群間比較ができない場合は，レジストリを構築しておくことで，試験の実施可能性の検討や実施可能性そのものの向上が期待できる。しかし，その後の臨床試験での活用を具体的に考慮したレジストリ設計をしておかないとレジストリデータがどの程度試験で活用できるかが変わってくる点に注意が必要と思われる。レジストリデータを外部対象とした臨床試験での生物統計学的な論点が，AMEDの研究班で検討されており，その報告書が公表予定である。それも参考に次

年度に検討委員会で，レジストリ構築時に留意すべき点，活用方法，そしてレジストリデータだけでは解決が難しい点とその対処法などについて検討できればと考えている。

結論

臨床開発における統計解析のガイドラインなどはあるが，それを当該領域でどのように適用・応用するかは領域ごとの特徴を考慮した検討が必要とされる。神経系難病または希少疾患での臨床開発で特に問題となる点を踏まえた当該領域の臨床開発促進のための生物統計的な観点からの開発支援策の検討するための生物統計専門家のネットワークを構築できた。このネットワークを通じて，レジストリ設計への提案や生物統計家の本ネットワーク内での効果安全性評価委員や独立した統計チームとしての研究への参画の可能性などについて引き続き検討を続けて，委員会からの提案をまとめたい。

文献

なし

神経系難病の臨床開発促進のための生命倫理に関する支援

国立精神・神経医療研究センター
臨床研究支援部　倫理相談・教育研修室
有江文栄

緒言

国内では、医学系研究における研究倫理支援に関する調査が行われ、研究倫理基盤の整備を目的とした研究が進み、研究倫理支援の在り方などが示されている。しかし、それは特定の疾患領域に特化したものではなく、特に開発が遅れている難治性・希少疾患領域の研究倫理支援に焦点を当てたものはない。海外においても、この特定疾患における研究倫理支援について、どの程度体制が整えられているか明らかではない。

本分担研究の目的は、難治性・希少疾患研究領域の倫理的課題、倫理支援の取り組みや体制に関する現状調査を行うとともに、これまでの研究倫理相談の事例の調査、今後の研究倫理相談実践を通して、事例を集約・整理し、共通のニーズや問題を抽出し、対応策について検討する。これら調査・分析を行った上で、今後の研究倫理支援体制のありかたを検討することである。

本年度も引き続き、研究倫理教育、研究者の研究倫理支援ニーズの調査を開始したので結果を報告する。

方法

これまでの研究倫理相談の実績及び今後の研究倫理相談の実施、研究倫理相談内容の調査と対応などの分析

結果

研究倫理相談を通じた研究倫理支援ニーズの調査

（研究倫理相談内容の調査と対応などの分析）

・倫理相談窓口業務：臨床研究相談窓口を通じた相談、室として随時相談受付、研究倫理月間中のよろず相談のサービスを実施実施した。

【相談実績】 2021 年度　臨床研究相談窓口 50 件　その他 20 件

相談内容はテーマ分析を行った結果、以下のポイントに絞られた。

・インフォームド・コンセント（以下、IC）の説明方法や説明事項について
・研究協力機関、共同研究機関について
・倫理審査の要否について
・多機関共同研究について
・多機関共同研究の一括審査の手続きについて
・個人情報の該当性について
・既存試料・情報の他機関授受の手続きについて
・研究で得られた結果の説明について
・その他、指針の適用範囲や研究実施体制の確認

考察

臨床研究相談の中でも倫理に関する相談は多く、1 つのケースであっても何度か研究者とのやり取りを行っている。医学系指針とゲノム指針が統合され、研究協力機関等の用語が新設され、また電磁的 IC や研究で得られた結果の取扱い、多機関共同研究における一括審査等新たな規定が作成されたことから、それらに関する相談が多く見受けられた。事業構築系の研究のうち、筋レポジトリ、レジストリ研究等における IC の手続きについて、新指針に基づき、再度整備する必要も発生しており、研究者の理解を得ながら実行可能な IC の手続きを検討、助言していくことが今後も求められる。また、今後も個人情報保護法の改正に伴う指針の改正により、IC の手続き

をはじめ、現在実施中の研究について再度確認する必要性がある。

指針や臨床研究法の改正について、研究者への周知徹底と、個別及びグループ単位での研究倫理相談に応じ、法規制を遵守しつつ研究が円滑に推進されるよう積極的な支援が求められるだろう。

また、6NC において医療データの集約もおこなわれていることから、データの共有とデータの研究利用におけるポリシーに基づいた倫理支援を行う必要がある。

結論

臨床研究相談窓口を通して、研究の倫理的側面から支援を実施しているが、相談内容は多岐にわたっており、適正な助言の為には法規制の理解だけではなく、他機関の状況についての情報も知っておく必要がある。

指針や関連規制に関する教育を継続しつつ、臨床研究相談内容の分析と研究者を対象とした調査を集約し、研究倫理及び研究倫理相談対応の課題についてまとめることとする。

将来的には、他の NC の研究倫理の専門家との連携も視野に入れた支援の在り方を検討することが求められるであろう。

神経系難病（脳神経内科領域）の臨床開発促進のための研究者からの課題検討

国立精神･神経医療研究センター
病院・脳神経内科
髙橋　祐二

緒言

本研究の目的は、神経系難病領域の臨床研究を進めるために NCNP が取り組むべき支援の方策、研究基盤のあり方について検討し、提言を行うことである。そのために、脳神経難病領域における臨床研究の現状を調査・分析し、課題を抽出して解決策を検討する。 これまでの NCNP が果たしてきた神経系難病領域のアカデミア発シーズ開発支援、レジストリ・臨床研究ネットワークなどの整備による研究実施体制構築、レジストリ等の RWD の活用の実績を踏まえ、難治性・希少疾患領域の研究開発促進を進めるために、ナショナルセンターが運用する ARO としての基盤整備がなされれば、本邦における難治性・希少疾患領域の研究開発がさらに加速し、unmet medical needs の高い本領域において海外と同様に多くのオーファンドラッグ開発、エビデンス創出がなされる体制が構築される。

方法

研究者として、実際に実施した臨床研究の実績を踏まえて、臨床研究を進める上での課題、ARO に求める機能、神経系難病（脳神経内科領域）の臨床開発促進のための研究者からの課題について検討する。

初年度は研究計画を立案し、臨床研究の現状を調査・分析する。次年度は調査・分析の結果から課題を抽出し、解決策を検討する。最終年度はそれまでの分析に基づき ARO に対する提言を作成する。

結果

神経難病領域におけるレジストリ研究の取り組みとして、①未診断疾患イニシアチブ Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases (IRUD)②運動失調症の患者レジストリ Japan Consortium of Ataxias(J-CAT)③パーキンソン病の運動障害発症前のバイオマーカー特定研究 Japan Parkinson Progressive Marker Initiative (J-PPMI)の課題を検討した。①リソース共有と共同研究の推進②難病研究班・難病ゲノム班・学会との連携③医療行政・難病医療ネットワークへの貢献④産学連携への倫理的枠組みの整備とリソース活用⑤超希少疾患のエビデンス創出のフレームワーク⑥臨床治験への活用⑦国際連携が課題であると考えられた。その中で、J-CAT を基盤とした企業との共同研究「脊髄小脳変性症のヒストリカルデータの収集及び製造販売後調査での活用」（J-CAT PRIME）がスタートしており、④⑤⑥の課題解決に向けた研究のプロトタイプとして重要である。

考察

今後の課題として検討された 7 つの項目は、レジストリの利活用による疾患研究を推進する上ではいずれも重要な点であると考えられた。J-CAT PRIME においては、ナショナルセンターとしての ARO 活動が非常に重要な役割を担っている。今後本研究をプロトタイプとして、さらなる産学連携の共同研究が発展することが期待される。

結論

神経系難病（脳神経内科領域）の臨床開発促進においては、実績のあるレジストリ研究の利活用が必須であり、ナショナルセンターとしての ARO 活動が極めて重要である。

神経系難病の臨床開発促進のための身体機能評価等の均てん化に関する検討

デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の上肢機能評価法として 9 Hole Peg Teat 及び Box and Block Test の試用

国立精神・神経医療研究センター
身体リハビリテーション部
橋出秀清
清水功一郎
水野勝広

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（Duchenne muscular dystrophy: DMD）患者(児)の上肢機能評価として、Performance of Upper Limb (PUL)や Brooke Scale などの疾患特異的な評価がよく用いられている。しかし、これらの評価スケールは、機能予後を反映するよい指標ではあるが、評価者による rating であるため、一貫した評価を行うため評価者が十分に習熟する必要がある。また、順序尺度であるために軽微な変化を捉えることが難しい。

Box and Block Test (BBT) や Perdue Pegboard Test (PPT)は上肢の巧緻性を評価することができ、疾患を問わず広く用いられている。また、個数や時間など連続変数として記録できるため、定量的な評価が可能である。

我々はDMD患者に対してBBTとPPTを幅広く評価し、DMDの上肢機能評価としての妥当性や疾患としての特徴を検討した。

方法

2020年5月～2021年10月の間に当院入院または外来通院されたDMD患者に対し、BBT、PPT、Brooke Scaleの評価を行った。評価は椅子または車いす座位で行い体の正面に評価機器を設置、評価方法はマニュアルに従った。テーブルは行いやすい高さに調整、開始位置は厳密に規定していない。BBT、PPT、Brooke Scaleに関して、各評価を6か月以内に行ったものの相関性をSpearmanの相関分析で評価した。

結果

対象者は 62 名 (64 肢)、年齢は 8 歳～41 歳であった。Brooke Scale の構成比は 1: 19%, 2: 12%, 3: 19%, 4: 8%, 5: 39%, 6: 3%であった。

年齢と各テストの成績とはいずれも有意な相関を認めた（Brooke Scale: $r=0.79$, $p<0.0000001$; BBT: $r=-0.74$, $p<0.000001$; PPT: $r=-0.667$, $p<0.0000001$)。BBT は 15 歳まで、PPT は 18 歳までの患者では全例で施行可能であったが、高年齢になると施行不能例の割合が多くなっていた。

BBT、PPT ともに Brooke Scale と有意な相関を認めた（BBT: $r=-0.796$, $p<0.00000001$; PPT: $r=-0.801$, $p<0.00000001$）。BBT では Brooke Scale 3 以上、PPT では 4 以上で代償動作を認めていた。

考察

パフォーマンスの評価である BBT、PPT と疾患特異的な段階評価である Brooke Scale との間には高い相関を認め、DMD の上肢機能評価として併存的妥当性が示された。上肢機能低下例では代償的な方法で施行する例がみられたものの、BBTは 15 歳、ＰＰＴは 18 歳まで施行可能であり、年齢やＢｒｏｏｋｅ　Ｓｃａｌｅと高い相関を認めたことから、歩行不可能となる時期以降でも中等度の上肢機能障害までの症例では上肢機能評価として有用であることが示唆された。

ＰＰＴの評価の内、両手動作やアセンブリーの評価では年齢やＢｒｏｏｋｅ Scale との相関は低く、疲労の影響も考えられることから、より簡便な 9 hole peg test などで代用できる可能性がある。

結論

軽度から中等度の上肢機能障害を持つＤＭＤ患者において、ＢＢＴやＰＰＴのような巧緻性評価は一定の価値がある可能性が考えられた。

今後、多症例での上肢自然歴評価を計画している。

参考文献

1. Connolly AM, Malkus EC, Mendell JR, Flanigan KM, Miller JP, Schierbecker JR, Siener CA, Golumbek PT, Zaidman CM, Mcdonald CM, Johnson L, Nicorici A, Karachunski PI, Day JW, Kelecic JM, Lowes LP, Alfano LN, Darras BT, Kang PB, Quigley J, Pasternak AE, Florence JM; MDA DMD Clinical Research Network. Outcome reliability in non-ambulatory boys/men with Duchenne muscular dystrophy. Muscle Nerve. 2015;51(4):522-32.
2. Erdinç Gündüz N, Sertpoyraz FM, Dilek B, Şahin E, Baydan F, Tiftikcioglu Bİ, Keskin Pehlivan E, Dikici A, Zorlu Y, Akalın E, Peker Ö. The relationship between scoliosis and upper extremity functions in patients with Duchenne muscular dystrophy. Turk J Phys Med Rehabil. 2021;67(1):41-47.
3. Le Moing AG, Seferian AM, Moraux A, Annoussamy M, Dorveaux E, Gasnier E, Hogrel JY, Voit T, Vissière D, Servais L. A Movement Monitor Based on Magneto-Inertial Sensors for Non-Ambulant Patients with Duchenne Muscular Dystrophy: A Pilot Study in Controlled Environment. PLoS One. 2016;11(6):e0156696..
4. Janssen MMHP, Harlaar J, Koopman B, de Groot IJM. Dynamic arm study: quantitative description of upper extremity function and activity of boys and men with duchenne muscular dystrophy. J Neuroeng Rehabil. 2017;14(1):45.
5. Brooke MH, Fenichel GM, Griggs RC, Mendell JR, Moxley R, Florence J, et al. Duchenne muscular dystrophy: patterns of clinical progression and effects of supportive therapy. Neurology 1989;39: 475–481.
6. Connolly AM, Florence JM, Zaidman CM, Golumbek PT, Mendell JR, Flanigan KM, Karachunski PI, Day JW, McDonald CM, Darras BT, Kang PB, Siener CA, Gadeken RK, Anand P, Schierbecker JR, Malkus EC, Lowes LP, Alfano LN, Johnson L, Nicorici A, Kelecic JM, Quigley J, Pasternak AE, Miller JP; MDA-DMD Clinical Research Network. Clinical trial readiness in non-ambulatory boys and men with duchenne muscular dystrophy: MDA-DMD network follow-up. Muscle Nerve. 2016;54(4):681-9.

神経系難病の臨床開発促進のための開発戦略、薬事、プロジェクトマネジメントに関する開発支援策の検討

病院臨床研究・教育研修部門
臨床研究支援部　臨床研究支援室長
石塚量見

緒言

難治性・希少性疾患においては、病態の解明が不十分であることや患者の希少性から、研究・治療法開発が進まない領域と言われている。難治性・希少性疾患領域における臨床研究・治験の推進に必要であり、国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）として整備すべき神経系難病領域での研究基盤、支援役割について検討し、提言（特に、「神経系難病の臨床開発促進のための開発戦略、薬事、プロジェクトマネジメントに関する開発支援策」）を行う。

方法

NCNP も含めた支援機関において整備すべき研究基盤、支援役割を把握するため、脳神経内科、小児神経科医に向けたアンケート調査（神経系難病領域の開発支援に対して何を求めているか、あるべき体制などについて、開発現場のニーズを収集）し、その結果を踏まえ提言を纏める。

結果

研究代表者、分担研究者と相談し Web 形式のアンケート調査を作成した。現在、アンケート調査に協力頂く学会にアンケート調査内容の確認中であり、確認終了後アンケートを実施する。

考察

令和 4 年度は、アンケート調査を実施し、その回答結果を踏まえ提言内容を纏める。

参考文献

特になし

臨床研究中核病院における神経系難病領域の臨床開発支援の課題及びナショナルセンターとの連携についての検討

国立大学法人東海国立大学機構
名古屋大学医学部附属病院
清水 忍

緒言

難治性・希少性疾患においては、病態の解明が不十分であることや患者の希少性から、研究・治療法開発が進まない領域と言われている。難治性・希少性疾患領域における臨床研究・治験の推進に必要であり、国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）として整備すべき神経系難病領域での研究基盤、支援役割について検討し、提言を行うものである。

方法

本研究は、NCNPの神経系難病領域の医師・研究者、NCNPのトランスレーショナルメディカルセンター（以下、TMC）と病院臨床研究推進部（以下、推進部）の研究支援部門が中心となるが、外部の臨床研究中核病院（以下、中核病院）の立場として、以下の点に関して、調査に協力し、意見を述べる。

- 神経系難病領域における、NCNPにおけるこれまでの取組みと実績、ARO機能の現状分析
- 研究者の支援組織に求めるニーズの分析
- 神経系難病の本邦における昨今の医薬品・医療機器・再生医療等製品の開発状況分析
- 難治性・希少疾患領域の臨床研究・治験推進のための行政・レギュラトリーサイエンス分野の動向調査
- 既存中核病院における難治性・希少性疾患領域への取り組みの現状調査
- 難治性・希少性疾患領域の臨床研究・治験推進に必要とされる、特定領域中核病院に求められる機能の整理

これらを通じ、NCNPが整備すべき特定領域におけるAcademic Research Organization（以下、ARO）としての役割、研究支援体制について提言する。

なお、本研究において検討する、支援すべき研究は主に医師主導治験、特定臨床研究、また、近年活用が期待されているリアルワールドデータ活用に資する研究を対象とする。

結果

神経内科領域の患者申出療養の立ち上げ支援を行ったことなどのアカデミアにおける創薬等の開発研究支援の中核病院としての支援状況を共有した。その他、名古屋大学における医師主導治験・特定臨床研究支援状況を踏まえ、研究者が求める支援内容と、AROとして提供可能な支援内容・方策について、意見交換を行った。また、主任研究者と共に今後行う、脳神経内科医や小児神経科医を対象にしたwebアンケートの内容について、その方針を固めた。

さらに、神経治療学会で創薬ワーキンググループ（WG）が立ち上がり、その創薬等の開発支援を行うためのWGの体制構築支援を主任研究者の中村と分担研究者の浅田・石塚と共に進めることとなった。

考察

令和4年度に、脳神経内科医や小児神経科医を対象にwebでアンケートを行う予定で、主任研究者の中村と分担研究者の浅田・石塚と共にアンケートの作成を進め、意見募集を開始する。そのアンケート結果を踏まえ、神経内科領域における研究を推進するために必要な事項について、改めて調査・模索することが必要と考える。特に、研究者がAROに求める機能等を確認し、どのような対策を講

じることが良いかを検討することが必要と考える。

また、神経治療学会創薬WGの支援として、少ないAROのリソースで実施可能な神経領域の研究推進のための対応策について、WG内でも意見交換を行いながら、進めていく。

結論

本年度、脳神経内科医や小児神経科医を対象にしたwebアンケートの内容について、方針を固めた。来年度のアンケート結果を踏まえて、より適切に神経内科領域の研究を進めるための理想的な体制構築の実現に向けて、検討を続ける必要がある。

難病領域における臨床開発促進についての行政及びレギュラトリーサイエンスの動向に関する研究

北里大学薬学部
成川 衛

１．緒言

本分担研究では、神経難病をはじめとする難治性・希少疾患領域における新規治療薬等の臨床開発促進に向けた現在までの国の支援策等を整理し、関連分野の国内外の動向も勘案しながら、今後、国立精神・神経医療センター（NCNP）に求められる機能について検討することを目的とする。

２．方法

研究２年度（令和３年度）は、米国 NIH（国立衛生研究所）による希少疾病用薬等の開発促進に向けた取組みに関する情報を、NIH のウェブサイトや発出文書、文献等に基づいて収集し、整理した。また、昨年度に引き続き、商用データベース（明日の新薬）を用いて神経系難病に対する新規医薬品等の開発状況を調査し、整理した。

３．結果

1）米国 NIH による取組み

NIH の機関・センター（計 27）の一つである NCATS (National Center for Advancing Translational Sciences) では、様々な疾患分野におけるトランスレーショナルリサーチの促進・サポート業務が行われている。その中の TRND (Therapeutics for Rare and Neglected Disease) プログラムでは、希少疾病に対する新規治療の早期の IND (Investigational New Drug) 申請を目指して、非臨床試験の最適化などに向けた研究者との共同作業が行われている。共同研究者には、米国の大学や公的研究機関の他、民間企業や外国機関の研究者も含まれている。このプログラムで提供されるのは研究資金ではなく、プロジェクトマネジメント的な業務である。現在、以下に示すプロジェクトが進行中であり、この他に 23 の終了したプロジェクトがある。

- 肺高血圧症に対する抗線維化治療
- 進行性骨化性線維異形成症（FOP）に対する骨形成タンパク質阻害剤
- アフリカトリパノソーマ症治療のための acoziborole の開発
- マラリア伝染阻止剤の開発
- Core-binding factor 白血病の標的治療のための新規薬剤
- ヘルマンスキー・パドラック症候群における肺線維症に対する新規治療
- 副甲状腺機能低下症に対する長時間作用型甲状腺ホルモンアナログの開発
- 骨幹端軟骨異形成症の治療

これらのプロジェクトの中で、リード化合物の選択や最適化、代替化合物の探索の他、疾患動物モデルの最適化と妥当性評価、GLP 毒性試験等の実施、製造のスケールアップや製剤処方の検討など、医薬品候補物質の将来の IND 申請に向けて種々の成果が得られていることが確認できた。

また、NCATS には、GARD (Genetic and Rare Diseases) Information Center という情報センターが置かれ、患者や医療従事者等に、希少疾病に関する情報提供が行われている。（日本の「難病情報センター」に相当する）

2）神経系難病に対する新規医薬品等の開発状況

指定難病のうち、公益財団法人ヒューマンサイエンス振興財団「神経疾患の医療ニーズ調査（第 2 回）」（2018 年度）において「新規治療法の開発が急務な疾患・症候」の上位 10 疾患

に含まれた以下の 8 疾患を調査対象とした。筋萎縮性側索硬化症、進行性核上性麻痺、パーキンソン病、多系統萎縮症、脊髄小脳変性症（多系統萎縮症を除く）、プリオン病、筋ジストロフィー、前頭側頭葉変性症

これらの疾患名を検索語として商用データベース及び希少疾病用医薬品等の指定品目リストを検索した結果を表 1 に示す。国内での臨床開発が PhaseⅡ以降に進んでいる品目又は希少疾病用医薬品等の指定を受けている品目（再生医療等製品を含む）として、筋萎縮性側索硬化症 5 品目、パーキンソン病 2 品目、多系統萎縮症 1 品目、脊髄小脳変性症 3 品目、筋ジストロフィー4 品目が確認できた。（既に製造販売承認を取得した品目、開発中止が確認された品目、2 年以上情報の更新がない品目は除外）

一方、調査対象 8 疾患のうち、進行性核上性麻痺、プリオン病、前頭側頭葉変性症については、該当する開発品目は確認できなかった。

４．考察・結論

米国 NIH の NCATS における様々な疾患分野におけるトランスレーショナルリサーチの促進・サポート業務、中でも TRND プログラムによる希少疾病に対する新規治療薬等の早期の IND 申請を目指した非臨床試験の最適化などの研究者との共同作業の状況が確認できた。アカデミア創薬シーズの早期の臨床入り（治験の開始）のためには、資金的なサポートの他、開発プログラムを的確かつ効率的に進めていくための知識や技術の利用可能性が重要な役割を果たす。今後のナショナルセンターの機能・役割を考えていく上で検討していくべき事項と考えられる。また、新規治療法の開発ニーズが特に高いとされる疾患に対する医薬品等の開発状況を把握した。今後、情報をアップデートするとともに、難治性・希少疾患領域における新規治療薬等の臨床開発促進に向けた各種制度に対する評価に関する情報を収集・分析する。これらに基づいて、今後 NCNP に求められる機能等について整理・提言することとしたい。

参考文献等

- NIH NCATS TRND ウェブサイト https://ncats.nih.gov/trnd

表１　神経系難病に対する新規医薬品等の開発状況

疾患名	有効成分・記号	有効成分の概要	開発企業	開発段階	希少疾病用医薬品等指定
筋萎縮性側索硬化症	Edaravone（経口液剤）	フリーラジカル消去剤	田辺三菱製薬	承認申請中	
	tofersen	アンチセンスオリゴヌクレオチド	バイオジェン・ジャパン	Phase Ⅲ	2020 年 11 月
	ravulizumab	ヒト化マウス抗補体 C5 モノクローナル IgG2/G4κ 抗体	アレクシオンファーマ	Phase Ⅲ	
	CL-2020	Muse 細胞	生命科学インスティテュート	Phase Ⅱ	
	EPI-589	酸化還元補因子	住友ファーマ	Phase Ⅱ	
パーキンソン病	foslevodopa	レボドパのプロドラッグ	アッヴィ	承認申請中	
	iPS cell-derived dopaminergic neural progenitor cell	他家 iPS 細胞由来ドパミン神経前駆細胞	住友ファーマ・京都大学 iPS 細胞研究所	Phase Ⅲ	
多系統萎縮症	LU-AF82422	α-シヌクレイン抗体	ルンドベック	Phase Ⅱ	
脊髄小脳変性症	rovatirelin	甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン（TRH）誘導体	キッセイ	承認申請中	
	adipose-derived mesenchymal stem cells	同種間葉系幹細胞	リプロセル	Phase Ⅱ	2018 年 12 月
	L-arginine hydrochloride/ L-arginine	L-アルギニン／塩酸アルギニン	医師主導治験	Phase Ⅱ	
	ataluren （PTC124）	ナンセンス変異リードスルー	PTC Therapeutics	Phase Ⅲ	2020 年 2 月

筋ジストロフィー（デュシェンヌ型）	fordadistrogene movaparvovec	ヒトジストロフィン遺伝子治療	ファイザー	Phase Ⅲ	
	pizuglanstat	プロスタグランジン D シンターゼ（HPGDS）阻害剤	大鵬薬品	Phase Ⅲ	
	SRP-9001	マイクロジストロフィン遺伝子治療	サレプタ・セラピューティックス	Phase Ⅱ（米国）	2020 年 6 月

臨床研究中核病院以外の医療機関における神経系難病領域の臨床開発支援の課題及びナショナルセンターとの連携についての検討

国立大学法人　東海国立大学機構
岐阜大学医学部附属病院
浅田　隆太

緒言

難治性・希少性疾患においては、病態の解明が不十分であることや患者の希少性から、研究・治療法開発が進まない領域と言われている。難治性・希少性疾患領域における臨床研究・治験の推進が必要である。

臨床研究中核病院（以下、中核病院）以外の病院（非中核病院）の支援組織人員として、以下の点を中心に検討する。

・非中核病院における難治性・希少性疾患領域への取り組みに関する現状調査
・研究者の支援組織に求めるニーズの分析

上記の検討結果を踏まえて、国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）の外部機関で神経系難病領域を支援している立場から、課題を明らかにするとともに、NCNP に求める機能の検討を行う。

非中核病院において、神経難病領域の臨床研究・治験をさらに推進するためには、NCNP と連携することが必須であると考えている。本研究では、外部機関として、NCNP に求める機能を明らかにすることを研究目標とする。

方法

令和 2 年度に、以下の 3 点を実施した。①岐阜大学医学部附属病院における神経難病領域の臨床研究の現状を調査、②岐阜大学医学部附属病院先端医療・臨床研究推進センターにおける神経難病領域の臨床研究の支援に関する課題の検討、③脳神経内科の医師の意見聴取。

令和 3 年度は、昨年度に引き続き、岐阜大学医学部附属病院における神経内科領域の開発支援の課題について、調査を行う。また、脳神経内科医、小児神経科医を対象としたアンケート調査について、調査内容を検討した。

結果

岐阜大学医学部附属病院における神経内科領域の開発支援の課題について、脳神経内科の医師の意見聴取を行った結果、研究計画書の作成のトレーニング、倫理委員会への対応の要望が出された。

脳神経内科医、小児神経科医を対象としたアンケート調査について、調査内容を決定した。

考察

岐阜大学医学部附属病院の脳神経内科の医師に対する調査結果から、研究計画書、倫理委員会に提出する書類等の作成に関するトレーニングを行うシステム、または書類作成のサポートを行うシステム等の構築が必要ではないかと考えられた。

結論

本年度、岐阜大学医学部附属病院の脳神経内科医に対する調査等を行った結果、臨床研究を計画する上での課題が明らかとなったことから、今後、NCNP との理想的な協力体制を検討し、体制構築の実現に向けて、検討を続ける必要がある。

また、今後、実施するアンケート結果を踏まえて、神経系難病領域の臨床研究の支援体制において、中核病院と非中核病院との連携体制を検討する必要がある。

2-9

Consideration of the role as clinical research support infrastructure of national centers in promoting clinical development of intractable neurological diseases

Harumasa Nakamura
Department of Clinical Research Support
Clinical Research & Education Promotion Division,
National Center Hospital,
National Center of Neurology and Psychiatry

(1) Goals and plan outlined

Intractable or orphan diseases have been viewed as diseases for which drug development is difficult to advance because of insufficient pathophysiological knowledge and the small number of patients. This study group consists of physicians/researchers of the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP), research supportive staff members at the research support unit of the Translational Medical Center (TMC) and the Hospital Clinical Research Promotion Department, core clinical research hospitals ("core hospitals") and non-core hospitals, and other experts familiar with administrative/regulatory science. While continuing information sharing and exchange of views with development-related organizations such as the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association (JPMA), each of these experts will analyze the current status and extract open issues, followed by proposal of the role of NCNP as an academic research organization (ARO) in the field of intractable neurological disease (for which NCNP is expected to take actions for improvements) as well as proposal about the research support system.

(2) Research outcome during the current year

1. Assessment of the status of supports by the TMC and division of clinical support in Hospital.

Regarding the status of supports by NCNP, the following may be viewed as NCNP's advantages support to investigator-oriented clinical trials including the Bench to Bedside First-in-Human studies (NS-069, NS-089, OCH, etc.) designed to develop drug candidates at hospitals, the outcome leading to approval of NS-069. And NCNP also support for the multicenter investigator-initiated clinical trial led by a different institution (Tokyo Women's Medical University). In addition to investigator-initiated clinical trials and designated clinical studies, NCNP has actively engaged in supporting construction and utilization of real-world data (RWD; e.g., registry, cohort study, and HER) with a view to utilization in pharmaceutical affairs (e.g., Remudy-DMD, DMD natural history, JCAT-PRIME, IRUD, and mental health registry). Group members are establishing the quality management system (QMS) for investigator-oriented clinical trials and registry establishment/data utilization studies within the framework of AMED research project.

In addition to the above supports for research, NCNP provides biostatistics supports that include demonstration of methodologies (Bayesian sequential monitoring and adaptive randomization) and launch of a committee to investigate problems and solutions specific to

neurological intractable/rare diseases in this fiscal year (consisting of four National Centers for Advanced and Specialized Medical Care Research in the Tokyo Metropolitan Area, The University Tokyo Hospital, and Hokkaido University Hospital). NCNP also offers consultation service for supporting bioethics and research ethics more than 50 times a year and plans to compile common issues drawn from the consultation.

These experience and human resource allocation will satisfy the condition required for core clinical research hospitals as ARO specialized in a specific area (such as rare diseases and neurological intractable diseases) in Japan.

2. Actions taken as NCNP researchers or investigators involved in clinical studies/trials

According to interviews with the investigators at NCNP, the desirable ARO functions are identified. They included improvement of clinical research education and training, support starting at the early study stage (project management), support registries as a data center, promoting collaboration in the use of registries among academic societies, and cooperation among bio-resources. Other strength of NCNP includes that it has supported successful implementation of IRUD, J-CAT, and J-PPMI and initiation of J-CATPRIME with a view to utilization in pharmaceutical affairs, under ARO support.

3. The action for the standardization of physical function evaluation, evaluator cultivation

We standardized methods to assess ALS, Parkinson's disease/syndrome, spinocerebellar ataxia, and muscular dystrophy, created dataset, and initiated the rollout to reflect the data in electronic medical records in NCNP. Furthermore, we determined the minimum detectable change in patients with spinocerebellar ataxia with the standard balance scale (Balance Evaluation Test: BESTest), developed and presented the method (Japanese version) to assess freezing of gait in patients with Parkinson's disease, and verified the feasibility of serial assessment with Box and Block Test in patients with Duchenne muscular dystrophy. These achievements demonstrate strength of NCNP with extensive experience of the physical function assessment in patients with neurological intractable diseases. We intend to develop the standardized procedures to unify the operation in Japan through opportunities such as seminars in both Japan and other countries.

4. The view and perspective from the point of external support organizations views

The situation of ARO support for neurological intractable diseases in clinical research hospitals and non-core hospitals was reported. The expectations for NCNP included facilitating cross-research field exchanges between pediatric neurology and neurology, providing patients with psychiatric/neurological disorders with opportunities to know about clinical studies and obtain information on clinical trials (including recruitment of patients), working as a bridge to overseas research groups, developing SOP on registries and biobanks, banking of genomic and omics data, developing procedures to provide the above data to companies, promoting Patient and Public Involvement, and establishing research funds by NCNP that are also available for external institutions. They stressed their expectation for

promotion of recruitment of patients participating in clinical studies and trials, creation of research infrastructure such as registries, and provision of funding to start up research. NCNP will prepare a draft of the questionnaire survey for neurologists and pediatric neurologists in partnership with academic societies and construct a web-based questionnaire by the end of this fiscal year to conduct the survey next fiscal year.

5. The review from the aspects of administrative and regulatory science

Investigation was made about the activities of the National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS), and the Therapeutics for Rare and Neglected Disease (TRND) program including optimization of nonclinical trials aimed at early IND filing of new therapies for orphan drugs. Financial support and the availability of knowledge and techniques to advance development programs accurately and efficiently play important roles in the early initiation of clinical trials for academia drug discovery seeds.

6. Survey on development of the strategy for R&D by NCNP in the neurological intractable disease area

In order to consider future development strategies in the field of neurological intractable diseases at NCNP, following the creation of a strategic portfolio based on the number of publications, development results, marketability, etc. at NCNP in the previous fiscal year, we identified neurological diseases that are being researched and developed overseas but not yet developed in Japan, and created a list of pipeline data for these diseases.

(3) Plans for next year and beyond

In the final fiscal year, we will analyze the current status in NCNP including development status observed up to this fiscal year and summarize the status of support implementation. We will also hold meetings with organizations involved in development such as the Japan Pharmaceutical Manufacturers Association. Then, we will conduct the web-based questionnaire survey for neurologists and pediatric neurologists in partnership with relevant academic societies. Based on these findings, we will propose the role of NCNP as a core clinical research hospital in rare / neurological intractable disease area.

初　年　度　班

3－1 バイオマーカーにもとづく精神疾患治療法の研究開発基盤構築

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター
山田 光彦

総括研究報告

1. 研究目的

NCNP が保有する研究シーズについてトランスレーショナル研究を進め、探索的臨床試験及び検証的臨床試験の実施を目指す。最先端の医療研究の推進により、研究シーズの早期臨床応用が進むとともに、臨床研究中核病院の承認を目指すNCNP 病院に資するものと期待される。

2. 研究組織

（主任研究者）
山田光彦　精神薬理研究部

（分担研究者）
中込和幸　理事長
野田隆政　病院精神科
住吉太幹　児童・予防精神医学研究
吉池卓也　睡眠・覚醒障害研究部
三輪秀樹　精神薬理研究部
橋本亮太　精神疾患病態研究部
服部功太郎　MGC バイオリソース部

3. 研究方法

NCNP が保有する研究シーズ（①標的候補、②治療介入法、③評価指標）について脳システム・神経回路・分子等の階層において多元的にトランスレーショナル研究を進めた。①標的候補として、受容体・チャンネル・酵素といった生体分子に加え、神経回路や脳システムに着目した。また、②治療介入法シーズには、特に、経頭蓋直流電気刺激（tDCS）、経頭蓋磁気刺激法（TMS）等のニューロモデュレーションや睡眠・概日リズム操作を検討した。中でも、経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）については、非臨床研究と臨床研究との相互のトランスレーションのための POM/POC モデルの妥当性を検討し、具体的に臨床研究の妥当性を検討した。さらに、③評価指標シーズとして、脳脊髄液、血漿、唾液等を用いた測定（免疫系・神経炎症指標、必須アミノ酸、メラトニン等）に加えて、認知機能、脳波、眼球運動、深部体温といった生理学的指標等をバイオマーカーとして検討した。本研究に参加する被験者はNCNP が代表機関を務め多施設共同で運用している精神疾患レジストリに登録する計画とした。さらに、ノンレム睡眠時スピンドル波及びガンマ帯域オシレーションについての妥当性を検討するため、遺伝子改変マウス用いて研究を進めた。

4. 研究結果

特定臨床研究「統合失調症を対象とした経頭蓋直流電気刺激（tDCS）の検証試験」では 22 例より同意を取得した。「電気けいれん療法（ECT）の効果検証研究」では同意取得した 100 例のうち 2 名についてECT 前後での炎症性PET 計測を開始した。「気分障害を対象とした覚醒療法の検証試験」については、倫理審査委員会の承認を得て、NCNP 病院での実施準備を開始した。「経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）の検証試験」では、ドイツよりデバイスを輸入し電気刺激特性の確認を終了した。「低頻度経頭蓋磁気刺激（TMS）による外側眼窩前頭皮質（OFC）抑制試験」では、仕様コイルの選定とパラ

メーターの検討を終えた。両試験については、現在特定臨床研究プロトコルを策定中である。一方、コロナ禍にあっても研究班連携により順調に臨床サンプル収集を継続できた。NVS に関して 240 例より同意を得、髄液データ133 例、採血データ210 例を収集した。精神疾患レジストリには 684 例より同意を得、400 例の基本情報入力を終了した。ウェアラブルデバイス検討には106 例のデータを収集した。生物学的評価指標による層別化研究では、統合失調症35 例より多次元データを収集した。臨床サンプルで確認された脳血液関門障害の分子メカニズムについて拘束ストレスマウスを用いてトランスレーション研究を行った。幼少期ストレスがマウスの情動行動と内側 OFC-BLA 回路のシナプス伝達に与える影響を光遺伝学を用いて検討した。また、マウスを用いて taVNS が恐怖記憶の消去学習を促進させることを明らかとした。精神神経疾患のモデル動物・遺伝子組み換え動物を用いて、ガンマ帯域オシレーション(蝸牛遅延特性に基づく刺激プロトコルを用いた検出力の改善した聴性定常反応 ASSR を開発)及びノンレム睡眠スピンドル波異常の確認を行った。

5. 考察

本研究班では、評価シーズとして、脳脊髄液、血液、唾液等を用いた測定に加えて、脳画像、認知機能、ノンレム睡眠時スピンドル波、眼球運動、深部体温といった神経生物学的指標等をバイオマーカーとして検討している。

「tDCS による内側 OFC 刺激試験」及び「Riluzole の PTSD 曝露療法併用試験」については、順次、特定臨床研究プロトコルの策定を進める必要がある。また、「taVNS の検証試験」については、内受容感覚研究に造詣が深い行動医学研究部の関口室長と連携して進める計画である。

なお、未だ COVID-19 蔓延状況にあり、安全なバイオサンプル収集と臨床研究の実施に留意する必要がある。精神疾患レジストリについては、日本製薬工業協会、精神科病院と積極的に連携し、利活用研究を支える体制構築をさらに進める。

6. 研究成果

1) 國石 洋, 関口正幸, 山田光彦:ストレス関連疾患への眼窩前頭皮質の寄与―ストレスによる眼窩前頭皮質－扁桃体回路の可塑的変化. 日本薬理学雑誌 156(2): 62-65, 2021.
2) Yamada Y, Sumiyoshi T. Transcranial direct current stimulation and social cognition impairments of schizophrenia; Current knowledge and future perspectives. In Costa A., Villalba E. (Ed). Horizons in Neuroscience Research. Volume 46. Nova Science Publishers, New York, 2022, pp. 143-170
3) Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. Clin EEG Neurosci (in press)
4) Yoshiike T et al. Depressive cognitive style relates to an individual trait of time perception in bipolar depression: A preliminary study. J Affect Disord Rep 9: 100363, 2022.
5) Saito K et al. Profiling of cerebrospinal fluid lipids and their relationship with plasma lipids in healthy humans. Metabolites. 11:268, 2021
6) Araki W et al. Soluble APP-alpha and APP-beta in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for differential diagnosis of mild cognitive impairment. Aging Clin Exp Res. 34:341-347, 2021
7) 服部功太郎. NCNPバイオバンクにおける脳脊髄液収集と利活用の実際. 実験医学. 39:135-140, 2021

分担研究報告

神経回路特性に基づく精神疾患治療法の研究開発

山田光彦
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 精神薬理研究部

【緒言】

本分担課題では、マウス内側眼窩前頭皮質（OFC）-扁桃体（BLA）経路に注目した検討を進める。また、経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）については、非臨床研究と臨床研究との相互のトランスレーションのための POM/POC モデルの妥当性を検討し、具体的に臨床研究の妥当性を検討する。

【方法】

1．幼少期のストレス経験が情動処理回路に影響を及ぼすことで、精神症状を引き起こすことが推測される。外側 OFC は罰などの負の感情価に関与し、内側 OFC は報酬などの正の感情価に関与する。そこで、マウスの OFC から BLA への神経投射回路に焦点を当て、幼少期ストレスが情動行動とシナプス伝達に与える影響を、光遺伝学とパッチクランプ法を用いて検討した。

2．迷走神経刺激（VNS）は、心身相関のメカニズムを基盤とした求心性及び遠心性ニューロモデュレーションである。そこで、非侵襲的ニューロモデュレーションとして注目されている経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）についてマウスモデルを確立し、情動制御についての有用性を検討した。また、他の分担研究者らとともに、研究プロトコール委員会を組織し、非臨床研究と臨床研究との相互のトランスレーションのための POM/POC モデルの妥当性を検討し、臨床研究プロトコールの立案を進めた。

3．経頭蓋磁気刺激法（TMS）を用いた外側 OFC の抑制及び内側 OFC の活性化について、また、他の分担研究者らとともに、研究プロトコール委員会を組織し、非臨床研究と臨床研究との相互のトランスレーションのための POM/POC モデルの妥当性を検討し、臨床研究プロトコールの立案を進めた。

【結果と考察】

1．幼少期ストレスがマウスの情動行動と内側 OFC-BLA 回路のシナプス伝達に与える影響について光遺伝学を用いて明らかにした。外側 OFC-BLA 回路についても同様の検討を進め、各神経回路に固有な働きを検討したい。一方、「低頻度経頭蓋磁気刺激（TMS）による外側眼窩前頭皮質（OFC）抑制試験」では、仕様コイルの選定とパラメーターの検討を終えた。我々の結果は、ストレス関連精神疾患の病態解明に資するものであり、新規治療法開発のための基盤となるものと考えられる。

2．経皮的耳介迷走神経刺激（taVNS）についてマウスモデルを確立し、恐怖記憶の消去学習促進効果を確認することができた。これまでに、研究用の電気刺激デバイスをドイツよりデバイスを輸入し電気刺激特性の確認を終了した。「taVNS の検証試験」については、内受容感覚研究に造詣が深い行動医学研究部の関口室長と連携して進める計画である。

【参考文献】

1） 國石 洋, 関口正幸, 山田光彦：ストレス関連疾患への眼窩前頭皮質の寄与―ストレスによる眼窩前頭皮質－扁桃体回路の可塑的変化. 日本薬理学雑誌 156(2): 62-65, 2021.

精神疾患レジストリによる研究基盤の構築と利活用

中込和幸
国立精神・神経医療研究センター

【緒言】

精神疾患レジストリとは、NCNP が日本精神神経学会と協働して、日本精神科病院協会、日本精神神経科診療所協会の支援を受け、当事者団体や企業とも連携しながら、AMED の研究費（2018 年度～2020 年度）によってシステム構築を行った全国的なコホート・レジストリである。

その目的は、精神疾患の病態に基づく個別化医療の実現や精神医療の標準化の促進のため、診断横断的な大規模患者レジストリを構築することである。現在用いられている精神科診断の妥当性の低さを克服するために、詳細な臨床情報や生体試料データから比較的均質な集団を抽出して、その病態を解明することで医薬品や医療機器、再生医療等製品等の新規医療技術の開発につなげることや、縦断的な経過を追跡することによって、治療反応性や社会的転帰に影響を及ぼす因子を特定することである。

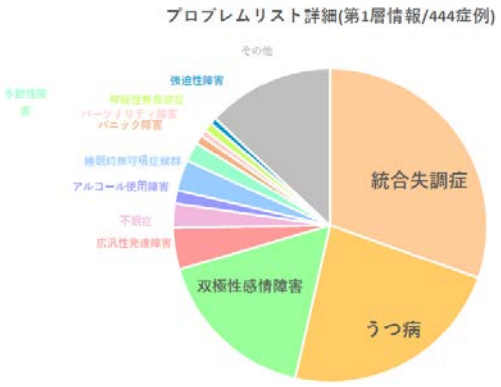
2021 年度からは、レジストリの拡大と維持及び利活用研究を支援する基盤部分に関しては研究開発費によって運用し、利活用研究に関しては AMED の研究費を充てて実行する。

【方法】

サンプル数を確保するために、医療機関の機能に基づく実施可能性に配慮し、患者情報を 3 層に分け、第 1 層（人口統計学的情報等基本的な臨床情報）については可能な限り悉皆的に収集し、可能な医療機関では第 2 層（臨床評価を含む情報）、第 3 層（血液、髄液、脳神経画像、iPS 細胞）を収集する。現在 NCNP のほか 9 大学が分担研究機関として参加しており、今後も参加機関を増やしていく予定である。なお、縦断的なフォローアップについては、ICT を介した ePRO を活用して患者が直接アクセスし、不安、気分、睡眠、社会機能、主観的 QOL、薬物等の情報を入力する。

【結果】

2022 年 3 月 31 日時点で登録者は 938 名である。そのうち、基本情報（第 1 層情報）の入力が確認できた患者は 444 名であった。男性が 39%、女性が 61%、年齢分布は 40 歳代が最も多く、ほぼ正規分布を示していた。疾患分類は下記のとおりで、統合失調症が最も多かった。



さらに、利活用研究の申請が 1 件（「精神疾患レジストリにおける予後・転帰予測の検討および新規解析手法の検討」）あり、情報提供審査委員会を招集した 4/19 に開催、承認）。

その他、アカデミア以外の医療機関の負担を考慮して、基本情報（第 1 層情報）の項目のうち必須項目の絞り込みを行った。

【考察】

コロナ禍のもとで、登録者数は 1000 名近くまで達したことは評価できるように思われる。一方、

基本情報（第 1 層情報）の入力が確認できた患者数が半数以下であることは大きな懸念点である。一つの要因として、基本情報の項目数が多く、カルテから転記する煩わしさのために遅延している可能性が挙げられる。基本情報項目の絞り込みを行うとともに、データ入力のための人員を確保できるように、分担研究機関へ費用面での支援強化を考慮する必要がある。

【結論】
2022 年度は、コロナ禍における研究活動の制限が緩和されることが予想される。エントリー速度を上げるとともに、円滑なデータ入力にも努めるよう働きかける必要がある。

【参考文献】
なし。

バイオマーカーにもとづく精神疾患治療法の研究開発基盤構築

野田　隆政
国立精神・神経医療研究センター
病院　精神科

【緒言】

これまでの研究では、米国 NIMH で進められている NIMH Research Domain Criteria（RDoC）の研究フレームから Negative Valence Systems（不快の感情価：恐怖、不安、喪失感など：NVS）に焦点を絞り、機能ドメインに関連するバイオマーカーの探索を行ってきた。本研究では、ECT や rTMS を中心としたニューロモデュレーションを実施する精神疾患患者を対象に、中長期的な治療効果を含めたバイオマーカーの検討を行うことを目的とする。

【方法】

国立精神・神経医療研究センター病院に通院もしくは入院している統合失調症、うつ病、双極性障害の患者を対象とした。また、ECT や rTMS を実施している患者については、治療前後にて評価を行い治療効果について検討した。いずれも文書および口頭にて研究参加の説明を行い、同意を得たうえで、生理検査、臨床検査および各種心理検査を実施した。評価項目は以下の通りである。

・デモグラフィックデータ

性別、年齢、主診断、併存診断、罹病期間、服薬情報など患者情報

・検査項目

・DTI、ASL などを用いた MRI 検査
・近赤外線スペクトロスコピー（NIRS）
・PET
・髄液・血液

※髄液および血液データについては、「脳脊髄液を用いた統合失調症・気分障害の生物学的マーカーの開発（第二期）」および「バイオバンク検体を用いた精神疾患バイオマーカーの探索」（いずれも倫理審査承認済）に参加した場合のみ二次利用する。

・心理検査項目：面接

・SCID- Ⅰ（Structured Clinical Interview for DSM-4-TR Axis Ⅰ Disorder）
・陽性・陰性症状評価尺度（Positive and Negative Syndrome Scale：PANSS）
・ハミルトンうつ病評価尺度（HAM-D）
・日本語版モンゴメリー/アスベルグうつ病評価尺度（MADRS）
・統合失調症認知機能簡易検査評価尺度日本語版（BACS-J）、他　質問紙など。

【結果・考察】

1）バイオマーカーの検討

これまでに 242 名から同意を取得し、228 名のデータを収集した。疾患横断的バイオマーカーとしては、光トポグラフィ検査で共通のパラメーターが抽出されているが（左右背外側前頭前野領域と敗北者信念に負の相関、QOL と右中側頭回、右背外側前頭前野、前頭極にて正の相関）、新たに MRI の解析において、GCOS スコア（動機付け尺度）と前頭前野、眼窩前頭野、および後帯状皮質の平均尖度（MK）値との間に有意な正の相関が疾患横断的に認められた。さらに、女性に限れば疾患横断的に内発的動機付けスコアと左前頭前野の MK 値との間に正の相関が認められ、バイオマーカーにつながる可能性が示唆された。

2）治療効果

ECT の作用機序および治療効果については、神経炎症反応に着目し、2021 年3月より ECT 前後に PET の導入を開始した。現時点で 7 例のデータを収集し（MDD:4 名、Sz:2 名、BP：1

名）、治療前後の神経炎症について検討を重ねている。また、うつ病の rTMS の効果検証について 3 名同意取得しているほか、MST の導入も始まり症例を積み重ねている。

【結論】

構造 MRI および NIRS では疾患横断的なバイオマーカー候補が示された。一方、治療効果の確認、予測因子については症例数が少ないが、とくにミクログリア活性を計測する PET 検査は炎症性仮説の確認、治療による変化を検討できるため、今後の進展が期待できる。

【参考文献】

1） Ota M. et al. (in preparation) Similar correlation between the causality orientation and regional brain structures in psychiatric disorders revealed by diffusional kurtosis imaging.

各種認知機能障害に関連する生物学的評価指標と新規治療法についての検討

住吉太幹
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 児童・予防精神医学研究部

【緒言】

統合失調症、気分障害など主要な精神疾患では、神経認知機能や社会認知機能の低下害がみられ、社会機能的予後や再発などに大きな影響を及ぼす。一方、それらに対する臨床的に有用といえる治療法は未だ確立しておらず、生物学的評価等に基づく認知機能障害の改善手法のさらなる検討が求められる。特に、簡易に測定可能なバイオマーカーや各種認知機能評価法の整備、および侵襲の少ない介入法開発により、精神疾患患者の社会包摂の促進や満足度の向上が期待される。

経頭蓋直流電気刺激（transcranial direct current stimulation, tDCS）とは、頭皮上に置いた電極から 1-2mA 程度の微弱な電流を流すことで脳の神経活動を修飾する、簡便で低侵襲な電気刺激法である。主として左前頭部への陽性刺激でうつ病や統合失調症の幻聴・陰性症状に対する改善効果が報告されている。われわれはこれまで、統合失調症の認知機能障害に対する左前頭部への tDCS が、陽性症状、運動機能、言語記憶、言語流暢性などを改善することを確認した。

【方法】

2021 年度は、統合失調症の認知機能ならびに日常生活技能に対する tDCS の効果を調べる functional enhancement with tDCS (FEDICS) 研究のデータ収集を進めた。FEDICS は偽刺激を対照に置く無作為ランダム化比較試験で、NCNP で行われている精神疾患領域の特定臨床研究である。対象は NCNP 病院で加療を受けている統合失調症患者で、参加者全員から書面による同意を得て行った。tDCS 施行は既報(Narita et al. 2017)に準じ、アノード（陽極）電極およびカソード(陰極)電極を、それぞれ F3(左側前頭前野)および F2 設置し、5 日間で 10 回の 2 mA 刺激を行った。tDCS 施行前、および施行から 1 カ月と 2 カ月後に以下の臨床評価を行った。

認知機能および日常生活技能の測定は、それぞれ分担研究者らが日本語版を開発した Brief Assessment of Cognitive Function in Schizophrenia Japanese version および UCSD Performance-based Skills Assessment-Brief,を用いた。

【結果】

2021 年度末の時点で、目標症例数 50 名中 22 名の被験者のランダム化が行われている。また、現時点までに tDCS 施行に伴う重篤な副作用は認められていない。2021 年度は、tDCS の作用機序に関する系統的レビュー(Yamada and Sumiyoshi in press)、および tDCS を用いた統合失調症の介入に関する英文著書(Yamada and Sumiyoshi, in press)を公表した。

【結論】

tDCS は簡便で安価に施行可能であり、日常診療への実装が期待される。今後、簡易に測定可能な脳波、脳血流、自律神経活動などの生体指標を反応予測に用いることで、より精緻な治療法開発が期待される。以上は、統合失調症患者の社会復帰に向けた低侵襲脳刺激法の合理的な運用につながる。

【参考文献】

1) Narita Z, Inagawa T, Maruo K, Sueyoshi K, Sumiyoshi T. Effect of Transcranial Direct Current Stimulation on Functional Capacity in Schizophrenia: A Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. *Front Psychiatry*. 2017 Nov 13;8:233.

1) Yamada Y., Sumiyoshi T.: Transcranial direct current stimulation and social cognition impairments of schizophrenia; Current knowledge and future perspectives. In Costa A., Villalba E. (Ed). Horizons in Neuroscience Research. Volume 46. Nova Science Publishers, New York, 2022, pp. 143-170

1) Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. *Clin EEG Neurosci* (in press)

概日可塑性に着目した気分障害病態指標の開発

吉池卓也
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 睡眠・覚醒障害研究部

【緒言】

精神疾患には高率に睡眠・生体リズムの変化が生じ、精神疾患の重症度、治療反応性、再発率、および患者の生活の質に強く影響する。睡眠・生体リズムの変化は特に気分障害で顕在化しやすい。近年、気分障害と睡眠・生体リズム異常は相互に影響することが明らかになりつつあり、気分障害の治療、再発予防、さらには発症予防の観点から、睡眠・生体リズムの是正が重要な意義をもつと考えうる。本課題は気分障害の病態・治療反応性に関わる新たな睡眠・生体リズム指標を開発することを目的とする。

【方法】

1）覚醒療法の急性効果の検証

睡眠・覚醒周期の延長により時間単位で抗うつ効果をもたらす治療法として、覚醒療法の臨床的有用性が確立されつつあるが、わが国における知見は乏しい。本課題ではうつ病相に対する覚醒療法の臨床効果を検討する。これを脳 MRI 指標、睡眠・覚醒リズム指標、高次認知指標、遺伝学的指標と関連づけ、治療反応予測因子を探索する。

2）気分障害の概日リズム指標の開発

気分障害では症状が日周性に変動する特徴を示す一方で、生理指標の概日律動性は弱まることが知られているが、診断・治療に利用可能な概日指標は得られていない。本課題では脳 MRI 指標や時間認知指標の概日変動性に着目し、気分障害病態における意義を検討する。

【結果と考察】

1）治療プロトコルを策定し、倫理審査委員会の承認を得て、当院の入院環境における実施体制を整備した。今後、パイロット症例での試験導入を経て多数例での検討を進める。即効性のある非薬物療法として新たな臨床的意義をもたらすと期待される。

2）既存データを用いて検討したところ、自罰傾向、絶望感といった抑うつ的認知は抑うつ重症度、治療反応性、全般的認知と独立して時間認知の個人特性と関連した。我々が報告した覚醒療法への治療反応性と時間認知の変動性の関連を考慮すると、時間認知は気分障害の状態指標・特性指標のいずれの役割も有することが示唆される。

【結論】

睡眠・生体リズム指標の開発は、気分障害の病態理解および治療法開発を促すものと期待される。

【参考文献】

1. Gottlieb JF et al. The chronotherapeutic treatment of bipolar disorders: A systematic review and practice recommendations from the ISBD task force on chronotherapy and chronobiology. Bipolar Disord 21: 741-73, 2019.
2. Yoshiike et al. Depressive cognitive style relates to an individual trait of time perception in bipolar depression: A preliminary study. J Affect Disord Rep 9: 100363, 2022.

トランスレータブル脳指標による異なる精神・神経疾患間に共通の病態基盤の解明

三輪秀樹
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所　精神薬理研究部

【緒言】

精神・神経疾患はさまざまな環境要因や遺伝要因をリスクファクターとし、様々な症状をきたし、現在はそれらを症候学に基づき分類し、それに基づき診断、治療している。しかしながら、異なる精神・神経疾患間で、共通の症状・機能障害を呈することが知られている。たとえば、統合失調症、アルツハイマー病、知的障害において、認知機能障害が認められる。このことは、異なる症候群に分類されている異なる精神・神経疾患間において、共通の機能障害、すなわち神経回路異常を生じている可能性を示唆している。本研究では、これらの疾患において、共通に観察されているガンマオシレーション異常やノンレム睡眠スピンドル波異常について、すでに確立されているモデル動物において、臨床研究で報告されているような異常が観察されるのかを明らかにする。さらに、それらの異常神経回路の病態を明らかにすることで、治療標的の探索を行う。

【方　法】

さまざまな精神疾患モデルマウス（統合失調症・自閉症スペクトラム症、うつ病、知的障害、PTSD）に対して、脳波測定を行い、睡眠ステージ解析および、ノンレム睡眠スピンドル波の解析を行う。さらに、ガンマオシレーションを測定するために、40Hz クリック音を提示したときの聴性定常反応 ASSR を記録し、解析を行う。また、マウスで用いてきたスピンドル波解析プログラムをヒト脳波に適応するために、パラメータの調整に取り組む。ASSR 測定に関しても、より検出レベルが高くなる手法の改善に取り組む。

【結果】

上記のように、複数のラインの精神疾患モデルマウスについて、解析を今後行っていくために、できるだけ効率よくハイスループットで解析を行っていけるように、脳波測定・解析システムの改良・増設を行った。このシステムを用いて、知的障害モデルマウス（1q44 欠損症関連遺伝子・RP58）、自閉症モデルマウス（幼若期のみ小脳特異的神経活動抑制）について基礎的データの取得を行った。

【考察】

脳波測定・解析システムの改良・増設を行い、無事ワークすることを確認した。今後、この計測系を用いて、複数の精神疾患モデルマウスにおいて、ガンマオシレーション異常やノンレム睡眠スピンドル波異常が確認されるかを解析していく。また、この結果をもとに、ヒト臨床データに適応したり、マウスを用いた細胞レベルでのより詳細な解析による治療標的分子の探索を行ったりすることで、臨床試験に繋げられることを期待する。

【結論】

新たに増設・改良した脳波測定・解析システムによりさらに複数の精神疾患モデルマウスについてガンマオシレーションやノンレム睡眠スピンドル波について解析を行い、共通病態基盤の可能性について明らかにしていく。

【参考文献】

1.　Dara S Manoach, Jen Q Pan, Shaun M

Purcell, Robert Stickgold. Reduced Sleep Spindles in Schizophrenia: A Treatable Endophenotype That Links Risk Genes to Impaired Cognition? Biol Psychiatry. 80(8):599-608, 2016.

2. C S Herrmann, T Demiralp. Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. Clin Neurophysiol. 2005. 116(12):2719-33, 2005
3. Tae Kim, Stephen Thankachan, James T McKenna, James M McNally, Chun Yang, Jee Hyun Choi, Lichao Chen, Bernat Kocsis, Karl Deisseroth, Robert E Strecker, Radhika Basheer, Ritchie E Brown, Robert W McCarley. Cortically projecting basal forebrain parvalbumin neurons regulate cortical gamma band oscillations. Proc Natl Acad Sci USA. 112(11):3535-40, 2015.

精神病症状に関連する生物学的評価指標の検討と患者層別化研究

橋本亮太
国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 精神疾患病態研究部

【緒言】

精神疾患の診断は、医師の問診に基づく症状の評価によってなされている。その生物学的な妥当性は全く担保されておらず、客観的・科学的な診断法の開発が望まれている。本分担課題では、従来の診断カテゴリーではなく、精神病症状に関連する生物学的な評価指標を検討する。患者層別化を行い、新たな診断基準を構築する。その層別化された患者の病態メカニズムを明らかにすることにより、新たな治療法の開発に資することを目的としている。精神病症状を呈する患者において、認知機能や眼球運動などの生物学的指標にて層別化を行う。その層別化された患者群における脳病態を明らかにするために、三次元脳構造画像、拡散テンソル画像などを用いて解析を行う。

【方法】

精神疾患の診断ではなく、精神病症状に関連する生物学的な評価指標を検討して、患者層別化を行う。今までに精神病症状を呈する代表的な精神疾患における生物学的な評価指標の検討を行ってきており、同様の指標を用いて精神病症状との関連を解析し、その異同について検討する。具体的な生物学的指標としては、認知機能（ウェクスラー知能検査、ウェクスラー記憶検査、ウィスコンシンカードソーティングテスト、語流暢性課題など）や眼球運動（フリービューイング課題、スムースパシュート課題、注視課題）を用いて患者の層別化を行い、その層別化された患者群における脳病態を明らかにするために、三次元脳構造画像、拡散テンソル画像などを用いて解析を行う。

【結果】

精神疾患の診断ではなく、精神病症状に関連する生物学的な評価指標を検討して、患者層別化を行うために、統合失調症 60 例について、精神病症状を PANSS で評価を行い、ウェクスラー知能検査などの認知機能、フリービューイング課題、スムースパシュート課題、注視課題などの眼球運動、三次元脳構造画像、拡散テンソル画像、安静時機能的 MRI 画像のデータを収集した。また、既存の統合失調症患者データについて、本解析を行うためのデータベースを構築しており、精神病症状と大脳皮質下体積の関連を検討した。予備的な解析結果において、淡蒼球体積と精神病症状との間に正の相関が得られることが見いだされた。

【考察】

統合失調症の皮質下体積については、2016 年に国際的ニューロイメージングのコンソーシアムである ENIGMA の 4568 例のメタアナリシスによって、海馬体積などの減少及び淡蒼球体積などの増加が報告された 1)。同年、日本の生物学的精神医学の多施設共同研究体である COCORO の 2564 例のメタアナリシスによって再現性が確かめられている 2)。このように統合失調症においては、大脳皮質下領域も重要な役割を果たしている可能性が示唆されている。今回の予備的解析によって、この皮質下体積の中で、統合失調症で増大が認められている淡蒼球体積において、精神病症状との関連が認められたことは、統合失調症の層別化に役立つ可能性がある。

【結論】

今後検討を進めて、結果を確定する必要がある。

【参考文献】

1) van Erp TG, Hibar DP, Rasmussen JM, et al. Subcortical brain volume abnormalities in 2028 individuals with schizophrenia and 2540 healthy controls via the ENIGMA consortium. Mol Psychiatry. (4):547-53, 2016

2) Okada N, Fukunaga M, Yamashita F, et al. Abnormal asymmetries in subcortical brain volume in schizophrenia. Mol Psychiatry. (10):1460-6, 2016

精神疾患バイオリソースの収集とバイオマーカーの探索

服部功太郎
国立精神・神経医療研究センター
MGC バイオリソース部

【緒言】

本分担課題では主要精神疾患の脳脊髄液(CSF)を疾患横断的な多項目の評価とともに収集し Data-driven で精神疾患を層別化するバイオマーカーを開発することを目指している。

【方法】

統合失調症、うつ病、双極性障害の患者、および健常対照者について CSF、血液、神経心理学的指標などを他の班員と協力して収集しバイオバンクに登録した。これまでに蓄積された試料・情報も合わせて、分子測定しバイオマーカーを探索した。また、NCNP 内外の複数の研究者とも試料を用いた共同研究を実施した。

【結果と考察】

① 試料・情報の収集

今年度は24検体が追加され累計1,392検体となった。血液検体については順調に収集が進み今年度、統合失調症 109、うつ病 102、双極性障害 52、健常対照 99 集まった。

② 慢性拘束うつ病モデルマウスにおける血管脳関門の機能変化と発症機序の解明

うつ病 CSF で血液由来分子が亢進していることを我々はこれまで報告している。また、うつ病モデルマウスで血管脳関門(BBB)透過性亢進が報告されている。我々はうつ病における BBB 機能変化メカニズムを明らかにする目的で、うつ病患者の CSF マルチプレックスイムノアッセイ、慢性拘束うつ病モデルマウスを用いた検証実験を行い、VEGF シグナルの亢進がうつ行動発現に伴う BBB 機能異常に関与している可能性を示した。(松野ら査読中)。

③ 健常人脳脊髄液・血液を用いた疎水性メタボローム解析

国立医薬品食品衛生研究所との共同で、健常人 CSF の疎水性メタボローム解析により、CSF一血漿間の脂質プロファイル相関を明らかにした。精神疾患との関連が指摘されている DHA・EPA 含有脂質は年齢非依存的に CSF一血漿間の相関が認められた。今後、精神・神経疾患との関連を明らかにしていきたい。(文献1)

④ 精神疾患脳脊髄液中のリゾリン脂質の解析

呉医療センターとの共同研究により、神経炎症に関連するリゾリン脂質種のレベルをうつ病、統合失調症の CSF で調べたところ、健常対照よりも有意に低く、病態への関係が示唆された。(文献2)

⑤ CSF タンパク質に与える ApoE 遺伝子型の影響

高齢のうつ病との鑑別は課題となるアルツハイマー病による軽度認知障害の CSF では、可溶性アミロイド前駆体タンパク質(sAPP)濃度が、他の原因による軽度認知障害よりも有意に高かった。CSFsAPP の測定は、軽度認知障害の鑑別診断に役立つ可能性がある(文献 3)。今後、高齢のうつ病との鑑別への適用も検討したい。

⑥ 精神疾患 CSF 収集の国内普及

今年度は順天堂大学精神医学講座の医師一名に対して腰椎穿刺の研修を行った。また、国内連携推進する目的で、安全性の高い研究目的の精神疾患髄液収集法を紹介した(文献 4)。

【結論】

精神疾患 CSF 収集・連携体制を維持することができた。また、精神疾患の一部にみとめられた BBB 障害を、亜型として支持する知見が得られた。また、NCNP 内外との連携により、脳脊髄液メタボライトについての基礎的なデータや、疾患における脂質の変化などの知見も得られた。得られたリソースやデータを元に引き続き精神疾患の病態解明を行い。治療法開発へ貢献したい。

【参考文献】

1. Saito K, Hattori K, Hidese S, Sasayama D, Miyakawa T, Matsumura R, Tatsumi M, Yokota Y, Ota M, Hori H, Kunugi H. Profiling of Cerebrospinal Fluid Lipids and Their Relationship with Plasma Lipids in Healthy Humans. Metabolites. 11:268, 2021
2. Omori W, Hattori K, Kajitani N, Tsuchioka MO, Boku S, Kunugi H, Okamoto Y, Takebayashi M. Increased matrix metalloproteinases in cerebrospinal fluids of patients with major depressive disorder and schizophrenia. Int J Neuropsychopharmacol. 23:713-20, 2020
3. Araki W, Kanemaru K, Hattori K, Tsukamoto T, Saito Y, Yoshida S, Takano H, Sakata M, Yokoi Y, Omachi Y, Nagaoka U, Nagao M, Komori T, Tachimori H, Murayama S, Mizusawa H. Soluble APP-alpha and APP-beta in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for differential diagnosis of mild cognitive impairment. Aging Clin Exp Res. 34:341-347, 2021
4. 服部功太郎、NCNP バイオバンクにおける脳脊髄液収集と利活用の実際、実験医学、39:135-140, 2021

3-1

Development of novel treatments for psychiatric disorders based on biomarkers.

