

令和4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

2022

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)

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	1
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	25
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	原 貴敏	49
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	79
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	153
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	197
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	243
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	273
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	277

(2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	317
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	339
3-3	認知症・神経変性疾患の基礎・臨床融合研究	岩坪 威	357
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	高橋 祐二	377
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	399
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	413
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	423
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	高尾 昌樹	445

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	483
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	511

(初年度班)

4-1	アディクションの病態・症候・治療に関する包括的研究	松本 俊彦	527
4-2	包括的精神保健サービスを実現するための協働のあり方と人材育成に関する研究	藤井 千代	549
4-3	新型コロナウイルスの罹患後精神症状に関する疫学的検討	西 大輔	561
4-4	神経発達症の多様性の基盤となる病態解明と個別性に応じた治療法の開発と普及	岡田 俊	567
4-5	持続可能で先進的なてんかん医療と遠隔医療を用いたデータベースの確立に関する研究	中川 栄二	577
4-6	データサイエンスと計算論研究の融合による脳病態研究の推進	本田 学	623

3 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

竹島 正浩 秋田大学大学院医学系研究科精神
科学講座

小曾根基裕 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・竹島・小曾根)

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 ウェブサービス (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、追加で多施設共同研究の一括審査を申請した。

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方針とした。

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と見積り、現在は NCNP で約 800 件、睡眠総合ケアクリニック代々木で約 16,000 件、日本大学で約 600 件、秋田大学では約 300 件、久留米大学で約 200 件のデータ組み入れが完了した。

II. 睡眠障害バイオマーカーの開発

① 日本人 restless legs 症候群 (RLS) 患者における周期性四肢運動の存在と臨床的意義について (井上)

周期性四肢運動 (periodic limb movements during sleep; PLMS) は睡眠中に生じる、四肢の反復性不随意運動であり、レストレスレッグス症候群 (Restless legs syndrome; RLS) に合併しやすい。PLMS は交感神経活動の overshoot をトリガーするため、RLS における夜間高血圧発現の要因になっている可能性が指摘されている。欧米における、成人の一般人口での RLS の有病率は、8~10%であるのに対し、日本を含めたアジアでの有病率はその半分以下であり、RLS 患者における PLMS 合併率は欧米に比べアジア人における合併率はかなり低く、高血圧との関連は欧米とは明らかに異なる。本研究では、RLS 連続例について PLMS の合併とその要因を調査し、合併する高血圧の背景要因を検討した。

2002 年 12 月から 2015 年 5 月の間に睡眠総合ケアクリニック代々木を初診した患者で、初診時時点で 20 歳以上の特発性 RLS 患者 (ICSD-3 基準) のうち、PSG が施行されており、IRLS (international restless legs syndrome rating scale)、血圧値の記録がある者および降圧剤の服用がある者を対象とし、後方視的に調査した。ドパミンアゴニスト、 $\alpha 2 \delta$ リガンド、ベンゾジアゼピン系薬剤を服用している者は除外した。PSG 実施時の血圧が収縮期血圧 ≥ 140 mmHg もしくは拡張期血圧 ≥ 90 mmHg である者、また血圧は正常値であっても降圧薬を日常的に服用している者を高血圧ありと定義した。対象者の臨床背景項目として、性別、年齢、BMI、既往歴、内服薬、RLS の家族歴、初診時のフェリチン値、IRLS を使用した。対象者における PLMS の合併率を調査し、これと背景指標の関係について検討した。また、高血圧の有無に関連する因子として、年齢、性別、BMI、IRLS、PSG における無呼吸低呼吸指数 (AHI)、PLMI を連続変数としてロジスティック回帰分析を行った。最初に全ての変数において単変量解析を行い、有意であった変数を用いて多変量解析

を行った。

RLS と診断された 1191 例のうち、468 例が解析対象となった。平均年齢は 51.1 ± 18.2 歳で、289 例(61.8%)が女性であった。IRLS の平均得点は 22.4 ± 7.7 で、およそ 80%が中等症~重症であった。AHI の平均値は $3.5 \pm 3.7/h$ であった。解析対象となった 468 例のうち、高血圧ありの基準を満たしたのは 67 例(14.3%)であった。また、PLMI $\geq 15/hr$ は 200 例 (42.7%)であった。

PLMI $\geq 15/h$ を従属変数とし、性別、年齢 (40 歳未満を reference とした)、BMI、既往歴、RLS の家族歴、初診時のフェリチン値、IRLS 得点、AHI (5/時間未満を reference とした) を独立変数としたロジスティック回帰分析を実施した。Multivariate model では、唯一高齢であること ($40 \leq < 60$; OR = 3.983, 95%CI = 2.312 - 6.863, $p < 0.001$, $60 \leq < > 60$; OR = 6.298, 95%CI = 3.802 - 10.432, $p < 0.001$) のみが PLMI $\geq 15/h$ と関連した。高血圧を従属変数としたロジスティック回帰分析 (Multivariate model) では、高齢であること (OR = 1.092, 95%CI = 1.065 - 1.120, $p < 0.001$)、BMI が高いこと (OR = 1.112, 95%CI = 1.017 - 1.217, $p = 0.020$) が高血圧に独立して有意に関連した。

RLS 患者の PLMS $\geq 15/hr$ 率は 42.7%であり、欧米人の水準に比べて低かった。これは韓国の報告とほとんど同率であり、アジア人 RLS 患者における PLMS の生じにくさを示唆している。RLS の罹患率のみならず、RLS 患者の PLMS 合併率にも人種差がある可能性がある。

PLMS の陽性率は RLS の重症度とは関連せず、年齢と有意に関連した。PLMS 病態は必ずしも RLS とは関連せず、加齢による脊髄交感神経活動の上昇が関連している可能性がある。高血圧に関連したのは、年齢と BMI のみであり、RLS 重症度、PLMS いずれも高血圧の関連要因ではなかった。

② うつ病に合併する睡眠障害の生理的解析 (鈴木)

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。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。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。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指標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、睡眠医療に携わる他の研究機関とともに、精神疾患および睡眠障害の客観指標開発に利用できる PSG データバンクを構築し、バンクデータを利用し、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。

日本大学医学部附属板橋病院睡眠センターで収集した PSG データおよびそれに紐づく臨床データを NCNP が管理するデータサーバーに集積する。うつ病以外の精神疾患や原発性睡眠障害の PSG データおよび臨床データを対照として利用し、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。

バンクデータを利用した研究「睡眠ポリグラフデータバンクを用いたうつ病に合併する睡眠障害の生理的特性に関する研究」を立案し、当院臨床研究倫理委員会の承認を得た。並行して、精神疾患における不眠の臨床的意義を深めるための検討を行なった。この検討に当たっては、過去に当院および滋賀医科大学病院で実施した SEEDs study のデータを利用した。144名の主要精神疾患の患者(うつ病71名、統合失調症25名、双極性障害22名、不安障害26名)から取得した睡眠および臨床症状のデータを解析したところ、対象とした全ての疾患において、不眠(アテネ不眠尺度で評価)と抑うつ症状(ベックうつ病調査票で評価)との間に有意な関連を認めた。

抑うつ症状は、うつ病や双極性障害などの気分障害以外の精神疾患でもみられ、生活の質(QOL)の低下や自殺リスクの上昇、治療反応性の低下など臨床的に重要な課題と関連することが知られている。

うつ病においては、不眠と抑うつ症状との間に密接な関連があることが知られているが、同様の関係は主要精神疾患においても共通してみられる特徴であることが明らかになった。

③ PSG データに基づく不眠症診断カテゴリ開発 (竹島)

慢性不眠症の治療抵抗要因の中で最も対応に困窮するのが睡眠状態誤認 (Sleep state misperception; SSM)である。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あり、薬物療法が奏功せず難治性で、睡眠薬の多剤併用・長期投与に陥る主な原因一つである。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。精神障害の患者は非精神障害の患者と比べ、睡眠薬の高力価使用や長期使用に陥りやすいことが知られており、精神障害の患者は SSM のハイリスク群かもしれない。そこで、本研究は PSG を行った精神障害の患者のデータを用い、睡眠状態誤認と関連する因子を探索することを目的とした。

秋田大学医学部附属病院に入院し、入院中に PSG で客観的睡眠状態を評価し、同時に睡眠日誌で主観的睡眠状態を評価した精神障害の患者を対象とした。以下の臨床指標を関連因子として抽出した。①デモグラフィック(年齢、性別、肥満指数[BMI]、精神疾患)、②病歴、③主観的睡眠指標(主観的総睡眠時間 [Sub_TST]、主観的入眠潜時 [Sub_SL]、主観的中途覚醒時間 [Sub_WASO])、④客観的睡眠指標(客観的総睡眠時間 [Obj_TST]、客観的入眠潜時 [Obj_SL]、客観的中途覚醒時間 [Obj_WASO]、無呼吸低呼吸指数 [AHI])、⑤不眠(不眠重症度評価尺度 [ISI])⑥睡眠状態(ピッツバーグ睡眠質問票 [PSQI])、⑦抑うつ(簡易抑うつ症状尺度 [QIDS])、⑧不安 (Generalized Anxiety Disorder-7 [GAD-7])、⑨過覚醒 (Hyper arousal scale [HAS])。睡眠状態誤認は主観的睡眠指標と客観的睡眠指標から算出した ($\Delta TST(Obj_TST - Sub_TST)$, $\Delta SL(Sub_SL - Obj_SL)$, $\Delta WASO(Sub_WASO - Obj_WASO)$)。

主観睡眠指標と客観的睡眠指標の乖離は対応サ

ンプルによる Wilcoxon の符号付き順位検定で調べた。相関関係についてはスピアマンの順位相関係数を用いた。秋田大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得て実施された。

精神障害患者 26 名より全 38 夜のデータが得られた。年齢の中央値は 44 歳、男性が 39%、BMI の中央値は 23.1kg/m² であった。精神障害の診断名は統合失調症が 50%、気分障害が 50%だった。主観的睡眠指標の中央値は Sub TST 460 分、Sub SL 30 分、Sub WASO 20 分、客観的睡眠指標の中央値は Obj TST 453 分、Obj SL 12 分、Obj WASO 32 分、AHI 2.3 回/時間だった。主観的症候評価尺度の中央値は ISI 13 点、PSQI 12 点、QIDS 13 点、GAD-7 8 点、HAS 38 点だった。睡眠状態誤認について、SL で主観評価と客観評価の間に有意差が認められたが ($p<0.001$)、TST と WASO については両群間に有意差は認められなかった ($p=0.815$, $p=0.157$, respectively)。ISI と Δ SL 間に有意な正の相関が認められ ($r=0.476$, $p=0.014$)、不眠症状の重症度が高いほど入眠潜時の睡眠状態誤認が大きくなることが示された。その他の項目については有意な関連は認められなかった。本研究のサンプルサイズは小さく、また考慮していない因子も多数あるため、今後さらなる研究が必要である。

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 (小曾根)

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を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。

昨年度に引き続き、院内の PSG および MSLT データを直近 1 年間のものから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開始している。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も開始し、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登録済みの院内データより抽出し解析を行っている。解析は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している。

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、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。すでにデータは各施設で格納可能な形態に変換し、バンクへの組み入れを進めている。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（20）件 うち査読付論文（20）件

1. Takaesu Y, Suzuki M, Moline M, Pinner K, Inabe K, Nishi Y, Kuriyama K. Effect of discontinuation of lemborexant following long-term treatment of insomnia disorder: Secondary analysis of a randomized clinical trial. *Clin Transl Sci*. 2022. doi: 10.1111/cts.13470
2. Kuriyama K. The association between work burnout and insomnia: how to prevent workers' insomnia. *Sleep and Biological Rhythms* 21(1):3-4, 2023. doi: 10.1007/s41105-022-00431-3
3. Otsuka Y, Kaneita Y, Tanaka K, Itani O, Matsumoto Y, Kuriyama K. Longitudinal assessment of lifestyle factors associated with nonrestorative sleep in Japan. *Sleep Med* 101:99-105, 2023. doi: 10.1016/j.sleep.2022.10.025
4. Utsumi T, Yoshiike T, Kaneita Y, Aritake-Okada S, Matsui K, Nagao K, Saitoh K, Otsuki R, Shigeta M, Suzuki M, Kuriyama K. The association between subjective-objective discrepancies in sleep duration and mortality in older men. *Sci Rep* 12(1):18650, 2022. doi: 10.1038/s41598-022-22065-8
5. Kawamura A, Yoshiike T, Matsuo M, Kadotani H, Oike Y, Kawasaki M, Kurumai Y, Nagao K, Takami M, Yamada N, Kuriyama K. Comparison of the usability of an automatic sleep staging program via portable 1-channel electroencephalograph and manual sleep staging with traditional polysomnography. *Sleep and Biological Rhythms* 21:85-95, 2023. doi: 10.1007/s41105-022-00421-5
6. Hazumi M, Matsui K, Tsuru A, Otsuki R, Nagao K, Ayabe N, Utsumi T, Fukumizu M, Kawamura A, Izuhara M, Yoshiike T, Kuriyama K. Relationship between COVID-19-specific occupational stressors and mental distress in frontline and non-frontline staff. *Heliyon* 8(8): e10310, 2022. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10310.
7. Otsuki R, Matsui K, Yoshiike T, Nagao K, Utsumi T, Tsuru A, Ayabe N, Hazumi M, Fukumizu M, Kuriyama K. Decrease in Social Zeitgebers Is Associated With Worsened Delayed Sleep-Wake Phase Disorder: Findings During the Pandemic in Japan. *Front Psychiatry* 13: 898600, 2022. doi: 10.3389/fpsy.2022.898600.
8. Inoue Y, Nishida M, Kubota N, Koebis M, Taninaga T, Muramoto K, Ishikawa K, Moline M. Comparison of the treatment effectiveness between lemborexant and zolpidem tartrate extended-release for insomnia disorder subtypes defined based on polysomnographic findings. *J Clin Sleep*

- Med. 19(3): 519-528, 2023. doi: 10.5664/jcsm.10378.
9. Sato M, Matsui K, Sasai-Sakuma T, Nishimura K, Inoue Y. The prevalence and associated factors of seasonal exacerbation of subjective symptoms in Japanese patients with restless legs syndrome. *Sleep Med.* 101: 238-243, 2023. doi: 10.1016/j.sleep.2022.11.017.
 10. Nishikawa N, Murata M, Hatano T, Mukai Y, Saitoh Y, Sakamoto T, Hanakawa T, Kamei Y, Tachimori H, Hatano K, Matsuda H, Taruno Y, Sawamoto N, Kajiyama Y, Ikenaka K, Kawabata K, Nakamura T, Iwaki H, Kadotani H, Sumi Y, Inoue Y, Hayashi T, Ikeuchi T, Shimo Y, Mochizuki H, Watanabe H, Hattori N, Takahashi Y, Takahashi R; Japan Parkinson's Progression Markers Initiative (J-PPMI) study group. Idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder in Japan: An observational study. *Parkinsonism Relat Disord.* 103: 129-135, 2022. doi: 10.1016/j.parkreldis.2022.08.011.
 11. Futenma K, Takaesu Y, Nakamura M, Hayashida K, Takeuchi N, Inoue Y. Metabolic-Syndrome-Related Comorbidities in Narcolepsy Spectrum Disorders: A Preliminary Cross-Sectional Study in Japan. *Int J Environ Res Public Health* 19(10): 6285, 2022. doi: 10.3390/ijerph19106285.
 12. Tanioka K, Kayaba M, Tomishima S, Komada Y, Inoue Y. Changes in sleep behavior, sleep problems, and psychological distress/health-related quality of life of young Japanese individuals before and during the COVID-19 pandemic. *Chronobiol Int.* 39(6): 781-791, 2022. doi: 10.1080/07420528.2022.2034839.
 13. Otsuka Y, Takeshima O, Itani O, Kaneko Y, Suzuki M, Matsumoto Y, Kaneita Y. Trends and socioeconomic inequities in insomnia-related symptoms among Japanese adults from 1995 to 2013. *J Affect Disord.* 323: 540-546, 2023. doi: 10.1016/j.jad.2022.11.056.
 14. Ogasawara M, Takeshima M, Kosaka S, Imanishi A, Itoh Y, Fujiwara D, Yoshizawa K, Ozaki N, Nakagome K, Mishima K. Exploratory Validation of Sleep-Tracking Devices in Patients with Psychiatric Disorders. *Nat Sci Sleep* 15: 301-312, 2023. doi: 10.2147/NSS.S400944.
 15. Tsuboi T, Takaesu Y, Hasegawa N, Ochi S, Fukumoto K, Ohi K, Muraoka H, Okada T, Kodaka F, Igarashi S, Iida H, Kashiwagi H, Hori H, Ichihashi K, Ogasawara K, Hashimoto N, Iga JI, Nakamura T, Usami M, Nagasawa T, Kido M, Komatsu H, Yamagata H, Atake K, Furihata R, Kikuchi S, Horai T, Takeshima M, Hirano Y, Makinodan M, Matsumoto J, Miura K, Hishimoto A, Numata S, Yamada H, Yasui-Furukori N, Inada K, Watanabe K, Hashimoto R. Effects of electroconvulsive therapy on the use of anxiolytics and sleep medications: a propensity score-matched analysis. *Psychiatry Clin Neurosci.* 77(1): 30-37, 2023. doi: 10.1111/pcn.13489.
 16. Ayabe N, Nakajima S, Okajima I, Inada K, Yamadera W, Yamashita H, Tachimori H, Kamei Y, Takeshima M, Inoue Y, Mishima K. Development and validation of the Japanese version of the Hyperarousal Scale. *BMC Psychiatry* 22(1): 617, 2022. doi: 10.1186/s12888-022-04243-0.
 17. Kato T, Ozone M, Kotorii N, Ohshima H, Hyoudou Y, Mori H, Wasano K, Hiejima H,

Habukawa M, Uchimura N.

18. Sleep Structure in Untreated Adults With ADHD: A Retrospective Study. *J Atten Disord.* 27(5): 488-498, 2023. doi: 10.1177/10870547231154898.
19. Watanabe Y, Kuroki T, Ichikawa D, Ozone M, Uchimura N, Ueno T. Effect of smartphone-based cognitive behavioral therapy app on insomnia: a randomized, double-blind study. *Sleep* 46(3): zsac270, 2023. doi: 10.1093/sleep/zsac270.
20. Hashida R, Matsuse H, Yokoyama S, Kawano S, Higashi E, Tajima H, Bekki M, Iwanaga S, Hara K, Nakamura Y, Kaneyuki Y, Nago T, Fukumoto Y, Ozone M, Uchimura N, Shiba N. Balance dysfunction the most significant cause of in-hospital falls in patients taking hypnotic drugs: A retrospective study. *PLoS One* 17(9): e0272832, 2022. doi: 10.1371/journal.pone.0272832.

分担研究課題名：日本人 restless legs 症候群 (RLS) 患者における周期性四肢運動の存在と臨床的意義について
 分担研究者：井上雄一¹⁾

研究協力者：谷岡洸介¹⁾、佐藤萌子²⁾、松井健太郎
 所属施設³⁾：¹⁾ 東京医科大学睡眠学講座、²⁾ 医療法人宇都宮 新直井病院、³⁾ 国立精神神経医療研究センター 臨床検査部 睡眠障害検査室

緒言

周期性四肢運動 (periodic limb movements during sleep; PLMS) は睡眠中に生じる、四肢の反復性不随意運動であり、レストレスレッグス症候群 (Restless legs syndrome; RLS) に合併しやすい。これは、両者病態に共通してドパミン神経伝達経路の障害が関与しているためと考えられている。また、PLMS は交感神経活動の overshoot をトリガーするため、RLS における夜間高血圧発現の要因になっていると報告されている¹⁾。

欧米における、成人の一般人口での RLS の有病率は、8~10%とされている^{1), 2), 3)} のに対し、日本を含めてアジアでの有病率はその半分以下の低水準であることがわかっている^{4), 5), 6)}。また、欧米の RLS 患者における PLMS 合併率はその 2/3 以上に達するとされているが^{1), 7), 8)}、アジア人における RLS の PLMS 合併率はこれに比べてかなり低いとの報告があるが、まだ小規模な研究にとどまっております⁹⁾、これが RLS に好発する高血圧にどの程度影響を及ぼしているかは明らかでない。

本研究では、これらを考慮して、RLS 連続例について PLMS の合併とその要因を調べ、これと共に RLS での高血圧合併について PLMS 陽性 (PLM index ≥ 15 /時間) を加えた背景要因との関係について検討を加えた。

方法

本研究は対象患者から書面によるインフォームドコンセントを得た上で施行された。2002 年 12 月から 2015 年 5 月の間に睡眠総合ケアクリニック代々木を初診した患者で、以下の条件を満たした患者を後方視的に調査した。(a) 睡眠障害国際分類第三版¹¹⁾に基づいて診断された、初診時時点で 20 歳以上の特発性 RLS 患者、(b) PSG (polysomnography) が施行されており、IRLS (international restless legs syndrome rating scale)¹²⁾、血圧値や降圧薬服用の有無といった血圧に関する記録があるもの。2 次性 RLS と、ドパミンアゴニスト、 $\alpha 2 \delta$ リガンド、ベンゾジアゼピン系薬剤を服用している者は除外した。

これらに対し、診断のための PSG 実施時の血圧を用い、収縮期血圧 ≥ 140 mmHg もしくは拡張期血圧 ≥ 90 mmHg であるもの⁴⁾、また血圧は正常値であっても降圧薬を日常的に服用しているものは高血圧ありと定義した。また、対象者の臨床背景項目として、性別、年齢、BMI、既往歴、内服薬、RLS の家族歴、初診時のフェリチン値、IRLS を確認した。

以上の情報を元に、対象者における PLMS の合併率を調査し、これと背景指標の関係について検討した。また、高血圧の有無に関連する因子として、年齢、性別、BMI、IRLS、PSG における無呼吸低呼吸指数 (AHI)、PLMI を連続変数としてロジスティック回帰分析を行った。最初に全ての変数において単変量解析を行った。本分析においては、単変量解析で有意であった変数を用いて多変量解析を行った。

結果

RLS と診断された 1191 例のうち、468 例が解析の対象となった。これには、フェリチン値が診療録より確認できなかった 39 例が含まれている。平均年齢は 51.1 ± 18.2 歳で、289 例 (61.8%) が女性であった。IRLS の平均得点は 22.4 ± 7.7 で、およそ 80% が中等症~重症であった。AHI の平均値は 3.5 ± 3.7 /h であった。解析対象となった 468 例のうち、高血圧ありの基準を満たしたのは 67 例 (14.3%) であった (Table 1)。

	Total (n=468)
Age	51.1 ± 18.2 [20-89]
Female	289 (61.8)
BMI (kg/m ²)	21.7 ± 3.2 [14.5-35.6]
SBP (mmHg)	120.6 ± 17.7 [80-210]
DBP (mmHg)	70.1 ± 11.0 [40-104]
HT	67 (14.3)
IRLS score	22.4 ± 7.7 [0-39]
IRLS severity	
Mild (0-10)	31 (6.6)
Moderate (11-20)	151 (32.3)
Severe (21-)	228 (48.7)
Very severe (31-)	58 (12.4)
Serum ferritin (ng/ml) (429)	79.0 ± 77.2 [0.4-620]
Family history	77 (16.5)
n-PSG variables	
TST (min)	359.3 ± 90.1 [16.0-593.5]
Sleep latency (min)	21.4 ± 33.5 [0-346]
N1 (%SPT)	15.3 ± 10.0 [1.4-79.0]
N2 (%SPT)	50.6 ± 14.3 [1.1-83.7]
N3 (%SPT)	3.7 ± 4.5 [0-35.9]
AHI (/hr)	3.5 ± 3.7 [0-26.3]
Arousal index (/hr)	19.8 ± 15.6 [0-187.5]
PLM index (/hr)	25.4 ± 36.6 [0-203.0]
PLM index ≥ 15 /hr	200 (42.7)
PLM arousal index (/hr)	6.8 ± 14.5 [0-176.3]

Respective variables are expressed as average \pm standard deviation [range] or number(%).

BMI, body mass index; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure; HT, hypertension; ESS, Epworth Sleepiness Scale; PSQI, Pittsburgh's Sleep Quality Index; IRLS, International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale; n-PSG, nocturnal polysomnogram; TST, total sleep time; SPT, sleep period time; AHI, apnea hypopnea index; PLM, periodic limb movements during sleep

また、PLMI ≥ 15 /hr は 200 例 (42, 7%) であった。

各年代での PLMI ≥ 5 /hr、PLMI ≥ 15 /hr の割合を表すと Figure1 のようになり、加齢により PLMS の罹患率が増加する傾向が示された (Figure 1)。

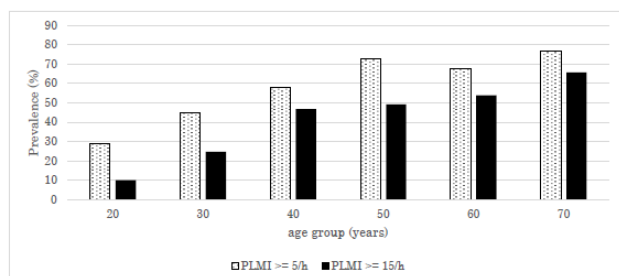


Fig.1 Prevalence of PLMI \geq 5/h or PLMI \geq 15/h in patients with restless legs syndrome stratified by 10-year age categories.
PLMI, periodic limb movement index

PLMI \geq 15/h を従属変数とし、性別、年齢 (40 歳未満を reference とした)、BMI、既往歴、RLS の家族歴、初診時のフェリチン値、IRLS 得点、AHI (5/時間未満を reference とした) を独立変数としたロジスティック回帰分析においては、univariate の解析では、高齢であること (40= $<$, $<$ 60; odds ratio [OR] = 4.115, 95% confidence interval [CI] = 2.394 - 7.075, $p <$ 0.001, 60= $<$; OR = 6.695, 95% CI = 4.080 - 10.986, $p <$ 0.001), AHI が高いこと (5= $<$, $<$ 15; OR = 2.052, 95% CI = 1.334 - 3.155, $p =$ 0.001) が有意であり、IRLS 得点は有意でなかった。multiple logistic regression model では、唯一高齢であること (40= $<$, $<$ 60; OR = 3.983, 95%CI = 2.312 - 6.863, $p <$ 0.001, 60= $<$; OR = 6.298, 95%CI = 3.802 - 10.432, $p <$ 0.001) だけが PLMI \geq 15/h 陽性と関連していた (Table 2)。

高血圧の存在を従属変数とした Univariate でのロジスティック回帰分析では、高齢であること (odds ratio [OR] = 1.088, 95% confidence interval [CI] = 1.062 - 1.114, $p <$ 0.001)、BMI が高いこと (OR = 1.084, 95%CI = 1.006 - 1.169, $p =$ 0.035)、AHI が高いこと (OR = 1.090, 95%CI = 1.025 - 1.158, $p =$ 0.006) が有意となった一方、PLMI は有意な関連を認めなかった (OR = 1.006, 95%CI = 1.000 - 1.012, $p =$ 0.060)。Multivariate model では、高齢であること (OR = 1.092, 95%CI = 1.065 - 1.120, $p <$ 0.001)、BMI が高いこと (OR = 1.112, 95%CI = 1.017 - 1.217, $p =$ 0.020) が高血圧に独立して有意に関連した (Table 3)。

考察

本研究の RLS 患者の PLMS \geq 15/hr の陽性率は 42.7% であり、前述した白人での水準に比べて低かった。これは韓国での結果 (PLMI \geq 5/h 57.9%, PLMI \geq 15/h 42.3%) とほとんど同様の割合であった⁹⁾; これはアジア人 RLS 患者における PLMS の生じにくさを示唆している。すなわち、RLS の罹患率に人種差があるだけでなく、RLS 患者の PLMS 合併率にも人種差がある可能性がある。

PLMS の存在には遺伝子の関与が多く報告されている。John Winkelman らが行った調査では、PLMS 罹患患者では

BTBD9、MEIS1、MAP2K5/SKOR1 で遺伝子多型を認めたと報告されており¹³⁾、Moore らは BTBD9、MEIS1、TOX3/BC034767 での遺伝子多型を報告している¹⁴⁾。特に、BTBD9 の rs3923809 は PLMS のない RLS 罹患患者には関連しなかったが RLS のない PLMS 罹患患者には強く関連しており、PLMS に特異的な遺伝子座と考えられている¹⁵⁾。日本人における BTBD9 の rs3923809 に関する研究はまだないが、韓国人はアイスランド人に比べて rs3923809 の頻度が少ないという報告がある¹⁶⁾ ことからみて、遺伝的な要因により、アジア人種において RLS 患者における PLMS 合併率が低くなる可能性を考慮すべきであろう。

本研究では、PLMS の陽性率が、RLS の重症度とは関連せず、年齢と有意に関連していた。一般人口を対象に PSG 検査を行った研究では PLMS の有病率に加齢が影響していることが示されており⁹⁾、同一人口について 4 年ごとに PSG を行った研究においても、年齢と共に PLMS 罹患率が上がることが示されている¹⁷⁾。すなわち、PLMS 病態は必ずしも RLS とは並行しておらず、遺伝学的背景と共に加齢による脊髄交感神経活動の上昇が関連している可能性があるだろう。

日本の一般人口において収縮期血圧 \geq 140mmHg の割合を調べた厚生労働省の調査では、男性が 29.9%、女性が 24.9%であった。本研究の RLS 患者における高血圧罹患率はこれに比べて若干低く、既報^{5),18),19)} とは異なり、RLS 罹患による高血圧罹患率の上昇は否定的であった。また、RLS 重症度、PLMS いずれも高血圧の関連要因にはならなかった。代わって、高血圧に関連したのは、年齢と BMI のみであった。年齢、BMI が高血圧のリスク因子になることは一般人口と同様である。

Brian らが米国人一般人口において PLMS 合併による高血圧への影響の人種差を調べた研究では、アフリカ系米国人・中国系米国人に関しては PLMS を合併することで日中の高血圧の罹患率が上がるが、ヒスパニック系米国人・Caucasians では高血圧の罹患に影響しないという人種差がみられた²⁰⁾。韓国での研究においても、PLMS の罹患は高血圧に関連しないことが示された²¹⁾。また、Pennestri ら一般人口での PLMS 罹患患者と RLS に合併した PLMS 罹患患者で、PLM による心拍変動と血圧変動を調べた研究では、一般人口では PLMS は血圧に影響しないという結果であった²²⁾。このように、PLMS を罹患することでの高血圧への影響に関しては一貫した見解が得られていない。本研究では、日本人 RLS における PLMS の高血圧への影響は否定的であったが、今後喫煙歴や飲酒歴など、血圧に影響する他の因子も加味して検討すべきであろう。

結論

日本における RLS 患者の PLMS 合併率を調査した結果、白人に比べて合併率が低いことが示された。また、PLMS の存在・頻度は血圧への影響はなかった。したがって、高血圧を合併した日本人 RLS 患者では、一般的な

高血圧症例に準じた治療が適応になると考えられた。

参考文献

1. Hening WA, Winkelman J, et al, *Clinical significance of RLS*. *Mov Disord*. 2007;22 Suppl 18:S395-400.
2. Tison, F., et al., *Epidemiology of restless legs syndrome in French adults: a nationwide survey: the INSTANT Study*. *Neurology*, 2005. **65**(2): p. 239-46.
3. Phillips, B., et al., *Prevalence and correlates of restless legs syndrome: results from the 2005 National Sleep Foundation Poll*. *Chest*, 2006. **129**(1): p. 76-80.
4. Berger, K., et al., *Sex and the risk of restless legs syndrome in the general population*. *Arch Intern Med*, 2004. **164**(2): p. 196-202.
5. Nomura, T., et al., *Prevalence of restless legs syndrome in a rural community in Japan*. *Mov Disord*, 2008. **23**(16): p. 2363-9.
6. Chen, N.H., et al., *The prevalence of restless legs syndrome in Taiwanese adults*. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2010. **64**(2): p. 170-8.
7. Tan, E.K., et al., *Restless legs syndrome in an Asian population: A study in Singapore*. *Mov Disord*, 2001. **16**(3): p. 577-9.
8. Montplaisir, J., et al., *Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria*. *Mov Disord*, 1997. **12**(1): p. 61-5.
9. Trotti, L.M., et al., *Correlates of PLMs variability over multiple nights and impact upon RLS diagnosis*. *Sleep Med*, 2009. **10**(6): p. 668-71.
10. Shin, J.W., et al., *Prevalence and Characteristics of Periodic Limb Movements during Sleep in Korean Adult Patients with Restless Legs Syndrome*. *J Clin Sleep Med*, 2016. **12**(8): p. 1089-97.
11. Ito, E. and Y. Inoue, [*The International Classification of Sleep Disorders, third edition. American Academy of Sleep Medicine. Includes bibliographies and index*]. *Nihon Rinsho*, 2015. **73**(6): p. 916-23.
12. Inoue Y, et al. *Reliability, validity, and responsiveness of the Japanese version of International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome in a clinical trial setting*. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2013 Sep;67(6):412-9
13. Winkelman, J.W., et al., *Genetic associations of periodic limb movements of sleep in the elderly for the MrOS sleep study*. *Sleep Med*, 2015. **16**(11): p. 1360-1365.
14. Moore, H., et al., *Periodic leg movements during sleep are associated with polymorphisms in BTBD9, TOX3/BC034767, MEIS1, MAP2K5/SKOR1, and PTPRD*. *Sleep*, 2014. **37**(9): p. 1535-42.
15. Stefansson, H., et al., *A genetic risk factor for periodic limb movements in sleep*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(7): p. 639-47.
16. Kim, M.K., et al., *Association of restless legs syndrome variants in Korean patients with restless legs syndrome*. *Sleep*, 2013. **36**(12): p. 1787-91.
17. Leary, E.B., et al., *Periodic limb movements in sleep: Prevalence and associated sleepiness in the Wisconsin Sleep Cohort*. *Clin Neurophysiol*, 2018. **129**(11): p. 2306-2314.
18. Sunwoo, J.S., et al., *Association between Restless Legs Syndrome Symptoms and Self-Reported Hypertension: a Nationwide Questionnaire Study in Korea*. *J Korean Med Sci*, 2019. **34**(16): p. e130.
19. Lu, J.P., L. Zhang, and W. Wang, [*A cross-racial analysis on the susceptible gene polymorphisms of salt-sensitive hypertension*]. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*, 2010. **38**(10): p. 943-8.
20. Koo, B.B., et al., *Periodic limb movements during sleep and prevalent hypertension in the multi-ethnic study of atherosclerosis*. *Hypertension*, 2015. **65**(1): p. 70-7.
21. Shin, D.S., et al., *Periodic Limb Movements During Sleep Are Not Associated With Hypertension in a Clinical Cohort of Korean Adults*. *Am J Hypertens*, 2018. **31**(11): p. 1228-1233.
22. Pennestri, M.H., et al., *Blood pressure changes associated with periodic leg movements during sleep in healthy subjects*. *Sleep Med*, 2013. **14**(6): p. 555-61.

Table2. Factors associated with PLMI $\geq 15/h$

Factors	n (%)	univariate			AOR
		AOR	95%CI	P	
Age (yr)	<40	159 (34.0)	1		1
	40= \leq <60	117 (25.0)	4.115	2.394-7.075	<0.001
	60= \leq <	192 (41.0)	6.695	4.080-10.986	<0.001
Sex	Male	179 (38.2)	1		
	Female	289 (61.8)	0.816	0.560-1.189	0.290
Family history of RLS	No	391 (83.5)	1		
	Yes	77 (16.5)	0.885	0.538-1.456	0.631
BMI (kg/m ²)	25=>	405 (86.5)	1		
	25=<	63 (13.5)	1.688	0.990-2.878	0.054
Serum ferritin (ng/ml)	50=>	238 (55.5)	1		
	<50	191 (44.5)	0.696	0.473-1.025	0.067
IRLS	<11	31 (6.6)	1		
	11= \leq <21	151 (32.3)	0.712	0.327-1.547	0.391
	21= \leq <31	228 (48.7)	0.518	0.243-1.102	0.088
	31= \leq <	58 (12.4)	0.624	0.259-1.501	0.292
AHI	<5	353 (75.4)	1		
	5= \leq <15	112 (24.0)	2.051	1.334-3.155	0.001
	15= \leq <30	3 (0.6)	0.798	0.072-8.883	0.854
	30= \leq <	0			

PLMI, periodic limb movements index; RLS, restless legs syndrome; BMI, body mass index; IRLS, International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale; AHI, apnea by adjusted odds ratio; CI, confidence interval

* Listwise deletion was utilized for 39 cases with missing data on serum ferritin.

Table3. Factors associated with hypertension

Factors	n (%)	univariate			multivariate			
		AOR	95%CI	P	AOR	95%CI	P	
Age (yr)	<40	159 (34.0)	1					
	40= \leq <60	117 (25.0)	14.766	1.863-117.047	0.011	12.977	1.629-103.412	0.015
	60= \leq <	192 (41.0)	65.059	8.888-476.241	<0.001	62.981	8.548-464.062	<0.001
Sex	Male	179 (38.2)	1					
	Female	289 (61.8)	1.129	0.659-1.934	0.659			
BMI (kg/m ²)	<25	405 (86.5)	1		1			
	25=<	63 (13.5)	2.624	1.397-4.928	0.003	2.693	1.306-5.556	0.007
IRLS	<11	31 (6.6)	1					
	11= \leq <21	151 (32.3)	1.151	0.367-3.611	0.809			
	21= \leq <31	228 (48.7)	1.102	0.362-3.359	0.864			
	31= \leq <	58 (12.4)	1.240	0.349-4.406	0.740			
PLMI	<15	268 (57.3)	1					
	15=<	200 (42.3)	1.459	0.868-2.450	0.154			
AHI	<5	353 (75.4)	1		1			
	5= \leq <15	112 (24.0)	2.301	1.332-3.973	0.003	1.265	0.692-2.314	0.446
	15= \leq <30	3 (0.6)	0.000	0	0.999	0	0	0.999
	30= \leq <	0						

The data was controlled for total sleep time, N1, N2, N3 and arousal index on nocturnal polysomnogram.

BMI, body mass index; IRLS, International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale; PLMI, periodic limb movements index; AOR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval

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。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¹⁾。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、終夜ポリグラフ検査 (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²⁾、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、睡眠医療に携わる他の研究機関とともに、精神疾患および睡眠障害の客観指標開発に利用できる PSG データバンクを構築する。その上で、バンクデータを利用し、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 データおよびそれに紐づく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 ga 集積され次第、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。

結果

昨年度に引き続き、当院が保有する既存データのアップロードを進めた。現時点で、約 400 例のデータをサーバーに納めている。また、本事業の運営母体となる「運営委員会」にて、バンクデータの利用方法の詳細や将来構想について他の研究者と議論を重ねた。

全参加施設の既取得データが代表機関に集積された後、直ちに分担課題が開始できるようバンクデータを利用した研究「睡眠ポリグラフデータバンクを用いたうつ病に

合併する睡眠障害の生理的特性に関する研究」を立案し、当院臨床研究倫理委員会の承認を得た。

上記と並行して、精神疾患における不眠の臨床的意義を深めるための検討を行なった。この検討に当たっては、過去に当院および滋賀医科大学病院で実施した SEEDs study のデータを利用した。144 名の主要精神疾患の患者（うつ病 71 名、統合失調症 25 名、双極性障害 22 名、不安障害 26 名）から取得した睡眠および臨床症状のデータを解析したところ、対象とした全ての疾患において、不眠（アテネ不眠尺度で評価）と抑うつ症状（ベックうつ病調査票で評価）との間に有意な関連を認めた³⁾。

考察

バンク構築のための方法がほぼ確立し、順調にデータ集積が進んでいる。参加施設の既存データが集積され次第、直ちに分担課題に着手する準備を整えることができた。

抑うつ症状は、うつ病や双極性障害などの気分障害以外の精神疾患でもみられ、生活の質 (QOL) の低下や自殺リスクの上昇、治療反応性の低下など臨床的に重要な課題と関連することが知られている^{4,5)}。うつ病においては、不眠と抑うつ症状との間に密接な関連があることが知られているが、同様の関係は主要精神疾患において共通してみられる特徴であることが明らかになった。

結論

国内初にして最大の PSG データバンクを構築するための方法がほぼ確立した。既存データを利用した検討から、うつ病以外の精神疾患においても睡眠の状況に着目することが、治療経過や予後の改善に重要である可能性が示唆された。

参考文献

1. Sunderajan P, Gaynes BN, Wisniewski SR et al: Insomnia in patients with depression: a STAR*D report. *CNS Spectr*. 15 : 394-404, 2010
2. Steiger A, Kimura M: Wake and sleep EEG provide biomarkers in depression. *J Psychiatr Res*. 44 : 242-52, 2010
3. Nakajima S, Kaneko Y, Fujii N, et al: Transdiagnostic association between subjective insomnia and depressive symptoms in major psychiatric disorders. *Frontiers in Psychiatry*, in press.
4. Conley RR, Ascher-Svanum H, Zhu B et al: The burden of depressive symptoms in the long-term treatment of patients with schizophrenia. *Schizophr Res*. 90:186-97, 2007

5. Wittchen HU: Generalized anxiety disorder: prevalence, burden, and cost to society. *Depress anxiety*. 16:162-71, 2002

分担研究課題名：PSG データに基づく不眠症診断のカテゴリ開発

分担研究者：竹島正浩

研究協力者：三島和夫、今西彩、伊藤結生、藤原大、馬越秋瀬、小笠原正弥、小坂峻平、工藤瑞樹、吉沢和久、柴田菜那、石川勇仁

所属施設：秋田大学大学院医学系研究科 精神科学講座

緒言

慢性不眠症の治療抵抗要因の中で最も対応に困窮するのが睡眠状態誤認 (Sleep state misperception; SSM) である。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あり¹、薬物療法が奏功せず難治性で、睡眠薬の多剤併用・長期投与に陥る主な原因の一つである。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。精神障害の患者は非精神障害の患者と比べ、睡眠薬の高力価使用や長期使用に陥りやすいことが知られており、精神障害の患者は SSM のハイリスク群かもしれない。そこで、本研究は PSG を行った精神障害の患者のデータを用い、睡眠状態誤認と関連する因子を探索することを目的とした。

方法

1. 対象者

秋田大学医学部附属病院に入院し、入院中に終夜睡眠ポリグラフ (PSG) で客観的睡眠状態を評価し、同時に睡眠日誌で主観的睡眠状態を評価した精神障害の患者を対象とした。

2. 評価項目

客観的睡眠状態は標準型睡眠ポリグラフ検査で、主観的睡眠状態は睡眠日誌で評価した。電子カルテより以下の項目を抽出した：①デモグラフィック (年齢、性別、肥満指数[BMI]、精神疾患)、②病歴、③主観的睡眠指標 (主観的総睡眠時間 [Sub_TST]、主観的入眠潜時 [Sub_SL]、主観的中途覚醒時間 [Sub_WASO])、④客観的睡眠指標 (客観的総睡眠時間 [Obj_TST]、客観的入眠潜時 [Obj_SL]、客観的中途覚醒時間 [Obj_WASO]、無呼吸低呼吸指数 [AHI])、⑤不眠 (不眠重症度評価尺度 [ISI]) ⑥睡眠状態 (ピッツバーグ睡眠質問票 [PSQI])、⑦抑うつ (簡易抑うつ症状尺度 [QIDS])、⑧不安 (Generalized Anxiety Disorder-7 [GAD-7])、⑨過覚醒 (Hyper arousal scale [HAS])。睡眠状態誤認は主観的睡眠指標と客観的睡眠指標から算出した ($\Delta TST(Obj_TST - Sub_TST)$, $\Delta SL(Sub_SL - Obj_SL)$, $\Delta WASO(Sub_WASO - Obj_WASO)$)。

3. 統計解析

名義変数は数 (%) で、連続変数は四分位で示した。主観睡眠指標と客観的睡眠指標の乖離は対応サンプルによる Wilcoxon の符号付き順位検定で調べた。相関関係についてはスピアマンズピアマンの順位相関係数を用

いた。すべての統計解析は SPSS ver28 で行い、有意水準は $p < 0.05$ とした。

4. 倫理的事項

本研究は秋田大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得ている。

結果

1. 対象者の臨床情報

精神障害患者 26 名より全 38 夜のデータが得られた。表 1 に対象者のデモグラフィックデータおよび主観的/客観的睡眠指標、主観的症候評価尺度のデータを示す。年齢の中央値は 44 歳、男性が 39%、BMI の中央値は 23.1 kg/m^2 であった。精神障害の診断名は統合失調症が 50%、気分障害が 50% だった。主観的睡眠指標の中央値は Sub TST 460 分、Sub SL 30 分、Sub WASO 20 分、客観的睡眠指標の中央値は Obj TST 453 分、Obj SL 12 分、Obj WASO 32 分、AHI 2.3 回/時間だった。主観的症候評価尺度の中央値は ISI 13 点、PSQI 12 点、QIDS 13 点、GAD-7 8 点、HAS 38 点だった。睡眠状態誤認について、SL で主観評価と客観評価の間に有意差が認められたが ($p < 0.001$)、TST と WASO については両群間に有意差は認められなかった ($p = 0.815$, $p = 0.157$, respectively)。

2. 精神障害患者における SSM

精神障害患者 26 名より全 38 夜のデータが得られた。表 1 に対象者のデモグラフィックデータおよび主観的/客観的睡眠指標、主観的症候評価尺度のデータを示す。年齢の中央値は 44 歳、男性が 39%、BMI の中央値は 23.1 kg/m^2 であった。精神障害の診断名は統合失調症が 50%、気分障害が 50% だった。主観的睡眠指標の中央値は Sub TST 460 分、Sub SL 30 分、Sub WASO 20 分、客観的睡眠指標の中央値は Obj TST 453 分、Obj SL 12 分、Obj WASO 32 分、AHI 2.3 回/時間だった。主観的症候評価尺度の中央値は ISI 13 点、PSQI 12 点、QIDS 13 点、GAD-7 8 点、HAS 38 点だった。睡眠状態誤認について、SL で主観評価と客観評価の間に有意差が認められたが ($p < 0.001$)、TST と WASO については両群間に有意差は認められなかった ($p = 0.815$, $p = 0.157$, respectively)。

3. SSM と主観的評価尺度、無呼吸低呼吸指数の関連

表 2 に睡眠状態誤認 (ΔTST 、 ΔSL 、 $\Delta WASO$) と主観的評価尺度、無呼吸低呼吸指数との関連を示す。ISI と ΔSL 間に有意な正の相関が認められ ($r = 0.476$, $p = 0.014$)、不眠症状の重症度が高いほど入眠潜時の睡眠状態誤認が大きくなることが示された。その他の項目については有意な関連は認められなかった。

考察

本研究では精神障害患者において SSM と関連する因子を探索したが、入眠潜時の SSM と不眠重症度に有意な関連は認められなかった。うつ病患者において SSM

を調査した先行研究によると¹、うつ病の重症度と中途覚醒時間のSSMが正の関連を示されたが、うつ病の重症度と睡眠潜時については調査されていなかった。本研究と先行研究では用いた評価尺度が異なることや、先行研究の対象者がうつ病のみであったのに対し、本研究の対象者は統合失調症と気分障害であったことなどが影響を及ぼしているかもしれない。

表1. 対象者の臨床データ

	全体
n(夜)	38
年齢(歳)	44[37-54]
性別(男)	15[39%]
BMI(kg/m ²)	23.1[19.5-28.5]
統合失調症	19[50%]
気分障害	19[50%]
Sub TST(分)	460[406-496]
Obj TST(分)	453[428-511]
Sub SL(分)	30[15-60]
Obj SL(分)	12[5-31]
Sub WASO(分)	20[10-53]
Obj WASO(分)	32[18-63]
AHI(回/時間)	2.3[0.9-6.1] [†]
ISI(点)	13[8-18] [†]
PSQI(点)	12[9-14] [†]
QIDS(点)	13[8-15] [†]
GAD-7(点)	8[7-13] [†]
HAS(点)	38[25-42] [†]

注釈：名義変数は数[%]で、連続変数は四分位で示した。

[†] 主観的症候評価尺度のある26例の値である。

略語：主観的総睡眠時間=Sub_TST、主観的入眠潜時=Sub_SL、主観的中途覚醒時間=Sub_WASO、客観的総睡眠時間=Obj_TST、客観的入眠潜時=Obj_SL、客観的中途覚醒時間=Obj_WASO、無呼吸低呼吸指数=AHI、不眠重症度評価尺度=ISI、ピッツバーグ睡眠質問票=PSQI、簡易抑うつ症状尺度=QIDS、Generalized Anxiety Disorder-7=GAD-7、Hyper arousal scale =HAS。

表2：SSMと主観的評価尺度、無呼吸低呼吸指数の相関

	ΔTST	ΔSL	ΔWASO
	相関係数 (p 値)	相関係数 (p 値)	相関係数 (p 値)
ISI	0.096(p=0.641)	0.476(p=0.014)*	-0.044(p=0.831)
PSQI	-0.003(p=0.989)	0.350(p=0.080)	-0.100(p=0.628)
QIDS	-0.02(p=0.922)	0.244(p=0.229)	-0.323(p=0.108)
GAD-7	-0.185(p=0.367)	-0.165(p=0.420)	-0.198(p=0.333)
HAS	0.090(p=0.661)	0.005(p=0.982)	0.177(p=0.387)
AHI	-0.122(p=0.465)	-0.165(p=0.322)	-0.264(p=0.109)

結論

本研究は精神障害患者においてもSSMと不眠重症度が関連することを示唆した。本研究のサンプルサイズは小さく、また考慮していない因子も多数あるため、今後さらなる研究が必要である。

参考文献

1. Utsumi, T, Yoshiike T, Kaneita S, et al. The association between subjective-objective discrepancies in sleep duration and mortality in older men. *Scientific Reports*, 12(1):18650, 2022.
2. Kawai K, Iwamoto K, Miyata S, et al. A Study of Factors Causing Sleep State Misperception in Patients with Depression. *Nature and Science of Sleep*, 14: 1273-1283, 2022.

分担研究課題名：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：小曾根基裕

研究協力者：内村直尚、土生川光成、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、小浦冬馬

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を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。昨年度に引き続き、院内のPSGおよびMSLTデータを直近1年間のものから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開始している。令和4年4月30日の時点での登録症例患者数は94人、PSGデータは95件、MSLTデータは91件分をEDFデータ化し登録済みである。登録と併せて、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も開始しており、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登録済みの院内データより

抽出し解析を行っている。解析は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している。本年度末までに約1000件を目標として引き続き院内データ登録を継続しつつ、本研究の中核である、データバンク内の他施設のデータを収集、利用し、当院内のデータと集約して分担研究課題を進めていく。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、その後英語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.
4. Kato T, Ozone M, Kotorii N, Ohshima H, Hyoudou Y, Mori H, Wasano K, Hiejima H, Habukawa M, Uchimura N. Sleep Structure in Untreated Adults With ADHD: A Retrospective Study. *J Atten Disord*. 2023 Mar;27(5):488-498. doi:10.1177/10870547231154898.

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 makes 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 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 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 additionally applied for batch review of the multicenter collaborative studies.

Existing PSG data from the collaborating facilities and the data from the PSG tests to be conducted is collected in a common format (European Data Format: EDF). In addition, metadata regarding clinical and background information on patients with sleep disorder is transferred via the cloud server in the Excel format, and a file integrating data from each facility is managed on the server. The metadata and PSG data server information is encrypted and strictly managed by the staff in this department. After anonymizing personal information, PSG data and metadata from each facility is uploaded sequentially, but the Department of Sleep-Wake Disorders, NCNP is 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 is 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 estimated 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. Currently, data incorporation has been completed for approximately 800 cases at NCNP, 16,000 cases at Yoyogi Sleep Disorder Center, 600 cases at Nihon University, 300 cases at Akita University, and 200 cases at Kurume University.

II. Development of Biomarkers for Sleep Disorders

① The presence and clinical significance of periodic limb movements in Japanese patients with restless legs syndrome

Periodic limb movements during sleep (PLMS) are repetitive involuntary movements of the limbs that occur during sleep and are frequently associated with restless legs syndrome (RLS). PLMS triggers sympathetic overshoot, which may contribute to nocturnal hypertension in RLS. The prevalence of RLS in the general adult population in Europe and the United States is approximately 8-10%, whereas the prevalence in Asia, including Japan, is less than half that in Europe and the United States. The complication rate of PLMS in RLS patients is much lower in Asians than in Europe and the United States, and the association with hypertension is clearly different from that in Europe and the United States. In this study, we investigated PLMS complications and their factors in consecutive RLS cases and examined the background factors of complicated hypertension.

Patients with idiopathic RLS (ICSD-3 criteria) who first visited Sleep Comprehensive Care Clinic Yoyogi between December 2002 and May 2015 and were at least 20 years old at the time of their first visit, had a PSG performed, had an IRLS (international restless legs syndrome rating scale), blood pressure records, and antihypertensive medication were included in the retrospective study. Patients with systolic blood pressure ≥ 140 mmHg or diastolic blood pressure ≥ 90 mmHg at PSG, and those taking antihypertensive medication on a daily basis even if their blood pressure was normal were defined as having hypertension. The clinical background of the subjects included gender, age, BMI, medical history, medications, family history of RLS, ferritin level at the first visit, and IRLS. The complication rate of PLMS was investigated and the relationship between PLMS and the background indicators were examined. In addition, logistic regression analysis was performed using age, gender, BMI, IRLS, apnea-hypopnea index (AHI) in PSG, and PLMI as continuous variables as factors related to the presence of hypertension. Multivariate analyses were performed using variables that were significant in preceding univariate analyses.

Of the 1191 patients diagnosed with RLS, 468 were included in the analysis. The mean age was 51.1 ± 18.2 years, 289 (61.8%) were female, the mean IRLS score was 22.4 ± 7.7 , approximately 80% had moderate to severe RLS, and the mean AHI was 3.5 ± 3.7 per hour. Of the 468 patients analyzed, 67 (14.3%) met the criteria of hypertension. PLMI ≥ 15 /hr was present in 200 patients (42.7%).

Logistic regression analysis was performed with PLMI ≥ 15 /h as the dependent variable and gender, age (<40 years as a reference), BMI, medical history, family history of RLS, ferritin level at initial visit, IRLS score and AHI (<5 /h as a reference) as independent variables. In the multivariate model, only being older ($40 \leq \text{age} < 60$; OR = 3.983, 95%CI = 2.312 - 6.863, $p < 0.001$, $60 \leq \text{age}$; OR = 6.298, 95%CI = 3.802 - 10.432, $p < 0.001$) was associated with PLMI ≥ 15 /h and associated with PLMI ≥ 15 /h. Logistic regression analysis (Multivariate model) with hypertension as dependent variable showed that being older (OR = 1.092, 95%CI = 1.065 - 1.120, $p < 0.001$), having a higher BMI (OR = 1.112, 95%CI = 1.017 - 1.217, $p = 0.020$) were independently and significantly associated with hypertension. The PLMS ≥ 15 /hr rate in RLS patients was 42.7%, which seemed to be lower than that of Europeans. This rate is almost the same as that reported in Korea, suggesting that PLMS is less likely to occur in Asian RLS patients. There may be racial differences not only in the incidence of RLS, but also in the PLMS complication rate in RLS patients.

PLMS might not be associated with severity of RLS and was significantly associated with age. PLMS pathogenesis was not necessarily associated with RLS and may be related to increased spinal sympathetic nerve activity with aging. Only age and BMI were associated with hypertension, and neither RLS severity nor PLMS was an associated factor for hypertension.

② Physiological analysis of sleep disorders associated with major depressive disorder

The number of people affected by depression has surpassed 300 million worldwide, and WHO predicts that depression will be the highest burden of disease by 2030. Therefore, there is a strong need to develop biomarkers that contribute to diagnosis, treatment option, and prognosis prediction. Sleep disturbances are frequently observed in depression, with insomnia being a complication in more than 80% of patients. Since depression is associated with disease-specific sleep abnormalities such as elevated REM sleep pressure, the idea of using PSG indices 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 establish a PSG data bank that can be used to develop objective indices for psychiatric disorders and sleep disorders, and to use the banked data to develop stable biological markers for clinical use in depression.

PSG data collected at the Sleep Center of Nihon University Itabashi Hospital and clinical data associated with the PSG data will be accumulated on a data server managed by NCNP. PSG data and clinical data of psychiatric disorders other than depression and primary sleep disorders will be used as controls to identify useful indices for diagnosis, severity assessment, treatment responsiveness, and prognosis prediction of depression.

A study using the bank data, "A Study on Physiological Characteristics of Sleep Disorders Complicated by Depression Using the Polysomnography Data Bank," was designed and approved by the Clinical Research Ethics Committee of the Nihon University Hospital. We also conducted a study to deepen the clinical significance of insomnia in psychiatric disorders. Data on sleep and clinical symptoms obtained from 144 patients with major psychiatric disorders (71 with depression, 25 with schizophrenia, 22 with bipolar disorder, and 26 with anxiety disorders) were analyzed. In all of the disorders, there was a significant association between insomnia (as assessed by the Athens Insomnia Scale) and depressive symptoms (as assessed by the Beck Depression Index).

Depressive symptoms are also found in psychiatric disorders other than mood disorders, such as depression and bipolar disorder, and are known to be associated with clinically important issues such as decreased quality of life, increased suicide risk, and decreased treatment responsiveness. In depression, a close association between insomnia and depressive symptoms is known to exist, and a similar relationship has been found to be a common feature of major psychiatric disorders as well.

③ Development of diagnostic categories for insomnia disorder based on PSG data

Sleep state misperception (SSM) is one of the most difficult to treat among the factors that resist treatment of chronic insomnia. SSM is a condition in which subjective sleep evaluation remains low despite objective sleep improvement, and is one of the main causes of refractory and long-term use of multiple medications for sleep disorders that do not respond to pharmacotherapy. This is one of the main causes of patients who do not respond to drug therapy, are refractory to drug therapy, and fall prey to multiple and long-term use of sleep medicines. From the viewpoint of deterrence, analysis of risk factors, clinical diagnosis, and development of treatment methods for SSM are required. Patients with psychiatric disorders are known to be more prone to high-titer and long-term use of sleep medicines than non-psychiatric patients, and patients with psychiatric disorders may be a high-risk group for SSM. Therefore, this study aimed to explore factors associated with SSM using data from patients with psychiatric disorders who underwent PSG.

Patients with psychiatric disorders who were admitted to Akita University Hospital and during hospitalization had their objective sleep status assessed by PSG and at the same time their subjective sleep status was assessed by a sleep diary were included in the study. The following clinical indicators were extracted as relevant factors. (1) demographics

(age, gender, body mass index [BMI], past and current histories of psychiatric disorders), (2) medical history, (3) subjective sleep indices (subjective total sleep time [Sub_TST], subjective sleep onset latency [Sub_SL], subjective wake-up time [Sub_WASO]), (4) objective sleep indices (objective total sleep time [Obj_TST], objective Sleep Onset Latency [Obj_SL], Objective Time to Awake at Mid-Sleep [Obj_WASO], Apnea-Hypopnea Index [AHI]), (5) Insomnia (Insomnia Severity Scale [ISI]), (6) Sleep State (Pittsburgh Sleep Questionnaire [PSQI]), (7) Depression (Brief Depressive Symptoms Scale [QIDS]), (8) Anxiety (Generalized Anxiety Disorder-7 [GAD-7]), and (9) hyperarousal (Hyper arousal scale [HAS]). Sleep state misperception was calculated from subjective and objective sleep indices ($\Delta TST(Obj_TST-Sub_TST), \Delta SL(Sub_SL-Obj_SL), \Delta WASO(Sub_WASO-Obj_WASO)$)).

Deviations between subjective and objective sleep indices were examined by Wilcoxon's signed rank test. Spearman's rank correlation coefficient was used for correlation. The study was conducted with the approval of the Ethics Committee of Akita University Graduate School of Medicine.

Data were obtained from 26 patients with psychiatric disorders for a total of 38 nights. The median age was 44 years, 39% were male, and the median BMI was 23.1 kg/m². Diagnoses of mental disorder were schizophrenia in 50% and mood disorder in 50%. The median subjective sleep index was Sub_TST 460 minutes, Sub_SL 30 minutes, and Sub_WASO 20 minutes; the median objective sleep index was Obj_TST 453 minutes, Obj_SL 12 minutes, Obj_WASO 32 minutes, and AHI 2.3 times/hour. The median subjective symptom rating scale was ISI 13 points, PSQI 12 points, QIDS 13 points, GAD-7 8 points, and HAS 38 points. There was a significant difference between subjective and objective ratings for SSM in SL ($p < 0.001$), but no significant difference between the two groups for TST and WASO ($p = 0.815$, $p = 0.157$, respectively); a significant positive correlation was found between ISI and ΔSL ($r = 0.476$, $p = 0.014$), indicating that the greater the severity of insomnia symptoms, the greater the SSM during sleep onset latency. No significant associations were found for the other items. Due to the small sample size of this study and the large number of factors not considered, further research is needed.

④ Development of PSG markers as physiological indicators of somnolence, including idiopathic hypersomnia

In addition to central hypersomnias, sleep-disordered breathing, and sleep deprivation syndromes, hypersomnias can also be caused by circadian rhythm sleep-wake disorders and psychiatric disorders such as mood disorders and developmental disorders. In differential diagnosis, sleep-disordered breathing can be diagnosed by PSG sleep-disordered breathing index, while sleep deprivation syndrome and circadian rhythm sleep-wake disorder can be diagnosed by sleep diaries and actigraphy. Central hypersomnias include narcolepsy, idiopathic hypersomnia, and recurrent hypersomnia. Narcolepsy can be diagnosed by measuring orexin levels in spinal fluid and detecting SOREMP using PSG and MSLT (ICSD-3). However, since there are no objective criteria for the diagnosis of idiopathic hypersomnia, the diagnosis is made by excluding other diseases that cause hypersomnia. In sleep-disordered breathing, there is also the problem of residual sleepiness even after recovery of the PSG sleep index after treatment with continuous positive airway pressure (CPAP), but the pathogenesis of this problem remains unclear. In this study, we collected PSG data from multiple centers and examined the correlation between the subjective and objective measures of daytime sleepiness (MSLT) and various indices such as sleep index, k-complex, spindle wave number, frequency analysis value, and autonomic nervous activity index (based on heart rate variability) obtained from PSG data to identify factors more strongly associated with daytime sleepiness. The aim of this study is to extract factors that are more strongly related to the disease, and those that are disease-specific and related to the degree of hypersomnia, and to find a highly accurate index for clarifying the pathophysiology, objective diagnosis, and evaluation of treatment efficacy.

Continuing from last year, PSG and MSLT data from the most recent year have been registered in a common format in the data bank, and processing has been started so that the data can be linked to medical data. We have also started to search for polysomnographic markers of sleepiness, which is a research project to be carried out under our responsibility, and are extracting and analyzing MSLT and Epworth Sleepiness Scale data from registered hospital data for diseases that present with hypersomnia (narcolepsy, idiopathic hypersomnia, recurrent hypersomnia, sleep apnea, etc.). Analysis is performed by conventional sleep analysis, frequency analysis, CAP analysis, spindle wave count measurement, and heart rate variability analysis.

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 most data into a format that can be stored at each facility, and are working to store and organize the data prospectively. We have started uploading a lot of 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 psychiatric 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. Data collected from all research institutes are going to be used for carrying out each research project through repeated discussions among all institutes. We aim to further increase the number of collaborating institutions, further enhancement of the data bank, and expand our research project.

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つ。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⁾、高倉修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)}、波多伴和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

トラウマ/PTSD レジストリ研究にはこれまでに PTSD 患者 123 名、トラウマ有り対照者 37 名、トラウマ無し対照者 129 名が参加し、ベースラインでの詳細な心理臨床的評価、認知機能・認知バイアス測定、バイオマーカー測定、DNA・RNA サンプルングを行った。PTSD についてのこのような多層・包括的なデータ・サンプルは世界的にも類例のない極めて有意義なものであり、このデータベース・バイオリソースを用いた分析・測定により PDE4, BDNF, IL-6, DHEA-S, progesterone 等を PTSD の候補分子として特定し、成果を論文等で発表してきた（参考文献 1-10 など）。とりわけ重要な成果として、PTSD 患者のトランスクリプトームと共同研究者・喜田聡教授らのグループが保有している PTSD モデルマウスのトランスクリプトームを統合的に解析することで、PDE4B 遺伝子が PTSD の再体験症状に関与することを見出した。さらに、PDE4B 遺伝子発現、DNA メチル化、PTSD 再体験症状の相互に有意な相関がみられ、媒介分析の結果から PDE4B 遺伝子発現と再体験症状の関連の背景に DNA メチル化が関

与している可能性が示唆された（論文投稿中）。介入研究については、PTSD に対するメマンチンのオープン臨床試験を完了し、RCT の被験者エントリーに着手している。メマンチン治療前後でのバイオマーカー測定により、progesterone の baseline 値が高いほど、また治療による低下が大きいほど、PTSD 症状、とりわけ再体験症状が大きく改善することが見出された。CBT 研究については、引き続きサンプル集積中である。

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。

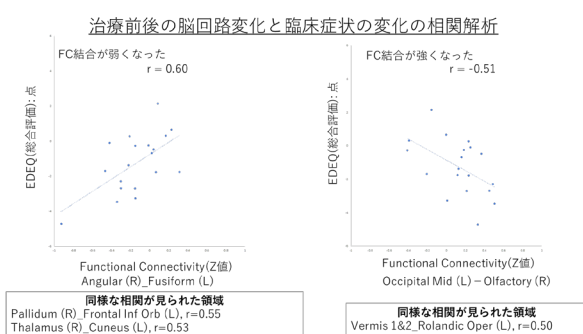
本研究プロジェクトにより PTSD の本態解明ならびに根治療法開発に資するエビデンスが得られた。引き続き本プロジェクトを継続・発展させることで病態解明と治療マーカー開発を相補的に推進することによって、PTSD や摂食障害に罹患した患者のより良い治療につなげることが最終目標である。

脳画像研究については令和 4 年 11 月末までに、分担施設と共同で ED 患者のベースライン 32 例、CBT 前後の縦断データ 14 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	11	0	4
東京大学	4	0	3
NCNP	11	3	6
九州大学	6	0	1
計	32	0	14

後の手続き（例：動機づけや CBT-E の心理教育）に改善の必要であることが見出された。

また本研究班外の千葉大、産業医科大学のデータとも合算し、CBT 前後で治療効果と有意に相関する脳回路が検出できた（下図）。



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るが、普及に困難があったが、本研究を通じて、PE の面接、指導 (SV) 経験を踏まえて安全に PE を実施するためのマニュアルが作成され、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。

摂食障害の認知行動療法については、令和 2～4 年度の 3 年間で神経性過食症 (BN) 患者 15 例を新規登録し、12 例に CBT-E 介入実施、7 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、20 例を登録、18 例に CBT-E 実施し、13 例でプログラムを終了、10 例で終了後 20 週間後、7 例で終了後 60 週間後のアウトカム評価を行った。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

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。しかし 2020 年の厚生労働省の患者調査に依れば受診患者は 7000 人であり、orphan 患者のレベルである。受診者が少ない理由は、簡便で有効な治療法の提供が難しいことも一因と考えられる。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 感染による行動制限が続いており、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 6 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改定を行った。

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るが、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、改定されたことによって 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 および摂食障害に対する CBT の効果は国際的に多くのエビデンスによって示されている。さらにメマンチンは PTSD の新規治療法となり得ることが我々の検討により示唆されている。PTSD に対する新規治療薬の研究は欧米を中心に盛んに行われているが、その多くは必ずしも PTSD の病態に即したのではなく、結果的に未だパロキセチン・セルトラリンに次ぐ有望な治療薬は見出されていない。それに対してメマンチンは、PTSD モデルマウスにおいて海馬神経新生亢進作用による顕著な恐怖記憶忘却促進効果が示されており、PTSD の中核病態を標的とした薬剤である。PTSD、摂食障害に関するバイオマーカー研究・遺伝子解析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乏しい。本研究では、メマンチンや CBT の治療研究を実施し、それと並行してトラウマ/PTSD レジストリ研究として心理臨床評価、バイオマーカー測定、遺伝子解析、発現解析を実施する。それによって PTSD・摂食障害の病態に基づいた治療効果予測・サロゲートマーカーの開発を目指す。

方法

PTSD に対するメマンチンの有効性を検討するオープン臨床試験を完了し、得られた効果量に基づいて RCT を計画、開始する。並行して、PTSD・摂食障害の患者群と健常対照群を比較するデザインで、詳細な心理臨床的評価、認知実験、バイ

オマーカー測定、DNA・RNA サンプリングを行う。網羅的遺伝子発現解析・DNA メチル化解析により、疾患に関連する遺伝子・分子をスクリーニングする。この方法で選定された分子、免疫・炎症系分子、認知機能に関連する分子、各疾患との関連が示されている分子に着目し、PTSD に対するメマンチン治療や各疾患に対する CBT の効果予測マーカー・治療効果サロゲートマーカーとしての有用性を検討する。

結果

トラウマ/PTSD レジストリ研究にはこれまでに PTSD 患者 123 名、トラウマ有り対照者 37 名、トラウマ無し対照者 129 名が参加し、ベースラインでの詳細な心理臨床的評価、認知機能・認知バイアス測定、バイオマーカー測定、DNA・RNA サンプリングを行った。PTSD についてのこのような多層・包括的なデータ・サンプルは世界的にも類例のない極めて有意義なものであり、このデータベース・バイオリソースを用いた分析・測定により PDE4, BDNF, IL-6, DHEA-S, progesterone 等を PTSD の候補分子として特定し、成果を論文等で発表してきた（参考文献 1-10 など）。とりわけ重要な成果として、PTSD 患者のトランスクリプトームと共同研究者・喜田聡教授らのグループが保有している PTSD モデルマウスのトランスクリプトームを統合的に解析することで、PDE4B 遺伝子が PTSD の再体験症状に関与することを見出した。さらに、PDE4B 遺伝子発現、DNA メチル化、PTSD 再体験症状の相互に有意な相関がみられ、媒介分析の結果から PDE4B 遺伝子発現と再体験症状の関連の背景に DNA メチル化が関与している可能性が示唆された（論文投稿中）。介入研究については、PTSD に対するメマンチンのオープン臨床試験を完了し、RCT の被験者エントリーに着手している。メマンチン治療前後でのバ

イオマーカー測定により、progesterone の baseline 値が高いほど、また治療による低下が大きいほど、PTSD 症状、とりわけ再体験症状が大きく改善することが見出された。CBT 研究については、引き続きサンプル集積中である。

考察

本研究により PTSD の病因・病態に重要な役割を担うと考えられる複数の分子が同定され、とりわけ PDE4B 遺伝子は PTSD の中核的病態に関与する可能性が示された。Progesterone は恐怖記憶への関与が先行研究において示されていることから、メマンチンの効果メカニズムを反映した効果予測マーカー・サロゲートマーカーとなる可能性が考えられる。オープン試験で得られたメマンチンの PTSD に対する効果が RCT で検証された場合、新規 PTSD 治療薬の最有力候補になり得る。さらに、本 RCT の前後で実施する遺伝子発現解析やバイオマーカー解析、脳画像解析によって、メマンチンの効果メカニズムを探索するとともに、治療効果を予測・反映するバイオマーカーの同定を試みる。これらの検討により、PTSD の病態に基づいた新規治療法が確立されるものと期待される。

結論

本研究プロジェクトにより PTSD の本態解明ならびに根治療法開発に資するエビデンスが得られた。引き続き本プロジェクトを継続・発展させることで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 や摂食障害に罹患した患者のより良い治療につなげることが最終目標である。

参考文献

1) Kakehi R, Hori H, Yoshida F, et al.

Hypothalamic-pituitary-adrenal axis and renin-angiotensin-aldosterone system in adulthood PTSD and childhood maltreatment history. *Front Psychiatry* 2023; 13: 967779.

2) Hori H, Izawa S, Yoshida F, et al. Association of childhood maltreatment history with salivary interleukin-6 diurnal patterns and C-reactive protein in healthy adults. *Brain Behav Immun* 2022; 101: 377-382.

3) Nakajima M, Hori H, Itoh M, et al. Validation of childhood trauma questionnaire-short form in Japanese clinical and nonclinical adults. *Psychiatry Res Commun* 2022; 2: 100065.

4) Hori H, Itoh M, Lin M, et al. Childhood maltreatment history and attention bias variability in healthy adult women: role of inflammation and the BDNF Val66Met genotype. *Transl Psychiatry* 2021, 11: 122.

5) 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.

6) Otsuka T, Hori H, Yoshida F, et al. Association of CRP genetic variation with symptomatology, cognitive function, and circulating proinflammatory markers in civilian women with PTSD. *J Affect Disord* 2021; 279: 640-649.

7) 堀 弘明. PTSD の統合的理解を目指した心理学的・生物学的研究. *トラウマティック・ストレス* 2022; 20: 11-19.

8) 堀 弘明, 金 吉晴. 認知と炎症に着目した PTSD の遺伝学的検討. *日本生物学的精神医学会誌* 2022; 33 : 10-15.

9) 堀 弘明. うつ病の発症におけるストレスの役割. *日本生物学的精神医学会誌* 2022; 33 : 148-154.

10) 堀 弘明. 複雑性 PTSD の神経生物学. 精神療法 2021; 47: 463-472.

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す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 16 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ケンスを用い、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については、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

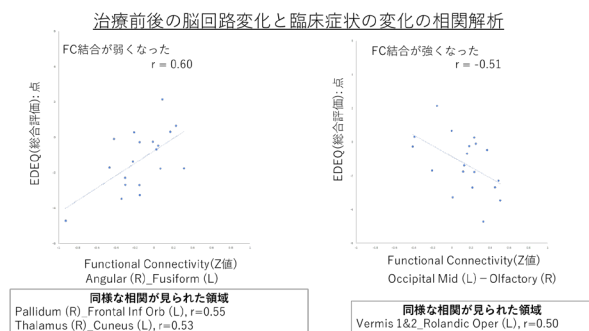
令和 4 年 11 月末までに、分担施設と共同で ED 患者のベースライン 32 例、CBT 前後の縦断データ 14 例の収集を完了した。

	ベースライン	除外/ 中断	縦断
東北大学	11	0	4
東京大学	4	0	3
NCNP	11	3	6
九州大学	6	0	1
計	32	0	14

なお、開発費の枠外ではあるが、千葉大、産業医科大学のデータと合算することにより摂食障害患者 20 例のデータ（下図）を用いた予備的解析を実施している。

fMRI Data		病型			質問紙	
Female	年齢	AP	AR	BN	EDEQ(収集数)	
千葉	6	36.0	2	0	4	5
九州	1	23.0	0	0	1	1
産業医科	3	44.6	0	2	1	3
東大	1	28.0	0	0	1	1
NCNP	9	36.1	0	0	9	9
	20	33.5	2	2	16	19
		20				

CBT 前後で治療効果と有意に相関する脳回路が検出できている（下図）。



PTSD 患者に関しては、令和 4 年度までに、縦断データ 11 例を収集した。11 例収集時点での予備的解析結果であるが、PTSD 症状は有意な改善を認めた。

	ベースライン (n=11)	投与後 (n=11)	P 値 (paired t-test)
年齢(全例女性)	35.5±5.9	-	-
PDS: 合計	34.4±8.6	19.1±12.5	0.006 *
再体験	10.1±3.8	4.3±4.5	0.001 *
回避	14.8±3.7	8.0±5.3	0.005 *
過覚醒	9.5±2.9	6.8±4.6	0.116
IESR: 合計	52.9±15.7	29.4±24.9	0.003 *
再体験	19.7±8.7	9.5±9.1	0.001 *
回避	18.1±9.7	11.4±10.4	0.055
過覚醒	15.1±4.5	8.5±7.8	0.007 *

* $p < 0.05$, paired t-test

考察

ED データは開発費の枠組みを超えて分担者の関口が代表を務めている AMED 国際脳の支援を受けた多施設共同で収集しており、20 例の縦断データの解析ができた。今後、データ収集を進める中で、病型を揃えた解析に発展させることを目指している。

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。脳画像解析は昨年度治療前 11 例、治療後 7 例の予備的な解析を行っているが、有意な結果は得られていない。今後、20 例以上のデータ収集が完了した時点で、次回の予備的な解析を行う計画としている。メマンチンの作用機序からは、海馬を基軸とした回路の変化が治療効果と関連して認められることを期待している。

結論

今後も、継続的に治療前後の縦断データ収集を行い、最低 20 例以上の例数を収集することによりロバストな結果が得られることを期待している。

参考文献

- 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
- 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.
- 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⁾、小川眞太郎¹⁾、船場美佐子¹⁾²⁾

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) 東京大学医学部附属病院心療内科、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

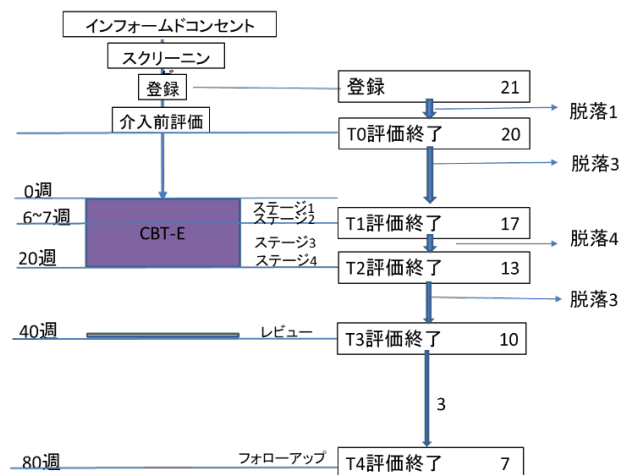
- 1) CBT-E 共同研究施設を統括し、介入研究を管理する。NCNP および共同研究施設のワーキンググループの会議を行う。
- 2) CBT-E 実施者を教育育成するとともに、CBT-E 介入の質を担保するため、CBT-E 実施者を直接指導することに加えて、2 週間に 1 回程度の CBT-E 開発者によるグループスーパービジョン (SV) を実施する。
- 3) 摂食障害の症状評価、特に EDE 面接者の育成

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、4 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、4 年度 17 回実施し 7 名が新規に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 2~4 年度の 3 年間で神経性過食症 (BN) 患者 15 例を新規登録し、12 例に CBT-E 介入実施、7 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、20 例を登録、18 例に CBT-E 実施し、13 例でプログラムを終了、10 例で終了後 20 週間後、7 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的なリクルートや介入が難しかった。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）
に改善の必要であった。

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、金沢大学) 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 トランスクリプトーム解析) を用いた。

結果

2023 年 3 月末時点で、本施設では CBT-E 群 4 名、TAU 群 8 名のデータを収集した。収集したデータは全て主任研究機関に提出し、他の施設のデータとマージされた上で、各施設で解析が行われる予定である。

考察

分担施設で集められたデータを対象に解析が進められる方針となっている。当施設では DTI 画像についての解析を進めている。

結論

多施設共同研究という枠組みで研究を実施できたことで、193 名分のデータを解析対象として用意することができた。治療法 (CBT-

E/TAU) ・病型と DTI 画像との関連、相違について解析を行い、治療反応性のバイオマーカーを探索、その結果を報告する予定である。

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に関する研究

分担研究者：福土 審¹⁾

研究協力者：佐藤康弘¹⁾、遠藤由香¹⁾、庄司知隆¹⁾、田村太作¹⁾、山口雄平¹⁾、馬上峻哉¹⁾、後藤漢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：1) 東北大学大学院医学系研究科心療内科学、2) 東北大学病院心療内科

緒言

ストレス関連疾患は、現代の日本において重視されている様に見えながら、実は十分な手当がなされていない疾患と言えるであろう。中でも心身症がその代表格である。心身症はストレスにより発症・増悪する身体疾患である。心身症においては脳からの遠心性信号による各身体臓器の機能異常の病態を有する。これとは逆に、各身体臓器から脳に向かう信号の重要性も判明して来ている。このような脳と各身体臓器の双方向の信号授受の中でも消化管との関連が脳腸相関である。食行動は脳腸相関の面からその成り立ちを科学的に分析することが可能であり、脳腸相関を軸に、ストレス関連疾患全体に応用可能な原理を追求することができ、摂食障害もその中に含まれる。

摂食障害の神経性過食症(bulimia nervosa: BN)患者に対する治療法としてエビデンスがあるのは selective serotonin transporter inhibitor (SSRI) であるが、薬物療法単独で寛解に至る例は多くない。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 behavioral 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。これは本邦でもプログラム化されている。本研究の目的は、本邦において BN に対する CBT-E のエビデンスを集積することである。併せて摂食障害・心身症のバイオマーカーの一端を明らかにした。

方法

東北大学病院心療内科を受診する BN 患者を対象にした。無作為化比較臨床試験のデザインで CBT-E または対照療法(treatment as usual: TAU)を実施した。

また、2013 年 6 月から 2019 年 6 月までに当科を初診した回避制限性食物摂取症状(ARFID)患者 17 例、機能性ディスペプシア(FD)患者 51 例を対象とした。初診時の年齢、body mass index (BMI)、Self-rating Depression Scale (SDS)、State-trait Anxiety Inventory (STAI)、Toronto Alexithymia Scale (TAS-20)、Minnesota Multiphasic Personality inventory (MMPI)の値を比較した。

更に、健常者・心身症患者 58 例の内臓感覚刺激時の視床下部-下垂体-副腎皮質(hypothalamic-pituitary-adrenal: HPA)反応と不安、内臓感覚の関連性を検討した。

結果

CBT-E 群は 4 名で内、割付後の脱落 1 名だった。TAU 群は 4 名で内、割付後の脱落 1 例、ベースライン評価後の脱落 2 例となっている。

ARFID 群は FD 群と比較して年齢と BMI が有意に低かった。SDS 尺度は ARFID 群が有意に高く、STAI の状態不安尺度、特性不安尺度が共に ARFID 群で有意に高かった。TAS-20 も ARFID 群で有意に高値であり、下位尺度の感情の同定困難と感情の言語化困難も有意に高値であった。一方、外的思考に関しては両群間に差を認めなかった。

内臓感覚刺激時の adrenocorticotrophic hormone (ACTH)反応により、対象者を平坦 65.5%、低下 24.2%、上昇 10.3%に分類可能であった。この反応パターンにより、corticotropin-releasing hormone (CRH)負荷に対する ACTH-cortisol 応

答が上昇>平坦>低下に配列した。不安感受性は低下>平坦であった。内臓感覚の疼痛閾値と不快閾値は平坦>上昇であった。

考察

無作為化比較臨床試験への症例の組み入れが新型コロナウイルス感染流行の影響を受けたものの、試験を実施することが可能であった。適切に内容に取り組んだ症例においては症状の改善が得られており、効果的と考えられる。尚、試験計画を英国の方法に沿わせる必要があるため、短期間に頻回受診を患者に求める様式になっており、途中脱落が多かった。CBT-Eをわが国の実臨床に適合させる新たな工夫を要する。

ARFIDが概念化されたことにより、心療内科で診療する頻度が高いFDや過敏性腸症候群(IBS)などの腸脳相関病(DGBI)と摂食障害の連続性ならびに併存例の多さが明確になって来た。摂食障害もDGBIもいずれも食物摂取信号と心理社会的ストレスが症状の増悪因子であるという共通性を持つ。われわれの以前の機能的磁気共鳴画像(fMRI)研究においても、行動選択に迷う課題を负荷した時の脳の反応において、前頭前野の活性化の不全がIBSにおいても神経性やせ症においても見出されている。今回の研究により、FDよりもARFIDのほうがうつ、不安、失感情症の程度が重いことが判明した。今後、摂食障害におけるDGBIの役割を解明し、DGBIから摂食障害に移行、重症化しないようにさせる工夫が必要になる。

ストレス関連疾患は、心理社会的ストレスが負荷されることによる症状の発症・増悪により診断できるが、ストレス応答の中核をなすバイオマーカーに乏しいことがその科学的診療を阻む要因である。内臓感覚刺激は、内的感覚ストレスであり、その応答パターンとCRH負荷時のHPA応答パターンが一致したことは当然のように見え

るが、人間で実証した研究はない。しかも、内臓感覚刺激時のHPA応答が大きいほど閾値は低く、内臓感覚刺激時のHPA応答が低下するほど不安感受性が大きいことが明らかになった。今後これらを左右する更なる決定要因の研究が有望である。

分担研究者は、ライフサイエンスに関する研究について関係法令、指針等に従って研究を進めた。

結論

本邦においてBNに対するCBT-Eのエビデンスを集積することは極めて重要である。併せて摂食障害・心身症のバイオマーカーの一端を明らかにする研究の価値は高く、今後の展開が期待される。

参考文献

1. Fukudo S, Kano M, Sato Y, Muratsubaki T, Kanazawa M, Tashiro M, Yanai K. Histamine neuroimaging in stress-related disorders. *Curr Top Behav Neurosci* 59: 113-130, 2022.
2. Yamaguchi Y, Shoji T, Endo Y, Sato Y, Tamura D, Fukudo S. Psychological features of functional dyspepsia are different from those of eating disorders including avoidant/restrictive food intake disorder, especially in terms of trait anxiety. *Gastroenterology* 158 (6): S52, 2020.
3. Yagihashi M, Kano M, Muratsubaki T, Morishita J, Kono K, Tanaka Y, Kanazawa M, Fukudo S. Concordant pattern of the HPA axis response to visceral stimulation and CRH administration. *Neurosci Res* 168: 32-40, 2021.
4. 佐藤 康弘, 福土 審. かかりつけ医に必要な心療内科の知識 摂食障害(解説). *日本臨床内科医会誌* 36:33-37, 2021.
5. 佐藤康弘, 福土審. 編者 森川暢, 大武陽一, 酒井清裕. 総合診療×心療内科 心身症の

一歩進んだ診かた 摂食障害 心療内科医の
視点. pp197-203, 2021.

6. 佐藤 康弘, 福土 審. 脳画像解析による精神疾患の診断・評価の可能性. 摂食障害の脳画像解析. 臨床精神医学 49 (4): 513-517, 2020.
7. 佐藤 康弘, 福土 審. ストレス関連疾患の合併症状. 摂食障害の合併症状. 心身医学 60 (1): 26-30, 2020.
8. 山田和江, 光永憲香, 遠藤由香, 今愛美, 長沼淳也, 村椿智彦, 福土審. 神経性やせ症患者の食品嗜好の研究. 心身医学, 60: 521-531, 2020.
9. 佐藤 康弘, 福土 審. 摂食障害. 日本臨床内科医会・日本心療内科学会 心療内科における内科学的発展プロジェクトワーキンググループ編. かかりつけ医に必要な心療内科の知識. インテルナ出版, 東京, pp135-142, 2022. 総ページ数 151, ISBN 978-4-900637-60-3
10. 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.
11. 齋藤 脩悟, 谷口 冬馬, 佐藤 康弘, 庄司 知隆, 町田 知美, 遠藤 由香, 町田 貴胤, 田村 太作, 福土 審. 神経性やせ症患者の制限型と過食排出型における腎機能の比較検討. 心身医学 60 (3): 272, 2020.
12. 町田 知美, 町田 貴胤, 庄司 知隆, 遠藤 由香, 布田 美貴子, 岡本 智子, 福土 審. 食育を意識した NST の関わりが奏功した回避制限性食物摂取症 11 歳女児症例. 心身医学 60 (3): 271, 2020.

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：高倉修²⁾、波多伴和²⁾、権藤元治²⁾、戸田健太¹⁾、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心身医学
- 2) 九州大学病院心療内科

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

1. 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(国立精神・神経医療研究センター、九州大学、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)。
2. CBT-Eを含むCBT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. 九州大学病院では6例のBN患者が参加し、ランダムに治療が割り振られた。CBT-E群3例、通常治療(TAU)群3例に対して既に介

入済みである(全施設で39症例参加)。

2. CBT 実施患者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、12例の研究参加者が得られた。
3. 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)。
4. 今後、結果解析が行われる予定である。

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、摂食障害全国支援センターや治療支援拠点病院のホームページを活用するなどの工夫により、参加者が増え、介入まで進んでいる。

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)、わが国のBN患者に対する有効性については今回の研究結果が待たれる。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が重要である。

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. *Eat Weight Disord.* 2012;17(1):e1-e8.

- 2) Poulsen S, Lunn S, Daniel SI, Folke s, Mathiesen BB, Katznelson H, Fairburn CG, Arandomized 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.

業績

1. Yamashita M, Kawai K, Toda K, Aso C, Suematsu T, Yokoyama H, Hata T, Takakura S, Sudo N. Cardiopulmonary exercise testing for patients with anorexia nervosa: a case-control study. *Eat Weight Disord* 27(8), 2022
- Yoshiuchi K, Yamada H, Takakura S, Isobe M, Maruyama K, Nagata T. Assessment and Treatment of Eating Disorders. *J Nutr Sci Vitaminol* 68, 2022
2. Takakura S, Toda K, Yamashita M, Kitajima T, Suematsu T, Yokoyama H, Asou SC, Hata T, Sudo N, Potential impact of the COVID-19 pandemic on Japanese patients with eating disorders-a cross sectional study, *Biopsychosoc Med* 16, 2022
3. Hamatani S, Hirano Y, Sugawara A, Isobe M, Kodama N, Yoshihara K, Moriguchi Y, Ando T, Endo Y, Takahashi J, Nohara N, Takamura T, Hori H, Noda T, Tose K, Watanabe K, Adachi H, Gondo M, Takakura S, Fukudo S, Shimizu E, Yoshiuchi K, Sato Y, Sekiguchi A, Eating Disorder Neuroimaging Initiative(EDNI): a multicentre prospective cohort study protocol for elucidating the neural effects of cognitive-behavioural therapy for eating disorders, *BMJ* 11, 2021
4. Horie T, Hiraide M, Takakura S, Hata T, Sudo N,

- Yoshiuchi K, Development of a new Japanese version of the Clinical Impairment Assessment Questionnaire, *Biopsychosoc Med* 14, 2020
5. Hiraide M, Horie T, Takakura S, Hata T, Sudo N, Yoshiuchi K, Psychometric properties of the fear of food measure in Japanese woman, *Eat Weight Disord* 26, 2020.
 6. Ohara C, Seiguchi A, Takakura S, Endo Y, Tamura N, Kikuchi H, Murao 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* 13, 2020

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。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) 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ルを構築した。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 週間後(T2)、40 週間後(T3)、80 週間後(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、うち 2 例は終了、2 例は保留、1 例は T3 を終了した。TAU 群は 4 例 であり、うち 1 例は終了、2 例は保留、1 例は T3 を終了した。保留例の中には、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たことで、来院に繋がらなかった事例が含まれている。期限が終了するまで保留例・中断例の再開を試みている。

さらに、本研究等で養成した CBT-E 実施者を講師として、2022 年 11 月 13 日に「神経性過食症に対する認知行動療法(CBT-E)研修会 (第 9 回目: 第 22 回日本認知療法・認知行動療法学会ワ

ークショップ)を開催し、計 81 名が参加した。さらに、2023 年 4 月 2 日に「神経性過食症に対する認知行動療法(CBT-E)研修会(第 10 回目)も同様に開催し、計 50 名が参加した。

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

なし

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.

The Trauma/PTSD Registry Study has thus far included 123 PTSD patients, 37 traumatized controls, and 129 trauma-free controls, and has included detailed baseline psychoclinical assessments, measures of cognitive function and cognitive biases, biomarker measures, and DNA and RNA sampling PTSD. The analysis and measurement using this database/bioresource identified PDE4, BDNF, IL-6, DHEA-S, progesterone, etc. as candidate molecules for PTSD, and the results have been published in a paper (see reference). The results have been published in papers (e.g., Refs. 1-10). As a particularly important result, we found that the PDE4B gene is involved in the re-experiencing symptoms of PTSD by integrative analysis of the transcriptome of PTSD patients and the transcriptome of PTSD model mice owned by the group of Prof. Satoshi Kida, a co-researcher of the project. Furthermore, there was a significant correlation

between PDE4B gene expression, DNA methylation, and PTSD re-experiencing symptoms, and the results of the mediation analysis suggested that DNA methylation may be involved behind the association between PDE4B gene expression and re-experiencing symptoms (paper under submission). Regarding intervention studies, we have completed an open clinical trial of memantine for PTSD and have begun subject entry for an RCT. The CBT study continues to collect samples.

Integrated analysis of the transcriptomes of PTSD patient blood and mouse hippocampus models identified the PDE4B gene, encoding phosphodiesterase 4B, a degrading enzyme of cyclic AMP, as the top gene commonly exhibiting 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 identified as possible enhancers revealed an association between DNA methylation at this site and PDE4B gene expression, resulting in worsening of re-experiencing symptoms.

This research project has provided evidence that contributes to the elucidation of the nature of PTSD and to the development of curative therapies. The ultimate goal is to continue and develop this project to promote the complementary elucidation of the pathophysiology and development of therapeutic markers, which will lead to better treatment of patients affected by PTSD and eating disorders.

We also detected brain circuits significantly correlated with treatment effects before and after CBT. Although prolonged exposure therapy for PTSD has always been recommended as the first choice in international guidelines, its dissemination has been limited due to technical difficulties. For cognitive-behavioral treatment of eating disorders, the need for procedural improvements to prevent dropout before and after treatment initiation was found.

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

原貴敏

1. 研究目的

反復経頭蓋磁気刺激(transcranial 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(functional 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>

原貴敏

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

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い、実臨床場面での実装に取りかかっている。神経筋疾患による痙縮・歩行障害に対して歩行動作解析と表面筋電図を用いて詳細な歩行分析を行った。またこのデータに基づきボツリヌス療法の施注部位を検討し、施注を試みたところ、関節可動域の改善や歩行時における持続収縮筋の筋活動の変化が認められ、この手法が歩行再建として有効である可能性が示された。

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

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。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。令和 4 年に成果発表し、論文作成・投稿を行う予定である。本研究に関連する研究成果を発表した。

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

重度不随意運動症を伴う難治性トゥレット症候群は患者のADLを大きく低下させるものであるが、治療に難渋する例も少なくない。DBSは、難治性トゥレット症候群に対して世界中で行われその効果は広く認められつつあるものの、DBSがどのような機序で作用し効果を発現しているのかは未だ不明な点も多い。またDBSの適応や手技も標準化されるに至っていない。このため、DBS治療患者の臨床情報の集積を進め、ガイドライン等策定に向けたエビデンスを構築し、併せて治療効果への予後予測因子を検証し、同時に、精神科との連携を図り、併存しやすい衝動性など精神的要素に対する効果も検討した。研究期間内に難治性トゥレット症候群患者に対するDBS植込術が6例に実施された。1例で感染による抜去を余儀なくされたが、他は良好な治療反応性を得た。国内4施設で実施された25例を対象に(21例がNCNPで実施)、後方視的に収集した治療経過と患者アンケートの結果を反復測定混合モデルで検討したところ、自傷行為や器物破損など生活に重度な影響を与えるチックを有している患者群の症状改善速度が有意に高いことが明らかとなった。すなわち、最重症のチックを有していてもDBSに対する治療反応性は良好であることが分かった。難治性トゥレット症候群に対するDBSの今後の実施について、臨床研究・教育研修部門に相談を行った(2022年8月)。当面は後方視研究による国内エビデンスをまとめる方針である。

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

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した。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し、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)のプロトコルを作成した。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。PD-TMSの治療プロトコルを作成した。今後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して、RCTを目指す。

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—脊髄刺激療法を中心に—

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)を行った症例を対象とした。低頻度 Tonic 刺激を行った8名(低頻度刺激群)と高頻度 BurstDR 刺激を行った8名(低頻度刺激群)について、各パラメーターの変化を観察した。低頻度刺激群では歩行速度の改善と共に立脚期時間、両脚支持期時間の改善と、ケイデンス及び歩行速度の改善がみられた。高

頻度刺激群では歩行速度、ストライド長の改善みられたが、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。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、疼痛の改善と共に歩行の改善もみられており、そのメカニズムは低頻度刺激と高頻度刺激では異な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

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。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。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。左側上側頭回/溝をターゲットとしたtDCSが、統合失調症患者の社会認知を改善するか調べた。左側上側頭回/溝へのtDCS陽極刺激が、統合失調症の社会認知機能を改善することを初めて見出した。

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た。身体リハビリテーションの神経基盤の解明に有効と考えられる筋シナジー解析を用いて、身体損傷(腱付け替え)モデルサルを対象とした、リハビリテーション効果の検証を行なった。early adaptationとlate adaptationでは筋シナジーの時間活動パターンに顕著な変化が認められた。この結果から、筋シナジー解析は身体リハの効果評価に有効であることが示された。

また、上記と並行して、モデル動物で所有していたVicon社製のモーションキャプチャシステム一式を、病院のリハビリ室へレンタルし、セットアップするための支援を行なった。その結果、上記筋シナジー解析結果と動作解析結果を照合することが可能になり、より、高精度は身体リハ評価が可能になった。

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とは、運動麻痺患者の意図を脳波信号から解読して、患者を代行して機械を操作する技術のことである。研究対象者が心の中で運動を想像すると、大脳中心溝近傍から観察される α 、 β 周波数帯域の脳波律動(ミュー波)が変化する。機械はこの脳波変化を感知して操作する。どの神経回路を動員して自分の脳波律動を調整しているのか未だ十分に理解できていない。我々はミュー波脳波律動の調整に脳皮質だけでなく脊髄神経回路を巻き込んでいると仮説を立てた。運動想像と関係のある一次運動野や運動前野は脊髄神経回路とシナプス結合を持つ。頸髄全損傷の患者では運動想像時のミュー波の空間的分

布が中心溝に局在せず頭頂葉にかけて広い範囲で観察される。この技術を応用してミュー波脳波律動の調整に関わる脳脊髄神経回路を同定した。脊髄神経活動を評価する MRI 機能画像法(cs-fMRI)を独自に開発した。ミュー波脳波律動の連動に関係した脳回路同定のための解析を別研究課題と並行して行った。時系列脳波データから α 、 β 周波数帯域のパワーの変動を算出し、その変動と相関する MRI 神経活動を全脳で検索する解析を行った。今後、症例数を増やすとともに、大脳と脊髄神経回路との機能的結合を観察する。

9)ニューロモデュレーションの治療および研究における倫理的課題の検討と倫理支援

ニューロモデュレーションの治療及び臨床研究推進のためには、臨床及び研究支援体制を整えることが不可欠である。しかし、この分野における倫理問題の明確化と、研究倫理の支援体制についての検討は十分に行われていない。そこで本分担研究では、ニューロモデュレーションの治療および研究における生命倫理的課題の調査を行うとともに、特定の治療・研究における臨床・研究倫理支援の窓口を設置し、助言を行う体制を整えた。ニューロモデュレーションに特化した生命倫理の課題について先行研究が十分あるとは言えないが、文献調査を継続しつつ、関連学会や国際会議等の場で情報の収集及びコミュニティーとの情報共有等にも努めていく必要が

あると考えられた。生命倫理室や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、ニューロモデュレーションの研究に特化した相談は殆どない。よって、他機関との連携を図り情報の共有をおこなっていくことを早急に進める必要がある。

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, Mishihiro 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 Neuroscience* (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
22. Yamazaki R, Ohbe H, Matsuda Y, Kito S, Shigeta M, Morita K, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H: Early electroconvulsive therapy in patients with bipolar depression: A propensity score-matched analysis using a nationwide inpatient database. *J Affect Disord*, 2022 245–251.
23. Shirakawa Y, Yamazaki R, Kita Y, Kitamura Y, Okumura Y, Inoue Y, Matsuda Y, Kodaka F, Shigeta M, Kito S: Repetitive transcranial magnetic stimulation decreased effortful frontal activity for shifting in patients with major depressive disorder. *Neuroreport*. 2022 470–475
24. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract*. 2022 9 508–515.
25. Yamada Y, Sueyoshi K, Yokoi Y, Inagawa T, Hirabayashi N, Oi H, Shirama A, Sumiyoshi T. Transcranial Direct Current Stimulation on the Left Superior Temporal Sulcus Improves Social Cognition in Schizophrenia: An Open-Label Study. *Front Psychiatry*. 2022 862814.
26. Tetsuro Funato, Noriaki Hattori, Arito Yozu, Qi An, Tomomichi Oya,

Shouhei Shirafuji, Akihiro Jino, Kyoichi Miura, Giovanni Martino, Denise Berger, Ichiro Miyai, Jun Ota, Yury Ivanenko, Andrea d' Avella, Kazuhiko Seki (2022). Muscle synergy analysis yields an efficient and physiologically relevant method of assessing stroke. *Brain Communications*. 2022 4 fcac200.

27. Kubota R, Okubo R, Ikezawa S, Matsui M, Adachi L, Wada A, Fujimaki C, Yamada Y, Saeki K, Sumiyoshi C, Kikuchi A, Omachi Y, Takeda K, Hashimoto R, Sumiyoshi T, Yoshimura N. Sex differences in social cognition and association of social cognition and neurocognition in early course schizophrenia. *Front Psychology* 2022;13:867468.

28. Yamada Y, Sueyoshi K, Yokoi Y, Inagawa T, Hirabayashi N, Oi H, Shirama A, Sumiyoshi T: Transcranial direct current stimulation on the left superior temporal sulcus improves social cognition in schizophrenia: An open-label study. *Front Psychiatry* 2022 ;13:862814.

29. Yamada Y., Inagawa T., Hirabayashi N, Sumiyoshi T: Emotion recognition deficits in psychiatric disorders as a target of non-invasive neuromodulation: a systematic review. *Clin EEG Neurosci*. 2022;53:506–512.

30. Eiji Takasawa, Mitsunari Abe , Hirotaka Chikuda, Takashi Hanakawa. A computational model based on corticospinal functional MRI revealed asymmetrically organized motor corticospinal networks in humans. *Communications Biology*. 2022. 5(1):664.

31. Akito Kosugi, Yosuke Saga, Moeko Kudo, Masashi Koizumi, Tatsuya Umeda

and Kazuhiko Seki (2023). Time course of recovery of different motor functions following a reproducible cortical infarction in non-human primates. *Front Neurol*. 14 1094774 2023.

<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
6. 鬼頭伸輔:「日本医師会雑誌」第 151 巻・特別号(2)生涯教育シリーズ 103 『精神疾患診療』. うつ病に対する neuromodulation (rTMS 療法). 日本医師会. 株式会社診断と治療社. 2022 年 10 月 15 日、4 ページ.
7. 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
8. 山田悠至、成田 瑞、平林直次、住吉太幹: 非侵襲的脳刺激による認知機能改善. 鬼塚俊明、橋本亮太 編「精神医学領域の論文を読みこなすキーワード100!」, 新興医学出版、東京、p.122-23, 2022
9. 原貴敏, 安保雅博, 原寛美, 高橋忠志: エビデンスに基づくボツリヌス治療 上肢・下肢痙縮に対するリハビリテーションの最適化のために 第1章,1-3 ボツリヌス治療の施注技術と注意点(超音波エコーガイド、筋電針)、第3章,ボツリヌス治療とリハビリテーション メジカルビュー社 2022.
10. 原貴敏: Monthly Book MEDICAL REHABILITATION 脳血管障害の片麻痺患者へのリハビリテーション治療マニュアル. 全日本病院出版会、2022、28、59-67.
11. 原貴敏、言語障害のリハビリテーション 失語症に対する TMS 治療とリハビリテーション、総合リハビリテーション 2022、11、1321-1330.
12. 原貴敏: 知っておきたい神経科学のキーワード 13. ワーキングメモリー、*Clinical rehabilitation* 2023、3、288-294.

〈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

原貴敏、水野勝広、辻本憲吾、西田大輔、中

村拓也、板東杏太、吉田智美

【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。また、本年度からは、神経筋疾患に伴う歩行障害に対するニューロモデュレーション手法はいくつかあるが、最適な治療手法の確立が求められている。そのため、動作解析装置(VICON)の設置、ワイヤレス筋電計を用いて、神経筋疾患患者における痙縮・歩行障害の詳細な分析を行うことことで最適な治療手法の確立を検討した。

【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。一方で、歩行解析においては、遺伝性痙性対麻痺、脊髄小脳変性症、シャルコー・マリー・トゥース病などに対して、歩行解析を行った。これにより歩行時の異常筋活動を同定することとした。

【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。一方で歩行解析にデータに基づいてボツリヌス療法を実施したところ、関節可動域の改善や歩行時における持続収縮筋の筋活動の変化が認められ、この手法が歩行再建として有効である可能性が示された。

【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。一方で歩行解析においては、これまで同定できなかった神経筋疾患における歩行時の異常筋活動と、どの標的筋の同定が可能であ

ることがわかった。

【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。また歩行解析においては、三次元動作解析や表面筋電図を用いた歩行時の痙性を評価しボツリヌス療法の施注選択を行うことは、治療効果を最大限に発揮し、歩行機能の改善に寄与する可能性が示唆された。

研究成果(原著論文、学会発表、政策提言)

学会発表

Neural correlates of spatial attention bias: changes of resting-state functional connectivity in the attention networks during neglect-like deficits induced by transcranial direct current stimulation in healthy adults. Society for Neuroscience. 2022

原貴敏 シンポジウム 4「ニューロモジュレーションによる精神・神経疾患克服への領域横断的アプローチ」脳損傷後高次脳機能障害に対するニューロモジュレーション第 44 回日本生物学的精神医学会(BPCNP/NPPP4 学会合同年会)、東京、2022 年 11 月 4-6 日.

論文発表

Kengo T, Nishida D, Tahara M, et al. Neural correlates of spatial attention bias: Changes in functional connectivity in attention networks associated with tDCS. *Neuropsychologia*. 2022;177:108417.

〈分担研究課題〉**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刺激療法は、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。本研究に関連する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: けいれん療法の近未来. 高出力ECT機器への期待. 第118回日本精神神経学会学術総会、2022年6月
2. 鬼頭伸輔: けいれん療法の近未来. 磁気けいれん療法(MST). 第118回日本精神神経学会学術総会、2022年6月
3. 鬼頭伸輔: うつ病と双極性障害におけるパーソナルリカバリーについて考える. ニューロモデュレーション療法の立場から. 第118回日本精神神経学会学術総会、2022年6月
4. 鬼頭伸輔: 磁気刺激療法と最新のトピックス. 第19回日本うつ病学会総会・第5回日本うつ病リワーク協会年次大会、2022年7月
5. 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16回ECT講習会、2022年9月
6. 沖田恭治ら: 電気けいれん療法(ECT)による脳内ミクログリア活性の変化: 予備的研究(ポスター発表). PBCNP4学会合同年会、2022年11月
7. 鬼頭伸輔: うつ病のニューロモデュレーション療法—広がるうつ病治療の選択肢—

- (ランチョンセミナー). 第 52 回日本臨床神経生理学会学術大会、2022 年 11 月
8. 鬼頭伸輔: 高齢者のうつ病に対する電気けいれん療法・反復経頭蓋磁気刺激療法. 第 41 回日本認知症学会学術集会・第 37 回日本老年精神医学会、2022 年 11 月
 9. Matsuda Y, et al: Repetitive transcranial magnetic stimulation for residual depressive symptoms after electroconvulsive therapy in an elderly patient with treatment-resistant depression. *Psychiatry Clin Neurosci Rep* 1: e11, 2022.
 10. Baba H, et al: Guidelines for Diagnosis and Treatment of Depression in Older Adults: a Report from the Japanese Society of Mood Disorders. *Psychiatry Clin Neurosci* 76: 222-234, 2022.
 11. Yamazaki R, et al: Early electroconvulsive therapy in patients with bipolar depression: A propensity score-matched analysis using a nationwide inpatient database. *J Affect Disord* 312: 245-251, 2022.
 12. 林大祐ら: 磁気けいれん療法. *臨床精神医学* 51: 1183-1188, 2022.
 13. 鬼頭伸輔: 「日本医師会雑誌」第 151 巻・特別号(2)生涯教育シリーズ 103『精神疾患診療』. うつ病に対する neuromodulation. 日本医師会. 株式会社診断と治療社. 2022 年 10 月
 14. 野田隆政: 精神科診療のピットフォール. 総論電気けいれん療法(ECT). *精神医学* 64: 532-536, 2022.
 15. 反復経頭蓋磁気刺激の安全性に関する提言(日本臨床神経生理学会 2022 年)
 16. 反復脊髄神経磁気刺激の安全性に関する提言(日本臨床神経生理学会 2022 年)
 17. 高齢者のうつ病治療ガイドライン英語版(日本うつ病学会 2022 年)
 18. 高齢者のうつ病治療ガイドライン改訂版(日本うつ病学会 2022 年)

〈分担研究課題〉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。次年度は、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。最終年度は、パイロット試験の実施可能性を検討し、TMS の効果量に関する基礎データを取得する為の研究デザインを立案した。

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。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 試験のプロトコルを改定する必要がある。

結論

PD-TMS の治験プロトコルを作成した。今後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して、RCT を目指す。

参考文献 なし

〈分担研究課題〉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、将来的にうつ、強迫性障害、認知症など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を実施した患者の診療情報を後方視的に収集し、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】

2020年から2022年度は、トゥレット症候群に対するDBS7件、パーキンソン病に対するDBS8件、本態性振戦に対するDBS1件、ジストニアに対するDBS3件が実施された。DBSを含む定位機能外科手術への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。

コロナ禍で全国的に手術件数が減少していた時期においてもトゥレット症候群に対する外科治療への社会的注目は高く、手術症例は減少することはなかった。

これまで当院では連続39症例のトゥレット症候群に対してDBSが実施された。DBSによって、YGTSSは1年後に平均50.6%、術後3年時点で58.7%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10.2%で生じていた。

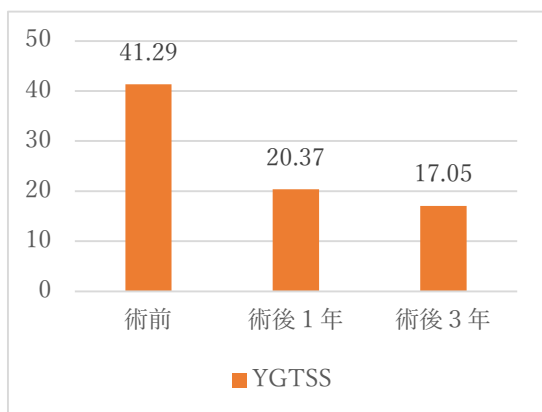


図:術前後におけるチック重症度スコア (YGTS)の変化

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、精神科鬼頭伸輔部長、臨床研究支援部と月1回の定期相談を実施した。予想される患者数や手術適応の基準、倫理的配慮、DBSデバイス管理の在り方などを議論し、将来的な適応拡大への模索を行っている。日本定位・機能神経外科学会に働きかけ、企業に対して臨床研究への支援を要望した。

【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、15例の登録を行っている。現在、米国ではHDE(humanitarian device exemption)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継続的にデータを収集し、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。

本研究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】トウ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.
5. 木村唯子, 岩崎真樹 et al. 重度かつ難治のトウレット症候群に対する脳深部刺激療法の効果に関する因子. 機能的脳神経外科 61(2022)97-102.

<分担研究課題>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—脊髄刺激療法を中心に—

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)を行った症例を対象とした。低頻度 Tonic 刺激を行った8名(低頻度刺激群)と高頻度 BurstDR 刺激を行った8名(高頻度刺激群)について、各パラメーターの変化を観察した。

【結果】低頻度刺激群では歩行速度の改善と共に立脚期時間、両脚支持期時間の改善と、ケイデンス及び歩行速度の改善がみられた。高頻度刺激群では歩行速度、ストライド長の改善みられたが、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報告はない。

疼痛に対する脊髄刺激療法では低頻度刺激と高頻度刺激では治療メカニズムが異なることが知られており、特に高頻度刺激群では疼痛の内側系への作用により脳のdACC(背側前帯状回)が活性化されることが確認されている⁽⁴⁾。dACCは疼痛の情動系への連絡と共に、プラセボ効果や学習を司る中枢との連絡が確認されており、疼痛のみならず運動学習への何等かの影響が示唆される。今回低頻度刺激と高頻度刺激で改善したパラメーターが異なることから、歩行に対しても異なるメカニズムが作用した可能性がある。

【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、疼痛の改善と共に歩行の改善もみられており、そのメカニズムは低頻度刺激と高頻度刺激では異なる可能性が示唆された。

【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

4. 4. De Ridder D, Vanneste S. Burst and Tonic Spinal Cord Stimulation: Different and Common Brain Mechanisms. *Neuromodulation.* 2016;19(1):47-59.

＜分担研究課題＞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、今回、左側上側頭回/溝をターゲットとした tDCS が、統合失調症患者の社会認知を改善するか調べた。

【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】

目標症例数 15 名の患者から得たデータに基づき、左側上側頭回/溝への tDCS 陽極刺激が、統合失調症の社会認知機能を改善することを初めて見出した。本研究の成果は、同英文専門誌に公表し(Yamada et al, *Front Psychiatry* 2022)、国際学会で発信した(Yamada et al, *Int Congress Clin Neurophysiol* 2022 Geneva)。

【結論】

今回、社会認知の脳内基盤に基づき、上側頭回/溝への複数回 tDCS 施行が、統合失調症患者の社会認知機能を向上させる可能性を、世界で初めて報告した。本研究の知見は、患者の社会復帰に向けた tDCS など低侵襲性脳刺激法の合理的な運用を促進する。

【参考文献】

- 1) Kubota R, Okubo R, Ikezawa S, Matsui M, Adachi L, Wada A, Fujimaki C, Yamada Y, Saeki K, Sumiyoshi C, Kikuchi A, Omachi Y, Takeda K, Hashimoto R, Sumiyoshi T, Yoshimura N. Sex differences in social cognition and association of social cognition and neurocognition in early course schizophrenia. *Front Psychology* 2022;13:867468.
- 2) Yamada Y, Sueyoshi K, Yokoi Y, Inagawa T, Hirabayashi N, Oi H, Shirama A, Sumiyoshi T: Transcranial direct current stimulation on the left superior temporal sulcus improves social cognition in schizophrenia: An open-label study. *Front Psychiatry* 2022 ;13:862814.
- 3) Yamada Y., Inagawa T., Hirabayashi N, Sumiyoshi T: Emotion recognition deficits in psychiatric disorders as a target of non-invasive neuromodulation: a systematic review. *Clin EEG Neurosci.* 2022;53:506-512.

＜分担研究課題＞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

本年度は、まず、身体リハビリテーションの神経基盤の解明に有効と考えられる筋シナジー解析を用いて、身体損傷(腱付け替え)モデルサルを対象とした、リハビリテーション効果の検証を行なった。具体的には、総指伸筋と浅指屈筋を付け替える手術を行なったサルに対して、把握運動のリハビリテーション介入を行い、埋め

込み型筋電図記録により、運動の回復と筋シナジー変化の時系列の比較を行なった。その結果、把握運動の成績は術後急速に回復する(early adaptation)が、一方、把握時の異常運動は継続され、その後、異常行動が消失する 2 phase の変化を示した。また early adaptation と late adaptation では筋シナジーの時間活動パターンに顕著な変化が認められた。この結果から、筋シナジー解析は身体リハの効果評価に有効であることが示された。

また、上記と並行して、モデル動物で所有していた Vicon 社製のモーションキャプチャシステム一式を、病院のリハビリ室へレンタルし、セットアップするための支援を行なった。その結果、上記筋シナジー解析結果と動作解析結果を照合することが可能になり、より、高精度は身体リハ評価が可能になった。

今後の展望

筋電図計測はより多チャンネル化が必要であるが、今後、筋電と動作の同時解析ができるメリットを生かした、本質的なリハビリテーション研究が NCNP において進展することを期待する。

研究発表

1. Tetsuro Funato, Noriaki Hattori, Arito Yozu, Qi An, Tomomichi Oya, Shouhei Shirafuji, Akihiro Jino, Kyoichi Miura, Giovanni Martino, Denise Berger, Ichiro Miyai, Jun Ota, Yury Ivanenko, Andrea d'Avella, Kazuhiko Seki (2022). Muscle synergy analysis yields an efficient and physiologically relevant method of assessing stroke. *Brain Communications*, Volume 4, Issue 4, 2022, fcac200, 09 August 2022.
2. Akito Kosugi, Yosuke Saga, Moeko Kudo, Masashi Koizumi, Tatsuya Umeda and Kazuhiko Seki (2023). Time course of recovery of different motor functions following a reproducible cortical infarction in non-human primates. *Front Neurol.* 2023; 14: 1094774. Published online 2023 Feb 9. doi: 10.3389/fneur.2023.1094774

知的所有権の出願・取得状況

なし

〈分担研究課題〉精度の高いブレイン・マシン・インターフェース(BMI)技術の開発

分担研究者

所属 国立精神・神経医療研究センター

IBIC先進脳画像研究部

職名 部長 氏名 阿部 十也

緒言

R3 年度より「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」の分担に参加した。本研究課題では、運動麻痺患者のブレイン・マシン・インターフェース(BMI)治療法開発の前段階として、その神経回路基盤の解明を行う。BMI とは、運動麻痺患者の意図を脳波信号から解読して、患者を代行して機械を操作する技術のことである。研究対象者が心の中で運動を想像すると、大脳中心溝近傍から観察される α 、 β 周波数帯域の脳波律動(ミュー波)が変化する。機械はこの脳波変化を感知して操作する。どの神経回路を動員して自分の脳波律動を調整しているのか未だ十分に理解できていない。

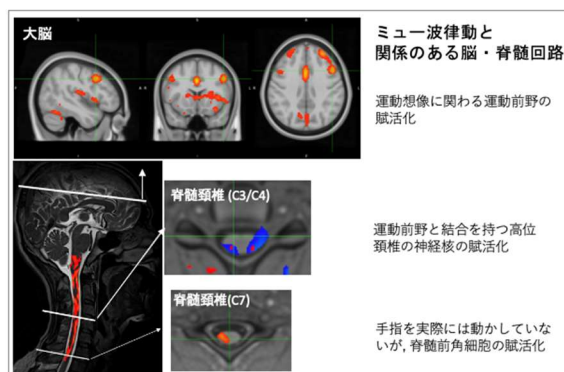
我々はミュー波脳波律動の調整に脳皮質だけでなく脊髄神経回路を巻き込んでいると仮説を立てた。運動想像と関係のある一次運動野や運動前野は脊髄神経回路とシナプス結合を持つ。頸髄全損傷の患者では運動想像時のミュー波の空間的分布が中心溝に局在せず頭頂葉にかけて広い範囲で観察される。脊髄神経回路と脳回路との結合がミュー波の局在化に関わるとのヒントを得た。我々は脳脊髄神経活動を計測する技術を現有する(Takasawa & Abe et al., 2022 Communications Biology)。この技術を応用し

てミュー波脳波律動の調整に関わる脳脊髄神経回路を同定する。

方法と結果

脊髄神経活動を評価する MRI 機能画像法(cs-fMRI)を独自に開発した。この技術を用いて運動実行、運動想像の最中の脊髄、脳神経活動のマッピングを行う手法を開発した。ミュー波脳波律動の連動に関係した脳回路同定のための解析を別研究課題と並行して行った。まず安静時条件で脳波 MRI 同時計測データを20名収集した。時系列脳波データから α 、 β 周波数帯域のパワーの変動を算出し、その変動と相関する MRI 神経活動を全脳で検索する解析を行った。10名分の粗々の解析で α 、 β 周波数帯域それぞれでミュー波パワー変動と相関する神経回路を観察した(下図の大脳の神経活動マッピングを参照)。

以上の解析技術を実装して運動想像時のミュー波脳波律動のパワーと連動する脳脊髄回路の活動を観察する実験を開始した。一例データで脳と脊髄の神経活動を観察した。脊髄高位頸髄(C3/C4レベルに相当)および頸髄C7の脊髄神経活動が観察された。大脳と並行して脊髄神経回路の賦活化を示唆する結果であった。今後、症例数を増やすとともに、大脳と脊髄神経回路との機能的結合を観察する。



参考文献

Eiji Takasawa †, Mitsunari Abe †*, Hirotaka Chikuda, Takashi Hanakawa*. A computational model based on corticospinal functional MRI revealed asymmetrically organized motor corticospinal networks in humans. *Commutations Biology*. 2022. 5(1):664. doi: 10.1038/s42003-022-03615-2. (†は共同筆頭著者、*は共同責任著者)

〈分担研究課題〉ニューロモデュレーションの治療および研究における倫理的課題の検討と倫理支援

国立精神・神経医療研究センター
臨床研究支援部 生命倫理室
有江文栄

緒言

ニューロモデュレーションの治療及び臨床研究推進のためには、臨床及び研究支援体制を整えることが不可欠である。しかし、この分野における倫理問題の明確化と、研究倫理の支援体制についての検討は十分に行われていない。

そこで本分担研究では、ニューロモデュレーションの治療および研究における生命倫理的課題の調査を行うとともに、特定の治療・研究における臨床・研究倫理支援の窓口を設置し、助言を行う体制を整えた。

方法

1. ニューロモデュレーションの治療及び研究における生命倫理的課題に関する文献等調査と国際会議への陪席及び会議レポートのレビュー
2. 研究者の研究倫理支援体制の構築

本プロジェクトに参画中の研究者を対象に、研究倫理相談窓口を設置するとともに、これまでの研究倫理相談内容の調査を行った。

結果

1. ニューロテクノロジーの倫理的問題に関するIBCの報告書では、情報収集及び、臨床におけるニューロモデュレーションに着目しIBCのレポートの提言についてレビューを行った結果、研究の文脈では、脳データの有用性等の研究成果が無差別やプライバシー保護等の対象とすべきであるという点や偶発的所見についても他の脳神経画像を取りあつかう研究分野と同様の懸念が示されている。研究対象者への利益が保証されなければならないという報告があるが、ニューロモデュレーション技術のリスク評価、安全性に関するエビデンスの構築も必要である。また、この技術を使用する上で公正性についても議論されているところである(アクセスの公平性)。

2. 研究倫理相談支援体制の構築

現在、臨床研究相談窓口や生命倫理室へ直接相談が行える体制は整えられている。これまでの相談実績のうち、ニューロモデュレーションに特化した相談はなされていないが、相談案件全体の内、本分担研究に関連があるものとして、ICの手続きやデータの利活用、個人情報

考察

ニューロモデュレーション技術の生命倫理の課題は、治療と研究では異なる部分もあるが、研究の文脈においてもリスクの評価や安全性に関するエビデンスだけでなく、対象者への利益が保証されることが重要であり、単に利益とリスクの比較考慮の枠に収まるものではないと考える。研究と医療の混同というリスクも考慮しなければならないが、難治性の疾患と同様に本人への利益を最大限考慮することは倫理的観点から指示され得る。その他自律性の尊重や人格の尊重は、治療や研究に参加する時点だけではなく、参加中にこそ配慮しなければならないという特徴がより明らかである。

研究倫理支援について、ニューロモデュレーション技術を用いた研究は慎重に進められるべきではあるが、より研究が促進されるよう、必要な倫理支援を検討する必要がある。センター外の施設における倫理支援の実態と、倫理支援における他施設との連携も検討し、研究者のニーズについて情報を共有する必要がある。

結論

ニューロモデュレーションに特化した生命倫理の課題について先行研究が十分あるとは言えないが、文献調査を継続しつつ、関連学会や国際会議等の場で情報の収集及びコミュニティとの情報共有等にも努めていく必要があるだろう。

生命倫理室や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、ニューロモデュレーションの研究に特化した相談は殆どない。よって、他機関との連携を図り情報の共有をおこなっていくことを早急に進めるべきであろう。

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)

Takatoshi Hara, Shinsuke Kito, Yuji Takahashi, Masaki Iwasaki, Ayano Matsui, Tomiki Sumiyoshi, Kazuhiko Seki, Mitsunari Abe, Fumie Arie

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. Research on Neuromodulation Therapy for Mood Disorders

Brain stimulation therapy for mental illness has played a complementary role to pharmacotherapy. In particular, electroconvulsive therapy (ECT) is a treatment with high efficacy and rapid onset. It is recommended for cases where suicidal ideation is imminent or for cases where improvement cannot be achieved with medication. However, while reports on the stimulation conditions of ECT and exploratory studies on a small number of cases have been conducted, no comprehensive observational studies have been reported. In this study, a retrospective observational study was conducted to clarify the relationship between the therapeutic effects and side effects of ECT and the

clinical characteristics of patients. Patients who received ECT at our hospital were investigated by reviewing their medical records to verify its usefulness. The trial design was a single-center retrospective observational study. The therapeutic effects of ECT were scored on a 0-4 scale by the researcher based on the patient's functional disability before and after ECT, which was investigated by reviewing the patient's medical records. The study investigated the age, sex, diagnosis, length of hospital stay, severity, social functioning disability level, number of ECT treatments during hospitalization, treatment duration, stimulation conditions, and presence or absence of adverse events for the target patients. Based on the various clinical characteristics of the patients, various regression analyses were conducted to identify factors contributing to the therapeutic effects of ECT and to clarify the relationship between therapeutic effects, side effects, and patient clinical characteristics. The planned number of study subjects is 350-400.

3. Generating evidence for neuromodulation therapy for intractable movement disorders.

Severe Tourette syndrome with accompanying severe involuntary movement disorder can greatly impair a patient's ADL, but there are still cases where treatment is difficult. While DBS has been performed worldwide for refractory Tourette syndrome and its effectiveness is widely recognized, many aspects of how DBS works and its effects are still unknown. In addition, the indications and techniques for DBS have not been standardized. Therefore, the accumulation of clinical information on DBS-treated patients, the construction of evidence for the formulation of guidelines, and the verification of prognostic factors for treatment effectiveness should be pursued. At the same time, the effectiveness of DBS for psychiatric elements such as impulse control, which is easily associated with Tourette syndrome, should be investigated by collaborating with psychiatrists. During the research period, DBS implantation surgery was performed in six patients with refractory Tourette syndrome. One patient required removal due to infection, but the others had good treatment response. A retrospective study was conducted on 25 patients who underwent DBS at four domestic facilities (21 patients at NCNP), and the results of the treatment course and patient questionnaire were analyzed using a repeated-measures mixed-effects model. The results revealed that the improvement rate of symptoms was significantly higher in the group of patients with tics that severely affect their daily lives, such as self-harm and property damage. In

other words, even patients with the most severe tics showed good treatment response to DBS.

4. Establishing evidence of the effectiveness of neuromodulation for neurological disorders.

The satisfaction of patients with Parkinson's disease (PD) regarding non-motor symptoms such as depression, anxiety, and pain is lower than that for motor symptoms. This study aims to address these unmet needs and generate new evidence on treatment through the use of neuro-modulation techniques. A protocol was developed for a randomized, double-blind, sham-controlled trial (TMS-PD trial) to investigate the effectiveness and safety of transcranial magnetic stimulation (TMS) for depression and anxiety symptoms in PD patients, based on the collection of fundamental information for TMS treatment planning. In order to conduct the TMS-PD trial, a pilot study is necessary to obtain baseline data on the effect size of TMS. A clinical trial protocol for PD-TMS was created, and a pilot study will be conducted to obtain basic data on effect size, with the aim of conducting a randomized controlled trial (RCT) in the future.

5. Study on spinal cord stimulation therapy for pain associated with neuropsychiatric disorders.

This study examined Parkinson's disease patients who underwent spinal cord stimulation therapy for intractable pain, and analyzed their walking parameters using a Walkway system that measures floor reaction force before and after the start of stimulation. Eight patients received low-frequency tonic stimulation (low-frequency group), while the other eight received high-frequency BurstDR stimulation (high-frequency group), and changes in each parameter were observed. The low-frequency group showed improvements in walking speed, stance phase time, swing phase time, cadence, and stride length. The high-frequency group showed improvements in walking speed and stride length, but there were no significant differences in cadence or temporal factors (stance phase time, swing phase time, and double support time). Spinal cord stimulation therapy for intractable pain in Parkinson's disease patients was found to improve not only pain but also walking, and the mechanism of improvement may differ between low-frequency and high-frequency stimulation.

6. Study on the effectiveness of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders.

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a non-invasive electrical stimulation method that modulates brain neural activity by delivering weak electrical currents of approximately 1-2mA from electrodes placed on the scalp. We have previously confirmed that tDCS applied to the left prefrontal cortex improves positive symptoms, motor function, language memory, and language fluency in patients with schizophrenia who have cognitive impairments. However, there is limited knowledge regarding the effects of tDCS on social cognitive function (such as theory of mind and facial recognition), which is known to affect patients' social functioning. In this study, we investigated whether tDCS targeting the left superior temporal gyrus/sulcus improves social cognition in patients with schizophrenia. We found, for the first time, that anodal tDCS to the left superior temporal gyrus/sulcus improves social cognitive function in patients with schizophrenia.