Mitsuhiko Yamada, MD, PhD
Department of Neuropsychopharmacology, National Institute of Mental Health,
National Center of Neurology and Psychiatry

1. mOFC-BLA synaptic transmission and social behavior in mice

Early-life social experience is critical for the development of social cognition, and early social deprivation induces alteration of sociality in animals and human. In this study, we examined effects of social isolation (SI) on mOFC-BLA synaptic functions in mice. First, we isolated the mice during early (3-5 weeks of age) or late (6-8 weeks of age) adolescence and assessed sociality and mOFC-BLA synaptic properties using optogenetic and patch-clamp methods. SI in early-adolescent, but not late adolescent, decreased sociality and AMPA/NMDA current ratio in the mOFC-BLA synapse. These results suggested that SI disrupted mOFC-BLA synaptic function in early adolescence and caused social deficit.

2. Translational research on taVNS

The transcutaneous auricular vagus nerve stimulation (taVNS) is highlighted as a non-invasive alternative method for VNS. In this study, we examined the effect of taVNS on the contextual fear extinction learning in mice. For taVNS, mice were applied electrical stimulation to auricular concha area. For sham stimulation, auricular helix area was stimulated. We confirmed that the number of c-Fos positive cells in the nucleus of solitary tract was increased in taVNS-mice compared to sham control mice. Then, we examined the effect of taVNS on the extinction learning of contextual fear. As a result, taVNS facilitated fear extinction learning in mice. The mouse model reported in the present study would be a useful tool to investigate further the mechanism of taVNS in the brain. Now, we are planning to perform clinical research on taVNS.

3. The Mental Illness Registry

The Mental Illness Registry (miregistry) is a nationwide cohort registry established by the NCNP in collaboration with the Japanese Society of Psychiatry and Neurology, supported by the Japanese Association of Psychiatric Hospitals and the Japanese Association of Psychiatric Clinics and also in collaboration with patient groups and companies, by research funding (FY2018-2020) from the AMED to establish the system. From FY2021, the basic part to support the expansion and maintenance of the registry and utilization research will be funded by the Intramural Research Grant, while utilization research will be funded by AMED research funds. This year, efforts were

made to increase the number of entries and the number of participating facilities, and to build a system to support utilization research. The number of patients who have given informed consent was 938 while the number of patients who have actually completed the basic information (nearly medical record information) was 444. Males and females were 39% and 61%, respectively, and the age distribution was almost normal, with the largest number of patients in their 40s. With regards to disease classification, schizophrenia was the most common. In addition, one application for utilization research ("Examination of prognosis and outcome prediction in a registry of psychiatric disorders and examination of new analysis methods") was received, and the Information Provision Review Committee was convened on 19th April, which was approved). In consideration of the burden on other medical institutions outside of academia, we narrowed down the required items among the items of basic information.

4. Imaging biomarker research

As of March 2022, we performed NIRS and MRI with 224 patients, and cerebrospinal fluid (CSF) examination was performed with the 133 patients. The SCID-I diagnosis was 40.36% for major depressive disorder (MDD), 21.52% for schizophrenia (Sc), 22.42% for bipolar disorder (BP), and 17.49% for other diseases. We evaluated the relationships between brain microstructural features and causality orientation in patients with Sc, MDD, and BD by diffusional kurtosis imaging (DKI) techniques. Examination of commonalities in Sc, MDD, and BP showed potential biomarkers on MRI. This may lead to the discovery of new biomarkers for psychiatric clinical research.

5. Cognitive impairment in patients with schizophrenia

Schizophrenia patients elicit a wide range of psychopathology, including psychotic symptoms, mood symptoms, and cognitive impairment. In a previous open trial, we demonstrated that transcranial direct current stimulation (tDCS) improved cognition and functional capacity in 28 patients with schizophrenia. However, since it was a pilot study, a controlled trial is needed. Therefore, we conduct a randomized controlled trial designed to evaluate the effect of tDCS on functional capacity in patients with schizophrenia. This is a two-arm, parallel-design, randomized controlled trial, in which patients and assessors will be blinded. Patients meeting DSM-5 criteria for schizophrenia are enrolled and randomized to receive either active or sham stimulation (with 10 sessions in five consecutive days). Functional capacity is evaluated by the UCSD Performance-based Skills Assessment-Brief as primary outcome. Cognition, as measured by the Brief Assessment of Cognition in Schizophrenia, and psychotic symptoms, as measured by the Positive and Negative Syndrome Scale, are also evaluated. Data are collected at baseline, immediately after the last stimulation, and 1 and 2 months thereafter. If active stimulation elicits greater effects compared with those of sham stimulation, it may add to the efforts to improve functional outcomes by neuromodulation in patients with schizophrenia.

6. Research on the optimization of sleep and circadian physiology

Abnormalities in sleep and biological rhythms are highly prevalent in mental disorders, particularly mood disorders. Evidence has provided support for the notion that the relationship between mood disorders and sleep and circadian alterations is bidirectional, thus suggesting that the optimization of sleep and circadian physiology could ameliorate the pathophysiology of mood disorders. This study aimed 1) to assess the clinical efficacy of wake therapy, formerly called therapeutic sleep deprivation, and 2) to develop clinically relevant circadian markers in mood disorders. A treatment protocol was developed, approved by the ethics committee, and a system for implementation was established in our inpatient setting. In addition, using existing data, we found that depressive cognition (e.g., tendency toward self-blame, hopelessness) was associated with a trait-like characteristic of time perception independently of depression severity, treatment response, and general cognition in depressed bipolar patients. The development of sleep and biological rhythm indices is expected to facilitate understanding of the pathophysiology and development of treatment in mood disorders.

7. Translational research on gamma oscillation and non-REM sleep spindle

Psychiatric and neurological disorders are thought to be caused by various environmental and genetic risk factors, and have a variety of symptoms. However, it is known that different psychiatric and neurological disorders share common symptoms and dysfunctions. For example, cognitive dysfunction is observed in schizophrenia, Alzheimer's disease, and intellectual disability. This suggests the possibility of common dysfunction, i.e., abnormal neuronal circuitry, among different psychiatric and neurological disorders that are classified as different syndromes. In this project, we will clarify whether abnormalities of gamma oscillation and non-REM sleep spindle, which are commonly observed in these disorders, are observed in already established animal models as reported in clinical studies. Furthermore, we will search for therapeutic targets by clarifying the pathophysiology of these abnormal neuronal circuits in model mice.

8. Development of objective and scientific diagnostic methods in Psychiatry

Diagnosis of psychiatric disorders is based on the physician's evaluation of symptoms based on an interview. The biological validity of this method is not guaranteed at all, and the development of objective and scientific diagnostic methods is desired. In this subproject, we will examine biological measures related to psychotic symptoms rather than conventional diagnostic categories. Patient stratification will be performed and new diagnostic criteria will be developed. By clarifying the pathological mechanisms of the stratified patients, we aim to contribute to the development of new treatments. Patients with psychotic symptoms will be stratified by biological measures such as cognitive function and eye movements.

Data of 60 patients with schizophrenia were collected using PANSS to assess psychotic symptoms,

cognitive functions such as Wechsler intelligence test, eye movements such as free viewing task, smooth pursuit task, and gazing task, three-dimensional brain structure images, diffusion tensor images, and resting-state functional MRI images. In addition, a database of existing schizophrenia patient data is being constructed for this analysis. Regarding subcortical volume in schizophrenia, a meta-analysis of 4568 cases by ENIGMA, an international neuroimaging consortium, in 2016 reported a decrease in hippocampal volume and other areas and an increase in globus pallidus volume and other areas. In the same year, a meta-analysis of 2564 cases by COCORO, a Japanese multicenter consortium for biological psychiatry, confirmed the reproducibility of the findings. Thus, subcortical regions also play an important role in schizophrenia. We examined the association between psychotic symptoms and subcortical volume. Preliminary analysis revealed a positive correlation between globus pallidus volume and psychotic symptoms. The finding of an association between the globus pallidus volume, which is found to be increased in schizophrenia, and psychotic symptoms may be useful in the stratification of schizophrenia.

9. Research of biomarkers using cerebrospinal fluid samples

In this sub-project, we aim to develop a biomarker of psychiatric disorders using cerebrospinal fluid (CSF) samples. CSF samples from patients with schizophrenia, depression and bipolar disorder, and healthy controls were collected and stored in NCNP biobank together with cross-disease psychological assessments. CSF levels of the proteins and metabolites were measured using e.g., high sensitive multiplex immunoassays or high performance liquid chromatography. We also conducted joint research using those bioresources with multiple researchers inside and outside the NCNP. As a result, we obtained 24 CSF samples in this fiscal year (total 1392). We also obtained blood samples from 109 schizophrenia, 102 depression, 52 bipolar disorder, and 99 healthy controls. Using those samples, we found that the increase in the levels of vascular endothelial growth factor in the CSF of depressive patients and was negatively associated with brain-blood-barrier integrity (Matsuno et al., under review). In collaboration with the National Institute of Health Sciences, we revealed the lipid profile correlation between CSF and plasma samples using hydrophobic metabolome analysis and CSF samples of healthy controls (Saito et al., 2021). In a joint study with the Kure Medical Center, we found that the levels of lysophosphatidic acid docosahexaenoic acid were reduced in the CSF samples of depression and schizophrenia (Omori et al., 2021). Also, we found that the CSF levels of soluble APP-α and APP-β were increased in mild cognitive impairment (MCI) due to Alzheimer's disease compared to other type of MCI (Araki et al., 2021). Thus, we found several promising candidate biomarkers for psychiatric disorders. Further analyses and verification are required for the development of practical biomarkers.

３－２　デジタル技術等による認知行動療法の作用機序の解明と国民生活への実装拡張

主任研究者　　認知行動療法センター

久我弘典

総括報告書

１．研究目的

本研究は、海外ではエビデンスが確立され、多くの疾患の第一選択とされる認知行動療法(Cognitive Behavior Therapy; CBT)に基づくケアを国民が活用できるための基盤を構築することを主眼とする。これらの遂行のために、産後の親とその児のためのCBTに関する研究（①周産期のCBT）と健康増進を含むCBTの研究（②痛みに対するCBT）やコロナ禍で需要が高まる遠隔でのCBTの提供に関する研究（③遠隔睡CBT）を行い、CBTによって“誰一人取り残さず”国民のウェルビーイングの増進を目指す。同時に、研究データを集約するCBTレジストリの構築（④CBTレジストリ研究)とセンシング機器を有する研究施設CBTラボを利用し、各種データをArtificial Intelligence（AI）等を用いて解析を行い、CBTの客観的作用機序の解明を目指す（⑤うつと不安に対するCBT）。さらに、多くの国民にCBTを届けるために、研究で得られた最新の知見に基づく対人援助職向けの研修を行い、CBTの社会実装を行う。

① 周産期にある母子のメンタルヘルスに関する認知行動療法の開発と普及に向けた研究（周産期のCBT）

周産期における母子のメンタルヘルスに関する縦断観察研究を実施し、我が国に特化した周産期のCBTを開発する。また周産期メンタルヘルスに関するデジタル情報によるケアを進める。

②行動医学領域における認知行動療法の展開に関する研究（痛みに対するCBT）

慢性痛に対する標準型CBTおよびIBSに対する集団CBTのRCTを実施し、それぞれ有効性を検証する。同時に他診療科との連携モデルの検討も行う。

③遠隔認知行動療法の開発および普及に関する研究（遠隔睡眠CBT）

不眠症者とCBTセンターを遠隔で繋ぎ、睡眠障害に対する遠隔CBTのフェージビリティスタディを行う。遠隔CBTの有効性及び医療機関と連携した提供形態の実施可能性を検討する。

④認知行動療法のレジストリ構築に資する研究(CBT

レジストリ研究）

CBTの治療メカニズムの解明と治療最適化確立のために、既存の精神疾患レジストリと連携を行い、各種CBT技法の情報やfMRIやセンシングデバイス等から得られた複数の客観データを加え、CBTレジストリの構築に資する検討を行う。

⑤診断を越えた認知行動療法の均てん化に関する研究（うつと不安に対するCBT）

UPを効率的に提供するための臨床モデルの検討と、UPの作用機序を解明する研究を継続し、UPを個人に最適化するための手法を検討する。加えて、専門家への研修を実施し、その有効性を検証する。

２．研究組織

主任研究者

久我弘典　NCNP 認知行動療法センター　センター長

分担研究者

伊藤正哉　NCNP 認知行動療法センター　研究開発部　部長

中島　俊　NCNP 認知行動療法センター　認知行動療法診療部　室長

蟹江絢子　NCNP 認知行動療法センター　研究開発部　客員研究員

堀越　勝　NCNP 認知行動療法センター　特任部長

研究協力者

① 周産期にある母子のメンタルヘルスに関する認知行動療法の開発と普及に向けた研究（周産期のCBT）

中嶋愛一郎　NCNP 認知行動療法センター

牧野みゆき　NCNP 認知行動療法センター

片柳章子　NCNP 認知行動療法センター

横山知加　NCNP 認知行動療法センター

久保田智香　NCNP 認知行動療法センター

三田村康衣　NCNP 認知行動療法センター

②行動医学領域における認知行動療法の展開に関する研究（痛みに対するCBT）

大江悠樹　杏林大学／NCNP 認知行動療法センター

石井裕乃　NCNP 認知行動療法センター

佐々木洋平　NCNP 認知行動療法センター

宗未来　東京歯科大学市川総合病院

伊達久　医療法人社団開遜会仙台ペインクリニック

松原貴子　神戸学院大学総合リハビリテーション学部

③遠隔認知行動療法の開発および普及に関する研究（遠隔睡眠 CBT）

大井瞳　NCNP 認知行動療法センター

宮崎友里　NCNP 認知行動療法センター

井上真里　NCNP 認知行動療法センター

高階光梨　NCNP 認知行動療法センター

④認知行動療法のレジストリ構築に資する研究(CBTレジストリ研究)

駒沢あさみ　NCNP 認知行動療法センター

牧野みゆき　NCNP 認知行動療法センター

梅本郁恵　NCNP 認知行動療法センター

上原陽子　NCNP 認知行動療法センター

中尾智博　　九州大学精神病態医学

⑤診断を越えた認知行動療法の均てん化に関する研究（診断横断的 CBT）

加藤典子　　NCNP 認知行動療法センター
中島俊　　NCNP 認知行動療法センター
藤里紘子　　NCNP 認知行動療法センター
大江悠樹　　NCNP 認知行動療法センター
宮前光宏　　NCNP 認知行動療法センター
豊田彩花　　NCNP 認知行動療法センター
駒沢あさみ　　NCNP 認知行動療法センター
竹林由武　　NCNP 認知行動療法センター
山口慶子　　NCNP 認知行動療法センター
横山知加　　NCNP 認知行動療法センター

短時間で実施可能な簡易型認知行動療法の開発および普及に関する研究（短時間 CBT）

３．研究成果

①周産期の CBT

周産期における母子のメンタルヘルスに関する縦断観察研究のリクルートを開始し、妊婦 1,152 名から調査協力を得て、追跡調査を継続している。本研究プロトコルを UMIN 臨床試験登録システムで登録公開した。

②痛みに対する CBT

慢性痛に対する標準型CBTでは当センターで2例を組み入れ、1例介入終了、1例は介入実施中である。またNCNP整形外科との連携体制を構築した。IBSに対する集団CBTでは114名への介入を終了した。

③遠隔睡眠 CBT

医療機関にヒアリングを実施し、多機関連携について検討を行った。さらに、睡眠障害に対するCBTの普及実装を目指し、マテリアル及び医療機関が使用可能な睡眠衛生資料を作成した。また、倫理委員会の承認を得た。

④CBT レジストリ構築

CBT レジストリ構築に向けた、コロナ禍における国民の心理社会的な課題やニーズの把握を行い、関連した研究が 2021 年 7 月 28 日に九州大学と共同でプレスリリースされた。また、AMED「精神疾患レジストリの構築・統合により新たな診断・治療法を開発するための研究」（研究代表者:中込和幸）の研究者や本研究班分担班との意見交換を行い、既存の精神疾患レジストリとの連携の検討を行なった。さらに、複数の客観データを取得するための、センシングデバイス等を備えた CBT ラボの立ち上げ及び整備を行なった。

⑤うつと不安に対するCBT

うつと不安に対する診断を越えた認知行動療法の臨床試験や症例研究を取りまとめ、学術誌に公表した（Ito et al., in press; Fujisato et al., 2021; Kato et al., 2021）。また、理論的に想定されるCBTの作用機序を観察研究にて検証した（藤里ら, 2021）。さらに、うつと不安に対するCBTの研修を実施し、その有効性を検証した。

４．研究成果刊行一覧

【論文】　計（6）件　うち査読付計（6）件

1. Masaya Ito, Masaru Horikoshi, Noriko Kato, Yuki Oe, Hiroko Fujisato, Keiko Yamaguchi, Shun Nakajima, Mitsuhiro Miyamae, Ayaka

Toyota, Yasuyuki Okumura, Yoshitake Takebayashi, Efficacy of the Unified Protocol for Transdiagnostic Cognitive Behavioral Treatment for Depressive and Anxiety Disorders: A Randomized Controlled Trial, Psychological Medicine, in press、査読有

2. Hiroko Fujisato, Noriko Kato, Hikari Namatame, Masaya Ito, Masahide Usami, Tomoko Nomura, Shuzo Ninomiya, and Masaru Horikoshi, The Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders Among Japanese Children: A Pilot Study, Frontiers in Psychology, 2021.11, 12:731819, doi: 10.3389/fpsyg.2021.731819, 査読有
3. Noriko Kato, Masaya Ito, Yutaka J. Matsuoka, Masaru Horikoshi, Yutaka Ono, Application of the Unified Protocol for a Japanese Patient with Post-Traumatic Stress Disorder and Multiple Comorbidities: A Single-Case Study, International Journal of Environmental Research and Public Health, 202111, 18(21), 11644、査読有
4. Jun Kashihara, Yoshitake Takebayashi, Yoshihiko Kunisato, Masaya Ito, Classifying patients with depressive and anxiety disorders according to symptom network structures: A Gaussian graphical mixture model-based clustering, PLOS ONE, 16(9) e0256902-e0256902, Sep 1, 2021 、査読有
5. Chu C-S, Chou P-H, Wang S-C, Horikoshi M and Ito M, Associations Between PTSD Symptom Custers and Longitudinal Changes in Suicidal Ideation: Comparison Between 4-Factor and 7-Factor Models of DSM-5 PTSD Symptoms. *Front. Psychiatry*, 2021, 12:680434. doi: 10.3389/fpsyt.2021.680434、査読有
6. Nakao T, Murayama K, Takahashi S, Kayama M, Nishi D, Horinouchi T, Oya N, Kuga H. Mental Health Difficulties and Countermeasures during the Coronavirus Disease Pandemic in Japan: A Nationwide Questionnaire Survey of Mental Health and Psychiatric Institutions. International Journal of Environmental Research and Public Health. 18(14):7318, 2021, doi: 10.3390/ijerph18147318, 査読有

【図　書】　計（　4　）件

1. ラッセル・L・コルツ、トビン・ベル、ジェームズ・ベネット-レヴィ、クリス・アイロン（著）、浅野憲一（監訳）、藤里紘子、伊里綾子、川﨑直樹、山田圭介、石村郁夫、泉水紀彦（訳）、岩崎学術出版社、体験的コンパッション・フォーカスト・セラピー、2021年5月、35-85.
2. ジル・エレンリッチ-メイ、サラ・M・ケネディ、ジェイミー・A・シェアマン、シャノン・M・ベネット、デイビッド・H・バーロウ（著）、藤里紘子・堀越勝（監訳）、伊藤正哉・加藤典子（翻訳）、福村出版、つらい感情とうまくつきあう認知行動療法の統一プロトコル　10代の

ための感情を味方につけるプログラム ワークブック、2021年6月、122頁.

3. ジル・エレンリッチ-メイ、サラ・M・ケネディ、ジェイミー・A・シェアマン、エミリー・L・ビレック、ブライアン・A・バゼッラ、シャノン・M・ベネット、デイビッド・H・バーロウ（著）、藤里紘子・堀越勝（監訳）、伊藤正哉・加藤典子（翻訳）、福村出版、つらい感情とうまくつきあう認知行動療法の統一プロトコル 10代のための感情を味方につけるプログラム　セラピストガイド、2021年6月、194頁.
4. Hiroko Fujisato, Noriko Kato, Dominique Phillips, Estefany Sáez-Clarke, Oxford University Press, Chapter 13 Culturally and Linguistically-Sensitive Applications in Other Countries. In: Ehrenreich-May J, Kennedy S, editors. *Applications of the unified protocols for transdiagnostic treatment of children and adolescents,* 180-193.

【学会発表】　計（　5　）件

1. 伊藤正哉、竹林由武、大江美佐里、藤里紘子、牧野みゆき、山口慶子、佐藤珠恵、高岸百合子、堀越勝、心的外傷後ストレス障害とその関連要因と症状に関する調査、第20回　日本トラウマティック・ストレス学会、2021年7月
2. 蟹江絢子・牧野みゆき・青山さやか・岡津愛子・伊藤正哉・中嶋愛一郎・横山知加・久保田智香・堀越勝、周産期のメンタルヘルスにおける効率認知行動療法の研修プログラムの開発、第125回日本小児精神神経学会、2021年6月
3. 横山知加・蟹江絢子・齋藤知見・中嶋愛一郎・伊藤正哉・野馬利恵子・小平雅基・渋谷紀子・佐藤紀子・竹田省、絵本を活用した妊産婦のアサーティブ・コミュニケーションプログラム開発の試み－他者に援助を求めるスキルを中心に－、第17回日本周産期メンタルヘルス学会学術集会、2021年11月
4. 井上真里・中島俊・宋龍平・堀越健・家研也・加藤大祐・吉田伸・大井瞳・宮崎友里・高階光梨・坂田昌嗣・蟹江絢子・田ヶ谷浩邦・堀越勝・久我弘典、プライマリ・ケア医療機関における遠隔CBT-Iの実施可能性の検討、D&I科学研究会（保健医療福祉における普及と実装科学研究会）第6回学術集会、2021年7月
5. 大井瞳・高階光梨・宮崎友里・井上真里・中島俊・久我弘典・堀越勝、デジタル技術を用いたメンタルヘルスへの介入に対する態度の評価－評価尺度eTAP, eTAP-Tの日本語版作成－、第25回日本遠隔医療学会学術大会、2021年10月

【出　願】　計（　0　）件

【取　得】　計（　0　）件

短時間 CBT：短時間で実施可能な簡易型認知行動療法の開発および普及に関する研究

分担研究者　　蟹江絢子
認知行動療法センター

中嶋愛一郎[*2]・伊藤正哉・片柳章子・牧野みゆき・横山知加・久保田智香[*2]・三田村康衣[*2]

[*1] 国立精神・神経医療研究センター認知行動療法センター

[*2] 国立精神・神経医療研究センター病院

緒言

精神障害を抱えた患者の精神療法、特に認知行動療法のニーズは高く、精神科医もそれを認識している。しかし、時間的制約や認知行動療法を実施できるものが少ないために、十分に提供されているとはいえない。このような問題を解決するために、欧米では短時間のCBTが開発されている（David, 2013; Otto et al., 2011）。この短時間CBTは臨床現場で歓迎され、臨床家の間ではその有用性のコンセンサスが得られつつある。

そこで、本研究ではわが国の医療体制に合わせ、通常診療でも行えるような10分程度の短時間かつ様々な職種が実施可能な短時間認知行動療法（短時間CBT）を開発し、普及させることを目的とする。さらに、人材育成プログラムを作成し、研修を行いその効果を検証し研修をさらに改良し、必要な人材を育成していくことを目的とする（研究①）

また提供基盤となるウェブサイトを構築することと目的とする（研究②）

また、どのような認知行動療法の技法がどのような順番で行われると効果が高いのか検証するため、多相最適化戦略試験については、共同研究者（京都大学　古川壽亮ら）と試験の準備を整え開始することを目的とする（研究③）

方法

【研究①】

10 分間程度の短時間かつ様々な職種が実施可能な短時間認知行動療法を認知行動療法の専門家であるものが作成する。

また、10 分間認知行動療法という著書を翻訳する。

【研究②】

認知行動療法の情報を提供するにあたって、まずは周産期領域の妊産婦そのパートナーとその援助者に向けて、情報提供するための記事とイラストを作成し、どのようなプラットフォームにするといいか検討する。

【研究③】

認知行動療法には、様々な治療要素がある。そのなかでも、代表的な治療要素はセルフモニタリング（Self-monitoring; SM）、認知再構成（Cognitive Restructuring; CR）、行動活性化（Behavioral Activation; BA）、アサーション（Assertion Training; AT）、問題解決（Problem Solving; PS）の 5 つである。どのような患者にどのような順番で行われると治療効果が高いか検討する。

結果

【研究①】

1）10 分間認知行動療法のマテリアル開発

10 分間認知行動療法で取り組む疾患を決定した。うつ病、パニック症、社交不安症、全般性不安

症、強迫症、心的外傷後ストレス障害、不眠症、慢性疼痛、過敏性腸症候群、自尊心低下とした。心理の相談室に来院するものにも対応するため、その軽症例についても取り組むこととした。
10 分間認知行動療法で取り組む治療要素については、目標設定・行動活性化・認知再構成・問題可決法・曝露・再発予防とした。
それらについて 10 分間でおさまるようなかたちでセッションが実施できるように必要な要素を書き出した。
うつ病の認知行動療法のテキストは多いが不安症は少ないため、まずは社交不安症に関して患者用マニュアルと治療者用マニュアルにわけて作成した。

２）10 分間認知行動療法の翻訳
翻訳の分担者を決めて翻訳を行った。
出版社と話し合い、レイアウトなどに工夫を凝らしたうえで、「ふだん使いの CBT-10 分間で行う認知・行動介入」を出版した。

【研究②】
ウェブサイトでは、1）妊産婦や妊娠を考えている女性が周産期メンタルヘルスに関するリテラシーを高める　2）パートナーが自身のケアや妊産婦を効果的にサポートする方法を学ぶ　3）専門家が周産期メンタルヘルスに関する知識を高め、援助のスキルを学ぶといった情報が必要だと考えられたため、プレママ・ママ/パートナー/医療者・援助者というカテゴリーにわけて情報を発信する。コンテンツの内容としては、周産期のメンタルヘルス/社会や行政の動き/認知行動療法/パートナーや専門職のメンタルケア/パートナーへの対話ヒント/裏コラムとし、精神科医や心理士や看護師や助産師が執筆した。コンテンツはイラストと記事より成り立っており、見やすく分かりやすい構成であり妊産婦が気楽にみられるように工夫をした。
COVID-19 の拡大により、メンタルヘルス不調を起こす人が多いことが懸念されたため、調査を行ったうえで、「危機に役立つ情報」を追加した。閲覧数が増加した。

【研究③】
現在、京都大学でリクルートを開始し、研究しており、治療要素をどの順番にするといいか検証している。

考察
研究①で、「ふだん使いの CBT-10 分間で行う認知・行動介入」を出版し、社交不安症のテキストを作成したことは、どのように短時間認知行動療法を実施するかを明確にすることができたと考える。
また、研究②では、ウェブサイトを公開したことは、メンタルヘルスリテラシーの向上や、援助希求の方法などを啓蒙することに役立てられる可能性がある。また、研究③で、どの治療要素をどのような順番にするといいのか、個別の特性によって違うのか、などが解明できると、より短時間認知行動療法がパーソナライズされたかたちで提供できる可能性がある。

結論
本研究では 3 つの研究を実施した。COVID-19 が拡大し、メンタルヘルスの不調を訴える方が多いことを予測されたため、調査を実施しウェブサイトを新たに追加するなどの変更はあったが、計画通りに実施できた。

行動医学領域における認知行動療法の展開に関する研究

分担研究者　堀越勝 [1)]

研究協力者　大江悠樹 [1)2)]、高岸百合子 [1)]、細越寛樹 [3)]、菊池志乃 [4)]

所属

1) 国立精神・神経医療研究センター認知行動療法センター　2) 杏林大学精神神経科学教室　3) 関西大学社会学部　4) 京都大学大学院

諸言

行動医学領域において認知行動療法（Cognitive Behavior Therapy: CBT）を展開していくために、まずは慢性の痛みに関する問題を中心的な対象として選んだ。慢性痛はわが国成人の約 23%が有するとされる国民的な問題である [1]。慢性痛の問題は身体的苦痛だけでなく，日常生活上の支障，うつや不安の心理的問題，健康関連 QOL の低下など多岐にわたる。慢性痛による社会的生産性の低下によって，がんの 2. 5 倍，糖尿病の 3 倍にあたる年間 5,600～6,350 億ドル（約 67 兆円）の経済コストが生じると試算され [2]、社会的にも影響の大きい疾患である。

CBT は、海外の臨床試験で慢性痛に対する有効性や費用対効果の高さが示されている。本邦における慢性痛の治療ガイドラインは、こうした海外の先行研究に基づいて認知行動療法を推奨してはいる [3, 4]。しかし，その普及率は著しく低く、日本での慢性痛治療はいまだにマッサージやブロック注射，装具療法といった比較的エビデンスが弱い治療が中心である [5]。

専門的な CBT 実施者の不足に加え、実証的な知見が乏しいという点も大きな問題である。

そこで、本研究では(1)身体化領域での認知行動療法において必要とされる各種マテリアルの整備、(2)専門的な CBT 実施者・指導者の育成体制の整備、そして(3)多施設共同を中心とした臨床試験を実施し、身体科領域における慢性痛をはじめとした各種疾患に対する CBT の有効性を検証することを目的とした。

方法

1．身体科領域での CBT において必要とされる各種マテリアルの整備

これまでに実施したパイロット試験や臨床実践における知見をもとに、各種マテリアルの整備を行った。

2．専門的な CBT 実施者・指導者の育成体制整備

筆者らが開発し、パイロット研究を実施した慢性痛に対する通常型の CBT、および過敏性腸症候群（Irritable Bowel Syndrome; IBS）に対する CBT をベースに、専門的な実施者育成のための体制整備を行い、運用を継続した。

3．慢性痛をはじめとした各種疾患に対する認知行動療法の臨床試験

（1）慢性痛に対する通常型 CBT のランダム化比較試験

関西大学、篤友会千里山病院、神戸大学、川崎医科大学、東京慈恵会医科大学と共同で、慢性痛に対する通常型 CBT のランダム化比較試験を開始した。

（2）慢性痛に対する簡易型 CBT のパイロット試験

当施設に通院中の患者を対象に、慢性痛に対する簡易型 CBT のパイロット試験を実施した。

（3）過敏性腸症候群に対する集団 CBT のランダム化比較試験

京都大学、高槻赤十字病院と共同で慢性痛の一種とされる IBS に対する集団 CBT のランダム化比較試験を実施した。

結果

1．身体科領域での CBT において必要とされる各種マテリアルの整備

本研究の結果、以下のマテリアル整備が行われた。第一に、慢性痛に対する標準型 CBT の RCT 実施のため、治療用テキストおよび治療者用マニュアルを作成した。第二に、慢性痛に対する簡易型 CBT の患者用テキストを作成した。第三に、IBS に対する集団 CBT の患者用資料を作成した。第四に、IBS に対する通院頻度を最小限にした CBT の患者用テキストを作成した。第五に、歯科領域における慢性痛に対する CBT の患者向けテキスト作成に協力し、内容の検討を行った。

2．専門的な CBT 実施者・指導者の育成体制整備

実施中の介入試験や通常の臨床実践のなかで、CBT 実施者・指導者育成のための専門的指導を行った。ここから培ったノウハウをもとに、「慢性痛に対する認知行動療法研修会」および「IBS に対する認知行動療法研修会」を当施設にて実施し、それぞれ 30 名ほどの対象者に対して研修を行った。

3．慢性痛をはじめとした各種疾患に対する CBT の臨床試験

（1）慢性痛に対する通常型 CBT のランダム化比較試験

研究開始後、共同研究施設における倫理審査手続き上の不備が判明したため、再度倫理審査手続きを行い、研究を再開した。

（2）慢性痛に対する簡易型 CBT のパイロット試験

14 例の患者を登録し、特段の有害事象なく介入を完遂した。脱落は 2 名で、研究参加に一度は同意したものの、日程の調整がつかず介入を実施できなかったことが脱落理由であった。

主要評価項目である EQ5D-5L は介入前時点と比べて、介入終了時点、追跡時点において有意な改善を示した。セッションに要した時間は平均で 22 分 58 秒であり、標準型 CBT で一般的に必要とされる 50 分と比較して大きな短縮に成功した。

（3）過敏性腸症候群に対する集団 CBT のランダム化比較試験

現在までに 114 例を登録し、試験を継続中である。

以前実施したパイロット試験で CBT 実施者育成のためのスーパーバイズを受けた京都大学、高槻赤十字病院の医師および心理士の計 2 名が治療者を担っている。

なお、これらの研究の成果は適宜論文化し、情報発信している[6-10]。

考察

本研究では複数の介入研究を実施し、これまでのところ有望な結果が得られている。これらの介入試験における実施者の一部は、現在運用中の専門的な CBT 実施者・指導者育成プログラムによるトレーニングを

受けた者である。本研究で開発された CBT 実施者・指導者育成プログラムは、臨床試験の介入を担当できる治療者の育成を可能とするだけの、一定の有効性を持つ可能性が示された。ただし、今後は実施者の CBT に関する技術をより客観的に評価し、育成効果を実証的に検証していくことも必要であると考えられる。

結論

本研究により、行動医学領域における CBT の効果検証と普及を進めることができた。今後は継続中の RCT を完遂し、効果検証をさらに進めるとともに、論文の執筆を進め、公表していく。また、作成された治療用マテリアルや治療者・指導者育成体制のさらなる普及を目指していく。

引用文献

1. 松平浩・竹下克志・久野木順一・山崎隆志・原慶宏・山田浩司・高木安雄: 日本における慢性疼痛の実態-Pain Associated Cross-sectional Epidemiological (PACE) survey 2009. ペインクリニック, 2011, 32, 1345-1356.
2. Gaskin, DJ, & Richard, P: The economic costs of pain in the United States. J Pain, 2012, 13, 715-724.
3. 日本整形外科学会・日本腰痛学会（監）: 腰痛診療ガイドライン 2012. 東京: 南江堂, 2012.
4. 日本線維筋痛症学会（編）: 線維筋痛症診療ガイドライン 2013. 東京: 日本医事新報社, 2013.
5. Nakamura, M., Nishiwaki, Y., Ushida, T., & Toyama, Y: Prevalence and characteristics of chronic musculoskeletal pain in Japan. J Orthop Sci, 2011, 16, 424-432.
6. 堀越勝・大江悠樹 リエゾン場面への認知行動療法の応用－他科の患者のメンタルヘルス－ 精神科治療学 2016, 31: 163-170.
7. 大江悠樹・堀越勝 過敏性腸症候群に対する認知行動療法 Pain Reserch 2017, 32:267-271.
8. 藤澤大介・堀越勝・笠原諭・岩佐和典・大江悠樹・山本和美・近藤真前 多面的アプローチで慢性痛に挑む 認知療法研究 2018, 11:156-165.
9. 大江悠樹 簡易型認知行動療法について－自身の経験から 精神療法 2019, 45:84-86.
10. Kikuchi S, Oe Y, Sasaki Y, Ishii H, Ito Y, Horikoshi M, Sozu T, Seno H, Furukawa TA: Group cognitive behavioural therapy (GCBT) versus treatment as usual (TAU) in the treatment of irritable bowel syndrome (IBS): a study protocol for a randomized controlled trial. BMC Gastroenterol. 2020. DOI：10.1186/s12876-020-1157-z.

睡眠への認知行動療法の開発および普及に関する研究

分担研究者 中島俊 [1)]

研究協力者 大井瞳 [1)]、宮崎友里 [1)]、井上真里 [1)]、高階光梨 [1)]

所属

1) 国立精神・神経医療研究センター認知行動療法センター

１．緒言

不眠症に対する非薬物療法として不眠症の認知行動療法（Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia: CBT-I）が注目されている。

CBT-I は世界的に治療の第一選択と位置付けられているものの、日本では薬物療法が第一選択となっている[1]。さらに、CBT-I を第一選択としている国々においても、その需要の高さに供給が追い付かず、薬物療法が実施されている[2]。そこで注目されるのが CBT-I を実施可能なセラピストとセラピストのいない医療機関を ICT でつなぐ遠隔 CBT-I である。加えて、COVID-19 の影響により感染対策の観点から非対面での実施が求められている現状もあり[3]、遠隔 CBT-I の開発とその普及が望まれている。本研究では、COVID-19 禍で遠隔での CBT-I の臨床試験を遂行するために必要なコンテンツの作成とセラピスト養成のための研修を実施した。

2．方法

2-1.遠隔 CBT-I の実施に必要なコンテンツの作成

昨年、CBT-I に欠かせないオリジナルの睡眠日誌の開発を行った。本年度は、睡眠日誌について患者さんからいただく質問及びその回答に関する動画を作成した。質問と回答は複数の臨床心理士がこれまで患者さんからいただいた質問とその回答例を抽出し、それらを統合するかたちで作成した。動画は精神・神経疾患の演技経験のある役者に患者の臨床像を伝え、模擬患者役として質問を臨床心理士に問いかけ、臨床心理士がそれに答えるという形式で作成した（図１）

図１　作成した睡眠日誌の Q&A の映像

マインドフルネスのデモ映像は、不眠症の認知行動療法で一般的に用いられる介入プログラム[4]を患者が自宅でも利用できることを目的に作成した。デモ映像は複数の臨床心理士とマインドフルネスの専門家が協力し、患者が自宅でもイメージしながら実施できるよう配慮した映像（図２）と、マインドフルネスに関する Q&A（図３）の二つを作成した。

図２　作成したマインドフルネス動画の映像

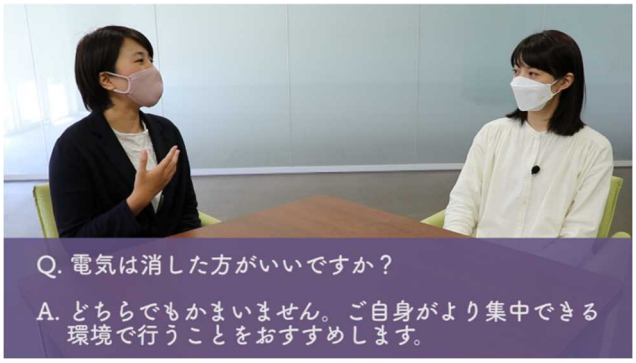


図３　作成したマインドフルネスの Q&A の映像

2-2. CBT-I セラピスト養成のための研修

2019 年度に NCNP 認知行動療法センター主催の CBT-I に関する二日間の対面研修を延べ 50 人以上の対人援助職に実施した。また、2020 年度は認知・行動療法学会の年次大会にて CBT の実施に必要なコミュニケーションに関する研修をオンラインで実施した。

2-3. COVID-19 感染拡大における外出制限下での睡眠の問題の対処ガイドラインの翻訳

ヨーロッパ不眠症の認知行動療法アカデミーによる COVID-19 にまつわる外出制限中の睡眠問題の対処に関する論文（Altena et al., 2020, J Sleep Res, e13052）をヨーロッパ睡眠学会の承諾を得て日本語訳し、NCNP 認知行動療法センターのホームページにて一般公開を行った。

3. 考察

わが国では５人に 1 人が何らかの睡眠の問題を抱えているものの[5]、CBT-I のアクセスは限定的である。そのような背景から、本研究で作成したデジタル教材やセラピスト養成のための研修はわが国の睡眠医療に資するものと考えられる。

４．結論

COVID-19 の影響で当初予定していた研究計画から大幅な変更が必要となったが、本研究で作成した CBT-I に関するコンテンツを用い、今後遠隔 CBT-I の有効性を検証するための臨床試験を実施予定である。また、本研究で作成した一部のコンテンツは NCNP 認知行動療法センターのホームページ等で一般公開を行っている。

謝辞

本研究のデモ映像の作成に Le:self の藤本志乃先生, 有限会社 Jungle の加藤由香さんにご協力いただきました。この場を借りて深く御礼申し上げます。

５．参考文献

1. 厚生労働科学研究班・日本睡眠学会ワーキンググループ. 睡眠薬の適切な使用と休薬のための診療ガイドライン. (2013).
2. Sun, J. *et al.* Primary care provider evaluation and management of insomnia. *J. Clin. Sleep Med.* 2–5 (2021) doi:10.5664/jcsm.9154.
3. Smith, A. C. *et al.* Telehealth for global emergencies: Implications for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J. Telemed. Telecare* **26**, 309–313 (2020).
4. Gong, H. *et al.* Mindfulness meditation for insomnia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Psychosom. Res.* **89**, 1–6 (2016).
5. Kim, K., Uchiyama, M., Okawa, M., Liu, X. & Ogihara, R. An epidemiological study of insomnia among the Japanese general population. *Sleep* **23**, 41–7 (2000).

認知行動療法のレジストリ構築に資する研究

主任研究者：久我弘典[1]

研究協力者　駒沢あさみ[1]、牧野みゆき[1]、梅本郁恵[1]、上原陽子[1]、中尾智博[2]

[1.] 国立精神・神経医療研究センター認知行動療法センター、[2.] 九州大学精神病態医学

緒言

本研究は、代表的な精神疾患に対する CBT に加え、国民の生活の中で生じうる問題などに対する分担研究、すなわち、産後の親とその児のための CBT に関する研究（①周産期の CBT：蟹江分担班）と健康増進を含む CBT の研究（②痛みに対する CBT：堀越分担班）やコロナ禍で需要が高まる遠隔での CBT の提供に関する研究（③睡眠 CBT：中島分担班）等を含めた、研究データを集約する CBT レジストリの構築の検討、及び、NCNP で現在進行中の精神疾患レジストリ研究との連携整備に係る検討を行うことである。また、将来的には、センシング機器を有する研究施設 CBT ラボで得られる、面接中の患者の表情や眼球運動、音声などのデータを利用し、各種データを Artificial Intelligence（AI）等を用いて解析を行い、CBT の治療予測や客観的作用機序の解明を目指す。

方法

1．共同研究者の中尾らと連携し、CBT レジストリ構築に向けた、コロナ禍における国民の心理社会的な課題やニーズの把握を行う。

2．CBT の治療メカニズムの解明と治療最適化確立のために、既存の精神疾患レジストリと連携を行い、各種 CBT 技法の情報や fMRI やセンシングデバイス等から得られた複数の客観データを加え、CBT レジストリの構築を行うための検討を行う。具体的には、CBT レジストリ構築のための課題を抽出し、臨床データ、評価尺度、センシングデータ/脳機能画像等の必要となるデータの検討を行う。

3．面接中の患者の表情や眼球運動、音声などのデータが得られるセンシング機器を有する研究施設 CBT ラボを立ち上げの検討を行う。

結果及び考察

1．コロナ禍における国民の心理社会的な課題やニーズの把握

コロナ禍における国民の心理社会的な課題やニーズの把握を行うために、全国の精神保健福祉センターや精神科医療機関の計 1000 施設を対象に九州大学と行った調査[1]の考察から、上記施設に寄せられた相談内容として、不安、うつ、不眠、アルコール問題といった精神医学的問題に加え、対人関係や偏見差別の悩みなどの社会的要素が含まれており、CBT レジストリでは多岐にわたる臨床情報や症状評価が必要であることが示唆された。また、精保センターの約 3 割は、自殺の危険など緊急を要する相談を経験していたことからも、COVID-19 に関連したメンタルヘルス問題は広がりを見せており、これまで経験したことのない未曾有の事態に対してデータを蓄積していくことが重要であると思われる。

2．CBT レジストリの構築を行うための検討

AMED「精神疾患レジストリの構築・統合により新たな診断・治療法を開発するための研究」[2]（研究代表者：中込和幸）の研究者や本研究分担班よりヒアリングを行い、CBT レジストリの構築を行うための検討を行った。わが国では心理療法の受療希望は多い一方、その有効性や作用機序の検証は欧米諸国と比べて不十分である。精神疾患の同一診断内の異種性を考慮し、

診断カテゴリーを超えた三層構造(第1層:臨床情報、第2層:症状評価/心理検査、第3層:センシングデータ/脳機能画像等)からなる、利活用が可能なオールジャパン体制の縦断的なCBTレジストリを構築が必要であるという意見が得られた。ビッグデータをもとに、疾患異種性を克服する均質な集団を抽出し、認知行動療法の最適化の確立、病態解明と個別化医療の実現を目指すことが必要であろう。次年度以降、現在当センターで行っている厚生労働科学研究「認知行動療法の技法を用いた効率的な精神療法の施行と普及および体制構築に向けた研究」[3](研究代表者: 久我弘典)で得られたデータを活用し、精神疾患レジストリ研究と連携し、データを蓄積していく予定とした。

3. センシング機器を有する研究施設の整備

複数の客観データを取得するための、センシングデバイス等を備えたCBTラボをCBTセンター内に立ち上げ、その整備を行なった。

結論

COVID-19感染拡大下において、CBTを含めた心理療法の必要性がさらに高まっており、多様なCBTの提供形態を確保し、その検証を行うことが重要である。本研究は、コロナ禍におけるメンタルヘルスの増悪の観点からも、CBTの治療メカニズムの解明と治療最適化確立を目指すために、臨床情報や症状評価/心理検査、センシングデータ/脳機能画像等のデータを蓄積するための、CBTレジストリ構築が必要である。

引用文献

1. Nakao T, Murayama K, Takahashi S, Kayama M, Nishi D, Horinouchi T, Oya N, Kuga H. Mental Health Difficulties and Countermeasures during the Coronavirus Disease Pandemic in Japan: A Nationwide Questionnaire Survey of Mental Health and Psychiatric Institutions. International Journal of Environmental Research and Public Health. 18(14):7318, 2021, doi: 10.3390/ijerph18147318
2. AMED研究開発課題データベース　精神疾患レジストリの構築・統合により新たな診断・治療法を開発するための研究〈https://amedfind.amed.go.jp/amed/search/task_search_details.html〉(2022.4.1)
3. 厚生労働科学研究成果データベース　認知行動療法の技法を用いた効率的な精神療法の施行と普及および体制構築に向けた研究〈https://mhlw-grants.niph.go.jp/project/148115〉(2022.4.1)

診断を越えたCBTの均てん化に関する研究

分担研究者：伊藤正哉[1]

堀越勝[1]、加藤典子[2]、藤里紘子[1,3]、山口慶子[1]、宮前光宏[1,4]、竹林由武[1,5]、大江悠樹[1,6]、中島俊[1]、蟹江絢子[1]、豊田彩花[1]、駒沢あさみ[1]

[1.] 国立精神・神経医療研究センター認知行動療法センター、[2.] 慶應大学、[3.] 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所、[4.] 国立精神・神経医療研究センター神経保健研究所、[5.] 福島県立医科大学、[6.] 杏林大学

緒言

本研究では、感情的な困難が特徴的な幅広い疾患への適用が可能な診断横断的な認知行動療法である、感

情障害の診断を越えた治療のための統一プロトコル（Unified Protocol of Transdiagnostic Treatment for Emotional Disorders; UP; Barlow et al., 2017）の効果に着目し、2 つの観点から検討する。第 1 に、成人に対する個人形式の U P だけでなく、児童版 UP、青年版 UP、集団形式の U P などを含めた様々な UP の均てん化を効果的に進めるために、さまざまなマテリアルを開発するとともに、それらを用いた研修を実施し、均てん化のモデルを検討する。第 2 に、UP の治療機序を明らかにする。そのために、すでに終了した予備試験、ランダム化比較試験、および大規模な観察研究のデータを用いて、治療機序や効果測定に関わるプロセス等を検討する。

方法

UP 均てん化のためのマテリアル開発や運用モデルの使用　UP の均てん化を円滑にするために、さまざまなマテリアルの開発が求められる。そのために、最新の知見を踏まえたセラピストガイド及びワークブック（Barlow et al., 2017）、臨床応用テキスト（Barlow & Farcione, 2017）の日本版を作成することとした。また、日本の臨床現場において UP を広めていく上では、集団療法としての実施が容易になることも重要であるが、集団 UP については既存のテキストが存在しない。そこで、グループセッションを均質に進めていくための補助資料（映写スライド）を作成することとした。さらに、UP は児童版と青年版のテキストの翻訳も本邦における均てん化において重要であると考えた。加えて、2020 年の COVID-19 の感染拡大による医療機関受診の困難に対応するため、遠隔のオンラインでの UP の実施を可能とする手法を検討した。

UP の治療機序の検討　様々な疾患群や健常群を有した既存の調査研究の二次解析を通して、統一プロトコルの実施に関与する変数を検証した。さらに、予備試験で実施した PTSD 事例についての詳細な検討を進めた。また、予備試験のデータを用いて、UP における中核的な治療機序である感情調整が、治療効果にどのように関わるかの検証を進めた。

結果及び考察

UP 均てん化のためのマテリアル開発や運用モデルの使用　上述の UP セラピストガイド、ワークブック、臨床応用テキスト、そして児童版のセラピストガイドおよびワークブック（ジル・エレンリッチ-メイほか, 2020）、青年版のセラピストガイドおよびワークブックの翻訳を進めた。臨床応用テキストの監訳では、分担研究者らが 1 次監訳を行い、伊藤が 2 次監訳を進め、出版に至った。児童版のセラピストガイドおよびワークブックも監訳を終えて出版に至った（バーロウ＆ファーキオーニ, 2020）。青年版のセラピストガイドやワークブックも校正を終えるまでに至った。集団版 UP のスライド作成では、イラストなどのビジュアル資料を多く導入し、セッション構造を維持するよう統一的な仕様で作成した。遠隔で UP を実施するためのマニュアルを作成し、これに沿って 1 例に対して遠隔でセッションを実施した。

加えて、我が国でのコンサルテーションを進めるために、UP の指導資格を得る上級コンサルテーションをボストン大学から受けた。このコンサルテーションにより、コンサルテーションや UP の治療遵守の評価法、最新の知見を踏まえた UP の実施手法に関してのノウハウを蓄積した。これらをもとにして、NCNP 内にてコンサルテーションの試行を重ねてきた。このよ

うなコンサルテーションを含めたUPの臨床提供モデルは児童版、青年版、個人版、成人版のそれぞれで構築し、運用しながら改善を重ねてきた。特に、成人版のUPについてはe-learningやオンデマンド形式の研修の開発し、一部運用をするに至った。

UPの治療機序の検討　UPのPTSDへの適用事例について詳細に検討し、論文を修正した。UPの治療機序としては、うつ病患者の機能障害の改善において行動活性化がマインドフルネスの媒介要因となるモデルして検証し、論文を公表した（図 1. Takagaki et al., 2020）。

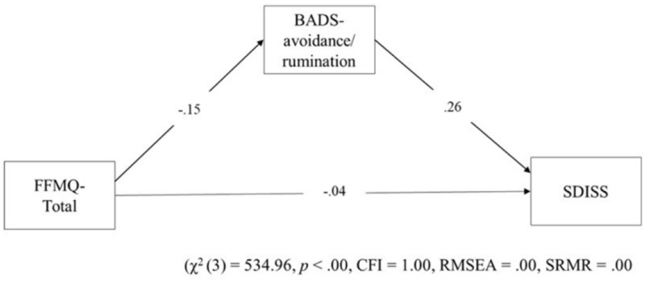


図 1. うつ病患者の機能障害への媒介モデル

加えて、UP の予備試験のデータを二次解析し、感情表出抑制が治療効果を調整することが示唆された（Hosogoshi et al., 2020）。さらに、感情調整スキルがPTSD症状に与える影響を検討した（Fujisato et al., 2020）。また、UPの実施によってベンゾジアゼピンの処方量が減じている可能性が示唆された（Nakajima et al., 2020）。

結論

本開発費によって、統一プロトコルの効果に関する研究が大きく進展した。第一に、児童版、青年版、成人版、集団版、遠隔形式での統一プロトコルの実施に必要な様々なマテリアルを整備することができた。これには、セラピストガイドやワークブックといった中心的な素材の他に、遠隔実施時の留意点をまとめたマニュアルなどが含まれる。さらに、将来的な普及均てん化に繋げるためのコンサルテーションのノウハウを得ることができた。これらの経験を踏まえ、児童青年版、個人版、集団版の臨床提供モデルを構築し改良を重ねられた。

加えて、UP の治療機序を明らかにする研究を進めることもできた。マインドフルネスが機能障害を高めるのに行動活性化が有効である可能性や、感情表出や感情調整スキルが症状の改善に関与しうる知見は今後の臨床実践における重要な示唆を持つと考えられる。今後は、これらの知見を踏まえた臨床実践の指針の作成も望まれる。

本研究によって均てん化のための基盤となる素材や知見が得られた。今後は、社会実装研究として、様々な機関における実装可能性を科学的に検証することが望まれる。

引用文献

Barlow, D. H., Farchione, T. J., Sauer-Zavala, S., Latin, H. M., Ellard, K. K., Bullis, J. R., . . . Cassiello-Robbins, C. (2017). *Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders: Therapist Guide*: Oxford University Press.

Barlow, D. H., & Farchione, T. J. (2017). *Applications of the Unified Protocol for Transdiagnostic Treatment of Emotional Disorders*: Oxford University Press.

バーロウ, ファーキオーニ 編; 伊藤正哉・堀越勝監訳 不安とうつの統一プロトコル　診断を越えた認知行動療法　臨床応用編、診断と治療社, 2020.4

Hiroko Fujisato, Masaya Ito, Matthias Berking, Masaru Horikoshi　The influence of emotion regulation on

posttraumatic stress symptoms among Japanese people. Journal of affective disorders 2020 年 12 月 1 日 277 577-583

Hiroki Hosogoshi, Yoshitake Takebayashi, Masaya Ito, Hiroko Fujisato, Noriko Kato, Shun Nakajima, Yuki Oe, Mitsuhiro Miyamae, Ayako Kanie, Masaru Horikoshi Expressive suppression of emotion is a moderator of anxiety in a unified protocol for transdiagnostic treatment of anxiety and depressive disorders: A secondary analysis.Journal of affective disorders 2020 年 12 月 1 日 277 1-4

ジル・エレンリッチ-メイ [ほか] 著 ;藤里紘子, 堀越勝監訳; 伊藤正哉, 加藤典子訳 子どものための感情探偵プログラム–つらい感情とうまくつきあう認知行動療法の統一プロトコル セラピストガイド, 福村出版, 2020.1

ジル・エレンリッチ-メイ [ほか] 著 ;藤里紘子, 堀越勝監訳; 伊藤正哉, 加藤典子訳 子どものための感情探偵プログラム–つらい感情とうまくつきあう認知行動療法の統一プロトコル ワークブック, 福村出版, 2020.1

Nakajima A, Kanie A, Ito M, Hirabayashi N, Imamura F, Takebayashi Y, Horikoshi M. Cognitive Behavioral Therapy Reduces Benzodiazepine Anxiolytics Use in Japanese Patients with Mood and Anxiety Disorders: A Retrospective Observational Study. Neuropsychiatr Dis Treat. 2020. 16, 2135-2142. 10.2147/NDT.S263537. 査読有

Takagaki, K., Ito, M., Takebayashi, Y., Nakajima, S., & Horikoshi, M. (2020). Roles of Trait Mindfulness in Behavioral Activation Mechanism for Patients With Major Depressive Disorder. *Frontiers in psychology*, *11*, 845., https://doi.org/10.3389/fpsyg.2020.00845

3-2 Dissemination studies of Cognitive Behavioral Therapy for Citizens across Japan

Hironori Kuga, M.D.,Ph.D.,M.P.H.
National Center for Cognitive-Behavior Therapy and Research, NCNP, Tokyo, Japan

Overall purpose of the project

The main goal of this study is to build foundations for the widespread public use of treatment and care methods of cognitive-behavioral therapy (CBT). To meet the goal, we conduct research on CBT that focusses on national issues of sleep and pain. With the aim of increasing the availability of CBT, we also work on tele-health hybrid CBT, transdiagnostic (not limited to diagnosis) CBT, and short term CVT which enable multidisciplinary teams to provide CBT in a simplified manner.

Research results

Our research on CBT for sleep includes the creation of treatment materials and video teaching aids, treatment manuals. As for CBT for pain, we are conducting a multi-site randomized controlled trial of CBT for irritable bowel syndrome based on the data obtained in the pilot study. On telehealth hybrid CBT for depressed patients, we are conducting a clinical trial based on the workbook we developed last year. In the research on transdiagnostic CBT we tried to find out the pathogenesis of depression and anxiety, as well as to promote equalization in group formats and CBT for children. On short-time CBT, we developed a website for providing self-help educational materials on CBT for perinatal mental health. On CBT for sleep, we developed digital materials for providing clinical research on CBT for patients with insomnia.

Future directions

We continue to conduct clinical trials and studies and maintain and strengthen partnerships with research support departments, hospitals, and other institutions to drive CBT in various clinical settings. We also promote the research projects necessary to make CBT available to the public. In the future, we are planning to actively research CBT using ICT.

3－3　認知症・神経変性疾患の基礎・臨床融合研究

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター

岩坪威

総括研究報告

１．研究目的

病態機序解明に関する研究と治療・介護・予防に関する臨床研究の協働を通して、認知症克服のための融合的研究を展開する。NCNP病院に設置された認知症センターやAMED関連事業等と連携し、研究の効率化を進め、成果の最大化を達成する。具体的には下記の研究を遂行する。１）原因となる異常蛋白質の高次構造、神経障害メカニズム、除去メカニズムの解明と治療への応用、２）環境因子（食事、睡眠、マイクロバイオームなど）が神経変性に影響するメカニズムの解明、３）バイオマーカー（画像、髄液など）の開発、４）認知症のBPSD、介護者へのベストプラクテイスの開発研究、５）自治体のブレインヘルスプロジェクトにおける有効な介入方法の開発。

２．研究組織

主任研究者

岩坪威　　国立精神・神経医療研究センター

分担研究者

水澤英洋　　国立精神・神経医療研究センター

株田智弘　　国立精神・神経医療研究センター

長谷川成人　東京都医学総合研究所

高尾昌樹　　国立精神・神経医療研究センター

佐藤典子　　国立精神・神経医療研究センター

齊藤勇二　　国立精神・神経医療研究センター

大町佳永　　国立精神・神経医療研究センター

塚本忠　　国立精神・神経医療研究センター

研究協力者

皆川栄子　　国立精神・神経医療研究センター

３．研究成果

１）病態解明研究において得られた成果を臨床研究に展開

神経変性疾患における睡眠の質低下の意義を解明

PD患者において運動症状が顕在化する前（前駆期）に出現する症状を再現したPD前駆期モデルマウスを用いて、PD患者同様の中途覚醒の増加を慢性的に誘発した際の症状の変化を解析した。その結果、これらの前駆期症状について、中途覚醒の増加により発症が早まる、または症状が増悪することを見出した。この結果は睡眠の異常、なかでも中途覚醒の増加がPD病態に寄与する非遺伝要因である可能性を示唆している。

臨床研究としては、パーキンソン病評価入院患者のうち，RBD（レム睡眠行動異常症）と運動障害の発症時期の違いにより患者群を層別化し、認知機能の低下速度を検討した。結果、RBDが運動症状より先行した患者群において、一年あたりの認知機能スケールの低下速度が速いことが明らかになった。そのような認知機能低下の進行の早いレビー小体病患者の一群の髄液および髄液中エクソソーム中のプロテオーム解析を継続するとともに、RBDの有無によって群分けしたLewy小体患者においても蛋白質の発現量の増減があるかを検証している。

超高齢者における脳病理の解析

超百寿者（110歳以上）の病理解剖を多施設共同研究により推進した。現在までに18例の超百寿者の脳病理解析ができた。2例が男性、16例が女性で、平均死亡年齢は112 歳（110～114歳)であった。ApoE 遺伝子型は、2/3 （11.1%)、3/3 (72.2%)、3/4 (16.7%) であった。脳病理所見として、Pathological findings of Alzheimer's disease (ADNC)がlow（9 例50%), intermediate（7例 38.8%)、high（2 例11.1%）であった。Thal’s stage of amyloid-beta はA1 （7例38.8%)、A2（2例11.1%)、A3（9例50%)。Braak’s stage of neurofibrillary tangles は、B1（5 例27.7%)、B2（11 例61.1%)、B3 （2 例11.1%）であった。とくに、7例（38.8%）は、primary age-related tauopathy (PART)に一致する病理所見であった。レビー小体病の沈着は1例だけに認めた。また、顕著な脳血管疾患は認めなかった。APOE多型との関連も明らかではなかった。これらの結果は、長寿者における脳病理変化は、単なる加齢の連続ではない可能性を示唆するものである。通常の加齢に伴う脳病理変化を遅らせる、あるいは防護的に作用する何からの機序が、真の健康長寿者に存在する可能性が示唆された。

脳画像評価に基づく神経変性疾患病理の解析

MRの自由水画像(FWI :free water imaging)を用い、FWIとPETでのTHKやPiBの分布に相関がないかをみることで、FWIがTHKと同様にAlzheimer病の病勢を反映するかを検討した。正常群40例、pre-clinical AD群9例、AD群22例を対象とした。結果、FWIにおける群間比較においては、海馬、海馬傍回、

紡錘状回にAD群の方がHC群に比べて有意に高値であった。FWIとTHK PET、PiB PETとの相関解析では、主に両側の側頭葉において、18 F-THK5351の方がPiBよりも広範な相関関係が描出された。FWIと神経心理学的検査との相関関係では、主に海馬、扁桃体、紡錘状回といった両側の側頭葉において、FWIとMoCA-Jとの間に負の相関関係、CDR-Sum of boxesとの間に正の相関が描出された。結論としてタウ凝集や神経炎症過程がADにおけるFWを上昇させ、FWIがADの神経変性変化や進行評価として使用できる可能性が示唆された。

異常分子の伝播機序・毒性と制御の解明

APPトランスジェニック(tg)マウス脳から抽出した可溶性Aβ画分中に、~300kDaのオリゴマーを同定し、この可溶性オリゴマーを蓄積のないAPP tgマウス脳に注入したところ、3ヶ月後に脳内に海馬表層に帯状に広がるアミロイド蓄積の伝播を同定した。アクアポリン4ノックアウトマウスと交配したタウトランスジェニックマウス脳では、リン酸化タウの蓄積が有意に増大し、神経細胞脱落、脳萎縮が生じた。

J-TRC研究と連携して110例のアミロイドPETを含むスクリーニングを非認知症高齢者に対して実施し、プレクリニカルADを含むアミロイド上昇例を同定、血漿Aβ42コンポジットマーカーによる高い予測能を実証した。

アルツハイマー病(AD)、ピック病(PiD)、進行性核上性麻痺(PSP)、及び大脳皮質基底核変性症（CBD）と病理診断されたタウオパチー患者脳から界面活性剤不溶性画分を調製し、そこに含まれるタウ線維をタグ付3Rタウもしくは4Rタウを発現するヒト神経芽腫SH-SY5Y細胞に導入した。その結果、AD及びPiD脳から抽出したタウ線維は3Rタウの凝集を、AD、PSP及びCBD脳から抽出したタウ線維は4Rタウの凝集を誘導した。患者脳由来タウ線維を導入した培養細胞の不溶性画分を電子顕微鏡で観察すると、患者脳から抽出したタウ線維に類似した線維構造が多数観察された。またこれらの線維はタグ抗体とタウ抗体で標識されることから、培養細胞内に発現させたタグ付タウが患者脳由来タウ線維を鋳型に線維を形成したことが示唆された。さらに線維導入細胞の不溶性タウは、導入したタウ線維に類似した生化学的性質を示すだけでなく、培養細胞を複数回継代したあとも基質選択的なタウ凝集を引き起こす能力を保持していた。以上の結果から、タウオパチー患者脳から抽出したタウ線維の導入により鋳型依存的なタウ凝集及び線維形成が培養細胞内で再現されることが示された。本研究で観察される基質選択的なタウ凝集は患者脳由来タウ線維の構造の違いにより引き起こされると考えられる。クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析により、AD患者脳由来タウ線維の中心構造は3Rタウと4Rタウに共通するアミノ酸配列から構成されているのに対し、PiD、PSP及びCBD患者脳由来タウ線維の中心構造はそれぞれ3Rタウ、もしくは4Rタウ特異的な配列から構成されている。すなわち鋳型タウと基質タウのアミノ酸配列が一致しない場合には、構造的に不安定となりタウ凝集が促進されないと考えられる。今回の結果から脳内における鋳型依存的なタウ凝集が疾患を特徴づけるタウ病理の形成及びその脳内伝播において重要なプロセスであることが強く示唆された。

神経変性疾患関連RNA・タンパク質の細胞内分解機構の解明

リソソームが直接的にRNAを取り込み分解する機構RNautophagyを見いだし研究を進めている。これまでにSIDT2を介したRNautophagyの活性化によって神経変性関連mRNAの分解が促進されることを明らかにした。レビー小体型認知症およびパーキンソン病の剖検脳におけるSIDT2の解析を進めた。前帯状皮質において、コントロール健常脳と比較して両疾患脳ではSIDT2タンパク質の量が上昇していた。また、リン酸化alpha-synuclein陽性凝集体とSIDT2は共局在した。疾患脳では、タンパク質蓄積に反応してSIDT2量が上昇する可能性や、一方でSIDT2が凝集体に巻き込まれ機能低下する可能性を考えている。

プリオン病のレジストリ推進と自然歴・病態解明

NCNPに設置された事務局を運営しレジストリー並びに自然歴調査を推進している。本年度は9月と2月に定期サーベイランス委員会をオンラインで開催し合計500例を超える症例を検討し、累積で4321例をプリオン病と判定した。自然歴調査も順調に進捗し、登録は累計で約1600例に達している。プリオン病と遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班と連携し、プリオン病における神経変性に関わる分子の検索を開始した。

2）臨床における医療・介護モデルの構築

自治体との協力体制構築

これまでに小平市市役所、同医師会と協力体制を構築し、ブレインヘルスプロジェクト小平を立ち上げた。小平市高齢者支援課および地域包括支援センターと協力して認知症状を自覚し始めた人(SCD: subjective cognitive dysfunction）をターゲットとして講演会を開催し、簡単な自記式テストにより、健常者・軽度認知症を選別し、当院もの忘れ外来受診を働きかけるシステムを構築した。健常者・MCI領域の人には当センターのプレクリニカルコホートに参加することを呼びかけている。2022年3月現在、

プレクリニカルコホート登録者は68人となっている。さらに、介入研究を行うために、小平市の健康推進課が行っている「健康ポイント」事業にも2020年度から参加した。歩行などの活動量に応じて商品券などに交換できる健康ポイントを付与するというインセンティブによって、市民の健康を向上させる事業であるが、これまで認知症への効果は考慮されてこなかった。2020年7月に健康ポイント参加者に自記式認知症テストを行ったところ（総数203人）15%がMCI領域であった。年度末のTYM-Jの測定をしたものは162名で、半年の運動により、TYM-Jの平均値は46.3±3.3から、47.6±2.2へ上昇した。同年のデータを10歳毎の年齢階級でさらに分析したところ、80歳代では、42.4±5.6から47.3±2.2と明らかに上昇しており、この半年間の歩数の平均も117.4±39.4万歩であり、認知機能改善の程度との間に明らかな相関がみられた。

WHOプログラムの日本語化と社会実装

WHO が開発した家族等の認知症介護者のための自己学習および支援プログラム iSupport の日本語版（iSupport-J）を我々が作成した。現在、iSupport-J の RCT を実施している。全追跡期間である 6 ヶ月目に到達したのは 11 名であり、研究を完遂したのは 8 名であった。心理評価のフィードバック機能については 10 月に実装が完了した。

BPSD に対するロボットの有用性の検証

本研究では、認知症精査や認知症の行動・心理症状（BPSD)治療等のために入院する患者を対象に、LOVOT による不安や孤独感、ストレス、BPSD を軽減させる効果等を検証するための予備的研究を実施している。研究の実現可能性を評価するために、まずセンター内の複数の部署に貸し出しを行なった。また、認知症看護認定看護師がもの忘れ外来や病棟等に LOVOT を持ち込み、患者や家族の反応を確認すると共に、病棟の理解を得ることで研究の受け入れがスムーズになることを目指している。

今後の研究展開に向けて

初年度には、NCNP を中心に存在する認知症・神経変性疾患領域の専門家が集結することにより、認知症をめぐる種々の側面をカバーする成果が得られはじめた。今後、班員間の連携、成果の融合を強化し、病因タンパク質の重合・伝播に関する研究、臨床病理学的研究等を基盤に、臨床バイオマーカー研究、画像研究により諸疾患に特異的、あるいは共通な病型・病態を解明し、臨床コホート研究による自然歴の解明や治療薬治験の推進、地域社会研究を通じた患者さん、国民への還元を意識して研究を進めたい。

4. 研究成果刊行一覧

1. Ochiai T, Sano T, Nagayama T, Kubota N, Kadowaki T, Wakabayashi T, Iwatsubo T: Differential involvement of insulin receptor substrate (IRS)-1 and IRS-2 in brain insulin signaling is associated with the effects on amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiol Dis. 159:105510. 2021 doi: 10.1016/j.nbd.2021.105510
2. Sato K, Niimi Y, Ihara R, Suzuki K, Toda T, Iwata A, Iwatsubo T: Efficacy and Cost-effectiveness of Promotion Methods to Recruit Participants to an Online Screening Registry for Alzheimer Disease Prevention Trials: Observational Study. J Med Internet Res. 23:e26284. 2021 doi: 10.2196/26284.
3. Sato K, Ihara R, Suzuki K, Niimi Y, Toda T, Jimenez-Maggiora G, Langford O, Donohue MC, Raman R, Aisen PS, Sperling RA, Iwata A, Iwatsubo T: Predicting amyloid risk by machine learning algorithms based on the A4 screen data: Application to the Japanese Trial-Ready Cohort study. Alzheimers Dement (N Y). 7:e12135. 2021 doi: 10.1002/trc2.12135
4. Araki W, Kanemaru K, Hattori K, Tsukamoto T, Saito Y, Yoshida S, Takano H, Sakata M, Yokoi Y, Omachi Y, Nagaoka U, Nagao M, Komori T, Tachimori H, Murayama S, Mizusawa H: Soluble APP-α and APP-β in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for differential diagnosis of mild cognitive impairment. Aging Clin Exp Res. 2021 Jul 20. doi: 10.1007/s40520-021-01935-7. Online ahead of print. 査読有
5. Porto KJ, Hirano M, Mitsui J, Chikada A, Matsukawa T, Ishiura H, Japan Multiple System Atrophy Registry Consortium※, Toda T, Kusunoki S, Tsuji S: COQ2 V393A confers high risk susceptibility for multiple system atrophy in East Asian population. J Neurol Sci. 2021 Aug 24;429:117623. doi: 10.1016/j.jns.2021.117623. （※Mizusawa H. et al.）査読有
6. Kubota T, Hama M, Sugiura Y, Takahashi Y, Ishikawa K, Mizusawa H, Takahashi MP: A nationwide survey of episodic ataxia in Japan. Neurology and Clinical Neuroscience. 2021 Sept 21. doi:10.1111/ncn3.12550. 査読有
7. Tezuka T, Takahata K, Seki M, Tabuchi H, Momota Y, Shiraiwa M, Suzuki N, Morimoto A, Nakahara T, Iwabuchi Y, Miura E,

Yamamoto Y, Sano Y, Funaki K, Yamagata B, Ueda R, Yoshizaki T, Mashima K, Shibata M, Oyama M, Okada K, Kubota M, Okita H, Takao M, Jinzaki M, Nakahara J, Mimura M, Ito D. Evaluation of [18F]PI-2620, a second-generation selective tau tracer, for assessing four-repeat tauopathies. Brain Communications, 2021(Aug)24;3:fcab190 https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab190 査読有

8. Hosokawa M, Masuda-Suzukake M, Shitara H, Shimozawa A, Suzuki G, Kondo H, Nonaka T, Campbell W, Arai T, Hasegawa M. Development of a novel tau propagation mouse model endogenously expressing 3 and 4 repeat tau isoforms. ***Brain*** 2021 Sep 13:awab289. doi: 10.1093/brain/awab289. 査読有
9. Shi Y, Zhang W, Yang Y, Murzin A, Falcon B, Kotecha A, van Beers M, Tarutani A, Kametani F, Garringer H, Vidal R, Hallinan G, Lashley T, Saito Y, Shigeo S, Yoshida M, Tanaka H, Kakita A, Ikeuchi T, Robinson A, Mann D, Kovacs G, Revesz T, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres S, "Structure-based classification of tauopathies", ***Nature*** 2021 Oct;598(7880):359-363. doi: 10.1038/s41586-021-03911-7. 査読有
10. Fujiwara Y, Kabuta C, Sano T, Murayama S, Saito Y, Kabuta T. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients. Neurochemistry International. 2022 Jan;152:105243.
11. Masashi Mizutani, Yuji Nakayama, Yuji Saitoh, Hajime Ariga, Takako Enokida, Tasuku Ishihara, Terunori Sano, Yuichiro Hirata, Harutaka Katano, Tadaki Suzuki, Masaki Takao. Pathologic and neuropathologic study of a case of COVID-19. *JMA Journal*. Accepted. 査読有
12. Ishida K, Yamada K, Nishiyama R, Hashimoto T, Nishida I, Abe Y, Yasui M, Iwatsubo T: Glymphatic system clears extracellular tau and protect from tau aggregation and neurodegeneration. J Exp Med 219:e20211275, 2022 DOI: 10.1084/jem.20211275 査読有
13. Arseni D, Hasegawa M, Murzin AG, Kametani F, Arai M, Yoshida M, Falcon B, Structures of TDP-43 filaments from amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal lobar degeneration, Nature 2022 Jan;601(7891):139-143. doi: 10.1038/s41586-021-04199-3. 査読有
14. Awa S, Suzuki G, Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Saito M, Hasegawa M. Phosphorylation of endogenous alpha-synuclein induced by extracellular seeds initiates at the pre-synaptic region and spreads to the cell body. Sci Rep. 2022 Jan 21;12(1):1163. doi: 10.1038/s41598-022-04780-4. 査読有
15. Schweighauser M, Arseni D, Bacioglu M, Huang M, Lövestam S, Shi Y, Yang Y, Zhang W, Kotecha A, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Newell KL, Tarutani A, Murayama S, Miyazaki M, Saito Y, Yoshida M, Hasegawa K, Lashley T, Revesz T, Kovacs GG, van Swieten J, Takao M, Hasegawa M, Ghetti B, Spillantini MG, Ryskeldi-Falcon B, Murzin AG, Goedert M, Scheres SHW. Age-dependent formation of TMEM106B amyloid filaments in human brains. Nature. 2022. https://doi.org/10.1038/s41586-022-04650-z 査読有
16. Shigemoto Y, Sone D, Okita K, Maikusa N, Yamao T, Kimura Y, Suzuki F, Fujii H, Kato K, Sato N, Matuda H. Gray matter structural networks related to 18F-THK5351 retention in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease patients. eNeurological Sci 2021.01;22:100309:doi: 10.1016/j.ensci.2021.100309. 査読有
17. Matsuda H, Yamao T, Shakado M, Shigemoto Y, Okita K, Sato N. Amyloid PET quantification using low-dose CT-guided anatomic standardization. EJNMMI Res. 2021.12;14:11(1):125:doi: 10.1186/s13550-021-00867-7. 査読有
18. Yuji Saitoh, Masaki Iwasaki, Masashi Mizutani, Yukio Kimura, Masato Hasegawa, Noriko Sato, Masaki Takao, Yuji Takahashi. Pathologically verified corticobasal degeneration mimicking Richardson's syndrome coexisting clinically and radiologically shunt-responsive normal pressure hydrocephalus. Movement

Disorders Clinical Practice. Ahead of Print. https://doi.org/10.1002/mdc3.13442　査読有

19. Yuji Saitoh, Hidehiro Mizusawa. Current Evidence for the Association between Air Pollution and Parkinson's Disease. Annals of Indian Academy of Neurology. Ahead of Print. DOI: 10.4103/aian.aian_62_22　査読有

認知症・アルツハイマー病の病態・診断・治療に関する研究

主任研究者　岩坪　威
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　所長

緒言

認知症の中核をなすアルツハイマー病の脳ではアミロイドβ、タウの２大病因タンパク質が脳内に蓄積し変性を誘発するが、病態進展の詳細は不明である。また臨床的にも両タンパク質の蓄積は症状発現に先行して生じるものと考えられ、無症候期はプレクリニカル期 AD と呼ばれているが、その診断ならびに病態には不明の点が多い。本研究ではアミロイドβ、タウの蓄積過程を、モデル動物を用いて詳細に解析するとともに、プレクリニカル AD を中心とする疾患コホート研究(J-TRC など）と連携し、超早期診断と治療介入を実現する。初年度にはモデルマウス脳の病理生化学的解析、ならびに J-TRC と連携した臨床研究を中心に報告する。

方法

APP トランスジェニック(tg)マウス脳から抽出した可溶性Aβ画分中に、~300kDa のオリゴマーを同定し、この可溶性オリゴマーを蓄積のない APP tg マウス脳に注入し、3 ヶ月後に病理学的解析を行った。アクアポリン 4 ノックアウトマウスとタウトランスジェニックマウス(PS19)を交配し、タウ蓄積の変化を病理学的に解析した。J-TRC 研究と連携して 302 例の高齢非認知症者ボランティアに対してアミロイド PET を含むスクリーニングを実施し、血漿バイオマーカーの変化を解析した。

結果

APP トランスジェニック(tg)マウス脳から抽出した 300kDa の可溶性オリゴマーを、蓄積のない APP tg マウス脳に注入したところ、海馬表層に帯状に広がるアミロイド蓄積の伝播を同定した。アクアポリン 4 ノックアウトマウスと交配したタウトランスジェニックマウス脳では、リン酸化タウの蓄積が有意に増大し、神経細胞脱落、脳萎縮が生じた。
アミロイド PET 検査で視覚読影又は定量解析で脳アミロイドの上昇は 302 例中 77 例（25.5%）に見られ、うち 110 例で検討した血漿Aβ42 コンポジットスコア（島津テクノリサーチ社にて測定）は、Area Under the Curve (AUC)値 0.931 を示した。

考察

APP トランスジェニックマウス脳から、脳アミロイド蓄積を誘発するシード能を有する 300 kDa のオリゴマーを同定した。タウタンパク質は神経細胞内に蓄積すると同時に、脳内蓄積誘発能を有する凝集シード分子種が細胞外に放出され、蓄積の伝播現象を生じるものと想定されている。今回、脳内細胞外間質液の glymphatic flow を規定するアクアポリン 4 分子のノックアウトによりタウ蓄積が顕著に増大したことから、タウシード分子種が glymphatic system により排除されているものと推定された。プレクリニカル AD 例の診断に、血漿Aβ42 コンポジットマーカーが高い予測能を発揮することが示された。

結論

脳アミロイド蓄積を誘発する可溶性オリゴマーの生化学的特徴が明らかになった。今後ヒト AD 脳にも同様のオリゴマーが存在するかの検証が重要な課題となる。タウの glymphatic flow によるクリアランスについては、不溶性のシード分子種を外来性に投与し、標識しつつその動態を追跡することにより、タウ伝播における役割が実証可能と考えられる。
J-TRC 研究と連携してプレクリニカル AD 例の縦断追跡を行い、血漿Aβ42 コンポジットの測定がアミロイド陽性例の同定に有用であることを明らかにした。今後抗アミロイド薬を用いた介入試験によりアルツハイマー病の薬理学的な予防を実現するにあたり重要なスクリーニング方法となるものと考えられた。

参考文献

1. Ishida K, Yamada K, Nishiyama R, Hashimoto T, Nishida I, Abe Y, Yasui M, Iwatsubo T: Glymphatic system clears extracellular tau and protect from tau aggregation and neurodegeneration. J Exp Med 219:e20211275, 202

プリオン病のレジストリ推進と自然歴・病態解明ならびに本研究班の研究・連携の推進

分担研究者　水澤英洋
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
理事長特任補佐

緒言

これまでの経験を活かして本「認知症・神経変性疾患の基礎・臨床融合研究」班の全体の研究が上手く進むよう、主任研究者や幹事と連携して調整・支援を行う。個別研究としては、「プリオン病のサーベイランスと感染予防に関する調査研究」班のプリオン病サーベイランス委員長・JACOP (Japanese Consortium Of Prion on Disease)運営委員長の立場を活かして、NCNP に設置した事務局を運営しレジストリー並びに自然歴調査を推進する。病態解明については体制が強化された神経病理学的研究について共同研究者と連携して進捗を図る。近年、多くの神経変性疾患で原因となる異常蛋白質がプリオンの特徴を有する、すなわちそれのみで伝播・自己増殖することが次々と報告されている。また、ほとんどの神経変性疾患は進行すると認知症を呈する。
すなわち急速進行性認知症の代表的疾患であるプリオン病はまさに神経変性疾患のプロトタイプといえる。

方法

(1) 毎月の研究班グループミーテイングにて司会を務め、全体の調整を図ると共に、内外の研究者との共同研究の可能性について啓発する。
(2) データが蓄積されてきた自然歴について、その詳細を分析する基盤整備を行う。
(3) 病態解明については体制が強化された神経病理学的研究について共同研究者と連携して進捗を図る。

結果

(1) 毎月の研究班グループミーテイングにて司会を行い、積極的に議論を進め、NCNP 内外の研究者との共同研究の可能性について啓発を行った。
(2) 本年度は 9 月と 2 月に定期サーベイランス委員会をオンラインで開催し合計 500 例を超える症例を検討し、累積で 4321 例をプリオン病と判定した。自然歴調査も順調に進捗し、登録は累計で約 1600 例に達している。
(3) 近年、神経病理部門の強化が進んでいるが、高尾部長との共同研究で発症関連分子の抗体入手など免疫組織学的研究の基盤整備が進んだ。

考察

本研究班は NCNP における認知症・変性疾患研究者をできる限り網羅して、オール NCNP 認知症・変性疾患研究体制の構築をめざしているが、極めて有機的に連携が進み基礎から臨床、社会的側面までをカバーすることができている。今年度はこれまで以上に、このユニークな研究体制の維持・発展に貢献できた。
プリオン病のサーベイランスは様々な研究の基礎となるものであり、未回収例が多く存在することを明らかにし、事務局と協力してその本格的な解消努力を強力に進めた。幸い自然歴調査は順調に登録が増加しており、そのデータの解析の基盤が整備できた。病態解明研究は NCNP にあるプリオン病の神経病理学的研究の基盤整備が進み今後の発展を期待できる。

結論

主任研究者、幹事との連携により、研究班全体の発展に貢献する体制の構築ができた。今後の融合・連携の進捗が期待される。

厚生労働省のプリオン病研究班と連携して，サーベイランス調査と自然歴調査を進め、特に後者のデータ解析の基盤が整備できた。

プリオン病の病態解明の一助となる神経病理学的研究の体制が整った。

参考文献

1. Mizusawa H: Prism Adaptation Test (PAT): A Practical and Quantitative Method to Evaluate Cerebellar Function. In: Mizusawa H, Kakei S. (eds) Cerebellum as a CNS Hub. 2021.11. p445-456
2. 水澤英洋: 18-7-2 プリオン病. In: 矢﨑義雄, 小室一成 総編集. 内科学第 12 版　V　血液・造血器／神経系. 2022.3. p310-312

神経変性疾患関連 RNA・タンパク質の細胞内分解機構

分担研究者　株田智弘
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　疾病研究第四部　室長

緒言

認知症などの神経変性疾患に共通した病理学的特徴として、神経細胞内の凝集体形成が知られている。神経細胞内のタンパク質蓄積は神経変性疾患の原因となると考えられており、細胞内異常 RNA やタンパク質の分解促進をできれば有効な治療法となり得ると期待されている。そのためには細胞内分解システムの理解が必要であるが、細胞内分解機構に関しては未だ不明な点が多く残されている。我々は近年、新たな細胞内核酸分解システム RNautophagy/DNautophagy (RDA)を発見した。本研究では、RDA による疾患関連 RNA 分解の分子メカニズムを解明することにより、疾患治療標的を明らかにする。タンパク質を分解する新規経路も発見し研究中であり、この経路についても同様に解析を進める。また、マウスモデルやヒトデータを用いて、これら新規分解経路と神経変性疾患病態との関連性の解明を目指す。

方法

タンパク質分解に関しては、これまでに「タンパク質が直接的にリソソームに取り込まれ分解される」という新規経路を発見した。また、この経路において、SIDT2 はタンパク質をリソソーム内に輸送すること、alpha-synuclein が基質となることも見いだした。これらの結果をふまえ、レビー小体型認知症およびパーキンソン病の剖検脳における SIDT2 の解析を進めた。部位としては alpha-synuclein の蓄積が観察される前帯状皮質と、蓄積がほとんど観察されない下前頭回を用いた。ウエスタンブロッティングと免疫染色により alpha-synuclein と SIDT2 タンパク質について解析した。

結果

前帯状皮質において、コントロール健常脳と比較してレビー小体型認知症およびパーキンソン病では SIDT2 タンパク質の量が上昇していた。また前帯状皮質では、alpha-synuclein と SIDT2 のタンパク質の量に正の強い相関が観察された。下前頭回では、コントロールと比較して両疾患脳で SIDT2 タンパク質の量に変化はなかった。リン酸化 alpha-synuclein 陽性凝集体と SIDT2 は共局在した。

考察

レビー小体型認知症およびパーキンソン病の脳では、alpha-synuclein タンパク質蓄積に反応して SIDT2 量が上昇する可能性がある。一方で SIDT2 が alpha-synuclein 凝集体に巻き込まれ機能低下する可能性もある。

結論

レビー小体型認知症およびパーキンソン病の脳で alpha-synuclein にともなって SIDT2 タンパク質が増加・凝集していた。

参考文献

1. Fujiwara Y, Kabuta C, Sano T, Murayama S, Saito Y, Kabuta T. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients. Neurochemistry International. 2022 Jan;152:105243.

認知症の進行に関わる異常分子の毒性と制御

分担研究者　長谷川成人
東京都医学総合研究所
脳・神経科学研究分野　分野長

緒言

アルツハイマー病(AD)等の認知症やパーキンソン病などの神経変性疾患では、疾患に特徴的な異常型タンパク質の蓄積病変が観察され、病変分布と症状、病変の広がりと病態進行が密接に関係していることが知られている。近年、これらの異常タンパク質病変の形成、伝播の機序として、プリオン病における異常型 PrP の形成や伝播と同じメカニズムが提唱され、実験的証拠が多数示されて注目を集めている。本研究は様々な神経変性疾患のプリオン様伝播を再現する細胞モデルや動物モデルを構築し、メカニズム解明や治療法の開発の基礎となる研究を行うため、患者剖検脳に蓄積する異常型タンパク質の解析と共に、細胞モデルやマウスモデルの構築を行う。今年度は患者由来のタウ線維を培養細胞に導入する細胞モデルの研究について報告する。

方法

AD、ピック病(PiD)、進行性核上性麻痺(PSP)、及び大脳皮質基底核変性症(CBD)と病理診断されたタウオパチー患者脳から界面活性剤不溶性画分を抽出し、これらに含まれるタウ線維を HA/FLAG タグ付き 3R タウもしくは 4R タウを発現するヒト神経芽腫 SH-SY5Y 細胞に導入した。導入後、3 日間培養し、可溶性画分及びサルコシル不溶性画分を調製し、免疫電顕解析を行うとともに、タウの C 末抗体、リン酸化抗体等でイムノブロット解析を行なった。

結果

AD 及び PiD 脳から抽出したタウ線維は 3R タウの凝集を、AD、PSP 及び CBD 脳から抽出したタウ線維は 4R タウ の凝集を誘導した。この基質選択的な不溶性タウの蓄積は 3R タウと 4R タウの両方を発現させた細胞においても同様に観察された。興味深いことに、患者脳由来タウ線維を導入した培養細胞の不溶性画分を電子顕微鏡で観察すると、患者脳から抽出したタウ線維に類似した線維構造が多数観察された 1)。

また、これらの線維は HA/FLAG 抗体、及びタウ抗体で標識されることから、培養細胞内に発現させたタグ付きタウが患者脳由来タウ線維を鋳型に線維を形成したことが示唆された 1)。さらに、線維導入細胞から抽出した不溶性タウは、導入したタウ線維に類似した生化学的性質を示すだけでなく、培養細胞を複数回継代したあとも基質選択的なタウ凝集を引き起こす能力を保持していた 1)。

以上の結果から、タウオパチー患者脳から抽出したタウ線維の導入により鋳型依存的なタウ凝集及び線維形成が培養細胞内で再現されることが示された。本研究で観察される基質選択的なタウ凝集は患者脳由来タウ線維の構造の違いにより引き起こされると考えられる。クライオ電子顕微鏡を用いた構造解析により、AD 患者脳由来タウ線維の中心構造は 3R タウと 4R タウに共通するアミノ酸配列から構成されているのに対し、PiD、PSP 及び CBD 患者脳由来タウ線維の中心構造はそれぞれ 3R タウ、もしくは 4R タウ特異的な配列から構成されることがわかっている 2)。すなわち鋳型タウと基質タウのアミノ酸配列が一致しない場合には、構造的に不安定となりタウ凝集が促進されないことが考えられる。今回の結果から脳内における鋳型依存的なタウ凝集が疾患を特徴づけるタウ病理の形成及びその脳内伝播において重要なプロセスであることが強く示唆される。本研究で確立された患者脳由来タウ線維を用いた培養細胞モデルは孤発性タウオパチー病態を再現するモデルとして有用であり、タウオパチーの新規治療薬開発に役立つことが期待される。

結論

タウオパチーにおける 3R タウと 4R タウからなるタウ線維とその構造多型がタウオパチーの臨床学的、病理学的多様性を引き起こしているが、本研究により、患者脳で起こると考えられる鋳型依存的なタウ凝集、及び線維形成が培養細胞内で再現された。

参考文献

1. Tarutani A, Miyata H, Nonaka T, Hasegawa K, Yoshida M, Saito Y, Murayama S, Robinson AC, Mann DMA, Tomita T, Hasegawa M. Human tauopathy-derived tau strains determine the substrates recruited for templated amplification. Brain. 2021 Sep 4;144(8):2333-2348. 査読有
2. Shi Y, Zhang W, Yang Y, Murzin AG, Falcon B, Kotecha A, van Beers M, Tarutani A, Kametani F, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Lashley T, Saito Y, Murayama S, Yoshida M, Tanaka H, Kakita A, Ikeuchi T, Robinson AC, Mann DMA, Kovacs GG, Revesz T, Ghetti B, Hasegawa M, Goedert M, Scheres SHW. Structure-based classification of tauopathies. Nature. 2021 Oct;598(7880):359-363. 査読有

超高齢者における脳病理

分担研究者　高尾昌樹
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院臨床検査部　部長

緒言

2015 年の国勢調査によれば、日本には約 150 人の 110 歳以上の超高齢者がいるとされている。2016 年に我々は 4 例の 110 歳以上の脳病理所見を報告した（ Acta Neuropathologica Communications volume 4, Article number: 97 (2016)）。4 例の検討では、アルツハイマー病の病理所見が軽いことを含め、超高齢者ではいわゆる加齢に伴う脳病理所見が極端に軽いことを示し、超高齢者では従来指摘されてきたような加齢に伴う脳病理変化が生じていない可能性を指摘した。

本研究では、超高齢者（90 歳以上から 110 歳以上を含む）を対象に、その脳病理所見に関して検討を行うことで、加齢に伴う脳病理変化を明らかにする。一般に、アルツハイマー病やレビー小体型認知症など、有病率の高い認知症疾患は、加齢とともに増加すると考えられているが、真に増加するかどうかを解明する。本研究により、真の超高齢者の脳病理所見を明らかにすることができ、超高齢者の脳病理所見は単に、加齢変化の連続であるのか、異なるのかを解明する。本研究は、真の健康長寿を目指す上での基礎的データを提供できると考えられる。

方法

超百寿者を中心とする病理解剖によるリソースの蓄積が最優先課題であることから、2013 年から超百寿者の病理解剖を開始してきた。2016 年の上記報告以降、慶應義塾大学医学部百寿総合研究センターと共同して、超百寿者の病理解剖を系統的に推進してきた。上述したように、対象数が少ないことから、病理解剖の拠点として、公益財団法人脳血管研究所附属美原記念病院ブレインバンク、NHO 兵庫中央病院、NHO 関門医療センター、岡山済生会病院とコンソーシアムを構成し、超百寿者の病理解剖を確立してきた。今回、分担者が NCNP に異動したことから、NCNP もそのコンソーシアムの 1 施設として関与している。

具体的には、病理解剖を依頼があった場合、死亡された地域を考慮して、近隣のコンソーシアムの施設へご遺体を搬送し、分担者もその施設に出向いて病理解剖を行う。病理解剖においては、通常の病理解剖と同様に遺族から解剖の同意と、ブレインバンクへの登録同意を取得している。

分担者は脳、脊髄といった中枢神経系の神経病理学的検討を行う。一般臓器、およびバンク試料を用いた基礎的研究は、それぞれ担当施設で施行される。組織学的検討として、通常の基本的な組織染色に加え、免疫染色によって、アミロイドベータ、タウ、アルファシヌクレイン、TDP などを評価することは通常の神経病理学的検討と同様である（髙尾昌樹. 剖検における神経病理診断－神経内科の立場から－. 診断病理 33, 267-282, 2016.）。

本研究において、NCNP ブレインバンクはすべて研究同意が得られているので、本研究のために必要な倫理申請が発生する際に申請予定。協力施設のブレインバンクでは、高齢者の研究申請、プリオン病の研究申請は終了している。

結果

令和 3 年度、現在までに解析ができた 18 例の超百寿者（110 歳以上）の脳病理所見をまとめた。2 例が男、16 例が女性で、平均死亡年齢は 112 歳（110～114 歳)であった。ApoE 遺伝子型は、2/3 (11.1%)、3/3 (72.2%)、3/4 (16.7%)であった。脳病理所見として、特にアルツハイマー病の病理変化に着目すると、National Alzheimer's Coordinating Center で用いられている診断基準によると、Pathological findings of Alzheimer's disease (ADNC)が low（9 例 50%), intermediate（7 例 38.8%)、high（2 例 11.1%）であった。Thal’s stage of amyloid-beta は A1（7 例 38.8%)、A2 (2 例 11.1%)、A3 (9 例 50%)。Braak’s stage of neurofibrillary tangles は、B1（5 例 27.7%)、B2 (11 例 61.1%)、B3（2 例 11.1%）であった。とくに、7 例 (38.8%) は、primary age-related tauopathy (PART)に一致する病理所見であった。レビー小体病の沈着は 1 例だけに認めた。また、顕著な脳血管疾患は認めなかった。APOE 多型との関連も明らかではなかった。

考察

これらの結果は、長寿者における脳病理変化は、単なる加齢の連続ではない可能性を示唆するものである。通常の加齢に伴う脳病理変化を遅らせる、あるいは防護的に作用する何からの機序が、真の健康長寿者に存在する可能性が示唆された。

今後は、追加症例の検討を加えるとともに、超高齢者の脳病理所見として重要である、small vessel disease, Limbic-predominant age-related TDP-43 encephalopathy、Aging-related tau astrogliopathy (ARTAG)の評価を加える。

結論

110 歳以上（超百寿者）18 例の脳病理所見を呈示した。脳病理変化は加齢により単調に進行するもの

ではない可能性が示唆された。一方、加齢による変化が遅れているだけという見方もあると考えられるが、そうであったしても、人間の寿命は 120 歳程度と考えられていることから、超百寿研究は、加齢のプロセスを抑制する機序解明に役立つ可能性があると考える。

参考文献

1. 佐野 輝典, 高尾昌樹. 超高齢者の脳病理. 老年内科 2021(6), 3 : 766-775 DOI : 10.11477/mf.1416201692
2. 高尾昌樹. あらためておさえたい！ 「軽度認知機能障害（MCI）」の知識. Expert NURSE 2021(5):37;114-118.
3. Tezuka T, Takahata K, Seki M, Tabuchi H, Momota Y, Shiraiwa M, Suzuki N, Morimoto A, Nakahara T, Iwabuchi Y, Miura E, Yamamoto Y, Sano Y, Funaki K, Yamagata B, Ueda R, Yoshizaki T, Mashima K, Shibata M, Oyama M, Okada K, Kubota M, Okita H, Takao M, Jinzaki M, Nakahara J, Mimura M, Ito D. Evaluation of [18F]PI-2620, a second-generation selective tau tracer, for assessing four-repeat tauopathies. Brain Communications, 2021(Aug)24;3:fcab190 https://doi.org/10.1093/braincomms/fcab190
4. Takao M, Mihara B, Arai Y, Murakami T, Nose S, Hamaya K, Nishida K, Futamura N, Nakayama Y, Mizutani M, Sano T, Kanai Y, Mimura M, Okano H, Hirose N. Brain Pathology of 18 Supercentenarians Aged 110 And Over 、 American Association of Neuropathologists, Inc. Abstracts of the 97th Annual Meeting June 10-13, 2021 St. Louis, Missouri. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, 2021 (6), 80: 594 (abstract)
5. Schweighauser M, Arseni D, Bacioglu M, Huang M, Lövestam S, Shi Y, Yang Y, Zhang W, Kotecha A, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Newell KL, Tarutani A, Murayama S, Miyazaki M, Saito Y, Yoshida M, Hasegawa K, Lashley T, Revesz T, Kovacs GG, van Swieten J, Takao M, Hasegawa M, Ghetti B, Spillantini MG, Ryskeldi-Falcon B, Murzin AG, Goedert M, Scheres SHW. Age-dependent formation of TMEM106B amyloid filaments in human brains. Nature. 2022. https://doi.org/10.1038/s41586-022-04650-z

神経変性疾患における画像研究

分担研究者　佐藤典子
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院放射線診療部　部長

緒言

認知機能の病態を直接表す分子イメージングにはアミロイド PET やタウ PET があり、これらの陽性の有無で新しい認知症疾患の分類が確立されつつある。しかしこれらの画像検査は高額で、かつ日本では未だ保険適応になっていない現状があり、まだまだハードルの高い検査となっている。一方 MRI は非侵襲的に画像を取得可能な検査であり、神経変性疾患の診断に広く用いられている。

MRI の撮像方法、解析手法の発展は目覚ましく、日々新しい手技が開発されており、微細な神経線維や神経細胞の変性や障害を鋭敏に捉えることができる。拡散テンソルや拡散先鋭度データを用いて、近年脳内の自由水を検出することが可能となった。障害部位や異常蛋白蓄積部位にはこの自由水が増加するものと推定される。認知症を呈する神経変性疾患における分子イメージングに、MRI がどのくらい近づけることができるか検討することが本研究の目的である。本年度は MR の自由水画像(FWI :free water imaging)を用い、FWI と PET での THK や PiB の分布に相関がないかをみることで、FWI が THK と同様に Alzheimer 病の病勢を反映するかを検討した。

方法

対象は頭部 MRI(3D-T1 強調画像、拡散先鋭度画像(DKI :diffusion kurtosis imaging)(b = 0, 1000, 2000 s/mm2))、18 F-THK5351-PET、11 C-PiB-PET の撮影と神経心理学的検査が施行された正常、pre-clinical AD、AD を含む 83 例(正常群 40 例、pre-clinical AD 群 9 例、AD 群 22 例)を対象とした。対象はアミロイド PET において、GAAIN でのプロトコルに従って求めた標的大脳皮質のセンチロイドスケールで陽性と陰性に群分けし、陰性を正常、陽性で CDR0 を pre-clinical AD、陽性で CDR>0.5 を AD とし、上記 3 群に分類した。DKI を regularized bi-tensor model にフィットさせ、 MATLAB で bi-tensor FW imaging を算出した。統計処理は SPM12 を用い、FWI を、年齢、性別を共変量とし、unpaired two sample t-test にて、3 群間比較を行った(FWE-corrected $p < 0.05$ for cluster-level inference)。さらに Voxelstats を用いた画像解析手法を用いて、FWI と 18 F-THK5351 集積、11 C-PiB 集積とに相関のある脳部位を評価し、統計学的有意差は、random field theory $p < 0.001$ に設定した。SPM12 にて AD 群における FWI と神経心理学的検査との相関解析を行った。

結果

FWI における群間比較においては、海馬、海馬傍回、紡錘状回に AD 群の方が HC 群に比べて有意に高値であった。FWI と THK PET、PiB PET との相関解析では、主に両側の側頭葉において、18 F-THK5351 の方が PiB よりも広範な相関関係が描出された。FWI と神経心理学的検査との相関関係では、主に海馬、扁桃体、紡錘状回といった両側の側頭葉において、FWI と MoCA-J との間に負の相関関係、CDR-Sum of boxes との間に正の相関が描出された。

考察

AD 群において両側の側頭葉において、18 F-THK5351 と FWI との間に正の相関関係を認め、かつ同部位に、FWI と心理検査に相関関係を認めたことは、FWI は神経炎症部位を、敏感に反映する手法であると考えられる。

結論

タウ凝集や神経炎症過程が AD における FW を上昇させ、FWI が AD の神経変性変化や進行評価として使用できる可能性が示唆された。

参考文献

1. Pasternak, O., Sochen, N., Gur, Y., Intrator, N., and Assaf, Y. (2009). Free water elimination and mapping from diffusion MRI. Magn. Reson. Med. 62, 717–730.
2. Chad, J. A., Pasternak, O., Salat, D. H., and Chen, J. J. (2018). Reexamining age-related differences in white matter microstructure with free water corrected diffusion tensor imaging. Neurobiol. Aging 71, 161–170.
3. Montal, V., Vilaplana, E., Alcolea, D., Pegueroles, J., Pasternak, O., González-Ortiz, S., et al. (2018). Cortical microstructural changes along the Alzheimer's disease continuum. Alzheimers Dement. 14, 340–351.

Lewy 小体病における認知症発症リスクの同定に関する研究

分担研究者　齊藤勇二
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院脳神経内科診療部　医師

緒言

パーキンソン病（PD）などの Lewy 小体病において，認知症の合併は予後不良因子でありる．PD 患者における認知症の発症リスクとしては，嗅覚低下やレム睡眠行動異常症（RBD），自律神経障害などが考えられている．近年，PD 患者の運動症状発症以前からすでに睡眠障害や精神症状，自律神経障害などの非運動症状がみられ，これらが将来の PD 発症を予測するバイオマーカーとして注目され，さらにこれらの非運動症状が運動症状のサブタイプとも関連していることがわかってきている．RBD は Lewy 小体病（PD やレビー小体型認知症）や多系統萎縮症などのα-synucleinopathy の発症予測マーカーとして特に有用と考えられている．このうち，PD に RBD を合併する例では認知症合併が多いなど，RBD は Lewy 小体病の認知症とのつながりが高いと考えられる．さらに，RBD 患者では嗅覚障害や自律神経障害などの合併が多いなど，互いに関連していることが推察される．

本研究では RBD の存在や出現様式による特徴によって Lewy 小体病患者を分類し，認知症に関連するとされる嗅覚低下・自律神経障害がどのように認知症の発症・進展に影響するかを明らかにし，Lewy 小体病における認知症発症リスク因子を同定することを明らかにする．さらに，脳脊髄液中の蛋白質を網羅的に解析・比較し，認知症発症に関わる分子を同定してバイオマーカーとしての有用性を検討することを目的とする．

方法

本研究では Lewy 小体病患者の臨床症状のうち RBD の出現形式により層別化し，各群の認知機能の進行速度などの臨床症状の違いを検討する．さらに，脳脊髄液中の病原蛋白質の増減および蛋白質の網羅的解析を行い，各群の分子動態に違いがあるかを検討した．また，Lewy 小体病と同様のパーキンソニズムを呈するタウオパチーなど，神経変性性認知症についてもデータベース化を進めた．

1）Lewy 小体病患者の臨床症状はすでに NCNP 病院のコホート研究を利用して検討した．運動症状だけでなく，認知症に関連するとされる睡眠障害や自律神経障害，嗅覚障害といった臨床症状に加え，髄液中タウ濃度などに着目して PD 患者群の細分化を行った．

2）1）の臨床データに基づいて細分化した PD 患者の脳脊髄液を網羅的に解析したデータをもとに，有用な分子が見いだせるか統計学的に検討した．なお，脳脊髄液の網羅的解析はがん研究会植田幸嗣博士により行われた．

3）タウオパチーなどの神経変性性認知症のデータベース化には NCNP 病院での診療歴のある患者を抽出し，臨床情報を中心に収集を継続した．

結果

PD 評価入院患者のうち，認知機能の発症リスクとされている睡眠障害（RBD）と運動症状の発症時期の違いにより患者群を分け，臨床的な認知機能の進行の経時的データを検討した．例数が少ないものの，RBD が先行した群では RBD が運動症状に遅れて出現した群および RBD が認められない群に比べて認知機能の低下が速い傾向があった．また，RBD が先行する群では脳脊髄液中のアルツハイマー病マーカーであるタウやアミロイドβの量がそれぞれ高値，低値である傾向がみられた．さらに全脳脊髄液および脳脊髄液中エクソソームのプロテオーム解析を行うと，RBD を有していない PD と比べ，アミロイドシグナルとの関連が示唆された．このため，脳脊髄液よりも簡便に採取できる末梢血において，プロテオーム解析対象患者のアミロイド関連物質の変化を検索しており，RBD 先行患者群の血液中アミロイドバイオマーカーの確立を目指している．神経変性認知症疾患のデータベース化については，タウオパチーの一つである大脳皮質基底核変性症の症状に外科的手術が有用であった例（Saitoh et al., Mov Disord Clin Pract. 2022）や，大脳皮質基底核変性症の症状の局在の検出に Tau-PET が有用であった例（Saitoh et al., in revision）を示し，治療法や画像検査の有用性を実証した．

考察

PD など Lewy 小体病の運動症状発症前の発症予測マーカーとして注目されている RBD は認知機能低下を併発しやすいといわれているが，その有無だけでなく発症時期によっても認知機能や自律神経障害（血圧調節障害）などの非運動症状に影響を及ぼすため，RBD の出現時期にも着目することで Lewy 小体病患者の診療の質を向上させることができる．RBD で層別化することで，脳脊髄液中のアルツハイマー病に関連した分子・分子間ネットワークに違いがあったことから，RBD の発症とアルツハイマー病理の間には何らか関連がある可能性がある．より簡便に採取できる末梢血でのアミロイド関連物質の検

証を行い, RBD の出現時期や認知機能の進行速度との相関を見出すことができれば, RBD の出現時期と末梢血のアミロイド関連物質を測定することで将来の認知機能の進行を予測できるバイオマーカーとして確立できると期待できる．Lewy 小体病の病原蛋白質であるαシヌクレインとタウ，アミロイドβの間にどのような相互作用が引き起こされているかは本研究ではまだ検証できていないものの，複数の分子の動態に着目した解析により，神経変性性認知症疾患の病態が明らかになることが期待される．

結論

PD など Lewy 小体病における認知症発症リスクの同定に関する臨床・分子的バイオマーカーの探索を行った．特に，RBD の発症時期とアミロイド関連病理は，将来の認知機能低下を予測したり，病態を解明したりするためのバイオマーカーとなる可能性がある．

参考文献

なし

BPSD のある認知症者と介護者に対する ICT を用いたアプローチの有用性の検証

分担研究者　大町佳永
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院第一精神診療部　医長

緒言

認知症の行動・心理 behavioral and psychological symptoms of dementia（BPSD）の治療は、薬物療法よりもケアや環境調整、リハビリテーションなどの非薬物療法が優先される。認知症者だけでなく、その介護者に対しても介入が必要である。本研究では、BPSD のある認知症者と介護者のそれぞれに対して、ICT を用いたアプローチの有用性を検証し、新たなエビデンスを創出する。

① 認知症介護者のためのインターネットを用いた心理評価プログラムの効果検証

心理社会的介入が認知症介護者の精神的苦痛を軽減し、健康状態を改善することが報告されている。介護者は時間的・体力的制約が大きいため、場所や時間の制限の少ないインターネットを用いる介入の有用性が期待されている。The World Health Organization（WHO）により、介護者の知識や技術の向上、精神的ストレスの軽減、自己効力感やメンタルヘルスの向上を目指し、オンラインプログラム iSupport が作成された。本研究グループでは、その日本版（iSupport 日本版：iSupport-J）を開発した。介護うつや燃えつきを予防、早期発見するためには、介護者自身がストレスに気づき、医療や介護サービスなどに相談できるようになることが重要と考えられる。本研究では、介護負担やうつ症状、不安などの精神状態をセルフモニタリングできるように、心理評価をフィードバックする web アプリケーションを作成し、iSupport-J の有用性を検証するための RCT において被験者に提供する。

② BPSD に対するロボットの有用性の検証

認知症の BPSD は、介護者にとって介護負担の要因となり、入院中に隔離や身体拘束につながることがしばしばある。昨今では COVID-19 の感染防止のため、家族との面会や外出・外泊が制限されることで、認知症者に BPSD の増悪や身体機能の低下などの悪影響が生じていることが指摘されている。認知症高齢者等に対するロボットを用いた研究において、不安・焦燥感、うつ症状、痛み、無気力、孤独感、徘徊、興奮、暴言・暴力、ストレスを軽減させたというセラピー効果が報告されている。また、セラピーロボットを導入したことにより、医療スタッフや介護職員の身体的・精神的な負担も軽減させるという効果も報告されており、認知症ケアの質の向上が期待される。LOVOT（ラボット）は、GROOVE X 社が開発した家族型ロボットである。本研究では、認知症精査や BPSD 治療のために入院する患者を対象に、LOVOT による不安や孤独感、ストレス、BPSD を軽減させる効果等を検証するための予備的研究を実施する。

方法

① 本年度は、iSupport 日本版の有用性を検証するための RCT において、心理評価尺度のうち Zarit 介護負担尺度日本語版（介護負担）、CES-D Scale（抑うつ症状）、GAD-7 日本語版（不安）の結果をフィードバックするシステムを開発し実装する。次年度以降も引き続き RCT の被験者に対し、心理評価結果をフィードバックする。

② 本年度は研究の実現可能性を評価するために、国立精神・神経医療研究センター内の複数の部署に LOVOT を貸し出し、アンケート調査を実施する。認知症看護認定看護師がもの忘れ外来や病棟等に LOVOT を持ち込み、患者や家族の反応を確認すると共に、病棟の理解を得ることで研究の受け入れがスムーズになることを目指す。次年度以降は予備的研究としての研究計画を立案し、倫理審査委員会に申請する。認知症精査や BPSD 治療のために入院する患者を対象とし、研究計画の妥当性、病棟での実施可能性について検討する。

結果

① 令和 3 年 10 月 26 日に心理評価フィードバック機能の実装が完了し、RCT の被験者に対し、介護負担、うつ症状、不安のフィードバックを開始した。アンケートの結果、介護との向き合い方や被介護者とのコミュニケーション、自身のストレスケアについて、自己肯定感の高まりや負担感の軽減につながったという意見が多くみられた。一方で、iSupport-J で提示されている BPSD の対応については、学習内容に物足りなさを感じるという意見が寄せられた。

② LOVOT を貸し出したセンター内の部署にアンケートを実施したところ、29 件の回答が得られた。「もし患者の立場だとしたら研究参加の上でも LOVOT 付き添い入院パックを利用したいか」という問いに対しては、100%が「利用したい」と回答した。

考察

① iSupport-J に心理評価結果のフィードバックシステムを追加したことで、介護負担感や精神症状のセルフモニタリングにつながることが期待される。BPSD の対応については、RCT が終了した後に改訂を検討する必要があると考えられる。

② 職員を対象とした試用において好意的な意見が多い中で、転倒や感染のリスク、大部屋で使用した場合にトラブルになる可能性も指摘された。入院患者に導入する際には、使用環境などの十分な配慮が必要と考えられる。

結論

認知症介護者の介護負担、うつ、不安をセルフモニタリングするための web アプリケーションを開発した。LOVOT が入院に付き添うことについて好意的な意見が多く寄せられたが、入院環境で導入する前に十分な検討が必要である。

行政と連携した前臨床期・早期認知症レジストリーの構築と早期介入の地域医療モデル開発の研究

分担研究者　塚本忠
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
病院脳神経内科　医長
認知症センター　センター長

緒言

これまでの諸研究では、認知症治療薬の治験において、前臨床期・軽度認知症期での検討が必須であり、また、この段階への様々な介入が効果的であると広く考えられている。

方法

前臨床期認知症のデータベースを構築するためのモデルケースとして、小平市での自覚的認知機能障害のひとや前臨床期認知症のひとを対象として「もの忘れチェック会」を小平市、地域包括支援センター、NCNP 病院認知症センターが共催する。このチェック会の中の自記式テスト(TestYourMemory-J)で認知機能を調べ、健常者・MCI 領域の人には当センターのプレクリニカルコホートに参加することを呼びかける。「もの忘れチェック会」を定期的に開催し、手続きをマニュアル化し、参加者規模を拡大し、前臨床期認知症コホートへの研究登録者の総数を増やし、データを充実させる。得られたデータの統計解析により認知症初期の病態に関する新知見を見出す。

結果

2017 年 8 月に市、10 月に市医師会に「もの忘れチェック会」を提案し、2018 年 4 月から小平市高齢者支援課と具体的な計画をたて、同年 9 月 15 日第 1 回「もの忘れチェック会」開催（参加人数 14 人）。その後、回を重ね(2019 年 9 月には東久留米市認知症疾患医療センター・東久留米市役所・東久留米市医師会と協議し 9 月 9 日に同市で「もの忘れチェック会」開催)、2020 年 2 月以降は COVID-19 渦のため開催数が減ったものの、Web 講演などの工夫をし、2020 年 9 月, 11 月の 2 回「もの忘れチェック会」を再開催した。2021 年度は、social distance を考慮して参加者数を制限して開催。2021 年 4,6,7,9,10,11 月, 2021 年 1,2,3 月の 9 回行った。

参加者における性別は男性 20%, 女性 80%であり、健常者 42%, MCI 32%、認知症 26%であった。2022 年 3 月現在、プレクリニカルコホート登録者は 68 人となっている。

介入研究を行うために、小平市の健康推進課が行っている「こだいら健康ポイント」事業（歩行などの活動量（歩数）に応じて、商品券などに交換できる健康ポイントを付与するというインセンティブによって、市民の健康を向上させる事業）にも 2020 年度から参加した。2020 年 7 月に健康ポイント参加者に自記式認知症テストを行い（総数 203 人）15%が MCI 領域にあることが分かった。2021 年 2,3 月に行った半年後のテストの結果では、運動活動量との相関は見られないものの、認知機能は総じて向上していた。同年のデータを 10 歳毎の年齢階級でさらに分析したところ、80 歳代では、認知機能検査結果(50 点満点)が 42.4±5.6 から 47.3±2.2 と明らかに上昇しており、この半年間の歩数の平均も 117.4±39.4 万歩であり、認知機能改善の程度との間に明らかな相関がみられた。

考察

COVID-19 の感染予防を注意深く行うことにより、「もの忘れチェック会」の開催を行うことが可能である。COVID-19 感染前後でもの忘れチェックへの参加者の認知機能の内容に変化が生じたかは不明である。

健康ポイント事業に参加した市民の認知機能の変化を調べたところ、全体でも半年間の運動の介入で認知機能は改善したが、年齢階級別では 80 歳代で運動量（歩数）と認知機能の改善に正の相関が見られた。今後、さらに参加者のデータが増えていく予定であり、活動量と認知機能の変化の相関を分析していくつもりである。

結論

地域自治体・医師会と連携して認知症を早期に発見するシステム（「もの忘れチェック会」の開催と自記式認知機能検査）を構築した。また、運動が認知機能に及ぼす影響を調査する研究(「こだいら健康ポイント」による）を進めることができた。

参考文献

1. 塚本 忠, 石川清美, 片岡信子, 大町佳永. 地域をつなぐ認知症検診の試み 「ブレインヘルスプロジェクト」. 国立病院総合医学会講演抄録集 73 回 Page P2-2-1691 (2019.11)
2. 塚本 忠, 石川 清美, 朝海 摂, 藤巻 知夏, 和田 歩, 岩田 直哉, 大町 佳永.地域と共催する事業による認知症・軽度認知機能障害のひとの早期発見の試み.臨床神経学(0009-918X)61 巻 Suppl. Page S355(2021.09)
3. 塚本 忠, 野崎 和美, 浅海 摂, 藤巻 千夏, 和田 歩, 岩田 直哉, 大町 佳永, 水澤 英洋. 健康ポイント事業を活用した早期認知機能障害のひとの検出と運動介入効果. Dementia

Japan(1342-646X)35 巻 4 号
Page640(2021.10)

神経変性疾患モデルマウスにおける環境要因の影響の解析

研究協力者　皆川　栄子
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　モデル動物開発研究部　客員研究員

緒言

認知症およびその主な原因疾患である神経変性疾患の病態には遺伝要因と非遺伝要因（環境要因）が寄与する。近年、欧米先進諸国の一部では認知症の有病率や罹患率が減少に転じており、既知の非遺伝要因（糖尿病、高血圧、心血管疾患の既往など）の交絡を排除してもなお有意な減少が見られたとの報告もある。この知見は認知症・神経変性疾患が予防可能な疾患であることを示唆しており、予防標的となる未知の非遺伝要因を同定しその背景機構を解明することが認知症・神経変性疾患の克服に向けた重要な手がかりとなると期待される。

我々はこれまで認知症・神経変性疾患病態に寄与する新たな非遺伝要因の候補として睡眠の異常、なかでも睡眠の質の低下をもたらす中途覚醒の増加に着目して研究を進めてきた。とりわけ、ヒトと相同性の高い睡眠―覚醒制御機構を持つモデル動物であるマウスの特性を生かして、睡眠の異常が認知症や神経変性疾患モデルマウスの行動学・病理学・生化学的表現型に与える影響を解析し、睡眠の異常と神経変性疾患病態の因果関係を明らかにするとともに、その背景にある機構を明らかにすることをめざしている。これまでにアルツハイマー病（AD）モデルマウスに対して患者特有の慢性的な中途覚醒の増加を誘発し、中途覚醒回数と AD の特徴的な病理所見であるアミロイドβ蓄積量が有意な正の相関を示すことを見出した[1-2]。

そこで本研究では、神経変性疾患には「異常タンパク質の蓄積による神経細胞の機能不全と神経細胞死」という共通の基盤的病態が存在することを鑑みて、AD に次いで患者数の多い神経変性疾患であるパーキンソン病（PD）の病態に対して、中途覚醒の増加をはじめとする睡眠の異常がどのように寄与するかを明らかにするとともに、その背景にある機構を明らかにすることをめざす。

方法

PD 患者において運動症状が顕在化する前（前駆期）に出現する症状を再現した PD 前駆期モデルマウスを用いて、PD 患者同様の中途覚醒の増加を慢性的に誘発した際の症状の変化を解析した。

結果

PD 前駆期モデルマウスに出現する複数の前駆症状について、中途覚醒の増加により発症が早まる、または症状が増悪することを見出した。

考察

以上の結果は中途覚醒の増加が PD 病態に寄与する非遺伝要因である可能性を示唆するとともに、睡眠の異常による病態進行が AD 特異的な現象ではない可能性を示唆している。従来、中途覚醒の増加をはじめとする神経変性患者の睡眠の異常は、神経変性病理が睡眠－覚醒や概日リズムの制御機構に波及した結果として生じるものと考えられてきたが、われわれの結果は従来の考え方とは逆に、睡眠の異常が神経変性病態を進行させることを示唆する。すなわち睡眠は様々な神経変性疾患に共通して病態に寄与する非遺伝要因である可能性があると考えられる。

今後は中途覚醒の増加により前駆症状が増悪した PD 前駆期モデルマウスにおいて、前駆症状の責任臓器や組織の病理解析を実施予定である。またこれらの PD 前駆期モデルマウス由来の脳組織・血液・脳脊髄液などを用いたトランスクリプトーム解析・プロテオーム解析や、糞便の 16S rRNA 解析による腸内細菌叢解析などを行い、中途覚醒の増加による前駆症状悪化の背景にある機構を明らかにすることをめざす。

結論

睡眠は様々な神経変性疾患に共通して病態に寄与する非遺伝要因である可能性が示唆された。

参考文献

1．Minakawa EN, Miyazaki K, Maruo K, Yagihara H, Fujita H, Wada K, Nagai Y. Chronic sleep fragmentation exacerbates amyloid ß deposition in Alzheimer's disease model mice, ***Neurosci Lett***. 2017;653: 362-36
2．Minakawa EN, Wada K, Nagai Y. Sleep disturbance as a potential modifiable risk factor for Alzheimer's disease. ***Int J Mol Sci*** 2019, 20(4). pii: E803.

3-3
Hybrid Studies of Basic and Clinical Research on Neurocognitive Neurodegenerative Disorders

Takeshi Iwatsubo, M.D., Ph.D.
Principal Investigator of the Research Group
National Center of Neurology and Psychiatry

(1) Purpose of the study group

The mission of the study group was to elucidate the pathogenesis/pathophysiology of neurocognitive neurodegenerative disorders, and to develop methods for their prevention, therapy and care. To achieve the goal, the group conducted following three projects; 1) basic research, 2) clinical investigation, and 3) development of new treatment and care of neurocognitive disorders.

(2) Members of the research group:

Takeshi Iwatsubo, Hidehiro Mizusawa, Tomohiro Kabuta, Masato Hasegawa, Yuji Saitoh, Masaki Takao, Noriko Sato, Tadashi Tsukamoto, Yoshie Ohmachi, Eiko N Minakawa

(3) Results and Discussion

1) Translational studies of neurocognitive disorders

We found that the ~300kDa oligomer in the soluble Aβ fraction of APP transgenic brain induces the propagation of Aβ deposition. We also found that human tauopathy-derived tau strains determine the substrates recruited for templated amplification.

We found that sleep disturbance is a possible modifiable risk factor in Parkinson' disease model mice. To apply some results of basic research to clinical investigation, we have done proteome analyses of cerebrospinal fluids of patients with and without preceding sleep disturbance in neurocognitive disorders. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2, the transporter of DUMP pathway, was observed in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients.

2) Clinical investigation of neurocognitive disorders

Studies using free water imaging suggested that tau aggregation or neuroinflammation elevates the free water in AD. The free water imaging can be used for the assessment of neurodegenerative change and progress.

Pathologic studies of the postmortem brains of people with super longevity (110 years and over) suggested that there are factors which delay or prevent the pathologic changes with aging in people with super longevity.

3) Study on new treatment and care of the disorders.

For persons who care patients with these disorders, we have developed Japanese version of iSupport (iSupport-J), which was developed based on WHO's Mental Health Gap Action Program. We have started to investigate the usefulness of iSupport-J.

We have started and continued Brain Health Project Kodaira under the collaboration with Kodaira city as well as Kodaira Medical Association.