7. Technical assistance for muscle synergy analysis in patients with neuromuscular diseases.

The purpose of this research group is to provide technical support for analyzing muscle synergy in patients with various diseases exhibiting movement disorders at NCNP Hospital. The aim is to establish a disease-crossing quantitative evaluation of movement disorders and support the development of new treatment methods using muscle synergy feedback. The method used to extrapolate experimental results in macaques, which are closely related to humans, to humans. Muscle synergy analysis, which is considered effective in elucidating the neural basis of physical rehabilitation, was used to verify the rehabilitation effect on a model monkey with physical damage (tendon transfer). Significant changes in the temporal activity patterns of muscle synergy were observed between early adaptation and late adaptation. As a result, muscle synergy analysis was shown to be effective in evaluating the effect of physical rehabilitation.

8. Development of high-precision EEG brain-machine interface (BMI) technology.

BMI is a technology that decodes the intention of movement in patients with motor paralysis from their brainwave signals and operates a machine on their behalf. When a research subject imagines movement in their mind, the alpha and beta frequency band brainwave rhythms (mu waves) observed from the vicinity of the central sulcus in the brain change. The machine detects these brainwave changes and operates accordingly.

The neural circuits that are mobilized to adjust one's own brainwave rhythm during motor imagery are not yet fully understood. The researchers hypothesized that the adjustment of mu wave brainwave rhythms involves not only the cerebral cortex but also the spinal neural circuits. The primary motor cortex and premotor cortex, which are involved in motor imagery, have synaptic connections with spinal neural circuits. In patients with complete cervical spinal cord injury, the spatial distribution of mu waves during motor imagery is observed over a wide range from the central sulcus to the parietal lobe, rather than being localized to the central sulcus. The researchers applied this technology to identify the neural circuits involving spinal neural activity that are related to the adjustment of mu wave brainwave rhythms. They developed a unique MRI functional imaging method (cs-fMRI) to evaluate spinal neural activity. In parallel with another research project, they conducted analyses to identify brain circuits related to the coordination of mu wave brainwave rhythms. They calculated the power fluctuation of the alpha and beta frequency bands from the time-series brainwave data and searched for MRI neural activity that correlated with these fluctuations throughout the brain. They plan to increase the number of cases and observe the functional connection between the brain and spinal neural circuits in the future.

9. Examination of ethical issues and ethical support in the treatment and research of neuromodulation

To promote the clinical use and research of neuromodulation, it is essential to establish a support system for clinical and research purposes. However, the ethical issues in this field have not been sufficiently clarified, and there has been little discussion on the support system for research ethics. Therefore, in this study, we conducted a survey on the ethical issues of neuromodulation therapy and research and established a consultation system for clinical and research ethics support for specific treatments and research. While there is not yet enough previous research on the ethical issues specific to neuromodulation, we will continue to conduct literature surveys and strive to gather information and share it with the community at related conferences and international meetings. Although we have been providing support from the ethical aspect of research through the bioethics office and clinical research consultation, there are few consultations that are specifically tailored to neuro modulation research. Therefore, it is urgently necessary to promote cooperation with other institutions and share information as soon as possible.

研究課題番号 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

1. 研究目的

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) における事業として発展的に改変し本研究班でその運営を担う。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、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。利用者の視点に立った情報公開を検討する。

2. 研究組織

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター (NCNP) 小牧宏文

分担研究者 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 (2022年度より原貴敏)、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 八雲病院 (2021年度より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 大阪刀根山医療センター: 松村剛、日本筋ジストロフィー協会: 矢澤健司、熊本大学 (2022年度より国際医療福祉大学): 山下賢

3. 研究成果

i) 臨床開発

a. 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): 臨床試験開始を目指し PMDA 事前面談を実施、プロトコル骨子を作成し、多施設共同研究体制の構築を行ったうえで、AMED 研究費に採択され治験が開始できる体制が整った。

b. CCNMD 施設調査 (尾方): 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その結果を Web サイトに公開した。

c. Remudy、CCNMD を用いたフィジビリティ調査: 患者レジストリである Remudy を用いた医師主導治験 (筋強直性ジストロフィー: DM1、デュシェンヌ型筋ジストロフィー: DMD)、企業治験 (DMD) への被験者リクルート支援、フィジビリティ調査を依頼に基づき実施した。2014年以來の支援実績は治験被験者リクルート9件、フィジビリティ調査18件、研究事務局7件、その他研究支援36件となった。

ii) レジストリ

a. ジストロフィン症 (DMD、ベッカー型筋ジストロフィー (BMD))、GNE ミオパチー、DM1、先天性筋疾患を対象に、国立精神・神経医療研究センターにて事務局業務を担い事業

を継続した。登録患者数は2022年11月現在それぞれ2104名、240名、1177名、75名となった。

b. 顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーレジストリ（松村）：2020年度より登録事業を開始した。登録項目はCore dataset for international FSHD registryを網羅し、国際的なデータ利用が可能にさせた。患者グループや班員施設、関連研究班・学会等を通じて周知活動を行い、2022年10月末現在163名の登録が得られた。

c. 製造販売後調査への活用も見越して、一定の信頼性保証を講じた新しい機能を有するレジストリである多施設共同研究のRemudy-DMD研究を開始し2022年末現在117名の登録が得られた（中村治）。

d. 筋強直性ジストロフィーレジストリ（中村治、高橋）：大阪大学で運用されていた筋強直性ジストロフィー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て有症状の患者974名を対象に登録項目の重回帰分析を行った。握力、%FVC、QRSではCTG繰り返し配列長、PRでは登録時の年齢の影響が強くみられた。握力、%FVC、QRSはいずれも次いで登録時の年齢の影響が大きかった。脂質・糖代謝、肝機能などについて、Remudy患者登録を用いて二次調査を行い、脂質異常症、肝機能障害の頻度が高いこと、脂質異常症については十分な治療が行われていないことを明らかにした。Remudyをエリスロマイシンの安全性及び有効性を検討する多施設共同医師主導治験の患者リクルートに活用した（高橋）。

e. 眼咽頭型筋ジストロフィーのレジストリ（山下）：登録項目の設定、登録システムの構築・運用体制の検討、周知活動、国際連携などの検討を行い登録開始に向けて準備を進めた。

f. ジストロフィノパチー、GNEミオパチー、およびFSHDについて、レジストリ登録の際に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。複雑な手法、ならびにデータ解析を要するFSHDの遺伝学的診断についてナノポアロングリードシーケンサーを用いることでD4Z4反復配列リピート長とCpGメチル化を同時に検出することに成功した（西野）。

iii) 自然歴

a. DMD前向き自然歴研究（竹下）：33例が登録され研究を継続し中間解析を行った。North Star Ambulatory Assessment (NSAA) でベースラインから1年で平均3点、2年で平均8.9点低下しているなど、運動機能評価における日本人DMD患者の最小変化量を初めて提示した。同時に測定した活動量計から得られた運動強度や座位時間がNSAAや6分間歩行テストの経時的変化とよく相関しており、リアルワールドデータの臨床応用に向けた基盤となる知見を得た。企業治験の有効性評価のために、本研究で得られた患者個々のデータを依頼に基づき企業に提供した。

b. 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は長期で有意に進行するデータを得た。

c. BMDの自然歴調査多施設共同研究（中村昭）：319名BMD患者の遺伝子変異情報とカルテ等の資料から臨床情報を収集し、内正確な遺伝子情報が得られた305名のBMD患者データを元に患者属性、骨格筋・呼吸機能・心機能・中枢神経障害の各表現型の解析と遺伝子型との関連について解析を行い、遺伝子型により表現型・重症度が異なることを初めて見出した。さらに、BMDの中枢神経障害の併発頻度が予想以上に高く、てんかんや知的能力障害・発達障害が主徴になっている症例が存在していた。

iv) アウトカムメジャー、バイオマーカー

a. DMDの上肢機能評価（水野、原）：様々な疾患に応用可能な上肢機能評価法であるボックスアンドブロックテスト (BBT)、Purdue ペグテスト (PPT) を8~41歳のDMD患者84

名で実施。BBT、PPT は DMD の標準的上肢機能評価法である Brooke スケールとよく相関し、施行不能となる 15~18 歳ごろまで定量的な指標として使用可能であることを見出した。過去に NCNP の研究班で作成され臨床の現場で比較的容易に測定できる上肢運動機能障害度分類が他の上肢機能評価とよく相関することを見いだした。

b. DMD の活動量計を用いた評価 (水野、原、竹下) : 床からの起立、歩行が可能な DMD 患者 9 名に対して活動量計を用いて活動量を計測した。3 年間で運動量に有意な変化はなかったが、運動強度は経時的に有意に低下した。歩行可能な DMD 患者の生活活動指標として運動強度がより有用である結果を得た。

c. DMD の尿中 miRNA 解析 (本橋) : microarray 法で網羅的に解析された miRNA2578 のうち十分な発現量を認め、かつ DMD 群と健常者群間で有意に差を示した miRNA は 4 つあり、うち一つは臨床経過との相関があり、かつ細胞実験にて細胞の生存、増殖、サイズに与えることが確認でき、臨床データとの関連性を支持していた。

d. 骨格筋画像の定量的解析の AI を用いた自動化 (中山) : すでに確立している筋ジストロフィー患者の骨格筋 CT 画像の推定関数を用いた筋量定量方法について、骨格筋外の皮膚や皮下血管を手動消去の自動化に関して、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、面積などを AI に機械学習させ、誤検出した組織を非対象物の教師データとして認識させることで AI を利用した自動化ソフトの開発を行った。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の誤差は 0.25%程度とわずかであった。

e. 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ホモ接合性患者において、運動評価スケール GMFM と有意な相関を示した。

f. 尿タイチンのバイオマーカー検討 (栗野) : DMD 患者を *ACTN3* 遺伝子型で分類し尿タイチン値を比較したが、いずれの年齢群においても 3 つの遺伝子型で、尿中タイチン濃度に有意差は認めなかった。一方 BMD 患者での検討において尿中タイチン値と大腿広筋と大腿二頭筋の CT 値に負の相関を認めた。筋崩壊が活発な患者では、膝関節運動に関わる筋が強く変性することを意味することが想定され尿中タイチンは大腿広筋と大腿二頭筋の変性を評価するバイオマーカーとなると考えられた。

v) エビデンス構築

a. 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)、データ取り扱う環境整備を行ない倫理申請、厚労省へデータ利用申請を行い承諾された。NCNP で NDB を利用する際の規程などデータ管理体制を整えた。

b. 脊髄性筋萎縮症 (SMA) に対する新生児スクリーニングに対する保護者の意向調査 (竹島) : アレルギー外来通院中の児の保護者、および県内の 5 歳健診対象児の保護者にアンケート形式の調査を行い、保護者は SMA という疾患や治療に対する知識は十分ではないものの、新生児スクリーニングには積極的である傾向が明らかとなった。

c. DMD 患者の代替栄養法導入時期に関する多施設共同研究 (山本) : 7 つの共同研究施設からデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者 166 人のデータが集まり解析を行っている。

d. 成人筋ジストロフィーに合併する嚥下障害 (山本) : 嚥下造影検査を実施した成人筋ジストロフィー患者 286 人の嚥下造影検査と日本語版嚥下障害質問票 (SDQ) による嚥下障害の自覚について検討したところ、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。

- e. 筋強直性ジストロフィーに合併する心機能障害（瀬川）：心臓合併症は、心伝導障害、心房細動、心房粗動が多く、心室頻拍、左室収縮能低下は少ないことを見いだした。
- f. DM1 呼吸管理に関わる多職種チーム育成、専門拠点形成（石川）：国際コンセンサスに準拠した検討を進めている。
- g. 骨格筋画像の鑑別診断における有用性確立のための研究（久留）：骨格筋画像所見を用いた肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）の診断アルゴリズム作成し、日本神経学会の承認を得た次年度に完成を目指す。この作成には NCNP が運営している IBIC の画像データベース（IBISS）を活用した。
- h. 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）：手術時に Cobb 角 100 度以上の高度変形を呈し、後方矯正固定術を試行した弛緩型神経筋性脊柱側彎症患者 30 例（SMA 11 例、DMD8 例、その他 11 例）を対象に検討、術前平均 Cobb 角は 121.9 度（術後 42.9 度）、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 339 分、平均出血量 1440ml、8 例に周術期合併症を認めた。重度脊柱変形を矯正するために高侵襲な手術を要し、周術期合併症が多い状況であり、脊柱変形が高度となる前に治療介入ができるよう、専門医へのコンサルト体制構築が必要な状況であった。
- i. 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）：筋ジストロフィーの早期診断・早期治療に関する ELSI（倫理的・法的・社会的課題）の調査および、早期診断・早期治療技術に関する国民の意識調査を実施し、ELSI を検討し、その内容まとめるとともに、アウトリーチ・インリーチ活動を通じて、社会への情報発信・情報共有を図ることを目標に研究を進めた。文献調査によって、個人情報保護、遺伝子差別、情報開示に関する権利、家族関係等の主要な課題と取り組むべき ELSI の課題が明らかになった。臨床及び人文社会学の専門家等を交えて、筋ジストロフィーの発症前・早期診断・早期治療における ELSI を考えるというテーマで意見交換会を開催した。希少疾患として生きるための課題に関する研究が十分に行われていないこと、更にこの課題で未だ当事者の観点から明らかになっていないことが分かり、これらの課題を踏まえて研究を進めていく。
- j. 患者・家族会と密に連携した患者・家族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、本年度も講演会、レジストリ、アウトカムメジャー研究、倫理的課題の検討など連携を図り研究を行った。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】 計 46 件 うち査読付論文 44 件

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. 2022;432:120080. doi: 10.1016/j.
2. 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;427:117511.
3. Lee T, Tokunaga S, Taniguchi N, Fujino T, Saito M, Shimomura H, Takeshima Y. Views of the General Population on Newborn Screening for Spinal Muscular Atrophy in Japan. Children (Basel). 2021 ;8 :694.

4. Saito W, Inoue G, Shirasawa E, Imura T, Nakazawa T, Miyagi M, Uchida K, Matsuda H, Akazawa T, Takaso M. 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.
5. Okano S, Nishizawa H, Yui J; PTS, Yokokawa Y, Koinuma M, Nakamura A. Convergent validity of a simplified device and relationship between blood lactate and salivary lactate after a vertical squat jump in healthy non-athletes. *J Phys Ther Sci*. 2021;33(3):187-193.
6. Okubo M, Noguchi S, Awaya T, Hosokawa M, Tsukui N, Ogawa M, Hayashi S, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Fukuyama T, Funato M, Hosokawa Y, Kinoshita S, Matsumura T, Nakamura S, Oshiro A, Terashima H, Nagasawa T, Sato T, Shimada Y, Tokita Y, Hagiwara M, Ogata K, Nishino I. RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet*. 2022 Sep 1. doi: 10.1007/s00439-022-02485-2.
7. Saito Y, Takeshita E, Komaki H, Nishino I, Sasaki M. Determining neurodevelopmental manifestations in Duchenne muscular dystrophy using a battery of brief tests. *J Neurol Sci*. 2022 Sep 15;440:120340. doi:10.1016/j.jns.2022.120340.
8. Shimizu R, Ohata M, Tachimori H, Kimura E, Harada Y, Takeshita E, Tamaura A, Takeda S, Komaki H. Expectations and anxieties of Duchenne muscular dystrophy patients and their families during the first-in-human clinical trial of NS-065/NCNP-01. *Brain Dev*. 2020;42(4):348-356.
9. 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*. 2021;92:215-221.
10. Mori-Yoshimura M, Oya Y, Komaki H, Segawa K, Minami N, Saito Y, Nishino I, Takahashi Y. Respiratory Dysfunction in Becker Muscular Dystrophy Patients: A Case Series and Autopsy Report. *J Neuromuscul Dis*. 2020;7:425-431.

【学会発表】 計 45 件

1. Okubo M, Noguchi S, Hayashi S, Komaki H, Nishino I: RNA-seq analysis for Dystrophinopathy. 26th International Congress of the World Muscle Society, 2021/9
2. Hama M, Horie R, Kubota T, Matsumura T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP, Takada H. Liver dysfunction and dyslipidemia in myotonic dystrophy type 1: A cross-sectional study using the National Registry of Japan. 26th International Congress of the World Muscle Society. 2021/9

3. Matsumura T, Nakamura H, Nishino I, Sasaki-Honda M, Suzuki T, Komaki H. Launch of a national registry for facioscapulohumeral muscular dystrophy in Japan. World Muscle Society, 2021/9
4. 清水功一郎、橋出秀清、佐藤徳子、水野勝広。デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における Box & Block TEST、Purdue Pegboard Test と Brooke Upper Extremity Scale の関係。第 75 回国立病院総合医学会，2021 年 10 月
5. Mori-Yoshimura M, Oya Y, Yajima H, Noguchi S, Mizuno K, Nishino I, Takahashi Y. A long-term natural history study of GNE myopathy. 第 62 回日本神経学会学術大会。2021 年 5 月
6. 漆畑伶，竹下絵里，馬場信平，住友典子，本橋裕子，石山昭彦，齋藤貴志，小牧宏文，中川栄二，佐々木征行。デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における耐糖能異常の検討。第 64 回日本小児神経学会学術集会。群馬：2022 年 6 月
7. 竹下絵里，本橋裕子，齋藤貴志，小牧宏文，水野勝広，佐々木征行。デュシェンヌ型筋ジストロフィーのエクソン 53 スキッピング治療による安全性・有効性の検討。第 64 回日本小児神経学会学術集会。2022 年 6 月
8. 荒井篤，小牧宏文，二宮央，馬場信平，住友典子，竹下絵里，本橋裕子，石山昭彦，齋藤貴志，中川栄二，佐々木征行。デュシェンヌ型筋ジストロフィーの重症心不全患者に対する緩和ケア。第 64 回日本小児神経学会学術集会。2022 年 6 月
9. 小牧宏文。脊髄性筋萎縮症に対する新たな治療法。第 64 回日本小児神経学会学術集会。2022 年 6 月
10. 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 年 10 月

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 生命倫理室

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を行い、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である。

本研究を通じて、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。また遺伝カウンセラーを対象に、早期診断を受ける当事者やその家族に「遺伝」について伝える体験についてインタビュー調査を実施した。

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。

本研究では、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、専門家や患者会のスタッフも参加した。

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、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。

遺伝カウンセラーへのインタビュー調査では、「遺伝」について伝える上で留意している点やジレンマ等が語られた。遺伝の異常ではなく、変化という用語を意識して使用することや、確立であるということを伝えるようにしていること等、本人の価値観に基づく伝え方も明らかになった。

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的一端が得られた。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

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。インタビュー調査で遺伝カウンセラーや当事者とその家族の体験を互いに共有することで、お互いが持つ倫理的ジレンマの解決の一助になることが望まれる。

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。

参考文献

- 1) Adam L Hartman , Anneliene Hechtelt Jonker , Melissa A Parisi Daria Julkowska Nicole Lockhart , Rosario Isasi , Ethical, legal, and social issues (ELSI) in rare diseases: a landscape analysis from funders. Eur J Hum Genet. 2020 Feb;28(2):174-181. doi: 10.1038/s41431-019-0513-3. Epub 2019 Sep 19.

筋ジストロフィーの心筋障害

国立精神・神経医療研究センター病院

循環器科 瀬川和彦

【緒言】

集学的医療の進歩により、筋ジストロフィーの生命予後は延長している。一方、ディシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)、ベッカー型筋ジストロフィー(BMD)、女性ジストロフィン異常症、福山型先天性筋ジストロフィー(FCMD)では、心筋障害がみられ、心不全による死亡が問題となっている。

【方法】

2011～2020年の10年間に国立精神・神経医療研究センター病院を受診し、1回以上心エコー検査を実施したDMD369例、BMD138例、女性ジストロフィン異常症57例、FCMD34例を対象とした。観察期間内の最後に実施した心エコー検査の検査時の年齢、左室短径収縮率(左室収縮能低下の指標)、左室拡張末期径(左室拡大の指標)及び、観察期間内の心不全死の有無を調査した。

【結果】

DMDでは、10才代から左室収縮能低下を認め、20才代では約8割の患者に認めた。左室拡大は10才以降の1～2割の患者に認めた。心不全死は全体の4.1%(15例)に認め、10～20才代に多く認めた。心不全死例のうち、13例は左室の拡大を認め、2例は心嚢水貯留を認めた。

BMDでは、10才代から心筋障害がみられ、左室収縮能低下、左室拡大が全体の30%、12%に認められた。心不全死例はみられなかったが、運動機能が比較的保たれていた1例が10才代で重症心不全となり補助人工心臓を装着し、20才代で心移植を受けた。

女性ジストロフィン異常症の心筋障害は30才以降に認められ、左室収縮能低下、左室拡大が16%、5%に認められたが心不全死はみられなかった。

FCMDでは、10才以降に心筋障害を認め、左室収縮能の低下を全体の47%に認めた。20才代の1例

で、左室の拡大、心不全死がみられた。

【考察】

筋ジストロフィーの心筋症は加齢とともに一律に進行するのではなく、一部の患者が10～20才代で重症心不全となり、心不全死に至る。DMDでは心不全死の頻度が4.1%と高い。当院では10才からエナラプリル、左室収縮能低下を認めた時点からベータ遮断薬、左室の拡大を認めた時点からミネラルコルチコイド受容体拮抗薬で治療しているが、心不全死を防ぐことはできていない。

BMD、FCMDでは心筋障害を認めるが、心不全死は稀であった。ただし皆無ではないことに留意する必要がある。

女性ジストロフィン異常症では、心筋障害の発症年齢が高く、左室収縮能低下、左室拡大の頻度は比較的 low、心不全死は認めなかった。

本研究は後ろ向き観察研究であり、観察期間内に逸脱した患者の転帰を確認できていない。

【結論】

DMD、BMD、FCMDでは心筋障害に対する薬物治療をおこなっても、心不全死がみられる。今後、さらなる心筋障害治療の検討が必要である。

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

国立精神・神経医療研究センター病院

脳神経小児科

竹下絵里

【諸言】

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の臨床開発を進める上で自然歴研究は重要であるが、日本では DMD の臨床試験の対照群に資する自然歴データはなかった。そこで、標準的医療を受けている歩行可能な DMD の運動機能の自然歴を調査する目的で、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。

【方法】

2018 年 1 月～2021 年 9 月末に研究参加 11 施設に通院し、登録時に自力で歩行可能な 6～12 歳 (中央値 8 歳) の DMD 患者 33 名 (初回 33 名、26 週後 31 名、52 週後 29 名、78 週後 26 名、104 週後 23 名、130 週後 22 名、156 週後 15 名、182 週後 4 名) を対象に、歩行不能になるまで 6 か月おきに運動機能評価 (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 分間歩行テスト (2MWT)、6 分間歩行テスト (6MWT)、定量的筋力評価 (膝関節伸展/屈曲・肘関節屈曲/伸展・握力)) を実施、経年的推移、臨床開発において妥当な項目について検討した。

【結果】

5 名が参加辞退により研究中止、4 名が歩行不能になり研究終了した。

初回、52 週後、104 週後、156 週後の最小二乗平均値は、6MWT408.8m、379.7m、319.5m、238.7m、2MWT145.0m、138.5m、117.9m、87.7m、NSAA25.7 点、23.2 点、19.6 点、14.2 点、10m 走行/歩行時間 5.66 秒、6.18 秒、7.59 秒、9.33 秒、

床からの立ち上がり時間 5.28 秒、9.79 秒、8.58 秒、12.17 秒、TUG8.75 秒、9.38 秒、10.85 秒、16.91 秒であった。同様に、定量的筋力評価の膝関節伸展 57.52N、54.66N、39.78N、33.16N、膝関節屈曲 51.27N、54.63N、51.07N、42.55N、肘関節屈曲 31.93N、31.62N、32.57N、25.05N、肘関節伸展 36.47N、36.93N、32.42N、28.30N、握力 60.59N、66.28N、62.46N、61.51N であった。6MWT は 52 週後以降、2MWT は 78 週後以降、NSAA は 52 週後以降、10m 走行/歩行時間は 78 週後以降、床からの立ち上がり時間は 78 週後以降、TUG は 78 週後以降にベースライン時より有意な機能低下を認めた。定量的筋力評価については、膝関節伸展は 78 週後以降にベースライン時より有意な機能低下を認めたが、そのほかの項目については有意な低下は明らかではなかった。

6MWT を基準とした併存的妥当性 (初回時 Pearson の積率相関係数) は、2MWT0.94、NSAA0.75、10m 走行/歩行-0.85、床からの立ち上がり-0.78、TUG-0.85 (全項目 $p<0.001$) であった。同様に、定量的筋力評価の膝関節伸展 0.37 ($p=0.04$)、膝関節屈曲 0.26 ($p=NA$)、肘関節屈曲 0.26 ($p=NA$)、肘関節伸展 0.36 ($p=0.04$)、握力 0.2 ($p=NA$) であった。

最小変化量 (初回時 SD/3) は、6MWT35.45m、2MWT10.38m、NSAA1.99 点、10m 走行/歩行 0.86 秒、床からの立ち上がり 0.92 秒、TUG1.25 秒であった。同様に、定量的筋力評価の膝関節伸展 8.15N、膝関節屈曲 6.38N、肘関節屈曲 4.15N、肘関節伸展 4.61N、握力 7.51N であった。

【考察】

Pane らはベースライン時に自力で 75m 歩行可能な 96 名の DMD 患者 (7 歳以上 68 名、7 歳未満 28 名) を対象に自然歴研究を実施しており、ベースラインからの 12 か月後、24 か月後、36 か月後の最小二乗平均値の変化について、6MWT-15.81m、-58.94m、-104.22m、NSAA-2.29 点、-5.5 点、-8.23 点と報告している。本研究では、6MWT-29m、-

89.3m、-170.1m、NSAA-2.5点、-6.1点、-11.5点であった。Paneらの研究とは被験者数、年齢、運動機能等が異なるものの、特にNSAAにおいては海外の自然歴研究と同様の結果を示した。

6MWTを基準とした併存的妥当性については、2MWT、NSAA、10m 走行/歩行、床からの立ち上がり、TUGが有意に高い相関を示し、既報告と同様であった。定量的筋力評価の中では膝関節伸展が相関が高かった。

最小変化量については、本研究と同様の解析を行った研究として、McDonaldらの報告では6MWT31.7m、10m 走行/歩行1.4秒、床からの立ち上がり3.6秒、膝関節伸展10.7N（単位を換算）、Millerらの報告では10m 走行/歩行1秒、床からの立ち上がり0.6秒とのデータがある。また、本研究に先行して実施した「筋ジストロフィーの臨床試験におけるアウトカムメジャー研究」では6MWT30.24m、2MWT9.98m、10m 走行/歩行0.67秒、床からの立ち上がり1.37秒、TUG0.83秒、膝関節伸展2.07Nであった。本研究の最小変化量は、既報告と同様あるいは既報告よりも低いことを示していた。

以上より、本研究で採用した評価項目は6MWTとの併存的妥当性が高く、最小変化量の結果と長期的な実施の点からNSAA、10m 走行/歩行、床からの立ち上がり、TUGは臨床開発において妥当であると考えた。

【結論】

日本のDMD自然歴研究も海外の多数例の自然歴研究と同様の推移を示し、質の高いデータ収集が実施できた。NSAA、10m 走行/歩行時間、床からの立ち上がり時間などの自然歴データ集積は、臨床開発において妥当であり、経年的データの蓄積は重要である。

【参考文献】

1. Pane M, Mazzone ES, Sivo S, Sormani MP, Messina S, D'Amico A, Carlesi A, Vita G, Fanelli L, Berardinelli A, Torrente Y,

Lanzillotta V, Viggiano E, D'Ambrosio P, Cavallaro F, Frosini S, Barp A, Bonfiglio S, Scalise R, De Sanctis R, Rolle E, Graziano A, Magri F, Palermo C, Rossi F, Donati MA, Sacchini M, Arnoldi MT, Baranello G, Mongini T, Pini A, Battini R, Pegoraro E, Previtali S, Bruno C, Politano L, Comi GP, Bertini E, Mercuri E. Long term natural history data in ambulant boys with Duchenne muscular dystrophy: 36-month changes. *PLoS One*. 2014;9:e108205.

2. McDonald CM, Henricson EK, Abresch RT, Florence J, Eagle M, Gappmaier E, Glanzman AM; PTC124-GD-007-DMD Study Group, Spiegel R, Barth J, Elfring G, Reha A, Peltz SW. The 6-minute walk test and other clinical endpoints in Duchenne muscular dystrophy: reliability, concurrent validity, and minimal clinically important differences from a multicenter study. *Muscle Nerve*. 2013;48:357-368.

3. Miller NF, Alfano LN, Iammarino MA, Connolly AM, Moore-Clingenpeel M, Powers BR, Tsao CY, Waldrop MA, Flanigan KM, Mendell JR, Lowes LP. Natural History of Steroid-Treated Young Boys With Duchenne Muscular Dystrophy Using the NSAA, 100m, and Timed Functional Tests. *Pediatr Neurol*. 2020 ;113:15-20.

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

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

中村治雅

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・筋疾患登録システム（Remudy: Registry of Muscular Dystrophy）を有しており、これまでも有効に機能し、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組み立てていない。

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

Remudyに関しては、筋強直性ジストロフィー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。2023年3月末現在、ジストロフィノパチー2,121名、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー(GNE ミオパチー)241名、筋強直性ジストロフィー1,196名、先天性筋疾患78名、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー172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4月末で登録症例数120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も実施し、薬事利用としてのレジストリ構築のためのPMDAとの意見交換も行った。

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のあり方について継続して議論を進めた。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する。

考察

国内でも有数の神経・筋疾患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

ノバージ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。

今後の課題は、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（人員、費用含めた継続性を踏まえて）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、引き続き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. Kosuke Yamauchi , Tsuyoshi Matsumura , Hiroto Takada , Satoshi Kuru , Michio Kobayashi , Tomoya Kubota , En Kimura , Harumasa Nakamura , Masanori P Takahashi. The current status of medical care for myotonic dystrophy type 1 in the national registry of Japan. *Muscle Nerve*. 2023 May;67(5):387-393. doi: 10.1002/mus.27799.
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*. 2021 Dec 11;432:120080. doi: 10.1016/j.jns.2021.120080. Online ahead of print.
3. 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.
4. 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.
5. 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
6. 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).
7. 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

8. 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

国立精神・神経医療研究センター
西野一三

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、Remudy 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、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]

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、サンガーシーケンス法、次世代シーケンサーによる DMD ターゲットリシーケンス法) にて変異が同定できなかった 25 例に対し RNA-seq を行い、変異の同定を行い、結果を解析した。

[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 バリエーションの特徴に関して解析した。本バリエーション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、同バリエーションを有する健常者 1 名、および、患者 3 名について、RNAseq、

Whole genome sequencing、シアル酸濃度測定、および、同バリエーションの構造解析を行い、結果をまとめた。

[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。

また、FSHD の既存の測定法は技術的にも結果解釈も非常に複雑で、しばしば遺伝学的確定診断に至れない症例が存在する。その様な既存の測定法では遺伝学的な確定診断に至れない症例を診断するために、ナノポアロングリードシーケンサーを用いた解析の確立を目指しセットアップした。

結果

[ジストロフィノパチーの解析実績]

2020 年度 41 症例、2021 年度 28 症例、2022 年度 20 症例の DMD 遺伝子解析を行った。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 遺伝子全シーケ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 1 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、論文報告した。

[GNE ミオパチーの解析実績]

GNE 遺伝子および VCP 遺伝子をカバーする GNE パネルを用い、2020 年度 24 症例、2021 年度 20 症例の GNE 遺伝子解析を行った。また 2021 年 3 月までに日本人患者 2 名以上に変異が同定された 115 遺伝子の全エクソン領域およびエクソン・イントロン境界領域の 99.78% をカバーする Hereditary Muscle Disease パネルを新たに作成し、2022 年 1 月より、度度は筋生検を行った全例、および、臨床的に GNE ミオパチーが疑われる症例を対象に同パネルを用いた診断を行った。GNE 遺伝子が原因遺伝子と考えられたのは 14 名であった。

[GNE ミオパチー研究実績]

日本人に 2 番目に多い p.D207V バリエ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エ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 ManNAc 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。上記結果をまとめ、論文報告した。

[FSHD の解析実績]

2020 年度 176 症例、2021 年度 182 症例、2022 年度 201 例の解析を行った。また Remudy 登録依頼例のうち、D4Z4 リピート 1-6 回で 4qA ハプロタイプ未確認の症例に対しては、4qA ハプロタイプの確認が必須であることを案内し、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 (Remudy 登録開始時) - 2021 年 3 月 50 例、2021 年度 47 例、2022 年度 12 例確認した。

[FSHD の研究実績]

FSHD の既存の測定法では遺伝学的な確定診断に至れない 14 症例において、ナノポアロングリードシーケンサーを用いた解析を行い、全例で FSHD と遺伝学的に確定診断し、論文報告した。

考察

[ジストロフィノパチー]

MLPA 法、サンガーシーケンシング法、次世代シーケンサーによる DMD ターゲットリシーケンシング法には、RNA-seq、全ゲノム解析、ロングリードシーケンシングを組み合わせて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 バリエント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。また遺伝子型により臨床病型の違いを予後予測やフォローに役立てていく。

[FSHD]

FSHD が疑われる症例において、ナノポアロングリードシーケンサーを用いた解析で、D4Z4 リピート数とそのハプロタイプ、メチル化率を同時に同定できる手法を確立した。既存の測定法では未診断症例でも、本手法により確定診断に至ることができた。コストの問題はあるが、既存の測定法では遺伝学的な確定診断に至れない症例においては本手法による解析を行っていく方針である。

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 は有効であり、論文報告した。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、論文報告した。FSHD においてナノポアロングリードシーケンサーを用いた解析法を確立し、既存の測定法では遺伝学的な確定診断に至れない症例において本手法の有用性を論文報告した。それを踏まえて、今後、診断フローチャートの再考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

- Hiramuki Y, Kure Y, Saito Y, Ogawa M, Ishikawa K, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Kim DS, Arai N, Mori C, Matsumura T, Hamano T, Nakamura K, Ikezoe K, Hayashi S, Goto Y, Noguchi S, Nishino I. Simultaneous measurement of the size and
• Yoshioka W, Iida A, Sonehara K, Yamamoto K, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kurashige T, Okubo M, Ogawa M, Matsuda F, Higasa K, Hayashi S, Nakamura H, Sekijima M, Okada Y, Noguchi S, Nishino I. Multidimensional analyses of the pathomechanism caused by the non-catalytic GNE variant, c.620A>T, in patients with GNE myopathy. *Sci Rep.* 2022 Dec 16;12(1):21806.
- Okubo M, Noguchi S, Awaya T, Hosokawa M, Tsukui N, Ogawa M, Hayashi S, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Fukuyama T, Funato M, Hosokawa Y, Kinoshita S, Matsumura T, Nakamura S, Oshiro A, Terashima H, Nagasawa T, Sato T, Shimada Y, Tokita Y, Hagiwara M, Ogata K, Nishino I. RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet.* 2023 Jan;142(1):59-71.

methylation of chromosome 4qA-D4Z4 repeats in facioscapulohumeral muscular dystrophy by long-read sequencing. *J Transl Med.* 2022 Nov 8;20(1):517.

筋ジストロフィーに対する適正なリハビリテーション治療の開発と効果の検証に関する研究
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
原貴敏

緒言

これまで、筋ジストロフィー患者に対しては徐々に機能が低下することを前提に、機能維持、2次障害予防、残存機能を生かした生活の質(QOL)向上に主眼をおいて行われてきた。近年になり、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)に対するエクソスキップ薬など疾患の原因に迫る薬剤が開発され、機能の向上が期待される。しかし、筋ジストロフィー患者は徐々に進行する障害に適応するため様々な代償動作を身に着けているため、筋力が改善しても動作の向上につながらないことが考えられる。これらの患者に対して機能改善を促進し、動作の改善につなげるためのリハビリテーション手法を開発すること。また幅広い病態の患者に対して変化を鋭敏にとらえる評価手法を開発し、リハビリテーション治療効果のエビデンスを蓄積し、核酸治療薬など新しい治療を行った患者に対して機能改善を促進し、日常生活動作(ADL)を向上させるためのリハビリテーション手法を確立することを目的とした。

方法

- 1) DMD に対するリハビリテーションで用いられる長下肢装具の有効性を後方視的に検証した。
- 2) 脳卒中片麻痺をはじめ、様々な疾患に応用可能である上肢機能評価法であるボックスアンドブロックテスト(BBT)、Purdue ペグテスト(PPT)などの標準的上肢機能評価法について検証した。
- 3) DMD における上肢機能評価には一般的に、Brooke Scale(Brooke)や Performance of Upper Limb(PUL)が用いられる。これらに加えて、本邦

で開発された上肢運動機能障害度分類の併存的妥当性について検討した。

結果および結言

1) 2008年1月から2018年8月の期間中、当院を受診したDMD患者を対象とした。対象患者を①完全実施群：在宅立位訓練を15分/日、週3回以上15歳まで継続できた群、②不完全実施群：在宅立位訓練導入後、15歳未満で中断した又は頻度減少した群、③非実施群：在宅訓練が導入されなかった群、の3群に分類し、後方視的に検討し、15名が完全実施群、41名が不完全実施群、10名が非実施群であった。Cobb角と年齢の相関分析では不完全実施群($r=0.4133, p<0.0001$)及び、非実施群($r=0.6461, p<0.0001$)で有意な相関を認めたが、完全実施群($r=0.1558, p>0.05$)では有意な相関は認めなかった。Kaplan-Meier分析の結果、歩行可能年齢の有意な延長(log-rank検定, $p<0.001$)、側弯進行(log-rank検定, $p<0.001$)及び呼吸機能低下(log-rank検定, $p<0.001$)の有意な抑制を認めた。

2) BBT、PPTを8~41歳のDMD患者のべ64名で実施した。結果としてBBT、PPTはDMDの標準的上肢機能評価法であるBrookeスケールとよく相関した。

3) 2021年9月~2022年10月にNCNPを受診し、指示理解が可能な男性DMD患者39名に対して、上肢運動機能障害度分類、Brooke、PULの評価を行った。評価は椅子または車いす座位で行った。上肢運動機能障害度分類とPULとのスピアマンの順位相関係数は-0.914であった。また比較のために行ったBrookeとPULとの相関係数は0.854であった。いずれも $p<0.001$ であった。

考察

1) 長期観察の結果より、KAFOを用いた在宅立位訓練を成長期終了まで行うことで、歩行可能期間の延長、側弯の進行抑制、呼吸機能の維持に効果がある可能性が示唆された。

2) 脳卒中などの上肢機能評価に用いられる、BBT や PPT は DMD の患者においても、上肢機能評価に有効である可能性が示唆された。特に 15~18 歳ごろに施行不能となるまでは定量的な指標として使用可能であると考えられた。

3) 上肢運動機能障害度分類は PUL と併存的妥当性が示された。また、上肢運動機能障害度分類は Brooke と比較して、より PUL との強い相関を持つことが示唆された。この理由の一つとして、Brooke は天井効果および床効果を認めていたが、上肢機能障害度分類ではその傾向が少ないことが考えられた。上肢機能障害度分類は PUL と比較すると簡便であるため、時間が限られる際に使用できる可能性がある。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）

1. 水野勝広 スポンサードセミナー6 脊髄性筋萎縮症(SMA) の Cure と Care~ 多職種連携の重要性~ 神経難病治療の新時代に対応したリハビリテーション治療のあり方. 第 47 回国立病院総合医学会 2020 年 10 月

2. 水野勝広 シンポジウム 4 小児疾患とリハビリテーション医療-先天性疾患から発達障害まで- 神経・筋疾患小児患者のリハビリテーションとその今後 第 5 回日本リハビリテーション医学会秋季学術大会 2021 年 11 月

3. 西田大輔 脳梗塞を発症した Duchenne 型筋ジストロフィー患者のリハビリテーション治療経験. 第 4 回日本リハビリテーション医学会 秋季学術集会 2020 年 11 月

4. 寄本恵輔 当院呼吸ケアサポートチームで対応した気胸合併神経筋疾患患者の実態調査. 第 47 回国立病院総合医学会 2020 年 10 月

5. 清水功一郎、橋出秀清、佐藤徳子、水野勝広. デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における Box & Block TEST、Purdue Pegboard Test と Brooke Upper Extremity Scale の関係. 第 75 回国立病院総合医学会, 2021 年 10 月

総説論文

6. 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(10): 1260-3, 2021

7. 樋口彩花, 筋ジストロフィー患者の就労状況と就労の困難感に関する調査, 第 56 回日本作業療法学会, 京都, 2022.9.17

8. 上村 亜希子, 山野 真弓, 原 貴敏, 小牧 宏文, DMD 情報共有冊子「生活の Q & A 集」の作成報告, 第 76 回国立病院総合医学会, 熊本, 2022.10.8

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

国立精神・神経医療研究センター

小児神経科

本橋裕子

【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、あるいは効果を予測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、希少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、治療効果判定や効果予測を可能とするバイオマーカー開発研究を実施した。

【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った。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した。

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した。

診療情報を用いたバイオマーカー研究として、脊髄性筋萎縮症 (SMA) を有する患者の骨格筋 MRI 画像の障害程度を半定量的に評価し、新規治療薬である nusinersen の治療効果を予測する研究を行った。

【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い、データの提供を待っているところである。

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を有する患者と、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¹⁾。

SMA を有する患者の nusinersen 投与前の骨格筋 MRI の脂肪浸潤と萎縮が軽度である例では、治療開始後の運動機能の改善が見られやすいことを見出した²⁾。

【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³⁾、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⁴⁾。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。

SMA を有する患者の研究では、より早期の治療開始が行われるべきであることが示唆してされ、現在承認されている薬剤の効果の課題を示した。

nusinersen 投与前に骨格筋 MRI の障害程度を評価することで、治療開始の意思決定に有用であると考えられる。

【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。骨格筋画像評価は、現在承認されている新規治療薬の課題を明らかにした。

【参考文献】

1) Shimizu-Motohashi Y., Motohashi N., Ishiyama A., ... Komaki H., Sasaki M.. Urine miRNA in patients with Duchenne muscular dystrophy. 第 64 回日本小児神経学会学術集会. G メッセ群馬. 高崎. 2022 年 6 月 2 日.

2) Shimizu-Motohashi Y., Chiba E., Mizuno K. ...Komaki H. Muscle impairment in MRI affect variability in treatment response to nusinersen in patients with spinal muscular atrophy type 2 and 3: A retrospective cohort study. Brain Dev . 2023 Mar;45(3):161-170.

3)https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryoku/iryokuhoken/reseputo/index.html

4) 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.

成人筋ジストロフィー・ミオパチー患者の治療
/ケア/サポートのエビデンス確立のための研究
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

A. 緒言

近年の治療・ケア研究の進歩により、様々な新規治療薬・治療法が開発されている。治療導入前後での客観的な効果判定や患者、介護者の QOL 判定に資するデータは十分に蓄積されているとはいえない。本研究では、近年治療薬が上梓あるいは予定されている Duchenne 型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy, DMD)、および GNE ミオパチーについて下記の研究を行った。① dystrophinopathy についての患者・家族実態調査、②GNE ミオパチーの治療効果判定指標の検出

①Duchenne 型筋ジストロフィーは dystrophin 蛋白の遺伝子異常により小児期に歩行喪失する遺伝性疾患で、中枢神経障害を合併する事が知られる。こだわりの強さや知的障害の存在でいじめを受けるなどして二次的な精神障害発症のリスクになることがあり得る。集学的治療の進歩により DMD 予後が改善したことからメンタルヘルスや成人後の社会生活が注目されるようになった。DMD の社会的・精神的側面と生活の現状・問題点を解明するためにアンケート調査をおこなった。

②GNE 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。長期経過観察に適した運動機能指標と全身合併症を見いだすための前向き自然歴研究を行った。

B. 研究方法

①神経・筋疾患患者登録(Remudy)に登録中の成人 DMD 患者を対象としたアンケート調査を行った。アンケート構築には筋疾患専門脳神経内科医、小児科医・精神科医・臨床心理士が携わり、中枢神経障害と社会的側面に注目し作成した。対象患者はステ

ロイド投与なしで 12 歳まで又はステロイド投与ありで 14 歳までに歩行喪失した 20 歳以上の男性 dystrophinopathy 患者とした。

②遺伝子診断で確定された GNE ミオパチー患者の前向き観察を行った。運動機能評価指標として、6 分間歩行 (6 minutes walk tests, 6MWT)、粗朶胃運動機能評価尺度 (Gross Motor Function Measure, (GMFM)、大腿四頭筋筋力 (Hand Held Dynamometer of Quadriceps, HHD)、18 筋の合計筋力 (Summed Manual Muscle Testing, Summed MMT)、握力、ピンチ力を、その他の指標として努力肺活量 (%Forced Vital Capacity, %FVC)、血清クレアチンキナーゼ (Creatine Kinase, CK)、体組成測定、Barthel Index (BI)、modified Rankin Skale (mRS)、SF-36 を用いて 5 年間観察を行った。前向き研究に参加した、また血小板数、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・%FVC・CK・体組成測定の対比を調べた。

C. 研究結果

①Remudy 登録されている DMD 患者 367 名のうち、234 名 (63.8%) から回答を得た。年齢 27.4 ± 6.0 (25, 20-48) 歳、歩行不能 9.9 ± 1.7 (10, 5-14) 歳だった。42 (17.9%) に発達障害 (知的障害 26 名、自閉症スペクトラム障害 16 名) があり、学校生活で 31.8% がいじめを経験し、7 割以上が身体症状が原因と回答した。精神科受診歴は 7% 13 例にあったが、過半数で診断名が把握されていなかった。就労経験は 30.8% にあり、うち 40% が継続できず、就労しなかった理由と合わせ身体障害が主な原因だった。

②対象者 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。5 例が治験参加のため、9 名がその他の理由 (主に通院困難) のため脱落した。22 名が 5 年目の評価を受けた。

5 年後評価では、summed MMT ($p=0.001$)、GMFM ($p=0.001$)、握力 ($p=0.013$)、ピンチ力 ($p<0.001$)、%FVC ($p=0.002$)、CK ($p=0.003$)、

脚部体組成測定 ($p=0.004$)、SF-36 の physical function ($p=0.015$)が有意な低下を示した。

5 年間で疾患に関連する心機能低下や不整脈は見いだせなかった。2 名が観察期間中に NPPV を導入した。他に多発性硬化症およびネフローゼ症候群を各 1 名ずつが発症したが、原病との関係は明らかでなかった。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

①DMD患者ではいじめ被害・精神疾患を経験することがあり、学童期からの周囲の配慮が必要である。就労する患者は増加しているが、身体的な制約が大きい。

②GNEミオパチーの長期運動機能評価では3年間の筋力測定を行った研究がある[1]が、日常診療の場では施行困難であり、本研究は臨床の場で通常利用される簡便な指標での検討を可能とした。また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。

E. 結論

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ため、これらを用いて市販後調査や長期自然歴観察を行うことが可能である。疾患特異的心機能障害は明らかでない。

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

①森まどか：ベッカー型筋ジストロフィーの中枢神経障害. 第63回日本神経学会学術大会. 東京：2022年5月

②森まどか：GNEミオパチーと血小板減少. 第119回日本内科学会総会講演会. 京都(Web)：2022年4月

H. 参考文献

[1] Lochmüller H, Behin A, Tournev I, Tarnopolsky M, Horváth R, Pogoryelova O, et al. Results from a 3-year Non-interventional, Observational Disease Monitoring Program in Adults with GNE Myopathy. *J Neuromuscul Dis*. 2021;Jan 10. doi: 10.3233/JND-200565.

筋ジストロフィーの嚥下障害の評価

国立精神・神経医療研究センター病院 神経内科
山本敏之

令和2年度

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

緒言

「デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン2014」[1]では、代替栄養法の導入時期を「十分量を摂食できずにいるそうが進行する場合、あるいは嚥下障害が重度の場合には、患者の意思を尊重したうえで、経鼻胃管による経管栄養や胃瘻造設などを検討する」と推奨している。

われわれは、デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)患者の診療録を調査し、代替栄養法導入の決定因子を検討することを目的に、多施設共同研究を実施する。

方法

一次調査として、神経筋疾患先端医療推進協議会に加盟している39施設を対象に、代替栄養法を導入している患者の人数、代替栄養法の種類を調査した。

二次調査として、共同研究施設を選定し、調査可能な対象患者を調査した。そして、①代替栄養法の導入が必要ない成人DMD患者数、②問題なく胃瘻造設した成人DMD患者数、③代替栄養法の導入が必要とされ、胃瘻を選択しなかった成人DMD患者数、④胃瘻造設によって問題が生じた成人DMD患者数を調査した。

なお、本研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会に申請し、承認を得た(承認番号B2020-033)。

結果

一次調査は、39施設に調査を依頼し、そのうち31

施設(77%)から回答があった。胃瘻造設したDMD患者の96%が成人であることが明らかになった。そして、2014年4月から2020年4月までの間に胃瘻造設した成人DMD患者が1人以上いる14施設を共同研究施設とした。

二次調査から対象となる患者は251人であった。そのうち、①胃瘻が必要ない成人DMD患者118人(47%)、②問題なく胃瘻造設した成人DMD患者90人(36%)、③胃瘻が必要とされたが、導入しなかった成人DMD患者41人(16%)、④胃瘻造設によって問題が生じた成人DMD患者2人(1%)であった。そして、③の患者の理由は、本人が同意しない19人(46%)、家族が希望しない8人(9%)、慢性呼吸不全、呼吸器感染症、体幹変形、消化管の問題がそれぞれ3人(3%)であった。

結論

胃瘻造設したDMD患者の96%が成人であった。そして、胃瘻造設の必要があるのに、胃瘻を導入しなかった理由は、本人が同意しないことがもっとも多かった。

参考文献

1. 「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、デュシェンヌ型筋ジストロフィー診療ガイドライン2014, ed. 日本神経学会, 日本小児神経学会, 国立精神・神経医療研究センター. 2014, 東京: 南江堂.

令和3年度

筋ジストロフィーの病型による嚥下造影所見の検討

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、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。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。

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。

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、DM125.9%とOPMD57.1%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。

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。

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.

令和4年度

成人筋ジストロフィー患者における入院時の嚥下障害スクリーニング

緒言

成人筋ジストロフィーは、しばしば嚥下障害を合併し、入院中の誤嚥性肺炎の発症や窒息事故の原

因になる。しかしながら、新型コロナの蔓延により、飛沫を伴う嚥下造影検査や嚥下内視鏡検査は、十分な感染対策が必要になり、より侵襲の少ないスクリーニング検査の重要性が増した。本研究は、筋ジストロフィーの病型と質問紙から成人筋ジストロフィーの嚥下障害を簡便にスクリーニングすることを目的とした。

方法

2010年10月から2022年11月までの間に、当院に入院し、嚥下造影検査を実施した成人筋ジストロフィー患者283人(年齢中央値43.0歳,男178人,女105人)を対象とした。病型は、肢帯型筋ジストロフィー(LGMD)33人,ベッカー型筋ジストロフィー(BMD)14人,顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー1型(FSHD1)36人,デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)52人,筋強直性ジストロフィー1型(DM1)142人,眼咽頭型筋ジストロフィー(OPMD)6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、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場合,嚥下障害と判定した。病型別に,嚥下障害合併率を求め,25%以下を低リスク群,26%から74%を中リスク群,75%以上を高リスク群に分類した。

嚥下障害の自覚は,日本語版嚥下障害質問票(SDQ)で評価した¹⁾。そして,中リスク群に分類された患者の嚥下造影検査の結果とSDQの判定結果を,カイ二乗検定で検討した。なお,すべての患者から文書同意を得て,検査を実施した。

結果

筋ジストロフィー283人中,嚥下障害の合併は167人(59.0%)で,そのうち誤嚥44人(15.5%),喉頭蓋谷の残留112人(39.6%),梨状陥凹の残留131人(46.3%)であった。病型別の嚥下障害合併率は,低リスク群はLGMD6.1%,BMD21.4%,

FSHD125.0%,中リスク群はDMD67.3%,高リスク群はDM178.9%,OPMD100%であった。SDQは,DMDの嚥下障害を,感度0.46,特異度0.82,陽性的中率84.2%,陰性的中率43.7%で有意に判定した($p < 0.05$)。

結論

筋ジストロフィーでは病型によって嚥下障害合併のリスクが異なった。LGMD,BMD,FSHD1は,嚥下障害の自覚が強くなければ,積極的な介入の必要はないと考えた。一方,DM1,OPMDは,嚥下障害の自覚がなくても,入院食の食形態変更などの対処が必要であると考えた。DMDは,自覚から嚥下障害が疑われれば,適切な対処が必要であると考えた。

文献

1. 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.

Duchenne/Becker 型筋ジストロフィー (DMD/BMD) のタイチン分解の病態解明

神戸大学大学院医学研究科内科系講座小児科学分野

栗野宏之

緒言

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) は、*DMD* 遺伝子の異常によりジストロフィンに欠損する遺伝性筋疾患で、進行性の筋萎縮を主症状とする。ジストロフィンを欠損した筋では筋崩壊が惹起されるが、これまで筋崩壊の程度を反映する指標がなかった。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 DMD 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, 2]。さらに、多くの DMD 患者の尿中タイチン濃度の測定から、その濃度は非常に幅広く分布すること、日内変動や日変動があることを見出し、種々の状態がタイチン分解に影響していることが推測された。また、ジストロフィン異常症で DMD より軽症型である Becker 型筋ジストロフィー (BMD) の尿中タイチンを測定したところ、その濃度は DMD より低値で、健常人より高値であった。DMD と BMD の比較から、タイチン分解の程度は患者の重症度に規定されることが示唆されたが、DMD、BMD それぞれの疾患で、尿中タイチン値の示す臨床的意義はいまだ明らかでない。

そこで、DMD/BMD 患者の臨床データや画像検査、DMD の修飾遺伝子である *ACTN3* 遺伝子型等と尿中タイチン濃度の関連を調べ、DMD/BMD における尿中タイチンの臨床的意義について検討した。

方法

対象は 2015 年 4 月から 2022 年 5 月の期間に神戸大学医学部附属病院を受診する DMD および BMD。DMD、BMD の診断は末梢血または骨格筋から抽出した gDNA または mRNA で *DMD* 遺伝

子に変異の同定により行った。臨床データは診療録から抽出した。

尿中タイチン測定は Human Titin-N fragment assay kit-IBL(株式会社免疫生物研究所) [3]を用いた ELISA 法で測定した。二重測定を行い、平均値を算出した。尿中クレアチニンを LabAssay Creatinine(Wako Pure Chemical Industries, Ltd)を用いて測定し、尿中クレアチニン濃度を pmol/mg Cr で示した。*ACTN3* 遺伝子型は、末梢血から抽出した gDNA を用いて直接シーケンス法を用いて決定した。p < 0.05 統計学的有意差とした。この研究は神戸大学倫理委員会の承認 (No.1709) を得ておこなった。

結果と考察

① プレドニゾロン (PSL) 投与治療による DMD の筋崩壊抑制効果の尿中タイチンを用いた評価

DMD 患者 155 人 (0-33 歳) から血清 CK 275 個、尿中タイチン 660 個のデータを取得し、PSL 投与群と非投与群で年齢別に値を比較した。

全年齢における PSL 投与群、非投与群の血清 CK の中央値はそれぞれ 5683、2012 U/L であり、PSL 投与群の血清 CK が有意に高値であった (p < 0.01)。0-5 歳、6-10 歳、11-15 歳、16 歳以上で、PSL 投与群と非投与群の血清 CK 値を比較したところ、11-15 歳、16 歳以上で PSL 投与群の血清 CK 値が非投与群より有意に高値であった (p < 0.05)

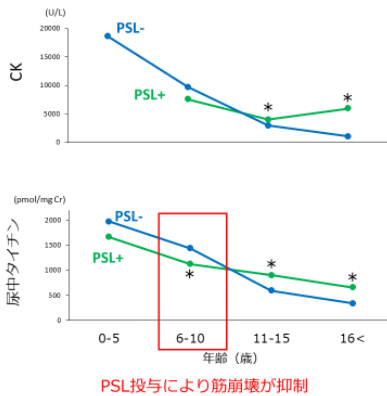
次に同様の検討を尿中タイチンでも行った。全年齢における PSL 投与群、非投与群の尿中タイチンの中央値はそれぞれ 875.2、580.5 pmol/mg Cr であり、PSL 投与群の尿中タイチンが有意に高値であった (p < 0.01)。0-5 歳、6-10 歳、11-15 歳、16 歳以上で、PSL 投与群と非投与群の尿中タイチン値を比較したところ、6-10 歳では、非投与群の値が投与群より高値であった (p < 0.05)。一方、11-15 歳、16 歳以上では投与群の尿中タイチン値

が非投与群より有意に高値であった ($p < 0.05$)。

PSL 投与群の血清 CK と尿中タイチンは非投与群にくらべ、経年的に緩やかな低下を認めた(図1)。尿中タイチンは 6-10 歳の PSL 投与群で有意に低く、CK 測定では得られなかった PSL の筋崩壊の抑制効果が明らかになった

図 1) 年齢群別の血清 CK と尿中タイチン

尿中タイチンは6-10歳のPSL投与群で有意に低い



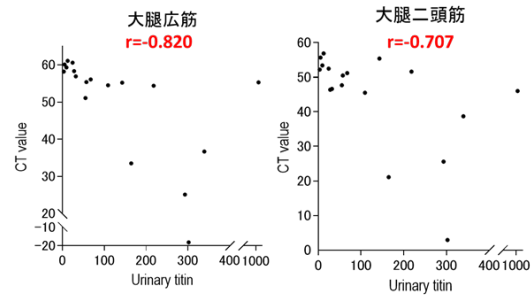
② 尿中タイチンは BMD の大腿広筋と大腿二頭筋変性のマーカーである

筋 CT を撮影し、かつ尿中タイチン値を測定した BMD 患者 18 人で、尿中タイチン値と筋 CT 値(筋変性の指標)の関連を検討した。筋 CT 値は上腕部、臀部、大腿部でそれぞれ 2 個、1 個、7 個の筋肉で測定したものを取得した。筋 CT 値と尿中タイチン値の相関を調べたところ、大腿広筋と大腿二頭筋に強い負の相関(相関係数 $|r| > 0.7$)を認めた(図2)。その他の筋肉では弱い相関~中程度の負の相関を認めた。

大腿広筋・二頭筋は立位保持や歩行に使用される筋である。歩行時などの収縮を繰り返すことで、BMD 患者においては筋の崩壊、変性をきたしていると考えられた。尿中タイチン値を測定し高値であれば、筋画像検査で筋変性の評価や、リハビリ

テーションを考慮する必要がある。尿中タイチンは大腿広筋と大腿二頭筋の編成を評価するバイオマーカーとなると考えた。

図 2) 大腿広筋と大腿二頭筋の筋 CT 値と尿中タイチン値

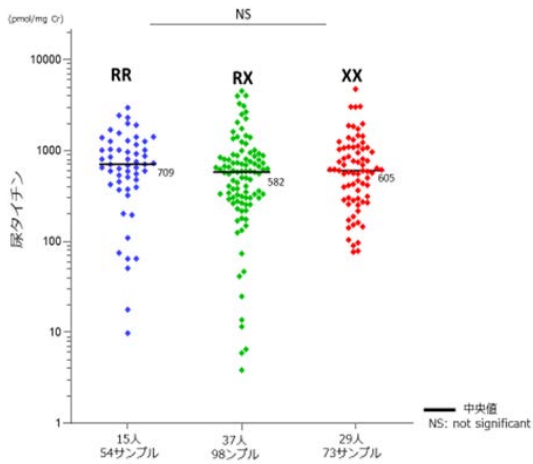


③ DMD における *ACTN3* 遺伝子型と尿中タイチン値の検討

DMD 患者 97 人から 277 個の尿中タイチン値を取得した。3 つの *ACTN3* 遺伝子型群 (RR、RX、XX 型) のそれぞれの尿中タイチンの年齢変化に差は認めなかった。次に 5-20 歳の年齢層における尿中タイチン値の比較を行った。RR、RX、XX 型の尿中タイチンの中央値はそれぞれ 709、582、605 pmol/mg Cr であった。3 群間の尿中タイチンに有意差は認めなかった(図3)。また、5-12 歳、13-20 歳で尿中タイチン値の比較を行ったが、3 群間で有意差は認めなかった。

ACTN3 遺伝子がコードする α アクチニン 3 は Z 帯でタイチンと結合するため、 α アクチニン 3 を欠損する遺伝子型 (XX 型) の患者ではタイチン崩壊が促進すると考えられたが、今回の検討では筋崩壊に差は認めなかった

図 3) *ACTN3* 遺伝子型と尿中タイチン



結論

尿中タイチンを用いた評価で、PSLがDMD患者の筋崩壊を抑制する効果を明らかにした。尿中タイチンがDMDの筋崩壊の程度を判定する治療マーカーとなることを示した結果であり、PSL以外で筋崩壊を抑制する要因をさらに探索し、DMDの最適化された治療やケアを確立する。

BMD患者では、尿中タイチンが大腿広筋および大腿二頭筋の筋変性を評価するバイオマーカーとなることを明らかにし、BMD患者における尿中タイチン測定的重要性を示した。

参考文献

1. Awano, H., et al., *Diagnostic and clinical significance of the titin fragment in urine of Duchenne muscular dystrophy patients*. Clin Chim Acta, 2018. 476: p. 111-116.
2. Awano, H., et al., *Urinary titin is a non-invasive biomarker to diagnose Duchenne muscular dystrophy even in advanced stage*. J Neuromuscul Dis, 2018. 5(S1): p. S202-203.
3. Maruyama, N., et al., *Establishment of a highly sensitive sandwich ELISA for the N-terminal fragment of titin in urine*. Sci

先天性筋ジストロフィーに対する治療の臨床開発
東京女子医科大学小児科
石垣 景子

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第II相試験

【緒言】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。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。2013~2015年に東京女子医大において、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】競争的研究資金獲得を目的として、治験計画書作成、準備を実施する。主には、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¹⁾。またFCMDにおけるGMFMを用いた自然歴研究も対照データとして報告した²⁾。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、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6~12カ月経口投与する治験実施計画書で①ホモ接合型FCMD患者15例を対象とした有効性評価および、②ホモ接合型および複合ヘテロ接合型20例(①を含む)を対象とした安全性評価を作成し、PMDAのRS戦略相談を実施した。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、筋量測定機器の貸与に関し契約を進めた。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。2022年度のAMED難治性研究実用化研究事業(ステップ2)に採択され、2023年度より治験実施の予定としている。

【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、実施計画書に関しPMDAと早期合意に至ったことは大きい。これまで集積したGMFMの妥当性評価および自然歴研究、患者レジストリの横断的研究結果などが実施計画を策定するのに非常に有用であった。リクルートも患者会の協力を得て、レジストリを用いて実施していく予定としている。探索的な臨床試験では、統計学的有意差をもって有効性を証明したが、それ以上に、試験に参加した患者家族自身が有効性を実感し、治療継続を希望している。患者会からも治療薬として要望する声強い。今回の開発において、対症療法しか存在しないFCMDにおける疾患進行予防薬として、新しい治療薬ではないステロイドをドラッグリポジショニングにより使用可能とする。ステロイドは遺伝子型によらず、今後開発される薬剤との競合もないFCMDの標準治療薬の開発が可能となるという点でも非常に意義深いと考える。

【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。来年度治験開始予定としている。

【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) 安達みちるら. 福山型先天性筋ジストロフィー患者における運動能力の経時的変化. 理学療法学 2021;48 (5) : 463-472

II. 福山型先天性筋ジストロフィー患者 (FCMD) の心機能障害に関する検討

【緒言】 FCMD では 10 歳代に心エコーでの左室機能低下の検出が報告されている. 既報告は年長のヘテロ接合型や重症例が少なく, 心機能障害への遺伝子型, 表現型の関与の検討は十分でなかった. また, β 遮断薬導入後の長期的経過の報告はない.

【方法】 FCMD31 例の心機能について, 2008 年から 2021 年までの後方視的研究を行った.

【結果】 男児 17 例, 女児 14 例 (5-21 歳, 中央値 11 歳) を対象とした. 遺伝子型は, ホモ接合型 17 例, ヘテロ接合型 14 例, 表現型は軽症 3 例, 典型 18 例, 重症 10 例であった. 心機能低下 ($LVSF < 0.28$) は 39% (12/31) に認め, 低下時年齢の中央値は 10 歳 (7-14 歳), 遺伝子型別 (ホモ接合型/ヘテロ接合型) では, 9 歳 (7-11 歳) / 10 歳 (9-14 歳) で有意差は認めなかった. 軽症例 (9-11 歳) に低下例はなかった. 典型例の中央値 9 歳 (7-11 歳), 重症例 12 歳 (9-14 歳) と有意差はないが, 典型例の低下が早い傾向にあった. 心機能低下に関し, ステロイド投与群と非投与群有意差は見られなかった. 心機能低下例のうち, 3 例が β 遮断薬開始後に一旦は正常値まで $LVSF$ の改善が見られた. 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 ($R^2=0.8402$, $P<0.0001$). 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], $NT\text{-}proBNP > 125$ [pg/mL] の例は, $LVSF < 0.2$ を示した.

【考察】 遺伝子型, 表現型による心機能低下出現年齢に有意差は認められず, 骨格筋症状と心筋症

状に解離があることは, 既報告に矛盾しなかった. 年齢と $LVSF$ に相関はあるが, 遺伝子型や表現型によらず, ステロイドによる心保護作用や増悪も認められなかった. β 遮断薬導入後の改善例は, 全例 $LVSF$ 低下が検出された早い段階に β 遮断薬が導入されていた. 頻脈を理由に β 遮断薬が早期導入された 2 例は 15 歳以上でも正常な心機能が維持されていた. 10 歳代前半に $LVSF 0.15$ 未満に低下した低心機能の 3 例は遺伝子型, 表現型が様々であり, 何等かの修飾因子の関与が推察された.

【結論】 FCMD の心機能障害は表現型, 遺伝子型では説明がつかず, 何等かの修飾因子の関与が考えられる. 心機能低下後早期の β 遮断薬は有効であり, 10 歳以後の定期的な検査が望ましい.

【参考文献】

- 1) Nakanishi T et al. Cardiac involvement in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Pediatrics*. 2006;117(6):e1187-92.
- 2) Yamamoto T et al. Cardiac involvement in Fukuyama muscular dystrophy is less severe than in Duchenne muscular dystrophy. *Brain Dev*. 2017 Nov;39(10):861-868.

II. ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィーの自然歴研究および新規バイオマーカー開発

【緒言】 ウルリッヒ型先天性筋ジストロフィー (Ullrich congenital muscular dystrophy : UCMD) は, VI型コラーゲンの異常により発症する, 筋力低下. 近位関節拘縮, 遠位関節過伸展を特徴とする先天性筋ジストロフィーであり, わが国では福山型に次いで 2 番目に頻度が高い. 60~80%は独歩を獲得するが, 重症例では独歩不可能例も存在する. 比較的早期から呼吸筋の筋力低下が見られる一方で, 心筋は障害されにくい. 現時点で, UCMD に特異的な治療は確立しておらず,

呼吸管理や関節拘縮に対するリハビリテーション対応が主となるが、近年、様々な治療法の研究が進んでいる。本疾患は希少疾患であるがゆえに、これまで確立された運動機能評価による経時的な変化を明らかにした報告はない。また、UCMDでは疾患進行とCK値が相関せず、治療効果を反映するバイオマーカーも存在していない。本研究ではUCMDの自然歴およびバイオマーカーの新規開発を目標とし、開始予定の研究計画を報告する。

【方法】遺伝学的または筋病理から診断確定したUCMD患者を対象とし、6か月毎に運動機能評価、およびバイオマーカー研究を行う。運動機能評価に関してはGross Motor Function Measure(GMFM, 粗大運動能力尺度)の評価を行い、運動機能の自然歴を調査する。バイオマーカー研究は、上記の運動機能評価と同時に、呼吸機能検査、血液検査による特定タンパクやアミノ酸の解析、マイクロRNA発現量を行い、運動機能の低下と相関する項目を探索する。

【考察】現在、東京女子医科大学倫理委員会申請を行っている段階であるが、バイオマーカー研究に関しては、企業と提携して進めることで合意を得られた。また、UCMD患者家族会を通して被験者のリクルートを行っており、倫理委員会で承認が得られ次第、研究を開始する予定である。GMFMは、国際的に認められた指標で認定プログラムがあること、座位未獲得例から歩行可能例まで広く点数化が可能であること、FCMD, Pompe病などの治験にも用いられていることから、今回評価尺度として選定した。バイオマーカーに関しては、基底膜破壊に伴い上昇するIV型コラーゲン(基底膜の主要構成成分)由来のタンパクやアミノ酸の解析、筋再生や線維化に関連するマイクロRNA発現量を測定することにより、新規のバイオマーカーを開発することを目的としている。

【結論】今後、治療開発がヒトを対象としたものに移行するにあたり、これらの評価項目が確立されていなければ、効果判定を行うことは困難であ

り、本研究では2年の計画で基礎データを得ることを目標としている。

【参考文献】

- 1) Taga Y et al. Stable isotope-labeled collagen: a novel and versatile tool for quantitative collagen analyses using mass spectrometry. *J Proteome Res.* 2014;13(8):3671-8.
- 2) Koutsoulidou A et al. Circulating Biomarkers in Muscular Dystrophies: Disease and Therapy Monitoring Cardiac involvement in Fular dystrophy kuyama muscular dystrophy is less severe than in Duchenne muscu. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020;18:230-239.

筋強直性ジストロフィーの非侵襲呼吸管理の検討
国立病院機構北海道医療センター
神経筋/成育センター
石川悠加

【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⁾。イタリアでは、筋ジストロフィーの呼吸マネジメントのコンセンサスが初めて公表された³⁾。

その主要な治療法である非侵襲的換気療法 (Noninvasive ventilation=NIV)の吸気エアは、通常の上気道加湿メカニズムを圧倒する高流量であるため、鼻粘膜の解剖学的構造と機能を低下させ、治療に影響を及ぼす可能性があり、加温加湿器は効果的な可能性がある⁴⁾。当院の気温と湿度に適合する NIV 加温加湿器の至適条件を検討した。

また、人工呼吸器のリコールや更新に伴う機種変更の際に、留意点が無いかを検討した。

【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。また、睡眠呼吸障害に対してNIVを要する際に至適な加温加湿条件を設定する。

【対象】

当科に2020年9月から2021年11月までに呼吸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 (cough peak flow=CPF)、

咳介助の方法、NIV使用状況。

NIVの加温加湿器の至適条件の検討のためには、ベンチスタディーを行った。温度・湿度データロガー MJ-ADL-21 (サトテック)を用い、

チャンバー入口、出口、患者口元の温度と相対湿度(*)を測定した。人工呼吸器はAstral 150 (ResMed社)を使用。測定された数値から絶対湿度(**)と水分蒸発量を算出した。札幌市の月別平均気温と平均湿度を用い、夏季(8月)・冬季(1~2月)の模擬数値を参考に、絶対湿度と水分蒸発量が適切になるような加温加湿器の機種のみ合わせと設定条件を検討した。

*相対湿度=水蒸気分圧(hPa)/飽和水蒸気分圧(hPa)≒絶対湿度(mg/L)/飽和水蒸気量(m/L)

**絶対湿度≒ $217 \times 6.1078 \times 10^{7.5 \times \text{気温} / \text{気温} \times 237.5} / \text{気温} + 273.15 \times \text{相対湿度} / 100$

人工呼吸器のリコールや更新に伴う機種変更の際の留意点を明らかにする。

【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)。

流量と水分蒸発量の関係は、人工呼吸器条件を吸気流量2.5L、呼吸数20として、温度24.3度、

相対湿度 52.0%、絶対湿度 115mg/L、水分蒸発 1 日量 156.5mL/day であった。

NIV の加温加湿器のベンチスタディーにおいて加湿と水分蒸発量の関係を検討したところ、吸気流量=2.5 呼吸数=20 で加温して蒸発量を減らすには、チャンバー入口の温度 30 度、相対湿度 84.9%、絶対湿度 25.8mg/L、チャンバー出口の温度 28.6 度、相対湿度 91.2%、絶対湿度 25.7mg/L、水分蒸発量-7.4mL/day が得られた。

チャンバー内の水分蒸発量は、呼吸弁付き回路（一回換気量=500 呼吸数=15 吸気時間=1.5）を想定して検討した。

札幌の 8 月を想定すると、チャンバー入口の温度 24.5 度、相対湿度 74.1%、絶対湿度 16.6mg/L、呼吸弁手前の温度 24.8 度、相対湿度 79.8%、絶対湿度 18.2mg/L、水分蒸発量 0.9L/day であった。

札幌の 1~2 月を想定すると、チャンバー入口の温度 25.4 度、相対湿度 11.6%、絶対湿度 2.7mg/L、呼吸弁手前の温度 24.8 度、相対湿度 43.8%、絶対湿度 10.0mg/L、水分蒸発量 4.1L/day であった。

人工呼吸器のリコールや更新に伴う機種変更の際に、同じ機種のバージョンアップであっても、人工呼吸器の送気特性などが変更になっていた。汎用機種のバージョンナップにおける変化を臨床工学技士と調査記録し、留意点として、機種選択や条件調整の参考にした。

【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。

NIV の加温加湿器のベンチスタディーにおいて、人工呼吸器の流量と水分蒸発量の関係では、死腔やエアリークの影響を多く受けていた。

人工呼吸器のリコールや更新に伴う機種変更の際に、作動の違いを知り、機種選定や条件調整や患者への説明を要することが分かった。

【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。

筋ジストロフィーにおける呼吸管理の標準医療である NIV の加温加湿器の選択と至適条件を検討する必要がある。

人工呼吸器のリコールや更新に伴う機種変更の際に、作動の違いがあるため、機種選定や条件調整を要した。

筋ジストロフィーでは新たな治療薬が開発され、治験も行われる中、治療効果を最大にする非侵襲的呼吸管理の改善にも研究を要する⁵⁾。

【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
- 3) Rao F, Garuti G, Vitacca M, et al. Management of respiratory complications and rehabilitation in individuals with muscular dystrophies: 1st Consensus Conference report from UILDM - Italian Muscular Dystrophy Association (Milan, January 25-26, 2019). *ACTA MYOLOGICA* 2021; XL: p. 8-42. doi:10.36185/2532-1900-045
- 4) Cerpa F, Cáceres D, Romero-Dapueto C, Humidification on Ventilated Patients: Heated Humidifications or Heat and Moisture Exchangers? *The Open Respiratory Medicine Journal*, 2015, 9, 104-111
- 5) Birnkrant DJ, Bello L, Butterfield RJ, et al. Cardiorespiratory management of Duchenne muscular dystrophy: emerging therapies,

neuromuscular genetics, and new clinical challenges. *Lancet Respir Med.* 2022 ;10:403-420.

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 国立病院機構東埼玉病院

尾方 克久

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り。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携による，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

の連携による，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，10 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 30 施設（83%，2022 年 3 月 31 日現在）であった。

2022 年度の「治験・臨床研究実施体制調査」に回答した 30 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」「標準 12 誘導心電図」「ホルター型心電図」「経胸壁断層心エコー」「筋 CT」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 29 施設に，治験審査委員会は 28 施設に，利益相反審査委員会は 27 施設に設置され，22 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。28 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。28 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 7 施設に留まり，21 施設は「医師同士で個人的に対応」していた。

2022 年度の「診療症例数調査」に回答した 28 施設における症例数の単純合計は 7,542 人で，病型は多い順に筋強直性ジストロフィー 1 型（24.5%），デュシェンヌ型（23.2%），ベッカー型（10.5%），顔面肩甲上腕型（8.0%），先天性ミオパチー（5.5%），分子診断で病型確定した肢帯型筋ジストロフィー（5.4%），脊髄性筋萎縮症（5.2%），病名未確定の肢帯型筋ジストロフィー（4.6%），福

山型先天性筋ジストロフィー (4.3%), ミトコンドリア病 (3.9%) 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が、コロナ禍の影響で具体的な活動に至っていない。

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。

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、施設調査の結果に関する広報を通じ、筋ジストロフィーをはじめとする筋疾患の治療開発推進への貢献が期待される。

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。コロナ禍の影響で加盟施設間の意見交換や具体的活動に至っておらず、今後の活動に期待したい。

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が期待される。

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

IBIC 画像を用いた筋画像アトラス作成と LGMD 診断アルゴリズム作成

国立病院機構鈴鹿病院脳神経内科

久留聡

筋画像アトラス作成について

【背景】

CT, MRI などの筋画像検査は、神経筋疾患の診療や研究において重要な位置を占めているが、参考となる日本語の教科書やアトラスは無いのが現状である。我々は、これまでに筋ジストロフィー臨床班において、筋画像データベース (IBIC-NMD、IBIC-LG) を立ち上げ研究を行ってきた。IBISS は、国立精神・神経研究センターの脳病態統合イメージセンター (IBIC) によって開発されたオンラインサポートシステムであり、これを用いた骨格筋画像データベースが IBIC-NMD、IBIC-LG である。全国の協力施設から多数の骨格筋画像(約 300 症例)を登録いただいている。これを元に日常臨床に役立つ「骨格筋画像アトラス」を計画した。

【目的】

日常臨床に役立つ骨格筋画像 (主に CT・MRI) のアトラスを作成する

【想定する読者対象】

筋疾患の診療に携わる臨床家 (小児科、脳神経内科、放射線科、研修医、一般内科)

【内容】

1. 総論

日常臨床における筋画像としては CT 及び MRI が汎用されている。それぞれの利点・欠点について論じ、両者の使い分けについて解説する。撮像部位や撮影条件についても丁寧な説明を行う。また、読影時に大きな問題となる個々の筋の同定に関しても、正常画像や解剖図譜などを用いて解説する。

2. 疾患各論

IBIC に登録された筋画像を中心に掲載し簡単な解説を加える。筋原性疾患は後天性疾患と遺

伝性疾患に分け、さらに神経原性筋疾患の項目も設ける。後天性筋疾患は多発筋炎/皮膚筋炎、封入体筋炎、壊死性筋炎、筋サルコイドーシスなどである。遺伝性筋疾患は、筋ジストロフィー、先天性ミオパチー、ミトコンドリアミオパチー、代謝性ミオパチー、遠位型ミオパチーなど幅広く疾患を取り上げる。比較的 common な疾患に関してはステージ毎 (初期、中期、後期) の画像を提示し、疾患特異的な画像 (GNE ミオパチー、HMERF、Ullrich など) について詳説する。神経原性筋疾患としては運動ニューロン病 (ALS, SMA, SBMA など)、末梢神経疾患、頸椎症などを扱う。適宜補助的に参考となる中枢神経画像、筋病理画像 (RRF、ネマリン、縁取り空胞など)、電気生理 (myotonic discharge) も掲載する。

3. 骨格筋定量法

我々のグループが、これまで当班で研究を行ってきた CT を用いた骨格筋定量法 (MVI, %MVI)、Mercuri grading の自動化や CT への応用、実際の治験での活用について紹介する。

【現在の進捗状況】

医学書院より 2023 年 4 月中頃に出版予定である

【文献】

Kuru S, et al. Natural course of muscular involvement assessed by a new computed tomography method in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology and Clinical Neuroscience* 2013; 1(2): p 63–68.

LGMD 診断アルゴリズム作成

【研究目的】

2019年に作成された「筋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)」を補完する形で、骨格筋画像に基づいた肢帯型筋ジストロフィー診断アルゴリズムを作成することを目的とした。

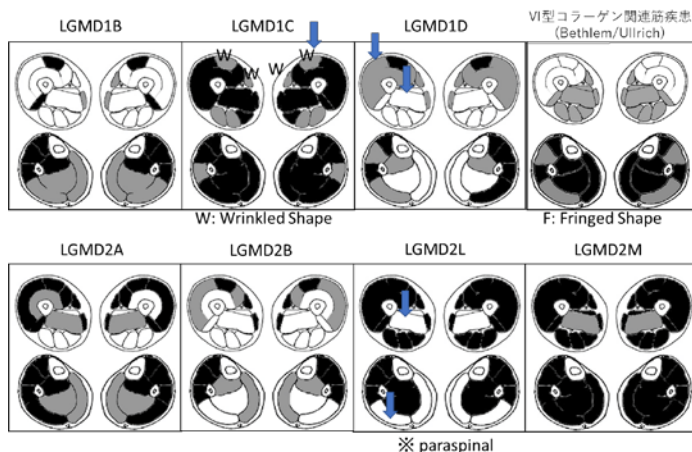
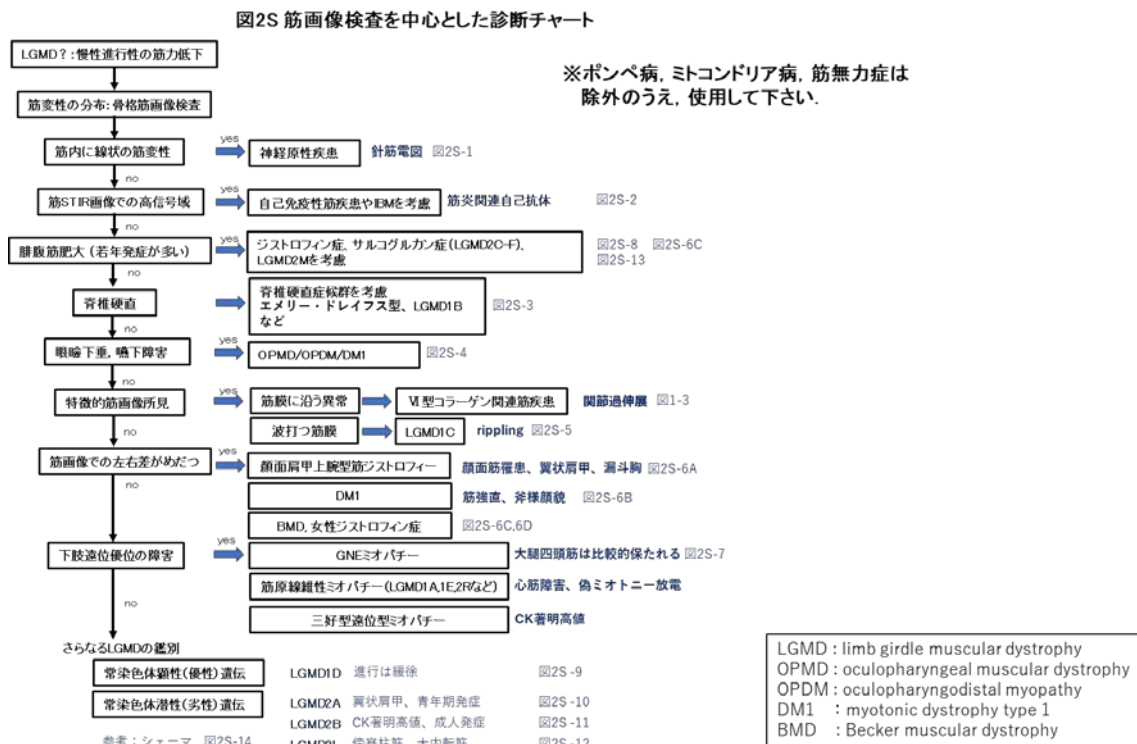
【研究方法】

筋疾患のエキスパートから構成されるプロジェ

クトチームにより作成作業を行なった。研究対象となる骨格筋画像(CT/MRI)は主に骨格筋画像データベース IBIC-LGに登録されている画像を用いた。IBIC-LGとは、国立精神・神経研究センターの脳病態統合イメージセンター (IBIC)によって開発されたオ BISS を使用した骨格筋画像データベースである。

【結果】

下図に概要を示す



ベッカー型筋ジストロフィーのCTを用いた骨格筋評価

【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 $\Delta 45-47del$ 、22 歳 $\Delta 48 del$ 、36 歳 $\Delta 24-48 del$) は全スライス正常 (A) であった。77 歳例 ($\Delta 10 del$) 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 ($\Delta 45-47del$, 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 ($\Delta 45-48 del$, 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 ($\Delta 2 dup$) 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いない。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ると欠損データが多くなってしまふ恐れがある。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.

Tasca G, Iannaccone E, Monforte M, et al. Muscle MRI in Becker muscular dystrophy. Neuromuscul Disord. 2012 Oct 1;22 Suppl 2:S100

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

北里大学医学部整形外科学

高相 晶士

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 Flaccid type の神経筋性脊柱側彎症 (fNMS) を呈する。側彎症の進行を防ぐための手術治療は脊柱側彎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、生命予後の改善や呼吸機能の改善などの有効性が期待できる治療である。

しかし、一方で、NMS 手術の周術期合併症が高いことを報告されており、われわれはその低減のためにも従来行われてきた骨盤までの矯正固定術ではなくできる限り第5腰椎 (L5) までの矯正固定術で対応している。本研究期間でわれわれは NMS に対する L5 までの矯正固定術の限界と周術期合併症の危険因子について調査をした。

L5 までの矯正固定術の限界に関する研究

方法

fNMS に対して L5 までの後方矯正固定術を施行した 45 例 (男児 37 例、女児 8 例; 平均年齢 13.6 歳) を対象に、術前後の Cobb 角、骨盤傾斜角 (PO)、腰椎前彎角 (LL) を含む各種レントゲンパラメータを調査した。術後最終経過観察時の PO が 20 度以上残存するものを矯正不良群として、矯正不良となる因子について調査をした。

結果

矯正不良群と良好群での 2 群間比較では年齢、最終経過観察期間に有意差は認められなかったものの、矯正不良群は術前 Cobb 角と術前

PO が有意に高く、術前 LL が有意に低かった。多変量解析の結果、術前 Cobb 角が大きいこと、術前 LL が有意に低いことが矯正不良の危険因子として抽出された。

結論

NMS に対する L5 までの後方矯正固定術において、術前の側彎が高度で腰椎の後彎が高度であると、術後最終経過観察時の骨盤傾斜の維持が困難であることが示唆された。よって、高度の脊柱変形を呈する NMS 患者においては骨盤までの矯正固定術を考慮する必要がある。1)

集中治療室 (ICU) 入室期間遅延の危険因子に関する研究

方法

NMS 手術を行なった Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 患者 49 例を対象とし、ICU 入室期間を調査した。術前 CO 角などを含むレントゲンパラメータと、術前呼吸機能 (%VC、FEV1.0 (%))、術前心機能 (駆出率 (EF))、手術時間、出血量などを調査し、ICU 入室が 2 日を超える遅延群の危険因子について調査を行った。

結果

ICU 入室期間遅延群と通常群との 2 群間比較では、遅延群は術前 Cobb 角が有意に高く、呼吸機能である %VC が有意に低く、手術時間が有意に長く、出血量が有意に多かった。入室期間遅延の危険因子について多変量解析を行ったところ、術前 Cobb 角が大きく、術中出血量が多いことが危険因子として抽出された。

結論

ICU 入室期間が遅延する要因として、高度の脊柱変形があり、それに伴い拘束性換気障害があり、手術侵襲が大きいことが原因となりうるため、注意が必要である。2)

術中低体温発生の危険因子に関する研究

方法

小児脊柱側彎症手術(特発性脊柱側彎症(AIS)とNMS手術を含む)における術中低体温となる危険因子を調査するために、脊柱側彎症患者103例(男児28例、女児75例、平均年齢14.4歳)を対象に、術中の体温を調査した。そのほかにBMIや術前Cobb角を含むレントゲンパラメータ、術中因子として、出血量や手術時間、固定範囲などを調査し、術中対体温になる危険因子について調査した。

結果

低体温発生群と非発生群との2群間比較では、発生群において、NMS患者の割合が有意に多く、BMIが有意に低く、術前Cobb角、術中出血量、固定範囲が有意に高く、術前体温が有意に低かった。また、多変量解析において、低体温発生の危険因子としてNMS手術が抽出された。

結論

本研究結果より、術前の低体温、低体重、高度の脊柱変形、高侵襲な手術が術中低体温のリスクとなりうるということが考えられた。特にNMS患者は術中低体温のリスクがあり、注意が必要であると考えられた。3)

周術期合併症の危険因子に関する研究

方法

当院でNMS手術を施行した116例(男児76例、女児40例)を対象に周術期合併症、手術時年齢、身長、体重、BMI、術前呼吸機能(%VC、FEV1.0(%))、術前心機能(駆出率(EF))、術前Cobb角、手術時間、術中出血量、側弯矯正率、を調査した。周術期合併症については、手術手技による合併症とその他に分け、手術手技による合併症を除いた症例について、評価項目の周術期合併症発生の有無による2群間比較と多変量解析による周術期合併症の危険因子について調査した。

結果

35症例(30%)に周術期合併症を認めた。硬膜損傷などの手術手技による合併症は6例であった。その他の合併症は29例であり、肺炎などの呼吸器合併症9例、心不全など循環器合併症5例が含まれていた。手術手技による合併症を除いた110例において、周術期合併症の有無による2群間比較では合併症有群では、有意に年齢が高く、%VCが低く、術中出血量が多く、側弯矯正率が不良であった。また、多変量解析の結果、%VCが低いことが独立した周術期合併症発生の危険因子として抽出された。

結論

本研究結果より、拘束性換気障害に加え、高年齢、術中出血量多量、側弯矯正率不良が周術期合併症の危険因子になりうる可能性が示唆された。特に拘束性換気障害は周術期合併症の独立した危険因子であり注意が必要である。4)

総括

これらの研究結果から術前Cobb角が高いなどの高度の脊柱変形があると、L5までの矯正固定術では不十分で骨盤までの手術を検討する必要がある。しかし、骨盤までの固定術は手術侵襲が高度となってしまうだけでなく、高度脊柱変形があると拘束性換気障害が進行することが報告されており、注意が必要である。また、高度脊柱変形、重度拘束性換気障害、高侵襲手術は周術期合併症の発生やICU入室期間の遅延、術中低体温の危険因子となる可能性があることがわかった。以上より、NMSに対しては

- 1、 矯正固定術はできる限りL5までの固定術を検討したい。
- 2、 脊柱変形が高度となる前の早い時期からNMSに介入したい。
- 3、 出血量低減や手術時間短縮などできる限り低侵襲手術を目指したい。

以上の点に留意して手術治療に臨みたいと考えている。

1. 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.
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. Okamura M, Saito W, Miyagi M, et al. Incidence of Unintentional Intraoperative Hypothermia in Pediatric Scoliosis Surgery and Associated Preoperative Risk Factors. Spine Surg Relat Res. 2020 Nov 20;5(3):154-159.
4. 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

筋強直性ジストロフィーの臨床開発推進の基盤的研究

大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学

高橋正紀

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も、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。2023年1月末現在で、363の医療機関、715名の医師の協力により、1191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。

Remudyの他の疾患は、国立精神・神経医療研究センターが単独で事務局を担っているが、筋強直性ジストロフィーでは、本症の疾患専門家の所属する大阪大学と共同で運営されているのが特徴である。この体制は、登録の立案準備、登録推進のためのアウトリーチ活動、患者問い合わせ対応などには有効であり、短時間に多くの患者登録が可能となった。いっぽうで、登録患者の増加による事務作業の増大という問題に加え、MDCTN(筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク)事務局と連携した被験者リクルートなど今後の利活用の効率の問題も想定されており、運用体制の検討が必要であった。

そこで事務局業務の統合による効率化を図るとともに、登録データの解析ならびに、各種の研究治験への活用を推進した。

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

1) 運用体制の変更と利活用

運用体制の見直しを行い、患者対応など疾患専門家が必要な業務を除いた事務局機能を国立精神・神経医療研究センターに移管することとした。運営体制変更のため、大阪大学医学部附属病院、および国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を受け、登録患者への周知文書の送付、webサイトへの公示を行った。

2) 患者データの解析

2020年3月3日現在の登録患者について、初回登録時のデータを用いて、自覚症状・客観的測定指標に関する解析ならびに成人患者の治療状況の解析を行った。

症状については、小児期発症のDMをcongenital(生後1か月まで)、infantile(1か月~10歳)、juvenile(11~20歳)の3群に細分化し検討した。また患者ADL, QOLに重要な、運動機能、肺機能、心機能に関わる客観的指標として、握力、%FVC、ECGにおけるPR、QRSに関連する因子についての解析を行った。

治療に関しては呼吸、心臓、腫瘍、糖代謝、その他の治療について、以下のデータを用いて検討した。呼吸については、%FVC、人工呼吸器使用とその種類、心臓については心電図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。

結果

1) 運用体制の変更と利活用

大阪大学が担っていた事務局機能のほとんどの業務を国立精神・神経医療研究センターに移管した。これまでの登録患者から拒否の申し出がないことを確認し、同意書原本を除くこれまでの紙媒体のデータについても物理的に郵送移管した。また、データ移管に合わせ、データのクリーニングおよびオンライン登録のために他疾患との入力項目の共通化も行った。

2020年度に、医師主導治験（筋強直性ジストロフィーに対するエリスロマイシンの安全性及び有効性を検討する多施設共同プラセボ対照二重盲検並行群間比較試験）のリクルートに活用した。エントリー基準を満たす候補患者のリストアップを行い、MDCTN事務局から対象患者への連絡を行った。

2) 患者データの解析

DM患者の客観的指標の関連因子の解析については、性別、登録時の年齢、罹病期間、CTG繰り返し配列長を説明変数として、重回帰分析を行ったところ、握力、%FVC、QRSではCTG繰り返し配列長、PRでは登録時の年齢の影響が強くみられた。握力、%FVC、QRSはいずれも次いで登録時の年齢の影響が大きかった。罹病機関の影響が最も大きかったのは握力であった。

治療状況については、人工呼吸器使用率は15.2%で、使用者の約4割が歩行不能であった。使用開始年齢は平均46.6歳であった。人工呼吸器不使用群にて%FVCが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。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。うち経口薬物治療群が42.9%であった。経口薬物の内訳としてDPP4阻害剤、ビッグアノイド、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。

考察

Remudyが対象とするほぼすべての疾患は国立精神・神経医療研究センターが事務局となって運営しているが、筋強直性ジストロフィーのみ事務局機能の一部を大阪大学が担っていた。Remudy通信の発送作業をはじめ、今後のWeb登録のID管理など、一元的に運営したほうが効率的な業務も多いことから、患者対応など疾患専門家が必要な業務を除いた事務局機能を国立精神・神経医療研究センターに移管することができた。MDCTN（筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク）事務局と連携した登録の開発研究への利活用が期待される。実際これまで本患者登録の利活用は、アンケート調査²⁾、二次調査³⁾など観察研究のみであったが、初めて治験リクルートにも活用できたことは特筆できる成果と言える。

また、多数の患者で治療の現状を明らかにでき、本邦においてペースメーカーなどの植え込みが少ないこと、糖尿病治療にDDP-4阻害薬が多用されていることなど、海外と異なる診療実態が明らかとなった^{4,5)}。本症において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、その効果を検証するための基礎資料としての活用も想定される。

結論

筋強直性ジストロフィーの患者登録については、順調な症例蓄積が得られ、治験の被験者の円滑なリクルートに寄与することができた。また、データの解析から本邦患者に関する重要な知見が見いだされた。

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. 高橋正紀、山本理沙、久保田智哉、松浦 徹、石垣景子、砂田芳秀、小牧宏文、高田博仁、久留聡、松村 剛. 本邦における筋強直性ジストロフィーの患者実態調査－患者対象全国調査－. *臨床神経学* 2020;60(2):130-136.
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.
4. 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.
5. Yamauchi K, Matsumura T, Takada H, Kuru S, Kobayashi M, Kubota T, Kimura E, Nakamura H, Takahashi MP. The current status of medical care for myotonic dystrophy type 1 in the national registry of Japan. *Muscle Nerve.* 2023 Feb 10. doi: 10.1002/mus.27799. Epub ahead of print. PMID: 36762492.

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
兵庫医科大学 小児科学
竹島泰弘

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) に対する新規治療薬の開発が進められ、その一部はすでに保険適用となっている。これらの新規治療法は、より早期に開始することにより有効性を高め得る可能性が考えられる。そのため、早期診断体制確立に向けて検討する必要があるが、倫理的な問題を含め解決すべき問題は少なくない。そのような中、血清 CK 値は早期診断の一つの指標として検討すべきである。しかし、DMD 男児・ジストロフィン遺伝子変異保有女児診断における、CK の動態や分子機構の詳細に関しては、明らかでない点が多い。

本研究では、DMD 男児早期診断およびジストロフィン遺伝子変異保有女児診断システムを確立するための、倫理的・臨床的・分子遺伝学的な基盤を確立することを目的として、「新生児スクリーニング検査に対する意識調査」を行うとともに、「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」、「高 CK 血症を主訴に受診した男児の解析と Duchenne 型筋ジストロフィー診断の契機の検討」を行った。

神経筋疾患の早期発見・早期治療に関する研究
～脊髄性筋萎縮症に対する新生児スクリーニング
についての意識調査～

【緒言】

DMD に対する新規治療薬の開発が進められ、その一部はすでに保険適用となっている。これらの新規治療薬は、より早期に開始することにより有効性を高め得るものと考えられる。しかし、現状では症状が進行して初めて診断される症例が少なくない。一方、脊髄性筋萎縮症 (SMA) は脊髄前角細胞の変性・消失により筋萎縮と進行性筋力低下を呈する疾患である。根治治療のない予後不良の難病であったが、近年、DMD に先行して新規根治治療薬が保険適応となった。さらに、早期治

療により高い効果が得られることから、早期診断が重要となっている。

早期診断あるいは発症前診断法のひとつとして新生児マススクリーニングがある。しかし、このような検査を進める上において、社会における意識を調査することは不可欠である。

今回、DMD に先行して根治治療薬が保険収載された SMA に対する新生児スクリーニングについて、保護者の意向調査を行った¹⁾。

【対象と方法】

(1)兵庫医科大学小児科アレルギー外来通院中の児、(2)兵庫県猪名川町の5歳健診対象児、の保護者に無記名アンケート調査を行った。

【結果】

計269名 ((1) 100・(2) 169) より有効回答を得た²⁾。「SMA という病気を知っていたか」は「全く知らなかった」(1) 50%・(2) 49%、「少しだけ知っていた」(1) 49%・(2) 46%、「詳しく知っていた」(1) 1%・(2) 5%、「SMA に治療法ができたことを知っていたか」は「全く知らなかった」(1) 94%・(2) 95%、「少しだけ知っていた」(1) 5%・(2) 5%、「詳しく知っていた」(1) 1.0%・(2) 0%、「SMA の新生児スクリーニングを受けさせたいか」は「受けさせたい」(1) 99%・(2) 95%、「受けさせたくない」(1) 1%・(2) 5%、「スクリーニングの費用」は(1)「値段にかかわらず受けさせたい」が36%、(2)「5,000円未満なら受けさせたい」が34%と最も多かった。「スクリーニングを受けさせたい理由」は、「早く診断した方がいいと思うから」が(1) 40%・(2) 42%とともに最も多かった。「スクリーニングを希望しない理由」は、「かえって不安になりそうだから」「症状がでてからでいいと思うから」であった。

【考察と結語】

保護者は SMA という疾患や治療に対する知識は十分ではないものの、新生児スクリーニングには積極的である傾向が明らかとなった。私たちは、兵庫小児先進医療協議会を立ち上げ、2021年2月より、希望者を対象として、SMA を含む7疾患の有料新生児マススクリーニングを開始している²⁾。また、予防可能な他の疾患に対する新生児マススクリーニングの検討も進めているが³⁾、医療者のみの考えではなく、広く社会から意見を集めること

は重要である。

一方、DMD に対する根治治療として、2020 年にビルトラルセンが本邦において保険適応となった。また、他の治療法の治験も多数進められている。早期治療の有効性に関する明らかなエビデンスはまだ無いものの、SMA 同様、早期診断・治療がより有用である可能性は否定できない。治療法の開発とともに、早期あるいは発症前診断に対する社会における意識調査も進める必要がある。

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】

DMD /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⁴⁾。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 (LGMD) 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。

高 CK 血症を主訴に受診した男児の解析と Duchenne 型筋ジストロフィー診断の契機の検討

【緒言】

2020 年にエクソンスキッピング誘導薬であるビルトラルセンが DMD の治療薬として承認された。また、新たな治療法の治験が本邦においても進められている。これらの治療は早期に開始することにより、治療効果を高められる可能性が期待されている。その一方、乳幼児期早期に確定診断することに対する倫理的配慮も忘れてはならない。高 CK 血症は DMD 診断の契機として重要である。今回、高 CK 血症を主訴に受診した男児の解析を行うとともに、DMD 診断の契機について検討を

行った。

【対象と方法】

当院小児科を2014年5月～2022年7月の間に受診した16歳未満の男児を対象として、①高CK血症を契機に当院紹介となった症例の臨床的背景、②当院で確定診断を行ったDMD症例の診断の契機に関して、診療録をもとに検討を行った。前医で確定診断されている症例は除外した。

【結果】

①高CK血症を契機に当院を受診した症例は51例であり、最終診断はDMD13例（初診時：0～3歳）、BMD13例（0～10歳）、LGMD3例（Caveolinopathy、 γ -sarcoglycanopathy、病型不明各1例）、福山型筋ジストロフィー2例（0歳）、一過性高CK血症あるいは精査中の症例が20例（0～12歳）であった。当院初診時CK値の中央値は、DMDで14,141 U/L（6,655～53,077）、BMDで2,660 U/L（400～15,757）であった。BMD2例、LGMD1例では経過中CK値が正常化する時期があった。また、DMD4例では、乳児期早期にCK値が5000 IU/L以下になる時期があった。②当科を受診した16歳未満のDMDは65例であり、当科で確定診断を行った症例は18例であった。受診の契機は機会採血での高CK血症が13例（初診時：日齢0～3歳）、転びやすい・ジャンプ不能などの筋症状が5例（2～6歳）であった。機会採血の理由は、肺炎・気管支炎3例、腸炎2例、羊水混濁2例であり、機会採血の場所は、病院2例、開業医5例、産院またはNICU4例であった。

【考察と結語】

高CK血症を契機に紹介受診となった症例51例中31例（61%）が筋ジストロフィーであり、さらに13例（25%）がDMDであった。また、当科で確定診断したDMD18例中、機会採血における高CK血症が診断の契機であった症例が13例（72%）であった。典型的な症状を有する症例は、前医においてすでに確定診断されている症例が多い点が今回の解析のリミテーションであるが、高CK血症症例においては、DMDを念頭に置きつつ、倫理的な配慮のもと診断を進めることが重要であると考えられた。また、BMD、LGMDにおいて無症候の時期にCK値が正常化することがあること、

DMDであっても、乳児期早期にCK値が比較的
低値を呈することがある点は、診断を進めるう
えで留意すべき点と思われた。

【参考文献】

- 1) Lee T, Tokunaga S, Taniguchi N, Fujino T, Saito M, Shimomura H, Takeshima Y. Views of the General Population on Newborn Screening for Spinal Muscular Atrophy in Japan. *Children* (Basel). 8:694,2021.
- 2) <https://www.hyogosyouni.jp/> (accessed 2023-3-23)
- 3) Lee T, Yoshii K, Yoshida S, Suga T, Nakamura K, Sasai H, Murayama K, Kobayashi H, Hasegawa Y, Takeshima Y. Retrospective evaluations revealed pre-symptomatic citrulline concentrations measured by newborn screening were significantly low in late-onset ornithine transcarbamylase deficiency patients. *Clin Chim Acta*. 510:633-637,2020.
- 4) 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* 519:198-203,2021.

ベッカー型筋ジストロフィーの自然歴調査研究の成果

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

中村 昭則

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) と同じ DMD 遺伝子の変異により筋形質膜に局在するジストロフィンが欠損して発症する予後不良の疾患である。DMD ではアミノ酸の読み取り枠がずれる変異のためジストロフィンが完全に欠損するが、BMD ではアミノ酸の読み取り枠が保たれる変異であるために不完全ながらもジストロフィンが産生され骨格筋障害は軽症である。しかしながら、表現型や重症度は患者間で大きく異なり¹、中には心筋障害が前景に立ち心不全から心移植に至る例も報告されている²が、根本治療の提案がないが故に定期的フォローが十分には行われていない。また、近年では発症前に高クレアチンキナーゼ (CK) 血症により BMD の診断を受ける患者が増加しているが、遺伝子型—表現型の関連性が不明であり早期診断が生かされていない。さらに知的発達障害やてんかんなどの中枢神経障害を併発する例が少なくないが、その発生頻度や遺伝子型との関連性も不明である。一方、DMD で臨床応用が進められているエクソン・スキップ治療は DMD を BMD 型に変換する治療法であり、開発戦略には BMD の自然歴が必要である³。そこで、平成 30 年～令和 2 年度 AMED 難治性疾患実用化研究事業 (エビデンス創出) の中で筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク (MDCTN) 加盟 22 施設による BMD 自然歴調査研究を実施した。

方法

1. 319 名 BMD 患者の遺伝子変異情報とカルテ等の資料から臨床情報を収集し、正確な遺伝子情報が得られた 305 名の BMD 患者データを元に患

者属性、骨格筋・呼吸機能・心機能・中枢神経障害の各表現型の解析と遺伝子型との関連について解析し、BMD 全体の臨床像に関する記述統計解析および遺伝子変異の分布について検討した報告した。

2. 発生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。

3. 微小変異を有する BMD 患者の臨床像を明らかにするために、全体の 11% (33 例) を占める点変異などの微小変異を有する患者 (内訳: アミノ酸変異を伴う変異を持つ 5 例、ナンセンス変異を持つ 8 例、スプライス部位近傍の変異を有する 14 例、その他の変異を持つ 6 例) を対象に、遺伝子変異部位、筋生検、初発症状、骨格筋・呼吸・心・中枢神経の各症状の特徴について検討した。

結果

1. 調査時年齢は1歳～81歳であり、平均年齢は30.5歳、中央値は28歳であった。遺伝子変異の種類は欠失が82%と最多で、次いで重複、スプライス部の変異、ナンセンス変異の順であった。DMD に比して欠失とスプライス部位の変異が多かった。初発症状は筋症状が57%と最多、次いで高CK血症 (未発症) が33%であったが、中枢神経障害 (痙攣、精神発達遅滞、学習障害など) が6%と多かった。診断時の血清CK値は若齢で高く、高齢発症であるほど低値となる傾向があった。

診断時の努力性肺活量 (%FVC) は年齢と相関はしていなかったが、若齢でも低値を示す例が少なくなかった。非侵襲的人工呼吸器は26名、侵襲的人工呼吸器は7名が使用していた。

診断時の左室拡張末期径 (LVDd) は成長に伴い 20歳くらいまでは増大するが、10歳代でも 55 mm

を越す異常値例が認められた。また、20～40歳台で55 mmを超える例が少なくなかった。診断時の左室駆出率 (LVEF) は年齢に伴い減少傾向を認めしたが、10歳頃から低下している症例もある他、20～30歳台で低下が顕著な症例が存在していた。心不全症状は全体の14.7%に認められ、心不全治療は46%が受け、治療開始平均年齢は30.2歳であった。非薬物治療は4.3%が受けていた。LVEFは経年変化によりLVEFは低下傾向を示したが、早い経過でLVEFは低下する症例も認められた。診断時の血清BNP値はLVEFと同様に若年齢から高値を示す例が少なくなかった。

中枢神経障害は痙攣発作が8.6%と一般人口有病率 (約0.8%) の約10倍、知的能力障害・発達障害が21.7%と一般人口有病率 (約1%) の20倍であった。精神障害は11.8%に認められ、一般人口有望率 (約18%) より低少なかった。BMDの遺伝子変異の分布ではDMDの遺伝子変異分布に類似していた。exon 45～55は欠失の第一ホットスポットであり全欠失の74.4%を占め (DMDでは63%)、第二のホットスポットであるexon 3～9の欠失は7.6%でありDMD (7.3%) とほぼ同じであった。心不全を呈したBMDの遺伝子変異はexon 45～55内にある欠失変異に比較的多く認められた。

知的能力障害・発達障害を持つBMDの遺伝子変異はDMD遺伝子の広汎の欠失あるいはexon 12～34内の欠失、exon 45以降の欠失・重複例に多く見られた。痙攣の既往のあるBMDはDMD遺伝子の広汎の欠失例で少なかったが、exon 45～55の欠失例に認められた。発生頻度の高い遺伝子変異はexon 45-47欠失が69例 (22.6%) と最多、次いでexon 45-48欠失、exon 45-59欠失、exon 45-55欠失、exon 3-7欠失と続いた。この中でexon 3-7欠失のみがアウト・オブ・フレーム変異であった。各変異を持つ症例は若年齢から高齢 (一部中年) まで渡っていた。

2. 発生頻度の高かった 6 つ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。

3. 微小変異を有する BMD 患者の診断時年齢は 18.8 ± 17.3 歳 (0-75 歳) であり血清 CK 高値 (未発症) をきっかけに診断に至った例は 42.4% (14 例) であった。筋生検は 54.5% (18 例) で実施されていた。また 39.4% (13 例) に家族歴があった。

アミノ酸変異を伴う変異を持つ 5 例 (32-66 歳) は心・呼吸機能は保たれていたが、3 例が 17、18、55 歳で車椅子を使用していた。ナンセンス変異を持つ 8 例 (10-76 歳) はロッドドメインの変異が 6 例 (5 変異)、C 端ドメインの変異が 2 例 (1 変異) であり、内 4 変異で mRNA 上のエクソン・スキップが確認されていた。Exon72 にナンセンス変異を持つ例は呼吸障害が重度であった。スプライス部近傍の変異を持つ例 (5-72 歳) では 9 例で筋生検が実施され、ジストロフィンの発現は 1 例 (陰性) を除き faint & patchy pattern であった。内 2 例で 35 歳と 40 歳に車椅子を使用していた。Intorn66 のスプライス部に変異を持つ 2 例は

精神発達遅滞で発症し呼吸障害が重度であった。その他の変異（1塩基欠失、2塩基欠失など）を持つ6例の内4例で筋生検が施行され、いずれもジストロフィンの発現は **faint & patchy pattern** であった。2例が各々、20歳と24歳で車椅子を使用していた。

考察

今回の研究から **BMD** の自然歴を遺伝子変異との関連も含めて検討を行った。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、アウト・オブ・フレーム変異である **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。

また、中枢神経障害についてもその種類や頻度を明らかにすることができた。このデータは日常診療において、**BMD** の中枢神経症状についても十分な認識が必要であること、また学校や社会支援にも配慮が必要であることを示している。

DMD 遺伝子の微小変異を有する **BMD** 患者数は少なく、同じ変異を有する患者も少なかった。また、欠失変異のホットスポットでありエクソン・スキップ治療の標的となっている **exon45~55** 内に微小変異を持つ例は1例もなかった。今回、微小変異群の間でその臨床像の特徴に大きな差異は見いだせなかったが、**C** 末端領域に変異を持つ

例に重度の呼吸障害や中枢神経障害を示した例が見られた。ナンセンス変異に対してはリードスルー治療が検討されているが、ナンセンス変異を持つ **BMD** を治療対象と考える場合には筋組織におけるエクソン・スキップ効率や臨床的重症度を考慮する必要があると思われる。また、スプライス部近傍の変異やその他の変異についても将来の治療を見据えて、多くの情報を収集しておく必要がある。**DMD** 遺伝子の微小変異を持つ症例の蓄積は必要であり、症例が多く登録されている **Remudy** との連携が重要になってくるものと思われる。

現在進めている自然歴前向き研究では、筋力の定量的評価法として標準化された運動機能評価を組み入れており、長期に渡って調査を継続していきたいと考えている。また、**DMD** に対する治療開発も活発化しており、特に **exon skip** 治療やウイルスベクターを用いた遺伝子治療が臨床応用に進んでいる。これらの方法は **BMD** の表現型のように筋症状の軽症化を図る方法であるが、心機能や中枢神経機能への効果が不明な点が多い。この点から本研究の意義は高く、信頼度の高い臨床データを収集し、提供していくことが重要であると考える。また、現在行われている **DMD** 自然歴研究と連携して両疾患の **EDC** システムの統合を図り、治療開発基盤の構築を行いたいと考えている。

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
横浜労災病院
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:肢帯型筋ジストロフィーの各病型における画像診断のアルゴリズムを作成する.日本のCTを使った全身データも用いることで、欧州で提案されている大腿・下腿の筋MRIを用いた鑑別アルゴリズムではなく、日本で確実に鑑別できるアルゴリズムを作成する.またアルゴリズムでは鑑別できないまたは少数例の筋疾患については、アトラスとして参照できるようにする.
- ② DMD患者脳の評価:DMD患者の脳は少ないことが予想されている.多数例を用いて、DMDの脳萎縮について検討した.
- ③ AIを利用した筋量測定自動化ソフトの開発.筋膜を推定するための脂肪の外縁、筋の外縁、中間画像で観察できる推定筋膜を抽出するやり方を、二値化処理、閾値処理で推定し、手動画像、計算画像から非対象物を処理するやり方を考案中である.

(2) 本年度の研究成果

- ① 肢帯型筋ジストロフィーの各病型における画像診断のアルゴリズムを作成した(令和4年完成).既存の欧州の画像診断アルゴリズムとも、ほぼ相違がない.筋画像アトラスも作成し、(令和5年春に出版予定である)
- ② DMDの脳量は、年齢とは別個の因子として、

健常者に比較して少ない.特に皮質の量が少ないことが判明した.今後は、部位ごとの検討を行う予定である.

- ④ 推定閾値を各種考慮したが、推定閾値だけでなく、特徴点を抽出した画像、フィルター処理画像、手動で消去済みの教師データ画像のほか、年齢、性別や疾患情報を用いて、AI深層学習を行った.教師データを持たない筋画像では、AI画像処理と手動処理で筋量は経年的に差が少なくなった.また疾患に罹患しているか否かの判定はほぼ正解であった.

(3) 今後の研究の進め方について

- ① 画像診断アルゴリズム、筋画像アトラスについて完成した.
- ② 年齢補正を行い、部位ごとの検討を行う予定である.
- ③ 筋と皮下脂肪の教師データへの関連が強い深層学習ができるようにAIを制御し、全自動の骨格筋量測定が可能となることを目指す.また、肢帯型筋ジストロフィーの画像診断アルゴリズムを参照しながら、病型診断ができるような深層学習モデルを構築する.

(図3)

(4) 研究成果の発表(原著論文、学会発表他)

中山 貴博, 君塚 城治. 骨格筋量測定におけるAI深層機械学習可能な構造データの構築(会議録).日本筋学会学術集会プログラム抄録集 8: 132, 2022

(5) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

深層学習モデルの構築を行えた時点で、特許を出願する予定である.

図 1

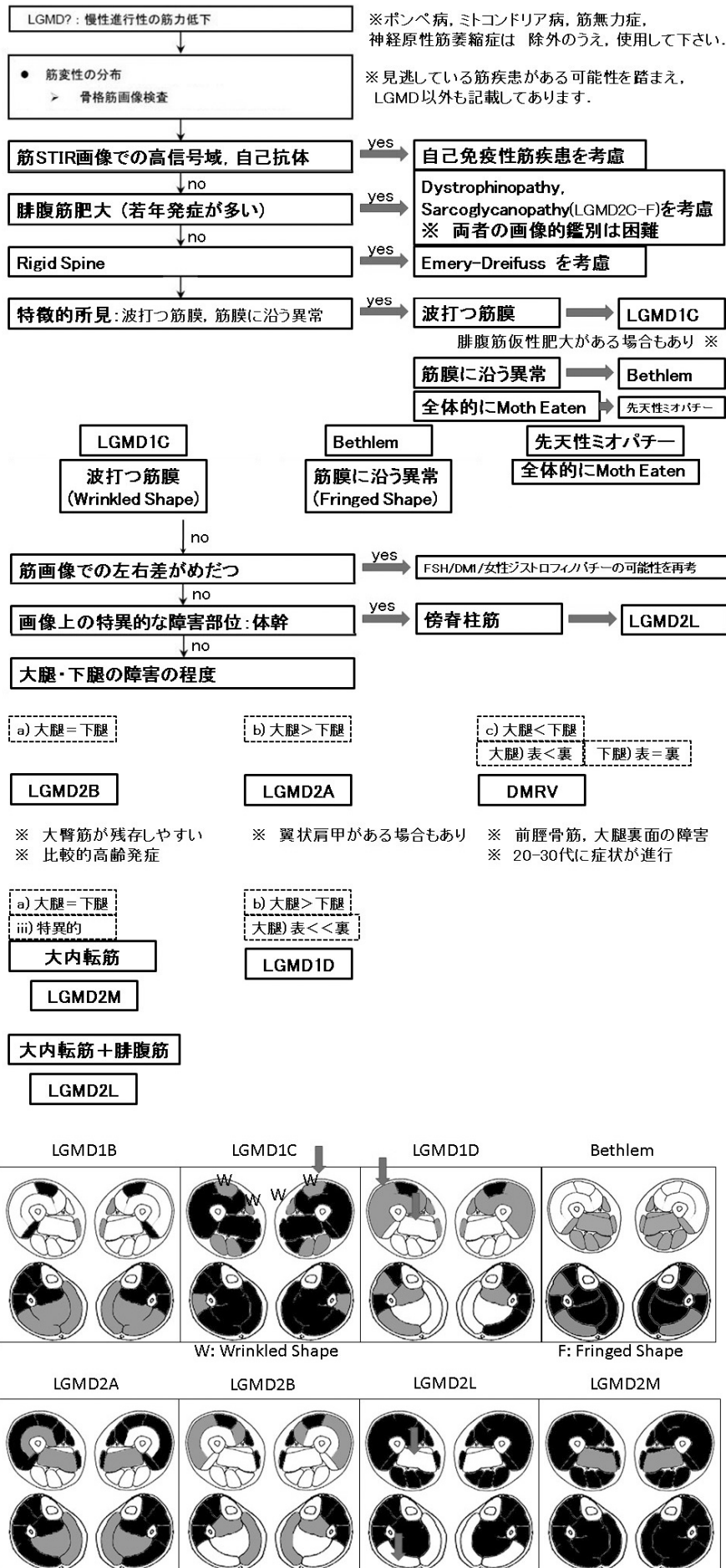


図 2

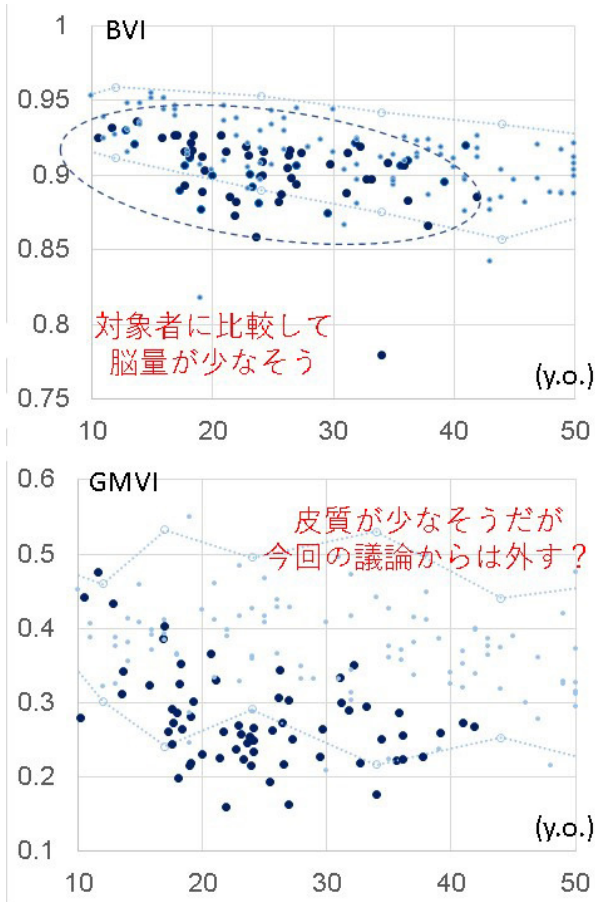
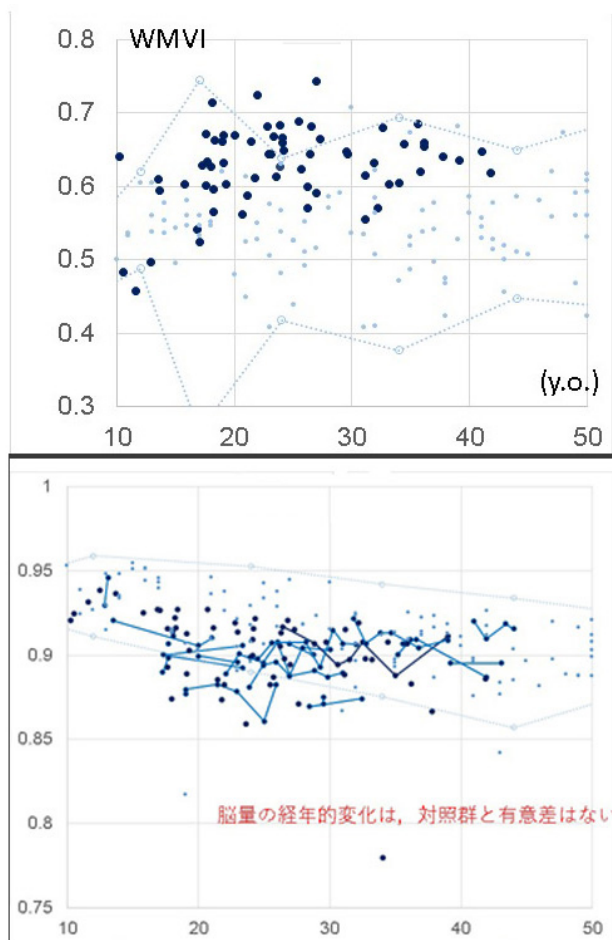


図 3



顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録と活用

国立病院機構大阪刀根山病院医療センター

松村 剛

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、海外では治験も実施されており、第三相試験に入ったものもある。

希少疾病における治験促進には、患者登録が果たす役割が大きく、FSHD についても 25 か国以上で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 (MDCTN) 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 年から事務局を統合し、新登録システムでの運用を開始した。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。学会発表、ホームページや日本筋ジストロフィー協会の FSHD 分科会患者グループとも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。

また、研究班で実施している自然歴調査や代替栄養法導入時期調査などの多施設共同研究にも協力する。

方法

COVID-19 パンデミックが続く中、学会発表 (World muscle society, 国立病院総合医学会、難病医療ネットワーク学会)、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 12 月末時点までに 163 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医療機関の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、多様なチャネルを通じた継続的な周知活動が重要と考える。広報活動のあり方については、患者グループとも協議している。また、軽症で医療機関を受診していない患者の登録を増やすためには、登録内容を簡素化し、web を用いて患者自身が登録を行うなど、新たなシステムの構築も必要と思われる。これについては、事務局

や各疾患の研究責任者などと協議を開始している。

FSHDHI の妥当性評価については、作成元の Rochester 大学、INQoL の著作権を有する Mapi Research Trust との連絡・契約等に時間を要したものの、2020 年に日本語版を作成し、2021 年に試用評価の上確定、2022 年に Remudy を用いて登録患者を含めた調査を実施。登録を活用したことで、66 名の患者の協力を得ることができた。

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、6 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

顔面肩甲骨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 の活動発展により、登録患者の増加を図り、国際共同治験への参加を進めていきたい。

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。

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
日本筋ジストロフィー協会
矢澤 健司

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、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じている。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る。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る。

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、2023 年 3 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 294 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、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、困りごとの解決情報など様々な情報が掲載されている。

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、5 月 15 日(土)、8 月 21 日(土)及び 12 月 11 日(日)にオンライン座談会が行った。また、「福山型先天性筋ジストロフィーの最新の治療開発」について 2023 年 3 月 19 日(日)13 時 30 分～15 時にオンライン開催した。講師は東京女子医科大学病院 准教授の石垣景子先生におねがいをした。最近の福山型筋ジストロフィーの治験等の情報や治療開発のための協力体制について話された。

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、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た。福祉分科会では、2021 年に八雲病院から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った。

2022 年 6 月 25 日の第 59 回筋ジストロフィー協会全国大会がオンラインで開催され、各分科会の報告があった。

DMD 分科会では 7 月 16 日に北海道地方本部と合同で講演会開催した。2023 年 3 月 12 日に DMD 分科会ホームページを立ち上げた。3 月 19 日現在、会員は 29 名登録されている。

顔面肩甲上腕型 (FSHD) 分科会³⁾

FSHD 分科会は、2015 年に FSHD 研究会コミュニティを立ち上げ、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た。現在は、ホームページと Facebook のグループページを中心に交流している。

2022 年 2 月 27 日に第 3 回 FSHD オンライン交流会が開催され、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た。この動画は協会の会員限定のページで紹介されている。2022 年 11 月現在会員 42 名

第 2 回 FSHD 生活(QOL)向上委員会報告 (fshd-ip.org)

令和 4 年 11 月 13 日 PM3:00～5:00

ZOOM にて開催、出席 35 名

「第 3 回 FSHD 生活(QOL)向上委員会」
～CARE と CURE(ケアと治療薬の動向)～
開催日: 2023 年 2 月 26 日(日)15:00～17:30
開催: オンライン (Zoom ミーティング)
内容:

- ・ Remudy の登録について
- ・ 電動車椅子 WHILL の使い心地とタイプ

- ・研究と最近の治験の動向（平向先生、三橋先生）
- ・デンマーク留学 ～障害者と健常者が共に学び生活するエグモント・ホイスコレン～
- ・参加者との交流（自由にトーク）を行った。現在登録メンバー141人

ベッカー型（BMD）分科会⁴⁾

（1）ベッカー型筋ジストロフィー（BMD）分科会の立ち上げ

令和4年5月1日、BMD治療法の研究開発の加速やBMD患者のQOL向上を目的として、日本筋ジストロフィー協会（JMDA）にベッカー型筋ジストロフィー（BMD）分科会（以下、「当会」）を設置した（会長：鳥越勝、副会長：遠藤光、柴崎浩之）。同日に当会ホームページ（<https://www.bmd-jp.org/>）を公開した。また、BMD治療法の研究開発の加速のためには、BMD専門医との協働が必要という問題意識から、「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」（AMED 難治性疾患実用化研究事業）を実施している、中村昭則先生（独立行政法人国立病院機構まつもと医療センター・臨床研究部長／脳神経内科部長）に顧問として当会に参画いただいている。

（2）BMD分科会の会員登録

当会令和5年3月17日時点で、会員数は68名（協会会員数40名）となっており、その内訳はBMD患者本人が29名、家族が38名、支援者1名である。当会立ち上げから1年も経たずに多くの会員登録があり、BMD治療法の研究開発等について関心が高いと考えられる。

（3）BMD分科会会員の交流

①LINEグループ（オープンチャット）の開設

まずは会員同士の交流の場を作るため、会員限定のLINEグループをオープンチャットで開設した。令和5年3月17日時点で50名の参加があり、会員の困りごとの相談や事務局及び会員からの情報共有の場として機能し

ている。

②オンライン交流会の開催

Zoomを用いてオンライン交流会を3回開催した。第1回目（令和4年6月4日開催）では、全国各地からBMD患者本人及びその家族が15名参加し、初めての顔合わせだったため参加者の自己紹介を中心に約2時間交流した。第2回目（令和4年8月28日開催）も、全国各地からBMD患者本人及びその家族が15名参加し、初めての参加者が多かったため参加者の自己紹介を中心に約2時間交流した。第3回目（令和5年1月28日開催）では、全国各地からBMD患者本人及びその家族が18名参加し、BMDに関すること、制度のこと、日々の困りごと、生活での工夫・知恵等について共有した。会員からは来年度も引き続き定期的に開催を望む声が多い。

（4）BMD分科会勉強会の開催

令和5年2月25日にZoomを用いて、オンライン勉強会を当会主催で開催した。当時は、中村昭則先生を講師として呼び出し、BMD自然歴研究や新しい運動機能評価に関する研究成果について約90分御講演いただき、その後、質疑応答を約30分実施し、参加者から最新の研究開発状況等について質問が多数あった。また、53名（協会会員29名）の参加申し込みがあり、その内訳は筋ジストロフィー等の患者本人31名、その家族21名、支援者5名（複数回答可）で、当日の参加者数は46名であった。開催後に参加者へアンケートを実施したところ、講演の理解度に関して「とてもよくわかった」「よくわかった」という回答が約88%、満足度に関して「とても満足した」「満足した」という回答が約91%あり、参加者の評価が高い勉強会であったと考えられる。

令和4年度筋ジストロフィー協会電話相談の現状⁵⁾

昨年度はコロナワクチン接種の相談が多かったが、本年度は一件のみで昨年と比較して大きく減少した。件数は総計 25 例であった。

筋強直性ジストロフィーが最も多く、8 件 (32%) を占めていた。ジストロフィン異常関連が 5 件 (20%)、肢帯型ジストロフィーが 3 件、顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーが 1 件であった。筋強直性ジストロフィーの 3 件が激しい腰痛を訴えていたのが注目される。また診断不明例も多かった。

相談が来たのは九州から北海道と広範囲であった。

◦相談に内容については広範囲であったが、遺伝や予後の相談も多い。詳しい遺伝相談は受け付けず、一般的な疾患についての遺伝の説明にとどめている。回答内容は地元の国立病院機構病院や大学神経内科受診を勧めている。

◦6 年前の状態と比べると件数が少なくなり、6 年前当時は総計 48 件に達していてジストロフィン関連疾患が 38% を占めていた。筋強直性ジストロフィーは 23% だった。本人からの相談が 14 件と 56% であった。次に多かったのが母からで 7 件で 28%。残りの相談者は父親 2 例と娘 1 例だった。◦6 年前当時は本人からが 31%、母からが 37% で現在とは変化している。ジストロフィン関連疾患が減少したためであろう。また福山型の相談もなくなっている。これらの疾患や脊髄性筋萎縮症における相談数変化は、これらの疾患で遺伝子関連治療が進んだことと SNS の進歩による情報収集が容易になったという事実と関連していると考えられる。

◦毎年作成している神経筋疾患論文集については、最近論文数が増えて ALS が 33568 件、サルコペニア 16340、筋萎縮 45849 件、呼吸筋 38808 件、炎症性筋疾患 30930 件、LGMD 9285、ジストロフィン関連 27038、筋強直性ジストロフィー 74533 件、先天型筋ジストロフィー 5301 件と集積してきた。今年も文献集 DVD を作成し終えている。

・患者の QOL 調査⁶⁾

2016 年に国立病院機構本部との共同で QOL 調査が行われた。

2020 年度に障害者総合福祉推進事業「国立病院機構が運営する病院の療養介護病棟（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」が行われた。この調査では調査対象者 1805 名の内有効回答が 416 (23%) であった。回答がなかった 77% の患者の状態がとても気になった。

現在、27 病院を対象に①病院の基礎データ、②病院スタッフの労働環境、③患者の余暇活動に関する調査を計画中である。

・治験における患者負担軽減の為の評価法の検討（ウェアラブル機器）⁷⁾

小型軽量なウェアラブル機器で 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ので、今回 DMD と BMD の 10 名の患者さんのデータを使って検討しました。健常の方のデータと冠者さんのデータを比較した。歩行時の身体動揺量と前傾斜度に健常者と患者との間に優位差があり、今後評価の尺度に使えるかどうかを検討して行く予定。



・新型コロナウイルス感染の現状⁸⁾

新型コロナウイルス感染症の流行は、2022 年 11 月ごろから新年にかけての第 8 波の後、2023 年 3 月末現在は小康状態である。図 1 にオミクロン株の流行が昨年の初めから 1 日の感染数が 10 万人を超える大きな流行が 3 回起こったことが見て取

れ る 。



図1. 2022年1月以降の新規感染者数と死亡者数の推移

新規感染者と死亡数の推移を比べると、いずれの流行時でも死亡者数のピークが新規感染者のピークから遅れていることが分かる。この差は、感染したのち症状が悪化し死に至るまでの平均的な日数を表している。ピアソンの相関関係を用いるとこの差は16日であった。この値を用いることにより、新規感染者のうち死亡者の割合を求めることが出来、図2に示す、見かけ上の死亡率は昨年の5、6月に0.1%まで低下した後上昇に転じ、直近で0.4%に達していることが分かった。



図2. 感染報告数に対する死亡者数の割合の推移

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。

・厚生労働省が行った患者の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。QOL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。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る。

参考文献

- 1) 福山分科会令和4年度活動報告、ふくやまっこ家族の会、2023-3
- 2) 原田義孝、令和4年度デュシェンヌ型筋ジストロフィー分科会活動報告。2023-3
- 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
- 4) 柴崎浩之、ベッカー型筋ジストロフィー (BMD)分科会令和4年度活動報告、2023-3
- 5) 石原傳孝、令和4年度筋ジストロフィー協会電話相談の現状、2023-3
- 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、筋ジストロフィーオンライン勉強会「ベッカー型筋ジストロフィーについて」動画、2023-2-25
- 8) 加藤慎吾、新型コロナウイルス感染症の現状、株式会社 ハナメディック、2023-3

眼咽頭型筋ジストロフィーのレジストリ構築と臨床疫学研究

山下 賢

国際医療福祉大学成田病院

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 *LRP12* や *GIPC1*、*NOTCH2NLC*、*RILPL1* 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(3-6)。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。

本研究の目的は、OPMD および OPDM を統合し

た患者登録項目を確定し、登録システムを確立するとともに、Remudy 登録項目に基づいて、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し、さらに 2016~2021 年に熊本県内の筋疾患診療の中心である熊本大学病院および熊本再春医療センターにおいて診断された OPMD 症例について、2022 年に Remudy 登録項目に基づいて追跡調査を行い、臨床症状の推移を調査することである。

方法

(1) OPMD および OPDM を統合した患者登録項目の確定、登録システムの確立

先行研究において、OPMD 既報告症例に基づき眼瞼下垂や嚥下障害、上下肢筋力低下に加えて、外眼筋麻痺、構音障害、呼吸機能や心機能を評価しうる患者登録項目を設定した。しかし新たに原因遺伝子が同定された OPDM がときに類似の臨床症状を呈することから、両疾患を併せて登録可能とする患者レジストリの構築のため、ワーキンググループ (西野一三先生 (NCNP)、小笠原真志先生 (NCNP)、斎藤良彦先生 (NCNP)、江浦信之先生 (NCNP)、南成祐先生 (NCNP)、中村治雅先生 (NCNP)、荒畑創先生 (NHO 大牟田病院)、山下賢 (熊本大学)) を組織し、患者登録項目の再検討、運用方法の検討などの軌道修正を進めた。

(2) 2021 年に新規に診断した OPMD 症例の臨床病理学的特徴の解明

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 症例を対象とし、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 Remudy 登録項目を評価した。

(3) 患者レジストリ項目に基づいた OPMD 症例の追跡調査

2016～2021 年に熊本大学病院および熊本再春医療センターで新規に診断した OPMD11 症例のうち、遺伝子検査が未実施の 1 例を除いた 10 症例(男性 6 例、女性 4 例)について、2022 年に上記 Remudy 登録項目および MRI 画像所見(頭部、上下肢骨格筋)、嚥下機能検査所見を追跡調査した。2 症例(いずれも男性)は既に死亡しており、剖検が行われた 1 例について病理学的解析を行なった。

結果

(1) OPMD および OPDM を統合した患者登録項目の確定、登録システムの確立

OPDM の登録項目の追加にあたって、OPDM の遺伝子診断の現状(西野先生・小笠原先生・斎藤先生)、および OPMD の遺伝子診断の現状と陽性頻度(南先生)について議論し、レジストリ運用に際して、いずれも大きな負担とはならない状況を確認した。中枢神経症状の登録に関して、OPDM ではパーキンソニズムなど種々の中枢神経合併症を呈する知見が見出されており、「中枢神経合併症」として自由記載することで対応することを確定した。さらに本レジストリを DMD のように治験リクルートの目的とするのか、あるいは原因遺伝子未同定の症例の発掘とするのか(斎藤先生)、OPDM ではどのリポート数で陽性と陰性の線引きをするか、あるいは NCNP 以外の他施設での解

析を含めるのか(斎藤先生)などの運営上の課題が明確となった。

(2) 2021 年に新規に診断した OPMD 症例の臨床病理学的特徴の解明

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。

2009 年以降に診断した 9 症例について、15 リポート症例(2 例)と 13 リポート症例(7 例)を比較したところ、15 リポ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 リポ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。

15 リポートを有する症例 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。

(3) 患者レジストリ項目に基づいた OPMD 症例の追跡調査

遺伝子診断における GCN リポート伸長は、10/12 回が 1 例、10/13 回が 7 例、10/15 回が 2 例であった。症例 7 は、50 歳時に眼瞼下垂で発症し、罹病期間 24 年に誤嚥性肺炎で死亡され、症例 10 は、65 歳時に嚥下障害で発症し、早期に喉頭気管分離術を施行されたものの、食道入口部での通過障害が主因となる誤嚥性肺炎のため、罹病期間 12 年で死亡した。本症例の病理解析では、食道入口部の繊維化が認められた。嚥下障害は全ての症例で悪化し、症例 4 は、嚥下造影検査で固形物は舌根と咽頭の収縮が不良で、喉頭蓋谷と梨状窩に多く残留し、水分はとろみがないと喉頭侵入や誤嚥を認める状態で、輪状咽頭筋離断術の効果は期待できないとの判断であった。症例 3 は、下肢近位分の筋力低下と嚥下障害が進行し、2021 年 2 月に脳梗塞、左下肢動脈閉塞症を発症後、気管切開および胃瘻造設した。

考察

国内外の神経筋疾患レジストリと連携可能な OPMD および OPDM の患者レジストリの構築および活用は、病態および治療研究の促進に不可欠である。15 リポート症例では、13 リポート症例に比して、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。*PABPN1* 遺伝子の GCN リポ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(7)、GCN リポ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(8)。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

GCN リポ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。嚥下障害は、初発部位や GCN リポート数に関わらず、徐々に増悪し、喉頭気管分離術や輪状咽頭筋離断術の効果に乏しく、生命予後に影響することが示唆された。嚥下障害に対する適切な評価と管理が重要と考える。

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(2):164-7.
2. Brisson JD, Gagnon C, Brais B, Cote I, Mathieu J. A study of impairments in

- oculopharyngeal muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 2020;62(2):201-7.
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(8):1222-32.
 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(6):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(1):204.
 6. Yu J, Shan J, Yu M, Di L, Xie Z, Zhang W, et al. The CGG repeat expansion in RILPL1 is associated with oculopharyngodistal myopathy type 4. *Am J Hum Genet*. 2022;109(3):533-41.
 7. 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(4):359-65.
 8. 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*

Conclusive Research Report

1. Research Objectives

The purpose of this study was to developmentally modify the Patient Registry (Remudy), which has been in operation since 2009, and the Muscular Dystrophy Clinical Trial Network (MDCTN), which has been in operation since 2012, as a project of the CareCure-NMD (CCNMD), and to assume its management by this research group. In light of the current progress in clinical development of innovative methods such as nucleic acid drugs, we will promote clinical research to generate evidence to improve clinical development and standard practice by utilizing the foundation of CCNMD. We will also consider disclosing information from the user's perspective.