３－４ 疾患レジストリ・網羅的ゲノム解析を基盤とした神経変性疾患の融合的・双方向性研究

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター病院
髙橋 祐二

総括研究報告

1. 研究目的

【全体研究】[1]脊髄小脳変性症(SCD)・多系統萎縮症(MSA)・筋萎縮性側索硬化症(ALS)・タウオパチー・パーキンソン病(PD)について，プレクリニカルから進行期まで網羅した統合的疾患レジストリ iTReND (Integrated Registry for Neurodegenerative Disorders)を構築し，研究基盤を確立する．電子カルテデータを効率よく活用し，高い拡張性・汎用性を有するシステム構築を目指す．網羅的ゲノム解析のデータベース(DB)を構築し，iTReND と連結する．多施設共同疾患レジストリ(J-CAT, JACALS, J-PPMI 等)と連携する．[2]iTReND を活用した早期例の前方視的分析と，進行例・病理診断確定例の後方視的分析を組み合わせた双方向性研究により，疾患 Trajectory の全体像を明らかにし，病型別前向き自然歴・早期鑑別診断指標を確立する．[3]血漿・髄液等の生体試料を前向きに取得し，疾患特異的・疾患横断的（神経変性）BM を探索する．

【個別研究】研究成果は iTReND に連結する．①神経変性疾患のバイオマーカー探索，②パーキンソン病/関連疾患に伴う姿勢異常の治療法開発，③脊髄小脳変性症の運動リズム障害の分析と治療，④タウオパチー病理診断確定例の後方視的分析，⑤ErbB4 を基軸とした筋萎縮性側索硬化症の病態解明，⑥自己免疫性小脳失調症の抗体探索及び神経生理学的分析．

2. 研究組織

＜主任研究者＞

髙橋　祐二：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

＜分担研究者＞

齊藤　祐二：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

向井　洋平：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

水野　勝広：国立精神・神経医療研究センター病院 身体リハビリテーション部

髙尾　昌樹：国立精神・神経医療研究センター病院 臨床検査部

株田　智弘：国立精神・神経医療研究センター神経研究所 疾病研究第四部

山口　和彦：国立精神・神経医療研究センター神経研究所　微細構造研究部

波多野　賢二：国立精神・神経医療研究センター病院 臨床研究・教育研修部門情報管理・解析部　データマネジメント室

＜研究協力者＞

雑賀　玲子：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部

小田　真司：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部

濵　由香：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部

石原　資：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部

大岩　宏子：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部
金井　郁子：国立精神・神経医療研究センター病院　脳神経内科診療部
西田　大輔：国立精神・神経医療研究センター病院　身体リハビリテーション部
橋出　秀清：国立精神・神経医療研究センター病院　身体リハビリテーション部
佐野　輝典：国立精神・神経医療研究センター病院　臨床検査部
水谷　真志：国立精神・神経医療研究センター病院　臨床検査部
初田　裕幸：脳神経内科はつたクリニック
佐藤　亮太：山口大学・医学部脳神経内科
美原　盤：公益財団法人脳血管研究所美原祈念病院
大平　雅之：国立精神・神経医療研究センター病院　臨床検査部
代田　惇朗：国立精神・神経医療研究センター神経研究所　微細構造研究部

3.　研究成果

【全体研究】[1]iTReNDと電子カルテの臨床情報との連携について，連携するデータ内容，データの入力方法，データの取得方法，データベース管理・運用について検討を行った．SCD・MSA・ALS・タウオパチー・PDについて，臨床上必要と考えられる項目をリストアップした．各疾患共通の項目を抽出し，基本情報として全症例において登録した上で，各疾患の必要項目を階層化して登録することにより，入力を簡便化しかつ疾患Trajectoryを登録項目の漏れなく追跡できるように，データ入力フォーマットを構造化した．検討内容に従いデータ入力テンプレートを作成した．
電子カルテシステムに付属するデータウエアハウス（データ二次利用のための専用システム）を利用しデータを自動取得するシステムの開発に着手した．並行して，テンプレート入力を活用して電子カルテから抽出した臨床データを格納するデータベースの構築に着手した．既に精神科レジストリ等でも実績のある外部業者への業務委託を行い、データベースシステム構築を行った。
[3]疾患特異的・疾患縦断的なBMの探索を目的に，バイオバンクリソースを収集した.2021年においては，PD:85検体，DLB:27検体，MSA:50検体，SCD:19検体，ALS:24検体，タウオパチー:59検体を新たにバイオバンクに登録した．AMED研究GAPFREEと連携し，PD:52検体，MSA:47検体，SCD:17検体，ALS:25検体，タウオパチー:54検体の髄液検体のプロテオーム・メタボローム解析を開始した。重要バイオマーカーとしてNfL，a-SYN，TDP-43，Tau，Ab42/40，p-Tau181/231のSimoaを用いた解析のFeasibility検討を行い，コントロール・患者検体を用いたTDP-43の測定系の検証と測定範囲の確認を完了した．a-SYNについては長崎大学との共同研究でRT-QuICを行う体制を構築した。個別研究⑤と関連してErbB4のELISAを用いた測定系を確立した．
【個別研究】①神経筋疾患患者89名（男性38名／女性51名）を二重エネルギーX線吸収測定法（DXA法）と，より簡便な生体インピーダンス法（BIA法）の2つの方法で測定したSMIは，それぞれ男性6.6±1.0，8.1±1.3，女性5.4±0.7，6.7±0.8であり，両者の相関係数は男性0.85，女性0.55であった．筋量と疾患重症度の検証では，ALS患者のSMIとALSFRS-Rの相関係数は男性0.80，女性0.81，PD患者のSMIとMDS-UPDRSの相関係数は男性－0.34，女性－0.64であり，少数例での検証ではあるが，両者の間に相関傾向が認められた（少数例であり相関係数は参考値）．このことからBIA法で測定した筋量は簡便に重症度を予測する臨床バイオマーカーとなりうる．
②腰曲がり治療プログラムMADIを当院発の評価法・治療法を普及させるために，MADIのリハビリテーション（マッサージ器による振動

刺激と立位での姿勢学習を組み合わせたリハビリテーション）と一般的な従来のリハビリテーションを比較する無作為化試験（MADI-RCT）を開始し，2022年2月末までに8例を登録した．従来のMADIプログラム（MADIリハと，原因筋へのリドカイン注射を組み合わせた治療プログラム）は2017年8月の開始からすでに4年間にわたり実施しており，実施した症例数は100例を超えることから，治療成績の解析に着手した． 男性57例，女性62例が該当した．平均年齢71.2歳，原疾患の平均罹病期間10.5年，姿勢異常の平均罹病期間4.3年であった．上腹部型92例，腰部型76例であった（49例が上腹部型と腰部型を合併）．26例はリドカイン注射を実施しなかった．入院時，退院時，1ヶ月後，3ヶ月後，6か月後の腰曲がり角度はそれぞれ上腹部型41.9 ± 6.9°， 38.0 ± 7.0°，40.2 ± 7.2°，39.0 ± 7.4°，40.3 ± 7.5°，腰部型54.7 ± 14.5°，43.5 ± 17.8°，49.6° ± 17.1°，49.0 ± 18.5°，51.4 ± 18.9°であった．

③市販の圧センサーと音楽ソフトを組み合わせて，歩行ステップの時間成分を算出するシステムを開発した．本システムにてSCD群17名，健常コントロール群5名の歩行計測を行った．歩行のばらつきの指標であるステップ時間変動係数を算出し，明らかにSCD群で変動係数が高値になることを示した．また、データ特性に関する数理的分析を行い、歩行リズムの変動がべき乗分布と対数正規分布の線形結合で表現されること，べき乗指数が鑑別に有用であること，べき乗分布と対数正規分布のパラメーターがそれぞれSARAの指標と関連していることを明らかにした．本成果の英文論文の1st draftを完成した．本システムは有線接続であり，記録用PCを被検者とともに移動させる必要があった．より簡便な測定のため，歩行のビデオ動画から踵接地のタイミングを算出する人工知能のプロトタイプを開発した．

④当院で病理学的タウオパチーの診断確定症例を用いて，臨床・病理診断の対応と臨床的・病理学的特徴を検討した． 病理診断タウオパチーは21例．臨床PSP 12例中，病理PSP 8例，病理CBD 2例， 残り2例は診断つかず． 一方，臨床CBS 6例中，病理PSPが3例，病理CBD 3例であった． 3/21例は臨床診断 PD 1例，DLB 1例， FTLD 1例であった．タウオパチーの診断が容易ではないことが当院の実際の剖検例から判明した．病理診断PSPの症例の中に，MIBG心筋シンチグラムのSBR値の低下を示す一群が存在することが明らかになった．RS以外の非典型例を中心に， 臨床・病理双方向から引き続き検討する．

⑤タモキシフェン投与により，任意のタイミングでコリン作動性ニューロン特異的（主に脊髄運動ニューロン）にErbB4をノックアウトできるErbB4cKOマウスを作出した．初めにC57BL/6バックグラウンドへの交配F1世代を用いて実験を行なった．脊髄運動ニューロンの発達が完了したと考えられる8週齢にてErbB4cKOマウスにタモキシフェンを投与したところ，投与後脊髄運動ニューロン数が徐々に減少し，タモキシフェン投与後1年では，コントロールと比較して有意に6割程度にまで減少することがわかった．脊髄運動ニューロンでErbB4をノックアウトすると，運動ニューロンが脱落することがわかり，脊髄運動ニューロンの機能維持にErbB4が重要な役割を担っていることが示唆された．

⑥小脳皮質には多様なシナプス可塑性があり代償作用の基礎と考えられるが最終段のプルキンエ細胞長期抑圧 LTD 阻害は代償できず失調をきたすと考えられる．免疫性小脳失調の患者血清が LTD を阻害するか，マウス小脳スライスを用いて検証する実験条件を求めた．パッチクランプ法によりプルキンエ細胞より電気的神経活動を記録した．バイオバンクより供与を受けた免疫性小脳失調症患者の血清を人工脳脊髄液で 40 倍希釈し，小脳スライスに約 10 分間，灌流投与した．平行線維刺激に

よる興奮性シナプス電位，ペアドパルス刺激による伝達物質放出の短期可塑性，平行線維シナプスにおける長期抑圧 LTD に対する患者血清の効果を検討した結果、ブランク対照に対しては有意に LTD を阻害した．対照血清の効果は現在，検討中である．免疫性小脳失調患者血清はマウス小脳においてシナプス伝達長期抑圧 LTD を阻害する傾向が見られた．

まとめ

本年度は研究期間３年間の初年度である．全体研究としては,研究基盤を構築すると共に,リソースを収集し,バイオマーカー探索を開始した。統合的疾患レジストリ iTReND の構築を進め,テンプレートの電子カルテへの実装/インハウスデータベースの構築をほぼ完了した．一方，1 年間で 264 検体を新たにバイオバンクに登録し,GAPFREE との連携によりオミックス解析・重要 BM 解析も開始した．以上、全体研究における初年度の目標は達成した．

個別研究としては,ALS の新たな BM として BIA 法の有用性を示した．MADI は COVID-19 の影響もありリクルートに難渋した一方で，姿勢異常のリドカイン注射の治療効果の分析は順調に進捗した．歩行リズムについても同様の理由でリクルートに難渋したが，より簡便な測定系の開発を進め,次年度以降の研究体制が整った．タウオパチーの臨床診断・病理診断の分析により診断の確度が明らかになった．ErbB4 cKO マウスにおいて脊髄運動ニューロン脱落が病理学的に確認された．自己免疫性小脳失調症の患者血清を用いた神経生理学的分析の測定系が確立した．以上，個別研究も当初の目標を上回る成果が達成された．

次年度は，iTReND を実際に運用して臨床情報の蓄積を推進する．臨床 DB とゲノム DB・バイオバンク DB との連結を実装し，臨床情報とゲノム・オミックス情報とを統合的に解析可能なシステムを構築する．個別研究において収集された臨床情報も iTReND に取り込み，臨床 DB の充実を図る．個別研究を引き続き推進すると共に，　iTReND を活用して個別研究の特異的指標と臨床情報との関連を系統的に分析する．

神経変性疾患のバイオマーカー探索

分担研究者：齊藤　勇二
所属：国立精神・神経医療研究センター
脳神経内科診療部

緒言

アルツハイマー病やパーキンソン病（PD），脊髄小脳変性症，筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患の多くは病態が不明であり，診断・治療法の開発は十分とは言えず，それを克服するための病態研究は重要である．本研究が同定を目指す病態に関連するバイオマーカーは、早期診断や予後予測因子になるだけなく，神経変性の進行を抑制するような治療ターゲットになることが期待される．

方法

本研究では各神経変性疾患のバイオマーカーの候補として，特に神経変性疾患の運動障害に着目し，運動の源になる筋肉量が運動症状の予測マーカーになるかを検証した．体重減少は神経筋疾患の予後に関わる重要な因子であり，バイオマーカー候補に挙げられ，その主要因は筋量減少である．筋量測定には二重エネルギーX 線吸収測定法（DXA 法）と，より簡便な生体インピーダンス法(BIA 法)がある．当該年度においては神経変性疾患患者の体組成測定にどちらが適しているかを検証し，今後の前向き検証に用いる測定法の妥当性を検証した.対象は立位保持が可能で DXA 法と BIA 法を同時期に測定した神経筋疾患患者 77 名（筋萎縮性側索硬化症 ALS　10 名，PD 関連疾患 42 名，脊髄小脳変性症　13 名，筋疾患 12 名）とし，筋量を反映するバイオマーカーとしてサルコペニアの定義に用いる skeletal mass index; SMI を採用し，DXA 法と BIA 法とで相関を検証した．また，筋量と疾患の病勢を検証する目的で，ALS・PD 患者における SMI と両疾患の重症度スケール（ALSFRS-R，MDS-UPDRS）との関連を少数例で検討した．

結果

神経筋疾患患者 89 名(男性 38 名／女性 51 名)で DXA 法と BIA 法の 2 つの方法で測定した SMI は，それぞれ男性 6.6±1.0，8.1±1.3，女性 5.4±0.7，6.7±0.8 であり，両者の相関係数は男性 0.85，女性 0.55 であった．筋量と疾患重症度の検証では，ALS 患者の SMI と ALSFRS-R の相関係数は男性 0.80，女性 0.81，PD 患者の SMI と MDS-UPDRS の相関係数は男性－0.34，女性－0.64 であり，少数例での検証ではあるが，両者の間に相関傾向が認められた（少数例であり相関係数は参考値）．

考察

神経筋疾患患者の筋量バイオマーカーとしての SMI は DXA 法と BIA 法とで相関を認め，BIA 法は簡便な体組成測定法として有用であり，かつ ALS・PD 患者では SMI は疾患重症度と相関していた．今後，筋量バイオマーカーを指標として各種疾患多数例で検証し，保存した血液試料において筋量とともに変動する液性分子を同定する．筋量減少を抑制する因子の同定は，疾患重症度およびその進行を軽減する治療薬のシーズになる可能性がある．

結論

神経変性疾患において，BIA 法で測定した筋量は簡便に重症度を予測する臨床バイオマーカーとなりうる．

参考文献

なし

①パーキンソン病の姿勢異常の病態解明および治療法の確立／②ジストニア CBT 研究の準備

分担研究者：向井洋平
所属：国立精神・神経医療研究センター
脳神経内科診療部

緒言

①パーキンソン病・関連疾患（PDRD）には姿勢異常（首下がり，腰曲がり，Pisa 症候群）が合併することがある．我々は PDRD に伴う姿勢異常の治療法として，手順を統一した治療プログラム（Multidisciplinary Approach for Posture and Gait Disorders; MADI）を開発した．MADI はリハビリテーション（市販のバイブレーターを用いた振動刺激による筋トーヌス緩和と，姿勢学習から成る）と原因筋へのリドカイン連日注射で構成される．MADI プログラム開発から 2021 年 7 月までに実施した MADI の治療成績の解析を行った．また MADI のエビデンスレベルを高めるため，MADI のリハビリテーション部分と一般的なリハとによる姿勢異常治療効果を比較する無作為化試験（以後、MADI-RCT）を開始した．

②ジストニア患者を対象とした認知行動療法（CBT）研究再開に向け，臨床心理士の仕事量や外来ブースの制限から何人くらいまでなら CBT が実施可能か確認する必要がある．

方法

①MADI の治療成績解析について：2017 年 8 月から 2021 年 7 月までの間に，当院へ入院し MADI による腰曲がり治療を行った PDRD 患者を対象とした．全身写真（側面）とレントゲンにて屈曲部位が胸腰椎移行部の上腹部型腰曲がり（上腹部型）と，股関節部の腰部型腰曲がり（腰部型）に分類した．側面写真で C7 と L5 を通る基準線と，L5 と外踝を通る直線がなす角度を総腰曲がり角度（T 角）とした．基準線と平行かつ背中の輪郭に接する直線をひき、その接点（FC 点）と L5 を通る直線と，FC と C7 を通る直線がなす角を上腹部型腰曲がり角度（U 角）と定めた．腰部型は T 角，上腹部型は U 角で評価した．両角とも専用の角度測定アプリを用いて測定した[1]．仰臥位で体幹が伸展しない，立位保持困難，腰部型で T 角 30 度未満，上腹部型で U 角 30 度未満の症例は除外した．入院時，退院時，1 ヶ月後，3 ヶ月後，6 ヶ月後に撮影した側面写真で角度測定を行った．

MADI-RCT について：MADI（振動刺激と姿勢学習から成る）と従来型リハ（ストレッチ，背筋トレーニング，エルゴメーターなど）を比較する無作為化試験を開始した．

②一般臨床として外来患者を対象とした書痙患者に CBT を実施した．

結果

①MADI の治療成績解析について：男性 57 例，女性 62 例が該当した．平均年齢 71.2 歳，原疾患の平均罹病期間 10.5 年，姿勢異常の平均罹病期間 4.3 年であった．上腹部型 92 例，腰部型 76 例であった（49 例が上腹部型と腰部型を合併）．26 例はリドカイン注射を実施しなかった．入院時，退院時，1 ヶ月後，3 ヶ月後，6 か月後の腰曲がり角度はそれぞれ上腹部型 41.9 ± 6.9°, 38.0 ± 7.0°, 40.2 ± 7.2°, 39.0 ± 7.4°, 40.3 ± 7.5°，腰部型 54.7 ± 14.5°，43.5 ± 17.8°, 49.6° ± 17.1°, 49.0 ± 18.5°, 51.4 ± 18.9°であった．

MADI-RCT について：2021 年 4 月 1 日から 2022 年 2 月末までに MADI-RCT は 8 例を登録した（2 月末で 3 例は介入前）.
②書痙患者 3 名に外来で CBT を実施した.

考察

①MADI により上腹部型，腰部型とも改善した．腰部型は腰曲がり罹病期間が長く脊柱病変があると治療効果が乏しい傾向にあった.
MADI-RCT の登録者数が少ない理由として，コロナ禍の影響，エントリー条件のうち「骨格異常がない」「認知症がない」の条件を満たさない患者が多いことが考えられた.
②3-4 名程度までならば CBT を実施できることを確認した.

結論

①2017 年 8 月から 2021 年 7 月までの間に，当院で PDRD の腰曲がりに対し実施した MADI の治療成績を解析した．MADI-RCT を開始した.
②外来でジストニア患者を対象とした CBT を行った.

参考文献

1) Nils G Margraf, et al. Consensus for the measurement of the camptocormia angle in the standing patient. Parkinsonism Relat Disord. 2018; 52: 1-5.

小脳性失調歩行における簡易型歩行リズム計測システムの有用性について

分担研究者：板東杏太
大場興一郎
水野勝広
所属　国立精神・神経医療研究センター
身体リハビリテーション部

緒言

小脳性失調歩行（ataxic gait；AG）の特徴として、歩行リズムの変動増加が挙げられる。解析には最低でも 400 歩程度の歩行データが必要とされている [1)]。解析に用いられるデータの計測には加速度計やフットスイッチが用いられる。しかし、既存システムは高価であり汎用性が高いとはいえない。我々は音楽ソフトと MIDI 楽器を改良し、安価な歩行リズム計測システムを開発した。本研究では、AG 群と健常コントロール（HC）群の歩行データを解析し、本システムの有用性を検討する。

方法

自立歩行可能な AG 群 14 名（SCA31＝7 名、SCA6＝3 名、SCA3/MJD＝2、DRPLA＝1 名、CCA＝1 名）と HC 群 5 名を解析対象とした。計測は屋外の約 360m のトラックを至適歩行速度で一周とした。また、HC 群において計測データ不備のため 1 名解析から除外した。歩行リズムの変動指標には先行研究で最も用いられている変動係数（CV）＝ステップ時間の標準偏差／平均ステップ時間を用いた。統計処理は Welch two sample t-test を実施した。

結果

CV は AG 群（中央値＝0.09、25%値＝0.07、75%値＝0.12）、HC 群（中央値＝0.03、25%値＝0.02、75%値＝0.06）。統計結果は（p 値＝0.0003、95%信頼区間 -0.078 to -0.029）となり、AG 群が有意に歩行リズムの変動が大きい結果となった。

考察

先行研究でも明らかにされているように、AG 群における CV 増大は本システムで計測したデータでも観察された。よって、先行研究で用いられているような高価なシステムの代用として本システムは有用である。

結論

最後に、本システムは安価であり汎用性が高いが、有線接続であることなど、改良すべき部分が多くある。今後、さらに多くの臨床施設で歩行データが計測されるように工夫が必要である。

参考文献

1) 1.Ilg, W. *et al.* Real-life gait assessment in degenerative cerebellar ataxia: Toward ecologically valid biomarkers. *Neurology* **95**, e1199-e1210 (2020).

タウオパチー病理診断確定例の後方視的分析

分担研究者：高尾昌樹
所属 国立精神・神経医療研究センター
臨床検査部
研究協力者：石原資，水谷真志，佐野輝典，大平雅之（所属 国立精神・神経医療研究センター病院），佐藤亮太（所属 山口大学医学部脳神経内科），初田裕幸（脳神経内科はつたクリニック），美原盤（公益財団法人脳血管研究所美原記念病院）

緒言

① 進行性核上性麻痺(PSP)や大脳皮質基底核変性症(CBD)はタウオパチーで，臨床診断と病理診断の一致が難しい．両者の臨床的・病理学的特徴を明らかにすることがタウオパチーの早期診断につながる．

② MIBG 心筋シンチグラフィー（MIBG）はパーキンソン病(PD)と PSP との鑑別に有用である．PSP で集積低下例が経験されることがある．PD/DLB における MIBG 低下は嗅覚障害・自律神経障害(OH，排尿障害)・RBD との関連が示唆されるが，PSP かつ MIBG 低下例の特徴は知られていない．

方法

① 当院で病理学的タウオパチーの診断確定症例を用いて，臨床・病理診断の対応と臨床的・病理学的特徴を検討した．

② 2013 年 1 月～2019 年 4 月入院時診断：PSP (MDS 基準 2017)のうち，歩行可能な症例を後方視的に調査し，MIBG 正常群と低下群の臨床的特徴を比較した．病理診断 PSP の MIBG 低下例で臨床的特徴・病理所見を検討した．

結果

① 病理診断タウオパチーは 21 例．臨床 PSP 12 例中，病理 PSP 8 例，病理 CBD 2 例，残り 2 例は診断つかず．一方，臨床 CBS 6 例中，病理 PSP が 3 例，病理 CBD 3 例であった．3/21 例は臨床診断 PD 1 例，DLB 1 例，FTLD 1 例であった．

② MIBG 低下群 12 例，MIBG 正常群 74 例．PSP 亜型で両群の差はなく，嗅覚検査，RBD，排尿障害，起立性低血圧の検査所見も両群で有意差を認めなかった．病理診断 PSP 4 例について，2 例は心交感神経の脱落があり MIBG 低下の背景病理と考えられたが，2 例は心交感神経の脱落を認めず，また AT8 染色陰性であった．

考察

・PSP で典型的な Richardson 症候群(PSP-RS)ではない亜型では臨床・病理で診断が一致しないケースが多い．パーキンソニズムを来す疾患（パーキンソン病，CBD）の特徴をとらえた検査や理学所見が重要と考える．

・臨床的には PSP・MIBG 低下例の共通する特徴は現時点では明らかではないが，少なくとも PD/DLB・MIBG 低下例でみられる身体所見・検査所見は目立たなかった．一方，病理診断 PSP・MIBG 低下例で背景病理が不明である症例については，機能異常(トランスポーター)等の他の要因が考慮される．

結論

① タウオパチーの診断が容易ではないこと当院の実際の剖検例から判明した．RS 以外の非典型例を中心に，臨床・病理双方向から引き続き検討する．

② PSP の中に MIBG 低下を示す一群があり，病理学的に心交感神経脱落を認めない症例が存在することが明らかになった．今後更なる症例を蓄積して検討する．

ErbB4 を基軸とした筋萎縮性側索硬化症の病態解明

分担研究者：株田　智弘
所属　神経研究所　疾病研究第四部

緒言

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は運動ニューロン（MN)変性により平均 2〜4 年で全身の筋力を喪失する疾患であり，根本的治療法はない. 共同研究者髙橋は以前家族性 ALS の原因遺伝子 ERBB4 を同定し，ErbB4 の機能低下による MN 変性機構を発見した．また孤発性 ALS の剖検脊髄組織を用いて，MN における発症早期からの ErbB4 発現低下を明らかにした. 本研究では, タモキシフェン依存性 MN 特異的 Erbb4 コンディショナルノックアウトマウス（cKO マウス)を作製・解析することにより，cKO マウスの孤発性 ALS モデル動物としての妥当性を検証する.

方法

B6;129-Erbb4tm1Fej/Mmud 系統および B6;129-Chattm1(cre/ERT)Nat/J 系統を C57BL/6J 系統と 8 世代以上交配させ，遺伝的背景を C57BL/6J 純系とした系統を作出した．その後，B6-Erbb4tm1Fej/Mmud と B6-Chattm1(cre/ERT)Nat/J を交配させることで，タモキシフェン投与により，任意のタイミングでコリン作動性ニューロン特異的（主に脊髄運動ニューロン）に ErbB4 をノックアウトできるコンディショナルノックアウトマウス（以下 ErbB4cKO マウス）を作出した. Choline O-acetyltransferase (CHAT)の免疫染色により MN 変性を解析した.

結果

脊髄運動ニューロンの発達が完了したと考えられる 8 週齢にて ErbB4cKO マウスにタモキシフェンを投与したところ，タモキシフェン投与後 1 年では，コントロールと比較して MN 数が有意に約 6 割程度にまで減少することがわかった．表現型としては，ErbB4cKO マウスにおいて Clasping reflex の点数が有意に高くなり，中枢神経系の障害を示唆する結果が得られた．変性過程の時期を特定するため，投与後 1, 2, 3 ヶ月後の解析を進め，今年度は 3 ヶ月後の MN 変性の解析を完了した．結果，投与後 3 ヶ月においてもコントロールと比較して MN 数が有意に約 6 割程度にまで減少した.

考察

これまでの結果から，脊髄運動ニューロンで ErbB4 をノックアウトすると，運動ニューロンが脱落することがわかり，脊髄運動ニューロンの機能維持に ErbB4 が重要な役割を担っていることが示唆された. 孤発性 ALS の脊髄運動ニューロンにおける ErbB4 の発現低下は，運動ニューロン変性に促進的に働くことが考えられ，変性の重要な分子メカニズムを担っていることが示唆された.

結論

脊髄運動ニューロンで ErbB4 をノックアウトすると，運動ニューロンが脱落する．脊髄運動ニューロンの機能維持に ErbB4 が必要である．ErbB4cKO マウスは新規の孤発性 ALS モデル動物となり得る.

参考文献

なし

自己免疫性小脳失調症の神経生理学的分析

分担研究者：山口　和彦
所属：神経研究所　微細構造研究部

緒言

自己免疫性脳炎の抗体検索は主に生化学的方法で行われるが，症状の原因とは考えにくい抗原に対する抗体も検出されうる（核内タンパク質に対する抗体等）．症状との因果関係のある抗体の検索には，脳機能に対する抗体の効果を生理学的に検討することが重要である．本課題ではマウス小脳スライスに患者血清を投与し，シナプス伝達，シナプス可塑性に及ぼす効果を検討している．

方法

マウス小脳スライスを作製し，パッチクランプ法によりプルキンエ細胞より電気的神経活動を記録した．バイオバンクより供与を受けた免疫性小脳失調症患者の血清を人工脳脊髄液で40倍希釈し，小脳スライスに約10分間，灌流投与した．平行線維刺激による興奮性シナプス電位，ペアドパルス刺激による伝達物質放出の短期可塑性，平行線維シナプスにおける長期抑圧LTDに対する患者血清の効果を検討した．

結果

実験は2022年1月から開始され現在進行中であり今回の報告は中間報告である．4名の小脳失調の方の血清とマッチした対照血清4名分，各1.0mlずつの供与を受けた．

(1) シナプス伝達への影響：グルタミン酸受容体に対する自己抗体が含まれていた場合，シナプス伝達への阻害効果が見られるはずである．現在の調べた3例の患者血清，1例の対照血清ではシナプス伝達自体への顕著な効果は見られていない．

(2) 伝達物質放出短期可塑性への影響：シナプス前の電位ゲート性Caチャネル(VGCC)に抗体が作用する場合，シナプス伝達の阻害と合わせて，ペアドパルス刺激に対する1発目と2発目の応答比に影響が出る．現在測定している限りではこのペアドパルス比に対する影響は見られていない．

(3) シナプス伝達長期抑圧（LTD）への効果：小脳における LTD 形成は運動学習の基礎であり，小脳失調の主原因は LTD の阻害との仮説が提案されている．血清のLTDへの効果を検討したところ，ブランク対照に対しては有意に LTD を阻害した．対照血清の効果は現在，検討中である．

考察

同様の実験について先行研究では200・g/mlのIgG濃度で実験を行っているが，今回は推定2-4・・g/mlのIgG濃度であり効果が薄いと思われる．また理想的には1検体あたり最大4細胞の結果が得られるはずだが実際は記録中に細胞死や電極閉塞が生じ記録不能になる場合があり，統計に必要なデータ数を集めることに困難があった．それにもかかわらず免疫性小脳失調患者血清にはLTDへの阻害傾向が見られた．

結論

免疫性小脳失調患者血清はマウス小脳においてシナプス伝達長期抑圧LTDを阻害する傾向が見られた．

参考文献:　Mitoma,Honnorat,Yamaguchi, Manto. Cerebellar long-term depression and auto-immune target of auto-antibodies: the concept of LTDpathies. *Molecular Biomedicine* 2:2 (2021)

統合的疾患レジストリ iTReND の構築

分担研究者：波多野　賢二
所属　国立精神・神経医療研究センター
情報管理・解析部/医療情報室

緒言

電子カルテデータをリアルワールドデータとして取集し、疾患研究・医薬品開発への活用が期待されている（１）。NCNP 病院（当院）の神経変性疾患の患者を対象とした統合的疾患レジストリ iTReND (Integrated Registry for Neurodegenerative Disorders)において、電子カルテシステムと連携し、医師が日常診療のカルテ記録の中でデータ収集を可能とするシステム構築を目的に研究開発を実施する。合わせて、バイオバンクや他のレジストリデータベース等との情報連携を可能とする環境整備を行う。

方法

令和 3 年度においては、iTReND のデータ入力システム開発を目的に、脳神経内科医師の協力を受けて、対象の神経変性疾患症例に関して、共通および疾患特異的なデータ収集項目を設定する。データ入力は、当院の電子カルテシステムの中で稼動している文書管理システム（DocuMaker）を使用し、医師のカルテ記録の中でレジストリデータ入力を可能とする。令和 4 年度以降に iTReND への症例データ登録および前向きの臨床情報収集を開始する。さらに、バイオリソースデータベースおよび、疾患レジストリ研究とのデータ連携について検討し、可能であれば連携の実装を行う予定である。

結果

当院の脳神経内科医師の協力により、iTReND データ収集項目に関する情報提供を受け、データ入力テンプレートの画面設計を実施した。当院で稼働中の文書管理システムでは、JH（国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部）の構造化診療録データ収集基盤開発事業として、テンプレートによるデータ収集システムの新規開発が実施されている。そのシステムに iTReND データ入力用テンプレートを実装する作業を進めている。入力データを HL7 FHIR 規格に準拠した標準形式で出力するシステムも併せて開発中であり、令和 3 年度に稼働予定である。

考察

疾患レジストリでは、参加施設の電子カルテシステム端末から直接データ登録が可能な「診療録直結型レジストリ」が増えている。この形では、医師が日常診療のカルテ記録の中でレジストリデータの登録が可能であること・電子カルテの診療データを引用することで効率的なデータ入力が可能であること・レジストリデータがカルテ記録としても保存されること等の利点がある。当院で開発するシステムでは、次世代の医療情報交換の標準規約と期待されている HL7 FHIR 規格に準拠した形式でデータが出力される予定である。標準形式に準拠することにより、外部データベースへの取り込みが容易になり、レジストリシステム構築に向けて利点となると考えている。

結論

病院電子カルテと連携した神経変性疾患の統合的疾患レジストリに向けたシステム構築および疾患情報入力用のテンプレート作成作業を実施した。

参考文献

１）波多野賢二. 電子カルテ情報を活用したリアルワールドデータ収集. 精神科 40 巻 2 号.p235-241.

3-4

Integrated and bidirectional research on neurodegenerative diseases based on disease registry and comprehensive genome analysis

National Center Hospital, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

Yuji Takahashi [1)],

Y Saito[1)], Y Mukai[1)], K Mizuno[2)], M Takao[3)], T Kabuta[4)], K Yamaguchi[4)], K Hatano[6)]

Department of Neurology1), Physical Rehabilitation2), Clinical Laboratory3), National Institute of Neuroscience4), Clinical Research Information Management5),

National Center of Neurology and Psychiatry, NCNP

This year is the first year of the research period of 3 years. As a whole research, we built a research base, collected resources, and started a biomarker search. We proceeded with the construction of the integrated disease registry iTReND, and almost completed the implementation of the template in the electronic medical record and the construction of the in-house database. On the other hand, 264 samples were newly registered in the BioBank in one year, and omics analysis and important BM analysis were started in cooperation with GAPFREE. As mentioned above, the goal of the first year in the overall research has been achieved.

As individual studies, we showed the usefulness of the BIA method as a new BM for ALS. While MADI had difficulty in recruiting due to the influence of COVID-19, the analysis of the therapeutic effect of lidocaine injection for postural abnormalities progressed smoothly. Although it was difficult to recruit walking rhythms for the same reason, we proceeded with the development of a simpler measurement system and established a research system for the next fiscal year and thereafter. In tauopathies, the accuracy of the diagnosis was clarified by the analysis of clinical diagnosis and pathological diagnosis. Spinal motor neuron degeneration was pathologically confirmed in ErbB4 cKO mice. A measurement system for neurophysiological analysis using serum from patients with autoimmune cerebellar ataxia has been established. As mentioned above, the results of individual research exceeded the initial goal.

3-5　神経変性・発達障害の病因・病態・治療法開発研究

荒木　敏之
国立研究開発法人　国立精神・神経医療研究センター
神経研究所　疾病研究第五部

１．研究目的

本研究代表者らは 2020 年度まで実施した開発費研究 30-5「神経変性の病態解明に基づく神経保護的疾患治療法開発研究」において、ALS をはじめとする神経変性疾患を対象とし、治療法開発のための製薬企業との共同研究への導出、もしくは、競争的外部研究費による支援を得る形での治療法開発研究に発展させることを目指した。これに続く本研究では、既に外部研究費の支援に発展させることができた一部の研究内容を除外する一方、神経突起構造の改変を伴う疾患として新たに発達障害機序に関する研究を加え、神経突起構造の改変に至る病態の共通メカニズムと各疾患に特異的なメカニズムの理解、更に、神経変性に対しては神経保護的疾患治療、発達障害に対しては異常構造の正常化のための最適な治療標的の明確化を達成し、疾患動物モデルを用いた治療モデルの作出を行う。また疾患動物モデルの解析のための最先端技術を本グループ内で共有し、機能的解析を充実させることにより研究の加速を図る。

２．研究組織

主任研究者

荒木　敏之　（国研）国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第五部　部長

分担研究者

青木　吉嗣　国研）国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　遺伝子疾患治療研究部部長

大木　伸司　（国研）国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第六部(免疫研究部)　室長

野口　潤　（国研）国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　微細構造研究部　室長

大野　伸彦　自治医科大学医学部解剖学講座　教授

３．研究成果

本研究参加者は、班会議や個々の研究者間の議論を通して交流を深め、分担研究者間の共同研究・研究費共同申請が既に複数件開始・進行している。

研究代表者グループでは、自閉症類縁疾患（ASD）様社会性行動障害を示す Na-H Exchanger(NHE)5 欠損マウスのフェノタイプ発現機序の検討として、レニン―アンギオテンシン系シグナルによるNHE5分解機序が発達過程において生じる機序の解析を進めた。またヒト ASD 患者で今回初めて NHE5 遺伝子変異を同定したため、その変異による機能異常を細胞モデルにおいて明らかにした。

野口らは、本研究において、ASD におけるシナプス機能障害の理解を目指し、ASD 動物モデルでのシナプトソーム内の蛋白・核酸の体系的解析に基づく ASD 病態解析を行う。今年度は、主にマウスの脳からシナプトソームを精製する方法の最適化を行った。また、今年度論文発

表した研究の延長として、自閉症モデルマーモセット背内側前頭前皮質の興奮性神経細胞のシナプス後部である樹状突起スパインの2光子イメージングについて追加データの解析を進め、特にスパインとシナプス前部である軸索ブトンの安定性について解析を実施した。

青木らは、デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者における ASD 様症状の発症機序を、DMD モデルマウスの扁桃体基底外側核における脳型ジストロフィン Dp140 の局在と機能に着目して明らかにすることを目指している。今年度は、これまでの研究に引き続き、次世代スプライス・スイッチ核酸の経静脈あるいは髄腔内投与により、ジストロフィン・アイソフォームの発現を回復させ、社会性異常等の脳症状を正常化できることを確認し、これまでの成果を論文する準備を進めた。

大木らは、これまでに二次進行型多発性硬化症において示した神経細胞障害性の Eomes 陽性ヘルパーT 細胞（Eomes+Th 細胞）の役割に関する知見を他の神経変性疾患において検証することを目指し、本年度は、ALS およびアルツハイマー病モデルマウスを用いて、発症に伴う CNS への Eomes+Th 細胞の集積、慢性炎症環境下の神経細胞におけるレトロトランスポゾン L1 の脱抑制（再活性化）、L1 由来タンパク質による Eomes+Th 細胞の活性化を示した。

大野らは、本グループにおける電顕的微細構造観察のサポートを行うが、自らの研究としては、髄鞘関連疾患の軸索変性および再髄鞘化による組織再生に着目し、ミトコンドリアの動態と機能、そしてミトコンドリアと小胞体の相互作用（MAM)の構造の制御と役割を、3 次元超微形態解析技術や新たな標識・操作技術の開発と応用を通じて明らかにすることを目指している。今年度は、オリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索の特性を電子顕微鏡による3次元再構築技術を用いて検討し、その形態的特性を明らかにした。

４．研究成果刊行一覧

Wakatsuki S, Araki T.
Novel Molecular Basis for Synapse Formation: Small Non-coding Vault RNA Functions as a Riboregulator of MEK1 to Modulate Synaptogenesis
Frontiers in Molecular Neuroscience 14: 748721, 2021.

Nagano S, Araki T.
Axonal Transport and Local Translation of mRNA in Neurodegenerative Diseases.
Frontiers in Molecular Neuroscience 14: 697973, 2021.

Wakatsuki S, Ohno M, Araki T.
Human vault RNA1-1, but not vault RNA2-1, modulates synaptogenesis
Communicative & Integrative Biology 14(1) 61-65, 2021.

Wakatsuki S, Takahashi Y, Shibata M, Araki T.
Selective phosphorylation of serine 345 on p47-phox serves as a priming signal of ROS-mediated axonal degeneration
Experimental Neurology 352: 114024,2022.

Hohjoh H , Raveney B, Yamamura T, Hayashi N, Oki S
.Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element element-1. Takahashi F, Zhang C, iScience 25, 104278, 2022.

Watanabe S, Kurotani T, Oga T, Noguchi J, Isoda R, Nakagami A, Sakai K, Nakagaki K, Sumida K, Hoshino K, Saito K, Miyawaki I, Sekiguchi M, Wada K, Minamimoto, Ichinohe N　Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease.
Nat. Commun. 2021: 12: 5388.

Ucar H, Watanabe S, Noguchi J, Morimoto Y, Iino Y, Yagishita S, Takahashi N & Kasai H. Mechanical actions of dendritic-spine enlargement on presynaptic exocytosis.

Nature. 2021: 600: 686–689.

Chesshyre M, Ridout D, Hashimoto Y, Ookubo Y, Torelli S, Maresh K, Ricotti V, Abbott L, Gupta VA, Main M, Ferrari G, Kowala A, Lin YY, Tedesco FS, Scoto M, Baranello G, Manzur A, Aoki Y, Muntoni F.
Investigating the role of dystrophin isoform deficiency in motor function in Duchenne muscular dystrophy.
J Cachexia Sarcopenia Muscle.13:1360-1372. 2022.

Sathyaprakash C, Kunitake K, Aoki Y.
Editorial: Challenges and Opportunities for Neuromuscular Disease Modelling Using Urine-derived Stem Cells.
Front Physiol.13:848220. 2022.

Aoki Y, Wood MJA.: Emerging Oligonucleotide Therapeutics for Rare Neuromuscular Diseases.
J Neuromuscul Dis. 8(6):869-884. 2021.

橋本泰昌, 青木吉嗣.
特集 新組織学シリーズⅡ:骨格筋-今後の研究の発展に向けて Ⅲ.骨格筋を障害する疾患の注目すべき病態 デュシェンヌ型筋ジストロフィーの中枢神経障害.
生体の科学 72(6) 565-568. 2021.

橋本泰昌, 國石洋, 関口正幸, 青木吉嗣.
エクソン 53 スキップ療法は DMD モデルマウスの社会性行動異常と扁桃体シナプス異常を改善させる.
神経治療学 38(6) S287-S287 2021.

橋本泰昌, 青木吉嗣.
Duchenne 型筋ジストロフィーのエクソン・スキップ治療.
神経治療学 38(3) 270-273. 2021

Tanaka T, Ohno N, Osanai Y, Saitoh S, Thai TQ, Nishimura K, Shinjo T, Takemura S, Tatsumi K, Wanaka A.
Large-scale electron microscopic volume imaging of interfascicular oligodendrocytes in the mouse corpus callosum.
Glia. 69:2488-2502. 2021

Yamazaki R, Osanai Y, Kouki T, Shinohara Y, Huang JK, Ohno N.
Macroscopic detection of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye.
Sci Rep. 11:16906. 2021

大野伸彦、齊藤百合花、長内康幸、山崎礼二、篠原良章
ボリューム電子顕微鏡イメージングにおける組織細胞化学の特徴、、組織細胞化学 2021、163-174、2021

大野伸彦
有髄軸索におけるミトコンドリア恒常性維持のメカニズム
ミトコンドリアダイナミクス ～機能研究から疾患・老化まで～、17-26、2021.

分担研究報告書

（課題名）神経変性・発達障害の病因・病態・治療法開発研究

（所属）国立精神・神経医療研究センター 神経研究所疾病研究第五部

（氏名）荒木　敏之

緒言

本研究では、2020 年度まで実施した「神経変性の病態解明に基づく神経保護的疾患治療法開発研究」においては対象とした研究のうち、競争的外部研究費による支援を得る研究として発展させることができた、Nicotinamide 類縁化合物による神経保護に関する開発研究を除外する一方、神経突起構造の改変を伴う疾患として新たに ZNRF1 の発達期における機能に関する研究を加え、神経突起構造の改変に至る病態の共通メカニズムと各疾患に特異的なメカニズムの理解、更に、神経変性に対しては神経保護的疾患治療、発達障害に対しては異常構造の正常化のための最適な治療標的の明確化を達成し、疾患動物モデルを用いた治療モデルの作出を行う。

方法

開発費３０－８研究を引継ぎ、本研究では特に疾患動物モデルを用い、動物個体レベルでの解析を通して、病態を理解することを目指した研究を行う。

１）NHE5 機能低下と ASD 様フェノタイプを関連付けるメカニズムの研究において、妊娠時高血圧が ASD リスク因子となる機序に関しては、renin-angiotensin 過剰発現による高血圧モデルマウスを用いた検討を進め、妊娠時高血圧による産仔の社会性行動異常をモデル動物レベルで示すとともに、分子機序に関する研究を更に進める。

２）神経細胞に広範に発現し、特に発達期に高レベルの発現を示すユビキチンリガーゼ ZNRF1 に関して、その神経発達過程における機能を、特に ZNRF1 欠損マウスが示す行動異常に着目しつつ明らかにする。

結果

１）Na-H 交換体ファミリーメンバーである NHE5 は、主として神経細胞に発現し、細胞内では Endosome/Lysosome の膜上に主としては限している。NHE5 欠損マウスは自閉症様と考えられる社会性行動異常を示す。これまでの検討により、今年度の研究において、NHE5 の欠損や機能低下による Lysosome 分解低下により、シナプス関連蛋白のリサイクリングが低下すること、それによって樹状突起スパインの未熟化をきたすことを示した。今年度、自閉症類縁疾患患者の遺伝子解析において、ヒト NHE5（Slc9A5）遺伝子に変異のある 1 例を同定した。この変異は、膜貫通領域中に存在する、異なる NHE ファミリーメンバー間で高度に保存された残基であり、この残基の変異は膜を介したイオンの輸送に関連することが想定される。

２）ZNRF１は神経細胞に広範に発現するユビキチンリガーゼであり、軸索損傷にともなって活性化し、Akt を基質として分解する機能を介して、細胞骨格の分解制御を行い、軸索構造の安定性維持・制御に寄与していると考えられている。一方、ZNRF1 欠損マウスは成長、生殖などに問題なく、脳の発生にも gross な異常を示さないが、行動解析バッテリーによる網羅的な行動解析を実施したところ、open field test、social interaction tests、acoustic startle response、prepulse inhibition、fear conditioning などの行動指標において異常を示したため、総合的には精神疾患様行動異常であると判断している。ZNRF1KO のこうした中枢神経フェノタイプに関連する機能が、ユビキチンリガーゼとしてどのような蛋白を分解する活性と関係しているのかを明らかにするため、ZNRF1KO における蛋白発現を網羅的に検討し、複数の候補蛋白を同定した。また、ZNRF1KO の行動フェノタイプを惹起する可能性のある神経回路の同

定と、その回路における生理学的異常の同定のための検討を開始した。

考察

１）ヒトにおけるNHE5遺伝子の変異はこれまでに報告されていなかった。今回、我々が同定した変異は、上述のように、Na-H交換体としての機能に影響を及ぼす可能性の高い変異であり、今後実際にそのような影響があるかについては検討を行う予定であるが、一方、この患者はNHE5以外にEHMT1遺伝子にも変異を有しており、EHMT1変異のみでも自閉症類縁疾患を惹起しうることから、今回同定したNHE5遺伝子変異のヒト疾患における意義は不明であると言わざるを得ない。

２）ZNRF1依存的Akt分解は、我々自身の検討において、Adultの神経細胞では平時には不活性であることが明らかとなっており、本研究ではAkt以外の別の基質を同定するための検討を開始した。一方、Aktを分解することによって精神機能異常を説明できる可能性も残されているが、その場合には、神経回路形成期など特定のタイミングで、また、特定の神経回路においてZNRF1のユビキチンリガーゼ活性のON/OFFを制御するメカニズムが存在する必要がある。今後、このような機序に関しても検討を行うことを考えている。

参考文献（業績）

Wakatsuki S, Araki T.
Novel Molecular Basis for Synapse Formation: Small Non-coding Vault RNA Functions as a Riboregulator of MEK1 to Modulate Synaptogenesis
Frontiers in Molecular Neuroscience 14: 748721, 2021.

Nagano S, Araki T.
Axonal Transport and Local Translation of mRNA in Neurodegenerative Diseases.
Frontiers in Molecular Neuroscience 14: 697973, 2021.

Wakatsuki S, Ohno M, Araki T.
Human vault RNA1-1, but not vault RNA2-1, modulates synaptogenesis
Communicative & Integrative Biology 14(1) 61-65, 2021.

Wakatsuki S, Takahashi Y, Shibata M, Araki T.
Selective phosphorylation of serine 345 on p47-phox serves as a priming signal of ROS-mediated axonal degeneration
Experimental Neurology 352: 114024,2022.

分担研究課題名：神経変性疾患の免疫応答依存的な病態機序の研究

名前：大木　伸司
所属：神経研究所免疫研究部

緒言：神経変性疾患の病態解明はいまだ不十分であり、病態機序の根本的な捉え直しが必要である。近年、その原因の一つとして中枢神経系(CNS)内の神経炎症が注目されているが、炎症組織には常に免疫細胞が集積し、病態に干渉する。私たちは、二次進行型多発性硬化症 (SPMS) およびそのマウスモデルの神経変性過程に、Eomes 陽性ヘルパーT 細胞（Eomes+Th 細胞）が中心的な役割を果たすことを見出した。その後、筋萎縮性側索硬化症(ALS)やアルツハイマー型認知症(AD)の患者や、対応するマウスモデルでも Eomes+Th 細胞の有意な増加が確認され、同細胞による神経細胞障害が、広範な神経変性病態に関わることが予想される。本研究では、SPMS、ALS、AD のモデルマウスを用いて、Eomes+Th 細胞による神経細胞障害の分子機序の全容解明を行う。既存の解釈の枠を超えた、全く新しい病態機序の解明と、画期的な治療法につながる基礎データの取得を目指す。

方法：① mSOD1 マウスおよび 5xFAD マウスの CNS における Eomes+Th 細胞の浸潤を、フローサイトメーターを用いて定量し、病態との関連を明らかにする。②　上記の 3 種の病態モデルマウスを対象として、Eomes+Th 細胞の活性化に関わるプロトタイプ抗原の探索を進める。同定したプロトタイプ抗原について、発現細胞の同定や発現様式の分子機序の解析を行い、病態との関連を明らかにする。③ プロトタイプ抗原の刺激を受けて活性化した Eomes 陽性 Th 細胞が、神経細胞障害因子であるグランザイム B 産生を引き起こすか、共培養により直接神経細胞を障害するかを明らかにする。

結果：① 病態が顕著に進行する 16 週齢の mSOD1 マウス CNS 内には、Eomes+Th 細胞の顕著な浸潤が認められ、エンドステージの 20 週齢以降まで持続した。病態が顕著に進行する 6 ヶ月齢の 5xFAD マウス CNS 内には、Eomes+Th 細胞の顕著な浸潤が認められ、15 ヶ月齢ではその頻度がさらに上昇した。②　予想されるプロトタイプ抗原の特性と既報のデータの考察から、単一遺伝子から派生しゲノム内で最大のコピー数(~5x105 copy/genome)からなるレトロトランスポゾン LINE-1 (以下 L1) に着目し、L1 タンパク質の一つである ORF1 が、CNS 浸潤 Th 細胞の Ca2+ influx（T 細胞受容体刺激の指標) を誘導することを見出した。③ SPMS マウスと mSOD1 マウスの脊髄神経細胞では、発症に伴って L1 発現が顕著に亢進した。一方、各マウスの L1 発現の分子機序は大きく異なり、SPMS マウスでは Foxa1 発現によるクロマチン弛緩と、キヌレニンによる芳香族炭化水素受容体(AhR)の活性化が L1 発現を誘導した。一方、mSOD1 マウスでは、成熟神経細胞の細胞周期の部分的な亢進が、L1 発現と強く相関していた。④ 3 種の神経変性モデルマウスの CNS から分離した Th 細胞を、ORF1 を取り込ませた骨髄由来樹状細胞と共培養すると、ELISpot アッセイによるグランザイム B 産生細胞数が有意に増加した。さらにこれらの CNS 由来 Th 細胞を、C57BL/6 マウス

胎児の海馬から調製した初代培養神経細胞と共培養すると、培養 72 時間後の生細胞数が有意に減少した。

考察：複数の神経変性疾患モデルマウスにおいて、① 発症に伴って CNS 内に Eomes 陽性 Th 細胞の浸潤が増加すること、② 各マウスの神経細胞において、プロトタイプ抗原 ORF1 のソースとなる L1 遺伝子の発現が、発症に伴って亢進すること、③ CNS 由来 Th 細胞のグランザイム B 産生が、ORF1 刺激により確かに増強し、CNS 由来 Th 細胞自体が神経細胞障害性を示すこと、がそれぞれ明らかとなった。したがって本研究の結果から、Eomes 陽性 Th 細胞による免疫依存性神経細胞障害が、多様な神経変性病態に普遍的に関与する可能性が示され、プロテイノパチーによる神経細胞死とは異なる新しい神経細胞障害機序を明らかにした。この免疫依存性神経細胞障害は、先行する神経細胞死が引き起こし、病変部位の伝播、拡大に関わるものと予想される。さらに、一連の反応は神経変性疾患モデルマウスごとにわずかに異なることも明らかとなり、各疾患に特異的な病態を反映するものと考えられた。一方、免疫依存性神経細胞障害は、先行する神経細胞死による抗原の供給がなければ作動しないため、今後、先行する自律的神経細胞死との関連を明らかにしていく予定である。

結論：免疫依存性神経細胞障害が、全く新しい病態機序として神経変性疾患の病態形成に普遍的に関わり、とくに病変部位の伝播、拡大を引き起こす可能性が示された。

参考文献：Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element. Takahashi F, Zhang C, Hohjoh H , Raveney B, Yamamura T, Hayashi N, Oki S. *iScience* 25, 104278, https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.104278, (2022).

神経筋疾患の中枢神経障害に対する遺伝子治療法開発

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 遺伝子疾患治療研究部
青木　吉嗣

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）の30%程度に合併する自閉症スペクトラム様の脳症状については、ADLを著しく下げる一因であるにも関わらず、病態理解が不十分であり治療法が確立されていない。2019-2020年度は精神・神経疾患研究開発費「神経変性の病態解明に基づく神経保護的疾患治療法開発研究」班（班長：荒木敏之）では、DMDで自閉症スペクトラム様の精神症状が発症する分子機序の一端を、DMDモデルマウスの扁桃体基底外側核における脳型ジストロフィンDp140の局在と機能に着目して明らかにした（論文投稿中）。しかしながら、Dp140の欠損により、認知・情動機能の異常が生じる神経生理基盤の詳細は未だ明らかではない。本研究では、ジストロフィン欠損に伴うマウス脳解析の継続に加えて、ヒト尿由来細胞から作製した3D人神経細胞培養系で再現させ得るかどうかを検討する。

方法

1. DMDモデルのmdxおよびmdx52マウス、野生型C57BL/6Jマウスを用いる。
2. 前述マウスを対象に、社会性に重要な神経核である扁桃体・基底外側核における錐体神経細胞での電気生理学的解析および分子生物学的解析を実施する。
3. 前述マウスの扁桃体を対象に、エクソン53スキップによるDp140の発現回復により自閉スペクトラム様の症状が改善するかを検討する。

結果

1. mdx52マウス扁桃体では、シナプス前終末に局在する小胞型グルタミン酸トランスポーター発現レベルが有意に低下していた。
2. 扁桃体・基底外側核における錐体神経細胞を対象に、whole-cellパッチクランプを実施したところ、mdx52マウスでは，mdxマウスあるいは野生型と比べて、錐体神経細胞における神経活動の興奮性・抑制性シナプス後電流の振幅の比が有意に低下（E/Iバランス異常）し、mEPSCの頻度異常を認めた。
3. モルフォリノ・アンチセンス核酸医薬をmdx52マウスの脳室内に反復投与すると、扁桃体でエクソン53スキップ誘導によりDp140が発現回復し、社会性異常等の脳症状とE/Iバランス異常は改善した。

考察

DMDの脳症状はシナプス異常に基づき、可逆的であることが示唆された。エクソン・スキップによる脳ジストロフィン発現回復は治療法として有望な可能性がある。

結論

マウス脳からのDp140欠損により、マウス扁桃体・基底外側核の錐体神経細胞シナプス前終末におけるグルタミン酸放出を低下させ，社会的コミュニケーション能力の異常につながること、さらに前述の異常所見はエクソン・スキップによるDp140の発現回復により正常化することが示唆された。

参考文献

1. Hashimoto et al., Autism-like behavior associated with a lack of short dystrophin Dp140 isoform in the amygdala of dystrophic mouse models. Under review.

分担研究報告
2022 年 5 月 12 日
分担研究課題名：樹状突起スパインの分子解析による自閉スペクトラム症病態の研究
名前：野口　潤
所属：神経研究所 微細構造研究部

緒言：自閉スペクトラム症（以下自閉症）に関係する遺伝子は数百以上が知られており、自閉症の大半を占める特発性自閉症は common variant と呼ばれる、通常発達の人にも共通して見られる遺伝子変異が重複して発生し、それに環境要因が加わることで生じると想定される。自閉症関連遺伝子は、シナプス関連遺伝子とその発現の制御を行う遺伝子が多く含まれる。また、自閉症患者とほとんどの自閉症モデル動物に共通してみられる特徴として、シナプス形態の変化があり、シナプスダイナミクスの変異は 7 種類以上の自閉症モデル動物に共通して報告されている。

我々は、ヒト特発性自閉症に最も近い動物モデルの一つであるバルプロ酸(VPA)曝露自閉症モデルマーモセットを用いて解析を行っている。このモデルマーモセットにおいて、スパイン密度の発達の変異とシナプス機能の変異が成長期に同じように推移していた。また、発達期の遺伝子発現の推移もヒト自閉症と類似していることなどを報告してきた。このモデルのシナプスダイナミクスのさらなる特徴解析を行うことを目的に、今回 adult 動物の興奮性スパインシナプス形態変化について解析した。また、蛍光タンパク質の発現を指標として神経回路特異的なシナプトゾームを抽出してシナプス含有物質を取得する方法論の開発を実施した。

方法：南米由来の新世界サルであるマーモセットはラット程度の体重で飼育しやすく、他の霊長類に比べて繁殖力が高い。ヒトと共通の脳構造を有しており、げっ歯類よりも発達した前頭前皮質を持つ。家族を中心とした群れを作って生活しており、社会性とその変容の解析に有利と思われる。

我々は妊娠 60 日のマーモセットにバルプロ酸(VPA)を経口投与し、出生した仔マーモセットを VPA 曝露自閉症モデル（以下 VPA マーモセット）として使用した。

成体マーモセットにアデノ随伴ウイルス(AAV)を接種して蛍光タンパク質を社会性に関連する大脳皮質背内側前頭前野(dmPFC)の神経細胞において発現させた。その後、頭蓋骨に観察窓を設け、大脳皮質 2/3 層の錐体細胞を 2 光子顕微鏡を用いて観察した。シナプス後部である樹状突起スパインやシナプス前部である軸索ブトンを 3 日毎に観察した。データ取得後、スパインやブトンの生成・消去などのダイナミクスの定量化を実施した。

また、摘出した脳をホモジナイズし、シナプト前部とシナプス後部が含まれる小胞であるシナプトゾームを抽出できることが知られている。シナプトゾームを抽出して包含される分子を解析することで、シナプスに含まれる分子を解析できる。今回蛍光を指標として、フローサイトメーターを用いて、蛍光タンパク質を発現したシナプトゾームを分離して、特定の神経回路に特異的なシナプトゾームを濃縮することを試みた。

結果：特発性 ASD の改良型モデルである VPA マーモセットにおいて、前頭前野の第 2/3 層錐体細胞の tuft 樹状突起におけるシナプスのターンオーバーを in vivo 2 光子イメージングにより観察した。本研究により、(1) VPA マーモセットではシナプスのターンオーバーが

亢進していることが示された。また、(2)VPA マーモセットでは、新たに発生したスパインが 3 ミクロン以内に近接してクラスターを形成する傾向があった。(3)VPA マーモセットでは、生成スパインのうち、新たに安定化したスパインの数がコントロール群より多かった。その差は特にクラスター化したスパインで大きかった。これらの結果は、VPA マーモセットにおいて、シナプスの安定性とシナプス間相互作用に不適応があることを示唆している。(4)また、オキシトシンを鼻腔投与することにより新生スパインのクラスター形成は抑制される傾向を見出した。

次に、シナプスの性質を分子的に解析するため、シナプトゾームの抽出の条件検討を実施した。溶液を含めてシナプス後部がより保存される条件を採用した。また、フローサイトメーターを用いて、蛍光タンパク質発現を指標として、シナプトゾームの濃縮が可能であることを確認した。

考察：これまでいくつかのモデルマウスにおいて、スパインターンオーバーの亢進が報告されてきたが、ヒト特発性自閉症に近い動物モデルである VPA マーモセットモデルにおいてそれが見出されたことは意義がある。さらに今回新生スパインのクラスター化が見出された。シナプス可塑性刺激によって BDNF や Ras などのシナプス可塑性に関連する物質が周囲のスパインに拡散することが報告されている。拡散した物質が近隣のスパイン新生を助けクラスター化する可能性がある。クラスター化することにより、神経回路が冗長となり、より頑強で効率の良い学習を可能にする場合があることが考えられる。実際に VPA マーモセットは空間学習のオペラント学習課題で成績が対照群よりも良く、その後の逆転学習では成績が悪くなることが微細構造研究部から報告されている。社会性に関係する学習経験後のシナプスの状態について今後解析したいと考えている。

結論：今回我々は VPA マーモセットにおけるシナプスのダイナミクスの異常、シナプスターンオーバーの亢進や、新生スパインのクラスター形成の促進などを見出した。シナプスターンオーバーやスパインクラスタリングの亢進は記憶・学習との関連が報告されている。ヒトにおいても社会性の制御と関係するとされるオキシトシンは新生スパインのクラスター形成の抑制作用を示した。

今後、シナプトゾームを抽出し蛍光を指標とした分離法を用いて神経回路特異的にシナプスにおける分子を解析する。社会的な学習・経験の後やオキシトシン投与後に解析を行うことで、自閉症の病態に関連するシナプスダイナミクス異常の分子的基盤を探索する。

参考文献：

1．Watanabe S, et al.. Nat. Commun. 2021: 12: 5388. Doi: 10.1038/s41467-021-25487-6.

分担研究課題名

軸索変性に伴うオルガネラ動態・相互作用の変化とその制御機構の解明

名前：大野伸彦
所属：自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門

緒言：

中枢神経系の髄鞘形成細胞であるオリゴデンドロサイトは突起を伸ばして複数の軸索に対して髄鞘を形成する。髄鞘の遺伝子異常は被覆された軸索のオルガネラ異常や変性を惹起するが、どの軸索が髄鞘によって被覆され、そして障害の影響を受けるのかについては、ほとんどわかっていなかった。そこで2021年度は、オリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索の特性を電子顕微鏡による3次元再構築技術を用いて検討した（Tanaka et al. 2021)。

また、2021年度は脱髄病変の解析効率を高める技術開発の中で、これまでの研究で用いていた中枢神経系の脱髄病変検出法であるNeutral redによる染色法を初めて末梢神経へと応用し、末梢神経系の脱髄病変を目視で検出できる技術の開発を目指した（Yamazaki et al. 2021)。

方法：

マウスの脳梁から2000枚の連続電子顕微鏡画像をSerial Block-Face Scanning Electron Microscopyを用いて取得し、含まれるすべての細胞を同定し、11個のオリゴデンドロサイトの細胞体、核、そして追跡可能な全ての突起を抽出した。その後、新たに開発したOuter tongueを使ったオリゴデンドロサイトの形成する髄鞘の同定法を用いて、各オリゴデンドロサイトが形成する髄鞘を正確に同定し、被覆される軸索、形成される髄鞘の形態学的特性を解析した。

Neutral redによる新規検出法の開発では、マウス坐骨神経にリゾレシチンを注射して7~21日後にNeutral redを腹腔内投与し、病側と対側（コントロール）の坐骨神経を採取後、肉眼観察もしくは免疫染色および電子顕微鏡を用いて、Neutral redの分布および脱髄・再髄鞘化について評価した。

結果：

連続電顕画像の解析から、オリゴデンドロサイトはすべての細胞で明瞭な極性を有し、細胞体の一側にある、オルガネラが豊富な領域から太い突起を伸ばしていた。また、各突起によって形成される髄鞘の厚みとその被覆される軸索の径は、オリゴデンドロサイト毎に偏っていることが分かった。

また、連続電顕画像上で3次元再構築されたオリゴデンドロサイトの髄鞘にランビエ絞輪を隔てて隣接する髄鞘を同定し、その厚みと軸索径を比較した。その結果、隣り合う髄鞘の厚み、そしてその部位の軸索径には明らかな相関関係が見られた。

Neutral red標識の観察では、リゾレシチン投与7日後（dpl）に坐骨神経に脱髄が生じ、この脱髄病変が容易に検出できることを明らかにした。7日目から21日目にかけての再髄鞘化過程では、Neutral red標識は徐々に減少した。Neutral redは病巣の活性化マクロファージとシュワン細胞を標識していた。7日後の標識坐骨神経を電子顕微鏡で解析したところ、病変部には脱髄とミエリン残渣が確認された。

考察：

各有髄軸索は、ランビエ絞輪を隔てられた複数の髄鞘によって被覆されている。本研究の観察から、1本の軸索上の各髄鞘は異なるオリゴデンドロサイトによって形成されていることがほとんどであったことから、オリゴデンドロサイト毎にその形成する髄鞘の厚みや軸索の径に偏りがあれば、ランビエ絞輪を隔てた隣の髄鞘の厚みや軸索の径はばらつく可能性が考えられる。しかし、各軸索は異なるオリゴデンドロサイトによって被覆される領域間においても同様の径を有しており、またそれらの髄鞘の厚みも同様であると示唆された。得られた結果を総合すると、個々のオリゴデンドロサイトは同じような径と髄鞘厚を有する軸索群に選択的に髄鞘を形成していると考えられた。

また、Neutral red 標識は、リゾレシチン注入後の坐骨神経における脱髄病変を巨視的に検出することができる簡便な方法であった。この方法は、末梢神経系の再髄鞘化の分子機構の解明や、再髄鞘化を促進する薬剤のスクリーニングに応用できる可能性がある。また、Neutral red は脱髄部位の反応性の Schwann 細胞とマクロファージを標識していると考えられたことから、これらの細胞がみられるその他の病変部位の検出にも応用できる可能性も示唆された。

結論：

今年度の結果から、個々のオリゴデンドロサイトは同じような径と髄鞘厚を有する軸索群に選択的に髄鞘を形成していることが明らかになり、また、Neutral red の応用による末梢脱髄病変の検出法の開発にも成功した。オリゴデンドロサイト単位の髄鞘の異常によって惹起される軸索のオルガネラ異常や軸索変性の分布が、こうした選択性による制御を受けている可能性が示唆されるとともに、Neutral red による脱髄病変検出法は他の原因による病変検出にも応用できる可能性が示唆された。

今後は髄鞘疾患モデルや加齢において、髄鞘形成細胞による髄鞘形成の異常、さらには髄鞘の細胞単位の形態学的特性が障害される可能性について検討を進める。また、オルガネラ動態変化の影響など、そのメカニズムの解明を目指し、ミトコンドリア分裂や代謝状態の制御による、髄鞘疾患の軸索変性の変化、および髄鞘形成の改善の可能性についても、検討を進める。

参考文献：

1. Tanaka T, Ohno N, Osanai Y, Saitoh S, Thai TQ, Nishimura K, Shinjo T, Takemura S, Tatsumi K, Wanaka A. Large-scale electron microscopic volume imaging of interfascicular oligodendrocytes in the mouse corpus callosum. Glia. 2021 69:2488-2502. doi: 10.1002/glia.24055.
2. Yamazaki R, Osanai Y, Kouki T, Shinohara Y, Huang JK, Ohno N. Macroscopic detection of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye. Sci Rep. 2021 11:16906. doi: 10.1038/s41598-021-96395-4.

3-5

Etiology, pathogenic mechanism, and developing therapeutic approach for neurodegenerative diseases and neurodevelopmental diseases.

Toshiyuki Araki
Department of Peripheral Nervous System Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry

Aims

In our former project for the Intramural Research Grant for Neurological and Psychiatric Disorders (30-5: Research for developing neuroprotective therapy against neurodegenerative diseases via elucidation of pathogenetic mechanism) lasted till 2020, our disease target was neurodegenerative diseases including amyotrophic lateral sclerosis, and we aimed to develop our research into collaboration with pharmaceutical companies for therapeutic development, or to be supported by external competitive research funding programs for development of therapeutics. In the current research project that follows 30-5, we excluded some research contents that have already acquired external research fund support successfully, and newly included research on mechanism of developmental disorders as another type of diseases involving alteration of neurite structures. In this research project, we aim to understand the pathogenic mechanisms shared by our target diseases as well as the mechanisms that are specific to certain type of diseases leading to the alteration of neurite structures. To develop therapeutic approaches against neurodegenerative diseases and neurodevelopmental abnormalities, we aim to clarify the optimal treatment targets and generate treatment model using diseased animal models. We will also share cutting-edge technologies for the analysis of diseased animal models within the group to expedite functional analysis and accelerate our research.

Research Team

-Leader

Toshiyuki Araki: Director, Department of Peripheral Nervous System Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (leader of this team)

-Participants

Yoshitsugu Aoki: Department of Molecular Therapy, National Institute of Neuroscience,

National Center of Neurology and Psychiatry
Shinji Oki: Section chief, Department of Immunology, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry
Jun Noguchi: Section Chief, Department of Ultrastructural Research, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry

Nobuhiko Ohno: Professor, Department of Anatomy, Jichi Medical University

３－６　小児期発症不随意運動症の克服に向けた研究

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター
佐々木征行

総括研究報告

1.研究目的

小児期にジストニア・コレア・ミオクローヌスなどの不随意運動を呈する神経疾患は、非常に多くの種類があることが知られている。大きく遺伝性疾患と後天性疾患に分けられる。遺伝性ジストニアにはDYTシリーズに含まれる疾患群、鉄沈着による神経変性疾患群（NBIA：Neurodegeneration with brain iron accumulation）などがある。他にも遺伝性にコレアやミオクローヌスを呈す疾患は多数知られている。小児においてはこれらの疾患は正確な発症頻度も不明で、有効な治療法がある疾患も限られている（DYT5、DYT10など）ため、いずれも難治希少神経疾患に位置付けられている。これらの中には病態解明の進んでいない疾患も多いため、これら疾患の疫学、病因病態解明、治療法開発研究を行う。

2.研究組織

主任研究者

佐々木征行 国立精神・神経医療研究センター病院

分担研究者

井上健 国立精神・神経医療研究センター神経研究所

齋藤貴志　国立精神・神経医療研究センター病院

石山昭彦　国立精神・神経医療研究センター病院

本橋裕子　国立精神・神経医療研究センター病院

竹下絵里　国立精神・神経医療研究センター病院

研究協力者

末永祐太　国立精神・神経医療研究センター病院

田畑健士郎　国立精神・神経医療研究センター病院

荒川篤康　国立精神・神経医療研究センター病院

神内　済　国立精神・神経医療研究センター病院

橋本和彦　国立精神・神経医療研究センター病院

山内泰輔　国立精神・神経医療研究センター病院

山本　薫　国立精神・神経医療研究センター病院

3.研究成果

井上らは、小児期発症不随意運動症の病態解明と治療法開発に向け、*ATP1A3*異常症および*POLR*関連白質変性症患者由来iPS細胞を樹立した。

竹下らは、本邦の小児期発症のジストニアに関する疫学調査を行った。総患者数は700名を超え、6割が遺伝性であった。乳児期発症では病因は多様で、年長例ではDYT5とDYT10が多いことが分かった。

本橋らは、DYT12に分類される小児交互性片麻痺（AHC）の1例での剖検所見を報告した。脳は肉眼的に小脳・海馬優位にびまん性に萎縮していた。組織学的には脊髄、海馬、視神経、小脳、淡蒼球・視床下核など基底核、視床の神経細胞脱落・グリオーシスが目立った一方、線条体や黒質は比較的保たれていた。これまでにAHC症例の中枢神経病理は世界でも報告がなく、貴重な所見である。

石山らはNBIA５に分類される*WDR45*関連神経疾患の頭部MRI画像所見から定量磁化率マッピングが早期鉄沈着を示すことを報告した。

4.研究成果刊行一覧

１）河野 修，本橋 裕子，竹下 絵里，石山 昭彦，齋藤 貴志，佐々木 征行，ら．病理解剖例を含む小児交互性片麻痺の長期経過追跡．Long-term follow up of alternating hemiplegia of childhood: case series including an autopsy case. 第 63 回日本小児神経学会学術集会．WEB 開催．5.27,2021.

２）佐々木征行．ジストニア．神経変性疾患・精神疾患の原因となる変異遺伝子・タンパク質とその診断・治療への活用の事例.「疾患原因遺伝子・タンパク質の解析技術と創薬/診断技術への応用」技術情報協会．東京．2022 年 3 月 31 日．p397-406.

小児期に発症する不随意運動症のガイドライン作成

分担研究者：国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経科　佐々木征行
研究協力者：同上 石山昭彦、齋藤貴志、竹下絵里、
本橋裕子、末永裕太、田畑健士郎
国立精神・神経医療研究センター神経研究
所疾病研究２部　井上　健

【目的】小児期に発症する不随意運動症は多数あることが知られている。この中で本研究班では、難治希少疾患である DYT12(*ATP1A3* 異常症)、NBIA5(*WDR45* 異常症)、両側性基底核変性症（*ECHS1* 異常症、*POLR3A* 異常症など）の診断ガイドラインを作成する。
【対象と方法】初年度はその準備として、*ATP1A3* 関連神経疾患、脳内鉄沈着による神経変性疾患（NBIA）、両側基底核変性症の分類を確認する作業を行う。

１．*ATP1A3* 関連神経疾患

１．小児交互性片麻痺（Alternating hemiplegia of childhood: AHC）
２．急性発症ジストニア-パーキンソニズム（DYT12; Rapid-onset dystonia-parkinsonism: RDP）
３．小脳失調・深部腱反射消失・凹足・視神経萎縮・感音性聴覚障害（cerebellar ataxia, areflexia, pes cavus, optic atrophy, and sensorineural hearing loss：CAPOS 症候群）
４．熱誘発性発作性脱力＋脳症（Fever-induced paroxysmal weakness and encephalopathy, a new phenotype of *ATP1A3* mutation: FIPWE）≒小脳失調を伴う反復性脳症（Relapsing encephalopathy with cerebellar ataxia: RECA）
５．急性発症失調症（Rapid-onset ataxia: ROA）
６．緩徐進行性小脳失調症（Slowly progressive cerebellar ataxia: SPCA）
７．早期発症てんかん性脳症（Early-onset epileptic encephalopathy: EOEE）
８．自閉スペクトラム障害（Autism spectrum disorders: ASD）
９．小児期発症統合失調症（childhood-onset schizophrenia: COS）

２．NBIA シリーズ

・NBIA1. Pantothenate kinase-associated neurodegeneration（PKAN）［*PANK2*］，小児期から四肢のジストニアと痙性のため歩行困難となる。
・NBIA2. Phospholipase A2-associated neurodegeneration（PLAN/INAD/PARK14）［*PLA2G6*］生後 6 か月～2 歳で運動失調，痙性，視神経萎縮を来し歩行困難となる。
・Mitochondrial membrane protein-associated neurodegeneration（MPAN/SPG43）［*C19orf12*］
・NBIA5. Static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood, Beta-propeller protein-associated neurodegeneration（SENDA/BPAN）［*WDR45*］
・Fatty acid hydroxylase-associated neurodegeneration（FAHN/SPG35）［*FA2H*］
・Coenzyme A synthase protein-associated neurodegeneration（CoPAN）［*COASY*］
・Kufor–Rakeb syndrome（KRS/PARK9）［*ATP13A2*］
・Woodhouse–Sakati syndrome（WSS）［*DCAF17*］

３．両側基底核変性症

Leigh 症候群
Wilson 病
若年型 Huntington 病
メチルマロン酸血症
グルタール酸尿症
Vitamin B1 欠乏症
Thiamine transporter 2 異常症（ビオチン反応性）
POLR3A 異常症
ECHS1 異常症

【結果と考察】*ATP1A3* 関連神経疾患には少なくとも 9 個の病型がある。最近は EOEE の中に大脳形成異常の症例も報告され、さらに複雑になっている。NBIA シリーズでは小児期発症のものをまとめる。両側基底核変性症については感染症や先天代謝異常疾患に含まれない疾患をまとめる必要がある。

小児期発症不随意運動症の病態解明と治療法開発に向けた研究：疾患特異的 iPS 細胞の確立と病態分子機序の解明

分担研究者：
国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第二部　井上　健
研究協力者：
研究協力者：同　鈴木禎史、センター病院小児神経科　田畑健士郎、佐々木征行

【緒言】
小児期に不随意運動を呈する神経疾患は数多く知られているが、これらのうち遺伝性ジストニアである小児交互性片麻痺 DYT12(*ATP1A3* 異常症)、両側性基底核変性症（*POLR3A* 異常症）については、これまで本研究班で疾患の臨床及び疫学的な特徴や遺伝学的原因解明などに取り組んできた。一方でこれらの疾患は現状においては対症療法以外の治療がなく、今後疾患病態機序に基づく治療法の開発が望まれる。そこで本研究では、本センター病院に受診する本疾患の患者末梢血から疾患特異的 iPS 細胞を樹立し、これらを用いた解析を行い、分子細胞病態を明らかにすることで、本疾患の治療法開発に寄与しうる知見を得ることを目的とする。
【方法】
1）患者由来疾患特異的 iPS 細胞の樹立
患者末梢血から分離したＴリンパ球に山中４因子を組み込んだエピソーマルベクターを導入し、iPS 細胞を樹立する。コロニーから分離した各株は多能性の確認を行う。
2）神経細胞およびグリア細胞への分化誘導
患者末梢血から樹立した iPS 細胞を神経細胞およびオリゴデンドロサイトなどのグリア細胞に分化誘導する。誘導には標的細胞に合わせて最適化されたプロトコールを用いる。
3）細胞表現型解析と分子遺伝学的病態解析
健常者から樹立した iPS 細胞、あるいは類縁他疾患患者から樹立した iPS 細胞との比較検討解析により、疾患に関連する細胞表現型や遺伝子発現の変化などの分子病態を明らかにすることで、本疾患の病態機序を明らかにする。
【結果】
1）１名の *ATP1A3* 異常症患者および 3 名の POLR 関連白質変性症患者から iPS 細胞を樹立した。他に２名の正常対照者の iPS 細胞を樹立した。
2）iPS 細胞から神経細胞およびオリゴデンドロサイトへの分化誘導系を確立した。
3）*POL3A* 変異の分子病態として、スプライシング異常の関与が示唆されており、これを神経細胞あるいはオリゴデンドロサイトなどに分化誘導した後に網羅的に解析することを計画している。そのために新たにロングリード次世代シーケンサーを用いる予定ある。本年度は、本解析システムのセットアップを行った。
【結論】
小児期発症不随意運動症の病態解明と治療法開発に向け、*ATP1A3* 異常症および POLR 関連白質変性症患者由来 iPS 細胞を樹立した。今後、これらの疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態分子機序の解明のための解析を行う予定である。
【考察】
ATP1A3 異常症は、臨床的には小児交互性片麻痺などのいくつかの異なる臨床表現型を呈することが知られている。本疾患の特徴として、ストレス暴露によって症状が発現することから、*ATP1A3* 変異がどのような細胞ストレス脆弱性をきたすのか、その分子機序を明らかにすることで、本疾患の治療法開発へのきっかけとなる細胞病態機序の解明につながると期待される。また *POLR3A* 異常症の原因遺伝子 *POLR3A* は、RNA ポリメラーゼ III の主要なコンポーネントをコードし、その変異は常染色体劣性遺伝性の髄鞘形成不全症候群である POLR 関連白質変性症の原因として知られているが、少数の患者で両側基底核病変と不随意運動を呈することが近年明らかになった。POLR 関連白質変性症を含め、その細胞分子病態は不明であることから、我々は POL3 が転写制御する non-coding RNA のうち、スプライシング制御に関わる snRNA に注目し、これこれが本疾患の分子病態解明につながると仮説を立て、その実証に取り組んでいる。
【参考文献】
1. Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, Kurata H, Okada T, Shimazu T, Imamura H, Enomoto Y, Takanashi JI, Kurosawa K, Saitsu H, Inoue K. *POLR1C* variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *NeurolGenet.* 2020;6(6):e524.

小児期発症不随意運動症のデータベース作成に関する研究

分担研究者　国立精神・神経医療研究センター小児神経科　齋藤貴志

【背景】(1)小児期発症の不随意運動症運動症は、原因も多く、同一の疾患あるいは遺伝子異常でも症状は多様であり、加齢により変化しうる。また、それぞれの疾患は希少であり、自然歴に関する知見も少ないことが多い。治療に関しても、質の高いエビデンスはほとんどなく、成人患者に対する治療方法を小児に応用すること、少数例の報告、経験を根拠とした使用、オフラベルでの使用が多い状況がある。一方、近年、希少疾患に対対しては、遺伝子治療を含む様々な医薬品が開発されつつあり、効率的な診断や自然歴に関する知見を収集、蓄積することがますます求められている。本研究では、不随意運動症などを含む小児期の希少神経疾患効果的な診断、自然歴、治療法を明らかにするため、当院で診療を受けている患者の治療についての情報を収集する。

【方法】対象とする患者は、小児神経診療部で診療を受けた、不随意運動症を含む小児期発症の希少神経疾患とし、データベースを作成する。診断や必要な情報については、病名登録テンプレートを改変するなどして、電子カルテより効率的に取得する。また、不随意運動症をはじめとする神経疾患では、実際の臨床症状の記録が重要である。このため、写真や動画などについても、容易に参照できる形で電子的に保管するようにする。

【結果】現在、当センターへの入院患者の情報を過不足なく入力することを可能にするため、以下の方針に基づき準備した。
1）電子カルテ上の病名登録テンプレートを修正し、診断名のみではなく、疾患（または疑われる疾患群を ICD-11 に基づき分類する。原因遺伝子がわかっている例では遺伝子名（配列情報を含まない）を保存し、画像情報（病変の部位の情報を含む）を選択形式で入力し、の他、特徴的な検査所見については自由記載で記入できるようにする。入力したデータの扱いは　特定の管理者のみ扱えるようにする。
2)動画、臨床写真等のデータは、インターネットに接続しないコンピューターの外部ディスクに保存し、データベースソフトでアクセスできるようにする。
上記のようなオプトアウトの形で対象症例から同意取得するよう研究計画を作成しており、倫理委員会へ申請予定である。

【その他】
PI3K-AKT-mTOR 系の異常が発症に関与する結節性硬化症（tuberous sclerosis complex, TSC)および限局性皮質異形成 2 型の病態における FOXP1 の関与を、組織学的に検討している。前年度では、mTOR 系が亢進し、これらの組織に特徴的に見られる balloon cells で FOXP1 の細胞内局在が変化することを明らかにした。さらに、凍結組織の FOXP1 のタンパク定量を行う予定である。

【文献】該当なし

*WDR45*関連神経変性症に関する臨床的特徴の研究

分担研究者：国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科　石山昭彦
研究協力者：同上　馬場信平、佐々木征行

【目的】*WDR45* 関連神経変性症は脳の鉄沈着を伴う神経変性疾患の一型であるが、小児期は非進行性の重度知的障害やてんかんを認めるのみで、臨床検査上でも非特異的所見のみであり、小児期には診断困難な例が多い。小児期にどのような臨床的特徴を認めたら本症を疑うべきか、について調べることを目的に後方視的に検討を行った。

【方法】精神運動発達遅滞を認め精査を行った症例のうち、最終的に *WDR45* 遺伝子異常を同定し WDR45 関連神経変性症と診断しえた小児例 5 例を対象として、血液生化学所見、脳波所見、脳 MRI 所見等について後方視的に検討を行った。

【結果】精神運動発達遅滞を認め初回の精査を行った年齢は月齢 10 か月～3 歳で、その後、遺伝子検査が行われ *WDR45* 変異が同定されるまでの期間は平均で 5.6 年を要していた。初回の診断精査内容を後方視的に振り返ると、血液生化学所見では、5 例全例で AST 70-96IU/L と軽度高値を認めており、脳波所見では 5 例中 4 例で高振幅速波 High-amplitude fast activity (HAFA)の所見を呈していた。脳 MRI では 5 例全例で大脳白質の軽度容量低下、および 3 例で脳梁菲薄化を認めていたが、いずれも非特異的所見であった。経過のフォローアップ中に、3 例で発熱に伴う痙攣重積または群発を認めており、その際に撮像した脳 MRI で淡蒼球、黒質の腫大と T2 強調画像での高信号を認めた例が 3 例あった。*WDR45* 変異同定後に、脳 MRI で定量磁化率マッピング quantitative susceptibility mapping (QSM)を行い、解析対象部位の range of interest (ROI)を設定し、磁化率定量 QSM を行った例では、淡蒼球と黒質に著明な高信号を認め、小児期では T1, T2, FLAIR 像でとらえることができない鉄沈着の所見を証明しうることができた。

【結論】精神運動発達遅滞があり、一般採血で AST 高値を認め、脳波所見で高振幅速波の HAFA 所見を呈する例では *WDR45* 関連神経変性症を疑うべきであると考えられた。さらに脳 MRI で鉄沈着を証明しえれば、より本症の診断の可能性が高まるであろうと考えられ、これらの所見は臨床的有用性が高いものと考えられた。

【参考文献】

1) Ishiyama A, Kimura Y, Iida A, et al. Transient swelling in the globus pallidus and substantia nigra in childhood suggests SENDA/BPAN. Neurology. 2018. 22;90(21):974-976.
2) Kidokoro H, Yamamoto H, Kubota T, et al. High-amplitude fast activity in EEG: An early diagnostic marker in children with beta-propeller protein-associated neurodegeneration (BPAN). Clin Neurophysiol. 2020;131(9):2100-2104.

不随意運動症をきたす遺伝性疾患の神経画像および脳病理学的研究

分担研究者：国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経科　本橋裕子
研究協力者：同上　河野修

【はじめに】小児交互性片麻痺(alternating hemiplegia of childhood; AHC)は片麻痺発作，異常眼球運動，てんかん発作，発作性ジストニアなど薬剤抵抗性の多彩な発作性症状を呈し，発達遅滞を伴う疾患である．*ATP1A3*が原因遺伝子であり，ATP1A3遺伝子はNa-K ATP アーゼのαサブニット 3 をコードしており，αサブユニット 3 は神経細胞と心筋の Na-K ATP アーゼに特異的に存在する．AHC の長期経過や予後に関する報告や AHC の病理解剖例に関する知見は限られている．

【目的】AHC を有する成人患者の剖検例を経験したため，AHC の中枢神経病理組織所見を明らかにするとともに AHC の長期臨床経過を明らかにする．

【方法】41 歳で死亡した AHC 患者の臨床像と病理解剖所見を検討し，かつ当科受診歴のある AHC を有する成人患者の臨床情報を，診療録情報を元に後方視的に検討した．

【結果】剖検例患者は 41 歳女性，ATP1A3 遺伝子に*E815K*のバリアントあり．日齢 2 で痙攣，日齢 20 に異常眼球運動が出現した．1 歳から片側の麻痺発作が出現し反復し，4 歳時に AHC と診断された．6 歳以降運動退行し，16 歳時にけいれん重積をきっかけに寝たきりとなった．18 歳時に無呼吸発作が頻発し，翌年に喉頭気管分離術が施行された．39 歳で肺炎・胸膜炎に罹患した時から全身状態は緩徐進行性に悪化し，41 歳時に死亡した．剖検にて脳は肉眼的に小脳・海馬優位にびまん性に萎縮していた．組織学的には脊髄，海馬，視神経，小脳，淡蒼球・視床下核といった基底核，視床の神経細胞脱落・グリオーシスが目立った一方，線条体や黒質は比較的保たれていた．

当科受診歴のある AHC を有する成人患者は本症例を含めて 8 名であった．重症型とされている*E815K*のバリアントを有した 2 例（41 歳/本症例，22 歳），軽症型とされている*D801N*のバリアントを有した例が 4 例（21 歳～51 歳），そのほか*P808L*と*G755C*のバリアントを有する例がそれぞれ 1 例いた．

*E815K*のバリアントを有する 2 例はともに 10 代で寝たきりとなった．*E815K*のバリアント以外を有する例では最終受診時に座位まで可能な症例から歩行まで可能な症例までいたが全例呼吸補助は必要とせず，経口摂取可能な状態であった．片麻痺発作は消失あるいは増悪する例が存在した．てんかん発作は重積を反復し，多く薬剤抵抗性であったが，10 代あるいは成人期から重積頻度が低下する症例が多く見られた．

【考察】剖検症例の大脳・海馬・視床の萎縮はけいれん重積を反復したために来したものとも考えられ AHC そのものによるかどうか判断できない．小脳萎縮に関しては AHC の画像を解析した報告などから AHC によるものと考えられるが，フェニトインの長期・高用量使用や，けいれん重積反復の影響も考えられる．調べた限りでは視神経萎縮を指摘された AHC 症例は見つけられなかった．*ATP1A3*バリアントの他病型である（Cerebellar ataxia, areflexia, pes cavus, optic atrophy and sensorineural hearing loss）CAPOS 症候群では視神経萎縮が特徴の一つであり，本症例が CAPOS 症候群の要素も併せ持っているのか，AHC にも一般的に視神経萎縮が見られるかはさらなる症例の蓄積の中で検討していく必要がある．

臨床像については，既報では片麻痺発作は 7 歳以降に軽快するとされていた．今回の検討では 10-30 代から増悪する症例も，30 代から軽快する症例もあり成人期でも症状は変動しうることが分かった．けいれん重積は小児期に難治に経過することはよく知られているが，生涯に渡って難治なのかは報告がなかった．今回，成人期に重積頻度は低下することが示唆された．

小児期発症のジストニアに関する質問票調査

分担研究者：国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経科　竹下絵里
共同研究者：同上　末永祐太、本橋裕子、齋藤貴志、石山昭彦、佐々木征行

【目的】

日本で小児期発症のジストニアに関する疫学調査を行い、その原因、頻度、臨床的特徴を明らかにする。

【対象・方法】

2020 年 2 月～2022 年 2 月に小児神経専門医 1218 名を対象に、小児期発症のジストニア診療に関する一次調査質問票を郵送、同意を得た対象者の回答結果を集計した。協力の承諾を得た専門医には、二次調査質問票を郵送、同意を得た対象者の回答結果を集計した。

【結果】

一次調査は 1218 名中 550 名（45%）から有効回答を得た。診療患者数は 0 例 392 名 (71%)、1～4 例 110 名 (20%)、5～9 例 27 名 (5%)、10 例以上 20 名 (4%) だった。総患者数は 736 例、内訳は遺伝性 467 例 (63%)（DYT1：4 例、DYT5：59 例、DYT9／DYT18：30 例、DYT10：156 例、DYT12：41 例、その他 DYT シリーズ：29 例、NBIA シリーズ：36 例、その他の遺伝性疾患：111 例)、後天性 152 例（21%）(周産期脳障害：100 例など)、特発性 117 例（15%）だった。

二次調査は 145 名中 79 名（54%）から有効回答を得た。総患者数は 323 例 (男性 165 例、女性 158 例)、調査時年齢 1 歳 1 か月～62 歳（中央値 17 歳)、ジストニア発症年齢 0 歳 0 か月～18 歳（中央値 5 歳)、乳児期 120 例 (37%)、小児期 160 例 (52%)、青年期 28 例 (9%)、不明 15 例 (5%) だった。病型は遺伝性 239 例 (74%)、後天性 52 例 (16%)、特発性 18 例 (6%)、分類不能 10 例（4%）だった。遺伝学的検査は 172 例（53%）で実施し、154 例（90%）で病因が同定された。罹患部位は全身性 113 例（35%)、局所性 36 例（11%)、病状の経過は停止性 231 例（72%)、進行性 68 例 (21%)、病状の変動性は持続性 117 例 (36%)、発作性 118 例（36%）が多かった。ジストニア以外の運動徴候は 157 例 (49%) が有し、痙縮 75 例 (48%) が多く、合併症は 210 例（65%）で認め、中枢神経症状 194 例（92%）が多かった。頭部 MRI は 270 例（84%）で実施、128 例（47%）に異常所見（基底核病変 74 例、白質病変 60 例、皮質病変 51 例、その他 69 例）があった。治療は 302 例 (93%) に行われ、内服加療 291 例 (96%) が最多、単剤 169 例 (58%)、2 剤 50 例 (17%)、3 剤以上 72 例 (25%)、他にボツリヌス療法 35 例 (12%)、ケトン食療法 15 例 (5%)、バクロフェン持続髄腔内投与療法 12 例 (4%)、脳深部刺激療法 7 例 (2%) などが行われていた。

【考察】

日本では 2008 年の舟塚らが小児神経専門医を対象に小児期発症のジストニアに関する質問票調査を実施しており、1026 名中 421 名 (41%) から有効回答を得て、総患者数 579 例、病型は一次性 146 例 (25%)（遺伝性 103 例（17%))、二次性 433 例（75%）(脳性麻痺 196 例 (34%)、神経変性疾患 153 例 (26%)、代謝性疾患 23 例（4%)) と報告した。本研究の質問票回収率は約 4 割、診療している専門医数は約 3 割で先行研究と同等で、総患者数は約 150 例多い結果であり、遺伝性が 467 例（63%）と多数を占めた。本研究で周産期脳障害が少数で遺伝性が多かった理由は、遺伝子解析技術の進歩により原因不明だったジストニアの病因が確定診断可能となったこと、周産期医療の進歩、質問票調査の限界が要因として挙げられた。

他国から同様の調査報告はないが、本邦の小児期発症ジストニアは DYT10 や DYT5 が多い特徴があった。乳児期発症例は病因が多様で、ジストニアは多部位で持続性、ジストニア以外の合併症や頭部画像検査で異常を有し、多くの治療法を要する傾向があること、一方で乳児期以降の発症例は DYT10 や DYT5 といった遺伝性が多く、ジストニアは停止性で発作性に生じ、単剤治療の傾向であることが把握された。

【結論】

本邦の小児神経専門医の 3 割が小児期発症ジストニアを診療し、患者の 6 割が遺伝性、乳児期発症では病因は多様で、それ以降の発症では DYT10、DYT5 が多かった。発症時期、罹患部位・経過・変動性などの臨床的特徴が明らかになり、頭部画像検査や遺伝子検査が病因の同定や治療方針の決定に役立っているこ

とが確認できた。

【参考文献】

1. 日本神経学会監修, 「ジストニア診療ガイドライン」作成委員会編集, ジストニア診療ガイドライン 2018. 南江堂.

2. 遺伝性ジストニア（指定難病 120）難病情報センター http://www.nanbyou.or.jp/entry/4898

3. 舟塚真, 加藤郁子, 大澤真木子. 小児神経科専門医に対する小児期発症ジストニアの疫学調査. 脳と発達. 2008;40(Suppl.):S269.

3-6

Study on Childhood-onset Movement Disorders

Masayuki Sasaki, M.D.
National Center of Neurology and Psychiatry

1. The purpose of the study

It is known that there are a great variety of neurological disorders that present with involuntary movements in childhood, such as dystonia, chorea, and myoclonus. They can be broadly divided into hereditary and acquired diseases. Hereditary dystonia includes a group of diseases included in the DYT series and a group of neuro-degeneration with brain iron accumulation (NBIA). Many other diseases are known to cause hereditary chorea and myoclonus. In children, the exact incidence of these diseases is unknown, and only a few of them (DYT5, DYT10, etc.) have effective treatments, making them intractable rare neurological diseases. Since the pathophysiology of many of these diseases has not yet been elucidated, we will conduct research on the epidemiology, pathogenesis, and development of treatment methods for these diseases.

2. Results

Inoue et al. established iPS cells derived from patients with *ATP1A3* abnormality and *POLR*-related white matter degeneration to elucidate the pathogenesis of childhood-onset involuntary motor disorders and to develop therapeutic strategies.

Takeshita et al. conducted an epidemiological survey on childhood-onset dystonia in Japan. The total number of patients was over 700, and 60% were hereditary. The etiology of infantile-onset dystonia was diverse, with DYT5 and DYT10 being more common in the older cases.

Motohashi et al. reported autopsy findings in a case of alternating hemiplegia of childhood (AHC) classified as DYT12. Grossly, the brain was diffusely atrophic with cerebellar and hippocampal predominance. Histologically, the spinal cord, hippocampus, optic nerves, cerebellum, basal ganglia including globus pallidus and subthalamic nucleus, and thalamus showed conspicuous neuronal cell loss and gliosis, while the striatum and substantia nigra were relatively preserved. This is a valuable finding, as there have been no reports of CNS pathology in AHC cases in the world.

Ishiyama et al. reported that quantitative susceptibility mapping (QSM) of brain MRI imaging findings in *WDR45*-related neurological disease classified as NBIA5 showed early iron deposition.

3-7　NCNPにおけるバイオバンク機能の統合・標準化と試料・情報の利活用推進のための基盤研究

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
メディカル・ゲノムセンター／神経研究所
後　藤　雄　一

総括研究報告

1. 研究目的

NCNPに特徴的な研究資源（筋、髄液等）を取り扱うシステムを最大限活用し、新たな診断バイオマーカー、治療法を開発する研究開発事業への試料提供を拡充させる。知的障害、認知症などの患者数が多い疾患、神経・筋疾患などの希少疾患の両方に対応し、ゲノム医療推進の基盤となる活動を継続させる。近年、バイオバンク試料のゲノム情報が大規模に解析されており、バイオリソースの科学的有用性を高まっており、試料と情報の提供を推進するバイオバンク事業により、臨床研究の推進に寄与することが目標である。

2. 研究組織

主任研究者

後藤　雄一　国立精神・神経医療研究センター

分担研究者

服部功太郎　国立精神・神経医療研究センター
井上　健　　国立精神・神経医療研究センター
飯田有俊　国立精神・神経医療研究センター
吉田寿美子　国立精神・神経医療研究センター
波多野賢二　国立精神・神経医療研究センター
松村　亮　国立精神・神経医療研究センター
井上　悠輔　東京大学

研究協力者

竹下絵里　国立精神・神経医療研究センター
中川栄二　国立精神・神経医療研究センター
中村葉子　国立精神・神経医療研究センター

3. 研究方法

① NCNPバイオバンクの**拡充と統合化**（後藤、服部）

DNA 等の試料登録数：精神疾患 1,000 例以上、神経疾患1000例以上、知的障害650家系、てんかん手術脳200例以上、髄液5,000例以上、筋疾患培養細胞1000例以上などのこれまでの実績に加えて、さらなる登録数の増加を行うとともに、効率的な運営のための登録・提供に関する統合化を行う。

② バンクシステムの**標準化**（服部、波多野、松村）

バイオバンクの標準化が世界的に進んでおり、ISO 認証を受ける準備と受けたあとの継続維持を図り、研究資源としての品質を確保する。ゲノム情報、画像情報とバンク情報とのリレーション方策を検討・実践する。

③ センター内連携や6NC/オールジャパン事業との**連携活動**（後藤、服部、飯田）

病院疾病センターとの連携、ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク（NCBN）事業を継続しながら連携活動を行い、ゲノム医療推進の基盤となるオールジャパンでの活動を中核となり、ナショナルセンターのミッションを遂行する。

④ バイオリソースの**利活用推進**（吉田、飯田、井上健、井上悠輔）

個人情報保護法、倫理指針などに適切に対応し、アカデミア／産業界を含む研究者への資源提供を格段に進

める方策を企画し、実行する。分譲や共同研究での試料提供手続きの簡素化や情報のみの提供の推進などを進める。

4. 研究結果

① 拡充と統合化

NCNP 内の MGC 筋レポジトリー、知的障害バンクの取り込みに加えて、専門疾患センター（認知症センター、てんかんセンター、気分障害センター）や病院・研究所等の研究プロジェクト（手術脳を用いた研究、CSF バイオマーカー研究、PET 研究、光ポト研究など）との連携活動を拡充している。一方、NCNP バイオバンクが担うのは、同意取得、試料輸送・処理を基本にして、必要により予診・症状評価、研究検査、採血、腰椎穿刺、再検査用保管等を行い、バンク登録・利用システムの統合化を図っている。

② 標準化

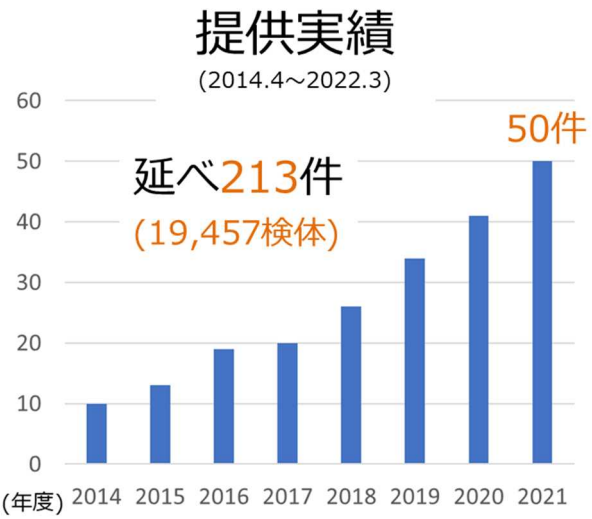
生体試料の科学性を担保する目的でバンクシステム運用の標準化が世界的な流れとなっている。NCNP バイオバンクは我が国における中核であり、分担研究者の服部は ISO 規格に関する日本委員会のメンバーとして、関連規格書の和訳や普及推進を務めるとともに、コンサルタントと協力して NCNP での ISO 認定の文書作成を進めた。2021 年度より、競争的研究費で1名を常勤化し、また今年度から始まった「バイオリポジトリー管理士」認定で受検した5名が全員合格した。服部は、国内規格化（JIS 化）に関する研究課題（経産省）が採択され、原案作成委員会の委員長としても活動している。

③ 連携活動

ナショナルセンター・バイオバンク事業（NCBN）、AME ゲノム医療実現推進プラットフォーム事業（ゲノム研究プラットフォーム利活用システム）（荻島班）などに参加し、オールジャパンにおけるバイオバンク事業の中核を担っている。一方、これらバイオバンクを基盤として進められているゲノム医療に関わる研究では、コントロールゲノム解析、難病全ゲノム解析事業、AMED 創薬基盤研究事業の GAPFREE4 などが進んでいる。

④ 利活用推進

コロナ下であっても、登録数や提供数は順調に進んでいる。特に提供数は昨年の 41 件を超え 50 件に達した。依頼数の増大に伴い実際の提供までに相当の時間がかかっており、担当者数を数名増加させて対応を図っている。



4. 今後の方向性

① 拡充と統合化

NCBN 及びオールジャパンでの提供手続きの共通化作業を進める。説明と同意に関するシステムの IT 化やデータ・セキュリティ及びデータの共有化を進めてゆく。

② 標準化

2022 年度末の ISO 認定を目指して、必要な文書の作成と体制整備を行っていく。

③ 連携活動

NCBN での活動を中心に、バンク部門の連携事業を継続する。一方、ゲノム医療の推進における基盤として疾患バイオバンクの役割も継続的に果たしてゆく。

④ 利活用推進

広報活動の強化と利活用推進委員会の活動の推進を継続する。

５．研究発表

（学会発表）

1) Morita M, Inoue Y, Iwane M, Kamikawa K, Kurata M, Kohara A, Sumita Y, Takeuchi T, Nishihara H, Hinomura A, Morisaki T, Imoto S, Matsuda K, Hirata M, Yokota H, Suzuki K, Ohneda K, Nagami F, Nagaie S, Miyamoto Y, Hattori K, Tomita T, Noiri E, Matsumura R, Miyahara R, Kitajima K, Shiraishi K, Kawano S, Nakae H, Yoshida M, Kohbata H, Muto M, Matsumoto S, Inazawa J, Tanaka T, Takemoto A, Nishiyama H, Takagi T, Murakami Y, Goto Y, Ogishima S. Challenges in utilizing biobanks and efforts to solve them in Japan. European Biobank Week 2021, Virtual Congress, 11.08-10, 2021

2) 波多野賢二、美代賢吾、三原直樹、平松治彦、野口貴史、渡辺浩、北村真吾、桜井理紗、星本弘之、向井まさみ、田中勝弥. ナショナルセンターにおける電子カルテ情報を活用したリアルワールドデータ収集・提供基盤の構築事業（JASPEHR） 第41回医療情報学連合大会 2021年11月.

1) 後藤雄一. ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク. 実験医学増刊 39: 1033-1039, 2021

2) 荻島創一,村上善則,後藤雄一,高木利久. 国内外のバイオバンクとバイオバンク・ネットワーク.実験医学増刊 39: 1014-1019, 2021

3) Abe-Hatano C, Iida A, Kosugi S, Momozawa Y, Terao C, Ishikawa K, Okubo M, Hachiya Y, Nishida H, Nakamura K, Miyata R, Murakami C, Takahashi K, Hoshino K, Sakamoto H, Ohta S, Kubota M, Takeshita E, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kato M, Matsumoto N, Kamatani Y, Kubo M, Takahashi Y, Natsume J, Inoue K, Goto YI. Whole genome sequencing of 45 Japanese patients with intellectual disability. Am J Med Genet A. 2021 May;185(5):1468-1480.

4) Tabata K, Ishiyama A, Nakamura Y, Sasaki M, Inoue K, Goto YI. A familial 2p14 microdeletion disrupting actin-related protein 2 and Ras-related protein Rab-1A genes with intellectual disability and language impairment. Eur J Med Genet.2022 Mar; 65(3):104446.

6. 知的所有権の出願・登録状況

なし

（論文発表）

精神・神経疾患バイオバンクにおける標準化に関する研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター
メディカル・ゲノムセンター
職名　部長　　氏名　服部功太郎
〒187-8551　東京都小平市小川東町 4-1-1
042-341-2712
e-mail: hattori@ncnp.go.jp

【要旨】

国際標準化機構(ISO)の委員として国内外の委員と連携しバイオバンクの国際規格作成に参画した。今年度はサブテーマである培養細胞、動物、植物のバイオバンキングについて各々の国際規格文書が発行された。また、昨年発行された、バイオバンクの試料の処理方法の妥当性確認と検証の要求事項を示した文書 ISO 21899 の日本語訳を国内委員会で作成し出版した。今年度からは ISO の国家規格化を目指すことになり、JIS 原案作成委員長として原案および解説文書のとりまとめを行った。

また、NCNP バイオバンクにおける認定準備も進めており、設備や体制、会議、手順書等 90%整った。今後は品質マネジメントシステムの運用を開始し来年度の認定審査受験を目指す。

NCNP の準備状況や作成した文書は定期的に NCBN でも共有し連携を進めた。今後も引き続き、バイオバンクの標準化の推進に主導的役割を果たしていきたい。

【背景と目的】

ヒト試料を用いた研究においては、再現性向上が課題となっている。再現性不良の原因の 46-68%は分析前条件によるものと推定されており(Kaushik, 2014)、研究ごとの採取・処理条件の違いや低品質な試料が研究成果の再現を阻んでいると考えられる。この解決には試料収集の標準化が必要である。更に、近年オミックス解析をはじめとする分析技術の進歩により、より高い品質の試料も求められている。本研究では、科学的な要請と国内外の現状から、どのような標準であるべきかを検討し、国際標準の作成に貢献し、NCBN と NCNP の標準化を推進することを目的である。期待される成果としては、日本の意見が反映された国際標準ができ、NCNP と NCBN のバイオバンクの国際標準への対応が可能となり、長期的には研究の再現性、トレーサビリティの向上等により、医学研究に貢献することが見込まれる。

【方法】

1）国際規格の作成参加

国際標準化機構(ISO)の技術専門委員会(TC276)における「バイオバンキングとバイオリソース」を主題としたワーキンググループ(WG2)の国内委員会、国際委員会に参加し文書作成に参加した。国内委員会では副委員長および WG2 主査として、国内意見のとりまとめ、日本側意見の提出・説明を担当した。

2）JIS原案作成委員会

今年度より日本規格協会のJIS原案作成公募制度に応募し，主要バイオバンク（NCBN、バイオバンク・ジャパン、東北メディカルメガバンク機構），利用者（製薬協を含む製薬会社等），省庁（経産省、厚労省、文科省等）等に呼びかけて，JIS原案作成委員会を組織し，ISO 20387に対応するJIS原案作成に取り組んだ。事務局は経産省外郭団体の再生医療イノベーションフォーラム(FIRM)が担当した。

3）NCNPにおける実装

前年度に引き続き、コンサルタントの指導のもと、施設・体制の整備や手順書の作成などをすすめた。具体的内容は結果・考察で記述する。

4）NCBNとの連携

以上の状況はNCBNの品質管理ワーキンググループを通じて他のNCとも共有した。

本研究は、規格の作成や手順書の整備などに関わるものであり、倫理審査の対象とはならない。

【結果・考察】

1）国際規格の作成参加

ISO 21899:2020「バイオバンクの生物材料のプロセシング方法の妥当性確認と検証に関する一般要求事項」は、バイオバンクが行う生物材料や付随情報の処理方法の妥当性を確認・検証し、精度を向上させるための文書である。昨年、英語版を国際委員会で発行し、日本に意見も反映されたものとなっていた。

国内委員会において本文書の和訳を作成し2021年8月に日本規格協会より出版された。服部は和訳の取りまとめ、校正等を担当した（謝辞に本研究費も記載済み)。

更に数年前から取り組んでいた、哺乳類系の培養細胞、研究用の動物ならびに植物についての要求事項の文書もそれぞれ発行された。

2）JIS原案作成委員会

既に出版されていたISO 20387の原文の主旨を損なうことなく，可能な限り分かりやすい日本語訳を用い，必要な注記・注釈及び解説を加えた。解説についてはISO/TR 22758（ISO 20387の実装ガイド）の該当箇所を主な根拠にしつつ，日本独自の文章も加えた。JIS原案作成委員長として委員会を5回開催し、原案および解説文書のとりまとめを行った。現在、校正中であり審議会による審査を経て来年度出版される予定である。

3）NCNPにおける20387認定取得準備

前年度に引き続きISO 20387認定取得の準備を行った。主要な点を列挙する。

- 施設整備：耐用年数を大幅に（10年以上）過ぎたフリーザー4台を交換し、1台増強した。また、データベースシステムのハードウェア更新を行った。
- 体制整備：負担が大きかった試料処理部門の要員増強を行った。品質マネジメントシステム準備会議を組織し、基準書等の作成を行った。要員のうち5名は、バイオリポジトリ分野の専門知識・技術を認定する要員認定資格であ

る、バイオリポジトリ技術管理士(BiTA)を取得した。

- 文書整備：手順書は90%（採取、処理、心理、利活用はおおむね完成）、基準書は70%整備された。

現行の体制（常勤は部長、システムエンジニアを含む３名で他は非常勤）で品質マネジメントシステムを運営するのは非常に困難であることも判明した。今後はNCNPにISO認定取得のメリットを説明し、そのために必要な資源を希望していきたい。

２）NCBNとの連携

NCBNの品質管理ワーキンググループ等を年4回開催し、ISOの議論やNCNPにおける準備状況を情報共有した。NCGGやNCVCからの希望に応じてNCNPの手順書なども共有した。また各NCバイオバンクについてバーチャル見学会を持ち回りで開催し、各NCバイオバンクの取り組み、課題等を共有することができた。

【結論】

バイオバンクの国際規格作成および、国内の実装に向けた和訳等を本研究で実践した。更に普及を促進するため、国内規格化（JIS化）も進めた。同規格の要求水準は高いものの、NCNPを含むNCBNは対応できる可能性が高い。NCNPにおける認定取得の準備を進めつつ、他のNCにも情報共有を行い、バイオバンクの標準化に主導的な役割を果たしていきたい。

【発表文献】

1．ISO 21709:2020/AMD 1:2021, Process and quality requirements for establishment, maintenance and characterization of mammalian cell lines – Amendment 1, ISO, 2021.9

2．ISO/TS 23105:2021, Requirements for the biobanking of plant biological material for research and development, ISO, 2021-10

3．ISO/TS 20388:2021, Requirements for animal biological material, ISO, 2021.12

4．ISO 21899:2020バイオバンクにおける生物材料のプロセシング方法の妥当性確認及び検証に関する一般要求事項（英・日対訳版）、日本規格協会、2021.8月

5．服部功太郎、NCNPバイオバンクにおける脳脊髄液収集と脳神経疾患研究への利活用の実際、実験医学増刊, 39, 1129-34, 2021.4

6．服部功太郎、精神・神経疾患克服を目指したバイオリソースの収集、Clinical Neuroscience, 39, 1239-1242, 2021.10

【学会報告】

なし

【知的所有権の出願・登録状況】

該当なし

精神・神経疾患バイオバンクにおけるゲノム情報の活用に関する研究：知的障害バイオバンクの試料を用いたアレイCGHによる網羅的ゲノム構造解析

分担研究者
国立精神・神経医療研究センター　神経研究所　疾病研究第二部　井上　健
研究協力者
同　中村葉子、後藤雄一
センター病院　小児神経科竹下絵里、中川栄二

【緒言】

平成15年度より国立精神・神経医療研究センター内に、知的障害患者の血液から採取したゲノムDNAおよびこれから樹立したリンパ芽球をレポジトリとして保存していたが、現在これはNCNPバイオバンクとして整備されている。我々はこの知的障害DNA検体を用いたゲノム解析研究を実施してきた。これらの患者検体を用い、診断を目的とした知的障害関連遺伝子の解析を実施し、その結果を主治医にフィードバックすることによって、これらの患者の臨床診断に寄与するとともに、科学的有用性の高いバイオリソースの構築に大きく寄与して来た。本研究では、継続して知的障害の患者の網羅的ゲノム解析としてアレイCGH解析を実施し、得られたゲノム情報と主治医から得られた臨床情報との統合を行い、知的障害のバイオリソースの有用性をさらに高めていく。

【目的】

精神神経疾患の臨床研究を推進させるためには臨床情報と試料をリサーチ・リソースとして保存・管理し、また研究者が利用しやすいように提供するシステムが不可欠である。本邦においてこういった精神神経疾患に関するバイオリソース整備が遅れており、早急な整備が望まれている。バイオリソースの価値は、質の高い臨床情報や遺伝学的情報が付帯することによって高くなる。本研究では、これまでの実績を活かし、さらに知的障害の血液DNA及びリンパ芽球の収集と臨床情報の収集を継続し、これらにアレイCGH解析を用いた網羅的ゲノム解析によるゲノム情報を付帯させた科学的有用性の高いバイオリソースを構築することを目的とする。

【方法】

知的障害を呈する患者試料の収集は、従来通り本センター病院小児神経科を受診した原因不明の知的障害を有する患者をリクルートする形で継続する。患者DNAを用いてアレイCGHを用いた網羅的ゲノム研究を実施し、疾患原因あるいは脆弱性に関連したゲノム構造変異や多型を検出する。アレイCGH解析は、Agilent社のSureprint G3 Human CGHマイクロアレイ8x60Kを使用した。平均プローブ間隔は33.3kbである。ドライ解析にはAgillent社が提供するソフトウェアGenomic Workbenchを用いた。正常および疾患データベースとの照合により、abnormal, possibly abnormal, unclear, normalの4段階に分類した。これらのゲノム情報を臨床情報とともに患者試料に統合したデータベースを作成し、本邦において他に類を見ない質の高いバイオリソースを構築する。

【結果】

これまで継続的に解析されてきた網羅的アレイCGHの解析対象家系は、令和3年末までにNCNPで収集した知的障害671家系のうち、平成22年4月以降に到着した約329家系である。令和3年度は、引き続きCOVID-19感染対策の影響もあり、解析実施数は15家系にとどまった。このうち1家系でchr10q24.32-q25.1に2.1Mbpの欠失を同定した。本症例は男児で、重度の知的障害（DQ42）、大頭、顔貌の異常、VSD、てんかんを認めた。他の1家系ではchr17p11.2-p12に4.5Mbpの欠失を認めた。本欠失はSmith-Magenis症候群および遺伝性圧脆弱性ニューロパチーの2つのゲノム病の欠失領域にまたがるもので、それぞれの疾患責任遺伝子*RAI1*および*PMP22*を含むことが明らかになった。

これまで解析が終了し、結果が明らかとなった329家系の内訳では28家系（9%）において、疾患の原因となるCNVが見出されており、微細ゲノム構造異常は知的障害における主要な原因であることが改めて確認された。

【考察】

知的障害を呈する患者のバイオリソー

スの収集をさらに進めた。令和３年は新たに15家系のアレイCGH解析を実施し、その結果をこれまでの実績に統合した。これらの網羅的ゲノム解析データが付帯したバイオリソースは、全エクソーム解析や全ゲノム解析などのリソースとして、高い科学的有用性を持つものと考えられる。

【結論】

本年度は、解析検体数は15家系のaCGH解析を行った。重度の知的障害、大頭、顔貌の異常、VSD、てんかん1家系においてchr10q24.32-q25.1領域に2.1Mbpの欠失を同定した。また1家系でSmith-Magenis症候群および遺伝性圧脆弱性ニューロパチーの2つのゲノム病の欠失領域にまたがるchr17p11.2-p12領域に4.5Mbpの欠失を認めた。これらの症例は、ともに稀少な欠失例であり、臨床的意義が高い。これらの症例を含むアレイCGH解析データの付加は、知的障害バイオリソースの臨床的価値の向上に寄与したと考えられる。

【参考文献】

1. Abe-Hatano C, Iida A, Kosugi S, Momozawa Y, Terao C, Ishikawa K, Okubo M, Hachiya Y, Nishida H, Nakamura K, Miyata R, Murakami C, Takahashi K, Hoshino K, Sakamoto H, Ohta S, Kubota M, Takeshita E, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kato M, Matsumoto N, Kamatani Y, Kubo M, Takahashi Y, Natsume J, Inoue K, Goto YI. Whole genome sequencing of 45 Japanese patients with intellectual disability. Am J Med Genet A. 2021 May;185(5):1468-1480. doi: 10.1002/ajmg.a.62138. PMID: 33624935.
2. Tabata K, Ishiyama A, Nakamura Y, Sasaki M, Inoue K, Goto YI. A familial 2p14 microdeletion disrupting actin-related protein 2 and Ras-related protein Rab-1A genes with intellectual disability and language impairment. Eur J Med Genet.2022 Mar; 65(3):104446. doi: 10.1016/j.ejmg.2022.104446. PMID:35134569.

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

精神・神経疾患バイオバンクにおけるゲノム情報に関する研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター　メディカル・ゲノムセンター　臨床ゲノム解析部
職名　室長　　氏名　飯田有俊
〒187-8551　東京都小平市小川東町 4-1-1
□　042-341-2712　e-mail: iidaa@ncnp.go.jp

【要旨】

NCNP バイオバンクの規模は質、量とともに世界最大級であり、それは又、我が国に於ける精神・神経筋疾患研究の解析拠点として機能している。本研究では、NCNP メディカル・ゲノムセンター (MGC) で管理される研究試料と臨床情報について in house 解析パイプラインを用いた解析を行ない、疾患原因遺伝子の探索、病因性バリアントと臨床型の関連を明らかにする。

【背景と目的】

精神・神経筋疾患は、臨床的、遺伝学的に異質性が高い希少難病である。そのため、原因の究明や根本的治療法の開発のためには、個々の患者の遺伝的要因を明らかにしなければならない。そこで、本研究では、(1) NCNP バイオバンク試料に於けるゲノム情報の 収集、解析、整理、統合を行い、情報基盤を構築すること (2) 当バイオバンクで管理されている患者由来の生体試料のゲノム情報を解析し、他施設との利活用推進のための整備を行なう。(3) また、疾患ゲノム解析による新規原因遺伝子の単離や新しい疾患概念の確立や変異遺伝子の生物学的特性を解明することを目的とした。

【方法】

1）　本研究では、バイオリソース由来の疾患ゲノムデータについてゲノム情報解析を行い、候補遺伝子（変異）を絞り込む。アノテーションは、当該症例の遺伝形式（遺伝モデル）や解析ツールにより変異を予測し、キュレーションでは、公共多型データベースによる頻度情報、変異予測プログラムによる変異の強度予測、種間の保存性、細胞内シグナル経路などを臨床遺伝学的に解析する。MGC では、既に exome sequencing や whole genome sequencing (WGS)、RNA sequencing、染色体構造異常検出用の解析パイプラインを構築している。今年度は、ロングリード WGS データを用いた解析パイプラインを構築し、実行した。更に日本人一般集団（コントロール）ゲノムについて、1 594 例の fastq ファイルを得ており、ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク、中央バイオバンクとの連携により、解析が可能となった。

一方、ヒトの試料を扱う研究を行う時に遵守すべき様々なガイドライン（新統合指針）に準拠し、倫理面で最大限に配慮している。また、6 NC バイオバンクネットワークの活動に協力し、個人情報保護法の施行に伴う、ゲノム情報やカルテ情報の取り扱いなどは AMED やナショナルセンター全体の倫理面での動きと調和した活動を行なっている。

【結果】

1）46, XX, t(5;9)(q11;q11)の均衡型転座を伴

う知的障害症例についてのゲノム解析

同症例は以前に核型分析により染色体転座が示されていた。そこで、ロングリードWGSを用いたゲノム解析を行なった。先ず、ロングリード用解析パイプラインを構築した。その後、データ解析により5q11、9q11の染色体切断点領域を決定した。詳細は現在解析中である。

2)ロングリードWGSを用いた未診断症例のゲノム解析

近年、精神・神経筋疾患とトリプレットリピートなどのリピート配列の異常伸長の関連が多数報告されている。本研究では神経筋疾患の未診断例に焦点を当て、ロングリード WGS を用いたゲノム解析を行なった。その結果、3 症例に於いて、リピート伸長を示す候補遺伝子を見出した。現在、対照検体を用いてrepeat-primed PCRやフラグメント解析でリピート長を評価している。今後、追加症例を増やすとともにバイオバンクに保存されている日本人一般集団の検体やゲノムデータを解析する。

【結論】

本年度は、特にMGCに於ける新規ゲノム解析システムの構築を重点的に行なった。このシステムにより、バイオバンクのゲノム情報を統合的に解析できる。

【考察】

当センターのバイオバンク利活用推進計画の利用と本研究で展開するゲノム情報解析法によって疾患ゲノム解析の進展が期待できる。

【発表論文】

なし

【学会報告】

1．中川栄二、橋本和彦、馬場新平、竹下絵里、阿部ちひろ、飯田有俊、井上健、後藤雄一、後頭蓋窩くも膜嚢胞を伴い発達性転換性脳症を認めたSMC1A遺伝子変異例、日本人類遺伝学会第66回大会、第28回日本遺伝子診療学会大会合同開催、2021年10月13日～2021年10月16日、横浜市、パシフィコ横浜会議センター

2. 西森佳子、飯田有俊、小笠原真志、大久保真理子、米延友希、木下允、杉江和馬、野口悟、西野一三、常染色体優性遺伝形式を呈する近位型関節拘縮症の新規原因遺伝子TNNI1、日本人類遺伝学会第66回大会、第28回日本遺伝子診療学会大会合同開催、2021年10月13日～2021年10月16日、横浜市、パシフィコ横浜会議センター

3. 小笠原真志、Theerawat Kumutpongpanich、石浦浩之、辻省次、南成祐、林晋一郎、野口悟、飯田有俊、西野一三、LRP12遺伝子のCGGリピート配列の異常伸長を有する眼咽頭遠位型ミオパチーの臨床病理学的特徴、日本人類遺伝学会第66回大会、第28回日本遺伝子診療学会大会合同開催、2021年10月13日～2021年10月16日、横浜市、パシフィコ横浜会議センター

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

精神・神経疾患バイオバンクにおける利活用推進に関する研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター病院　精神リハビリテーション部
職名　部長　　氏名　吉田　寿美子
〒187-8551　東京都小平市小川東町 4-1-1
☎　042-341-2711
e-mail:syoshida@ncnp.go.jp

【要旨】

欧米では小児逆境体験（Adverse Childfood experience ;ACE）が成人後の精神疾患に罹患するリスクを高める事が明らかになって来ている（1)。一方、自閉症スペクトラム症(ASD)の患者はACEを受ける事が多い(2)事も知られ、ASDはうつ病（罹患率が高いと報告(3)されている。

気分障害センターと連携して小児逆境体験（Adverse Childfood experience ;ACE）と自閉的行動特性（SRS)に焦点を当て、うつ病との関連を調べたところ、ACE得点やSRS得点が高い群に抑うつ症状が強い事が分かった。ACE得点高値かつSRS得点高値の一群は特に抑うつ症状が強かった。

【背景と目的】

欧米では小児逆境体験（Adverse Childfood experience ;ACE）が成人後の精神疾患に罹患するリスクを高める事が明らかになっているが、日本での報告は乏しい。

【方法】

気分障害センターと連携し、ACEを幼少期トラウマ質問票（The 6-item Childhood Trauma Questionnaire, CTQ-6）日本語版、ASDを対人応答性尺度（Social Responsiveness Scale; SRS）で、自覚的うつ症状を反映する（うつ病自己評価尺度;Beck Depression Inventory: BDI）を用いてうつ症状を評価した。

【結果】

ACE得点やSRS得点が高い群に抑うつ症状が強く、ACE得点高値かつSRS得点高値の一群は特に抑うつ症状が強かった。

【結論】

ACEやASDは抑うつ症状と強い関連を示す。

【考察】

ACEとASD、特にACE+ASDに共通する生物学的指標を見出す事で解明や新たなうつ病のメカニズム解明や新たな治療薬開発に繋がる可能性がある。

【発表文献】

1. Felitti & Anda, 2010. *Cambridge University Press.*
2. Berg et al, 2016. *Dev Med Child Neurol.*
3. Hurtig et al, 2009. *Autism*

【学会報告】

吉田寿美子：うつ病と糖尿病．第18回日本うつ病学会総会，横浜，20210709

吉田寿美子 相澤美恵子 田島昭吉 横田悠季 石原奈保子 服部功太郎 瀬川和彦 功刀 浩: 75ｇブドウ糖負荷試験が明らかにする精神疾患患者の高い糖代

謝異常率, 第 43 回日本生物学的精神医学会/第 51 回日本神経精神薬理学会合同年会, 京都, 20210714

吉田寿美子 森まどか 高橋祐二：ベッカー型筋ジストロフィーと精神疾患. 第 43 回日本生物学的精神医学会/第 51 回日本神経精神薬理学会合同年会, 京都, 20210715

小川眞太朗, 服部功太郎, 秀瀬真輔, 篠山大明, 太田深秀, 宮川友子, 辰巳めぐみ, 松村亮, 横田 悠季, 吉田寿美子, 野田隆政, 金吉晴, 功刀浩: うつ病患者における脳脊髄液中エタノールアミンの変化：さらなるエビデンスの検証と治療効果検討の試み, 第 43 回日本生物学的精神医学会/第 51 回日本神経精神薬理学会合同年会, 京都, 20210714

【発表論文】

Machiko Otaka, Hiroko Kikuchi-Hayakawa, Jun Ogura, Hiroshi Ishikawa, Yukihito Yomogida, Miho Ota, Shinsuke Hidese, Ikki Ishida, Masanori Aida, Kazunori Matsuda, Mitsuhisa Kawai , Sumiko Yoshida, Hiroshi Kunugi: Effect of Lacticaseibacillus paracasei Strain Shirota on Improvement in Depressive Symptoms, and Its Association with Abundance of Actinobacteria in Gut Microbiota. Microorganisms 2021, 9, 1026, 10 May 2021

Wataru Araki, Kazutomi Kanemaru, Kotaro Hattori, Tadashi Tsukamoto, Yuko Saito, Sumiko Yoshida, Harumasa Takano, Masuhiro Sakata, Yuma Yokoi, Yoshie Omachi, Utako Nagaoka, Masahiro Nagao, Takashi Komori, Hisateru Tachimori, Shigeo Murayama, Hidehiro Mizusawa: Soluble APP-α and APP-β in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for differential diagnosis of mild cognitive impairment. Aging Clinical and Experimental Research (2022) 34:341–347

Wakako Yoshioka, Reiko Shimizu, Yuji Takahashi, Yuriko Oda, Sumiko Yoshida, Nahoko Ishihara, Ichizo Nishino, Harumasa Nakamura, Madoka Mori-Yoshimura: Extra-muscular manifestations in GNE myopathy patients: A nationwide repository questionnaire survey in Japan. Clinical Neurology and Neurosurgery, Volume 212, January 2022, 107057

Ikki Ishida,Jun Ogura,Emiko Aizawa,Miho Ota,Shinsuke Hidese,Yukihito Yomogida,Junko Matsuo,Sumiko Yoshida,Hiroshi Kunugi: Gut permeability and its clinical relevance in schizophrenia.

Neuropsychopharmacology Reports, 25
January 2022

【知的所有権の出願・登録状況】

なし。

精神・神経疾患バイオバンクにおける臨床情報登録システムの研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター
情報管理・解析部・病院 医療情報室
職名　室長　　氏名　波多野賢二
〒187-8551　東京都小平市小川東町 4-1-1
☎042-341-2711 e-mail khatano@ncnp.go.jp

【要旨】
バイオリソースデータベースの臨床情報の充実を目的に、電子カルテシステムと連携し、電子カルテシステムの臨床情報をバイオリソースデータベースにオンラインで送信するシステムを構築した。さらに電子カルテシステムとセンター外部の症例レジストリ・データベースとの情報連携のための環境整備・システム構築を行った。

【背景と目的】
バイオリソースが臨床研究に有効に活用されるためには、患者由来の検体が適切に管理されていることに加え、検体に付随する臨床情報が適切に収集され、研究に活用しやすい形で蓄積・管理されていることが重要である。近年、医療機関では電子カルテ等の情報システムが普及し、電子化された臨床情報がデータベースに保存されるようになり、臨床情報の二次活用の環境が整いつつある。本研究では、センター病院の電子カルテデータと連携したバイオリソースデータベースを構築および、センター内外の症例レジストリ・データベースとの情報連携のための環境整備を目的とする。

【方法】
1) 構造化診療録（テンプレート）からの情報収集基盤開発
病院電子カルテシステムと NCNP バイオバンクの情報連携のさらなる拡充のため、電子カルテ記録やレポートで用いられる構造化診療録（テンプレート）から、効率よく臨床研究に有用な情報を抽出するシステムの開発を行う。
2) SS-MIX2 標準ストレージを活用した多施設電子カルテ統合データベースの構築
全国規模の症例データベースの標準形式である SS-MIX2（厚生労働省電子的診療情報交換推進事業）ストレージを活用し、病院の診療情報システムの臨床情報とセンター内外データベースとの情報連携のシステムを構築する。

【結果】
1) JH（国立高度専門医療研究センター医療研究連携推進本部）の横断研究事業として、構造化診療録データ収集の基盤開発を実施した。NCNP においては、文書管理システムにテンプレートを実装し、入力データを HL7 FHIR 規格に準拠した標準形式で出力するシステムも併せて開発している。
2) 2019 年度より JH の 6NC 研究事業の一環として、NC 病院の電子カルテ情報の統合ストレージが構築され、今年度より本格的なデータ送信を実施している。MCDRS と呼ばれる SS-MIX2 ゲートウエイ経由で、暗号化された診療情報が国際医療研究センターに設置されたセンターサーバーへ電子カルテの臨床データが送信される。これまで

4つのNC（NCGM・NCNP・NCGG・NCVC）から、患者数として60万件余りの臨床データがデータセンターに集積されている。

【考察】

6NC横断研究事業の電子カルテ情報の統合ストレージでは、SS-MIX2標準ストレージのオーダリング情報（病名・処方・検査・アレルギー等）に加え、各施設の電子カルテシステムの構造化診療録（テンプレート情報）を標準形式で拡張ストレージに格納し連携を行う計画である。蓄積されたデータをバイオリソースデータベース等の、すでにNCで構築されているデータベースと連携する構想もあり、今後のさらなるデータ活用が期待される。

【結論】

電子カルテシステムの臨床情報を効率よく活用し、情報連携が可能となるための環境整備・システム構築に取り組んだ。

【参考文献】

1）波多野賢二. 電子カルテ情報を活用したリアルワールドデータ収集. 精神科 40巻2号.p235-241.

【学会報告】

1． 波多野賢二、美代賢吾、三原直樹、平松治彦、野口貴史、渡辺浩、北村真吾、桜井理紗、星本弘之、向井まさみ、田中勝弥. ナショナルセンターにおける電子カルテ情報を活用したリアルワールドデータ収集・提供基盤の構築事業（JASPEHR） 第41回医療情報学連合大会 2021年11月.