2. Research Organization

Principal investigator Hirofumi Komaki: National Center of Neurology and Psychiatry, NCNP
 Co-investigator NCNP: Fumie Arie, Kazuhiko Segawa, Eri Takeshita, Harumasa Nakamura, Ichizo Nishino, Katsuhiko Mizuno (2020-1), Takatoshi Hara (2022), Yuko Motohashi, Madoka Mori, Toshiyuki Yamamoto, Kobe University: Hiroyuki Awano, Tokyo Women's Medical University: Keiko Ishigaki, Yakumo National Hospital(2020), Hokkaido medical center(2021-2): Yuka Ishikawa, Higashisaitama National Hospital: Katsuhisa Ogata, Suzuka National Hospital: Satoshi Kuru, Kitasato University: Masashi Takaso, Osaka University: Masanori Takahashi, Hyogo Medical University: Yasuhiro Takeshima, Matsumoto Medical Center: Akinori Nakamura, Yokohama Rosai Hospital: Takahiro Nakayama, Osaka Toneyama Medical Center: Tsuyoshi Matsumura, The Japan Muscular Dystrophy Association: Kenji Yazawa, Kumamoto University(2020-1), International University of Health and Welfare(2022): Satoshi Yamashita.

3. Research Results

i) Clinical Development

a. Research on the Efficacy of Steroids in Fukuyama Congenital Muscular Dystrophy (FCMD) (Ishigaki): With the aim of starting a clinical trial, PMDA preliminary interviews were conducted, a protocol outline was drawn up, a multicentre study system was established, the study was selected for AMED research funding and a system was put in place to start the clinical trial.

b. CCNMD Facility Survey (Ogata): An annual survey was conducted among MDCTN member facilities on the number of patients and the condition of facilities, and the results were published on the website.

c. Feasibility Study Using Remudy and CCNMD: Physician-initiated clinical trials (Myotonic dystrophy: DM1, Duchenne muscular dystrophy: DMD) using Remudy, a patient registry, assistance in recruiting subjects to corporate clinical trials (DMD), and feasibility study were conducted on request. Since 2014, support has included 9 clinical trial subject recruitment, 18 feasibility studies, 7 research secretariats and 36 other research support projects.

ii)Registry

a. The National Center of Neurology and Psychiatry continued the project, taking charge of the secretariat for the treatment of dystrophinopathies (DMD and Becker muscular dystrophy (BMD)), GNE myopathy, DM1 and congenital muscular diseases. The number of registered patients was 2104, 240, 1177 and 75, respectively, as of November 2022.

b. Facioscapulohumeral Muscular Dystrophy Registry (Matsumura): Registration started in 2020. The registry items cover the "core dataset for the international FSHD registry," making the data available for international use. Dissemination activities were carried out through patient groups, member facilities, related research groups and academic societies, and 163 registrations were obtained as of the end of October 2022.

c. In anticipation of its use in post-marketing surveillance, the multicentre Remudy-DMD study, a registry with new functions and a certain level of reliability assurance, was started, and 117 registrations were obtained as of the end of 2022 (Osamu Nakamura).

d. Myotonic Dystrophy Registry (Osamu Nakamura, Takahashi): The myotonic dystrophy registry data operated at Osaka University was transferred to NCNP. Multiple regression analysis of registry items was performed on 974 symptomatic patients using items from the registry. There was a strong influence of CTG repeat sequence length on grip strength, %FVC and QRS, and age at registration on PR. Next to PR, grip strength, %FVC, and QRS were all significantly affected by age at registration. Using the Remudy patient registry, we conducted a secondary survey on lipid and glucose metabolism and liver function, and found that dyslipidemia and liver dysfunction were more frequent, and that dyslipidemia was not adequately treated. Remudy was utilized to recruit patients for a multicentre physician-led clinical trial to investigate the safety and efficacy of erythromycin (Takahashi).

e. Oculopharyngeal Muscular Dystrophy Registry (Yamashita): Preparations were made for the start of registration by setting registry items, examining the establishment and operation system of the registry system, conducting publicity activities, and international collaboration.

f. Uninsured genetic analysis and curation of dystrophinopathy, GNE myopathy, and FSHD were performed during registration. We successfully detected D4Z4 repetitive sequence repeat length and CpG methylation simultaneously by using a nanopore long-read sequencer for genetic diagnosis of FSHD, which requires a complex procedure and data analysis (Nishino).

iii) Natural History

a. Prospective Natural History Study of DMD (Takeshita): 33 cases were registered and the study continued with an interim analysis. Using the North Star Ambulatory Assessment (NSAA), we presented for the first time the minimal change in motor function assessment for Japanese DMD patients, including an average decrease of 3 points at 1 year from baseline and an average decrease of 8.9 points at 2 years. The exercise intensity and sedentary time obtained from the activity meter measured at the same time correlated well with changes over time in the NSAA and the 6-minute walk test, providing fundamental insights for the clinical application of real-world data. Individual patient data from this study was provided to a company on request to evaluate the efficacy of the company trial.

b. Prospective Natural History Study of GNE Myopathy (Mori): A 5-year prospective observational study was conducted and data on summed MMT, GMFM, grip strength, pinch strength, %FVC, CK, leg body composition measurements and SF-36 showed significant progression in the long-term.

c. Multicentre Study of Natural History of BMD (Akira Nakamura): We collected clinical information from genetic mutation information and medical records of 319 patients with BMD. Among them, based on the data of 305 patients with BMD for which accurate genetic information was obtained, we analyzed the phenotypes of skeletal muscle, respiratory function, cardiac function, and central nervous system disorders, in addition to patient attributes, and their association with the genotypes. And we found for the first time that the phenotype and severity of these elements differed according to the genotype of the patients. In addition, the frequency of co-occurring central nervous system disorders in BMD was higher than expected, with epilepsy and intellectual and developmental disabilities being the main features in some cases.

iv) Outcome Measure, Biomarker

a. Upper Extremity Function Assessment of DMD (Mizuno, Hara): The Box and Block Test (BBT) and Purdue Pegboard Test (PPT), an upper extremity function assessment method that can be applied to various diseases, were performed in 64 DMD patients aged 8-41 years. We found that BBT and PPT correlated well with the Brooke scale, a standard upper extremity function assessment method for DMD, and could be used as quantitative indices until about age 15-18, when they could not be performed. Furthermore, we found that the classification of upper extremity motor dysfunction, which was developed by the NCNP research team in the past and can be relatively easily measured in clinical practice, correlates well with other upper extremity function assessments.

b. Activity Meter Assessment of DMD (Mizuno, Hara, Takeshita): Activity was measured using an activity meter in 9 patients with DMD who were able to stand up from the floor and walk. There were no significant changes in exercise over 3 years, but exercise intensity decreased significantly over time. The results suggest that exercise intensity is more useful as an indicator of life activity in ambulatory DMD patients.

c. Urine miRNA Analysis of DMD (Motohashi): Of the 2578 miRNAs comprehensively analyzed by the microarray method, 4 miRNAs showed sufficient expression levels and significant differences between the DMD and healthy groups, one of which was correlated with the clinical course and confirmed to be involved in cell survival, proliferation, and size in cell experiments, supporting its relevance to clinical data.

d. Automation of Quantitative Analysis of Skeletal Muscle Images Using AI (Nakayama): Regarding the automation of manual erasure of skin and subcutaneous blood vessels outside the skeletal muscle related to the muscle quantification method using the estimation function of the skeletal muscle CT image of muscular dystrophy patients which has already been established, we have developed an automation software using AI by constructing a non-object erasure logic, having AI machine-learn the position, shape and area of erased parts in a non-object, and having AI recognize the misdetecting tissue as teacher data of a non-object. We developed and validated an automatic muscle contour extraction program for use in the neural network middle layer of deep learning. The error of thigh muscle mass between the images obtained by this program processing and those processed manually was as small as 0.25%.

e. Urinary Titin in FCMD (Ishigaki): Urinary titin levels were significantly elevated in all 18 patients with FCMD compared with healthy control groups, and urinary titin levels were significantly correlated with serum CK levels. In patients homozygous for the founder haplotype, it showed a significant correlation with the motor assessment scale GMFM.

f. Biomarker Study of Urinary Titin (Awano): We compared urinary titin levels in DMD patients classified by ACTN3 genotype, and found no significant differences in urinary titin levels among the three genotypes in any age group. On the other hand, there was a negative correlation between urinary titin levels and CT values of the vastus femoris and biceps femoris in patients with BMD. In patients with active muscle breakdown, it was assumed that the muscles involved in knee joint movement would be strongly degenerated, and urinary titin could be a biomarker for assessing degeneration of the vastus femoris and biceps femoris.

v)Evidence Building

a. Epidemiological Study Using the National Database of Neuromuscular Diseases (Motohashi): The target diseases, assessment items (primary endpoint: number of prevalent patients, secondary endpoints: incidence of diseases and quality of medical care) and the environment for handling data were set up, and an ethics application and a data use application were submitted to the MHLW, which was accepted. A data management system was established, including rules for using NDB in NCNP.

b. Survey of Parents' Intention to Newborn Screening for Spinal Muscular Atrophy (SMA) (Takeshima): A questionnaire survey was conducted among parents of children attending outpatient allergy clinics and parents of 5-year-old children in the prefecture who were eligible for health check-ups, and revealed that parents tend to be positive about newborn screening, although they do not have sufficient knowledge about the disease and treatment of SMA.

c. Multicentre Study on the Timing of Introduction of Alternative Nutrition for DMD Patients (Yamamoto): The data of 166 Duchenne muscular dystrophy patients from 7 multicentre study facilities are collected and analyzed.

d. Dysphagia Associated with Adult Muscular Dystrophy (Yamamoto): A study of 286 adult muscular dystrophy patients with dysphagia who had undergone contrast-enhanced swallowing studies and perceived dysphagia using the Japanese version Swallowing Disturbances Questionnaire (SDQ) showed that dysphagia was less frequently associated with BMD, LGMD and FSHD1, and more frequently associated with DMD, DM1 and OPMD. For FSHD1, the complication of dysphagia could be diagnosed from the patient's perception, but not for the other diseases. We

believe that patients with DM1 or OPMD should be suspected of having dysphagia even if they are not aware of it.

e. Cardiac Dysfunction Associated with Myotonic Dystrophy (Segawa): Cardiac complications were found to be more common in cardiac conduction disturbance, atrial fibrillation, and atrial flutter, and less common in ventricular tachycardia and decreased left ventricular contractility.

f. Development of Multidisciplinary Team and Formation of Specialized Centres Related to DM1 Respiratory Management (Ishikawa): A study according to the international consensus is underway.

g. Research to Establish the Usefulness of Skeletal Muscle Imaging in the Differential Diagnosis (Kuru): A diagnostic algorithm for limb-girdle muscular dystrophy (LGMD) using skeletal muscle imaging findings will be developed, with the aim of completion in the next fiscal year after approval by the Japanese Society of Neurology. The IBIC Image Database (IBISS) operated by NCNP was utilized for the creation.

h. Study of Postoperative Outcomes and Risk Factors for Perioperative Complications in Neuromuscular Scoliosis (Takaso): A study of 30 patients (SMA in 11 patients, DMD in 8 patients, other in 11 patients) with flaccid neuromuscular scoliosis who had severe deformity with a Cobb angle of 100 degrees or more at the time of surgery and who had undergone posterior corrective fusion showed that the average Cobb angle before surgery was 121.9 degrees (42.9 degrees after surgery) and the patients had severe restrictive ventilatory impairment preoperatively. The average operating time was 339 minutes, the average blood loss was 1440ml, and 8 patients had perioperative complications. It required highly invasive surgery to correct severe spinal deformities, and there were many perioperative complications, and it was necessary to establish a consultation system with specialists so that therapeutic intervention could be done before spinal deformities became severe.

i. Study of Ethical Issues in Preclinical Diagnosis, Early Diagnosis and Early Treatment of Muscular Dystrophy (Arie): ELSI (Ethical, Legal and Social Issues) survey on early diagnosis and early treatment of muscular dystrophy and public awareness survey on early diagnosis and early treatment technology were conducted, and ELSI was examined and summarized. The research also aimed to disseminate and share information to society through outreach and in-reach activities. Reviews of the literature revealed ELSI's challenges to address key issues such as personal data protection, genetics discrimination, right to disclosure of information, and family relationships. An opinion exchange meeting was held on the theme of considering ELSI in the preclinical diagnosis, early diagnosis and early treatment of muscular dystrophy with clinical and humanities experts and others. Based on the findings that not enough research has been conducted on the challenges of living with rare diseases, and that this issue has not yet been clarified from the perspective of patients, we will continue our research in light of these challenges.

j. Clinical Research from the Patient and Family Point of View in Close Collaboration with the Patient and Family Association (Yazawa): The research group works closely with patient associations, and this year again conducted research in collaboration with them regarding the implementation of lectures, research on registries and outcome measures, and consideration of ethical issues.

4. List of Published Research Results

- 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.* 2022;432:120080. doi: 10.1016/j.
- 2) 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;427:117511.
- 3) Lee T, Tokunaga S, Taniguchi N, Fujino T, Saito M, Shimomura H, Takeshima Y. Views of the General Population on Newborn Screening for Spinal Muscular Atrophy in Japan. *Children (Basel).* 2021 ;8 :694.

- 4) Saito W, Inoue G, Shirasawa E, Imura T, Nakazawa T, Miyagi M, Uchida K, Matsuda H, Akazawa T, Takaso M. 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.
- 5) Okano S, Nishizawa H, Yui J; PTS, Yokokawa Y, Koinuma M, Nakamura A. Convergent validity of a simplified device and relationship between blood lactate and salivary lactate after a vertical squat jump in healthy non-athletes. *J Phys Ther Sci.* 2021;33(3):187-193.
- 6) Okubo M, Noguchi S, Awaya T, Hosokawa M, Tsukui N, Ogawa M, Hayashi S, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Fukuyama T, Funato M, Hosokawa Y, Kinoshita S, Matsumura T, Nakamura S, Oshiro A, Terashima H, Nagasawa T, Sato T, Shimada Y, Tokita Y, Hagiwara M, Ogata K, Nishino I. RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet.* 2022 Sep 1. doi: 10.1007/s00439-022-02485-2.
- 7) Saito Y, Takeshita E, Komaki H, Nishino I, Sasaki M. Determining neurodevelopmental manifestations in Duchenne muscular dystrophy using a battery of brief tests. *J Neurol Sci.* 2022 Sep 15;440:120340. doi:10.1016/j.jns.2022.120340.
- 8) Shimizu R, Ohata M, Tachimori H, Kimura E, Harada Y, Takeshita E, Tamaura A, Takeda S, Komaki H. Expectations and anxieties of Duchenne muscular dystrophy patients and their families during the first-in-human clinical trial of NS-065/NCNP-01. *Brain Dev.* 2020;42(4):348-356.
- 9) Awano H, Saito Y, Shimizu M, Sekiguchi K, Nijima S, Matsuo M, Maegaki Y, Izumi I, Kikuchi C, Ishibashi M, Okazaki T, Komaki H, Iijima K, Nishino I. FKR mutations cause congenital muscular dystrophy 1C and limb-girdle muscular dystrophy 2I in Asian patients. *J Clin Neurosci.* 2021;92:215-221.
- 10) Mori-Yoshimura M, Oya Y, Komaki H, Segawa K, Minami N, Saito Y, Nishino I, Takahashi Y. Respiratory Dysfunction in Becker Muscular Dystrophy Patients: A Case Series and Autopsy Report. *J Neuromuscul Dis.* 2020;7:425-431.

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く。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

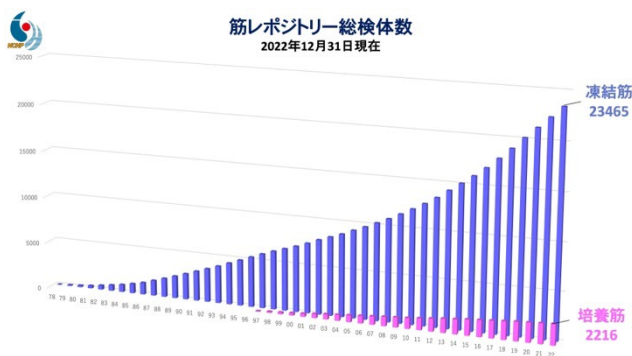
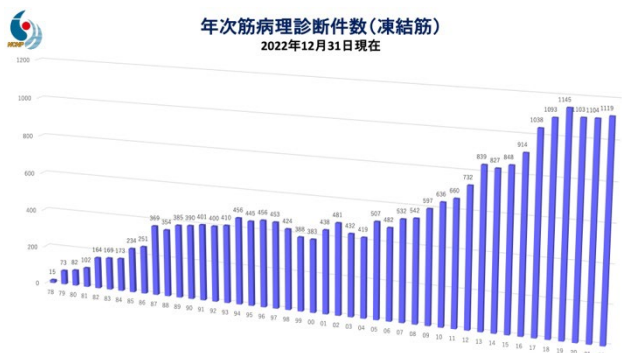
3.研究成果

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の維持と発展

a) 筋病理診断と検体数

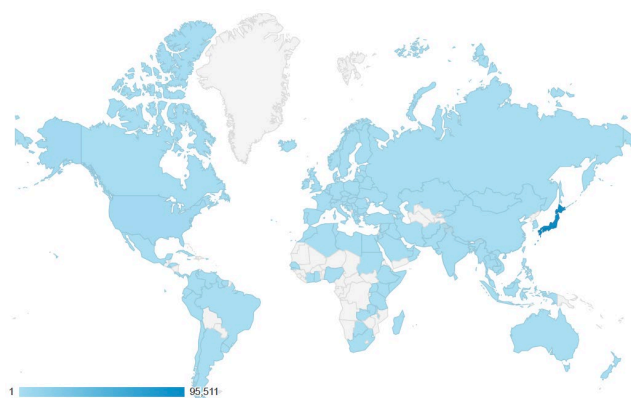
2022年(暦年)の総筋病理診断件数は、2020年より15件多い1119件であった。2020年は2019年と比較すると42件減少していたがこれは、コロナ禍により海外からの凍結筋運搬が困難になったためであったが、その後徐々に回復傾向にある。総検体数は、2022年末で23465検体となった。また培養筋も2216検体となり、世界最大規模の筋レポジトリが更に充実した。神経・筋疾患研究支援基盤として各種研究活用されることで、筋疾患学の発展に寄与した。



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131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、2023年3月31日現在)。昨年同時期は118カ国であり、新たに13カ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) DNAJB4 ミオパチー

世界で初めて、筋原線維性ミオパチー家系患者にDNAJB4遺伝子の顕性変異を見出した(Inoue M, et al. Acta Neuropathol. 2023 Feb;145(2):235-255)。この疾患はタイプ1線維に特徴的な細胞内封入体を示した。DNAJB4タンパク質は骨格筋のシャペロンタンパク質である。タンパク質の恒常性に寄与しているが、筋原線維が障害されていることから、遅筋におけるサルコメアの維持に必須であり、ここが障害されることが本疾患の病態メカニズムと考えられた。

b) 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てきた。本年度は、最近中国から報告された第 4 の原因遺伝子 *RILPL1* について本邦例を解析し、本邦では *RILPL1* 遺伝子リピート伸長例が見いだされないことを報告した (Eura N, et al. *Am J Hum Genet.* 2022 Nov 3;109(11):2088-2089)。また、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.* 2022 Apr 28;13(1):2306)。

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) GNE ミオパチー

日本人 GNE myopathy 患者で 2 番目に頻度が高い GNE:c.620A>T (p.D207V)は、他のバリエーションとの複合ヘテロ接合体では発症するものの、ホモ接合体では非常に発症率が低い。ホモ接合体は日本人一般集団に 238 名いると推定されるものの、GNE ミオパチー患者では 3 名しか見つかっていない。さらには、

本バリエーションのホモ接合体にも関わらず、全く筋症状のない 78 歳男性も見つかった。そこで、本バリエーションの病原性を明らかにする目的で WGS・RNAseq・シアル酸解析・構造解析研究を行った。本バリエーションは catalytic site から離れており、オリゴマー形成不全に寄与するものの完全にオリゴマーが形成できなくなるわけでないことが構造学的に示唆され、ホモ接合体では低シアル化の程度が軽度であり、軽症型の phenotype を呈することと一致し、ホモ接合体では環境因子などでオリゴマー化の程度に影響があった際にみに低頻度で発症すると考えられた。また、本バリエーションを有する患者はオリゴマー形成を促進する化合物を見つければ治療薬になりうる可能性がある。

e) 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

これまでに我々は特に皮膚筋炎に注目した研究を進め、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明らかにしてきた (*Neurology.* 2022 Feb 15;98(7):e739-e749)。今年度は更に、抗合成酵素症候群の筋病理所見について解析し、抗合成酵素症候群においても陽性自己抗体ごとの特徴があることを同定し報告した (*Brain Pathol.* 2023 Mar 7:e13155. Online ahead of print)。

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 (Ogawara M, et al. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2022 Apr;48(3):e12787)。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 (*Acta Neuropathol Commun.* 2022 Dec 7;10(1):176)。

4) 治療法開発

a) 悪性高熱症

村山班員らとともに、共同研究による悪性高熱の病態解明を進めた。体温調整は人間のホメオスタシス維持において重要であり、高熱は身体に重大なストレスをかける。悪性高熱は体温上昇をきたし、致死

的となる疾患である。今回、光学的局所熱パルス法により 1°C以内の精度で細胞の温度を調整し、悪性高熱の原因である重要なカルシウムチャネルであるリアノジン受容体1型(RyR1)の変異型が野生型に比べて熱に感受性があることを発見した。野生型のRYR1遺伝子やMHに関連したいくつかのRYR1変異体を過剰発現させた HEK293 細胞において、局所熱パルスは細胞内で Ca バーストを誘発した。小胞体標的蛍光プローブを用いた蛍光カルシウムイメージングから、Ca バーストは変異体の熱感受性による熱誘発性 Ca 放出(HICR)を起源としていることを明らかにした。さらに、悪性高熱の複雑さが4種のRyR1変異体の熱感受性が異なることに起因していることを示した。HICRは悪性高熱モデルマウスの骨格筋においても同様に認められた。HICRが悪性高熱の患者の熱発生を加速させる付加的な positive feedback に関与しているものと考えられる (Proc Natl Acad Sci U S A. 2022 Aug 9;119(32):e2201286119)。

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) Tanboon J, Inoue M, Hirakawa S, Tachimori H, **Hayashi S**, Noguchi S, Okiyama N, Fujimoto M, Suzuki S, **Nishino I**: Muscle pathology of antisynthetase syndrome according to antibody subtypes. *Brain Pathol.* 2023 Mar 7:e13155.[Online ahead of print]
- 2) Miyashita K, Ii Y, Matsuyama H, Niwa A, Kawana Y, Shibata S, Minami N, **Nishino I**, Tomimoto H: Sporadic Myotonic Dystrophy Type 2 in a Japanese Patient: A Case Report. *Intern Med.* 2023 Feb 15. [Online ahead of print]
- 3) Ikeda K, Yamamoto D, Usui K, Takeuchi H, Oka N, Katoh N, Yazaki M, Kametani F, **Nishino I**, Hisahara S: A Case of Transthyretin Variant Amyloidosis with a TTR A97D (p.A117D) Mutation Manifesting Remarkable Asymmetric Neuropathy. *Intern Med.* 2022 Dec 21. [Online ahead of print]
- 4) Saito Y, Nakamura K, Fukuda T, Sugie H, **Hayashi S**, Noguchi S, **Nishino I**: Muscle biochemical and pathological diagnosis in Pompe disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2022 Apr 25:jnnp-2022-329085. [Online ahead of print]
- 5) Kainaga M, Sasaki T, Kitamura M, Nakayama T, Masuda K, Kakuta Y, **Nishino I**, Imafuku I: Inflammatory Myopathy Associated with Anti-mitochondrial Antibody-negative Primary Biliary Cholangitis Diagnosed by a Liver Biopsy: A Case Report. *Intern Med.* 62(5):797-802. Mar, 2023
- 6) Sasaki R, Yunoki T, Nakano Y, Fukui Y, Takemoto M, Morihara R, Katsuyama E, **Nishino I**, Yamashita T: A young female case of asymptomatic immune-mediated necrotizing myopathy: a potential diagnostic option of antibody testing for rhabdomyolysis. *Neuromuscul Disord.* 33(2):183-186. Feb, 2023
- 7) Matsui N, Takahara M, Yamazaki H, Takamatsu N, Osaki Y, Kaji R, **Nishino I**, Yamashita S, Izumi Y: Case of anti-NT5c1A antibody-seropositive inclusion body myositis associated with severe dysphagia and prominent forearm weakness. *Neurol Clin Neurosci.* 11(1): 46-48. Jan, 2023
- 8) Okubo M, Noguchi S, Awaya T, Hosokawa M, Tsukui N, Ogawa M, **Hayashi S**, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Fukuyama T, Funato M, Hosokawa Y, Kinoshita S, Matsumura T, Nakamura S, Oshiro A, Terashima H, Nagasawa T, Sato T, Shimada Y, Tokita Y, Hagiwara M, Ogata K, **Nishino I**: RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet.* 142(1):59-71. Jan, 2023
- 9) Yoshioka W, **Iida A**, Sonehara K, Yamamoto K, Oya Y, Mori-Yoshimura M, Kurashige T, Okubo M, Ogawa M, Matsuda F, Higasa K, **Hayashi S**,

- Nakamura H, Sekijima M, Okada Y, Noguchi S, **Nishino I**: Multidimensional analyses of the pathomechanism caused by the non-catalytic GNE variant, c.620A>T, in patients with GNE myopathy. *Sci Rep.* 12(1):21806. Dec, 2022
- 10) Ogasawara M, Eura N, **Iida A**, Theerawat K, Minami N, Nonaka I, **Hayashi S**, Noguchi S, **Nishino I**: Intranuclear inclusions in muscle biopsy can differentiate oculopharyngodistal myopathy and oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropathol Commun.* 10(1):176. Dec 2022
- 11) Sakai K, Hayashi K, Saito Y, Kanemoto M, **Nishino I**, Yamada M, Ono K: Late-onset centronuclear myopathy caused by a heterozygous variant of DNM2 (c.1852G>C, p.A618P). *Neurol Clin Neurosci.* 10(6):315-317. Nov, 2022
- 12) Hiramuki Y, Kure Y, Saito Y, Ogawa M, Ishikawa K, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Kim DS, Arai N, Mori C, Matsumura T, Hamano T, Nakamura K, Ikezoe K, **Hayashi S**, Goto Y, Noguchi S, **Nishino I**: Simultaneous measurement of the size and methylation of chromosome 4qA-D4Z4 repeats in facioscapulohumeral muscular dystrophy by long-read sequencing. *J Transl Med.* 20(1):517. Nov, 2022
- 13) Eura N, **Iida A**, Ogasawara M, **Hayashi S**, Noguchi S, **Nishino I**: RILPL1-related OPDM is absent in a Japanese cohort. *Am J Hum Genet.* 109(11):2088-2089. Nov, 2022
- 14) Saito Y, Baba S, Komaki H, **Nishino I**: A 7-year-old female with hypotonia and scoliosis. *Brain Pathol.* 32(6):e13076. Nov, 2022
- 15) Tsuboi Y, Oyama K, Kobirumaki-Shimozawa F, Murayama T, Kurebayashi N, Tachibana T, Manome Y, Kikuchi E, Noguchi S, Inoue T, Inoue YU, **Nishino I**, Mori S, Ishida R, Kagechika H, Suzuki M, Fukuda N, Yamazawa T: Mice with R2509C-RYR1 mutation exhibit dysfunctional Ca²⁺ dynamics in primary skeletal myocytes. *J Gen Physiol.* 154(11):e202213136. Nov, 2022
- 16) **Ohsawa Y**, Ohtsubo H, Saito Y, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Murakami T, **Nishino I**, Sunada Y: Caveolin 3 suppresses phosphorylation-dependent activation of sarcolemmal nNOS. *Biochem Biophys Res Commun.* 628:84-90. Nov, 2022
- 17) Kakinuma Y, Amano R, Ishida A, **Nishino I**, Taki K: Muscle magnetic resonance imaging abnormality in neuroleptic malignant syndrome: a case report. *BMC Neurol.* 22(1):396. Oct, 2022
- 18) Saito Y, Takeshita E, Komaki H, **Nishino I**, Sasaki M: Determining neurodevelopmental manifestations in Duchenne muscular dystrophy using a battery of brief tests. *J Neurol Sci.* 440:120340. Sep, 2022
- 19) Sehara Y, Tsuchiya K, **Nishino I**, Sato H, Ando Y: Resection of Gastric Cancer Remitted Anti-signal Recognition Particle Myopathy. *Intern Med.* 61(16):2509-2515, Aug, 2022
- 20) 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.* 269(8):4129-4140. Aug, 2022
- 21) Nagamori T, Ishibazawa E, Yoshida Y, Izumi K, Sato M, Ichimura Y, Okiyama N, **Nishino I**, Azuma H: A Continuous Increase in CXC-Motif Chemokine Ligand 10 in a Case of Anti-Nuclear Matrix Protein-2-Positive Juvenile Dermatomyositis. *J Med Cases.* 13(6):290-296. Jun, 2022
- 22) Ito M, Shima S, Nagao R, 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.* 61(12):1897-1901. Jun, 2022
- 23) Hama Y, Mori-Yoshimura M, Aizawa K, Oya Y, Nakamura H, Inoue M, **Iida A**, Sato N, Nonaka I, **Nishino I**, Takahashi Y: Myoglobinopathy affecting facial and oropharyngeal muscles. *Neuromuscul Disord.* 32(6):516-520. Jun, 2022
- 24) 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).* 61(6):e143-e145. May, 2022
- 25) 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.* 32(5):436-440. May, 2022
- 26) Kim HJ, Mohassel P, Donkervoort S, Guo L, O'Donovan K, Coughlin M, Lornage X, Foulds N, Hammans SR, Foley AR, Fare CM, Ford AF, Ogasawara M, Sato A, **Iida A**, Munot P, Ambegaonkar G, Phadke R, O'Donovan DG, Buchert R, Grimmel M, Töpf A, Zaharieva IT, Brady L, Hu Y, Lloyd TE, Klein A, Steinlin M, Kuster A, Mercier S, Marcorelles P, Péréon Y, Fleurence E, Manzur A, Ennis S, Upstill-Goddard R, Bello L, Bertolin C, Pegoraro E, Salviati L, French CE, Shatillo A, Raymond FL, Haack TB, Quijano-Roy S, Böhm J, Nelson I, Stojkovic T, Evangelista T, Straub V, Romero NB, Laporte J, Muntoni F, **Nishino I**, Tarnopolsky MA, Shorter J, Bönnemann CG, Taylor JP: Heterozygous frameshift variants in HNRNPA2B1 cause early-onset oculopharyngeal muscular dystrophy. *Nat Commun.* 13(1):2306. Apr, 2022
- 27) 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.* 61(8):1241-1245. Apr, 2022
- 28) Sano T, Kawazoe T, Shioya A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Maruo K, **Nishino I**, Hoshino M, Murayama S, Saito Y: Unique Lewy pathology in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology.* 42(2):104-116. Apr, 2022
- 29) 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.* 48(3):e12787. Apr, 2022
- 30) 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).* 61(6): e143-e145. May, 2022
- 31) 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
- 32) 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

- 33) Inoue M, Noguchi S, Inoue YU, **Iida A**, Ogawa M, Bengoechea R, Pittman SK, **Hayashi S**, Watanabe K, Hosoi Y, Sano T, Takao M, Oya Y, Takahashi Y, Miyajima H, Weihl CC, Inoue T, **Nishino I**: Distinctive chaperonopathy in skeletal muscle associated with the dominant variant in DNAJB4. *Acta Neuropathol.* 145(2):235-255. Feb, 2022
- 34) Fujise K, Okubo M, Abe T, Yamada H, Takei K, **Nishino I**, **Takeda T**, Noguchi S: Imaging-based evaluation of pathogenicity by novel DNMT2 variants associated with centronuclear myopathy. *Hum Mutat.* 43(2):169-179. Feb, 2022
- 35) 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
- 36) 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
- 37) 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
- 38) 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
- 39) 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
- 40) 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
- 41) 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
- 42) 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
- 43) Inoue-Shibui A, Niihori T, Kobayashi M, Suzuki N, Izumi R, Warita H, Hara K, Shiota 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
- 44) 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
- 45) Awano H, Saito Y, Shimizu M, Sekiguchi K, Nijima 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

- 46) 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 Antititin Antibodies. *Intern Med.* 60(16):2671-2675. Aug, 2021
- 47) 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
- 48) 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
- 49) 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
- 50) Yamazawa T, Kobayashi T, Kurebayashi N, Konishi M, Noguchi S, Inoue T, Inoue YU, **Nishino I**, Mori S, Inuma 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
- 51) 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
- 52) 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
- 53) 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
- 54) 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
- 55) 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
- 56) 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
- 57) Taira K, Mori-Yoshimura M, Yamamoto T, Sajima K, Takizawa H, Shinmi J, Oya Y, Nito T, **Nishino I**, Takahashi Y: More prominent fibrosis of the cricopharyngeal muscle in inclusion body myositis. *J Neurol Sci.* 422:117327. Mar, 2021.
- 58) Taira K, Yamamoto T, Mori-Yoshimura M, Sajima K, Takizawa H, Shinmi J, Oya Y, **Nishino**

- I, Takahashi Y: Cricopharyngeal bar on videofluoroscopy: high specificity for inclusion body myositis. *J Neurol.* 268(3):1016-1024. Mar, 2021.
- 59) Ono E, Ishii A, Higashi Y, Koita N, Ayaki T, Tanigaki K, Takayanagi S, Kondo N, Sakai K, Endo S, Yokoi H, Matsubara T, Minamiguchi S, **Nishino I**, Takahashi R, Yanagita M: Monoclonal gammopathy of renal significance (MGRS)-related AL amyloidosis complicated by amyloid myopathy: a case report. *BMC Nephrol.* 22(1):74. Feb, 2021.
- 60) Tanboon J, Inoue M, Hirakawa S, Tachimori H, **Hayashi S**, Noguchi S, Suzuki S, Okiyama N, Fujimoto M, **Nishino I**: Pathological features of anti-Mi-2 dermatomyositis. *Neurology.* 96(3):e448-e459. Jan, 2021.
- 61) Fukazawa R, Cho M, Hidaka Y, Takezawa H, Ogasawara M, **Nishino I**, Fujii A: A case of sporadic late-onset nemaline myopathy without monoclonal gammopathy of unknown significance/human immunodeficiency virus successfully treated with intravenous gamma globulin. *Clinical and Experimental Neuroimmunology.* Online. Dec, 2020.
- 62) Matsukawa T, Eguchi K, **Nishino I**, Okada K, Oshimi K, Miyagishima T: Light-chain amyloid myopathy isolated to skeletal muscles: A case report. *Clin Case Rep.* 8(12):2869-2873. eCollection. Dec, 2020.
- 63) Ohara M, Saito Y, Watanabe M, Mizutani S, Kobayashi M, **Iida A**, **Nishino I**, Fujigasaki H: An adult nemaline myopathy patient with respiratory and heart failure harboring a novel *NEB* variant. *eNeurologicalSci.* 2020 Aug 26;21:100268. eCollection. Dec, 2020.
- 64) Ikeda T, Takeuchi H, Takahashi K, Nakamura H, Kunii M, Katsumoto A, Tada M, Higashiyama Y, Hibiya T, Suzuki S, **Nishino I**, Koyano S, Doi H, Tanaka F: Tonsillectomy Improved Therapeutic Response in Anti-SRP Myopathy With Chronic Tonsillitis. *Front Immunol.* 11:595480. eCollection 2020. Nov, 2020.
- 65) Ogasawara M, **Iida A**, Kumutpongpanich T, Ozaki A, Oya Y, Konishi H, Nakamura A, Abe R, Takai H, Hanajima R, Doi H, Tanaka F, Nakamura H, Nonaka I, Wang Z, **Hayashi S**, Noguchi S, **Nishino I**: CGG expansion in NOTCH2NLC is associated with oculopharyngodistal myopathy with neurological manifestations. *Acta Neuropathol Commun.* 8(1):204. Nov, 2020.
- 66) Fuseya Y, Sakurai T, Miyahara JI, Sato K, Kaji S, Saito Y, Takahashi M, **Nishino I**, Fukuda T, Sugie H, Yamashita H: A Case of Adult-onset Repeat Rhabdomyolysis with a Very Long-chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency Due to Compound Heterozygous ACADVL Mutations. *Intern Med.* 59(21):2729-2732. Nov, 2020.
- 67) Sugihara H, Teramoto N, Nakamura K, Shiga T, Shirakawa T, Matsuo M, Ogasawara M, **Nishino I**, Matsuwaki T, Nishihara M, Yamanouchi K: Cellular senescence-mediated exacerbation of Duchenne muscular dystrophy. *Sci Rep.* 10(1):16385. Oct, 2020.
- 68) Matsukawa T, Eguchi K, **Nishino I**, Okada K, Oshimi K, Miyagishima T: Light-chain amyloid myopathy isolated to skeletal muscles: A case report. *Clin Case Rep.* 2020;00:1–5. Online. Sep, 2020.
- 69) Mori-Yoshimura M, Oya Y, Komaki H, Segawa K, Minami N, Saito Y, **Nishino I**, Takahashi Y: Respiratory Dysfunction in Becker Muscular Dystrophy Patients: A Case Series and Autopsy Report. *J Neuromuscul Dis.* 2020;7(4):425-431. Sep, 2020.
- 70) Saito Y, Nishikawa A, **Iida A**, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Ishiyama A, Komaki H, Nakamura S, Fujikawa S, Kanda T, Yamadera M, Sakiyama H, **Hayashi S**, Nonaka I, Noguchi S, **Nishino I**: ADSSL1 Myopathy Is the Most Common Nemaline Myopathy in Japan With Variable

- Clinical Features. *Neurology*. 95(11):e1500-e1511. Sep, 2020.
- 71) Yoshioka W, Miyasaka N, Okubo R, Shimizu R, Takahashi Y, Oda Y, **Nishino I**, Nakamura H, Mori-Yoshimura M: Pregnancy in GNE myopathy patients: a nationwide repository survey in Japan. *Orphanet J Rare Dis*. 15(1):245. Sep, 2020.
- 72) Indrawati LA, **Iida A**, Tanaka Y, Honma Y, Mizoguchi K, Yamaguchi T, Ikawa M, **Hayashi S**, Noguchi S, **Nishino I**: Two Japanese LGMDR25 patients with a biallelic recurrent nonsense variant of BVES. *Neuromuscul Disord*. 30(8):674-679. Aug, 2020.
- 73) Oyama M, Ohnuki Y, Inoue M, Uruha A, Yamashita S, Yutani S, Tanboon J, Nakahara J, Suzuki S, Shiina T, **Nishino I**, Suzuki S: HLA-DRB1 allele and autoantibody profiles in Japanese patients with inclusion body myositis. *PLoS One*. 15(8):e0237890. eCollection 2020. Aug, 2020.
- 74) Samukawa M, Nakamura N, Hirano M, Morikawa M, Sakata H, **Nishino I**, Izumi R, Suzuki N, Kuroda H, Shiga K, Saigoh K, Aoki M, Kusunoki S: Neutral Lipid Storage Disease Associated With the PNPLA2 Gene: Case Report and Literature Review. *Eur Neurol*. 83(3):317-322. Aug, 2020.
- 75) Sasaki R, Ohta Y, Tadokoro K, Matsumoto N, Nomura E, Omote Y, Takemoto M, Hishikawa N, Yamashita T, Kumutponpanich T, **Nishino I**, Abe K: TTN missense variants in two siblings with asymmetric facial and limb weakness. *J Neurol Sci*. 415:116885. Aug, 2020.
- 76) Cotta A, Carvalho E, da-Cunha-Junior AL, Navarro MM, Menezes MM, Paim JF, Valicek J, Lima MI, Velloso-Filho R, Freire-Lyra MH, Takata RI, Inoue M, Okubo M, **Iida A**, **Nishino I**: Clinical, imaging, morphologic, and molecular features of X-linked *VMA21*-related myopathy in two unrelated Brazilian families. *J Neurol Sci*. 415:116977. Aug, 2020.
- 77) Moulay G, Lainé J, Lemaître M, Nakamori M, **Nishino I**, Caillol G, Mamchaoui K, Julien L, Dingli F, Loew D, Bitoun M, Leterrier C, Furling D, Vassilopoulos S: Alternative Splicing of Clathrin Heavy Chain Contributes to the Switch From Coated Pits to Plaques. *J Cell Biol*. 219(9):e201912061. Jul, 2020.
- 78) Inoue M, Tanboon J, Hirakawa S, Komaki H, Fukushima T, Awano H, Tajima T, Yamazaki K, Hayashi R, Mori T, Shibuya K, Yamanoi T, Yoshimura H, Ogawa T, Katayama A, Sugai F, Nakayama Y, Yamaguchi S, **Hayashi S**, Noguchi S, Tachimori H, Okiyama N, Fujimoto M, **Nishino I**: Association of Dermatomyositis Sine Dermatitis With Anti-Nuclear Matrix Protein 2 Autoantibodies. *JAMA Neurol*. 77(7):872-877. Jul, 2020.
- 79) Yokota Y, Hara M, Akimoto T, Mizoguchi T, Goto YI, **Nishino I**, Kamei S, Nakajima H: Late-onset MELAS syndrome with mtDNA 14453G→A mutation masquerading as an acute encephalitis: a case report. *BMC Neurol*. 20(1):247. Jun, 2020.
- 80) Deng J, Yu J, Li P, Luan X, Cao L, Zhao J, Yu M, Zhang W, Lv H, Xie Z, Meng L, Zheng Y, Zhao Y, Gang Q, Wang Q, Liu J, Zhu M, Guo X, Su Y, Liang Y, Liang F, Hayashi T, Maeda MH, Sato T, Ura S, Oya Y, Ogasawara M, **Iida A**, **Nishino I**, Zhou C, Yan C, Yuan Y, Hong D, Wang Z: Expansion of GGC Repeat in GIPC1 Is Associated with Oculopharyngodistal Myopathy. *Am J Hum Genet*. 106(6):793-804. Jun, 2020.
- 81) Hamanaka K, Šikrová D, Mitsushashi S, Masuda H, Sekiguchi Y, Sugiyama A, Shibuya K, Lemmers RJLF, Goossens R, Ogawa M, Nagao K, Obuse C, Noguchi S, Hayashi YK, Kuwabara S, Balog J, **Nishino I**, van der Maarel SM: Homozygous nonsense variant in *LRIF1* associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology*. 9;94(23):e2441-e2447. Jun, 2020.

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他、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も機能している。筋鞘膜には、そのアイソフォームであるカベオリン-3 が発現するが、興味深いことに、ジストロフィン欠損デュ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 が著明に増加し、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シグナル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- β 分子であるマイオスタチンの I 型膜受容体を抑制し筋萎縮を抑制する、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・解析によってカベオリン-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 を取得・ペプチドによる disease modifying therapy の基盤を確立する。③ LGMD1C 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・解析した。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：全身投与によって、ジストロフィー変化が改善するか否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の解析：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。④長寿蛋白質 α -Klotho と TGF- β シグナルの相関について解析した。

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 トランスジーンが発現量を検討した。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は軽減した(未発表)。②マイオスタチン阻害ペプチド医薬の DMD モデルマウスへの投与解析：本研究開始時のプロトタイプであるマイオスタチンプロドメイン阻害活性中心(IC)ペプチド (Ohsawa, PLoS One 10, e0133713, 2015, 特許出願 PCT/JP2014/052345) と比較して、1,000 倍の阻害活性を示し、かつより高い血中安定性 (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 mg/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 DMD に対する非臨床 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進めている (未発表)。

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、骨格筋解析を開始した (未発表)。

④ α -Klotho/TGF- β シグナル相関解析: 血中に存在する分泌型 α -Klotho は、年齢依存性に減少する。この分泌型 α -Klotho が、マイオスタチンや関連する筋萎縮性 TGF- β シグナルを阻害することを証明した。さらに、マイオスタチンの I 型膜受容体阻害化合物の経口投与により、 α -Klotho 欠損マウスと超高齢野生型マウスの骨格筋 TGF- β シグナルを抑制しサルコペニアを改善することを明らかとした。また遅筋から速筋への筋線維スイッチを惹起し、筋力が改善、 α -Klotho 欠損マウスの寿命を延長することを示した。

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未だに開発されていない (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。本研究でカベオリン-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想定され、その裏付けとなる分子機構を探っている。

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 年度は皮下投与方法 (用量・間隔) の条件を設定できた。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し、2023 年度の PMDA RS 対面助言に申し込んだ。

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、骨格筋解析を開始した。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。

本研究によって、長寿蛋白質 α -Klotho が筋萎縮性 TGF- β シグナルを抑制すること、その減少による TGF- β 依存性のサルコペニアの分子機構が明らかとなった。最近、筋ジストロフィーにおいても、老化分子機構が、その病態進展に関与していることが報告され、興味深い。

本研究では、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および nNOS を介した、筋ジストロフィー病態解明を目標とする。病態の解明から、その介入治療を実用化したい。

結論

本研究は、マイルストーン: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 年度には、モデルマウス解析を進め、将来のペプチド上市に向けた非臨床パッケージ策定を達成し、PMDA RS 対

面助言を申し込んだ。

参考文献

1. **Ohsawa Y**, Ohtsubo H, Munekane A, Ohkubo K, Murakami T, Fujino M, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Nishimura H, Kaneko R, Suzuki T, Tatsumi R, Mizunoya W, Hinohara A, Fukunaga M, Sunada Y. Circulating α -Klotho Counteracts Transforming Growth Factor- β -Induced Sarcopenia. *Am J Pathol.* 193(5):591-607, May, 2023
2. **Ohsawa Y**, Ohtsubo H, Saito Y, Nishimatsu SI, Hagiwara H, Murakami T, Nishino I, Sunada Y. Caveolin 3 suppresses phosphorylation-dependent activation of sarcolemmal nNOS. *Biochem Biophys Res Commun.* 628:84-90, Nov, 2022
3. 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.* 61(8):1241-1245, Apr, 2022
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
5. **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

6. 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

Dysferlinopathy および類似疾患の次世代シーケ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 神経内科学

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)、高橋俊明 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)、川原玄理 8)、林 由起子 8)

所属

- 1) 東北大学 神経内科学
- 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および直接塩基配列決定法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 複合体に着目し、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、2020年に発表している(Ono H, et al., Mol Ther 2020)。同様の手法を用いて、別の dysferlin 結合蛋白質についての解析を進めており、新たな結合蛋白質としてあるキナーゼを同定している。レーザー膜損傷実験で dysferlin との共局在を見出しており、今後生化学的実験等で膜修復のメカニズムの解明を進める。また

dysferlin 結合蛋白の解析についても特に日本人に多い p.W999C 変異に着目し、AMPK 以外の分子の解析、さらには dysferlin の蛋白質安定化機構に関する解析も進めてきている。

臨床遺伝学的解析については、2020 年の臨床遺伝学的解析をまとめた論文を発表 (Izumi R, et al., Hum Mutat 2020) して以後、2022 年度も順調に症例の収集を継続しており、2022 年 11 月時点で 229 家系に 92 種以上の変異を見出している。

考察

AMPK 複合体をはじめとした新規結合蛋白について、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。今後も筋細胞膜修復機構に関わる dysferlin 結合蛋白複合体の全容を明らかにするとともに、dysferlin 蛋白自体の安定化・分子制御機構も明らかにすることで膜修復機能に基づく治療開発を検討していく。

参考文献

1. Suzuki N, Mori-Yoshimura M, Katsuno M, Takahashi MP, Yamashita S, Oya Y, Hashizume A, Yamada S, Nakamori M, Izumi R, Kato M, Warita H, Tateyama M, Kuroda H, Asada R, Yamaguchi T,

Nishino I, **Aoki M**: Phase II/III Study of Aceneuramic Acid Administration for GNE Myopathy in Japan. J Neuromuscular Dis. 2023 (in press)

2. Takahashi T, Li Y, Chen W, Nyasha MR, Ogawa K, Suzuki K, Koide M, Hagiwara Y, Itoi E, Aizawa T, Tsuchiya M, Suzuki N, **Aoki M**, Kanzaki M. RSPO3 is a novel contraction-inducible factor identified in an "in vitro exercise model" using primary human myotubes. Sci Rep. 12(1):14291, 2022.
3. Ishigakii K, Ikeda R, Suzuki J, Hirano-Kawamoto A, Ohta J, Kato K, Izumi R, Suzuki N, **Aoki M**, Kawase T, Katori Y: Patulous Eustachian Tube Patients with Oculopharyngeal Muscular Dystrophy. Otol Neurotol. 43(4):e442-e445, 2022.
4. Izumi R, Takahashi T, Suzuki N, Niihori T, Ono H, Nakamura N, Katada S, Kato M, Warita H, Tateyama M, Aoki Y, **Aoki M**: The genetic profile of dysferlinopathy in a cohort of 209 cases: Genotype-phenotype relationship and a hotspot on the inner DysF domain. Hum Mutat. 41(9):1540-1554, 2020.
5. Ono H, Suzuki N, Kanno SI, Kawahara G, Izumi R, Takahashi T, Kitajima Y, Osana S, Nakamura N, Akiyama T, Ikeda K, Shijo T, Mitsuzawa S, Nagatomi R, Araki N, Yasui A, Warita H, Hayashi YK, Miyake K, **Aoki M**: AMPK Complex Activation Promotes Sarcolemmal Repair in Dysferlinopathy. Mol Ther. 28(4):1133-1153, 2020.

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

(福山型先天性筋ジストロフィーに対するアンチセンス核酸治療薬 NS-035 の医師主導治験)

分担研究者

戸田 達史 1)

研究協力者

藤野悟央 1)、北村明日香 1)、高橋朗子 1)、前田明子 1)、久保田暁 1)、徳山友希乃 2)、和田育江 2)、小林千浩 3)、小牧宏文 4)、池田真理子 5)、石垣景子 6)

所属

- 1) 東京大学大学院 医学系研究科 神経内科学
- 2) 東京大学医学部附属病院 臨床研究推進センター
- 3) 神戸大学大学院 医学研究科 分子脳科学
- 4) 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
- 5) 藤田医科大学病院 臨床遺伝科
- 6) 東京女子医科大学医学部 小児科

緒言

福山型筋ジストロフィー (Fukuyama-type congenital muscular dystrophy: FCMD) は、骨格筋、脳、眼が主に障害され、筋力低下や関節拘縮が進行し 20 歳代で死亡する、常染色体潜性 (劣性) 遺伝性の先天性筋疾患である。1960 年に本邦で初めて報告され⁽¹⁾、その後、我々は疾患責任遺伝子としてフクチン遺伝子を同定し⁽²⁾、フクチンが α -dystroglycan (α -DG) の糖鎖修飾酵素として機能することを明らかにした⁽³⁾。また、フクチン遺伝子の 3' 非翻訳領域に SVA 型レトロトランスポゾンの挿入変異が生じることにより、異常なスプライシング (エクソン・トラッピング) をきたし、不完全なフクチンが産生されることが、本疾患の病態であることを明らかにした⁽⁴⁾。FCMD は、小児期筋ジストロフィーでは Duchenne 型に次いで二番目に患者数が多く、予後不良な疾患であるにもかかわらず、治療法が無い点が問題であり、有効な治療法の確立が喫緊の課題となっている。

我々は、患者のフクチン遺伝子から転写される pre-mRNA に作用することで、FCMD でみられる異常スプライシングを是正して正常なフクチン蛋白質を発現させる、3 種類のアンチセンス核酸の混合カクテルを発見し、FCMD モデルマウスや患者由来細胞で有効であることを報告した⁽⁴⁾。さらに、日本新薬株式会社との共同研究により、有効性を示す 1

種類のアンチセンス核酸 NS-035 を発見した。FCMD に対する新規治療薬として NS-035 の薬事承認を目指し、GLP 基準に基づいた非臨床試験を進め、FCMD 患者を対象とした NS-035 の医師主導治験 (第 I 相試験) を実施する計画に至った。

方法

日本新薬株式会社との共同研究による非臨床試験において、NS-035 の有効性を検討するため、FCMD モデルマウス及び患者由来細胞に NS-035 を投与し、RT-PCR 法にてエクソン・トラッピング阻害による異常スプライシングの正常化、ウエスタンブロッティング法にて正常型フクチン蛋白質の発現、 α -DG の糖鎖回復、ラミニンの α -DG への結合増加の有無を確認した。また、治験 (第 I 相試験) の開始に必要な、他の非臨床試験 (薬理試験、毒性試験、薬物動態試験など) を実施した。

治験の開始に向けて、治験実施体制の構築や、治験実施計画書・手順書などの各種書類の作成を行った。また、非臨床試験の適切性や治験実施計画書の妥当性について、医薬品医療機器総合機構 (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency: PMDA) の事前面談・対面助言で協議し、治験の準備を進めた。研究倫理審査委員会 (Institutional Review Board: IRB) での審査、PMDA への治験実施届の提出、臨床研究等提出・公開システム (Japan Registry of Clinical Trials: jRCT) への登録を経て、治験を開始した。

本治験は第 I 相試験であり、主要評価項目は安全性に関連した評価項目 (有害事象及び副作用、理学的検査、バイタルサイン、臨床検査、心電図、超音波検査など) とし、副次評価項目は有効性及び薬物動態に関連した項目 (α -DG の糖鎖修飾率、糖鎖修飾 α -DG の発現、エクソン・トラッピング阻害効率、改定版 GMFM、血漿中 NS-035 濃度、尿中 NS-035 濃度など) とした。治験のデザインは、多施設共同 (東京大学医学部附属病院と東京女子医科大学病院)、非盲検、非対照、用量漸増試験 (NS-035 をコホート 1 からコホート 4 まで漸増し、各々 1.6 mg/kg、6.0 mg/kg、20 mg/kg 及び 40 mg/kg を投与、NS-035 と同時に投与する D-マンニトールはいずれのコホートにおいても 500 mg/kg に固定) とした。対象は、5 歳以上 10 歳以下の、補助なしで座位保持可能な患者 (上田分類 2 以上) の FCMD 患者とした。

結果

NS-035 の有効性を検討する非臨床試験 (薬理試験) では、FCMD モデルマウス及び患者由来細胞へ

の NS-035 の投与により、異常スプライシングの正常化、正常型フクチン蛋白質の発現回復、 α -DG の糖鎖修飾とラミニン結合能の回復がみられ、NS-035 の有効性が確認された。他の非臨床試験の結果も含め、非臨床試験の適切性や治験実施計画書案の妥当性を PMDA に確認し、2021 年 7 月に IRB での承認を得た。同年 8 月より、FCMD 患者を対象としたアンチセンス核酸 NS-035 の多施設共同第 I 相臨床試験を医師主導治験として開始した。現在、治験は順調に進んでおり、治験の完遂後に解析結果の公表が可能となる予定である。

考察

これまでの先行研究において、我々は FCMD の病態を分子レベルで解明し、病態機序に基づき、アンチセンス核酸（3 種類のアンチセンス核酸の混合カクテル）が FCMD モデルマウスや患者由来細胞において有効性を示すことを報告してきた。本研究では、日本新薬株式会社との共同研究により、強力な効果を持つ高活性配列の 1 本のアンチセンス核酸 NS-035 を発見し、FCMD モデルマウス及び患者由来細胞で有効性を示すことを確認した。医薬品開発を進める上で、3 種類のアンチセンス核酸の混合カクテルでは複数の非臨床試験や多額の開発費を要することが問題であったが、NS-035 の発見により、FCMD 治療薬として NS-035 の開発を進めることに成功した。そして、薬事承認を目指し、非臨床試験（GLP 試験）を実施し、FCMD 患者を対象とした NS-035 の多施設共同第 I 相臨床試験を医師主導治験として開始した。本治験は、非臨床試験を実施したアンチセンス核酸（NS-035）をヒトで初めて投与する First-in-human（FIH）試験であり、治験参加者の安全に細心の注意を払いながら進める必要がある。現在、治験は順調に進んでおり、2023 年度（令和 5 年度）内に完遂する予定である。

本研究が完遂した後は、第 2 相以降の治験を継続し、NS-035 の薬事承認を目指す。将来的に FCMD 治療薬として NS-035 の承認が得られれば、現時点で治療法が無い FCMD に対し、有効な治療薬を提供することが可能となり、患者、家族、社会に大きく貢献できるものと期待される。

結論

FCMD 患者のフクチン遺伝子から転写される pre-mRNA に作用することで異常スプライシングを是正し、正常なフクチン蛋白質を発現することが可能な 1 本のアンチセンス核酸 NS-035 を発見した。薬事承認を目指し、非臨床試験（GLP 試験）を実施

し、FCMD 患者を対象とした NS-035 の多施設共同第 I 相臨床試験を医師主導治験として開始した。現在、治験は順調に進んでいる。

参考文献

- (1) Fukuyama *et al. Brain Dev.* **3**, 1–29 (1981)
- (2) Kobayashi *et al. Nature.* **394**, 388–392 (1998)
- (3) Kanagawa *et al. Cell Report.* **14**, 2209–2223 (2016)
- (4) Taniguchi-Ikeda *et al. Nature.* **478**, 127–131 (2011)

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 中田智彦^{1,2)}、水野誠司³⁾、井本逸勢⁴⁾、Xin-Ming Shen⁵⁾、Andrew G. Engel⁵⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科神経遺伝情報学；²⁾名古屋大学大学院医学系研究科・小児科学；³⁾愛知県医療療育総合センター中央病院；⁴⁾愛知県がんセンター研究所；⁵⁾Department of Neurology, Mayo Clinic

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*-CMS⁶⁾と*SNAP25B*-CMS⁷⁾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。

次世代シーケンサの活用によりCMSの原因遺伝子の同定が飛躍的に進展し、35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。

胎児型AChRのみに含まれる γ サブユニット遺伝子(*CHRNG*)の機能喪失遺伝子バリエントは先天性多発性関節拘縮症(arthrogryposis multiplex congenita)と翼状片(ptyerygium)を特徴とし、非進行性で良性の経過の経過を辿るEscobar症候群(Escobar variant of multiple pterygium syndrome, EVMPS)と致死的多発性翼

状片症候群(lethal form of multiple pterygium syndrome, LMPS)を惹き起こす⁸⁻¹⁰⁾。AChR γ サブユニットは出生後にAChR ϵ サブユニットに置換されるため出生後は筋力低下・筋無力症状を認めず、Escobar症候群も致死的多発性翼状片症候群もCMSとは臨床病型が異なるがCMSの亜型に分類される⁹⁾。いずれも胎生期の無動が多発性関節拘縮症と翼状片の原因と考えられる。

手指関節拘縮のみで翼状片を認めない不全型Escobar症候群が存在し^{10, 11)}、軽度の手指関節拘縮の小児の中に未診断の本症が存在すると思われる。先天性多発性関節拘縮症は220以上の原因遺伝子が知られているが*CHRNG*の病的バリエントが最も多く17家系中6家系に認められる¹¹⁾。スペインの遺伝子解析で病的バリエントが同定できた64名のCMS患者のうち5名が*CHRNG*バリエントによるEscobar症候群であったと報告されている¹²⁾。Escobar症候群は72家系101名の報告がされているが病的 γ サブユニットバリエントの機能解析はされていない。本研究において3例の本邦Escobar症候群患者で同定された γ P121Tバリエントの機能解析を行った。

方法

HEK293細胞に胎児型正常(wt.)-AChRと3名のEscobar症候群でheterozygousに同定された病的バリエントを有する γ P121T-AChRを発現させ、細胞表面のAChR発現量定量、単一イオンチャンネル記録、AChRチャンネル動態解析を行った。

結果

3名のEscobar症候群はいずれも中等度の手指関節拘縮を認めたが翼状片を認めなかった。患者は*CHRNG*遺伝子に2つの病的バリエントをヘテロで有しており、 γ P121Tが共通で認められた。もう一方のバリエントはtruncation variantsでありナルバリエントであった。

HEK293細胞表面発現を調べたところ γ P121T-AChRはwt-AChRの80%の発現が認められた。

単一イオンチャンネル記録ではバースト持続時間が γ P121T-AChRはwt-AChRの28%まで短縮していた。AChRイオンチャンネル動態解析では γ P121T-AChRはwt-AChRに比べてア

セチルコリンの解離定数は 2.0 倍増大していただけであるがイオンチャンネルゲート定数は 44 倍減弱していた。つまり、アセチルコリンは γ P121T-AChR に結合できるもののイオンチャンネルの開口が障害されることが明らかになった。AChR チャンネル開口のアセチルコリン濃度依存性のシミュレーションにより γ P121T は AChR 開口確率を顕著に減少させることが明らかになり、単一イオンチャンネル記録の結果と AChR イオンチャンネル動態解析から予測される結果がほぼ一致していた。

考察

AChR チャンネル開口確率は AChR イオンチャンネル動態解析と単一イオンチャンネル記録が一致しており AChR イオンチャンネル動態解析が正しく行われたと想定した。

γ P121T はアセチルコリンが AChR に結合する部位に存在する。他の AChR サブユニットの病的ミスセンスバリエーションによる fast channel syndrome においても、アセチルコリン結合部位のミスセンスバリエーションがアセチルコリン解離定数ではなくイオンチャンネルゲート定数に大きな影響を与えており、 γ P121T はアセチルコリンの結合をチャンネルゲートに伝える機構の構造変化を起こすことが想定される。アセチルコリン解離定数に影響を与えるミスセンスバリエーションとは胎生致死となり患者として認識されない可能性が示唆される。

結論

Escobar 症候群において同定したミスセンスバリエーションの病態生理学機構を初めて明らかにした¹³。fast channel syndrome は 3,4-diaminopyridine, cholinesterase inhibitor, albuterol が有効であり、治療胎児型重症筋無力症と同様に出生前治療が可能となることが期待される。

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. Ohno K, Ohkawara B, Shen XM, et al.: Clinical and Pathologic Features of Congenital Myasthenic Syndromes Caused by 35 Genes-A Comprehensive Review. Int J Mol Sci. 24:3730, 2023
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. Morgan NV, Bructon LA, Cox P, et al.: Mutations in the embryonal subunit of the acetylcholine receptor (CHRNA) cause lethal and Escobar variants of multiple pterygium syndrome. Am J Hum Genet. 79:390-395, 2006
9. Hoffmann K, Muller JS, Stricker S, et al.: Escobar syndrome is a prenatal myasthenia caused by disruption of the acetylcholine receptor fetal gamma subunit. Am J Hum Genet. 79:303-312, 2006
10. Seo J, Choi IH, Lee JS, et al.: Rare cases of congenital arthrogryposis multiplex caused by novel recurrent CHRNA mutations. J Hum Genet. 60:213-215, 2015
11. Bayram Y, Karaca E, Coban Akdemir Z, et al.: Molecular etiology of arthrogryposis in multiple families of mostly Turkish origin. J Clin Invest. 126:762-778, 2016
12. Natera-de Benito D, Topf A, Vilchez JJ, et al.: Molecular characterization of congenital myasthenic syndromes in Spain. Neuromuscul Disord. 27:1087-1098, 2017
13. Shen XM, Nakata T, Mizuno S, et al.: Impaired gating of gamma- and epsilon-AChR respectively causes Escobar syndrome and fast-channel myasthenia. Ann Clin Transl Neurol. 2023

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3種の EDMD モデルマウスにおける心筋障害の比較を行ったので報告する。

方法

エメリン欠損マウス(Emd)、*Lmna* 変異導入マウス(H222P)、およびそれらの重複変異マウス(EH)の心機能の経時的变化を心臓超音波検査、および病理学的、分子生物学的解析により比較した。

結果

いずれのモデルマウスも 12 週齢では心障害は認められなかったが、18 週、30 週では H222P、EH マウスともに心エコー上での機能低下、心筋の線維化が経時的に増悪し、線維化や心筋障害に関連する遺伝子やシグナル伝達関連分子の発現に異常が認められた。興味深いことに、いずれの心筋障害の指標においても、H222P と EH で差異は認められなかった。Emd は 30 週齢まで野生型と差がなかった。

考察

EH マウスは H222P マウスと比較し顕著な骨格筋障害を早期から示すのに対し、心筋障害

の程度には両者に差が認められなかったことから、同じ横紋筋であっても、心筋ではエメリンの欠損が H222P マウスの心筋障害を重篤化しないことが明らかとなった。

結論

同じ横紋筋であっても、骨格筋と心筋では、エメリン欠損の影響が異なることが明らかとなった。今後、エメリンの組織間機能の差異を検討していく必要がある。

参考文献

なし

メカノトランスダクション機構解明による筋疾患治療方法開発

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

健全筋は、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。3年の研究期間を通じて、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し、運動と筋について検証を進めた。

特に今年度は、筋量だけではなく筋質維持機構についても検討することを目的に、PGC-1 α isoform を介した筋恒常性維持機構について検証した。

方法

14-16 週の野生型マウスに尾部懸垂ないしトレッドミル運動を施行し、運動免荷/負荷後の骨格筋（大腿四頭筋）内 PGC1- α 遺伝子発現量について解析した。

筋採取は、尾部懸垂施行2週間後、トレッドミル運動単回施行直後、単回施行3時間後、2週間施行1.5日後に行った。

PGC-1 α 遺伝子発現量に関しては、近位プロモーター由来の PGC1- α -a と NT-PGC1- α -a を認識するプライマーセット①、代替プロモーターエクソン 1b 由来の PGC-1 α -b、PGC-1 α 2、NT-PGC- α -b を認識するプライマーセット②、代替プロモーターエクソン 1b' 由来の PGC-1 α -c、PGC-1 α 3、NT-PGC-1 α -c を認識するプライマーセット③、特に機能が異なるといわれている N 末端が残された NT-PGC-1 α -a, b, c を認識するプライマーセット④を用いて、qPCR を行った。

また、我々の研究室では、基底膜-ジストロフィン-糖タンパク質複合体に関わるパールカン分子がメカノトランスダクション調整を行っている可能性を報告してきていることから、パールカンコンディショナルノックアウトマウス（軟骨のみパールカンを発現したマウス）においても同様の解析を行った。

結果

運動免荷群に関しては、尾部懸垂2週間後のみの評価となったこともあり、野生型、パールカンコンディショナルノックアウトマウスともに、いずれの PGC-1 α isoform も発現量変化はなかった。一方、運動負荷群に関しては、近位プロモーター由来の PGC1- α isoform の発現量変化は得られなかったが、代替プロモーター由来の PGC1- α isoform に関しては単回運動後の発現量上昇を認め、特にパールカン欠損骨格筋で更なる発現量上昇を得た。また、NT-PGC-1 α (NT-PGC-1 α -a, b, c) に関しては、野生型マウスでは明らかな発現量変化はみられなかったが、パールカン欠損骨格筋では単回運動3時間後に発現量上昇がみられた。

考察

運動強度条件の適正化は今後検討する必要があるが、本運動刺激による PGC-1 α 発現量の変化は代替プロモーター由来の isoform が主であった。パールカン欠損骨格筋では近位

プロモーター由来の isoform を除いたほぼすべての *PGC-1 α* isoform の発現量亢進が確認され、パールカン欠損による運動増強を反映しているものと推察された。特に、パールカン欠損筋で NT-*PGC-1 α* の発現量上昇が優位であったことから、パールカンが IGF-1、myostatin シグナルに関与するとされる NT-*PGC-1 α -b* を含む NT-*PGC-1 α* -IGF1-MSTN 経路に関与している可能性が示唆された。

結論

細胞外マトリックス分子を介した骨格筋維持機構について検討した。これら *in vivo* 運動モデルから探索される筋量および筋質の維持に関わるターゲット分子と、これまでの研究班で報告した脱細胞シートを用いた疾患筋によるメカニカルストレスセットポイント評価ツールを合わせることで、筋疾患におけるメカノトランスダクション機構の解明を目指す。

参考文献

- 1 Nakada S, Yamashita Y, Akiba S, Shima T, **Arikawa-Hirasawa E**: Myocyte Culture with Decellularized Skeletal Muscle Sheet with Observable Interaction with the Extracellular Matrix. *Bioengineering (Basel)*. 2022 Jul 12;9(7):309.
- 2 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
- 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 muscle homeostasis in mouse soleus muscle. *Matrix Biol*. 2015 Aug 28.
- 5 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.
- 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 **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

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 医科学研究センター
難病治療学

研究協力者 常陸圭介 1), 中谷直史 2), 上田洋司 1), 永岡唯宏 1), 西野一三 3)

所属

1) 藤田医科大学医科学研究センター難病治療学

2) 星城大学リハビリテーション学部

3) 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、MyoD などの HLH 型の筋特異的転写制御因子やサイトカイン・マイオカインの秩序だった発現調節により形成される。旺盛な再生能力を有している。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、非活発な生活、老化、慢性炎症や悪液質で萎縮し、運動負荷で肥大する。運動や薬剤負荷により生じた筋肥大の記憶・痕跡を筋衛星細胞が記憶する機構の存在も注目されている。超高齢社会を迎えた本邦では、サルコペニア・フレイルの増加とその対策が大きな社会問題となっている。本研究班での研究では、骨格筋分化と筋萎縮機構に着目した解析を遂行した。ミオシン重鎖は骨格筋の収縮に必要なタンパク質複合体であり筋形成にも重要な役割を示す 1)。アクチンとの相互作用しスライディングにより円滑な筋収縮と弛緩に参与している。速筋型、遅筋型などサブタイプが知られている。速筋型としては、type IIx, IIa, IIb を構成する *Myh1,2,4* にコードされた

3 種類の速筋型ミオシン重鎖(MyHC)が存在する。*Myh1,4* にフレームシフト変異を導入することで、MyHC-IIx と IIb を同時に欠損したダブルノックアウトマウスを作製し、詳細な解析を行った。ミオスタチン阻害で上昇するタンパク質メチル化酵素を見出し、速筋型ミオシンを標的とすることを見出した。二分脊椎は、神経管が閉鎖不全をおこす疾患で脊髄神経とともに骨格筋機能にも影響を与える。平面内細胞極性の要となる Vangl2 は N-カドヘリンは相互作用を示す。両分子の二重ヘテロ体が高頻度で尾部解放型の二分脊椎を呈することがわかり詳細に解析を行なった。

方法

CRISPR/Cas9 法を用いて、一種類のガイド RNA でミオシンの *Myh 1,4* 遺伝子に同時にフレームシフト変異を導入した二重変異モデル(dKO)を作成した。骨格筋の変化、筋の繊維化を組織学的に解析した。筋力、血清マーカーの変動を精査した。ミオシン重鎖のサブタイプの発現を免疫染色で調べた。骨格変化をマイクロ CT を用いて解析した。筋衛星細胞や FAP 細胞の数的な変化を調べた。質量分析装置を用いて網羅的なタンパク質の変動を調査した。

新たな神経管閉鎖不全による二分脊椎モデルに関しては、平面内細胞極性に中心的役割を果たしている Vangl2 に着目し、N-カドヘリンとの相互作用を解析した。両分子の二重ヘテロ変異体を解析し発症する二分脊椎を形態変化、局在変化により調べた。初代培養神経細胞を用いて代培養神経細胞を用いて関与するシグナル系の解析を行った。

結果

Myh1,4 遺伝子の二重変異体は、生後 3 週になるとサルコペニア構造の崩壊を伴う重度の筋萎縮

を示し、生後4週目までに死亡した。脊椎の彎曲は示さなかった。体重、前脛骨筋、腓腹筋、ヒラメ筋は萎縮し、筋力も低下が見られた。マッソントリクローム染色陽性の筋肉内繊維化が見られた。申請者らが2010年にNature Cell Biol 2)で報告した繊維化の源となる間葉系前駆細胞(FAP)細胞は数的な増加が見られた。筋萎縮系のシグナルであるミオスタチン・アクチビンの下流分子であるSmadのリン酸化は増加していた。MuRF-1, Atrogin-1のユビキチンシグナルも増加していた。代償性と思われるが、mTOR/Akt系シグナルに上昇が見られた。MyhIIa陽性繊維は増加していたが、筋萎縮を回復させるほどの上昇ではなかった。胎児型ミオシン繊維が観察された。サルコメア構造に乱れが生じていた3)。

平面内細胞極性の中心分子であるVangl2とその相互作用接着因子であるN-カドヘリンのホモノックアウトマウスは胎生致死である。二重ヘテロ変異体を解析したところ、高頻度に尾部の神経管閉鎖障害を起こすことが観察された。下流で作用するシグナルとしてはRhoAやJNKシグナルは変化がなかった4)。

考察

Myh1,4遺伝子の二重変異体は高度な筋萎縮を示し、筋萎縮の良好なモデルとなることが解析された。Myh1単独の遺伝子破壊では筋萎縮は20%程度であり、Myh4単独では筋量の低下はおほとんど見られないが、二重変異体では60%の筋萎縮を示した。血清解析ではクレアチンキナーゼには変化がなかったが、低グルコースと高コレステロール値が観察され、栄養障害が示唆された。筋繊維化が見られ、FAP細胞数の増加、TGF- β の発現上昇が確認された。Pax7陽性の筋衛星細胞数は増加していた。興味ある骨格系モデルと考えている。

結論

ミオシン重鎖の二重変異体を作製し、高度な筋萎縮モデルとなることが示された。Myh7の変異は筋疾患や心筋障害をきたすことが知られている。Myh1の変異による筋疾患は報告がないが、Myh4が代償している可能性がある。がんによる悪液質に起因する筋萎縮でもミオシンの低下や分解が関与している。新たな筋萎縮モデルとして有用であると考えている。速筋型ミオシン重鎖に関しては、ミオスタチン阻害による筋肥大でメチル化修飾されることを示し、現在解析を進捗させている。二分脊椎は神経管閉鎖不全により生じる。二次的に骨格筋にも影響が及び歩行にも影響する。小児の難病であるが今回、新たなモデルを作成することができた。平面内細胞極性解析で頻用される内耳の上皮の配列異常も同時に示された。

参考文献

1. Agarwal M, Sharma A, Kumar P, Kumar A, Bharadwaj A, Saini M, Kardon G, Mathew SJ: Myosin heavy chain-embryonic regulates skeletal muscle differentiation during mammalian development. Development 147(7):dev184507, Apr, 2020.
2. Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N, Takeda S, Tsuchida K: Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. Nature Cell Biol.12(2):143-152, Feb, 2010.
3. Hitachi K, Kiyofuji Y, Yamaguchi H, Nakatani M, Inui M, Tsuchida K: Simultaneous loss of skeletal muscle myosin heavy chain Iix and Iib causes severe skeletal muscle hypoplasia in postnatal mice. FASEB J. 37(1):e22692, Jan, 2023.
4. Nagaoka T, Katuno T, Fujimura K, Tsuchida K, Kishi M: Functional interaction between Vangl2 and N-cadherin regulates planar cell polarization of the developing neural tube and cochlear sensory epithelium. Sci. Rep. 13(1), 3905, March, 2023.

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) や合成誘導体 TCP-112 が良好な活性を示すことを見出した^{1,2}。

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た。そこで TCP-107 の β -アミノ酸構造に着目し、炭素鎖の回転を立体的に制限するため左翼にシクロプロパン構造を導入した。その結果、シクロプロパンを導入した誘導体 4 種のうち *down-cis* 配座を有する TCP-304 において、強力なリードスルー活性を示すアミノグリコシド系抗生物質 G418 と比較し、同等の活性値を示した³。本研究では、TCP-304 をリード化合物とし、脂溶性の向上とプロドラッグ機能の付与を目的とした新たな誘導体の創製に着手した。具体的には、エステル化により化合物の脂溶性を向上させることで細胞内移行性を改善し、エステラーゼ代謝により細胞内で TCP-304 が再生され、リードスルーを発揮できるプロドラッグの創製を目指した。

方法、結果、考察

誘導体 TCP-304 のカルボキシ基に対し、4 種の異なるエステル構造 (メチルエステル、ベンジルエステル、オルト-ブロモベンジルエステル、およびメタ-クロロベンジルエステル) を導入したプロドラッグ TCP-307~310 をそれぞれ設計

し、それらの機能評価を実施した。

まずは、プロドラッグの脂溶性を調べるため、ClogP 値を算出した。その結果、プロドラッグ 4 種の ClogP 値は -1.36~1.22 と、リード化合物 TCP-304 の 3.64 と比較し、高値であることから脂溶性の向上が図れたと考えられる。

次に、プロドラッグのリードスルー活性を、 β -ガラクトシダーゼとルシフェラーゼの間に PTC として TGA 配列を挿入したデュアルレポータープラスミドを用いて評価を行った。尚、当該 PTC の前後配列は、デュシェンヌ型筋ジストロフィーモデルマウスに由来する。本プラスミドをトランスフェクションした COS-7 細胞に、合成プロドラッグ (200 μ M) を処理し、リードスルー活性を評価した。その結果、プロドラッグ 4 種の活性は、4.93~6.80 であり、TCP-304 の活性 8.94 よりも低いことがわかった。ClogP 値とリードスルー活性値から、単に化合物の脂溶性を増加させただけではリードスルー活性の向上は見られないことが明らかとなった。

そこで、プロドラッグのエステル部位の分解がリードスルー活性発現に寄与しているかを調べるため、エステラーゼを用いたエステル加水分解実験を実施した。0.1 M リン酸緩衝液 (pH 7.4) にプロドラッグ TCP-307~310 をそれぞれ溶解した後、ブタ肝臓エステラーゼを添加し 37°C にてインキュベートした。時間経過における代謝物を HPLC にて分析し、プロドラッグの半減期 ($t_{1/2}$) を算出することにより、エステラーゼによる加水分解の反応性を確認した。その結果、いずれのプロドラッグにおいても加水分解により親化合物 TCP-304 の再生が確認された。また、プロドラッグの $t_{1/2}$ は約 7~24 時間であった。効率的にリードスルー活性を発揮するには、より短時間で親化合物を再生できるプロドラッグの創製が重要と考えられる。

結論

本研究では、*down-cis* 配座を有するシクロプロパンを有する TCP-304 をリード化合物とし、脂溶性を付与したプロドラッグの創製を行なった。今後、より効率的にリードスルー活性を発揮できるプロドラッグを見出すことで、ナン

センス変異に起因する DMD におけるリードスルー薬創製に貢献できると期待される。

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

骨格筋線維は絶え間ない物理的刺激によりたえず負荷を受けている。骨格筋線維の恒常性維持のため、内在的な保護機構が存在する。骨格筋幹細胞（筋衛星細胞）は、筋芽細胞の生成および融合により、筋管と呼ばれる長大な多核細胞の形成を経て、筋線維の新生がもたらされる。また筋線維膜の損傷は小胞融合を介して修復されるが、膜修復の破綻は筋疾患発症をもたらすことが知られている。これらの機構に共通する現象である細胞膜の構造維持機構のうち「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、未だその分子機構および意義は明らかではない。本年度はこれまでの知見のもと（文献1）、脂質分子動態により制御され、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) 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。

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 の機能解明を試みてきた。PIEZO1 の全身性欠損は胎生致死をもたらすことから、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、以下の実験を行った。①タンパク質レベルでの PIEZO1 の発現、局在を検討するため、内在性 PIEZO1 の C 末端に tdTomato が融合した形で発現する *Piezo1*-tdTomato マウスを用いたところ、PIEZO1 は幹細胞の分裂過程にて分裂溝に強く集積すること、PIEZO1 は未分化の幹細胞にて特に強く発現し、分化進行とともにその発現が減少することをそれぞれ見出した。②PIEZO1 下流経路の同定のため、単離筋衛星細胞にて 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減少が認められた。これらの結果より PIEZO1 の下流にて低分子量 G タンパク質 RhoA 経路が作用すると仮定した。実際、*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（文献3にて報告）。

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、*Piezol* 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。また TRPM7 は mTOR 経路の活性化に関わることを見出した。

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、物理的な力を感じ取る機構として、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。本研究にて明らかにしたとおり、PIEZO1 の局在は幹細胞の分化・増殖状態で著しく変化したことから、幹細胞に掛かる物理的な力を感じ取っ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

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にて RhoA 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 が機械刺激を感じ取るメカニズムは、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、一方で筋線維にわずかに発現する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との相関を明らかにしていきたい。さらに細胞膜脂質の動態についても、脂質ラベル化法などを用いて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. 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. TRPM7 channels mediate spontaneous Ca^{2+} fluctuations in growth plate chondrocytes that promote bone development. *Sci Signal.* 2019 Apr 9;12(576):eaaw4847.
3. Hirano K, Tsuchiya M, Shiomi A, Takabayashi S, Suzuki M, Ishikawa Y, Kawano Y, Takabayashi Y, Nishikawa K, Nagao K, Umemoto E, Kitajima Y, Ono Y, Nonomura K, Shintaku H, Mori Y, Umeda M, Hara Y. The mechanosensitive ion channel PIEZO1 promotes satellite cell function in muscle regeneration. *Life Sci Alliance.* 6(2):e202201783 (2022).

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。RyR1 は T 管膜のジヒドロピリジン受容体 (Cav1.1) と相互作用して、膜の脱分極により活性化する (脱分極誘発性 Ca^{2+} 遊離、DICR)。DICR は RyR1、Cav1.1 に加えて $\beta 1a$ 、Stac3、Junctophilin が形成した複合体で起こる。最近の研究から、構成因子の遺伝子変異が種々のミオパチーの原因になることが分かってきた。しかし、それらの疾患に対する治療法は未だ確立していない。申請者は最近、非筋細胞に DICR 構成因子を導入することで DICR を効率よく再現する系の開発に成功した。本研究では、DICR 再現系を利用して薬物スクリーニングプラットフォームを構築し、DICR 活性化薬のスクリーニングを行った。

方法

RyR1 と小胞体内 Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$) インジケータの R-CEPIA1er を安定発現した HEK293 細胞に DICR 構成因子 (Cav1.1、 $\beta 1a$ 、Stac3、JP2) 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導入した。DICR 活性は細胞に高カリウム (K^+) 溶液で脱分極刺激を行ない、蛍光プレートリーダーで $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$ を測定した。機能既知化合物ライブラリは東京医科歯科大学から供与していただいた。

結果

DICR 活性は K^+ 濃度依存性を示し、 EC_{50} 値は 10-15 mM K^+ であった。DICR 活性化薬を探索するため、15 mM K^+ により DICR を部分的に起こしておき、化合物を添加して $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$ の変化を測定した。既知の DICR 促進薬である過塩素酸は $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$ を低下させ、DICR 阻害薬の Cpd1 は $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$ を上昇させた。化合物ライブラリの約 1,500 化合物のスクリーニングを行った結果、 $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{ER}}$ を有意に低下させる候補化合物が数十個得られた。このうち、 Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離 (CICR) を促進するものを除き、数個のヒット化合物を得ることに成功した。

考察

今回得られた化合物は DICR 促進薬として、ミオパチーの治療薬開発の元になる可能性がある。今後、骨格筋細胞やモデル動物を使用して、有用性についての検討を行なっていく。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。

結論

今回開発したスクリーニング系は 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. **Murayama T**, Kurebayashi N, Numaga-Tomita T, Kobayashi T, Okazaki S, Yamashiro K, Nakada T, Mori S, Ishida R, Kagechika H, Yamada M, Sakurai T. A reconstituted depolarization-induced Ca^{2+} release platform for validation of skeletal muscle disease mutations and drug discovery. *J Gen Physiol*, 154: e202213230, 2022
2. **Murayama T**, Kurebayashi N, Ishida R, Kagechika H. Drug development for the treatment of RyR1-related skeletal muscle diseases. *Curr Opin Pharmacol*, 69: 102356, 2023

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 東海大学工学部生物工学科

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4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、ノックダウンにより正常型ラミンAの発現量を抑制した時の表現型と、変異型ラミンAの発現が筋線維に与える影響について解析した。

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)の受精卵に対し、内在性ラミンAをノックダウンするアンチセンスモルフォリノをインジェクションし、外来性の野生型ラミンAおよび外来性の変異型ラミンAのみを発現するモデルを作製し、核の形態をEGFP蛍光によって観察した。また、ファロイジン染色によって骨格筋アクチンを染色し、上記のノックダウンモデルにおける筋変性の有無について調べた。また、RNA-seqにより2倍以上の発現量増加が見られたGADD45ab, GADD45ba, MAPK12bを中心に、DNA損傷経路、細胞老化経

路、細胞死・炎症経路に関するマーカー遺伝子の発現を定量PCRで調べた。

結果

内在性ラミンAをノックダウンしたモデルでは、変異型EGFP-ラミンAを発現するゼブラフィッシュで核から複数の突起が生じる形態異常が見られ、これをprotrusionと呼ぶこととした。核のprotrusionは内在性ラミンAをノックダウンした変異型EGFP-ラミンAゼブラフィッシュでのみ見られ、さらに運動によって約40%の核がprotrusionを示すようになった。また、核と核が糸状の構造で繋がった”nuclear bridge”と呼ぶ形態異常も内在性ラミンAのノックダウンによって変異型EGFP-ラミンAゼブラフィッシュで約15%の核で見られるようになった。こうした核の形態異常に関連して、ノックダウンモデルでは骨格筋アクチンの変性も顕著に見られた。遺伝子発現解析では、DNA損傷応答に関わるGADD45ファミリーおよびMAPK12bが変異型EGFP-ラミンAゼブラフィッシュで約2倍の発現増加を示した。慢性的なDNA損傷応答は細胞老化を引き起こすことが知られているが、細胞老化マーカーであるp21, p16の発現も変異型EGFP-ラミンAゼブラフィッシュで約2倍の発現増加を示した。また、細胞死に関わるカスパーゼ6の発現が約1.5倍に増加し、炎症に関わるSOCS1aの発現が約3倍に増加していた。DNA損傷と細胞老化については、免疫染色によってもそれぞれのマーカーである γ H2AX, p16陽性の形態異常核が多く確認された。

考察

内在性のラミンAをノックダウンすることにより、外来性の変異型EGFP-ラミンAを発現するゼブラフィッシュでラミンAミオパチー様の

表現型が亢進したことから、核膜に局在する正常型ラミンAの量が核の形態と骨格筋の健全性を保つために重要であることが示唆された。このことから、ラミンAミオパチーは常染色体優性遺伝形式で遺伝するものの、その発症機序は正常ラミンAの量が減少することによるハプロ不全の可能性が考えられる。実際、ラミンミオパチーの患者で Q6X などの truncation 変異をヘテロで持つ患者が見つかっており、ハプロ不全での発症が推測される。核膜が脆弱になり、核膜の破綻が生じると、核内のゲノム DNA にも損傷が及ぶことが予想され、本研究結果からは、タンパク質および RNA の両方のレベルで DNA 損傷マーカーの増加が示唆された。また細胞老化マーカーの増加も認められ、細胞老化現象がラミンAミオパチーに見られる繊維化や筋炎様の症状に関与する可能性も推測された。これらの点に関して、さらなる研究が必要と考えられた。

結論

ラミンAミオパチー患者に見出された変異はラミンAの機能を損ない、核膜の脆弱化を引き起こすことが明らかになった。核膜の完全性の損失により DNA 損傷応答や細胞老化経路の活性化が起こることがわかった。これらのことから、我々のゼブラフィッシュモデルがラミンAミオパチーの病態解明に有用であることが示唆された。

参考文献

なし

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。一方、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治療薬シーズの開発も進める。

方法

DM1 において病態の中核となる、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異常 RNA を発現させることが可能な 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り細胞周期を制御する蛋白や細胞老化関連分泌形質 (SASP) 蛋白の発現を評価した。また Comet assay や γ H2-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。

また異常 RNA の毒性を軽減する分子として、CUG リピート RNA に結合するペンタトリコリピートペプチド (PPR) を合成し、DM1 細胞モデルで FISH により異常 RNA 凝集抑制効果を、RT-PCR によりスプライシング異常改善効果を検証した。さらに DM1 マウスモデルへ AAV 搭載型 CUG リピート結合性 PPR を投与し、real time PCR 法やウエスタンブロット法により全身での PPR 発現を定量したほか、骨格筋でのスプライシング異常改善効果や異常 RNA 凝集抑制効果、筋強直症状改善効果を検証した。

結果

われわれが構築した DM1 モデル細胞において、異常 RNA の発現によりテロメア長非依存的な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- β Gal 陽性細胞の増加がみられ、早期老化現象が確認された。また遺伝子発現解析の結果から、ミトコンドリア関連遺伝子、p16, p21, p51 などの細胞周期制御因子、IGFBP3 や PAI-I など SASP の発現亢進が同定され、蛋白レベルでもこれら変化が裏付けられた。Comet assay や γ H2-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や、Mito-SOX assay によりミトコンドリア機能の障害が確認された。

また、CUG RNA 結合性 PPR は、DM1 細胞モデルで異常 RNA 凝集を抑制し、ATP2A1 スプライシング異常の改善効果を示した。AAV

搭載型 PPR のマウス尾静脈投与により、DM の治療標的臓器である骨格筋、心筋、脳などで良好な PPR 蛋白発現も確認された。PPR 投与により、マウス骨格筋でも異常 RNA の凝集抑制効果とスプライシング異常改善効果が確認された。さらに、モデルマウスの臨床症状として、PPR 投与後に筋強直症状の改善も実証できた。

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、DN 障害および DNA ダメージ応答反応を介して細胞周期制御因子や SASP 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、CUG RNA 結合性 PPR により、異常 RNA によるスプライシング制御因子凝集を防ぎ、異常 RNA の毒性を低減できることが、in vitro, in vivo で証明された。

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。また異常 RNA の毒性を低減する新たな治療薬モダリティとして、CUG RNA 結合性 PPR の有効性が示された。

参考文献

1. Hasuike Y, Mochizuki H, **Nakamori M**. Expanded CUG Repeat RNA Induces Premature Senescence in Myotonic Dystrophy Model Cells. *Front Genet.* 13:865811.2022

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)
生化学分野

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。先天性ミオパチーの一つである中心核ミオパチー (Centronuclear Myopathy; CNM) は、T 管や 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。先行研究で、膜リモデリング分子である BIN1 (Amphiphysin 2) と Dynamin 2 をコードする *BIN1*、*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より CNM が発症するメカニズムは不明であった。

方法

本研究では、CNM 変異型 BIN1 と Dynamin 2 の膜リモデリング機能異常について、① *in 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 発症機序をマルチスケールでの解明を目指した。

結果

分担研究者は現在までに、(1) BIN1 と Dynamin 2 の膜リモデリング機能を定量的に解析することができる *in vitro* および *in cellulo* の 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 Dynamin 2 が膜リモデリング機能異常を示すこと、(3) Dynamin 2 の膜切断機能に必要な GTP アーゼ活性が、CNM 変異型 Dynamin 2 では恒常的に亢進し、T 管様構造が過度に切断されるこ

とを明らかにした。これらの研究成果は、主任研究者と共著で、原著論文 2 報に発表した (Fujise et al., *Journal of Biological Chemistry* 2021; Fujise et al., *Human Mutation* 2021)。また、関連する総説 1 報 (Fujise et al., *IJMS* 2022) と著書 1 報 (竹田、*医学のあゆみ* 2022) を今年度発表した。さらにモデル生物である線虫を用い、(4) 線虫ダイナミン変異体の表現型がヒト Dynamin 2 によってレスキューされること、(5) CNM 変異型 Dynamin 2 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 (投稿中)。

考察

今後は、CNM 変異型 BIN1 や Dynamin 2 によって膜リモデリング異常が誘導されるメカニズムを、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で明らかにする。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、その表現型解析により、CNM の発症機序を個体レベルで解明する。さらに変異型 Dynamin 2 を発現する CNM モデルマウスを複製し、*in vivo* での CNM 発症機序について解析を進めていく。

結論

本研究で用いたマルチスケールの解析アプローチは、CNM 発症機序を分子・細胞・個体レベルでの解明、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. **Tetsuya Takeda**, Hiroshi Yamada, Kohji Takei (2022) Dynamin: molecular scissors for membrane fission. In “*Plasma Membrane*

Shaping: Molecular Mechanisms, Theories, and Research Methods” ed. S. Suetsugu. 77-90.

2. **竹田 哲也** (2022) 「中心核ミオパチーとミオチューブラーミオパチーの発症機序：T管形成における膜ダイナミクス制御異常からの視点」 *遺伝性神経・筋疾患診療と研究の最前線, 医学のあゆみ* **283**(10): 1000-1005.
3. Kenshiro Fujise, Satoru Noguchi, *Tetsuya **Tetsuya Takeda** (2022) Centronuclear myopathy caused by defective membrane remodelling of dynamin 2 and BIN1 variants. *Int. J. Mol. Sci.* **23**(11): 6274-6287.

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。本研究では、NCNP 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ない、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）、エクソームシーケンシス (exome seq)、全ゲノムシーケンシス (WGS)、RNA シーケンシス (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 から病因性バリエーションを検索する。眼咽頭遠位型ミオパチーのゲノム解析については、サザンブロットィング法、repeat primed PCR 法、フラグメント解析法などで解析をする。候補遺伝子（変異）については、フォローアップシーケンシスや追加検体を用いた解析を行なう。疾患遺伝子の確認が取れ次第、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 では遺伝性筋疾患症例を対象に

2014 年から筋病理診断に加え、オリジナル筋疾患遺伝子パネルと次世代シーケンサーを組み合わせた方法（パネル解析）で遺伝子診断を行なってきた。フォローアップシーケンシングとして 300 例を解析した。診断結果は適時、臨床現場に還元している。

2. 眼咽頭遠位型ミオパチー (OPDM)のゲノム解析

我々は、これまで OPDM の原因遺伝子として *GIPCI* と *NOTCH2NLC* を報告してきた。そして、最近、OPDM の第四の原因遺伝子として *RILPL1* が中国の研究者より報告された。そこで、日本人 OPDM に於ける *RILPL1* のリピート伸張について解析した。既知の OPDM 原因遺伝子に変異をもつ症例を除外して 159 例について解析した。結果、全ての症例で *RILPL1* のリピート伸張は認めなかった。中国の症例でも現在、僅か 13 家系のみ報告であり、創始者効果が考えられた。

3. 眼咽頭筋ジストロフィー (OPMD)のゲノム解析

小児期発症型 OPMD について、国際共同研究からヘテロ核リボ核タンパク質をコードする遺伝子 *HNRNPA2B1* を原因遺伝子として報告した。病因性バリエーションは、c.1001_1002dupGT p.(Y335Vfs*25)で、同遺伝子産物の核移行シグナルドメイン内に見出した。

4. 筋原線維性ミオパチーのゲノム解析

顕性（優性）遺伝形式を呈する遠位型ミオパチーの一家系のエクソームシーケンシングから分子シャペロンをコードする遺伝子 *DNAJB4* にヘテロ接合性のミスセンスバリエーション c.270T>A (p.Phe90Leu) を発見した。*Dnajb4F90L* ノックイン、ノックアウトマウスを作製し、筋力低下と患者の筋病理像を再現した。

考察

主な成果は、神経研究所、国内外の研究機関の研究者らとともに遺伝性筋疾患の新規原因遺伝子を発見したことである。臨床像との関連性、機能解析、モデル動物を用いた病態解析の結果を共有することで筋疾患研究分野に貢献した。

結論

NCNP 筋レポジトリーで管理される検体を用いて新規の原因遺伝子、病理性バリエントを発見し、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. Inoue M, Noguchi S, Inoue YU, **Iida A**, Ogawa M, Bengoechea R, Pittman SK, Hayashi S, Watanabe K, Hosoi Y, Sano T, Takao M, Oya Y, Takahashi Y, Miyajima H, Weihl CC, Inoue T, Nishino I: Distinctive chaperonopathy in skeletal muscle associated with the dominant variant in DNAJB4. *Acta Neuropathologica*. 145(2):235-255, Feb, 2023.
2. Ogasawara M, Eura N, **Iida A**, Kumutponpanich T, Minami N, Nonaka I, Hayashi S, Noguchi S, Nishino I: Intranuclear inclusions in muscle biopsy can differentiate oculopharyngodistal myopathy and oculopharyngeal muscular dystrophy. *Acta Neuropathologica Communication*. 10(1):176, Dec, 2022.
3. Eura N, **Iida A**, Ogasawara M, Hayashi S, Noguchi S and Nishino I: RILPL1-related OPDM is absent in a Japanese cohort, *American Journal of Human Genetics*. 109(11):2088-2089, Nov. 2022.
4. Ogasawara M, Saitoh S, Nishimori Y, Hayashi S, **Iida A**, Noguchi S, Nishino I: Malignant hyperthermia and cylindrical spirals in a 4-year-old boy. *Neuromuscular Disorders*. 32(10):845-846, Oct, 2022.
5. Hama Y, Mori-Yoshimura M, Aizawa K, Oya Y, Nakamura H, Inoue M, **Iida A**, Sato N, Nonaka I, **Nishino I**: Takahashi Y. Myoglobinopathy affecting facial and oropharyngeal muscles. *Neuromuscular Disorders*. 32(6):516-520, Jun, 2022.
6. Kim HJ, Mohassel P, Donkervoort S, Guo L, O'Donovan K, Coughlin M, Lornage X, Foulds N, Hammans SR, Foley AR, Fare CM, Ford AF, Ogasawara M, Sato A, **Iida A**, Munot P, Ambegaonkar G, Phadke R, O'Donovan DG, Buchert R, Grimm M, Töpf A, Zaharieva IT, Brady L, Hu Y, Lloyd TE, Klein A, Steinlin M, Kuster A, Mercier S, Marcorelles P, Péréon Y, Fleurence E, Manzur A, Ennis S, Upstill-Goddard R, Bello L, Bertolin C, Pegoraro E, Salviati L, French CE, Shatillo A, Raymond FL, Haack TB, Quijano-Roy S, Böhm J, Nelson I, Stojkovic T, Evangelista T, Straub V, Romero NB, Laporte J, Muntoni F, Nishino I, Tarnopolsky MA, Shorter J, Bönnemann CG, Taylor JP: Heterozygous frameshift variants in HNRNPA2B1 cause early-onset oculopharyngeal muscular dystrophy *Nature Communications*. 13(1):2306, Apr, 2022.
7. 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, Kumutponpanich 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*. 48(3):e12787, Apr, 2022.

分担研究課題名 「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 疾病研究第一部

緒言

筋ジストロフィーは筋線維の壊死・再生を主病変とする遺伝性筋疾患である。アンチセンス核酸によるエクソン・スキップ治療など開発は進んでいるものの、根治療法は現在まで存在せず新たな治療法の開発が待たれている。

本研究課題では、幹細胞を用いた新規治療法開発の為に基盤研究として、筋再生の中心的役割を担うサテライト細胞に着目した。Pax7はサテライト細胞の機能維持に必須の転写因子であるが、Pax7の転写共役因子、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。この理由として、市販の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-シーケンシングによる標的因子の同定が困難であることが挙げられる。そこで本研究では、Pax7にタグを付加したノックインマウス (Pax7-HAKI マウス) を作製し、発生期の筋前駆細胞および成体のサテライト細胞における 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サテライト細胞の機能調節・機能維持メカニズムを明らかにする。

骨格筋は多様な細胞が混在する組織というだけでなく、筋線維自体がサテライト細胞の融合により形成された多核の細胞である。トランスクリプトーム解析は病態発症のメカニズムを理解する上で有効であるが、bulk RNA-seq では全ての細胞の遺伝子発現の総和を見ている

にすぎず、上記の理由から骨格筋においては個々の細胞・核での遺伝子発現を解析し、病態を理解する必要がある。そこで、本研究では近年急速に進化を遂げているシングル核トランスクリプトーム解析を用いて、皮膚筋炎を始めとする筋疾患の病態解明を目指す。

方法

1. Pax7 の C 末端に PA タグ x2 を付加した Pax7-HAKI マウスを作製し、抗 HA 抗体を用いた免疫沈降-質量分析法により Pax7 と結合するタンパク質を同定した。
2. 患者凍結筋組織 (正常筋および抗 NXP2 陽性皮膚筋炎患者罹患筋) からセルソーターにより細胞核を単離し、10x Genomics 社 Chromium Controller およびライブラリ作製キットを用いてシングル核 RNAseq ライブラリを作製した。その後 R パッケージ Seurat により各細胞クラスターの同定と、罹患筋特異的に発現変動のある遺伝子を解析した。

結果

Pax7-HAKI マウスは野生型マウスと同等の成長曲線を示し、前頸骨筋へのカルジオトキシン投与後も正常な筋再生を示した。また、HA は Pax7 と共局在を示した。E12.5 日齢胚およびサテライト細胞を用いた免疫沈降-質量分析法により、Pax7-HA/HA 胚および筋サテライト細胞で野生型と比較して2倍以上有意に検出された Pax7 結合タンパク質を 36 種同定した。Gene Ontology 解析の結果、eIF2 および eIF3 サブユニットを中心とした翻訳開始関連因子やクロマチン制御因子が多く見出された。

凍結筋組織を用いたシングル核 RNA-seq 解析を確立し、抗 NXP-2 抗体陽性の皮膚筋炎患者由来凍結筋サンプルを解析した。筋線維核 (Fast, Slow, Regeneration)、マクロファージ、血管内皮細胞、筋サテライト細胞、周皮細胞、リンパ球、

平滑筋細胞の9つの細胞クラスターを同定した。I型インターフェロン(IFN)のカスケードをMX1およびISG15の発現により解析した結果、筋線維やマクロファージのみならず全ての細胞種でその発現が見られ、I型IFN経路が筋組織内の全ての細胞で活性化していることが明らかとなった。また、bulk RNA-seqでI型IFNのリガンドの発現はIFN- β 1のみ患者筋で有意な上昇が見られたが、シングル核解析でも同様にIFN- β 1のみ発現が確認された。しかしながら、IFN- β 1はマクロファージや筋核クラスターで発現が見られるものの、その発現細胞はわずかであり、主たるIFN- β 1発現細胞集団は確認できなかった。また、IFN- β 1を発現すると過去に報告のあった形質細胞様樹状細胞(pDC)ではIFN- β 1の発現は見られなかった。

さらに、抗NXP2陽性筋の筋核のクラスターにおいて、低酸素化で発現誘導されるHIF1陽性の病態特異的な集団を見出した。

考察

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の翻訳制御が筋サテライト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サテライト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、核に局限する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による確認が必要である。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。一方、Pax7と結合する転写共役因子およびPax7の標的遺伝子は世界的にも殆ど明らかにされておらず、同マウスを用いた解析は有用であると考えられる。

今回、患者由来凍結筋組織を用いたシングル核トランスクリプトーム解析法を確立した。抗NXP2陽性抗体陽性罹患筋においては、IFN- β 1発現細胞を強く産生する細胞集団は発見できなかった。今後、免疫蛍光染色法およびin situ hybridization法により解析し同細胞を同定する必要がある。我々が確立した骨格筋のシングル核トランスクリプトーム解析は、これまで凍結筋組織を用いた報告は無く、筋疾患の検体を用いた報告もない。その強みを活かし、皮膚筋炎だけでなくその他の筋疾患についても同手法を用いて解析していく予定である。

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。また、シングル核トランスクリプトーム解析により抗NXP2陽性罹患筋特異的な細胞集団を発見した。本研究の進展に伴い、骨格筋幹細胞の増殖・分化制御、筋形成の全容および筋疾患病態発症機序が解明されるとともに、その成果が筋疾患治療へと応用されることが強く期待される。

参考文献

1. Zismanov V, Chichkov V, Colangelo V, Jamet S, Wang S, Syme A, Koromilas AE, Crist C.: Phosphorylation of eIF2 α Is a Translational Control Mechanism Regulating Muscle Stem Cell Quiescence and Self-Renewal. Cell Stem Cell . 2016 Jan 7;18(1):79-90.

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分解経路も見いだした。これまでに、リソソーム膜タンパク質SIDT2は、この経路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、この経路の破綻がneuropathy and distal myopathy with rimmed vacuolesを引き起こすことを見だし、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。

今回、リソソームがタンパク質を直接取り込み分解する分解経路に関与する、SIDT2以外の分子を探索した。

方法

リソソームにおける局在とインタラクトームの情報から、分子Cに着目した。培養細胞で分

子Cをneuro2a細胞に過剰発現させ、 α -synucleinやTauを基質としたTet-offシステムによる分解実験を行ない、タンパク質分解への影響を解析した。また、共焦点顕微鏡解析により、 α -synucleinがC依存的にリソソームに取り込まれるか検討した。さらに、マクロオートファジーの起こらないAtg13ノックアウト(KO) neuro2a細胞を用いて、本研究の分解経路がマクロオートファジーか異なる経路かを決定した。

結果

Tet-offシステムによる分解実験の結果、分子Cの過剰発現により、 α -synucleinやTauのタンパク質分解が促進された。共焦点顕微鏡解析の結果、分子Cの過剰発現により、 α -synucleinのリソソームへの移行が促進された。Atg13 KO neuro2a細胞においても、分子Cの過剰発現により、 α -synucleinのタンパク質分解が促進された。また、Cの過剰発現時には、マクロオートファジーの活性マーカーであるLC-3IIの量に変化はなかった。以上の結果から、分子Cはマクロオートファジーではないオートファジー経路を活性化することが明らかとなった。

考察

マクロオートファジー以外の経路であることから、リソソームによる直接的なタンパク質取り込み経路であることが示唆された。また、分子Cはリソソーム膜に存在することから、タンパク質取り込みに関与している可能性がある。

結論

分子Cはマクロオートファジー以外のオートファジー経路を活性化する。

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と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有する。一方で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、特に筋幹細胞数の減少は重度傷害後の再生遅延が寝たきりを惹起する要因となる事から、筋機能あるいは筋幹細胞数の維持は必須である²。興味深い事に、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が、その原因は不明である³⁻⁵。特に筋萎縮・筋幹細胞数減少の程度の少ない骨格筋には、加齢・疾患に対する保護因子が含まれ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、遅筋由来筋幹細胞は高い自己複製能を持つ事で、加齢による筋幹細胞数減少に対する抵抗性を示す可能性を見出してきた⁶。特に、ミトコンドリア複合体構成タンパク質の一つである *Ndufs8* は、その制御の中心にいる可能性が考えられ、この機能解析を目的としてこれまで研究を行ってきた。

<方法・結果>

1. 骨格筋における筋線維タイプと筋幹細胞機能の関連性を明らかにする為、正常腓腹筋および除神経処置を行なった腓腹筋よりそれぞれ筋幹細胞を単離し、機能解析を行なった。

除神経を行うと、腓腹筋を構成する筋線維タイプは速筋線維優位から遅筋線維優位へと移行する。正常筋および除神経した筋より筋幹細胞を単離・培養し、筋管細胞を形成させ、筋線維タイプの解析を行なった結果、正常筋および除神経筋から単離した筋幹細胞は、同様の筋線維タイプで構成された筋管を形成する事が明らかとなった。すなわち、筋幹細胞の機能は、それらが存在する筋線維タイプに依存しない可能性が示唆された。

2. 筋線維タイプと筋幹細胞機能の関連性をさらに明らかにする為、異なる部位よりそれぞれ筋幹細胞を単離・培養し、網羅的遺伝子発現解析を行なった。

筋幹細胞は、速筋である大腿四頭筋、前脛骨筋、遅筋であるヒラメ筋、さらに速筋・遅筋が混在する横隔膜および外眼筋より単離を行なった。解析の結果、各筋細胞に発現する遺伝子発現パターンはそれぞれ大きく異なる事が明らかとなった。すなわち筋幹細胞が存在する筋線維タイプと遺伝子発現の関連性は低く、筋幹細胞の機能的特徴は骨格筋部位毎に大きく異なる可能性が示された。

3. ヒラメ筋(遅筋)由来筋幹細胞は、前脛骨筋(速筋)由来細胞に比べて高い自己複製能を持つ事をこれまで見出してきたが⁶、その違いを決定する分子を同定する為にプロテオミクス解析を行なった。その結果、ヒラメ筋由来の培養筋芽細胞では、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となった。さらにその発現は加齢と共に減少し、サルコペニアとの関連性が疑われた。

4. *Ndufs8* 過剰発現および発現抑制実験により、*Ndufs8* は筋細胞の自己複製能、アポトーシス耐性能、さらにミトコンドリア形態、および代謝機能に影響する事が明らかとなった。

5. shRNA による *Ndufs8* 発現抑制は、細胞内

NAD/NADH 比は低下し、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 活性が低下している事が予想された⁷。Sirtuin の標的分子であるアセチル化 p53 タンパク質は *Ndufs8* 発現抑制により増加していた。

6. *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) を添加すると、細胞内 NAD/NADH 比が上昇し、さらにアセチル化 p53 タンパク質量が低下した。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。

7. NMN を添加して培養した筋細胞を骨格筋に移植した結果、通常の筋細胞に比べより多くの筋線維および筋幹細胞の形成に寄与する事が確認され、さらに筋細胞に対する NMN 添加は、自己複製能を亢進させる可能性を生体内で示す事ができた。

<考察および結論>

本研究結果から、骨格筋幹細胞機能は、その細胞が存在する筋線維タイプではなく、むしろ骨格筋部位によって異なる事が明らかとなった。一方で、これら細胞によって形成される筋管細胞の違いについては明らかにしておらず、今後検討が必要である。

高い自己複製能を有するヒラメ筋由来筋細胞の解析は、加齢や疾患に対する耐性因子を含む事が期待された。ヒラメ筋由来筋細胞において発現の高い *Ndufs8* は、NAD⁺/NADH 比の上昇と、それに伴うアセチル化 p53 発現の低下に関与し、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、ミトコンドリアが加齢や疾患による筋細胞機能低下に対する治療ターゲットになる可能性を示す事ができた。今後筋ジストロフィーを含む筋萎縮を呈する様々な疾患に対する NMN の治療効

果が期待される。

<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**, 50 (2006).
2. Murphy, M. M., Lawson, J. A., Mathew, S. J., Hutcheson, D. A. & Kardon, G. Satellite cells, connective tissue fibroblasts and their interactions are crucial for muscle regeneration. *Development* **138**, 3625–3637 (2011).
3. 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**, 330–343 (2010).
4. Verdijk, L. B. *et al.* Satellite cells in human skeletal muscle; from birth to old age. *Age (Dordr)* **36**, 545–557 (2014).
5. Yoshioka, K. *et al.* Hoxa10 mediates positional memory to govern stem cell function in adult skeletal muscle. *Sci Adv* **7**, (2021).
6. Motohashi, N. *et al.* Tbx1 regulates inherited metabolic and myogenic abilities of progenitor cells derived from slow- and fast-type muscle. *Cell Death Differ* **26**, 1024–1036 (2019).
7. Chen, D. *et al.* Tissue-specific regulation of SIRT1 by calorie restriction. *Genes Dev* **22**, 1753–1757 (2008).

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 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 2017-2022. As a result, the total number of frozen and cultured muscle samples has reached 23465 and 2216, respectively, by the end of 2022, which constitute the world-leading muscle repository. Using this muscle repository, we have made a number of achievements including: 1) identification of a novel dominantly-inherited DNAJB4 myopathy; 2) prospective comprehensive screening of frozen muscle biopsy sections for Pompe disease from July 2015 to January 2018, resulting in no patient identification; 3) development of novel method to differentiate between oculopharyngeal muscular dystrophy and oculopharyngodistal myopathy on muscle pathology; 4) characterization of pathological phenotype of antisynthetase syndrome according to positive autoantibodies; and 5) identification of several new causative genes for muscle disease through international collaboration, including 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十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

九州大学 生体防御医学研究所

深田 宗一郎

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

2022年度開発費研究班会議を12月6日～7日にかけてハイブリッド開催(教育研修棟およびZoom)し、参加登録者数は約240名であった。当班班会議の特徴であるが、多数のアカデミアに加えて製薬系企業人、患者会、官からの参加があった。同カンファレンスは、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(Prog Neurobiol. 2022)。(橋本、青木)
- 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)(Nat Commun. 2020)。

- 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18nm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)(J Control Release. 2022)。
 - 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)(Proc Natl Acad Sci U S A. 2022)。
 - 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。健康ヒト尿由来細胞を用いた大脳オルガノイドの作製に成功した(Front Physiol. 2022)。(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(Cancer Discov. 2021(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 マイクロプタの病理解析と論文作成を進め、NCNP への個体導入を完了した(論文準備中)。
- 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(*Am J Physiol Cell Physiol*. 2022)(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 ミニプタを作製し、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マ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, *J Biol Chem*. 2022)。
- 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であることを確認した(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(*Nat Commun*. 2022)(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 4 年の供給実績は、国内 40 機関に 80 回供給し、B10-mdx を 1219 匹、そのコントロール系統 B10Jic を 44 匹、D2-mdx を 183 匹の累計 1446 匹を分与・供給した(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事を目的に、筋ジストロフィー患者・家族を対象に、日常生活における精神的な負担についての現状を把握するための調査を実施した。

今後の研究の進め方

NCNP が誇るマウス、イヌ、マイクロプ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、マイクロミニプタ等)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。

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

DNAJB4 ミオパチーモデルマウスの病態解析

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

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。骨格筋では分子シャペロンとその補因子が多く発現している。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骨格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、蓄積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。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* 遺伝子に片アリル性のミスセンス変異を認めた。本研究では、この変異を導入した遺伝子組み換えマウスの作製し、表現型を解析することで、変異病因性を評価するとともに、疾患モデルマウスを樹立し、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 HEK 細胞で発現させ、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 Hela 細胞で発現し、熱ショック処理によって誘導される TDP43 の核内凝集物形成への遺伝子変異の効果を解析した。

結果

ヒト変異 DNAJB4 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、ヒラメ筋の筋力も有意に低下していた。KI ヘテロマウスの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のと同様の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、フィラミン C 陽性であり、それを取り囲むようにデスミン、HSP70 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 とともに同様な表現型が観察され、むしろヒト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 システムが機能喪失し、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、細胞質でのタンパク質の蓄積、そして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

Inoue M et al. *Acta Neuropathologica* 145: 235-255, 2023

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致死性の神経難病であるが、現時点で顕著な治療効果を発揮する薬剤はない。症状の発症や悪化に関わる神経系の変性のメカニズムにも不明な点が多く、メカニズムの解明とそれに立脚する治療薬の開発は喫緊の課題である。一方、近年、臓器間ネットワークという概念により、神経系の機能が他の臓器により制御される仕組みが生体内に備わることがわかってきた。その制御方法の一つに循環を介した液性因子の寄与が存在するが、筋萎縮性側索硬化症において液性因子を介した病態制御機構が存在するかは明らかではない。しかし、筋萎縮性側索硬化症患者および同モデルマウスを用いた検討から、対象群と比較し血中での様々な分子発現が変動していることが示されており、また変動する分子の一部に対してはその受容体が神経系細胞に発現する。これらのことから、血中で発現する分子が筋萎縮性側索硬化症における神経変性に影響を及ぼす可能性を着想した。

昨年度までに、筋萎縮性側索硬化症モデルマウスの発症前、発症後ならびに対象群のマウスから採血を行い、血中分子量を網羅的に検出した（メタボロミクス、サイトカインアレイ）ところ、顕著に発現変動する脂肪酸が複数存在した。またそれらに対する受容体の神経系での発現を検討したところ、オリゴデンドロサイトにおいて豊富に受容体発現が認められた。筋萎縮性側索硬化症においてもオリゴデンドロサイトの細胞死が病態形成に寄与すると推察されていることから、オリゴデンドロサイトの細胞死に対する同定した受容体の効果を検討した。その結果、Ffar1 受容体がグルタミン酸興奮毒性によるオリゴデンドロサイトの細胞死に寄与することが示唆された。そこで本年度は、オリゴデンドロサイトの細胞死に対するメカニズ

ムに関して、特にアポトーシス経路によるものか検討した。

方法

マウスのオリゴデンドロサイト培養は、哺乳1日齢のマウス全脳から混合グリア細胞培養から採取する方法と、platelet-derived growth factor (PDGFR) α 陽性のオリゴデンドロサイト前駆細胞を単離する方法を用いた。いずれの細胞も細胞播種後に T3 含有培地により成熟細胞へと分化させて実験に用いた。細胞死の検出は、Propidium iodide (PI)の取り込みと cleaved caspase 3 の染色により評価した。Ffar1 の発現抑制のため Ffar1 siRNA を培養オリゴデンドロサイトに導入した。

結果

グルタミン酸興奮毒性により培養オリゴデンドロサイトにおける PI 陽性細胞および cleaved caspase 3 陽性細胞の数が増加し、それが脂肪酸暴露により抑制された。Ffar の発現を抑制させた培養オリゴデンドロサイトでは、コントロール群と同様にグルタミン酸により細胞死は誘導されるものの、脂肪酸暴露による細胞死保護効果が阻害された。

考察

正常状態では血液に含まれる脂肪酸がオリゴデンドロサイトの細胞生存を維持しているが、筋萎縮性側索硬化症などで血中の脂肪酸量が低下すると、オリゴデンドロサイトの細胞死が誘導しやすいことが推察された。また、その機序には脂肪酸の細胞内への取り込みに関わる Ffar1 が関与することが示唆された。

結論

オリゴデンドロサイトに発現する Ffar1 は筋萎縮性側索硬化症モデルマウスにおける変性誘導を制御する分子である。

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

マーモセットを対象に、下肢運動時の骨格筋活動の慢性記録方法、およびそれらを人工的に誘発するための神経刺激方法を確立した。前年度より継続している技術開発を継続し、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。特に今年度は、両側の下肢及び前肢からも同時記録できる技術を確立した。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。前肢と後肢の筋に四足歩行典型的な連続的な交代性の活動が認められた。

また、昨年度から継続している、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に加えて、同技術をマーモセットに適用するための技術開発を新たに開始した。具体的には、マーモセット前肢用のマイクロカフ電極を新たに設計し、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、刺激一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。現在、これらを覚醒動物で適用するための開発をおこなっている。

このような技術開発と並行して、これらの技術を慢性行動実験に応用するための行動課題開発とその検証を行なった。まず、樹上性というマーモセットの特徴を利用して梯子上り課題を開発した。そして、機械学習を用いて、マーカースレスに登り運動時の四肢や体幹の動きを計測する技術を開発した。その結果、運動失調症モデルマーモセットでは登り運動の速度が顕著に低下し、マーモセットにおける運動失調症の発症と進行を反映するバイオマーカーになり得る事が明らかになった。

考察

本研究によって確立された筋電図記録や神経刺激システムは広く感覚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、ラット及びマーモセットの皮質上に 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

げっ歯類やマーモセットを対象とした、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。またそれらを適用する行動課題として、ラットのジャンプ課題とマーモセットの梯子上り課題を開発した。そして、機械学習を用いて、マーカースレスに登り運動時やジャンプ運動時の四肢や体幹の動きを計測する技術を開発した。

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いように、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. Akito Kosugi, Yosuke Saga, Moeko Kudo, Masashi Koizumi, Tatsuya Umeda and Kazuhiko Seki (2023). Time course of recovery of different motor functions following a reproducible cortical infarction in non-human primates. *Front Neurol.* 2023; 14: 1094774. Published online 2023 Feb 9. doi: 10.3389/fneur.2023.1094774
2. Tetsuro Funato, Noriaki Hattori, Arito Yozu, Qi An, Tomomichi Oya, Shouhei Shirafuji, Akihiro Jino, Kyoichi Miura, Giovanni Martino, Denise Berger, Ichiro Miyai, Jun Ota, Yury Ivanenko, Andrea d'Avella, Kazuhiko Seki (2022). Muscle synergy analysis yields an efficient and physiologically relevant method of assessing stroke. *Brain Communications*, Volume 4, Issue 4, 2022, fcac200, 09 August 2022, <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcac200>

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

小児脳腫瘍は小児がんのうち、致死率が最も高い疾患であり、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 RELA 型上衣腫は、上衣腫の中でも悪性度が高く、効果的な治療法がなく、主に外科的手術の成功率に依存する形になっている。そこで RELA 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治療法の確立を目指す。

方法

RELA 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。これらの腫瘍における共通のがんシグナルを同定するために、まずヒトテント上上衣腫>1000 検体から融合遺伝子 ZFTA-RELA を同定し、同定されたがん融合遺伝子をマウス脳内に誘導することに成功した。次の研究段階として、融合遺伝子の下流で機能する遺伝子を抽出し、最終的にヒト・マウスで共通して働くシグナルを絞り込む。特に今年度は ZFTA-RELA により直接発言が誘導される LICAM に着目し、研究を推進している。

結果

昨年度までに我々は国際的な共同研究により、ヒト上衣腫検体の RNAseq より>10 の新規融合遺伝子が同定し、その多くの融合遺伝子が ZFTA/C11orf95 遺伝子との融合したタンパク質を発現するものであることを報告した。さらにこれらの遺伝子の発がん性をマウス胎仔脳に発現させることにより検証したところ、ZFTA-RELA, ZFTA-MAML2, ZFTA-MAML3, ZFTA-NCOA2 とこれら全ての遺伝子発現により脳腫瘍が誘導された。次に、生じたこれらの腫瘍の RNAseq を行うことにより、腫瘍に共通した細胞増殖を担うことが知られる分子群が同定され、ヒト検体の遺伝子発現と比較することで、LICAM 遺伝子

が腫瘍標的候補遺伝子として同定された。また ChIP-seq 解析により ZFTA-RELA タンパクは LICAM の遺伝子座に結合し、直接遺伝子を活性化することが明らかになった。本年度は、LICAM 遺伝子の shRNA による遺伝子発現阻害がヒト上衣腫培養細胞株で腫瘍細胞の増殖を阻害したことを発見し、LICAM が RELA 型テント上上衣腫の増殖阻害に効果的であることを見出した。現在その分子と相互作用する分子、さらにはその下流のがんシグナルの候補を突き止めており、検証中である。

考察

現存する治療に使用可能な LICAM 阻害剤は中和抗体が一般的で脳内への輸送が難しい。そこで下流のがんシグナルを同定することで上衣腫の治療につなげることが可能になるとと思われる。

結論

悪性度の高い RELA 型テント上上衣種において新規の腫瘍標的分子 LICAM の細胞増殖への寄与を明らかにした。

参考文献

- Youn YH, Hou S, Wu CC, [Kawauchi D](#), Orr BA, Robinson GW, Finkelstein D, Taketo MM, Gilbertson RJ, Roussel MF, Han YG. Primary cilia control translation and the cell cycle in medulloblastoma. *Genes Dev.* 36(11-12):737-751. (2022) (IF:12.89)
- Kilian M, Friedrich M, Sanghvi K, Green E, Pusch S, [Kawauchi D](#), Löwer M, Sonner JK, Krämer C, Zaman J, Jung S, Breckwoldt MO, Willimksy G, Eichmüller SB, von Deimling A, Wick W, Sahm F, Platten M, Bunse L. T-cell Receptor Therapy Targeting Mutant Capicua Transcriptional Repressor in Experimental Gliomas. *Clin Cancer Res.* 28(2):378-389. (2022) (IF:13.801)
- Wang W, Shiraishi R, [Kawauchi D*](#). Shh signalling in cerebellar development and cancer. *Front Cell Dev Biol.* 10:864035 (IF:6.081)
- Feng W, [Kawauchi D*](#), Wan F. Editorial: Molecular characteristics and personalized treatment for pediatric brain tumors. *Front Oncol.* 2022 Dec 29;12:1114280 (IF:5.738).