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

精神・神経疾患バイオバンクにおけるデータベース構築の研究

分担研究者
所属　国立精神・神経医療研究センター
ＭＧＣ　バイオリソース部
職名　研究員　　氏名　松村　亮
〒187-8551　東京都小平市小川東町 4-1-1
☎　042-341-2712(内線 3658)
e-mail　rmatsumura@ncnp.go.jp

【要旨】

国立精神・神経医療研究センターは診断・治療法の開発基盤となるバイオバンクの構築を進めている。バイオバンク事業の一旦でもある脳脊髄液研究は発生する試料および付随情報を検体管理システムに登録しているが、独自のデータフォーマットであることから 6NC の共通ストレージであるカタログ DB へのデータ提供は困難であった。そのため本年度は、脳脊髄液研究で前向きに発生する試料および付随情報を稼働中のバイオバンクシステムに登録できる機能を構築・実装した。

【背景と目的】

ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク（NCBN）ではバイオリソースの利活用を目的に、カタログ DB という 6NC より収集した情報（問診、病名、試料等）を格納するストレージを用意しており、当センターでも毎月新たな情報について内製したバイオバンクシステムからデータ提供を行っている。一方で、2012 年に脳脊髄液研究のために開発し現在までデータ登録・運用している検体管理システムについては独自のデータフォーマットやその他の要因からカタログ DB へのデータ登録は困難であった。本研究では検体管理システムの独自のデータフォーマットを見直しカタログ DB へのデータ登録を目指す。

【方法】

１）データフォーマット課題調査

カタログ DB へのデータ登録を困難にしている点について調査を実施し、問題を抽出する。

２）ニーズ調査

脳脊髄液研究で前向きに発生する試料および付随情報をバイオバンクシステムに登録するにあたり、バイオバンクシステムに新たに機能を追加する必要がある。必要と思われる機能について医師・看護師・臨床検査技師等に調査を実施する。

３）システム仕様策定・開発・テスト

ニーズ調査をもとに仕様を策定、Claris FileMaker を利用して開発を実施する。

【結果】

１）データフォーマット課題調査を行い、カタログ DB へのデータ登録を困難にしている点について調査を行い、大きく３点が抽出された。①6NC 共通問診票に代わるデータ内容の不備であり、約 1,000 件についてデータ登録が必要であった。②試料の分注情報について、データ保存形式が独自ルール（配列型）のため、提供するためには全件を１レコード１分注情報に改修する必要がある。③病名についてはマスタ化しているがフリーテキスト登録を許容している

ため、標準病名コード（ICD-10、MEDIS 管理番号）を全件にわたって登録する必要がある。

2）脳脊髄液研究で前向きに発生する試料および付随情報をバイオバンクシステムに登録するにあたり、必要と思われる機能についてニーズ調査を試み、大きく３点を抽出した。①通常発生する病棟髄液の分注と研究用髄液の差別化の必要性、②ラックスキャンシステムを活用した分注チューブ管理、③検体管理システムで入力しない項目がある／別画面でも同じ項目があり重複する、等が挙げられた。

3）ニーズ調査をもとに仕様を策定、開発を行った。①通常発生する病棟髄液の分注と研究用髄液の差別化を図るため、視覚的に把握しやすいように同一画面内の左右に登録枠を配置しそれぞれが登録できるようにした。②ラックスキャンシステムを活用した分注チューブ管理については、バイオバンクシステムで運用しているものの分注チューブ自体に唯一性が担保されたバーコードの付与が不可欠である。研究用髄液チューブについては、品質保持の側面からバーコードのないチューブを利用しており、ラックスキャンシステムの活用は困難だった。しかし 2021 年に底面バーコードチップが市販されたこともあり、チューブ⇔ラック⇔フリーザーの双方向管理が可能になった。③検体管理システムで入力しない項目についてはバイオバンクシステムには追加せず、重複項目は同一フィールドとして定義し、どちらの画面で登録しても同内容が表示されるようにした。また色分けして表示することで重複項目（画面間の共通項目）であることをわかりやすくした。

【結論】

バイオバンク事業の一旦である脳脊髄液研究において蓄積された検体管理システムの登録データをカタログ DB に提供することで同 DB を介した情報閲覧が可能となり、ひいてはバイオリソースの利活用推進に資することが期待される。

【考察】

本年度はバイオバンクシステムに脳脊髄液研究で前向きに発生する試料関連情報を登録・管理できる機能を構築・実装した。研究用髄液チューブのバーコード化という機運も重なり、これまで登録困難であった高品質の髄液検体も登録可能となった。試料の取り違い防止という意味でバーコード管理できる点は非常に大きくラックスキャンによる業務効率化も期待できる。またニーズ調査を行い、ユーザ目線を反映して仕様策定したことでヒューマンエラー防止に寄与できるシステムが構築できたと考える。

今回のデータフォーマット課題調査において、カタログ DB へのデータ提供が困難な主要因も特定できたため、次年度に繋げて改修を進めていく。

【発表論文】

なし

【学会報告】

なし

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

精神・神経疾患バイオバンクの倫理に関する研究

分担研究者
所属　東京大学医科学研究所　公共政策研究分野
職名　准教授　　氏名　井上悠輔
〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1
☎　03-6409-2079
e-mail：yinoue@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

【要旨】

無償原則は人の組織・細胞をテーマとした国内外の文書にて頻繁に目にする。しかし、原則と実態との乖離も指摘され、その適用の範囲をめぐって混乱もある。無償要件の有無や内容に一貫性がない点は、研究開発における不安定要因になりうる。ただ、それは無償原則自体の曖昧さに起因している点も多い。日本の状況は、こうした混乱を象徴している。従来の無償原則が明確な方針のないまま研究開発の足かせになっていないか、そもそも社会の懸念に向き合ってこれを体現したものとなっているのか、再確認するべきだろう。

【背景と目的】

ヒト組織に関する無償原則は、同意の取得や提供者の匿名性に並んで、身体から離れた身体部分に関する公的規範の中でも代表的な原則の一つとされる。例えば、フランスの 1994 年人体尊重法、欧州評議会「生命科学と人権条約」（1997, ETS No. 164）および「移植」議定書、「生物医学」議定書では、人体部分は市場価値とは距離を置いて位置付けられるよう、規定されている。その他、人組織や細胞を取り扱う多くの国際的な文書において、この原則には言及がある。

一方、この無償原則は、規範と実態とに大きな乖離が生じていることも指摘されてきた。Nelkin らがアメリカの状況を紹介したように、ヒト組織の商用利用は依然から展開してきた活動である（The Hastings Center Report, 1998；28(5), 30.）。それでもそうした活動は社会に可視化されにくいものであり、偶発的に明るみに出ることで、大きな波紋を呼ぶこともある。

また、原則としての「無償」と、具体的な活動との接続は必ずしも明確でない。日本では、人組織・細胞は、身体から分離された段階で「物」であり、公序良俗に反しない限り、その取り扱いは自由な契約に基づくとされている。ただ、どこまでが「公序良俗」で許される範囲か、その線引きは明確でなく、そもそも議論自体も多くない。また、人試料をめぐる裁判もほとんど提起されたことがないため、判例の蓄積もほぼ皆無である。

【方法】

日本における、医学・医療分野に関連する人体組織・細胞の取り扱いに関わる法律・公的な指針を検索した。デジタル庁による法令データベース（e-Gov Portal）を主とするほか、文部科学省、厚生労働省（厚生省）、経済産業省による公開情報をもとに抽出したものに、著者の検討や有識者の助言も踏

まえて該当しうる文書を追加した。現在の施策との連続性を考慮して、検索の範囲は第二次世界大戦後のものに限定した。研究開発に用いられる組織・細胞の由来は多岐にわたるため、身体から分離される場面については、研究目的に直接提供されるもののみならず、広く解剖や治療目的での組織・細胞の採取に関する検討も含めた。

【結果】

調査の結果、国内において医学・医療における人体組織・細胞の提供に関する文書として、27本の法令・文書を特定した。うち廃止されたものは6件あり、21件の法規・ガイダンスは現在も有効・廃止されていない。これらの法規・ガイダンスは活動の目的に照らして、大きく”解剖・移植”(A)、”製品用原料”(B)、”研究利用”(C)、”幹細胞・株化”(D)の4つに区分される。日本のヒト組織をめぐる規範は、戦後の死体の解剖やその臓器の利用を皮切りにしている。並行して、輸血など、生物由来原料に関する議論も展開してきた。その後、90年代以降は、研究開発を直接の目的とした組織・細胞に関する規範が議論されるようになり、次いで00年代からは再生医療の研究開発とその実践に特化したルールが整備されてきた 。

日本の法律や行政文書において、「無償原則」への言及は1990年代以降に目立つ。特にドナー・研究参加者からの提供の場面に関する文書の過半において、無償原則に言及されている。一方、提供後の流通時の「無償」にはコンセンサスがあるとはいえない。特に再生医療の分野は多様であり、提供時の無償原則を流通の場面にもそのまま適用しているものもあれば、記載がなかったり、加工による付加価値を考慮して、近年になって無償原則の適用を取りやめたりしたものもある。

提供と流通とは、全体として異なる書きぶりの様相を呈している。無償原則による制限の多くは提供者への報酬の制限に関するものである。特に臓器提供については露骨な金銭交渉は禁止されている。血液提供についても同様で、過去に許容されていた時期もあるが、現在は禁止されている。Petrini らが指摘するような両者の切り分け（Ann Ist Super Sanita. 2013;49(4):412-6.）は、一定の理解を持って日本では実践されているようである。

一方、日本では、提供時と流通時の無償原則をつなげて議論する主張もある。例えば、提供が「篤志」によって提供されたものである以上、その流通も営利を伴うべきではない、という主張である。この点は、一般的な国の研究倫理指針でほとんど言及がない一方、献血の二次利用や胚提供（文科省ガイドラインなど）といった、日本の中でも機微な研究において言及されている点にも注目する必要がある。人々の協力や理解を得る際、その後の活動の可能性を限定することは、短期的には人々の不安を軽減させる効果があるかもしれない。しかし、活動の制約が過剰なものであったり、研究開発のサイクルを踏まえたものとなっていな

いと、研究活動が萎縮したり、あるいはルール自体が適切に見直されないと、むしろルール自体の空文化につながりうる。

また、無償提供の場合においても、「無償」の内容に関する理解は一様ではない。例えば、実費の提供を明記して容認している場合もあれば、単に無償提供のみを示しているものもあるなど（同じ文書の中でも両方が併立している場合も含む）、特に研究開発に従事する者には分かりにくいだろう。また、実費の範囲に含まれる費用のリストが長大化する例も見られる（経産省「ヒト（同種）細胞原料供給」ガイダンスの例など）。

【結論】

無償要件の有無や内容に一貫性がない点は、研究開発における不安定要因になりうる。ただ、それは無償原則自体の曖昧さに起因している点も多い。日本の状況は、こうした混乱を象徴している。各国でも従来の無償原則が明確な方針のないまま研究開発の足かせになっていないか再確認するべきだろう。

【考察】

90 年代以降に明記されるようになった無償原則であるが、payment の性質に注目するならば、提供や流通は有償か無償かの二分法では語りきれない。研究開発の実態も考慮した無償原則の運用を考える必要性がある。また、「無償原則」の概念が曖昧なままでは、細胞や組織の流通場面で混乱が生じたり、提供者や社会の受け止め方と実際の活動との間の乖離が深刻化したりする可能性がある。提供や流通時の payment をめぐる議論は、研究者が日常的に出くわすものであり、その内容や射程は研究活動のあり方自体も規定すると言って過言ではない。本稿で試みたアプローチを参考にして、各国の取り組み姿勢の評価が行われるべきであると同時に、細胞研究の特質にあった各国及び国際的な規範の整理が期待される。

【発表論文】

なし

【学会報告】

なし

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

3-7

Integration and standardization of biobank facilities in NCNP and promoting utilization of specimens and information

Yu-ichi Goto
Medical Genome Center/ National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry,
Tokyo

1. Aim of the study

We have established the bioresearch repository for mental and neurological diseases in NCNP since 2014 as NCNP Biobank. We have maintained several repositories such as frozen and myoblast samples of neuromuscular disease, genomic DNA and cerebrospinal-fluid-samples for mental and neurological disease. We have continued to integrate and standardize these NCNP repositories for clinical and research use. We have also been engaged in nation-wide biobank network to promote utilization of banked samples and information.

2. Members of the research group

Principal Investigator:

Yu-ichi Goto	National Institute of Neuroscience & Medical Genome Center, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

Members:

Kotaro Hattori	Medical Genome Center, NCNP
Aritoshi Iida	Medical Genome Center, NCNP
Ken Inoue	National Institute of Neuroscience, NCNP
Sumiko Yoshida	NCNP Hospital
Kenji Hatano	NCNP Hospital
Ryo Matsumura	Medical Genome Center, NCNP
Yusuke Inoue	Tokyo University School of Medicine

3. Results of this study

(1) Expanding and integration of ‘NCNP Biobank’

We have continued the DNA and cerebrospinal fluid (CSF) of patients with mental and neurological disorders. ‘NCNP biobank’ now works together with Muscle Repository and

Brain Bank in NCNP to integrate bank facilities for researchers.

(2) Standardization of biobank activities

We have prepared for International Organization for Standardization (ISO) for biobank system Samples and clinical information in our biobanks have been related to each other for increasing the convenience for research.

(3) Cooperation of NCNP biobank with national-center and nation-wide biobank network

NCNP biobank play a leading role on cooperation of national center biobank network (NCBN) and on activity of collaboration with Tohoku Medical Megabank, Biobank Japan and several academia-based biobanks.

(4) Promotion for utilization of banked samples and information

Use of bank specimens by researchers in academia and pharmaceutical companies is consistently expanding under COVID-19 pandemic status.

4. Future Plan

We continue to refine the integrated management system for biobanks in NCNP. It is important to prepare the materials and the attached information for scientific research, especially genome and radiological data on mental, neurological and muscular diseases.

5. References

1) Abe-Hatano C, Iida A, Kosugi S, Momozawa Y, Terao C, Ishikawa K, Okubo M, Hachiya Y, Nishida H, Nakamura K, Miyata R, Murakami C, Takahashi K, Hoshino K, Sakamoto H, Ohta S, Kubota M, Takeshita E, Ishiyama A, Nakagawa E, Sasaki M, Kato M, Matsumoto N, Kamatani Y, Kubo M, Takahashi Y, Natsume J, Inoue K, Goto YI. Whole genome sequencing of 45 Japanese patients with intellectual disability. Am J Med Genet A. 2021 May;185(5):1468-1480.

2) Tabata K, Ishiyama A, Nakamura Y, Sasaki M, Inoue K, Goto YI. A familial 2p14 microdeletion disrupting actin-related protein 2 and Ras-related protein Rab-1A genes with intellectual disability and language impairment. Eur J Med Genet.2022 Mar; 65(3):104446.

３－８　NCNP ブレインバンクの運営および
ブレインバンク生前登録システムの推進

主任研究者　高尾昌樹

国立精神・神経医療研究センター 病院臨床検査部

総括研究報告書

【研究組織】

主任研究者

高尾昌樹　国立精神・神経医療研究センター病院

分担研究者

鬼頭伸輔　国立精神・神経医療研究センター病院精神診療部

髙橋祐二　国立精神・神経医療研究センター病院・脳神経内科

岩崎真樹　国立精神・神経医療研究センター病院・脳神経外科

佐藤典子　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部

佐々木征行　国立精神･神経医療研究センター病院･小児神経診療部

女屋光基　国立病院機構下総精神医療センター

尾方 克久　国立病院機構東埼玉病院

二村直伸　国立病院機構兵庫中央病院

村田建一郎　国立病院機構関門医療センター

美原 盤　美原記念病院

尾崎紀夫　国立大学法人東海国立大学機構

名古屋大学大学院医学系研究科

渡辺宏久　藤田医科大学医学部脳神経内科学

三村將　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室

研究協力者

臼倉絵美 国立精神・神経医療研究センター病院

若林 僚 国立精神・神経医療研究センター病院

佐野輝典 国立精神・神経医療研究センター病院

水谷真志 国立精神・神経医療研究センター病院

初田裕幸 脳神経内科はつたクリニック

佐藤亮太 山口大学・医学部脳神経内科

大平雅之 国立精神・神経医療研究センター病院・臨床検査部

石原　資　国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経内科

木村唯子　国立精神・神経医療研究センター病院・病院脳神経外科

飯島圭哉　国立精神・神経医療研究センター病院・病院脳神経外科

重本蓉子　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部

齋藤貴志　国立精神・神経医療研究センター病院小児神経診療部

石山昭彦　国立精神・神経医療研究センター病院小児神経診療部

本橋裕子　国立精神・神経医療研究センター病院小児神経診療部

竹下絵里　国立精神・神経医療研究センター病院小児神経診療部

鈴木寿臣　国立病院機構　下総精神医療センター臨床検査科

田村 拓久　国立病院機構東埼玉病院･難治性疾患部門

鈴木 幹也　国立病院機構東埼玉病院･神経内科医長

中山(谷田部) 可奈　国立病院機構東埼玉病院・神経内科

村上てるみ　国立病院機構東埼玉病院・神経･筋･運動器研究

芳賀孝之　国立病院機構東埼玉病院・臨床検査科長

重山俊喜　国立病院機構東埼玉病院・循環器科

生田目禎子　国立病院機構東埼玉病院・神経内科

髙橋由布子　国立病院機構東埼玉病院・神経内科

西田勝也　国立病院機構兵庫中央病院・脳神経内科

見国真樹　国立病院機構関門医療センター・検査科

鈴木祐也　国立病院機構関門医療センター・検査科

平野真未　国立病院機構関門医療センター・検査科

木村宏之　名古屋大学大学院医学系研究科・准教授

森大輔　名古屋大学脳とこころの研究センター

岩本邦弘　名古屋大学大学院医学系研究科 発達老年精神医学

久島周　名古屋大学医学部附属病院 ゲノム医療セ

ンター
木村大樹　名古屋大学大学院医学系研究科精神生物学
有岡祐子　名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター
島さゆり　藤田医科大学医学部脳神経内科学
松本省二　藤田医科大学医学部脳卒中科
金井弥栄　慶應義塾大学医学部病理学教室
女屋光基　下総精神医療研究センター
鈴木寿臣　下総精神医療研究センター
菊地俊暁　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室
久保健一郎　東京慈恵会医科大学解剖学講座
吉永怜史　東京慈恵会医科大学解剖学講座
大角梓　　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室
南紀子　　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室
滝上紘之　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室

【研究目標】

NCNP ブレインバンクは，歴史的にはパーキンソン病を対象疾患として開始され，2008 年の正式登録開始以来，NCNP の継続支援で医学，神経科学，社会へ貢献をしてきた．ヒト神経系組織を用いる科学研究の増加により，バンクへの組織提供依頼は急増している．現在，我々は以下の継続活動と新規活動を掲げ，臨床検査部主体の医師，研究者，技師，コーディネーター，秘書の多職種が半学半教の精神で活動している．

【活動内容】

（継続している活動）

- 生前同意を含めた積極的な病理解剖の推進
- 国際水準の神経病理診断，診断の国際化とデータベース構築
- 日本ブレインバンクネットワークのハブとして活動継続
- ヒト死後脳神経系試料を遅滞なく研究者へ提供し神経科学研究へ貢献

（令和 2 年度以降から継続している新規活動）

①日本にない prion pathology surveillance center の構築（分担施設）

②センター病院各科との共同運営と協力施設(NHO ネットワーク）の拡充．生前同意，精神疾患レジストリ，慶應大学精神神経科ブレインバンクネットワークなどの支援のもと，精神疾患症例の充実，こども病院や患者会などへの協力依頼による小児疾患の充実．

③超百寿研究のための高齢者試料の蓄積

④頭部外傷（TBI)のバンク構築

⑤若手医師の育成

⑥国際化と国際協力．海外からの依頼に応えることのできる体制

⑦基礎研究者への試料提供・支援拡充

⑧倫理面での整備

⑨死後の脳画像と病理研究

⑩保管方法の改革

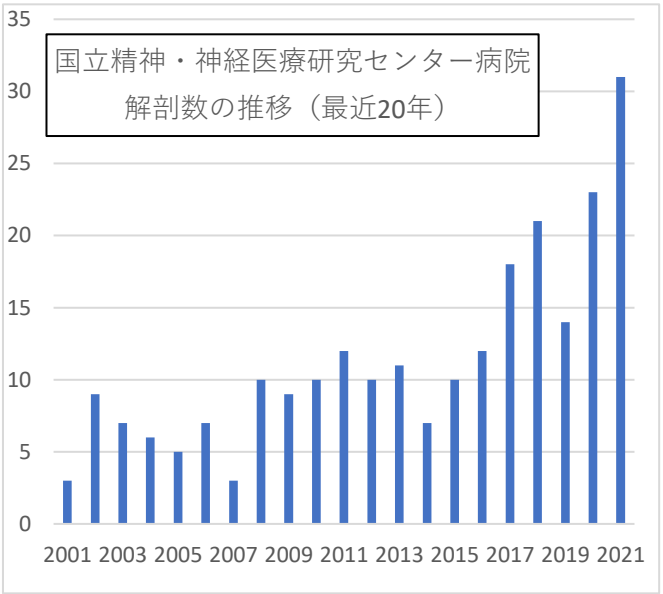
⑪Long-COVID-に関する研究

【研究成果】

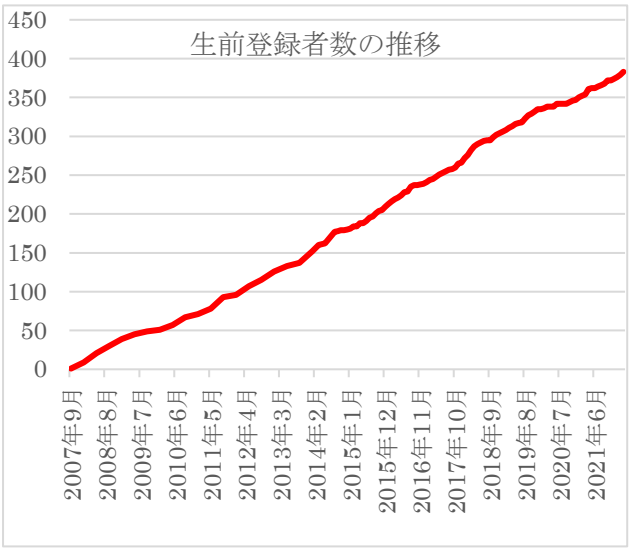
（継続している活動）

- 1 年間の病理解剖・バンク登録数，生前登録数

令和 3 年度，31 例であった．COVID-19 のパンデミック下でも病理解剖を断ることなく継続し，NCNP における過去 30 年で，最高数の解剖を行った．生前登録例の解剖数は 9 例だった．現在までのバンク登録数：248 例（＝バンク同意の整備以降 2008～2021:192 例＋遡り同意取得など 2002～2007：56 例）であった．



生前登録制度の充実もすすみ．令和 3 年度の登録者数 29，撤回数 2 例（2007 年 9 月～2022 年 4 月 1 日までの登録者数：生前登録 383 例．同期間の撤回者数 15 名；転帰を含め追跡困難例 16 名；病理解剖症例数 42 例，病理解剖未施行例数 14 例）．本年度 29 例の登録のうち，精神科疾患が 5 例であった．



- 精神疾患のブレインバンクの充実

  昨年度までのバンク登録としては 2 例で，本年度は 12 例の解剖，バンク登録を行うことができ，大幅に増加した．NCNP 入院中の例（COVID-19 感染症での入院）4 例，外来例（青梅慶友病院で永眠）が 1 例あった．分担研究者の慶應義塾大学精神科の関連病院が 6 例（駒木野病院 5 例，木野崎病院 1 例），当院精神科入院例は 4 例，外来例が 1 例あった．JBBN の協力施設である都立松沢病院から 1 例の依頼があった．さらに，登録開始前に 129 の解剖例がある（パラフィンはブロック 53 例，凍結 12 例残存）．これらのバンク登録を行う．今後，精神疾患に関して，精神科単科病院との連携を増やすことを目指す．

- 日本ブレインバンクネットワーク（JBBN）との連携継続

  NCNP バンクへ生前に登録され，病理解剖が NCNP で施行不可能な場合がある．そのような 3 例の解剖が施行（刀根山病院，東京都健康長寿医療センター，新潟大学）され，本人・ご遺族の希望に応えることができた．今後も JBBN との連携を継続し，JBBN の施設 12 施設での解剖も可能なものとする．

- 研究者への組織提供，臨床への還元，研究・教育への活用，日本の医療の発展に貢献

  研究者へ組織提供は 23 件，NCNP 内では 12 件を行った．分担施設も含め，多くの成果が得られた（研究成果刊行一覧参照）

  院内カンファレンス；令和 2 年度当初は COVID19 の影響で中止したが，Web 体制を整えてから再開し新たな CPC 形式として定着した．院内に限定することで，個人情報保護にも留意をした．令和 3 年度，臨床病理カンファレンス（CPC）；11 回，てんかん病理 CPC；11 回を開催．

  市民公開講座：令和 2 年度から，ブレインバンク担当のスタッフ自らの企画と，地域との繋がりを目指した，双方向の公開講座へ変更した．本年度も令和 2 年度と同様，コロナ禍のため完全動画として you tube で公開を行った（下記にパンプレット）．今後の 1 つの在り方として継続したい．

（新規活動）

・Prion pathology surveillance center の構築

プリオン病ブレインバンクで多くの症例を有する美原記念病院と連携開始，さらに各地域に過去 10 年かけて構築してきた病理解剖拠点を拡充できた．NCNP から出張解剖も行い，多くの地域をカバーしている．協力施設からのご遺体搬送等による解剖も加わった．Referral center としての役割も含め，プリオン病疑い症例の診断も対応している．

2021 年度はプリオン病サーベイランス委員会に登録されていたプリオン病 5 例の解剖を当院で行った．すべて院外からの搬送剖検（新松戸中央総合病院，

都立松沢病院，川崎市立川崎病院，横浜みなと赤十字病院, 焼津市立病院）である．関東におけるプリオン病センターとしての役割を担っている．令和 2 年度から外部施設からの依頼，出張解剖を確立した結果である．また，連携を開始した美原記念病院バンクで 3 例の解剖・登録があり，合計 8 例のプリオン病剖検が当方で施行されたことになる．

さらに杏林大学で，プリオン病のブレインカッティングを行い，感染対策による解剖手技を共有し，解剖可能施設の拡充と症例増加に繋がった．

・ 関係施設の拡充

令和 3 年度までに，分担研究者以外にも，全国で 6 の施設（函館中央病院, 静岡赤十字病院, 柳井医療センター, 肥前精神医療センター, 静岡医療センター）と出張解剖による病理解剖・バンク協力頂ける関係を構築している．令和 3 年度に，琉球大学，杏林大学での病理解剖を行った．我々が出向いて協同で病理解剖を行い，ブレインバンクの意義を理解して頂けた．また，令和 4 年度から，さいがた医療センターが新たに研究分担者に加わることになり，多くのバンク登録症例の活用へ結びつくものである．

・ センター病院各科との共同運営（剖検に関して）

院内各科の診療を経た例の剖検は 15 例あった．

精神科 : 入院中 4 例の解剖を得た．すべて COVID-19 感染症の院外からの転院症例である．原疾患は統合失調症 2 例，認知症 2 例である．さらに精神科外来通院歴のある 1 例が他院からの搬送剖検になった．

脳神経内科 : 6 例の解剖をえた．院内例が 3 例，院外例が 3 例であり，ブレインバンクシステムを利用した搬送剖検が多い．

小児科 : 3 例の解剖を行った．全例院内死亡例であった．

脳外科：当院脳外科でＮＰＨ手術した症例 1 例が療養施設から解剖になった例を得た．

・ 超百寿者のブレインバンク

110 歳以上の脳という super normal の状態を研究し，真の健康長寿を解明することを目指す，慶應義塾大学百寿総合研究センターとの共同研究で, 110 歳以上の病理解剖連携体制を開始しており，現在までに 20 例をこえる 110 歳以上の脳を分担施設の美原記念病院と慶應大学病院に集積している．

・ 若手医師の育成

解剖では，開頭，脊髄や網膜摘出は医師が独立して施行できる必要がある．令和 3 年度は, 1 名が死体解剖資格を取得し，出張解剖を 1 例行った．

・ 国際水準の神経病理診断，診断の国際化とデータベース構築

診断精度の向上と国際化のため，神経変性疾患に関連する蓄積蛋白質の脳内の拡がりを示すステージに関し，National Alzheimer's Coordinating Center (NACC) の方法を追加導入した．海外との比較や協同研究を容易にする．ネットワークカンファレンス等による診断レベルの向上を継続した．さらに，Indiana Alzheimer Disease Research Center の神経病理コアと 20 年にわたり，協力体制を継続しており，プリオン病，アルツハイマー病などを中心に，協力体制を継続できた．とくに，日本にはない，遺伝性疾患に関して共同研究を継続し，ブレインバンクの在り方の議論を深めた．

・ 倫理面における配慮の状況

主任・分担研究者は各施設での倫理委員会承認のもと適切な運営を施行した．病理解剖は死体解剖保存法を遵守した．法的実務面に関して，令和 2 年度から支援いただいていた医師かつ弁護士が本年度から当センターへ赴任しバンク業務に法的観点から関与開始した．死体検案後の病理解剖，異状死の判断などを含め適切な対応が可能となった．主任が髙尾に変更後，倫理委員会の指導のもと，病理解剖同意とブレインバンク同意書式を分離，説明同意文書をより理解しやすいものへ変更し承認され，本年度は，生前同意の説明文書を修正し倫理委員会で審議中である．

・死後の脳画像と病理研究

・ センター病院放射線科において，生前脳と剖検脳における MRI 画像の対比の研究を開始しており，症例数は，令和 3 年度に 6 例追加され，2022 年 5 月現在，8 例の症例蓄積がある．アーカイブ試料のバンクへの登録

2001 年以前の解剖例で，凍結脳 129 例，パラフィンブロック脳 513 例がバンクとして登録されていない．散逸したと考慮される症例もある．これら既存症例のバンク登録を速やかに進め，NCNP の貴重な財産を適切に保管，研究使用の体制を目指している．

・Long-COVID の研究

令和 3 年度の途中から開始をした研究である．Long-COVID は, 臨床的, 社会的にも重要なテーマであり，ブレインバンク，及び研究代表者が担当する総合内科を中心に，臨床研究を開始した．研究分担者として, 名古屋大学精神科, 藤田大学医学部脳神経内科，慶應義塾大学精神神経科を分担者に加えて開始したところである．特に臨床症候の解析，リスク因子の解析を協力して開始した．また，脳病態の解明のために急性期，亜急性期の COVID-19 の病理解剖，バンク登録も行うことができた．

【各分担研究者の成果】

鬼頭伸輔（国立精神・神経医療研究センター病院精神科）: 当院精神科に通院中の患者のブレインバンク生前登録希望者は，昨年同時期の 5 名から今年度は 122 名と大幅に増加した．症状が不安定である又は身寄りのない方をいた 88 例についてはブレインバンク医師 (水谷)が実際に面接を行い，5 名が実際に生前登録に至った．残りは保留になったが，多くの理由は「遠方の家族に説明をしなければならない」「解剖同意者たる家族がまだ若年である」というもので，将来的に生前登録につながる可能性が高い．今年度ブレインバンクに登録した精神疾患 12 例の内 1 例が生前登録から解剖に至ったものであった．また，他院通院中の患者 19 名に対し，福島県立医大のブレインバンクを案内した．

高橋祐二（国立精神・神経医療研究センター病院脳神経内科）: 本年度の脳神経内科の剖検実施は 6 例であった．これらの剖検例のうち 3 例は生前同意取得者であった．脳神経内科の上級専門修練医 1 名が 3 ヶ月間の検査部病理ローテートを実施した．

佐藤典子（国立精神・神経医療研究センター病院放射線科）: 生前脳と剖検脳における MRI 画像の対比の研究において，令和 3 年度は 6 症例追加し，2022 年 5 月現在，8 例の症例蓄積がある．生前の MRI 画像で萎縮が顕著な例においても剖検後の画像では萎縮が軽度な例を複数経験し，生前脳と剖検脳の萎縮に乖離があることが示唆された．

岩崎真樹（国立精神・神経医療研究センター病院脳神経外科）: 脳神経外科手術データベースを構築，ブレインバンク登録に向けた環境整備を進めた．2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日まで総手術件数は 103 件あり，高齢者への手術は 34 件あった．手術データベースとは別に，疾患別の臨床データベースを構築しており，2019 年 5 月から現在までに，パーキンソン病が 52 件，その他の不随意運動症が 5 件，トゥレット症候群が 18 件，正常圧水頭症が 14 件登録されている．

佐々木征行（国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科）: この 1 年で 3 例の病理解剖を実施した．2020 年度に病理解剖を行った小児交互性片麻痺（AHC）症例について学会報告した．

二村直伸（兵庫中央病院）: 1 例の病理解剖にとどまった．70 歳代女性の遺伝性のクロイツフェルト・ヤコブ病（V180I）症例の剖検 1 例を施行した．1 例院外から病理解剖の依頼があったが, COVID-PCR 検査不能で当院で解剖できなかった．

村田健一郎（関門医療センター）: 令和 3 年度から共同研究者が変更となり，本年度は登録症例の剖検はなし．昨年度までに剖検したスーパーセンチナリアンの 5 例について「脳血管」だけに動脈硬化の少な

い原因や，胃 GIST の発症が多い原因等検討している．

女屋光基（下総精神医療センター）：1 例の病理解剖を施行，生前診断アルツハイマー型認知症．

尾方克久（東埼玉病院）：コロナ禍のため，2021 年度に当院では神経筋疾患患者の剖検がなかった．筋生検は 1 件行われ，骨格筋を凍結保存するとともに，筋病理診断を目的に国立精神・神経医療研究センターへ送付した．

美原盤（美原記念病院）: 2021 年度は 7 件の解剖を行いプリオン病の解剖は 3 件でありいずれも外部施設からの依頼解剖であった．神経難病症例はパーキンソン病の 3 件を行いその他の症例は 1 件であった．当施設で死亡解剖を行った症例は生前同意を得ていた症例である．

尾崎紀夫（名古屋大学）： COVID-19 罹患後に精神神経症状を呈した患者の外来，入院精査・治療，院内他科コンサルテーション対応を実施し，COVID-19 の呼吸器症状が改善後に，１）脳波徐波化で確認される意識障害を伴う精神運動興奮状態を呈し，長期にわたり，ふらつきや集中力低下が持続し，就労困難となった症例，２）原因不明の意欲低下が持続している睡眠時無呼吸症候群を併存する重度の肥満患者，を経験した．特に，１）の症例では，徐波成分の減少で確認される意識障害改善時における，髄液/血清中の IL-8 と FGF-2 といったサイトカインが意識障害時と比べて減少したことが示され，論文発表した．

渡辺宏久（藤田医科大学医学部脳神経内科学）： 2020 年 2 月から 2021 年 5 月までの 17 カ月間に COVID-19 感染の治療のために当院に入院した 450 名を後方視的に検討した．6 例（1.33%）に院内急性脳梗塞を発症した（4 例は虚血性脳梗塞，2 例は出血性脳梗塞）．この 6 名のうち，4 名は抗凝固療法中に脳梗塞を発症した．COVID-19 感染では，脳血管障害のリスクが上がり，後遺症，遷延症状の原因となる．

三村將（慶應義塾大学医学部精神神経科学教室）

令和 3 年度から，慶應義塾大学医学部精神神経科学教室の関連精神科病院より 7 例，NCNP への搬送並びに解剖が実施された．そのうち，3 例が入院中に COVID-PCR 陽性でかつ観察期間が終了した方であった．

【研究成果刊行一覧】

（主任研究者）高尾昌樹

1. Uchida Y, Takeuchi H, Goto R, Braun C, Fuchs H, Ishiguro N, Takao M, Tano M, Terasaki T. A human blood-arachnoid barrier atlas of transporters, receptors, enzymes, and tight junction and marker proteins: Comparison with dog and pig in absolute abundance. J Neurochem. 2022 Apr;161(2):187-208. doi: 10.1111/jnc.15599. Epub 2022 Mar 17.
2. Schweighauser M, Arseni D, Bacioglu M, Huang M, Lövestam S, Shi Y, Yang Y, Zhang W, Kotecha A, Garringer HJ, Vidal R, Hallinan GI, Newell KL, Tarutani A, Murayama S, Miyazaki M, Saito Y, Yoshida M, Hasegawa K, Lashley T, Revesz T, Kovacs GG, van Swieten J, Takao M, Hasegawa M, Ghetti B, Spillantini MG, Ryskeldi-Falcon B, Murzin AG, Goedert M, Scheres SHW. Age-dependent formation of TMEM106B amyloid filaments in human brains. Nature. 2022 Mar 28. doi: 10.1038/s41586-022-04650-z.
3. Ogasawara M, Eura N, Nagaoka U, Sato T, Arahata H, Hayashi T, Okamoto T, Takahashi Y, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Nakamura A, Shimazaki R, Sano T, Kumutpongpanich T, Minami N, Hayashi S, Noguchi S, Iida A, Takao M, Nishino I. Intranuclear inclusions in skin biopsies are not limited to neuronal intranuclear inclusion disease but can also be seen in oculopharyngodistal myopathy. Neuropathol Appl Neurobiol. 2022 Apr;48(3):e12787. doi: 10.1111/nan.12787.
4. Sato R, Ohmori K, Umetsu M, Takao M, Tano M,

Grant G, Porter B, Bet A, Terasaki T, Uchida Y. An Atlas of the Quantitative Protein Expression of Anti-Epileptic-Drug Transporters, Metabolizing Enzymes and Tight Junctions at the Blood-Brain Barrier in Epileptic Patients. Pharmaceutics 2021, 13(12), 2122; ttps://doi.org/10.3390/pharmaceutics13122122

5. Kato Y, Hayashi T, Kato R, Uchino A, Takao M, Takahashi S. Status of Acute Stroke Practice in Patients with a Cardiac Implantable Electronic Device. Acta Med Okayama. 2021 Dec;75(6):691-697. doi: 10.18926/AMO/62808.
6. Mizutani M, Sone D, Sano T, Kimura Y, Maikusa N, Shigemoto Y, Goto Y, Takao M, Iwasaki M, Matsuda H, Sato N, Saito Y. Histopathological validation and clinical correlates of hippocampal subfield volumetry based on T2-weighted MRI in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. Epilepsy Res. 2021 Nov;177:106759.doi:10.1016/j.eplepsyres.2021.106759.
7. Kadowaki M, Tenjin H, Tokuyama T, Kawakatsu T, Kida S, Makita I, Sakamoto S, Takao M, Kasahara M, Saito O, Kurozumi K. istopathological Composition of Thrombus in Acute Ischemic Stroke May Vary Even Within the Same Patient: A Preliminary Study Examining Clots According to Their Area of Retrieval Journal of Neuroendovascular Therapy Advance publication] Released: April 24, 2021
8. Dong TT, Akagi A, Nonaka T, Nakagaki T, Mihara B, Takao M, Iwasaki Y, Nishida N, Satoh K. Formalin RT-QuIC assay detects prion-seeding activity in formalin-fixed brain samples from sporadic Creutzfeldt–Jakob disease patients Neurobiol Dis. 2021 Nov;159:105504. doi: 10.1016/j.nbd.2021.105504.
9. Ito M, Muramatsu R, Kato Y, Sharma B, Uyeda A, Tanabe S, Fujimura H, Kidoya H, Takakura N, Kawahara Y, Takao M, Mochizuki H, Fukamizu A, Yamashita T. Age-dependent decline in remyelination capacity is mediated by apelin–APJ signaling. Nature Aging volume 1, pages284–294 (2021)
10. Mizutani M, Yokosako S, Kimura Y, Hayashi T, Kimura Y, Sano T, Sato N, Saito T, Iwasaki M, Takao M. Two Patients with Temporal Lobe Sclerosis and a History of Febrile Seizure in Early Childhood, 97th American Association of Neuropathologists, St Lois, 2021.6.10-13
11. Mizutani M, Sone D, Sano T, Kimura Y, Maikusa N, Takao M, Iwasaki M, Matsuda H, Sato N, Saito Y. Histopathological validation and clinical correlates of hippocampal subfield volumetry based on T2-weighted MRI in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. 13th Asian & Oceanian Epilepsy Congress, Virtual Congress, 2021.6.10-13
12. Sano T, Takizawa H, Saitoh Y, Matsui K, Mizutani M, Shigemoto Y, Sato N, Sato K, Kitamoto T, Takahashi Y, Takao M. MM2 thalamic form of Creutzfeldt-Jakob disease with the PRNP M232R mutation. American Association of Neuropathologists, 97th Annual meeting (St Lois, 2021.6.10-13)
13. Sugiyama A, Takeda T, Koide M, Yokota H, Mukai H, Kitayama Y, Shibuya K, Araki N, Ishikawa A, Isose S, Ito K, Honda K, Yamanaka Y, Sano T, Saito Y, Arai K, Kuwabara S. Coexistence of neuronal intranuclear inclusion disease and amyotrophic lateral sclerosis: an autopsy case. BMC Neurol. 2021 Jul 9;21(1):273.
14. Oda S, Sano T, Nishikawa N, Mikasa M, Takahashi Y, Takao M. Amyotrophic lateral sclerosis with muscle weakness and dropped head during the course of Parkinson's disease: an autopsy case. Rinsho Shinkeigaku. 2021 Jun 29;61(6):373-377.
15. Mizutani M, Nakayama Y, Saitoh Y, Ariga H, Enokida T, Ishihara T, Sano T, Hirata Y, Katano H,

Suzuki T, Takao M. Pathologic and Neuropathologic Study of a Case of COVID-19.MA J. 2022 Jan 17;5(1):157-160.

16. Fujiwara Y, Kabuta C, Sano T, Murayama S, Saito Y, Kabuta T. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients. Neurochem Int. 2022 Jan;152:105243.
17. 高尾昌樹.【COVID-19 がメンタルヘルスに与える影響】COVID-19 による中枢神経系への影響. 臨床精神薬理(1343-3474)24 巻 10 号 Page989-994(2021.10)
18. 高尾昌樹【芸術家と神経学】エゴン・シーレとジストニア. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩(1881-6096)73 巻 12 号 Page1341-1345(2021.12)
19. 小田真司, 高尾昌樹.【中枢神経・末梢神経の悪性リンパ腫】血管内大細胞型 B 細胞リンパ腫(IVLBCL). BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩(1881-6096)73 巻 10 号 Page1087-1097(2021.10)
20. 高尾昌樹.【中枢神経・末梢神経の悪性リンパ腫】がん診療における脳神経内科医の役割. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩(1881-6096)73 巻 10 号 Page1075-1078(2021.10)
21. 高尾 昌樹. エイジング・サイエンスと脳 加齢脳の神経病理学. 老年精神医学雑誌(0915-6305)32 巻 12 号 Page1319-1323(2021.12)
22. 佐野 輝典, 高尾 昌樹. 超高齢者の脳病理. 老年内科 3：766-775,2021
23. 高尾昌樹. 神経病理・ブレインバンク. CLINICAL NEUROSCIENCE 39:1243-1246, 2021
24. 重本蓉子, 髙尾昌樹, 佐藤典子. 画像診断道場・実はこうだった. 日本医事新報 2021:5065;1-2
25. 髙尾昌樹. あらためておさえたい！「軽度認知機能障害（MCI）」の知識. Expert NURSE 2021:37;114-118.
26. 安部鉄也, 白吉孝匡, 高尾昌樹. リウマチ性髄膜炎. Brain and Nerve 2021:73; 537-543.
27. 小田真司, 高尾昌樹. Ramsay Hunt 症候群, Bell 麻痺, Crocodile tears 症候群. Clinical Neurosci 2021; 39: 636-637
28. 高尾昌樹. 特集 脳表ヘモジデリン沈着症. 特集にあたって. 神経治療学 38(2): 79,2021
29. 高尾昌樹. 特集 脳表ヘモジデリン沈着症. 脳表ヘモジデリン沈着症のオーバビュー. 神経治療学 38(2): 80-82,2021
30. 髙尾昌樹. 認知症の基礎と病理. 第 40 回日本認知症学会学術集会. 専門医試験対策講座テキスト. p3-18, 2021/11/26
31. 佐野輝典, 髙尾昌樹. NBIA, 脳表ヘモジデリン沈着症. 脳神経内科診断ハンドブック. 下畑編, 中外医学社, 東京, pp300－308, 2021（10 月）

（分担研究者）髙橋祐二

1. Wakasugi N, Togo H, Mukai Y, Nishikawa N, Sakamoto T, Murata M, Takahashi Y, Matsuda H, Hanakawa T. Prefrontal network dysfunctions in rapid eye movement sleep behavior disorder. Parkinsonism Relat Disord. 2021;85:72-7.
2. Saitoh Y, Imabayashi E, Mukai T, Matsuda H, Takahashi Y. Visualization of Motor Cortex Involvement by 18F-THK5351 PET Potentially Strengthens Diagnosis of Amyotrophic Lateral Sclerosis. Clin Nucl Med. 2021;46(3):243-5.
3. Oda S, Sano T, Nishikawa N, Mikasa M, Takahashi Y, Takao M. [Amyotrophic lateral sclerosis with muscle weakness and dropped head during the course of Parkinson's disease: an autopsy case]. Rinsho Shinkeigaku. 2021;61(6):373-7.
4. Iwata R, Inagawa T, Noda T, Takahashi Y, Kito S. Spinocerebellar ataxia type 6 presenting with hallucination. Psychogeriatrics. 2021;21(3):446.
5. Fukuda H, Yamaguchi D, Nyquist K, Yabuki Y, Miyatake S, Uchiyama Y, Hamanaka K, Saida K,

Koshimizu E, Tsuchida N, Fujita A, Mitsuhashi S, Ohbo K, Satake Y, Sone J, Doi H, Morihara K, Okamoto T, Takahashi Y, Wenger AM, Shioda N, Tanaka F, Matsumoto N, Mizuguchi T. Father-to-offspring transmission of extremely long NOTCH2NLC repeat expansions with contractions: genetic and epigenetic profiling with long-read sequencing. Clin Epigenetics. 2021;13(1):204.

6. 高橋祐二,水澤英洋：VIII-8 脊髄小脳変性症・多系統萎縮症．診療ガイドライン UP-TO-DATE.メディカルレビュー社，東京，2022.2.28, p575-579(全 1065 頁).
7. 高橋祐二,水澤英洋：15.脊髄小脳変性症．今日の治療指針 2022.医学書院，東京，2022.1.1, p986-987(全 2151 頁).
8. 高橋祐二 : F-2 家族性筋萎縮性側索硬化症．脳神経内科診断ハンドブック.中外医学社，東京，2022.1.5, p191-196(全 603 頁).
9. 高橋祐二 : 23 脊髄小脳変性症．脳神経内科学レビュー2022-23.総合医学社, 東京, 2022.3.25, p140-147(全 433 頁).
10. 山川徹, 山本敏之, 髙橋祐二： 多系統萎縮症患者に代替栄養法を導入する決定因子の検討．第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021.5.21
11. 上田洲裕, 内上寛一, 松川敬志, 久保田暁, 石浦浩之, 三井純, 高橋祐二, 後藤順, 辻省次, 戸田達史：両側対立遺伝子で huntingtin の CAG repeat 異常伸長を認めた Huntington 病の臨床的検討．第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021.5.19-5.22
12. 小田真司, 齊藤勇二, 石原資, 武井淳子, 渡邉荘子, 向井洋平, 髙橋祐二：ピロリ菌感染がパーキンソン病患者の L-DOPA 薬物動態に与える影響．第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021.5.20
13. 大岩宏子, 齊藤勇二, 髙橋祐二： 神経筋疾患患者の体組成測定における BIA 法の有用性に関する検証．第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021.5.19
14. Okamoto T, Ishihara T, Miyazaki M, Saida K, Saitoh Y, Yamamoto T, Tsukamoto T, Saito Y, Sato N, Matsumoto N, Takahashi Y. : Clinical diversity of patients with neuronal intranuclear inclusion disease （2nd report）第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021.5.19-5.22

（分担研究者）岩崎真樹

1. Iwasaki M, Iijima K, Takayama Y, Kawashima T, Tachimori H, Kimura Y, Yokosako S, Kosugi K, Kaneko Y. Predictors of Seizure Outcome after Repeat Pediatric Epilepsy Surgery: Reasons for Failure, Sex, Electrophysiology, and Temporal Lobe Surgery. Neurol Med Chir (Tokyo). 2022; 62(3): 125-132.
2. Wada K, Sonoda M, Firestone E, Sakakura K, Kuroda N, Takayama Y, Iijima K, Iwasaki M, Mihara T, Goto T, Asano E, Miyazaki T. Sevoflurane-based enhancement of phase-amplitude coupling and localization of the epileptogenic zone. Clin Neurophysiol. 2022 Feb;134:1-8. doi: 10.1016/j.clinph.2021.11.004.
3. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: surgical and developmental outcomes. J Neurosurg Pediatr. 2021 Aug 13;28(4):395-403. doi: 10.3171/2021.4.PEDS21123.
4. Yokosako S, Muraoka N, Watanabe S, Kosugi K, Takayama Y, Iijima K, Kimura Y, Kaneko Y, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Iwasaki M. Corpus callosotomy in pediatric patients with non-lesional epileptic encephalopathy with electrical status epilepticus during sleep. Epilepsy Behav Rep. 2021 Jun 8;16:100463. doi: 10.1016/j.ebr.2021.100463.

5. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: surgical and developmental outcomes. International Society of Pediatric Neurosurgery (ISPN) 2021 Virtual Meeting. Nov 5, 2021 (Web)
6. Iwasaki M, Iijima K, Kawashima T, Tachimori H, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Ikegaya N, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Takahashi A, Sugai K, Otsuki T. Epilepsy surgery in children under 3 years of age: factors contributing to postoperative development. 13th Asian & Oceanian Epilepsy Congress. Jun 11, 2021 (Virtual, Japan)
7. 岩崎真樹, 飯島圭哉, 高山裕太郎, 木村唯子, 金子裕. 神経内科医に知ってほしいてんかん外科治療. 神経治療学 38(4): 564-568, 2021
8. 岩崎真樹、飯島圭哉、高山祐太郎、木村唯子、金子裕、住友典子、齋藤貴志、中川栄二、佐々木征之. 小児てんかんの外科治療. 脳と発達 54(1):5-10, 2022
9. 岩崎真樹、飯島圭哉、高山裕太郎、木村唯子、金子裕. 脳神経外科医として知っておきたいてんかん診療の知見. 脳神経外科ジャーナル 30:845-851, 2021
10. 岩崎真樹、飯島圭哉、高山祐太郎、木村唯子、金子裕. てんかんの外科治療. 小児内科 53(10):1600-1605, 2021
11. 岩崎真樹、飯島圭哉、高山裕太郎、川島貴大、立森久照、木村唯子、小杉健三、吉富宗健、金子裕. 小児てんかん外科再手術後の発作転帰には性差がある. 第 45 回日本てんかん外科学会（大阪・Web） 2022 年 1 月 27 日
12. 飯島圭哉, 佐藤典子, 宮田元, 鈴木博義, 後藤雄一, 木村有喜男, 村山久美子, 小杉健三, 高山裕太郎, 木村唯子, 吉富宗健, 金子裕, 岩崎真樹. 低悪性度てんかん原性腫瘍の遺伝子型：画像所見と病理組織学的表現型との関連. 日本脳神経外科学会第 80 回学術総会（横浜・Web） 2021 年 10 月 27 日

（分担研究者）佐藤典子

1. Mizutani M, Sone D, Sano T, Kimura Y, Maikusa N, Shigemoto Y, Goto Y, Takao M, Iwasaki M, Matsuda H, Sato N, Saito Y. Histopathological validation and clinical correlates of hippocampal subfield volumetry based on T2-weighted MRI in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis. Epilepsy Res. 2021.11;177:106759:doi: 10.1016/j.eplepsyres.2021.106759.
2. Suzuki F, Sato N, Sugiyama A, Iijima K, Shigemoto Y, Morimoto E, Kimura Y, Fujii H, Takahashi Y, Nakata Y, Matsuda H, Abe O. Chorea-acanthocytosis: Time-dependent changes of symptoms and imaging findings. J Neuroradiol.2021.11;48(6):419-424:doi:10.1016/j.neurad.2019.11.006.
3. Mizutani M, Sone D, Sano T, Kimura Y, Maikusa N, Takao M, Iwasaki M, Matsuda H, Sato N, Saito Y Histopathological validation and clinical correlates of hippocampal subfield volumetry based on T2-weighted MRI in temporal lobe epilepsy with hippocampal sclerosis.13th Asian and Oceanian Epilepsy Congress (AOEC).Virtual Congress;2021.06.10-2021.06.13.
4. Mizutani M, Yokosako S, Kimura Y, Hayashi T, Kimura Y, Sano T, Sato N, Sasaki M, Iwasaki M, Takao M. Two Cases of Temporal Lobe Sclerosis with history of seizure.97th Annual Meeting is organized by the American Association of Neuropathologists.Saint Louis, USA;2021.06.10-2021.06.13.
5. Sano T, Takizawa H, Saitoh Y, Matsui K, Mizutani M, Shigemoto Y, Sato N, Sato K, Kitamoto T, Takahashi

Y, Takao M　MM2 thalamic form of Creutzfeldt-Jakob disease with the PRNP M232R mutation.97th Annual Meeting is organized by the American Association of Neuropathologists.Saint Louis, USA;2021.06.10-2021.06.13.

（分担研究者）佐々木征行

1. 河野 修, 本橋 裕子, 井上 絢香, 住友 典子, 竹下 絵里, 石山 昭彦, 齋藤 貴志, 小牧 宏文, 中川 栄二, 水谷 真志, 佐野 輝典, 高尾 昌樹, 佐々木 征行．病理解剖例を含む小児交互性片麻痺の長期経過追跡．Long-term follow up of alternating hemiplegia of childhood: case series including an autopsy case. 第 63 回日本小児神経学会学術集会. WEB 開催．5.28,2021.

（分担研究者）女屋光基

1. Tagai K, Ono M, Kubota M, Kitamura S, Takahata K, Seki C, Takado Y, Shinotoh H, Sano Y, Yamamoto Y, Matsuoka K, Takuwa H, Shimojo M, Takahashi M, Kawamura K, Kikuchi T, Okada M, Akiyama H, Suzuki H, Onaya M, et al. High-Contrast In Vivo Imaging of Tau Pathologies in Alzheimer's and Non-Alzheimer's Disease Tauopathies: DOI: 10.1016/j.neuron.2020.09.042
2. Watanabe R, Kawakami I, Ikeuchi T, Murayama S, Arai T, Akiyama H, Onaya M, et al. An autopsied FTDP-17 case with MAPT IVS 10 + 14C > T mutation presenting with frontotemporal dementia: DOI: 10.1016/j.ensci.2021.100363
3. Kametani F, Yoshida M, Matsubara T, Murayama S, Saito Y, Kawakami I, Onaya M, et al. Comparison of Common and Disease-Specific Post-translational Modifications of Pathological Tau Associated With a Wide Range of Tauopathies :Front Neurosci. 2020 Nov ;14:581936.DOI: 10.3389/fnins.2020.581936
4. Suzuki H, Ohgidani M, Kuwano N, Chrétien F, Lorin de la Grandmaison G, Onaya M,et al. Suicide and Microglia: Recent Findings and Future Perspectives Based on Human Studies: Front Cell Neurosci. 2019 Feb 13;13:31. doi: 10.3389/fncel.2019.00031. eCollection 2019

（分担研究者）尾方 克久

1. Miyatake S, Yoshida K, Koshimizu E, Doi H, Yamada M, Miyaji Y, Ueda N, Tsuyuzaki J, Kodaira M, Onoue H, Taguri M, Imamura A, Fukuda H, Hamanaka K, Fujita A, Satoh M, Miyama T, Watanabe N, Kurita Y, Okubo M, Tanaka K, Kishida H, Koyano S, Takahashi T, Ono Y, Higashida K, Yoshikura N, Ogata K, Kato R, Tsuchida N, Uchiyama Y, Miyake N, Shimohata T, Tanaka F, Mizuguchi T, Matsumoto N. Repeat conformation heterogeneity in cerebellar ataxia, neuropathy, vestibular areflexia syndrome. Brain 2022;145(3):1139-1150
2. Hiramatsu Y, Okamoto Y, Yoshimura A, Yuan JH, Ando M, Higuchi Y, Hashiguchi A, Matsuura E, Nozaki F, Kumada T, Murayama K, Suzuki M, Yamamoto Y, Matsui N, Miyazaki Y, Yamaguchi M, Suzuki Y, Mitsui J, Ishiura H, Tanaka M, Morishita S, Nishino I, Tsuji S, Takashima H. Complex hereditary peripheral neuropathies caused by novel variants in mitochondrial-related nuclear genes. J Neurol 2022; doi: 10.1007/s00415-022-11026-w
3. 尾方克久，望月葉子，齊藤利雄，崎山快夫，水口雅, 久保田雅也, 三牧正和, 奥野龍禎, 池田昭夫, 小森哲夫，米山明，望月秀樹，日本神経学会小児－成人移行医療対策特別委員会．神経系疾患を対象とする小児－成人移行医療についての展望：現状と課題．臨床神経学 2022;62(4):261-266
4. 尾方克久．R. 筋ジストロフィー：2-1. 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー．下畑享良(編)．脳神経内科診断ハンドブック, 中外医学社, 東京, 2022, pp.456-459
5. 尾方克久．R. 筋ジストロフィー：2-2. Emery-

Dreifuss 型筋ジストロフィー．下畑享良(編)．脳神経内科診断ハンドブック，中外医学社，東京，2022，pp.460-462

6. 尾方克久．18-21-10. 糖原病（グリコーゲン病）．矢崎義雄，小室一成(総編集)．内科学 第 12 版，朝倉書店，東京，2022，pp.5-457～5-459
7. 尾方克久．成人神経内科からみた小児期発症の神経疾患. 第 62 回日本神経学会学術大会, 京都, 2021 年 5 月

（分担研究者）尾崎紀夫

1. Jozuka R, Kimura H, Uematsu T, Fujigaki H, Yamamoto Y, Kobayashi M, Kawabata K, Koike H, Inada T, Saito K, Katsuno M, Ozaki N: Severe and long-lasting neuropsychiatric symptoms after mild respiratory symptoms caused by COVID-19: A case report. Neuropsychopharmacol Rep, 2022, 42 (1):114-119

（分担研究者）渡辺宏久

1. Ishimaru S, Kawamura Y, Miura H, Shima S, Ueda A, Watanabe H, Mutoh T, Yoshikawa T. Detection of human herpesviruses in cerebrospinal fluids collected from patients suspected of neuroinfectious diseases. J Neurovirol. 2021 Dec 30. doi: 10.1007/s13365-021-01040-5.
2. Mutoh T, Niimi Y, Sakai S, Watanabe H, Ueda A, Shima S, Igarashi Y. Species-specific accumulation of ceramides in cerebrospinal fluid from encephalomyeloradiculoneurpathy patients associated with peripheral complement activation: A pilot study. Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids. 2021 Dec 21;1867(3):159092.
3. Iriyama C, Murate K, Iba S, Okamoto A, Yamamoto H, Kanbara A, Sato A, Iwata E, Yamada R, Okamoto M, Watanabe H, Mutoh T, Tomita A. Detection of circulating tumor DNA in cerebrospinal fluid prior to diagnosis of spinal cord lymphoma by flow cytometric and cytologic analyses. Ann Hematol. 2021 Oct 2. doi: 10.1007/s00277-021-04686-7.¥
4. Bagarinao E, Watanabe H, Maesawa S, et al. Reserve and maintenance in the aging brain: A longitudinal study of healthy older adults. eNeuro. 2022, 2022 Feb 2;9(1):ENEURO.0455-21.2022.
5. Watanabe H, Bagarinao E, Maesawa S, et al. Characteristics of neural network changes in normal aging and early dementia. Front Aging Neurosci 2021 Nov 22;13:747359.
6. 新型コロナウイルス感染症診療の手引き 別冊 罹患後症状のマネジメント（第 1 報）、厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策推進本部
7. 村手 健一郎、中野 頌子、林 和孝、坂野 文彦、加藤 邦尚、東 篤宏、菊池 洸一、長尾 龍之介、前田 利樹、廣田 政古、石川 等真、伊庭 佐知子、水谷 泰彰、島 さゆり、入山 智沙子、植田 晃広、伊藤 瑞規、武藤 多津郎、冨田 章裕、渡辺 宏久 中枢神経リンパ腫における MYD88 変異と臨床的指標との相関 第 62 回日本神経学会学術大会（web/京都）2021.05
8. 菊池 洸一、水谷 泰彰、林 和孝、加藤 邦尚、 坂野 文彦、東 篤宏、長尾 龍之介、前田 利樹、村手 健一郎、廣田 政古、石川 等真、島 さゆり、植田 晃広、石丸 聡一郎、河村 吉紀、伊藤 信二、武藤 多津郎、吉川 哲史、渡辺 宏久 無菌性髄膜炎における髄液ヘルペス属 Real-time PCR 陽性群、陰性群の臨床的特徴 第 62 回日本神経学会学術大会（web/京都）2021.05
9. 朝倉 真生、水谷 泰彰、菊池 洸一、中野 頌子、林 和孝、加藤 邦尚、坂野 文彦、東 篤宏、長尾 龍之介、前田 利樹、村手 健一郎、廣田 政古、石川 等真、島 さゆり、植田 晃広、石丸 聡一郎、河村 吉紀、伊藤 瑞規、伊藤 信二、武藤 多津郎、吉川 哲史、渡辺 宏久 ヘルペス属ウイルス髄膜脳炎における髄液 IgG index の経時的変化 第 62

回日本神経学会学術大会（web/京都）2021.05

10. 水谷 泰彰、中野 頌子、東 篤宏、村手 健一郎、河村 吉紀、島 さゆり、植田 晃広、伊藤 瑞規、冨田 章裕、吉川 哲史、渡辺 宏久 当院における脳炎・脳症早期診断システムとその活用 第 35 回日本神経救急学会学術集会（web）2021.06
11. 村手 健一郎、入山 智沙子、伊庭 佐知子、岡本 晃直、山本 秀行、水野 紘樹、齊藤 統子、徳田 倍将、後藤 尚絵、岡本 昌隆、渡辺 宏久、冨田 章裕 中枢神経悪性リンパ腫における髄液リキッドバイオプシーの有用性の検討 第 61 回日本リンパ網内系学会総会(岡山市) 2021.06

分担研究報告書

（分担課題名）精神疾患ブレインバンクの推進

分担研究者

鬼頭伸輔　　国立精神・神経医療研究センター病院・精神診療部・部長

協力研究者

水谷真志　国立精神・神経医療研究センター病院・レジデント

佐野輝典　国立精神・神経医療研究センター病院・常勤医師

【緒言】

精神疾患の病態解明や根治的治療法の開発には，ヒト脳を用いた研究が重要である．特に，患者死後脳のリソース構築により，これまで生前に間接的な手法により推定されてきた脳内の生物学的変化を，直接測定できるシステムの基盤を作ることができる．精神疾患を対象としたブレインバンクの数は本邦では少ないため，死後脳研究は欧米のブレインバンクに依存する場合が多い．このような現状の打開には，人種差の影響を受けない日本人の死後脳リソースの構築が急務である．

以上の背景から，本研究はNCNPブレインバンクへの精神疾患患者死後脳リソースの蓄積を促進することを目的とする．

【方法】

「幅広い疾患の質の高い剖検脳リソースの構築を本邦で行う」ことを目的とした，NCNPブレインバンク事業の一環として，精神疾患患者からの検体収集を促進する活動を実施した．具体的には，すでに構築されている神経疾患ブレインバンクを参考に，生前同意登録を行った．今回，2022年3月14日時点までの活動を報告する．

【結果】

当院通院中である精神疾患を主とするブレインバンク登録希望者は，昨年同時期の5名から今年度は122名と大幅に増加した．これは，当院の精神科医師間にブレインバンク活動の意義がより深く浸透したこと，今年度から当院精神疾患レジストリと連携し希望患者を募るようにしたことが大きく寄与している．症状が不安定である又は身寄りのない方をいた 88 例についてはブレインバンク医師 (水谷)が実際に面接を行い，主治医の承諾を得た上で，5 名が実際にブレインバンク生前登録に至った．残りは保留となっているが，その多くの理由は「遠方の家族に説明をしなければならない」「解剖同意者たる家族がまだ若年である」というものであり，これもまた将来的に生前登録へとつながる可能性が高いものである．今年度ブレインバンクに登録した精神疾患 12 例の内 1 例が生前登録から解剖に至ったものだった．12 例の疾患内訳は，Alzheimer 型認知症 4 例，統合失調症 4 例，その他の認知症が 1 例，不安神経症 1 例である．

また，他院通院中の患者 19 名に対し，福島県立医大のブレインバンクを案内した．いずれも当院の事務局から丁寧な情報提供を行い，現在までのところ大きな混乱なく，患者のニーズに応えることができている．

【考察】

本年度はブレインバンク医師と主治医の最低 2 名の精神科医が精神症状を確認したうえで生前登録の同意を得た．このように，精神症状の増悪から刹那的にブレインバンク登録を希望しているわけではないことを専門的観点から慎重に判断し，精神疾患患者のブレインバンク登録を行っている．

【結論】

患者死後脳リソースを収集するシステムの構築は重要であり，精神疾患患者からの死後脳収集を行うための生前同意登録に関する NCNP 病院の現状を報告した．以上の活動は，精神疾患の根治的治療法の開発の促進につながると期待される．

【参考文献】

Sumiyoshi T, Stockmeier CA, Overholser JC, Dilley GE, Meltzer HY. Serotonin1A receptors are increased in postmortem prefrontal cortex in schizophrenia. *Brain Res* 1996, 708: 209-214

Yamada Y., Matsumoto M., Iijima K., Sumiyoshi T.: Specificity and continuity of schizophrenia and bipolar disorder: Relation to biomarkers. *Curr Pharm Des* 2020, 26(2):191-200

（分担課題名）神経内科疾患のブレインバンクの推進，生前同意取得

分担研究者

髙橋祐二　国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経内科　特命副院長・脳神経内科診療部長

研究協力者

石原　資　国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経内科　上級専門修練医

【緒言】

脳神経内科疾患のブレインバンクの充実は，ヒト死後脳研究の推進に直結し，疾患研究・脳科学研究の発展に必要である．

本研究の目的は，脳神経内科疾患の剖検数を増やし，ブレインバンクの発展に貢献すること，臨床研究と連動した形での生前同意取得を目指すこと，ブレインバンクを将来的に担える若手医師の育成に貢献することである．本研究により詳細な臨床情報が記載されているブレインバンク検体の増加と，それを活用した研究の発展が期待される．

【方法】

脳神経内科領域の疾患の剖検取得および生前同意を推進する．若手脳神経内科医が一定期間検査部病理にローテートする研修プログラムを実行し，教育機会を確保する．

【結果】

本年度の脳神経内科の剖検実施は 6 例であった．内訳は，パーキンソン病 4 例，筋萎縮性側索硬化症 1 例，頭痛 1 例であった．これらの剖検例のうち 3 例は生前同意取得者であった．

脳神経内科の上級専門修練医 1 名が 3 ヶ月間の検査部病理ローテートを実施し，タウオパチーに関して臨床診断と病理診断の対比を行い，診断のピットフォールを明らかにした．

【考察】

脳神経内科における剖検同意取得は順調に実施されており，剖検例も着実に蓄積している．特に本年度は COVID-19 関連肺炎の剖検例が取得され，COVID-19 関連の中枢神経病理の解明に大きく貢献した．また剖検例 5 例のうち 2 例は生前同意取得者であり，生前同意システムの有効性が実証された．

人材育成に関しては，上級修練専門医のローテートにより，中枢病理に関する教育を実施するのみならず，タウオパチーに関する臨床病理学的な研究に発展し，当初の目標以上の成果を達成した．

【結論】

脳神経内科疾患のブレインバンク充実・生前同意システムの発展・人材育成のいずれの観点からも目標を達成した．今後もさらなるブレインバンクの発展に貢献する．

【参考文献】

なし．

（分担課題名）脳神経外科疾患のブレインバンク推進

分担研究者

岩崎真樹　　国立精神・神経医療研究センター・病院脳神経外科・部長

協力研究者

木村唯子　国立精神・神経医療研究センター病院・病院脳神経外科・医師

飯島圭哉　国立精神・神経医療研究センター病院・病院脳神経外科・医師

【緒言】

脳神経外科として，NCNP が推進するブレインバンク生前登録の啓発を進め，事業体制の整備を図ることを目的に，分担研究を行った．

【方法】

脳神経外科領域から，NCNP ブレインバンクとの連携を強化する．ブレインバンク生前登録の啓発を進め，希望者を登録する体制を構築する．

パーキンソン病および正常圧水頭症患者を対象にした臨床データベースを構築し，臨床研究に役立てる．術前運動症状の評価スケールや各種画像検査の結果を含めたデータベースを前向きに登録する．特に，アルツハイマー病や進行性核上性麻痺など変性疾患を合併した正常圧水頭症の臨床的特徴と治療反応性を後方視的に検討し，脳外科的治療の有効性と限界を明らかにする．脳深部刺激療法(DBS)やシャント術など脳外科治療対象者のブレインバンク登録を推進し，外科的治療が与える病理学的・生化学的変化を探る死後脳研究につなげる．

【結果】

脳神経外科手術データベースを構築し，ブレインバンク登録に向けた環境の整備を進めた．2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日まで総手術件数は 103 件あり，高齢者の正常圧水頭症に対するシャント術が 7 件，不随意運動疾患に対する DBS 植え込みが 4 件，同疾患の電池交換術が 23 件あった．65 歳以上の患者は，全手術中 21 件（20.4%）であった．ブレインバンク登録患者はいなかった．

手術データベースとは別に，疾患別の臨床データベースを構築している．2019 年 5 月から現在までに，パーキンソン病が 52 件，その他の不随意運動症が 5 件，トゥレット症候群が 18 件，正常圧水頭症が 14 件登録されている．

【考察】

近年は，高齢の手術対象者が増加傾向にあり，特に正常圧水頭症は脳外科手術を目的に受診する患者も目立つ．しかし，特発性正常圧水頭症の疾患概念は完全に確立しているとは言えず，特に変性疾患に合併した水頭症に対する外科治療適応には異論が多い．われわれは，病理学的に診断された進行性核上性麻痺にシャント反応性の明らかな正常圧水頭症を合併した治療例を報告した（齊藤ら,2022）．神経疾患の病態を分子細胞生物学的に解明するためには，剖検脳による病理診断や分子遺伝学的解析が重要である．

生前登録の候補者に対する継続的な情報提供が必要であり，今後も脳神経外科として連携体制を構築してゆく．

【結論】

脳神経外科として，ブレインバンク生前登録に向けた体制整備を図っている．

【参考文献】

Kimura Y, Iijima K, Takayama Y, et al. Deep Brain Stimulation for Refractory Tourette Syndrome: Electrode Position and Clinical Outcome. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2021 Jan 15;61(1):33-39.

Espay AJ, Da Prat GA, Dwivedi AK, et al. Deconstructing normal pressure hydrocephalus: Ventriculomegaly as early sign of neurodegeneration. *Ann Neurol* 2017;82(4):503–513.

Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, et al. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract* 2022.

https://doi.org/10.1002/mdc3.13442

（分担課題名）生前脳と剖検脳における MRI 画像の対比

分担研究者

佐藤典子　　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部部長

協力研究者

重本蓉子　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部医員

【緒言】

MRI は非侵襲的に画像を取得可能な検査であり，神経変性疾患の診断に広く用いられている．しかし，変性疾患では背景病理が異なる疾患においても類似した画像所見をとることが多く，その病態解明のために病理学的所見との対比が必要である．本研究では，神経疾患ブレインバンクに登録され，当院で剖検が行われる進行性核上性麻痺などのタウオパチー患者をはじめとした神経変性疾患患者を対象とし，対照群として他の疾患で剖検となった症例も含めることとする．

【方法】

剖検後の半脳の検体をホルマリン液に浸した状態で，全脳の MRI を 3T MRI 機器で撮影した．MRI のシークエンスは 3D-T1 強調画像，3D-T2 強調画像，３D-プロトン密度画像，位相差画像（3D），3D-DIR(double inversion recovery)を撮像した．

【結果】

脳室内及び脳表面に air がある場合アーチファクトを生じ（特に位相画像は顕著であった），良質な画像を得られないことが判明し，ホルマリンを満たした容器に入れる前に，しっかり取り除くことが必要であることが判明した．

撮像シークエンスによる評価であるが，3D-T2 強調画像，3D-DIR(double inversion recovery)は実質内コントラストがつかない画像であったが，３D-プロトン密度画像，位相差画像(3D)は白質が低信号，皮質が高信号で，KB 染色のようなコントラストを得ることができ，良好と思われた．

また，視覚評価での検討であるが，生前の MRI 画像では萎縮が顕著な例においても剖検後の画像では萎縮が軽度な例を複数経験し，生前脳と剖検脳の萎縮に乖離があることが示唆された．

【考察】

試みたシークエンスは，ホルマリン固定後と生前 MRI と違ったコントラストを示した．３D-プロトン密度画像，位相差画像(3D)は白質が低信号，皮質が高信号で，KB 染色のようなコントラストを得ることができ，髄鞘疾患など白質病変に有用と推測された．

【結論】

本年度はホルマリン固定後の剖検 MRI の適切な MRI 撮像法，シークエンスを決めることができた．死後能と MRI 画像の対比は，今後の病理と MRI 画像診断の発展につながると期待される．

【参考文献】

Birkl C, Soellradl M, Toeglhofer AM, Krassnig S, Leoni M, Pirpamer L, Vorauer T, Krenn H, Haybaeck J, Fazekas F, Ropele S, Langkammer C. Effect of concentration and vendor specific composition of formaline on postmortem MRI of the human brain. Magn Reson Med. 2018 79(2):1111-1115.

Ebata K, Noriki S, Inai K, Kimura H. Changes in magnetic resonance imaging relaxation on postmortem magnetic resonance imaging of formalin-fixed human normal heart tissue. BMC Med Imaging. 2021 Sep 23;21(1):134.

（分担課題名）小児神経疾患のブレインバンク

分担研究者

佐々木征行　国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部長

協力研究者

齋藤貴志　国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部医長

石山昭彦　国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部医長

本橋裕子　国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部医長

竹下絵里　国立精神・神経医療研究センター病院
小児神経診療部医師

【緒言】

近年，小児領域においては剖検が実施される機会が非常に減少している．画像診断や遺伝子解析技術が発展したことにより，病理学的検討の診断的価値は相対的に低下したかもしれない．しかし詳細な病態研究や今後の治療研究発展のために，精密な病理学的検討は継続的に実施されるべきである．

わが国では，これまで小児疾患のブレインバンクは確立されておらず，当センターのブレインバンクに小児神経疾患が充実することにより様々な研究のために利用可能となり，多くの神経病理研究者や小児神経科医などにとって有益となる．

【方法】

小児神経疾患患者がより多くブレインバンクに登録してもらえるよう，全国に広く情報を発信して病理解剖を推進する．当センター病院だけでなく，全国のこども病院や大学病院，研修指定総合病院などのほか患者会などへも協力を依頼して小児神経疾患の国内ブレインバンクの充実を図る．具体的には３年間で以下の計画で実施したい．

（１）当センター小児神経科における病理解剖の推進を図る．（２）全国のこども病院や大学病院，あるいは研修指定総合病院などに情報を発信し，協力を得られるようにする．（３）多くの小児疾患の患者会に情報を発信し，協力を依頼する．これらの活動を通して小児神経疾患のブレインバンクをスタートさせ，今後の充実を図る．

【結果】

初年度の研究成果は以下の通りであった．

１）当センター小児神経科では，この１年間で３例の病理解剖を実施することができた．

２）2020 年度に病理解剖を行った小児交互性片麻痺（AHC）症例について病理解剖所見を中心に学会報告した．

【考察】

小児においては病理解剖を実施すること自体が非常に困難になっている．成人のように「本人の生前同意」はさらに実施が困難と予想される．これを打開するためには情報発信が重要であると考える．

AHC 例の中枢神経病理所見の報告は海外含めてほとんどない．原因遺伝子（ATP1A3）が同じ急性発症ジストニアーパーキンソニズム（RDP）の同胞例の報告があるだけであった[1)]．本例は，この RDP 例とは遺伝子変異が異なり症状も全く異なっていた．本例では，神経細胞脱落する部位が RDP 例とは異なり，頭部 MRI[2)]で萎縮が進行していた前頭葉，大脳基底核，小脳皮質などに顕著であった．視神経に異常を見るなど AHC に関する新たな知見が得られたので論文作成中である．

【結論】

今後は小児神経疾患のブレインバンク確立の意義や重要性について情報発信を積極的に行い，ブレインバンクに参加していただけるように小児科医あるいは神経小児科医に理解を深めていただく努力が必要である．

【参考文献】

1) Oblak AL, Hagen MC, Sweadner KJ, et al. Rapid-onset dystonia-parkinsonism associated with the I758S mutation of the ATP1A3 gene: a neuropathologic and neuroanatomical study of four siblings. Acta Neuropathol. 2014; 128: 81-98.

2) Sasaki M, Ishii A, Saito Y, Hirose S. Progressive brain atrophy in alternating hemiplegia of childhood. Mov Disord Clin Pract. 2017 ;4: 406-411.

（分担課題名）精神疾患ブレインバンクの推進

分担研究者

女屋光基　　国立病院機構　下総精神医療センター　院長

協力研究者

鈴木寿臣　国立病院機構　下総精神医療センター　臨床検査科長

【緒言】

日本でも，ブレインバンクの推進が欧米諸国に比し，宗教的な考え方の違いもあり，遅れ気味であったが，最近やっと少しずつ，理解が進みつつある．しかしながら，精神疾患の脳の保存は，日本の精神神経科学が，精神疾患の神経病理学的研究で，明らかなエビデンスを研究者の中で共有できる成果が十分でなかったこともあり，神経学とは研究の方向が別の方向に進む傾向であった．このため，精神神経科学の研究者の中で，内因性精神病と以前言われていた，統合失調症や双極性障害などをはじめとする精神疾患の，脳をはじめとする，中枢神経系の蓄積の重要性を指摘する研究者が徐々に少なくなり，とりわけ本邦では非常に少なくなっている．その中で，当院では歴史的に上記の精神疾患を中心にして，脳を含めた，中枢神経の保存・収集を行ってきた．今回，それらを含め，今一度バンクの構築に勤めることによって，将来の精神疾患の，基礎研究の一翼を担うことになるものと考える．

【方法】

「幅広い疾患の質の高い剖検脳リソースの構築を本邦で行う」ことを目的とした，ブレインバンク事業の一環として，精神疾患患者からの検体収集を促進する活動を実施した．

【結果】

昨年度は，1 件の解剖にとどまってしまった．その症例は，老年期精神病との診断が当初なされたが，その後認知機能の低下が認められたアルツハイマー型認知症の症例である．その前の年は，統合失調症，てんかんを伴う器質性精神病，アルツハイマー型認知症と臨床診断されている症例である．

【考察】

昨年は，解剖が 1 例しかなく，当院としてもまことに少ない症例数しか，解剖できず，ブレインバンクの貢献に寄与できず，申し訳ない結果になった．解剖数が全国的に減少傾向であり，当院も 280 床に年間 800 人弱の入退院を数えるようになっており，従前の長期の入院により，患者・患者家族との信頼関係の延長線上で，解剖をお願いするということが難しくなってきている．しかしながら，ブレインバンクの構築の必要性や，重要性を本人や，家族に丁寧に説明し，解剖を承諾してもらえるように努力するとともに，主治医にも，折に触れ，説明し機会を逃さず，症例を登録できるように努力していきたい．

【結論】

患者死後脳リソースを収集するシステムの構築は重要であり，精神疾患患者からの死後脳収集を行うための，方法を考察した．現在は，臨床診断による，中枢神経系のバンクが，構築されようとする段階であるが，この研究が，発展することにより，妄想の有無や，幻聴の種類による，バンクが構築されることや，また，死後脳と生前の放射線学的診断との関連を研究することにより，精神疾患の生物学的な解明がなされることが，期待されよう．

【参考文献】

High-Contrast In Vivo Imaging of Tau Pathologies in Alzheimer's and Non-Alzheimer's Disease Tauopathies.Kenji Tagai , Maiko Ono , Manabu Kubota et al, Neuron. 2021 Jan 6;109(1):42-58.e8. doi: 10.1016/j.neuron.2020.09.042. Epub 2020 Oct 29

（分担課題名）神経筋疾患のブレインバンクの推進

分担研究者

尾方 克久　国立病院機構東埼玉病院・副院長

研究協力者

田村 拓久　国立病院機構東埼玉病院・難治性疾患部門部長

鈴木 幹也　国立病院機構東埼玉病院・神経内科医長

中山(谷田部) 可奈　国立病院機構東埼玉病院・神経内科医長

村上 てるみ　国立病院機構東埼玉病院・神経･筋･運動器研究室長

芳賀 孝之　国立病院機構東埼玉病院・臨床検査科長

重山 俊喜　国立病院機構東埼玉病院・循環器科医師

生田目 禎子　国立病院機構東埼玉病院・神経内科医師

髙橋 由布子　国立病院機構東埼玉病院・神経内科医師

【緒言】

神経筋疾患の多くが希少疾病であり，その病態解明や新たな治療の開発には，患者組織を用いた研究が重要である．とくに，遺伝性筋疾患で欠損・変異をきたす蛋白は脳にも発現するものが多いが，脳における分子病態の解明は必ずしも進んでいない．一方で，てんかんや知的発達障害といった中枢神経系の症候を伴う遺伝性筋疾患が知られており，患者脳を用いた病態解明は，骨格筋にとどまらない新規治療開発をもたらす可能性を秘めている．

神経筋疾患患者のバイオリソースを効率的に構築するためには，その診療拠点において，適切な患者等の同意に基づき，診療情報，生検や剖検で得られる患者組織，ゲノム DNA を統合的に保存し利用する体制が望まれる．

以上の背景から，埼玉県における神経・筋疾患の難病診療分野別拠点病院である当院において，神経筋疾患のブレインバンクをはじめとするバイオリソースの構築推進を図った．

【方法】

剖検組織の凍結保存と研究利用について「神経・筋疾患の研究基盤としての病理検体の確保と保存に関する研究」（国立病院機構東埼玉病院 課題番号 19-23）として倫理委員会の承認に基づく院長の許可を得て実施した．プリオン病については「プリオン病の病理解析および病態解明に関する研究」（同 課題番号 19-24）において，他施設における組織保存を含め倫理委員会の承認に基づく院長の許可を得て実施した．

骨格筋組織は筋生検の際に，ゲノム DNA は遺伝学的検査の際に，保存と研究利用に関する同意を診療において取得した．

保存された組織の研究使用につき，共同研究を行った．

【結果】

コロナ禍のため，2021 年度に当院では神経筋疾患患者の剖検がなかった．また，プリオン病患者の死亡もなかった．

筋生検は 1 件行われ，骨格筋を当院で凍結保存するとともに，筋病理診断を目的に国立精神・神経医療研究センターへ送付した．

凍結組織を保存する超低温槽が老朽化しており，その保守管理を行った．

遺伝学的検査を行ったゲノム DNA 試料を保存した．

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの中枢神経病態に関する研究に対する保存組織の提供依頼があり，共同研究として提供準備を進めている．

【考察】

2021 年度はコロナ禍のため新たな剖検がなく，筋生検の件数も少なかった．ポストコロナを見据えた体制整備が求められる．

バイオリソースは研究対象となる疾患群毎に構築されるのが運用の面で効率的と思われるが，三次医療圏毎に指定される難病医療分野別拠点病院の多くは医療機関であり，その保管管理を行うには人員の面でも設備・経費の面でも厳しい．バイオリソースの構築

と維持管理について，国を挙げた体制整備と支援が望まれる．

2022 年 4 月の改正個人情報保護法施行に対し，所要の対応が必要である．

【結論】

神経筋疾患のブレインバンクをはじめとするバイオリソースの構築と運営を図った．今後，ポストコロナを見据えた体制整備を図る．

（分担課題名）NCNP 生前登録例の病理解剖やブレインバンク登録の推進

分担研究者

二村直伸　国立病院機構兵庫中央病院・脳神経内科診療部長

協力研究者

西田勝也　国立病院機構兵庫中央病院・脳神経内科医員

【緒言】

分担研究者の所属施設は神経難病患者の長期療養施設としての機能を兼ねそろえているため，プリオン病や運動失調症などの神経難病患者が多数入院している．これら神経難病患者のブレインバンク登録の推進や生前登録例の病理解剖を行っていく．合わせて，超百寿研究の病理解剖にも協力していく．

また NCNP が推進するブレインバンクの地域拠点として活動するために，COVID-19 流行下での自施設，他施設症例の病理解剖を安全に行うための体制を整える必要があった．

【方法】

まず COVID-19 流行下での当院の病理解剖体制を整備した．次に自院のみならず他院依頼の病理解剖を実施できるようにするために，院内の会議で他部門と協議の上，院内で病理解剖を実施する基準を作成した．その結果，他施設由来のプリオン病の病理解剖も主任研究者に主導いただき，施設として協力できた．

【結果】

１）剖検

本年度は 1 例の病理解剖にとどまった．70 歳代の女性の遺伝性のクロイツフェルト・ヤコブ病（V180I）症例であった．隣県の施設において死亡され，主任研究者の剖検を補助した．1 例院外から病理解剖の依頼があったが，PCR 検査試薬の枯渇のため当院では実施できなかった事例もあった．

２）生前登録

該当症例なし．

３）COVD-19 流行下での剖検体制の構築

COVID-19 の流行に伴って，当院でも病理解剖の件数が大きく減少した．しかし，内科学会教育関連病院の施設基準の維持や関連学会の専門医取得に剖検症例が必要となることもあるため，COVID-19 流行下でも病理解剖を実施できるように病理解剖体制の構築を行った．具体的には，新型コロナウイルス感染症等に関する日本病理学会の病理解剖指針（2020 年 5 月 27 日）[1]に準じて，臨床的に COVID-19 が疑われない患者については，その時期の感染状況も加味しながら，関係各所（臨床医，感染対策室，検査科，看護部，医事課）と相談し，事前に PCR 検査を行った上で実施する方針とした．2020 年 10 月 6 日に当院の新型コロナウイルス感染対策委員会で承認されてから 2 例の病理解剖を行った．さらにもう 1 例院外施設から病理解剖の相談があったが，感染の爆発的な流行による PCR 試薬の枯渇のため当院での実施が困難であり，他施設に解剖を依頼したことがあった．

【考察】

COVID-19 流行により病理解剖が困難となった．試薬が不足しているときは自施設においても病理解剖用に使用することが難しく，他施設症例においてはなお困難である．現在は試薬が確保されていれば病理解剖用に使用可能である．

【結論】

COVID-19 流行下での当院の病理解剖体制を整備し，遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病の病理解剖に貢献できた．今後もブレインバンク登録の推進，運動失調症やプリオン病などの神経難病患者・超百寿研究の病理解剖にも協力していく．

【参考文献】

1)新型コロナウイルス感染症等に関する日本病理学会の病理解剖指針（2020 年 5 月 27 日）．
https://www.pathology.or.jp/news/iryou-gyoumu/20200527info-2.html

（分担課題名）超百寿者（スーパーセンチナリアン）のブレインバンク

分担研究者

村田　建一郎　国立病院機構関門医療センター・病理診断科・医長

協力研究者

見国　真樹　国立病院機構関門医療センター・検査科・主任技師

鈴木　祐也　国立病院機構関門医療センター・検査科・技師

平野　真未　国立病院機構関門医療センター・検査科・技師

【緒言】

超高齢化社会の到来に向けて，健康長寿を維持することは，高齢者本人やその家族にとっても，また，社会にとっても重要な課題である．慶應義塾大学百寿総合研究センターとの共同研究で，110 歳以上の超高齢者の病理解剖を分担し，真の健康長寿の機構を解明することを目指す．

【方法】

NCNP 生前登録症例の脳を含めた全身の病理解剖を実施し，病理組織標本を作製・検鏡して，全身諸臓器の疾患や病態を明らかにする．特に脳の病態と全身諸臓器の病態との関係について詳細に解析する．また，摘出した脳の一部は NCNP ブレインバンクにて，凍結保存し，研究者に供出する．また，必要に応じて，各臓器の一部も凍結保存する．

【結果】

令和３年度から共同研究者が変更となり，本年度は登録症例の剖検はなかった．

【結論】

昨年度までに剖検したスーパーセンチナリアンの５症例について，追加すべき知見はないが，「脳血管」だけに動脈硬化の少ない原因や，胃 GIST の発症が多い原因等，症例を蓄積して，検討することが重要と考える．

【参考文献】

スーパーセンチナリアンの医学生物学的研究　新井康通，広瀬信義　日老医誌 2018；55：578-583

百寿者の臨床病理学的特徴　新井康通，高尾昌樹，広瀬信義　病理と臨床　2018　Vol.36 No.2 116-122

認知症アンチリスク集団としての 百寿者と抗認知症遺伝子研究　佐々木貴史，西本祥仁，広瀬信義，新井康通　RAIN and NERVE 71 (10)：1061-1070，2019

（分担課題名）プリオン病，高齢者，神経難病のブレインバンクの推進，生前同意取得

分担研究者

美原 盤　美原記念病院・院長

【緒言】

現在，ヒト死後脳研究は増加していることから，使用希望の研究者は増加しているが，病理解剖数の減少からヒト死後脳を収集することが困難となっている．当院はプリオン病をはじめ神経難病や高齢者の外部からの依頼解剖の受け入れを行っており症例を蓄積している．今後も生前同意を含めた積極的な病理解剖の推進を行い NCNP ブレインバンクの継続活動の支援を行う．

【方法】

神経難病患者および家族に対し「解剖事前同意書」の承諾を得る．

当院ではプリオン病の解剖を積極的に行っており，長年の活動により外部施設からプリオン病を含めた神経難病の解剖に関する相談および解剖を行っている

慶應義塾大学の百寿総合研究センターと協力し百寿者の解剖を行う．

【結果】

2021 年度は 7 件の解剖を行いプリオン病の解剖は 3 件でありいずれも外部施設からの依頼解剖であった．神経難病症例はパーキンソン病の 3 件を行いその他の症例は 1 件であった．

当施設で死亡解剖を行った症例は生前同意を得ていた症例である．

【考察】

解剖件数は例年と比べ減少した．原因としては COVID-19 流行により病棟面会に関して患者家族の制限がり病院とのコミュニケーションの不足のためか解剖の同意が得られないことがあった．プリオン病解剖に関しては感染性の問題から自施設での解剖を行っていない病院や解剖設備自体のない施設などからの依頼であった．当施設患者の解剖に関しては神経難病に関して COVID-19 流行前から長期にわたり関りがあった家族から解剖の同意を得ることができた．

【結論】

本開発費により，プリオン病など解剖が難しい症例の依頼解剖に対し積極的に受け入れる体制を整えることができた．

（分担課題名）COVID-19 罹患後の精神神経症状の包括的評価に基づく病態解明研究

分担研究者

尾崎紀夫　　国立大学法人東海国立大学機構
名古屋大学大学院医学系研究科・教授

協力研究者

木村宏之　名古屋大学大学院医学系研究科・准教授
森大輔　名古屋大学脳とこころの研究センター・特任准教授
岩本邦弘　名古屋大学大学院医学系研究科 発達老年精神医学・准教授
久島周　名古屋大学医学部附属病院 ゲノム医療センター・講師
木村大樹　名古屋大学大学院医学系研究科精神生物学・講師
有岡祐子　名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター・特任講師

【緒言】

COVID-19 罹患後に精神神経症状が出現するメカニズムとして，感染臓器から放出されるサイトカイン等による脳免疫相互作用を介した脳病態などが想定されている．しかし COVID-19 罹患後の精神神経症状に関するリスク因子, 病態に関与する神経回路・分子指標については，十分には判明しておらず，発症リスク因子や病態に基づいた治療薬は存在せず，多くの患者が COVID-19 後の精神神経症状により，ADL の低下を余儀なくされており社会問題となっている．本研究では，患者臨床表現型の包括的評価を通じて, COVID-19 罹患後の精神神経症状のリスク因子同定と新規治療薬開発を企図した病態解明を目指す.

【方法】

本研究では，１）名古屋大学医学部附属病院精神科・親と子どもの心療科を受診した患者で COVID-19 や COVID-19 ワクチン接種の既往がある患者，２）1)により名古屋大学医学部附属病院で診療を受け，何らかの精神医学的な検討を実施した患者を対象とする．対象患者に対して，心理社会的背景，身体/精神疾患の既往歴の取得に加え，精神症状/認知機能評価を実施する．可能な場合は，脳画像検査，脳波，睡眠ポリグラフ検査，髄液/血漿中のサイトカイン測定，ゲノム解析を実施する．精神レジストリへも登録する．さらに病態への関与を示唆される変異が得られれば，患者由来 iPS 細胞の樹立やモデルマウス作製を通じて，COVID-19 後遺症に関与しうる神経回路・分子指標の同定を目指す. 以上から，COVID-19 後遺症の病態の同定と共に，病態に基づく新規治療薬開発を目指す.

【結果】

COVID-19 患者が増加した 2020 年 4 月以降，COVID-19 罹患後に精神神経症状を呈した患者の外来治療，入院精査・治療，院内他科コンサルテーション対応を実施した結果, COVID-19 の呼吸器症状が改善後に，１）脳波徐波化で確認される意識障害を伴う精神運動興奮状態を呈し，長期にわたり，ふらつきや集中力低下が持続し，就労困難となった症例，２）原因不明の意欲低下が持続している睡眠時無呼吸症候群を併存する重度の肥満患者，を経験した．特に，１）の症例では，徐波成分の減少で確認される意識障害改善時における, 髄液/血清中の IL-8 と FGF-2 といったサイトカインが意識障害時と比べて減少したことが示され，論文発表した（参考文献１）．これらの症例を中心として，全ゲノムシークエンスを実施し, COVID-19 罹患後の精神神経症状のリスク変異同定を試みている.

【考察】

COVID−19 後の精神神経症状に対して，包括的に

臨床情報を取得することで，精神神経症状のリスク因子同定や病態解明につながる可能性が示唆された．今後は，さらに COVID−19 後の精神神経症状の全ゲノムシークエンスを実施し, COVID-19 罹患後の精神神経症状に繋がる，脳免疫系相互作用に介して精神神経症状発現に関与し得るリスク変異の同定を試みることは有望であろう．同時に，脳免疫系相互作用を介した精神神経疾患の病態解明を進めていく必要がある．

【結論】

引き続き，基礎と臨床が一体となった COVID-19 後の精神神経症状を呈する患者の包括的な評価を行い，COVID−19 後の精神神経症状のリスク評価と病態解明を目指していく．

【参考文献】

1. Jozuka R, Kimura H, Uematsu T, Fujigaki H, Yamamoto Y, Kobayashi M, et al. Severe and long-lasting neuropsychiatric symptoms after mild respiratory symptoms caused by COVID-19: A case report. Neuropsychopharmacol Rep. 2022;42(1):114-9.

（分担課題名）COVID-19 感染に伴う精神・神経系の後遺症あるいは遷延する症候の調査

分担研究者

渡辺宏久　藤田医科大学医学部脳神経内科学・主任教授

協力研究者

島　さゆり　藤田医科大学医学部脳神経内科学・講師

松本省二　藤田医科大学医学部脳卒中科・教授

【緒言】

COVID-19 感染に伴う後遺症ならびに遷延症状の病態を解明するために，1) 藤田医科大学に入院，通院している COVID-19 症例を対象として，仔細な神経診察，アンケート，MRI をはじめとする脳画像，各種血液指標などを用いて神経系の後遺症や遷延症状の特徴を横断的に解明する．2) アンケートを中心として，入院後からの自然経過を後方視的に検討する．3) 今後の発症する新規症例を中心として，神経系の症状の臨床特徴と各種画像・血液マーカー（エネルギー代謝，免疫，炎症，軸索，シナプスなど）との関連を明らかにする．4) 横断的臨床像，後方視的縦断像，前方向的縦断像から，積極的な内科的治療介入が必要な症例と，自然経過で速やかに良くなる症例に分類し，特に，免疫治療をはじめとする内科的治療が必要な症例を検出できる脳画像・血液検査システムを構築する．

【方法】

目的 : 藤田医科大学に通院中で，COVID-19 感染後の神経症状を呈する症例の特徴を明らかにする．

必要性 : COVID-19 後の神経系の遷延症状には，内科的側面からは，中枢神経系，末梢神経系，筋・骨格系，内臓系のいずれかもしくは複数の領域の病態が関与する．一方，精神的な側面が影響を考慮する必要がある．さらに，基礎疾患や精神疾患の既往など持病がある場合には，それらの増悪との鑑別が必要である．COVID-19 の病態は多様であるため，神経系の遷延症状については，専門医が適切に臨床症状を評価するとともに，画像検査，更には免疫応答，血液凝固，血管透過性，脳血液関門などの破綻が症状に及ぼしている影響を評価しうる指標との対比を行い，ステロイドをはじめとする免疫治療などを行うべきか否かの客観的指標を確立していく必要がある．

そこで，1) 藤田医科大学に入院，通院している COVID-19 症例を対象として，神経系の後遺症や遷延症状の特徴を横断的に解明する，2) 自然経過を後方視的に検討する，3) 新規症例を中心として，臨床特徴と各種画像・血液マーカーとの関連を明らかにする．4) 積極的な内科的治療介入が必要な症例を検出できるシステムを構築する，以上を目的とし研究を推進している．

【結果】

COVID-19 感染症では，虚血性脳梗塞だけでなく出血性脳梗塞の発症リスクも高くなる．2020 年 2 月から 2021 年 5 月までの 17 カ月間に COVID-19 感染の治療のために当院に入院した 450 名を後方視的に検討した．6 例（1.33%）に院内急性脳梗塞を発症した（4 例は虚血性脳梗塞，2 例は出血性脳梗塞）．この 6 名のうち，4 名は抗凝固療法中に脳梗塞を発症した．脳梗塞発症時の出血性脳梗塞患者 2 名の D-dimer 値は，ヘパリン投与中に 20.5 μg/dL と 27.4 μg/dL と極めて高い値であった．抗凝固療法を行わなかった脳梗塞は全例が虚血性脳卒中であり，いずれも D-dimer 値は 14.7 および 20.5 μg/dL と非常に高かったが，抗凝固療法開始後はすぐに 5.0 g/dl 以下に低下した．

また，COVID-19 感染症に伴い遷延する症状を呈する症例では，COVID-19 によるミトコンドリアの直接障害，あるいは低酸素によるミトコンドリア障害が遷延したエネルギー欠乏を起こす事が原因であるという説が多く提案されている．現在，原因も確定しておらず，有効な治療法のない COVID-19 遷延症状の原因究明と，治療法の確立は喫緊の課題である．我々

は神経変性疾患をベースとした知見から，全身のATP 欠乏の程度を，ATP 産生のサルベージ回路における中心的な分子であるヒポキサンチン濃度と，IMP の代謝物であるイノシン濃度を血液ならびに髄液において測定することで評価しうることを見出した．今後，COVID-19 遷延症状を有する症例に対して検討をしていく体制が整備された．

【考察】

COVID-19 感染では，脳血管障害のリスクが上がり，後遺症，遷延症状の原因となる．我々の検討では，低分子ヘパリンを用いていても D-dimer の著明な上昇を伴う場合には，出血性梗塞を起こす可能性が示唆された．一方，抗凝固療法を行っていない症例における D-dimer の上昇は，虚血性脳卒中を生ずるリスクとなりうることが併せて明らかとなった．適切な抗凝固療法を行う上で，D-dimer は良い指標になると期待される．

また，ミトコンドリア機能不全は，COVID-19 の危険因子である加齢の特徴の一つであり，ウイルス感染や慢性炎症に対する免疫学的反応の障害と関連している．我々は，ミトコンドリア機能障害によって引き起こされる慢性炎症が，COVID-19 患者の遷延症状に関与しているとの作業仮説の下，ヒポキサンチンとイノシンに着目したバイオマーカー開発にも着手している．

【結論】

藤田医科大学に入院した COVID-19 症例における虚血性ならびに出血性脳卒中の特徴を後方視的に示した．遷延症状の血液マーカー開発を開始した．

【参考文献】

Watanabe H, Bagarinao E, Maesawa S, Hara K, Kawabata K, Ogura A, Ohdake R, Shima S, Mizutani Y, Ueda A, Ito M, Katsuno M, Sobue G. Characteristics of Neural Network Changes in Normal Aging and Early Dementia. Front Aging Neurosci. 2021 Nov 22;13:747359.

（分担課題名）COVID-19 既感染精神・神経疾患患者の死後脳収集

分担研究者

三村將　　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室　教授

協力研究者

金井弥栄　慶應義塾大学医学部病理学教室　教授

女屋光基　下総精神医療研究センター　院長

鈴木寿臣　下総精神医療研究センター　医長

菊地俊暁　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室　講師

久保健一郎　東京慈恵会医科大学解剖学講座　教授

吉永怜史　東京慈恵会医科大学解剖学講座　助教

大角梓　　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室　研究員

南紀子　　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室　臨時職員

滝上紘之　慶應義塾大学医学部精神神経科学教室　助教

【緒言】

精神疾患の病態解明や根治的治療法の開発には，ヒト脳を用いた研究が重要である．脳を直接用いるためには，患者死後脳のリソース構築が必須となるが，精神疾患を対象としたブレインバンクの数は本邦では少ない．この背景には，複雑な歴史的経緯もあり，我が国の精神疾患患者が亡くなる際に，病理解剖に繋がるルートが乏しい現実がある．主として精神科病院において看取られる患者について，倫理的な問題に最大限配慮しつつ，国立精神神経医療研究センター(NCNP)などの解剖施設に搬送して病理解剖を行う枠組みを構築し，死後脳リソース構築を推進することを目的とする．さらに COVID-19 感染症対策において，精神科病院における感染が問題となっており，精神疾患患者における COVID-19 感染の解明のためにも死後脳リソース構築は重要である．

【方法】

「幅広い疾患の質の高い剖検脳リソースの構築を本邦で行う」ことを目的とした，NCNP ブレインバンク事業の一環として，慶應義塾大学医学部精神神経科学教室の関連精神科病院において亡くなる精神疾患患者からの検体収集を促進する活動を実施した．具体的には，東京都ならびに群馬県にある複数の精神科病院より，NCNP もしくは美原記念病院にご遺体を搬送するのに必要な連絡体制を確立し，当該精神科病院における自然死あるいは身体疾患による病死が見込まれる入院患者について，可能な場合は生前同意を取得し（同意能力に障害がある患者が少なくないため，生前同意を必須とはしていない），かつご遺族から研究参加への承諾が得られた場合に，上記の連絡体制を用いて病理解剖及び検体収集を実施した（身寄りのない患者や自死患者については，上記の条件を満たせないため対象外とした）．

【結果】

令和 3 年度から，当教室の関連精神科病院より 7 例，NCNP への搬送並びに解剖が実施された．そのうち，3 例が入院中に COVID-PCR 陽性が確認された例であった．

【考察】

精神科病院において看取られる精神疾患患者について，解剖施設に搬送し病理解剖を行なう枠組みを構築した．本分担課題において最も重要な点は，言うまでもなく倫理的な配慮に関するものである．患者本人による同意は本来，研究参加において極めて重要な位置を占める．しかし重症化／慢性化して退院困難となった精神疾患患者に生前同意を必須とすると，重症例（即ち，同意能力にも障害がある患者）の脳組織ほど収集できなくなり，その病態解明や根治的治療法の開発に支障をきたしかねないというジレンマがある．かつては精神科病院における病理解剖が現在よりも盛んに行われていた．その中において，誰の同意もないままに解剖が実施されてしまう事態の存在はどうやら例外的なものではなく，一部は国

際的な視座からの告発をも招くこととなった．このような経緯に鑑みると，倫理的側面に関するトラブルの発生が本研究全体を危地に陥れかねないことは論を俟たない．重症例の死後脳組織を収集可能になるようにしつつ，誰の同意もないまま剖検脳リソースへの組み入れがなされる事態を避けるため，ご遺族の同意を必須とした．裏を返せば，患者本人の同意があれどもご遺族の同意がない場合，あるいは身寄りがない場合は，組み入れは行われない．このことは，同意能力の不確かな患者本人から，不適切な形で同意取得がなされるリスクを回避するという点でも有用と考えられる．

このような倫理的配慮に基づき，3 例の COVID-19 感染症が関わる精神疾患の剖検例が得られたことは非常に有意義なことと考える．

【結論】

患者死後脳リソースを収集するシステムの構築は重要であり，精神疾患患者からの死後脳収集を行うために，精神科病院において亡くなる患者を解剖施設に搬送して病理解剖を行う枠組みを構築する取り組みの現状と，COVID-19 感染症に関わる剖検例に関して報告した．以上の活動は，精神疾患の根治的治療法開発，精神疾患における COVID-19 感染症治療の促進につながると期待される．

【参考文献】

八木剛平，田辺英『日本精神病治療史』金原出版，P177-178，2002

中谷陽二『危険な人間の系譜 選別と排除の思想』弘文堂，P199-231，2020

3-8 NCNP Brain bank and promotion of pre-life registration system

Principal Investigator: Masaki Takao
Department of Clinical Laboratory

NCNP Brain Bank has contributed to development of medicine and neuroscience since 2008. Due to the increase of demanding human brain tissues for neuroscience research, the role of brain bank is important. We have a multi-disciplinary systems including doctors, researchers, engineers, coordinators, and secretaries to keep our brain bank. The following three subjects are considered to be important for our brain bank.

- Promotion of autopsy and registration of brain bank including pre-life consent
- International level for neuropathological diagnosis
- Continuing activities as a hub for the Japan Brain Bank Network's hospitals
- Rapid preparation of human nervous system samples and contribution to medical science

After the PI was replaced in 2020, the following purposes were started:

1) The prion pathology survey center
2) Collaborating departments, psychiatry, neurology, neurosurgery, neuroradiology, and pediatrics, in the NCNP and collaborating affiliated hospitals for autopsy. Constructing psychiatry brain bank, supported by Keio university psychiatric group and pediatric brain bank.
3) Super-centenarian research
4) Traumatic brain injury research
5) Training of junior doctors
6) International cooperation and internationalization of diagnostic guidelines
7) Supporting and providing brain tissues for basic researchers
8) Improvement in ethics
9) Postmortem brain image and pathology
10) Utilizing the preserved brain, postmortem brain
11) Long-COVID research

Number of brain bank registrations in 2021 was 31. The number of autopsy in the pre-registration case was 9 cases. The number of autopsy from psychiatric hospital was 12. As to the prion diseases, 5 cases in 2021. In addition, 3 cases were obtained and registered at Mihara Memorial Hospital brain bank supported by PI. Pre-registration for brain bank were 383 individuals from 2007. In 2021, 29 cases were registered and 2 cases were withdrawn. We provided web-based CPC 11 times in 2021. Epilepsy pathology CPC were also carried for 11 times. In collaboration with the Center for Supercentenarian Medical Research of Keio University, we have started a pathological anatomical collaboration system for people over 110 years old in 2020. National Alzheimer's Coordinating Center (NACC) method for neuropathology was introduced to clarify the neuropathologic diagnosis. Cooperation with the Japan Brain bank network (JBBN) has been continued. We have expanded the affiliated facilities (over 10 hospitals) in order to increase the brain bank registered cases. In order to improve technical aspects of autopsy of junior doctors, we set the following goals for

them; dissecting brain, retina and spinal cord without any supports. One doctor received qualification of autopsy in 2021. As to the long-COVID research, we have started clinical, pathological, and molecular analyses. Besides the establishment of brain bank system, we have provided many samples to neuroscientist that published many papers using the human brain tissues. We must improve and develop our brain bank in terms of increasing variety of diseases such as prions, aging, pediatrics, psychiatric, and COVID-19 ones as well as to educate junior doctors to support the brain bank in future.

3-9 ゲノム編集技術を用いたモデル動物作出による精神神経筋疾患の病態解明

主任研究者　国立精神・神経医療研究センター
星野　幹雄

総括研究報告

1.研究目的

CRISPR/Cas9 システムに代表される簡便なゲノム編集技術の登場で、動物個体への遺伝子欠損・変異導入が従来よりも遥かに迅速・安価・高効率で実現可能となり、疾患動物モデル作出に対するハードルは低下した。本研究課題では NCNP 内で独自に導入・醸成されたこれら有用技術とバイオリソース・バンク、マウス行動解析ツールなどを各研究部で共有するプラットホームを立ち上げ、数多くの疾患モデルを体系的に作出・解析することによって、各種精神神経筋疾患の統合的な病態解明とそれら診断、治療法の開発をめざした。

具体的には、バイオリソースから見出した疾患型の遺伝子欠損・変異・重複などを各種動物ゲノムへ導入することから、統合失調症、自閉症スペクトラム障害、てんかん、Rett 症候群などの各種精神疾患、パーキンソン病などの各種神経変性疾患、遺伝性筋疾患を含む各種筋疾患の動物モデル作出を試み、得られたモデルを *in vitro, in vivo* で解析すると共に、実際の疾患症例と照応することによって、各種疾患の病態解明と新規診断法の開発を模索し、これら疾患モデルの症状改善に有効な薬剤の体系的探索等を通して新たな治療法の開発につなげる基盤研究を遂行した。さらには医療新時代に対応するため、インシリコ解析・人工知能（AI）解析基盤をセンター内に確立することを新たな目標とし、研究活動を開始した。また以上のように広範な課題を様々なレベルで効率良く相補・統合するような共同研究を推進することもセンターの発展に大きく寄与することが期待されるため、各研究部の優れた人材の相互理解と研究交流の機会を高頻度で持つことを重要な課題と位置づけ、研究目的の達成を後押しすることとした。

2.研究組織

主任研究者

星野　幹雄（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・病態生化学研究部）

分担研究者

井上　高良（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第六部）
野口　悟　（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第一部）
山田　光彦（国立精神・神経医療研究センター・精神保健研究所・精神薬理研究部）
株田　智弘（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第四部）
若月　修二（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第五部）
青木　吉嗣（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・遺伝子疾患治療研究）
村松 里衣子（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・神経薬理研究部）
山下　祐一（国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第七部）
岩﨑　真樹（国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経外科）
永井　義隆（近畿大学医学部　脳神経内科）
中島　欽一（九州大学大学院医学研究院　応用幹細胞医科学部門）
内匠　透　（神戸大学大学院 医学研究科）
山田　真弓（京都大学大学院 生命科学研究科）
宮下　聡　（新潟大学脳研究所 システム脳病態学分野）

研究協力者

国立精神・神経医療研究センター・神経研究所
（病態生化学研究部）
田谷　真一郎・ 堀　啓・大輪　智雄・
有村　奈利子・ 嶋岡　可純・橋詰　晃一・
足立　透真・白石　椋
（疾病研究第一部）
斎藤　良彦・大久保　真理子
（疾病研究第五部）
大野　萌馨
（疾病研究第六部）
井上　由紀子・浅見　淳子

（疾病研究第七部）
宗田　卓史・山口　博行・小島　大樹・
内田　裕輝
（遺伝子疾患治療研究部）
峰岸　かつら
（病院）
木村　唯子・高山　裕太郎・金子　裕・
飯島　圭哉・小路　直丈
国立精神神経医療研究センター・精神保健研究所
（精神薬理研究部）
古家　宏樹・中武　優子・三輪　秀樹・
小林　桃子・國石　洋・山田　美佐
近畿大学医学部脳神経内科
武内　敏秀・上山　盛夫・田港　朝也
東京都医学総合研究所
鈴木　マリ
九州大学大学院医学研究院
中嶋　秀行・笠原　由佳

３.研究成果

1.バイオリソース・技術開発研究

(1) CRISPR/Cas9 に基づくゲノム編集技術や細菌人工染色体（BAC）改変・修飾技術を駆使した疾患モデル動物・細胞の作出や解析基盤のアップデートが順調に進み、本年度は 109 系統（＝前回開発費 30-9 の 3 年間の実績に迫る）の遺伝子操作マウスの作出を行なった(井上)。(2)NCNP 病院のてんかん手術検体のバイオバンクへの登録を進めるとともに、それら検体から核酸抽出を行い、未知のてんかん分子病態に迫る基盤を整備した（岩崎)。

2. 精神疾患研究

(3) 精神疾患関連遺伝子 AUTS2 およびイハラてんかんラットの原因遺伝子 DSCAML1 の破壊や各種疾患型変異導入マウスを作出し、病態との関連や治療薬の探索につなげる研究(星野)、(4)様々なストレスとうつ病や不安障害発症との連関を構成概念妥当性の高い動物モデルを用いることから検索する研究（山田光)、(5) オートファジーによる RNA/DNA 分解系関連遺伝子を破壊もしくは過剰発現したマウス個体の解析に基づく病理解明(株田)、(6)MeCP2 変異マウスにおけるミクログリア異常活性化機序の解析に基づく Rett 症候群病理の解明（中島)、(7) ヒトゲノム解析から得られた自閉症関連遺伝子変異や染色体欠損をマウスに導入して体系的に病態を解析する研究（内匠）を進めた。

3. 神経疾患研究

(8)ユビキチンリガーゼ ZNRF1 と Na^+H^+交換輸送体 NHE5 により調節される蛋白質分解系が神経回路の形成と維持、変容に果たす役割を探る研究(若月)、(9)神経回路を修復するメカニズムの探索から神経変性疾患の新規治療薬剤開発を行う研究(村松)、(10) ショウジョウバエモデルを用いたポリグルタミン病発症の病理解明を目指す研究（永井)、(11) マウス成体脳における神経細胞新生を支える分子カスケードの解明から新生過程の外因的制御をめざす研究（山田真）を推進した。

4. 筋疾患研究

(12)ゲノム編集技術により患者変異を導入したマウスを体系的に作出し、多様な遺伝性筋疾患の分子病態解明をめざすのと同時にそれらモデルを用いて新規治療法開発につなげる研究（野口)、(13) ジストロフィン遺伝子のエキソンスキッピングを可視化する遺伝子操作マウスを作出し、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対する核酸医薬の網羅的スクリーニングに応用する研究（青木)、を遂行した。

5. インシリコ・AI 研究

(14)脳波や安静時機能的磁気共鳴画像などの高次元ビッグデータに対して、深層ニューラルネットワークを中心とする AI 技術を用いて解析し、各水準での特性を反映した特徴量を抽出可能とする技術を開発する研究（山下）、(15)小脳における介在神経の役割を各種バイオインフォマティクスやビッグデータ解析結果の効率的な次元圧縮を通して明白にする研究（宮下）を推進した。

6. センター内研究員の相互理解、共同研究の推進

(16)それぞれの研究の相互理解を深める研究会議を行い 20 課題に迫る共同研究が進んだ。

令和 3 年 7 月 1 日 ｷｯｸｵﾌﾐｰﾃｨﾝｸﾞ（Web 開催）
令和 4 年 2 月 24 日 班会議（Web 開催）

分担研究報告書

（課題名）ゲノム編集による精神疾患動物モデルの作出とその解析
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　病態生化学研究部
（氏　名）星野　幹雄

緒言

*AUTS2*遺伝子および*DSCAML1*遺伝子（イハラてんかんラットの原因遺伝子）はさまざまな精神疾患に関与する可能性が示唆されている。本研究では、ゲノム編集技術を用いてげっ歯類モデルを作成し、これらの遺伝子・蛋白質の果たす役割とその破綻による疾患病理の解明に努める。

方法

今年度は、*Auts2*の終脳特異的 cKO マウスを作成し、特に大脳皮質形成、大脳皮質神経細胞発生について表現型を調べるた。

結果と考察

終脳特異的な Auts2 の cKO マウスでは、大脳皮質の厚みが薄くなっていた。さらに特異マーカーでの免疫染色から、深層神経細胞の数は変わらないが、浅層神経細胞の数が顕著に
減少していることがわかった。ATUS2 遺伝子に変異を持つ AUTS2 症候群の患者では、小脳症を呈することがあるので、この表現型はそれを反映しているのかもしれない。また、発生途上のマウス脳において、神経細胞産生を調べたところ、ラディアルグリア (RGs)からの神経細胞産生には影響がないのに、
Intermediate Progenitors(IPs, 中間神経前駆細胞)からの神経細胞産生が大きく低下していることがわかった。RGs からは深層神経細胞が、IPs からは浅層神経細胞が生まれることがわかっているので、Auts2 cKO での浅層神経細胞の数の低下は、IPs からの神経細胞産生がうまくいかないことによると考えられた。IPs の細胞周期は、正常よりもかなり長く伸びていて、その結果として神経細胞の産生効率が悪いことが予想された。Auts2 がないと、なぜこのような IPs の機能異常が引き起こされるのかについて、これから詳細に研究していく。

結論

AUTS2 は IPs から神経細胞を生み出すところに関与する。この機能が失われると、結果として浅層神経細胞の数が減少し、AUTS2 シンドロームの一部で見られる小脳症の原因となることが示唆された。

参考文献（業績）

1. Adachi T, Miyashita S, Yamashita M, Shimoda M, Okonechnikov K, Chavez L, Kool M, Pfister SM, Inoue T, Kawauchi D, Hoshino M: Notch Signaling between Cerebellar Granule Cell Progenitors. *eNeuro*. 8(3) : 0468-20, May-Jun,2021
2. Izumi R, Hino M, Nagaoka A, Shishido R, Kakita A, Hoshino M, Kunii Y, Yabe H: Dysregulation of DPYSL2 expression by mTOR signaling in schizophrenia: Multi-level study of postmortem brain. *Neurosci Res*. 175: 73-81,Feb,2022

分担研究報告書

（課題名）CRISPR/Cas9 および BAC システムを用いた病態モデルマウスの作出
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第六部
（氏　名）井上　高良

緒言

精神・神経疾患に関わる網羅的ゲノム・エピゲノム情報の蓄積は近年飛躍的に進んだ一方、ゲノムの 9 割以上を占める遺伝子非コード領域の機能理解については解析技術基盤が未熟なため大きく立ち後れている。本研究ではヒト遺伝子の非コード領域に多数存在するゲノム欠失変異や SNP の機能的意義を、独自に醸成した細菌人工染色体（BAC）システムや CRISPR/Cas9 によるゲノム編集技術を駆使して体系的に究明することを目的とする。

方法

シナプス接着分子クラシックカドヘリン（Cdh）や *Autism susceptibility candidate gene 2*（Auts2）、オキシトシンレセプター（Oxtr）など自閉症スペクトラム障害(ASD)関連遺伝子に着目し、それらヒト遺伝子非コード領域に多数存在する ASD 関連 common variant 群を申請者固有の BAC を解析単位とした手法や CRISPR/Cas9 によるゲノム編集技術を用いてマウスゲノムに導入し、それらヒト化マウスの表現型を探ることから、ASD の実状に即した病態モデリングを試みる。

結果

CRISPR/Cas9 によるゲノム編集技術を用いて *Cdh6/8/11* 遺伝子座に異なるタグをノックインすることから、それら遺伝子発現様式の同時可視化に成功した（論文投稿準備中）。また Oxtr のマウスにおける発現局在を初めて正確に可視化するマウス系統を樹立するのと同時に、それら Oxtr 発現細胞で自在なゲノム操作を可能とする有用マウス系統の作出にも成功した（Inoue YU et al., 2022）。さらに BAC システムを利用して巨大遺伝子 *Cdh6/8* や *Auts2* の非コード領域における転写制御機序の詳細を解析した。

考察

ASD に関連する分子群を複数同時にノックアウトしたり、様々なタグノックインによってそれら発現動態を同時可視化したり、それら遺伝子発現制御ダイナミクスを体系的にスクリーニングしたりする技術が確立した（Inoue YU et al., 2021）ことによって、これまで以上に非コード領域の機能理解が深まることが期待されるのに加え、複雑な ASD 病態を初めてモデリング可能とする解析基盤が整ったといえる。今後はヒト化マウスを体系的に作出することから ASD 関連 common variant 群の機能的意義が初めて明確になることが期待される。

結論

本研究によって得られた成果と申請者による独自技術や新規開発手法を効率的に組み合わせることで、多因子性 ASD の実態を正確に反映した病態モデリングが大きく進展するとともに、それらヒト化モデルマウスの積極的活用によって新規診断法や治療法開発の加速につながることが見込まれる。

参考文献（業績）

1. Inoue YU et al. (2021) ***Cells*** 10, 1076. doi:10.3390/cells10051076.
2. Inoue YU et al. (2022) ***eNeuro*** 15, ENUERO.0423-21.2022. doi:10.1523/ENEURO.0423-21.2022. [Selected as a *Featured Article* of the issue and one of the *Cover Slides*]

分担研究報告書

（課題名）ゲノム編集技術を応用した遺伝性筋疾患の診断、病態解析、治療法開発
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第一部
（氏　名）野口　悟

緒言

分子シャペロンは、ミスフォールドタンパク質のリフォールディングを助けたり、または分解に導いたりするタンパク質の総称である。ストレス臓器である骨格筋では分子シャペロンとその補因子が多く発現し、タンパク質の恒常性に寄与している。これまでに、低分子シャペロンタンパク質 *CRYAB, HSPB8, DNAJB6* 遺伝子やヌクレオチド交換因子をコードする *BAG3,* 及び *SIL1* 遺伝子などの変異が神経筋疾患を引き起こすことが見出されており、疾患病態として変性タンパク質の蓄積による筋線維の変性が提唱されているが、基質となるタンパク質の同定されておらず、また、筋線維に蓄積するタンパク質の種類とその性質、毒性については、十分に解明されているとは言い難い。最近、我々は、筋原線維性ミオパチー患者家系で低分子熱ショックタンパク質 HSP40 ファミリータンパク質をコードする *DNAJB4* 遺伝子にミスセンス変異を認めた。本研究では、変異病因性を細胞実験にて評価するとともに、疾患モデルマウスを作製することで病態の解明に迫った。

方法

マウスと筋力測定

ヒト患者変異を再現した *Dnajb4* 遺伝子変異ノックインマウス（KI）、１塩基欠失をもつノックアウトマウス（KO）を、ゲノム編集によって作製した。骨格筋の筋力測定、組織染色は定法に基づいて行った。

細胞実験

Hela 細胞に、野生型および変異 DNAJB4 を、伸長ポリグルタミンタンパク質、変異デスミンともに発現させ、変異タンパク質集合体形成に対する変異 DNAJB4 の効果を測定した。また、野生型および変異 DNAJB4 を、正常型 TDP-43 とともに発現後、熱ショック処理による TDP43 の核内凝集物形成への効果を解析した。

結果

ヒト変異 DNAJB4 を導入した細胞では、ポリグルタミン伸長タンパク質および変異デスミンの細胞質集合体の形成を抑制した。一方、変異 DNAJB4 は正常 TDP-43 による核内凝集形成を促進させた。この効果は、変異 DNAJB4 の HSP70 結合能を抑制することで、キャンセルされた。*Dnajb4* 遺伝子変異疾患モデルマウス（KI ヘテロ、KO ホモマウスともに）は、若齢においては、全く異常を示さなかった。高齢マウスでは握力の低下が認められ、かつ、ヒラメ筋の筋力は優位に低下していた。ヒラメ筋の組織染色では、萎縮筋線維が認められるとともに、ヒト患者筋で観察されたような細胞内凝集物の蓄積が観察された。この蓄積物の中心は p62、FLNC 陽性であり、それを取り囲むようにデスミンが染色された。電子顕微鏡観察では、筋原線維の変性が広範囲に観察され、Z 線と同様の電子密度をもつ沈着物がそれを取り囲むように配置されていた。自己貪食空胞は観察されなかった。

考察

細胞実験では、変異 DNAJB4 は TDP-43 の核内凝集物の生成を促進し、機能獲得変異のように考えられた。しかし、*Dnajb4* 遺伝子変異マウスは、KI、KO ともに同様な表現型が観察され、むしろ変異はドミナントネガティブ効果をもつと考えられた。この骨格筋の表現型は、高齢マウスに見られたことから、老化に伴う骨格筋のタンパク質恒常性維持システムがだんだん低下していく中で、*DNAJB4* 変異により HSP70 システムの機能喪失がある場合、基質タンパク質のリフォールディングまたは分解の低下により、細胞質での基質タンパク質の蓄積と筋原線維の変性が生じたものと考えられた。

結論

DNAJB4 遺伝子変異は、ヒト及びマウスで高齢発症筋原線維性ミオパチーを引き起こす。

参考文献

1. Inoue M et al. A recurrent homozygous ACTN2 variant associated with core myopathy. Acta Neuropathol 142, 785-788, 2021.

分担研究報告書

（課題名）ストレス性精神疾患モデル動物の作成と評価
（所　属）国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所　精神薬理研究部
（氏　名）山田　光彦

緒言

他個体の情動の表出がそれを目撃する個体に同様の情動を生じさせる現象を情動伝染と呼ぶ。情動伝染による他個体の負情動の伝達は、観察個体にストレス反応を惹起することが知られている。本研究では、共感を支える分子として知られるオキシトシンに着目し、情動伝染によりストレスが伝達される神経基盤の解明を目的とし、中武研究員と古家室長が中心となり、マウスを用いて行動神経科学的検討を行った。

方法

被験体マウスに、同種他個体が攻撃を受ける社会的敗北場面を目撃させることによりストレスを負荷した。被験体には、疾病6部・井上室長らにより作出された、オキシトシン受容体を標識できるOxtr-PA-T2A-tdTomatoマウスと、オキシトシン受容体発現細胞を操作できるOxtr-PA-T2A-iCreマウスを用いた。

結果

社会的敗北場面を目撃したマウスでは、血中コルチコステロン濃度が上昇しており、島皮質内のオキシトシン受容体発現細胞の活性化が観察された。そこで、ストレス伝達における島皮質の関与を検討するため、両側島皮質内へオキシトシン受容体阻害剤を局所投与した。その結果、社会的敗北の目撃によるすくみ反応の増加と、血中コルチコステロン濃度の上昇が抑制された。一方、実際に攻撃を受けた社会的敗北負荷マウスではオキシトシン受容体阻害剤投与の効果はみられなかった。次に、ストレス伝達の反復による情動行動の変化における島皮質内オキシトシンシグナルの関与を検討した。Oxtr-PA-T2A-iCreマウスの島皮質にAAV-DIO-NpHR-EYFPを投与し、反復的な社会的敗北場面の目撃中に島皮質に黄色光を照射することでオキシトシン受容体発現細胞の神経活動を抑制した。行動試験の結果、ストレス伝達の反復は社会性の低下や報酬感受性の低下を誘発したが、島皮質内オキシトシンシグナルの抑制によりこれらの行動変化が抑制されることが示された。

考察

社会的敗北場面の目撃により島皮質のオキシトシン受容体発現細胞が活性化したことや、オキシトシン受容体拮抗薬の島皮質内投与が目撃によるすくみ反応を抑制したことから、島皮質内オキシトシンシグナルがストレスの伝達を担っていることが示唆された。実際に攻撃を受けたマウスではこれらの変化がみられなかったことから、島皮質のオキシトシンシグナルは身体的ストレスの処理には関与しないと考えられる。また、オキシトシン受容体発現細胞の活動抑制により、社会的敗北場面への反復曝露による社会性および報酬感受性の低下が妨げられた。このことから、他者の負情動への共感による抑うつ状態への移行に島皮質オキシトシンシグナルが主要な役割を果たしていることが示唆された。

結論

島皮質内オキシトシンシグナルがストレス伝達を仲介することが明らかとなった。また、共感を介して伝達されたストレスの処理には、身体的ストレスを直接経験した場合とは異なる神経回路が関与していることが示唆された。本研究の知見は、間接的なトラウマ経験により生じるストレス関連精神疾患の発症機序の理解と新規治療法の開発に役立つことが期待される。

参考文献

1. Inoue YU, et al. Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation. eNeuro. 9(1):ENEURO.0423-21.2022.

分担研究報告書

（課題名）リソソーム分解系の分子機構と疾患との関連
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第四部
（氏　名）株田　智弘

緒言

細胞内成分の適切な分解は神経細胞を含む多くの細胞・組織の恒常性維持に必須のプロセスである。神経細胞内のタンパク質やRNAの蓄積は神経変性疾患の原因となると考えられている。細胞内異常RNAやタンパク質の分解促進をできれば、有効な治療法となり得ると期待されている。そのためには細胞内分解システムの理解が必要であるが、RNA分解機構をはじめ細胞内分解機構に関しては未だ不明な点が多く残されている。我々は近年、新たな細胞内核酸分解システムRNautophagy/DNautophagy (RDA)を見いだした。またRDAにおける核酸輸送体としてSIDT2を見いだした。SIDT2はタンパク質もリソソーム内に直接輸送することを見いだし、RDAとあわせて我々はDUMPと呼んでいる。本研究では、DUMPのメカニズム解析を行うとともに、ゲノム編集技術などを用いてDUMPの機能減弱動物や機能活性化動物を作製・解析する。以上により脳神経系におけるDUMPの生理的役割を明らかにする。

これまでの疫学的研究から肥満、糖尿病高血圧などの生活習慣病がアルツハイマー病発症リスクを高めることが明らかとなっている。このように脂質分解機構の理解は、生活習慣病や認知症など様々な疾患の解明と予防・治療法開発のために重要である。現在lipid droplet (LD)を分解する新規経路も発見しており、この経路の分子メカニズムと生理的意義についても解明を目指す。

方法

ミクロリポファジー（ミクロオートファジーによるLD分解）の分子機構解明を行なった。仮説としてリソソーム膜タンパク質とLD表面の脂質が結合し、この経路を仲介すると考えた。生化学的解析や細胞レベルの解析により研究を進めた。

結果

以前、我々はリソソーム膜タンパク質LAMP2Cのcytosolic domain (CD)が核酸結合能を有することを報告した。LAMP2Aは核酸結合能をもたず、LAMP2Bは結合能を有するが組織ライセート中では結合しないことか、LAMP2BのCDは核酸以外の物質と結合すると推測された。また、LAMP2BのCDは顕著なタンパク質結合能を示さなかったことか、LAMP2Bと脂質が結合すると考え研究を進め、結果としてLAMP2BのCDとLD表面に存在するリン脂質が直接結合することを見いだした。さらに、LAMP2Bがこの結合を介してミクロリポファジーを仲介することを示すデータを得た。また、ゲノム編集技術などを用いてLAMP2B KOマウス、LAMP2B transgenicマウスを作出し、現在脂肪蓄積への影響を動物個体レベルで解析中である。

考察

脂質分解の新たな分子メカニズムの理解により、アルツハイマー病や生活習慣病の予防・治療法開発に貢献する可能性がある。

結論

LAMP2BがLDリン脂質との結合を介してミクロリポファジーを仲介する。

分担研究報告書

（課題名）イオン恒常姓の破綻による精神・神経疾患発病機構の解明
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第五部
（氏　名）若月　修二

緒言

アルツハイマー病などの神経変性疾患、自閉スペクトラム症などの精神疾患患者の脳では、神経ネットワークの破綻が発病の主因である可能性が指摘されており、神経ネットワークの形成と維持、変容の分子基盤を明らかにすることは、疾患発病の分子機構を理解し、予防や治療の手がかりを得る上でも極めて重要である。本研究では、神経突起の変容機構に着目し、神経ネットワークの形成と維持、破綻におけるさまざまな細胞内反応の寄与を総合的に評価することにより、精神・神経疾患発病の新しい分子基盤を解明することを目的とする。

方法と結果

上記の目的を達成するため、神経突起の変容機構の鍵分子として我々が独自に同定したユビキチンリガーゼ ZNRF1（zinc and ring finger 1）とナトリウム・プロトン交換輸送体 NHE5（Na^+-H^+ exchanger 5)、また新たにリボ核タンパク質複合体 Vault に着目し、これらにより調節される細胞内シグナル伝達系の破綻が発病のきっかけとなる精神・神経疾患発病の新しい分子基盤を調査した。本年度は神経突起の変容における ZNRF1 の活性制御機構について調べた。

これまでに、NADPH オキシダーゼにより生成した活性酸素種が EGF 受容体による ZNRF1 のリン酸化・活性化を誘導し、神経突起変性を促進することを報告した。本年度の研究では、in vitro 神経突起変性モデルを用いて活性酸素種による ZNRF1 の活性化機構の詳細を調べ、p38 MAPK による NADPH オキシダーゼサブユニット p47‐phox（以下、p47 と記す）のリン酸化が ZNRF1 を活性化を誘導する「開始シグナル」としてはたらくことを明らかにした。

結論と考察

リン酸化型 p47 は ZNRF1 に直接結合するが、非リン酸化型 p47 は ZNRF1 に結合できず、その過剰発現は ZNRF1 活性化と神経突起変性を抑制した。リン酸化型 p47 は EGF 受容体による ZNRF1 のリン酸化を増強する可能性が示唆された。これらの結果から、p47 のリン酸化は ZNRF1 介する神経突起変性を開始するための重要なチェックポイントである可能性が示唆された。この発見は、活性酸素種を介する神経変性の調節機構の一端を明らかにするとともに、神経変性を食い止めるための新しい分子標的を提示した。

参考文献（業績）

1. Wakatsuki S and Araki T. Novel Molecular Basis for Synapse Formation: Small Non-coding Vault RNA Functions as a Riboregulator of MEK1 to Modulate Synaptogenesis. ***Front Mol Neurosci.*** (2021)14:748721.
2. 若月修二 small non-coding vault RNA によるシナプス形成の調節機構. **生化学** (2022)94:78-81.
3. Hagihira H., *et al.* (Wakatsuki S. as co-authors) Systematic analysis of brain lactate and pH levels in 65 animal models related to neuropsychiatric conditions. ***bioRxiv.*** doi:10.1101/2021.02.02.428362

分担研究報告書

（課題名）レポーター・マウス作製による神経筋疾患の遺伝子治療研究
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　遺伝子疾患治療研究部
（氏　名）青木　吉嗣

緒言

筋ジストロフィーを対象に蓄積された核酸医薬開発基盤を他の難治性神経・筋疾患に応用するには、効率的な核酸配列のスクリーニングおよび薬物動態の評価系が必要である。本研究の目的1は、ルシフェラーゼ（Luc)と近赤外領域に発光波長を有するAkaLumineを利用した発光イメージングシステムにより、非侵襲的にエクソン・スキップの誘導効果を評価可能な新規トランスジェニック(Luc-Tg)マウスの作出である。目的2は、Luc-Tgマウスを対象に、リアルタイム *in vivo* イメージングシステムを用いて、デリバリー能を高めた次世代アンチセンス核酸医薬の薬効・薬理を詳細に検討することである。

方法

Lucコード領域をジストロフィンエクソン／イントロンゲノム配列で分断し、エクソン23スキップの誘導により、Lucが発現するpCAGGS-Lucを構築する。このコンストラクトをマウス初代筋芽細胞に導入し、エクソン・スキップの誘導効果をプレートリーダーで評価するアッセイ系を確立する。更に、pCAGGS-Luc を導入したTgマウスを作出し、*in vivo* イメージングシステムの使用により、エクソン・スキップの薬効・薬理を評価可能なアッセイ系を確立する。

結果

pCAGGS-Lucをマウス由来初代筋芽細胞に導入し、PMOでエクソン23スキップを誘導したところ、PMOの濃度依存的にルシフェラーゼの活性の上昇が確認できた。次に、pCAGGS-Lucを導入したTgマウスを作出した。このTgマウスに対してPMOを筋注および全身投与したのち、IVIS imaging systemにより発光を解析したところマウスの体内において特異的にルシフェラーゼ による発光が確認できた。

考察

EGFP蛍光は、短波長のため生体組織透過性が不十分であり、赤血球由来のヘモグロビンやメラノサイトに起因する生体バックグラウンドのためS/N比が低い。それゆえ、EGFPレポーターTgマウスを用いたIVIS *in vivo* イメージングは、組織を採取した *ex vivo* イメージングとならざるを得ない。これに対し、ルシフェラーゼ（Luc)と生体組織透過性に優れる近赤外領域にλmaxを有するAkaLumineを利用することにより、マウス生体内での薬物動態をライブで観察する系を確立できる。

結論

Luc-Tgマウスの作出に成功した。Luc-Tgマウスを対象に薬剤デリバリー能を高めた修飾アンチセンス核酸を全身投与し、IVIS Imaging Systemを用いた薬効評価および薬物動態評価を行う。

成果物：欧文原著

1. Naito M, Minegishi K, Aoki Y, Miyata K. Size-tunable PEG-grafted copolymers as a polymeric nanoruler for passive targeting muscle tissues. Under review.