R4 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

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) では筋サテライト細胞数の増加することが報告されている (1)。しかしながら DMD 患者の骨格筋では筋再生不全が見られ、筋サテライト細胞が増加するにも関わらず筋再生能が低下する理由は明らかではない。一方、C57BL/10 や C57/BL6 をバックグラウンドとする mdx マウスの筋サテライト細胞は活発な増殖能を持ち、野生型と変わらない増殖能・筋再生能を有しており、ヒトで見られるような再生不全は起こらない (2)。これらのような理由から、DMD 筋において、サテライト細胞が DMD の病態にどのように関与しているかは一定の見解が得られておらず、不明である。そこで、本研究では、ヒト DMD および DBA/2 バックグラウンドを持つ D2-mdx マウス (3) 筋を用いてシングル核トランスクリプトームにより筋サテライト細胞の性状を解析した。

方法

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サテライト細胞集団について解析を行った。また、D2-mdx 大腿四頭筋

からシングル核 RNA-seq ライブラリを作製し、同様に解析した。

結果

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、再生筋の筋核、マクロファージなどが増加した。筋サテライト細胞は成人のコントロールと比較すると数は増加したが、小児のコントロールと比較した場合には殆ど数は変化しなかった。興味深いことに、DMD の筋サテライト細胞は殆どが 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。さらに、これら DMD の筋サテライト細胞では、遺伝子 X の発現が高いことが明らかとなった。D2-mdx の筋サテライト細胞においても、X の発現が野生型のサテライト細胞と比較して高く、ヒト DMD と共通であった。

考察

シングル核 RNA-seq を用いた解析により、DMD 患者筋における筋サテライト細胞では、同年齢のコントロールと比較した場合、数は変わらず、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 病態では筋サテライト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サテライト細胞は増殖せず、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。また、これらの筋サテライト細胞では X の発現が上昇していることを見出した。X は筋サテライト細胞においては休止状態を維持する重要な転写因子であることが近年報告されている。どのようなシグナルが DMD の病態において X を活性化しているかは今の所不明であるが、X が重要な治療ターゲットになり得るため、今後さらに詳細に解析を進める計画である。

結論

DMD 患者筋における筋サテライト細胞は殆どが休止状態にあることが明らかとなった。これらのサテライト細胞では遺伝子 X の発現が高く、モデルマウスである D2-mdx マウスでも同様に発現が亢進されており、重要な治療ターゲットとなり得ることが考えられた。

参考文献

1. Michael Kottlors, Janbernd Kirschner. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Tissue Res*. 2010 Jun;340(3):541-8.
2. Boldrin L, Zammit PS, Morgana JE. Satellite cells from dystrophic muscle retain regenerative capacity. *Stem Cell Res*. 2015 Jan; 14(1): 20–29.
3. Fukada S, Morikawa D, Yamamoto Y, Yoshida T, Sumie N, Yamaguchi M, Ito T, Miyagoe-Suzuki Y, Takeda S, Tsujikawa K, Yamamoto H. Genetic Background Affects Properties of Satellite Cells and mdx Phenotypes. *Am J Pathol*. 2010 May;176(5):2414-24.

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。Dystrophinopathy 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。また、dystrophinopathy は DMD のみならず軽症型の Becker muscular dystrophy (BMD)、女性ジストロフィン異常症の表現型も知られるが、DMD とこれらの表現型の連続性も検討した。

方法

1. DMD 患者について、頭部画像検査を行ったことのある当院脳神経内科患者を抽出し、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。
2. 女性ジストロフィン異常症患者について、当院脳神経内科患者のうち①心理検査研究 (JART (Japanese Adult Reading Test) 、WAIS (Wechsler Adult Intelligence Scale) 、CES-D (The Center for Epidemiologic Studies Depression Scale) 、STAI (State-Trait Anxiety Inventory) 、SF36 (MOS short form 36 health survey))、IQ や抑うつ傾向、不安、精神状態について検討し、精神疾患やいじめ被害も評価した。②カルテ調査による画像の後ろ向きデータを収集した。

結果

1. 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 Single 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。

2. 女性ジストロフィン異常症について、① 8 名 (平均年齢 37.5 歳)、平均病前推定 IQ は 87.8 ± 15.4 (68.2-107.1)、平均全検査 IQ は 70.8 ± 7.6 (58-78)、7 人中 3 人に抑うつ傾向、7 人中 6 人が状態不安・特性不安とも高く、SF36 では身体的、精神的、役割/社会的側面の QOL サマリースコアである PCS、MCS、RCS の全てにおいて、7 人中 4 人以上が国民平均以下の点数であった。精神疾患の既往ないし罹患のある患者は 5 名 (パニック障害 2 名、うつ病 1 名、不安障害 1 名、自閉症スペクトラム 1 名) であった。② 後ろ向き研究では 56 名中 21 人の中枢神経画像を得ることが出来た。対象の平均年齢は 44.6 ± 14.1 歳、genotype は in-frame 4、out-of-frame 10、不明 7 であった。MRI では 1 名のみ前頭葉萎縮を認めた一方、脳血流 SPECT には検査した 6 名全員何らかの異常を認め、1 例に全脳血流の、5 例に前頭葉血流の低下が見られた。

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 画像等では異常を認めず、拡散テンソル MRI [Doorenweerd 2014] や MRI 脳血流画像 [Doorenweerd 2017]、PET [Lee 2002] など臨床の間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变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。

女性ジストロフィン異常症の結果も、基本的には DMD や我々が報告した BMD [Mori-Yoshimura 2019] の結果に類似した萎縮・血流低下を呈していた。特筆すべきは、はるかに身体障害が軽症な女性ジストロフィン異常症患者においても、重篤な心理的・精神的な問題が生じていることである。これらが、女性ジストロフィン異常症特有の分子病態にもとづく器質的な異常であるか、環境因子がもたらす二次的なものであるかどうか、さらなる精査と背景因子の解明、DMD、BMD 患者との比較検討を行う必要がある。

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、DMD では進行につれ 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。女性ジストロフィン異常症でも男性患者同様の画像異常が見られるが、精神的な影響が男性患者より大きい傾向があることに配慮を要する。

参考文献

1. 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.
2. Doorenweerd N, Dumas EM, Ghariq E, et al. Decreased cerebral perfusion in Duchenne muscular

dystrophy patients. *Neuromuscul Disord.* 2017 ;27:29-37.

3. 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

4. Mori-Yoshimura M, Mizuno Y, Yoshida S, et al. Psychiatric and neurodevelopmental aspects of Becker muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2019;29:930-939.

疾患 iPS 細胞を利活用した神経筋疾患の病態解明

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第五部

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 モデルの確立を目指した。

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、従来と比べて長期の培養

期間を実現した。本培養モデルを用い、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) 側の応答を検討した。本年度は論文発表に向けた培養技術の精度向上に取り組み、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 モデルの確立した

考察

本研究で開発したヒト細胞を用いた NMJ モデルは、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しており、構造的・機能的評価に資すると期待できる。CMS などの患者由来細胞に本モデルを適用することは十分可能である。このように本培養モデルは、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なツールとなると考えている。

結論

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 モデルの確立した

参考文献 (業績)

1. [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. *Exp Neurol.* 352: 114024. (2022)
2. Numata-Uematsu Y., [Wakatsuki S.](#), Sakai K., Ichinohe N., [Araki T.](#) In vitro myelination using explant culture of dorsal root ganglia: an efficient tool for analyzing peripheral nerve differentiation and disease modeling. *PLoS One.* in press.
3. [Wakatsuki S.](#) and [Araki T.](#) Novel insights into the mechanism of reactive oxygen species-mediated neurodegeneration *Neural Regen Res.* 4: 746–749. (2022)

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

筋幹細胞は、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。骨格筋幹細胞である筋衛星細胞（サテライトセル）の自己複製や静止期の維持がどのように制御されているかを理解することは、細胞移植法の確立のために重要である。我々は既にプロスタグランジン E2 受容体の一つ EP2 がヒト前駆細胞の自己複製を制御することを報告している（文献 1）。そこで令和 4 年度は、プロスタグランジン受容体 EP2 の筋衛星細胞における役割を、EP2 遺伝子のコンディショナル・ノックアウト (cKO) を作出して解析した。

方法

1. EP2 を筋衛星細胞特異的に欠損するマウスの作成
EP2 flox マウスと Pax7^{CreERT2} マウスを交配し、Pax7^{CreERT2/+}; EP2^{flox/flox} マウスを作出した。Pax7^{CreERT2/+}; EP2^{+/+} マウスをコントロールとした。タモキシフェンを腹腔内投与し筋衛星細胞特異的に EP2 遺伝子を不活化した。
2. 筋衛星細胞数の測定
マウス骨格筋から単核細胞を調整し、筋衛星細胞のフラクションを FACS で解析した。また長趾伸筋からコラゲナーゼで単離した筋線維を 4%PFA で固定し、Pax7 抗体で染色し、筋線維あたりの筋衛星細胞の数を調べた。更に前脛骨筋の横断切片を M-カドヘリン抗体と抗ラミニン $\alpha 2$ 鎖抗体で二重染色し、Keyence 蛍光顕微鏡で撮像し、単位面積当たりの筋衛星細胞を計測した。
3. 筋衛星細胞の増殖能と分化能の解析
FACS を用いてマウスの骨格筋から筋衛星細胞を単離し、培養した。増殖能は EdU の取込みで判定した。また、細胞数をそろえて播種し、分化培地で培養して fusion index を計測した。
4. EP2 KO マウスの筋再生能の検討
EP2 cKO 及びコントロールマウスの前脛骨筋に BaCl₂ を注射して、筋壊死を引き起こし、筋再生を比較した。
5. 筋衛星細胞の活性化の *ex vivo* 評価
単離した筋線維を増殖培地中で 30 時間浮遊培養した後、PFA で固定し、Ki67 抗体と Pax7 抗体で二重染色し、セルサイクルに入った筋衛星細胞の割合を計測した。

結果

1. タモキシフェンを投与した EP2 cKO とコントロールマウスの体重や後肢筋（大腿四頭筋、腓腹筋、前脛骨筋）の重量には差がなかった。
2. 筋衛星細胞の数を 3 つの異なる方法で計測したが、いずれの評価法でも EP2 cKO マウスにおいて、約 30% の減少が確認された。
3. EP2 を欠損する筋衛星細胞とコントロールの筋衛星細胞の間に増殖能の差は認められなかった。Fusion index は EP2 cKO マウスでやや高く筋前駆細胞の融合が促進していた。
4. EP2 cKO マウスとコントロールマウスの前脛骨筋を BaCl₂ で傷害すると、単回の傷害では差がなかったが、2 回の筋傷害では EP2 cKO マウスの筋線維径が有意に減少し、筋再生が障害されていることが示唆された。
5. EP2 を欠損する筋衛星細胞は、単離された筋線維上で、コントロールよりも早くセルサイクルに入ることが明らかになった。PGE2 を培地に添加すると、筋衛星細胞の活性化を抑制した。EP2 cKO マウスでは PGE2 の効果は認められなかった。

考察

筋衛星細胞は、通常は静止期 (Go) に維持されることでその数や stemness を維持している。我々は Notch によって発現が増強する EP2 が、筋衛星細胞の活性化を抑制していること、EP2 欠損で筋衛星細胞の数が減少することを明らかにした。EP2 により、筋衛星細胞の活性化がどのように抑制されるのか、その分子機構は明らかではないが、Notch による筋衛星細胞の維持機構の一端が明らかとなった。今後は筋衛星細胞の維持に関与すると報告されている他の分子やシグナルと EP2 シグナルの関連を解析する必要がある。30% 程度の筋衛星細胞の減少では、筋重量には変化がなかったが、筋再生過程は障害されていた。筋ジストロフィーは繰り返す筋壊死・筋再生を特徴とする。そこで今後は EP2 cKO マウスと mdx マウスとの交配を行い、EP2 が減少すると、筋ジストロフィーの病態に対してどのような影響があるかを検討する予定である。

結論

プロスタグランジン E2 受容体の一つである EP2 が骨格筋幹細胞である筋衛星細胞の静止期の維持に重要な働きを持っていることが明らかになった（論文準備中）。

参考文献

1. Sakai-Takemura F, et al., *Comm. Biol.* 3, 182. 2020.

筋ジストロフィーに対する汎用性の高いゲノム編集修復技術の開発研究

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(DMD)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。

我々は以前、DMD 患者由来 iPS 細胞において、CRISPR-Cas9 ゲノム編集技術を用いたエクソンスキッピングによってジストロフィンの遺伝子変異を修復できることを報告した[Li HL et al., Stem Cell Reports, 2014]。また、我々の報告と前後して、他の複数の研究チームもゲノム編集技術を利用したジストロフィンのエクソンスキッピングを mdx マウスやイヌ、ブタモデルで報告している。

しかし、DMD 患者においては変異エクソンがジストロフィン遺伝子上の広範囲に分布しており、単一のエクソンを標的としたエクソンスキッピングでは、最大でも十数%程度の患者にしか適応できない。この狭い適応範囲を拡大するためには、変異エクソンが集積するエクソン 45 からエクソン 55 の領域を一度にスキップさせる“マルチエクソンスキッピング”が有効であることが示されている[Aoki Y., et al., PNAS, 2012 | Young, C. S. et al. Cell Stem Cell, 2016]。しかしながら、CRISPR-Cas9 を用いた微小 DNA 欠失誘導では、340 kb もの巨大領域に跨る複数のエクソンを同時に欠失させることは難しい。

この問題に対し我々は、数 kb から数十 kb の DNA

切断誘導が可能である CRISPR-Cas3 [Morisaka et al., Nat Commun, 2020]に着目し、ゲノム上で巨大欠失を誘導することで、多数の DMD 患者に適応可能なマルチエクソンスキッピング誘導方法を開発に取り組んだ。

方法

ヒトジストロフィン遺伝子の標的エクソンにてエクソンスキッピングが誘導された場合に発光するルシフェラーゼを用いたレポーターベクターを構築し、高効率でエクソンスキッピングを誘導しジストロフィンタンパク質を修復可能な CRISPR-Cas3 の crRNA 配列を検討した。また、複数の構成員子からなる CRISPR-Cas3 システムを標的細胞へ導入して適切に発現させるために、6 つの構成タンパク質と crRNA を適切に発現させる発現ベクターを構築した。これら CRISPR-Cas3 の crRNA を 2 つ組み合わせた Dual-Cas3 システムを試すことで、340 kb のゲノム DNA を切断可能か、DMD 患者由来 iPS 細胞を用いて検証を行った。

結果

ジストロフィン遺伝子領域の切断を効率的にモニターできる ddPCR 系を用いて、細胞ベースでのゲノム切断効率および切断領域の定量的検証を行った。CRISPR-Cas3 を搭載し発現するベクターを、3名の DMD 患者由来 iPS 細胞株に導入し、ゲノムレベルでの切断効率を測定した後、筋繊維へと分化誘導することで、エクソンスキッピング効率およびジストロフィン蛋白質の回復効率を検証した。その結果、目的のマルチエクソンスキッピングが誘導できた iPS 細胞株において、ジストロフィンタンパク質の回復を確認することが出来た。

考察

3名の異なる変異を持つ DMD 患者由来 iPS 細胞において、単一の crRNA ペアでジストロフィンタンパク質を回復させることに成功し、汎用性の高い遺伝子変異修復方法になると考えられる。

結論

Dual-Cas3 システムを利用することにより、340kb もの巨大なゲノム DNA 領域を欠失させ、マ

ルチエクソンスキッピングによる汎用性の高いジストロフィンタンパク質修復方法の開発に成功した。現在、論文執筆を準備中である。

参考文献

Li HL et al., Stem Cell Reports, 2014

Aoki Y., et al., PNAS, 2012

Young, C. S. et al. Cell Stem Cell, 2016

Morisaka et al., Nat Commun, 2020

筋ジストロフィー治療のための間葉系前駆細胞制御法開発

上住聡芳
九州大学

緒言

骨格筋の主たる構成細胞は筋線維で、収縮することにより筋力の発生源となっている。筋ジストロフィーなどの筋疾患では、骨格筋内に脂肪細胞や線維性結合織が形成されるが、これらには収縮能がないため筋力低下の要因となり、病態をさらに進行させる。また、脂肪化・線維化は、開発中の筋ジストロフィーに対する治療法（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るため問題となる。分担研究者らは、骨格筋の脂肪化・線維化が、筋間質に存在する間葉系前駆細胞に起因することを明らかにしてきた^{1, 2)}。間葉系前駆細胞を標的として脂肪化・線維化を抑制することは、筋力・筋機能の改善をもたらすと考えられる。病態に寄与するだけでなく、間葉系前駆細胞は筋衛星細胞の機能を支持し、筋再生を促進する性質も併せ持つことがわかっている。そこで本研究では、間葉系前駆細胞を制御することにより脂肪化・線維化病態を抑制、および、筋衛星細胞による筋再生を促進し、筋ジストロフィーに対する新たな治療法へと発展させることを目的とする。

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。そこで、間葉系前駆細胞特異的なレチノイン酸シグナル阻害マウスを作製し、その表現型を精査することで、筋再生におけるレチノイン酸シグナルの機能的意義を明らかにし、本シグナル経路を利用した、筋ジストロフィーに対する新たな治療法開発を目指す。

結果

間葉系前駆細胞特異的なレチノイン酸シグナル阻害マウスに筋損傷を誘導すると、筋再生に不全を来した。間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルの機能的意義を明らかにするため、RNA-seqによって間葉系前駆細胞特異的なレチノイン酸シグナル阻害マウスの間葉系前駆細胞で発現変動する遺伝子を絞り込んだ。その結果、レチノイン酸シグナルが阻害された間葉系前駆細胞では、炎症関連遺伝子が高発現していた。これらのことから、間葉系前駆細胞はレチノイン酸シグナル依存的に炎症を収束させる機能を果たしていると示唆された。

考察

分担研究者らは、独自の着眼点から間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルの重要性を見出し研究を進めてきたが、海外のグループから、間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルが正常な筋再生に必要ということを示す論文が発表されてしまった³⁾。しかし、間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルがどのようにして筋再生に寄与しているのか、そのメカニズムは依然として不明であったため、分担研究者らは本シグナル経路について、さらに研究を進めた。その結果、間葉系前駆細胞が炎症の収束を担うという新機能を見出した。

結論

間葉系前駆細胞におけるレチノイン酸シグナルは炎症の収束に重要となることが明らかとなった。

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) Zhao L et al., Retinoic acid signalling in fibro/adipogenic progenitors robustly enhances muscle regeneration. *EBioMedicine* 60:103020. 2020.

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

一筋ジストロフィーが進行性の病態を示すメカニズム解明にむけた取り組み

深田 宗一郎

大阪大学大学院薬学研究科

再生適応学分野

中村 彩沙*, 岩森歌奈子*

上住 聡芳**

*大阪大学大学院薬学研究科

再生適応学分野

**徳島大学医歯薬研究部

緒言

骨格筋は繰り返し損傷を受けても再生する驚異的な能力を持っている。この能力を可能にしているのが、骨格筋固有の組織幹細胞である Pax7 陽性のサテライト細胞 (MuSC) の存在である[1]。骨格筋が損傷すると、MuSC が速やかに活性化・増殖・分化し筋線維を再構築と同時に、MuSC が自己複製する[2]。一方、筋ジストロフィー患者では、病態の進行に伴い、再構築される筋線維数が減少する。これは MuSC の自己複製能力を含む再生能力の低下によるものだと考えられている。しかし、筋ジストロフィーの病態進行において、どのように再生能力が低下するのかは長年の課題であった。

再生能力の低下した筋ジストロフィー患者では、進行性の脂肪化・線維化領域が増大、筋線維領域の減少がみられ、結果的に筋機能を果たすことが困難となる。核酸医薬や遺伝子治療は筋線維の存在により始めてその治療効果を発揮するため、病態進行の抑制法開発は切望されている。

骨格筋の線維化・脂肪化の原因細胞は、Pdgfra (Platelet-derived growth factor receptor alpha) 陽性の間葉系前駆細胞である[3,4]。また、TGF- β は線維化促進、脂肪化抑制に働く事が予想される多能性のサイトカインであるが、間葉系前駆細胞における TGF- β の生理的な作用は理解されていない。本年度は、間葉系前駆細胞特異的な TGF- β の受容体阻害マウスを作製し、解析を行った。

方法

マウス

Pdgfra^{CreERT}, Tgfb2^{lox}, Rosa^{DTA} マウスを当該施設の倫理規定に従い飼育、交配、実験を行なった。

筋再生モデル

三種混合麻酔下で、*Naja pallida* 由来の Cardiotoxin (CTX) を 50-100 μ L 右前脛骨筋に投与した。Cardiotoxin は PBS に溶解して最終濃度 10 μ M で使用した。対側の左前脛骨筋は非再生のコントロールとして用いた。

免疫組織化学染色

厚さ 6 μ m で作製し風乾させた薄切切片を 4% PFA/PBS にて 10 分間インキュベートし固定した。0.1% Triton-X/PBS で 3 回洗浄後、0.5% Triton-X/PBS にてインキュベートし可溶化を行った。PBS で 3 回洗浄した後、5% スキムミルク/PBS を 37°C 条件下にて 1 時間インキュベートし Blocking を実施した後、一次抗体希釈液を滴下し 4°C 条件下で一晩インキュベートした。翌日、洗浄後、二次抗体を反応させ、オールインワン蛍光顕微鏡 BZ-X700 にて観察・撮影を実施した。

定量的・統計解析

Hybrid Cell count や Image J などを用いて、取得した画像解析を実施した。2 群間の統計的有意性は Student's *t*-test により評価した。2 群以上の比較では、*non-repeated measures analysis of variance (ANOVA)* の Tukey's multiple comparisons test を用いた。有意水準を 5% ($p < 0.05$) とした。統計解析とグラフ化はいずれも GraphPad Prism8 (GraphPad Software) を用いて行った。

結果

1. P α -cKO マウスの 1 度の再生能力の検討

間葉系前駆細胞特異的 Tgfb2 変異マウス (P α -cKO; *Pdgfra^{CreERT}::Tgfb2^{lox/lox}*) に CTX を用いて 1 回の再生を誘導した場合、コントロールと同等の数・サイズの筋線維が再構築された。最も顕著な差は、P α -cKO では再生後の Pax7 陽性 MuSC の数がコントロールの約半分になっていた。

2. P α -cKO マウスの繰り返し再生能力の検討

P α -cKO に CTX を用いて 3 度の再生を誘導した場合、コントロールと比較して、P α -cKO では顕著

な筋線維数・サイズの減少などの劇的な再生不全が観察された。Pα-cKO では3度の再生後の Pax7 陽性 MuSC がほとんど存在しないことも明らかとなった。

3. Pα-DTA マウスの繰り返し再生能力の検討

間葉系前駆細胞は病態形成に関与するだけでなく、通常の筋再生などにおいては MuSC の増殖を促進するなどの正の機能も有している[5,6]。Pα-cKO の結果がこの間葉系前駆細胞の再生促進作用の欠如によるものかを検証するために、間葉系前駆細胞欠損マウス(Pα-DTA; *Pdgfra^{CreERT}::Rosa^{DTA}*) に CTX を用いて3度の再生を誘導した場合、コントロールと比較して、若干の再生不全は観察されたが、Pα-cKO と比較して、その表現型はマイルドであった。

4. Pα-cKO における脂肪細胞の蓄積

TGF-β シグナルは、脂肪分化抑制、線維化促進に働くことが知られているため、Pα-cKO マウスの再生不全での脂肪細胞の蓄積に着目した。脂肪細胞のマーカである Perilipin に対する抗体で、CTX1, CTX3 のサンプルを解析したところ、コントロールでは、どちらのサンプルも Perilipin 陽性領域は存在しないが、Pα-cKO では再生を誘導するたびに、劇的に Perilipin 陽性領域が増加することがあきらかとなった。

考察

本年度の成果により、TGF-β シグナルは間葉系前駆細胞の脂肪分化を抑制する生理的な因子であることが明らかとなった。また、本研究より、間葉系前駆細胞における TGF-β シグナルの欠損が、遺伝的に正常である MuSC の自己複製を顕著に阻害することが明らかにした。今回の結果は、筋ジストロフィー患者でみられる進行性の再生能力低下は、脂肪細胞などの再生を阻害する環境 (Pathological niche) の出現により、MuSC の自己複製能が抑制され、さらなる Pathological niche の出現を生み出している可能性が示唆された。Pathological niche 出現に寄与するメカニズム解明さらには、その抑制法の開発により、筋ジストロフィーの病態進行を抑制する薬剤開発につながる事が強く期待された。

結論

- TGF-β シグナルは間葉系前駆細胞の脂肪分化を抑制する生理的なシグナル経路である。
- 間葉系前駆細胞の TGF-β シグナル欠損により、MuSC の自己複製能が低下する。
- MuSC の自己複製能低下は、間葉系前駆細胞由来脂肪細胞などが原因である。

参考文献

- 1 Seale P, Sabourin LA, Girgis-Gabardo A et al. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 2000;102(6):777-786.
- 2 Ogawa R, Ma Y, Yamaguchi M et al. Doublecortin marks a new population of transiently amplifying muscle progenitor cells and is required for myofiber maturation during skeletal muscle regeneration. *Development* 2015;142(1):51-61.
- 3 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* 2010;12(2):143-152.
- 4 Uezumi A, Ito T, Morikawa D et al. Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J Cell Sci* 2011;124(Pt 21):3654-3664.
- 5 Kaneshige A, Kaji T, Zhang L et al. Relayed signaling between mesenchymal progenitors and muscle stem cells ensures adaptive stem cell response to increased mechanical load. *Cell Stem Cell* 2022;29(2):265-280 e266.
- 6 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* 2021;131(1):e139617.

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/バイオエンジニアリング専攻

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(モデル)の開発に取り組んだ。前年度までに、サイズが10–20 nmの高分子材料(高分子ナノルーラーと命名)は全身投与を介して効率良く筋組織に集積することを明らかにした^[1]。そこで本年度は、その集積効率をさらに改善すべく高分子ナノルーラーヘリガンド分子を導入し、体内動態への寄与を評価した。

方法

高分子ナノルーラーの合成

10–20 nm 径にサイズが制御された「高分子ナノルーラー」として、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。この際、PEGの先端にリガンド分子Xを導入することで、「リガンド搭載高分子ナノルーラー(PAsp-g-PEG-X)」を合成した。また、各 PAsp-g-PEG-X を蛍光標識することで、体内動態評価を可能とする設計とした。

臓器分布

各種蛍光標識 PAsp-g-PEG-X を健常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臓器分布(dose %/g tissue)を算出した。

筋組織切片観察

蛍光標識 PAsp-g-PEG-X を健常マウス尾静脈より投与し、一定時間後に組織を摘出・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

¹H NMRによる解析から、狙った組成のリガンド導入高分子ナノルーラー(PAsp-g-PEG-X)が得られたことを確認した。次いで、得られた PAsp-g-PEG-X の臓器分布を評価したところ、Xとして糖分子リガンドを有する PAsp-g-PEG-X1 は、リガンド導入率に依存して骨格筋組織への集積量を増加させる傾向が認められた。具体的には、導入率25%において最大値を示し、0%(リガンドなし)と比較して約2倍高い骨格筋組織集積量となった。

一方、糖鎖を認識するリガンドを導入した PAsp-g-PEG-X2 においては、骨格筋への集積量は0%と比して2倍程度であったが、興味深いことに心臓に対して6倍近い増加が認められた。そこで、PAsp-g-PEG-X2 の心臓への集積挙動を組織切片観察により調べたところ、心臓の組織全体に均一に分布している様子が観察された。X2 リガンドが心臓への組織集積量を大きく改善したメカニズムに関しては現在調査中である。

以上、本研究を通じて、10–20 nm サイズの高分子ナノルーラーにリガンド分子を導入することで、筋組織などへの集積性を有意に改善できることが明らかになった。

参考文献

[1] M. Naito, K. Miyata, et al., Size-tunable PEG-grafted copolymers as a polymeric nanoruler for passive targeting muscle tissues. *J. Control. Release* 347 607–614 (2022).

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, PGF2 α 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解析し、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して進めた。

検討項目：

筋組織におけるプロスタグランジン検出

プロスタグランジン(PGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2 α)の検出法について、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を解析するため、筋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, PGF2 α の産生を解析した。

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

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。また、これまでに確立した質量分析法を用いた定量解析法を用い、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。さらに、RNA-seq解析を行い、プロスタグランジン産生に関わる各種酵素、受容体、筋形成遺伝子、筋分解遺伝子などの遺伝子発現解析を合わせて行った。その結果、

プロスタグランジンの関連遺伝子は筋萎縮とともに変動することが明らかとなった。

結論

本研究課題では、筋組織におけるPGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2 α ファミリー因子の産生動態を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, PGF2 α 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、質量分析によりPGE2とPGD2産生細胞での共発現が認められた。そこで、詳細な検討を進め、RNA-seq解析により、筋萎縮や筋形成に関わるプロスタグランジン合成酵素の遺伝子発現が変動することを明らかとした。

また、今後に向けて、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の予備的試験を行った。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、筋萎縮への効果解析を進めている。

最終的には、筋萎縮や筋形成に関わるプロスタグランジン合成酵素関連の遺伝子発現の解析を進め、筋萎縮性疾患治療薬の創薬起点へとつなげたい。

参考文献

1. 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.
2. 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 mice. (2019) *Sci. Rep.* 9: 6614.

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 CXMD₁ に対しマイクロ・ジストロフィン発現 AAV ベクター (AAV- μ Dys) 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 バイオリアクターおよび WAVE25 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⁾。
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 SPc5-12³⁾ に加え、CK7, 8, 9 プロモーター⁴⁾ 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い、投与個体を決定した。
4. 前年度まで CXMD₁ に対し MSC と AAV の併用投与方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をクライオ電子顕微鏡法を用いて観察した^{5), 6)}。

考察

1. ヒトおよびイヌにおける発現を最適化した AAV- μ Dys 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、形態の観察を行った。

結論

ヒトおよびイヌ AAV- μ Dys 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) Nitahara-Kasahara Y, Nakayama S, Kimura K, Yamaguchi S, Kakiuchi Y, Nito C, Hayashi M, Nakaishi T, Ueda Y, Okada T. Immunomodulatory amnion mesenchymal stem cells preserve muscle function in a mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Stem Cell Research & Therapy*. in press.
- 2) Wada M, Uchida N, Posadas-Herrera G, Kinoh H, Tsunekawa Y, Hirai Y, Okada T. Large-scale purification of functional AAV particles packaging the full genome using short-term ultracentrifugation with a zonal rotor. *Gene Therapy* 2023 Mar 28. doi: 10.1038/s41434-023-00398-x.
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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、様々な遺伝性疾患において病態の改善および進行予防を誘導する有効な手段として実用化に向けた開発が進められている¹。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既に上市されている。現在では DMD 遺伝子の変異ホットスポットのみならず、希少変異を標的とした ASO 開発技術が発展しており、ASO の N-of-1 医薬としての期待が高まっている^{2,3}。一方、RNA 分解作用を利用した核酸医薬については、筋強直性ジストロフィー1 型(DM1)に対して、これまでに三剤の臨床試験が実施されているが、製剤化には至っていない。

ASO の実用化促進には、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⁴。すなわち、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⁵。特に、DM1 では筋肉疲労をはじめ様々な症状が老化による身体的変化と共通性が高いことが報告されているが⁶、加齢と病態メカニズムの関連性については不明な点が多い。そこで本分担研究では、DM1 モデル動物の加齢に伴う病態変化を特徴づけ、ASO 療法の開発を促進する基盤情報を得ることを目的とした。

方法

DM1 モデルマウスとして、異常 CTG リピート変異が付加された変異ヒト骨格筋アクチン遺伝子(HSALR)をホモ接合体として持つ HSALR マ

ウスを用意し、若齢期(2-6 ヶ月齢)、高齢期(12 ヶ月齢)および老齢期(18 ヶ月齢)における CTG リピートと加齢が骨格筋へ及ぼす影響について解析した。健常群には同月齢の FVB/N マウス(日本クレア)を使用した。DM1 骨格筋の損傷を非侵襲的に診断できる新たなバイオマーカーとして各月齢のモデルマウスにおける尿中タイチンを、Mouse Titin N-Fragment Assay Kit(免疫生物研究所)を用いて測定した。加齢による筋強直病態を調べるため、針筋電図検査により前脛骨筋、腓腹筋および大腿四頭筋のミオトニー放電(刺入時異常活動)を評価した。また、四肢握力を指標として、モデルマウスにおける筋強直症状の新たな評価法の確立を試みた。なお、当該動物実験は、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。

結果

HSALR マウスはメスの若齢期において健常群より低い体重曲線を示したが、オスの HSALR マウスにおいては全ての月齢において健常群マウスとの顕著な差は認められなかった。尿中タイチンは、健常群と比較して若齢期の HSALR マウスメスおよびオスにおいて、それぞれ6倍および16倍と有意に高い値を示した。本マウスにおける尿中タイチンの値は、メスおよびオス共に12ヶ月齢で最も高く、老齢群18ヶ月齢では低下した。一方、代表的な骨格筋損傷マーカーである血清クレアチンキナーゼ(CK)では、HSALR マウスと健常群マウスにおいて有意差は認められず、また若齢群、高齢群、および老齢群の HSALR マウス間においても有意な変化は認められなかった。

針筋電図検査では、2 から 18 ヶ月齢いずれの HSALR マウスの前脛骨筋、腓腹筋、および大腿四頭筋において筋強直の指標であるミオトニー放電が顕著に観察された。最も顕著なミオトニー放電は腓腹筋において観察された。握力測定による DM1 モデルマウスの筋強直症状を評価したところ、最大握力では健常群との差は認められなかった。一方、最大筋力差による解析では、HSALR マウスは健常群と比べて有意な筋力差を示した。筋力差で示される連続的な収縮ができ

ない HSALR マウス骨格筋の機能不全は、全ての月齢において観察された。

考察

HSALR マウスの血清 CK 値は健常群と比べて有意な変化は認められなかった。一方で、HSALR マウスの尿中タイチンは、健常群マウスに比べて、いずれの月齢においても高い値を示したことから、尿中タイチンが異常伸長 CTG リピートによる骨格筋損傷を鋭敏に検出できるバイオマーカーである可能性が示された。また、HSALR マウスの尿中タイチンは老齢期の 18 ヶ月齢に比べて、活動量が大きい 12 ヶ月齢において高い値を示したことから、異常伸長 CTG リピートの骨格筋損傷への影響は、加齢のみならず、骨格筋負荷の程度など複数の要因が関与している可能性が考えられた。組織標本の解析からも加齢に伴う筋損傷マーカーの変化が観察されていることから、今後は CTG リピートと加齢の骨格筋に対する相乗的な影響を分子メカニズムの観点から解析する必要がある。

HSALR マウスいずれの月齢においてもミオトニー放電が観察されたことから、本 HSALR マウスが老化骨格筋における筋強直発生メカニズムを解析する上で有望なモデルであることが示された。また、本研究で確立した筋力差解析は、随意的な筋収縮後に筋弛緩が困難となる筋強直の特徴を考慮した手法であることから、従来の最大筋力による解析と比べて、明瞭に筋強直を評価できることが明らかとなった。すなわち、本法は核酸医薬をはじめとする開発医薬品のマウスモデルを用いた非臨床試験において、骨格筋機能に対する改善効果のより正確な評価を可能にするものと考えられる。

結論

本研究では、代表的な DM1 モデルである HSALR マウスを用いて、異常伸長 CTG リピートが発現している骨格筋の加齢病態を解析するために有用な非侵襲的骨格筋損傷マーカー、ならびにモデルマウスにおける筋強直の新たな評価法を確立した。

参考文献

1. Duan, D, Goemans, N, Takeda, S,

- Mercuri, E, and Aartsma-Rus, A (2021). Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers* **7**: 13.
2. Echigoya, Y, and Yokota, T (2023). Restoring Dystrophin Expression with Exon 44 and 53 Skipping in the DMD Gene in Immortalized Myotubes. *Methods Mol Biol* **2587**: 125-139.
3. Chiba, S, Lim, KRQ, Sheri, N, Anwar, S, Erkut, E, Shah, MNA, *et al.* (2021). eSkip-Finder: a machine learning-based web application and database to identify the optimal sequences of antisense oligonucleotides for exon skipping. *Nucleic Acids Res* **49**: W193-w198.
4. Aoki, Y, Nagata, T, Yokota, T, Nakamura, A, Wood, MJ, Partridge, T, *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**: 4914-4928.
5. Echigoya, Y, Lee, J, Rodrigues, M, Nagata, T, Tanihata, J, Nozohourmehrabad, A, *et al.* (2013). Mutation types and aging differently affect revertant fiber expansion in dystrophic mdx and mdx52 mice. *PLoS One* **8**: e69194.
6. Hasuike, Y, Mochizuki, H, and Nakamori, M (2022). Cellular Senescence and Aging in Myotonic Dystrophy. *Int J Mol Sci* **23**.

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

これまで骨格筋選択的な ISPD-cKO マウスを用い

てプロドラッグ化 CDP-リビトール補充療法の有効性を提唱してきた(2)。現在プロドラッグ化合物の更なる改良を進めている。また、ISPD 点変異マウスの作出を終え、病態解析とリビトール投与を開始したところである。予備的データからはリビトール投与によって筋力が改善していることが示唆される。

本年度は種々の DG 異常症モデルマウスを用いた病態解明も行った。基底膜と細胞骨格の連携は筋細胞膜の物理的維持に重要であり、筋線維においては主に DG が糖鎖依存的にその役割を担っている。DG 異常症モデルマウスにおいて、膜貫通型タンパク質 CD239 (ルテラン) とそのマトリクスリガンドであるラミニン 511 の発現上昇が検出された(3)。これらの発現上昇は再生筋においても観察された。CD239 は細胞内でスペクトリンと結合すること、スペクトリンはアクチンと結合することから、DG 異常症の筋線維においては、ラミニン 211-ジストログリカン-ジストロフィン軸の機能破綻を部分的に代償している可能性が示唆された。

考察

CDP-リビトール補充療法はどのような ISPD 変異でも適応可能であり、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事が考えられる。ただし、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。一方で、CDP-リビトールの材料となるリビトールの補充療法は ISPD 点変異の症例にくわえ、FKRP 変異型の DG 異常症でも有効であることが示唆されており、今後の臨床研究の展開に興味もたれる。

インシリコ解析からラミニン 511-CD239-スペクトリンの発現上昇とステロイド療法の相関が示唆されたが、DG 異常症の病態、特にラミニン 211-ジストログリカン-ジストロフィン軸を機能的に代償しているか否かについては注意深く考察する必要がある。DG 糖鎖と CD239 の二重変異マウスを用いた解析等が必要である。

結論

ISPD 欠損型筋ジストロフィーに対するプロドラッグ化 CDP-リビトール補充療法の有効性を実証し

た。DG 異常症の分子病態の機序としてラミニン 511-CD239-スペクトリン軸の発現上昇を見出した。

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)
- (3) Kikkawa, et al. Elucidation of the mechanism of glycosylation related to dystroglycanopathy and its therapeutic application: Laminin α 5_CD239_Spectrin is a compensatory linkage between the basement membrane and cytoskeleton. *Matrix Biol Plus.* 15, 100118 (2022)

骨格筋特異的な PGC-1 α 過剰発現は伸張性収縮後の筋損傷を防止する

山田 崇史
札幌医科大学

緒言

伸張性収縮 (eccentric contraction; ECC) は、他の収縮様式と比べ骨格筋の肥大適応に有益である (Ashida *et al.*, 2018). 一方、ECC は、筋損傷を引き起こしやすいことが広く知られており、過度の ECC が負荷されると、筋力の低下は数日から数週間継続する (Lavender & Nosaka, 2006; Yamada *et al.*, 2018; Ashida *et al.*, 2021). ECC 後には、筋細胞内酵素であるクレアチンキナーゼ (creatine kinase; CK) が血中で検出されることから、ECC に伴う力学的負荷の増大が、直接的に筋細胞膜の損傷を引き起こす、いわゆる「Membrane tear 説」が支持されてきた (Moens *et al.*, 1993; Petrof *et al.*, 1993). しかしながら、ECC 負荷直後には組織学的な筋細胞膜の損傷がほとんど観察されないこと (Komulainen *et al.*, 1994; Yamada *et al.*, 2018)、また、血中 CK 値が筋損傷の程度と必ずしも相関しないこと (Mair *et al.*, 1995; Fridén & Lieber, 2001) が明らかとなり、この説は否定されつつある。一方、近年、筋細胞膜のストレッチ活性化型チャンネル (Allen *et al.*, 2016) や筋小胞体の Ca²⁺放出チャンネル (Witherspoon & Meilleur, 2016) を介した細胞内 Ca²⁺濃度の上昇が、ECC による筋損傷の起点となることが報告され注目を集めている (Zhang *et al.*, 2012).

先行研究において、ECC に対する易損傷性は筋線維タイプによって大きく異なることが示されている (Fridén *et al.*, 1983; Lieber & Fridén, 1988; Choi & Widrick, 2010). 筋線維タイプは、含まれるミオシン重鎖 (myosin heavy chain; MyHC) のアイソフォームによって決定され、ヒトでは、速筋型の Type IIb および IIa 線維と遅筋型の Type I 線維が、一方、げっ歯類では、これらに加え速筋型の Type IIc 線維が発現している。これまでに、Type IIb 線維は、他の筋線維タイプと比べ、ECC による損傷を受け易いことがヒト (Fridén *et al.*, 1983; Choi & Widrick, 2010) および実験動物 (Lieber & Fridén, 1988) において報告されている。しかしながら、筋線維タイプ特異的な ECC に対する感受性の違いが、何によって決定され

るかは不明である。

ペルオキシソーム増殖因子活性化レセプター γ 共役因子 -1 α (peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α ; PGC-1 α) は、骨格筋においてミトコンドリアの量や機能を制御する転写因子として知られており、その発現量は、有酸素性能力の高い Type I 線維と比較して、有酸素性能力の低い Type IIb 線維では低い (Lin *et al.*, 2002). また、PGC-1 α は、細胞膜タンパク質であるユートロフィンの発現量を増加させるため (Angus *et al.*, 2005)、遅筋線維に比べ、速筋線維においてユートロフィンの発現量が低い (Lindsay *et al.*, 2019) .

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (Duchenne muscular dystrophy; DMD) 患者の骨格筋では、ジストロフィンの欠損により、ECC に対する易損傷性が著しく亢進する (Blaauw *et al.*, 2010). 興味深いことに、DMD モデル動物の骨格筋において PGC-1 α を過剰発現させると、ECC に対する易損傷性が改善することが報告されている (Handschin *et al.*, 2007b; Hollinger *et al.*, 2013; Chan *et al.*, 2014). これらの報告では、筋線維タイプを識別していないが、ジストロフィン欠損筋では速筋線維が損傷を受けやすいことから (Webster *et al.*, 1988)、PGC-1 α の発現量増大は、Type IIb 線維の損傷耐性を向上させると考えられる。一方、そのメカニズムに関しては、ユートロフィンの発現量増大が関与するとする報告と (Handschin *et al.*, 2007b; Selsby *et al.*, 2012; Hollinger *et al.*, 2013)、関与しないとする報告 (Chan *et al.*, 2014; Hollinger & Selsby, 2015) が存在する。

そこで本研究では、ECC に対する筋線維の損傷耐性における PGC-1 α の役割を明らかにするために、骨格筋特異的な PGC-1 α の過剰発現が、速筋型の Type IIb 線維の易損傷性を改善するかどうかを検討した。また、その場合、ユートロフィンの発現量増大が、効果のメカニズムに関与するかについても併せて検討した。

方法

1. 倫理的配慮

実験動物の生命を尊重し、最小限の動物数を使用した。また、麻酔 (インフルラン 1.5%, 1.5 L/min) により実験中の除痛を行うとともに、実験終了後には苦痛の遮断として、頸椎脱臼により安楽死処置を行った。なお、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：20-108_21-060）。

2. 実験動物および実験プロトコール

実験には、17-18 週齢の C57BL/6N 野生型 (wild type; WT) マウスと骨格筋特異的に PGC-1 α -b を過剰発現させた PGC-1 α transgenic (Tg) マウスを用いた。Tg マウスは、ヒト α アクチンプロモーターにより骨格筋特異的に PGC-1 α -b mRNA を過剰発現する遺伝子導入マウスであり (Tadaishi *et al.*, 2011), 開発者である静岡県立大学の三浦進司教授よりご提供頂いた。水および試料は自由摂取とし、12 時間の明暗サイクルの照明下で室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$ を常時維持した飼育室においてマウスを飼育した。すべてのマウスの左後肢は損傷性の伸張性収縮負荷 (ECC) 側とした。一方、右後肢は無処置の対照 (control; CNT) 側とした。下腿三頭筋に対し損傷性 ECC を負荷した直後 (recovery 0 day; REC0, 各群 $n=7$) および 3 日後 (recovery 3 days; REC3, 各群 $n=7$) に下腿三頭筋の大部分を占める腓腹筋を採取し、その後の実験に供した。

3. 伸張性収縮負荷プロトコール

Ashida ら (Ashida *et al.*, 2021) の方法に準じ、マウスの足関節底屈筋に ECC を負荷した。実験を通して持続的に麻酔を供給するため、実験動物用全身麻酔器 (Bio machinery 社製) に接続したフェイスマスクをマウスの頭部に装着し、イソフルラン (1.5 %, 1.5 L/min) を吸引させた。電気刺激に対する皮膚抵抗を軽減するため、マウスの下腿を剃毛した。マウスをプラットホーム上に背臥位で置き、足部を小動物用トルク測定器 (竹井機器社製) に連結した足底板に足関節底背屈 0° となるよう固定した。電気刺激により誘発される足関節運動に伴う体動を防ぐため、体幹をプラットホームにテーピングで固定した。電極は、表面電極を下腿前面と下腿後面に貼付し、電気刺激を刺激頻度 50 Hz, パルス幅 0.5 ms, 刺激強度 45 V で与えると同時に、足底板と連結したモーターによって、マウスの足関節を底背屈 0° から背屈 40° まで、角速度 $150^\circ/\text{s}$ で背屈させ、ECC を惹起した。ECC の負荷回数は、4 秒に 1 回の収縮を 1 サイクルとし、100 回とした。

4. トルクの測定

損傷性 ECC 負荷直前, REC0, REC1, REC3 に、最大 (100 Hz) および最大下 (50 Hz) の等尺性足関節底屈トルクを測定した。ECC 負荷時と同様にマウスを背臥位でプラットホーム上に固定し、足関節を底背屈 0° に固定したまま下腿後面に電気刺激を加え、筋収縮を惹起した。刺激条件は、パルス幅 0.5 ms, 刺激強度 45 V, 持続時間 0.6 s とした。

5. 組織学的検討

ヘマトキシリン・エオジン (hematoxylin-eosin; HE) 染色およびエバンスブルー染色液 (evans blue dye; EBD) 投与を用い、REC0 および REC3 の腓腹筋において組織学的観察を行った。筋を採取する 9 時間前に、リン酸緩衝生理食塩水に 1% の濃度で溶かした EBD をマウス腹腔内に投与した (0.1 ml/10 g body weight)。なお、EBD は、細胞膜が損傷すると細胞内に浸潤するため、EBD 陽性線維は、筋細胞膜が損傷された筋線維を示す。実験期間終了後、腓腹筋中間部からサンプルを採取した。採取した筋は横断面が水平になるようトラガントゴムを用いてコルク片の上に保定し、液体窒素で冷却したイソペンタンで急速凍結後、分析まで -80°C で保管した。その後、クライオスタットを用いて厚さ $10 \mu\text{m}$ の連続切片を作成し、HE 染色を施した。EBD の観察には、蛍光顕微鏡 (BZ-X700, KEYENCE 社製) を用いた。EBD 組織像は、励起波長 620 nm, 吸収波長 700 nm の蛍光フィルタ (BZ フィルタ Cy5, KEYENCE 社製) を使用し、露光時間 1/2.3 s の条件で撮像した。HE 染色像は明視野にて撮像した。EBD 組織像および HE 染色像の定量には解析ソフトウェア (BZ-X analyzer, KEYENCE 社) を用いた。EBD 陽性面積は、 $350 \mu\text{m}^2$ 以上の面積にあたる蛍光面積を抽出するとともに、明らかに細胞間質であると判別できるものは選択除去し、残った EBD 陽性面積を、HE 染色像より得られた全筋横断面積で補正した値 (EBD 陽性面積 / 全筋横断面積) で表した。

6. 免疫組織化学的検討

本研究では、骨格筋特異的な PGC-1 α 過剰発現によって、ECC 負荷後の Type IIb 線維における筋細胞膜損傷が軽減するかを検討するために、EBD 陽性線維の観察に加え、免疫組織化学染色によって Type IIb 線維を染め分けた。腓腹筋の凍結標本から、厚さ $10 \mu\text{m}$ の切片を作成し、on ice にて 4%PFA/PBS で

10 分間固定した。PBS にて 5 分間 3 回洗浄を行い、0.3% Triton in PBS にて透過処理を行った。その後再び PBS にて 5 分間洗浄を行い、ブロッキング液 (5% normal goat serum in PBS) にてブロッキングを行った。その後、ブロッキング液にて 150 倍に希釈した抗 MyHC IIb 抗体 (BF-F3, DSHB) をスライドガラスに 180 μ l ずつ乗せ、4°C で一晩保管した。その後、PBS にて 5 分間 2 回洗浄を行い、ブロッキング液にて 200 倍に希釈した二次抗体 (goat anti-Mouse IgM, Alexa 488) を、スライドガラスに 180 μ l ずつアプライし、室温で 1 時間保管した。終了後、氷上にて 4% PFA/PBS で 2 分間固定し、PBS にて 5 分間 2 回洗浄し DAPI 入りの封入剤で封入した。観察には、蛍光顕微鏡 (BZ-X700, KEYENCE 社製) を用い、励起波長 470 nm, 吸収波長 525 nm の蛍光フィルタ (BZ フィルタ GFP, KEYENCE 社製) を使用し撮像した。

7. MyHC アイソフォームの分布

MyHC のアイソフォームを分離するために、先行研究に準じ (Wada *et al.*, 1996), 5 μ g の筋ホモジネイトを 7% アクリルアミドゲルを用いた SDS-PAGE にて、4°C, 160V で 24 時間泳動した。その後、Coomassie brilliant blue 染色により可視化した MyHC アイソフォームを、画像解析ソフト ImageJ で解析し分布を算出した。

8. カルパイン 1 の自己分解

採取した腓腹筋 20 mg 程度を、ホモジナイザーにて 30 倍のホモジナイズ溶液 (EDTA, 5; EGTA, 5; Tris/HCl, 20 (pH 7.4); 10 μ g/ml 4-(2-aminoethyl)-benzenesulfonyl fluoride (AEBF); phenylmethylsulfonyl fluoride, 0.5; dithiothreitol (DTT), 1; 10 μ g/ml pepstatin A) 内で均質化した。タンパク濃度の定量化は Bradford 法により行った (Bradford, 1976)。Kanzaki ら (Kanzaki *et al.*, 2014) の先行研究に準じ、20 μ g のタンパク質を 7% SDS ポリアクリルアミドゲルで分離し、anti-calpain 1 抗体 (1000 倍希釈) を用いてウェスタンブロッティングを行った。カルパイン 1 の自己分解の割合は、総カルパイン 1 量に対する自己分解型カルパイン 1 の量で表した。

9. ウェスタンブロッティング

採取した腓腹筋 20 mg 程度を、ホモジナイザーにて 30 倍のトリス溶液 (10 mM Tris Maleate, 35 mM

NaF, 1 mM NaVO₄, 1% Triton X 100, 1 tablet of Protease Inhibitor/50 ml) 内で均質化した。全筋のタンパク濃度を、Bradford 法により定量化した (Bradford, 1976)。全筋タンパク質を、ゲル (4-15% Mini-PROTEAN TGX Stain-Free™ Gels, BIO-RAD 社製) に、1 レーンあたり 5 μ g ずつのせ、150 V で 45 分間泳動した。泳動後、ChemiDoc MP イメージシステム (BIO-RAD 社製) によりゲルからタンパク質バンドを検出した。その後、セル (Mini PROTEAN II Cell, BIO-RAD 社製) を用い、100 V で 180 分間通電し、タンパク質をゲルからメンブレン上に転写した。メンブレンは、3% (w/v) スキムミルク中にて 1 時間ブロッキングした後、標的タンパク質の一次抗体と 4°C に保った冷蔵庫内で一晩〜二晩反応させた。一次抗体は下記のものを用いた。PGC-1 α (anti-PGC-1 α : 1000 倍希釈, abcam 社製), ユートロフィン (anti-utrophin antibody (UT-2), 1000 倍希釈, 国立精神・神経医療研究センターの今村道博博士より分譲)。洗浄後、10000 倍に希釈した 2 次抗体 (goat anti-rabbit 抗体, BIO-RAD 社製) と室温で 1 時間反応させ、さらに洗浄を行った。タンパクの可視化には Immobilon (Millipore 社製) を用い、ChemiDoc MP (BIO-RAD 社製) によりバンドの検出及び定量を行った。なお、各タンパク質の発現量は、全タンパク質の発現量に対する相対値で表した。

10. リアルタイム定量 PCR

RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (QIAGEN 社製) を用いて腓腹筋から total RNA を抽出し、RNA 逆転写酵素 (Prime Script RT Master Mix, TaKaRa 社製) を使用して cDNA を合成した。その後、Applied Biosystems 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems 社製) にて、Power SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems 社製) を用い SYBR Green 遺伝子発現アッセイを行った。プライマーは以下のものを使用した : PGC-1 α (forward 5'-CGGAAATCATATCCAACCAG-3', reverse 5'-TGAGGACCGCTAGCAAGTTTG-3'), PGC-1 β (forward 5'-CAGCTGTGTGCTGACTTGCC-3', reverse 5'-TCAAAGTCACTGGCGTCCAG-3'), 36B4 (forward 5'-GGCCCTGCACTCTCGCTTTC-3', reverse 5'-TGCCAGGACGCGCTTGT-3')。なお、それぞれの mRNA 発現量は、まず 36B4 の mRNA 発現量に対する相対値を算出し、その後比較 Ct 法 (Livak &

Schmittgen, 2001)を用い、WT 群に対する相対値にて表した。

11. 統計学的処理

統計分析は、統計ソフト SigmaPlot を用いて行い、各データは、平均 ± 標準偏差で示した。各群の等尺性足関節底屈トルクの比較には、二元配置反復測定分散分析を用いた。また、カルパイン 1 の自己分解、細胞膜関連蛋白質の発現量の比較には二元配置分散分析を用いた。有意差が認められた場合は Post-hoc test として Tukey 法を適用した。一方、組織学的分析、MyHC アイソフォームの分布、PGC-1 α と PGC-1 β の mRNA 発現量、PGC-1 α のタンパク質発現量の群間比較には、対応のない t 検定を用いた。なお、有意水準は 5%とした。

結果

1. PGC-1 α 過剰発現マウスの表現型

WT マウスと比較して、Tg マウスの腓腹筋では PGC-1 α の mRNA 発現量が高値を示した (WT : 108 ± 44 arbitrary unit (a.u.), Tg : 1020 ± 379 a.u.) ($P < 0.05$)。一方、PGC-1 β の mRNA 発現量に両群間で差異は認められなかった (WT : 127 ± 51 a.u., Tg : 168 ± 63 a.u.)。WT マウスと比較して、Tg マウスの腓腹筋では PGC-1 α の発現量は高値を示した (WT : 106 ± 44 a.u., Tg : 1012 ± 366 a.u.) ($P < 0.05$)。また、WT マウスと比較して、Tg マウスの腓腹筋では Type IIb 線維の割合が減少し (WT : 90 ± 5%, Tg : 62 ± 10%) ($P < 0.05$)、Type IIa/d 線維の割合が増加した (WT : 9 ± 5%, Tg : 36 ± 9%) ($P < 0.05$)。一方で Type I 線維の割合に変化は無かった (WT : 1 ± 0.5%, Tg : 2 ± 1%)。

2. 等尺性足関節底屈トルク

WT+ECC 群の発揮トルクは、損傷前に比べ、REC0 (50 Hz : 33 ± 4%, 100 Hz : 50 ± 6%), REC1 (50 Hz : 32 ± 11%, 100 Hz : 63 ± 6%), REC3 (50 Hz : 24 ± 12%, 100 Hz : 42 ± 8%) のいずれにおいても低下した ($P < 0.05$)。一方、Tg+ECC 群では、WT+ECC 群と比較して、REC0, REC1, REC3 のいずれにおいても 50 Hz および 100 Hz の発揮トルクが高値を示した ([REC0] 50 Hz : 51 ± 4%, 100 Hz : 69 ± 8%, [REC1] 50 Hz : 77 ± 22%, 100 Hz : 96 ± 6%, [REC3] 50 Hz : 75 ± 15%, 100 Hz : 92 ± 8%) ($P < 0.05$)。

3. 組織学的検討

REC0 では両群ともにほとんど EBD 陽性線維は認められなかった。一方、REC3 において、WT+ECC 群では、EBD 陽性線維が数多く認められ、その総面積は全筋横断面積の 44 ± 8% を占めた。これに対し、Tg+ECC 群では、EBD 陽性線維がほぼ観察されなかった (0.2 ± 0.2%)。

4. 免疫組織学的検討

WT+ECC 群において、REC3 で観察された EBD 陽性線維は、全て Type IIb 線維であった。一方、Tg+ECC 群では、Type IIb 線維であっても、EBD 陽性となる筋線維はほとんど観察されなかった。

5. ユートロフィンの発現

安静状態において、WT 群と比較して Tg 群では、ユートロフィンの発現量が高値を示した (WT : 109 ± 43 a.u., Tg : 220 ± 48 a.u.) ($P < 0.05$)。REC0 では、WT+ECC および Tg+ECC とともに、WT+CNT 群および Tg+CNT 群と比べユートロフィンの発現量に変化は無かった (WT : 109 ± 43 a.u., WT+ECC : 111 ± 43 a.u., Tg : 220 ± 108 a.u., Tg+ECC : 208 ± 90 a.u.)。REC3 において、WT+ECC 群では、WT+CNT 群と比較してユートロフィンの発現量が増加した (WT : 100 ± 45 a.u., WT+ECC : 184 ± 72 a.u.) ($P < 0.05$)。一方、Tg+ECC 群では、これらの変化は生じなかった (Tg : 201 ± 68 a.u., Tg+ECC : 190 ± 50 a.u.)。

6. カルパイン 1 の自己分解

REC0 において、カルパイン 1 の自己分解の割合はすべての群間で差異が認められなかった (WT : 12 ± 2%, WT+ECC : 14 ± 4%, Tg : 10 ± 1%, Tg+ECC : 10 ± 2%)。一方、REC3 におけるカルパインの自己分解の割合は、WT+ECC 群で、WT+CNT 群および Tg+ECC 群と比較して高値を示した (WT : 13 ± 3%, WT+ECC : 24 ± 8%, Tg+ECC : 8 ± 2%) ($P < 0.05$)。また、Tg+CNT 群と Tg+ECC 群との間に差異は認められなかった (Tg : 10 ± 4%, Tg+ECC : 8 ± 2%)。

考察

本研究では、骨格筋特異的な PGC-1 α 過剰発現 (Tg) マウスを用い、筋線維の損傷耐性における PGC-1 α の役割を検討した。本研究の結果、主に Type

IIB 線維で構成されるマウス腓腹筋において、損傷性 ECC 後の長期的な発揮トルクの低下が、PGC-1 α の過剰発現により防止された。また、ECC により損傷を受けた Type IIB 線維の割合は、WT マウスの腓腹筋では著しく増加したが、Tg マウスではほとんど観察されなかった。さらに、Tg マウスで認められたこれらの有益な作用は、筋細胞膜の安定性に寄与するユートロフィンの発現量増加を伴っていた。

従来、過度の ECC による筋損傷は、ECC 負荷中の力学的ストレス増大による細胞膜損傷に起因すると考えられてきた(Moens *et al.*, 1993; Petrof *et al.*, 1993)。もし、この考えが正しいとすれば、ECC 負荷直後に、筋細胞膜の損傷が観察されるはずである。しかしながら、先行研究と一致して(Komulainen *et al.*, 1994; Yamada *et al.*, 2018)、本研究においても、組織学的な細胞膜損傷は ECC 負荷直後にはほとんど認められず、3 日後において顕著に観察された。この遅発性の筋損傷がどのようなメカニズムで生じるかに関しては未だ不明な点が多いが、以下の 1~4) に示す Ca²⁺仮説が有力視されている：1) 筋細胞膜のストレッチ活性化型チャネル(Allen *et al.*, 2016) や筋小胞体の Ca²⁺放出チャネル(Witherspoon & Meilleur, 2016)を介した細胞内 Ca²⁺濃度の上昇、2) Ca²⁺依存性のタンパク質分解酵素であるカルパインの活性化による筋タンパク質の分解(Kanzaki *et al.*, 2017)、3) Ca²⁺依存性のリン脂質分解酵素である PLA2 の活性化による筋細胞膜融解と炎症細胞走化性因子の産生(Willems & Stauber, 2003)。4) 浸潤した炎症細胞からの ROS 放出による二次的な細胞膜損傷の拡大(Tidball, 2011)。

本研究の結果、PGC-1 α の過発現により、ECC による損傷を受けやすい速筋型の Type IIB 線維において、細胞膜損傷がほぼ完全に抑制された。加えて先行研究において、骨格筋特異的な PGC-1 α 欠損動物では、野生型動物と比較して、上り坂走行後の筋細胞膜損傷が生じやすいことが示されている(Handschin *et al.*, 2007a)。したがって、骨格筋線維の ECC に対する損傷耐性には、PGC-1 α 経路の活性化が重要な役割を果たすことが明らかとなった。

先行研究において、PGC-1 α は、コスタメアタンパク質であるユートロフィンのプロモーター領域に存在する N-box を介して、ユートロフィン発現を誘導することが示されている(Angus *et al.*, 2005)。また、PGC-1 α の過発現は、ジストロフィン欠損筋の易損

傷性を改善し、それはユートロフィンの発現量増大と関連することが報告されている(Handschin *et al.*, 2007b; Selsby *et al.*, 2012; Hollinger *et al.*, 2013)。本研究においても、PGC-1 α 過剰発現マウスの筋では、ユートロフィン発現量が増大したことから、PGC-1 α の有益な作用には、ユートロフィン発現を介した細胞膜構造の強化が関与するかもしれない。しかしながら、前述の通り、ECC による細胞膜損傷は、ECC 負荷直後には観察されなかった。したがって、PGC-1 α によるユートロフィン発現量の増大が、外的ストレスによる細胞膜損傷を防止するとは考えにくく、PGC-1 α がユートロフィンとは異なる経路を介して作用する可能性が高い。この考えを支持するように、Chan ら(Chan *et al.*, 2014)は、ジストロフィンとともにユートロフィンが欠損したマウスにおいても、PGC-1 α の過剰発現が病態を改善することを報告している。また、近年、ジストロフィン-糖タンパク質複合体などのコスタメアタンパク質が、遅筋線維に比べ速筋線維においてより多く発現することが明らかとなり、細胞膜の強度はそもそも速筋線維において高いことが指摘されている(Murgia *et al.*, 2021)。

この点に関して、PGC-1 α の過発現は、ECC による細胞膜損傷とともに、Ca²⁺依存性タンパク分解酵素であるカルパイン 1 の活性化を防止した。したがって、PGC-1 α の過発現により、ECC に伴う筋細胞膜のストレッチ活性化型チャネル(Allen *et al.*, 2016) や筋小胞体の Ca²⁺放出チャネル(Witherspoon & Meilleur, 2016)を介した細胞内 Ca²⁺濃度の上昇が抑えられた可能性がある。そのメカニズムは不明だが、これらのチャネルの活性化には酸化ストレスが関与すること(Whitehead *et al.*, 2008; Shkryl *et al.*, 2009)、一方、PGC-1 α は酸化ストレスに拮抗して働く抗酸化酵素の発現を誘導することから(St-Pierre *et al.*, 2006)、PGC-1 α による酸化ストレスの抑制が、チャネル活性化による細胞内 Ca²⁺濃度の上昇を防止したのかもしれない。

また、ミトコンドリアは Ca²⁺を取り込む能力を有しているため、PGC-1 α 過剰発現によるミトコンドリア量の増加が細胞内 Ca²⁺濃度の上昇を抑制した可能性がある。しかしながら、近年、ミトコンドリアが取り込むことができる Ca²⁺は限定的であることが報告されたことから(Lamboley *et al.*, 2021)、PGC-1 α 過剰発現によるミトコンドリア量の増加が、伸張性収縮に対する損傷耐性の獲得に与える影響は小さい

考えられる。

本研究では、骨格筋特異的な PGC-1 α 過剰発現によって損傷性 ECC 後の長期的な発揮トルクの低下が防止されることが明らかにされた。ECC による張力低下は、興奮収縮連関の機能不全が主たる原因であると考えられており (Warren *et al.*, 2001, 2002), そのメカニズムには、カルパインによるジャンクトフィリンや STAC3 などの Ca²⁺調節タンパク質の分解が関与すると考えられている (Powers *et al.*, 2005; Ashida *et al.*, 2021)。前述したとおり、PGC-1 α の過剰発現は、カルパイン 1 の活性化を防止した。そのため、Tg マウスの腓腹筋では、ECC に伴うカルパイン 1 の活性化による興奮収縮連関の障害が生じなかった可能性が高い。

ECC に伴う速筋線維の損傷は、競技者において高い頻度で認められ、その回復には長期間を要する (Lavender & Nosaka, 2008)。また、DMD 患者では、細胞膜タンパク質であるジストロフィンの欠損により、ECC に対する速筋線維の脆弱性が著しく亢進する (Blaauw *et al.*, 2010)。一方、PGC-1 α の発現量は、運動や電気刺激トレーニングによって効果的に増大することが広く知られている (Granata *et al.*, 2018; Yamada *et al.*, 2021)。さらに近年、人工的に合成したメッセンジャー RNA (mRNA) を体内に投与し、治療薬やワクチンとして用いる mRNA 医薬・ワクチンが注目されている。本研究ならびに先行研究 (Handschin *et al.*, 2007b; Selsby *et al.*, 2012; Hollinger *et al.*, 2013; Chan *et al.*, 2014) において、正常筋およびジストロフィン欠損筋における PGC-1 α 発現量の増大が、速筋線維の易損傷性を改善することが示されたことから、PGC-1 α を分子標的とした適切なトレーニングの処方や治療法が開発されることで、競技者ならびに DMD 患者における筋損傷予防に寄与することが期待される。

結論

骨格筋線維の ECC に対する損傷耐性には、PGC-1 α の活性化が関与することが明らかとなった。また、PGC-1 α によるこの有益な作用は、ユートロフィン発現とは異なる経路を介して獲得されることが示唆された。本研究で得られた知見は競技者や DMD 患者において頻繁に生じる、ECC による筋損傷に対する効果的な予防プログラムの確立に寄与すると考えられる。

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.
- Angus LM, Chakkalakal JV, Méjat A, Eibl JK, Bélanger G, Megeney LA, Chin ER, Schaeffer L, Michel RN & Jasmin BJ. (2005). Calcineurin-NFAT signaling, together with GABP and peroxisome PGC-1{alpha}, drives utrophin gene expression at the neuromuscular junction. *Am J Physiol Cell Physiol* **289**, C908-917.
- Ashida Y, Himori K, Tamai K, Kimura I & Yamada T. (2021). Preconditioning contractions prevent prolonged force depression and Ca(2+)-dependent proteolysis of STAC3 after damaging eccentric contractions. *J Appl Physiol (1985)* **131**, 1399-1407.
- Ashida Y, Himori K, Tatebayashi D, Yamada R, Ogasawara R & Yamada T. (2018). Effects of contraction mode and stimulation frequency on electrical stimulation-induced skeletal muscle hypertrophy. *J Appl Physiol (1985)* **124**, 341-348.
- Blaauw B, Agatea L, Toniolo L, Canato M, Quarta M, Dyar KA, Danieli-Betto D, Betto R, Schiaffino S & Reggiani C. (2010). Eccentric contractions lead to myofibrillar dysfunction in muscular dystrophy. *J Appl Physiol (1985)* **108**, 105-111.
- Bradford MM. (1976). A rapid and sensitive

- method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* **72**, 248-254.
- Chan MC, Rowe GC, Raghuram S, Patten IS, Farrell C & Arany Z. (2014). Post-natal induction of PGC-1 α protects against severe muscle dystrophy independently of utrophin. *Skelet Muscle* **4**, 2.
- Choi SJ & Widrick JJ. (2010). Calcium-activated force of human muscle fibers following a standardized eccentric contraction. *Am J Physiol Cell Physiol* **299**, C1409-1417.
- Fridén J & Lieber RL. (2001). Serum creatine kinase level is a poor predictor of muscle function after injury. *Scand J Med Sci Sports* **11**, 126-127.
- Fridén J, Sjöström M & Ekblom B. (1983). Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int J Sports Med* **4**, 170-176.
- Granata C, Jamnick NA & Bishop DJ. (2018). Training-Induced Changes in Mitochondrial Content and Respiratory Function in Human Skeletal Muscle. *Sports Med* **48**, 1809-1828.
- Handschin C, Chin S, Li P, Liu F, Maratos-Flier E, LeBrasseur NK, Yan Z & Spiegelman BM. (2007a). Skeletal muscle fiber-type switching, exercise intolerance, and myopathy in PGC-1 α muscle-specific knock-out animals. *Journal of Biological Chemistry* **282**, 30014-30021.
- Handschin C, Kobayashi YM, Chin S, Seale P, Campbell KP & Spiegelman BM. (2007b). PGC-1 α regulates the neuromuscular junction program and ameliorates Duchenne muscular dystrophy. *Genes Dev* **21**, 770-783.
- Hollinger K, Gardan-Salmon D, Santana C, Rice D, Snella E & Selsby JT. (2013). Rescue of dystrophic skeletal muscle by PGC-1 α involves restored expression of dystrophin-associated protein complex components and satellite cell signaling. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **305**, R13-23.
- Hollinger K & Selsby JT. (2015). PGC-1 α gene transfer improves muscle function in dystrophic muscle following prolonged disease progress. *Exp Physiol* **100**, 1145-1158.
- Kanzaki K, Kuratani M, Matsunaga S, Yanaka N & Wada M. (2014). Three calpain isoforms are autolyzed in rat fast-twitch muscle after eccentric contractions. *J Muscle Res Cell Motil* **35**, 179-189.
- Kanzaki K, Watanabe D, Kuratani M, Yamada T, Matsunaga S & Wada M. (2017). Role of calpain in eccentric contraction-induced proteolysis of Ca(2+)-regulatory proteins and force depression in rat fast-twitch skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* **122**, 396-405.
- Komulainen J, Kytölä J & Vihko V. (1994). Running-induced muscle injury and myocellular enzyme release in rats. *J Appl Physiol (1985)* **77**, 2299-2304.

- Lamboley CR, Pearce L, Seng C, Meizoso-Huesca A, Singh DP, Frankish BP, Kaura V, Lo HP, Ferguson C, Allen PD, Hopkins PM, Parton RG, Murphy RM, van der Poel C, Barclay CJ & Launikonis BS. (2021). Ryanodine receptor leak triggers fiber Ca(2+) redistribution to preserve force and elevate basal metabolism in skeletal muscle. *Sci Adv* **7**, eabi7166.
- Lavender AP & Nosaka K. (2006). Changes in fluctuation of isometric force following eccentric and concentric exercise of the elbow flexors. *Eur J Appl Physiol* **96**, 235-240.
- Lavender AP & Nosaka K. (2008). A light load eccentric exercise confers protection against a subsequent bout of more demanding eccentric exercise. *J Sci Med Sport* **11**, 291-298.
- Lieber RL & Fridén J. (1988). Selective damage of fast glycolytic muscle fibres with eccentric contraction of the rabbit tibialis anterior. *Acta Physiol Scand* **133**, 587-588.
- Lin J, Wu H, Tarr PT, Zhang CY, Wu Z, Boss O, Michael LF, Puigserver P, Isotani E, Olson EN, Lowell BB, Bassel-Duby R & Spiegelman BM. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature* **418**, 797-801.
- Lindsay A, Southern WM, McCourt PM, Larson AA, Hodges JS, Lowe DA & Ervasti JM. (2019). Variable cytoplasmic actin expression impacts the sensitivity of different dystrophin-deficient mdx skeletal muscles to eccentric contraction. *Febs j* **286**, 2562-2576.
- Livak KJ & Schmittgen TD. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* **25**, 402-408.
- Mair J, Mayr M, Müller E, Koller A, Haid C, Artner-Dworzak E, Calzolari C, Larue C & Puschendorf B. (1995). Rapid adaptation to eccentric exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* **16**, 352-356.
- Moens P, Baatsen PH & Maréchal G. (1993). Increased susceptibility of EDL muscles from mdx mice to damage induced by contractions with stretch. *J Muscle Res Cell Motil* **14**, 446-451.
- Murgia M, Nogara L, Baraldo M, Reggiani C, Mann M & Schiaffino S. (2021). Protein profile of fiber types in human skeletal muscle: a single-fiber proteomics study. *Skelet Muscle* **11**, 24.
- Petrof BJ, Shrager JB, Stedman HH, Kelly AM & Sweeney HL. (1993). Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proc Natl Acad Sci U S A* **90**, 3710-3714.
- Powers SK, Kavazis AN & DeRuisseau KC. (2005). Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *Am J Physiol Regul Integr Comp*

Physiol **288**, R337-344.

Selsby JT, Morine KJ, Pendrak K, Barton ER & Sweeney HL. (2012). Rescue of dystrophic skeletal muscle by PGC-1 α involves a fast to slow fiber type shift in the mdx mouse. *PLoS One* **7**, e30063.

Shkryl VM, Martins AS, Ullrich ND, Nowycky MC, Niggli E & Shirokova N. (2009). Reciprocal amplification of ROS and Ca(2+) signals in stressed mdx dystrophic skeletal muscle fibers. *Pflugers Arch* **458**, 915-928.

St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S, Handschin C, Zheng K, Lin J, Yang W, Simon DK, Bachoo R & Spiegelman BM. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptional coactivators. *Cell* **127**, 397-408.

Tadaishi M, Miura S, Kai Y, Kano Y, Oishi Y & Ezaki O. (2011). Skeletal muscle-specific expression of PGC-1 α -b, an exercise-responsive isoform, increases exercise capacity and peak oxygen uptake. *PLoS ONE* **6**.

Tidball JG. (2011). Mechanisms of muscle injury, repair, and regeneration. *Compr Physiol* **1**, 2029-2062.

Wada M, Okumoto T, Toro K, Masuda K, Fukubayashi T, Kikuchi K, Niihata S & Katsuta S. (1996). Expression of hybrid isomyosins in human skeletal muscle. *Am J Physiol* **271**,

C1250-1255.

Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA & Armstrong RB. (2001). Excitation-contraction uncoupling: major role in contraction-induced muscle injury. *Exerc Sport Sci Rev* **29**, 82-87.

Warren GL, Ingalls CP, Lowe DA & Armstrong RB. (2002). What mechanisms contribute to the strength loss that occurs during and in the recovery from skeletal muscle injury? *J Orthop Sports Phys Ther* **32**, 58-64.

Webster C, Silberstein L, Hays AP & Blau HM. (1988). Fast muscle fibers are preferentially affected in Duchenne muscular dystrophy. *Cell* **52**, 503-513.

Whitehead NP, Pham C, Gervasio OL & Allen DG. (2008). N-Acetylcysteine ameliorates skeletal muscle pathophysiology in mdx mice. *J Physiol* **586**, 2003-2014.

Willems ME & Stauber WT. (2003). Attenuation of stretch-induced histopathologic changes of skeletal muscles by quinacrine. *Muscle Nerve* **27**, 65-71.

Witherspoon JW & Meilleur KG. (2016). Review of RyR1 pathway and associated pathomechanisms. *Acta Neuropathol Commun* **4**, 121.

Yamada R, Himori K, Tatebayashi D, Ashida Y, Ikezaki K, Miyata H, Kanzaki K, Wada M,

Westerblad H & Yamada T. (2018). Preconditioning contractions prevent the delayed onset of myofibrillar dysfunction after damaging eccentric contractions. *J Physiol* **596**, 4427-4442.

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.

Zhang BT, Whitehead NP, Gervasio OL, Reardon TF, Vale M, Fatkin D, Dietrich A, Yeung EW & Allen DG. (2012). Pathways of Ca²⁺ entry and cytoskeletal damage following eccentric contractions in mouse skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985)* **112**, 2077-2086. es utrophin gene expression at the neuromuscular junction. *Am J Physiol Cell Physiol* **289**, C908-917.

ABD1 領域の変異による DMD 心筋症に対する exon skip 治療の開発

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 の領域に集積している。我々は以前に exon 3-9 欠失が無症候性または非常に軽度の臨床症状を示すことを報告していった。¹そこで exon 3~7 の領域内に変異を有する DMD に対しては exon 3-9 skip 治療が有望となる可能性について提案してきた。一方、DMD 遺伝子の機能喪失変異により進行性心筋症を引き起こし早期に死亡する DMD に対してアンチセンス核酸 (AO) をによる exon skip 治療がどの程度有効であるかの検証は十分には行われていない。

そこで、アクチン結合ドメイン 1 (ABD1) を標的とした exon skip 治療の目標として exon 3-9 欠失型への変換が DMD 心筋症に対しても治療効果が得られるかについて明らかにするため必要があると考えた。具体的には野生型、exon 3-9 欠失型、フレームシフトを引き起こす exon 3-7 欠失型の 3 種類の isogenic なヒト人工多能性幹細胞由来心筋細胞 (hiPSC-CMs) を作製し、遺伝子発現および電気生理学的に検討することと、exon 3-7 欠失型に対して AO (モルフォリノ: PMO) により exon 8 を skip させることで治療効果が得られかについて検討した。

方法

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、これらの iPS 細胞から心筋細胞を誘導して、につて①RNAseq 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 AO (ペプチド結合型モルフォリノ: PPMO) 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、ジストロフィンおよび関

連タンパク質の発現、電気生理学的検討として action potentia、Ca²⁺ transient を測定し比較検討を行った。

結果

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、exon 3-9 欠失型と野生型 hiPSC-CM の類似性が高く、exon 3-7 欠失 hiPSC-CM では特にメカノトランスダクションに関連するシグナル伝達が損なわれていた。さらに、exon 3-7 欠失 hiPSC-CM では、exon 3-9 欠失型および野生型 hiPSC-CM と比較して CaMKII の活性化が促進され、電気生理学的変化が観察された。

一方、exon 3-9 欠失 Dp427m は安定した発現を示し、F-アクチンへの結合とデスミンの保持が維持されていることを見出した。また、今回用いた exon 8 単独を標的とした AO は、exon 8 および exon 9 の skip を効率的に誘導し、短期間で Dp427m の発現および機能回復と Δ3-7 hiPSC-CM の電気生理学的特性の改善をもたらした。

考察

従来、モルフォリノの心筋細胞への導入は限定的であり、ペプチド結合型モルフォリノがより高い導入効率を示すとされてきた。我々は ABD1 を標的とした PPMO により exon 3-9 欠失型に変換することで DMD 心筋症に対して有効であることを示すことができた。Exon skip 治療では良い標的とする exon を見出すことと、より安全かつ高効率の AO の開発が必要と考えられる。

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:e95918.
3. Fletcher, S., et al. Targeted exon skipping to address "leaky" mutations in the dystrophin gene. *Mol Ther Nucleic Acids* 2012;1:e48.

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ウスならびにそのコントロール系統を微生物学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

1. 維持動物の品質管理

維持動物の品質管理のため、ビニールインレーター (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-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4年の供給実績は、国内40機関に80回供給し、B10-mdx を1219匹、そのコントロール系統 B10Jic を44匹、D2-mdx を183匹の累計1446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 マウスの生産を実験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 (B10Jic) を樹立した。加えて、B10-mdx の背景系統を B10Jic から C57BL/6Jc1 に置き換えた C57BL/6J-mdx/Jic を新たに樹立し、これらの供給体制を整えた。さらに、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を作製し、DBA/2N-mdx-IL-2RgKO, RAG2KO 系統を樹立、供給体制を整えた。

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な実施することで、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 B19Jic の再整備ならびに B10 系統よりも汎用性の高い C57BL/6J 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るとともに、代替系統モデルの構築を実施した。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を構築した。今後、この体制の中で筋ジストロフィーモデルマウスの胚バンクセンターとしての役割を充実・発展させる。

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.

慢性疾患患者の日常生活における精神的負担について

貝谷 久宣

一般社団法人 日本筋ジストロフィー協会

石川 悠香²⁾、矢澤 健司¹⁾、竹田 保¹⁾、貝谷 嘉洋³⁾、池上 香織¹⁾、川崎 奈緒子⁴⁾、松元 智美⁴⁾、三塚 志歩子⁴⁾

1) 一般社団法人 日本筋ジストロフィー協会

2) 北海道医療センター

3) NPO 法人 日本バリアフリー協会

4) 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。本年は、よりニーズに適合した筋ジストロフィー医療の実現に向け、当事者・家族対象に日常生活における精神的な負担についての現状を把握することを目的とし、調査を実施した。

【方法】

入所中または外来通院中の当事者・家族に対して、質問紙および面接調査を実施し、日常生活における困り感を聴取。本研究は日本筋ジストロフィー協会および調査医療機関の倫理委員会において、審査・承認を得て実施している。

対象：筋ジストロフィー当事者または家族で、研究説明書・同意書にて同意を得た者

調査機関：北海道医療センター

調査日：令和4年11月19日(土)、20日(日)

実施方法：質問紙+心理師による個別面接 50分

質問紙内容：

・主観的幸福尺度（島井ら,2005）4項目7件法

・MDQoL-6（川井ら,2005）6項目5件法

・DAMS（Depression and Anxiety Mood Scale：福井,1997）9項目7件法

・自由記述：日常生活上の困り感について

【結果と考察】

本調査では、当事者13名（平均年齢38±10歳、デュシェンヌ型9名、脊髄性筋萎縮症2名、上記以外の先天性筋疾患1名、無効回答1名）、家族2名（平均年齢44±5歳、2名ともデュシェンヌ型患者の母親）からの回答が得られた。

本調査の結果、主観的幸福度尺度、MDQoLにおいては、平均が中等度以上となり、幸福度が高い傾向が認められた。DAMSでは、福井ら(2002)の調査での一般成人平均値と比較すると、本研究の参加者は肯定的気分が高く、抑うつ気分・不安気分は低い結果となった。日常生活上の困り感について（項目は以下参照）、当事者で最も多かった意見としてはコミュニケーション不足や、気分転換やストレス対処に関するコーピング不足である。家族からの意見では、仕事と介助の両立、体力的な不安、情報不足への懸念がみられた。一方で、当事者・家族ともに、現状に対する前向きな意見も挙げられた。

当事者（男性12名、女性1名）	
困り感	<ul style="list-style-type: none"> ・コミュニケーション不足（対人交流機会の少なさ、COVID-19による面会制限、人的資源の限界、自身の対人過敏性などが関連） ・コーピング不足（レパトリーの少なさ、身体的制限、食事制限、施設特有の事情による制限） ・病気への不安 ・家族の心配 ・心理支援の少なさ
肯定的意見	<ul style="list-style-type: none"> ・病気との向き合い方（人と比較しない、出来ることに目を向けるなど） ・コーピングの活用 ・技術進歩による社会参加/施設入所のメリット
家族（女性2名）	
困り感	<ul style="list-style-type: none"> ・仕事と介助の両立

	<ul style="list-style-type: none"> ・自分の身体・体力の限界 ・コーピング不足 ・情報不足 ・入所への不安（本人の性格特性を考慮）
肯定的意見	<ul style="list-style-type: none"> ・前向きな考え方（自分の健康・ストレス対処も重視）

【結論】

本調査結果から、当事者の幸福度は高い傾向が認められ、これには入所施設のサポートの手厚さが見受けられた。困り感の内容は、入所特有のものもあれば、病気の進行状況または性格特性起因のものもみられた。一方で、現状に対する肯定的意見や、施設へ入所していることのメリットも挙げられた。

COVID-19の影響もあり、特に人との繋がりを求める声が多かったため、面会時間や面会方法の検討により、困り感は改善される可能性がある。また、心理的支援への需要も高く感じられた。スタッフや心理師など人的資源不足の声も挙がったため、今後はニーズに応じた役割分担・人員補充などの検討が必要と考えられる。さらに、家族の心理的支援、福祉的なサポート資源も含めた情報提供の場、家族交流の場の提供が必要であり、啓蒙活動の重要性も示唆された。

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られる。

【参考文献】

なし

脂肪酸代謝物の一斉測定

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の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。

骨格筋においてもリン脂質への脂肪酸貯蔵は膜物性や脂質メディエーター産生に影響する。今回、神経障害時の脂質メディエーター測定を行った。脂質メディエーター前駆体である多価不飽和脂肪酸には、アラキドン酸やリノール酸などの ω 6系脂肪酸、ドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)などの ω 3系脂肪酸に分類できる。また、脂肪酸を代謝する酵素は主に①プロスタグランジンやトロンボキサンなどの合成に関わるシクロオキシゲナーゼ(COX)、②ロイコトリエンなどの合成に関わるリポキシゲナーゼ(LOX)、③エポキシ脂肪酸などの合成に関わるシトクロムP450(CYP)の3種類に分類できる。

方法

マウスL4神経切断時の後根神経節(DRG)の152種の脂肪酸代謝物一斉分析を行った。

結果

末梢神経損傷後、 ω 6系脂肪酸由来の代謝物に関しては、ほとんどのCOX代謝物が7-14日目に増加した。しかし、LOX代謝物やCYP代謝物に顕著な変動は認められなかった。また、 ω 3系脂肪酸由来のCOX代謝

物は、 ω 6系と同様に7-14日目に増加した。一方、 ω 6系と異なり、 ω 3系脂肪酸由来のLOX代謝物およびCYP代謝物は3-7日目をピークに一過性に増加することが明らかになった

考察

末梢神経損傷後のDRG組織中では、損傷からの経過日数や脂肪酸の種類、代謝酵素の種類によってそれぞれが全く異なるパターンで変動していることが分かった。本プロファイリングデータをもとに、変動が認められた脂肪酸代謝産物のそれぞれが担う病態生理的な役割について今後解明が進めば、神経損傷に伴う疾患のメカニズム解明や革新的な治療薬の開発へとつながることが期待できる。

結論

ω 6系脂肪酸由来はCOX代謝物が増加し、LOX代謝物やCYP代謝物に顕著な変動は認められなかった。 ω 3系脂肪酸由来の代謝物は増えるがピークは異なった。脂肪酸代謝物の時間的制御メカニズムが観察された。

参考文献

Yamamoto, S., Hashidate-Yoshida, T., Shimizu, T., Shindou, H.(corresponding author). Profiling of fatty acid metabolism in the dorsal root ganglion after peripheral nerve injury. *Frontiers in Pain Research* Jul 29;3:948689. (2022) doi: 10.3389/fpain.2022.948689. eCollection 2022.

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 峻太郎
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、この網羅的な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を構築し、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（参考文献 1）。

結果

研究期間を通して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を実施した。配列情報、スキップ効率、実験条件などのデータベースを公表した（表）。

このデータベースを利用して、スキップ効率を予測するモデルを作成した。まず、phosphorodiamidate morpholino oligomers (PMO) および 2'-O-Methyl oligonucleotides (2OMe) によるスキップ効率のデータを、遺伝子 (DMD) 及び実験条件がある程度揃うように抽出し、標的エクソンおよびアンチセンス核酸の配列情報から、標的とアンチセンス核酸の予測結合スコアや GC 含有率などの記述子を作成した。予測モデルは support vector regressor によって構築した。学習データに含まれないテストデータを利用し

た評価により、予測値と実験値に相関が確認できた（図）。この予測モデルをウェブサーバーに実装した。

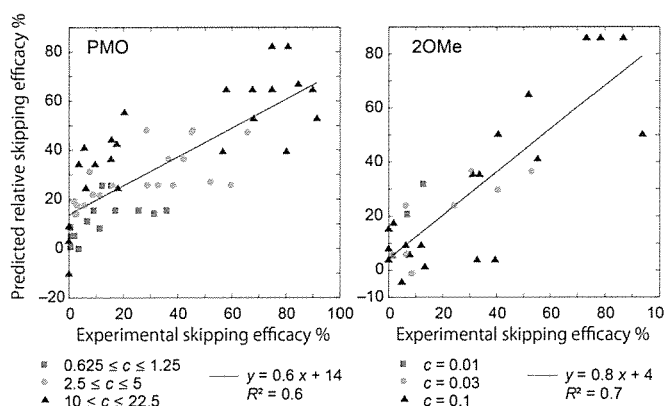


図. スキップ効率の予測値と測定値の相関図。シンボルは実験濃度 (μmol/L) を表す。参考文献より一部改変して転載

Licensed under CC BY 4.0.

結論

本研究では、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を公開した。現在もデータベースに収載すべき特許などの文献からの情報抽出を継続しており、より多様な遺伝子、スキップデータを今後公開する予定である。また、予測モデルに関しても、現在複数の遺伝子の情報を学習に取り込む試みを継続しており、予測モデルの多様な遺伝子への適用可能性の拡大を目指している。

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. 公開したデータベースの遺伝子名、スキップ効率のデータ数、固有配列数（カッコ内）（2021年11月25日）

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	MFSO8
3 (3)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)	1 (1)

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ウモセットの 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。霊長類のマウ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、マウ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 モデルマウモセットの開発を続けてきた。2021 年、我々はこの ASD モデルマウ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 マウ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 モデルマウ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 モデルマウモセットグループ

1. 自閉症モデルマウモセットの開発: 妊娠中のマウモセット母体にバルプロ酸を投与し、自閉症モデルを作成した。バルプロ酸は、母親が妊娠中に摂取すると自閉症のリスクを増加させることが知られている。このモデルの大脳皮質の遺伝子発現とヒトの自閉症の遺伝子発現との間に高い相関が見つかった。ラットの自閉症モデルと比較し、霊長類モデルはヒトの自閉症の共通病態をより精確に再現することが確認された。

2. 自閉症の脳分子発達停滞の発見: バルプロ酸マウモセットとヒト自閉症者の遺伝子発現の成長軌道は非常に類似していた。しかし、遺伝子発現の正常な成長に伴う変化が見られず、その結果、遺伝子発現異常が成長と共に増加することが示された。これは、ヒト自閉症者の脳の遺伝子発現が"未成熟"なままにとどま

っていることを示唆している。さらに、ヒト自閉症者の epigenome のデータを取得し、ヒストンアセチル化の発達による異常が自閉症特有の脳の発達遅延の背景にある可能性を示唆した。

3. この仮説を試すために、我々は自閉症と非自閉症の脳組織からの遺伝子発現データを NIMH から取得し、クラスター解析を実施した。その結果、自閉症者は遺伝子発現のパターンに基づき、三つのクラスター、すなわちサブグループに分けられることが明らかとなった。これらは我々がグループ 1、2、3 と名付けたものである。この結果から特に注目すべき点は、グループ 2 の自閉症者のほぼ全員がてんかんを合併していたという事実である。さらに、グループ 1 と 2 はバルプロ酸との間で遺伝子発現が高い相関を示していたが、グループ 3 ではそのような相関は見られなかった。さらなる主成分分析の結果は、バルプロ酸マーモセットは特にグループ 1 と高い類似性を示すことが明らかとなった。このグループ 1 は自閉症全体の約 1/3 を占めると見られている。

4. 自閉症のサブタイプに対するバイオマーカーの探求」では、三つの明確な自閉症のサブタイプを、特定の遺伝子発現に基づいて区分けし、それぞれの特徴をバイオマーカーとして抽出した。グループ 1 は炎症関連遺伝子の上昇が、グループ 2 は神経関連遺伝子の下降とミエリン関連遺伝子の上昇が、そして特徴が少ないグループ 3 が存在する。バルプロ酸マーモセットはグループ 1 と類似の分子フェノタイプを有していたので、バルプロ酸マーモセットを用いて、遺伝子発現とイメージングフェノタイプの検証を行った。その結果、ミエリン形成に関わる遺伝子 OLIG1 と MBP が、DTI による FA 値、TSPO リガンドを用いた PET 解析、EEG を用いた mismatch negativity が自閉症のサブタイプを非侵襲的に探索するバイオマーカーとして利用できる可能性があることが示された。

5. 自閉症治療薬スクリーニングシステムの開発
前臨床モデルとして、バルプロ酸マーモセットを確立するために行動フェノタイプのスクリーニング法の開発は重要である。我々は小児期のバルプロ酸マーモセットの他者への視線の程度が極めて再現性のよい行動フェノタイプであることを見いだした (Nakagami et al., 2022)。AI ベースのアルゴリズムである DeepLabCut を用いて Araya 社との共同研究により、視線方向を 3 度以下の精度でモニターする方法を開発した。分子生物学的解析は郷が、行動学的解析は川合がおこなった。

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、扁桃核、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。

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。

4. 代表的研究成果刊行物

1. Watanabe S., (途中 9 名) & Ichinohe, N (2021) 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), (途中 39 名) & Okada T. Effect of a novel nasal oxytocin spray with enhanced bioavailability on autism: A randomised trial. (2022) *Brain*, 145(2):490-499(2022)

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. 世界初の自閉症モデルマーモセットの開発

抗てんかん薬のバルプロ酸をマーモセット母体に投与し、自閉症モデルを作成した。バルプロ酸は、母親が妊娠中に摂取すると自閉症のリスクを増加させることが知られている。バルプロ酸マーモセットの脳皮質の遺伝子発現とヒトの自閉症の遺伝子発現との間に高い相関が見つかった。ラットの自閉症モデルと比較し、霊長類モデルはヒトの自閉症の共通病態をより精確に再現することが確認された。バルプロ酸マーモセットモデルは、稀なバルプロ酸母体暴露による自閉症ケースだけでなく、より一般的な孤発性自閉症の共通特徴を再現することが示された。

2. 自閉症の脳分子発達停滞の発見

バルプロ酸マーモセットとヒト自閉症者の遺伝子発現

の成長軌道は極めて類似していた。自閉症者とバルプロ酸マーモセットでは、遺伝子発現の正常な成長に伴う変化が見られず、その結果、遺伝子発現異常が成長と共に増加することが示された。バルプロ酸マーモセットでも同様の結果が得られ、自閉症者の脳の遺伝子発現が"未成熟"なままにとどまっていることが確認された。この発見は、自閉症における重要な生物学的特徴とされ、今後の自閉症研究の新たなパラダイムとなる可能性がある。ヒト自閉症者のepigenomeのデータを取得し、ヒストンアセチル化の発達による異常が自閉症特有の脳の発達遅延の背景にある可能性を示唆した。

3. ヒト自閉症の3つの分子サブグループの発見

自閉症はその症状、病態、そして病因において非常に異質性が高いと言われており、これが治療法開発における大きな障害となっている。その一部の理由として、全ての自閉症に共通する病態変化のパターンが確認できないという事実がある。

バルプロ酸マーモセット型自閉症の遺伝子発現がヒト自閉症の遺伝子発現と高い相関を示し、これはバルプロ酸マーモセットと類似の自閉症が一つのメジャーなサブタイプを形成していることを示唆していた。

この仮説を試すために、我々は自閉症と非自閉症の脳組織からの遺伝子発現データをNIMHから取得し、クラスター解析を実施した。その結果、自閉症者は遺伝子発現のパターンに基づき、三つのクラスター、すなわちサブグループに分けられることが明らかとなった。これらは我々がグループ1、2、3と名付けたものである。

この結果から特に注目すべき点は、グループ2の自閉症者のほぼ全員がてんかんを合併していたという事実である。さらに、グループ1と2はバルプロ酸との間で遺伝子発現が高い相関を示していたが、グループ3ではそのような相関は見られなかった。さらなる主成分分析の結果は、バルプロ酸マーモセットは特にグループ1と高い類似性を示すことが明らかとなった。このグループ1は自閉症全体の約1/3を占めると見られている。

4. 自閉症のサブタイプに対するバイオマーカーの考察

自閉症の3つの明瞭なサブタイプが死後脳解析により明らかになり、これらの生体区別法の開発が重要となる。各グループ特異的な遺伝子をリストアップし、特性を確認した。グループ1は炎症関連遺伝子のup-regulation、グループ2は神経関連遺伝子のdown-regulationおよびミエリン関連遺伝子のup-regulationが特徴、グループ3の特徴はあまりない。ミエリン関連遺伝子、炎症性ミクログリア関連遺伝子TSPO、抑制性ニューロンマーカ

ー (GAD1, PVALB) は、MRI や PET、EEG/MEG を用いた非侵襲的な検討により、バイオマーカー候補となる。バルプロ酸マーモセットは、グループ1と同様の遺伝子発現パターンを示し、バルプロ酸マーモセットを用いて遺伝子発現とイメージングで捉えられるフェノタイプを検証した。ヒト自閉症の同様な手法によるデータも収集中で、これらの手法と指標がヒト自閉症のサブタイプを非侵襲的に探索するためのバイオマーカーとなる可能性がある。以下にそれぞれの検索を詳述する。

4-1: MRI (DTI 解析)

自閉症のサブタイプによる遺伝子発現の違いを解析した結果、ミエリン形成に重要な遺伝子である OLIG1 と MBP は、グループ2で特異的にアップレギュレーション(活性上昇)を示し、他のグループではダウンレギュレーション(活性低下)を示した。ミエリンの形成の程度はMRI/DTIでFA値を指標として計測できる。バルプロ酸マーモセットにおいても、これらのミエリン関連遺伝子の発現がグループ1と同様に低下し、FA値が多く、の皮質下経路で低下していたことが確認された。一方、ヒト自閉症においては、COCORO projectで解析されたDTIデータをクラスター解析し、FA値によって3つの大きなグループに分離されることが明らかになった。これは、ミエリン形成の程度を示すFA値が自閉症のサブタイプを区別する有力なバイオマーカーとなる可能性を示している。

4-2: PET 解析

次に、脳の炎症マーカーであるTSPOの発現について解析した。TSPOはグループ1,2でアップレギュレーションを示し、これによりグループ1,2と3を区別するバイオマーカーと考えられる。バルプロ酸マーモセットでは、TSPOの遺伝子発現が増加し、PETによってその増加が確認できた。この結果は、2013年の浜松医科大学のSuzukiらによる研究で報告された自閉症者のTSPOのアップレギュレーションと一致している。この現象は自閉症における脳炎症のエビデンスとされている。今後、バルプロ酸マーモセットとヒト自閉症のTSPOバインディング部位の詳細な比較研究を行う予定である。

4-3. ECoG 解析

抑制性神経伝達物質GABA関連の遺伝子GAD1は、グループ1,2で低下している。脳の興奮抑制のバランスの乱れはEEG/MEGで捉えることができると予測される。我々は我々が開発した(Komatsu and Ichinohe, 2020)マーモセット用の96ch高密度皮質脳波法(ECoG)を用い

て、バルプロ酸マーモセットの聴覚oddball課題を用いてmismatch negativityの低下があることを確認した。ヒト自閉症においてはmismatch negativityに関して、一貫した結果はないがメタ解析の結果としては、低下傾向にあると報告されている。

5. 自閉症治療薬スクリーニングシステムの開発

前臨床モデルとして、バルプロ酸マーモセットを確立するために行動フェノタイプのスクリーニング法の開発は重要である。我々は小児期のバルプロ酸マーモセットの他者への視線の程度が極めて再現性のよい行動フェノタイプであることを見いだした(Nakagami et al., 2022)。AIベースのアルゴリズムであるDeepLabCutを用いてAraya社との共同研究により、視線方向を3度以下の精度でモニターする方法を開発した。

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. Nakagami, A., Yasue, M., Nakagaki, K., Nakamura, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Reduced childhood social attention in autism model marmosets predicts impaired social skills and inflexible behavior in adulthood. *Frontiers in psychiatry*, 13, 885433.
2. Nakamura, M., Nakagami, A., Nakagaki, K., Yasue, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Prenatal valproic acid-induced autism marmoset model exhibits higher salivary cortisol levels. *Frontiers in behavioral neuroscience*, 16, 943759.
3. Satoshi Watanabe, Tohru Kurotani, Tomofumi Oga, (10人) & Noritaka Ichinohe: Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. (2021) *Nature Communications* 12, 5388

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、限局性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

現在 338 名（ADHD65 名（小児 7 名）、ASD58 名（小児 13 名）、ASD・ADHD 併存 82 名（小児 18 名）、定型発達群 133 名（小児 53 名））の検査を終了している。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、また脳病態統合イメージングセンターとの連携で脳構造・脳機能画像を 22 名について取得しており、さらにその数を増やしている。

視線方向への注意定位では、同時提示した表情のモダリティによらず、強い視線方向への注意シフトが見られることを示したほか、時間知覚課題では、併存群では ADHD 群よりも時間認知の歪みが重篤で、外的時間の認識が正しく出来ない、または、外的時間と内的時間のずれを修正出来ない可能性が示されている。

また、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。

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知見と思われる。

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。

参考文献

〔口頭発表〕

- 1) Egashira Y, Hayashi S, Uono S, Ukezono M, Takada M, Okada T: Possible different cognitive processing in time perception tasks. The 15th International Congress of Physiological Anthropology(ICPA), Oregon, 2022.9.17.
- 2) Hayashi S, Uono S, Egashira Y, Ukezono M, Takada M, Okada T: Does seeing others' smiles improve executive function in adults with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder (ADHD)? An experimental psychology study. The 15th International Congress of Physiological Anthropology (ICPA), Oregon, 2022.9.17.
- 3) Egashira Y, Hayashi S, Uono S, Takada M, Ukezono M, Okada T: Time perception deficits in individuals with comorbidity of attention-deficit/hyperactivity disorder and autism spectrum disorder. *Neuroscience 2022, Online*, 2022.11.14.
- 4) Hayashi S, Egashira Y, Uono S, Ukezono M, Takada M, Okada T: Does feedback of a happy face improve response inhibition in adults with attention-deficit/hyperactivity disorder? *Neuroscience 2022, Online*, 2022.11.14.
〔英文論文〕
- 1) Uono S, Egashira Y, Hayashi S, Takada M, Ukezono M, Okada T: No influence of emotional faces or autistic traits on gaze-cueing in general population. *Frontiers in Psychology 13*: 864116. 2022.4.26. DOI: 10.3389/fpsyg.2022.864116
- 2) Egashira Y, Kaga Y, Gunji A, Kita Y, Kimura M, Hironaga N, Takeichi H, Hayashi S, Kaneko Y, Takahashi H, Hanakawa T, Okada T, Inagaki M: Detection of deviance in Japanese kanji compound words. *Frontiers in Human Neuroscience 16* 913945, 2022.8.15. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnhum.2022.913945>
- 3) Ishii-Takahashi A, Kawakubo Y, Hamada J, Nakajima N, Kawahara T, Hirose A, Yamaguchi R, Kuwabara H, Okada T, Kano Y: Changes in child behavioral problems and maternal attachment towards children with attention-deficit/hyperactivity disorder following behavioral parent training: A pilot study. *Psychiatry and Clinical Neurosciences*, 2023 Apr 28. doi: 10.1111/pcn.13558.

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、睡眠障害をとまなう 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

睡眠障害をとま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まなう発達障害の新たな治療方法の提案を行う。

4. 研究報告

(1) 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 (2011 年 9 月から 2022 年 12 月) の神経発達症患者 667 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 667 人のうち ASD 患者数は 317 人で、ASD 患者に VPA を投与している総数は 303 人(男性 240 人、女性 63 人、平均年齢 13.6 歳(4-36 歳))であった。てんかんと ASD 併存例 103 人、てんかん非併存例 200 人であった。ASD 患者に対する VPA を投与している割合は 95.6%であった。少量 VPA 投与により 275 人(90.8%)で睡眠障害と生活の質の改善が認められた。中止は 54 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、39.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$ で、てんかんが併存している患者では、56.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、てんかんの併存のない患者では 26.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 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

(2) 自閉スペクトラム症における入眠時脳波を用いたバイオマーカーの探索

(目的・意義)

ASD 児の睡眠時脳波を解析し、年齢を合わせた定型発達児、ASD 非合併の神経発達症児、ASD 非合併のてんかんの児の睡眠時脳波と比較することで、ASD 児に特有の所見を探索的に調査する。本研究を通じ ASD の病態理解が進み、疾患の予防、病態改善・新規治療開発につながる可能性がある。

(研究の実施概要)

ASD 患児と定型発達児の睡眠脳波の違いを探索的に検討した。

(研究対象者)

ASD 患児：2011 年 04 月 1 日より 2020 年 10 月 31 日までの間、NCNP 発達障害外来(中川担当)に通院中の患者の中から DSM-5 の ASD の診断基準を満たしている症例(非 ADHD、非てんかん)で、かつ年齢は 3 歳から 10 歳、ASD 診断時に睡眠脳波検査を 10 分以上実施している症例を対象とした。

定型発達児：定義は、てんかん等神経疾患を認めず、DSM-5 の ASD、ADHD の診断基準をみたさない(簡易版 PARS を用いて ASD の傾向がないことを確認する)、家庭内と地域社会(幼稚園や小学校等)の中でコミュニケーションの問題が存在しない児とした。

* 臨床上脳波検査を実施している症例はオプトアウト、新たにこの研究のために脳波検査を実施する場合はインフォームドコンセントを実施した。

(研究対象者数)

ASD 患児：男児 16 人(年齢 6.19 +/- 0.62 y)、女児 17 人(年齢 6.92 +/- 0.52 y)

定型発達児：男児 19 人(年齢 5.29 +/- 0.41 y)、女児 9 人(年齢 5.11 +/- 0.81 y)

(方法)

脳波検査実施方法(10-20 法)：患者脳波は診察上必要な時に検査実施しているもの(眠剤使用は問わず、検査科での 30 分程度の脳波もしくは長時間ビデオ脳波検査実施時の脳波)を使用。健常群については、外来検査室で行い、侵襲性の観点から自然睡眠での検査を基本とした。

脳波解析方法：小児神経科医が脳波を判読し、睡眠脳波、徐波睡眠 10 分間抽出した。アーチファクトをマーキングした。徐波睡眠開始直後から最大 10 分後までの脳波の時間周波数スペクトラム解析を実施した。周波数帯域は、OHBM の推奨を基本に以下の定義を用い、各種脳波成分の強度およびコヒーレンスの解析を実施した。なお、解析にあたっては年齢あるいは、年齢および診断を共変量とした共分散分析を用いた。また、多重性補正は Bonferroni 法にしたがった。

(結果)

全電極平均パワーを定型発達児(TD) / ASD 患児間で比較したところ、ASD 男児においてシータ帯域のパワーの有意な低下が認められた。全電極平均のベータとシータのパワー比を定型発達児 / ASD 患児間で比較したところ、男児女児ともに ASD 患児において同指標の

有意な上昇が認められた。脳の左右対となる全電極ペアの平均コヒーレンスを定型発達児/ASD 患児間で比較したところ、男児女児ともにASD 患児においてシータ帯域のコヒーレンスの有意な低下が認められた。

5. 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、B2022-077 小児てんかん患者における睡眠と認知機能との関連に関する研究）で承認を得た。

6. 研究成果の発表（原著論文、学会発表他）

【論文】英文（29）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, Mitsunashi 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. 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.
 18. 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.
 19. 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. received: 15 July 2021 | Revised: 23 September 2021 | Accepted: 4 October 2021 DOI: 10.1002/npr2.12215
20. Hashimoto K, Baba S, Nakagawa E, Noriko Sumitomo, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Abe-Hatano C, Inoue K, Iida A, Sasaki M, Goto Y. Long-term changes in electroencephalogram findings in a girl with a nonsense SMC1A variant: A case report. *Brain Dev.* 2022 Sep;44 (8) :551-557. doi: 10.1016/j.braindev.2022.04.011.
 21. Kato M, Kada A, Shiraishi H, Tohyama J, Nakagawa E, Takahashi Y, Akiyama T, Kakita A, Miyake N, Fujita A, Saito A, Inoue Y. Sirolimus for epileptic seizures associated with focal cortical dysplasia type II. *Annals of Clinical and Translational Neurology.* 2022 Feb;9 (2) :181-192. doi: 10.1002/acn3.51505. Epub 2022 Jan 18.
 22. Kuroda N, ..., Nakagawa E, et al. Impact of COVID-19 pandemic on epilepsy care in Japan: A national-level multicenter retrospective cohort study. *Epilepsia Open.* 2022 May 28;7 (3) :431-41. doi: 10.1002/epi4.12616. Online ahead of print.
 23. Kosugi K, Iijima K, Yokosako S, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sato N, Iwasaki M. Low EEG Gamma Entropy and Glucose Hypometabolism After Corpus Callosotomy Predicts Seizure Outcome After Subsequent Surgery. *Front Neurol.* 2022 Mar 24;13:831126. doi: 10.3389/fneur.2022.831126. eCollection 2022.
 24. Chiba E, Kimura Y, Shimizu-Motohashi Y, Miyagawa N, Ota M, Shigemoto Y, Ohnishi M, Nakaya M, Nakagawa E, Sasaki M, Sato N. Clinical and neuroimaging findings in patients with lissencephaly/subcortical band heterotopia spectrum: a magnetic resonance conventional and diffusion tensor study. *Neuroradiology.* 2022 Apr;64 (4) :825-836. doi: 10.1007/s00234-021-02836-2. Epub 2021 Oct 25.
 25. Fujii H, Sato N, Kimura Y, Mizutani M, Kusama M, Sumitomo N, Chiba E, Shigemoto Y, Takao M, Takayama Y, Iwasaki M, Nakagawa E, Mori H. MR Imaging Detection of CNS Lesions in Tuberous Sclerosis Complex: The Usefulness of T1WI with Chemical Shift Selective Images. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2022 Jul 14;43 (8) :1202-1209. doi: 10.3174/ajnr.A7573. Online ahead of print.
 26. Watanabe S, Ming Lei, Nakagawa E, Takeshita E, Inamori K, Shishido F, Sasaki M, Mitsuhashi S, Matsumoto N, Kimura Y, Iwasaki M, Takahashi Y, Mizusawa H, Migita O, Ohno I, Inokuchi J. Neurological insights on two siblings with GM3 synthase deficiency due to novel compound heterozygous ST3GAL5 variants. *Brain Dev.* 2023 Sep;45 (5) :270-277. <https://doi.org/10.1016/j.braindev.2023.01.002>
 27. Akahoshi K, Nakagawa E, Goto Y, Inoue K. Duplication within two regions distal to MECP2: clinical similarity with MECP2 duplication syndrome. *BMC Med Genomics.* 2023 Mar 6;16 (1) :43. doi: 10.1186/s12920-023-01465-3.
 28. Kawano O, Saito T, Sumitomo N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Nakagawa E, Mizuma K, Tanifuji S, Itai T, Miyatake S, Matsumoto N, Takahashi Y, Mizusawa H, Sasaki M. Skeletal anomaly and opisthotonus in early-onset epileptic encephalopathy with KCNQ2 abnormality. *Brain Dev.* 2023 Apr;45 (4) :231-236. doi: 10.1016/j.braindev.2022.12.004.
 29. Yamamoto K, Baba S, Saito T, Nakagawa E, Sugai K, Iwasaki M, Fujita A, Fukuda H, Mizuguchi T, Kato M, Matsumoto N, Sasaki M. Synchronous heart rate reduction with

suppression-burst pattern in KCNT1-related developmental and epileptic encephalopathies. *Epilepsia Open*. 2023 Feb 5. doi: 10.1002/epi4.12705. Epub ahead of print.

【学会発表】 国際学会 (14) 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), 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 dominance 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, 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, 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.
13. Nakagawa E. National model project for epilepsy regional medical cooperation system in Japan. 17th International Child Neurology Congress. Antalya, Turkey, October 3-7, 2022. (Online)
14. Nakagawa E. National model project for epilepsy regional medical cooperation system in Japan. 14th Asian & Oceanian Epilepsy Congress (AOEC) , November 17-19, 2022. (Online)

7. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況 特になし

8. 受賞 (3回)

(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 Apr 19;108: 107092. doi: 10.1016/j.yebeh.2020.107092. Epub ahead of print. PMID: 32320922.

(2) 加藤英生、宮川 希、谷口 豪、中川栄二. 第55回日本てんかん学会「多彩な発作症状とてんかん発作との鑑別が困難な焦点てんかんの一例」
「高橋剛夫賞 (優秀演題賞)」受賞

(3) 中川 栄二. 第76回国立病院総合医学会 2022年10月7日 熊本『てんかん診療支援コーディネーター認定制度の進捗状況』「ベストポスター賞」受賞

9. 英文要約

(1) Effects of low dose valproic acid on sleep disorders in autism spectrum disorder

Eiji Nakagawa

Department of Epileptology, Department of Child Neurology, National Center Hospital, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan

(Background) Although clinical experience has demonstrated the effects of antiepileptic drugs such as valproic acid (VPA) on mood swings, irritability and sleep disorders, there is not enough evidence available supporting this.

Here, we studied the effects of VPA on irritability, compulsiveness and sleep disorders in developmental disorders particularly autism spectrum disorder (ASD).

(Methods) Subjects comprised adults and children with developmental disorders, excluding cases with comorbidity of epilepsy who visited our developmental disorder clinic between September 2011 and December 2022. We retrospectively studied symptoms such as irritability, compulsiveness and sleep disorders, electroencephalography (EEG) at sleep onset, drug administration and pharmacotherapeutic effects of low dose VPA (5-10mg/kg/day after dinner) administration from medical records. We evaluated therapeutic effects by assessing symptomatic changes during the day and improvement of the sleep disorder using the Clinical Global Impressions (CGI-I). We also comparatively studied the results of EEG before and after administration of the drug. Consent was obtained from the patients, or their family and this study was approved by the institutional review board.

(Results) The male to female ratio between the total 303 patients who were administered VPA was 240 : 63, and the ages of subjects ranged from 4 years to 36 years. The mean age was 13.6

years. Abnormalities in EEG at sleep onset were observed in 85.1%, and high-voltage sharp waves/slow-waves were observed in the frontal region in many cases. There were 95.6% whose symptoms during the day improved after starting low dose VPA therapy. In terms of changes in sleep orders before and after starting VPA, we observed that out of the 90.8% who had sleep disorders before starting the drug, improvement was seen in 91.6%. Administration of the drug was discontinued in 54 cases before the end of the study for reasons such as exacerbated irritability or hyperphagia.

(Results) We observed improvement in problems such as behavioral issues and sleep disorders as a result of administering low dose VPA to subjects with developmental disorders particularly ASD. VPA may improve symptoms accompanying developmental disorders, and prospective studies, among other types of research, needs to be conducted to accumulate data on more cases.

(2) Searching for Biomarkers in Autism Spectrum Disorders Using Sleep Onset

Eiji Nakagawa

Department of Epileptology, Department of Child Neurology, National Center Hospital, National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo, Japan

(Background) We will analyze the sleep EEG of children with ASD and compare it to the sleep EEG of age-matched children with typical development, children with neurodevelopmental disorders without ASD, and children with epilepsy without ASD, in order to explore and investigate findings specific to children with ASD. This research will advance our understanding of the pathophysiology of ASD and may lead to prevention of the disease, improvement of the pathophysiology and

development of new treatments.

(Methods) We conducted an exploratory study of differences in sleep EEG between ASD-affected and typically developing children.

<Study Subjects>

Children with ASD: Patients who were attending NCNP Dr. Nakagawa from 04/01/2011 to 10/31/2020 who met the diagnostic criteria for ASD in DSM-5 (non-ADHD, non-epilepsy), aged 3 to 10 years, and who had a sleep EEG test of at least 10 minutes at the time of ASD diagnosis. Cases were included in the study.

Typically developing children: Defined as children who did not have epilepsy or other neurological disorders, did not meet DSM-5 diagnostic criteria for ASD or ADHD (a simplified version of PARS was used to confirm the absence of ASD tendencies), and had no communication problems both at home and in the community (kindergarten, elementary school, etc.).

*Cases with clinically available EEG testing were opted out, and informed consent was given for new EEG testing for this study.

(Results) Number of study subjects

ASD patients: 16 males (age 6.19 +/- 0.62 y), 17 females (age 6.92 +/- 0.52 y)

Definitive development: 19 males (age 5.29 +/- 0.41 y), 9 females (age 5.11 +/- 0.81 y)

Method of conducting EEG examination (10-20 method): Patient EEG was conducted when necessary for examination (regardless of the use of sleeping pills, 30-minute EEG in the examination department or EEG during prolonged video EEG examination). For the healthy group, the examination was performed in an outpatient laboratory and was based on examination in spontaneous sleep from the viewpoint of invasiveness. EEG analysis method: The pediatric neurologist decoded the EEG and extracted 10 minutes of sleep EEG and slow wave sleep. Artifacts were marked.

We performed time-frequency spectrum analysis of the EEG from immediately after the onset of slow-wave sleep to a maximum of 10 minutes later. The frequency bands were analyzed for intensity and coherence of the various EEG components using the following definitions based on OHBM recommendations. Analysis of covariance was performed using age or age and diagnosis as covariates. The Bonferroni method was used to correct for multiplicity.

(Results)

When all-electrode mean power was compared between typically developing (TD)/ASD children, a significant decrease in theta band power was observed in ASD boys. When the ratio of beta to theta power averaged over all electrodes was compared between TDs and ASD patients, a significant increase in this measure was observed in both boys and girls with ASD. A comparison of the average coherence of all paired electrode pairs in the left and right sides of the brain between children with typical development and children with ASD showed a significant decrease in the coherence of the theta band in both boys and girls with ASD.

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のが期待できる。一方で ASD 者は多様性が大きいのも事実である。ASD 者によって、適切なアンドロイドのノンバーバルな表現を設定するにあたり、対象者の状態推定は重要となる。本研究では、多くの ASD 者にとって心地の良くアンドロイドと対話するためのアンドロイドの状態推定を目的とする。

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。ASD 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・不快感合い (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

42 名の ASD 者が参加した。視線情報については 17 名の ASD 者において正確な評価が難しかった。残った 25 名を評価の対象とした。解析方法には機会学習アルゴリズムとして LightGBM (Light Gradient Boosting Machine)を用いた。また Arousal (AUC 値 0.82), Valence (AUC 値 0.20), Engagement (AUC 値 0.86) の分類精度を示した。音声×骨格×視線に被験者の対人恐怖症状評価、認知機能・言語能力・感覚特性評価を加えることで、より高い分類精度を示すことが明らかとなった。

考察

音声、骨格、視線情報に被験者の対人恐怖症状評価、認知機能・言語能力・感覚特性評

価を加えること ASD 者の高い状態推定を行うことができた。また同じ音声、骨格、視線情報でも、被験者の背景情報により状態が異なることが推定された。被験者の背景情報の重要性が明らかになった意義は大きい。

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 阿部ちひろ、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①アレイ CGH 解析により

同定された *MECP2* 遠位領域の重複を認めた発達障害を伴う知的障害の 1 家系および②全ゲノム解析により同定された *WDR45* 変異を持つ症例を報告する。

【結果】

①症例は 17 歳男性。38 週で出生。知的発達遅滞でのため、2 歳 4 ヶ月時初診。小さな口、扁平足、低緊張あり。易感染性あり。5 歳時の IQ=63。6 歳時にてんかん発作あり。EEG にて異常指摘。自閉症、攻撃的行動異常あり。徐々に知的に退行。11 歳時に下肢の痙性対麻痺が出現。頭部 MRI にて小頭症、脳梁、小脳、脳幹の低形成、白質高信号を認めた。アレイ CGH にて Xq28 の *MECP2* 遠位に 1.2Mb の重複を同定し、母親も保因者であることが示された。

②2 歳 4 か月女性で主訴は発達遅滞、てんかん。4 か月で筋緊張低下を指摘され、5-6 か月で定頸獲得、1 歳 6 か月で spasm を認めてんかんと診断。2 歳時、発達検査 DQ22 (遠城寺)。頭部 MRI で脳梁低形成、髄鞘化遅延を認めた。全ゲノム解析にて *WDR45* 遺伝子に c.1051delG:p.(Val351Cysfs*60) を同定した。

【結論】

①*MECP2* を含まない Xq28 の重複が知的障害、発達障害、てんかん、易感染性などを呈する疾患の原因となることが近年報告されている。この領域には 2 組の対になる segmental duplication が存在し、それぞれを介した重複症候群が K/L-mediated 重複症候群、int22h1/int22h2-mediated 重複症候群として報告されているが、本例はこの両方の領域を含む重複による稀少な症例である。これらの症例の臨床症状の比較から *RAB39B* が自閉症症状の責任遺伝子である可能性が示唆された。*RAB39B* は Rab family small GTPases の 1 つで neuronal membrane traffic や autophagy に関与することが知られている。

②*WDR45* は幼少時には知的障害、発達遅滞、自閉症、てんかん等を呈し、成人期にはジストニア、パーキンソン症候群、認知症に進行する X 連鎖性顕性疾患 Static Encephalopathy of Childhood with Neurodegeneration in Adulthood (SENDA) の原因遺伝子として知られている。本症例で見出された変異は、最終エクソンのフレー

ムシフト変異による stop-loss 変異となる。同様の stop-loss 変異は数症例で報告されているが、幼児期には比較的軽症で経過する症例から本例のように重症となる例までであるが、その分子病態機序は明らかになっていない。WDR45 は autophagy における早期 autophagosome 形成に関わることが知られている。

【考察】

MECP2 を含まない Xq28 の 1.2Mb の重複症例の発達障害に関連する遺伝子として *RAB39B* に注目した。*RAB39B* 変異は autophagy の調節障害を介して、ASD あるいは Parkinson 病を引き起こすことが知られている。一方、*WDR45* 変異は、autophagosome の調節障害をきたし、小児期に ASD (知的障害とてんかんも合併)、成人期に Parkinson 病を含む変性疾患をきたすことが知られている。さらに Parkinson 病の原因遺伝子 *PARK2* の欠失が、ASD に関連することも報告されていることから、Autophagy-ASD-Parkinson 病の関連性は注目すべき病態機序となるかもしれないと考えた。

【参考文献】

1. Akahoshi K, Nakagawa E, Goto YI, Inoue K. Duplication within two regions distal to *MECP2*: clinical similarity with *MECP2* duplication syndrome. *BMC Med Genomics*. 2023 Mar 6;16(1):43. doi: 10.1186/s12920-023-01465-3. PMID: 36879246

自閉症様マーモセットの hoch 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

自閉スペクトラム症 (ASD) 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 hoch 機能のモデル動物は、 hoch な知能と高い社会性を有するヒトに近縁な動物で検討する必要がある。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である。

方法

①幼少期における他個体への注視時間と成長後の社会性障害との関連

マーモセットは視線を用いて両親や兄妹から群れ社会におけるコミュニケーション手法を学ぶ。ヒト自閉症者の「視線が合わない」という特性が ASD モデル動物である胎児期バルブプロ酸曝露群 (VPA 群) においても観察されるかを調べるため、3 か月齢の幼若個体を見知らぬ成獣個体と透明の板越しに対面させ、その際他個体への注視時間を計測した。

②治療候補薬投与による hoch 社会認知の行動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報酬を得るのを見ると、それを見た個体が従来と同じ報酬が貰えるのに関わらず課題を遂行しなくなる (または餌の受け取りを拒否する) ことを不公平忌避という。マーモセットは雌雄ともに不公平忌避を示し、VPA 群は他個体への関心が弱く不公平忌避を示さないという社会認知機能障害を明らかにしたが^[1]、その症状に対して、近年ヒトの臨床治験で ASD の候補治療薬と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) を VPA 群に経鼻投与することで治療効果が確認されるかを検討した。

③過活動性の微細解析とコルチゾール値との関連 ASD を含めた発達障害では様々な合併症状が認められることが多く、ASD における過活動性 (多動性) はその主症状である。本研究では VPA 群の

活動量を計測するため、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 週間測定して定型発達群 (UE 群) との比較を行った。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、過活動性との関連を調べた。

④ストレス応答性と他個体の脅威状況への認識 軽度の自閉症者においても認められる症状の一つにストレス脆弱性が挙げられる。ASD 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。本研究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。また、マーモセットは他個体の傍にヘビ玩具が置かれているとき (他個体が脅威状況に晒されているとき) に警戒音声を発するか、またその頻度に UE 群と VPA 群で違いがあるかを調べた。

⑤他個体の行動に基づく意志決定の予備的検討

これまでの研究で、マーモセットはヒト第三者間の互恵的/非互恵的交渉を弁別し^[2]、隣の個体が受け取る報酬に比べて自身の報酬の価値が低いときには課題の遂行をしないが、これらの社会的な影響は VPA 群では示されないことを明らかにしてきた。しかし、これらの社会的な影響は間接的なものであり、他個体の行動が直接、自身の報酬の獲得に影響するものではなかった。VPA が投与されたマーモセットや投与されていないマーモセットは、他個体の行動にあわせて自身の行動を調整するかどうかを検討するための予備的検討を行った。

他個体が (自身から見て) 右の餌を取った場合、自身は左を選択しなければならない状況の行動を検討するために、VPA 群と非投与群はいずれも単純な位置弁別課題において、その成績に違いがないことを示さねばならない。そこで位置弁別実験を実施した。

結果

①幼少期における他個体への注視時間と成長後の社会性障害との関連

ヒトの年齢では 2-3 歳程度に当たる、3 か月齢の VPA 群において、成獣を注視する時間が UE 群と比較して短いことが明らかになった。また、その幼少期の他個体注視時間と、成長後の社会性障害や固執的行動に強い負の相関があることを見出した^[3]。

②治療候補薬投与による高次社会認識の行動評価被験個体（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。

③過活動性の微細解析とコルチゾール値との関連加速度センサーの測定値から、UE群に比べてVPA群では24時間の活動量が有意に高いことが明らかになり、起床時の活動量の立ち上がりは定型発達群よりも急激で、夕刻の消灯時には活動量が急に減少する傾向がみられた。また、VPA群は活動の間欠性に低下がみられ、一度休息姿勢に入っても長続きしないことが観察された。エントロピーを指標にした活動量解析では、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、生理学的指標としてストレスホルモンであるコルチゾール値を起床直後と就寝直前に採取した唾液から測定したところ、定型発達群と比較してVPA群では一日を通してコルチゾール値の上昇が観察された⁹⁾。活動量との関連を調べたところ、活動量が多い個体ほど起床直後のコルチゾール値が高いという正の相関も確認された。

④ストレス応答性と他個体の脅威状況への認識ヘビとキリンをモニターに同時呈示しているときに警戒音声を再生すると、UE群ではストレス事象の映像画面から体を背け視線を外す時間が長くなったが、VPA群では各動物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が統計的に有意な差ではなかった。他個体の脅威状況への認識については、個体単独でヘビ玩具を呈示された際に警戒音声を発した7頭を対象にしたところ、警戒音声発声数は1)単独・ヘビあり（385回）、2)単独・ヘビなし（38回）、3)非血縁個体・ヘビあり（310回）、4)血縁個体・ヘビあり（432回）と、血縁個体がいるときに警戒音声が最も多く発せられた（ $F(3, 15) = 3.64, p < .05$ ）が、個別の条件間では有意差は見られなかった。

⑤佐藤さんの実験

学習基準に到達するまでの平均到達セッション数は、非投与群が5.8回、VPA群が4.8回で大きな違いはなかった。なお、逆転学習では、7.8回と6.6回であったが、再逆転では非投与群が6.6回であるのに対し、VPA群は9.0回と多くのセッションを要した。この結果は先行研究と一致している⁹⁾。

考察

上記の結果から、自閉症児の社会的注意障害がその後の社会脳発達を障害する可能性が示唆され、本モデル動物がASDの早期介入・早期治療法の開発に有用であることが明らかとなった。また、ヒトの臨床治験においてASD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、自閉症モデルマーマモセットである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。さらに、VPA群において有意なコルチゾール値の上昇が観察されたことから、行動パターンや脳病理だけでなく、ホルモン調節においても本モデル動物とヒト自閉症に類似性があることを示唆している。

結論

本研究では、一貫して胎生期のバルプロ酸投与による自閉症モデルを作出し、自閉症との表面妥当性を示した。さらに、自閉症の基準とされない高次社会認知機能においても、非投与個体よりも社会認知能力が低下していることを示した。

自閉症はスペクトラムであり、ヒトの自閉症のあり方はかならずしも一様ではないが、少なくともバルプロ酸による自閉症者のモデルとしては有用であると考えられる。

間接的な社会行動に障がいがあることを示したものの、直接自身の利益にかかわるような社会交渉においても障がいが見られるかを検討するところであったが、期間内に研究を終えることができなかった。

今後は、バルプロ酸以外の方法による自閉症モデルの作成や、ヒト自閉症者が潜在的に有している社会認知機能の低下をあきらかにするような、霊長類モデル研究の実施が待たれる。

参考文献

- [1] 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.
- [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 interaction with otherwise avoided non-reciprocal individuals. *Behavioural Brain Research*, 292, 323-336.