分担研究報告書

（課題名）神経回路の修復に関わる分子機構の解明
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　神経薬理研究部
（氏　名）村松　里衣子

緒言

炎症や外傷などで脳と脊髄からなる中枢神経系が傷つくと、様々な重篤な機能障害があらわれる。症状があらわれる理由の一つに、損傷部位を走行していた神経回路の破綻が挙げられる。成体の中枢神経回路は、個体発生期や末梢神経系と比較し、自然に修復する能力が低い。現時点で、臨床的に使用できる中枢神経回路の修復薬は存在せず、神経回路の修復薬の開発は患者やよりそう介護者から待ち望まれている。

分担研究者らはこれまでに、成体の中枢神経系にわずかに残存する神経回路の修復ポテンシャルに着目し、その作用を増強させる機序、特に細胞外環境に備わる修復促進作用を探求してきた。一方、発生過程での神経回路の形成は、外因性と内因性の機序により制御されるため、神経回路の修復に関しても内因性の機序が備わると予想される。神経回路の修復の内因性の分子メカニズムは、cAMP や Rho など普遍的に細胞の成長に促進的に作用する知見が蓄積しており、それらのシグナル伝達により制御される遺伝子発現の変動によって神経回路の発達が促進されると予想される。そこで、神経症状との関連が知られる遺伝子の中から、脳や神経細胞での発現量の高さ等の情報を組み合わせて抽出した遺伝子の中に、神経回路の修復を担う遺伝子を探索するに至った。

昨年度までの検討で、Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM)で”motor dysfunction”とアノテーションされる遺伝子から Protein Atlas に掲載されたデータを基に、脳での発現量が他の臓器の発現量の平均値より 2 倍高い遺伝子を抽出し、さらに Brain-RNAseq において神経細胞で他の中枢神経系細胞と比較して高発現する遺伝子を抽出した。上位 20 種類に対する siRNA を作成し、大脳皮質神経細胞へ導入し、神経突起長の計測を行い、Syt4 遺伝子の発現を抑制させることで神経突起の伸長効果が阻害される結果を得た。そこで、Syt4 が新規の神経回路の修復作用維持因子である可能性を考え、脊髄損傷マウスを用いて組織および行動解析を実施した。

方法

下部胸髄を半切断する脊髄損傷マウスを作成した。本モデルでは、下行性の運動神経回路である皮質脊髄路が損傷されるため、大脳皮質の運動野へ Yellow fluorescent protein (YFP)および Syt4 shRNA を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを局所投与し（両側)、皮質脊髄路を可視化し、頚髄内の代償性神経回路の形成に対する作用を評価した。また、損傷部周囲における神経回路の走行と瘢痕形成や免疫系細胞の浸潤を免疫染色により評価した。脊髄損傷後の神経症状対する syt4 の寄与を検討するため、上述の処置を施したマウスを用いて運動機能を評価する行動試験を実施した。

結果

脊髄背側の皮質脊髄路走行領域において YFP で標識された軸索の数は、群間に差がない一方、頚髄を走行する YFP 陽性軸索数は、Syt4 shRNA 群ではコントロールと比較し有意に少なく、損傷に応答した皮質脊髄路の側枝形成に対して Syt4 が促進的に作用することが示唆された。損傷部位周囲の神経回路の走行および瘢痕の形成領域には群間の差はなかった。

考察

Syt4 発現抑制により皮質脊髄路の標識効率に差はないことから、Syt4 の発現抑制により顕著な神経変性効果は誘導されないと推察される。また損傷部位における神経回路の走行は瘢痕形成にも群間の差はなく、Syt4 は側枝形成に特異的に作用する可能性が推察された。

結論

Syt4 が神経回路修復に促進的に働くことが示唆された。

参考文献

なし

分担研究報告書

（課題名）AI を用いた精神神経疾患の研究
（所　属）国立精神・神経医療研究センター神経研究所　疾病研究第七部
（氏　名）山下　祐一

緒言・背景

医学・医療においてAI技術応用の必要性が高まっており、実際、世界中で様々な取り組みが行われている。AI理論・技術は、一般的な医学研究におけるツールとしての有用性のみならず、精神・神経疾患における脳に固有の病態を理解し、治療法を開発するうえで、その他の医学領域とは一線を画する特異的な貢献が期待されるため、本研究の目指す脳病態研究に特化したAI活用研究の必要性は非常に高い。
本研究班で集積する遺伝子・分子、神経生理、および認知・行動を含む多次元・多モダリティデータに対して、深層ニューラルネットワーク・AI技術を用いて、その潜在特徴量を抽出するための技術を開発することは、重要な課題である。

目的

本研究は、遺伝子・分子情報、脳波（EEG）・皮質脳波（ECoG）・構造および安静時機能的磁気共鳴画像（rsfMRI） などの高次元ビッグデータに対して、深層ニューラルネットワーク（DNN）を中心とする人工知能（AI）技術を用いて解析し、各水準での特性を反映した特徴量抽出技術を開発することを目的とする。
本課題によって、AIを用いた新しい解析技術が開発されれば、神経・精神疾患に関する分子生物学的、神経生理学的データの解析に応用できる可能性があり、当課題の研究が有機的に結びつくことにより、相互の研究を相補的に促進することが期待できる。

方法

本研究班で集積する遺伝子・分子、神経生理、および認知・行動を含む多次元・多モダリティデータに対して、深層ニューラルネットワーク・AI技術を用いて、その潜在特徴量を抽出するための基盤技術を開発する。
具体的には、深層ニューラルネットワークを用いた、教師なし特徴表現学習手法を用いた特徴量抽出法を探索的に検討する。抽出した特徴量に対して、回帰モデル、クラスタリング手法などを組み合わせることで、有効な特徴料抽出手法を探索的に構成する。

結果

高次元データからDNNを用いて特徴抽出するための基盤技術として、畳み込みネットワーク自己符号化器（CNN-AE）を用いて脳の構造MRIからの特徴量抽出方法の開発を行った。結果として、MRIに含まれる階層性と非線形性を伴いながら、15万次元の超高次元3D画像を約1000次元（0.7%）まで圧縮し、高い精度で再構成することに成功した。3次元脳画像をAEにより再構成することは、非常にチャレンジングな課題であり、通常の自然画像向けのCNNとは異なる、脳画像に特化したネットワークのアーキテクチャ構築によりこれを実現することができた。開発したCNN-AEは、テストデータに対しても十分小さいエラーで再構成が可能であり、汎化性能があることが示された[業績1]。
続いて、開発した高解像度（voxel-based）のMRIデータをCNNで解析する技術を安静時機能的MRIに適用することで、脳活動の個人特徴や認知的特性を反映しうる汎用特徴量抽出技術の開発を試みた。結果として、学習では経験していない未知のサンプル被験者の脳活動（rsfMRI画像）を、一人の個人に由来すると認識した上で、学習で経験した人の特徴の組み合わせとして表現できることが確認された。CNNによって抽出した特徴量を用いて、精神疾患（統合失調症）の診断予測を行ったところ、従来の機能的結合解析に基づく特徴量と同等以上の有効性を持つことが確認できた[業績2]。

考察

本研究で開発した高次元データからの特徴量抽出技術は、本研究班で集積する遺伝子・分子、神経生理、および認知・行動を含む多次元・多モダリティデータを解析するための基盤技術として役立つ可能性が期待される。

参考文献（業績）

1. Hashimoto Y, Ogata Y, Honda M, Yamashita Y* (2021) Deep Feature Extraction for Resting-State Functional MRI by Self-Supervised Learning and Application to Schizophrenia Diagnosis. Front. Neurosci. 15:696853.
2. Yamaguchi H, Hashimoto Y, Sugihara G, Miyata J, Murai T, Takahashi H, Honda M, Hishimoto A, Yamashita Y* (2021) Three-dimensional convolutional autoencoder extracts features of structural brain images with a diagnostic label-free approach: Application to schizophrenia datasets. Front. Neurosci. 15:652987.

分担研究報告書

（課題名）手術脳組織検体を用いた精神神経疾患の研究
（所　属）国立精神・神経医療研究センター病院脳神経外科・部長
（氏　名）岩崎　真樹

緒言

てんかんは様々な病態により脳内の神経回路が異常を起こし、それによって発作的に脳の神経細胞が異常に同期もしくは興奮して症状を発現する病気である。てんかんの有病率は全人口の 1%とされており、重要な神経疾患である。
てんかんの主な治療は抗てんかん薬の内服であるが、薬剤抵抗性のてんかんには外科治療が行われる。今後、手術に代わる新しい低侵襲な治療法の開発を進めて行くに当たり、手術によって切除されたてんかん原性組織の分子生物学的解析は有用である。国立精神・神経医療研究センター病院の脳神経外科では国内最大規模のてんかん外科切除病変の蓄積がある。
本研究班では国内最大数のてんかん外科切除組織の分子生物学的な解析を行い、てんかん原性病変がてんかん発作を起こす機序を解明し、新規治療法開発に寄与することを目的とする。

方法

国立精神・神経研究センター病院に保存されている 300 症例のてんかん外科手術検体を使用する。
分子生物学的解析として、次世代シーケンサー・DNA メチレーション・RNA-seq・ウエスタンブロットを行う。
分子生物学的解析で得られた結果を臨床情報と照合し、てんかん発作との関連性を調べる。

結果

てんかん原性病変の内、腫瘍性病変の 78 例を対象に遺伝子解析を行ったところ、38 例に *BRAF* V600E 変異を、7 例に *FGFR1* 変異を認めた。その他は稀な遺伝子異常が 1〜2 例ずつに認めた。17 症例では原因となる遺伝子変異を特定できなかった。
54 症例で DNA メチレーション解析を行った。DNA メチレーションによる分類は、概ね遺伝子型と対応する分類となった。
52 症例で RNA-seq を行った。てんかんに関連する遺伝子群と腫瘍に関連する遺伝子群の発現上昇を認めた。
皮質形成異常に分類される症例は 190 例の蓄積があり、上記の腫瘍性病変と同様に遺伝子解析と RNA-seq の解析を進めている。海馬硬化症に分類される症例は 20 症例の蓄積があり、こちらも解析中である。

考察と結論

てんかん原性病変の手術検体の分子生物学的解析は、遺伝子型による分類を基本とした上で、RNA-seq と DNA メチレーション解析を加えることで、さらに細かく分類されることが分かった。また、RNA-seq では各分子分類に対応する特徴的な遺伝子発現パターンを抽出することで、新規治療法の開発につながる可能性がある。

参考文献

1. Louis DN et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Neuro-Oncology. 2021;23(8):1231-1251.

分担研究報告書

（課題名）ショウジョウバエモデルを用いた神経変性疾患のハイスループット病態解析・創薬研究

（所　属）近畿大学医学部　脳神経内科
（氏　名）永井　義隆

緒言

アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症（ALS)、ポリグルタミン病など多くの難治性神経疾患において遺伝子レベルの異常が明らかになり、病態解明・治療法開発を目指した研究が進んでいる。しかし、マウスなどの哺乳類モデルを用いた解析には膨大な労力・時間・経費を要することから、より迅速で簡便に解析が可能な動物モデルが必要とされている。そこで、本研究ではハイスループット解析に適するショウジョウバエに着目して、1) 様々な神経疾患モデルショウジョウバエのバンクを構築し、広く一般ユーザーへ公開して全国的な共同研究を展開する。また、2) 疾患モデルショウジョウバエを用いて、神経疾患病態解析および治療研究を推進する。

今年度は、家族性 ALS の最も多い原因遺伝子変異（C9-ALS）である *C9orf72* 遺伝子非翻訳領域内の GGGGCC リピート配列の異常伸長が引き起こす神経変性メカニズムおよびその抑制分子を探索することを目的として、ショウジョウバエモデルを用いた研究を行った。

方法・結果・考察

異常伸長 GGGGCC リピートを発現する C9-ALS ショウジョウバエモデルを用いて、候補遺伝子スクリーニングを行った。スクリーニング候補として GGGGCC リピート RNA に結合する RNA 結合タンパク質（RNA binding protein: RBP）に着目した。交配により GGGGCC 異常伸長鎖と候補 RBP を共に複眼に発現させ、複眼変性に対する modifier 効果を指標にスクリーニングを行った。その結果、C9-ALS ショウジョウバエモデルの呈する複眼変性を改善させる RBP として、hnRNAP3、IGF2BP1、hnRNPA2B1、hnRNPR を同定した。リアルタイム PCR により RNA 発現量を定量した結果、これらの RBP は GGGGCC リピート RNA の発現量を減少させることを明らかにした。さらに、hnRNPA3 は GGGGCC リピート RNA の RNA foci 形成とリピート関連非 ATG 依存性翻訳（RAN 翻訳）によるジペプチドリピート（DPR）の産生を減少させることを明らかにした。

結論

以上の結果から、hnRNAP3 は GGGGCC リピート RNA に結合して発現量を減少させた結果、RNA foci 形成および RAN 翻訳による DPR の産生を減少させて、複眼変性を抑制すると考えられた。

参考文献（業績）

論文投稿準備中

分担研究報告書

（課題名）広汎性発達障害レット症候群の新規病態表出メカニズムの解明
（所　属）九州大学大学院医学研究院　応用幹細胞医科学部門
（氏　名）中島　欽一

緒言

MECP2 遺伝子変異は、Rett 症候群（RTT）をはじめ、自閉症などを含めた種々の発達障害・精神疾患への関与が示唆されているものの、発症機序の詳細は不明である。これまで、MECP2 変異によるニューロンの機能異常が RTT 発症の原因と考えられてきたが、最近グリア細胞の機能異常が RTT 発症の一因である可能性が示唆され始めてきた。そのような状況の中、本分担研究者らはミクログリアで高発現し、細菌・ウイルス由来 DNA を認識することが知られる Toll 様受容体 9（TLR9）の遺伝子欠損（KO）マウスと MeCP2KO マウスを交配して得た TLR9/MeCP2 二重欠損（WKO）マウスでは、寿命が著しく延長されることを発見した。そこで本研究では、MeCP2KO 及び TLR9/MeCP2WKO マウスの表現型解析を行った。

方法

MeCP2KO マウス脳ではニューロンのスパイン密度の減少とミクログリアの異常な活性化が報告されている。そこで、野生型、MeCP2KO、TLR9/MeCP2WKO マウス脳を用いて、活性化ミクログリアマーカーである CD68 抗体を用いて免疫染色を行った。また、ゴルジ染色を行いニューロンの形態変化を評価した。

結果

MeCP2KO マウスと比較し、TLR9/MeCP2WKO マウスでは海馬でのミクログリアの活性化が抑制されていることが明らかとなった。また、MeCP2KO マウスと比較し、TLR9/MeCP2WKO マウスの大脳皮質及び海馬ではニューロンのスパイン形成が改善していることが明らかとなった。

考察

本研究により、TLR9 の欠損により RTT 様の表現型が改善することがわかった。TLR9 は DNA を認識することが知られているため、MECP2KO マウス脳では自己由来の DNA がリガンドとなることで TLR9 シグナルを活性化していることが考えられた。

結論

本研究から、TLR9 シグナルの活性化が RTT 病態発症に関与していることが示された。今後は、TLR9 シグナルの阻害剤投与などにより RTT 様の表現型が改善するかどうかについて検討し、治療法の開発を目指す。

参考文献（業績）

1. Nakashima H, Tsujimura K, Irie K, Imamura T, Trujillo C, Ishizu M, Uesaka M, Pan M, Noguchi H, Okada K, Aoyagi K, Anodoh-Noda T, Okano H, Muotri A & Nakashima K: MeCP2 controls neural stem cell fate specification through miR-199a-mediated inhibition of BMP-Smad signaling. *Cell Reports*, 35, 109124 (2021),

分担研究報告書

（課題名）ゲノム編集技術を用いた自閉症モデル研究
（所　属）神戸大学大学院医学研究科
（氏　名）内匠　透

緒言

ヒト染色体 15q11-13 の重複は自閉症において高頻度に認められる染色体異常である。我々はこれまで、本領域を重複させた自閉症モデルマウス(15q dup)の作製し、自閉症様の行動学的異常、縫線核におけるセロトニン神経の活動低下、幼少期におけるシナプス代謝亢進など、種々の特徴的な異常を見出してきた。

本研究目的は自閉症様行動異常、および樹状突起スパインの異常に対して、15q11-13 領域におけるどの遺伝子が重要であるかを同定すること、またその分子メカニズムを明らかにすることである。

方法

15q dup マウスの重複領域、6 Mb 内に新たに 1.5 Mb の micro-duplication マウスを in vivo chromosome engineering 法を用いて作製し、本マウスで自閉症症状に相当する行動試験各種を行った。次に標的候補遺伝子を蛍光タンパク質と共に大脳皮質に導入し、2 日間の樹状突起スパインの動態、形態を二光子顕微鏡にて解析した。さらに、ゲノム編集技術を用いて、Ndn を 15q dup マウスから 1 コピー欠失させるマウスを作製し、その行動、または神経異常を調べた。

結果

1.5 Mb の重複マウスの行動解析の結果、本マウスは元々の 6 Mb 重複マウス(既報の自閉症モデル)と異なり、野生型マウスとの差が認められなかった。このことから、本領域に存在する snoRNA や miRNA の自閉症への関与が否定された。次に、樹状突起スパインへの関与を指標にし、残された候補遺伝子のスクリーニングを行ったところ、Ndn 遺伝子が樹状突起スパインの数、および、その形態を制御することが明らかとなった。更に、Ndn 遺伝子を CRISPR/Cas9 法により 6Mb 重複マウスから 1 コピー欠失させたマウスの表現型を調べると、行動学的異常だけでなく、大脳皮質の興奮/抑制バランス異常、樹状突起スパインの動態異常などが抑制された。

考察

ヒト染色体 15q11-q13 は数 Mb にもわたる領域であることから、特定の遺伝子が自閉症に寄与することを証明するのはこれまで技術的に難しかった。これを可能にしたのがゲノム編集技術であり、我々の行ったような解析パイプラインは他の染色体領域でも可能であり、特に範囲の広いコピー数多型においては強力なツールとなる。

結論

自閉症責任領域である 15q11-q13 の重複における原因遺伝子の一つとして、Ndn 遺伝子を同定した。

参考文献

1. Tamada et al, Nat Commun, 12, 4056, 2021

分担研究報告書

（課題名）ゲノム編集技術を用いた、生後脳・成体脳における新生ニューロンの生理的意義の解析

（所　属）京都大学大学院　生命科学研究科
（氏　名）山田　真弓

緒言

中枢神経系の発生過程において、神経幹細胞から神経細胞やグリア細胞が順次生み出され、複雑な脳組織が構築されていく。ほとんどの神経細胞は胎生期あるいは出生後しばらくの時期にのみ、神経幹細胞から生み出されると考えられてきた。しかし、近年の研究によって、哺乳類の成体脳においても神経幹細胞が存在し、側脳室周囲の脳室下帯や海馬歯状回といった特定の領域では、ニューロン新生が継続的に続いていることが分かってきた。成体脳において生み出される多くの新生ニューロンは既存の神経回路に組み込まれるが、そのメカニズムについては不明な点が多く、また、ニューロン新生の生理的意義についてはほとんど明らかにされていない。成体脳に存在する神経幹細胞は大部分が休眠状態であり、どのように神経幹細胞の性質が制御されているかについても未だ不明な点が多い。本研究課題では、培養細胞を用いて神経幹細胞の制御メカニズムを明らかにし、新生ニューロン特異的に遺伝子操作可能な遺伝子改変マウスを用いて、マウス成体脳にて検証することを目的とした。

方法

遺伝子発現の光操作技術を開発し(*Yamada et al. Cell Reports, 2018, Yamada et al., iScience, 2020*)、培養神経幹細胞に導入することで、分化運命決定因子の発現変動を、光操作を用いて行なった。細胞増殖や細胞分化を誘導した細胞を用いてRNAシークエンス解析を行い、細胞増殖あるいはニューロン分化過程における遺伝子ネットワーク解析を実施した。Bone Morphogenetic Protein（BMP）を用いて、培養細胞レベルにて休眠状態の神経幹細胞を作製し、上述の光操作技術を用いて、神経幹細胞が活性化状態に変化する様子を観察した。また、CRISPR/Cas9システム用いて、DCXやTubb3などの幼若ニューロンに特異的に発現する遺伝子の遺伝子座に、CreやFLPなどの組み換え酵素をノックインした遺伝子改変マウスを作製した（*Inoue et al., 2021, Imayoshi and Yamada et al.*, 論文投稿中）。

結果

培養神経幹細胞において、分化運命決定因子の遺伝子発現を光操作し、細胞増殖あるいはニューロン分化を促進させた。これらの細胞を用いて、RNAシークエンス解析を行い、下流遺伝子の探索、および、ネットワーク解析を実施中である。BMPを用いて神経幹細胞を休眠状態にし、さらに光操作技術を用いて、活性化状態あるいはニューロン分化を促進できる条件を検討した。また、DCX-CreやTubb3-Creマウス等を、蛍光タンパク質を発現するレポーターマウスと掛け合わせ、lineage trace解析を行なった。マウス胎児脳において、蛍光タンパク質で標識された細胞は、内在性のDCXあるいはTubb3と発現パターンがほぼ完全に一致していることが確認できた（論文投稿中）。さらに、組換え酵素依存的に蛍光タンパク質を発現誘導できるようなアデノ随伴ウイルス(AAV)ベクターを、これらの遺伝子改変マウスの成体脳海馬にインジェクションした。成体脳においては、新生ニューロンだけではなく、多くのニューロンで組換えが生じていた。そこで、Ascl1-CreERT2マウスと蛍光タンパク質を発現するレポーターマウスを用いて、成体脳の新生ニューロンだけを選択的に蛍光タンパク質で標識し、既存の神経回路への組み込み様式を解析した。その結果、成体脳の嗅球や海馬歯状回において、ニューロン新生が一生涯恒常的に起きていることを明らかにした。

考察

RNAシークエンス解析により、分化運命決定因子の下流遺伝子を探索し、まだ解析の途中であるが、分化運命決定因子の発現パターンの違いにより、下流遺伝子の発現モードが異なることが示唆された。この発現モードの違いが、細胞増殖と細胞分化の正確さやタイミングを制御しているのではないかと考えられた。今後さらに詳しく遺伝子ネットワークを解析することにより、神経幹細胞の制御メ

カニズムを明らかにしたい。また、哺乳類の成体脳において、多くの神経幹細胞は休眠状態であるため、BMP を用いて培養細胞レベルで休眠状態の神経幹細胞を作製することができる。休眠状態の細胞においても、分化運命決定因子の遺伝子発現の光操作を行ったが、遺伝子発現量、発現パターン、発現のタイミング等を詳細に検討する必要があると考えられた。また、遺伝子組み換えマウスを用いて、脳切片上にて新生ニューロンの神経回路組み込み様式を観察したが、細胞の移動様式を観察するのは困難であった。今後は脳全体を 3 次元画像で観察することにより、薬剤投与あるいは光操作を行なったマウス脳において新生ニューロンの移動様式を観察する予定である。

結論

遺伝子発現の光操作技術を用いて、培養神経幹細胞レベルにて、神経幹細胞の細胞増殖やニューロン分化を制御する遺伝子群の探索、および、遺伝子ネットワーク解析を行なった。また、遺伝子改変マウスを用いて、成体脳の新生ニューロンを特異的に標識し、その移動様式や既存の神経回路への組み込み様式を観察した。Cre 等の組換え酵素依存的に機能性分子を発現誘導できるような AAV ベクターやレンチウイルスベクターの開発とともに、遺伝子発現の光操作技術の開発・改良にも取り組んだ。

参考文献

1. *Yukiko U. Inoue, Yuki Morimoto, Mayumi Yamada, Ryosuke Kaneko, Kazumi Shimaoka, Shinji Oki, Mayuko Hotta, Junko Asami, Eriko Koike, Kei Hori, Mikio Hoshino, Itaru Imayoshi and *Takayoshi Inoue; An Optimized Preparation Method for Long ssDNA Donors to Facilitate Quick Knock-In Mouse Generation, Cells 2021, 10, 1076.
2. Mayumi Yamada, Shinji C. Nagasaki, Yusuke Suzuki, *Itaru Imayoshi; Optimization of light-inducible Gal4/UAS gene expression system in mammalian cells. *iScience.*, 23, 101506, September 25, 2020. DOI:10.1016/j.isci.2020.101506
3. Mayumi Yamada, Yusuke Suzuki, Shinji C. Nagasaki, Hiroyuki Okuno, *Itaru Imayoshi;Light control of the tet gene expression system in mammalian cells.*Cell Reports*, 25, p.487-500, October 9, 2018, DOI:10.1016/j.celrep.2018.09.026

分担研究報告書

（課題名）Unipolar brush cells が小脳機能に果たす役割の解明
（所　属）新潟大学脳研究所システム脳病態学分野
（氏　名）宮下　聡

緒言

小脳は、運動機能のみならず高次機能への関与及び精神疾患に関わることが報告されている脳領域である。小脳が認知機能に関与する場合には従来解析されてきた神経細胞からなる回路システムでは説明できない複雑な神経活動パターンを示すことが、近年の研究によって明らかになっている。本研究では、小脳皮質における興奮性の神経細胞であり、機能がほとんど解明されていない単極性刷毛細胞(Unipolar Brush Cells; UBCs)に着目し、UBCs の生理機能の解明及び小脳皮質回路の情報処理システムの理解を深めることを目的とする。本年度は主に、小脳のシングルセル RNAseq 解析を行い、UBCs のサブポピュレーション及びそのマーカー分子を同定することに成功した。さらに、UBCs のみで Cre を発現するマウスラインを用いて、UBCs が関与する神経回路の可視化や UBCs 特異的な神経活動阻害実験を今後実施していく予定である。

目的

本研究ではこのような解析を通じて、UBCs が関与する神経回路の解析や UBCs の欠損による小脳形成やマウス行動への影響を明らかにする。本研究によって、UBCs が小脳形成や機能に果たす役割を明らかにするとともに、小脳の情報処理システムに関する新たな側面が解明されることが期待される。

方法

公共の成体マウスの single cell RNAseq(scRNAseq)データを取得し、ラベルされた UBCs のみを抽出後、 subclustering を行い、UBCs をいくつかの細胞クラスターに分類した。さらに、クラスター間で有意に発現が変動している遺伝子を探索した。

結果

本研究では、scRNAseq データから得られた遺伝子発現情報によって分類することにより、合計 5 つのサブタイプを見出した。そのうちの 2 つは既報のサブタイプであったが、それ以外の 3 つの細胞群は、これまでに報告のない新規のサブタイプであった。

考察・結論

UBCs は、機能のほとんどが解明されていないものの、進化的・電気生理学的な側面から、小脳機能に対して重要な役割を持っていると推測される細胞である。UBCs はこれまで機能が未知の細胞群であったが、本研究による新たなサブタイプの同定は、UBC の機能解明と特性把握のために重要な進展である。今後は、本研究で得られた分子プロファイルから、細胞機能の推定を行っていく

参考文献（業績）

1. Miyashita S, Hoshino M. Transit Amplifying Progenitors in the Cerebellum: Similarities to and Differences from Transit Amplifying Cells in Other Brain Regions and between Species. Cells. 2022,11,726. doi: 10.3390/cells11040726.
2. Miyashita S, Owa T, Seto Y, Yamashita M, Aida S, Sone M, Ichijo K, Nishioka T, Kaibuchi K, Kawaguchi Y, Taya S, Hoshino M. Cyclin D1 controls development of cerebellar granule cell progenitors through phosphorylation and stabilization of ATOH1. EMBO J. 2021 40, e105712. doi: 10.15252/embj.2020105712.
3. Adachi T, Miyashita S, Yamashita M, Shimoda M, Okonechnikov K, Chavez L, Kool M, Pfister SM, Inoue T, Kawauchi D, Hoshino M. Notch Signaling between Cerebellar Granule Cell Progenitors. eNeuro. 2021, 12, ENEURO.0468-20.2021. doi: 10.1523/ENEURO.0468-20.2021
4. Nogami K, Maruyama Y, Sakai-Takemura F, Motohashi N, Elhussieny A, Imamura M, Miyashita S, Ogawa M, Noguchi S, Tamura Y, Kira JI, Aoki Y, Takeda S, Miyagoe-Suzuki Y. Pharmacological activation of SERCA ameliorates dystrophic phenotypes in dystrophin-deficient mdx mice. Hum Mol Genet. 2021, 31, 1006-1019. doi: 10.1093/hmg/ddab100.

3-9
Systematic studies and modeling of neuropsychiatric and muscular diseases based on genome editing technology

Mikio Hoshino, M.D. Ph.D.

Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience, National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

[Purpose of the study]

The recent progress in genome editing technology allows us to rapidly and systematically generate animal models for diseases. Now that many of causative genetic elements for various muscular, neurological and psychiatric diseases have been identified in genome-wide association studies, it is highly expected that those elements, if evaluated in animal models, could stand as immediate targets for diagnosis and therapy. However, studies and modeling of neuropsychiatric and muscular diseases are still in an immature state and little is established to treat those diseases by regenerative means of medicine.

Based on useful information accumulated in the bioresource bank of NCNP, a novel platform for big data analyses, and our advanced protocols for genome editing, our group aims at development of various useful animal models for neuropsychiatric and muscular diseases to better understand the intricate pathology.

[Members]

Chief scientist: Mikio Hoshino (NCNP)

Shared scientists: Takayoshi Inoue (NCNP), Satoru Noguchi (NCNP), Mitsuhiko Yamada (NCNP), Tomohiro Kabuta (NCNP), Shuji Wakatsuki (NCNP), Yoshitsugu Aoki (NCNP), Rieko Muramatsu (NCNP), Yuichi Yamashita (NCNP), Masaki Iwasaki (NCNP), Yoshitaka Nagai (Kindai University), Kinichi Nakashima (Kyushu University), Toru Takumi (Kobe University), Mayumi Yamada (Kyoto University), Satoshi Miyashita (Niigata University)

[Results]

Regarding research for technology and bioresource development, Dr. Inoue's group drastically improved CRSIPR/Cas9 based genome editing methods as well as bacterial artificial chromosome mediated functional genome mapping strategies to generate plenty of disease model mouse lines. Dr. Iwasaki's group surgically collected human brain samples from epileptic patients in NCNP hospital in an ethically approved manner to establish the useful bioresource bank.

As for studies and modeling of psychiatric diseases, Dr. Hoshino's group revealed complex gene regulatory features for the autism spectrum disorder (ASD), schizophrenia, attention deficit hyperactivity disorder, substance dependence and mental retardation related gene locus, Auts2. They also found out novel three types of human disease associated missense mutations in DSCAML1, the causative gene for epilepsy and modeled the mutations by knock-in mice. Dr. Mi Yamada's group tried to generate various schizophrenic model mice based on the GABA hypotheses for effective drug screenings. Dr. Kabuta's group investigated the RN/DNautophagy system to find out the essential function of DNA/RNA transporters in lysosomes. Dr. Nakashima's group showed ideal ways in investigating complex mechanisms of neuropsychiatric diseases such as ASD, Rett syndrome, bipolar disorders and mental retardation. Dr. Takumi's group shared the useful information in editing huge genomic territory to recapitulate intricate ASD pathology with us.

Regarding studies and modeling of neurological diseases, Dr. Wakatsuki's group revealed possible roles of ZNRF1 and NHE5 in neural circuit formation, maintenance and modification. Dr. Muramatsu's group screened molecules involved in neural circuit repair processes to identify several candidates. Dr. Nagai's group established the useful fruit fly bank for the modeling of various neurodegenerative diseases and clarified the correlation between GGGGCC repeat elongation and amyotrophic lateral sclerosis pathology in the fly model. Dr. Ma Yamada's group focused on the molecular cascade for mouse adult neurogenesis and visualized the process *in vivo* by means of CRSIPR/Cas9 based genome editing methods to finally achieve the optical control of adult neurogenesis.

For muscular diseases, Dr. Noguchi's group comprehensively modeled mutations identified from various familial muscular diseases by using the CRSIPR/Cas9 system. Dr. Aoki's group successfully generated transgenic mouse lines to reliably monitor exon-skipping efficiency of Dystrophin gene *in vivo* and established the screening platform for nucleic acid medicine to treat Duchenne muscular dystrophy.

As for in-silico and artificial intelligence (AI) based studies, Dr. Yamashita's group established protocols allowing effective extraction of feature values in using the deep neural network-based AI from various high dimensional medical bigdata such as chronologically changing brain waves and fMRI images. Dr. Miyashita's group found out a new method for the dimensional compression in analyzing variety of single cell RNA-seq data to better specify the composition of interneurons in the mouse cerebellum.

We held the kick-off meeting on Jul. 1, 2021 on web. We additionally held the online annual meeting where the results of our research were reported on Feb.24, 2022. We realized that the genome editing technology and AI based methodology indeed accelerates animal modeling and understanding of diseases. Our findings also suggested considerable cross-talks among causative genes for different neuropsychiatric diseases, such as ASD, Rett syndrome, bipolar disorders, schizophrenia and so on.

研究課題番号　3-10

精神・神経疾患での脳画像撮像および解析手法の標準化と臨床応用に関する研究

主任研究者
国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター
放射線診療部　部長　佐藤　典子

総括報告書

１．研究目的

３DT1 強調画像の構造 MRI は、非常に優れた安定した中枢神経疾患のバイオマーカーとして広く使用されているが、異なる機種や磁場強度の MRI のデータをそのまま使用できないことが多施設共同研究の高いハードルとなってきた。マイクロアレイの機種間補正法として開発され、経験的ベイズ推定を用いた Combat 法による Hormonization を用いて、異なる磁場強度、機種間での構造 MRI 画像での標準化し、その有効性について検証する。また成人のみならず、小児の正常脳のデータベース作成においても応用する。さらに複数のモダリティから得られる脳画像データから有効かつ精度良く情報を引き出すための統計解析手法を開発し，統計モデルの構築を行う．

構造 MRI の新しい解析手法として注目されているグラフ理論を用いたネットワーク解析手法を用いて、アルツハイマー病（AD）や軽度認知症（MCI）患者において、蛋白沈着が脳内ネットワークに与える影響を検討する。同時に認知症疾患、神経変性疾患に対して知症予防ソフト開発する。MR の新しい撮像法、解析法である拡散尖度画像、NODDI および自由水イメージング、位相差強調画像化法（PADRE）や定量的磁化率マッピングなどの新しい撮像を用いて、診断マーカーを模索する。また MRI 脳機能画像法(fMRI)においては、大脳、脳幹、脊髄をカバーする fMRI を開発しており、この技術を用いて疼痛閾値の低下と関係する部位を探索する。

脳 microglia のバイオマーカーである 11CDAA1106 をリガンドとする神経炎症 PET を立ち上げ、臨床研究が可能となるよう環境を整備する。そして慢性疲労症候群・COVID-19 後遺症、気分障害などを対象とした精神・神経疾患患者を対象とした研究を行い、未だ診断されずにいる多くの患者の病態解明に貢献する。

２．研究組織

主任研究者
佐藤　典子　国立精神・神経医療研究センター
分担研究者
佐藤　典子　国立精神・神経医療研究センター
松田　博　一般財団法人脳神経疾患研究所・附属南東北創薬・サイクロトロン研究センター
塩浜　直　千葉大学医学部附属病院　小児科
川口　淳　佐賀大学医学部
木村　有喜男　国立精神・神経医療研究センター病院　放射線診療部
阿部　十也　国立精神・神経医療研究センター脳病態統合イメージングセンター　先進画像研究部
沖田　恭治　国立精神・神経医療研究センター病院　精神診療部

３．研究成果

・構造 MRI 画像での標準化：異なる磁場強度の MRI 画像から求めた Harmonized Z-Score を用いて AD,進行性 MCI,非進行性 MCI が識別可能であることを示した。

・小児脳 MRI 標準化：6 歳～16 歳の正常発達児 702 の 3DT1 強調画像を収集し、Harmonization で統合した。

・マルチモダル脳画像解析：MR と PET 画像を用いた AD の疾患識別において、欠損画像があるために少ない症例数となった母集団と、敵対的生成ネットワークを用いて欠損画像を補完して症例数を増やした母集団とで比較すると、疾患判別性能は後者が優れていることを示した。

・構造 MRI を用いた個人脳ネットワーク解析：全脳のネットワーク指標であるスモールワールド性に最も寄与する因子は、MRI による測定した脳年齢と暦年齢の差である Brain Age Score で、次いで心不全の指標である脳性ナトリウム利尿ペプチドであった。どちらも認知症との関連が強く、個人脳ネットワーク解析の有用性を示した。

・MR の位相画像である PADRE を用いた FCD 検出：PADRE、T1WI、DIR で VSRAD を応用してそれぞれ健常データベースデータを作成し、FCD 検出能を比較検討したところ、いずれも単独では十分ではなかったが、総合的に活用すれば有用であることを示した。

・fMRI での脳と頚椎髄節の活動の同時計測：電気刺激、触覚刺激ともに皮膚分節に一致した髄節で優位な活動信号を認めた。

・11CDAA1106 をリガンドとする神経炎症 PET：倫理員会、PET 薬剤員会の承認を経て、健常被験者、Long COVID 患者、ME/CFS 患者、大うつ病性障害の患者の撮像を開始した。

４．研究成果刊行一覧

【論文】

1. Shigemoto, Y., Sato, N., Sone, D., Maikusa, N., Yamao, T., Kimura, Y., Chiba, E., Suzuki, F., Fujii, H., Takayama, Y., Iwasaki, M., Nakagawa, E., & Matsuda, H. (2021). Single-subject gray matter networks in temporal lobe epilepsy patients with hippocampal sclerosis. Epilepsy research, 177, 106766. Advance online publication. https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2021.106766 （査読有り）
2. Shigemoto, Y., Sone, D., Maikusa, N., Kimura, Y., Suzuki, F., Fujii, H., Sato, N., & Matsuda, H. (2021). Voxel-based correlation of ^{18}F-THK5351 accumulation with gray matter structural networks in cognitively normal older adults. eNeurologicalSci, 23, 100343. https://doi.org/10.1016/j.ensci.2021.100343 （査読有り）
3. Yamao, T., Miwa, K., Wagatsuma, K., Shigemoto, Y., Sato, N., Akamatsu, G., Ito, H., & Matsuda, H. (2021). Centiloid scale analysis for ^{18}F-THK5351 PET imaging in Alzheimer's disease. Physica medica : PM : an international journal devoted to the applications of physics to medicine and biology : official journal of the Italian Association of Biomedical Physics (AIFB), 82, 249-254. https://doi.org/10.1016/j.ejmp.2021.02.017 （査読有り）
4. Shigemoto, Y., Sone, D., Okita, K., Maikusa, N., Yamao, T., Kimura, Y., Suzuki, F., Fujii, H., Kato, K., Sato, N., & Matsuda, H. (2021). Gray matter structural networks related to ^{18}F-THK5351 retention in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease patients. eNeurologicalSci, 22, 100309. https://doi.org/10.1016/j.ensci.2021.100309 （査読有り）
5. Matsuda, H., Ito, K., Ishii, K., Shimosegawa, E., Okazawa, H., Mishina, M., Mizumura, S., Ishii, K., Okita, K., Shigemoto, Y., Kato, T., Takenaka, A.,

Kaida, H., Hanaoka, K., Matsunaga, K., Hatazawa, J., Ikawa, M., Tsujikawa, T., Morooka, M., Ishibashi, K., Sato, N. (2021). Quantitative Evaluation of ^{18}F-Flutemetamol PET in Patients with Cognitive Impairment and Suspected Alzheimer's Disease: A Multicenter Study. Frontiers in neurology, 11, 578753. https://doi.org/10.3389/fneur.2020.578753 （査読有り）

【図　書】

1. Matsuda H. Quantification in Brain SPECT: Noninvasive cerebral blood flow measurements using 99mTc-labeled tracers. PET and SPECT in Neurology, Dierckx RAJO, Otte A, deVries EFJ, van Waarde A (Eds),2nd ed. Springer, Heiderberg, 2021;pp53-72
2. Kawaguchi A, CRC Press, Multivariate Analysis for Neuroimaging Data. 2021年7月、215ページ

3-10「精神・神経疾患での脳画像撮像および解析手法の標準化と臨床応用に関する研究」

（分担課題名）構造 MRI 解析の標準化と臨床応用に関する研究

主任研究者
佐藤典子　　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部部長
協力研究者
舞草伯秀　国立精神・神経医療研究センター病院・放射線診療部研究員

【緒言】
MRI を用いた代理バイオマーカーとして、健常高齢の脳体積を参照とした Z-score が多く用いられているが、年齢・性別・頭蓋内容積および MRI 撮像装置の磁場強度の違いなどが脳体積計測に影響することが知られている。そこで本研究では、これらの因子を考慮した Harmonized Z-score を提案し、その有効性について検証する。

【方法】
本研究では、国立精神・神経医療研究センターにおいて取得された 1131 名の健常ボランティアの 3T MRI 3DT1 画像および J-ADNI データベースで公開されている健常高齢者の 1.5TMRI 3DT1 画像から 133 の解剖学的関心領域を独自の画像処理アルゴリズムで分割した。年齢・性別・頭蓋内容積・MRI の磁場強度の影響を一般線形モデルにより推定・除去し、これらの因子に不変な Harmonized Z-score を求めた。J-ADNI データベースから取得した 1.5TMRI データセットを用いて、AD 群 vs NL 群および stable MCI (sMCI)群 vs progressive MCI(pMCI)群の識別精度を ROC 解析による AUC により検証した。なお 1.5T および 3T MRI の健常者から Harmonized Z-Score を算出する健常データベースを作成した。

【結果】
右海馬の Harmonized Z-score を用いた場合、AD vs NL で AUC=0.96 および sMCIvs pMCI で AUC=0.70 と高い精度で識別可能であった。

【考察】
本研究で Harmonized Z-score は異なる磁場強度のデータを用いているが、高精度に 1.5T MRI の AD および MCI 群を識別できたことは、本手法が高い汎化性を有していることを示している。1.5T MRI で撮像された AD および sMCI と pMCI の識別が高精度で可能であった。

【結論】
本研究の成果より年齢・性別・頭蓋内容積・MRI の磁場強度に不変な代理バイオマーカーが算出可能であり、Harmonized Z-score が解析手法の標準化と臨床応用に有効であることが示された。

【参考文献】
1. Johnson W E, Cheng L, Rabinovic A: Adjusting batch effects in microarray expression data using empirical Bayes methods. Biostatistics 8(1), 118-127, 2007
2. Fortin JP, Parker D, Shinohara RT et al.: Harmonization of multi-site diffusion tensor imaging data. NeuroImage 161, 149-170, 2017
3. Fortin JP, Cullen N, Shinohara RT et al.: NeuroImage Harmonization of cortical thickness measurements across scanners and sites. NeuroImage 167, 104-120, 2018

構造 MRI 解析の標準化と臨床応用に関する研究

分担研究者所属：一般財団法人脳神経疾患研究所南東北創薬・サイクロトロン研究センター
分担研究者氏名：　松田　博史

【緒言】

グラフ理論におけるスモールワールド指数とは、クラスタリング係数（ランダムなグラフで予想される値で正規化）と平均最短経路長（これもランダムなグラフで予想される値で正規化）の比である。この指数は、脳内の情報伝達効率の指標として用いられる。本研究では、MRI の 3DT1 強調画像を用いグラフ理論により解析されたスモールワールド指数と認知機能、血液生化学データ、聴力、脳年齢等との関連を人間ドック受診者において解析し、認知症予防に役立てることを目的とした。

【方法】

総合南東北病院の人間ドックを受診した 30 歳から 88 歳まで（平均 60 歳）の 222 人（男性 135 人、女性 87 人）を対象とした。1. 5T の MRI の 3 次元 T1 強調画像を用いて機械学習による脳年齢測定、VSRAD による側頭葉内側部の萎縮測定、および個人レベルでの構造ネットワーク解析を行い、身体測定、聴力測定、CT による内臓脂肪および皮下脂肪測定、および血液生化学所見の合計 52 項目と全脳のスモールワールド指数との関連解析を部分的最小二乗回帰（Patrial Least Squares; PLS)を用いて行った。本研究は一般財団法人脳神経疾患研究所の倫理委員会で承認を得て後方視的に行った。

【結果】

スモールワールド性に寄与する因子は、全体では MRI による測定した脳年齢と暦年齢の差である Brain Age Score（負の相関)、心不全の指標である脳性ナトリウム利尿ペプチド(負の相関)、長谷川式認知症スケール（正の相関)、HbA1c（負の相関)、4000Hz 聴力低下（負の相関）の順であった。男性では Brain Age Score（負の相関)、脳性ナトリウム利尿ペプチド（負の相関)、4000Hz 聴力低下（負の相関）や、聴力（負の相関)、HbA1c（負の相関)、VSRAD での側頭葉内側部萎縮度（負の相関）の順であった。一方、女性では、Brain Age Score（負の相関)、尿素窒素（負の相関)、長谷川式認知症スケール（正の相関)、脳性ナトリウム利尿ペプチド（負の相関)、4000Hz 聴力低下（負の相関）や、聴力（負の相関)、クレアチニン eGFR（正の相関）の順であった。

【討論】

全体、男性、女性にわけて PLS 解析を行った結果、スモールワールド性に最も寄与する因子は、MRI により測定した Brain Age Score（負の相関）であった。脳性ナトリウム利尿ペプチド（負の相関）や、聴力（負の相関)、長谷川式認知機能スケール（正の相関)、HbA1c（負の相関）とも関連が高かった。脳性ナトリウム利尿ペプチドは、認知症との関連が報告されており、その上昇は心臓、神経血管、神経変性の病因の組み合わせを反映していると考えられている。

【結論】

構造 MRI により測定されるスモールワールド指数は認知機能を反映する。脳年齢を若く保ち、心不全を予防し、聴力を保つことが、この指数の低下を防ぐと考えられる。

【参考文献】

Franke, K., Gaser, C. Ten Years of BrainAGE as a neuroimaging biomarker of brain aging: What insights have we gained? Front Neurol. 2019;10:789. 10.1038/s41380-019-0446-9

小児脳 MRI 定量解析における年齢別基準値の創出

塩浜　直
千葉大学医学部附属病院　小児科

【緒言】

本邦では、先天異常症候群の定量的な脳形態と臨床症状に着目した研究は極めて少ない。希少疾患の単一施設への患者集積が難しく、さらに MRI 撮像機種間のバイアスが大きいため多施設共同研究が困難なことが要因と考えられる。本研究の目的は、撮像機種間の補正が可能な小児脳の基準値を確立し、将来的に様々な先天異常症候群の研究に応用可能な基盤とすることである。

【方法】

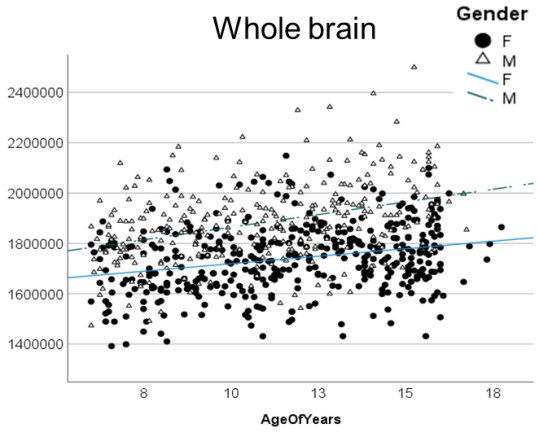
本研究では、基礎疾患のない小児の 3D-T1 強調画像を撮像し、CIVET のパイプラインを用いた網羅的に解剖学的構造解析を行う。①疾患脳の多施設共同研究のための基盤構築のために、MRI 機種間補正法による小児脳領域の基準値創出研究（Brain morphometry study with Across-Site Harmonization in Neurotypical Children; BASH-NC)、②正常小児脳における遺伝的・環境的調整因子を解明するために、出生コホート研究を行っている（BIrth Cohort study with Brain morphometry; BIC-B)の 2 つのプロジェクトを計画し、いずれも共同研究機関の倫理審査の承認を得ており、既に MRI 撮影を進めている。

いずれの研究でも、3D-T1 強調画像については、CIVET と FreeSurfer の二つのプログラムを用いて Voxel 法と Surface 法で解析を行う。BIC-B については、30 軸で撮像した拡散強調画像を用いて、拡散 MRI トラクトグラフィーを施行する。TrackVis を用いて HARDI 法により 6 つの連合線維（脳梁束、下前頭後頭束、下縦束、鉤束、帯状束、弓状束）を描出して、長さ、体積、FA 値、ADC 値を測定する。

【結果】

BASH-NC：日米 5 施設より 702 画像（6 歳以上 16 歳未満の正常発達児）を集積した。CIVET を用いて Voxel 法による 36 領域の体積を算出した。多施設共同研究に由来する、MRI 撮像機種間のバイアスの発生に対しては、各領域の測定値を年齢と性別を共変量として経験的ベイズ法に基づいた Harmonization（ComBat 法）で統合することで克服した。この測定値をもとに年齢・性別毎の平均値と標準偏差を創出した。今後は巨脳症などの疾患 MRI の解析に応用方法の確立を目指す予定である。

【BASH-NC から創出した年齢別・性別の全脳容量】



BIC-B：環境省が行っている出生コホート研究である“エコチル調査”の千葉ユニットと共同し、胎生期から始まる前向きコホート研究に参加中の健常児の脳 MRI を撮影している。3 年間で 300 人の撮影を予定しており、開始後 3 か月で 95 人の登録が完了している。

【考察】

BASH-NC については、MRI 画像の集積が完了しており、すでに統計学的解析を開始した。BIC-B についても、順調に MRI 画像の撮像ができており、撮像が完了したのちに、解剖学的構造解析と拡散強調 MRI トラクトグラフィーの解析を行い、各脳 MRI 定量解析値と、遺伝子型、胎生期からの詳細な生活歴、血漿 microRNA、Proteomics、血中ホルモン値などの多様な解析データと紐づけた健常児データベースを作成する予定である。副次的な業績として脳 MRI 定量解析について小児科医に向けての啓発をするための総説を報告した（参考文献 1)。

【結論】

正常対照児を対象として、希少疾患の多施設共同研究の基盤を目指した BASH-NC、脳形態の遺伝的・環境因

子の研究基盤を目指したBIC-Bの二つの臨床研究を進めている。

【参考文献】

1）塩浜　直. 脳MRI定量解析の臨床応用への展望. 日本小児科学会雑誌 125巻 12号 Page1644-1654

多重モダリティ脳画像の統計学的解析に関する研究

分担研究者
川口　淳 1)

研究協力者
田尻　涼 1)

所属
1) 佐賀大学医学部

【緒言】
マルチモダル脳画像解析では撮影モダリティが増えるにつれ,被験者の負担,医療コストなどの問題より,すべての画像が揃った complete dataset (CD)の取得は難しくなる. 多くの場合, 一部のモダリティ画像に欠損が生じた incomplete dataset (ID)が得られ, 全ての画像が揃っていない被験者を削除したデータセット(listwise deletion dataset LDD)での解析が行われる. 本研究では GAN による生成画像を用いて, 欠測画像の補完を行い, マルチモダル脳画像解析を行う方法について検討する.

【方法】
データは公開データである Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative (ADNI)より 100 例の PET 画像と MRI 画像の両方を持つ CD を用いた. MRI 画像から PET 画像を生成する GAN として Pix2Pix を使用し, 14 例の画像で学習を行った. マルチモダル脳画像解析として Alzheimer's disease (AD)の判別のため,multi-block sparse multivariate analysis (MSMA)法を行った. CD よりランダムに 50 例或いは 80 例の PET 画像のみを欠損させた ID に対し, LDD と Pix2Pix により生成された PET 画像で欠損を補完した PCD を作成した. 50 例の検証用のデータにおいて MSMA 法のスコアを用いて AD を予測し, receiver operating characteristic 曲線の曲線下面積 (area under the curve: AUC)を計算し DeLong's test を比較した.

【結果】
CD において MSMA 法で抽出されたスコアの AUC は 0.77 であった. 欠損が 50 例の場合, LDD と PCD で求めたスコアの AUC はそれぞれ 0.775, 0.735 (p=0.38), 80 例の場合, それぞれ 0.615, 0.661 (p=0.08)であった.

【考察】
LDD のサンプルサイズが 20 例と極めて小さい場合, GAN を用いた PCD の 100 例で解析を行うのは有用である.

【結論】
PET 画像の欠損を LDD の 20 例とするよりも, Pix2Pix による生成画像を用い, PCD の 100 例で解析した方が AD の判別性能が高い傾向が見られた.

【参考文献】
Isola, P., Zhu, J. Y., Zhou, T., & Efros, A. A. (2017). Image-to-image translation with conditional adversarial networks. In Proceedings of the IEEE conference on computer vision and pattern recognition (pp. 1125-1134).

研究課題名：PADRE(phase difference enhanced imaging)、DIR (double inversion recovery) 法および T1WI における健常データベース作成による限局性皮質異形成 (focal cortical dysplasia) を原因とするてんかんの MRI 焦点検出能評価

名前：木村有喜男、佐藤典子
所属：国立精神・神経医療研究センター病院放射線診療部

【緒言】
位相差強調画像化法 (phase difference enhanced imaging: PADRE)は位相画像情報の中に含まれる組織の磁性情報を用いて画像を作成する方法である。一方、DIR (double inversion recovery) 法は脳脊髄液および大脳白質の２つの信号を同時に抑制し、皮質白質境界を明瞭にする手法で、てんかん焦点診断に有用とされている。本研究では、てんかん手術により限局性皮質異形成 (focal cortical dysplasia：FCD) と診断された患者の術前 MRI 画像を、Voxel-based Specific Regional analysis system for Alzheimer's Disease (VSRAD) の手法を応用して作成した PADRE、DIR、T1WI における健常データベースとそれぞれ統計解析処理を行って、焦点部位の検出能を比較評価した。

【方法】
外科切除により FCD と診断された成人症例は 6 例であった。健常データベースは 20～30 代の 26 人から作成した。各患者との比較解析は、健常データベースとの統計解析にてボクセル毎の Z スコアを算出し、増加および減少のそれぞれ Z スコア２以上の領域を表示した。その結果を術後の MRI による最終的な焦点部位と比較して、焦点部位と一致ありを 2 点、一致なしを 0 点、部分的な一致や焦点部位を含んだ検出ありを 1 点とした。合計点にて PADRE、DIR、T1WI の優劣を評価した。

【結果】
合計点は PADRE：4 点、DIR：6 点、T1WI：5 点となった。2 点を獲得した症例は、PADRE、DIR、T1WI のいずれも 2 症例ずつのみであった〔PADRE (2 点)：症例②⑥、DIR (2 点)：症例②④、T1WI (2 点)：症例①②〕。症例②は全ての撮像法で 2 点であった。その他はそれぞれが単独で 2 点となる症例であった。

【考察】
合計点からは、DIR (6 点) ＞T1WI (5 点) ＞PADRE (4 点) の順となったが、いずれも単独で診断に十分とは言えない結果であった。原因として、MRI negative が多い FCD type Ⅰ が多かったため、検出率が低かった可能性を考えた。また、それぞれが単独で 2 点となる症例があったことについては、それぞれの画像の成り立ちや特徴が異なるため、総合的に活用することで視覚評価の補助として使用できうるものと思われた。

【結論】
PADRE、DIR、T1WI の健常データベースは個別では診断に十分とは言えない結果であったが、MRI の視覚評価を補うツールとして有用となりうるものと思われた。

【参考文献】
1. Fujii H, Sato N, Kimura Y, et al.Delineation of the nerve fiber bundles of the infant brain associated with aging using phase difference-enhanced imaging: a preliminary study. Jpn J Radiol 2020 Aug;38(8):731-739.

2. G.S. Drenthen, et al.Journal of Neuroscience Methods 2020; 338: 108687.

3. Victoria-Elisabeth Gruber, et al. Neuropathol Appl Neurobiol. 2021; 47: 812-825

中心溝近傍の頭皮上電極から観察されるアルファ、ベータ波帯域の脳波律動と関係する脳回路基盤の同定

氏名：　阿部　十也[1]

所属：　[1]国立精神・神経医療研究センター 脳病態統合イメージングセンター 先進脳画像研究部

【背景】

頭皮上電極から脳波信号を記録すると、中心溝近傍（電極の C3, C4 に相当）からアルファ（８−１２Hz）、ベータ（１３−３０Hz）帯域の自発的な律動を観察する。運動想像でこのアルファ波、ベータ波は脱同期する。この律動変化はブレイン・マシン・インターフェース(BMI)の操作で注目されていた。近年、自閉症スペクトラム障害などの精神疾患で律動異常が観察され病態との関係性が調べられている。この律動を調整する脳回路は未だ理解が進んでいない。

【目的】

我々はこの脳波律動の変化と対応する脳部位を同定する研究計画を立てた。今年度は脳波・MRI データの統合解析を確立することに重点を置いた。

【方法】

若年健常者右利き２０名がこの研究に参加した。運動・認知課題を行わない安静時状態で脳波と MRI 機能画像の同時計測を１０分間行った。脳波はサンプリング周波数、5000Hz で３２チャンネルの記録を行った。MRI は繰り返し時間 RT３秒で全脳を撮像した。

脳波データは中心溝近傍の C3, C4 電極から記録した活動電位を解析した。MRI 撮像一枚一枚に対応した時間帯を一つの bin として区切り、bin ごとに周波数に対応したパワースペクトル密度関数を算出した。周波数軸で観察すると周波数に反比例してパワー密度の単調減衰が観察される。その上にアルファ、ベータ帯域のパワー・ピークが同定できる。周波数依存的なパワー密度の減衰は 1/f 揺らぎと呼ばれ、かつては生理学的意義が見いだせないノイズと考えられていた。しかし、1/f 揺らぎと脳機能の関係が最近報告されている。1/f 揺らぎとアルファ、ベータ帯域のパワー・ピークを分離する解析方法(irregular-resampling auto-spectral analysis (IRASA)[Wein and Liu, 2016 Brain Topography])を用いてそれぞれの帯域の 1/f 揺らぎ成分とピーク成分を算出した。アルファ、ベータ帯域の各成分パワーを変量として用いて、パワー変化と相関する脳部位を MRI 機能画像解析で求めた。

【結果および考察】

データ収集２０例中、１０例の個人解析が終了した。IRASA 手法で 1/f 揺らぎ成分とピーク成分の分離を個人レベルで確認した。アルファ帯域とベータ帯域のそれぞれの成分のパワー変化と神経相関する部位を個人レベルで解析中である。

【結論】

中心溝近傍のアルファ（８−１２Hz)、ベータ（１３−３０Hz）帯域の自発的な脳波律動は古くから報告されているが、その脳回路基盤は未だ理解が乏しい。さらに 1/f 揺らぎはノイズを考えられていたが、その機能的意義に注目が集まっている。我々は最近提案された分離手法を用い、それぞれの帯域の 1/f 揺らぎ成分とピーク成分の変化に対応した脳回路同定を進めていく。ここで得た知見を BMI 技術開発に役立てたい。近年、この自発的律動の異常が自閉症や統合失調症などの精神神経疾患で報告されている。BMI 応用だけでなく精神神経疾患の病態解明への展開も期待できるかもしれない。

精神・神経疾患における脳内炎症評価法開発と治療が脳内炎症に及ぼす影響の解明

国立精神・神経医療研究センター
病院精神診療部　沖田恭治

【緒言】

精神・神経疾患の一部において、神経炎症レベルが高いことがこれまでの研究で示唆されている(Rupprecht et al., 2010)。当センターにおいてヒトの生体脳で神経炎症レベルを評価する体制は整っていないが、本プロジェクトで使用する 11C-DAA1106 のような、脳内の免疫機能を担っているミクログリアの活性を測定するリガンドをもちいた PET 検査をおこなうことで、技術的には可能である。当センターでそれが可能になれば、希少疾患を含む精神・神経疾患の病態の解明や治療戦略の開発に大きく寄与することが可能になると思われる。本プロジェクトは大きく３つの研究プロトコールに分けられる。

【方法】

研究①:『神経炎症脳画像の健常データベースの構築』
20 代～60 代までの年齢層の健常被験者をリクルートし、反応速度や認知機能などを含む神経心理検査や、抑うつ・不安など精神症状を評価した後、11C-DAA1106 を使った PET 検査をおこない、健常者における神経炎症画像を収集・データベース化し、将来の疾患群を対象とした研究の対照データとして利用できるよう整備する。

研究②:『Long COVID および ME/CFS 患者を対象とした神経炎症の評価』
研究①と同様の神経心理検査や、抑うつ・不安など精神症状の評価、11C-DAA1106 を使った PET 検査を行う。

研究③:『電気けいれん療法（ECT）前後の神経炎症レベルの変化の評価』
当院精神科で ECT が導入される入院患者を対象とし 1 クール 12 回の ECT の前後に PET スキャンをおこない、ECT による脳内神経炎症の変化を評価し、精神症状の変化との関連も調査する。

【結果】

研究①：29 名（女性 19 名、男性 10 名）の PET 撮像を完了した。年齢は 38.7±11.28 才だった。11C-DAA1106 の結合、つまり神経炎症レベルの指標である SUVR の値は灰白質全体で 3.7±1.33、白質で 3.1±1.10 だった。またいずれの領域でも年齢と負の相関を認めた（灰白質：r=-0.396, p=0.033, 白質：r=-0.394, p=0.035)。

研究②：7 名（すべて女性）の PET 撮像が完了した。年齢は 35.6±12.18 才だった。そのうち有効な PET データは 5 名分で、SUVR の値は灰白質全体で 2.5±0.69、白質で 2.1±0.56 だった。

研究③：6 名の患者（男性 4 名、女性 2 名。大うつ病性障害 3 名、統合失調症スペクトラム 2 名、双極性感情障害 1 名）が参加し、4 名の患者が 2 回のスキャンを完了した。年齢は 48.5±14.31 才だった。1 回目のスキャンのうち有効な PET データは 5 名分で、SUVR の値は灰白質全体で 3.2±0.42、白質で 2.8±0.30 だった。2 回目のスキャンのうち有効な PET データは 3 名分（大うつ病性障害 2 名、統合失調症スペクトラム 1 名）で、SUVR の値は灰白質全体で 3.5±0.86、白質で 3.1±0.74 だった。3 名のデータを ECT 前後で比較してみると。灰白質では Pre: 3.1±0.47, Post: 3.5±0.86 (t=-0.594, p=0.613)、白質では Pre: 2.8±0.39, Post: 3.1±0.74（t=-0.616, p=0.601）だった（いずれも対応のある t 検定)。

【考察と結論】

当センターでこれまで行われていなかった神経炎症を評価する PET スキャンをスタートさせた。精神診療部・IBIC・放射線診療部の連携で ECT を導入する気分障害や統合失調症スペクトラムの患者を、IBIC・放射線診療部・免疫研究部および総合内科との連携で、ME/CFS や Long COVID を対象とした研究を立ち上げ、まだ少ないながらもリクルートが開始されている。今後はこれらの疾患群の n を増やしていくことが求められる。健常被験者のデータを構築することで、将来の他の精神・神経疾患を対象とした研究や、治験などにも貢献できる可能性があると考える。本報告書では灰白質全体と白質全体のデータを提示したが、FreeSurfer や FSL といった解析ソフトウェアで作成した脳の Region 毎の SUVR 値も算出しており、細かいセグメンテーションに特化した検討も可能である。

【参考文献】

Rupprecht, R., Papadopoulos, V., Rammes, G., Baghai, T.C., Fan, J., Akula, N., Groyer, G., Adams, D., and Schumacher, M. (2010). Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 9, 971-988.

3-10

A study on standardization and clinical application of brain image imaging and analysis methods for psychiatric and neurological disorders

Noriko Sato, MD, PhD.
Dept of Radiology, National Center of Neurology and Psychiatry Hospital

About the standardization of structural MRI images, the Harmonized Z-Scores obtained from MRI images with different magnetic field strengths could distinguish among AD, progressive MCI, and non-progressive MCI. We also investigated a method of multimodal brain image analysis for discriminating Alzheimer's disease by supplementing missing images with images generated by Generative Adversarial Networks, which showed the usefulness for it. The small-worldness based on graph theory was used as a measure of information transfer efficiency in the brain. We analyzed the relationship between the small-worldness using 3DT1-weighted MRI and cognitive function, blood biochemical data, hearing ability, brain age, etc. The small-worldness reflects cognitive function well. To establish the standard values of brain regional volumes in the Japanese pediatric population, we examined 702 images from neurotypical children with CIVET pipeline, and harmonized these obtained values with Combat methods.To evaluate the detectability of FCD (focal cortical dystplasia) by following MR sequences,such as PADRE, DIR, and T1WI, we created the healthy MR database and compared. None of them were sufficient by themselves, but they were shown to be useful if used comprehensively. On MR functional study, we acquired simultaneous recording of functional magnetic resonance imaging and EEG under a rest condition. We investigated the regions of the brain where activity was correlated with the power of the alpha band frequencies. In this year, we have finished individual analyses. We have started neuroinflammation PET scan with 11C-DAA1106, that is expected to make a decent contribution to clinical studies for neuropsychiatric diseases/disorders at NCNP. Healthy-control database consisted of 29 subjects' PET data especially would be useful for comparison studies.

令和3年度

精神・神経疾患研究開発費による研究報告集

令和4年8月発行

発行者　国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

編集者　国立精神・神経医療センター企画医療研究課研究係

〒187-8551　東京都小平市小川東町4－1－1

（TEL）０４２－３４６－１８７８

（FAX）０４２－３４６－１７７８