[3] Nakagami, A., Yasue, M., Nakagaki, K., Nakamura, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Reduced childhood social attention in an autism model marmoset predicts impaired social skills and inflexible behavior in adulthood. *Frontiers in Psychiatry*, 13, 885433

[4] Nakamura, M., Nakagami, A., Nakagaki, K., Yasue, M., Kawai, N., & Ichinohe, N. (2022). Prenatal valproic acid-induced autism marmoset model exhibits higher salivary cortisol levels. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16, 943759

自閉症様モデルマー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マーモセットの作出に成功しており、作出されたマー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、薬理的に作出された自閉症様マー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ヶ月齢のマーマーモセット脳の眼窩前頭前野（area12）と前部帯状皮質（area24）および成体マーマーモセット脳の前頭眼野（area8a）と側頭葉（TE野）を対象とし、それぞれの脳領域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マーモセット（以後、VPAマーマーモセット）と定型発達・バルプロ酸非曝露マーマーモセット（以後、UEマーマーモセット）を比較対象とし、最もシナプス形成が盛んな3ヶ月齢のマーマーモセット8個体（UE:4個体、VPA:4個体）の2脳領域（内側前頭前野、前帯状皮質）、成体マーマーモセット8個体（UE:4個体、VPA:4個体）の2脳領域（前頭眼野、側頭葉）を用いた1細胞遺伝子発現解析を行った。各サンプルから平均11,334個（1,961～36,941個）の1細胞発現データと平均4,352遺伝子（2,385～5,648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マーマセットとUEマーマセットの発現比較を行った結果、VPAマーマセットの興奮性ニューロンでは発現低下、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ていた。

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マ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。

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ミクログリア・アストロサイト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マセットモデルの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マセットモデルは、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6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、異なる発達段階における1細胞遺伝子発現解析をさらに進めるとともに、バルプロ酸の作用機序（ヒストン脱アセチル化阻害剤）に直結するヒストン修飾解析（single-cell ATAC-seq）解析も進める。さらに、ヒト自閉症死後脳を用いた研究・データも増えてきたため、ヒトのデータとの統合解析の大規模化を計り、バルプロ酸投与マーマセットモデルがヒト自閉症のどのサブタイプのモデルと成り得るのか、層別化を行う。

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マ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マ
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
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 (3)。本研究では、ヒト ASD 当事者を対象に、ASD の脳分子病態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、ASD 脳分子病態の候補としてセロトニン 1B 受容体やドパミン D2/3 受容体およびミトコンドリア複合体 I (MC-I) 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 20 名と定型発達者 20 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 撮像を完了させた。

ASD の脳分子病態の候補として検討した MC-

I の PET については、23 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 者では前部帯状皮質で MC-I 活性が低下しており、Autism Diagnostic Observation Schedule で評価した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 (4)。

考察 これらの結果は、これまで死後脳や血液を用いた研究の結果から推測されていた ASD の「ミトコンドリア機能障害仮説」を生体脳内における検討によって裏付けるものである。さらに、脳内のミトコンドリア機能の改善を図ることが治療薬の標的となる可能性を支持すると考えられた。

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 Apr;27(4):2106-2113.
4. Kato Y, … (途中 14 名), Yamasue H* Lower availability of mitochondrial complex I in anterior cingulate cortex of autism: a positron emission tomography study. *American Journal of Psychiatry* 2023 Apr 1;180(4):277-284.

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、行動経済学的手法を応用し、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, 3]。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。

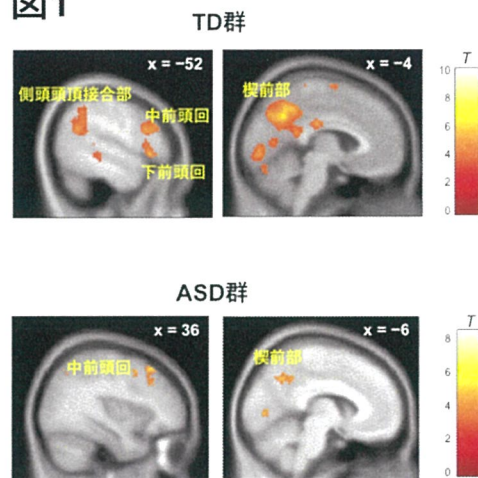
両群の年齢、利き手、知能指数(IQ)をマッチし、fMRIの解析にはSPM12(Wellcome Trust Center for Neuroimaging, London, UK)を用いた。

【結果】TD ($n = 28$, 29.4 ± 6.9 歳), ASD ($n = 22$, 30.4 ± 6.2 歳)を解析対象とした。

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 ($p < 0.05$)。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。

損得勘定に関する意思決定を行なっている最中の脳活動として、下前頭回、中前頭回、内側前頭前野、楔前部、側頭頭頂接合部などの脳領域が同定された(図1)。情状酌量に関する意思決定を行なっている最中の脳活動としては、中前頭回、側頭頭頂接合部を中心とした脳領域が同定された。ASD群では、TD群と比較して、損得勘定に関する左下前頭回の脳活動が低下していたが、情状酌量に関する脳活動は両群で有意な差を認めなかった[4]。

図1



【今後の展望】

本研究結果をもとに、柔軟性や文脈感受性に関わる神経ネットワークに着目し、ASDの多角的な病態解明、新規治療法開発の基盤としたい。

【参考文献】

1. Farmer et al. People with autism spectrum conditions make more consistent decisions. *Psychol Sci* 28:1067-1076, 2017.
2. Fujino et al. Attitudes toward risk and ambiguity in patients with autism spectrum disorder. *Mol Autism* 8:45, 2017.
3. Fujino et al. Impact of past experiences on decision-making in autism spectrum disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 270:1063-1071, 2020.
4. Tei et al. Decision flexibilities in autism spectrum disorder: An fMRI study of moral dilemmas. *Soc Cogn Affect Neurosci* 17: 904-911, 2022.

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を中心として行ってきたコホート研究の参加児童（自閉スペクトラム症[autism spectrum disorders: 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 [acoustic startle response: ASR] 検査および安静時閉眼癌・ミスマッチ陰性電位・聴覚誘発脳磁界反応等の脳波・脳磁図検査）、アクチグラフを用いた行動動態指標、腸内・口腔内の菌種組成等、動物実験にも応用可能な指標のデータをもとに、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候補を検討した。有力なマーカーに関しては、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などの類似の指標を主任研究者らと検証し、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した。なお、本研究課題で行った研究は全て臨床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行った。全ての被験者および未成年では保護者からは、研究に関する説明（研究対象者に対する人権擁護上の配慮、研究方法による研究対象者に対する不利益、危険性の排除や説明と理解に関わる状況等）を行った後、書面で同意を得た。

これまで分担研究者らは、小さな聴覚刺激に対する

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⁾と関連するエンドフェノタイプの有力な候補と考えられることを報告したが、糞便・唾液内の様々な細菌叢の組成は、このような指標や ASD 特性などと有意な関連を認めた。

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。また、脳磁計を用いて評価した聴性定常ガンマ律動の power 値の側性が児童の行動上の問題などの臨床指標と有意な関連を認めた。

アクチグラフを用いて同じ保育所に通所し共通の午睡環境で過ごす児童の身体活動動態解析から、感覚特性の問題の大きさは午睡の睡眠効率の減少や中途覚醒時間の増加といった指標と有意な関連を認め、感覚特性に応じた生活環境の調整が睡眠などメンタルヘルスに影響する可能性が示唆された。

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、教職員のヒアリングなど行った後、建築音響工学に関する知見を応用し、吸音材やパーティションなどを用いて音環境保全対策を行った。また、学校や水族館、映画館などの施設において音環境保全対策の普及に向けた取り組みを行った。

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⁾、安静開眼時脳波の活動源や connectivity、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 や併存精神障害と関連する生物学的マーカーになる可能性が考えられた。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の変化を多次元的・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。さらに、聴覚過敏などに配慮した生活環境調整に向けて、音環境保全対策などの普及も行う必要があると考えられる。

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.

Translational Research for developing of therapy of developmental disorder

Noritaka Ichinohe

National Institute of Neurological and Psychiatry

We have developed the world's first model marmoset of autism spectrum disorder (ASD) exposed to valproic acid *in utero* (VPA marmosets). Its gene expression and autism symptoms are highly correlated with human ASD, providing a more accurate model than rodents. The growth trajectories of gene expression in this marmoset and human ASD cases are very similar, indicating a developmental stagnation of molecular activity in the brain. This stagnation is also associated with abnormal histone acetylation and is considered an important biological feature of ASD. ASD is highly heterogeneous, making it difficult to develop treatments. Cluster analysis of big data of ASD transcriptome identified three ASD subgroups (G1, G2 and G3) based on gene expression patterns. Notably, all of the ASD individuals in G2 examined had epilepsy. VPA marmosets were similar to G1, accounting for about 1/3 of all autistics. To distinguish between these ASD subtypes, potential biomarkers were explored. G1 was characterized by up-regulation of inflammation-related genes, G2 by changes in neural and myelin-related genes, and Group 3 by being less well defined; MRI, PET, and EEG/MEG studies suggested several potential biomarkers in each group. We have developed ASD drug screening methods using VPA marmosets, possible behavioral phenotypes by monitoring head direction using AI. We have confirmed certain effects of small amounts of VPA, which is HDAC inhibitor, on sleep disturbances and behavioral problems of ASD. In summary, the VPA marmoset has a pathology similar to that of human ASD and is a powerful tool for biomarker exploration, pathophysiological elucidation, and therapeutic development.

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 A β) 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

高橋祐二 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

大屋知徹 国立精神・神経医療研究センター
(R2 年度まで)

窪田慎治 国立精神・神経医療研究センター

前田和孝 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

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

小倉淳 国立精神・神経医療研究センター

菊田里美 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

菅井智昭 国立精神・神経医療研究センター

原友紀 国立精神・神経医療研究センター

内田直輝 国立精神・神経医療研究センター
(R2 年度まで)

小泉昌司 国立精神・神経医療研究センター
(R3 年度まで)

熊本卓也 広島大学大学院
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 曉曼 大阪大学・大学院医学系
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

2 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 that study was to establish the world's first animal model strain of AD in monkeys and to establish biomarkers that reflected the onset and progression of the disease. The phenotype of the genetically modified individuals was evaluated by biochemical markers (CSF, A β 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, a new method of producing animal models of diseases was developed using intravenous viral vectors to realize a research environment in which multiple studies on monkeys with dementia other than AD and other higher brain dysfunction models could be conducted simultaneously at NCNP on a small scale. Finally, the research that had been ongoing since the previous 3 year was completed to establish a common biomarker among human monkeys for the polyglutamine disease model marmoset. This 3 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. The following is a summary of the research results in each of these areas.

(Research result is not for public release.)

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

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 生命倫理室

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

原 貴敏

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. 研究成果

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。

- NCNP-ARO の支援状況に関する検討
ARO 人員である主任研究者、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、リツキサン等)、NS-069/NCNP-01 (ビルトラルセン) の開発戦略提言及び RWD 活用も含めた早期条件付き承認に向けての支援に加え、他機関主導の多施設共同医師主導治験 (東京女子医大: 福山型筋ジストロフィー患者、NHO 刀根山医療センター: Duchenne 型筋ジストロフィー) の支援を開始している。これらについては、AMED 研究費支援段階から関与し、研究費を獲得し進められている。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り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、JCAT-PRIME、IRUD など) も積極的に行ない、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 整備、NCNP 内 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、アカデミア研究としても重要な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生物統計家ネットワーク「希少疾患特有の統計的課題検討班」(全ての NC および東京大学、北海道大学から参加) を立ち上げ、神経系難病または希少疾患などの臨床試験での経験、実施上の問題点、課題を共有し解決策の議論を行う体制を構築した。

生命・研究倫理支援については、年間 50 件以上の相談を行いつつ、その内容分析から、研究に関する法規制を踏まえた研究における適正な IC の手続き (IC 簡略化、オプトア

ウト要件該当性を含む)、データ等の二次利用、第三者提供に係る手続き、倫理審査要否の判断、共同研究機関、試料・情報の授受を行う他機関との調整、研究実施体制の在り方などは、研究者へわかりやすく情報提供するとともに、外部機関からの相談も増加していることから、他 NC 研究倫理担当者と連携して対応できる体制に着手した。

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。

- 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

クラリベイト株式会社 (「Clarivate」) の持つ Cortellis Clinical Trials Intelligence (CTI) 等を活用し、NCNP 研究開発の特徴について調査した。NCNP の論文数、開発実績、市場性などから、脊髄性筋萎縮症、プリオン病、多発性硬化症、視神経脊髄炎、筋ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、脊髄小脳変性症、免疫介在性壊死性ミオパチー、ミトコンドリア病を抽出し、戦略ポートフォリオを作成した。さらに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し、パイプラインデータをリスト化した。これらは、今後の NCNP の神経難病領域における開発領域の基礎資料となると考えられ、研究者とも共有できる資料である。

- 脳神経内科領域における研究開発活動に関連する研究者の支援要望調査

脳神経内科領域の研究者に対して、研究開発活動において ARO 等に何の支援を求めるかアンケート調査を行った。神経治療学会と連携し、ウェブ調査を実施し 131 名からの回答を得た。結果は、PM、薬事支援などについては、ARO への支援を求めていた。CRC、DM、モニタリングなどについては民間業者からの支援も選択肢となっていた。観察研究支援、RWD の薬事制度化での活用などについては、非中核 ARO への支援希望が比較的

高かった。臨床研究中核病院、非中核施設への支援要望は、非中核所属研究者は必ずしも既存中核への ARO 機能のみを求めているわけではなく、また中核所属の研究者も、観察研究支援、RWD の薬事制度化での活用などについては、非中核の ARO への支援希望が比較的高かった。これらは、現時点での NCNP の ARO として支援すべき対象として重要なデータとなった。

- NCNP 研究者、臨床研究・治験実施者としての検討

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。さらには、NCNP が内外研究者への開発コンサルテーション的機能も必要と考えられた。

NCNP における神経系難病のレジストリ現状分析も行われ、「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)」を順調に実施、さらに薬事制度化の活用を見据えた J-CATPRIME が ARO 支援の元で開始されたのは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

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。これをもとに、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの上肢自然歴について多施設研究を計画し実施継続中である (UMIN000046838)。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下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

臨床研究中核病院、非中核病院の神経系難病への ARO 支援状況を共有し、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・治験情報提供窓口（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、外部参加可能な 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、脳神経内科領域の研究者に対するアンケート調査概要を策定、実施した（結果は、上述）。

- 行政、レギュラトリーサイエンス的検討

厚生労働省、医薬品医療機器総合機構 (PMDA)、日本医療研究開発機構 (AMED) など、公的機関による難治性・希少疾患領域の新薬等開発促進に関連する支援策等の情報を収集・整理、また、近年承認された神経系難病薬について、希少疾病用医薬品指定と承認申請のタイミングを分析、商用データベース (明日の新薬) を利用して、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。海外情報として、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収集し、特に NCATS (National Center for Advancing Translational Sciences) における希少疾患に特化した研究開発の支援プログラムについて調査を行った。これらの情報に基づき、今後 NCNP に求められる機能として、神経難病に対する新規治療の研究開発について、NCNP の研究開発力の評価結果等も踏まえた疾患の選定や優先順位付け、新規治療の臨

床研究実施に向けた取り組み（自然歴把握、非臨床試験→臨床試験移行のサポート、バイオマーカーや臨床評価指標の検討など）、他機関等への支援の提供（被験者登録、データシェアリングなど）、患者・患者団体との情報交換、協力体制の強化、開発企業や研究者への助言について提案した。

- 今後の研究の進め方について

NCNP の ARO 機能については、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は考えられる。しかし未だその事例は多くはないことから、今後は開発事例を増やすことが必要である。そのためにも本研究で実施した NCNP の開発状況分析、国内未開発領域分析、また研究者の聞き取り、ウェブアンケートからの要望も踏まえつつ、NCNP 自体の開発事案に加え、他施設研究者支援にも力を入れていく必要がある。なお、今後の支援数増大を考えた場合、現時点での ARO 人員では十分とは言えない事から、他 NC や ARO との連携、外部委託の活用も含めて考えておく必要がある。

今後の方策としては、現在行なっていることは継続しつつ以下を進めていく。

- 開発事案増加に向けての具体的な方策（NCNP 内開発事案増加の取り組み、他施設開発事案への関与）

- 医師主導治験、特定臨床研究に限らない研究支援（RWD 活用などの要望は高い）

- 生物統計家、生命倫理・研究倫理などにおける他施設支援部門との協調

- 他 NC や ARO との連携、外部委託の活用も含めて考える

また NCNP が取り組むべき希少・難病領域、精神疾患領域での医薬品等開発における課題については、単に他 ARO と同様な支援をするのみでなく、NCNP の専門領域に特化したレギュラトリーサイエンス等の観点からの支援、提言を NCNP が積極的に提案していくべきである。またそのためにも開発研究、レギュラトリーサイエンスに関わる人材育成も進めるべきである。

なお、臨床研究中核病院は現時点で 14 拠点が指定されているが、「臨床研究・治験の推進に関する今後の方向性について（2019 年版とりまとめ）」において提言された特定疾病領域については未だ指定されていない。しかしながら、厚生科学審議会（臨床研究部会）では、2019 年の取りまとめの見直しが行われており、「リアルワールドデータの利活用促進」や「小児疾病・難病等の研究開発が進みにくい領域の取組」については、引き続きこれまでの取組を継続しつつ、更なる取組について検討を実施する（臨床研究部会資料）とされている。これらは、NCNP がこれまで実施してきた強みであり、今後の動向を踏まえつつ本研究で示された NCNP の強みを生かした研究支援のあり方を引き続き進めることが重要である。

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, Zanolini E, Castiglioni C, Marini-Bettolo C, D'Amico A, Deconinck N, Desguerre I, Erazo-Torricelli R, Gurgel-Giannetti J, Ishiyama A, Kleinstauber 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
 - Shimizu R, Ohata M, Tachimori H, Kimura E, Harada Y, Takeshita E, Tamaura A, Takeda S, Komaki H. Expectations and anxieties of Duchenne muscular dystrophy patients and their families during the first-in-human clinical trial of NS-065/NCNP-01. *Brain Dev.* 42(4):348-356 2020
 - Komaki H, Maegaki Y, Matsumura T, Shiraishi K, Awano H, Nakamura A, Kinoshita S, Ogata K, Ishigaki K, Saitoh S, Funato M, Kuru S, Nakayama T, Iwata Y, Yajima H, Takeda S. Early phase 2 trial of TAS-205 in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Ann Clin Transl Neurol.* 7(2):181-190 2020
 - 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. *Sci Transl Med.* 18;10(437) 2020
 - Nouchi R, Aihara H, Arie F, et al. Toward Global Standardization of Conducting Fair Investigations of Allegations of Research Misconduct. *Accountability in Research* Vol.27 2020
 - Shimizu S, Iijima M, Fukami Y, Tamura N, Nakatochi M, Ando M, Nishi R, Koike H, Kaida K, Koga M, Kanda T, Ogata H, Kira JI, Mori M, Kuwabara S, Katsuno M. Efficacy and Safety of Rituximab in Refractory CIDP With or Without IgG4 Autoantibodies (RECIPE): Protocol for

- a Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *JMIR Res Protoc.* 9(4): e17117 April, 2020
- N. Tsutsumi, C. Kurihara..., H. Oi..., K. Imamura Utilization of Information and Communication Technology in IRBs as a countermeasure against the COVID-19 outbreak and future challenges *Clin Eval* 48 (2) : 355-366 2020. 9
 - Okuyama K, Kawakami M, Tsuchimoto S, Ogura M, Okada K, Mizuno K, Ushiba J, Liu M Depth Sensor-Based Assessment of Reachable Work Space for Visualizing and Quantifying Paretic Upper Extremity Motor Function in People With Stroke. *Physical therapy* 100(5) 870 - 879 2020
 - Kondo Y, Bando K, Ariake Y, Katsuta W, Todoroki K, Nishida D, Mizuno K, Takahashi Y Test-retest reliability and minimal detectable change of the Balance Evaluation Systems Test and its two abbreviated versions in persons with mild to moderate spinocerebellar ataxia: A pilot study *NeuroRehabilitation*, 47 (4), 479-486 2020
 - Nishida D, Mizuno K, Tahara M, Shindo S, Watanabe Y, Ebata H, Tsuji T Behavioral Assessment of Unilateral Spatial Neglect with the Catherine Bergego Scale (CBS) Using the Kessler Foundation Neglect Assessment Process (KF-NAP) in Patients with Subacute Stroke during Rehabilitation in Japan *Behavioural Neurology*, Volume 2021, Article ID 8825192, 7 2021
 - Hiroko Kotajima-Murakami, Ayumi Takano, Shinya Hirakawa, Yasukazu Ogai, Daisuke Funada, Yuko Tanibuchi, Eriko Ban, Minako Kikuchi, Hisateru Tachimori, Kazushi Maruo, Takahiro Kawashima, Yui Tomo, Tsuyoshi Sasaki, Hideki Oi, Toshihiko Matsumoto, Kazutaka Ikeda Ifenprodil for the treatment of methamphetamine use disorder: An exploratory, randomized, double-blind, placebo-controlled trial *Neuropsychopharmacology Reports* 39 (2) : 90-99 2022. 1
 - 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.* 11 4) : 317 2021.4
 - 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.* 56 · 2 · 220-229 Mar, 2022
 - Yuji Takahashi · Hidetoshi Date · Hideki Oi · Takeya Adachi · Noriaki Imanishi · En Kimura1 · Hotake Takizawa · Shinji Kosugi · Naomichi Matsumoto · Kenjiro Kosaki · Yoichi Matsubara · IRUD Consortium · Hidehiro Mizusawa Six years' accomplishment of the Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases: Nationwide project in Japan to discover causes, mechanisms, and cures *Journal of Human Genetics Open Access* 2022.3
 - Kondo Y, Bando K, Ariake Y, Katsuta W, Todoroki K, Nishida D, Mizuno K, Takahashi Y. Test-retest reliability and minimal detectable change of the Balance Evaluation Systems Test and its two abbreviated versions in persons with mild to moderate spinocerebellar ataxia: A pilot study. *NeuroRehabilitation.* 2020;47(4):479-486. doi: 10.3233/NRE-203154. 査読有り
 - 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

- 森雅彦, 岩崎幸司, 小居秀紀, 他 7 名 臨床研究法下での臨床研究への企業関与にかかる RACI チャート構築の試み 薬理と治療 48, 増刊 1, 39-56 2020. 9
- 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 235-241 2022 年 2 月
- 近藤 夕騎, 松永 彩香, 小笠原 悠, 加藤太郎, 山本 達也, 西田 大輔, 水野 勝広. 多発性硬化症のリハビリテーション支援を目的とした現況調査 総合リハビリテーション, 50 巻・4 号, 405-411, 2022.
- 近藤 夕騎, 望月 久, 滝澤 玲花, 吉田 純一朗, 鈴木 一平, 加藤 太郎, 板東 杏太, 西田 大輔, 水野 勝広. パーキンソン病とその関連疾患における日本語版 Characterizing Freezing of Gait questionnaire の尺度特性の検討 理学療法ジャーナル, 56 巻・5 号, 603-609, 2022.

【学会発表】

- 松永綾香, 阿部恭子 鈴木一平 加藤太郎 近藤夕騎 望月久 西田大輔 水野勝広. 足圧感知聴覚フィードバックを与える歩行練習によって歩容が改善したパーキンソン病 1 症例. ; 第 4 回日本リハビリテーション医学会秋季学術集会, 2020 年 11 月
- 清水功一郎, 橋出秀清, 佐藤徳子, 水野勝広. デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における Box & Block TEST、Purdue Pegboard Test と Brooke Upper Extremity Scale の関係. 第 75

回国立病院総合医学会, 2021 年 10 月

- 花井重紀子, 寄本恵輔, 有明陽佑, 朝海さつき, 菊川渚, 簾田歩, 原静和, 青松貞光, 塚本忠, 水野勝広, 高橋祐二 神経筋疾患患者の胃瘻造設における協働意思決定と後悔に関する研究 -pilot study13 例から見えたこと-第 63 回日本神経学会学術大会 東京 2022.5.20
- 近藤 夕騎, 門根 秀樹, 鈴木 健嗣 3 次元姿勢推定 AI 技術を用いた動画像からのパーキンソン病におけるすくみ足自動検出システムの開発 LIFE2022 Web 2022.8.19
- 中山 慧悟 パーキンソン症候群患者の嚥下障害の自覚と嚥下に関わる QOL 第 18 回日本神経摂食嚥下・栄養学会学術集会東京大会 東京 2022.9.3
- 中山慧悟, 西田大輔, 坂巻拓実, 原貴敏 炭酸濃度がとろみ負荷時の粘度に及ぼす影響に関する検討 第 76 回国立病院総合医学会 熊本 2022.10.7
- 近藤 夕騎, 松永 彩香, 小笠原 悠, 加藤太郎, 山本 達也, 西田 大輔, 水野 勝広 全国多発性硬化症患者を対象としたインターネット調査: リハビリテーション治療にかかわる問題点の把握 第 76 回国立病院総合医学会 熊本 2022.10.8

【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

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

小児神経疾患の臨床開発を考えるうえで考慮すべき点

- a. 単一遺伝子変異による（超）希少疾病、難治性疾患が非常に多い
- b. 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（DMD）、脊髄性筋萎縮症（SMA）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。
- c. 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。
- d. 国際共同治験の推進、症例集積性向上

臨床試験を検討する際の課題

- a. 疫学情報、自然歴データが不足している。
- b. 希少性、重症例が多いなどの理由から被験者組み入れの難易度が高い。

- c. 目的に応じた試験デザインの設定が重要と考えられるが、医師にノウハウが不足している。
- d. 研究早期の段階から薬事、プロジェクトマネジメントなどの支援を受けることが理想であるが多くの施設でそれは難しい。

3. レジストリ構築の意義

- a. 小児神経疾患を対象にレジストリを構築する意義は大きい。
- b. 研究者へのノウハウ、データセンターなどの基盤を提供できるとよい。
- c. 構築に関するコンサルテーション機能、フォーマットがあるとよい。
- d. レジストリとバイオリソースの連携が今後重要となる（情報管理連携を含む）。
- e. 目的に応じたレジストリ構築に関するノウハウがNCNPにはあり、安定的にデータを管理するうえでもNCNPが管理する意義は大きい。

独自のシーズ開発という観点での検討

- a. 遺伝子治療をNCNPで進めるには体制が弱い。核酸医薬は基礎、臨床両面においてNCNPで開発経験を有するが、NusinersenやViltolarsenの成功を踏まえ、神経疾患を中心に大きく発展する究極の個別化医療を提案できるポテンシャルを有するため優先的に開発を検討するとよい。
- b. ゲノム編集は早期の段階で臨床開発を見据えたNCNP内外の基礎研究者との連携策を講じることができるとよい。
- c. 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も重要になってくる。
- d. 先進医療を進めるという観点で病院機能の充実も課題である。

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。

1. 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。
2. 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提供体制があるとよい。

3. 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。
4. 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とよい。
5. 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。
6. NCNP内外に向けた小児神経疾患を対象とする臨床試験に関するコンサルテーション機能の整備があるとよい。
7. 筋疾患以外の小児神経疾患、超希少疾病を含むレジストリ構築を今後具体的に検討していきたい。
8. NCNPが小児神経疾患を対象とした治験拠点として整備する。

結論

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。

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 病院 臨床研究・教育研修部門 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 2 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) AMED 医薬品等規制調和・評価研究事業、「医薬品の承認審査における臨床成績評価等の薬事手続きに資する医療情報データベース等の利活用に関する研究 (研究開発代表者: 中村治雅)」・研究開発分担者、令和

4年度

6)AMED 研究開発推進ネットワーク事業、「地域、疾患領域、臨床研究者・支援専門職ネットワークを活用した、QMSの実装に向けたRBAの概念に関する研究者及び研究支援者への教育資材の作成に資する研究(研究開発代表者:小居秀紀)」・研究開発代表者、令和4年度

7)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:杉浦互(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

8)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連携レジストリデータ利活用促進事業(研究代表者:杉浦互(国立国際医療研究センター))」・共同研究者、令和4年度

結果

① 医師主導治験に係る品質管理・QMS/RBA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)管理に関して運用した。さらに、今年度採択されたQMSの実装に向けたRisk Based Approach(RBA)の概念に関する研究者及び研究支援者に対する教育を検討する

AMED研究班の活動を通じて、NCNPにおけるQMSに基づくRBAの実装にも取り組んだ。

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。また、

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」分担任

(分担任代表: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^{8,9)}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、Remudy-DMD においては、2022年6月27日に、PMDA レジストリ活用相談を実施 (相談内容：①ユーザー管理について、②モニタリングのSDVについて、③データの提供の手順について) した。また、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。なお、前述の AMED・柴田班の成果物は、2022年12月23日発行の日本臨床試験学会雑誌に掲載された^{10,11)}。

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 Ooi, 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)
5. 木村基, 小居秀紀, 支援委員会について. 第4回レジストリフォーラム, 2022年12月

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。特に、本研究開発課題開始時は、厚生労働省や PMDA といった規制当局側がリードする形で検討が進んでいるおり、企業側がついてきていない印象であったが、最終年度になり、企業側も開発戦略にレジストリデータの利活用を盛り込む等、積極的に推進する意識が醸成されていると感じる。また、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ことには変わりはない

が、臨床研究法に基づく特定臨床研究のデータの薬事目的での利活用に関する事務連絡¹²⁾も発出される等、日本における難治性・希少疾患領域の研究開発の戦略策定において、生命科学・医学系指針に基づく患者レジストリ構築研究、医薬品医療機器等法に基づく医師主導治験、臨床研究法に基づく特定臨床研究をシームレスかつ柔軟に議論する時期に来ていると思われる。

現行の ICG E6 (R2) で明記された QMS やそれに基づく RBA (Risk Based Approach) による品質マネジメント活動は、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・管理体制を提言し、また、海外事例も踏まえたブロード・インフォームドコンセントやダイナミック・コンセントといった手法も含むデータ駆動型研究¹³⁾の議論を深め、企業による二次利用・第三者提供を推進するための手法・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られる。

結論

令和 4 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/RBA 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。さらに、今年度採択された AMED・小居班の活動を通じて、NCNP における QMS/RBA の実装にも取り組んだ。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、AMED・柴田班の成果物の則り、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、レジストリ活用相談でのコミュニケーションツールとして有益であることの検証を実施した。

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/significantamendments-to-the-fdca/21st-century-cures-act/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」作成の経緯. Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療), 47, suppl.1, : s9-s12, 2019.
- 9) 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), 47, suppl.1, : s13-s35, 2019.
- 10) 小居秀紀ほか, 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「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」作成の経緯. Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療), 50, suppl.2, : s102-s105, 2022.

- 11) 小居秀紀ほか, 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「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」．
Jpn Pharmacol Ther (薬理と治療)，
50, suppl.2, : s106-s153, 2022.
- 12) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課、特定臨床研究で得られた試験成績を医薬品の承認申請に利用する場合の留意点・考え方の例示について、事務連絡: 令和4年3月31日.
- 13) 栗原千絵子, 三村まり子, 小居秀紀, 樽野弘之, 佐藤弥生, 小池竜司, 渡邊裕司, 臨床研究法の現状における課題と運用改善に向けた提言：GCP、生命・医学系指針及び海外制度との比較から－第2報 データ駆動型研究の推進と対象者プライバシー保護の課題－, 臨床評価, 50 (1) : 21-48, 2022.

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 データマネジメント室
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件余りの支援経験を有している。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・課題に対する対応の方策および、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った。

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、当面の課題への対応の方策および、長期的な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した

結果

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、支援業務に関する直近の課題として、以下の4点を抽出した。

1. レジストリ研究支援
2. デジタルデータへの対応
3. NCNP ARO 他部門との連携
4. 安定した支援に必要なリソースの確保

レジストリ研究支援については、長期間におよぶデータ収集とデータ提供業務が発生するため、求められるデータ品質に応じてデータマネジメント計画を立案し、効率的な支援を行う必要があると考えられた。デジタルデータへの対応については、DMが扱うデータの範囲を特定し、必要に応じて既存のEDCの機能も活用し対応する方針を検討した。NCNP ARO 他部門との連携に関しては、情報交換・情報共有の環境を整備すると共に、

モニタリング・統計解析等の他部署の業務への理解を深める必要があると考えられた。DM業務の範囲が拡大する中、長期安定した支援継続には人的・業務環境的なリソースの確保が必須である。データの信頼性を損なわない範囲で、DM業務の内容を見直し、紙文書の電子ファイル化・データチェックへのITツール活用等による、DM業務の効率化が必要である。また、コロナをきっかけに許容されるようになったテレワーク(在宅勤務)を維持し、今後も柔軟な勤務を可能とすることが望ましいと思われた。

考察

DM部門は研究者と密接に連携し研究データ管理支援を実施する部門である。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、従来の手法にとらわれず業務の効率化とデータ品質向上に取り組む必要がある。

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考察を行い、果たすべき役割と課題に関して検討を行った。

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った。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した。

方法

本研究は次の3つの方法で実施した。

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
3. 1で検討した手法の事例ベースの考察

R2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可能性のある方法について整理した。

R3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立ち上げ、それぞれの経験の共有と共通の課題を整理した。

最終年度であるR4年度は、2の委員会のメンバーを拡充した。さらに3として、R2年度に整理した活用可能性のある方法を希少疾患を対象とした臨床試験に適用した場合について議論を重ねた。

結果

1. 方法論の文献的検討

効率的に臨床試験を行う方法として、アダプティブ・デザイン、特にベイズ流の逐次的なモニタリングやアダプティブ・ランダム化、および power prior、階層ベイズモデルによるヒストリカルデータの活用などについて応用可能性があると考えた。

逐次的なモニタリングの目的は「新規治療が標準治療よりも優れている見込みが明らかに高い場合、あるいは優れている見込みが乏しい場合に、その時

点で試験を中止することである。検定によらずベイズ統計の枠組みを利用することで、柔軟な進行が可能で過剰な症例の集積を防ぎ、倫理的な問題を緩和できる可能性がある。

Power priorや階層ベイズモデルによるヒストリカルデータの活用も、適切なデータソースがある場合に、症例数削減につながる可能性があり、過去の臨床試験のデータの活用が考えられた。

2. ネットワーク構築

準備期間を経て、「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。国立高度専門医療研究センター6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た。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、(3)相互の臨床試験における実務の共有(外部委員、効果・安全性評価委員等)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つ目の議論は、研究デザインのバラエティであった。研究対象者数が少ないと同時対照をおくことや、 α 、 β エラーを小さく設定することがしばしば困難である。委員会であがった事例では、超希少疾患の feasibility 試験(6人)、希少疾患の単群試験、 α と β を大きく設定した並行群間比較試験、外部対照を置いた単群試験があった。明快な仮説検証は困難であっても、疾患の重篤度・既存治療の選択肢の多さ、当該介入の国内外の開発状況、有効性の程度に応じて柔軟な議論が可能であると考えられ、今回の生物統計家のネットワークでの経験・知識の共有は有用であった。

2つ目の議論は、試験実施後を見据えた戦略的な計画の必要性であった。これは神経系難病に限った話ではないが、症例数が限られる場合は特に重要であることで意見が一致した。症例数が限られることは、精度を下げたりエラーを大きく設定することの免罪符ではなく、条件付き承認の取得をへて、実用とともに検証的データを得る必要がある。あるい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もある。これらの制度と開発計画全体を念頭に置いて実務に当たる必要性が共有された。

3. 事例ベースの考察

方法1で上げた効率的に臨床試験を行うための生物統計学的方法のうち2つを具体的に検討した。①一つ目として、外部対照としてReal world data (RWD)を用いる臨床試験を取り上げた。ネットワーク参加機関メンバーから、事例と実施手順が共有された。Target Trial Emulation (Hernán 2022)と呼ばれる手法の紹介、バイアスの可能性をなくす困難さ、外部データのスタート時点の特定の困難さ、マッチングの実施方法、外部データと試験データの情報の粒度の差、アウトカム・交絡因子・効果修飾因子の欠測、打ち切り理由の欠測、外部データと試験データの母集団のずれなど様々な論点が存在した。とはいえ、情報量の増加や一般化に資する情報を得られるメリットは大きく、RWD側、試験側双方に利活用に必要な準備が必要であることがまとめられた。また、データ管理並びに解析手順においては、透明性と信頼性の確保が最重要であり、知識と経験を有するデータ管理者と統計解析担当者が複数名で取り組む必要があることが示された。②二つ目の論点として、適切なRWDから情報を借用できた後の統計解析手法を掘り下げた。とくにRWDも臨床試験も希少である場合には個票情報を活用できるpower priorで統合する手法が目的に適っており、参加機関メンバーから、解析モデルの発展が紹介、議論された。

考察

特に神経系難病または希少疾患では臨床薬理試験、探索的試験、並行群間比較試験を2回、というような王道の開発ロードマップに限らず、実施可能性と出口を熟慮した開発計画と、それに沿った各試験のデザインを戦略的に考えることが大切である。そのために、疾患横断的に構築した今回の生物統計家のネットワークでの議論は有意義であった。定期的に希少疾患に対するアプローチや課題を共有することで、適切な知識と理解を持った外部委員会参加や助言を得られる機会が増し、知識も更新できることが期待される。

承認申請のプロセスでは実施可能な限りランダム化並行群間比較試験が求められるが、神経系難病または希少疾患では、症例数が潤沢でないことやプラセボが受け入れがたいことが大きな制約となる。頻度論に基づいて行う場合には、ある程度大きな α 、 β エラーを許容する、あるいはベイズ流の解釈を重視することになった場合、どの程度のエラーが許容可能なのか、事後確率いくつが理に適っているかは領域、状況ごとに異なるため、議論と実績を重ねていくことが望ましい。

外部データやベイズ流の方法を活用することは、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。そのため、可能な限り、副次解析であっても、臨床試験にこれらの手法を取り入れ、臨床家や開発専門職と議論してパラメータを設定し、複数の生物統計家で方法の相互チェックを行い、さらに規制当局などとの議論を重ねることで本分野も臨床試験の方法論も発展していくと考えられる。

結論

神経系難病または希少疾患の臨床開発で特に問題となる点を踏まえた、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した。神経系難病または希少疾患での臨床開発で有望な手法についてネットワーク内で議論を重ね、複数の論点を明らかにした。今後、このネットワークを活用した臨床試験への参画や方法の改善などを継続したい。

文献

Hernán MA, Wang W, Leaf DE. Target Trial Emulation: A Framework for Causal Inference From Observational Data. JAMA. 2022;328(24):2446–2447. doi:10.1001/jama.2022.21383

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 生命倫理室
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。

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】 2022年度 臨床研究相談窓口60件 その他14件

相談内容はテーマ分析を行った結果、いくつかの項目が抽出されたが、主な3つを挙げる。

- ・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
 - ・データの二次利用、第三者提供について
 - ・他機関との試料・情報の授受に関して
- 今後の課題として、以下があげられる。

① 研究におけるICの手続きやデータ等の二次利用、第三者提供に係る手続きについて、法規制を踏まえた施設内ルールの整備と研究者への周知。

② データの利活用推進、データベース構築系の研究の増加により、データ収集、共有を行うにあたって、既存の法規制やデータシェアリングポリシー等と整合が取れたデータの取扱いやICの方法等に関するポリシーの作成が必要。

③ 大規模な多機関共同研究や他機関とのデータ授受において、ICの簡略化やアウトアウトが多用される中、研究対象者や代諾者の関与をどこまで考慮できるのか検討する必要がある。

考察

個人情報保護法の改正に伴う指針の見直しが行われたため、ICの手続きに関して計

画の修正や指針の規定の理解等の必要性からICに関する相談が多数あった。また、データベースを構築する研究や国内、国外共同研究が増え、データ共有の手続きや他機関とデータを一元化し管理するにあたっての適正なICの手続きについて支援を求められることが急増した。

国際希少疾患研究コンソーシアムのワークショップでHartmanらによって公表された「取り組むべき希少疾患のELSIのトピックス」は、これまで受けた研究倫理の相談内容の傾向と一致しているところが多い。例えばデータ収集・データシェアリングに関する課題がコアカテゴリとして抽出されており、国際的にデータシェアリングが進む中で、いかに倫理要件と個人情報保護に関するレギュレーションに準拠すべきかが課題となっている。また、同意と患者に関する情報についても本人だけでなく、家族への情報開示については神経難病でも課題となっており、特に遺伝子検査を伴う研究では、子供の権利について米国の関連学会から共同声明が公表されているように、子どもの医療を受ける権利や若者の生殖や教育に関する意思決定の問題でもあり重要な課題である。

今回の研究で明らかになった課題を踏まえ、指針や関連法規制等の内容機関する教育の継続しつつ、以下の支援が必要と考える。

○臨床研究相談業務において、特に以下の点で研究者の支援を行う。

- ・計画中及び現在実施中の研究について、改正指針との整合性を図る
- ・データの取扱いに関する研究体制の再確認や手続きの整理ができるよう支援する

○他機関、患者会等との連携

- ・6 NCや他の神経系疾患関連医療機関の生命倫理専門家、研究倫理支援を行っている者との連携を進め、課題の共有と支援の協働体制、ネットワークを構築する
- ・当事者やその家族、患者会等との連携

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、データの利活用や一元化等が進む中で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、他機関の生命倫理専門家や研究倫理支援者とのネットワークの構築を行うことが重要である。

調査においては当事者や家族との連携を図り、PPIの実践を行くことも検討していく必要があるだろう。

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

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

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、(2)J-CAT を基盤とした産官学連携の多施設共同研究「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と考えられた。さらに、(3)J-PPMI においてもリソース共有と利活用の体制が確立し共同研究が推進されている。また国際連携については、2022 年に開催された International Conference of Ataxia Research 2020 ならびに Ataxia Global Initiative 2022 に参加し、遺伝性 SCD の分子疫学に関する国際共同研究に加わる機会を得て、国際連携を推進した

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。一方、レジストリ研究に代表される基盤整備型研究そのものに対する継続的な研究資金確保が大きな課題である。

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。

令和4年度 分担研究報告

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

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 原貴敏 中村拓也 宮崎裕大

緒言

身体リハビリテーション部においては、神経系難病治療開発において、アウトカム評価指標として運動機能や認知機能を評価する必要があるが、これらの評価は血液検査や生理学的検査と異なり、疾患により特異的な評価法が存在し、定量化が困難であることや、評価の信頼性担保のためには適切な評価者のトレーニングが必要であること、患者の状態により日内・日差変動があること、など種々の問題をはらんでいる。また、先天性疾患では幼少期から成長と機能障害の進行が並行して起こるため、単純に点数の増減で効果を判定できない場合や長期的な経過で評価していた動作が不能になるような場合もあり、適切なコントロールを設定するのが難しい。

本研究課題では、これらの問題を解決するため、神経系難病の適切な評価指標の開発、評価者教育の充実、エビデンスの蓄積を通じて評価法の均てん化を目的とした。

方法

2021年度よりALS、パーキンソン病・症候群、脊髄小脳変性症、筋ジストロフィーについてこれまでNCNPで使用されてきた評価法を整理・統一し、電子カルテ上に入力できるデータセットを作成し、運用を開始した。一部運用の見直し、評価項目の修正を行い本年度には脊髄性筋萎縮症における評価法のデータセットの運用を開始した。

結果

多様な疾患に応用可能な標準的な標準的バランススケール(Balance Evaluation Test: BESTest)を脊髄小脳変性症に応用し最小可検変化量(minimal detectable change: MDC)を算出した。パーキンソン病のすくみ足評価法Characterizing Freezing of Gait Questionnaire(C-FOGQ)の日本語版を作成し、信頼性・妥当性を検討し論文として発表した。脳血管障害患者などに用いられる標準的上肢機能評価法であるBox and Block Test(BBT)、Purdue Peg Test(PPT)を先天性筋疾患に応用し、歩行可能期から歩行不能初期のデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者で連続的に評価が可能であることを確認した。これをもとに、デュシェンヌ型筋ジストロフィーの上肢自然歴について多施設研究を計画し実施継続中である(UMIN000046838)。

考察

神経系難病における身体リハビリテーションに特化したデータの蓄積を行うことにより新たな知見、評価の作成ができた。加えて、新薬の開発につながる身体機能評価の基盤の構築が進んだ。今後は更に整備したデータセットを用いて多数の患者を評価し、臨床データベースへのデータの蓄積を実施する。デュシェンヌ型筋ジストロフィーにおいては、上肢自然歴の多施設研究でのデータの蓄積を実施する。脊髄性筋萎縮症においては、ビルトラセン、ヌシネルセン、リスジプラムなど先進的治療を行った症例の経時的データの蓄積を更に進めていく。BBT、PPTなどの疾患によらない標準的評価法を種々の神経系難病患者で疾患横断的に評価し適切な利用法を検討し、加えて、動作解析装置、表面筋電図、活動量計、加速度センサーなどを応用した定量的な評価指標の構築を図る。

研究成果 (原著論文、学会発表、政策提言)

1. Kondo Y, Bando K, Ariake Y, Katsuta W, Todoroki K, Nishida D, Mizuno K, Takahashi Y. Test-retest reliability and minimal detectable change of the Balance Evaluation Systems Test and its two abbreviated versions in persons with mild to moderate spinocerebellar ataxia: A pilot study. *NeuroRehabilitation*. 2020;47(4):479-486. doi: 10.3233/NRE-203154. 査読有り
2. 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. 査読有り
3. 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. 査読有り
4. 近藤 夕騎, 松永 彩香, 小笠原 悠, 加藤 太郎, 山本 達也, 西田 大輔, 水野 勝広. 多発性硬化症のリハビリテーション支援を目的とした現況調査—総合リハビリテーション, 50 巻・4 号, 405-411, 2022.
5. 近藤 夕騎, 望月 久, 滝澤 玲花, 吉田 純一朗, 鈴木 一平, 加藤 太郎, 板東 杏太, 西田 大輔, 水野 勝広. パーキンソン病とその関連疾患における日本語版 Characterizing Freezing of Gait questionnaire の尺度特性の検討 *理学療法ジャーナル*, 56 巻・5 号, 603-609, 2022.

6. 松永 綾香, 阿部 恭子, 鈴木 一平, 加藤 太郎, 近藤 夕騎, 望月 久, 西田 大輔, 水野 勝広. 足圧感知聴覚フィードバックを与える歩行練習によって歩容が改善したパーキンソン病 1 症例. ; 第 4 回日本リハビリテーション医学会秋季学術集会, 2020 年 11 月
7. 清水 功一郎, 橋出 秀清, 佐藤 徳子, 水野 勝広. デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者における Box & Block TEST、Purdue Pegboard Test と Brooke Upper Extremity Scale の関係. 第 75 回国立病院総合医学会, 2021 年 10 月
8. 花井 亜紀子, 寄本 恵輔, 有明 陽佑, 朝海 さつき, 菊川 渚, 簾田 歩, 原 静和, 青松 貞光, 塚本 忠, 水野 勝広, 高橋 祐二. 神経筋疾患患者の胃瘻造設における 協働意思決定と後悔に関する研究—pilot study—13 例から見えたこと. 第 63 回日本神経学会学術大会 東京 2022.5.20
9. 近藤 夕騎, 門根 秀樹, 鈴木 健嗣. 3 次元姿勢推定 AI 技術を用いた動画からのパーキンソン病におけるすくみ足自動検出システムの開発 *LIFE2022 Web* 2022.8.19
10. 中山 慧悟. パーキンソン症候群患者の嚥下障害の自覚と嚥下に関わる QOL 第 18 回日本神経摂食嚥下・栄養学会学術集会 東京大会 東京 2022.9.3
11. 中山 慧悟, 西田 大輔, 坂巻 拓実, 原 貴敏. 炭酸濃度がとろみ負荷時の粘度に及ぼす影響に関する検討 第 76 回国立病院総合医学会 熊本 2022.10.7
12. 近藤 夕騎, 松永 彩香, 小笠原 悠, 加藤 太郎, 山本 達也, 西田 大輔, 水野 勝広. 全国多発性硬化症患者を対象としたインターネット調査: リハビリテーション治療にかかわる問題点の把握 第 76 回国立病院総合医学会 熊本 2022.10.8

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

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 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 (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。

方法

以下の点を中心に検討し、NCNP が整備すべき特定領域における Academic Research Organization (ARO) としての役割、研究支援体制について提言する。

- ・ 神経系難病領域における、NCNP におけるこれまでの取り組みと実績、ARO 機能の現状分析
- ・ 研究者の ARO を含む支援組織に求めるニーズの分析

結果

NCNP では医薬品医療機器総合機構において承認審査業務を経験している臨床研究支援室の人員が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を担当しており、これまでに難病・希少疾患領域(多発性硬化症、デュシェンヌ型筋ジストロフィー)の医薬品等開発支援業務(医師主導治験のプロジェクトマネジメント業務)、レジストリを用いた臨床研究の事務局業務、レギュラトリーサイエンス研究を実践している。

脳神経内科医 (ARO、CRO、製薬企業所属者含む) に向けて、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

制などについての Web アンケート調査 (対象: 日本神経治療学会) を実施し、

- ・ 観察研究支援、リアルワールドデータの薬事制度化での活用などについては、非中核の ARO への支援希望が比較的高いこと
- ・ 非中核所属研究者は、必ずしも既存中核への ARO 機能のみを求めているわけではない(中核・非中核 ARO 同様の期待) こと
- ・ 中核所属の研究者も、観察研究支援、リアルワールドデータの薬事制度化での活用などについては、非中核の ARO への支援希望が比較的高いことが示唆された。

考察・結論

神経難病・希少疾患においてこれまでの実績があり専門性も高い NCNP の ARO 機能を高めることで、支援機能が充実していない非中核に所属する研究者にとっても存在意義が高まる

観察研究・リアルワールドデータの活用等の支援については、NCNP での実績があり、さらに外部に進めることは課題

以上

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）の状況を説明し、また、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

中核病院における難治性・希少性疾患領域（神経内科領域）への取組みの現状として、中核病院である名古屋大学における神経領域への医師主導治験の支援状況について、主任研究者・研究分担者に報告した。そのうちの一つの医師主導治験と患者申出療養の支援状況やその結果などを共有した。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、令和2年度に神経内科領域における臨床研究を推進するため、NCNPに期待することやNCNPと共同でできることについて、神経内科領域の医師に意見聴取し、以下の意見を受領した。

- ・ 希少神経難病の開発のために以下の機能や仕

組みが充実すると良いのではないかと

- ✓ 試験デザイン構築のためにレジストリやリアルワールドデータによる、確度の高い疫学情報
- ✓ 適切な診断・評価のために診断・バイオマーカーの探索
- ✓ 治験遂行のために治験へのリクルートへの協力
- ✓ 被験者の利便性向上のため、オンライン診療等、データの利活用の推進
- ✓ 開発に患者の意見を取り入れるためのPatient and Public Involvement (PPI) の推進
- ✓ 治験を立ち上げ又は遂行するため、あるいはNCNPのリソースを有効活用するための外部からも参入可能な独自の研究費の投入
- ・ 小児神経領域と神経内科領域（成人）との研究分野での交流
- ・ 精神・神経疾患の患者に対する臨床研究・治験の情報提供窓口
- ・ 難病・レジストリ研究などに関する海外研究グループとの橋渡し
- ・ レジストリやバイオバンクを推進するためのSOP策定やバンクデータの企業への提供にかかわる手順などの策定
- ・ ゲノム・オミックスデータなどのドライデータのバンキング
- ・ 遺伝性神経難病の発症前コホート研究に関する標準化

さらに、主任研究者らと共に、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、令和3年度からその方針を固め、令和4年度にアンケートを実施した。中核病院のAROに求める事項、非中核病院のAROに求める事項、学会に求める事項について、いくつか傾向が明らかになった。

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の体制構築支援の方法について、検討方法を模索している。

考察

名古屋大学では、治験を中心に全般的なAROを支援しているが、中核病院の要件にも規定されている、特定臨床研究の支援も重要と考え、研究者支援の体制構築を行っている。また、内部資金を活用し、実用化研究の底上げを行っている。このような、名古屋大学の事例を基に、中核病院としての臨床研究支援の状況を共有し、意見交換を行った。

主任研究者らが行ったアンケートでは、実用化支援のためのプロジェクトマネージャーや薬事などの機能は中核病院への支援を求められる傾向があることもわかった。一方、観察研究やリアルワールドデータ（RWD）の活用等にかかる支援については、必ずしも中核病院にその機能を求めているわけでもないこともわかった。令和2年度に実施した神経内科医へ、NCNPに求めることを聴取した事項でも、NCNPにレジストリデータやRWDの利活用推進も求められており、また、治験を実施する上でも、神経難病などの患者が少ない領域では、レジストリやRWDを利用できる戦略も今後重要になると思われるため、NCNPでも実績もあるレジストリやRWD等の活用支援も拡充すること

も、期待したい内容であると感じた。

また、引続き、神経領域の臨床研究支援をどのように行っていくと研究・開発が進んでいくか、議論を続けていきたいと考える。

結論

AROが支援をしながら臨床研究や開発支援をこれからも行う必要はある。各研究者から求められている事項も踏まえ、今後も、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。

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。

令和4年度は、令和3年度に検討を開始したアンケート調査を実施し、結果をまとめる。また、令和2、3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におけるNCNPとの連携を検討する。

結果

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、研究代表者とともに、調査を実施し、結果をまとめた。

また、NCNPとともに実施している特定臨床研究における課題を検討した。

考察

アンケート調査の結果から、脳神経内科医が支援組織に求める機能を明らかにすることができた。

実施中の特定臨床研究について、希少難病を対象としていることから、症例集積が進まないという課題が明らかになった。

結論

今後、アンケート結果、特定臨床研究の課題を踏まえて、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構築する必要がある。

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

成川 衛
北里大学薬学部

1. 緒言

本分担研究は、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・神経医療研究センターに求められる機能について検討することを目的とした。

2. 方法

研究3年度(令和4年度)は、日米欧における希少疾病用医薬品の指定について公開情報に基づいて改めて情報を整理し、また、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。これらに基づき、今後、国立精神・神経医療研究センターに求められる機能について考察した。

3. 結果

1) 日米欧における希少疾病用医薬品の指定制度

日米欧における希少疾病用医薬品の指定制度を表1に整理した。いずれも自国/地域内の患者数が少ないことを指定のベース

としているが、対象疾患や開発候補物質、開発コストの回収見込みなどに各国/地域で独自の条件を付している。現在(2023年3月)までの各国/地域における希少疾病用医薬品の指定件数は、日本 559 件、米国 6,432 件、欧州 1,983 件となっている。

日本で近年承認された神経難病薬の希少疾病用医薬品指定と承認申請のタイミングを表2に整理した。Phase II 前後に指定されている品目がある一方、臨床試験が終了し承認申請の直前に指定されている品目もあった。

2) 米国 NIH による取組み

米国 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 Division of Rare Diseases Research Innovation では、希少疾患に特化した研究開発の支援プログラムが提供されている。

主なプログラムを以下に示す。

● Rare Diseases Clinical Research Network (RDCRN)

希少疾患に対する臨床研究のネットワークであり、臨床試験への支援の提供、被験者登録やデータシェアリングなどを通じて、希少疾患に対する臨床研究を促進する。患者や患者団体との協力関係も構築されている。

● Rare Diseases Registry Program (RaDaR)

希少疾患のレジストリプログラムであり、質の高い患者レジストリを立ち上げ、維持

するためのガイドランスを作成し、提供している。

- **Genetic and Rare Diseases (GARD) Information Center**

遺伝疾患、希少疾患に関する情報センターであり、患者や医療従事者等に、希少疾患に関する情報提供が行われている。

- **Therapeutics for Rare and Neglected Diseases (TRND)**

希少疾患に対する新規治療の早期の IND (Investigational New Drug) 申請を目指して、非臨床試験をサポートする。

- **Clinical Trial Readiness for Rare Diseases, Disorders and Syndromes (CTR) Grants Program**

希少疾患に対する新規治療の臨床試験実施の障害^{*}に対応するためのデータ収集に焦点を当てた補助金を提供する。

(※ 疾患自然歴の把握、適切なバイオマーカーや臨床効果指標の選定・確立など)

3) 神経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 3 に示す。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 6 品目、パーキンソン病 2 品目、多系統萎縮症 2 品目、脊髄小脳変性症 3 品目、筋ジストロフィー 5 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

日米欧における希少疾病用医薬品の指定基準については、自国/地域内の患者数の他、対象疾患や開発候補物質、開発コストの回収見込みなどに各国/地域で条件を付している。それを反映して指定件数には大きな差が見られ、特に日本における指定件数は著しく少ないことが確認された。さらに、日本で近年承認された神経難病薬において、開発がほとんど終了した時期 (承認申請直前) に指定されている品目も複数確認でき、これらは希少疾病用医薬品に提供される開発支援措置を十分に享受できていないと考えられる。今後、神経難病を含めた希少疾患に対する新規治療法の開発をさらに促進するためには、希少疾病用医薬品指定の範囲の拡大及び指定の早期化について検討する必要がある。

米国 NIH/NCATS の担当部署で提供されている希少疾患に特化した様々な研究開発の支援プログラムが確認できた。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参考となる情報である。

また、新規治療法の開発ニーズが特に高いとされる神経難病に対する医薬品等の開発状況が把握できた。

これらを踏まえて、今後、国立精神・神経医療研究センターに求められる機能として、以下の事項を提案する。

- 神経難病に対する新規治療の研究開発について、国立精神・神経医療研究センターの研究開発力の評価結果等も踏まえた疾患の選定や優先順位付け
- 対象疾患に対する新規治療の臨床研究実施に向けた取り組み
(疾患自然歴の把握、非臨床試験→臨床試験移行のサポート、バイオマーカーや臨床評価指標の検討など)
- **Academic Research Organization** 機能の充実、他機関等への支援の提供や企業との連携
(被験者登録、データシェアリングなど)
- 患者・患者団体との情報交換、協力体制の強化
- 早期に希少疾病用医薬品の指定を受け、優遇措置を享受するための開発企業や研究者への助言
- 上記に関連する活動状況の外部への積極的な公表

参考文献等

- NIH NCATS Division of Rare Diseases Research Innovation ウェブサイト

<https://ncats.nih.gov/about/center/org/drdri>

表1 日米欧での希少疾病用医薬品指定制度

	日本	米国	EU
根拠法 [施行]	医薬品医療機器法 [1993年]	Orphan Drug Act [1983年]	Regulation EC No.141 [2000年]
指定要件の概要	<ul style="list-style-type: none"> ● 国内患者 5 万人未満かつ ● その用途に関し特に優れた使用価値を有することとなる (医療上の必要性が高く、開発の可能性がある) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 国内患者数 20 万人未満あるいは ● 当該医薬品の開発・製造費用の回収ができない 	<ul style="list-style-type: none"> ● 生命を脅かす又は慢性衰弱的な疾病を対象とし、EU 内患者 10,000 人当たり 5 人以下あるいは ● 生命を脅かす又は重度に衰弱的・慢性で重篤な疾病を対象とし、開発費用の回収ができず、満足する治療法がない又はあっても当該医薬品により著しい便益が提供される
市場独占期間	10 年 (通常の新薬は 8 年) [再審査期間として]	7 年 (通常の新薬は 5 年)	10 年 (通常の新薬は 8 年 (データ保護) + 2 年 (市場保護))
経済的 措置	<ul style="list-style-type: none"> ● 審査手数料等の減額 ● 試験研究費への助成金交付 ● 試験研究費に対する税制措置 ● 薬価への加算 	<ul style="list-style-type: none"> ● 審査手数料等の減額 ● 試験研究費への助成金交付 ● 試験研究費に対する税制措置 	<ul style="list-style-type: none"> ● 審査手数料等の免除 (中小企業) 又は減額 ● 試験研究費への助成金交付
その他の 優遇措置	<ul style="list-style-type: none"> ● 優先的な治験相談及び審査 		<ul style="list-style-type: none"> ● プロトコル支援 ● 中央審査

表2 神経難病薬の希少疾病用医薬品指定と承認申請のタイミング

一般名	適応	希少疾病用医薬品指定	承認申請
エダラボン	ALS	2005年6月 (Ph2後、Ph3前)	2014年10月
レボドパ/カルビドパ	パーキンソン病症状の日内変動	2009年5月 (Ph2前)	2015年10月
リュープロレリン	球脊髄性筋萎縮症	2006年6月 (Ph2後、Ph3前)	2016年12月
ヌシネルセン	乳児型脊髄性筋萎縮症	2016年11月	2016年12月
ビルトラルセン	デュシェンヌ型筋ジストロフィー	2019年8月	2019年9月
リスジプラム	脊髄性筋萎縮症	2019年3月 (Ph2/3 MRCT進行中)	2020年10月

MRCT：国際共同臨床試験

表2 神経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	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
	ropirinole hydrochloride	ドパミン D2 作用薬	ケイファーマ、アルフレッサファーマ	Phase II	
	GT-0001X	ADAR2 遺伝子治療	遺伝子治療研究所	Phase II	
	EPI-589	酸化還元補因子	住友ファーマ	Phase II	
	DNL-788	RIP1 キナーゼ阻害	サノフィ	Phase II	
	Bosutinib	チロシンキナーゼ阻害	医師主導治験（京都大学）	Phase II	
パーキンソン病	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	Phase III	
	GT-0002X	AADC 遺伝子治療	遺伝子治療研究所	Phase II	
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	
	MEDI-1341	α -シヌクレイン抗体	武田薬品、アストラゼネカ	Phase II	
脊髄小脳変性症	Rovatinirelin	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	
筋ジストロフィー (デュシェンヌ型)	ataluren (PTC124)	ナンセンス変異リードスルー	PTC Therapeutics	Phase III	2020年2月
	delandistrogene moxeparvovec (SRP-9991)	マイクロジストロフィン遺伝子治療	Sarepta Therapeutics、中外製薬	Phase III	2020年6月
	fordadistrogene movaparvovec	ヒトジストロフィン遺伝子治療	ファイザー	Phase III	
	Pizuglanstat	HPGDS 阻害	大鵬薬品	Phase III	

	NS-089/NCNP-02	エクソン 44 アンチセンス核酸	日本新薬、国立精神・神経医療研究センター	Phase II	
--	----------------	------------------	----------------------	----------	--

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

In intractable/rare diseases, it is said that research and development of treatment methods do not progress due to inadequate elucidation of pathological conditions and rarity of patients. This study consists of physicians and researchers, the study support personnel of the clinical research core and non-core hospitals, and experts familiar with administrative and regulatory science in addition to the study support division of the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP). Each expert analyzed the current situations and extract issues, and the roles and study support system of the Academic Research Organization (ARO) in the area of intractable neurological diseases to be organized by NCNP was presented.

It is considered that the ARO function of NCNP is consistent with the function required as the Clinical Research Core Hospital ARO for specific areas (rare diseases and intractable neurological diseases) in Japan. However, there are still not many such cases, and therefore it is necessary to increase the number of development cases in the future. For this reason, it is necessary to focus on the support of researchers of other institutions in addition to the development by NCNP itself, taking into account the analysis of the status of development by NCNP and analysis of areas not under development in Japan conducted in this study as well as interviews with researchers and requests from web questionnaires. Since the number of supports is expected to increase in the future, the number of ARO personnel at present is not sufficient. Therefore, it is necessary to consider collaboration with other NCs and AROs and the use of outsourcing.

As future measures, we will proceed with the following while continuing the ongoing measures.

- Specific measures to increase the number of development cases (efforts to increase the number of development cases within NCNP and involvement in development cases at other facilities)
- Research support not limited to investigator-initiated clinical trials and specified

clinical research (there are high requests for the use of RWD, etc.)

- Coordination with biostatisticians and other institutional support departments in bioethics, research ethics, etc.

- Consider collaboration with other NCs and AROs and the use of outsourcing

In addition, for issues in the development of drugs, etc. in the areas of rare/intractable diseases and psychiatric disorders that NCNP should address, NCNP should not only provide the same support as other AROs, but should actively propose support and proposals from the viewpoint of regulatory science, etc. specific to the specialized area of NCNP. To this end, human resource development related to development research and regulatory science should also be promoted.

Currently, 14 centers are designated as the clinical research core hospitals, but there are no centers designated in the area of specified diseases proposed in the "Future Directions for Promotion of Clinical Research/Clinical Trials (compiled in the 2019 edition)." However, the Health Sciences Council (Clinical Research Subcommittee) reviewed the 2019 compilation. As for "promotion of utilization of real-world data" and "efforts in areas such as pediatric diseases and intractable diseases for which research and development are difficult to advance," the Health Sciences Council stated that further measures will be considered while continuing the efforts to date (materials of Clinical Research Subcommittee). These are the strengths that NCNP has implemented thus far. It is important to continue to provide research support taking advantage of the strengths of NCNP shown in this study, considering future trends.

2 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 病院精神診療部

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 精神疾患レジストリに登録する計画とした。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った。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、遺伝子改変マウスを用いて研究を進めた。

4. 研究結果

【標的探索シーズについて】

(中込、橋本、野田、服部)

*精神疾患レジストリには 1370 例が登録された。2023 年 1 月には新たに 5 機関が参加した。現在、106 例についてウェアラブルデバイス(Fitbit)を用いた検討を進めている。

*生物学的評価指標による層別化研究では、276 例の統合失調症患者において、精神病症状と淡蒼球体積の正の相関を見出した(Ito, 2022)。

*Negative Valence System (NVS:負の感情価)研究について 245 例より同意を得た。CSF サンプルの

収集率も 53.5%と高く、NCNP の研究上の強みとなっている。現在、血中 IL-6 値と右側坐核容積の関連に注目して検討している。

* CSF 分子解析について患者 37 例と健常 70 例を追加解析したところ、特定アミノ酸亢進群の再現を確認した。また新たに特定サイトカイン亢進群も見出した。今後は、CSF 分子亜型候補については血液解析も行うことで全身性か中枢性か明らかにしたい。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 (Matsuno, 2022)。

【評価指標シーズについて】

(野田、吉池、三輪)

* ECT 前後での炎症性 PET 計測を 8 名の患者で終了した。予備的解析の結果、ECT 後にミクログリア活性の上昇傾向が認められた。

* 反復性経頭蓋磁気刺激 (rTMS) の抗うつ効果と時間認知との関連研究には、目標 20 名中 10 名の登録を得た。覚醒療法の検証試験では、患者 1 名についてフィジビリティを確認した。時間認知特性については、うつ症状との関連を発見し報告することができた (Yoshiike, 2022)。

* マウスを用いてノンレム睡眠スピンドル波異常の確認を行った。また、蝸牛遅延特性に基づく刺激プロトコルを用いた聴性定常反応 ASSR を開発し、検出力を大幅に改善することができた (Fujiyama, 2022)。今後、ヒトデータを用いた脳波解析に向けて準備を進めている。

【治療介入法シーズについて】

(山田、住吉、野田)

* 幼少期ストレスがマウスの情動行動と内側/外側 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 (Kuniishi, 2022)。さらに、非臨床研究の成果に基づき、「経頭蓋直流電気刺激 (tDCS) による内側 OFC 活性化」及び「経頭蓋磁気刺激 (TMS) による外側 OFC 抑制」という 2 つの作業仮説を立案し、順次、特定臨床研究プロトコルの

策定を進めている。

* 経皮的耳介迷走神経刺激 (taVNS) 研究では、ドイツより未承認医療機器であるデバイスを輸入し、特定臨床研究を開始した。また、マウスの taVNS モデルを確立し情動行動評価を進めている。

* 特定臨床研究 (SEDICS study) を完遂し、左側上側頭回 tDCS による統合失調症患者の社会認知機能の改善効果を世界で初めて報告した (Yamada, 2022)。

* ウイルス感染後遺症抑制剤について知的財産権を出願した。

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、COVID-19 蔓延状況下にあっては、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。NCNP 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必要がある。

6. 研究成果

1. Fujita Y et al., Reduced homovanillic acid, SDF-1 α , and SCGF- β levels in cerebrospinal fluid are related to depressive states in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 28: kead091, 2023.
2. Nakatsu D et al., BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 pathway activation inhibits neurogenesis and oligodendrogenesis in Alzheimer's patients'

- iPSCs in senescence-related conditions. *Stem Cell Reports*. 18(3): 688-705, 2023.
3. Ota M. et al. Similar correlation between the causality orientation and regional brain structures in psychiatric disorders revealed by diffusional kurtosis imaging. *Neurocase*. NCS-OA 23-014, 2023.
 4. Kuniishi H, Nakatake Y, Sekiguchi M, Yamada M. Adolescent social isolation induces distinct changes in the medial and lateral OFC-BLA synapse and social and emotional alterations in adult mice. *Neuropsychopharmacology*. 47(9): 1597-1607, 2022.
 5. Matsuno H, Tsuchimine S, O'Hashi K, Sakai K, Hattori K, Hidese S, Nakajima S, Chiba S, Yoshimura A, Fukuzato N, Kando M, Tatsumi M, Ogawa S, Ichinohe N, Kunugi H, Sohya K. Association between vascular endothelial growth factor-mediated blood-brain barrier dysfunction and stress-induced depression. *Mol Psychiatry* 27(9): 3822-3832, 2022.
 6. Takamatsu G et al., Haplotype phasing of a bipolar disorder pedigree revealed rare multiple mutations of SPOCD1 gene in the 1p36-35 susceptibility locus. *J Affect Disord*. 310: 96-105, 2022.
 7. Ito S, Miura K, Miyayama M, Matsumoto J, Fukunaga M, Ishimaru K, Fujimoto M, Yasuda Y, Watanabe Y, Hashimoto R. Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 76(11): 602-603, 2022.
 8. Yoshiike T, Melloni EMT, Dallaspezia S, Yamada N, Kuriyama K, Benedetti F. Depressive cognitive style relates to an individual trait of time perception in bipolar depression: A preliminary study. *J Affect Disord Rep* 9: 100363, 2022.
 9. Fujiyama T, Takenaka H, Asano F, Miyanishi K, Hotta-Hirashima N, Ishikawa Y, Kanno S, Seoane-Collazo P, Miwa H, Hoshino M, Yanagisawa M, Funato H: Mice lacking cerebellar cortex and related structures show a decrease in slow-wave activity with normal non-REM sleep amount and sleep homeostasis. *Front Behav Neurosci*. 16:910461, 2022
 10. Yamada Y, Sueyoshi K, Yokoi Y, Inagawa T, Hirabayashi N, Oi H, Shirama A, Sumiyoshi T: Transcranial direct current stimulation on the left superior temporal sulcus improves social cognition in schizophrenia: An open-label study. *Front Psychiat* 13: 862814, 2022.
 11. Hirai Sayaka, Miwa Hideki, Shimbo Hiroko, Nakajima Keisuke, Kondo Masahiro, Tanaka Tomoko, Ohtaka-Maruyama Chiaki, Hirai Shinobu, Okado Haruo. The mouse model of intellectual disability by ZBTB18/RP58 haploinsufficiency shows cognitive dysfunction with synaptic impairment. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/s41380-023-01941-3, 2022
 12. 國石 洋, 山田光彦: 思春期の社会的経験剥奪による眼窩前頭皮質-扁桃体経路の小領域特異的なシナプス機能変化. *日薬理誌* (158): 47-50, 2023.
 13. 中武優子, 古家宏樹, 山田光彦: マウスの社会的敗北場面を利用した心理的ストレス負荷モデル. *日薬理誌* (158): 39-42, 2023.
 14. 服部功太郎、精神科領域における脳脊髄液検査の意義、*臨床精神医学*、51(5): 541-547, 2022.
 15. 中込和幸、小居秀紀. 精神疾患レジストリ. レジストリ研究により可能となる精神疾患の新しい診断法・治療法. *精神医学の基盤[6]精神医学を基礎づける疫学研究と臨床研究*. 古川壽亮, 川上憲人責任編集, 山脇成人, 神庭重信総監修, 学樹書院, 東京, pp.80-94, 2022.

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. 思春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。ヒトの脳画像研究では、眼窩前頭皮質の内側領域はポジティブな情動に、反対に眼窩前頭皮質の外側領域はネガティブな情動の処理に関わることが推測されている。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、思春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、心身関連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。他の分担研究者らとともに、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ている。

【結果と考察】

1. 思春期マウスを隔離飼育することで他個体とのコミュニケーションを剥奪した結果、隔離飼育されたマウスでは、成熟後に、他個体に対する社会行動の低下と、逃避不可能なストレス状況における受動的ストレス対処の増加(強制水泳試験、尾懸垂試験における無動)などの行動異常が観察された。

興味深いことに、思春期に隔離飼育されたマウスでは、内側眼窩前頭皮質から扁桃体に投射するシナプスにおいては、興奮性伝達におけるAMPA受容体由来電流成分の低下が成熟後に観察された。一方、外側眼窩前頭皮質から扁桃体への投射シナプスでは反対に、AMPA受容体電流成分の増加が観察された。これらの結果は、思春期の社会隔離は内側眼窩前頭皮質-扁桃体シナプスでは興奮性シナプス伝達効率の低下を引き起こす一方で、外側眼窩前頭皮質-扁桃体シナプスでは伝達効率の増加をもたらすことを示唆している。

次に、通常のコロニー飼育で育ったマウスの内側眼窩前頭皮質-扁桃体経路のシナプス伝達を人為的に抑制すると、隔離飼育されたマウスと同様に社会性の低下が観察された。対して、隔離飼育されたマウスのシナプス伝達を活性化すると、隔離によって低下していた社会性がコロニー飼育マウスと同じ程度に回復した。一方、外側眼窩前頭皮質-扁桃体経路の神経伝達をコロニー飼育マウスで人為的に活性化した場合、隔離飼育されたマウスと同様に受動的ストレス対処行動が増加した。反対に、隔離飼育されたマウスにおいてこの回路の伝達を抑制した場合、隔離によって増加していた受動的ストレス対処行動が、コロニー飼育マウスと同じ程度に

回復した。

以上より、思春期の隔離飼育が、内側眼窩前頭皮質-扁桃体の神経伝達に影響して社会性の異常を引き起こすとともに、外側眼窩前頭皮質-扁桃体経路にも影響して受動的ストレス対処の変化をもたらすことが明らかとなった。

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。令和4年度は、経皮的耳介迷走神経刺激 (taVNS) 研究では、ドイツより未承認医療機器であるデバイスを輸入し、行動医学研究部の関口敦室長らとの共同研究として、特定臨床研究「健常成人を対象とした経皮的耳介迷走神経刺激の客観的評価指標の探索」(taVNS first 試験: jRCTs032220332) を、NCNP 病院において実施した。この研究は、健常成人を対象に、クロスオーバーデザインによるランダム化比較試験を行い、taVNS の客観的評価指標について探索的に検討することを目的としている。本研究の成果として、将来、患者を対象とした効果検証試験を実施するために必須となる予備的データを得ることが可能となる。

【参考文献】

1. Kuniishi H, Nakatake Y, Sekiguchi M, Yamada M: Adolescent social isolation induces distinct changes in the medial and lateral OFC-BLA synapse and social and emotional alterations in adult mice. *Neuropsychopharmacology*. 47(9): 1597-1607, 2022.
2. 中武優子, 古家宏樹, 山田光彦: マウスの社会的敗北場面を利用した心理的ストレス負荷モデル. *日薬理誌* (158): 39-42, 2023.
3. 國石 洋, 山田光彦: 思春期の社会的経験剥奪による眼窩前頭皮質-扁桃体経路の小領域特異的なシナプス機能変化. *日薬理誌* (158): 47-50, 2023.

精神疾患レジストリによる研究基盤の構築と活用

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している。

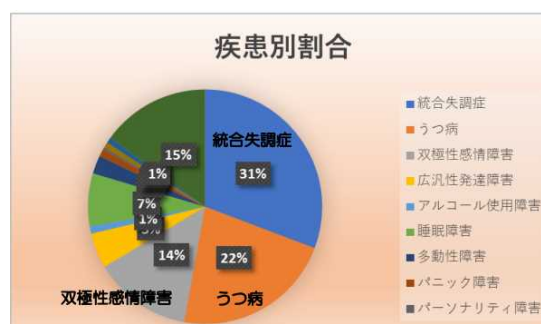
【方法】

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16大学が分担研究機関として参加しており、うち12大学から患者のエントリーを受けており、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】

2023年3月31日時点で登録者は1550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1021名であった。疾患別割合は下記のとおりで、統合失調症が最も多かった。



また、小児患者の受け入れを開始するために、評価項目の選定を行い、システムを作成した。その他、画像データベースIBISS(Integrative Brain Imaging Support System)を用いて、DICOMのヘッダ部分の読み込みによる撮像条件の確認や医療的なQC(Quality check)が自動的に行えるシステムを構築した。

【考察】

コロナ禍のもとで、登録者数は1500名を超えたことは評価できると思われる。また、基本情報(第1層情報)の入力が確認できた患者数も

約 2/3 を占め、第 1 層情報の項目数を絞ったため、入力が円滑に進められるようになったと推測される。引き続きデータ入力支援のための人材派遣を要するか否か注意深く見守る必要がある。

近年、レジストリデータ等の RWD (Real World Data) を薬事承認に用いる方針を国も示している。そこで、今後、薬事承認に耐えうる特定臨床研究で得られたデータを、risk-based monitoring の考え方を取り入れて、適正な品質の下で管理するスペースや体制の作成を目指す。

【結論】

2023 年度は、コロナ禍による研究活動の制限が緩和されると予想される。アカデミア以外の医療機関にも参加を促していく。また、薬事承認に耐えうるデータを受け入れるスペースの作成が喫緊の課題となる。

【参考文献】

中込和幸、小居秀紀. 精神疾患レジストリ. レジストリ研究により可能となる精神疾患の新しい診断法・治療法. 精神医学の基盤[6]精神医学を基礎づける疫学研究と臨床研究. 古川壽亮, 川上憲人責任編集, 山脇成人, 神庭重信総監修, 学樹書院, 東京, pp.80-94, 2022.

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

【緒言】

これまで米国 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】

研究対象者は、NCNP 病院に通院もしくは入院している統合失調症、うつ病、双極性障害の患者である。文書および口頭にて研究参加の説明、同意を取得し、生理検査、臨床検査および各種心理検査を実施した。また、ECT や rTMS 施行患者に対しては、治療前後に評価を行い治療効果について検討した。評価項目は以下の通りである。

デモグラフィックデータ

年齢、性別、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

MRI (DTI, ASL など)、PET、近赤外線スペクトロスコピー (NIRS)、髄液・血液など

※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 (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/アスペ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、248 名から同意を取得し、233 名のデータを収集した。疾患横断的なバイオマーカーとしては、光トポグラフィー検査で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、MRI の解析では、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認められた (Ota et al., 2023)。さらに、バイオバンクとの連携にて髄液中のバイクラスタ解析で特徴的なクラスタが抽出された(特定アミノ酸高値群、特定サイトカイン高値群)。そのうち特定アミノ酸高値群においては、言語理解が高い一方、ソーシャルスキルに乏しい傾向が見出された。引き続き、検討を続けていく。

(2) 治療効果

ECT の作用機序および治療効果について、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。治療前後で PET 検査が完了しているデータ 8 例 (MDD:5

例、Sz:2 例、BP:1 例)を解析したところ、ミクログリア活性が上昇し、特に MDD において SUVr(関心領域の SUV/左心室の SUV)の上昇幅が大きいことが示唆された(沖田ら、2022)。また、治療の前後で HAM-D、MADRS は改善しているが、BACS 等の認知機能は治療後にやや低下するも、1ヶ月後、半年後で改善が見られている。現在12例の計測が完了しており、脳内の神経炎症レベルとの関連や、中長期的な変化についての探索的検討が期待される。

【結論】

疾患横断的なバイオマーカー候補として、構造 MRI から抽出された。治療効果については炎症性仮説の確認としてミクログリア活性から検討を始めている。地道に症例を蓄積して検討する。

【参考文献】

Ota M. et al. Similar correlation between the causality orientation and regional brain structures in psychiatric disorders revealed by diffusional kurtosis imaging. *Neurocase*. NCS-OA 23-014, 2023.

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】

2022 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継続した。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】

2022 年度末の時点で、目標症例数 50 名中 28 名の被験者のランダム化が行われている。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。

さらに、左側上側頭溝への tDCS 陽極刺激が、統合失調症患者の社会認知 (Social Cognition Screening Questionnaire で測定) を改善することを、初めて確認した (Yamada et al. *Front Psychiatry* 2022)。

【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 8:233.
2. Yamada Y, Sueyoshi K, Yokoi Y, Inagawa T, Hirabayashi N, Oi H, Shirama A, Sumiyoshi T: Transcranial direct current stimulation on the left superior temporal sulcus improves social cognition in schizophrenia: An open-label study. *Front Psychiatry* 2022 13:862814.

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、その重症度、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。

【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。しかし、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) 倫理審査委員会承認、JRCT 登録を経て、当院入院病床での実施体制を整備し、うつ病患者 2 例において覚醒療法を実施した。いずれの症例でも即時抗うつ効果とともに、不眠や睡眠・覚醒リズムの是正作用も認められた。今後、症例を蓄積する(目標 20 例)。

2) 簡便に利用可能であり、覚醒療法の治療効果との関連が知られる時間認知が抑うつの中核的認知構造と関連することを見出し国際誌に報告した。反復性経頭蓋磁気刺激法の抗うつ効果と時間認知の関連を検討するため、14 例(目標 20 例)の登録を完了した。既存データを用いて簡易脳波計による脳波指標と覚醒療法の治療効果の関連を検討したところ、治療前レム睡眠出現率が高いほど無反応率が高く(OR 1.30, 95%CI 1.01-1.66, $p=0.038$)、寛解群では中途覚醒が治療後に有意に減少した($F=3.65$, $p=0.035$)。

【結論】

睡眠・概日リズム異常は気分障害の重要な行動特徴であり、新たな治療標的としての意義が示唆され、気分障害の病態理解および治療法開発の促進が期待される。

【参考文献】

1. Crouse, J J, et al. Circadian rhythm sleep-wake disturbances and depression in young people: implications for prevention and early intervention. *The Lancet Psychiatry* 8: 813-823, 2021.
2. 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.

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】

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。これは、異なる症候群に分類されている精神・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検証する。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】

精神疾患(統合失調症・自閉症スペクトラム障害)のモデルマウスに関して、それぞれ複数のラインを用いてガンマ帯域オシレーション及びノンレム睡眠スピンドル波異常の検証を行う。また、これらの生理学的指標の責任神経回路を同定する。ノンレム睡眠スピンドル波検出による精神疾患の層別化について臨床研究に適用できるように検出スクリプトのパラメータ設定をヒト脳波用に再設定および改良を行った。

【結果】

GABA 作動性ニューロンのサブクラスの1つであるパルブアルブミン(PV)陽性 GABA ニューロンにおいて、抑制性神経伝達物質 GABA

の合成酵素 GAD67 を欠損させた PV-GAD67 KO マウスを統合失調症モデルマウスとして、AUTS2 欠損マウス(AUTS2は自閉症スペクトラム障害関連遺伝子)および胎生期バルプロ酸投与モデルを自閉症スペクトラム障害モデルマウスとして、ネジ電極を留置して脳波測定を行い、ガンマオシレーションやノンレム睡眠スピンドル波の計測・解析を行った。ガンマ帯域オシレーション計測に際しては、聴性定常反応 ASSR によりクリック音を用いたプロトコルを使用した。より効果的に位相同期(Phase locking)を計測するためにプロトコルの改良の必要があるという結論に達した。そこで、蝸牛遅延特性に基づく刺激プロトコルを用いた検出プロトコルの開発を進めている。

所有しているノンレムスピンドル波検出スクリプトはマウスに適用するためにパラメータを設定してある。臨床研究に用いるためにヒト用にパラメータを設定する必要があり、ヒトの脳波データを入手・改良するように手配を進めている。

【考察】

統合失調症および自閉症スペクトラム障害モデルマウスにおいて共通する生理学的指標の異常が観察されつつある。今後はこれらの生理学的指標を生じている神経回路に焦点を絞り、どのような分子・神経メカニズムの異常が原因であるか、治療標的分子の探索を行うことが必要であり、今後の研究計画として実行していく予定である。さらに、モデル動物の種類もさらに追加していき、研究成果のガン牽制あるいは差異も明らかにしていく必要があると考えている。

【結論】

統合失調症および自閉症スペクトラム障害モ

デルマウスにおいて共通する生理学的指標の異常が観察されつつある。このことは異なる疾患群でも共通する異常神経回路が存在し、それを原因とする症状があることを示唆するため、異なる精神疾患群でも共通する異常神経回路を標的とした治療標的分子の探索およびそれに基づいた治療薬の開発が強く期待される。

【参考文献】

Hirai Sayaka, Miwa Hideki, Shimbo Hiroko, Nakajima Keisuke, Kondo Masahiro, Tanaka Tomoko, Ohtaka-Maruyama Chiaki, Hirai Shinobu, Okado Haruo. The mouse model of intellectual disability by ZBTB18/RP58 haploinsufficiency shows cognitive dysfunction with synaptic impairment. *Mol Psychiatry*. doi: 10.1038/s41380-023-01941-3. 2022

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。本分担任課題では、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、スムーズパシュート課題、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、精神疾患 81 例と健常者 81 例について、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、スムーズパシュート課題、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、276 例の統合失調症患者において PANSS にて測定した精神病症状と淡蒼球体積の関連を検討した。その結果、右の淡蒼球体積と陽性症状との間に正の相関が得られることが見いだされた($r=0.185$, $p=0.0023$)。一方で、陰性症状と総合精神病理尺度とは有意な相関は認められなかった。また、陽性症状は、尾状核や被殻などの他の大脳皮質下体積との相関は認められなかった。

【考察】

本研究においては、統合失調症の淡蒼球体積において、精神病症状との関連が認められた。この結果は、Psychiatry Clinical Neuroscience 誌に掲載された。淡蒼球体積は、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及び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おいて健常者よりも大きいことが示されている。よって、精神病症状が、大脳皮質下体積の中で統合失調症にて増大が認められ

ている淡蒼球体積において特異的に関連が認められたと考えられる。

【結論】

淡蒼球体積が統合失調症の層別化に役立つ可能性があることを示唆すると考えられる。

【参考文献】

1) Ito S, Miura K, Miyayama M, Matsumoto J,

Fukunaga M, Ishimaru K, Fujimoto M, Yasuda Y, Watanabe Y, Hashimoto R. Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci*, 76(11): 602-603, 2022.

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18検体が追加され累計1,410検体となった。血液検体については、統合失調症101、うつ病145、双極性障害44、健常対照101今年度収集した。

② 精神疾患の Negative Valence System を反映した CSF バイオマーカーの開発

本研究班で連携して収集した CSF 37 例および健常 70 例を追加で解析し、前年度までに見出していた特定アミノ酸亢進群の再現を確認した。また新たに炎症性サイトカイン亢進群も見出し、それぞれの臨床的特徴を明らかにした。NVS の CSF 分子亜型候補については血液解析も行うことで全身性か中枢性か明らかにする予定である。

③うつ病モデルマウスにおける血管脳関門の解析

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 ならびに血液の分子解析、慢性拘束うつ病モデルマウスを用いた実験等を行い、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(文献1)。

④ 双極性障害の遺伝子解析

琉球大学との共同研究により、同学が双極性障害家系の全ゲノム解析で見出したレアバリエントを NCNP 内の 3000 例で解析し疾患との関連を解析した(文献2)

⑤ 膠原病・脳神経疾患研究への貢献

本研究で収集された健常 CSF が脳神経疾患研究においても対照として近年さかんに用いられている。今年度は産業医大との共同研究により SLE 精神病の CSF マーカーや(文献3)、東京工業大学との共同研究によりアルツハイマー病 (AD) の細胞新生を阻害する分子 BMP4 が AD 患者 CSF で亢進していること(文献4)を見出す等の成果が得られた。

② 精神疾患 CSF 収集の国内普及

今年度は帝京大学精神神経科学講座の医師一名に腰椎穿刺の研修を行った。また、国内の精神科領域で CSF 検査・研究を推進する目的で、現行の検査や研究、採取法を紹介した(文献5)。

【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 CSF 解析と疾患横断の評価により、精神疾患の亜型候補マーカーが得られた。うつ病の一部で生じる BBB 障害とストレス、および結果としてのうつ症状とを結びつける所見が動物実験で得られた。引き続き、得られたリソースやデータを元に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. Matsuno H et al., Association between vascular endothelial growth factor-mediated blood-brain barrier dysfunction and stress-induced depression. Mol Psychiatry.

- 27(9): 3822–3832, 2022.
2. Takamatsu G et al., Haplotype phasing of a bipolar disorder pedigree revealed rare multiple mutations of SPOCD1 gene in the 1p36–35 susceptibility locus. *J Affect Disord.* 310: 96–105, 2022.
 3. Fujita Y et al., Reduced homovanillic acid, SDF-1 α , and SCGF- β levels in cerebrospinal fluid are related to depressive states in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 28:kead091, 2023.
 4. Nakatsu D et al., BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 pathway activation inhibits neurogenesis and oligodendrogenesis in Alzheimer's patients' iPSCs in senescence-related conditions. *Stem Cell Reports.* 18(3): 688–705, 2023.
 5. 服部功太郎、精神科領域における脳脊髄液検査の意義、*臨床精神医学*、51(5): 541–547, 2022.

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 isolation is associated with social and emotional problems in adulthood. Recently, the orbitofrontal cortex (OFC) and basolateral amygdala (BLA) have been highlighted as key nodes for social and emotional functions. Therefore, we hypothesize that early social deprivation disrupts the information processing in the OFC-BLA pathway and leads to social and emotional dysfunction. In this study, we examined the effects of adolescent social isolation on the OFC-BLA synaptic transmission by optogenetic and whole-cell patch-clamp methods in adult mice. Our results suggest that adolescent social isolation induces distinct postsynaptic changes in the medial OFC-BLA and lateral OFC-BLA synapses, and these changes may separately contribute to abnormalities in social and emotional development.

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. The system was established with research funding (FY2018-2020) from AMED. From FY2021, the basic part to support the expansion and maintenance of the registry will be funded by the Intramural Research Grant, while

the utilization research will be funded by AMED research funding. This year, efforts were made to increase the number of registrations and the number of participating institutions, and to establish a system to support utilization research. The number of patients who gave informed consent was 1550 while the number of patients who had actually completed the input of clinical information was 1021. In terms of disease classification, schizophrenia was the most common. In addition, scoring items were selected and a system was created to begin accepting pediatric patients. Other systems were created using the IBISS (Integrative Brain Imaging Support System) image database to automatically check imaging conditions by reading the DICOM header and perform medical QC. In recent years, the national government has also indicated a policy of using real-world data (RWD), such as registry data, for regulatory approval. Therefore, we aim to create a space and system to manage data from specific clinical trials that can withstand regulatory approval in the future with appropriate quality, incorporating the concept of risk-based monitoring.

4. A study of biomarkers for neuromodulation using brain neuroimaging

In this study, we evaluated the relationships between brain microstructural features and causality orientation in patients with schizophrenia, major depressive disorder (MDD), and bipolar disorder (BD) by diffusional kurtosis imaging (DKI) techniques. Examination of commonalities in schizophrenia, MDD, and BP showed potential biomarkers on MRI. For confirmation of therapeutic effect and predictors, inflammatory PET, which can measure microglial activity, can be expected to progress in the future because it can confirm the inflammatory hypothesis and examine changes due to treatment. Analysis of the 8 patients (MDD: 5, Sz: 2, BP: 1) for which completed pre and post treatment PET scan revealed that microglial activity significantly increased in MDD. These 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. Functional capacity is defined as the ability to perform everyday living skills, which is linked to cognition and real-world functional outcome. In a previous open trial, we demonstrated that transcranial direct current stimulation (tDCS), one of the neuromodulation methods, 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. A bidirectional relationship has been proposed between mood disorders and sleep/circadian alterations, suggesting that the optimization of sleep and circadian physiology could ameliorate the pathophysiology of mood disorders. This study aimed to assess the clinical efficacy of chronotherapeutic treatment (wake therapy) and to develop clinically relevant sleep/circadian markers in mood disorders. In two depressed patients who were administered wake therapy (three cycles of total sleep deprivation and recovery sleep) in one week, we preliminarily found an acute antidepressant effect. In addition, in 14 depressed patients who received repetitive transcranial magnetic stimulation over four weeks, we preliminarily found an association between short-interval time perception and antidepressant response. Moreover, using existing data, we found an association between the baseline rate of rapid eye movement sleep and the antidepressant effect of wake therapy in 31 bipolar depressed patients. The development of sleep and biological rhythm indices is expected to facilitate an understanding of the pathophysiology and development of treatments for mood disorders.

7. Translational research on gamma oscillation and non-REM sleep spindle

It is known that common symptoms and functional impairments are observed across different neuropsychiatric disorders. This suggests that different neuropsychiatric disorder might share common functional impairments, such as neural circuit abnormalities. In this study, we will investigate whether abnormalities in γ oscillations and non-REM sleep spindle wave are observed in established schizophrenia and autism spectrum disorder model mice.

8. Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia

Subcortical structures, such as the basal ganglia and thalamus, have been implicated in the psychiatric symptoms of schizophrenia. Among them, the globus pallidus has long been the focus of attention. A large-scale multi-site study demonstrated larger volumes of the left and right globus pallidus in patients with schizophrenia than in healthy controls and schizophrenia-specific leftward asymmetry in the pallidum volume. However, the relationship between the globus pallidus and symptom severity remains unclear. The present study examined the association between structural aspects of the globus pallidus and symptom severity in patients with schizophrenia.

The analysis included 276 patients with schizophrenia. We used the Positive and Negative Syndrome Scale to assess symptom severity, and the volume of the globus pallidus was calculated by FreeSurfer 5.3 software. This study was approved by the Research Ethics Committee of the National Center of Neurology and Psychiatry and Osaka University and was conducted following the provisions of the Declaration of Helsinki. Written informed consent was obtained from all participants.

Partial correlation analysis, controlling for age, sex, intracranial volume, and MRI scanner, demonstrated a positive correlation between positive symptoms and the right pallidal volume even after Bonferroni correction ($r = 0.185$, $p = 2.27 \times 10^{-3}$). An additional analysis further controlling for chlorpromazine equivalents showed that the right pallidal volume was still correlated with positive symptom severity ($r = 0.163$, $p = 7.45 \times 10^{-3}$). The present findings suggest that patients with a larger volume of the right globus pallidus have more severe positive symptoms. The limitation is that this is a cross-sectional study, and the causal relationships between globus pallidus volume and positive symptoms is unknown. Furthermore, the correlation between globus pallidus volume and symptom severity was weak, suggesting that symptom severity might also be explained by other brain features. Future studies should be designed to resolve these points.

9. Biobanking of cerebrospinal fluid samples, and biomarker development of psychiatric disorders

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 18 CSF samples in this fiscal year (total 1410). We also obtained blood samples from 101 schizophrenia, 145 depression, 44 bipolar disorder, and 101 healthy controls, this year. Using those samples, (1) we confirmed two clusters of the patients based on CSF molecules and found several psychological features of those subsets. (2) Found brain-blood barrier integrity is associated with blood VEGF levels (Matsuno et al., 2022). (3) In collaboration with the University of the Ryukyus, using total 3000 psychiatric case and controls, we analyzed several rare-genetic variants found in a bipolar disorder pedigree. (4) A joint study with the Tokyo Institute of Technology found that the molecule BMP4, which inhibits neural regeneration, is elevated in the CSF of patients with Alzheimer's disease. (5) We also introduced current tests, studies, and collection methods with the aim of promoting CSF testing and research in psychiatry in Japan. 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。代表的な精神疾患に対するCBTは診療報酬上の評価により提供されてきたが、国民の生活の中で生じる、痛みや睡眠の問題などに対して、CBTに基づくケアが十分に行き届いているとは言えない。これらの遂行のために、健康増進を含むCBTの研究(①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(②遠隔睡眠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(③CBT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(④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の社会実装を目指す。

①慢性の痛みに対する認知行動療法の効果検証および普及に関する研究(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。

②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。

③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。

④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

堀越 勝 NCNP 認知行動療法センター 特任部長

研究協力者

①慢性の痛みに対する認知行動療法の効果検証および普及に関する研究（痛みに対するCBT）

大江悠樹 NCNP 認知行動療法センター

高岸百合子 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

松井彩乃 NCNP 病院

細越寛樹 NCNP 認知行動療法センター

菊池志乃 京都大学

柴田政彦 奈良学園大学

西江宏行

川崎医科大学

佐藤仁昭

神戸大学

倉田二郎

東京慈恵会医科大学

吉野敦雄

広島大学

②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

井上真里 NCNP 認知行動療法センター

大塚公美子 NCNP 認知行動療法センター

野間紘久 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

新川瑤子 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

柳田綾香 NCNP 認知行動療法センター

宋龍平 岡山県精神科医療センター

吉田伸 穎田病院

堀越健 多摩ファミリークリニック

家研也 聖マリアンナ医科大学

加藤大祐 国立長寿医療研究センター

坂田昌嗣 京都大学大学院

竹林由武 福島県立医科大学

村中誠司 大阪大学大学院

田ヶ谷浩邦 北里大学

③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

藤里 紘子 NCNP 認知行動療法センター

④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

3. 研究成果

①痛みに対する CBT

慢性痛に対する標準型CBTではこれまで当センターにおいて6例、共同研究機関全体としては24例を組み入れ、介入を終了した。また、NCNP整形外科との連携体制を確認した。IBSに対する集団CBTでは114名への介入を終了し、英文誌に公表した（Kikuchi et al., 2022）。

②遠隔睡眠 CBT

遠隔認知行動療法の臨床試験の研究倫理承認が得られ、対象者をリクルートするプライマリ・ケア医療機関合計6施設にてリクルートを行い、現時点で4例が研究登録となった。加えて、睡眠障害に対するCBTの普及実装を目指し、2つの研修を行った。

③CBT レジストリ構築

エキスパートコンセンサス会議を行ない、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:バイオリソース/脳機能画像等）と連結が可能な、オールジャパン体制のCBTレジストリの構築が必要であり、治療中の音声データ等CBTに特化したデータの項目などが決定した。また、実際の認知行動療法の臨床試験施行症例を、既存精神疾患レジストリへ組み込むためのトライアルを開始した（11例登録済み）。

④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を取りまとめ、学術誌に公表した（Ito et al., 2022）。また、理論的に想定されるCBTの作用機序を観察研究や臨床試験の二次解析にて検証した（Sugita et al., 2022）。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（金子ら, 2022）。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】 計（5）件 うち査読付計（3）件

1. Shino Kikuchi, Yuki Oe, Yuri Ito, Takashi Sozu, Yohei Sasaki, Masatsugu Sakata, Yan Luo, Ethan Sahker, Masaru Horikoshi, Hiroshi Seno, Toshi A Furukawa: Group Cognitive-Behavioral Therapy With Interoceptive Exposure for Drug-Refractory Irritable Bowel Syndrome: A Randomized Controlled Trial. *Am J Gastroenterol.* 117(4) 668-677. 2022.4, 査読有
2. 中島俊、野間紘久、大井瞳、デジタル化時

代の医療者に求められるコミュニケーション、Progress in Medicine 42 1093-1096 2022年12月

3. So Sugita, Kotone Hata, Naoki Takamatsu, Kentaro Kimura, Lecky Gonzalez, Krandhasi Kodaiarasu, Christian Miller, Ikue Umemoto, Keitaro Murayama, Tomohiro Nakao, Shinsuke Kito, Masaya Ito, Hironori Kuga (2023) Psychological treatments for the mental health symptoms among individuals infected with COVID-19: a scoping review protocol. *BMJ open* 13(3) e069386, 査読有
4. Po-Han Chou, Shao-Cheng Wang, Chi-Shin Wu, Masaru Horikoshi, Masaya Ito (2022) A machine-learning model to predict suicide risk in Japan based on national survey data. *Frontiers in psychiatry* 13 918667-918667, 査読有
5. Okamoto H, Onitsuka T, Kuga H, Oribe N, Nakayama N, Fukushima S, Nnakao T, Ueno T. Decreased BOLD signals elicited by 40-Hz auditory stimulation of the right primary auditory cortex in bipolar disorder: An fMRI study. *Frontiers in Psychiatry*.13,2022, 査読有

【図 書】 計 (2) 件

1. 岩壁茂・杉浦義典 (編)・伊藤正哉・藤里 紘子・加藤典子 各種の臨床的問題に対す

る研究の進め方ー診断横断アプローチ, 現代の臨床心理学 4 臨床心理研究法 東京大学出版会, 213-225

2. アブラモウィッツ JS, ディーコン BJ, ホワイトサイド SPH [著] 伊藤正哉他[監修] 不安へのエクスポージャー療法: 原則と実践, 創元者, 印刷中

【学会発表】 計 (18) 件

1. 細越寛樹、堀越勝、福森崇貴、岩佐和典、慢性痛の認知行動療法、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、2022年11月
2. 堀越勝、慢性疼痛に対する認知行動療法、第19回愛知県麻酔科医会痛みの講演会、2022年10月
3. 井上真里、中島俊、大井瞳、宮崎友里、高階光梨、伊藤正哉、久我弘典、不眠症の認知行動療法習得のためのオンデマンド研修プログラムの作成と不眠症の認知行動療法の社会実装上の障壁に関する検討: 観察研究、日本認知・行動療法学会第48回大会、2022年10月
4. 大塚公美子、野間紘久、井上真里、大井瞳、宮崎友里、浅沼比奈子、中島俊、久我弘典、当事者・臨床家支援を目的とした患者報告式睡眠モニタリング用紙とその記載方法に関する説明動画の作成、日本認知・行動療法学会第48回大会、2022年10月
5. 野間紘久、大井瞳、山本浩彰、窪田恵美、田中春仁、宮崎友里、井上真里、新川瑠子、大塚公美子、高階光梨、中島俊、久我弘典、患者ピットイン形式での遠隔認知

- 行動療法の臨床試験に伴う研究機関の連携に関する時間的コストの検討：速報、日本認知・行動療法学会第48回大会、2022年10月
6. 新川瑠子、井上真里、大井瞳、浅沼比奈子、宮崎友里、中島俊、野口晃菜、野間紘久、宋龍平、吉田伸、堀越健、家研也、加藤大祐、久我弘典、ダイバーシティを尊重した睡眠衛生ツールの開発、日本認知・行動療法学会第48回大会 2022年10月1日
 7. 大井瞳、中島俊、高階光梨、村中誠司、宮崎友里、菊地創、金沢吉展、安心・安全な心理療法に向けた”わたしたち”の倫理観アップデート、日本認知・行動療法学会第48回大会 2022年10月
 8. 伊藤正哉・加藤典子・豊田彩花・藤里紘子・金子響介・重枝裕子・中山千秋・杉田創・矢部魁一・中島俊・宮前光宏・山口慶子・大江悠樹・駒沢あさみ・久我弘典・堀越勝：うつと不安への診断を超えた治療のための統一プロトコルから認知行動療法の普及を考える、第14回日本不安症学会学術大会、20220521-22
 9. 梶原真知子・加藤典子・伊藤正哉、うつ病と不安症に対する集団版統一プロトコルに関する文献レビュー、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13
 10. 金子響介・伊藤正哉・中島俊・山口慶子・加藤典子・藤里紘子・重枝裕子・竹林由武・大江悠樹・中山千秋、「うつと不安への診断を超えた治療のための統一プロトコル研修」における研修効果の予備的検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13
 11. 梶原潤・竹林由武・国里愛彦・伊藤正哉・菅原大地、認知行動療法によってうつ・不安症状のネットワーク構造は変容するか？統一プロトコルの臨床試験データの二次解析、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111
 12. Sugita S, Ito M, Kato N, Toyota A, Nakajima S, Takebayashi Y, Komazawa A, Nakayama C, Yamaguchi K, Oe Y, Fujisato H, Miyamae M, Horikoshi M, Yabe K, Kaneko K (2022) Changes in neuroticism through the unified protocol for transdiagnostic treatment of depressive and anxiety disorders, *ABCT 56th Annual Convention*.
 13. 杉田創、竹林由武、加藤典子、豊田彩花、駒沢あさみ・中山千秋・山口慶子・大江悠樹・藤里紘子・宮前光宏・金子響介・矢部魁一・中島俊・堀越勝・伊藤正哉、不安とうつの統一プロトコル（UP）における社会人口学的因子及び、診断特異的症状に対する効果の検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13
 14. 豊田彩花・大江悠樹・細越寛樹・伊藤正哉、身体症状症に対する統一プロトコルの適応可能性について：文献的検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13
 15. Yabe K., Ito M, Kuga H, Mitamura Y, Kaneko K, Sugita S (2022) Psychometric properties of the Obsessive-Compulsive Inventory-Revised among clinical and non-clinical populations in Japan, *ABCT 56th Annual Convention*.

16. 矢部魁一・伊藤正哉・竹林由武・杉田創・金子響介・三田村廉衣・久我弘典、大規模臨床データを用いた短縮版強迫性障害スクリーニング尺度“OCI-4”の収束的・判別的妥当性検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13
17. 山口慶子・村中誠司・竹林由武・伊藤正哉：不安に対する曝露療法の研究動向：Structural Topic Model によるアブストラクト解析、第14回日本不安症学会学術大会、20220521-22
18. 山口慶子・宮前光宏・大江悠樹・中山千秋・駒沢あさみ・金子響介・豊田彩花・堀越勝・久我弘典・伊藤正哉、認知行動療法のための臨床査定に関する研修の効果－研修前後の調査結果による検証－、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

【出 願】 計（ 0 ）件

【取 得】 計（ 0 ）件

慢性の痛みに対する認知行動療法の効果検証および普及に関する研究

分担研究者 堀越勝¹⁾

研究協力者 松井彩乃²⁾、豊田彩花¹⁾、大江悠樹¹⁾³⁾、高岸百合子¹⁾、細越寛樹¹⁾⁴⁾、菊池志乃⁵⁾、柴田政彦⁶⁾、西江宏行⁷⁾、佐藤仁昭⁸⁾、倉田二郎⁹⁾、吉野敦雄¹⁰⁾

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) 国立精神・神経医療研究センター病院整形外科 3) 杏林大学精神神経科学教室 4) 関西大学社会学部 5) 京都大学大学院 6) 奈良学園大学 7) 川崎医科大学 8) 神戸大学 9) 東京慈恵会医科大学 10) 広島大学

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及び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) 多施設共同での臨床試験による慢性痛領域における問題に対する CBT の有効性検証および (2) 専門的な CBT 実施者・指導者の育成体制の整備を行い、慢性痛に対する CBT の普及を目指すことを大きな目的とする。

1. 慢性痛領域における問題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および広島大学と共同で、慢性痛に対する通常型 CBT のランダム化比較試験を継続実施した。

(2) 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過敏性腸症候群 (Irritable Bowel Syndrome; IBS) に対する集団 CBT のランダム化比較試験を実施した。

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 IBS に対する CBT をベースに、各種資料の作成およびスーパーバイズ制度

の整備など、専門的な実施者育成のための体制整備を行い、運用を行った。

また、これらの経験をもとに研修会を企画した。

結果

1. 慢性痛領域における問題に対する 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

現在までに当施設においては 6 例、研究機関全体としては 24 例を登録し、試験を継続中である。

現在までのところ重大な有害事象の発生はなく、患者からは肯定的なフィードバックを多く得られている。

(2) IBS に対する集団 CBT のランダム化比較試験

114 例を登録し、介入を終了した。主たる結果については英文誌にて出版された⁷。通常治療に加えて IBS に対する集団 CBT を実施した群は、通常治療のみの対照群と比較して、主要評価項目である腹部症状の重症度 (IBSSI: -115.8 vs -29.7) および疾患特異的 QOL (20.1 vs -0.2) のより大きな改善を認めた。研究期間中 6 件の重大な有害事象の発生が認められたが、本研究における介入に起因するものはなかった。また、研究期間中に生じた COVID-19 によるコロナ禍に対応するため、参加者の一部に対してオンライン上で介入を実施したが、大きな有害事象なく実施することができた。

以前実施したパイロット試験において筆者らが CBT 実施者育成のためのスーパーバイズを実施した京都大学、高槻赤十字病院の医師および心理士の計 2 名が全例について治療者を担当した。

2. 専門的な CBT 実施者・指導者の育成体制整備

慢性痛に対する通常型 CBT の臨床試験においては、実施者育成のため、対照群に割り当てられた者を含む全症例に対し、マニュアル作成に携わった心理士がスーパービジョンを実施した。また、指導者育成のため、これらのスーパービジョンの様子を共有し、よりよいスーパービジョン提供のための検討を行った。

また、以前作成した患者用のテキストをもとに、治療者用マニュアルを作成し、希望する医療従事者に対してこれらの資料を配布する体制を整備した。

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」をオンラインにて実施し、100 名ほどの対象者に対して研修を行った。そのほかにも分担研究者および研究協力者らがそれぞれ慢性痛に対する認知行動療法の研修を行った。

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った。IBS に対する集団 CBT では、必ずしも CBT の専門家ではない消化器内科医師が実施者を担当し、介入を完遂できた。我々が運用している 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幅広く可能とする一定の有効性を持つ可能性が示された。

結論

本研究により、慢性痛領域における問題に対する

CBTの効果検証と普及をさらに進めることができた。特にIBSに対する集団CBTに関してはRCTにより通常治療に対する優越性を示した。今後は継続中の慢性痛に対するCBTのRCTを進めるとともに、IBSに対する集団CBTについては二次解析を進めていくとともに、オンラインなど他の提供形態での実施可能性についても検討していく。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、研修プログラムの改善と実施を継続していく。さらに本研究を通して構築されてきた他科との連携体制をさらに深化させていく。

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. 慢性疼痛診療ガイドライン作成ワーキンググループ (編): 慢性疼痛診療ガイドライン. 東京: 新興公益 (株) 医書出版部, 2021.
 4. 日本線維筋痛症学会 (編): 線維筋痛症診療ガイドライン 2017. 東京: 日本医事新報社, 2017.
 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.
- Hosogoshi H, Iwasa K, Fukumori T, Takagishi Y, Takebayashi Y, Adachi T, Oe Y, Tairako Y,

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⁾、井上真里¹⁾、大塚公美子¹⁾、野間紘久¹⁾、高階光梨¹⁾、新川瑤子¹⁾、宮崎友里¹⁾、柳田綾香¹⁾、宋龍平²⁾、吉田伸³⁾、堀越健⁴⁾、家研也⁵⁾、加藤大祐⁶⁾、坂田昌嗣⁷⁾、竹林由武⁸⁾、村中誠司⁹⁾、田ヶ谷浩邦¹⁰⁾

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⁾ 地方独立行政法人 岡山県精神科医療センター、³⁾ 医療法人博愛会 穎田病院、⁴⁾ 医療法人社団家族の森 多摩ファミリークリニック、⁵⁾ 聖マリアンナ医科大学、⁶⁾ 国立長寿医療研究センター、⁷⁾ 京都大学大学院、⁸⁾ 福島県立医科大学、⁹⁾ 大阪大学大学院、¹⁰⁾ 北里大学

1. 緒言

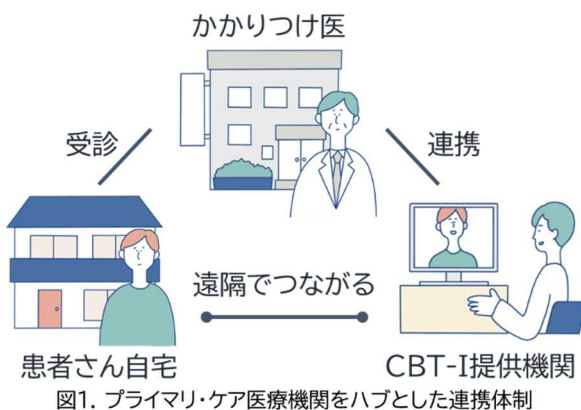
わが国では5人に1人が睡眠の問題を抱えている¹⁾。不眠症に対する認知行動療法 (Cognitive Behavioral Therapy for Insomnia: CBT-I) はその有効性と安全性から世界各国の治療ガイドラインで不眠症治療第一選択として推奨されているものの、日本のみならず世界各国でも不眠症治療の多くは薬物療法となっている²⁾。遠隔CBTはCBT-Iを実施可能なセラピストとセラピストのいない医療機関を遠隔でつなぐことで、CBT-Iを提供可能なセラピストが不在の地域でも、テクノロジーを活用することにより供給できるという点から、その社会実装が望まれている³⁾。本研究では、不眠症患者さんの多くが受診するプライマリ・ケア医

療機関と連携した遠隔 CBT-I のパイロットスタディとセラピスト養成のための研修を実施した。

2. 方法と結果

2-1. プライマリ・ケアと連携した遠隔 CBT-I パイロットスタディの実施

プライマリ・ケア領域と連携した遠隔 CBT-I 研究の実施にあたり、連携体制のヒアリングを行った。プライマリ・ケア医療機関において、患者さんと遠隔でつながる部屋の確保やネットに接続されたパソコンの設置が現実的ではないことから、プライマリ・ケア医療機関をハブとして患者さんは主治医との診察と並行し、患者さんの自宅とセラピストが直接遠隔でつながり、CBT-I を提供する連携体制が検討された(図1)。また、遠隔での提供形態では、不眠症の有病率は高齢者において多いことや、電子機器への親和性を踏まえて、パソコンを用いたテレビ会議システムに加え電話での提供形態を整備した。研究デザインは無作為化多層ベースラインデザインを用いた。COVID-19 のリクルートへの影響を踏まえ、4つのリクルート機関を追加し、合計6つの医療機関にてリクルートを実施した。その結果、2施設で4例の症例が登録された。また、本研究で作成した遠隔 CBT-I で用いた睡眠衛生に関するツール(図2)は日本認知・行動療法学会第48回大会ダイバーシティ推進研究ポスター賞を受賞した。



2-2. CBT-I セラピスト養成のための研修

2022年度は CBT-I に関して、NCNP 認知行動療法センター主催のオンデマンド研修および厚労省研修事業におけるオンライン研修の2つの研修を実施した。ここでは、不眠症のみならず、概日リズム睡眠-覚醒障害など診断横断的な睡眠障害に対する CBT のプログラムを扱った。その結果、オンデマンド研修およびオンライン研修では、合計171名が受講した。



4. 考察

本研究のリクルート状況及びプライマリ・ケアクリニックの医療従事者へのヒアリングから、テクノロジーの活用が苦手とされる高齢者においても遠隔 CBT のニーズがあることが示唆された。さらに、CBT-I の研修に関する研究から、対人援助職の CBT-I の取得に

関するニーズも高いことが示された。

今後、CBT-I 提供者の不足や実施可能な医療機関の少なさから、CBT-I の提供者の育成を行いながら、CBT-I の提供者のいない機関とプライマリ・ケア医療機関を受診した不眠症患者をつないだ遠隔支援の連携体制の構築が望まれる。

5. 結論

COVID-19 の影響でプライマリ・ケア医療機関でのリクルートが難航したものの、4例の登録がなされた。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い、CBT-I の普及実装に向けた取り組みを行っている。

6. 参考文献

1. 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).
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. Norwood C, et al : Working alliance and outcome effectiveness in videoconferencing psychotherapy: A systematic review and noninferiority meta-analysis. *Clin Psychol Psychother* 25 : 797-808,2018

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、うつや不安に対するCBTの研究（感情症の診断を超えたCBT：伊藤分担班）、健康増進を含むCBTの研究（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. CBT レジストリ構築に必要な体制と、臨床情報、評価尺度、センシングデータ/脳機能画像等の中核となるデータに関して、エキスパートコンセンサス会議を行い、具体的な項目の決定を行った。

2. 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」¹（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²と連携し、データの蓄積を行うとともに、当センター内のデータ管理体制の整備を行った。

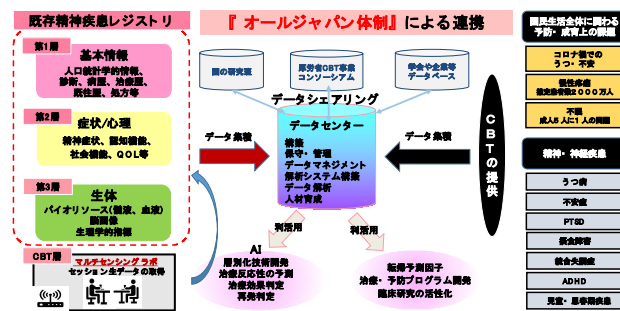


図3. CBTレジストリの構築体制

結果及び考察

1. CBT レジストリ体制構築とレジストリにおける集約データの検討

精神科や心理学のみならずデータサイエンス等のさまざまな領域、さらには、医師、看護師、心理士を始めとしたさまざまな職種からなる、エキスパートコンセンサス会議を行った。その結果、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:バイオリソース/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り(図3)、CBT セッション中のセンシングデータ等の CBT に特化したデータに関しては、第3層(仮名: CBT 層)などを CBT センター内にて一元管理を目指すことが結論付けられた。具体的には、治療中のセンシングデータに加え、治療中の音声データ、治療で活用されたワークシート、治療機序(CBTのタイプ)、治療プロセス(宿題遵守等)、治療によるアウトカム等を指す。

2. 精神疾患レジストリ²との連携

実際の CBT の臨床試験試行症例を既存の精神疾患レジストリへ組み込むトライアルを開始した。具体的には、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」¹(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へ11例の登録を行ったが、問題なく進めることができた。次年度以降も、精神疾患レジストリへの登録を進め、CBTレジストリとのデータのタグ付け等の検討を行う。

結論

CBT の作用機序はいまだわかっておらず、心理学的作用機序と生物学的作用機序との両方の観点からアプローチを行うことで、その解明が急がれている³。

本研究では、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、既存の精神疾患レジストリと連携を行い、臨床情報や症状評価/心理検査、脳機能画像/センシングデータ等のデータを蓄積するための、CBTレジストリ構築を進めてきた。今後も、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

を抽出し病態解明を行い、認知行動療法の最適化の確立、そして、個別化医療の実現が期待されている。

引用文献

1. 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>〉(2023.4.1)
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〉(2023.4.1)
3. 久我弘典. 認知行動療法の現状と課題および今後の展望. DEPRESSION JOURNAL, 2021,9(3),24-25.

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

加藤典子¹、藤里紘子^{1,2}、金子響介¹、重枝裕子¹、山口慶子^{1,3}、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、浜村俊傑¹、梶原真智子¹、中山千秋¹、矢部魁一¹、杉田創¹、堀越勝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 関西大学、³ 東京女子大学、⁴ 量子科学技術研究開発機構、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、感情症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UPだけでなく、児童版UP、青年版UP、集団形式のUP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のそれぞれ第2版（Barlow et al., 2017）の日本版を作成することとした。また、既存のUPのテキストではエクスポージャーの手続きについての記述が不十分であると考えられたため、エクスポージャーに特化した書籍の翻訳も進めた。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。これらの一部を用

いた研修効果を評価するため、研修参加者への自記式質問調査を実施し、解析を進めた。

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。加えて、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、それを実施したケースについての事例論文の執筆を進めた。

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 セラピストガイド第2版、ワークブック第2版の翻訳と制作を進めた。特に、ワークブックについては、これまでの臨床経験をもとに、日本の読者に馴染みやすいように様々なイラストを作成し、レイアウトにも工夫を施した。エクスポージャーの療法の書籍についても、翻訳及び監修を終え、出版社と校正作業を進めた（アブラモウィッツら、印刷中）。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。

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 の実施手法に関するノウハウを蓄積した。コンサルテーションを受けた事

例とともに、その過程を論文として執筆し、投稿した（大田ら、査読中）。

上述の経験や資料をもとにして、NCNP 内にてスーパービジョンを重ねてきた。その過程では、伊藤が代表となっている学術変革領域研究（B）及び挑戦的研究（萌芽）で検討を進めている知識構造化及びエキスパート型の人工知能の考えに基づき、セラピーにおける暗黙知の抽出を試行してきた。このようなコンサルテーションを含めた UP の臨床提供モデルについて検討し、素案を不安症学会にて発表した（伊藤ら、2022）。加えて、UP のオンデマンド研修前後及び6ヶ月後に調査を行い、研修効果に関する検討を進めた（金子ら、2022、山口ら、2022）。

UP の治療機序の検討 UP のプライマリアウトカム論文として、うつ病や不安症に対する UP の有効性を報告した（Ito et al., 2022）。臨床試験データの二次解析では、UP の治療標的として想定されている神経症傾向が改善していることを報告した（Sugita et al., 2022）。また、不安やうつのネットワーク構造がどのように変化するかを検証した（梶原ら、2022）。さらに、強迫症の症状をカテゴリ別に測定できる Obsessive Compulsive Inventory-Revised の信頼性と妥当性を確認した（Yabe et al., 2022）。他にも、エクスポージャーに関する研究動向（山口ら、2022）、身体症状症への UP の適用（豊田ら、2022）、集団 UP の研究動向（梶原ら、2022）について発表した。

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の整備拡充を進めた。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、エクスポージャーに関する詳細なテキストなどが含まれる。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蓄積することができた。

加えて、UPの有効性や治療機序を明らかにする研究を進めることもできた。まず、我が国のうつ病と不安症の外来患者に対してUPが有効であることが確認できた。加えて、UPが理論的に治療標的としている神経症傾向が実際に改善されることも確認できた。遠隔オンラインセッションでのUPの実施や、コンサルテーションの過程について事例論文によりその詳細な手続きが検討できた。

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

アブラモウィッツ JS, ディーコン BJ, ホワイトサイド SPH [著] 伊藤正哉他[監修] 不安へのエクスポージャー療法：原則と実践, 創元社, 印刷中

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.

Ito, M., Horikoshi, M., Kato, N., Oe, Y., Fujisato, H., Yamaguchi, K., . . . Takebayashi, Y. (2022). Efficacy of the unified protocol for transdiagnostic cognitive-behavioral treatment for depressive and anxiety disorders: A randomized controlled

trial. *Psychological Medicine*, 1-12. doi:10.1017/S0033291721005067

伊藤正哉・加藤典子・豊田彩花・藤里紘子・金子響介・重枝裕子・中山千秋・杉田創・矢部魁一・中島俊・宮前光宏・山口慶子・大江悠樹・駒沢あさみ・久我弘典・堀越勝：うつと不安への診断を超えた治療のための統一プロトコルから認知行動療法の普及を考える、第14回日本不安症学会学術大会、20220521-22

伊藤正哉・藤里紘子・加藤典子 各種の臨床的問題に対する研究の進め方ー診断横断アプローチ, 岩壁茂・杉浦義典(編) 現代の臨床心理学4 臨床心理研究法 東京大学出版会, 213-225

梶原真知子・加藤典子・伊藤正哉、うつ病と不安症に対する集団版統一プロトコルに関する文献レビュー、第22回日本認知療法・認知行動療法、20221111-13

金子響介・伊藤正哉・中島俊・山口慶子・加藤典子・藤里紘子・重枝裕子・竹林由武・大江悠樹・中山千秋、「うつと不安への診断を超えた治療のための統一プロトコル研修」における研修効果の予備的検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

檜原潤・竹林由武・国里愛彦・伊藤正哉・菅原大地、認知行動療法によってうつ・不安症状のネットワーク構造は変容するか？統一プロトコルの臨床試験データの二次解析、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111

Sugita S, Ito M, Kato N, Toyota A, Nakajima S, Takebayashi Y, Komazawa A, Nakayama C, Yamaguchi K, Oe Y, Fujisato H, Miyamae M, Horikoshi M, Yabe K, Kaneko K (2022) Changes in neuroticism through the unified protocol for

transdiagnostic treatment of depressive and anxiety disorders, *ABCT 56th Annual Convention*.

杉田創、竹林由武、加藤典子、豊田彩花、駒沢あさみ・中山千秋・山口慶子・大江悠樹・藤里紘子・宮前光宏・金子響介・矢部魁一・中島俊・堀越勝・伊藤正哉、不安とうつの統一プロトコル（UP）における社会人口学的因子及び、診断特異的症状に対する効果の検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

豊田彩花・大江悠樹・細越寛樹・伊藤正哉、身体症状に対する統一プロトコルの適応可能性について：文献的検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

Yabe K., Ito M, Kuga H, Mitamura Y, Kaneko K, Sugita S (2022) Psychometric properties of the Obsessive-Compulsive Inventory-Revised among clinical and non-clinical populations in Japan, *ABCT 56th Annual Convention*.

矢部魁一・伊藤正哉・竹林由武・杉田創・金子響介・三田村廉衣・久我弘典、大規模臨床データを用いた短縮版強迫性障害スクリーニング尺度“OCI-4”の収束的・判別的妥当性検討、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

山口慶子・村中誠司・竹林由武・伊藤正哉：不安に対する曝露療法の研究動向：Structural Topic Modelによるアブストラクト解析、第14回日本不安症学会学術大会、20220521-22

山口慶子・宮前光宏・大江悠樹・中山千秋・駒沢あさみ・金子響介・豊田彩花・堀越勝・久我弘典・伊藤正哉、認知行動療法のための臨床査定に関する研修の効果－研修前後の調査結果によ

る検証－、第22回日本認知療法・認知行動療法学会、20221111-13

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 not only depression and anxiety but also 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. Furthermore, we will establish a CBT Registry Japan, conducting researches that will contribute to the elucidation of the therapeutic mechanism of CBT and the establishment of therapeutic optimization.

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 CBT for sleep, we developed digital materials for providing clinical research on CBT for patients with insomnia. On the establishment of a CBT Registry Japan, we determined the data items for the registry. In addition, a trial has been initiated to incorporate cases from clinical trials of cognitive behavioral therapy into an existing registry for psychiatric disorders.

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. And we will promote the construction of a CBT Registry Japan in

order to elucidate the therapeutic mechanism of CBT and establish therapeutic optimization.

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・厚生省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ィスの開発研究、5) 自治体の認知症対策と連携した有効な介入方法(ブレインヘルスプロジェクト)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)に出現する非運動症状を再現したPD前駆期モデルマウスを用いて、ヒト同様の中途覚醒の増加を慢性的に誘発した際の非運動症状(嗅覚低下ならびに消化管機能低下)の変化を解析した。その結果、これらの非運動症状について、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だし

た。また非運動症状の変化に対応する病理学的変化を見いだした。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(PD)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、認知機能などの非運動症状の進行等を検討した。RBDが先行した群では、認知機能の低下が速い傾向があり、脳脊髄液中のアミロイドβの量がそれぞれ高値、低値である傾向がみられ、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、アミロイド関連分子との関連が見いだされた。次に、プロテオーム解析対象患者の末梢血でのアミロイド関連物質の変化を検証したところ、血中アミロイドマーカが高値例ほど認知症・幻覚の頻度が多かった。このことから、血中アミロイドマーカは非運動症状である認知症・幻覚のマーカとなりうる可能性がある。

超高齢者における脳病理の解析

慶應義塾大学医学部百寿総合研究センターとの共同研究として、超百寿者(110歳以上)の病理解剖を推進し、その脳病理学的検討を継続してきた。現在までに、20例を超える検体について解析した。脳病理所見として、特にADの病理変化に着目し、National Alzheimer's Coordinating Centerの診断基準を適用すると、病理変化が高度の症例は稀であることが明らかで、さらにレビー小体病理、脳血管病変といった混合病理も稀であった。超高齢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と結論した。

脳画像評価に基づく神経変性疾患病理の解析

MRで拡散テンソル画像を用いた新しい2つの解析手法であるFWI(free water imaging)とDTI-ALPS(diffusion tensor image analysis along the perivascular space)を用い、これらがAD患者の病態を把握、評価に有用であるか検討した。結論としてタウ凝集や神経炎症過程がAD及び類縁疾患患者における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。またDTI-ALPS indexはアミロイドやタウ・神経炎症を評価する指標となり得、glymphatic systemの評

価に有用であると考えられた。

異常分子の伝播機序・毒性と制御の解明

アクアポリン4の機能促進薬であるTGN-073をタウトランスジェニックマウス(PS19)に対し投与すると、抗リン酸化タウ抗体AT8で検出される大脳皮質、海馬のタウ蓄積が減少することを見出した。FUSタンパク質をカゼインキナーゼ1 δ もしくは ϵ と共発現すると、トリス緩衝液可溶性、トライトン不溶性FUSの比率が低下し、FUSの蓄積についてリン酸化修飾が可溶性を規定することが初めて示された。J-TRC研究と連携してR4年度に113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、プレクリニカルADを含むアミロイド上昇例を同定し、血漿A β 42コンポジットマーカーを累計285例に施行、高い予測能を実証した。

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。結論として、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。また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。

PD、認知症を伴うPD(PDD)、レビー小体型認知症(DLB)の患者剖検脳から α シヌクレイン線維を調製し、クライオ電子顕微鏡を用いてそれらの構造を決定した。その結果、Lewy-foldと名付けた新規の α シヌクレインの折りたたみ構造が明らかとなった。いずれの疾患の α シヌクレイン線維も同じ構造をとっており、それぞれの疾患が連続している可能性を示している。多系統萎縮症(MSA)の構造とは大きく異なっており、レビー小体病やMSAに特異的なPETリガンドの開発に役立つことが期待される。

様々な変性疾患脳のアミロイド(様)線維を解析する過程で、リソソーム膜タンパク質の一種であるTMEM106Bがアミロイド線維を形成し、脳に蓄積していることが判明した。脳疾患のない高齢者にも蓄積が認められ、老化との関連が強い病変であると考えられた。

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。本研究では、RDAにおいて機能するRNA helicaseを1種類同定した。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 α シヌクレイン陽性凝集体と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。

タンパク質のリソソームへの取り込みに機能する分子を探索し、新たにタンパク質を同定した。解析の結果、この分子を介した経路では、 α シヌクレインやタウが分解基質となり、経路はマクロオートファジーとは異なることが明らかになった。新たな治療標的となることが期待される。

プリオン病のレジストリ推進と自然歴・病態解明

2022(令和4)年度は9月と2023年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674例を検討し、累積で4714例をプリオン病と判定した。内訳は孤発例76%、遺伝性22%、獲得性2%であった。初めて事前審査を試行し症例増加への対策として有効性を確認した。自然歴調査も順調に増加し、2023年3月現在、累計で1900例を超えている。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(班長:高尾班員)や他の班員と連携し、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。また、遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病 V180I 変異剖検例の病理学的検討を継続中である。

2) 臨床における医療・介護モデルの構築 自治体との協体制構築

これまでに小平市市役所、同医師会と協体制を構築し、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、登録者は82人となった。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年度から参加している。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。TYM-Jの事業前後の変化は、2020年

度は46.3±3.2点(50点満点)から47.6±2.2点へ上昇し、2021年度も46.7±2.5点から48.1±1.8点に上昇した。

WHOプログラムの社会実装

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。令和3年10月に心理評価のフィードバック機能の実装が完了した。引き続きiSupport-JのRCTを実施し、被験者に心理評価結果のフィードバックを提供している。被験者募集開始時からのiSupport-Jシステム登録者数は330名、適格基準を満たしたのは270名であった。

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。当院で開催した患者向けのイベントなどを通して、認知症患者や家族のLOVOTに対する反応を確認した。

4. 研究成果刊行一覧

1. Kishino Y, Matsukawa K, Matsumoto T, Miyazaki R, Wakabayashi T, Nonaka T, Kametani F, Hasegawa M, Hashimoto T, Iwatsubo T. Casein kinase 1δ/ε phosphorylates fused in sarcoma (FUS) and ameliorates FUS-mediated neurodegeneration. *J Biol Chem*. 298:102191, 2023 10.1016/j.jbc.2022.102191 査読有
2. van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, Bateman RJ, Chen C, Gee M, Kanekiyo M, Li D, Reyderman L, Cohen S, Froelich L, Katayama S, Sabbagh M, Vellas B, Watson D, Dhadda S, Irizarry M, Kramer LD, Iwatsubo T. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med*. 388:9-21, 2023 10.1056/NEJMoa2212948
3. Hama Y, Saitoh Y, Imabayashi E, Morimoto Y, Tsukamoto T, Sato K, Kitamoto T, Mizusawa H, Matsuda H, Takahashi Y: 18 F-THK5351 positron emission tomography imaging for Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *J Neurol Sci*. 2022 Aug 4;441:120379. doi: 10.1016/j.jns.2022.120379. 査読有
4. Saitoh Y, Mizusawa H. Current Evidence for the Association between Air Pollution and Parkinson's Disease. *Ann Indian Acad Neurol*. 2022 Sep;25(Suppl1):S41-S46. doi: 10.4103/aian.aian_62_22. 査読有
5. Yang Y, Shi Y, Schweighauser M, Zhang X, Kotecha A, Murzin AG, Garringer HJ, Cullinane PW, Saito Y, Foroud T, Warner TT, Hasegawa K, Vidal R, Murayama S, Revesz T, Ghetti B, Hasegawa M, Lashley T, Scheres SHW, Goedert M. Structures of α-synuclein filaments from human brains with Lewy pathology. *Nature*. 2022 Oct;610(7933):791-795. doi: 10.1038/s41586-022-05319-3. 査読有
6. 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 May, 605(7909):310-3148. doi: 10.1038/s41586-022-04650-z. 査読有
7. Kametani F, Hasegawa M. Structures of tau and α-synuclein filaments from brains of patients with neurodegenerative diseases. *Neurochem Int*. 2022 May 31;158:105362. doi: 10.1016/j.neuint.2022.105362. 査読有
8. Tarutani A, Adachi T, Akatsu H, Hashizume Y, Hasegawa K, Saito Y, Robinson AC, Mann DMA, Yoshida M, Murayama S, Hasegawa M. Ultrastructural and biochemical classification of pathogenic tau, α-synuclein and TDP-43. *Acta Neuropathol*. 2022 Jun;143(6):613-640. doi: 10.1007/s00401-022-02426-3. 査読有
9. Miyahara H, Akagi A, Riku Y, Sone J, Otsuka Y, Sakai M, Kuru S, Hasegawa M, Yoshida M, Kakita A, Iwasaki Y. Independent distribution between tauopathy secondary to subacute sclerotic panencephalitis and measles virus: An immunohistochemical analysis in autopsy cases including cases treated with aggressive antiviral therapies. *Brain Pathol*. 2022 Apr 4:e13069. doi: 10.1111/bpa.13069. 査読有
10. Takao M, Ohira M. Neurological post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2023 Feb;77(2):72-83. doi: 10.1111/pcn.13481. 査読有

11. Zhou Y, Tada M, Cai Z, Andhey PS, Swain A, Miller KR, Gilfillan S, Artyomov MN, Takao M, Kakita A, Colonna M. Human early-onset dementia caused by DAP12 deficiency reveals a unique signature of dysregulated microglia. *Nat Immunol.* 2023 Mar;24(3):545-557. doi: 10.1038/s41590-022-01403-y. 査読有
12. Moto Nakaya, Noriko Sato, Hiroshi Matsuda, Norihide Maikusa, Yoko Shigemoto, Daichi Sone, Tensho Yamao, Masayo Ogawa, Yukio Kimura, Emiko Chiba, Masahiro Ohnishi, Koichi Kato, Kyoji Okita, Tadashi Tsukamoto, Yuma Yokoi, Masuhiro Sakata, Osamu Abe. Free water derived by multi-shell diffusion MRI reflects tau/neuroinflammatory pathology in Alzheimer's disease. *Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions* 2022 Oct 25;8(1):e12356. DOI: 10.1002/trc2.12356 査読有
13. Miho Ota, Noriko Sato, Moto Nakaya, Yoko Shigemoto, Yukio Kimura, Emiko Chiba, Yuma Yokoi, Tadashi Tsukamoto and Hiroshi Matsuda. Relationships between the deposition of amyloid-beta and tau protein and glymphatic system activity in Alzheimer's disease: diffusion tensor image study. *Journal of Alzheimer's Disease* 2022;90(1):295-303. DOI 10.3233/JAD-220534 査読有
14. Matsuda H, Okita K, Motoi Y, Mizuno T, Ikeda M, Sanjo N, Murakami K, Kambe T, Takayama T, Yamada K, Suehiro T, Matsunaga K, Yokota T, Tateishi U, Shigemoto Y, Kimura Y, Chiba E, Kawashima T, Tomo Y, Tachimori H, Kimura Y, Sato N. Clinical impact of amyloid PET using 18F-florbetapir in patients with cognitive impairment and suspected Alzheimer's disease: a multicenter study. *Ann Nucl Med.* 2022 Oct 4. doi: 10.1007/s12149-022-01792-y. 査読有
15. Yuka Hama, Yuji Saitoh, Etsuko Imabayashi, Yuko Morimoto, Tadashi Tsukamoto, Katsuya Sato, Tetsuyuki Kitamoto, Hidehiro Mizusawa, Hiroshi Matsuda, Yuji Takahashi. 18F-THK5351 positron emission tomography imaging for Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *Journal of the Neurological Sciences.* 2022;441:120379. doi:10.1016/j.jns.2022.120379 査読有
16. Etsuko Imabayashi, Yuji Saitoh, Tadashi Tsukamoto, Masuhiro Sakata, Harumasa Takano. Combination of Astrogliosis and Phosphorylated Tau for the Preclinical Diagnosis of Alzheimer Disease Using 3-Dimensional Stereotactic Surface Projection Images With 18F-THK5351. *Clinical Nuclear Medicine.* 2022;47(12):1066-1068. doi: 10.1097/RLU.0000000000004425 査読有
17. Yuji Saitoh, Hidehiro Mizusawa. Parkinson's Disease: The Dirty Truth About the Air - Authors' Reply. *Annals of Indian Academy of Neurology.* 2022 Nov-Dec;25(6):1181-1182. doi: 10.4103/aian.aian_878_22 査読有
18. Shingo Yamashita, Yuma Yokoi, Makoto Matsui, Kazumi Nozaki, Chinatsu Fujimaki, Ayumu Wada, Naoya Iwata, Norio Sugawara, Yoshie Omachi. iSupport-J, the Japanese version of an internet-based self-learning and psychological assessment program for dementia caregivers: study protocol for a randomized, waiting-list controlled study. *medRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory),* 2023. doi: https://doi.org/10.1101/2022.11.16.22282333. 査読無
19. Kosami K, Ae R, Hamaguchi T, Sanjo N, Tsukamoto T, Kitamoto T, Yamada M, Mizusawa H, Nakamura Y. Methionine homozygosity for PRNP polymorphism and susceptibility to human prion diseases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2022 Jul;93(7):779-784. doi: 10.1136/jnnp-2021-328720. Epub 2022 Apr 6. PMID:35387866. 査読有
20. Saitoh Y, Imabayashi E, Mizutani M, Tsukamoto T, Hasegawa M, Saito Y, Matsuda H, Takahashi Y. ¹⁸F-THK5351 PET for visualizing predominant lesions of pathologically confirmed corticobasal degeneration presenting with frontal behavioral-spatial syndrome. *J Neurol.* 2022 Sep;269(9):5157-5161. doi:10.1007/s00415-022-11121-y. Epub 2022 Apr 13. PMID: 35416513; PMCID: PMC9363344. 査読有
21. Minakawa EN. Bidirectional Relationship between Sleep Disturbances and Parkinson's Disease. *Front Neurol.* 2022 Jul 13:927994. doi: 10.3389/fneur.2022.927994. 査読有

22. Takeuchi T, Maeta K, Ding X, Oe Y, Takeda A, Inoue M, Nagano S, Fujihara T, Matsuda S, Ishigaki S, Sahashi K, Minakawa EN, Mochizuki H, Neya M, Sobue G, Nagai Y. Sustained therapeutic benefits by transient reduction of TDP-43 using ENA-modified antisense oligonucleotides in ALS/FTD mice. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2023 Jan 16;31:353-366. doi: 10.1016/j.omtn.2023.01.006. 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ついては今後解決すべき課題が多く残されている。本研究ではアミロイド β、タウをはじめとする変性疾患病因タンパク質の蓄積過程をモデル動物等を用いて解析するとともに、プレクリニカル期 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。第2年度にはモデルマウス脳におけるタウ蓄積動態、FUS タンパク質の不溶化過程と、J-TRC と連携した臨床研究につき報告する。

方法

タウトランスジェニックマウス(PS19)に、アクアポリン4の機能促進薬である TGN-073 を6ヶ月齢から3ヶ月間飲水投与し、タウ蓄積病理を免疫組織化学ならびに生化学的に対照群との間で比較した。ALS や前頭側頭型認知症において病因タンパク質として蓄積する FUS の不溶性と翻訳後修飾の関係を検証するため、HEK293 細胞に FUS をカゼインキナーゼ1と共発現し、生化学的に可溶性を検証した。J-TRC 研究と連携して174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

6ヶ月齢から9ヶ月齢までの3ヶ月間にわたり、アクアポリン4の機能促進薬である TGN-073 を飲水中に混和し、タウトランスジェニックマウス(PS19)に対して1日kg体重当たり400mgの量で投与すると、抗リン酸化タウ抗体 AT8 で検出される大脳皮質、海馬のタウ蓄積は投与群で減少した。脳実質からギ酸で抽出される不溶性リン酸化タウ濃度は、対照群で 20mg/mg 脳重量に対し、投与群で 10mg/mg と有意に低下した。FUS タンパク質をカゼインキナーゼ 18 もしくは ε と共発現すると、ト

リス緩衝液可溶性、トライトン不溶性 FUS の比率が低下した。

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 2022 年度に組み入れた 174 例を含めて 521 例中 133 例 (25.5%) に見られ、うち 285 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 0.891 を示した。

考察

タウトランスジェニックマウス脳において、脳内細胞外間質液の glymphatic flow を亢進させることによりタウ蓄積が有意に減少したことから、タウシード分子種が glymphatic system により排除されている可能性がさらに支持された。FUS の蓄積についてもリン酸化修飾が可溶性を規定することが初めて示された。プレクリニカル AD 例のアミロイド PET 診断結果について、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

タウの glymphatic flow によるクリアランスを刺激することが、タウ伝播の抑制を介した新たな治療原理として期待される。FUS についてもリン酸化の制御による新機軸の治療介入の可能性が示された。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大規模例でさらに確証した。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ことが期待される。

参考文献

1. Kishino Y, Matsukawa K, Matsumoto T, Miyazaki R, Wakabayashi T, Nonaka T, Kametani F, Hasegawa M, Hashimoto T, Iwatsubo T. Casein kinase 1δ/ε phosphorylates fused in sarcoma (FUS) and ameliorates FUS-mediated neurodegeneration. *J Biol Chem.* 298:102191, 2022
2. van Dyck CH, Swanson CJ, Aisen P, Bateman RJ, Chen C, Gee M, Kanekiyo M, Li D, Reyderman L, Cohen S, Froelich L, Katayama S, Sabbagh M, Vellas B, Watson D, Dhadda S, Irizarry M, Kramer LD, Iwatsubo T. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med.* 388:9-21, 2023

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 (Japan Consortium of Prion 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ィ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ィ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これまでで最大の計 674 例を検討し、累積で 4714 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 1900 例を超えている。
- (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、調査未完了例が多く存在することを明らかにし、事務局や地区サーベイランス委員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する。

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. Hama Y, Saitoh Y, Imabayashi E, Morimoto Y, Tsukamoto T, Sato K, Kitamoto T, Mizusawa H, Matsuda H, Takahashi Y: ¹⁸F-THK5351 positron emission tomography imaging for Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease. *J Neurol Sci.* 2022 Aug 4;441: 120379.
2. Saitoh Y, Mizusawa H. Current Evidence for the Association between Air Pollution and Parkinson's Disease. *Ann Indian Acad Neurol.* 2022 Sep; 25(Suppl1): S41-S46.
3. 黒岩義之, 平井利明, 藤野公裕, 山崎敏正, 水澤英洋: プリオン病の脳波. 特集 I プリオン病. *脳神経内科.* 2022 ; 97(4): 450-459.
4. 水澤英洋, 宇川義一, 水谷智彦, 大越教夫, 中瀬浩史(日本神経学会マニュアル作成委員会): 白質脳症. 改訂新版 重篤副作用疾患別対応マニュアル 第 5 集. 一般財団法人 日本医薬情報センター (JAPIC) . 2023.3, p27-50
5. 水澤英洋, 宇川義一, 水谷智彦, 大越教夫, 中瀬浩史, 栗田 正(日本神経学会マニュアル作成委員会): 痙攣・てんかん. 改訂新版 重篤副作用疾患別対応マニュアル 第 5 集. 一般財団法人 日本医薬情報センター (JAPIC) . 2023.3, p184-210

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。

今回、リソソームによるタンパク質取り込みに関与する可能性のある、SIDT2 以外の分子を探索した。

方法

タンパク質のリソソーム膜局在情報とインタラクトームの情報から、分子 C に着目した。分子 C を neuro2a 細胞に過剰発現させ、 α -synuclein や Tau を基質として、Tet-off システムによる分解実験を行なうことにより、タンパク質分解を解析した。また、共焦点顕微鏡解析により、 α -synuclein が C 依存的にリソソームに取り込まれるか検討した。さらに、マクロオートファジーが起きない Atg13 ノックアウト (KO) neuro2a 細胞を用いて、本研究の分解経路がマクロオートファジーか異なる経路かを決定した。

結果

Tet-off システムを用いた分解アッセイの結果、neuro2a 細胞における分子 C の過剰発現により、 α -synuclein や Tau のタンパク質分解が促進されることを見いだした。共焦点顕微鏡解析では、分子 C の過剰発現により、 α -synuclein のリソソームへの移行が促進された。Atg13 KO neuro2a 細胞においても、分子 C の過剰発現により、 α -synuclein のタンパク質分解が促進された。また、野生型 neuro2a 細胞における C の過剰発現時には、マクロオートファ

ジー活性化マーカー LC-3II の量に変化はなかった。以上の結果から、分子 C はマクロオートファジー以外のオートファジー経路を活性化することが明らかとなった。

考察

分子 C を介した分解機構はマクロオートファジー以外の経路であることから、リソソームによる直接的なタンパク質取り込み経路であることが示唆された。また、分子 C はリソソーム膜に存在することから、タンパク質取り込みに関与している可能性がある。神経変性疾患との関連性も報告されている。

結論

分子 C はマクロオートファジーとは異なるオートファジー経路を活性化する。

異常タンパク質の生化学、構造解析

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

変性性の認知症疾患には、疾患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、病変の広がりや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。本研究は様々な認知症や神経変性疾患の患者剖検脳から線維化したタンパク質を分離濃縮し、その生化学分析や構造解析を行うと共に、プリオン様の性質について検討する。すなわち培養細胞や野生型マウスに接種し、その病変形成や広がり方について免疫組織学的あるいは生化学的に詳細に調べる。今年度はレビー小体型認知症の α シヌクレイン線維の構造解析と、疾患あるいは脳疾患のない高齢者の剖検脳に蓄積する新規のアミロイドについて報告する。

方法

パーキンソン病(PD)患者 1 例、認知症を伴う PD 患者 2 例の、そしてレビー小体型認知症(DLB) 3 例の患者剖検脳からサルコシル不溶性 α シヌクレイン線維が調製され、クライオ電顕により構造解析が行われた。また、これまでに解析した剖検脳不溶性画分に新規アミロイド線維が含まれており、その構造解析もおこなった。TMEM106B の 239-250 の合成ペプチドを作製、抗体を作製して、免疫組織染色をおこなった。

結果

PD、DLB の α シヌクレイン線維の構造解析から、いずれの症例も 31 番目のグリシンから 100 番目のロイシンからなる領域が Lewy-fold と名付けられた折り畳み構造をとり、線維中心を形成し蓄積していることが明らかとなった。PD と DLB の両疾患で α シヌクレイン線維の構造が同一であったことは、両疾患が同じの疾患単位に分類され、連続している可能性が示唆される。

また、TMEM106B はライソゾーム/エンドソームのタンパク質で、FTLD-TDP のリスク遺伝子としても知られている。これまで解析してきた孤発性および遺伝性のタウオパチー、A β アミロイドーシス、シヌクレイノパチー、TDP-43 プロテインオパチーの 22 人と、アミロイド沈着を全くあるいはわずかにしか

認めない対照者 3 人の前頭葉皮質において、TMEM106B 線維が含まれており、その構造が決定された。20-101 歳の神経学的健常者 16 名の前頭葉皮質の不溶性抽出物を抗 TMEM 239 抗体で解析した結果、27kDa 付近に不溶性バンドが検出され、加齢依存的に TMEM106B は蓄積することが示唆された。

結論

PD、PDD、DLB 患者の脳から α シヌクレイン線維が分離され、クライオ電顕解析の結果、いずれも同じ Lewy-fold を形成して線維中心を作っていることが明らかとなった。多系統萎縮症(MSA)に蓄積する構造とは異なり、PD、PDD、DLB が同一の疾患単位に分類されると結論した。

ライソゾーム/エンドソームのタンパク質で、FTLD-TDP のリスク遺伝子としても知られる TMEM106B はライソゾームの内腔側が切断され、ゴルフコース様の折り畳みをしてアミロイド線維を形成していることがあきらかとなった。このアミロイドは加齢との関係が強く、疾患との関係は薄いと考えられる。

参考文献

1. Yang Y, Shi Y, Schweighauser M, Zhang X, Kotecha A, Murzin AG, Garringer HJ, Cullinane PW, Saito Y, Foroud T, Warner TT, Hasegawa K, Vidal R, Murayama S, Revesz T, Ghetti B, Hasegawa M, Lashley T, Scheres SHW, Goedert M. Structures of α -synuclein filaments from human brains with Lewy pathology. *Nature* 2022 Oct;610(7933):791-795. 査読有.
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 May, 605(7909):310-3148. 査読有.
3. Tarutani A, Adachi T, Akatsu H, Hashizume Y, Hasegawa K, Saito Y, Robinson AC, Mann DMA, Yoshida M, Murayama S, Hasegawa M. Ultrastructural and biochemical classification of pathogenic tau, α -synuclein and TDP-43. *Acta Neuropathol* 2022 Jun; 143(6): 613-640. 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。超高齢者の脳病理所見を中心に検討を継続している中で、昨年度は超高齢者の基本的な神経病理所見に関して明らかにしてきた。

クロイツフェルト・ヤコブ病は、急速進行性に認知症疾患である。近年、その原因であるプリオン蛋白のpropagationの機序に関して、ほかの神経変性疾患に関連するタンパク質であるアミロイドベータ、タウ、アルファシヌクレインなどとの関連も指摘され、認知症疾患の発症機序を理解する上で、プリオン病の理解をすすめることは重要である。

その中で、特に遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病V180I変異は、日本に多い疾患で、比較的高齢で発症し(図1)、緩徐進行性、かつ遺伝子変異を伴うにも関わらず家族内発症が稀であることが特徴である。そのため、臨床的にはアルツハイマー病などと診断をうけていることもあり、疾患自体が見過ごされていることも少なくない。病理学的には沈着するプリオン量が少なく、さらに高齢であることから、アルツハイマー病などの合併病理も多いことが示唆され、臨床表現型への影響も考慮される。こういった背景から、高齢者の認知症性疾患の理解に、プリオン病の側面からの検討も重要と考え、本年度はこの遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病V180Iの病理学的検討も行うこととした。

方法

NCNPには対象症例が少ないことから、開発費3-8のブレインバンクネットワークに参加している、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の症例を用い、神経病理学的に検討を開始した。本研究において、当該施設での倫理承認は終了している。

結果

V180IのCJD解剖例は18例であった。平均発症年齢は80.2歳、平均罹病期間は3.4年であった。髄液では、タウ陽性16例中14例(87.5%)であった。RT-QuIC陽性の症例はタウ陽性7例中2例であった。また、意義は明らかではないが、女性で発症年齢が高く(図2)、プリオンタンパクコドン129の多型がMVの場合、MMよりも発症年齢が高かった(図

3)。脳病理学的検討を継続中であるが(図4)、高齢であることからアルツハイマー病病理変化を一定のレベルで認めることが多く詳細は次年度に継続する。V180Iでは、抗プリオン免疫染色の脳組織における染色性が不良であることがしばしば指摘されているが、自動免疫染色装置を用いることで、適切に染色を行えることを確認した。さらに網膜においては孤発性CJDと同様にプリオン沈着を恒常的に認め、病理解剖における網膜の採取も重要である。

考察

遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病V180Iにおいて、病理学的に確定診断がされた症例の検討によれば、臨床病理学的に特徴的な背景があることが示唆された。

結論

V180Iのクロイツフェルト・ヤコブ病が、なぜ高齢で発症をするのか、そして、アミロイドベータ、タウといった混合病理所見の存在が、プリオンタンパク蓄積とどのように関連するのかといった点を明らかにする必要がある。次年度も病理学的解析を進めることで、本症の病態解明の基礎となる成果を目指すことが重要である。

参考文献

1. Takao M, Hirose N, Arai Y, Mihara B, Mimura M. Neuropathology of supercentenarians - four autopsy case studies. *Acta Neuropathol Commun*. 2016 Sep 2;4(1):97. doi: 10.1186/s40478-016-0368-6.
2. Yang Y, Garringer HJ, Shi Y, Lövestam S, Peak-Chew S, Zhang X, Kotecha A, Bacioglu M, Koto A, Takao M, Spillantini MG, Ghetti B, Vidal R, Murzin AG, Scheres SHW, Goedert M. New SNCA mutation and structures of α -synuclein filaments from juvenile-onset synucleinopathy. *Acta Neuropathol*. 2023 Feb 27. doi: 10.1007/s00401-023-02550-8.

図 1：日本の遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病 V180I の発症年齢分布。自治医科大学阿江先生のご厚意による。発症平均年齢 79 歳。

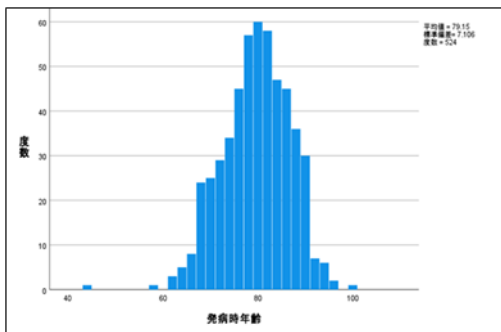


図 4：全経過 10 年の症例。



図 5：神経病理学的にはプリオン沈着以外に、タウ、アミロイドβ、小血管病変など混合病理が多いと考えられる。

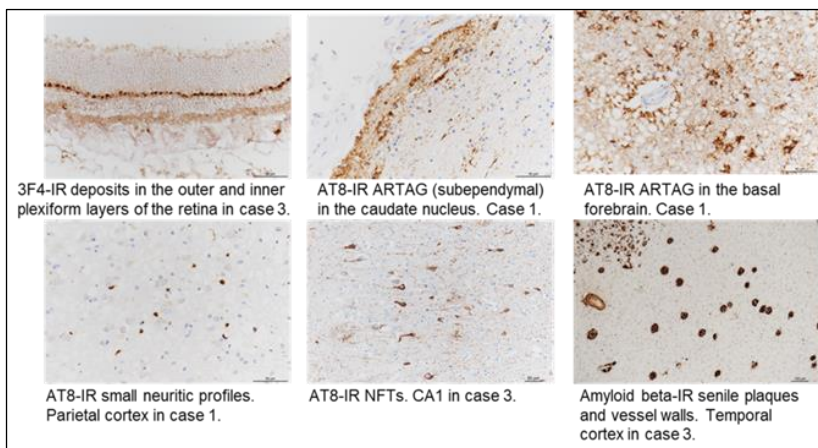


図 2：女性の発症年齢が高い。

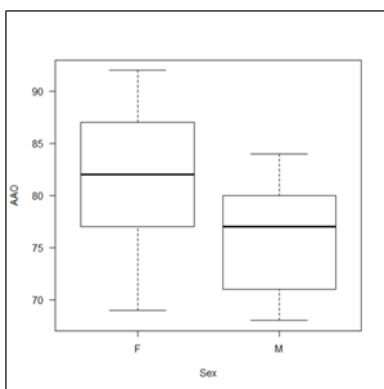
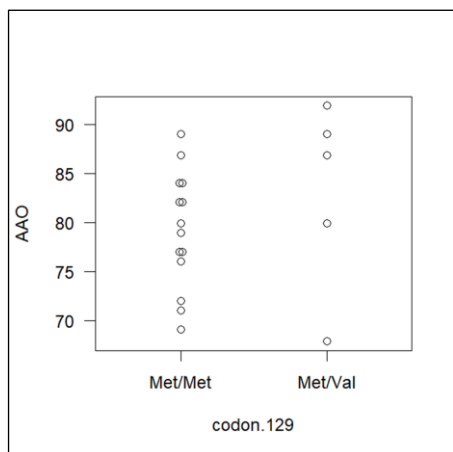


図 3：コドン 129MV の方が MM よりも発症年齢が高い。



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

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(DTI :diffusion tensor imaging)を用いて、脳実質内の間質液の動態、いわゆる glymphatic system を拡散画像から評価する DTI-ALPS (diffusion tensor image analysis along the periventricular space)という手法も開発され、AD 患者で検証されつつある。しかしこれまでは MRI だけの検証で、分子イメージングを用いた ALPS の研究は未だ無い。今回の研究は拡散テンソルを用いた新しい MR 解析手法 DTI-ALPS と、分子イメージングデータを合わせて解析、検討し、分子イメージングの異常蛋白の蓄積と間質液の動態を検討することを目的とする。

対象と方法

21 例の AD 患者と 36 例の正常対照者に対し、MRI、¹¹C-PiB のアミロイド PET と ¹⁸F-THK5351 のタウ/炎症 PET を、また心理検査は MMSE、CDR、MOCA-J を施行した。MRI 拡散画像のカラーマップ上で、投射線維と関連線維に ROI を置いて測定し、下記の式にて ALPS-index を算出した。

$$\text{ALPS index} = [(D_{xproj} + D_{xassoc})/2] / [(D_{yproj} + D_{zassoc})/2].$$

2 群間の ALPS-index の有意差と ALPS-index と各心理検査との相関を求めた。また ¹¹C-PiB や ¹⁸F-THK5351 との相関も求めた。いずれも年齢、性別を共変量とした。

結果

AD 群と正常群では各心理検査で優位な差を認められた。また ALPS index も AD 群では優位に低下していた。DTI-ALPS index と PiB PET で求めた standard uptake value ratio (SUVR)との相関では、両側側頭葉、左頭頂葉と後部帯状回に負の相関を認められた。また DTI-ALPS index と THK PET の SUVR との間にも、両側側頭葉と右頭頂葉に負の相関を認められた。

討論

側頭葉、頭頂葉、帯状回など AD 病理が強い部位で、タウやアミロイド PET と ALPS-index が負の相関を示したことは、AD 病理が進行するほど間質液の流れの障害が強くなることを意味している。

結論

DTI-ALPS index はアミロイドやタウ・神経炎症を評価する指標となり得、glymphatic system の評価に有用であると考えられた。

参考文献

Taoka T, Masutani Y, Kawai H, Nakane T, Matsuoka K, Yasuno F, Kishimoto T, Naganawa S. Evaluation of glymphatic system activity with the diffusion MR technique: diffusion tensor image analysis along the perivascular space (DTI-ALPS) in Alzheimer's disease cases. *Jpn J Radiol.* 2017; 35: 172-178.

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
神経研究所 疾病研究第四部

緒言

パーキンソン病 (PD) やレビー小体型認知症などの Lewy 小体病において、認知症の合併は予後不良因子であり、そ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、今後の疾患修飾治療に向け注目されている。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 PD や Lewy 小体病で高頻度にみられるが、RBD と運動症状には関連があり、 α シヌクレイン病理の進展部位によって異なると考えられている。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、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、病理学的に互いに関連していることが推察される。

本研究では Lewy 小体病患者における RBD に着目し、運動・非運動症状の進展様式の違いや環境因子の影響、他の認知症関連分子との関連を臨床側からアプローチするとともに、それらと髄液中蛋白質の網羅的解析データを融合させ、Lewy 小体病をはじめとした神経変性認知症病態のバイオマーカーを見出すことを目的とする。さらに、Lewy 小体病と同様に異常蛋白質蓄積によって生じる神経変性性認知症についても臨床データベース化を進め、希少な神経変性認知症に関する知見を提供する。

方法

本研究では RBD により PD 患者を層別化し、各群の認知機能の進行速度や幻覚などの精神症状の出現頻度などを検討した。さらに、PD 患者の脳脊髄液中の既知の蛋白質の増減および蛋白質の網羅的解析を行い、各群の分子動態の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を中心に、神経変性性認知症について臨床データベース化を進めた。

1) PD 患者の臨床症状は NCNP 病院のコホート研究を利用した検討を継続した。これまでの研究で、PD 患者においては RBD の様式によって髄液中の

蛋白発現量の違いがみられていた。これをもとに、蛋白発現量の違いに関連するパスウェイを同定した。この同定したパスウェイに関連する分子が PD 患者の髄液・血液において変動がみられるかを検証した。2) タウオパチーやプリオン病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) と運動症状の様式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ところ、RBD の出現様式は認知機能低下や精神症状発現に関連していることが示唆された。つぎに、脳脊髄中の蛋白質網羅的解析で得られたパスウェイに関連する蛋白質について、血液中での変化を検証したところ、このマーカーの増減は認知機能低下や精神症状との関連が示唆された。

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において、剖検脳で確認できたタウ病理の強さは、生前に実施したアストログリオシスを描出する PET probe の集積の程度と相関しており、この PET probe が生前の病理像を反映していることを報告した (Saitoh et al., J Neurol, 2022)。さらに遺伝性プリオン病においても病変が強いとされる部へのこの PET probe の集積が強いことを報告し (Hama et al., J Neurol Sci, 2022)、タウオパチーだけでなく、さまざまな神経変性認知症疾患の病変の広がりを生前に描出できることを示した。

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、その様式によっても認知機能低下や精神症状などの進展に関与していることが明らかになり、髄液中の蛋白質の網羅的解析から得られた、認知症病態に関与しうる候補分子が血液においても髄液と同様に関連している可能性を示すことができた。より簡便に採取できる血液でのこの候補分子の測定を一般化することができれば Lewy 小体病の認知症や精神症状の発症予測マーカーとして臨床応用できると期待できる。Lewy 小体病の病原蛋白質である α シヌクレインとこれらの候補分子の間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、一つの臨床症状に着目して得られた候補分子を足掛かりとして、神経変性認

知症疾患の病態が明らかにす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 の様式により、認知症発症に関するバイオマーカー候補を髄液・血液から見出すことができたことは、認知症発症予測マーカーとしてだけでなく、認知症病態に関連する分子として病態解明につながる可能性がある。

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
病院司法精神診療部 医長

緒言

認知症の行動・心理症状 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

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、問題解決技法および認知行動療法の技術を用いたオンライン自己学習プログラム 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、その有用性を検証するための RCT を行う。また、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、介護者自身が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 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 (ロボット) 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 iSupport-J の有用性を検証するため、令和 3 年

1 月 11 日より開始した RCT を継続する。選択基準を満たし無作為割付の対象となった被験者は、ランダムで iSupport-J 介入群とウェイトリングリスト (WL) 群とに分ける。iSupport-J 介入群は、iSupport-J に 3 か月間取り組み、ベースライン、開始 1 か月時、3 か月時 (介入終了時) 及び 6 か月時 (後観察時) に心理評価とアンケート調査を実施する。WL 群では 3 ヶ月経過後から iSupport-J に 3 か月間取り組み、ベースライン、1 ヶ月時、3 ヶ月時 (介入開始時)、6 ヶ月時 (介入終了時) に心理評価とアンケートを実施する。目標症例数は各群 104 名を予定する。割付の対象とならないものの除外されない被験者については、低介護負担群として探索的に評価する。令和 3 年度は 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。令和 4 年度は RCT の中間解析を行う。令和 5 年度も引き続き RCT を行い、結果を解析してまとめ、報告を行う。

② 令和 3 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。令和 4 年度は予備的研究としての研究計画を立案する。令和 5 年度は、研究計画を倫理申請し、研究計画の妥当性や実施可能性について検討する。結果をまとめ、RCT の研究計画を立案する。

結果

① 令和 3 年 1 月 11 日から令和 4 年 10 月 26 日までの iSupport-J システム登録者数は 330 名であった。適格基準を満たしたのは 270 名で、このうち iSupport-J 介入群又は WL 群への割付対象となったのは 183 名、低介護負担群は 87 名であった。登録者 330 名の性別は女性が 77%、男性が 23%で、年齢は 50 歳代が最も多かった。各群 104 例中 80 例の 3 か月後のデータが入手できた時点で中間解析を行ったところ、3 ヶ月時点での継続率は 90.1%であった。応募者数が伸び悩んだが、再び新聞や当事者団体広報誌に広告掲載を行なったことで応募者が増加し、目標症例数に到達した。WHO が主催する web 会議に参加し、各国の iSupport 研究チームと情報共有を行った。

② 当院で開催した患者向けのイベントなどを通して、認知症患者や家族の LOVOT に対する反応を確認した。認知症患者の入院を積極的には受け入れていないこと、コロナ禍では感染拡大防止のため研究目的での病棟への立ち入りを控える必要があったことから、より実現可能性の高い方法について検討を行った。

考察

- ① 他国における iSupport の RCT において、3ヶ月時点での継続率は、インド 36.42% イギリス 82%、オーストラリア（中華圏） 85%であった。中間解析の結果、継続率が 90.1%と高く、飽きさせないための工夫やリマインドが有効に機能していると考えられる。
- 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、病棟では転倒や感染のリスクを指摘された。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

iSupport-J の有用性を検証するための RCT において、中間解析の時点で高い継続率を認めた。BPSD に対するロボットの有用性の検証については、実現可能性の高い計画の立案を模索している。

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

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、NCNP 病院認知症センターは、2018 年 9 月から、東京都小平市での自覚的認知機能障害や前臨床期認知症の人を対象として「もの忘れチェック会」を定期的に開催している。市と共に、作成されたマニュアルに従い、チェック会をほぼ隔月に開催し、データベース登録者の総数を増やし、データを充実させてきている。また、2020 年 4 月から小平市の「健康ポイント」事業に参加し、参加市民の運動活動量の変化と認知機能の変化の経時的相関を調べる研究を継続している。

方法

- ① 小平市役所、小平市地域包括支援センター、小平医師会などと連携を取りながら小平市在住の高齢者で、自らの高次機能障害（認知機能障害）を自覚しながらも日常生活を支障なく過ごしているひと（自覚的認知機能障害のひと）のデータベースを構築し、その後の経過を追跡調査する。
- ② Orange preclinical データベースおよび Orange MCI データベースのデータを拡充し(①の項も参照)、そのデータ間の関連を調べる。

倫理的問題について

前臨床期の認知症に関する研究については、すでに倫理委員会で承認を得ている。

結果

- ① 当院において認知症センターならびに認知症疾患医療センターによって運営されているもの忘れ外来から preclinical 期にあると思われる症例患者の同意を得て、データベースに登録している（2023 年 03 月 28 日現在 82 人）（昨年同時期 67 人）。
- ② 東京都を対象とする認知症前臨床期および自覚

的認知機能障害期のデータベースを構築する研究のモデルとして、小平市高齢者支援課や地域包括支援センターと協力して市に住む高齢者でみずからの「もの忘れ」を自覚しているものの日常生活に支障が出ていない症例を拾い出す早期発見する「ブレインヘルスプロジェクト」に基づき、2018 年 9 月以降、ほぼ隔月に参加者 10～20 人規模で「もの忘れチェック会」を開催しており、2022 年度は年間で 10 回開催した。

- ③ 小平市健康推進課が行っている「健康ポイント事業」に参加し、年度初めと年度終わりに自記式質問紙様式の認知機能検査である TYM-J で認知機能を評価し、インセンティブを付与して得られた市民の運動量の変化と認知機能の運動前後の差に関係があるかを確認した。2020 年度は全年齢層で運動により認知機能が上昇し、特に 60 歳代以上では運動量と認知機能改善の程度に相関があることがわかった。

考察

2020 年初から続いた COVID-19 の流行によって公開講座・講演会など人を集めて行う機会が著明に減った。このため、前臨床期の参加者の増加がなかった。また、同様の理由で、「もの忘れチェック会」の開催を見送ったり、規模を縮小し継続した。2022 年後期となってからは、規模を徐々に大きくしており、今後の参加者の増加が見込まれる。

結論

COVID-19 パンデミックにより研究の進展は妨げられたが、もの忘れ外来の受診者も 2022 年秋以降増加しており、今後ますます重要な研究になると思われる。

参考文献

1. Hanyu H, Maezono M, Sakurai H, Kume K, Kanetaka H, Iwamoto T. Japanese version of the Test Your Memory as a screening test in a Japanese memory clinic. *Psychiatry Res.* 2011 Nov 30;190(1):145-8. doi: 10.1016/j.psychres.2011.04.025. Epub 2011 May 13. PMID: 21570726.

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 特任研究室長

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と病理学的変化を解析した。

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。またこれらの症状悪化に対応する脳部位における病理学的変化を見出した。

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、神経変性病態が睡眠—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分子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 β 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.

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 casein kinase 1 δ/ϵ phosphorylates FUS and ameliorates FUS-mediated neurodegeneration. Cryo-electron microscopy revealed that the structures of α -synuclein filaments from the brains of patients with PD, PDD and DLB are made of a single protofilament (Lewy fold). We also found the Age-dependent formation of TMEM106B amyloid filaments in human brains.

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.

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. Using DTI-ALPS, the relationships between the deposition of amyloid- β and tau protein and glymphatic system activity were suggested in Alzheimer's Disease.

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

高橋 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、[5] ErbB4 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>

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

<分担研究者>

齊藤 勇二：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

中元 ふみ子：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

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

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

常山 篤子：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

原 貴敏：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

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

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>

濱 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】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ェアハウス（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。

ナショナルセンター病院では、2019年度より、電子カルテテンプレートから臨床情報を収集する環境の国内標準化を目指して、JASPEHRプロジェクトが進められている。本プロジェクトでは、医療情報交換の最新の国際規格であるHL7-FHIRに準拠した形式でテンプレートを定義し、異なるシステムでも同じ仕組みでデータ収集が可能になることが期待される。NCNPにおいても、その成果を取り入れ、標準規格による汎用的なデータ入出力環境の整備を行い、臨床データ収集の効率化・精緻化を目指している。iTReNDにおいてもJASPEHRプロジェクトとの互換性を念頭に置いてシステムを構築した。

2022年7月より登録を開始し、2022年度末までに345名の登録を達成した。内訳は、パーキンソン病 143例、多系統萎縮症 58例、進行性核上性麻痺/大脳皮質基底核変性症 31例、脊髄小脳変性症 28例、筋萎縮性側索硬化症 16例、病型未確定 69例であった。

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。2022年においては、iTReNDに関連して151検体を新たにバイオバンクに登録した。内訳は、PD:46検体、DLB:11検体、MSA:24検体、SCD:14検体、ALS:31検体、タウオパチー:25検体であった。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・血漿検体のプロテオーム解

析ならびに髄液検体のメタボローム解析を完了し、多系統萎縮症の早期診断バイオマーカー候補を同定した。同分子は軽症例・病初期に特に高値を呈することが示され、早期診断バイオマーカーとしての有用性が示された。a-SYNについては長崎大学との共同研究でRT-QuICによる早期鑑別診断の系を構築した。

【個別研究】[1]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、2021年度からMADIのリハビリテーション部分

(以降、MADIリハ)と一般的なりハビリテーション(ストレッチ、背筋トレーニング、エルゴメーターなど)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)を開始しており2022年度も継続した。

MADI-RCTについて:2022年4月1日から2023年3月末までにMADI-RCTは15人の患者から参加同意を取得した。うち2例は入院前にパーキンソン病の運動症状が悪化し本試験に参加ができなくなった。別の1例は原因不明の入院キャンセルにより参加しなかった。2021年度中に同意を得ていた3例を加え2022年度は15例に実施した。

[2]レボドパ/カルビドパ持続経腸療法(LCIG療法)は進行期パーキンソン病治療法の一つである。LCIG療法は胃瘻を作成する必要があるが、胃瘻作成前に経鼻空腸管(NJチューブ)を留置し、試験投薬を行うことができる(以後、試験投与)。本邦では保険診療の制約から試験投与は2週間以内に終了されるが、試験投与期間が2週間で十分なのかは検討されていない。試験投与の効果判定に必要な評価期間を検討した。男性19例、女性13例が該当した。平均年齢 62.7 ± 7.9 歳、パーキンソン病平均罹病期間 12.7 ± 4.8 年、ウェアリングオフの出現から平均 6.1 ± 3.4 年であった。試験投与開始から効果判定終了までの平均期間は 13.3 ± 14.9 日

あり、平均の薬剤変更回数は 8.4 ± 7.4 回であった。試験投与期間1-14日間で19例がLCIGの効果あり(胃瘻適応あり)と判断され、15-19日の間にさらに2例が効果ありと判断された。薬剤最適化に41日、51日を要した2例は、患者・家族の強い希望で胃瘻を作成したが、胃瘻作成後3年以内にトラブルサムジスキネジアや精神症状でLCIG治療継続が困難と判断されていた。試験投与中に不安や焦燥感などで脱落したのは4例であり、全例がLCIG開始から8日以内に脱落していた。LCIG効果なしと判断された5例はいずれも中止の判断が下されるまで20日以上を要した。

[3]当院に入院歴のあるALSの患者の自然歴、病像の多様性、それらに影響する因子を、電子カルテや各種検査データから広く情報収集し、統合的疾患レジストリ iTreND (Integrated Registry for Neurodegenerative Disorders)に登録し、データベース化した。

臨床像、発症部位、ALSFRS-R (The revised ALS Functional Rating Scale) score、電気生理学的検査(筋電図検査)、頭部MRI、脳血流SPECT、呼吸機能検査などを前向きに登録した。また、過去の23名のALS患者のバイオバンクを活用し、Gapfree研究の一環として、髄液中のNeurofilament light (NfL)、Neurofilament heavy (NfH)を利用した。すなわち、疾患の進行度(disease progression rate: DPR)を(48-データ収集時のALSFRS-R score)/罹病期間と定義し、NfL、NfHとの相関を検討した。髄液中のNfLはDPRと正の相関を示した($r = 0.64$)。また、ALSFRS-R scoreと軽度の相関を示した($r = -0.48$)。これは、髄液中のNfLの値が、ALSにおける臨床的な重症度、病勢を反映することが示唆された。髄液中のNfLはすでに様々な変性疾患、末梢神経疾患などで上昇を

認めることが明らかになっており、疾患の特異度は低いと言わざるを得ない。しかしながら、このNFLを一端として、生体資料を前向きに評価することで、疾患特異的なバイオマーカーの候補となる蛋白を探索することが現実的に可能となる可能性が示唆された。

[4]PD患者の臨床徴候、検査データを蓄積し、特に非運動症状の有病率、増悪因子、治療方法を解析した。ブラッシュアップ入院をしたPD患者135例において、うつの有病率は21.5%である一方、不安の有病率は64.4%~67.4%と高かった。うつを有するPD患者はほとんど全例が不安を合併しており、うつを伴わない不安も高頻度に見られた。PD患者の不安には年齢、罹病期間、運動合併症との関連は見られなかったが、不安を持つPD患者はすくみ足がある頻度が高かった。

黒質線条体シンチグラフィの解析では、ドパミントランスポーターの被殻/尾状核への集積比が不安を有するPD患者において不安のない患者に比べて有意に高かった。パーキンソン病患者に合併するうつ症状の背景に不安の存在があることが示唆された。不安症状の改善がうつやすくみ足の改善に有効である可能性がある。また尾状核と被殻の線条体ドパミンシステムの不均衡がPDの不安症状と関連していることが示された。

[5]2016年に運動失調症の患者登録レジストリであるJ-CAT (Japan Consortium of Ataxias)が発足して以降は順調にAD-SCDの診断確定例が蓄積されており、SCD患者の自然歴追跡を行う基盤が整いつつある。SCD自然歴研究における臨床指標のゴールドスタンダードはSARAスコアだが、より多角的に疾患の進行を評価するため、海外ではREDISCA、EFACTSといった前向き自然歴研究

においてFARS-ADL (Friedreich's Ataxia Rating Scale - Activities of Daily Living)という患者自記式の臨床評価スケールが活用されている。

今回我々はFARS-ADLの日本語訳と妥当性の検証を行い、更にFARS-ADLの構造化インタビュー体制を構築し、J-CATから抽出したSCD患者を対象に前向き自然歴研究を実施した。医師による対面評価では、当院に入院したSCD患者30例を対象にSARAスコアとFARS-ADL日本語版スケールを評価しその相関をみた。両者のpearsonの相関係数は $r=0.81$ であり強い正の相関を認め、以上を2022年に行われた第63回日本神経学会学術大会において報告した。

またCRC2名による電話インタビュー評価では、当院のSCD患者30例を対象とし、CRC2名が短期間(2-4週間)に2回、FARS-ADLの構造化電話インタビューを行った。その結果、検者間一致度は $ICC=0.982$ と高い一致度を示し、SARAとFARS-ADLの相関係数 $r=0.77$ と良好な相関を示した。Cronbachの α 係数は0.892であり、内的整合性も高かった。以上、双方の検証においてFARS-ADLの妥当性が担保された。

FARS-ADL日本語版の妥当性が担保されたことを受け、J-CATから抽出したSCD患者136例を対象にFARS-ADLの構造化電話インタビューを行った。発症から電話インタビューまでの罹病期間は平均 8.5 ± 6.2 年、FARS-ADLスコアは平均 10.6 ± 5.0 点だった。以上の様に、構造化電話インタビューの実施体制を確立し、J-CATデータベースから抽出した病型確定かつ軽症SCD例を対象に半年に一度の前向き自然歴研究を開始した。

[6]脊髄小脳変性症(以下:SCD)における歩行

障害の特徴として、歩行リズムのばらつき増大が挙げられる。この症状を改善する方法として音楽療法がある。しかし、音楽療法の効果を量的・質的な側面から検討した研究はない。今回予備的に①フットセンサーを用いた歩行リズム解析プログラムの作成②テーラーメイド型の音楽療法用ミュージックデータの作成③混合研究に向けた質的インタビューデータの大規模言語モデル（以下：LLM）を用いた文字起こし解析以上のシステムを構築した。SCDにおける音楽療法の①個別最適歩行リズムの計測②最適歩行リズムに合わせた音楽の提供③全身運動を用いたテーラーメイド型の音楽療法実践プログラム開発④効果判定に使用する混合データ解析手法の準備が整った。[7]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。当院でタウオパチーと病理学的に確定した症例を用いて、臨床・病理診断の対応関係と臨床的・病理学的特徴を検討した。本年度は、病理確定されたタウオパチーのうち、臨床・病理の診断が不一致になる例について検討した。臨床PSP・病理CBD 3例、臨床CBS・病理CBD 3例が該当した。これらの症例は、PSPの特徴とされる易転倒性・眼球運動制限の出現が遅い傾向があるものの、失行・失語・症状の左右差や脳MRI・脳血流SPECT所見についてはPSP・CBS両者の特徴が混在していた。タウ病理については、左右差のある病理PSP例、左右差のない病理CBD例や、上小脳脚・視床下核の萎縮を認める病理CBD例が含まれていた。さらに、2014年1月～2020年8月の期間に、パーキンソン症候群で当院へ入院した1426例（パーキンソン病/レビー小体型認知症(PD/DLB) 878例、PSP 192例、大脳皮質基底核変性症候群(CBS) 72例、多系統萎縮症(MSA) 284例)のうち、Evans index>0.3、くも膜下腔の不均衡な拡大を伴う水頭症(DES)を満たすiNPH合併26例について臨床情報を後方視的に検討した。iNPHを合併するパーキンソン症候群は、PD/DLB 10例、

PSP 13例、CBS 3例、MSA 0例であった。PSP合併の9例がMDS基準でprobable PSPを満たし、CBS合併全例がArmstrong基準のprobable CBSを満たした。剖検例は2例存在し、臨床診断：PSP-P+iNPH、病理診断：iNPHと、臨床診断：PSP-RS+iNPH、病理診断：CBD+iNPHであり、後者はシャント術で一時的な歩行改善があった。[8]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ErbB4cK0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ErbB4cK0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、ErbB4cK0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た。結果、投与後1、2、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。また、タモキシフェン投与後1ヶ月において、K0マウス運動ニューロン内TDP-43染色性の低下が観察された。

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。ErbB4cK0マウスは新規の孤発性ALSモデル動物となり得る。

[9]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氣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。使用する血清量を最小限にする目的で、通常は 3 分間の LTD 誘導刺激を 1 分間に短縮した。その結果、予想外にシナプス電流の長期増強 LTP が生じた。この LTP は一酸化窒素を介した受容体増加によるものだった。さらに一酸化窒素を阻害すると、PKC 依存性の LTD が誘導され。論文を投稿し、現在、改訂作業中である。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 2 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。iTReND には 345 名を登録して構造化された臨床情報・バイオバンクの連結したデータベースを構築した。一方、1 年間で 151 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も継続した。髄液・血漿プロテオームならびに髄液メタボロームの解析を完了し、多系統萎縮症の早期鑑別診断マーカー候補分子を同定した。以上、全体研究における 2 年度の目標は達成した。

個別研究としては、パーキンソン病・関連疾患の姿勢異常治療 MADI-RCT も順調にリクルートが進展した。ALS において NFL と臨床情報との関連を分析した。パーキンソン病における不安・うつ症状の実態解明と画像関連の分析も進んだ。FARS-ADL を活用した構造化電話インタビューによる運動失調症の前向き自然歴研究体制が確立し、初年度は 136 名の半年ごとの調査を開始した。歩行リズムについても多面的な解析手法を実装して、個別化音楽療法の評価実施体制を確立した。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り、診断困難例の特徴、正常圧水頭症合併例の病学的特徴が明らかになった。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、ErbB4 が運動ニューロンの生存に必須の分子であることを *in vivo* で証明した。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、繁樹条件による LTD/LTP の新たな特性を見出した。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 の全体像、すなわち臨床 DB とゲノム DB・バイオバンク DB との統合データベースを完成し、臨床情報とゲノム・オミックス情報とを統合的に解析する。iTReND を運用してさらなる臨床情報の蓄積を推進するとともに、登録情報を活用した疾患特異的・疾患横断的分析を推進する。特に全ゲノムデータを有効に活用して臨床との関連を探る。個別研究を引き続き推進し、診療に資するエビデンス構築・バイオマーカー探索・病態解明・治療シイズ探索を継続する。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）
論文発表

1. Matsukawa T, Porto KJL, Mitsui J, Chikada A, Ishiura H, Takahashi Y, Nakamoto FK, Seki T, Shiio Y, Toda T, Tsuji S. Clinical and Genetic Features of Multiplex Families with Multiple System Atrophy and Parkinson's Disease. *Cerebellum*. Online ahead of print.
2. Takahashi Y, Date H, Oi H, Adachi T, Imanishi N, Kimura E, Takizawa H, Kosugi S, Matsumoto N, Kosaki K, Matsubara Y, Consortium I, Mizusawa H. Six years' accomplishment of the Initiative on Rare and Undiagnosed Diseases: nationwide project in Japan to discover causes, mechanisms, and cures. *J Hum Genet*. 2022;67(9):505-13.
3. Saitoh Y, Imabayashi E, Mizutani M, Tsukamoto T, Hasegawa M, Saito Y, Matsuda H, Takahashi Y. (18)F-THK5351 PET for visualizing predominant lesions of pathologically confirmed corticobasal degeneration presenting with frontal behavioral-spatial syndrome. *J Neurol*. 2022;269(9):5157-61.
4. Hama Y, Date H, Fujimoto A, Matsui A, Ishiura H, Mitsui J, Yamamoto T, Tsuji S, Mizusawa H, Takahashi Y. A Novel de novo KIF1A Mutation in a Patient with Ataxia, Intellectual Disability and Mild Foot Deformity. *Cerebellum*. Online ahead of print.
5. Nishikawa N, Murata M, Hatano T, Mukai Y, Saitoh Y, Sakamoto T, Hanakawa T, Kamei Y, Tachimori H, Hatano K, Matsuda H, Taruno Y, Sawamoto N, Kajiyama Y, Ikenaka K, Kawabata K, Nakamura T, Iwaki H, Kadotani H, Sumi Y, Inoue Y, Hayashi T, Ikeuchi T, Shimo Y, Mochizuki H, Watanabe H, Hattori N, Takahashi Y, Takahashi R, Japan Parkinson's Progression Markers Initiative study g. Idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder in Japan: An observational study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022;103:129-35.
6. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract*. 2022;9(4):508-15.
7. Hama Y, Saitoh Y, Imabayashi E, Morimoto Y, Tsukamoto T, Sato K, Kitamoto T, Mizusawa H, Matsuda H, Takahashi Y. (18)F-THK5351 positron emission tomography imaging for Gerstmann-Straussler-Scheinker disease. *Journal of the neurological sciences*. 2022;441:120379.
8. Kondo Y, Mizuno K, Bando K, Suzuki I, Nakamura T, Hashide S, Kadone H, Suzuki K. Measurement Accuracy of Freezing of Gait Scoring Based on Videos. *Front Hum Neurosci*. 2022 May 19; 16: 828355.

学会発表

1. Yuji Takahashi, Hidetoshi Date, Yuka Hama, Hideki Oi, Shinji Kosugi, Naomichi Matsumoto, Kenjiro Kosaki, Yoichi Matsubara, IRUD Consortium, Hidehiro Mizusawa. Genes associated with ataxia in Initiative on Rare and Undiagnosed diseases (IRUD). International Congress of Ataxia Research 2022. Dallas, Texas, USA. 2022. 11. 1-4.
2. Yuji Takahashi, Hidetoshi Date, Yuka Hama, Shinji Oda, Kinya Ishikawa, Yoshio Ikeda, Masahisa Katsuno, Satoshi Kuwabara, Takayoshi Shimohata, Hiroshi Takashima, Yoshihisa Takiyama, Fumiaki Tanaka, Tatsushi Toda, Yoshitaka Nagai, Ritsuko Hanajima, Ichiro Yabe, Kunihiro Yoshida, Osamu Onodera, Hidehiro Mizusawa. Japan Consortium of Ataxias (J-CAT): a nation-wide web-based registry for ataxias. Ataxia Global Conference 2022. Dallas, Texas, USA. 2022. 11. 4-5.
3. 高橋祐二, 水澤英洋: 脊髄小脳変性症の分子遺伝学. 特別講演. 日本小脳学会第13回学術集会・総会. 東京, 2023. 3. 25
4. 高橋祐二. Prodromal LBD J-PPMI から見えてくるもの. 第16回パーキンソン病・運動障害疾患コンGRES (2022. 07 2022): 72.
5. 加藤太郎, 板東杏太, 近藤夕騎, 吉田純一朗, 勝田若奈, 水野勝広, 高橋祐二, 中元ふみ子, 武田克彦, 水澤英洋
Cerebellar cognitive affective syndrome scale 日本語版 (CCAS-J) の信頼性検証 第20回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15
6. 板東杏太, 加藤太郎, 有明陽佑, 勝田若奈,

近藤夕騎, 小笠原悠, 原貴敏, 高橋祐二 クラスタ分析を用いた脊髄小脳変性症患者の集中リハビリテーション効果特性の分類: 後方視的研究 第20回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15

分担研究報告

研究課題名 神経変性疾患のバイオマーカー探索
分担研究者：中元 ふみ子
所属：脳神経内科診療部

緒言

神経変性疾患の病態はいまだ不明なものが多く、治療法も未確立である。将来治療法が見いだされた際には病初期からの介入が望ましく、バイオマーカー探索をはじめとした早期診断法の確立が重要である。

神経変性疾患のバイオマーカー探索は国内外を問わず行われており、いくつかの疾患でバイオマーカー候補分子が報告されている。例えば、アルツハイマー病における脳脊髄液中のアミロイドβやタウ蛋白は診断に有用なバイオマーカーとして実臨床で広く用いられている。一方で、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、脊髄小脳変性症などといった、そのほかの神経変性疾患については、血液や脳脊髄液などの生体検体における疾患特異的バイオマーカーは未確立である。

本研究では、上記のようないまだバイオマーカーが未確立の神経変性疾患の疾患特異的バイオマーカーを発見することを目的とする。そのために、患者の血液や脳脊髄液に含まれる物質の網羅的な定量解析を行う。またバイオマーカー候補分子と各患者の臨床情報を照合し、症状や他の検査結果との関連の比較をすることで、得られたバイオマーカー候補分子と病態との関連を検討する。

方法

神経変性疾患患者の血漿・脳脊髄液検体におけるプロテオーム・メタボローム解析を行い、得られたデータと臨床データとを照合した。

結果

神経変性疾患患者の脳脊髄液を用いたプロテオーム・メタボローム解析を行い、多系統萎縮症における有用な疾患特異的バイオマーカー候補分子を得られた。臨床情報との比較の結果、この分子は、多系統萎縮症の病初期に特に高値となることが示唆された。

血漿プロテオーム・メタボローム解析も完了しており、今後結果を確認予定である。

考察

今回見出された多系統萎縮症特異的バイオマーカー候補分子は、健常者や他の神経変性疾患患者の値との差が大きく、実臨床で有用なマーカーとなりうる可能性が示唆された。また、特に罹病期間が短い患者において高値であり、罹病期間が長くなるにつれて低下する傾向が示唆されたことから、病初期の診断に有用となる可能性や、多系統萎縮症の発症機序にも関係する可能性が示唆された。

今後、さらに神経変性疾患患者の血漿・脳脊髄液検体におけるプロテオーム・メタボローム解析を継続し、臨床データとの照合を進める予定である。

結論

神経変性疾患のバイオマーカー探索は、早期診断や病態解明、治療法の開発の足掛かりとなり得る。

参考文献

Horie, K. et al. CSF tau microtubule-binding region identifies pathological changes in primary tauopathies. *Nat. Med.* 28, 2547-2554 (2022).

研究課題名 ①パーキンソン病/関連疾患に伴う姿勢異常の治療法開発/②レボドパ持続経腸療法導入手順の検証/③ジストニア患者を対象とした認知行動療法

分担研究者：向井 洋平
所属：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ン緩和と、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 のエビデンスレベルを高めるため、2021 年度から MADI のリハビリテーション部分（以降、MADI リハ）と一般的なりハビリテーション（ストレッチ、背筋トレーニング、エルゴメーターなど）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）を開始しており 2022 年度も継続した。

②レボドパ/カルビドパ持続経腸療法（LCIG 療法）は進行期パーキンソン病治療法の一つである。LCIG 療法は胃瘻を作成する必要があるが、胃瘻作成前に経鼻空腸管（NJ チューブ）を留置し、試験投薬を行うことができる（以後、試験投与）。本邦では保険診療の制約から試験投与は 2 週間以内に終了されるが、試験投与期間が 2 週間で十分なのかは検討されていない。試験投与の効果判定に必要な評価期間を検討した。

③当施設からのジストニア患者を対象とした認知行動療法（CBT）の論文¹⁾ではジストニアの型に偏りがある、対象群をおいていない、症例数が少ないといった課題が残っていたため、研究再開に向け準備を進めた。

方法

①パーキンソン病/関連疾患に姿勢異常を伴っている者のうち、立位保持と歩行が可能、迂り症や圧迫骨折などの骨格異常がない、認知機能低下がない患者を対象とした。HOPE eACResSS を用いて、以下の 2 群に無作為に割り振った。MADI リハ群：ハンディマッサージャーにて全身の筋トーンを下げた後、セラピストの言葉によるフィードバックで姿勢認識を修正し、立位や歩行で姿勢が悪化したら言葉による指摘や徒手的に姿勢を修正する。一般的なりハビリテーション群：ストレッチ、背筋トレーニング、エルゴメーターなど。ハンディマッサージャーは用いてはならない。いずれの群もリハビリテーションは 1 回あたり 40 分、合計 15 回実施した。リハビリテーション前と退院時の腰曲がり角度の変化量を primary endpoint とした。介入前、リハビリ実施後、1, 3, 6 か月後に評価を行った。

②LCIG の試用期間を予め定めず、患者が希望する限り継続可能として試験投与を実施した症例を対象とした。LCIG の最適化までに要した日数、薬剤変更の回数とタイミング、LCIG 投与量の推移、脱落例の中止理由、導入症例の予後について診療録から後方視的に情報収集した。

③過去に実施されたジストニアに対する CBT の情報を収集し、研究計画書の作成に着手した。

結果

①MADI-RCTについて：2022年4月1日から2023年3月末までにMADI-RCTは15人の患者から参加同意を取得した。うち2例は入院前にパーキンソン病の運動症状が悪化し本試験に参加ができなくなった。別の1例は原因不明の入院キャンセルにより参加しなかった。2021年度中に同意を得ていた3例を加え2022年度は15例に実施した。

②男性19例，女性13例が該当した。平均年齢62.7±7.9歳，パーキンソン病平均罹病期間12.7±4.8年，ウェアリングオフの出現から平均6.1±3.4年であった。試験投与開始から効果判定終了までの平均期間は13.3±14.9日であり，平均の薬剤変更回数は8.4±7.4回であった。試験投与期間1-14日間で19例がLCIGの効果あり（胃瘻適応あり）と判断され，15-19日の間にさらに2例が効果ありと判断された。薬剤最適化に41日，51日を要した2例は，患者・家族の強い希望で胃瘻を作成したが，胃瘻作成後3年以内にトラブルサムジスキネジアや精神症状でLCIG治療継続が困難と判断されていた。試験投与中に不安や焦燥感などで脱落したのは4例であり，全例がLCIG開始から8日以内に脱落していた。LCIG効果なしと判断された5例はいずれも中止の判断が下されるまで20日以上を要した。

③研究デザイン，対象とするジストニアの型など研究計画について検討した。

考察

①MADIリハ群，一般的なリハビリテーション群とも70例を組み入れ予定であり，症例数を増やす必要がある。

②試験投与の期間が約2週間あれば，LCIGの効果判定は可能である。20日未満で最適化できなかった症例は薬剤調整に難渋し脱落する例が多く，導入例も後日トラブルサムジスキネジアや精神症状によりLCIGでの治療継続が困難になった。

③研究計画作成を進めた。

結論

①MADI-RCTの被験者組み入れを継続中である。

②LCIGの試験投与期間は14日程度が望ましいと考えられる。

③ジストニアに対しCBT介入群/非介入群を比較する試験の計画を作成中である。

参考文献

1) Kei Kobayashi, Takashi Sakamoto, Kazushi Maruo, Issei Shinmei, Yohei Mukai, Yuji Takahashi, Masaru Horikoshi: A Pilot Study on Efficacy and Tolerability of Cognitive Behavioral Therapy (CBT-FD) for Japanese Patients with Focal Dystonia. *Neurology and Clinical Neuroscience*, <https://doi.org/10.1111/ncn3.12344>, 2019

研究課題名 パーキンソン病・症候群の臨床データベース構築と活用

分担研究者：雑賀 玲子

所属：脳神経内科診療部

緒言

パーキンソン病 (Parkinson's disease : PD) は振戦・筋強剛・寡動の運動症状と、うつ・不安・痛みなどの非運動症状を特徴とする神経変性疾患である。PD の運動症状についてはよく解析されているが、非運動症状についてはまだ不明な点が多い。

PD のうつ症状の治療においては抗うつ薬によりパーキンソン症状が悪化するリスクがあり、また抗うつ薬と併用禁忌の抗 PD 薬があることから治療選択肢が限定される。またうつ・不安・痛みなどの非運動症状が強いと運動症状に対する治療効果も得られにくい。従って PD における非運動症状、特にうつ・不安・痛みに対して安全で効果の高い治療法の開発が切望されてきた。

この研究は PD 患者の臨床徴候、検査データを蓄積し、特に非運動症状の有病率、増悪因子、治療方法を解析することを目的とした。

方法

当院脳神経内科では一般保険診療の一環として PD およびパーキンソン症候群の患者を対象とした評価・リハビリテーションプログラムを実施している（以下、ブラッシュアップ入院）。ブラッシュアップ入院のデータから PD およびパーキンソン症候群患者の臨床情報データベースを網羅的および継続的に構築してきた（倫理委員会承認番号 A2010-014 パーキンソン病およびパーキンソン症候群のコホート研究のためのデータベース構築）。

このデータベースを用いて PD 患者の運動症状および非運動症状を評価した。具体的には運動症状は MDS-UPDRS、非運動症状のうちうつ症状は HAM-D、不安症状は STAI で評価した。また画像検査も行った。

上記を統計学的に解析し、運動症状、非運動症状の関連を検討した。

結果

ブラッシュアップ入院をした PD 患者 135 例において、うつの有病率は 21.5%である一方、不安の有病率は 64.4%~67.4%と高かった。うつを有する PD 患者はほとんど全例が不安を合併しており、うつを伴わない不安も高頻度に見られた。PD 患者の不安には年齢、罹病期間、運動合併症との関連は見られなかったが、不安を持つ PD 患者はすくみ足がある頻度が高かった。

黒質線条体シンチグラフィの解析では、ドパミントランスポーターの被殻/尾状核への集積比が不安を有する PD 患者において不安のない患者に比べて有意に高かった。

考察

本研究からパーキンソン病患者に合併するうつ症状の背景に不安の存在があることが示唆された。不安症状の改善がうつやすくみ足の改善に有効である可能性がある。

また尾状核と被殻の線条体ドパミンシステムの不均衡が PD の不安症状と関連していることが示された。

結論

PD 患者は高頻度に不安症状を有しており、不安症状の解析・治療が患者の QOL 改善に有効である可能性がある。

参考文献

Barone P et al. Mov Disord 2009

研究課題名 ALS の臨床データベース構築と活用

分担研究者：常山 篤子
所属：脳神経内科診療部

緒言

筋萎縮性側索硬化症(ALS: amyotrophic lateral sclerosis)は、上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの進行性に変性脱落する神経変性疾患であり、根治治療法がない。臨床像は多岐にわたり、上位運動ニューロン徴候が目立つ例、下位運動ニューロン徴候が目立つ例、あるいはどちらかを欠く例など様々であり、経過や進行速度も様々である。当院における ALS 患者をデータベース化し、臨床像の多様性、進行速度、バイオマーカー探索を行った。

方法

当院に入院歴のある ALS の患者の自然歴、病像の多様性、それらに影響する因子を、電子カルテや各種検査データから広く情報収集し、統合的疾患レジストリ iTReND (Integrated Registry for Neurodegenerative Disorders) に登録し、データベース化した。

臨床像、発症部位、ALSFRS-R (The revised ALS Functional Rating Scale) score、電気生理学的検査 (筋電図検査)、頭部 MRI、脳血流 SPECT、呼吸機能検査などを前向きに登録した。また、過去の 23 名の ALS 患者のバイオバンクを活用し、Gapfree 研究の一環として、髄液中の Neurofilament light (NfL)、Neurofilament heavy (NfH) を利用した。すなわち、疾患の進行度 (disease progression rate : DPR) を (48-データ収集時の ALSFRS-R score) / 罹病期間と定義し、NfL、NfH との相関を検討した。

結果

髄液中の NfL は DPR と正の相関を示した ($r = 0.64$)。また、ALSFRS-R score と軽度の相関を示した ($r = -0.48$)。これは、髄液中の NfL の値が、ALS における臨床的な重症度、病勢を反映することが示唆された。

考察

髄液中の NfL はすでに様々な変性疾患、末梢神経疾患などで上昇を認めることが明らかになっており、疾患の特異度は低いと言わざるを得ない。しかしながら、この NfL を一端として、生体資料を前向きに評価することで、疾患特異的なバイオマーカーの候補となる蛋白を探索することが現実的に可能となる可能性が示唆された。

結論

より詳細な自然歴の取得や生命予後に直結する影響因子をプレクリニカルから解析することが重要である。また、研究所と病院が相互に協力することで、臨床的なデータやバイオリソースの収集と、in vivo での病態解明を相補的に進めることで ALS の発症、経過や予後に関連する遺伝子、分子、バイオマーカーの探索が進み、すみやかな治療開発につながるため、肝要である。

参考文献

Serum Neurofilament Light Chain Levels May Be a Marker of Lower Motor Neuron Damage in Amyotrophic Lateral Sclerosis.
Zhang L.
Front Neurol. 2022 Feb 23;13:833507.

研究課題名 運動失調症の臨床データベース構築と活用

分担研究者：小田真司
所属：脳神経内科診療部

緒言

脊髄小脳変性症 (spinocerebellar degeneration : SCD)は運動失調を中核とする神経変性疾患の総称であり、孤発性 SCD が全体の 2/3、遺伝性 SCD が 1/3 を占めるとされる。遺伝性 SCD における autosomal dominant SCD (AD-SCD)の中でも本邦では SCA3、SCA6、SCA31、DRPLA の頻度が高いが、それらの疾患における国内の前向き自然歴研究が少ないことが課題であった。しかし 2016 年に運動失調症の患者登録レジストリである J-CAT (Japan Consortium of Ataxias)が発足して以降は順調に AD-SCD の診断確定例が蓄積されており、SCD 患者の自然歴追跡を行う基盤が整いつつある。SCD 自然歴研究における臨床指標のゴールドスタンダードは SARA スコアだが、より多角的に疾患の進行を評価するため、海外では REDISCA¹⁾、EFACTS²⁾といった前向き自然歴研究において FARS-ADL³⁾ (Friedreich's Ataxia Rating Scale - Activities of Daily Living)という患者自記式の臨床評価スケールが活用されている。今回我々は FARS-ADL の日本語訳と妥当性の検証を行い、更に FARS-ADL の構造化インタビュー体制を構築し、J-CAT から抽出した SCD 患者を対象に前向き自然歴研究を実施した。

方法

1) FARS-ADL 日本語版の作成

FARS-ADL 原文の順翻訳作業と逆翻訳作業を、著作権元の許可を得た上で、SCD 診療に精通する複数の医師で行い、完成した日本語版を基に FARS-ADL 構造化インタビューも作成した。

2) FARS-ADL 日本語版の妥当性検証

医師による対面評価 (SCD 患者 30 例対象)ならびに CRC2 名による電話インタビュー評価 (SCD 患者

30 例対象) でそれぞれ妥当性の検証を行った。

3) 構造化電話インタビューによる前向き自然歴研究 FARS-ADL 日本語版の妥当性が担保された後に施行した構造化電話インタビューでは、J-CAT から抽出した SCD 患者 (2019 年 4 月以降に遺伝子診断が確定した、登録時 SARA15 点以下の患者) 289 人に協力を依頼し、最終的に同意を得られた 136 人を対象にインタビューを施行した。

結果

1) FARS-ADL 日本語版の作成

最終的に FARS の代表者である Ms. Jennifer Farmer に承認を頂き、日本語訳最終版が完成した。

2) FARS-ADL 日本語版の妥当性検証

医師による対面評価では、当院に入院した SCD 患者 30 例を対象に SARA スコアと FARS-ADL 日本語版スケールを評価しその相関をみた。両者の pearson の相関係数は $r=0.81$ であり強い正の相関を認め、以上を 2022 年に行われた第 63 回日本神経学会学術大会において報告した。

また CRC2 名による電話インタビュー評価では、当院の SCD 患者 30 例を対象とし、CRC2 名が短期間 (2-4 週間) に 2 回、FARS-ADL の構造化電話インタビューを行った。その結果、検者間一致度は $ICC=0.982$ と高い一致度を示し、SARA と FARS-ADL の相関係数 $r=0.77$ と良好な相関を示した。Cronbach の α 係数は 0.892 であり、内的整合性も高かった。以上、双方の検証において FARS-ADL の妥当性が担保された。

3) 構造化電話インタビューによる前向き自然歴研究

FARS-ADL 日本語版の妥当性が担保されたことを受け、J-CAT から抽出した SCD 患者 136 例を対象に FARS-ADL の構造化電話インタビューを行った。発症から電話インタビューまでの罹病期間は平均 8.5 ± 6.2 年、FARS-ADL スコアは平均 10.6 ± 5.0 点だった。

考察

我々はSCDの新たな評価スケールであるFARS-ADLの日本語版を作成し、その妥当性の担保を行った。FARS-ADLはインタビュー形式でのスコアリングが短時間で可能であり、患者ADLやQOLを直接反映する指標である。SARAスコアと組み合わせることで、SCD患者の自然歴がより多角的に評価できることが期待される。我々は今後も半年に一度のFARS-ADL聴取による前向き自然歴研究を行うとともに、FARS-ADL電話インタビューのアプリ版であるJ-CAT eProを構築し、より大規模なデータ蓄積を行い、活用する予定である。

また運動失調症患者の自記式評価指標であるPROM-Ataxia (Patient-Reported Outcome Measure of Ataxia) の翻訳作業も進行しており、今後日本語版最終版を完成する予定である。PROM-Ataxiaは身体面、日常生活動作、精神面の3つの領域から成る計70項目(280点満点)の質問票であり、SCD患者における自然歴の推移をより機微に捉えうる指標となることが期待される。

また我々が今回構築した統合的疾患レジストリ (inTegrated Registry for Neurodegenerative Disorders ; iTReND) のデータベースにおいても順調にSCD患者のデータが蓄積されており、今後SCD患者のdemographic dataの解析ならびに、FARS-ADLやPROM-Ataxiaを含めた自然歴追跡を行いたい。

結論

- ・SCDの新たな評価スケールであるFARS-ADLの日本語版を作成した。
- ・医師による対面評価によるFARS-ADL、ならびに構造化電話インタビューにおけるFARS-ADLの双方において、妥当性・信頼性を示すことができた。
- ・構造化電話インタビューの実施体制を確立し、J-CATデータベースから抽出した病型確定かつ軽症SCD例を対象に半年に一度の前向き自然歴研究を開始した。

参考文献

- 1) Lin C-C, Ashizawa T, Kuo S-H. Collaborative Efforts for Spinocerebellar Ataxia Research in the United States: CRC-SCA and READISCA. *Frontiers in neurology* 2020;11:902-902.
- 2) Reetz K, Dogan I, Hilgers RD, et al. Progression characteristics of the European Friedreich's Ataxia Consortium for Translational Studies (EFACTS): a 4-year cohort study. *Lancet neurology* 2021;20:362-372.
- 3) Subramony SH, May W, Lynch D, et al. Measuring Friedreich ataxia: Interrater reliability of a neurologic rating scale. *Neurology* 2005;64:1261.

研究課題名 脊髄小脳変性症患者における音楽療法の取り組みと効果判定方法の確立

分担研究者：原貴敏、板東杏太、大場興一郎
所属：身体リハビリテーション部

緒言

脊髄小脳変性症（以下：SCD）における歩行障害の特徴として、歩行リズムのばらつき増大が挙げられる。この症状を改善する方法として音楽療法がある。しかし、音楽療法の効果を量的・質的な側面から検討した研究はない。今回予備的に①フットセンサーを用いた歩行リズム解析プログラムの作成②テーラーメイド型の音楽療法用ミュージックデータの作成③混合研究に向けた質的インタビューデータの大規模言語モデル（以下：LLM）を用いた文字起こし解析を実施したので報告する。

方法

対象者は本センターにリハビリテーション目的で入院したSCD症例である。①に関してMATLABを用いたプログラムを自作した。左右の踵に設置したフットセンサーデータからステップ時間の抽出、ステップ時間のばらつき、ポアンカレプロットを用いた二次元楕円面積を自動算出できるようにした。②に関して、各症例のステップ時間と同速度のミュージックデータを作成した。今回は馴染みのある行進曲を課題曲とし、Ableton Liveを使用して速度の編集を行った。

③に関しては、臨床心理士と協力し、リハビリテーション介入後の半構造化インタビューを実施し、OpenAIの音声認識モデル「Whisper」で文字起こしを実施した。

結果

①に関して、本研究班で初期に開発したシステムは有線であり自由度が低い問題があった。しかし、今回のシステムは無線であり自然な歩行を計測できるようになった。②に関して、各症例のステップ時間と同速度のデータはすべて正確に作成し利用できた。また、今回はテンプレートを用意したことで、

作成にかかる時間を5分程度まで短縮し簡便に実施することができた。

③に関して、質的データの解析手法としてテキストマイニングがあるが、これまで音声の文字起こしは精度が低く、臨床で質的データを評価項目として扱うことは大きな苦労があった。しかし、LLMの発達により相当な精度の文字起こしを素早く実施できるようになった。

考察

①に関して、今までの有線システムでは自由度の問題もありほぼ直線での歩行計測に限定されていた。今回、室内でのカーブがある環境で計測を実施したところ、バランス障害が重度の患者でステップ時間度数分布の分離（直線時とカーブ時）が起こってしまうケースを経験した。歩行不安定性の評価として、このような相分離現象は興味深いだが、リズム解析としては交絡因子となり得る。今後、計測環境の考察が必要である。②に関して、今回は馴染みのある行進曲を課題曲として使用した。実際に多くの症例が聞き慣れていたが、年齢や嗜好によっては歩き難さを感じる可能性がある。聞き慣れていた場合であっても、速度を大幅に変更することで本来の曲調が変化することも起こり得る。ばらつきの収束や主観的な歩き易さに適した楽曲の選定も重要と考えられる。③に関して、今後、音楽療法が与える影響を量的なデータに加えて質的なデータとの混合で考察していく必要がある。

結論

本年の研究成果として、SCDにおける音楽療法の①個別最適歩行リズムの計測②最適歩行リズムに合わせた音楽の提供③全身運動を用いたテーラーメイド型の音楽療法実践プログラム開発④効果判定に使用する混合データ解析手法の準備が整った。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）

学会発表

1. 板東 杏太 教育講演VII「運動麻痺I」運動障害に関連する脳領域の画像形態
第20回日本神経理学療法学会学術大会 大阪

2022. 10. 15

2. 板東 杏太 “公募シンポジウム：脊髄小脳変性症の理学療法を一步進めるために我々が為すべき事は何か「希少疾患における介入研究デザイン（サンプルサイズの壁をいかにして越えるか）」” 第 20 回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15
3. 近藤 夕騎 “公募シンポジウム：脊髄小脳変性症の理学療法を一步進めるために我々が為すべき事は何か「脊髄小脳変性症の運動障害評価における問題点と我々が取り組むべき課題」” 第 20 回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15
4. 坂巻 拓実, 中山 慧悟, 原 貴敏 脊髄小脳変性症に対する集中言語リハビリテーション中の声の衛生管理・指導によって嗄声の改善を認めた症例の報告 第 76 回国立病院総合医学会熊本 2022. 10. 8
5. 加藤太郎, 板東杏太, 近藤夕騎, 吉田純一郎, 勝田若奈, 水野勝広, 高橋祐二, 中元ふみ子, 武田克彦, 水澤英洋 Cerebellar cognitive affective syndrome scale 日本語版 (CCAS-J) の信頼性検証 第 20 回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15

6. 板東杏太, 加藤太郎, 有明陽佑, 勝田若奈, 近藤夕騎, 小笠原悠, 原貴敏, 高橋祐二 クラスター分析を用いた脊髄小脳変性症患者の集中リハビリテーション効果特性の分類: 後方視的研究 第 20 回日本神経理学療法学会学術大会 大阪 2022. 10. 15

論文発表

1. Kondo Y, Mizuno K, Bando K, Suzuki I, Nakamura T, Hashide S, Kadone H, Suzuki K. Measurement Accuracy of Freezing of Gait Scoring Based on Videos. *Front Hum Neurosci.* 2022 May 19; 16: 828355.
2. Matsugi A, Nishishita S, Yoshida N, Tanaka H, Douchi S, Bando K, Tsujimoto K, Honda T, Kikuchi Y, Shimizu Y, Odagaki M, Nakano H, Okada Y, Mori N, Hosomi K, Saitoh Y. Impact of Repetitive Transcranial Magnetic Stimulation to the Cerebellum on Performance of a Ballistic Targeting Movement. *Cerebellum.* 2022 Jul 4.

研究課題名 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, 石原 資, 佐野 輝典, 水谷真志, 佐藤亮太, 大平雅之, 初田裕幸, 美原盤

緒言

- ① 進行性核上性麻痺 (PSP) や大脳皮質基底核変性症 (CBD) はタウオパチーに分類される。タウオパチーは臨床診断と病理診断の一致が難しい。両者を鑑別する臨床的・病理学的特徴を明らかにすることは、タウオパチーの早期診断につながる。
- ② 臨床的に iNPH と診断された患者で、治療効果が持続せず別の変性疾患と最終診断される例がある。パーキンソン症候群では、進行性核上性麻痺 (PSP) や大脳皮質基底核変性症 (CBD) のタウオパチーに iNPH 合併例が多いという報告がある。

方法

- ① 当院でタウオパチーと病理学的に確定した症例を用いて、臨床・病理診断の対応関係と臨床的・病理学的特徴を検討した。
- ② 2014年1月～2020年8月の期間に、パーキンソン症候群で当院へ入院した1426例(パーキンソン病/レビー小体型認知症 (PD/DLB) 878例, PSP 192例, 大脳皮質基底核変性症候群 (CBS) 72例, 多系統萎縮症 (MSA) 284例)のうち, Evans index > 0.3, くも膜下腔の不均衡な拡大を伴う水頭症 (DESH) を満たす iNPH 合併 26例について臨床情報を後方視的に検討した。

結果

- ① 本年度は、病理確定されたタウオパチーのうち、臨床・病理の診断が不一致になる例について検討した。臨床 PSP・病理 CBD 3例, 臨床 CBS・病理 CBD 3例が該当した。これらの症例は、PSP の特徴とされる易転倒性・眼球運動制限の出現が遅い傾向があるものの、失行・失語・症状の左右差や脳 MRI・脳血流 SPECT 所見については PSP・CBS 両者の

特徴が混在していた。タウ病理については、左右差のある病理 PSP 例, 左右差のない病理 CBD 例や、上小脳脚・視床下核の萎縮を認める病理 CBD 例が含まれていた。

- ② iNPHを合併するパーキンソン症候群は、PD/DLB 10例, PSP 13例, CBS 3例, MSA 0例であった。PSP合併の9例がMDS基準でprobable PSPを満たし、CBS合併全例がArmstrong基準のprobable CBSを満たした。剖検例は2例存在し、臨床診断：PSP-P+iNPH, 病理診断：iNPHと、臨床診断：PSP-RS+iNPH, 病理診断：CBD+iNPHであり、後者はシャント術で一時的な歩行改善があった。

考察

- ① PSP・CBDの臨床・病理診断の不一致例では、臨床症状・画像所見のいずれも両者の特徴的な所見が混在しており、両者の鑑別を困難にさせていた。
- ② iNPHとタウオパチーとの合併例が一定数存在し、シャント術が一時的に有効な例があった。併存疾患が進行性である点に留置した上で、シャント実施を考慮する必要がある。

結論

- ① 臨床・病理診断の一致に難渋する例を中心に、臨床・病理双方向から引き続き検討する。臨床側からは、神経症状・画像所見の経時的な変化を検討する。病理側からは、特に発症早期例の剖検例を用いて、タウ病理所見の分布・程度を評価する。
- ② iNPHとタウオパチー合併例の存在を確認した。今後の検討課題として、非合併例との比較で、臨床的な症状・所見に差がないかを検討する。また、iNPH・タウオパチー合併の剖検例を用いて、脳室周囲の病理学的検索を今後検討する。

研究課題名 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。共同研究者高橋は以前家族性 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 (cK0 マウス) を作製・解析することにより、cK0 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-Erb4tm1Fej/Mmud 系統および B6;129-Chat1(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-Erb4tm1Fej/Mmud と B6-Chat1(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 ErbB4cK0 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 ErbB4cK0 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、ErbB4cK0 マウスにおいて Clasp 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た。結果、投与後 1, 2, 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。また、タモキシフェン投与後 1 ヶ月において、K0 マウス運動ニューロン内 TDP-43 染色性の低下が観察された。

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。ErbB4cK0 マウスは新規の孤発性 ALS モデル動物となり得る。

研究課題名 自己免疫性小脳失調症の自己抗体探索・機能解析

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

小脳失調症の原因は遺伝的原因以外に自己免疫である比率も高い。また自己免疫性小脳失調症で検出される自己抗体の種類は辺縁系脳炎等で見られる自己抗体と異なり独特であるが、これらの独特な抗体は平行線維-プルキンエ細胞間シナプス伝達の長期抑圧 LTD というシナプス可塑性が阻害される可能性が高く、マウス小脳に患者抗体を適用し実験的に確かめる必要がある。また新たな自己抗体が機能的解析から見いだされる可能性もある。動物小脳を用いた生理学的実験と個別患者の症状との対応関係を検討し、診断、治療への基礎医学的根拠を得ることを目的とする。

方法

患者血清 4 名分と対照血清 4 名分は NCNP バイオバンクより提供を受けた。生理学的実験にはマウス小脳スライスを用いた。人工脳性髄液で灌流しながら顕微鏡下でパッチクランプ法による電気生理学的測定を行った。プルキンエ細胞から全細胞記録法により平行線維シナプス電流を記録した。ベースラインの安定後、細胞体脱分極刺激と平行線維刺激をおこないシナプス長期抑圧 LTD を誘導した。患者血清は 40 倍に希釈して投与し、シナプス伝達、LTD に及ぼす効果を検討した。

結果

条件検討実験：使用する血清量を最小限にする目的で、通常は 3 分間の LTD 誘導刺激を 1 分間に短縮した。その結果、予想外にシナプス電流の長期増強 LTP が生じた。この LTP は一酸化窒素を介した受容体増加によるものだった。さらに一酸化窒素を阻害すると、PKC 依存性の LTD が誘導され。論文を投稿し、現在、改訂作業中である。

患者血清の効果：一部の患者抗体の投与により、

LTD 阻害が観察されているが、統計的な有意に至らず、小脳組織への浸透時間を長くするなど条件検討を続けている。

考察

LTD 誘導刺激回数の減弱により LTD から LTP に変化するという報告は初めてである。LTD から LTP への変化には刺激中の細胞内 Ca イオン濃度が関与している可能性があり、高濃度の Ca イオンは CaMKII を経て PKC を持続的に活性化し LTD を生じるが、低濃度では DAG リパーゼのみが活性化され LTP が誘導されると考えられる。LTD/LTP の刺激回数依存性はリハビリにおける運動学習プログラムに示唆を与え得ると思われる。

自己免疫性小脳失調患者の血清が何例かにおいて LTD 誘導を阻害することが観察されたことから、運動失調に LTD 阻害が関わっていることが示唆された。今後、実験条件を検討し実験を重ね例数を増やしていく。

結論

LTD /LTP の選択的誘導には刺激回数が関与していることが結論された。

自己免疫性小脳失調症では抗体による LTD 阻害が原因である可能性が示唆された。

参考文献

Mitoma H, Yamaguchi K, Hommorat, Manto. The Clinical Concept of LTDpathy: Is Dysregulated LTD Responsible for Prodromal Cerebellar Symptoms? *Brain Sci* (2022) 12:303.

研究課題名 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：病院医療情報室

緒言

統合的疾患レジストリ iTreND (Integrated Registry for Neurodegenerative Disorders) は、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する疾患レジストリであり、診断基準を満たす以前からの臨床診断の変遷 (疾患 Trajectory) 情報を前向きに収集し、データ活用により、前向き自然歴・早期鑑別指標・診断基準の確立につながり、診断精度向上・ガイドライン改訂・治療研究への活用が期待されている。センター病院脳神経内科においてプログラム入院による系統的かつ計画的な臨床情報収集・試料採取を行い、収集されたデータを集約したレジストリが構築される予定である。本分担研究では、センター病院の電子カルテシステムに iTreND データ収集環境を構築し、効率的かつ精緻な臨床データ収集の実現および、課題抽出と将来に向けた改善の検討を行う。

方法

当センターの電子カルテシステムにおいて、レジストリデータ収集環境を以下の手順で構築する。①脳神経内科医師の協力の下、対象の神経変性疾患の共通および疾患特異的な観察項目を設定する。②電子カルテシステム内でデータを効率よく収集するためのシステム・ツールを選定し、データ入力・抽出の環境を構築する。③それと同時に、データの出力の環境を整備する。④症例データ登録を開始し前向き臨床情報収集を実施する。⑤データ収集の実施を通じて、課題抽出および改善に向けた対応の検討を行う。

結果

R3 年度において、脳神経内科医師の協力を得て、対象の神経変性疾患の共通および疾患特異的な観察項目の洗い出しを行った。電子カルテシステム内のデータ収集ツールとして、文書管理システムのテンプレート (定型入力) 機能を利用することとし、システム内に入力用のテンプレート画面 (基本情報画面お

よび、疾患別画面 10 数件) を設定し、データ入力を開始した。R4 年度まで約 300 件の症例データが登録されている。データ出力は、文書管理システムが標準で備える CSV 出力機能により対応した。

考察

日常の診療業務に多忙な医師が、レジストリ登録用のデータ入力に対応することは容易ではない、診療に使用する電子カルテシステム内にレジストリ登録用のテンプレートを設置し、日常診療の一環としてデータ入力を実施できるようにすることにより、レジストリ登録の促進および入力データの診療記録としての活用が可能になったと考える。蓄積されたデータの出力はシステムの標準機能を使用しているが、手作業が必要で効率に欠けるため、出力の自動化を検討している。

ナショナルセンター病院では、2019 年度より、電子カルテテンプレートから臨床情報を収集する環境の国内標準化を目指して、JASPEHR プロジェクトが進められている (文献 1)。本プロジェクトでは、医療情報交換の最新の国際規格である HL7-FHIR に準拠した形式でテンプレートを定義し、異なるシステムでも同じ仕組みでデータ収集が可能になることが期待される。NCNP においても、その成果を取り入れ、標準規格による汎用的なデータ入出力環境の整備を行い、臨床データ収集の効率化・精緻化を目指している。

結論

臨床情報を効率よく抽出し活用するため、電子カルテシステム内に iTreND レジストリデータ収集用のテンプレートを整備し、併せて入力データを二次利用可能な環境を構築した。解決すべき課題と、将来の標準化に向けたナショナルセンターの取り組みについて考察した。

参考文献

1. 石井雅通、波多野賢二. FHIR を用いた診療テンプレート情報標準化への取り組み. 新医療. 2022 年 6 月

英文概要

This year is the second year of the three-year research period. As a general study, we constructed a research base, collected resources, and started searching for biomarkers. We proceeded with the construction of an integrated disease registry iTReND, and completed the implementation of templates into electronic medical records and the construction of an in-house database. We registered 345 patients in iTReND and 151 specimens in the Biobank. Omics analysis was continued in cooperation with GAPFREE and identified candidate molecules for early differential diagnosis of multiple system atrophy.

As for individual research, the MADI-RCT for the treatment of postural abnormalities in Parkinson's disease and related diseases has made steady progress in recruiting. We analyzed the association between NfL and clinical information in ALS. Elucidation of the actual conditions of anxiety and depressive symptoms in Parkinson's disease and analysis of image correlation have progressed. A prospective natural history study system for ataxia using structured telephone interviews using the FARS-ADL was established, and a semi-annual survey of 136 people was started in the first year. We also implemented a multifaceted analysis method for walking rhythm and established an evaluation

implementation system for individualized music therapy. Analysis of clinical and pathological diagnoses of tauopathy clarified the accuracy of the diagnosis, and clarified the characteristics of difficult-to-diagnose cases and the clinical characteristics of cases with normal pressure hydrocephalus. Spinal motor neuron loss was pathologically confirmed in ErbB4 cKO mice, demonstrating in vivo that ErbB4 is an essential molecule for motor neuron survival. A measurement system for neurophysiological analysis using serum from patients with autoimmune cerebellar ataxia was established, and new characteristics of LTD/LTP depending were discovered.

In the next fiscal year, we will complete the overall architecture of iTReND, that is, the integrated database of the clinical DB, the genome DB, and the biobank DB, and analyze the clinical information and the genome/omics information in an integrated manner. We will operate iTReND to promote further accumulation of clinical information, and promote disease-specific and cross-disciplinary analysis using registered information. We will continue to promote individual research, building evidence that contributes to clinical practice, searching for biomarkers, elucidating pathologies, and searching for treatment seeds.

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。

研究班の共同成果として、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の神経発達障害の病態研究として、DMD モデルマウスにおける社会性行動異常の背景に、扁桃核・基底外側核のグルタミン酸トランスポーター発現低下に基づくと考えられる活動性変化があることを示す論文を出したこと、研究代表者グループが大木らと神経変性疾患における免疫的機序に関する共同研究を開始したことを挙げる。

また、精神疾患・発達障害に関しては、研究代表者グループは、Na-H Exchanger(NHE)5 の発現低下が自閉症類縁疾患 (ASD) 様社会性行動障害に繋がる背景として出生前の母体の高血圧があることを示すため、遺伝的高血圧モデルマウスの行動フェノタイプとNHE5発現レベル

の検討を行った。また、神経細胞に広範に発現するユビキチンリガーゼ ZNRF1 の欠損マウスが示す精神疾患様フェノタイプの発現機序の検討を行い、ZNRF1 が AKT-GSK3B リン酸化経路の活性調節を介して細胞膜上の Na イオンチャンネルサブタイプ、さらに NMDAR のサブユニットである GluN1 の発現調節を行うことで神経活動の調節に寄与している可能性を示した。青木らは、ジストロフィン遺伝子の全長を欠損するモデル犬では不安様行動の増加、副交感神経系の活動異常を認めることを明らかにした。野口らは、引き続き ASD モデルマーモセット脳の 2 光子顕微鏡観察による病態機序研究を行っており、ASD モデルマーモセット背内側前頭前野 L2/3 錐体細胞において、樹状突起スパインのターンオーバー亢進、新生スパインのクラスター化亢進を見出した。

神経変性に関しては、大木らが多発性硬化症モデルである EAE マウスなどにおける神経変性に伴う慢性炎症環境下の神経細胞では、細胞周期の異所性亢進に伴うレトロトランスポゾン L1 の脱抑制(再活性化)が認められ、L1 がコードする ORF1 タンパク質が、プロトタイプ抗原として Eomes+Th 細胞を活性化し、神経細胞障害の引き金を引くことを明らかにした論文を発表した。さらにこれに続く研究として、アルツハイマー病モデルである 5xFAD マウスのグラナゼイム B 遺伝子欠損や、mSOD1 へのレトロ転位阻害剤(3TC)投与により、神経細胞障害が有意に改善することを明らかにした。さらに自律的神経細胞死に対するレトロ転位の影響を解析し、細胞周期が亢進した神経細胞が、選択的な L1 レトロ転位の標的となること、BRCA1 など DNA 損傷修復機構の有無が神経細胞の運命を決定づける重要な要因であることを明らかにした。

大野は、研究グループ全体に対する顕微鏡的形態観察支援を行うとともに、発達過程における神経活動依存的髄鞘形成変化を、視神経をモデルに明らかにした。

4. 研究成果刊行一覧

Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol* 216: 102288, 2022.

Wakatsuki S, Araki T. Novel insights into the mechanism of ROS-mediated neurodegeneration: selective phosphorylation of p47-phox serves as a priming signal of ROS-mediated neurite degeneration. *Neural Regeneration Research* 18(4): 746-749, 2023

Takahashi F, Zhang C, Hohjoh H, Raveney B, Yamamura T, Hayashi N, Oki S. Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element-1. *iScience*. 25(5): 104278, 2022.

Osanai Y, Battulga B, Yamazaki R, Kouki T, Yatabe M, Mizukami H, Kobayashi K, Shinohara Y, Yoshimura Y, Ohno N. Dark Rearing in the Visual Critical Period Causes Structural Changes in Myelinated Axons in the Adult Mouse Visual Pathway. *Neurochem Res*. 47:2815-2825, 2022.

Raveney B, El-Darawish Y, Sato W, Arinuma Y, Yamaoka K, Hori S, Yamamura T, Oki S. Neuropilin-1 (NRP1) expression distinguishes self-reactive helper T cells in systemic autoimmune disease., *EMBO Mol Med*. 14 : e15864, 2022

竹内絵理, 青木吉嗣. デュシェンヌ型筋ジストロフィーの脳症状に対するエクソン・スキップ治療, *Dementia Japan* 36: 265-270, 2022

大野伸彦, 齊藤百合花, 長内康幸, 山崎礼二, 篠原良章, 学際企画, 組織細胞化学, 165-176, 2022.

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。今年度は、引き続き高血圧モデルマウスにおける社会性行動異常の検討を進めた。

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。今年度、ZNRF1KO マウスの神経細胞において認められた興奮性の変化が電位依存性 Na チャンネル (Nav1.2; Nav1.6) の発現変化によるものであることを示し、それが ZNRF1-AKT-GSK3B リン酸化経路の調節がうしなわれたことによるものであることを示唆した。

考察

神経発達過程において観察される電位依存的 Na イオンチャンネル発現の変化は、神経の興奮性の調節に関与しているものと考えられる。ZNRF1 依存的変化は、今のところ GSK3B の活性化を介して起こっているものと考えているが、この場合の ZNRF1 の基質は Akt であることになる。一方、このような変化の分子機序が、Akt 以外の分子を基質とする反応によ

て起こっている可能性がないかどうかについては引き続き検討を行っている。

参考文献（業績）

Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol* 216: 102288, .2022.

Wakatsuki S, Araki T. Novel insights into the mechanism of ROS-mediated neurodegeneration: selective phosphorylation of p47-phox serves as a priming signal of ROS-mediated neurite degeneration. *Neural Regeneration Research* 18(4): 746-749, 2023

神経筋疾患の中樞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。

筋ジストロフィー犬 (canine X-linked muscular dystrophy in Japan: CXMDJ) は、mdx マウス同様に Dp427 を欠失する DMD の中型モデル動物である。mdx マウスと比較し、CXMDJ はヒトの DMD と酷似したより重症な筋障害を示す。本研究の目標は、Dp427 を欠損しマウスよりもヒトによく似た脳構造を持つ CXMDJ を対象に、Dp427 欠損に伴う中樞神経症状を精査のうえ、発症分子機序を解明することである。

方法・結果

ウエスタンブロットや免疫組織化学染色を用いて CXMDJ の脳内におけるジストロフィンの発現を調べたところ、CXMDJ では脳内に Dp427 が発現しないことを確認した。行動解析ではオープンフィールドテストにおいて、CXMDJ はテスト中の総移動距離、中心領域の滞在率、中心領域への侵入回数が野生型よりも減少した。また、オープンフィールドテスト中の心拍変動解析を行ったところ、

自律神経系のパラメータ異常が示唆された。

考察

これまでの結果から、CXMDJ では不安様行動が増加し、さらに副交感神経系の活動異常を認めることが示唆された。CXMDJ を対象に、扁桃体と迷走神経を対象にした電気生理学的検討、扁桃体のシナプトソーム解析を予定する。次に先端遺伝子治療による Dp427 の発現回復により、CXMDJ の中樞神経症状が改善するかと検討する方針である。

参考文献

1. Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol.*2022 Sep;216:102288.
2. 竹内絵理, 青木吉嗣. デュシェンヌ型筋ジストロフィーの脳症状に対するエクソン・スキップ治療, *Dementia Japan* 36: 265-270,2022

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・結果：

これまでに、SPMSモデルマウス、ALSモデルマウス(mSOD1)およびADモデルマウス(5xFAD)の中枢神経系(CNS)に、発症に伴う Eomes+Th細胞の集積を認め、各マウスから得た Eomes+Th細胞がグランザイム B 依存性の神経細胞障害活性を示すことを明らかにしている。昨年度は、神経変性に伴う慢性炎症環境下の神経細胞では、細胞

周期の異所性亢進に伴うレトロトランスポゾン L1 の脱抑制 (再活性化) が認められ、L1 がコードする ORF1 タンパク質が、プロトタイプ抗原として Eomes+Th細胞を活性化し、神経細胞障害の引き金を引くことを明らかにした。本年度は、5xFAD マウスのグランザイム B 遺伝子欠損や、mSOD1 へのレトロ転位阻害剤(3TC)投与により、神経細胞障害が有意に改善することを明らかにした。さらに自律的神経細胞死に対するレトロ転位の影響を解析し、細胞周期が亢進した神経細胞が、選択的な L1 レトロ転位の標的となること、DNA 損傷修復機構の有無が神経細胞の運命を決定づける重要な要因であることを明らかにした。とくに DNA 二本鎖切断の修復に関与する Brca1 が、神経細胞において選択的に発現するにより、神経細胞死を決定づけることを示唆するデータが得られており、自律的神経細胞死における同因子の中心的な役割を明らかにすることができた。

考察：これまでの結果から、神経変性疾患における神経細胞障害が、自律的な神経細胞死と免疫依存性神経細胞障害の二段階の機序により生じることが明らかとなった、そこでまずグランザイム B や L1 レトロ転位の阻害を含めた免疫依存性神経細胞障害の抑制法を探索し、神経変性疾患の新規治療法開発を目指す。さらに、上記のモデル動物由来神経細胞と神経培養細胞の解析を並行して進めることにより、自律的神経細胞死における L1 転位の意義の解析を進め、研究期間内の L1 依存性神経変性疾患の病態機序の全容解明を目指す。

参考文献：

1. Fumio Takahashi, Chenyang Zhang, Hirohiko Hohjoh, Ben Raveney, Takashi Yamamura, Nobuhiro Hayashi, Shinji Oki, Immune-mediated neurodegenerative trait provoked by multimodal derepression of long-interspersed nuclear element-1., *iScience*. 2022;25(5):104278.

2. Ben Je Raveney, Yosif El-Darawish, Wakiro Sato, Yoshiyuki Arinuma, Kunihiro Yamaoka, Shohei Hori, Takashi Yamamura, Shinji Oki, Neuropilin-1 (NRP1) expression distinguishes self-reactive helper T cells in systemic autoimmune disease., *EMBO Mol Med*. 2022 Sep 7; 14 : e15864.

分担研究報告

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(自閉症)はいわゆる「シナプス病」とも呼ばれ、シナプス機能の障害が病態を構成すると考えられる。どの脳部位のどのシナプスがどのような機能障害を生じて病態を構成しているかを理解することが、疾患の理解に貢献すると考えられる。

本分担研究者は、大脳皮質等の脳部位のシナプスをシナプトソーム(シナプス由来の小胞)として抽出し、包含するタンパク質や核酸などを体系的に解析する。特に、投射元と投射先を標識されたシナプトソームを解析する。自閉症モデルマウスあるいはマーマセットを用いて、社会性刺激を動物に加えた場合の遺伝子発現変化の知見を得る。その知見をもとに社会性に関するシナプスにおいて鍵となる分子を2光子顕微鏡を用いて可視化し、病態の理解や治療法の探索につなげる。3年間で自閉症モデル動物の社会性に関連するシナプスにおいて、機能・局在あるいは発現が変化している分子を同定する。

方法・結果：

1. マーマセット生体2光子顕微鏡画像の解析

自閉症モデルマーマセットの内側前頭前野2/3層錐体細胞の樹状突起あるいは軸索を断続的に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のターンオーバー(生成・消去)がモデルマーマセットで亢進していることを既に見出していたが、今回は特にスパインの近接した(クラスター化)

生成あるいは消去について検討を実施した。シナプスのクラスター化は、非線型的な入力積算や、シナプス可塑性物質の拡散による相乗的な可塑性による記憶・学習における役割が理解されつつある。我々の解析の結果、自閉症モデル動物においては、クラスター化スパイン生成が亢進していることを、モンテカルロシミュレーションなども併用しながら示すことができた。また、このクラスター化スパイン生成は自閉症に対する治療が実施されているオキシトシンというペプチドホルモンの投与によって抑制されることを見出した。一方、近距離の軸索の前シナプス bouton のターンオーバーは、モデルマーマセットで亢進していたが、この亢進は交連軸索では見られなかった。ヒト自閉症において、局所的な投射の亢進と長距離の投射の抑制がこれまでfMRI等の機能イメージングで提案されてきた。我々が今回見出した結果は、軸索の投射依存的なシナプス可塑性制御の変化が自閉症における脳領域間の機能的な結合の変化の基盤となっている可能性を示唆している。

2. シナプスを構成する物質の解析

昨年度は、シナプスをシナプトソームという小胞として抽出して、精製度を最適化する検討を実施した。シナプトソームに含まれる蛍光からフローサイトメーターのソーティング機能を用いて、選別・精製可能であることを示した。シナプス由来ではない小胞や蛍光を含んでいないシナプトソームを確実に分離するために、電子顕微鏡による確認等を実施することを計画中である。一方、PSD95といったシナプスで重要な働きを行うタンパク質への結合能とカルシウム感受性タンパク質を組み合わせることで、直近で活動したシナプスを標識する蛍光色素タンパク質が報告

されている。そのような機能プローブも用いて、社会的な経験を行なった時に活動するシナプスにおける分子的变化を検出する準備を実施している。

考察： マーモセット生体2光子イメージング画像の解析については、なるべく速やかに論文掲載されるように対応していく。シナプスを構成する物質の解析については、シナプスが包含する RNA とタンパク質の解析をコントロール動物とモデル動物で早期にまとめ解析検討する。また、カルシウム測定を用いた機能プローブに関して、ウイルスベクターの準備が整い次第、マウスに投与して発現等の確認を実施する。

参考文献：

1. Noguchi J, Watanabe S, Isoda R, Ichinohe N, et al. Imbalance of circuit plasticity and consolidation in autism model marmosets is adjusted by oxytocin. bioRxiv. Aug. 25. Doi: 10.1101/2022.08.24.505057.

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：

本研究では、これまでの研究で開発した内包脱髄マウスモデルに、KENGE-Tet システム[Tanaka et al. Cell Rep. 2012]による生体内の時期・細胞特異的ミトコンドリア分裂抑制技術を応用し、神経細胞およびグリア細胞のミトコンドリアの分裂が、脱髄に伴う運動機能障害に及ぼす影響を明らかにする。その過程で、脱髄に伴う上位運動神経軸索の変性および再髄鞘化において、軸索およびグリア細胞のミトコンドリア動態変化、MAM を含むその形態変化を、マイクローム組み込み式走査型電子顕微鏡 (SBF-SEM) による連続画像取得と 3 次元再構築により、明らかにし、さらにミトコンドリアの分裂の抑制による軸索変性の軽減と髄鞘再生の促進の可能性を検証する。さらに発達期および加齢時の髄鞘形成および髄鞘形成異常に伴う細胞形態とオルガネラ変化を検討し、ミトコンドリア動態抑制および薬剤による修飾が発達障害や加齢に伴う病態の改善につながる可能性も検証する。

方法・結果：

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 年度に、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)。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 (SBF-SEM) を用いて取得し、これらに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。その結果、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。

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。そこで、実際に連続電顕画像上で 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。したがって、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。これらの結果から、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と考えられた。

また、2021 度は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 による染色法を始めて末梢神経へと応用し、末梢神経系の脱髄病変が目視で検出できることを示した (Yamazaki et al. 2021)。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。

これまでの研究で、一過性の脱髄を惹起することが知られているリゾレシチンを運動野からの神経路が通過する内包に注射することで、内包の脱髄と運動機能障害を惹起するモデルを開発していた。この内包脱髄モデルをオルガネラ動態への介入の処理に用いる準備段階として、2022 年度はこの内包脱髄モデルが再髄鞘化の促進による運動機能の改善を評価可能かどうか、検討を行った。リゾレシチン注射後に再髄鞘化を促進することが知られているクレマスチンを腹腔内投与し、運動機能および髄鞘と軸索の組織学的変化を評価した。その結果、クレマスチン投与群は Vehicle 投与群と比較し

て、リゾレシチン投与 10 日後の運動機能 (Wire hanging テスト、Grip strength テスト) が改善し、また運動機能の左右差 (シリンドーテスト) も改善していた。また、昨年度報告した Neutral red 投与による脱髄部位の検出法も併用した組織学的検討では、リゾレシチン投与部位におけるオリゴデンドロサイトの分化の促進、さらに有髄軸索数、髄鞘厚で評価される髄鞘の再形成が、クレマスチン投与によって優位に促進されていた。加えて、リゾレシチン投与部位における軸索障害マーカーの非リン酸化ニューロフィラメントの免疫反応性の改善も、クレマスチン投与により認められた。以上から、このリゾレシチンによる内包脱髄モデルは脱髄に伴う神経障害および病理学的変化と回復過程に加えて、再髄鞘化の促進を伴う介入による運動機能再生を評価する上でも、極めて有用なモデルになると考えられた (Yamazaki et al. submitted)。

昨年度の研究で、オリゴデンドロサイトによる髄鞘形成の選択性に軸索の径という構造特性が関与している可能性を見出した。しかし、髄鞘の形成や構造変化は軸索の性質に加え、環境刺激の影響を受けていることが報告されている。そこで、今年度はオリゴデンドロサイトの髄鞘形成に影響を及ぼす可能性が指摘されている視覚刺激に焦点を絞り、視覚臨界期における暗所飼育が有髄軸索に富む視神経および視交叉での有髄軸索の構造に及ぼす影響を検討した (Osanai et al. 2022)。まず、過去の報告で視覚刺激による変化が報告されており、神経伝導速度に影響する髄鞘長を検討した。これまでの研究では髄鞘長の計測はオリゴデンドロサイトのまばらな標識により行わ

れた。しかし、本研究では傍絞輪部に対する免疫染色と組織透明化を併用する方法を開発し、脳の様々な領域における髄鞘長の計測に成功した。その結果、暗所飼育によって、視神経および視交叉の髄鞘長が有意に減少することが分かった。さらに電子顕微鏡による観察から、髄鞘の厚みも厚くなったことから、視覚臨界期の暗所飼育は発達後にまで残存する構造的な影響を有髄軸索に及ぼすことが明らかになった。

考察：

本研究では昨年度および今年度の結果をふまえて、引き続き髄鞘形成細胞による髄鞘形成の異常、その形態学的特性が障害される可能性に注目して、引き続き脱髄・再髄鞘化モデルや加齢動物モデルを用いて研究を継続する。また、現在までにデータが蓄積されつつあるミトコンドリア分裂の新規制御モデルも併用し、オルガネラ動態変化の役割を明らかにすることを目指す。

また、これまで研究上のボトルネックとなっていた連続電子顕微鏡画像からの構造抽出において、深層学習によるオートセグメンテーションがかなり有効になりつつあることから、このワークフローを確立させ、3次元微細構造解析のスループットの向上を実現する。これにより、髄鞘疾患のミトコンドリア分裂制御と軸索変性・髄鞘形成や神経機能改善の関係性についても検討を進める。

参考文献（研究成果）：

1. Osanai Y, Battulga B, Yamazaki R, Kouki T, Yatabe M, Mizukami H,

Kobayashi K, Shinohara Y, Yoshimura Y, Ohno N. Dark Rearing in the Visual Critical Period Causes Structural Changes in Myelinated Axons in the Adult Mouse Visual Pathway. *Neurochem Res.* 2022 47:2815-2825. doi: 10.1007/s11064-022-03689-8.

2. Osanai Y, Yamazaki R, Shinohara Y, Ohno N. Heterogeneity and regulation of oligodendrocyte morphology. *Front Cell Dev Biol.* 2022 10:1030486. doi: 10.3389/fcell.2022.1030486.

3. 大野伸彦、齊藤百合花、長内康幸、山崎礼二、篠原良章、学際企画、組織細胞化学 2022、2022年7月10日、165-176

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

本研究班は小児期発症不随意運動症の克服を目的とし、主な対象疾患は *ATP1A3* 異常症 (小児交互性片麻痺など)、*WDR45* 異常症、*GNAO1* 異常症、両側性基底核変性症 (*ECHS1* 異常症、*POLR3A* 異常症など) などの難治希少疾患である。本研究班では以下を行う。

- 1) 患者疫学調査：上記疾患患者を登録して臨床像を詳細に記録する。
- 2) 遺伝子検査：必要に応じて次世代シーケンサーによる全エクソーム解析で原因遺伝子の探索を行う。
- 3) ガイドライン作成：遺伝子診断などにより確定診断できた疾患 (新たな病型を含む) について、その臨床像から診断のためのガイドラインを作成する。
- 4) iPS 細胞樹立：患者から細胞の提供が得られる場合は、iPS 細胞の樹立を行う。iPS 細胞から神経細胞を分化・誘導し、分子生物学的病態について検討し、さらに症状を改善させる見込みのある薬剤の有無についても検討する。今後ヒトへの治療研究を目指す。

2.研究組織

主任研究者：国立精神・神経医療研究センター病院
佐々木征行

分担研究者：同上神経研究所 井上健
同上病院 齋藤貴志
同上病院 本橋裕子
同上病院 竹下絵里

研究協力者：同上神経研究所 鈴木禎史
同上病院 田畑健士郎、山本 薫、荒井 篤、漆畑 怜、二宮 央、八戸由佳子

3.研究成果

- 1) 患者疫学調査として、小児期発症ジストニアの全国調査の二次調査を行った。
- 2) この数年間で遺伝子検査により *ATP1A3* 異常症 3 例、*WDR45* 異常症 2 例、*GNAO1* 異常症 2 例、*ECHS1*

異常症 1 例、*POLR3A* 異常症 2 例などが診断できた。
3) *ATP1A3* 異常症に新たな臨床病型が報告されたため、本症の新たな診断基準を作成し、ガイドラインも作成中である。また *GNAO1* 異常症の診断・治療ガイドラインも作成した。

4) 疾患特異的 iPS 細胞を樹立した。この 2 年間で 3 例の *ATP1A3* 異常症 (小児交互性片麻痺:AHC) と 3 例の *POLR3* 関連疾患の患者から疾患特異的 iPS 細胞の樹立に成功した。AHC 患者由来 iPS 細胞を分化誘導し、*ATP1A3* を発現する神経細胞を得ることができた。通常の培養手法として用いられる単層培養に加え、より脳内環境を再現できる脳オルガノイド形成でも *ATP1A3* 陽性神経細胞を得た。AHC 神経細胞では熱負荷によるストレス下に過剰活性化が起こることが想定されるが、今回熱負荷によるストレス時に活性酸素種 (ROS) が上昇することを見出した。

4.研究成果刊行一覧

- 1) 佐々木征行. 第 6 節ジストニア. 第 6 章神経変性疾患、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」(株)技術情報協会. 東京. 2022 年 3 月 31 日. p397-406.
- 2) 佐々木征行. 運動異常症を主体とした神経難病. 脳神経内科医に求められる移行医療. *Brain Nerve*. 2022;74:789-793.
- 3) 佐々木征行. てんかん. 神経疾患とゲノム医療. *CLINICAL NEUROSCIENCE*. 2022;40:1109-1113.
- 4) 齋藤貴志. 構造的病因を有する焦点性てんかん. 浜野晋一郎編. 新分類・新薬でわかる小児けいれん・てんかん診療. 中山書店. 2022:229-238.
- 5) 齋藤貴志. 進行性ミオクローヌステんかん. 浜野晋一郎編. 新分類・新薬でわかる小児けいれん・てんかん診療. 中山書店. 2022:249-257.

小児期発症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

脳神経小児科 佐々木征行

研究協力者：同上 齋藤貴志、竹下絵里、本橋裕子、

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 *ATPIA3* 異常症（小児交互性片麻痺など）、*WDR45* 異常症、*GNAO1* 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】今年度は、*ATPIA3* 関連神経疾患について診断基準を提案した。

1. *ATPIA3* 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 *ATPIA3* 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）

10. 多小脳回を呈する早期発症てんかん性脳症

(Polymicrogyria)

つい最近、*ATPIA3* 異常症の新たな臨床病型として 10 が報告された。本症の診断基準はまだ存在しないことから、今回診断基準案を作成した。

- | |
|--|
| <p>(1) 発症時期：新生児期から。</p> <p>(2) 症状：①重篤なてんかん発作、
②重度の精神運動発達遅滞。</p> <p>(3) 麻痺発作を認めない。</p> <p>(4) 頭部 MRI 画像で広範な多小脳回を認める。</p> <p>(5) 一部に進行性脳萎縮。</p> <p>(6) 重篤な不整脈。</p> <p>(7) 遺伝子検査：<i>ATPIA3</i> 遺伝子変異。</p> |
|--|

診断

確定：(1) + (2) + (3) + (4) + (7)

7. 早期発症てんかん性脳症については、確定診断は上記の (1) + (2) + (3) + (7) でなされる。

2. *GNAO1* 異常症

GNAO1 異常による不随意運動症を 5 例経験し臨床的特徴をまとめ、診断基準案を作成した。

- | |
|---|
| <p>(1) 筋緊張低下と精神運動発達遅滞を呈す。</p> <p>(2) ジストニアやコレアなどの不随意運動を呈し、脳性麻痺と診断されることが多い。</p> <p>(3) 3 歳から 10 歳の間、激しい運動過多の不随意運動を繰り返すようになり、運動退行を示す。</p> <p>(4) 8 歳から 12 歳の間、この不随意運動が長時間続くようになり、寝たきり状態で経口摂取困難も伴う。</p> <p>(5) 遺伝子解析で <i>GNAO1</i> に変異を認める。</p> <p>(6) てんかん発作は目立たない。</p> |
|---|

診断：(1) ~ (4) のいずれかと (5)、(6)

本症は、脳深部刺激療法が著効して、運動面も経口摂取も改善することが多いので、早期に正確な診断をすることが重要である。

【結果と考察】*ATPIA3* 関連神経疾患には少なくとも 10 の病型がある。さらに病型は拡大する可能性がある。遺伝子解析による確定診断が重要となる。

GNAO1 異常症は、確定診断が難しい疾患であったが、治療法があるので、遺伝子解析による早期確定診断が重要である。

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

同神経研究所 疾病研究第二部 井上 健

研究協力者：同神経研究所 鈴木禎史

同病院小児神経科 田畑健士郎、佐々木征行

【緒言】

小児交互性片麻痺(AHC：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)など多くの小児期に発症する不随意運動症が知られているが、その分子細胞病態については明らかでない。iPS 細胞は、患者由来細胞を用いて *in vitro* で疾患病態を再現できるため、個々の症例の病態解明に有用である。今回特に AHC に焦点を当てて、iPS 細胞を用いた細胞分子病態の検討を行なっている。

【方法】

AHC (ATP1A3 変異) 患者の血液検体からエピソーマル法を用いて iPS 細胞の樹立 (AHC-iPS 細胞) を行なった(1)。これを下記の 2 つの手法を用いて神経細胞へ分化誘導を行なった。

単層培養：iPS 細胞に dual SMAD inhibitor, bFGF, EGF を作用させ、BDNF, GDNF, NGF, dbcAMP を用いて神経細胞へ分化誘導した(2)。

脳オルガノイド培養：iPS 細胞から胚様体形成を行い、bFGF, EGF 作用後、BDNF, NT3 を用いて神経細胞へ分化誘導した(3)。脳オルガノイドについては、熱ストレス (40°C) によって引き起こされる細胞表現系の検証を行なった(4)。

【結果】

3 名の患者から AHC-iPS 細胞を樹立することができた。iPS 細胞から ATP1A3 を発現する神経細胞への分化誘導を単層培養、オルガノイド双方にて確認した。脳オルガノイドにて誘導した AHC-神経細胞において、熱ストレスによって活性酸素種が上昇することを認めた。

【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。

【結論】

本研究では、iPS 単層培養だけでなく脳オルガノイド培養からも ATP1A3 発現神経細胞を誘導できることがわかった。さらに熱ストレスによって、活性酸素種の産生/蓄積上昇が起こることがわかった。脳オルガノイド形成からも ATP1A3 発現神経細胞が得られることから、単層培養よりも AHC 患者脳に近い環境で病態解析を行うことが可能になったと考える。熱ストレスによって AHC-神経細胞では Neuronal hyperactivity が誘導されることは *in vitro* の実験で示されてきたが(4)、活性酸素種 (ROS) の上昇も起こることがわかった。今後、活性酸素種が病態に寄与するか inhibitor などを用いた解析を行なっていくことで、さらに詳細な病態機序を明らかにする必要がある。

【参考文献】

- 1) <https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/protocol.html>
- 2) Kobayashi, H., Hatakeyama, H., Nishimura, H. et al. Chemical reversal of abnormalities in cells carrying mitochondrial DNA mutations. *Nat Chem Biol* 17, 335–343 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41589-020-00676-4>
- 3) Paşca, A., Sloan, S., Clarke, L. et al. Functional cortical neurons and astrocytes from human pluripotent stem cells in 3D culture. *Nat Methods* 12, 671–678 (2015). <https://doi.org/10.1038/nmeth.3415>
- 4) Snow JP, Westlake G, Klofas LK, Jeon S, Armstrong LC, Swoboda KJ, George AL Jr, Ess KC. Neuronal modeling of alternating hemiplegia of childhood reveals transcriptional compensation and replicates a trigger-induced phenotype. *Neurobiol Dis.* 2020 Jul;141:104881. doi: 10.1016/j.nbd.2020.104881.

イントロンリテンションに焦点を当てた POLR3 関連白質変性症の分子病態解明

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】

POLR3 関連白質変性症は、RNA ポリメラーゼ III 構成たんぱく質をコードする遺伝子 (POLR3A, POLR3B, POLR1C, POLR3K) の病的変異に起因する先天性大脳白質形成不全症であり、不随意運動を一症状とする。我々は POLR1C 変異をもつ 1 家系において、POLR1C の転写産物にスプライシング異常 (イントロンリテンション) を認め、髄鞘形成不全の発症メカニズムに関連している可能性を見出した(1)。RNA ポリメラーゼ III はスプライシングに重要な核内低分子 RNA を合成しており、その機能異常が髄鞘形成関連遺伝子のスプライシング異常を引き起こし、髄鞘形成不全を引き起こすのではないかという分子病態仮説を立てた。本研究では、患者由来の試料を用いてトランスクリプトーム解析を行い、転写産物パターンにどのような変化が起きているのかを調査する探索的研究である。

【方法】

ロングリードシーケンサー (PromethION : Oxford Nanopore Technologies 社) を使い、配列データベースや解析ソフトウェアとともにシステムをくみ上げ、トランスクリプトーム解析の実験系を確立する。解析対象は患者と健常人を対象とし、①末梢血単核細胞 (Peripheral Blood Mononuclear Cells; PBMCs) と②オリゴデンドロサイト前駆細胞、③オリゴデンドロサイトをサンプルとして用いる。②と③は、既報告の方法を用いて PBMCs から iPS 細胞を樹立し、分化誘導することで得る(2) (3)。データ解析は Nanopore 社の開発した解析パイプライン等を利用する。

【結果】

高性能ワークステーション PC を設置し、セットアップした。POLR1C 変異患者と POLR3B 変異患者の凍結保存された PBMCs から RNA Mini Kit (Qiagen®) を用

いて RNA を抽出し、SQK-PCS111 Kit (Nanopore®) を用いて poly A selective な RT-PCR を行い、cDNA ライブラリーを作成。PromethION でロングリードシーケンスを実施し、データ解析中である。

【考察】

今後、POLR3A 変異患者の PBMCs でも同様にロングリードシーケンスを行う。また、POLR1C、POLR3B、POLR3A 変異患者の iPS 細胞は樹立済みであり、予備実験を経てオリゴデンドロサイトへの分化誘導実験を行っていく予定である。

【結論】

POLR3 関連疾患の疾患特異的 iPS 細胞は、国内で他に樹立している施設はないため、本疾患の研究において、貴重な試料である。並行してこれらを用いた分化誘導と病態解析を進め、治療の足掛かりになるような標的細胞病態分子の同定を目指す。特に網羅的 long-read RNAseq 解析を進め、本疾患の分子病態の解明を目指す。

【参考文献】

1. Kashiki H, Li H, Miyamoto S, Ueno H, Tsurusaki Y, Ikeda C, et al. POLR1C variants dysregulate splicing and cause hypomyelinating leukodystrophy. *Neurology Genetics*. 2020;6(6):e524.
2. Center for iPS Cell Research and Application (CiRA) KU. エピソーマルベクターを用いた末梢血からの iPS 細胞樹立方法 2013 [Available from: https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/research/img/protocol/Episomal_Blood_Protocol.pdf].
3. Numasawa-Kuroiwa Y, Okada Y, Shibata S, Kishi N, Akamatsu W, Shoji M, et al. Involvement of ER stress in dysmyelination of Pelizaeus-Merzbacher Disease with PLP1 missense mutations shown by iPSC-derived oligodendrocytes. *Stem cell reports*. 2014;2(5):648-61.

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病院
脳神経小児科 齋藤 貴志

【背景】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、自然歴に関する治験もが少ないことが多い。治療に関しても、質の高いエビデンスはほとんどない。一方、近年、希少疾患に対処しては、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。これらに対応するため、不随意運動症を含む小児期発症の希少神経疾患のデータベースを作成が必要である。診断や必要な情報については、電子カルテより効率的に取得するとともに、画像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。今年度は、その予備的な調査として、以下のような検討を行った。

【方法】(1) 現在使用している「病名登録」データが、疾患のデータベースとして機能している。このデータを見直すことで、データ入力の問題点や、今後必要な入力項目の検討を行う。(2) データベース作成に関する検討を行う。

【結果】(1) 既存の小児神経科病名登録には、6042件のデータの登録があった。入院ごとに入力されているため、IDの重複を除外すると、計1964件の一意的なIDの病名の登録があった。疾患分野では、てんかん、筋疾患、精神・運動発達遅滞が1047件(53.3%)、391件(19.9%)、126件(6.4%)と多かった。その他、代謝疾患56件(2.8%)、変性疾患41件(2.1%)、小脳変性症25件(1.8%)などがあった。一意的な主病名は679件の登録があった。「てんかん」が最も多く、190件以上で概ね10%、ついで「デュシェンヌ型筋ジストロフィー」が120件(6.1%)であった。一方、病

名入力なしが104件(5%)、綴りのバリエーション、カタカナ・英語での記載など、データのクリーニングが必要で、利用の支障になると思われた。(2) 病歴や検査データは電子カルテ等に保存される一方、映像データは、整理や利用に制約がある。このため、データベースソフトウェアを利用することが整理、活用に必要である。整理を行うために仕様を検討中である。

【考察】(1) 現在の病名登録は2000件近い登録があり、有用な資産である。一方で、疾患分野に関しては、定義が曖昧なため、担当者により入力する分野が異なる可能性がある。また、病名は入力のバリエーションが多いため、活用に支障があり、プルダウン等を利用して入力内容の標準化が必要と思われる。また、特徴のある臨床群、疾患群を抽出して研究等に利用するためには、原因遺伝子や、特徴的な検査所見など追加が必要な項目が必要と考えられる。(2) に関しては、データベース仕様が決定次第、倫理委員会への申請を行う予定である。

【文献】該当なし

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
脳神経小児科 本橋裕子

研究協力者：

国立精神・神経医療研究センター病院脳神経小児科
今井憲

国立精神・神経医療研究センター病院放射線科 佐藤典子

【はじめに】IV型コラーゲン $\alpha 1$ 鎖 (COL4A1) をコードする *COL4A1* のバリエーションにより、孔脳症や裂脳症などを呈することが知られている。障害された脳の部位に応じて、不随意運動、けいれん、知的発達症などを呈する。常染色体顕性 (優性) 遺伝形式であり、*COL4A1* 関連疾患と表現される。近年、その表現型は幅広いことが報告されている。*COL4A1* 遺伝子は2022年4月より非保険ではあるが商業ベースで解析が可能となり、診断は家系内の健康管理の観点からも有益である。

【目的】*COL4A1* 関連疾患の頭部画像所見の特徴を検討すること。

【方法】胎児期に脳室拡大と小脳低形成を指摘され、*COL4A1* 関連疾患と診断された1歳3か月の男児の頭部MRI画像の特徴を詳細に検討した。本症例は基底核の変形と脳梁菲薄化、小脳低形成など、tubulinopathy に類似した所見を有しており、tubulinopathy と *COL4A1* 関連疾患の特徴を比較した。

【結果】症例は1歳3か月男児。健常な両親の第1子として、在胎39週3日、頭囲32.5cm (-0.58SD)、誘発分娩で出生。胎児期に脳室拡大と小脳低形成を指摘され、出生後の頭部MRIで脳室壁のヘモジデリン沈着を認めた。眼科的異常はなかった。生後3か月で小頭傾向を認め、以降は四肢の痙性が目立つようになった。当院で生後9か月に行った頭部MRIで脳室拡大、小脳低形成と脳梁の菲薄化、基底核の変形 (線条体の癒合と左右非対称) に加え、

視床や内包、右後頭葉、右上側頭回、小脳などに新旧の出血性病変を認めた。基底核所見から tubulinopathy を鑑別にあげたが、陳旧性出血性病変があったことから、胎生期からの脳血管障害イベントが考えられ遺伝性脳小血管病を疑った。*COL4A1* 解析を行ったところ、病因と考えられるバリエーションを認め、診断に至った。

【考察】COL4A1は、小血管における基底膜のIV型コラーゲンを構成し、その安定化に寄与する。*COL4A1* 関連疾患は基底膜の脆弱化から、胎児期から成人期までの幅広い年齢における頭蓋内出血や脳梗塞の他、孔脳症や裂脳症、水無脳症を来し、てんかん、脳性麻痺、発達遅滞などを呈する。脳外では眼や腎、心血管症状を認める。鑑別に挙げた tubulinopathy では易出血性の報告はなかったため、*COL4A1* の遺伝子解析を優先した。家族歴や他臓器病変がなく、脳形成異常が疑われる場合も、胎児期から小児期に発症した出血性病変がある場合は *COL4A1* 関連疾患を鑑別すべきである。

【参考文献】

- 1.The expanding phenotype of COL4A1 and COL4A2 mutations: clinical data on 13 newly identified families and a review of the literature. Marije E C Meuwissen, Dicky J J Halley, Liesbeth S Smit, et al. *Genet Med*.2015 Nov;17(11):843-53.
- 2.Neurologic phenotypes associated with COL4A1/2 mutations: Expanding the spectrum of disease. Sara Zagaglia, Christina Selch, Jelena Radic Nisevic, et al. *Neurology*.2018 Nov 27;91(22):e2078-e2088.

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

脳神経小児科 竹下絵里

共同研究者：同上 末永祐太、本橋裕子、齋藤貴志、

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394名(72%)、1～4例109名(20%)、5～9例29名(5%)、10例以上18名(3%)だった。総患者数は736例で、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:3例、その他の遺伝性疾患:112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82名(57%)から有効回答を得た。総患者数は、308例(男性160例、女性148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か月～18歳(中央値5歳)だった。内訳は遺伝性230例(75%)、後天性50例(16%)、特発性18例(6%)、分類不能10例(3%)だった。遺伝学的検査は163例(53%)で実施、146例(90%)で変異が同定された。罹患部位は全身性105例(34%)で最多、局所性35例(11%)だった。病状の経過は停止性221例(72%)、進行性66例(21%)、病状の変動性は持続性112例(36%)、発作性112例(36%)が多かった。151例(49%)でその他の運動徴候を有

し、痙縮71例(47%)が最多だった。198例(64%)で合併症を認め、中枢神経症状182例(92%)が最多だった。脳MRIは262例(85%)で実施、124例(47%)に異常所見があった。289例(94%)が治療を受け、内服加療279例(91%)が最多、165例(59%)は単剤だった。

【考察】

日本での小児期発症のジストニアに関する疫学調査

として、2008年に舟塚らは、1026名の小児神経専門医を対象に質問票調査を実施し、一次調査で421名(41%)の回答を得、うち114名(27%)に診療歴があり、総患者数は579例だった。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例多い結果だったが、多数例の診療を行っている専門医は少数であった。先行研究の患者の病型は、一次性146例(25%) (遺伝性

が103例(17%) (DYT1が12例))、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%)だったのに対し、本研究では遺伝性が467例(63%)と多数を占めた。本研究で遺伝性が多く脳性麻痺が少なかった理由は、遺伝子解析技術の進歩によりジストニアの病因が明らか

かになった例が増えたこと、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。本研究の結果では、乳児期発症例の病因は多様であり、それ以降に発症する例ではDYT10、DYT5が多かった。

【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.

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 a patient with *COL4A* variant presenting basal ganglia malformation (combined the head of caudate nucleus and putamen) and cerebellar atrophy, which resembled tubulinopathy. It was very difficult to distinguish this patient from tubulinopathy from the clinical view point.

Sasaki et al. proposed new diagnostic criteria for the disorders caused by *ATP1A3* abnormalities, which have been expanded more than 10 variants of the disorder. Genetic analysis is essential for these disorders. Sasaki et al. also proposed new diagnostic criteria for the movement disorder by *GNAO1* variant. For those who suffers severe movement symptoms by this disorder, there is an effective treatment method (deep brain stimulation). Therefore, an early and precise diagnosis is very important for this disorder.

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 200 例以上などのこれまでの実績に加えて、令和 4 年度は、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

令和4年度末までの累計では、凍結骨格筋 22,465 件 (R4: 1119 件)、培養細胞 2,216 件 (R4: 63 件)、脳脊髄液 6,465 件 (R4: 278 件)、血漿 9316 件 (R4: 1015 件)、血清 7,727 件 (R4: 970 件)、DNA 試料 10,868 件 (R4: 2,041 件)、手術脳組織 431 件 (R4: 106 件)、を収集した。

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、光ボト研究など)との連携活動を拡充している。その際、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。

NCNP 脳バンクとの連携も諮っており、試料提供における手続きの共通化を目指している。

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 認定のための施設整備、体制整備、文書整備を進めた。2021 年度より、競争的研究費で1名を常勤化し、また 2022 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。さらに、4 人の常勤化を図ることになっている。この活動はナショナルセンター・バイオバンクネットワークの品質管理 WG を通して、他の NC とも共有した。

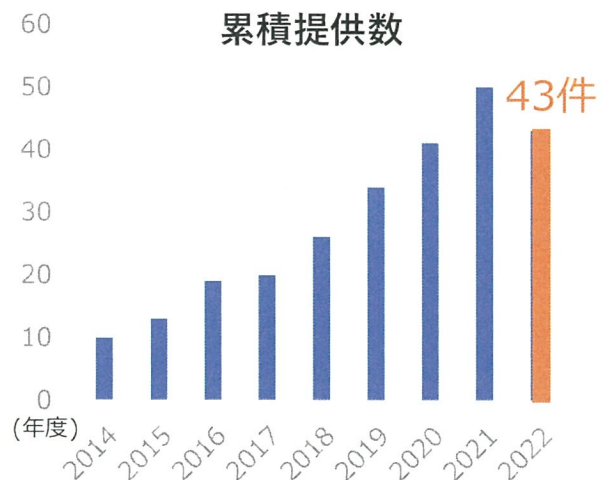
また、服部は、国内規格化(JIS 化)に関する研究課題(経産省)が採択され、原案作成委員会の委員長としても活動している。

③ 連携活動

ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク事業(NCBN)、AMED 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。

また、バイオバンク運営者の研究実施は、バンク利用の課題を抽出してよりよいバンク運営を目指す上には重要な活動であり、令和4年度は利活用推進室長の吉田が、気分障害センターと連携して、小児虐待経験と自閉的行動特性の関係を研究した。

④ 利活用推進



ISO20387 への対応ために、手順書作成、人材教育、日本適合性認定機構によるパイロット審査への準備で、利用制限をかけていたにも拘わらず、またコロナ禍の影響もありながら、昨年の 50 件に近い 43 件の提供が実施できた。

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

2023 年度中の ISO 認定を目指して、必要な文書の作成と体制と施設整備を行っていく。

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) Goto Y: Present status and perspective for cooperation of national biobanks, and its influence on genomic medicine in Japan. Taiwan Ministry of Health and Welfare International Seminar, WEB, 10.7, 2022
- 2) 後藤雄一. 稀少疾患バイオバンクの利活用と課題, シンポジウム3「バイオリソースのきめ細かい活用にむけたバイオバンクのあり方」. 第7回クリニカルバイオバンク学会シンポジウム, 岡山(ラヴィール岡山), 2022.7.8 (7.8-7.10)

- 3) 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.

(論文発表)

- 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 Mar; 65(3):104446.
- 2) Nakatsu D, Kunishige R, Taguchi Y, Shinozaki-Narikawa N, Osaka K, Yokomizo K, Ishida M, Takei S, Yamasaki S, Hagiya K, Hattori K, Tsukamoto T, Murata M, Kano F. BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 pathway activation inhibits neurogenesis and oligodendrogenesis in Alzheimer's patients' iPSCs in senescence-related conditions. Stem Cell Reports 18:688-705, 2023 Mar

6. 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標準化に貢献した。今年度はサブテーマである幹細胞、微生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、前年度に引き続き ISO 20387 の日本国家規格化のためのヒアリングや校正に委員長として対応した。

NCNP バイオバンクにおける ISO 認定準備も進め、2023 年 2 月にパイロット審査に応募した。

ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク (NCBN) においては ISO の情報共有とともに 6NC での共通利用申請に取り組み、NC 間の利活用の標準化も進めた。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とする。この活動により、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、国際会議への日本側意見の提出・説明を担当した。

2) JIS 原案作成委員会

バイオバンクの国際規格 20387 を国家規格化することを目指して JIS 原案作成委員長として、経産省ヒアリングや校正の対応を行った。

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を受けつつ、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。

【倫理】

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

今年度は臍帯由来、骨髄由来の間質細胞（文献 1、3）、幹細胞（文献 4）、微生物（文献 2）の国際規格が発行された。本年度よりバイオバンクの保管容器の規格作成が開始された。これは試料品質に大きな影響をもつとともに、国内容器メーカーや自動保管庫メーカーなどにも影響を与える。そこで関係する企業等の意見も集約し、可能な限り規格への反映を試みた。その他、深海生物（海洋研究開発機構との連携）や寄生虫（寄生虫学会との連携）等についても国内意見の集約と表明を行った。

2) JIS 原案作成委員会

前年度に取りまとめた原案について日本規格協会、経産省の審議会などのヒアリングや指摘対応を行った。2023 年 5 月に制定予定である。

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。

- 手順書・基準書の整備：合計 123 本 2229 頁の文書を作成した（完成度 95%）。今後、運用しつつ改善を進める。
- 要員教育：バイオリポジトリ技術管理士 (BiTA) 2 名養成した（合計 7 名）。また ISO の内部監査員 17 名を養成した。
- 施設整備：フリーザーや炭酸ガスボンベ等の大型設備 20 件に耐震装置を導入した。

2023 年 2 月に日本適合性認定機構 (JAB) がパイロット審査を募集したため応募した。2023 年度に審査を受ける予定である。

2) NCBN との連携

NCBN の品質管理ワーキンググループ等を議長として開催し ISO の情報共有を行った。また 6NC 共通でバンクを利用する JH 研究について、各バンクの実務担当者で頻繁に会議・情報共有を行い、共通利用申請書による提供を実現した。その過程で、利用・審査における各バンクの違いや改善点を明らかにした。

【結論】

バイオバンクの国際規格作成および、国内実装、普及活動を本研究で実践した。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/TS 22859:2022, Requirements for human mesenchymal stromal cells derived from umbilical cord, 2022-7
2. ISO 24088-1:2022, Biobanking of microorganisms - Part 1: Bacteria and archaea, 2022-7
3. ISO 24651:2022, Biotechnology - Biobanking - Requirements for human mesenchymal stromal cells derived from bone marrow, 2022-8
4. ISO 24603:2022, Requirements for human and mouse pluripotent stem cells, 2022-8
5. 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

知的能力障害バイオバンクの試料を用いたゲノム解析による疾患原因変異の同定

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 阿部ちひろ、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

【要旨】

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、標的遺伝子解析、全ゲノム解析などを実施し、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。

【背景と目的】

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 由来 DNA 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、全ゲノム解析など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と

ともに、疾患ゲノム病態を明らかにすることを目的とする。

【方法（倫理面に対する配慮）】

本研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認のもと実施されている。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した。患者 DNA 検体は主治医の要望に応じて、アレイ CGH、MECP2 変異解析を実施し、疾患原因あるいは脆弱性に関連したゲノム構造変異や点変異を検出する。トリオで収集された検体の一部は、全ゲノム解析を行い、網羅的解析による変異の検出率を明らかにしたが、これらの解析の中で、WDR45 の変異患者を複数見いだした (4/45=8.9%、うち 3 例は Rett 症候群類縁疾患)。そこで今回、Rett 症候群類縁の症状を呈する女児患者を本バイオバンクより抽出し、改めて WDR45 について標的遺伝子解析をサンガー法にて実施した。

【結果】

知的障害 NCNP バイオバンクは、2022 年度までに 689 家系を収集した。その中からこれまでに原因遺伝子変異が明らかになっていない Rett 症候群類縁の症状を呈する女児症例 32 例を含む全 44 症例について WDR45 変異解析を行った。その結果、2 例に WDR45 の疾患原因変異を検出した (2/44=4.5%)。

1 例目は 4 歳女性で有意語獲得したが 1 歳で消失。手の常同運動あり。NM_007075.3:c.868C>T :p.(Gln290Ter)が見出された。本変異は既報告であり、ACMG 分類では、pathogenic である。2 例目は 12 歳の女性で、4 か月で筋緊張低下を指摘。6 か月で定頸獲得。1 歳 6 か月でんかん発症。以後精神運動発達なし。現在経管栄養、側弯を認める。NM_007075.3c.1051delG:p.(Val351Cysfs*60)が同定された。本変異は、未報告変異であり、ACMG 分類では、likely pathogenic となる。本例のように、乳児期早期から最重度の運動発達遅滞を呈する例はまれであり、貴重な症例と考えた。

【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 4 年はア

レイ CGH 解析に加えて、*WDR45* の標的遺伝子解析を実施した。44 症例の解析を行い、2 例に疾患原因変異を同定した。全ゲノム解析の 45 症例の結果と合わせて、89 症例中 6 症例にて *WDR45* 変異が見出された事になるが、これは全体の 6.7%となる。多くの知的障害原因遺伝子は、母集団に占める割合は低いことが知られており、*WDR45* は極めて頻度が高い原因遺伝子である可能性が示唆された。一方で、本バイオバンクにおいては、Rett 症候群およびその類縁疾患が疑われる症例の収集が多い可能性があり、この点は *WDR45* の変異率が高くなるバイアスになっている可能性がある。

【結論】

我々は、NCNP 知的障害バイオバンクの試料を用いて、疾患原因の究明のためのゲノム解析を継続的に実施している。現在はアレイ CGH 解析、ターゲット遺伝子解析、全ゲノム解析などを組み合わせて解析することで、効率的に疾患の原因変異の同定を試みている。将来的には、全ゲノム解析のみで、遺伝子内の SNV、疾患遺伝子を含む SV、さらにはイントロンや遺伝子間の領域の変異についても同定できるシステムの構築を目指している。遺伝学的解析データと臨床情報を比較検討・統合することで、科学的・臨床的に有用性の高いバイオバンクリソースを構築することが可能と考えている。

【発表論文】

1. Hashimoto K, Baba S, Nakagawa E, Sumitomo N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Abe-Hatano C, Inoue K, Iida A, Sasaki M, Goto YI. Long-term changes in electroencephalogram findings in a girl with a nonsense *SMC1A* variant: A case report. *Brain Dev.* 2022 Sep;44(8):551-557. doi: 10.1016/j.braindev.2022.04.011.
2. Akahoshi K, Nakagawa E, Goto YI, Inoue K. Duplication within two regions distal to *MECP2*: clinical similarity with *MECP2* duplication syndrome. *BMC Med Genomics.* 2023 Mar

6;16(1):43. doi:

10.1186/s12920-023-01465-3.

【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 バイオバンクが管理する精神・神経筋疾患のバイオリソースは、その質、量とともに世界最大級であり、広く医学研究で活用されている。本研究では、NCNP メディカル・ゲノムセンター (MGC) で管理されるゲノムデータ、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から、疾患原因遺伝子や新規病因性バリエーションの同定、発現量の差異などと臨床型の関連を明らかにする。

【背景と目的】

精神・神経筋疾患の原因の究明や根本的治療法の開発のため、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、統合し、臨床ゲノム情報基盤を構築すること (2) MGC 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こと (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を解析し、疾患原因遺伝子、疾患易罹患性遺伝子を同定する。独自の exome sequencing (exome seq) や whole genome sequencing (WGS)、さらには、long read WG、RNA sequencing (RNAseq) 用の解析パイプラインを構築して、病因性バリエーション、染色体構造異常の検出に使用した。一方、本研究は、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に準拠し、倫理面で最大限に配慮した。

【結果】

1) 炎症性筋疾患のゲノム・トランスクリプトーム解析

炎症性筋疾患は、骨格筋に原因不明の炎症、変性をきたす自己免疫疾患の総称で、例えば皮膚筋炎、封入体筋炎などに分類される。本研究では、炎症性筋疾患関連遺伝子を発見するためにトランスクリプトーム解析を行なった。今年度は、RNAseq に対応する様々ツールを組み合わせた独自の解析パイプラインを構築した。症例群、対照群に於ける全転写産物の比較により発現量に差のある約 30 種類の転写産物を見出した。その後、公共データベースのゲノム情報 (refseq など) を用いて各々の転写産物のゲノム構造を決定して、患者特異的なスプライシングを有する転写産物を同定した。現在、其々の転写産物について詳細な構造・

発現様式などを解析している。何段階かの解析スクリーニングを経て疾患関連遺伝子を絞り込む。

2) 精神・神経疾患バイオバンクにおけるゲノム情報を用いたデータサイエンティストの育成

臨床ゲノム実装のためにはゲノムデータサイエンティストの育成が必要であり、また、MGCはその責務の一端を担っていると考える。MGCで管理するゲノムデータ(exome seqなど)を用いて、臨床医研究者やテクニシャンを対象にゲノム情報解析を指導した。解析パイプラインは我々が構築したものを使用し、exome seqについてはベースコールからバリエーションコールまでの一連の解析が可能となった。加えて、WGSから染色体構造異常、リピート配列異常を検出可能になった。

【結論】

昨年度、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い、本年度はゲノム解析にトランスクリプトーム解析を併用することによって階層的体系的ゲノム解析の基盤が構築できた。

【考察】

MGCバイオバンク利活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と人材の育成が期待できる。

【発表論文】

なし

【学会報告】

1. Ogasawara M, Nishimori Y, Eura N,

Hashizume L, Miyazaki N, Sugie K, Hayashi S, Noguchi S, Iida A, Nishino I: Genotype-phenotype correlations in NEB-related myopathies. MYOLOGY 2022 (Nice Acropolis Congress Center), Nice, France, 9.14, 2022 (9.12-9.15) poster

【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】

欧米では小児期逆境体験 (Adverse Childhood experience ;ACE) が成人後に多くの内科系疾患や精神疾患の発症リスクを高める事が明らかになって来ている¹⁾。多発性硬化症 (MS) センターと連携して MS 患者や視神経脊髄炎スペクトラム障害 (NMOSD) 患者を対象として ACE とメンタルヘルスに焦点を当て、原疾患との関連も調べたところ、MS 群では ACE 得点は不安状態・うつ状態と有意な相関を認め、NMOSD 群でも ACE 得点は一部の不安状態と有意な相関を認めた。同時に多くの患者が不安状態・抑うつ状態にある事が示された。更に、MS では ACE 得点と発症年齢が逆相関 (ACE が高いほど発症年齢が下がる) することが分かった。

【背景と目的】

ACEs はエピジェネティックな変化を介して成人後も持続する生物学的修飾を生体に加えることが報告¹⁾されており、ACEs が中枢神経系炎症性脱髄疾患の発症や症状、付随する精神症状の発現に関連するリスク因子となる可能性がある。しかしながら、多発性硬化症 (MS) と ACEs に関する先行研

究では有意な関連性が示された報告²⁾と関連性を認めなかった報告³⁾があり、一定の見解は得られていない。また、先述の先行研究では ACEs と MS の関連 (発症率・重症度等) の検討が行われているが、精神症状との検討は行われていない。

さらに、MS 以外の中枢神経系炎症性脱髄疾患 (NMOSD 等) における検討や日本人における検討は我々の知る限り未だ存在しない。

【方法】

MS 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、神経症状を EDSS (Expanded Disability Status Scale)、認知機能 (現在) を SDMT (Symbol Digit Modalities Test)、認知機能 (病前) を JART (Japanese Adult Reading Test)、QOL 評価を SF-8 (SF8 Health Survey)、状態・特性不安症状を STAI (State-Trait Anxiety Inventory)、自覚的抑うつ症状を BDI-II(Beck Depression Inventory-2nd Edition) を用いて評価した。

【結果】

MS 群では ACE 得点は不安状態・うつ状態と有意な相関を認め、NMOSD 群でも ACE 得点は一部の不安状態と有意な相関を認めた。同時に多くの患者が不安状態・抑うつ状態にある事が明らかになった。更に MS では ACE 得点と発症年齢が逆相関 (ACE が高いほど発症年齢が下がる) を認めた。

【結論】

ACEs は中枢神経系炎症性脱髄疾患 (特に MS) の発症年齢や患者のうつ状態・不安状態に影響を及ぼす可能性が示唆された。

【考察】

CTQ-6 の総合得点は MS 群では不安状態・うつ状態と有意な相関を認め、NMOSD 群では一部の不安状態と有意な相関を認めた。同時に多くの患者が不安状態・抑うつ状態にある事が示された。抑うつ症状を有する MS 患者に対して抑うつに対する治療(非薬物療法:CBT/EFT)を行った所、抑うつ症状の軽減と身体障害(Guy 's Neurological Disability Scale⁴⁾による評価)の軽減が有意に関連していたという報告²⁾もある。これらの事から MS 等の中枢神経炎症性脱髄疾患には精神面に対するケアも重要であると考えられた。

【参考論文】

1. Zannas AS, Chrousos GP. Mol Psychiatry. 2017
2. Spitzer C, et al. Psychosom Med. 2012
3. Horton MK, et al. PLoS One. 2022
4. David C Mohr 1, Stacey Hart, et al. Health Psychol. 2007

【発表論文】

1. Madoka Mori-Yoshimura, Kazutaka Aizawa, Yoko Shigemoto, Naoko Ishihara, Narihiro Minami, Ichizo Nishino, Sumiko Yoshida, Noriko Sato, Yuji Takahashi: Frontal lobe-dominant cerebral blood flow reduction and atrophy can be progressive in Duchenne muscular dystrophy. ScienceDirect, Neuromuscular Disorders 2022 ; 32(6) : 477-485

【学会報告】

1. Yamada R, Fujii T, Hattori K, Hori H, Matsumura R, Kurashimo T, Ishihara N, Yoshida, Sumiyoshi T, Kunugi H: Discrepancy between clinician-rated and self-reported depression severity is associated with adverse childhood experience, autistic-like traits, and coping styles in mood disorders. WPA 2022 Thematic Congress on Intersectional Collaboration "New Horizons in Psychiatric Practice: Creative Ideas and Innovative Interventions" 2022, Malta, 2022.11.10

【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

国立精神・神経医療研究センター 病院
医療情報室 波多野賢二

緒言

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、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。医療機関に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蓄積され、臨床情報の二次利用の環境が整いつつある。本研究では、病院情報システムのデータと連携したバイオリソースデータベースの構築および、センター内外のレジストリ・データベースとの情報連携のための環境整備・課題検討を行う。

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を念頭に、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
ナショナルセンターにおいて、SS-MIX2 標準ストレージを活用した電子カルテ統合データベース（6NC-EHRs）が構築されている。その現状とバイオリソースデータベースと

の連携について検討を行う。

結果

- 1) 「難病の全ゲノム等解析に関するゲノム基盤実証研究」(AMED 難治性疾患実用化研究事業 研究代表者：国土 NCGM 理事長)として実施されている(1)。構造化診療録データ収集の基盤開発に参加し、文書管理システムに症例情報入力テンプレートを実装し、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を併せて開発した。
- 2) 当センター病院では、他の NC に先駆けて2021年度から6NC-EHRsへのデータ送信を開始し、約5万人分の患者臨床データをNCGMのデータセンターに送信している。データの二次利用に向けたデータ整備作業が進められ、積極的に参画している。

考察

従来SS-MIX2ストレージ経由の多施設レジストリが多く構築されてきたが、規格の古さゆえデータの管理に多くの課題があり、6NC-EHRsにおいてもデータ整備に多くの労量を費やしている。近年それに代わり最新の医療情報規格であるHL7-FHIRを用いたデータ収集が注目されている。今後のHL7-FHIRへの移行に向けた準備と対応が必要であると考えられる。

参考文献

1. 石井雅通、波多野賢二、美代賢吾. FHIRを用いた診療テンプレート情報標準化への取り組み. 新医療. 2022年6月.

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。本年度は、前年度に調査した「NCBNカタログDBにデータ提供困難な要因」をもとに、検体管理システムへの機能追加を実施した。新規項目のデータ登録および既存データの変換機能を開発し、カタログDBに格納可能なデータが生成できるようシステムを再構築した。

【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】

前年度に調査した「NCBNカタログDBにデータ提供困難な要因」から抽出した必要な開発・改修箇所をもとに、問診、病名、試料の各カテゴリについて、検体管理システムへの機能追加を行う。開発はClarif FileMakerを利用する。データ登録・見直しは当該システムで保有する1,793試料分について実施する。

1) 問診

登録機能が当該システムに存在しないため、登録機能を開発し、データ登録を行う。

2) 病名

標準病名コードであるICD-10、MEDIS管理番号を付与する機能を開発し、データ登録を行う。併せて既存で登録されている病名の見直しを行う。

3) 試料

分注情報を1レコード1分注情報として登録できる機能を開発し、登録データの見直しを行う。

【結果】

1) 問診登録機能として、テーブル/レイアウト作成およびエラーチェックスクリプト

ト等を開発した。データ登録は、バイオバンクシステムに登録されている問診データのある同一被験者については、髄液採取日と問診聴取日の前後関係からデータ調整を行い、検体管理システムの間診データとして取り込んだ。問診データのない被験者は疾病三部の臨床情報あるいは電子カルテを利用して調査を行いデータ登録した。

2) 病名登録機能として、テーブル/レイアウト、標準病名コードを含めた病名マスタ作成およびリピータ被験者の前回登録病名反映スクリプト等を開発した。検体管理システムは「疾病三部由来の病名」と「フリーテキスト入力病名」を二元的に登録しているため、今回の病名登録レイアウトに一同に配置して視認性を高めた。データ登録は、問診と同様にバイオバンクシステムに登録のある同一被験者を抽出し、その病名データと検体管理システムの既存登録病名を照合して妥当な病名を登録した。バイオバンクシステムに登録がない場合、検体管理システムの既存登録病名、疾病三部の臨床情報や電子カルテを利用して調査を行いデータ登録した。既存登録病名についても見直しを行い、検体管理システムとバイオバンクシステムの病名に齟齬がないよう修正登録を実施した。

3) 試料登録機能として、テーブル/レイアウト作成、分注レコード変換スクリプト等を開発した。独自の登録方式であった既存分注データを1レコード1分注情報として変換・生成し、それらを自動的にボトムアップして1採取ごとの情報を生成する機

能を追加した。生成されたデータ 43,588 件から、分注量誤入力など不備のあるデータ 260 件について紙媒体や現試料との突合せ調査を行い、登録データを修正した。

【考察】

本年度は、NCBN カタログ DB へのデータ提供を目的として、昨年度の調査結果をもとに検体管理システムへの機能追加およびデータ登録等を行った。病名のデータ登録では、バイオバンクシステムと検体管理システム間で登録内容の齟齬が見られ、また検体管理システム内でも内容が異なっていた。今回のデータ登録を機にいずれのシステムについてもデータ修正できたことは、データ間の整合性を高め、品質の向上に繋がったと考えられる。試料のデータ登録では、独自のデータ形態から汎用性のあるデータ形態への変換機能を開発、既存登録データの見直しを行った。既存登録データの不備は当初の想定よりも少なく、当年度内にデータ正常化が実施できた。

今後は、既にデータ提供しているバイオバンクデータと今回作成したデータを統合する必要がある。複数のプログラムを介するため、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

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】

バイオバンクの活用を高める上で、産業界のニーズへの対応のあり方は、課題であり続けてきた。とりわけ、医療・学術機関の関係者を中心に設計され、かつ運営されてきた日本のバイオバンクにとって、目的も理念も異なる産業活動との連携について、個々のバンクごとに試行錯誤を強いられることが多々ある。本報告で検討した血液法の特例、特に「研究用具」概念の新設とそのための試料提供の諸要件をめぐる議論は、これまでの国の倫理方針で手薄であった、産業活動目線での人組織の利用形態に対応する貴重な議論であり、参考になる。一方、法改正以降、従来の規定や要件を受け継ぐ文書が定まらず、これを補う行政対応が待たれる。

【背景と目的】

現在の国の倫理指針の多くは、研究結果に至る活動の透明性や個々の研究者の強いリーダーシップを強く求める点において、やはり学術研究を主に想定した内容となっている。一方で、企業の研究開発で想定され

る用途とは多くのギャップがある。例えば、これから研究計画を立てる前段階としてヒト組織での反応をテストする、いわゆる「お試し使用」などは、研究計画もなければ、結果が公開されることも想定されていない。こうしたニーズに対応する試料は海外から購入してくることも多く、一方で国内では関連するガイドラインがないことなど（それゆえ、リスクを避ける観点から、国内に由来するヒト組織の活用に慎重な雰囲気を招くなど）、ヒト組織が由来をめぐって実質的なダブルスタンダードが生じている。

近年、日本のバイオバンクについて、企業のニーズに対応した（学術活動ではなく、企業の研究開発に用いるものとして）供給ができないか、問い合わせも増えている。こうしたニーズがありつつ、学術機関・医療機関が主となって設置されるバイオバンクにおいて、参考となる公的な指針が見あたらず、対応が苦慮される場所である。

本研究では、この議論の手がかりとして、令和元年（2019年、翌年に施行）の血液法改正の背景となった「国家戦略等別区域法及び構造改革特別区域法の一部を改正する法律」（平成27年7月15日）とその際に示された「国家戦略特別区域法血液由来特定研究用具製造事業の実施に係る留意事項等について」（薬食血発0901第1号、2015年9月1日）を素材に検討を行った。

【方法】

ヒト試料を（非アカデミア領域を含む）研究開発の「試薬」「試料」として用いること

への同意について、近年の血液法改正における「研究用具」とそのための血液提供めぐる議論を参考に検討した。検討対象は、主に上記の特例法および通知である。なお、現在はこれらいずれも廃止され、2019年の血液法改正に結実している（ただ、そのこと自体も論点であることは後述する）。

【結果】

報告者が、この血液法改正に注目したのは、この改正がまさに治療・移植利用でもなく、学術活動でもない、「研究開発に用いる物」を想定した規定を設けたことにある。議論の嚆矢となったのは、この法改正の前身となった、「国家戦略特別区域法（平成25年法律第107号）第20条の3の安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律の特例」である（なお、この特例はこの血液法の法改正によって「医薬品、医療機器又は再生医療等製品の研究開発に用いる物等の原料とする目的での採血が可能となったことに伴い」廃止されている）。この下線部がいわゆる「研究用具」とされるものである（以上、出典は「安全な血液製剤の安定供給の確保等に関する法律第12条に規定する採血等の制限の考え方について」の一部改正について」（薬生血発0826第3号、令和2年8月26日）である。下線部は著者による）。

特に注目されるのが、この特例において、「研究開発に用いる物」としての研究用具目的での血液提供を想定して、提供時の要件が設定されていた点である。抜粋すると、

①取得する同意・説明の内容、②代諾（被採血者の親権を行う者、配偶者、後見人その他これらに準じる者）、③撤回機会の確保、記録の作成と保存、④必要最小限の採血・健康害への対応、⑤外部委員を含む「倫理審査委員会」の設置・会議記録の公表、その他（製造体制に関する要件、提供に関する手順書作成と病院等への交付、苦情・問い合わせ対応など）である。

【結論】

バイオバンクの活用を高める上で、産業界のニーズへの対応のあり方は、一つの課題になる。とりわけ、長らく医療・学術活動を想定して取り組んできた日本のバイオバンクにおいて、目的も方式も異なる産業活動との連携には、倫理面に関する明確な方針が示されていないことも多く、個々のバンクごとに試行錯誤を強いられることが多々ある。本報告で検討した血液法の特例は、こうした産業活動の一つの利用形態に対応する貴重な議論であり、参考になる。一方、法改正以降、これらの要件の行方が見当たらないままであり、これを補う行政対応が待たれる。

【考察】

この議論は、アカデミアでもなく、治療そのものへの直接の利用でもない、産業・研究開発目的での生体試料の取り扱いにとって大いに参考になる手順である。この領域に特化した公的文書が日本にはなかったからである。一方、主に法的・倫理的・社会

的課題として、次のような問題も指摘できる。

1. この特例の廃止後の諸要件の行方が定まっていない。

一番大きな課題は、この特例が廃止されて以降、ここで示されていた上記の①から⑤の諸要件がどうなったのか、経過を追う資料がない点である。この特例は、その後、先述の血液法改正によって全国に展開されて今日に至る。内閣府においても「・・・これにより、これまで国家戦略特区において「血液由来特定研究用具製造事業」として実施していた特例が全国展開され、ヒトの血液から疾病の治療に関する研究用具を製造することが全国で可能となりました。」とされている（内閣府「血液由来特定研究用具製造事業（iPS細胞から製造する試験用細胞等への血液使用の解禁）の全国展開について」。 <https://www.chisou.go.jp/tiiki/kokusentoc/r021008.html>、令和2年10月8日）。そのとおりであるなら、上記の要件もそのまま活用されることになるのであるが、これらの要件はすべて法の規定から消えた上、血液法にも対応する要件が登場しない。

血液法に基づく当該活動にそのまま当てはまると考えるべきか、廃止された以上、ゼロから考えるものとして位置付けられるのか。この段階に対応した指針文書がなかなかないだけに、旧・特例のこれらの要件は貴重なものであった。これらの要件をめぐる大きな反発も問題も生じていなかった

とみられることから、当該活動に一定の秩序を持たせるためにも、これらの方針の行方は気になる。あるいは、仮に問題があったとしても、どこに問題があり、どう変えるべきであったのか、そうした論点をもとに、これらの要件は見直され、改めたものが示されるべきであった。

報告者としては、他の文書によって新たな要件が定められない限り、一定の「参考」になる文書と考えるが（関連当局は、「研究用具」に関する同意取得の手順など、最新の要件を示すべきであろう）、それでもあくまで参考の域を出ない。

2. 「研究用具」の範囲・定義

「研究用具」と称されるが、「研究」も「用具」も射程が定まらない。そもそも、血液を研究開発の試料として用いることを「研究用具」と称することについて、どれほど認知度があるだろうか。この用語自体も概念的に曖昧である。研究用具であると利用者・収集者が自称さえすれば、すべて「研究用具」と言えるのだろうか。

3. 倫理審査委員会の議論の方向性

旧・特例では、「原料となる血液の採取」「血液由来特定研究用具の製造」について、「倫理審査委員会」による意見を経ることとされていた。旧・特例では、一定の利害関係を調整すること以上に、複雑な構成要件は示されていない。そのため、既存の国の倫理指針にもとづく倫理審査委員会に、こうした研究用具の製造・原料採取に関す

る議論を委ねる場面も多々生じることと思われる。一方、こうした委員会には、「研究用具」に関する議論のための研修機会や情報提供が不可欠になるだろう。ただ、従来の国の倫理指針と異なり、「研究用具」に関する審査や意見の基準をどこにおくか、明確な方針は示されてこなかった。一般的な倫理審査では議論のコアになるような、「研究計画」自体も存在しておらず、運営も議論の目的も手探りになるのではないだろうか（同意取得のプロセスの妥当性などを検討することが出発点になるだろうか）。

4. 代諾者の立ち位置

この文書は、「研究用具」の製造に用いる血液を収集する際、本人に代わる代諾者の存在を肯定している。しかし、本人の利益も想定しやすい治療や治療的研究の場合でも「代諾」の妥当性をめぐる議論がある中、どうして、研究用具の開発の場合には代諾が広く許容されるのか。現行の血液法では、研究用具は「医療の質又は保健衛生の向上に資する物」として位置付けられている。この点と、代諾とをつなぐ議論がその後どうなっているのか、現行の血液法にも記載が登場しない。一方、血液法には「貧血者、年少者、妊娠中の者その他の採血が健康上有害であると認められる者から採血してはならない。」(第25条)とある点との関連も不透明である。血液法改正・特例廃止に伴って、従来の特例法に存在していた代諾規定がどのようになったのか、その点も不明確である。

【発表論文】

Inoue Y, Masui T, Harada K, Hong H, Kokado M. Restrictions on monetary payments for human biological substances in Japan: The mu-shou principle and its ethical implications for stem cell research. *Regenerative Therapy* 23 1-7 2023年6月

井上悠輔、死後の試料・データを用いる研究活動と倫理：今日のルールと今後の課題、精神科、40(4)、466-471、2022年4月

【学会報告】

井上悠輔. □体に由来する細胞・組織をめぐる倫理と規制：諸原則と□本の状況の確認（シンポジウム「創薬開発研究における患者由来腫瘍移植モデル（PDXモデル）の利活□の現状と倫理的な課題に対する対応」）. 第43回日本臨床薬理学会学術総会 2022年11月30日.

井上悠輔. ヒト組織の利活用と流通をめぐるELSI（シンポジウム18 再生医療学会が果たすべき倫理的・法的・社会的課題）. 第22回日本再生医療学会総会 2023年3月24日.

【知的所有権の出願・登録状況】

なし

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 will maximize the use of NCNP's unique system for handling research resources (muscle, spinal fluid, etc.) and expand the provision of samples to research projects that develop new diagnostic biomarkers and treatment methods. We will continue activities that serve as a foundation for promoting genomic medicine, addressing both diseases with large numbers of patients, such as intellectual disability and dementia, and rare diseases, such as neuromuscular diseases. In recent years, the genomic information of biobank samples has been analyzed on a large scale, increasing the scientific usefulness of bioresources. Biobank business, which promotes the provision of samples and information, will contribute to the promotion of clinical research, is the goal.

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. Research methods

- (1) Expansion and integration of NCNP biobank (Goto, Hattori)
- (2) Standardization of bank systems (Hattori, Hatano, Matsumura)
- (3) Collaborative activities with 6NC and all Japan biobanks (Goto, Hattori, Iida)
- (4) Promotion of utilization of bioresources (Yoshida, Iida, Ken Inoue, Yusuke Inoue)

4. Results

(1) Expansion and integration of NCNP biobank

As of the end of 2022, 22,465 cases of frozen skeletal muscle (R4: 1119 cases), 2,216 cases of cultured cells (R4: 63 cases), 6,465 cases of cerebrospinal fluid (R4: 278 cases), 9316 cases of plasma (R4: 1015), 7727 sera (R4: 970), 10868 DNA samples (R4: 2041), and 431 surgical brain tissues (R4: 106).

In addition to incorporating the MGC muscle repository and intellectual disability bank within the NCNP, research projects at specialized disease centers (dementia center, epilepsy center, mood disorder center), NCNP hospitals and research institutes (research using surgical brain, CSF Biomarker research, PET research, photopot research, etc.) are expanding collaborative activities. At that time, the NCNP Biobank is basically responsible for obtaining consent, transporting and processing samples, performing preliminary examinations and symptom evaluations on mental status, research tests, blood collection, lumbar puncture, storage for reexamination, etc as necessary.

We are also considering cooperation with the NCNP brain bank, aiming to standardize procedures for sample provision.

② Standardization of bank systems

The standardization of bank system operation has become a global trend for the purpose of ensuring the scientific quality of biological samples. The NCNP Biobank is the core of our country, and Hattori, a co-researcher, works as a member of the Japanese Committee on ISO standards, translating related standards documents into Japanese and promoting their dissemination. We proceeded with facility maintenance, system maintenance, and document maintenance in NCNP biobank. From the 2021 academic year, one person will become a full-time researcher with a competitive research grant. In addition, it is planned to have four full-time employees in the near future. This activity was shared with other NCs through the Quality Control WG of the National Center Biobank Network.

In addition, Hattori has been selected as a research subject (Ministry of Economy,

Trade and Industry) regarding domestic standardization (JIS).

③ Collaborative activities

Participating in the National Center Biobank Network Project (NCBN), the AMED Genomic Medicine Realization Promotion Platform Project (Genome Research Platform Utilization System) (Ogishima Group), etc., and plays a central role in the all-Japan biobank business. On the other hand, in the research related to genomic medicine based on these biobanks, control genome analysis, whole genome analysis project for intractable diseases, GAPFREE4 of AMED research project, etc are progressing.

④ Promotion of utilization of bioresources

In order to respond to ISO 20387, we have created procedure manuals, human resources training, and prepared for the pilot review by the Japan Accreditation Board. We were able to provide 43 cases similar to the number of last year.

5. References

- 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 Mar; 65(3):104446.2)
- 2) Nakatsu D, Kunishige R, Taguchi Y, Shinozaki-Narikawa N, Osaka K, Yokomizo K, Ishida M, Takei S, Yamasaki S, Hagiya K, Hattori K, Tsukamoto T, Murata M, Kano F. BMP4-SMAD1/5/9-RUNX2 pathway activation inhibits neurogenesis and oligodendrogenesis in Alzheimer's patients' iPSCs in senescence-related conditions. *Stem Cell Reports* 18:688-705,2023 Mar

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

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

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

佐久間寛之 国立病院機構さいがた医療センター

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

高橋由布子 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

宮崎泰 国立病院機構さいがた医療センター

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、事務員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

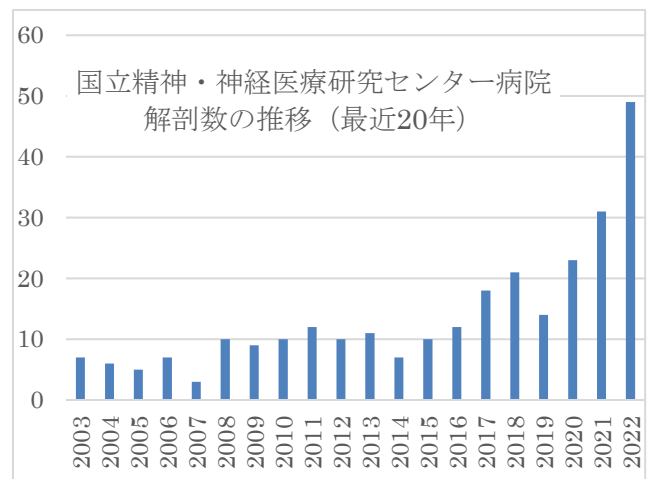
⑩保管方法の改革

⑪Long-COVID-に関する研究

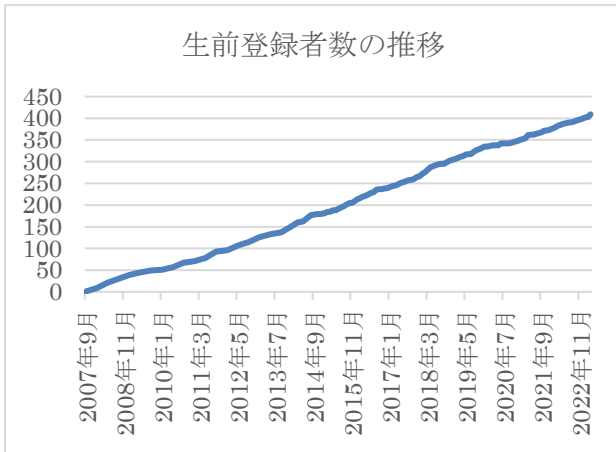
【研究成果】

(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4年度、病理解剖・バンク登録数は49例であった。昨年度は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年で最高数の解剖数31を行ったが、それをさらに大幅に上回る結果となった。生前登録例の解剖数は13例だった。現在までのバンク登録数:297例(=バンク同意の整備以降2008~2022:192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4年度の登録者数26、撤回数2例(2007年9月~2023年3月31日までの登録者数:生前登録409例。同期間の撤回者数17名;転帰を含め追跡困難例18名;病理解剖症例数55例、病理解剖未施行例数16例)。本年度26例の登録のうち、精神科疾患が4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14例で、本年度は5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（てんかん）1例、分担研究者の慶應義塾大学精神科の関連病院である駒木野病院から4例あった。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（国立刀根山医療センター、新潟大学、国立宇部医療センター）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（合計17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15件、NCNP内では5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年度以来、Web体制を整えて新たなCPC形式として継続している。

令和4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年度から引き続き、完全動画としてyoutubeで公開を行った（下記にパンフレット）。



・ 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。2022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13例の解剖を当院で行った。すべて院外からの搬送剖検であった。関東地方（東京・埼玉・神奈川）8例、他に大阪府3例、北海道1例、岡山県1例の搬送剖検を行った。連携している美原記念病院バンクで10例の解剖・登録があり、合計23例のプリオン病剖検が当方で施行されたことになる。プリオン病センターとしての役割を担っている。

さらに外部施設からのプリオン病のブレインカッティングの依頼が2例あり、当院で行った（横浜市立大学附属病院、甲府市立病院）。感染対策による解剖手技を共有し、解剖可能施設の確認と症例増加に繋がった。

・ 関係施設の拡充

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、多くのバンク登録例を新たに得ることとなった。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、令和4年度に国立病院機構宇部医療センターで病理解剖を行った。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。

- ・ センター病院各科との共同運営（剖検に関して）
院内各科（精神科・小児科・脳神経内科・総合内科・脳神経外科・外科）の診療を経た例の剖検は20例あった。院内死亡例が14例、院外からの搬送剖検が6例であった。

- ・ 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。令和4年度は分担施設の関門医療センターにおいて110歳以上の女性病理解剖1件施行した。

- ・ 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。

令和4年度は、神経病理学会第1回認定医試験に当方から2名が挑み、2名とも合格し認定医となった。

- ・ 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年度から支援頂いていた医師かつ弁護士が令和3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ている。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。主任が高尾に変更後、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、本年度から、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4年度に6例追加され、2023年4月現在、14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．後遺症外来を継続して，その成果を論文として公開し，後遺症外来における罹患後症状の特性を明らかにした．令和3年度に研究分担者として加わった，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からの研究成果も目覚ましい．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，今年度は41名であった．9例についてはブレインバンク医師（水谷）が実際に面接（電話含む）を行い，主治医の承諾を得た上で，2名がブレインバンク生前登録に至った．今年度の精神疾患を主とする解剖人数は，7名であった．7例の疾患内訳は，Alzheimer型認知症3例，てんかん2名，統合失調症1例，混合性認知症1名である．また，他院通院中の患者16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患者の剖検実施は7例であった．内訳は，大脳皮質基底核変性症2例，脊髄小脳変性症2例(SCA6, MJD/SCA3)，核内封入体病1例，筋萎縮性側索硬化症1例，白質脳症1例であった．大脳皮質基底核変性症の剖検例2例に関しては，(18)F-THK5351 PETと比較して画像病理関連を検討して論文発表した．脳神経内科の上級専門修練医1名が病理研究を継続し，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．さらに，MIBG心筋シンチグラムでH/M比の低下を認めた進行性核上性麻痺の詳細な病理学的検討を行い，心臓交感神経には病

理的に脱落を認めないことを明らかにした．現在論文執筆中である．

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し，ブレインバンク登録に向けた環境の整備を進めた．

2022年4月1日～2023年3月31日まで総手術件数は130件あり，高齢者の正常圧水頭症に対するシャント術が1件，不随意運動疾患に対するDBS植え込みが6件，同疾患の電池交換術が12件あった．65歳以上の患者は，全手術中30件（23.1%）であった．R4年度のブレインバンク生前登録患者はいなかった．

佐藤典子（国立精神・神経医療研究センター病院放射線科）：現在までに計14例（PD3例，CBD3例，以下各1例；LATE+PART, HDLS, SSPE, Pompe病, NIID, 白質脳症，痙攣後脳症，ALS）の剖検脳MRI撮像を行った．撮像シークエンスについて検討した結果，T1強調画像では基底核や視床は生前とは異なり高信号を呈し，死後変化が示唆された．プロトン密度強調画像では生前のプロトン密度強調画像と類似した画像が得られ，皮髄境界や基底核の評価に適すると考えられた．FLAIR画像では白質の信号は低下し，白質の異常信号の評価に適すると考えられた．位相差画像は生前と同様に鉄沈着は低信号を呈し，また，病理標本のKB染色と類似した画像が得られU-fiberの描出にも優れていた．生前脳と剖検脳のMRIを比較したところ，以下の結果が得られた．①生前脳でみられた脳室周囲の高信号域は剖検脳では縮小し，虚血や梗塞ではなく非特異的な高信号が示唆された．一方で陳旧性小梗塞のサイズは生前脳と剖検脳で著変なく，剖検脳では生前脳より明瞭にみられた．②生前脳と剖検脳で脳梁の萎縮の程度に乖離がみられる症例とみられない症例を認めた．

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）：当センター脳神経小児科では，この1年間で4例の病理解剖を実施することができた．ま

たこれ以外に当科と当院脳神経外科に通院中だった患者が他院で死亡した際に、担当病院より当院へ解剖依頼があり実施してもらうことができた。当科の関連した病理解剖はこの2年間で合計7例となった。女屋光基（下総精神医療センター）：

本年度は、4件を解剖することができた。その症例は、①68歳の妄想性障害の女性、②75歳の脳血管性認知症の女性、③69歳の前頭側頭型認知症に筋萎縮性側索硬化症を合併した症例、④70歳の右脳出血後の脳血管性認知症の症例である。昨年はアルツハイマー型認知症の症例1例のみであり、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3症例を解剖した。

尾方克久（東埼玉病院）：2022年度に当院では神経筋疾患患者の剖検が2件行われ、いずれも遺族の同意に基づき脳等の一部を超低温槽に凍結保存した。プリオン病患者の剖検はなかった。筋生検は3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樞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た。

二村直伸（兵庫中央病院）：1）剖検；本年度は残念ながら該当症例がなかった。クロイツフェルト・ヤコブ病の剖検依頼が数例あったが受け入れできなかった。2）生前登録；該当症例なし。3）COVID-19流行下での剖検体制の構築。

村田健一郎（関門医療センター）：令和4年度は病理解剖1件施行した。当時世界最高齢の119歳の女性であった。既往に膵癌・大腸癌が指摘されていたが、再発所見はなかった。腫瘍性疾患として、肺癌・肺原発の低悪性度B細胞性リンパ腫・胃のGISTを認め

た。大血管の動脈硬化は軽度で、脳血管も同様であった。心室心筋層に、軽度であるが、トランスサイレチン由来のアミロイド沈着を認めた。以前、剖検した5症例について、心臓にDFS染色を追加して、内4症例にアミロイド沈着を認めた。

美原盤（美原記念病院）：2022年度は12症例の解剖を行い9症例は依頼解剖であった。プリオン病の解剖は10件、慶應義塾大学の百寿総合研究センターと協力し超百寿者の解剖を1件、脳出血後後遺症を1件行った。解剖は行ったが家族の希望によりブレインバンクへの登録ができなかった症例が1件あった。解剖事前同意に関して、当院の活動が評価され紹介の形で県外からの希望者本人より問い合わせをいただいた。

佐久間寛之（さいがた医療センター）：新規の生前同意登録は該当者なしであり、実施されなかった。また死後脳提供についても同様であり、実績は得られなかった。当分担研究班では全体449例、凍結283例という多大な保有症例を有しており、当面はこれらの補完、整備を行っている。

尾崎紀夫（名古屋大学）：研究分担者の研究室では、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てきた。今年度は、COVID-19感染後に摂食障害症状を呈した小児例、を経験した。昨年度までに経験したCOVID-19患者（参考文献1）を含めてCOVID-19後遺症患者を4例の全ゲノムシーケンスを実施し、COVID-19罹患後の精神神経症状のリスクバリエーション同定の試みを継続している。病態解明研究としては、COVID-19後遺症に関与しうる炎症性サイトカインの存在下で、健常者iPS細胞由来神経細胞の突起伸長の低下を認めた。また健常者及び22q.11.2欠失患者由来リンパ芽球様細胞株に対するリポポリサッカライド刺激後の炎症性サイトカインmRNA発現量変化を確認した。

渡辺宏久(藤田医科大学医学部脳神経内科学): 2022年度は、オミクロン株による Long COVID もしくはワクチン接種後に新たに出現した神経系に関連した症状への対応が主体となった。ワクチン接種後に一部の症例で急性散在性脳脊髄炎をはじめとする免疫療法を必要とする症例が存在した。Long COVID を疑う症例で免疫療法を行った症例は無かった。一方、複数の危険因子を有する脳梗塞後遺症や進行期パーキンソン病症例で、COVID-19に伴う感染は改善したにもかかわらず、自己免疫性脳炎の合併や、全身状態の悪化で死亡した2例を経験した。1例は剖検を取得した。さらに、functional neurological disorder (FND) と診断した症例も複数認めた。明らかにFNDのみの症例から、来院時に立ちくらみ、眩暈感、羞明を含めた複数の身体症状を訴え、臨床的に postural orthostatic tachycardia syndrome (POTS) を満たし、補液と水分摂取で起立時の頻脈症状が改善後、他の症状はPOTSを契機に、過剰なネット情報の収集や、周囲からの助言が重なった結果生じたFNDとし、認知行動療法的なアプローチを行うことで復職や復学に至った症例も存在した。また、集中治療室における身体抑制とその後の複数の対症療法による副作用と考えられる症状をLong COVIDと考へて来院した症例もあり、適切な神経学的評価に基づいた病状説明により改善した症例も認めた。データベースに関しては、COVID-19に非感染の健常者ならびに、オミクロン株によるLong COVIDもしくはワクチン接種後症例の血清ならびに血漿を高品質に保管するとともに、疾患関連血液マーカーの開発を推進した。

三村将(慶應義塾大学医学部精神神経科学教室)
当教室の関連精神科病院より4例、NCNPへの搬送並びに解剖が実施された。また下総精神医療センターにおいて4例(前頭側頭型認知症1例、前頭側頭型認知症+筋萎縮性側索硬化症1例、意味性認知症1例、血管性認知症1例)が、病理解剖の上ブレインバンクに組み入れられた。

【研究成果刊行一覧】

(主任研究者) 高尾昌樹

1. Zhou Y, Tada M, Cai Z, Andhey PS, Swain A, Miller KR, Gilfillan S, Artyomov MN, Takao M, Kakita A, Colonna M. Human early-onset dementia caused by DAP12 deficiency reveals a unique signature of dysregulated microglia. *Nat Immunol.* 2023 Mar;24(3):545-557. doi: 10.1038/s41590-022-01403-y.
2. Inoue M, Noguchi S, Inoue YU, Iida A, Ogawa M, Bengoechea R, Pittman SK, Hayashi S, Watanabe K, Hosoi Y, Sano T, Takao M, Oya Y, Takahashi Y, Miyajima H, Wehl CC, Inoue T, Nishino I. Distinctive chaperonopathy in skeletal muscle associated with the dominant variant in DNAJB4. *Acta Neuropathol.* 2023 Feb;145(2):235-255. doi: 10.1007/s00401-022-02530-4.
3. Mizutani M, Sano T, Ohira M, Takao M. Neuropathological studies of serotonergic and noradrenergic systems in Lewy body disease patients with delusion or depression. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2022 Sep;76(9):459-467. doi: 10.1111/pcn.13436.
4. Handa T, Sasaki H, Takao M, Tano M, Uchida Y. Proteomics-based investigation of cerebrovascular molecular mechanisms in cerebral amyloid angiopathy by the FFPE-LMD-PCT-SWATH method. *Fluids Barriers CNS.* 2022 Jul 1;19(1):56. doi: 10.1186/s12987-022-00351-x.
5. 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.

6. Shimohama S, Iizuka T, Takizawa T, Watanabe N, Tezuka T, Matsuda K, Yamanoi K, Kanazawa N, Kawamura Y, Yoshikawa T, Suzuki T, Takao M, Nakahara J, Izawa Y. Anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis with concurrent human herpes virus-6A deoxyribonucleic acid detection: An autopsy case. *Neuropathology*. 2022 Nov 8. doi: 10.1111/neup.12881.
7. 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 May;605(7909):310-314. doi: 10.1038/s41586-022-04650-z.
8. 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. Sano T, Ohira M, Sato W, Takao M. Longitudinally Extensive Spinal Lesion of Subacute Combined Degeneration. *Intern Med*. 2022 Jun 7. doi: 10.2169/internalmedicine.9497-22.
9. Takao M, Ohira M. Neurological post-acute sequelae of SARS-CoV-2 infection. *Psychiatry Clin Neurosci*. 2023 Feb;77(2):72-83. doi: 10.1111/pcn.13481. Epub 2022 Oct 17.
10. Sano T, Ohira M, Mizutani M, Segawa K, Takao M. Brainstem Infarction Presenting with Trigeminal Neuralgia and Bell's Palsy. *Am J Med*. 2023 Jan;136(1):e9. doi: 10.1016/j.amjmed.2022.08.036. Epub 2022 Sep 23.
11. Ohira M, Sano T, Takao M. Clinical features of patients who visited the outpatient clinic for long COVID in Japan. *eNeurologicalSci*. 2022 Sep;28:100418. doi: 10.1016/j.ensci.2022.100418. Epub 2022 Jul 29. PMID: 35919910
12. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract*. 2022;9(4):508-15.
(分担研究者) 高橋祐二
1. Saitoh Y, Imabayashi E, Mizutani M, Tsukamoto T, Hasegawa M, Saito Y, Matsuda H, Takahashi Y. (18)F-THK5351 PET for visualizing predominant lesions of pathologically confirmed corticobasal degeneration presenting with frontal behavioral-spatial syndrome. *J Neurol*. 2022;269(9):5157-61.
2. Nishikawa N, Murata M, Hatano T, Mukai Y, Saitoh Y, Sakamoto T, Hanakawa T, Kamei Y, Tachimori H, Hatano K, Matsuda H, Taruno Y, Sawamoto N, Kajiyama Y, Ikenaka K, Kawabata K, Nakamura T, Iwaki H, Kadotani H, Sumi Y, Inoue Y, Hayashi T, Ikeuchi T, Shimo Y, Mochizuki H, Watanabe H, Hattori N, Takahashi Y, Takahashi R, Japan Parkinson's Progression Markers Initiative study g. Idiopathic rapid eye movement sleep behavior disorder in Japan: An observational study. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022;103:129-35.
3. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y,

- Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract.* 2022;9(4):508-15.
- Hama Y, Date H, Fujimoto A, Matsui A, Ishiura H, Mitsui J, Yamamoto T, Tsuji S, Mizusawa H, Takahashi Y. A Novel de novo KIF1A Mutation in a Patient with Ataxia, Intellectual Disability and Mild Foot Deformity. *Cerebellum*. Online ahead of print.
 - Hama Y, Saitoh Y, Imabayashi E, Morimoto Y, Tsukamoto T, Sato K, Kitamoto T, Mizusawa H, Matsuda H, Takahashi Y. (18)F-THK5351 positron emission tomography imaging for Gerstmann-Straussler-Scheinker disease. *Journal of the neurological sciences.* 2022;441:120379
 - 高橋 祐二. 治療法の再整理とアップデートのために 専門家による私の治療 脊髄小脳変性症, 多系統萎縮症. *日本医事新報*, no. 5145 (2022.12 2022): 42.
 - 高橋 祐二. 脊髄小脳変性症研究の進歩. *MDSJ Letters* 15, no. 1 (2022.06 2022): 1-3.
 - 高橋 祐二,水澤 英洋.精神・神経トピックス(10-6)運動失調症の全貌解明をめざす患者登録研究 J-CAT. *医療の広場* 62, no. 2 (2022.02 2022): 4-9.
 - 高橋 祐二. (Iii 章)運動系の障害 脊髄小脳変性症. *脳神経内科学レビュー 2022-'23* (2022.03 2022): p. 140-47.
 - 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)*
 - 高橋 祐二. Prodromal LBD J-PPMI から見えてくるもの.第 16 回パーキンソン病・運動障害疾患コンgres (2022.07): 72.
- (分担研究者) 岩崎真樹
- Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Movement Disorders Clinical Practice.* 2022;9(4):508-15. doi: <https://doi.org/10.1002/mdc3.13442>.
 - 木村唯子、大森まゆ、岡田俊、金生由紀子、開道貴信、梶田泰一、上村鋼平、岩崎真樹. 重度かつ難治のトゥレット症候群に対する脳深部刺激療法の効果に關与する因子. *機能的脳神経外科* 61: 97-102, 2022
 - Kosugi K, Yoshitomi M, Takayama Y, Iijima K, Kimura Y, Kaneko Y, Toda M, Iwasaki M. Safety, Feasibility, and Efficacy of Additional Extraventricular Anterior Commissurotomy With Corpus Callosotomy. *Oper Neurosurg (Hagerstown).* 2023 Feb 1;24(2):e68-e74. doi: 10.1227/ons.0000000000000478. Epub 2022 Nov 4. PMID: 36637309.
 - Takayama Y, Ikegaya N, Iijima K, Kimura Y, Kosugi K, Yokosako S, Kaneko Y, Yamamoto T, Iwasaki M. Is Hippocampal Resection Necessary for Low-Grade Epilepsy-Associated Tumors in the Temporal Lobe? *Brain Sci.* 2022 Oct 12;12(10):1381. doi: 10.3390/brainsci12101381. PMID: 36291315; PMCID: PMC9599302.
 - Takayama Y, Kimura Y, Iijima K, Yokosako S, Kosugi K, Yamamoto K, Shimizu-Motohashi Y, Kaneko Y, Yamamoto T, Iwasaki M. Volume-Based Radiofrequency Thermocoagulation for Pediatric Insulo-Opercular Epilepsy: A Feasibility Study. *Oper Neurosurg (Hagerstown).* 2022 Sep 1;23(3):241-249. doi: 10.1227/ons.0000000000000294. Epub 2022 Jun

14. PMID: 35972088.
6. Ikegaya N, Iwasaki M. Vascularization of the Insula: Key points for Safe Epilepsy Surgery. In: Nguyen D, Isnard J, Kahane P (eds.), *Insular Epilepsies*. Cambridge University Press, pp. 26-30, 2022.
 7. 岩崎真樹. 大脳半球切除術と大脳半球離断術. *脳神経外科* 51(1): 126-132, 2023
 8. 岩崎真樹. てんかんの外科治療. 福井次矢、高木誠、小室一成編: 今日の治療指針 2023 年版 医学書院 2023, pp. 973
 9. 池谷直樹、岩崎真樹. *Insula* の構造と機能. *Epilepsy* 16(2): 82-84, 2022
 10. 岩崎真樹. てんかんに対する定位的外科. 鈴木則宏、荒木信夫ら編: *Annual Review 神経* 2022 中外医学社 2022, pp. 319-325
 11. Iwasaki M, Takayama Y, Iijima K, Kimura Y. Stereotactic radiofrequency thermocoagulation for insulo-opercular focal cortical dysplasia. *International Society on Minimally Invasive Neurosurgery (ISMINS) Congress 2022*. Oct 28, 2022 (New Delhi)
 12. 木村唯子、飯島圭哉、吉富宗健、浮城一司、金子裕、向井洋平、岩崎真樹. 多様化するパーキンソン病治療をどのように選択するか. *日本脳神経外科学会第 81 回学術総会 (横浜)* (一般口演) 2022 年 9 月 28 日
 13. 木村唯子、飯島圭哉、吉富宗健、浮城一司、金子裕、弓削田晃弘、岩崎真樹. 脳炎後 L-ドパ反応性不随意運動に対し淡蒼球 DBS を行った一例. 第 54 回関東機能的脳神経外科カンファレンス (飯田橋・web) (一般口演) 2022 年 9 月 10 日
 14. 木村唯子、飯島圭哉、吉富宗健、金子裕、向井洋平、岩崎真樹. Device aided therapy をどのようにに取捨選択をするか. 第 62 回日本定位・機能神経外科学会 (山口) 2023 年 1 月 27 日 (分担研究者) 佐藤典子
 1. Ota M, Sato N, Takahashi Y, Shigemoto Y, Kimura Y, Nakaya M, Chiba E, Matsuda H. Correlation between the regional brain volume and glymphatic system activity in progressive supranuclear palsy. *Dement Geriatr Cogn Disord*. 2023 (in press) (分担研究者) 佐々木征行
 1. Sunaga Y, Takayama Y, Yokosako S, Mizuno T, Kouno M, Tashiro M, Iwasaki M, Sasaki M. Drug-resistant temporal lobe epilepsy due to middle fossa meningoencephalocele in a child: A surgical case report. *Brain Dev*. 2023 Jan;45(1):82-86. doi: 10.1016/j.braindev.2022.08.008. Epub 2022 Sep 14.
 2. 佐々木征行. てんかん. *神経疾患とゲノム医療*. *CLINICAL NEUROSCIENCE*. 2022;40:1109-1113.
 3. 佐々木征行. 運動異常症を主体とした神経難病. *脳神経内科医に求められる移行医療*. *Brain Nerve*. 2022;74:789-793.
 4. 佐々木征行. 脊髄小脳変性症、脊髄小脳失調症. *小児疾患診療のための病態生理 3*. 第 6 版 (小児内科増刊). 東京医学社. 東京. 2022.12 月 23 日. P370-4 (分担研究者) 女屋光基
 1. High-Contrast In Vivo Imaging of Tau Pathologies in Alzheimer's and Non-Alzheimer's Disease Tauopathies : Kenji Tagai 1, Maiko Ono 2, Manabu Kubota 3, Soichiro Kitamura 4, Keisuke Takahata 5, Chie Seki 2, Yuhei Takado 6, Hitoshi Shinotoh 7, Yasunori Sano 5, Yasuharu Yamamoto 5, Kiwamu Matsuoka 4, Hiroyuki Takuwa 2, Masafumi Shimojo 2, Manami Takahashi 2, Kazunori Kawamura 2, Tatsuya Kikuchi 2, Maki Okada 2, Haruhiko Akiyama 8, Hisaomi Suzuki 9, Mitsumoto Onaya 10, et al: DOI: 10.1016/j.neuron.2020.09.042
 2. An autopsied FTDP-17 case with MAPT IVS 10 + 14C > T mutation presenting with frontotemporal dementia ; Ryohei Watanabe 1 2, Ito Kawakami 1, Takeshi Ikeuchi 3, Shigeo Murayama 4, Tetsuaki Arai

- 2, Haruhiko Akiyama 1 5, Mitsumoto Onaya 6, et al:
DOI: 10.1016/j.ensci.2021.100363
3. Comparison of Common and Disease-Specific Post-translational Modifications of Pathological Tau Associated With a Wide Range of Tauopathies : Fuyuki Kametani 1, Mari Yoshida 2, Tomoyasu Matsubara 3, Shigeo Murayama 2, Yuko Saito 4, Ito Kawakami 1, Mitsumoto Onaya 5, et al : *Front Neurosci.* 2020 Nov ;14:581936.DOI: 10.3389/fnins.2020.581936
 4. Suicide and Microglia: Recent Findings and Future Perspectives Based on Human Studies: Hisaomi Suzuki 1, Masahiro Ohgidani 2, Nobuki Kuwano 2, Fabrice Chrétien 3 4, Geoffroy Lorin de la Grandmaison 5, Mitsumoto Onaya 1, et al: *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. Okubo M, Noguchi S, Awaya T, Hosokawa M, Tsukui N, Ogawa M, Hayashi S, Komaki H, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Takahashi Y, Fukuyama T, Funato M, Hosokawa Y, Kinoshita S, Matsumura T, Nakamura S, Oshiro A, Terashima H, Nagasawa T, Sato T, Shimada Y, Tokita Y, Hagiwara M, Ogata K, Nishino I. RNA-seq analysis, targeted long-read sequencing and in silico prediction to unravel pathogenic intronic events and complicated splicing abnormalities in dystrophinopathy. *Hum Genet* 2023;142(1):59-71.
 2. Miyatake S, Koshimizu E, Fujita A, Doi H, Okubo M, Wada T, Hamanaka K, Ueda N, Kishida H, Minase G, Matsuno A, Kodaira M, Ogata K, Kato R, Sugiyama A, Sasaki A, Miyama T, Satoh M, Uchiyama Y, Tsuchida N, Hamanoue H, Misawa K, Hayasaka K, Sekijima Y, Adachi H, Yoshida K, Tanaka F, Mizuguchi T, Matsumoto N. Rapid and comprehensive diagnostic method for repeat expansion diseases using nanopore sequencing. *NPJ Genom Med* 2022;7(1):62.
 3. 尾方克久, 筋ジストロフィー: その多様性と診断アルゴリズム. *医学と薬学* 2022;79(9):1149-1158.
 4. 尾方克久. 神経系疾患における小児-成人移行医療の展望. 第 63 回日本神経学会学術大会, 東京, 2022 年 5 月
 5. 松岡彩之, 高橋由布子, 生田目禎子, 鈴木幹也, 尾方克久, 橋口昭大, 高嶋博. 末梢神経障害が前景に立った成人型 Krabbe 病の 1 例, 第 677 回日本内科学会関東地方会, 東京, 2022 年 5 月
 6. 高橋由布子, 穂積正迪, 生田目禎子, 村上てるみ, 谷田部可奈, 鈴木幹也, 後藤雄一, 西野一三, 尾方克久. 労作後の筋痛を主症状とし, CK 高値および脳萎縮を呈しミトコンドリア DNA に 1 塩基置換が同定された 42 歳女性例. 第 244 回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2023 年 3 月.
(分担研究者) 二村尚伸
 1. Sekiya H, Tsuji A, Hashimoto Y, Takata M, Koga S, Nishida K, Futamura N, Kawamoto M, Kohara N, Dickson DW, Kowa H, Toda T. Discrepancy between distribution of alpha-synuclein oligomers and Lewy-related pathology in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2022 Sep 6;10(1):133.
 2. Nishida K, Sakashita K, Yamasaki H, Futamura N. Impact of tracheostomy invasive ventilation on survival in Japanese patients with multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord.* 2022 Apr;97:107-111.
(分担研究者) 美原盤
 1. 田野光敏、美原記念病院ブレインバンクからの年次報告 (2021 年度)、日本神経病理学会総会学術研究会、2022 年 6 月 25 日
(分担研究者) 渡辺宏久
 1. 渡辺宏久, 島さゆり, 水谷泰彰, 植田晃広, 伊藤瑞規. Long COVID ①- 病態と対策. *Brain Nerve.*

2022 Jul;74(7):879-884.

2. 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）診療の手引き 罹患後症状のマネジメント 第 2.0 版 2022/10/14
3. 渡辺宏久, 島さゆり, 植田晃広. Long COVID に対する脳神経内科的アプローチと課題. COVID-19 神経ハンドブック. 2022 年 5 月、中外医学社 (分担研究者) 三村將

1. 滝上紘之、菊地俊暁、三村將、ブレインバンクを通じた精神医学研究を推進するにあたって必要となる背景知識：倫理的側面を中心に、老年精神医学雑誌、2022 年 11 月 20 日、1190-1193、査読無

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・部長

協力研究者

水谷貴志 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。2022年度の活動を報告する。

【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、今年度は41名であった。9例についてはブレインバンク医師(水谷)が実際に面接(電話含む)を行い、主治医の承諾を得た上で、2名がブレ

インバンク生前登録に至った。今年度の精神疾患を主とする解剖人数は、7名であった。7例の疾患内訳は、Alzheimer型認知症3例、てんかん2名、統合失調症1例、混合性認知症1名である。また、他院通院中の患者16名に対し、福島県立医大のブレインバンクを案内した。

【考察】

今年度も精神科医(水谷)が面接を行い、精神症状を評価したうえで生前同意を得た。また、福島県立医大のブレインバンクへの案内についても、混乱はなくスムーズに対応できた。

【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, Thompson PA, Meltzer HY. Dopamine D4 receptors and effects of guanine nucleotides on [3H]raclopride binding in postmortem caudate nucleus of subjects with schizophrenia or major depression. *Brain Res* 1995, 681: 109-116

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

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 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患者の剖検実施は7例であった。
内訳は、大脳皮質基底核変性症2例、脊髄小脳変性
症2例(SCA6, MJD/SCA3)、核内封入体病1例、筋
萎縮性側索硬化症1例、白質脳症1例であった。

大脳皮質基底核変性症の剖検例2例に関しては、
(18)F-THK5351 PET と比較して画像病理連関を検討
して論文発表した(参考文献1, 2)

脳神経内科の上級専門修練医1名が病理研究を継続
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。

さらに、MIBG心筋シンチグラムでH/M比の低下を

認めた進行性核上性麻痺の詳細な病理学的検討を行
い、心臓交感神経には病理学的に脱落を認めないこ
とを明らかにした。現在論文執筆中である。

【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。本年度は
神経変性疾患・遺伝性疾患等、神経難病が主体であ
る一方で、核内封入体病や白質脳症など病態未解明・
病院未同定の疾患も含まれ、多様な疾患の剖検を取
得した。

人材育成に関しては、上級修練専門医が自発的に
病理研究を継続し、タウオパチーに関する臨床病理
学的な研究に発展し論文執筆にまで進捗した。以上、
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・剖検脳を活用した臨床研究、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】

1. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract.* 2022;9(4):508-15.
2. Saitoh Y, Imabayashi E, Mizutani M, Tsukamoto T, Hasegawa M, Saito Y, Matsuda H, Takahashi Y. (18)F-THK5351 PET for visualizing predominant lesions of pathologically confirmed corticobasal degeneration presenting with frontal behavioral-spatial syndrome. *J Neurol.* 2022;269(9):5157-61.

(分担課題名) 脳神経外科疾患のブレインバンクの推進

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・生化学的変化を探索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。2022年4月1日～2023年3月31日まで総手術件数は130件あり、高齢者の正常圧水頭症に対するシャント術が1件、不随意運動疾患に対するDBS植え込みが6件、同疾患の電池交換術が12件あった。65歳以上の患

者は、全手術中30件(23.1%)であった。R4年度のブレインバンク生前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65件、その他の不随意運動症が5件、トゥレット症候群が20件、正常圧水頭症が27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(Saitoh et al, 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】

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, Kimura Y, Hasegawa M, et al: Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Movement Disorders Clinical Practice* 9: 508-515, 2022

Kobayashi E, Kanno S, Kawakami N, Narita W, Saito M,

et al: Risk factors for unfavourable outcomes after shunt surgery in patients with idiopathic normal-pressure hydrocephalus. Sci Rep 12: 13921, 2022

(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・医師

【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、生前に CT または MRI が撮像され、かつ当院で剖検が行われたタウオパチーなどの神経変性疾患を対象とし、コントロールとして他疾患で剖検となった症例も含める。

本研究では、生前に取得した MRI 画像と剖検直後に取得した MRI 画像所見の比較および病理学的所見との関連を検討することを目的とする。

【方法】

剖検直後の検体をホルマリン液に浸した状態で容器に入れ air 抜きを行い、3T MRI (Philips) 機器で全脳の MRI を撮影する。

撮像シーケンスは、T1 強調画像、プロトン密度強調画像、FLAIR 画像、位相差画像 (いずれも 3D) が評価に適していると考えられ、今後の撮像プロトコールとした。

【結果】

現在までに計 14 例 (PD 3 例, CBD 3 例, 以下各 1 例; LATE+PART, HDLS, SSPE, Pompe 病, NIID, 白質脳症, 痙攣後脳症, ALS) の剖検脳 MRI 撮像を行った。

撮像シーケンスについて検討した結果、T1 強調画像では基底核や視床は生前とは異なり高信号を呈し、死後変化が示唆された。プロトン密度強調画像では生前のプロトン密度強調画像と類似した画像が得られ、皮髄境界や基底核の評価に適すると考えられた。FLAIR 画像では白質の信号は低下し、白質の異常信号の評価に適すると考えられた。位相差画像は生前と同様に鉄沈着は低信号を呈し、また、病理標本の KB 染色と類似した画像が得られ U-fiber の描出にも優れていた。

生前脳と剖検脳の MRI を比較したところ、以下の結果が得られた。①生前脳でみられた脳室周囲の高信号域は剖検脳では縮小し、虚血や梗塞ではなく非特異的な高信号が示唆された。一方で陳旧性小梗塞のサイズは生前脳と剖検脳で著変なく、剖検脳では生前脳より明瞭にみられた。②生前脳と剖検脳で脳梁の萎縮の程度に乖離がみられる症例とみられない症例を認めた。

【考察】

生前脳と剖検脳の MRI の比較から、

①剖検脳 MRI では、生前脳では時に鑑別が難しい非特異的な高信号域と陳旧性小梗塞の鑑別が可能となる。

②アミロイドやタウ蛋白などの異常蛋白蓄積によって脳脊髄液の流れが悪くなり、脳室拡大を認めることがある。しかし、剖検脳 MRI では脳脊髄液の流れの影響を考慮する必要がなくなるため、脳梁の萎縮と脳室拡大圧排による見かけ上の脳梁萎縮を鑑別できる可能性がある。

【結論】

生前 MRI と剖検後 MRI の対比は、神経変性疾患の病態解明に重要な情報を与えると考えられ、さらなる症例の蓄積および病理学所見との検討が望まれる。

(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
脳神経小児科診療部長

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
脳神経小児科診療部医長

本橋裕子 国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経小児科診療部医長

竹下絵里 国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経小児科診療部医長

馬場信平 国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経小児科診療部医師

住友典子 国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経小児科診療部医師

【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】

2年度の研究成果は以下の通りであった。

当センター脳神経小児科では、この1年間で4例の病理解剖を実施することができた。またこれ以外に当科と当院脳神経外科に通院中だった患者が他院で死亡した際に、担当病院より当院へ解剖依頼があり実施してもらうことができた。当科の関連した病理解剖はこの2年間で合計7例となった。

【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。当院以外からも病理解剖を積極的に受け入れる体制ができていないことは非常にありがたいことであった。

近年は画像診断や遺伝子解析の技術が進み、生前に確定診断がなされる機会が増加している。また少子化の影響もあり、小児期での死亡例の減少も続いている。しかし診断確定のためだけでなく、病態研究や正確な病状評価を行う上で病理解剖の重要性は変わらない。今後も引き続き、小児期発症の小児神経疾患の病理解剖を実施できるよう、日ごろからの真摯な医療の実践と情報発信を継続する必要があると考える。

【結論】

今後も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継続的に必要である。

(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ている。

【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、4件を解剖することができた。その症例は、①68歳の妄想性障害の女性、②75歳の脳血管性認知症の女性、③69歳の前頭側頭型認知症に筋萎縮性側

索硬化症を合併した症例、④70歳の右脳出血後の脳血管性認知症の症例である。

昨年はアルツハイマー型認知症の症例1例のみであり、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3症例を解剖した。

【考察】

昨年は、解剖が1例しかなかったが、本年は4例の症例を解剖することができた。解剖した症例は、すべて左半球をホルマリン固定し、右半球を約1cmの厚さでスライスし氷点下80度に設定した deep freezer で保管している。

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。また、精神疾患の患者様の重篤な身体合併症の治療について、最近是一般病院への転院を家族が希望することも多く、当院での死亡数の減少も少なからず影響している。精神疾患の脳の蓄積を今まで以上に進めるためには、一般病院との連携がこの先重要になってくるものと考えている。

【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、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】

Kenji Tagai , Maiko Ono , Manabu Kubota et al, High-Contrast In Vivo Imaging of Tau Pathologies in Alzheimer's and Non-Alzheimer's Disease Tauopathies. *Neuron*. 2021 Jan 6;109(1):42-58.e8. doi: 10.1016/j.neuron.2020.09.042. Epub 2020 Oct 29

Ryohei Watanabe , Ito Kawakami, Takeshi Ikeuchi , Shigeo Murayama, Tetsuaki Arai , Haruhiko Akiyama , Mitsumoto Onaya.et al, An autopsied FTDP-17 case with MAPT IVS 10 + 14C > T mutation presenting with frontotemporal dementia. *eNeurologicalSci*. 2021 Jul 28;24:100363. doi: 10.1016/j.ensci.2021.100363. eCollection 2021 Sep.

(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

高橋 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】

2022 年度に当院では神経筋疾患患者の剖検が 2 件行われ、いずれも遺族の同意に基づき脳等の一部を超低温槽に凍結保存した。プリオン病患者の剖検はなかった。

筋生検は 3 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た。

剖検生前登録は、体制がまだ整っていない。

【考察】

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。

研究目的で保存組織を提供する際は、2022年以降の改正個人情報保護法施行への対応を要する。

【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も実施している。そのため、プリオン病や運動失調症などの神経変性疾患患者が多数入院している。これら神経変性疾患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る。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昨年度整えた。

【方法】

COVID-19 流行下での病理解剖体制を整備したので、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した。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。院内症例・院外症例の病理解剖依頼を待っている

【結果】

1) 剖検

本年度は残念ながら該当症例がなかった。クロイツフェルト・ヤコブ病の剖検依頼が数例あったが受け入れできなかった。

2) 生前登録

該当症例なし。

3) COVID-19 流行下での剖検体制の構築

【考察】

COVID-19 流行により COVID-19 患者対応が多忙で病理解剖が困難となった。COVID-19 に対する PCR 試薬は供給が不安定であったため不足しているときは他施設症例においては困難であった。現在は流行が収まりつつあり、試薬が確保されており病理解剖は可能である。

【結論】

COVID-19 流行下での当院の病理解剖体制を整備し、病理解剖できるようになった。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】

Sekiya H, Tsuji A, Hashimoto Y, Takata M, Koga S, Nishida K, Futamura N, Kawamoto M, Kohara N, Dickson DW, Kowa H, Toda T. Discrepancy between distribution of alpha-synuclein oligomers and Lewy-related pathology in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun.* 2022 Sep 6;10(1):133.

Nishida K, Sakashita K, Yamasaki H, Futamura N. Impact of tracheostomy invasive ventilation on survival in Japanese patients with multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord.* 2022 Apr;97:107-111.

(分担課題名) 超百寿者(スーパーセンテナリアン)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

平野 真未 国立病院機構関門医療センター・検査科・技師

石井 美佳 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4年度は病理解剖1件施行した。当時世界最高齢の119歳の女性であった。既往に膵癌・大腸癌が指摘されていたが、再発所見はなかった。腫瘍性疾患として、肺癌・肺原発の低悪性度B細胞性リンパ腫・胃のGISTを認めた。大血管の動脈硬化は軽度で、脳血管も同様であった。

心室心筋層に、軽度であるが、トランスサイレチン由来のアミロイド沈着を認めた。

以前、剖検した5症例について、心臓にDFS染色を追加して、内4症例にアミロイド沈着を認めた。

【結論】

スーパーセンテナリアンの脳の萎縮が軽度であったとしても、6症例の内5症例で、アミロイド沈着を認めたことは、身体の老化は年齢相応に進んでいたことを示唆すると思われる。

症例を蓄積して、検討することが重要と考える。

【参考文献】

スーパーセンテ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
老人性アミロイドーシス 武井洋一 アミロイドーシスの基礎と臨床 (金原出版) : 186-191, 2005

(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「解剖意思表示書」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】

2022 年度は 12 症例の解剖を行い 9 症例は依頼解剖であった。プリオン病の解剖は 10 件、慶應義塾大学の百寿総合研究センターと協力し超百寿者の解剖を 1 件、脳出血後後遺症を 1 件行った。
解剖は行ったが家族の希望によりブレインバンクへの登録ができなかった症例が 1 件あった。
解剖事前同意に関して、当院の活動が評価され紹介の形で県外からの希望者本人より問い合わせをいただいた。

【考察】

昨年解剖数減少の原因となった COVID-19 の研究が進み、感染経路の究明や検査体制の確立、解剖に関するガイドライン等が知見として得られるようになり当院への解剖相談が増え依頼解剖数を増やすことができた。

【結論】

本開発費により、プリオン病など解剖が難しい症例や遠方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) 精神疾患ブレインバンクの推進

分担研究者

佐久間寛之 国立病院機構さいがた医療センター院長

協力研究者

宮崎泰 国立病院機構さいがた医療センター医長

【研究の概要】

当分担研究班は日本ブレインバンクネットワーク

(JBBN)に参加し、連携施設としてヒト死後脳神経系試料収集を実施し、研究者に遅滞なく提供することで、神経科学研究に貢献する。

また生前同意および生前登録を進め、日本ブレインバンクネットワークの連携施設として事業推進のための役割を担う。

加えて、現在保管している凍結試料を持続可能、利用可能な形で永続的な保管をするための体制整備、機器整備を行う。

【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、2023年3月末時点までの活動を報告する。

【結果】

新規の生前同意登録は該当者なしであり、実施されなかった。また死後脳提供についても同様であり、実績は得られなかった。

一方で別表1に示すとおり、当分担研究班では全体449例、凍結283例という多大な保有症例を有しており、当面はこれらの補完、整備に全力を挙げる予定である。【考察】

当院には過去、本ネットワークが整備される以前から患者・ご遺族の同意を得てブレインバンクの試料

作成を行ってきた。現在までは日本ブレインバンクネットワークとは連携しない形で保管を行ってきたが、今後はNCNPを中心としたJBBN事業整備の一環として当院もネットワークに参加する。本研究は脳組織データベースのさらなる蓄積およびそれによる脳神経系死後脳研究に必須である。今後は当院が補完するブレインバンクの保管、整備に全力を挙げるとともに、新規の生前登録をすすめ、ブレインバンクの登録数増加をめざす。

【結論】

患者死後脳リソースの維持、整備、台帳整理などはシステムの根幹となる重要性を持つ。当院が保管する死後脳を今後の研究に役立てるべく、引き続き保管整備機能の維持向上に努める。

【参考文献】

特になし。

(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・特任教授

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】

研究分担者の研究室では、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てきた。今年度は、COVID-19 感染後に摂食障害症状を呈した小児例、を経験した。昨年度までに経験した COVID-19 患者(参考文献 1)を含めて COVID-19 後遺症患者を 4 例の全ゲノムシーケンスを実施し、COVID-19 罹患後の精神神経症状のリスクバリエーション同定の試みを継続している。病態解明研究としては、COVID-19 後遺症に関与しうる炎症性サイトカインの存在下で、健常者 iPS 細胞由来神経細胞の突起伸長の低下を認めた。また健常者及び 22q.11.2 欠失患者由来リンパ芽球様細胞株に対するリポポリサッカライド刺激後の炎症性サイトカイン mRNA 発現量変化を確認した。

【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ている。新規治療薬開発のターゲットの同定のため、今後は、COVID-19 後の精神神経症状に関与するリスクバリエーションの同定に加えて、血中炎症関連物質、末梢血単核細胞（PBMC）の解析を検討する。

【結論】

今後も基礎と臨床が一体となった COVID-19 後精神神経症状患者の包括的評価を行い、COVID-19 後の精神神経症状のリスク評価と病態解明を目指す。

【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

植田晃広 藤田医科大学 岡崎医療センター・准教授

【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】

2022 年度は、オミクロン株による Long COVID もしくはワクチン接種後に新たに出現した神経系に関連した症状への対応が主体となった。ワクチン接種後に一部の症例で急性散在性脳脊髄炎をはじめとする免疫療法を必要とする症例が存在した。Long COVID を疑う症例で免疫療法を行った症例は無かった。一方、複数の危険因子を有する脳梗塞後遺症や進行期パーキンソン病症例で、COVID-19 に伴う感染は改善したにもかかわらず、自己免疫性脳炎の合併や、全身状態の改悪化で死亡した 2 例を経験した。1 例は剖検を取得しており、現在、持続感染の有無などを検討している。さらに、functional neurological disorder (FND) と診断した症例も複数認めた。明らかに FND のみの症例から、来院時に立ちくらみ、眩暈感、羞明を含めた複数の身体症状を訴え、臨床的に postural orthostatic tachycardia syndrome (POTS) を満たし、補液と水分摂取で起立時の頻脈症状が改善後、他の症状は POTS を契機に、過剰なネット情報の収集や、周囲からの助言が重なった結果生じた FND とし、認知行動療法的なアプローチを行うことで復職や復学

に至った症例も存在した。また、集中治療室における身体抑制とその後の複数の対症療法による副作用と考えられる症状を Long COVID と考えて来院した症例もあり、適切な神経学的評価に基づいた病状説明により改善した症例も認めた。

データベースに関しては、COVID-19 に非感染の健常者ならびに、オミクロン株による Long COVID もしくはワクチン接種後症例の血清ならびに血漿を高品質に保管するとともに、疾患関連血液マーカーの開発を推進した。

【考察】

COVID-19 のパンデミック後の経験例から、Long COVID もしくはワクチン接種後に新たに出現した神経系に関連した症状は、直接的な因果関係がある場合から FND の場合まで、連続して存在すると想定される。いずれの病態においても神経学的診察による客観的な評価は極めて重要で、FND であることを伝えること自体が治療につながる可能性もある。また、POTS と FND の合併例では、神経学的診察と検査所見に基づく両者の違いに関する病状説明に加え、患者が何を望んでいるのか、どのような問題があるものの把握に努め、解決可能と思われる課題を設定し、患者が治療について責任を分担しながら課題協働体験を持てるように援助し、それが解決できると次の目標を設定するプロセスにより、治療同盟を強固にしていく多角的課題解決療法的アプローチが有用となる可能性が示唆された。

一方、COVID-19 感染後、ウイルス感染に伴う身体症状が改善した後も、別の感染症などに伴う全身症状の悪化や、パーキンソニズムの改善を認めず、最終的に合併症により死亡した症例も存在した。1 例は現在、剖検的な検討を加えているが、こうした症例がどの程度存在するのかを全国調査で把握すること、COVID-19 の持続感染が原因であるのか異なるのかを解明すること、COVID-19 に特異的であるのか、他のウイルス感染でも同様であるのかなどを今後解明

していく必要があると考えられる。

【結論】

Long COVID もしくはワクチン接種後に新たに出現した神経系に関連した症状は、直接的な因果関係が考えられる病態から、FND が考えられる病態まで連続して存在すると考えられる。その適切な評価のためには神経学的診察が重要であり、適切な治療アプローチの開発が望まれる。一方、脳神経内科的基礎疾患を有する症例では COVID-19 感染後に急激に悪化する場合もあり、その病態解明ならびにバイオマーカーの開発が待たれる。

【参考文献】

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 診療の手引き 罹患後症状のマネジメント 第 2.0 版
2022/10/14

渡辺宏久, 島さゆり, 水谷泰彰, 植田晃広, 伊藤瑞規.
Long COVID ①- 病態と対策. Brain Nerve. 2022
Jul;74(7):879-884.

渡辺久雄. 多角的課題解決療法:成立のプロセスと
その実際.精神療法 28:53-60, 2002.

(分担課題名) 精神疾患の死後脳リソース等の収集体制の確立と運用

分担研究者

三村将 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。

【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た上で、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、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、上記の条件を満たさないため対象外とした)。今回、2023年3月31日時点までの活動を報告する。

【結果】

当教室の関連精神科病院より4例、NCNPへの搬送並びに解剖が実施された。また下総精神医療センターにおいて4例(前頭側頭型認知症1例、前頭側頭型認知症+筋萎縮性側索硬化症1例、意味性認知症1例、血管性認知症1例)が、病理解剖の上ブレインバンクに組み入れられた。

【考察】

昨年度に引き続き、NCNPへの搬送が継続的に実施され、また本年度は関連施設における解剖を実施することもできた。ブレインバンク組み入れの同意者に関する問題については、議論が発展途上にあり、種々の立場から異なる見解が提案されるという様相を呈している。将来の視座に耐えうる方法は何かという問いに答えるのは容易ではないが、少なくとも組み入れられた方々の鎮魂が果たされるよう、取り組んでいく必要があるものと言える。

【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】

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

滝上紘之、菊地俊暁、三村將 ブレインバンクを通
じた精神医学研究を推進するにあたって必要となる
背景知識：倫理的側面を中心に 老年精神医学雑誌
第33巻11号 2022年11月20日 1190-1193

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 system 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

We have continued our activity according to the research plan. Number of brain bank registrations in 2022 was 49. The number of autopsies in the pre-registration case was 9 cases. The number of autopsies from psychiatric hospital was 12. As to the prion diseases, 13 cases in 2022. In addition, 10 cases were obtained and registered at Mihara Memorial Hospital brain bank supported by PI. Pre-registration for brain bank were 409 individuals from 2007. In 2022, 26 cases were registered and 2 cases were withdrawn. We provided web-based CPC 11 times in 2022. Epilepsy pathology CPC were also carried for 11 times. In collaboration with the Center for Supercentenarian Medical Research of Keio University, we have continued 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 kept 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. Two doctors became board certified neuropathologists of the Japanese Society of Neuropathology in 2022. As to the long-COVID research, we have reported the results of clinical and pathological 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フォームを立ち上げ、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)
土肥 栄祐 (国立精神・神経医療研究センター・
神経研究所・疾病研究第三部)
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)
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更新し、この2年で作出したマウス系統数は200に迫っている(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つつ、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が整いつつある(岩崎)。

2. 精神疾患研究

(3) イハラてんかんラットの原因遺伝子 DSCAML1 の類縁遺伝子 DSCAM の小脳シナプス形成における機能解析および精神疾患関連遺伝子 AUTS2 の大脳皮質発生における役割を明確にする研究(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) McCP2 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) Vault 複合体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)、(12) 細胞外小胞の生体内での役割を様々な角度から検証する研究(土肥)を推進した。

4. 筋疾患研究

(13) 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)、(14) ジストロフィン遺伝子のエキソ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

(15) 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)、(16) 小脳における Indirect neurogenesis 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

(17) 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5年11月8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 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。また、これらの動物モデルを用いて、新たな治療法の開発に道を拓くことを目的とする。

方法

Dcaml1 遺伝子の遺伝子改変マウス、Dscaml1 のファミリー遺伝子 Dscam の遺伝子改変マウス、および Auts2 遺伝子の遺伝子改変マウスを作成し、それぞれについて表現型を解析する。

結果と考察

(1) Auts2 遺伝子について。

我々は、AUTS2 タンパク質が核内で働き、PRC1 非依存的な方法で様々な遺伝子の転写抑制に働くことを見出した。そして Robo1 遺伝子の発現を抑制し、それによって Intermediate Progenitors の分裂を促進し、浅層ニューロンの産生に関与することを見出した。この機能が失われると、結果として浅層ニューロンの産生が低下し、大脳皮質が薄くなる。これは、ヒト AUTS2 症候群で見られる小脳症の症状と類似であるため、ヒトでも同様な病態が背後にあることが示唆された。

(2) Dscam ファミリー遺伝子について

我々は、IER (イハラてんかんラット) の原因遺伝子として Dscaml1 を同定し、その KO マウスの解析から、この遺伝子異常によるてんかん発症メカニズムについて報告してきた。今年度は、この遺伝子ファミリーの Dscam 遺伝子についても解析した。そこで DSCAM が神経細胞の後シナプスに局在し、アストロサイトで発現する GLAST をシナプス近傍へ局在させる機能を持つことを明らかにした (現在論文リバイズ中)。この機能が失われると、シナプスからのグルタミン酸除去がスムーズに行われなくなるため、脳内に遊離グルタミン酸が増えることになるため、E/I バランス異常による各種精神疾患やてんかんの原因・誘因となる可能性が考えられた。

結論

Auts2 及び Dscam ファミリー遺伝子の KO マウスを使った解析から、いくつかのてんかん病理の可能性が示唆されてきている。また、ヒト手術脳検体を使った解析を進めることにより、マウスモデルで得られた知見がヒト検体でも整合性が見られるかどうかについて、今後検証していく。

参考文献

1. Fujiyama T, Takenaka H, Asano F, Miyanishi K, Hotta-Hirashima N, Ishikawa Y, Kanno S, Seoane-Collazo P, Miwa H, Hoshino M, Yanagisawa M, Funato H. Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis. *Front Behav Neurosci*. 2022, 16:910461.
2. Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K,

- Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol.* 2022, 216:102288.
3. Sano T, Kawazoe T, Shioya A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Maruo K, Nishino I, Hoshino M, Murayama S, Saito Y. Unique Lewy pathology in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology.* 2022, 42(2):104-116
 4. Inoue, Y.U., Miwa, H., Hori, K., Kaneko, R., Morimoto Y., Koike, E., Asami, J., Kamijo, S., Yamada, M, Hoshino, M. and Inoue, T.: Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation. *eNeuro.* 9(1): 0423-21, Feb, 2022

分担研究報告書¹²

(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

(氏名) 井上 高良

緒言¹¹

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を行い、神経回路網形成に果たす新たな役割を見出した (論文投稿準備中)。また 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、大脳皮質領域特異性表出やヒト進化に関わるゲノム領域の網羅的抽出と機能解析を行った (論文投稿準備中)。さらにシナプストランスポーター *Vmat1* 遺伝子のヒト化マウス作出により不安・うつ傾向の進化仮説について初めて実験的に検証することに成功した (Sato DX et al, 2022)。

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が見込まれる。

参考文献 (業績)

1. Sato DX et al. (2022) *iScience* 25, 104800. doi:10.1016/j.isci.2022.104800.
2. Inoue YU et al. (2021) *Cells* 10, 1076. doi:10.3390/cells10051076.

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 疾病研究第一部

(氏名) 野口 悟

緒言

これまでに我々は、小脳萎縮、運動失調を呈する2家系3患者(劣性遺伝家系)の全エクソーム解析を行い、新規遺伝子Xに両アレル性の複合ヘテロ接合変異を同定した。この遺伝子は、これまでいかなる疾患への関連も報告されていないものであった。これまでに、遺伝子Xの変異をマウスに導入し、疾患モデルマウスを作製したが、ヒト患者で示されているような小脳萎縮を再現した。さらに、この小脳萎縮は、小脳発生期のプルキンエ細胞の著しい形態変化と顆粒細胞数の減少によることを見出した。プルキンエ細胞の機能の変化のより、引き起こされているものと推察された。今年度の研究の目的は、変異遺伝子X産物の機能異常を明らかにすること、小脳プルキンエ細胞での変異遺伝子X産物がもたらす変化を明らかにすることである。この研究により、脊髄小脳萎縮症の新たな原因、発症メカニズムと治療標的が明らかとなることが期待される。

方法

モデルマウス

遺伝子Xに両アレル性変異を複合ヘテロ接合性に有するマウスを用いた。

細胞培養

Hela細胞、HEK293細胞を用いて、GFP-遺伝子X変異体をトランスフェクションした。Cyclohexamideによるchase実験にて安定性を測定した。

RNA-seq

6日齢の遺伝子改変マウス、コントロールマウス(ともにN=3)の全小脳を用い、定法に従ってRNA-seqを行った。スプライシングの解析にはMISOを用いた。

結果

遺伝子X産物の機能は、snRNPの核内輸送のためのアダプタータンパク質であることが

示されている。このため、遺伝子X産物は細胞質と核をシャトリングしている。ヒト患者で見出した2種類の変異は、一つが核への移動の異常であり、もう一つが核から細胞質への移動の異常であった。これは、それぞれの輸送タンパクとの結合の低下によるものであった。また、細胞質への移動の異常を示す変異体はタンパク質の安定性も減少していた。遺伝子Xは小脳プルキンエ細胞に強く発現していた。疾患モデルマウスの小脳プルキンエ細胞核のCajal bodyでのsnRNPの局在が顕著に低下していた。snRNPの減少はmRNAのスプライシング異常を引き起こすことが知られている。RNAseqのデータを用い、小脳プルキンエ細胞に特異的に発現する419遺伝子についてスプライシング変化の有無を解析した。165遺伝子が疾患モデルマウスの小脳でのスプライシングが変化し、主に選択的スプライシングによる変化であった。この165遺伝子には、小脳形成に関わる遺伝子や小脳失調の原因遺伝子が多く含まれていた。いくつかの転写物のスプライシング変化をRT-PCRにて確認した。さらに、そのうちの一つの遺伝子のタンパク質産物の機能異常をモデルマウスの小脳プルキンエ細胞にて解析した。この遺伝子はキナーゼをコードしているが、下流遺伝子のリン酸化が低下していることがわかった。さらに、プルキンエ細胞からサイトカインの分泌の減少と、顆粒細胞前駆細胞の減少を認めた。顆粒細胞が十分に増殖する前に、早期に移動することにより、顆粒細胞の数が減り、小脳全体が小さくなっていることを見出した。

考察

これまでの結果をまとめると以下の過程により、小脳萎縮が引き起こされるものと考えられた。

遺伝子X変異

- 核内外輸送体との結合低下
- プルキンエ細胞核へのsnRNP輸送低下
- 広範な遺伝子Xのスプライシング変化
- タンパク質産物の機能低下
- プルキンエ細胞の樹状突起形成不全
- サイトカインの分泌低下
- 顆粒前駆細胞の増殖不全/早期移動
- 小脳の形態形成異常

結論

遺伝子Xの変異は小脳細胞の広範なスプラ

イシング変化を引き起こすとともに、プルキンエ細胞、顆粒細胞形態異常、増殖低下を引き起こした。これにより小脳萎縮に至ると考えられた。

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) (国研) 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

他者の情動が表出するとき、その様子を観察することで同様の情動が生じる現象を情動伝染と呼ぶ。情動伝染は、霊長類からげっ歯類まで広く保存されており、他者との円滑な社会生活を築くために重要な機能であると考えられている。恐怖や痛み、ストレスを経験した個体からの情動伝染は、それを観察した個体(観察個体)の向社会行動を亢進させ、前者のストレス状態を軽減させる。一方、過度な負情動の伝達は、疼痛閾値の低下やストレス反応の惹起など、観察個体に不快な情動状態を誘発する。

我々はこれまでに、同種他個体が攻撃的な別種マウスから攻撃を受ける社会的敗北を目撃させることでストレスが伝達される心理的ストレスモデルを確立し、直接的な攻撃への曝露と目撃によるストレス伝達がマウスに及ぼす影響について比較した。その結果、社会的敗北の目撃による心理的ストレスは、攻撃による身体的ストレスとは一部異なる脳部位の活性化・免疫系の変化を誘発し、後に顕著なうつ様行動を引き起こすことを見出した。

本研究では、共感性に関わることが知られるオキシトシンに着目し、社会的敗北の目撃によりストレスが伝達され情動変容が生じる脳内基盤の解明を目指す。

方法

被験体マウスに社会的敗北を目撃させることで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 O_{xtr}-PA-T2A-tdTomato および O_{xtr}-PA-T2A-iCre マウ

スを用いた。ストレスによる脳活動とオキシトシン受容体の局在を評価するため、免疫染色を行った。ストレス伝達における特定の脳部位の関与を調べるため、オキシトシン受容体拮抗薬を局所投与し、ELISAで血中コルチコステロン値を測定した。AAV-DIO-NpHR-EYFPの局所投与と黄色光照射によりオキシトシン受容体発現細胞の活動を抑制した。また、社会的相互作用試験とスクロース嗜好性試験にてうつ様行動を評価した。

結果

社会的敗北の目撃時にのみ c-Fos 発現が増加した島皮質において、オキシトシン受容体発現細胞の活性化が観察された。また、島皮質においてオキシトシン受容体発現細胞の半数以上がグルタミン酸作動性神経であり、GABA 作動性神経はごくわずかであった。島皮質へオキシトシン受容体拮抗薬を投与すると、目撃によるすくみ反応の増加と血中コルチコステロン値の上昇が抑制された。一方、社会的敗北を経験した個体では拮抗薬投与の効果は観察されなかった。島皮質内のオキシトシン受容体発現細胞の活動を社会的敗北の目撃中にのみ抑制すると、社会性の低下や報酬感受性の低下が抑制された。

考察

島皮質におけるオキシトシンシグナルは社会的敗北の目撃によるストレス伝達を担う一方、身体的ストレスの処理には関与しないことが推察された。また、島皮質のオキシトシン受容体を発現する神経細胞からの興奮性の投射が、ストレスの伝達から抑うつ状態への移行に関与している可能性が示された。

結論

島皮質におけるオキシトシンシグナルがストレス伝達を仲介し、その後の情動変容を引き起こすことが示唆された。

参考文献

1. Nakatake Y. et al., An emotional stress model using witnessing social defeat scenes in mice. *Folia Pharmacol. Jpn.* 158, 39-42, 2023.

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) (国研) 国立精神・神経医療研究センター
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 において核酸のリソソーム内への移行を促進する因子として SIDT2 を見いだした。SIDT2 はタンパク質のリソソーム内への輸送も促進することを見いだした。本研究では、これら分解機構 (ここでは DUMP と呼ぶ) 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。

今回、DUMP に関与する可能性のある、SIDT2 以外の分子を探索した。

方法

タンパク質のリソソーム膜局在とインタラクトームの情報から、分子 C に着目した。分子 C を neuro2a 細胞に過剰発現させ、 α -synuclein や Tau を基質と、Tet-off システムによる分解実験を行なうことにより、タンパク質分解への C の影響を解析した。また、共焦点顕微鏡解析により、 α -synuclein が C 依存的にリソソーム

に取り込まれるか検討した。さらに、マクロオートファジーの起こらない Atg13 ノックアウト (KO) neuro2a 細胞を用いて、本研究の分解経路がマクロオートファジーか異なる経路かを決定した。

結果

Tet-off システムを用いた分解アッセイの結果、neuro2a 細胞における分子 C の過剰発現により、 α -synuclein や Tau のタンパク質分解が促進されることを見いだした。共焦点顕微鏡解析では、分子 C の過剰発現により、 α -synuclein のリソソームへの移行が促進された。Atg13 KO neuro2a 細胞においても、分子 C の過剰発現により、 α -synuclein のタンパク質分解が促進された。また、(野生型) neuro2a 細胞における C の過剰発現時には、マクロオートファジー活性化のマーカーである LC-3II の量に変化はなかった。以上の結果から、分子 C はマクロオートファジー以外のオートファジー経路を活性化することが明らかとなった。

考察

分子 C を介した分解機構はマクロオートファジー以外の経路であることから、リソソームによる直接的なタンパク質取り込み経路であることが示唆された。また、分子 C はリソソーム膜に存在することから、タンパク質取り込みに関与している可能性がある。

結論

分子 C はマクロオートファジーとは異なるオートファジー経路を活性化する。

分担研究報告書

(課題名) イオン恒常性の破綻による精神・神経疾患発病機構の解明

(所属) (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

(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では、神経ネットワークの形成・維持の破綻が発病の主因である可能性が指摘されている。「神経ネットワークがどのように形成・維持され、そして変容するのか」という問いの解を得ることは、疾患発病の分子基盤を明らかにすることに他ならず、予防や治療の手がかりを知る上でも極めて重要である。本研究では、神経ネットワークの形成・維持の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。そのために神経突起・シナプスの構造変化の経時的観察、マウス行動解析など様々な実験手法を取り入れ、得られた成果を新規治療方法の開発など発病を抑制する医学的な応用に繋げることを目指している。

方法と結果

昨年度に引き続き、本年度はリボヌクレオタンパク複合体ヴォールトに由来する細胞内反応に関する機能的解析を、主に初代培養細胞を用いたシナプス形成の培養モデルにより実施した。

ヴォールトはタンパク質分子である MVP や非コードな RNA 分子である vtRNA により構成される機能不明のリボ核タンパク質複合体である。これまでの研究で、タンパク質キ

ナーゼ Aurora A による MVP のリン酸化をきっかけに vtRNA がヴォールトからリリースされること、vtRNA がダイレクトに MAPK シグナルに作用してシナプス近傍の局所的なタンパク質合成を促進し、シナプス形成を促進すること、などを見出してきた (J Cell Biol. 2021 他)。これらの結果を受け、一連の反応の出発点となる Aurora A の活性制御機構について詳細な検討を行った。その結果、シナプス形成期に Aurora A がグルタチオン化修飾されることが、Aurora A の活性化に必要なことが明らかとなった。

結論と考察

Aurora A はリン酸化により活性化することが知られている。予備的な結果では、今回発見したグルタチオン化修飾はリン酸化に先立って生じ、グルタチオン化を無効にする変異を Aurora A に導入すると活性化に必要なリン酸化のレベルが低下し、シナプス形成を促進する活性が打ち消されることがわかった。今後は、シナプス形成におけるグルタチオン化修飾の生理的意義を Aurora A の活性制御機構を主軸に明らかにして行く。一方、vtRNA-MEK 複合体の構造解析を中心に MAPK シグナル制御機構についても検討を進めている。RNA 依存性の酵素活性制御は極めて稀な例であり、詳しく調べることで、RNA 依存性の酵素活性制御の新パラダイム創出に繋げたい。

参考文献 (業績)

1. [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. *Exp Neurol.* 352: 114024. (2022)
2. [Wakatsuki S.](#) and Araki T.

Novel insights into the mechanism of reactive oxygen species-mediated neurodegeneration

Neural Regen Res. 4: 746–749. (2022)

3. Numata-Uematsu Y., Wakatsuki S., Kobahashi-Ujii Y., Sakai K., Ichinohe N., Araki T. In vitro myelination using explant culture of dorsal root ganglia: an efficient tool for analyzing peripheral nerve differentiation and disease modeling. PLoS One. in press.

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

(氏名) 青木 吉嗣

緒言

筋ジストロフィーに対する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、アンチセンス核酸医薬の薬効をスクリーニングする、リアルタイム in vivo イメージングシステムの確立である。

方法

Luc コード領域を *Dmd* のエクソン/イントロンゲノム配列で分断し、エクソンスキップの誘導により、Luc が発現する pCAGGS-Luc を構築する。pCAGGS-Luc を導入した Luc-Tg マウスを mdx マウスと交配のうえ、Luc-Tg/mdx マウスを作出した。Luc-Tg/mdx マウスを対象に、エクソン・スキップの薬効を、イメージング評価可能なアッセイ系を確立する。

結果

Luc-Tg マウスの作出に成功した。さらに、核酸医薬のキャリアであるユニットポリイオンコンプレックス (uPIC) を、宮田完二郎博士のグループと共同で開発した。uPIC は1分子の核酸医薬のみ搭載するため、既存の脂質分子を用いたナノ医薬品 (約 100 nm) と比べ

て、サイズを劇的に小さく調整することができる。骨格筋を標的とした受動的な薬物送達においては、11-32 nm サイズの中分子は DMD モデルである mdx マウスの骨格筋に効果的に取り込まれた¹⁾。Luc-Tg/mdx マウスを対象に、エクソン・スキップ誘導用のアンチセンス核酸を搭載した uPIC を筋注後、アンチセンス核酸の単体投与と比べ、uPIC ではエクソン・スキップの誘導効果が向上することを示した。

考察と今後の展望

高分子薬を含むミセルのサイズは臓器の標的性に関与することを見出した点は、受動的な薬物送達キャリアを開発するうえで極めて重要な発見である。今後は Luc-Tg/mdx マウスを対象に、エクソン 23 スキップ誘導用のアンチセンス核酸を搭載した uPIC を経静脈全身投与後の薬効薬理、薬物動態等を、in vivo イメージングシステムにより詳細に評価する。

結論

Luc-Tg/mdx マウスの作出に成功した。Luc-Tg/mdx マウスを対象に、アンチセンス核酸を搭載した uPIC を筋注後の薬効を、IVIS Imaging System により評価出来た。

【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. *J Control Release*. 2022; 347: 607-614.

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) (国研) 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

種々の要因により脳と脊髄からなる中枢神経系が傷つくと、傷ついた部位に応じて様々な神経機能障害があらわれる。病巣では、たとえ神経細胞死を免れたとしても神経回路が破綻する様子が観察される。破綻した神経回路を修復させることで症状の緩和につながると考えられているが、現時点で神経回路を修復させる薬剤は上市されておらず、その理由の一つに神経回路の修復メカニズムには未だ不明な点が多いことが指摘されている。

個体発生期の神経回路形成や末梢神経系の神経修復と比較すると、成体での脳神経回路の自発的な修復力は弱い。しかし、疾患の種類や個人差はあるものの、わずかではあるが神経回路は自然に修復する。分担研究者らは、成体脳に残されている神経回路の修復力に着目し、どのように神経回路の修復力が維持されているか、またその機序を賦活化することで神経回路の修復力が高まり、神経機能障害から回復が促されるか、マウスの病態モデルを用いた解析を行っている。

昨年度までに、公開されているデータベースを活用し、脳の特に神経細胞に高発現し、神経機能の異常と関連づけられる機能を有する遺伝子を探索した。またその遺伝子の機能評価を、マウス大脳皮質神経細胞を用いた *in vitro* のスクリーニング系により実施した。その結果、検討した範囲内では、*synaptotagmin (Syt)4* 遺伝子が神経突起の伸長の維持に関わることがわかった。本年度は、*Syt4* が *in vivo* での神経回路の修復やそれに関連する神経機能変化に与える作用を解析した。

方法

本研究では神経回路の修復と関連する機能解析のため、脊髄損傷モデルマウスを用いた。マウス下部胸髄を半切断して脊髄損傷を施し、マウスでは脊髄背側を走行する皮質脊髄路(下行性の運動神経回路)の損傷後の修復過程を研究対象とした。皮質脊髄路

を構成する大脳皮質第5層の神経細胞において *Syt4* の発現を抑制させるため、大脳皮質の運動野へ *Syt4* shRNA を組み込んだアデノ随伴ウイルスベクターを感染させた。ウイルス感染後2週間のマウスから感染領域の脳組織を摘出し、*Syt4* の発現抑制効果を評価した。マウスの行動解析のため、全身運動の評価を *Basso Mouse Scale (BMS)* で、後肢の歩行機能を *ladder walk test* で評価した。

結果

Syt4 shRNA によるの発現抑制効果の検討を、アデノ随伴ベクターを感染させた部位を含む大脳皮質運動野の組織を用いて検討し、mRNA レベルおよびタンパク質レベルで発現が抑制されることを確認した。また、*Syt4* の発現を抑制させたマウスの行動試験では、*Syt4* shRNA 群および対照群 (*control shRNA* 群) とともに脊髄損傷後の2週間にわたり BMS は同定度であった。一方で、その後に対象群で検出される BMS スコアの経時的な上昇が、*Syt4* shRNA 群では検出されなかった。また、術後1カ月において *ladder walk test* で後肢の機能を評価したところ、*Syt4* shRNA 群では対象群と比較し歩行異常が有意に多く、*Syt4* 発現抑制により運動機能の自然回復が阻害されることが示唆された。

考察

Syt4 発現抑制により非損傷群での運動機能には影響がないことから、*Syt4* は正常状態での神経回路の機能には顕著な作用がないと推察された。*Syt4* が損傷下で神経機能の調整を担う因子であることから、損傷による刺激を受けて発現量が増加し、その結果、神経回路の可塑的变化が誘導される可能性が推察される。今後、*Syt4* の発現を増加させた際には神経回路の修復が促進するか、治療的な意義も検討していきたい。

結論

神経細胞に高発現する *Syt4* は内在性の神経回路の修復力維持を支える分子である。

分担研究報告

(課題名) AI を用いた精神神経疾患の研究
(所属) (国研) 国立精神・神経医療研究センター 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。

研究の目的

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。

研究の方法

本研究では、遺伝子・分子情報、脳波 (EEG)・皮質脳波 (ECoG)・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、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、有効な特徴量抽出手法を探索的に構成する。

結果

深層ニューラルネットワークを用いた、教師あり・教師なし学習を用いて、ヒト構造 MRI、安静時機能的 MRI、およびヒト以外の霊長類皮質脳波 (ECoG) などの高次元データ・時系列データの解析手法の開発を行った。抽出した特徴量に対して、線形回帰モデルを用いて精神疾患の診断・症状の予測を行うことで、抽出特徴量の有効性を評価した。さらに、深層学習のスタイル変換技術を用いて、MRI 画像の施設間差を取り除く手法、および人工的に精神疾患画像を生成手法の開発を行った。

マカクザルの ECoG に対して、教師有り深層ニューラルネットワークを用いた麻酔状態・覚醒状態の判別学習を行い、説明可能 AI (XAI) 手法の一つである SmoothGrad 法を用いて、注目周波数領域の可視化手法を開発した。

考察

本研究で開発した高次元データからの特徴量抽出・解析技術は、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。

主な発表論文等

1. Wang C, Li Y, Tsuboshita Y, Sakurai T, Goto T, Yamaguchi H, Yamashita Y, Sekiguchi A, Tachimori H. A high-generalizability machine learning framework for predicting the progression of Alzheimer's disease using limited data. *Npj Digital Medicine*, 5(1), 1–10.
2. Uchida Y, Hikida T and Yamashita Y,

Computational Mechanisms of Osmoregulation: A Reinforcement Learning Model for Sodium Appetite. *Front. Neurosci.* 16:857009

3. Idei H, Ohata W, Yamashita Y, Ogata T, Tani J. Emergence of sensory attenuation based upon the free-energy principle. *Sci Rep* 12, 14542, 2022Aug. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18207-7>.
4. Noda K, Soda T, & Yamashita Y, Emergence of Number Sense in Deep Multi-modal Neural Networks. *PsyArXiv*.2022Aug.

分担研究報告

(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) (国研) 国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経外科

分担研究者 (氏名) 岩崎 真樹

(所属) (国研) 国立精神・神経医療研究センター病院 病院脳神経外科

協力研究者 (氏名) 飯島 圭哉

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、45例に *BRAF*V600E 変異を、7例に *FGFR1* 変異を認めた。その他の稀な遺伝子異常を12例に認めた。18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

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) 精神神経疾患における、細胞外小胞 (EVs) の機能解明に向けての新技术創生
(所属) (国研) 国立精神医療研究センター
(氏名) 土肥 栄祐

緒言

精神神経疾患は、多くが症候群として臨床的に分類されており生物学的なメカニズムが不明な点が多い。理由の一つとして病態の首座である中枢神経系の機能は脳領域・脳回路によりもたらされており、機能的評価と同時に、分子や物質に基づく生物学的評価が困難な点にあると考えられる。近年、多くの疾患でバイオマーカーとしての有用性が注目を集めている細胞外小胞 (EVs) は、細胞から放出される脂質二重膜で構成されており、核酸、脂質、タンパクなど細胞構成要素を内包する。直接脳組織を取ることが困難な精神・神経疾患であるが、末梢循環中から中枢神経由来 EVs を検出・解析し、中枢神経の状態を推定が可能であれば、他の機能的評価法と相補的に用いることでより深い精神神経疾患の理解に繋げることができる。

本研究では、EVs のバイオマーカーとして応用する技術を開発するために、①末梢循環中 EVs 検出における内包物のターゲット選定、②EVs 一粒子解析技術の開発を行なった。

方法

①末梢循環中 EVs 検出における内包物のターゲット選定

EVs の表面抗原を用いることで産生細胞を選定出来る可能性が指摘されている。そのため、既報の循環血液中 EVs の質量分析結果から膜貫通ドメインを持つ遺伝子の検討を行なった。また、内包物のターゲットとして EVs 内に豊富に存在することが知られている miRNA の選定を既報のデータセットを用い行なった。

②EVs 一粒子解析技術の開発

EVs は General なマーカーが存在せず、同じ細胞から放出されたものでも、個々の粒子ごとの異質性が知られておりバルクでの解析では限界がある。そのため、一粒子解析技術を開発に取り組んだ。具体的には、miRNA をターゲットとした分子ビーコンを作成し、EVs の表面抗原の標識と、分子ビーコンによる内包物の同時検出を、NanoFCM を用い行なった。

結果

①これまでの既報の人の末梢血中の EVs 質量分析の結果から、精巣、中枢神経などの組織由来タンパクが末梢血中 EVs の上位に存在し、膜貫通ドメインを持つ遺伝子は組織ごとにカタログを作成した。また miRNA は、質量分析より報告数が多いものの、コントロール群であっても発現上位の miRNA に一貫性が乏しく複数のターゲットを設定した。

②Size-exclusion chromatography にてヒト血漿由来 EVs を収集し Ultrafiltration にて濃縮後に事前調査にて設定した miRNA に対し、分子ビーコンを用い一粒子レベルでの検出を NanoFCM にて行なった。当初のデザインでは EVs のうち 1%程度の検出であったが、EV 膜透過性の調整により 4%程度まで検出された。表面抗原と内部 miRNA の同時検出は可能であったが、条件検討を積める必要がある。

考察

質量分析の結果身よると血中を循環する EVs の由来組織には傾向があり、中枢神経由来タンパクが多く認められたことは中枢神経⇨末梢に向けてのシグナルが存在する事が示唆されるが、現状では生物学的な意義は現時点では明らかではない。また、miRNA の結果に関して一貫性がないのは既報のケースコントロール研究のバイオマーカー候補に関しても同様に一貫性に欠けている。これはサンプルの状態や miRNA の日内変動をなどの影響が考えられるが、Bulk 解析では観察が困難な

現象であると考えられる。

結論

血液循環中 EVs のタンパクに、miRNA の結果からは生物学的な意義が不明な点や、一貫性に乏しい結果がある。より深い EVs の臓器-臓器間の情報伝達を理解するためには、組織特異的な EVs のラベリングと共に、それらの一粒子解析技術などによる EVs の仔細な解析が求められる。またごく少量の生体サンプルからの EVs 解析も、日内変動の解析には重要な因子となりこの点も考慮に入れる必要がある。

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 *in vivo* 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・経費を要するため、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及びその抑制分子を同定することを目的に、ショウジョウバエモデルを用いて研究を行った。

方法・結果・考察

昨年度までに樹立した異常伸長 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。交配により異常伸長 GGGGCC リピート配列と候補 RBP を共に複眼に発現させ、

複眼変性に対する修飾効果を指標にスクリーニングを行った。その結果、ALS 関連タンパク質 FUS が複眼変性を顕著に改善させることを明らかにした。FUS はリピート RNA の発現量を減少させずに、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) の産生を抑制した。

次に、FUS がグアニン四重鎖構造 (G4 構造) を保持する RNA への結合親和性が高いことに着目し、GGGGCC リピート RNA が形成する G4 構造を標的とするその他の RBP の病態修飾効果について、同様に検証した。その結果、EWSR1, DDX3X, DDX5, DDX17 が FUS と同様に、リピート RNA の発現量を変化させずに DPR 産生を抑制し、疾患モデルショウジョウバエの複眼変性を改善させることを発見した。

結論

以上の結果から、FUS をはじめとする G4 構造を標的とした RBP は GGGGCC リピート RNA に結合し、RAN 翻訳を抑制し、複眼変性を抑制すると考えられた。

参考文献 (業績)

Fujino Y, et al. *eLife*, 12:RP84338, 2023.

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 マウス脳からミクログリアを単離し、シングルセル (sc) RNA-seq 解析を行った。

方法

野生型、MeCP2KO、TLR9/MeCP2WKO マウスとミクログリア特異的に EGFP を発現するトランスジェニックマウス (Iba1-EGFP マウス) との交配を行った。この交配により得られたマウスから脳を単離し、EGFP の蛍光を指標にミクログリアを単離し、scRNA-seq 解析を行った。

結果

scRNA-seq 解析の結果から、野生型マウスと比較し、MeCP2KO マウスではミクログリ

アの活性化に伴い炎症性サイトカインの発現が増加していることがわかった。さらに、MeCP2KO マウスと比較し、TLR9/MeCP2WKO マウスでは炎症性サイトカインの発現が減少していることがわかった。

考察

本研究により、TLR9 の欠損により MeCP2KO マウス脳内のミクログリアの異常活性化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、ミクログリアの活性を抑制するミノサイクリン、TLR9 阻害剤、ミクログリア機能性分子 (炎症性サイトカイン等) に対しての阻害抗体やシグナル阻害剤を MeCP2KO マウスに投与し表現型が回復するかを検討し、治療法の開発を目指す。

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 1q21.1 領域は、その欠失・重複が自閉スペクトラム症・統合失調症に関係することで知られている。共通の表現型の他に、1q21.1 欠失・重複は逆の表現型を有している。すなわち 1q21.1 欠失は小頭症、1q21.1 重複は大頭症を示す。しかしながら、その分子的・細胞的メカニズムは知られていない。

本研究目的は 1q21.1 欠失・重複の表現型の分子メカニズムを明らかにすることである。

方法

CRISPR/Cas9 法によるゲノム編集技術を組み合わせた次世代染色体工学的手法を利用して、ヒト多能性幹 (ES) 細胞を用いて、ヒト染色体 1q21.1 欠失・重複 (CNV, copy number variation) 細胞モデルを作製した。また、本 ES 細胞モデルを用いて、2D 神経細胞及び 3D オルガノイドに分化させた。それらのサンプルを用いて、免疫組織化学を含む形態学的解析、MEA (マルチ電極アレイ) を用いた電気生理学的解析、さらにはシングルセル RNA-seq を用いたトランスクリプトーム解析を行った。

結果

1q21.1 上の約 840Kb の欠失・及び重複 ES 細胞モデルの構築に成功した。分化させて NPC (neural precursor cell) オルガノイド及び皮質オルガノイドにおいて、野生型に比べて 1q21.1 欠失では半径が小さく 1q21.1 重複では大きくなっていたが、細胞の大きさには違いがなかった。TBR2, NCAM1, MAP2 などの神経分化マーカーの発現を調べたところ、

1q21.1 欠失では分化マーカーの発現が高く、1q21.1 欠失では神経の成熟度が高く、1q21.1 重複では逆に成熟度が低いことが観察された。また、1q21.1 欠失・重複いずれにおいても、スパイク発火の上昇が見られた。さらに、シングルセル RNA-seq の結果では、1q21.1 欠失・重複のそれぞれが神経分化の速度と方向性に違いを示した。1q21.1 欠失では、GABA 神経関連遺伝子の発現が上昇し、成熟した状態にあり、1q21.1 重複ではグルタミン酸関連分子が多く、未分化で増殖状態にあることが明らかとなった。

考察

ヒト染色体 1q21.1 欠失・重複 (CNV) 細胞モデルは臨床表現型と相関する。

結論

CRISPR/Cas9 法によるゲノム編集技術を組み合わせた次世代染色体工学的手法を利用して、ヒト染色体 1q21.1 欠失・重複 (CNV) 細胞モデルを作製し、解析した。

参考文献

1. Nomura Y et al, BioRxiv, doi: <https://doi.org/10.1101/2021.09.13.460033>

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 医生物学研究所

(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、神経幹細胞の性質がどのように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・改良し (Yamada et al. *Cell Reports*, 2018, Yamada et al., *iScience*, 2020, Nagasaki et al., 2023)、光操作技術を培養神経幹細胞に導入することで、分化運命決定因子 *Ascl1* の発現を光操作した。細胞増殖や細胞分化を誘導して 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 *Ascl1* 下流遺伝子の同定や遺伝子ネットワーク解析を実施した。また、Bone Morphogenetic Protein (BMP) によって培養神経幹細胞を休眠状態にし、*Ascl1* を光操作することで、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 システムを用いて、*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)。

結果

培養神経幹細胞において、*Ascl1* 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。様々なタイムポイントにおいて細胞を回収し、RNA シークエンス解析を行い、*Ascl1* 下流遺伝子の探索や遺伝子ネットワーク解析を実施した。また、BMP を用いて神経幹細胞を休眠状態にし、*Ascl1* を光操作して、活性化状態あるいはニューロン分化が促進できるかを検討した。また、*DCX-Cre* や *Tubb3-Cre* マウスと蛍光タンパク質を発現するレポーターマウスとを掛け合わせて、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。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って *Ascl1* 下流遺伝子を探索し、*Ascl1* 発現に対する応答性の違いにより、*Ascl1* 下流遺伝子を分類した。*Ascl1* 下流遺伝子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。今後は *Ascl1* 下流遺伝子の発現パターンやこれらが構成する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することができるのではないかと考えられた。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 を用いて培養神経幹細胞を休眠状態にし、培養細胞レベルでの検証を行った。休眠状態の細胞においても、*Ascl1* 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、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同定、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. *Nagasaki C. S., Fukuda D. T., Yamada M., Suzuki III. Y. Kakutani R., Guy. T. A., *Imayoshi I., Enhancement of Vivid-based photoactivatable Gal4 transcription factor in mammalian cells. *Cell Structure and Function*, February 8,48(1):31-47, 2023.
2. * Inoue U.Y., Morimoto Y., Yamada M., Kaneko R., Shimaoka K., Oki S., Hotta M., Asami J., Koike E., Hori K., Hoshino M., Imayoshi I. and *Inoue T.; An Optimized Preparation Method for Long ssDNA Donors to Facilitate Quick Knock-In Mouse Generation, *Cells* 2021, 10, 1076.
3. Yamada M., Nagasaki C. S., Suzuki Y., *Imayoshi I.; 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
4. Yamada M., Suzuki Y., Nagasaki C. S., Okuno H., *Imayoshi I.; 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) マルチオミクスデータ解析による小脳発生・発達機構の解明

(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

脳は、進化の過程で複雑化・大型化した組織であり、その結果、高次機能などの能力の獲得につながったと考えられている。例えばヒトの場合、大脳皮質が著しく拡大したことが、特徴的な高次機能の獲得に寄与したと考えられている。しかしながら、複雑で拡大した脳がどのような分子メカニズムによって形成されたのかに関しては、未だに不明である。この問題を解決することは、生物進化の過程で高次機能がどのように獲得され、脳の多様性がどのように獲得されるのかという謎を解明する上で極めて重要である。小脳は、全神経細胞の70%以上が存在する脳領域である。近年、ヒトを対象とした脳機能イメージングやモデルマウスの研究結果から、小脳が報酬の予期・言語機能といった認知機能と密接に関連していることが明らかになっている。興味深いことに、小脳を構成する神経細胞の数や小脳皮質の大きさは、進化の過程で急速に増加することが明らかになっており、小脳の拡大が高次機能の獲得に重要な役割を担っていることが示唆されている。しかしながら、小脳を構成する細胞群がどのように発生し、機能しているかは未だ完全には理解されていない。

本研究では、最先端の遺伝子発現解析技術である single cell RNAseq の解析を通して、小脳を構成する神経細胞の発生に関わる分子メカニズムや、機能が未知の細胞の解析を行う。

方法

公共の成体マウスの single cell RNAseq(scRNAseq)データを取得し、発生ステージごとに、小脳顆粒細胞を抽出した。次に、小脳顆粒細胞において特徴的な遺伝子モジュールを決定し、それぞれのモジュールの発現を調べた。最終的に神経細胞の産生に関わるモジュールに着目し、GO 解析などを行なった。

結果

本年度は、小脳顆粒細胞の発生を制御する分子メカニズムを明らかにするために、公共の scRNAseq データから抽出した小脳顆粒細胞に対して、モジュール解析を行い、複数の遺伝子モジュールの同定を行なった。興味深いことに、そのうちの一つは、中間型神経前駆細胞を介した神経細胞産生においてのみ発現が見られるモジュールであった。これを Indirect module と呼ぶ。Indirect module はヒトにおいても類似した発現パターンを示した。Indirect module の GO 解析を行うと、neurogenesis に関係するモジュールを同定できた。

考察・結論

本年度に同定することができたモジュールは、中間型神経前駆細胞を介した神経細胞産生において機能するモジュールであり、進化的に高度に保存されていると考えられる。このモジュールの発現を制御する分子機構を調べることで、進化的な皮質拡大機構を制御する分子基盤が明らかになることが想定される。

参考文献(業績)

1. Nakamura Y, Miyashita S, et al. Cerebrospinal fluid-contacting neuron tracing reveals structural and functional connectivity for locomotion in the mouse spinal cord. *Elife*. 2023
2. Nakata S, Miyashita S, et al., Epigenetic upregulation of *Schlafen11* renders WNT-

and SHH-activated medulloblastomas
sensitive to cisplatin. *Neuro Oncol.* 2022

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 neurological, psychiatric and muscular 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 (1) valuable information accumulated in the bioresource bank of NCNP, (2) a novel platform for big data analyses, and (3) our advanced protocols for genome editing or transgenesis, our group aims at development of 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), Mitsuhiro Yamada (NCNP), Tomohiro Kabuta (NCNP), Shuji Wakatsuki (NCNP), Yoshitsugu Aoki (NCNP), Rieko Muramatsu (NCNP), Yuichi Yamashita (NCNP), Masaki Iwasaki (NCNP), Eisuke Dohi (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 hundreds of disease model mouse lines. Dr. Iwasaki's group surgically collected human brain samples from epileptic patients in the NCNP hospital in an ethically approved manner to establish the beneficial bioresource bank with RNA-seq and DNA methylation data for public.

As for studies and modeling of psychiatric diseases, Dr. Hoshino's group found novel synaptic function of DSCAM interacting with GLAST expressed among surrounding astrocytes. They also revealed the role of *Auts2* to suppress *Robo1* expressions, promoting cell divisions of cortical intermediate progenitors. Dr. Mi Yamada's group realized the role of oxytocin signaling in the insula for processing the social but not the physical stress. 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 MeCP2 dependent mechanisms of Rett syndrome. Dr. Takumi's group introduced the valuable methodology in editing huge genomic territory to recapitulate intricate ASD pathology and novel protocols to multi-dimensionally analyze the pathology.

Regarding studies and modeling of neurological diseases, Dr. Wakatsuki's group revealed the possible role of Vault complex in neural circuit formation, maintenance and modification. Dr. Muramatsu's group screened molecules involved in neural circuit repair processes to identify several candidates including *Syt4*. 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 CRISPR/Cas9 based genome editing methods to finally achieve the optical control of adult neurogenesis. Dr. Dohi's group tried to verify multiple roles of extra-cellular vesicles *in vivo*.

For muscular diseases, Dr. Noguchi's group comprehensively modeled mutations identified from various familial muscular diseases by using the CRISPR/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 big data 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 evaluate the mechanism of indirect neurogenesis in the mouse cerebellum.

We held the online annual meeting where the results of our research were reported on Nov. 8, 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.

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
病院 放射線診療部
佐藤典子

1. 総括研究報告

(1) 研究目的

<脳画像の標準化>構造MRI (3DT1WI) を Harmonization (ComBat 法) にて異なる磁場強度、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。またこの手法を小児の正常脳のデータベース作成においても応用する。

<新たな撮像法と解析手法の開発>短時間、高画質のMRI神経メラニン画像を開発し、データベースを作成し、一般臨床に広める。

fMRI研究では、脳波MRI同時計測技術を用いて脳回路を同定と、疼痛と関係する脊髄、脳神経活動を描出する画像手法を確立する。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。

<MRIでの臨床研究>グラフ理論を用いたネットワーク解析手法を臨床応用し、アルツハイマー病(AD)の将来の発症予防に貢献する。さらに自由水イメージングなどの新しい解析法を用いて、神経疾患の病態を模索する。

<PETを用いた画像研究>アミロイドPETの定量ソフトウェアと第2世代のタウPETトレーサ(18F-MK6240)での定量解析法を開発する。[11C]DAA1106による脳内神経炎症PET検査の撮像・解析の環境を整備して検査を行い、疾患の病態解明に寄与する。

(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

松田博史 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

<脳画像の標準化>

3Tと1.5Tの構造MRIから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、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。1.5TのAD/MCI/健常群の異なる磁場強度のデータを用いても、この手法にて高精度に疾患群を識別できた。さらに多時点のMRI画像を用いて、脳委縮量の変化から疾患識別の検討を行ったところ、縦断的比較の方が横断的比較より多くの部位に有意差が認められた。

小児頭部構造MRI画像をHarmonizationで標準化する研究では、5施設より6歳以上18歳未満の正常発達児の701画像を集積し、各36領域の体積を算出した。補正後の脳各領域の脳容量について、3歳毎に層別化して、性別毎の平均値と標準偏差を創出した。

<新たな撮像法と解析手法の開発>

Chemical shift selective (CHESS) パルスをかいた T1 強調脂肪抑制画像を改良し、5 分という短い時間で、全脳をカバーする高い S/N 比の MRI 神経メラニン画像を得られることに成功した。

fMRI 研究では、 α 、 β 周波数帯域それぞれでミュー波パワー変動と相関する神経回路を観察した。また脊髄神経活動を計測する上でノイズ源となる呼吸、心拍を cs-fMRI と同時計測し、その情報をもとにノイズ除去を行う手法を開発した。

統計解析手法の開発では、AI にて欠損データを補完した疑似完全データを用いて、AD の判別性能の向上を示すことができた。

<MRI での臨床研究>

人間ドックを受診した健常者 222 人を対象として、構造 MRI で個人レベルのネットワーク解析を行い、情報伝達能の指標であるスモールワールド性と、AI にて構造 MRI から算出した脳年齢測定値や検診で測定した 52 項目との関連解析を行った。スモールワールド性に最も寄与する因子は、脳年齢と暦年齢の差で、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。

慢性疲労症候群において、神経炎症の指標と考えられている自由水イメージングと血中抗自律神経受容体抗体値との相関解析を行った。 $\beta 1$ -adr-R-Ab と自由水は右前頭弁蓋部に有意な負の相関を認め、過去の NODDI 解析とも合致し、ターゲット部位の可能性を示した。

<PET を用いた画像研究>

AD において、ネットワークで重要なハブの指標となる構造 MRI を用いた媒介中心性画像では、両側楔前部にアミロイド蓄積と有意な負の相関が得られた。楔前部はアミロイド蓄積が最初に起こる部位であり、ハブ機能低下を引き起こすと考えられた。第 2 世代のタウ PET トレーサ (18F-MK6240) にて定量解析法を開発中である。

脳内神経炎症 PET では、健常データベース構築は目標の 30 名の被験者の参加が完了し

た。加齢と共に脳内のミクログリアの活性が低下することが示唆された。慢性疲労症候群では 9 名の参加が、気分障害を対象として電気けいれん療法によって生じる神経炎症レベルの変化の評価では 6 名の患者の参加が完了した。

(4) 今後の研究の進め方について

脳画像標準化研究では、Harmonized Z-score を用いて、AD 以外の他の変性疾患においてもその有効性を検証する。小児の脳標準化研究では、他の手法にても再解析し、年齢別の基準値を作成する。

CHESS 法を用いた神経メラニン画像の正常データベースを構築し、疾患での有用性を検証する。脊髄神経活動を評価する fMRI の開発研究では、ノイズ除去技術を洗練させて疼痛刺激によるマッピングを行なう。マルチモダル脳画像の解析手法の次の応用として、パーキンソニズムをきたす疾患にて検証する。

第二世代のタウ PET トレーサを用いた定量ソフトウェアの開発を行う。[11C]DAA1106 製剤を使用した PET 研究では患者のリクルートを継続して行い、ミクログリア活性の変化の意味するところを検討する。

(5) 倫理面における配慮の状況 (生命倫理・安全対策等の遵守)

本研究はヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則を遵守し、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (平成 26 年 12 月 22 日、26 文科振第 475 号、厚生労働省発科 1222 第 1 号、医政発 1222 第 1 号) を準用して実施した。上記いずれの研究も各施設の倫理委員会の承認を既に得て実施しているプロトコールである。

(6) 研究成果刊行一覧 主任研究者・分担研究者 【論文】

1. Takahashi J, Mori-Yoshimura M, Ariga H, Sato N, Nishino I, Takahashi Y. Diagnostic Yield of Chitriditi's Sign in Advanced-Phase Late-Onset Pompe Disease. J Neuromuscul Dis. 2022;9(5):619-627:doi: 10.3233/JND-

- 220792.PMID: 35964201.
2. Ota M, Sato N, Nakaya M, Shigemoto Y, Kimura Y, Chiba E, Yokoi Y, Tsukamoto T, Matsuda H. Relationships Between the Deposition of Amyloid- β and Tau Protein and Glymphatic System Activity in Alzheimer's Disease: Diffusion Tensor Image Study. *J Alzheimers Dis.* 2022;90(1):295-303:doi: 10.3233/JAD-220534.PMID: 36120782.
 3. Chiba E, Kimura Y, Shimizu-Motohashi Y, Miyagawa N, Ota M, Shigemoto Y, Ohnishi M, Nakaya M, Nakagawa E, Sasaki M, Sato N. Clinical and neuroimaging findings in patients with lissencephaly/subcortical band heterotopia spectrum: a magnetic resonance conventional and diffusion tensor study. *Neuroradiology* 2022. 04;64(4):825-836:doi: 10.1007/s00234-021-02836-2. Epub 2021 Oct 25. PMID: 34693484.
 4. Saitoh Y, Iwasaki M, Mizutani M, Kimura Y, Hasegawa M, Sato N, Takao M, Takahashi Y. Pathologically Verified Corticobasal Degeneration Mimicking Richardson's Syndrome Coexisting with Clinically and Radiologically Shunt-Responsive Normal Pressure Hydrocephalus. *Mov Disord Clin Pract.* 2022. 04;9(4):508-515:doi: 10.1002/mdc3.13442. eCollection 2022 May. PMID: 35582317.
 5. Shiohama T, Tsujimura K. Quantitative Structural Brain Magnetic Resonance Imaging Analyses: Methodological Overview and Application to Rett Syndrome. *Front Neurosci.* 2022. 04, 835964. DOI: 10.3389/fnins.2022.835964 (査読有り)
 6. Okita K, Matsumoto T, Funada D, Murakami M, Kato K, Shigemoto Y, Sato N, Matsuda H. Potential Treat-to-Target Approach for Methamphetamine Use Disorder: A Pilot Study of Adenosine 2A Receptor Antagonist With Positron Emission Tomography. *Front Pharmacol.* 2022. 05;13:820447:doi: 10.3389/fphar.2022.820447. eCollection 2022. PMID: 35645814.
 7. Shigemoto Y, Matsuda H, Kimura Y, Chiba E, Ohnishi M, Nakaya M, Maikusa N, Ogawa M, Mukai Y, Takahashi Y, Sako K, Toyama H, Inui Y, Taki Y, Nagayama H, Ono K, Kono A, Sekiguchi K, Hirano S, Sato N. Voxel-based analysis of age and gender effects on striatal [^{123}I] FP-CIT binding in healthy Japanese adults. *Ann Nucl Med.* 2022. 05;36(5):460-467:doi: 10.1007/s12149-022-01725-9. Online ahead of print. PMID: 35174441.
 8. Mori-Yoshimura M, Aizawa K, Shigemoto Y, Ishihara N, Minami N, Nishino I, Yoshida S, Sato N, Takahashi Y. Frontal lobe-dominant cerebral blood flow reduction and atrophy can be progressive in Duchenne muscular dystrophy. *Neuromuscul Disord.* 2022. 06;32(6):477-485:doi: 10.1016/j.nmd.2022.02.008. Epub 2022 Feb 21. PMID: 35396091.
 9. Uozumi R, Yada S, Maruo K, Kawaguchi A. Confidence intervals for difference between two binomial proportions derived from logistic regression. *Communications in Statistics-Simulation and Computation,* 2022. 06, 3223-3236. DOI: 10.1080/03610918.2019.1710195 (査読有り)
 10. Hama Y, Mori-Yoshimura M, Aizawa K, Oya Y, Nakamura H, Inoue M, Iida A, Sato N, Nonaka I, Nishino I, Takahashi Y. Myoglobinopathy affecting facial and oropharyngeal muscles. *Neuromuscul Disord.* 2022. 06;32(6):516-520:doi: 10.1016/j.nmd.2022.02.010. Epub 2022 Feb 24. PMID: 35527200.
 11. Takasawa E, Abe M, Chikuda H, Hanakawa T. A computational model based on corticospinal functional MRI revealed asymmetrically organized motor corticospinal networks in humans. *Communications Biology,* 2022. 07, 664. DOI: 10.1038/s42003-022-03615-2 (査読有り)
 12. Maikusa N, Shigemoto Y, Chiba E, Kimura Y,

- Matsuda H, Sato N. Harmonized Z-Scores Calculated from a Large-Scale Normal MRI Database to Evaluate Brain Atrophy in Neurodegenerative Disorders. *J Pers Med*. 2022. 09;12(10):1555:doi: 10.3390/jpm12101555. PMID: 36294692.
13. Nakaya M, Sato N, Matsuda H, Maikusa N, Shigemoto Y, Sone D, Yamao T, Ogawa M, Kimura Y, Chiba E, Ohnishi M, Kato K, Okita K, Tsukamoto T, Yokoi Y, Sakata M, Abe O. Free water derived by multi-shell diffusion MRI reflects tau/neuroinflammatory pathology in Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (N Y)*. 2022. 10;8(1):e12356. doi: 10.1002/trc2.12356. eCollection 2022. PMID: 36304723.
14. Matsuda H, Okita K, Motoi Y, Mizuno T, Ikeda M, Sanjo N, Murakami K, Kambe T, Takayama T, Yamada K, Suehiro T, Matsunaga K, Yokota T, Tateishi U, Shigemoto Y, Kimura Y, Chiba E, Kawashima T, Tomo Y, Tachimori H, Kimura Y, Sato N. Clinical impact of amyloid PET using 18F-florbetapir in patients with cognitive impairment and suspected Alzheimer's disease: a multicenter study. *Ann Nucl Med*. 2022. 12;36(12):1039-1049:doi: 10.1007/s12149-022-01792-y. Epub 2022 Oct 4. PMID: 36194355.
15. Sone D, Sato N, Shigemoto Y, Kimura Y, Matsuda H. Upper cerebellar glucose hypermetabolism in patients with temporal lobe epilepsy and interictal psychosis. *Epilepsia Open*. 2022. 12;7(4):657-664:doi: 10.1002/epi4.12645. Epub 2022 Aug 30. PMID: 35977826.
16. Saito Y, Sugai K, Iwasaki M, Atobe M, Sato N, Kakita A, Saito Y, Ohtsuki T, Sasaki M. Periodic cycles of seizure clustering and suppression in children with epilepsy strongly suggest focal cortical dysplasia. *Dev Med Child Neurol*. 2023. 03;65(3):431-436:doi: 10.1111/dmcn.15365. Epub 2022 Jul 24. PMID: 35871498.
17. Shimizu-Motohashi Y, Chiba E, Mizuno K, Yajima H, Ishiyama A, Takeshita E, Sato N, Oba M, Sasaki M, Ito S, Komaki H. Muscle impairment in MRI affect variability in treatment response to nusinersen in patients with spinal muscular atrophy type 2 and 3: A retrospective cohort study. *Brain Dev*. 2023. 03;45(3):161-170:doi: 10.1016/j.braindev.2022.11.002. Epub 2022 Nov 29. PMID: 36460551.

【学会発表】

1. 舞草伯秀、木村有喜男、重本蓉子、千葉英美子、佐藤典子、松田博史。MRI 縦断画像解析法を用いたアルツハイマー病・軽度認知障害の脳萎縮評価, 第41回日本認知症学会、2022年11月25日
2. 塩浜直、Ortug A, Alatorre WJ L, Valli B, Levman J, Faja SK.、辻村 啓太、Maunakae AK、高橋 恵美。脳 MRI 定量解析を用いた自閉スペクトラム症児の発症予測。第125回日本小児科学会学術集会。2022年4月15日
3. 阿部十也。脳脊髄同時記録機能的 MRI 技術を用いたヒト認知神経科学研究の新展開(シンポジウム)。第52回日本臨床神経生理学会学術大会(京都)、2022年11月24日
4. 沖田恭治、佐藤典子、重本蓉子、釈迦堂充、齊藤友美、岡部馨、野田隆政。電気けいれん療法(ECT)による脳内ミクログリア活性の変化、BPCNP/PP4学会合同年会、2022年11月4日
5. Matsuda H, Hanyu H, Kaneko C. Centiloid scale measure of amyloid PET by CT-guided anatomic standardization. AAIC 2022, July 31, SanDiego

2. 分担研究報告

精神・神経疾患研究開発費 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」班

Harmonized Z-score を用いた脳縦断解析によるアルツハイマー病/軽度認知障害の識別に関する研究

主任研究者：佐藤典子

研究協力者：舞草伯秀

主任研究者所属：NCNP 病院放射線診療部

【緒言】

MRI を用いた画像解析は、再現性・客観性・定量性に優れたアルツハイマー病 (AD) の代理バイオマーカーとなりうる。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。前年度は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、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。本年度は、縦断的 MRI から得られる脳変性の変化を求められれば、MCI から AD の発症の代理バイオマーカーとなりうるとして、2 時点間からの MRI 画像から脳萎縮率マップを算出する技術を用いて脳萎縮を評価した。

【対象と方法】

AD 群(139 名), MCI 群(222 名), 健常群(146 名)を対象とした。登録されている多時点の 1.5 T MRI 3DT1 画像画像から脳萎縮マップを算出した。ベースラインで得られた脳体積に、脳萎縮量を乗じ各時点での脳体積とし、Harmonized Z-score を求めた。Harmonized Z-score は年齢・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指標である。一般線形混合モデル

(GLMM)を用いて、各群の横断的な Harmonized Z-score とその縦断的な変化を検討した。多重比較補正には Benjamini & Hochberg 法を用いた。

【結果】

MCI 群と健常群との横断的比較では、左右 Hippocampus および左 Temporal Pole に有意差が認められた。アルツハイマー群と健常群の横断的比較では、これらの領域に加えて右 Temporal Pole でも有意差が認められた。一方縦断的比較では、MCI 群と健常群およびアルツハイマー病群と健常群の間でこれらの領域に加えて左右 Caudate および左右 Planum Polare でも有意差が認められた。横断的比較では、MCI 群と健常群およびアルツハイマー病群と健常群で有意差が認められた領域がそれぞれ、63 領域および 86 領域であったのに対して、縦断的比較ではそれぞれ 110 領域および 104 領域であった。

【討論】

Hippocampus の萎縮は AD においてよく知られているが、Temporal Pole の萎縮も同様に AD の診断に優位な部位であることは興味深い結果であった。さらに縦断的比較では Caudate も経時的萎縮が進行するという結果も注目すべきと思われる。Caudate の萎縮は FTLD、特に ASL や TDP など認められることは報告されているが、AD においても縦断的萎縮で認められた点は、AD 病理の解明に有用な結果であった。結論:縦断的解析を行うことより、横断的比較では見られなかった領域において有意差が認められた。これにより縦断的比較により健常群と疾患群の識別がより有効となることが示唆された。

【参考文献】

Maikusa N, Shigemoto Y, Chiba E, Kimura Y, Matsuda H, Sato N. Harmonized Z-Scores Calculated from a Large-Scale Normal MRI Database to Evaluate Brain Atrophy in Neurodegenerative Disorders
J Pers Med. 2022 Sep 21;12(10):1555. doi: 10.3390/jpm12101555.

小児脳 MRI 定量解析における年齢別基準値の創出

分担研究者：塩浜直

分担研究者所属：千葉大学大学院医学研究院 小児病態学

【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と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、網羅的に解剖学的構造解析を行う。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) を実施している。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。

【結果】

日米 5 施設より 701 画像 (6 歳以上 18 歳未満の正常発達児) を集積した。優先すべき解析対象として、代表的な 36 領域の脳容量について、CIVET を用いた Voxel 法で算出した。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。

補正後の包括的な脳容量を平均±標準偏差で示すと、全脳 F 1740±136ml、M 1884±157ml；皮質 F 705±79ml、M 782±70ml；白質 F 428±52ml、M 474±60ml；皮質下灰白質 F 36±3ml、M 38±3ml；髄液腔

F 401±81ml、M 406±82ml；小脳・脳幹 F 170±14ml、M 184±15ml であった。補正後の脳各領域の脳容量について、3 歳毎に層別化して、性別毎の平均値と標準偏差を創出した。補正式及び創出した基準値の妥当性を評価するために、巨脳症症例 8 例 (Gorlin 症候群 3 例、Sotos 症候群 1 例、PTEN hamartoma tumor 症候群) と正常対照例 4 例を解析した。Gorlin 症候群では、他の巨脳症性疾患とは異なり、白質の容量増加が乏しい傾向が見られた。

【BASH-NC から創出した年齢別・性別の脳容量】

男女ともに、経年的に灰白質容量は低下し、全脳容量・白質容量・脳脊髄液容量が増加する。

WB, whole brain; CGM, cortical gray matter; WM, white matter; SGM, subcortical gray matter; CSF, cerebral spinal fluid; CB, cerebellum and brainstem; F, female; M, male

【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。最新の報告では、6 歳後の小児期では、皮質厚の変化が非線形性を有するため、非線形な GAM モデルによる ComBat-GAM が優れているという報告があり、16-18 歳のデータ数を増やした上で ComBat-GAM での再解析を予定している。この解析データをもとに、年齢別の基準値を作成して、速やかに論文報告をする方針である。副次的な業績として脳 MRI 定量解析についての啓発をするための総説を報告した (参考文献 1,2)。

【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 についての報告の準備を進めている。

【参考文献】

1. Tsujimura K, Shiohama T, Takahashi E. microRNA Biology on Brain Development and Neuroimaging Approach. Brain Sci. 2022 Oct 9; 1366, doi: 10.3390/brainsci12101366.
2. Shiohama T, Tsujimura K. Quantitative Structural Brain Magnetic Resonance Imaging Analyses: Methodological Overview and Application

to Rett Syndrome. *Front Neurosci.* 2022 Apr
5:16:835964. doi: 10.3389/fnins.2022.835964.

脳・脊髄同時記録機能的MRI (cs-fMRI) 技術を用いた運動・感覚脳脊髄回路の同定

分担研究者：阿部十也

研究協力者：佐島和晃

分担研究者所属：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、目的】

手先を巧みに操り細やかな動作を遂行する、目標物を手で触れて知覚するなど、手はヒトの日常生活で多く活用されている。運動制御や感覚情報処理を行う際に脳と脊髄で構成される中枢神経回路が動員されることは分かっているが、その領域間でどのような機能結合様式をとるか分かっていないことが意外に多い。

磁気共鳴画像装置(MRI)で神経活動に伴う組織内酸素代謝の変化を捉えることができる。機能的磁気共鳴画像法(fMRI)と呼ばれ、課題実行中にどの脳領域が活動しているのかを観察し、脳機能の局在を明らかにする手法である。近年、脊髄の画像解析手法が飛躍的に発展した。技術的な制約はあるものの、脊髄神経活動の計測が可能となった。脳・脊髄同時記録 fMRI 技術(cs-fMRI)を用いて脳と脊髄の領域間の機能結合様式を観察することが可能になった。当部ではこの技術を用いて運動・感覚を司る脳脊髄神経回路の同定を行っている。技術開発の進捗と予備結果を共有する。

【方法】

運動課題：先行知見から右手と左手運動時で脳脊髄回路が異なると考えられていたが実証されていなかった。右手もしくは左手を用いた片手運動を健康な右利き成人に行わせ、その最中の脳脊髄神経活動を cs-fMRI で計測し、脳脊髄神経相関が使用手で異なるかを検証した。手指筋肉に神経入力する頸椎 C7/Th1 レベルと大脳運動野の神経活動の時系列データから機能的結合度を算出した。先行知見から脳脊髄回路モデルを組み立て右手・左手運動で動員される回路の違いを検定した。感覚課題：痛覚の感覚上行路を同定する技術開発を行った。温熱痛覚刺激装置を用い、脊髄から大脳までの神経活動計測・解析技術の開発を行った。感覚刺激による脊髄の cs-fMRI 神経活動のサイズは運

動で誘発される神経活動より小さいことが経験的に知られている。呼吸・心拍由来の髄液拍動によるノイズ除去が課題となる。fMRI 計測中に呼吸・心拍データを収集した。その情報および独立成分分析を用いたノイズ除去を行い、デノイズによる脊髄神経活動の観察を行った。

【結果および考察】

運動課題：右手もしくは左手を使用した片手運動に関わる脳・脊髄伝導路の機能結合パターンを観察し、その機能結合様式が左右対称ではないことを示した。特に左手の運動で、ヒトでは存在がほとんど知られていなかった発生的に古い脳・脊髄伝導路が使われることが示唆された (Takasawa, Abe et al., *Communications in Biology* 2022)。

感覚課題：呼吸・心拍由来のノイズ除去、独立成分分析を組み合わせることで痛覚による神経活動の抽出が改善した。

【結論】

cs-fMRI を用いて運動・感覚脳脊髄回路の神経活動を観察する技術を整備した。その過程で右手と左手運動で動員する脳脊髄回路が非対称であることを示した。今回のデータ解析では当時の脊髄画像解析技術の限界があり、脳と脊髄を結ぶ経路の途中に位置する中継神経核の活動評価ができなかった。画像解析技術の進歩により脳脊髄画像から仮説フリーで神経活動を探索可能となった。運動の脳脊髄回路の詳細な同定を行っていききたい。感覚上行路の神経活動評価技術をこの一年で固めることができた。痛覚の神経活動マッピングを群解析で行っていき。運動・感覚を司る脳脊髄回路の抽出は運動麻痺の回復、慢性疼痛の評価など臨床応用への展開が期待できる。基盤技術を整備して共同研究を推進していききたい。

分担研究者：川口淳

研究協力者：石丸悠子、重本蓉子、佐藤典子

分担研究者所属：佐賀大学医学部

【諸言】

本研究は既に撮像されている MRI や核医学画像を用いて、神経変性疾患における脳の特徴を明らかにする。複数のモダリティから得られる脳画像データ(マルチモダリティ脳画像データ)から有効かつ精度良く情報を引き出すための先進的な統計解析手法を適用し実用性について検証する。

【方法】

2010年10月1日より2022年3月31日までの間に、国立精神・神経医療研究センター病院神経内科にてパーキンソニズムをきたす疾患や脊髄小脳変性症と診断され、かつ MRI や核医学など複数種類の画像検査を行った症例を対象とする。本発表においては、処理速度の観点から少数症例を使用する。16例を以下の各疾患から4名ずつ抽出した；パーキンソン病 (PD)、進行性核上性麻痺 (PSP)、多系統萎縮症 (MSA)、皮質基底核変性症 (CBD)。T1 画像に関して Inhomogeneity Correction (N4), Registration to Template MNI152 (SyN: Non-linear), Brain Mask (fslmask), Brain Segmentation を行い, GM 画像を取得した。DTI に関しては FSL で前処理(eddy_correct, fslsplit, bet, dtifit)をして FA 画像を取得した。すなわち GM と FA の2つのモダリティを使用した。

マルチブロックスコアリング法を適用し、マルチモダル画像からスコアを算出した。疾患ごとにそのスコアを ANOVA により比較した。有意水準を5%とした。

【結果】

画像を前処理ができた症例は、CBS 4 例、MSA-P 3 例、PD 2 例、PSP 4 例の 12 名であった。女性 5 名 (41.7%)、男性 7 名 (58.3%)、年齢 Mean (SD) 73.8 (8.18)、Median [Min, Max] 74.0 [58.0, 84.0]であった。スコアは6成分算出した。その算出されたスコアを疾患群に対して比較したところ、有意な差は見いだせなかつ

た。

【考察】

疾患特異的な傾向はあり、今後症例数を増やすことによって鑑別に役に立つようなスコアが算出されることが期待される。

【結論】

少数対象者であったために慎重な解釈が必要ではあるが、マルチモダル脳画像から算出されるスコアは、パーキンソニズムをきたす疾患鑑別に寄与することが期待される。より詳細に鑑別できるような発展もある。

自由水拡散 MRI 解析を用いた ME/CFS の脳画像解析

分担研究者：木村有喜男

研究協力者：佐藤典子、佐藤和貴郎、山村隆

分担研究者所属：NCNP 病院放射線診療部

【緒言】

自由水イメージング(free water imaging; FWI)は、生体脳における自由水の影響を取り除くことで生体脳組織をより正確に計測することを可能とする次世代型拡散 MRI 解析法である 1)。FWI は神経炎症の指標として利用できると考えられており、今回我々は、筋痛性脳脊髄炎/慢性疲労症候群 (ME/CFS) における脳内構造評価のため FWI を用いた解析を行った。

【方法】

ME/CFS 患者において、頭部 MRI 検査と血中の抗自律神経受容体抗体価の測定が 3 か月以内に施行されている 58 名 (女性 34 名、男性 14 名; 年齢 35.6 ± 12.5 歳、右利き手)を対象とした。撮影は、通常の MRI 撮影に追加し拡散 MRI を撮影した。Philips 社製 3 テスラ MRI を使用し、b 値 (0, 1000, 2000 sec/mm²)、MPG32 軸にて撮影した。FWI は MATLAB を用いた tensor-model fitting アルゴリズムを用いて、自由水の体積分率(free water: FW)、自由水の影響を除外した異方性比率 (FW corrected Fractional Anisotropy: FAt) および平均拡散 (FW corrected mean diffusivity: MDt) を算出した。同時に算出される従来法 DTI からの FA と MD も含め、これらの指標と抗自律神経受容体抗体[抗 β1 アドレナリン受容体抗体 (b1-adr-R·Ab)、抗 β2 アドレナリン受容体抗体 (b2-adr-R·Ab)、抗ムスカリン 3 型アセチルコリン受容体抗体 (M3R·Ab)、抗ムスカリン 4 型アセチルコリン受容体抗体 (M4R·Ab)] の抗体価、さらに罹患期間および Performance Status (PS) との相関を、SPM12 を用いて解析した。

【結果】

b1-adr-R·Ab では、FA にて右基底核に正の相関、右頭頂葉に負の相関を、FAt にて右基底核に正の相関 (負の相関なし) を、FW にて右前頭弁蓋部に負の相関 (正

の相関なし) を、MD にて右前頭葉に負の相関 (正の相関なし) を、MDt にて右優位の弁蓋部～放線冠に負の相関 (正の相関なし) を認めた。b2-adr-R·Ab では、FA および FAt にて有意な相関なし、FW にて右前頭弁蓋部に負の相関 (正の相関なし) を、MD にて右弁蓋部に負の相関 (正の相関なし) を、MDt にて左頭頂葉に負の相関 (正の相関なし) を認めた。M3R·Ab では、FA、FAt、FW および MDt にて有意な相関なし、MD にて右前頭葉に負の相関 (正の相関なし) を認めた。M4R·Ab では、FA、FAt および MDt にて有意な相関なし、FW にて左基底核、右側頭葉に負の相関 (正の相関なし) を、MD にて左基底核に負の相関 (正の相関なし) を認めた。罹患期間では FA と FAt にて右弁蓋部付近に負の相関を認めた (正の相関なし)。PS では有意な相関部位は認めなかった。

【考察】

b1-adr-R·Ab や b2-adr-R·Ab にて FW、MD および MDt において右前頭弁蓋部に共通して有意な負の相関が検出された。また、罹患期間においても FA と FAt にて同領域に負の相関が検出された。右弁蓋部中心の右前頭葉は、我々が MRI 構造ネットワーク解析において報告したネットワークの異常部位 2)、さらに DKI および NODDI による拡散 MRI 解析にて報告した右上縦束の異常 3)とも関連がある領域である。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。FW は神経炎症の指標として利用できると考えられており、ME/CFS 病態の解明に有用なツールとなる可能性がある。

【結論】

FWI を用いた解析は、ME/CFS 病態の解明に有用なツールであり、右前頭葉の異常は ME/CFS における biomarker となる可能性がある。

【参考文献】

1. Pasternak O, Sochen N, Gur Y, et al. Free water elimination and mapping from diffusion MRI. *Magn. Reson. Med* 2009;62:717-730.
2. 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;30:822-827

3. 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;49:818–824.

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：松田博史

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

【緒言】

アルツハイマー病では Default mode network を中心に脳局所間の連結に障害がみられるとされている。一方でこのネットワーク異常は、アミロイドおよびタウ蛋白の蓄積に影響を受けることが報告されている。本研究では、アルツハイマー型認知症が疑われる症例において、アミロイドおよびタウ蓄積が構造 MRI を用いた脳体積測定や個人レベルのネットワーク解析から得られる指標へ及ぼす影響を検討する。

【対象と方法】

総合南東北病院の脳神経内科を受診しアルツハイマー型認知症が疑われたものの脳血流 SPECT では明確な所見が得られない 51 歳から 83 歳まで(平均 72 歳)の 23 人(男性 15 人、女性 8 人)を対象とした。11C-PiB によるアミロイド PET を半導体 PET/CT (uMI780, United Imaging Healthcare) にて撮像した。また、MRI 装置 (Optima MR450w, 1.5T, GE Healthcare) による 3 次元 T1 強調画像を用いて Voxel Based Morphometry および個人レベルでの構造ネットワーク解析を行い、媒介中心性、次数、クラスタ係数、および経路長の画像を作製した。アミロイド蓄積量に関しては MRI を用いた標準的な手法でセンチロイドスケールを算出し、アミロイド蓄積量と脳体積および個々のネットワーク画像との相関解析を SPM12 により行った。また、タウ蓄積量の定量化に関しては、公開データベースの 18F-MK6240 によるタウ PET の陰性例群と陽性群のグループ解析により特異的なタウ集積部位を決定し、小脳を主とする参照領域とのカウント比から Standardized Uptake Value Ratio (SUVR) を求める方法を試みた。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各被験者から文書による同意を得て行った。

【結果】

共変量をノード数と MRI から推定された脳年齢とした場合、楔前部の媒介中心性とセンチロイドスケールに有意の逆相関がみられた ($x y z: 0 \cdot 70 \cdot 36, t=3.53, p < 0.001$)。また、共変量を脳年齢とした場合、右海馬体積とセンチロイドスケールに有意の逆相関がみられた ($x y z: 33 \cdot 16 \cdot 16, t=3.61, p < 0.001$)。公開データベースから求められたタウの特異的集積部位は、側頭葉内側部、側頭葉、頭頂葉、前頭葉新皮質にみられた。

【討論】

アルツハイマー型認知症が疑われる症例において、全脳のアミロイド蓄積量が右海馬体積と楔前部の媒介中心性に逆相関することが判明した。楔前部は Default mode network での機能的ハブとして重要な部位であり、視覚、感覚、運動、注意の情報に関与する重要な部位であり、アルツハイマー型認知症では PET や SPECT で代謝・血流低下がみられる。

【結論】

構造 MRI により測定される脳体積とネットワーク指標からアミロイド沈着量を推定できる可能性がある。

【参考文献】

Matsuda H, Yamao T. Software development for quantitative analysis of brain amyloid PET. Brain Behav. 2022;e2499.

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

分担研究者：沖田恭治

分担研究者所属：国立精神・神経医療研究センター病
院精神診療部

【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①：30 名 (女性 19 名、男性 11 名) の PET 撮像が終わり、本プロトコールは完了した。年齢は 39.4 ± 11.63 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 SUVR と年齢との間には負の相関を認めた (灰白質： $r=-0.377$, $p=0.04$, 白質： $r=-0.351$, $p=0.05$)。

研究②：10 名 (女性 9 名、男性 1 名) の PET 撮像が完了した。年齢は 34.6 ± 12.38 才だった。そのうち有効な PET データは 8 名分で、SUVR の値は灰白質全体で 2.61 ± 0.69 、白質で 2.19 ± 0.56 だった。

研究③：12 名の患者 (女性 4 名、男性 8 名) が参加した。疾患別には、大うつ病性障害 9 名、統合失調症スペクトラム 2 名、双極性感情障害 1 名だった。うち 1 名は技術的な問題で、もう 1 名は ECT のクールの途中で治療を自己中断したため、研究からもドロップアウトとなったため、10 名の患者のデータが解析対象となった。年齢は 45.3 ± 13.53 才だった。ECT による治療介入前の 1 回目のスキャンで得られた SUVR の値は灰白質全体で 2.50 ± 0.77 、白質で 2.13 ± 0.30 だった。治療介入後 2 回目のスキャンで得られた SUVR の値は灰白質全体で 3.02 ± 0.84 、白質で 2.71 ± 0.95 だった。灰白質の SUVR 値を ECT 前後で比較すると $t=1.681$, $p=0.16$ (paired t-test) となり、統計学的有意な差には至らなかったが、ECT によって神経炎症レベルが上がる傾向としては示された。

【考察と結論】

研究①：『神経炎症脳画像の健常データベースの構築』は完了した。今後は疾患群を対象とした研究②および③の被験者リクルートを進めていくことが求められる。興味深いのは研究②では、疾患群よりも健常群の方が高い SUVR 値を示し、研究③では ECT によって SUVR 値が高まること示されたことから、ミクログリア活性 = 神経炎症レベル = 神経毒性という図式ではなく、Long COVID や ME/CFS といった自己免疫機能の異常が示唆される病態で脳内の免疫機能が損なわれていることや、気分障害患者の場合は ECT によって、免疫機能が回復されたことを示している可能性があることである。この結果が示す意味については

今後よく検討することが求められる。また今後は 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、局所性を意識した検討を行う。

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.

【参考文献】

Rupprecht, R., Papadopoulos, V., Rammes, G., Baghai, T.C., Fan, J., Akula, N., Groyer, G., Adams,

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

In the studies on standardization of 3DT1WI, a longitudinal analysis of the changes in cerebral regional atrophy revealed significant differences in areas not seen in the cross-sectional comparison, which would be a surrogate biomarker for the onset of AD from MCI. In the pediatric study, we obtained standard range of each regional brain volume by sex and age in 701 neurotypical children by using CIVET pipeline, and harmonized these obtained values with Combat methods.

In the researches on developmental new MRI technique and data analysis, we obtained high quality MRI neuromelanin images covering the entire brain in as short a time as 5 minutes, by improving chemical shift selective (CHESS) pulsed T1-weighted fat suppression images. In the fMRI study, we started experiments to examine the corticospinal functional connectivity while participants perform hand movements or perceive sensory stimulation. In the multimodal (MRI and nuclear medicine) analysis study, we conducted an analysis of cases diagnosed with Parkinsonism and obtained meaningful analysis results from the proposed method.

In the MRI study, the ME/CFS study showed that significant correlations between autoantibody titers and FW-DTI indices in the right frontal operculum and suggests it may be a diagnostic marker for ME/CFS.

In the PET studies, whole-brain amyloid accumulation was found to be inversely correlated with right hippocampal volume and betweenness centrality in precuneus in patients with MCI and AD. The precuneus is an important functional hub in the default mode network. The neuroinflammation PET scans with 11C-DAA1106 were performed on 30 healthy controls, 10 subjects with Long COVID and ME/CFS, and 12 subjects who were planned to receive ECT. The results have not reached significant group or within-subject difference though, they suggest microglial activation does not denote neurotoxicity, rather beneficial immune function.

初 年 度 班

課題番号 4-1

課題名: アディクションの病態・症候・治療に関する包括的研究 (初年度班)

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 沖田恭治, 佐久間寛之, 高橋英彦, 常岡俊昭, 富山健一, 船田大輔,
三輪秀樹, 村井俊哉

1. 研究目的

本研究の目的は以下の3つである。第1に、ギャンブル障害およびゲーム障害という2つの嗜癖行動のそれぞれに関して、心理社会的側面と生物学的側面の両面から病態と臨床的特徴を明らかにすること、第2に、覚醒剤使用障害に対する司法的および保健医療的施策の効果を検証し、新たに社会問題化している市販薬使用障害の臨床的特徴と治療のあり方を検討することである。そして第3に、物質使用障害の発症や症状維持に関する生物学的機序・病態を解明し、薬物療法の可能性を模索することである。

2. 研究方法

本研究班では、この3つの目的を達成するために、以下に示すように、大別して2つのセクション、総計9つの分担研究開発課題を設定し、3年間研究を進める計画である。

【第1セクション】嗜癖行動の臨床的特徴と病態解明に関するプロジェクト。

1. ギャンブル障害に関する研究

- a) 心理社会的研究 (ギャンブル障害の臨床的特徴と治療反応性、転帰に関する研究)

「ギャンブル障害患者の臨床的特徴に関する研究」(常岡俊昭, 昭和大学附属烏山病院精神科)

- b) 生物学的研究 (ギャンブル障害患者の治療継続性・反応性に関与する神経基盤解明を目指す病態解明研究)
「ギャンブル障害の病態に関する神経画像的研究」(村井俊哉, 京都大学精神科)

2. ゲーム障害に関する研究

- a) 心理社会的研究 (ゲーム障害患者の臨床的特徴、ならびに年代特性に配慮した治療プログラムの開発に関する研究)

「ゲーム障害の臨床的特徴に関する研究」(佐久間寛之, さいがた医療センター)

- b) 生物学的研究 (機能的MRIを用いたゲーム障害特異的な神経基盤解明を目指す病態解明研究)

「ゲーム障害の病態に関する神経画像的研究」(高橋英彦, 東京医科歯科大学精神科)

【第2セクション】物質使用障害の臨床像に関する研究

1. 物質使用障害に関する臨床研究

- a) 保健行政・司法制度による覚醒剤使用障害患者の病態や医療アクセスの変化の影響に関する社会医学的研究

「覚醒剤使用障害患者の臨床像の経年的変化に関する研究～司法・保健制度の変化による影響」(松本俊彦, NCNP)

精神保健研究所薬物依存研究部)

- b) 選択的アデノシン 2A 受容体遮断薬イストラデフィリンを用いた、病態解明および治療薬開発のための神経画像研究

「覚醒剤使用障害に対する薬物療法の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, NCNP 病院精神診療部/IBIC)

- c) 臨床現場で近年に急激に問題化する市販薬使用障害患者の臨床的特徴に関する後方視的調査

「市販薬使用障害の臨床的特徴に関する研究」(船田大輔, NCNP 病院精神診療部)

2. 物質使用障害に関連した基礎研究

- a) 治療薬標的としてのオキシトシンの可能性に関する研究

「フェンサイクリジン (PCP) やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬の中枢作用の解析と薬物依存症治療標的の探索」(三輪秀樹, NCNP 精神保健研究所精神薬理研究部)

- b) NMDA 受容体発現細胞を利用した有害性評価法の開発

「NMDA 受容体機能解析のための細胞作成」(富山健一, NCNP 精神保健研究所薬物依存研究部)

3. 研究結果と考察

今年度は、各分担研究において次年度以降の本格実施のために実施体制の整備が行われた。現在までのところ準備は計画通りに進行

している。以下に、分担課題ごとに得られた成果と進捗状況を報告する。

- 「ギャンブル障害患者の臨床的特徴に関する研究」(常岡): 昭和大学附属烏山病院にギャンブル問題を主訴として初診し、ICD-10 で病的賭博の診断基準を満たす患者を対象とした前向き調査の研究計画を策定し、昭和大学倫理委員会の承認を得て、2022 年 12 月 1 日より対象者リクルートを開始した。
- 「ギャンブル障害の病態に関する神経画像的研究」(村井): すでに京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院 医の倫理委員会の承認を得ており、現時点までに 7 名のギャンブル障害患者群、7 名の健康対照群に関する脳構造・脳機能に関するデータの収集を終了している。
- 「ゲーム障害の臨床的特徴に関する研究」(佐久間): さいがた医療センターおよび向陽台病院新規受診者で ICD-11 ゲーム行動症の診断基準を満たす患者、および家族を対象とした、自己式質問紙による横断的・前向き研究の計画を策定し、現在、倫理委員会による審査中である。
- 「ゲーム障害の病態に関する神経画像的研究」(高橋): 東京医科歯科大学病院臨床研究審査委員会の承認を得て、今年度は健常被験者のリクルートを行い、現時点までに 6 名の健常被験者の安静時機能的 MRI 画像のデータ収集を終了している。
- 「覚醒剤使用障害患者の臨床像の経年的変化に関する研究」(松本): 今年度は 2000～2020 年までの「全国精神科医療施設における薬物関連精神疾患実態調査」のデータ解析を行うとともに、2022

年調査の調査項目を検討した。参考までに、2020年までの解析からは、覚醒剤使用障害患者数の増加と断薬患者率上昇、司法機関からアクセス向上などが確認されている。

- 「覚醒剤使用障害に対する薬物療法の開発を目指した脳機能画像研究」(沖田):すでに覚醒剤依存症患者にイストラデフィリン 40mg/日による2週間の介入を行うとともに、前後のPETによるD2受容体結合能評価という研究計画を策定し、すでに倫理委員会の承認を得て、現時点までに7名の被験者が研究に参加している。
- 「市販薬使用障害の臨床的特徴に関する研究」(船田):2016年1月1日から2022年12月31日までに当院の依存症専門外来を初回受診した市販薬使用障害患者の診療録より情報を収集し、その臨床的特徴を検討するために、すでに倫理委員会の承認を得て、2023年1月より情報収集中である。
- 「フェンサイクリジン(PCP)やケタミンなどNMDA受容体拮抗薬の中枢作用の解析と薬物依存症治療標的の探索」(三輪):今年度は、オキシトシン受容体発現細胞を蛍光タンパク質で可視化した遺伝子改変マウスを用いてオキシトシン受容体の脳内分布を調べ、扁桃体中心核および外側中隔における高発現を確認した。
- 「NMDA受容体機能解析のための細胞作成」(富山)今年度は、NR2A、NR2BおよびNR2Dまで4つのサブタイプが同定されているが、今年度はNMDA受容体の2つサブタイプ(NR2A、NR2B)の発現細胞を作成し、これらの発現細胞は、イオンチャネル型グルタミン酸

受容体であるNMDA受容体の機能を有していることを確認した。

4. 結論

本研究班は、現在、計画通りに研究は進捗している。本研究班は、アディクション分野における広範な領域をカバーする研究班であり、本研究班から得られる研究知見、ならびに、研究班活動を通じて構築される研究者ネットワークの意義はきわめて重要である。

5. 研究発表

【論文】

1. Okita K, Matsumoto T, Funada D, Murakami M, Kato K, Shigemoto Y, Sato N, Matsuda H: Potential Treat-to-Target Approach for Methamphetamine Use Disorder: A Pilot Study of Adenosine 2A Receptor Antagonist With Positron Emission Tomography. *Front. Pharmacol.*, 11 May 2022 |<https://doi.org/10.3389/fphar.2022.820447>
2. Takano A, Miyamoto Y, Shinozaki T, Matsumoto T, Kawakami N. Effects of a web-based relapse prevention program on abstinence: Secondary subgroup analysis of a pilot randomized controlled trial. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2022; 00: 1-6. doi:10.1002/npr2.12272.
3. Yamamoto T, Kimura T, Tamakoshi A, Matsumoto T: Biennial Changes in the Characteristics of Patients with Methamphetamine Use Disorder in Japan from 2000 to 2020. *Journal of psychoactive drugs* 27: 1-9 2022.
4. 山田理沙, 嶋根卓也, 近藤あゆみ, 米澤雅子, 松本俊彦: 薬物依存症回復支援施設の利用者を対象とした物質使用と

- HIV 感染リスクの高い性行動に関する研究. 日本エイズ学会誌 24: 89-97, 2022.
5. 宇佐美貴士, 熊倉陽介, 高野歩, 金澤由佳, 松本俊彦: 薬物犯罪による保護観察対象者の1年後転帰に関する検討: 保護観察から地域精神保健的支援への架け橋「Voice Bridges Project」. 日本アルコール・薬物医学会雑誌 57: 143-157, 2022.
 6. 井出聡一郎, 伊佐正, 西谷陽子, 南雅文, 村井俊哉, 高橋英彦, 宮田久嗣, 久我弘典, 松本俊彦, 中込和幸, 池田和隆: わが国におけるアディクション研究の方向性. 精神科 41(2): 279-285, 2022.
 7. 松本俊彦: 薬物依存症における法と医療. 精神科 41(2) : 272-278, 2022.
 8. 松本俊彦: コロナ禍がもたらした依存症回復支援への影響—依存症のケア—. 精神療法 48(4): 496-501, 2022.
 9. 松本俊彦: 薬物使用症. 日本医師会雑誌 151 特別号(2)生涯教育シリーズ 103: 227-228, 2022.
 10. 松本俊彦: 「大麻は薬物じゃない. 植物だ」—周囲の説得により渋々受診した大麻使用障害患者—. 精神科治療学 37 巻増刊号, 186-190, 2022.
 11. 鶴身孝介, 村井俊哉: アディクションの歴史 ~アルコール依存症を中心に~. 精神科, 141(2)185-190. 2022.8

【図 書】

1. 松本俊彦: 第7章 アディクションと精神保健. 精神看護学 精神保健 第5版 半澤節子 大田保之 藤田長太郎 編著, 医歯薬出版, 東京, pp164-185, 2023.
2. 松本俊彦: 薬物乱用. 小児科診療ガイドライン—最新の診療指針—, 総合医学社, 東京, pp746-752, 2023.
3. 松本俊彦, 今村扶美: 物質使用障害. 臨床心理学スタンダードテキスト, 金剛出版, 東京, pp883-893, 2023.
4. 松本俊彦: 2 覚醒剤. Jmed84 あなたも名医! 日常生活に潜む急性中毒 24 の対処法, 日本医事新報社, 東京, pp148-153, 2023.
5. 國分功一朗, 松本俊彦: 対談 孤独・孤立と人のつながりを問う. 孤独と孤立 自分らしさと人とのつながり, 日本看護協会出版会, 東京, pp3-16, 2023.
6. 松本俊彦: コロナ禍における「孤立の病」. 孤独と孤立 自分らしさと人とのつながり, 日本看護協会出版会, 東京, pp37-52, 2023.

【学会発表】

1. 松本俊彦: 【特別講演II】思春期の自殺-自殺予防の最前線-. 日本カウンセリング学会第54回Web大会, Web, 2022.8.6.
2. 松本俊彦: 【特別講演III】自傷・自殺・市販薬乱用の理解と援助. 日本学校心理学会第24回オンライン大会, オンデマンド, 2022.8.12~2022.8.23.
3. 松本俊彦: 【市民公開講座】薬物乱用. 日本病院薬剤師会関東ブロック第52回学術大会, 神奈川, 2022.8.21.
4. 松本俊彦: 【対談 T1 アディクションケースにおける、トラウマからの回復支援—心理職に求められるもの】依存症専門医療機関における実践から. 2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城, 2022.9.9.
5. 松本俊彦: 【スポンサードシンポジウム1】わが国における薬物関連精神疾患の現状. 2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 宮城, 2022.9.9.
6. 松本俊彦: 【シンポジウム11】医療現場における医療用麻薬不適切使用の実態.

- 2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.10.
7. 松本俊彦：【シンポジウム 2】物質関連障害．第 30 回日本精神科救急学会学術総会，埼玉，2022.9.30.
 8. 松本俊彦：【シンポジウム 72】society5.0 からの孤立を防ぐ為の HIV 陽性者、薬物依存患者らへ対応～生きづらさに寄り添う薬剤師の役割～．第 32 回日本医療薬学会年会，動画，2022.9.25.
 9. 松本俊彦：【シンポジウム 73】あなたの担当患者、飲酒量多すぎませんか？ 増加するアレウアルコール関連疾患に対して薬剤師ができることを考える．第 32 回日本医療薬学会年会，動画，2022.9.25.
 10. 松本俊彦：シンポジウム 2 精神科救急ガイドライン 2022 物質関連障害．第 30 回日本精神科救急学会学術総会，埼玉，2022.9.30.
 11. 松本俊彦：専門医共通・救急科領域講習薬物乱用を防ぐには．第 50 回日本救急医学会総会・学術集会，オンデマンド配信，2022.10.21.
 12. 松本俊彦：【教育講演 EL27】人はなぜ依存症になるのか～物質依存症の理解と援助．BPCNP/PP4 学会合同年会，オンデマンド配信，2022.11.5.
 13. 松本俊彦：【シンポジウム 30】人はなぜ依存症になるのか．BPCNP/PP4 学会合同年会，東京，2022.11.5.
 14. 松本俊彦：【シンポジウム】トラウマと依存症．関西アルコール関連問題学会第 28 会兵庫大会，オンライン，2022.11.27.
 15. 正高佑志，杉山岳史，赤星栄志，松本俊彦：SNS を活用した市中大麻使用者における大麻関連健康被害に関する実態調査．2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.9.
 16. 引土絵未，嶋根卓也，小高真美，秋元恵一郎，大吉努，加藤隆，栗坪千明，山村せつ，吉野美樹，松本俊彦：薬物依存症者の就労支援のあり方に関する研究：インタビュー調査から．2022 年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会，宮城，2022.9.9.
 17. 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. Neuroscience 2022 (Society for Neuroscience Annual Meeting). San Diego, USA. Nov. 12-16, 2022.
 18. 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 第 45 回日本分子生物学会年会 幕張メッセ 2022.11.30-12.2
6. 知的所有権の取得状況
なし
 7. 自己評価
本研究班は、アディクション分野における広範な領域をカバーする研究班であり、ごく近い将来、NCNP にアディクション研究センターを設置するという計画が進行している状

況を踏まえると、本研究班から得られる研究知見、ならびに、研究班活動を通じて構築される研究者ネットワークの意義はきわめて重要である。

覚醒剤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)

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、負の影響はきわめて大きい。

覚醒剤は未だ本邦においてもっとも misuse される違法薬物であり、覚醒剤使用障害の治療の発展は急務だが、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が主体である。そうしたアプローチが有効であることは確かだが、基礎的研究において物質使用障害 (薬物依存症) のモデル動物は、他の精神疾患よりも容易に作成できることから、この疾患が生物学的な精神疾患であることもまた自明であり、したがってそこに焦点をあてた治療開発も重要だと考える。

ドパミンを介した神経伝達の機能低下は、覚醒剤使用障害で認められており、ドパミン D2 受容体結合能 (BPND: 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繰り返し示されている。また、線条体 D2R 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 12 月時点で、7 名の被験者が研究参加を完了した。そのうち、11C-DAA1106 スキャンも行ったのは希望した 2 名である。

イストラデフィリンによる介入前後で線

条体（尾状核+被殻+側坐核）におけるドパミン D2 受容体結合能の平均は介入前が 2.35 ± 0.40 、介入後が 2.52 ± 0.33 で、paired t 検定によれば $t=-3.207$, $p=0.018$ と有意差を認め、アデノシン 2A 受容体遮断役による介入によって覚醒剤使用障害の患者のドパミン D2 受容体密度が上昇することが示唆された。線条体の部位ごとに評価すると、尾状核 ($t=-3.308$, $p=0.016$) と被殻 ($t=-2.995$, $p=0.024$) では有意差を認めたのに対し、側坐核 ($t=-1.266$, $p=0.25$) においては有意差を認めなかった。

11C-DAA1106 スキャンによって算出される神経炎症の指標である SUV は、2名の被験者においていずれも介入後に低下していた。1名の被験者では約30%の低下、もう1名の被験者では約5%の低下であった。

4. 考察

現時点では研究参加を完了した被験者は7名に留まっているが、線条体ドパミン D2 受容体結合能は増加していた。今後、被験者数を増やし、神経心理検査結果との関連も評価していく予定である。目標被験者数は20例である。

5. 研究発表

“Potential Treat-to-Target Approach for Methamphetamine Use Disorder: A Pilot Study of Adenosine 2A Receptor Antagonist With Positron Emission Tomography”
Front Pharmacol. 2022 May 11;13:820447.

市販薬使用障害の臨床的特徴に関する研究

船田大輔（国立精神・神経医療研究センター
病院精神診療部）

石井香織（国立精神・神経医療研究センター
病院薬剤部）

1. 背景と目的

市販薬とは、「要指導医薬品」と「一般用医薬品」のことを指し、薬局やドラッグストアなどの医薬品販売店舗において消費者自ら選び購入できる、身近な医薬品である。市販薬を規定された用法・用量を遵守せず長期にわたり習慣的に使用したり、急性薬物中毒をきたすほどの用量を服用したりする、市販薬の乱用が若い世代を中心に拡大している。この市販薬の乱用は精神科医療や救急医療現場でも大きな問題となっているが、市販薬使用障害患者の臨床的特徴についてこれまでの研究は乏しく、増加の一途を辿る市販薬使用障害患者の臨床的特徴をさらに詳細に調査することは、治療戦略や市販薬乱用の防止対策の開発のための喫緊の課題と言える。そのため当センター薬物依存研究部では今後複数の研究プロトコルを設け、多面的な手法で市販薬使用障害患者の臨床的特徴を明らかにすることを検討している。本研究では、当院の薬物依存症専門外来を受診した市販薬使用障害患者を対象に後

方視的に診療録調査を行い、その臨床的特徴を探索的に明らかにすることを目的とする。市販薬使用障害患者の臨床的特徴を明らかにすることにより、今後の治療戦略や医薬品乱用の防止対策の開発につながる事が期待できる。

2. 方法

2016年1月1日から2022年12月31日までに当院の依存症専門外来を初回受診した市販薬使用障害患者の診療録より市販薬乱用状況（主たる乱用薬物、乱用年数）と患者背景（性別、年齢、教育年数、職業、精神科受診歴、身体疾患既往歴）等の情報を収集する。また過去の文献や学会での情報を収集し、比較を行う。

なお、研究の実施においては、厚生労働省の最新の「臨床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：A2022-091）。

3. 研究途中経過

2023年1月よりデータ収集を行い解析中である。

4. 研究発表

2023年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会（日本アルコール・アディクション医学会学術総会）にて発表予定。

NMDA 受容体機能解析のための細胞作成 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)

1. 研究背景・目的

近年、麻薬であるケタミンやフェンサイクリジンと化学構造の類似した薬物の違法な流通が報告されている。一方で、我が国では幻覚作用を目的とした一部の市販薬の乱用も社会問題となっている。これらの薬物またはその代謝物は、イオンチャネル型グルタミン酸受容体である NMDA 受容体の遮断薬として作用すると考えられる。NMDA 受容体の遮断は、精神・神経活動異常の誘発や NMDA 受容体機能の低下に伴う統合失調症様症状など引き起こす恐れがある。NMDA 受容体を標的とする化合物の有害作用を迅速に予測する手法は確立されていないことから、本研究課題で NMDA 受容体発現細胞を利用した評価法の確立を行う。

2. 研究方法

NMDA 受容体は、NR1 サブユニットおよび NR2A から NR2D まで 4 つのサブユニットによってヘテロ複合体が形成され、受容体機能を発現する。本研究ではこれらを発現する細胞の作成を試みた。

研究 1：NMDA 受容体発現細胞の樹立

Tet-on system (Takara)を組み込んだ HEK293 細胞に NR1 (NM_000832)、テトラサイクリン応答エレメント下に NR2A (NM_000833)および NR2B (NM_000834)の cDNA (Origene)組み込み遺伝子導入した。導入にあたっては 4D-Nucleofector®

(Lonza)によるエレクトロポレーション法で実施した。

研究 2：NMDA 受容体の機能評価

NMDA 受容体は、高いカルシウムイオン(Ca^{2+})の透過性を有したイオンチャネル機能を有しており、グリシン存在下でグルタミン酸の刺激によって細胞内へ Ca^{2+} の流入を引き起こす。一方で、ケタミンやフェンサイクリジンなどは NMDA 受容体の拮抗薬として作用する。すなわち、細胞内への Ca^{2+} の取り込みを阻害する。そこで Ca^{2+} の蛍光指示薬 FLIPR Calcium 4 Assay kit (Molecular Devices, LLC.)を利用して、グルタミン酸刺激によって細胞内に取り込まれる Ca^{2+} の量を定量することで NMDA 受容体に対する薬物の拮抗作用を評価した。

3. 研究結果

研究 1：NMDA 受容体を培養細胞に過剰発現させると Ca^{2+} の流入をコントロールすることが出来ず、細胞死を引き起こす。そこでテトラサイクリン添加によって NMDA 受容体が発現する Tet-on 誘導型 NMDA 受容体発現細胞の樹立を行なった。本年度は NR2A と NR2B の 2 つのタイプの細胞を作成した。トランスフェクションを行なった HEK-NR2A および HEK-NR2B にテトラサイクリンを添加し、受容体の発現をフローサイトメトリーで解析したところそれぞれのサブタイプの発現を確認した。

研究 2：NMDA 受容体発現細胞の機能評価として細胞内 Ca^{2+} の流入を Ca^{2+} 蛍光指示薬をプロトコルに従い HEK-NR2A および HEK-NR2B に取り込ませた。これらの細胞

に、グリシン存在下でグルタミン酸の刺激を行ったところ、濃度依存的に細胞内に取り込まれる Ca^{2+} の流入が増加した。続いてケタミンおよび NMDA 受容体非選択的拮抗薬 MK-801 を添加して、グルタミン酸による刺激を行なったところ、濃度依存的に Ca^{2+} の流入量が抑制された。

4. 結論

研究 1: NMDA 受容体は、NR2A、NR2B および NR2D まで 4 つのサブタイプが同定されているが、本年度は NR2A および NR2B ち 2 つの発現細胞を作成した。NMDA 受容体を培養細胞に過剰発現させると細胞死を引き起こしてしまうが、これらの細胞はテトラサイクリンを利用することで試験を行う直前に NMDA 受容体を発現させることが可能であり、安定して受容体機能解析が行えると考えられる。今後、NR2C および NR2D 発現細胞の作成も行う。

研究 2: NMDA 受容体の機能評価には、パッチクランプ法が主に用いられているが、本手法は技術と設備に高度なものが要求されることから薬物の迅速なスクリーニングには向かない。そこで、NMDA 受容体の特性であるイオンチャネルの働きに着目し、細胞内に取り込まれる Ca^{2+} に選択的に結合する蛍光指示薬を用いて、グルタミン酸刺激による Ca^{2+} 蛍光強度の変化を測定した。その結果、麻薬であるケタミンおよび NMDA 受容体非選択的拮抗薬 MK-801 は濃度依存的に Ca^{2+} の蛍光強度の発現を抑制した。したがって、本研究で樹立した NR2A および NR2B 発現細胞は、イオンチャネル型グルタミン酸受容体である NMDA 受容

体の機能を有していることが明らかとなった。今後は、 Ca^{2+} を取り込むことによって起こる膜電位の変化も解析し、最も適切な評価方法を検討する予定である。

5. 研究発表

a) 論文

- なし.

b) 学会発表

- なし.

フェンサイクリジン (PCP) やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬の中樞作用の解析と薬物依存症治療標的の探索

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)

【研究背景・目的】

フェンサイクリジン (PCP) やケタミンなど NMDA 受容体拮抗薬の作用機序に関しては不明な点が多い。特に、ケタミンは近年抗うつ薬としての効果が着目されているが、光学異性体(R-ケタミンと S-ケタミン)での抗うつ薬の効果の差異が報告されているだけでなく、同じ NMDA 受容体拮抗薬である PCP、MK-801、APV とも効果が異なることから、単純に、NMDA 受容体拮抗薬の作用だけでは説明できない状況であり、他の作用機序 (NMDA 受容体サブユニットへの違いや下流のシグナル伝達、さらには NMDA 受容体以外への作用) も想定しなければいけない。したがって、PCP やケタミンの幻覚作用に関しても、上記の背景をもとに研究する必要がある。また、これらの物質依存症治療薬の標的も解析が進んでいない。本研究では、その標的の一つとして、オキシトシンに着目して治療効果の可能性について検証する。

【方法】

フェンサイクリジン (PCP) やケタミンの作用機序として、NMDA 受容体のサブユニット差に着目している。ケタミンは NR2C/D サブユニットを含む NMDA 受容体との結合が高いとの報告があるため (Shawan E, 2009)、報酬系に関わる神経回路 (腹側被蓋野や側坐核) にこれらのサブユニットが多く発現しているのかを免疫組織化学的手法あるいは急性脳スライス標本をもちいた電気生理学的解析により検証する。

オキシトシンシグナルが依存症を寛解させる可能性を示唆している報告があり (Bowen and Neumann, 2017)、物質依存症治療標的の探索として、オキシトシンに着目する。すでに、オキシトシン受容体発現細胞を蛍光タンパク質で可視化した遺伝子改変マウスやオキシトシン受容体発現細胞特異的 Cre 発現マウスを用いた研究成果を報告しており (Inoue, Miwa et al., 2022)、この研究を進展させる。このような遺伝子改変マウスを用いることで、行動薬理的手法ではできない、細胞・神経回路レベルの詳細な解析により、依存症形成過程および

各症状への治療効果の検証が期待できる。

【結果】

近年、PCP と同様に NMDA 受容体に作用するデキストメトルファン (DXM) の乱用が問題になっている。したがって、今年度は、DXM の高濃度投与による動物行動の変化について、オープンフィールド試験、驚愕反応およびプレパルス抑制、ワーキングメモリー試験、条件付け場所嗜好性試験を行っている (実験追加中)。

物質依存症治療薬の標的候補であるオキシトシン受容体の脳内分布を、オキシトシン受容体発現細胞を蛍光タンパク質で可視化した遺伝子改変マウスを用いて調べた。その結果、アルコール依存症との関連が複数報告されている扁桃体中心核にオキシトシン受容体が発現していることが確認できた。さらに、脳内では外側中隔において高発現をしていることを見出した。しかしながら、物質依存症と関連性が高い側座核や腹側被蓋野では発現が見られなかった。

【結論】

DXM を含め、PCP 系の動物行動への影響を行動レベルだけでなく、細胞レベルまで明らかにすることを目標とする。これにより、標的となる神経回路を含む、脳内の作用機序を明らかにし、幻覚などの異常行動の神経基盤の一端を明らかにしていく。また、脳内では外側中隔においてオキシトシン受容体が高発現しているというデータを得ており、外側中隔から側座核への投射が報酬探索を抑制する (Zhang, Pharmacol Res. 2022) という報告があることから、オキシトシンとの関連性が興味深い。現在、これらのオキシトシン受容体細胞とドパミンを中心とする報酬系との関連性を調べるため、ドパミン受容体 (D1R および D2R) の発現を免疫組織化学法により調べている。ゲーム依存など行動嗜癖と物質依存症との間には、共通する神経基盤がある可能性があるため、これらの結果は、物質依存症の治療標的ではなく、行動嗜癖の治療標的になる可能性もあると考えている。

【研究発表】

学会発表

1. 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. Neuroscience 2022 (Society for Neuroscience Annual Meeting). San Diego, USA. Nov. 12-16, 2022.

2. 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 第 45 回日本分子生物学会年会 幕張メッセ 2022.11.30-12.2

ゲーム障害の臨床的特徴と治療法に関する研究

佐久間寛之（国立病院機構さいがた医療センター精神科）

1. 研究背景・目的

行動嗜癖の中でもゲーム行動症はギャンブル障害と同様、物質依存症との類似点を示す知見が集積され、国際的診断基準において物質依存症と同じ項目に分類されるようになった。臨床的にもゲーム行動症の受診患者数は急増している。このため増加する医療需要に応えるためには有効な治療プログラムの開発および効果検証が急務である。ゲーム行動症に対しては他の嗜癖疾患同様に認知行動療法（CBT; Cognitive Behavioral Therapy）の一定の有効性が示されているが、CBTを実施するためには一定の認知機能および社会経験・社会的スキルが必要である。ところがゲーム行動症においては社会経験がなく認知機能も発達途上にある学童期にかなりの有病率を示すことが以前から知られており、これらの年齢層の患者群に有効な治療プログラムが求められる。本邦では青年期のゲーム行動症患者に対して居場所や現実世界の充実感、やりがいをもとにした治療キャンプに関する研究があり、総ゲーム時間の減少および自尊心の上昇が報告されている。本研究ではこの成果を踏まえ、小中学生を中心としたゲーム行動症患者を対象に、現実でのコミュニケーション能力、現実の充実感や達成感、生活力を体験し学ぶことを目的としたプログラムを実施し、治療効果を検証する。また患者のゲーム行動症の重症度や生活の質、家族の心理社会的負担と言った幅広い視点

からの検証を行う。研究 1; ゲーム行動症患者および家族の臨床的特徴の横断調査 研究 2; ゲーム行動症患者に対する現実回帰プログラムの効果研究 研究 3; ゲーム行動症患者の治療による家族の心理的負担感軽減の調査

2. 方法

対象：さいがた医療センターおよび向陽台病院新規受診者でゲーム行動症と診断され調査同意が得られた者 100 名およびその家族・保護者 100 名

方法：質問紙票による自記式評価尺度による評価、および客観評価を行う。

研究 1; プログラム参加の有無にかかわらず、調査施設を初診し同意を得た患者および保護者すべてに以下の自記式調査を行う。

A) 患者に対しては性別・年齢・学年・同胞構成・精神科合併症(知的障害や発達障害含む)の既往などの基本情報に加え、ゲーム行動症重症度、発達障害特性スクリーニング、現実適応など。B) 保護者に対しては性別・年齢・職業・家族構成などの基本情報に加え、心理的疲弊感、SOC(Sense of Coherence)、社会適応などを調査する。

研究 2; 調査施設を新規受診した者のうちプログラム参加を開始した 25 名を介入群、不参加の者 25 名を対照群とする。調査項目は現在選定中であるが、ゲーム行動症重症度、現実適応、抑うつ、社会性などの多項目を観測する。調査時点は初診時、治療開始 6 か月後、治療開始 1 年後の 3 時点での状況について、自記式評価に加え公認心理師が評価尺度を測定する。初診からプログラム参加まで 2 カ月以上かかった場合にはプログラム開始時に測定を行い、その 6 カ月後、

1年後に測定を行うこととする。

研究3；研究2と同時点で、家族に対し心理的疲弊感、SOC、抑うつ、家族機能などに関する調査を行う。自記式評価に加え、公認心理士が評価尺度を測定する。

3. 結果

初年度のため本年度は研究計画の策定および以下の作業を行った。1. 研究協力者および協力病院の選定・協力依頼と同意、2. 仮説設定と評価尺度設定、3. 研究タイムスケジュールの設定、4. さいがた医療センターおよび向陽台病院の倫理審査委員会申請（現在審査中）。

4. 考察

現在は倫理委員会への申請も行い、具体的な研究調査に着手する手前の段階である。ゲーム行動症は治療エビデンスが乏しく、臨床現場は手探りで治療仮説を設定し模索している。本研究班はエビデンスを踏まえ、現実適応の改善、現実生活の困難感の低減がキーであると仮説した。本研究による仮説の検討を行うことで、ゲーム行動症に対する治療エビデンスの構築が前進するものと考えている。

5. 研究発表

(ア) 査読付き論文

なし。

依頼論文

1. 佐久間寛之. 【病的な「とらわれ」と「こだわり」の現在形-繰り返し行動などの臨床像や対応を含めて】嗜癮性障害におけるとらわれ・こだわりの臨床と対応. 精神科治療学. 2023;38(2):219-24.

2. 佐久間寛之. 今日の依存症の動向 [第4回] 「うちの子はゲーム依存なんですか?」ゲーム障害の診断と治療、予防. 心と社会. 2022;53(3):84-9.

3. 佐久間寛之. 【精神科臨床ライブ】(第8章)物質使用症・嗜癮 「うちの子どもが昼夜逆転してゲームばかりしている」 ゲーム障害が疑われる子どもの相談に来談した親. 精神科治療学. 2022;37(増刊):195-8.

4. 佐久間寛之. 「助けて」が言えない子ども編 「助けて」が言えない子どもたちにどうかかわるか 支援者へのメッセージ ゲームに没頭する子どもの「助けて」と言えない心理 沈黙に耳をかたむける. こころの科学. 2022(226):34-9.

6. 図書

なし

(ア) 学会発表

辻 翔太、濱本 晋也、山川あゆ美、杉本 千佳子、比江島誠人、富原一哉「ゲームの使用法に問題を抱える子どもに入院治療を選択することの意義」 第118回日本精神神経学会学術総会 2022.6.16 (福岡)

ゲーム障害の病態に関する神経画像的研究

高橋英彦（東京医科歯科大学精神行動医科学分野）

1. 研究背景・目的

ゲーム障害では、他の行動嗜癖や物質依存と同様、脳内報酬系や前頭葉の機能低下、画一的画像による cue 刺激への反応などが報告されているが、疾患特異的な神経基盤は明らかではない。そこで、本研究では、安静時機能的 MRI を用いて疾患特異的なゲーム障害の神経基盤を解明することを目的とした。

2. 研究方法

本研究では、ゲーム障害患者 20 例程度を対象として、安静時機能的 MRI と臨床指標との相関、日常的に接する動画や広告に即した cue 刺激を用いて機能的 MRI の撮像を行う。具体的には、MRI 装置内で cue 刺激を提示する画面を見ながら、ボタンを使って選択する課題を行う。また、脳構造も合わせて撮影し、形態との関連性について分析する。

また、同じように、年齢、性別をマッチさせた健常被験者についても撮像を行う。

R4 年度は、健常被験者のリクルートから開始した。

研究実施にあたっては、東京医科歯科大学病院臨床研究審査委員会の承認を得た (R2021-006)。

3. 研究結果

R4 年度は、まず健常被験者のリクルートを行った。現時点で 9 名の健常被験者、3 名

のゲーム障害のデータが集められた。ゲーム障害患者のリクルートに関しては、本学附属病院は、年間 100 件以上のゲーム障害患者が新規に受診しており、患者を集めやすい環境は整っている。各部署との調整も完了したため、R5 年度より本格的にスタートする予定である。

4. 結論

R4 年度の結果を踏まえて、R5 年度以降はゲーム障害患者の本格的なデータ収集開始および健常被験者のデータ収集の継続を行う。現時点で当初の計画に変更はない。本研究において、嗜癖行動の予防・早期介入・重症度を評価する指標として応用できる可能性がある。また、神経基盤を明らかにすることにより、ニューロフィードバックなどの新規治療法開発への有用な知見となる可能性がある。

5. 研究発表

a) 論文

①査読付論文

- Takeuchi H, Yahata N, Lisi G, Tsurumi K, Yoshihara Y, Kawada R, Murao T, Mizuta H, Yokomoto T, Miyagi T, Nakagami Y, Yoshioka T, Yoshimoto J, Kawato M, Murai T, Morimoto J, Takahashi H. Development of a classifier for gambling disorder based on functional connections between brain regions. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2022 76(6):260–267.
- Takeuchi H, Tsurumi K, Murao T, Mizuta H, Murai T, Takahashi H. Amygdala volume is associated with

risky probability cognition in gambling disorder. *Addict Biol.* 2019 Jul;24(4):802-810.

- Ono M, Kochiyama T, Fujino J, Sozu T, Kawada R, Yokoyama N, Sugihara G, Murai T, Takahashi H. Self-efficacy modulates the neural correlates of craving in male smokers and ex-smokers: an fMRI study. *Addict Biol.* 2018 Sep;23(5):1179-1188.
- Takeuchi H, Tsurumi K, Murao T, Takemura A, Kawada R, Urayama SI, Aso T, Sugihara GI, Miyata J, Murai T, Takahashi H. Common and differential brain abnormalities in gambling disorder subtypes based on risk attitude. *Addict Behav.* 2017 Jun;69:48-54.

- 藤野純也「意思決定と脳画像研究について（若手研究者育成プログラム）」第44回日本生物学的精神医学会年会・第32回日本臨床精神神経薬理学会年会・第52回日本神経精神薬理学会年会・第6回日本精神薬学会総会学術集会合同年会, 東京（ハイブリッド開催）, 2022年12月

② 依頼論文

なし

b) 図書

なし

c) 学会発表

- 治徳大介「ゲーム行動症の診療におけるデジタルアプリケーションを用いたポジティブな取り組み」第11回日本ホスピタリティサイコロジイ医学会学術集会, 東京（ハイブリッド開催）, 2022年12月
- 藤野純也「依存症とポジティブサイコロジイ」第11回日本ホスピタリティサイコロジイ医学会学術集会, 東京（ハイブリッド開催）, 2022年12月

ギャンブル障害患者の臨床的特徴と治療に関する研究

常岡俊昭(昭和大学医学部精神医学講座、昭和大学附属烏山病院)

1. 研究背景・目的

本邦におけるギャンブル障害患者の臨床的特徴に関する研究はまだ少ない。また近年、疾患としての認知度が上昇しているため、今までの受診者はギャンブル障害の中でも特に治療に繋がりがやすい特殊な一群であった可能性がある。ギャンブル障害は希死念慮・自殺企図を合併しやすく自殺予防の点からもギャンブル障害に対しての医療的介入が求められている。一方でギャンブル障害に特化して対応できる医療者の数は多くなく、既存の自助グループや家族会に繋ぐ事で治療効果を得られる一群の特徴を抽出することはギャンブル障害治療のすそ野を広げる事につながると期待できると考える。よって本研究はギャンブル障害患者の併存疾患や臨床的特徴を明らかにし、それぞれの特徴と医療機関で行われる認知行動療法・自助グループへの参加・家族会による家族介入・併存疾患への薬物療法などの治療の効果の関係性を調査することで、一般精神科でも汎化可能な治療方法を特定することを目的としている。

2. 研究方法

【研究デザイン】前向き観察研究

【対象患者】昭和大学附属烏山病院にギャンブル問題を主訴として初診し、ICD-10で病的賭博の診断がつくもの

【目標症例数】30名

【主要評価項目】当院受診後のギャンブル行動の変化と当院プログラム・自助グループ・家族会それぞれの参加有無と関連性の有無

【副次評価項目】ギャンブル障害患者の特性調査、当院受診後のギャンブル行動の変化と特性の関連性

【調査項目】生年月日、性別、初回発病年齢、発病年月日、罹患期間、重症度、合併症の有無や既往歴、ギャンブル行動などについてのアンケート調査、自記式評価尺度(CARRS、AQ、AUDIT、LOST、SOGS、GSES、JART、ACES)

上記調査項目は初回来院時に行い、半年後と1年後には過去半年間におけるギャンブル行動などについてのアンケート調査、SOGS、GSESを行う。

なお研究実施にあたっては、昭和大学における人を対象とする研究等に関する倫理委員会の承認を得た(22-137-A)。

3. 研究途中経過

2022年12月1日より本研究における患者リクルートを開始し、現在10名同意を取得した。

4. 研究発表

未定

ギャンブル障害の病態に関する神経画像的研究

村井俊哉（京都大学大学院医学研究科脳病態生理学講座（精神医学））

1. 研究背景・目的

ギャンブル障害患者の外来治療継続率は低く、その臨床経過の神経基盤を検討した研究はまだない。

本研究は、ギャンブル障害患者の外来治療プログラム参加継続を予測する神経基盤、治療プログラム参加継続に伴う変化の神経基盤を明らかにすることを目的とする。

2. 研究方法

専門医療機関にてギャンブル障害外来治療プログラム参加初期患者の脳画像・心理検査データを取得する。これをプログラム参加継続群と中断群で比較し、参加継続を予測する脳構造・機能上の特徴を同定する。また、継続群については6カ月後の脳画像データも取得し、初期データと比較して参加継続に伴う脳構造・機能の変化を明らかにする。

研究実施にあたっては、京都大学大学院医学研究科・医学部及び医学部附属病院医の倫理委員会の承認を得ている。

3. 研究結果

今年度は、延べ7名のギャンブル障害患者群、9名の健康対照群のデータを取得している。

4. 結論

脳画像解析を施行するためには引き続き

データ取得を継続する必要がある。データ取得を加速させるため、京都大学医学部附属病院においてギャンブル障害患者の外来治療プログラムを実施する体制を整備した。

5. 研究発表

a) 論文

①査読付論文

- なし

②依頼論文

- 鶴身孝介, 村井俊哉: アディクションの歴史 ～アルコール依存症を中心に～. 精神科, 141(2)185-190. 2022.8

b) 図書

- なし

c) 講演・学会発表

- 鶴身孝介: ギャンブル障害の実際 ～脳画像研究を交えて～. 京都府ギャンブル依存症セミナー（オンライン）. 2022.5.30
- 鶴身孝介, 田中増郎, 池田俊一郎, 山敷宣代, 橋本望, 岡知加, 青山久美, 新井清美, 宮田久嗣: 依存症予防のための大学における依存症教育の提案. 第25回日本精神保健・予防学会学術集会（京都）. 2022.11.12
- 鶴身孝介: ギャンブル障害とポジティブサイコロジー. 第11回日本ポジティブサイコロジー医学会学術集会（東京）. 2022.12.03

A comprehensive study on the pathophysiology, syndromes, and treatment of addiction

Principle researcher: Toshihiko Matsumoto, M.D., Ph.D.

Department of Drug Dependence Research, National Institute of Mental Health,
Nation Center of Neurology and Psychiatry

The objectives of this study were threefold. First, to clarify the pathophysiology and clinical characteristics of each of the two addictive behaviors, gambling disorder, and gaming disorder, from both psychosocial and biological perspectives; second, to examine the effects of judicial and healthcare measures on methamphetamine use disorder and to examine the clinical characteristics and treatment of the newly emerging social problem, over-the-counter drug use disorder; and third, to examine the role of the treatment of gambling and gaming disorder. Second, to examine the effects of judicial and health care measures on methamphetamine use disorders and to examine the clinical characteristics and treatment of the emerging social problem of over-the-counter drug use disorder. Third, to elucidate the biological mechanisms and pathophysiology of substance use disorders' onset and symptom maintenance, and to explore the potential for pharmacotherapy.

To achieve these three objectives, this research group plans to conduct research for three years in two broad sections, as shown below, with a total of nine research and development projects.

Section 1: Project on the Clinical Characteristics and Pathophysiology of Addictive Behaviors.

1. Research on gambling disorder
 - a) Study on Clinical Characteristics of Patients with Gambling Disorder
 - b) A Neuroimaging Study of the Pathophysiology of Gambling Disorder
2. Research on game disorder
 - a) Psychosocial research: Study on Clinical Characteristics of Game Disorder
 - b) Neuroimaging study on the pathophysiology of game disorder

Section 2: Research on the Clinical Profile of Substance Use Disorders

1. Clinical research on substance use disorders
 - a) A Study of Secular Changes in the Clinical Profile of Patients with Methamphetamine Use Disorder: Effects of Changes in the Judicial and Health Systems
 - b) Functional Brain Imaging Study for the Development of Pharmacotherapy for Methamphetamine Use Disorders: A Specific Clinical Study Using Parkinson's Drugs and PET Scanning
 - c) A Study of Clinical Characteristics of Over-the-Counter Drug Use Disorders
2. Basic research related to substance use disorders

a) Analysis of Central Actions of NMDA Receptor Antagonists such as Phencyclidine (PCP) and Ketamine and Search for Therapeutic Targets for Drug Dependence

b) Cell Preparation for Analysis of NMDA Receptor Function

In the current fiscal year, each subcontracted research project has been preparing its implementation system for full-scale implementation in the following fiscal year and beyond. To date, preparations are proceeding as planned.

4-2 包括的精神保健サービスを実現するための協働のあり方と

人材育成に関する研究

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター 藤井 千代

1. 研究目的

我が国の地域精神保健サービスにおいては、精神障害をもつ当事者とその家族（以下、「当事者等」）が安心して地域生活を送ることができる仕組みづくりが求められている。当事者等のニーズに対応できる仕組みを構築するうえでは、エビデンスの構築段階から政策への反映に至るまでのプロセスの各段階において、当事者等の意見を直接的に反映することが重要である。本研究では、当事者等が望む地域保健サービスを実現するための当事者等を含む関係者の協働のあり方と、サービス普及において不可欠となる人材育成のあり方を提示することを目的とした研究を実施する。

本研究では、現在各地域で進められている「精神障害にも対応した地域包括ケアシステム」の構築に資する包括的精神保健サービス（医療・福祉を含む）を実現するにあたって、当事者等や、医療機関、地域の福祉事業所、行政など、さまざまな立場の人々の協働のあり方について検討するとともに、包括的支援体制の実装のための人材育成のための研修方法を開発するため、4つの分担班により研究を実施する。第1に、様々なステークホルダーの意見を取り入れながら、日本の地域精神保健サービスの研究における core outcome set (COS)を開発する。第2には、災害時における地域保健サービスのあり方を検討する。第3に、地域精神保健医療福祉のステークホルダーの意見を取り入れて地域精神保健研究プログラムを作成し、その効果を検証する。第4に、医療観察法通院処遇経験者、社会復帰調整官、地域関係者等との意見交換を踏まえて、通院処遇医療の改善と地域関係者の不安、負担感軽減を目的とした「通院処遇コミットメント」を開発し、その効果を評価する。

2. 研究組織

主任研究者：藤井 千代（国立精神・神経医療研究センター）

分担研究者：

塩澤 拓亮（国立精神・神経医療研究センター精神研究所）

川口 敬之（国立精神・神経医療研究センター精神研究所）

安間 尚徳（国立精神・神経医療研究センター精神研究所）

竹田 康二（国立精神・神経医療研究センター病院）

研究協力者：

阿部真貴子¹⁾、五十嵐百花¹⁾、岩永麻衣¹⁾、臼井香¹⁾、川口敬之¹⁾、佐藤さやか¹⁾、安間尚徳¹⁾、山口創生¹⁾、山田裕貴¹⁾、山田悠平²⁾、相良真央²⁾、小池純子¹⁾、柏木宏子³⁾、野村照幸⁴⁾、宮崎真理子³⁾、和田舞美³⁾、島田明裕³⁾、島田隆生³⁾、岡野宏紀³⁾、本間稔宏⁵⁾、中川渉⁶⁾、荒川育子⁷⁾、久保彩子⁸⁾、高尾碧⁹⁾、松田太郎¹⁰⁾、平林直次³⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター精神研究所

2) 一般社団法人精神障害当事者会ポルケ

3) 国立精神・神経医療研究センター病院

4) 国立病院機構さいがた医療センター

5) 福島県立ふくしま医療センターこころの杜

6) 東日本矯正医療センター

7) 東京都立松沢病院

8) 国立病院機構琉球病院

9) 島根県立こころの医療センター

10) 大阪精神医療センター

3. 研究成果

以下の分担班により、研究を実施した。

- A) 地域精神保健領域におけるコアアウトカムセットの開発に関する研究
- B) 精神障害当事者との協働に基づく災害時の精神保健福祉体制に関わるガイダンスの開発
- C) 地域精神保健における、「患者・市民参画」(Patient and Public Involvement)の考えを取り入れた、多職種・多機関連携研修の開発と実施可能性に関する研究
- D) PPI (Patient and Public Involvement)の視点を取り入れた地域司法精神医療制度の開発

A 班では、多様なステークホルダーとの協働を通して、日本の地域精神保健領域におけるコアアウトカムセットを開発することを目的として実施された。過去の関連する研究成果によって明らかとなった、地域精神保健領域の研究において多様なステークホルダーが重要と考える24項目のアウトカムについて、候補となる各アウトカムを評価するための尺度や評価指標選定のためのキーワード検討及び文献レビューを実施した。24項目のアウトカムについて検索を実施した結果、合計1349件の文献が抽出された。抽出された各文献について、研究チーム内で分担し、タイトル及び要旨を確認し、組み入れ基準、除外基準に沿って文献を精査した。現在対象文献の抽出作業中である。次年度は、集計したデータを参考に地域精神保健領域のステークホルダーの協力を得て、COS 開発の為のコンセンサス会議を開催予定である。

B 班の目的は、精神障害当事者との協働に基づき、精神障害をもつ者が被災時に抱える困難に対する精神保健福祉体制のあり方を明示したガイダンスを開発することである。本年度は、精神障害当事者2名とともに、Disability Inclusive Action and Disaster Risk Reduction survey (DIARY) project という共同研究体制を構築した。また、東日本大震災ならびに熊本地震の被災経験のある精神障害をもつ者および支援者・行政職員を対象としたグループインタビューによる調査を実施した。グループインタビ

ューは、2022年7月に熊本県、同年10月に福島県において実施した。研究協力者は、精神障害をもつ者が23名(熊本県:10名、福島県:13名)、支援者・行政職員が15名(熊本県:6名、福島県:9名)であった。インタビューの音声データは逐語録に起こし、定性的分析を実施中である。

C 班では、埼玉県上尾市、桶川市、伊奈町において、精神障害をもつ当事者とその家族、精神科医師、精神科看護師、精神保健福祉士、心理士、行政職員、研究者が協働して、多職種・多機関連携研修を作成し、「連携」をアウトカムとして前後比較試験による研修の実施可能性の検証を行うこととした。本年度は、まず、多職種・多機関連携研修の作成メンバーを招集した。次に、上記メンバーで研修内容について話し合い、研修に三つの要素を含めることを決定した。第一に、上尾市、桶川市、伊奈町の地域精神保健はどうありたいかという理念の共有である。第二に、多職種・多機関連携の必要性について、保健医療福祉機関が一度に見られる社会資源マップの紹介である。第三に、模擬症例を通じて、ケースマネジメントシートを用いながら、どの機関をどのように利用するか、グループワークを行うことである。来年度は、研修、社会資源マップ、ケースマネジメントシートを完成させ、2023年10月18日に前後比較試験を行う予定である。

D 班の目的は、当事者の意見も参考として、通院処遇医療の専門化、社会復帰の促進、地域関係者の不安・負担感の軽減を目的とした指定入院医療機関等の多機関による通院処遇へのコミットメントを開発し、その効果を評価することである。本年度はグループインタビュー調査を開始し、アンケート調査、エキスパートオピニオン調査の研究準備を進めた。来年度は各調査の結果を基に、コミットメント案を検討し、介入研究の準備も進めていく。また各コミットメントを取りまとめた地域司法精神医療制度に関する提言の発行に向けた準備も進めていく予定である。

今年度、いずれの分担もほぼ予定通りに進捗している。

分担研究課題名：地域精神保健領域におけるコアアウトカムセットの開発に関する研究

氏名：塩澤拓亮

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

研究協力者：阿部真貴子¹⁾、五十嵐百花¹⁾、岩永麻衣¹⁾、臼井香¹⁾、川口敬之¹⁾、佐藤さやか¹⁾、安間尚徳¹⁾、山口創生¹⁾、山田裕貴¹⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所

【諸言】

地域精神保健領域の研究において何をアウトカムとするのか、何を目標とし、どのようなゴールを設定するのかという場面において重要なステークホルダーの意見を取り入れていくことの重要性が高まっている。これまで地域精神保健福祉領域に関する研究では、入院期間や再入院の有無、症状、機能などの臨床的なアウトカムの計測に重きが置かれていたが、近年はパーソナル・リカバリーの広がりとともに就労や家族との関係性といった地域生活に即したアウトカム設定が注目されている (Davidson, 2019)。研究におけるアウトカムの設定は、従来研究者の関心に沿ったアウトカムが中心であったが、研究者らが重要と認識する事象と当事者が重要と認識する事象にはズレが生じていることが報告されている (Chalmers & Glasziou, 2009; Mease et al., 2008)。

研究で取り扱うべきアウトカムの基準を決定するにあたって、近年コアアウトカムセット (Core outcome set : COS) などと呼ばれる、特定の領域で用いることが推奨されるアウトカムの標準的なセットの開発が進んでいる。また、精神保健領域のように多様なアウトカムが包含される領域においては、様々なアウトカムや尺度が提案されていることから標準的なアウトカムの需要も高いと予想される (McKenzie et al., 2021)。COS の開発や COS に含まれるアウトカムの選定は一部の研究者

のみによって実施されるものではなく、その過程も重要視されている (McKenzie et al., 2021)。そして、近年 COS の開発には研究者だけでなく、疾患や障害をもつ当事者や当事者の家族・介護者、支援専門職、政策立案者などの行政機関で働く職員といった多様なステークホルダーも、COS の分野に影響を与える存在として参加する機会が増加している。また、当事者や関係者の意見や希望を取り入れていくうえで、研究における患者・市民参画 (patient and public involvement: PPI) は国際的に大きな関心となっている。

本研究は、多様なステークホルダーとの協働を通して、日本の地域精神保健領域におけるコアアウトカムセットを開発することを目的として実施された。

【方法】

過去の関連する研究成果によって明らかとなった、地域精神保健領域の研究において多様なステークホルダーが重要と考える 24 項目のアウトカムについて、候補となる各アウトカムを評価するための尺度や評価指標選定のためのキーワード検討及び文献レビューを実施した。文献検索には、COSMIN Database of Systematic Reviews を用いて、24 項目のアウトカムについて、それぞれ文献検索の為のキーワードを研究メンバーとの検討を通して決定した。文献検索を行うにあたり、本研究では組み入れ基準と除外基準を設定した。

組み入れ基準：①該当する各アウトカムの定義に沿った事象を評価するための尺度であること

除外基準：①対象が子供や特定の疾患に限って使用することを想定した尺度 (精神疾患を除く)

なお、アウトカムによっては精神疾患に限定された尺度を利用することが望ましいとは言えないものもあると思われるため、今回のスクリーニングでは対象を精神疾患に限定しなかった。今回対象となった 24 項目のアウトカムの内容、アウトカムの定義、検索キーワードの詳細については表 1 を参照。

【結果】

24 項目のアウトカムについて検索を実施した結果、合計 1349 件の文献が抽出された。内訳は以下の通りである。「ヘルプシーキング（援助希求）：88 件」、「居場所がある 13 件」、「当事者と家族の関係性：11 件」、「症状のコントロール感・コーピング：164 件」、「支援者との関係：21 件」、「日常生活能力：129 件」、「服薬・治療への態度：36 件」、「自己肯定感：62 件」、「生活の満足度：49 件」、「社会とのつながり：50 件」、「暴言・暴力：22 件」、「ストレス：106 件」、「希死念慮・自殺企図：2 件」、「主体性・自己決定：357 件」、「精神疾患の再発：1 件」、「有害事象・副作用：23 件」、「家族の精神健康：14 件」、「全般的な精神症状：77 件」、「ニーズ充足度：107 件」、「服薬の遵守：10 件」、「死亡（自殺）：7 件」、「治療の継続：0 件」、「家族の感情表出：0 件」、「住居の安定性：0 件」。

抽出された各文献について、研究チーム内で分担し、タイトル及び要旨を確認し、組み入れ基準、除外基準に沿って文献を精査した。現在対象文献の抽出作業中である。

【考察】

本年度はこれまでの研究の中で明らかとなった各アウトカムがどのような尺度を用いて評価されてきたのか、その実態を把握することを目標として文献レビューを実施した。現在アウトカム評価の為の尺度を抽出中であるが、24 項目のアウトカムそれぞれについて検索キーワードを検討するなかで、「治療の継続」、「家族の感情表出」、「住居の安定性」については該当文献が抽出されなかった。キーワードの適切性について再度検討を行うとともに、アウトカム評価に関する文献を個別に検索していく必要がある。他方、これまで関心を向けられる機会が無く、評価指標として整理されてこなかったアウトカムである可能性も考えられた。

次年度は、アウトカムごとの評価尺度の整理・分析が完了後、集計したデータを参考に地域精神保健領域のステークホルダーの協力を得て、COS

開発の為のコンセンサス会議を開催予定である。

【結論】

現在調査は進行途中であるが、文献レビューによりアウトカム評価尺度の整理されることは、これまで多様な尺度で評価されてきた各アウトカムについて、今後蓄積されていくエビデンスの整合性を高めるうえで有益な資料となりうる。また、次年度開催予定のコンセンサス会議によって地域精神保健領域における COS に組み入れるアウトカムが決定されることもより効果的なエビデンスの構築に寄与することが期待される。

【参考文献】

- Chalmers, I., & Glasziou, P. (2009). Avoidable waste in the production and reporting of research evidence. *The Lancet*, 374(9683), 86-89. doi:10.1016/s0140-6736(09)60329-9
- Davidson, L. (2019). Is “Personal Recovery” a Useful Measure of Clinical Outcome? *Psychiatric Services*, 70(12), 1079-1079. doi:10.1176/appi.ps.701204
- McKenzie, E., Matkin, L., Sousa Fialho, L., Emelurumonye, I. N., Gintner, T., Ilesanmi, C., . . . Addington, D. (2021). Developing an International Standard Set of Patient-Reported Outcome Measures for Psychotic Disorders. *Psychiatr Serv*, appips202000888. <https://doi.org/10.1176/appi.ps.202000888>
- Mease, P. J., Arnold, L. M., Crofford, L. J., Williams, D. A., Russell, I. J., Humphrey, L., . . . Martin, S. A. (2008). Identifying the clinical domains of fibromyalgia: Contributions from clinician and patient delphi exercises. *Arthritis & Rheumatism*, 59(7), 952-960. doi:10.1002/art.23826

項目名	項目の定義	検索キーワード (Pubmed検索キーワード+MeSH) (COSMIN)
ヘルプシーキング (援助希求)	他者に助けを求められることができるかどうかを評価することの重要度。例えば、問題が起きた際に、精神保健福祉サービスの支援者・友達・家族などに相談したり頼ったりできるか、助けを求め先がどのくらいあるかについて評価することがどのくらい重要か。	(Help* OR support* OR engage* OR seek*) AND (mental* OR psych*)
居場所がある	居場所だと思えるような場所・環境があるかを評価することの重要度。例えば、自分がここにいるのもいいと思える場所、安心感や所属感を感じられる場所・空間があるかについて評価することがどのくらい重要か。家庭、デイケア、職場など実際の空間・場所に加え、そこにいる人との心理的なつながりを含む。	(whereabouts OR "one's location" OR "one's place" OR "social farm*" OR "social enterprise*" OR belonging* OR ibasho OR "being part of society" OR "sense of identification" OR Social Identification)
当事者と家族の関係性	家族内の関係が良好かどうかを評価することの重要度。例えば、当事者と家族がお互いに理解し合い、適度な距離感を保っているかについて評価することがどのくらい重要か。	((relation* OR relative*) AND (user* OR patient*) AND (famil* OR caregiver* OR carer* OR sibling*)) OR "Family Relations")
症状のコントロール感・コーピング	症状と上手に付き合っているかを評価することの重要度。例えば、症状を俯瞰してみるなど、病気の症状に圧倒されずにコントロールできるかどうかや、自身の病状をモニタリングし、病状悪化時に対処する方法をいくつか持っているといったコーピング能力、問題解決能力などについて評価することがどのくらい重要か。	(coping OR "symptom control" OR "controlled symptoms" OR "self-care agency" OR "Pain Management" OR "Adaptation" OR "Adaptation, Psychological" OR "Pain Management Adaptation, Psychological")
支援者との関係	支援者との関係が良好か、または目的に応じた適切な関係が築けているかを評価することの重要度。例えば、当事者と支援者が互いに信頼し、オープンに話し合い、共通のゴールに向かって協力できているかについて評価することがどのくらい重要か。	((relation* OR alliance OR rapport OR partnership) AND (supporter* OR therapist* OR treatment* OR "health worker*" OR "health professional*" OR "medical profession*" OR "medical service worker*" OR psychiatrist* OR clinician* OR physician* OR practitioner* OR "service provider**"))
日常生活能力	日常生活を営む能力を評価することの重要度。例えば、食事を適切にとれる、入浴ができる、規則正しい生活ができる、ルールに合わせて行動できるなどについて評価することがどのくらい重要か。金銭管理や自動車の運転などの生活スキルも含む。	("activit* of daily living" OR "daily activit*" OR "self-care" OR "life skill*" OR "living skill*" OR household OR housekeep* OR housework OR "Activities of Daily Living")
服薬・治療への態度	服薬や治療をどの程度受け入れているかを評価することの重要度。例えば、当事者の服薬・治療に対する拒否 (例: 薬を飲みたいくない、飲み心地が悪い) や肯定 (例: 治療を受けるのは役に立つ) などの気持ちについて評価することがどのくらい重要か。	((attitude OR reaction) AND (drug* OR treatment* OR therap* OR medication*) OR "Treatment Refusal" OR "Patient Acceptance of Health Care" OR "Patient Medication Knowledge")
自己肯定感	自らの価値や存在意義を肯定できるか、自分に自信を持っているかを評価することの重要度。例えば、自己肯定感、自己効力感、自尊心などについて評価することがどのくらい重要か。他人に迷惑をかけていると感じるなどの自己肯定感の低下も含む。	("self esteem" OR "self positivity" OR "self respect" OR "self worth" OR "self confidence" OR "self affirmation" OR "self-efficacy" OR "self-assurance" OR "self-assuredness" OR "Personal Satisfaction")
生活の満足度	生活にどの程度満足しているかを評価することの重要度。例えば、生活のさまざまな側面 (経済・対人関係・住居・身体的健康・精神的健康・環境等) について、総合的に当事者が満足できているかどうかについて評価することがどのくらい重要か。生活の質 (QOL)、ウェルビーイング、幸福感などに関する評価。	("life satisfaction" OR "satisfied with life" OR "Personal Satisfaction")
社会とのつながり	地域・社会において、主観的につながり感を得ているか、社会参加できているかを評価することの重要度。他者から避けられている、排除されている、孤独を感じるといった評価も含む。	("social connect*" OR "social engagement*" OR connectedness OR loneliness OR "social network" OR "social support*" OR "Interact* with others" OR "Social Networking" OR "Social Support")
暴言・暴力	精神症状を背景とした暴言や暴力の有無を評価することの重要度。例えば、他者への暴力や暴言、周囲のものを壊す、攻撃的な行動や態度を取る、などがあつたかどうかについて評価することがどのくらい重要か。	(abuse* OR violent* OR "intemperate language*" OR outrage* OR injur* OR attack* OR assault* OR aggressi* OR offence OR harm OR Violence OR "Harassment, Non-Sexual")
ストレス	ストレスを感じている程度。ものごとが手に負えず、いらいらしたり、リラックスできなかつたりする感じ等を指す。	(stress* OR "Stress, Psychological")
希死念慮・自殺企図	希死念慮 (死にたいと思う気持ち) や自殺企図 (自殺をしようとする) の有無を評価することの重要度。	("suicid* attempt*" OR "suicid* ideation*" OR "self-destruction" OR "self-murder" OR "Suicidal Ideation")
主体性・自己決定	自身の生活に関して自己決定できているかを評価することの重要度。例えば、常識や偏見にとらわれず自分らしくいられるか、やりたいと思っていることに取り組んでいるか、自分の決定に責任をもっているかということについて評価することがどのくらい重要か。	(independence OR initiative OR individual* OR "self determinat*" OR autonomy OR "mental capacity" OR agency OR "Personal Autonomy")
精神疾患の再発	精神疾患の再発・症状の再燃の有無や期間、または一定期間症状が無いこと (寛解) を評価することの重要度。	((recidivat* OR recurrence* OR relapse*) AND ("mental illness*" OR "mental disorder*" OR "psychiatric disorder*" OR "psychological illness**")) OR "Recurrence AND Mental Disease")
有害事象・副作用	薬の副作用を含め、治療を受けている時に起こった望ましくない反応を評価することの重要度。例えば、口の渇き等の身体の不快感や、自傷・暴力等の行動等。反応の内容や深刻さ、頻度等について評価することがどのくらい重要か。	("side-effect*" OR "adverse effect*" OR "adverse event*" OR "harmful effect" OR "Drug-Related Side Effects and Adverse Reactions")
家族の精神健康	家族の精神的な健康度を評価することの重要度。例えば、当事者のケアに関わる心理的な苦痛や、精神的な症状 (抑うつ、不安など) の程度。家族自身の精神科サービスの利用も含めて評価することがどのくらい重要か。	((("mental health" OR "mental state" OR "psychol* health" OR "psychiat* health" OR "psychol* problem" OR "psychiat* problem") AND (famil* OR carer* OR caregiver*)) OR "Family Health" OR "Family AND Mental Health")
全般的な精神症状	特定の疾患の症状に限らず、精神的な症状の重さ・深刻度を総合的に評価することの重要度。例えば、妄想、幻覚 (陽性症状)、意欲消失や感情の平板化 (陰性症状)、不安、抑うつなどの程度など幅広く評価することがどのくらい重要か。	("psychosomatic symptom*" OR "psychiatric symptom*" OR "mental symptom*" OR "general mental stat*" OR ("global symptom*" OR "overall symptom**") AND ("mental" OR "psychiat*" OR "psychol**")) OR "Symptom Assessment")
ニーズ充足度	支援がどの程度行き届いているか。あるいは、当事者が生活において求めるものがどのくらい満たされているかを評価することの重要度。例えば、支援を受けられなくて困っていること (家事、症状の管理など) がいくつあり、どの程度深刻か等について評価することがどのくらい重要か。	((satisfaction AND need*) OR "fulfill need*" OR "unmet need*" OR "need assessment" OR "Patient Satisfaction")
服薬の遵守	薬を予定通りに飲んでいるかを評価することの重要度。服薬コンプライアンス/アドヒアランス/コンコーダンスに関する評価。	((compliance OR adherence OR concordance) AND medication) OR "Medication Adherence")
死亡 (自殺)	自殺によって当事者が亡くなったかどうかを評価することの重要度。	("self-destruction" OR "self-murder" OR suicide OR "self-death" OR "self mortality" OR Suicide)
治療の継続	診察や治療プログラムへの出席・参加率を評価することの重要度。例えば、予定通りに通院しているか、治療の中断 (それ以降治療に来なくなったり、連絡が取れなくなったりした状態) について評価することがどのくらい重要か。治療コンプライアンス/アドヒアランスに関する評価。	((contin* AND (therap* OR cure OR treat* OR consist* OR care*)) OR "drop out" OR "dropping out" OR "treatment attrition" OR "care attrition" OR "service attrition" OR "Loss to follow-up of treatment" OR "Loss to follow-up of care" OR "Loss to follow-up of service" OR "Duration of Therapy")
家族の感情表出	家族による当事者への否定的で不安定な感情の程度を評価することの重要度。例えば、当事者を批判し責めるような気持ちや、当事者の状態に過度に反応してしまうこと等について評価することがどのくらい重要か。	((("emotion* express*" OR "affect* displa*" OR "displa* affect*") OR "Expressed Emotion") AND (famil* OR caregiver* OR carer* OR sibling*)) AND (mental* OR psych*)
住居の安定性	安全な自分の家があり、継続して住んでいるかを評価することの重要度。例えば、自宅を暮らせた日数、ホームレスだった日数等について評価することがどのくらい重要か。	("stabilization of residence" OR "housing stability" OR "housing first" OR "accomodation status" OR "homeless" OR "living service*" OR "habitat" OR "living tenure*" OR "Housing Instability")

分担研究課題名：精神障害当事者との協働に基づく災害時の精神保健福祉体制に関わるガイダンスの開発

氏名：川口敬之

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

研究協力者：山田悠平¹⁾，相良真央¹⁾，山口創生²⁾，小池純子²⁾，岩永麻衣²⁾，五十嵐百花²⁾，臼井香²⁾，山田裕貴²⁾，佐藤さやか²⁾

1) 一般社団法人精神障害当事者会ポルケ

2) 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所

【諸言】

地域共生社会の実現のために、災害時に精神障害をもつ者が抱える困難に対応可能な精神保健福祉体制を含む防災計画の立案、および地域防災活動の普及啓発が課題となっている。過去には精神科医療の専門家で構成された合意形成調査に基づき、災害時の精神保健医療福祉体制に関わるガイドラインの草案が提示されている。しかし、それらには精神障害当事者が構成員として含まれていなかったため、精神障害をもつ者が被災時に抱える困難に対する精神保健医療福祉体制について、当事者視点を包含したガイダンスはいまだない。

本研究の目的は、精神障害当事者との協働に基づき、精神障害をもつ者が被災時に抱える困難に対する精神保健福祉体制のあり方を明示したガイダンスを開発することである。本ガイダンスは、第3回国連防災世界会議の成果文書「仙台防災枠組」で課題提起された、障害者を包摂する防災・減災の具体的方策を提示するものと期待される。

【方法】

本年度は、精神障害当事者2名とともに、Disability Inclusive Action and Disaster Risk Reduction survey (DIARY) project という共同研究体制を構築した。また、東日本大震災ならびに熊本地震の被災経験のある精神障害をもつ者および支援者・行政職員を対象としたグループインタ

ビューによる調査を実施した。

精神障害をもつ者に対するインタビューテーマは、①被災をしたことで、困ったことや必要と感じた支援について、②被災前にどんな防災対策をしていたか/被災後どのような防災対策をするようになったか、であった。支援者・行政職員に対するインタビューテーマは、①被災をしたことで、サポートしていた精神障害当事者が困っていたことや、どのような支援をしたか、②被災時の支援のあり方について、被災前後の取り組みの違いはあったか、であった。精神障害をもつ者が困難に晒されることが想定される内服薬や医療的支援の確保を中心に、被災時に経験した困難や防災対策について、各立場の者に広く聴取した。研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施した。

【結果】

グループインタビューは、2022年7月に熊本県、同年10月に福島県において実施した。研究協力者は、精神障害をもつ者が23名（熊本県：10名、福島県：13名）、支援者・行政職員が15名（熊本県：6名、福島県：9名）であった。インタビューの音声データは逐語録に起こし、定性的分析を実施中である。

【結論】

インタビュー調査の分析結果は、次年度に実施する大規模な質問紙調査の質問項目に活かされる予定である。本研究は、研究プロセスの全てに対し、精神障害当事者が共同研究者として参画し、合議に基づいて遂行することである。これにより、既存の災害時対応に関するガイドラインや防災計画では見過ごされてきた精神障害の特性を踏まえた災害時の精神保健福祉に関わるガイダンスの開発を目指す。

分担研究課題名：地域精神保健における、「患者・市民参画」(Patient and Public Involvement)の考えを取り入れた、多職種・多機関連携研修の開発と実施可能性に関する研究

氏名：安間尚徳

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、医療法人社団順風会上尾の森診療所

研究協力者：山口創生¹⁾、佐藤さやか¹⁾、塩澤拓亮¹⁾、川口敬之¹⁾、岩永麻衣¹⁾、臼井香¹⁾、五十嵐百花¹⁾、山田裕貴¹⁾

1) 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所

【諸言】

本研究の目的は、「患者・市民参画」(Patient and Public Involvement)の考えを取り入れ、埼玉県上尾市、桶川市、伊奈町において、精神障害をもつ当事者とその家族、精神科医師、精神科看護師、精神保健福祉士、心理士、行政職員、研究者が協働して、多職種・多機関連携研修を作成し、「連携」をアウトカムとして前後比較試験による研修の実施可能性の検証を行うことである。本研究で作成した研修により、多職種・多機関連携が高まることが科学的に実証されれば、日本全国において本研修が実装化され、当事者とその家族のより良い地域生活につながる可能性があり、我が国の地域精神保健医療福祉の質の向上が期待される。

【方法】

多職種・多機関連携研修の作成は、上尾市、桶川市、伊奈町、NCNPで活動する当事者、家族、医師、看護師、精神保健福祉士、心理士、行政職員、研究者に対してグループインタビューを行い作成する。研修の実施可能性の検証を行う際の研究デザインは、前後比較試験である。研究参加者の適格基準は、同意取得時において年齢が20歳以上の者、上尾市、桶川市、伊奈町において、地域精神保健医療福祉に携わる医師、看護師、精神保健福

祉士、心理士、行政職員をはじめとした多職種支援者とする。また、同エリアに在住の精神障害をもつ当事者とその家族とする。除外基準は年齢が20歳未満の者とする。主要アウトカムは、「医療介護福祉の地域連携尺度」とする。この尺度は、26項目、5件法であり、得点が高いほど地域において連携がとれていることを意味する(阿部ら、2014)。介入は、サンプルサイズは、50名を目標とする。

【結果】

本年度は、まず、多職種・多機関連携研修の作成メンバーを招集した。メンバーは、上尾市、桶川市、伊奈町、NCNPで活動する当事者、家族、医師、看護師、精神保健福祉士、心理士、行政職員、研究者とした。次に、上記メンバーで研修内容について話し合い、研修に三つの要素を含めることを決定した。第一に、上尾市、桶川市、伊奈町の地域精神保健はどうありたいかという理念の共有である。第二に、多職種・多機関連携の必要性について、保健医療福祉機関が一度に見られる社会資源マップの紹介である。保健医療福祉機関が一度に見られる社会資源マップは、上記メンバーで作成し、インターネット上で公開する予定である。第三に、模擬症例を通じて、ケースマネジメントシートを用いながら、どの機関をどのように利用するか、グループワークを行うことである。ケースマネジメントシートも上記メンバーで作成する。

【結論】

来年度は、研修、社会資源マップ、ケースマネジメントシートを完成させ、2023年10月18日に前後比較試験を行う予定である。介入研究の際には、NCNPの倫理委員会の承認を得る予定である。本研究の結果は、査読付きの英文雑誌に投稿し、また国内・国際学会での発表も検討している。研究は滞りなく進んでいる。

分担研究課題名：PPI (Patient and Public Involvement)の視点を取り入れた地域司法精神医療制度の開発

氏名：竹田康二

所属施設：国立精神・神経医療研究センター病院

研究協力者：柏木宏子¹⁾、野村照幸²⁾、小池純子³⁾、宮崎真理子¹⁾、和田舞美¹⁾、島田明裕¹⁾、島田隆生¹⁾、岡野宏紀¹⁾、五十嵐百花³⁾、本間稔宏⁴⁾、中川渉⁵⁾、荒川育子⁶⁾、久保彩子⁷⁾、高尾碧⁸⁾、松田太郎⁹⁾、平林直次¹⁾

- 1) 国立精神・神経医療研究センター病院
- 2) 国立病院機構さいがた医療センター
- 3) 国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所
- 4) 福島県立ふくしま医療センター こころの杜
- 5) 東日本矯正医療センター
- 6) 東京都立松沢病院
- 7) 国立病院機構琉球病院
- 8) 島根県立こころの医療センター
- 9) 大阪精神医療センター

【諸言】

医療観察法は重大な他害行為を行った触法精神障害者に関する処遇と医療を定めた法律である。処遇は入院処遇と通院処遇からなる。医療観察法による入院処遇は専門病棟で、充実した人的、物的資源のもと医療が実施されている。一方、指定通院医療機関は、施設ごとにマンパワーや提供できる治療の差は大きく、地域関係者から、対象者（医療観察法による処遇を受ける者）の地域生活への不安や負担感の声が出ることもある。また通院処遇期間中、約半数が精神保健福祉法入院を経験しており、死亡者数も少なくない¹⁾。司法精神医療は再他害のリスクマネジメント、被害者や地域住民等の感情への配慮など、病状だけでなく多様な視点から医療を行っていく必要があり、対象者や地域関係者等の当事者の視点も重要である。そこで本研究は、当事者の意見も参考として、通院処遇医療の専門化、社会復帰の促進、地域関係

者の不安・負担感の軽減を目的とした指定入院医療機関等の多機関による通院処遇へのコミットメントを開発し、その効果を評価する。

【方法】

海外での地域司法精神医療に関する取り組みや、医療観察法に携わる医療者による臨床的視点はもちろんのこと、通院処遇対象者や地域関係者など当事者の意見も反映させる。また、実際に開発したコミットメントを、同意が取得できた通院処遇対象者に対して実践し、その効果を評価する。

コミットメント開発に向けた事前調査を3つ実施する方針である。1つ目は医療観察法通院処遇に携わる支援者に対する通院処遇制度の実態と課題に関するグループインタビュー調査である。2つ目は、通院処遇対象者や社会復帰調整官、指定通院医療機関等に対して、指定入院医療機関に対するニーズや通院処遇における困難感などのアンケート調査を行う。3つ目は国内の地域（精神）医療の専門家や、海外の司法精神医療専門家に対してインタビューやアンケートによるエキスパートオピニオン調査を実施する予定である。

【結果】

令和4年度末時点において、グループインタビュー調査はすでにNCNP倫理委員会の承認を得ており（A2022-078）、東京都、沖縄県、福島県の3地域での調査を終えた。令和5年度にも大阪府と島根県で実施予定である。アンケート調査は、さいがた医療センターとの共同研究として実施予定であり、倫理審査申請中である。エキスパートオピニオン調査は、研究計画立案中である。

【考察】

現在各調査は実施中ないし研究準備中である。令和5年度中には各調査とデータ分析が終了することを予定している。地域精神医療は、都市部と地方部で医療福祉資源や交通アクセス環境が大きく異なる。グループインタビュー調査やアンケート調査では、都市部と地方部それぞれの課題やニーズの違いが明らかになることも期待される。

【結論】

令和4年度はグループインタビュー調査を開始し、アンケート調査、エキスパートオピニオン調査の研究準備を進めた。令和5年度は各調査の結果を基に、コミットメント案を検討し、介入研究の準備も進めていく。また各コミットメントを取りまとめた地域司法精神医療制度に関する提言の発行に向けた準備も進めていく。

【参考文献】

- 1) 国立精神・神経医療研究センター病院司法精神診療部, 精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究部：通院処遇統計レポート（2020年版）

**Study on the Collaboration and Human Resource Development for Implementing
Comprehensive Mental Health Services**

Chiyo Fujii

Department of Community Mental Health and Law,
National Institute of Mental Health,
National Center of Neurology and Psychiatry

This study aims to examine the forms of collaboration among stakeholders such as service users, medical institutions, local welfare offices, and administrations in achieving comprehensive mental health services. These services contribute to the establishment of a "integrated community care system focusing on mental health" that is currently being promoted in Japan. Furthermore, we aim to develop training methods for human resource development to implement a comprehensive support system. The research is conducted by the following four teams:

- A) Study on the development of core outcome sets in the field of community mental health
- B) Development of guidance related to mental health and welfare system during disasters, based on collaboration with people with mental disorders
- C) Development and feasibility study of multi-professional and multi-institutional collaboration training incorporating the concept of "Patient and Public Involvement" (PPI) in community mental health
- D) Development of a community forensic mental health system incorporating the perspective of PPI

Team A aims to develop a core outcome set in the field of community mental health in Japan through collaboration with various stakeholders. A literature review and keyword search for the evaluation measures and indicators for each candidate outcome were conducted based on 24 outcome items that diverse stakeholders consider important in the field of community mental health, as revealed by past related research. This process resulted in the extraction of 1349 pieces of literature, which are currently under scrutiny according to the inclusion and exclusion criteria.

Team B's goal is to develop guidance that clarifies the mental health and welfare system for addressing the difficulties faced by individuals with mental disorders during disasters, based on collaboration with people with mental disorders. This year, a collaborative research project called the Disability Inclusive Action and Disaster Risk Reduction survey (DIARY) project was established with two service users. In addition, a group interview survey targeting individuals with mental disorders who experienced the East Japan Great Earthquake and the Kumamoto Earthquake, as well as their supporters and administrative officials, was conducted. Qualitative analysis is currently underway.

Team C collaborates with service users with mental disorders, their families, psychiatrists, psychiatric nurses, mental health and welfare officers, psychologists, administrative officials, and researchers to create multi-professional and multi-institutional collaboration training. This training aims to verify the feasibility of its implementation through pre-post comparative tests, using "collaboration" as the outcome. This year, the team members held discussions on the content of the training and decided on the elements to be included.

The aim of Team D is to develop a commitment to outpatient treatment by multiple institutions, including designated hospital medical institutions, which aims to specialize in outpatient treatment, promote social reintegration, and reduce the anxiety and burden of local stakeholders, while taking into account the opinions of service users. The team will evaluate the effects of this development. This year, preparations for the group interview survey, questionnaire survey, and expert opinion survey are underway.

Overall, the progress of each team is almost as planned for this year.

研究課題番号：4-3 新型コロナウイルスの罹患後精神症状に関する疫学的検討
主任研究者：西 大輔

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

COVID-19 感染者における精神症状等の罹患後症状の特徴および、それらの症状に関連する要因を明らかにするため、①罹患後精神症状の変化の縦断的検討、②早期の感染者と最近の感染者における罹患後精神症状の比較検討、③感染者と非感染者における罹患後精神症状の比較検討、を行った。

2. 研究組織

主任研究者

西 大輔

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 部長

分担研究者

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 室長

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

片岡 真由美

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 リサーチフェロー

3. 研究成果

昨年度実施した COVID-19 感染者への調査の参加者に 1 年後時点の追跡調査を行った。同時に、最近の感染者に関するデータとして、2022 年 2 月以降に感染した感染者を対象に調査を行った。データ収集は、2022 年 7 月から 10 月の間に行われた。また、早期の感染者のデータとして昨年度収集したデータおよび、COVID-19 感染拡大禍における一般人口の調査として他研究で収集された非感染者のデータを用いた。

①に関し、昨年度にデータ収集した感染者 6010 名のうち 2571 名が解析対象となった。昨年度時点に比べて精神症状が有意に減少していた。②に関しては、2022 年 2 月

以降に感染した感染者 7066 名から回答が得られ、うち 5344 名が解析対象となった。昨年度の回答者に比べ、今年度の回答者のほうが精神症状は有意に低かった。③に関し、昨年度に収集した感染者データと非感染者データを比較し、非感染者よりも感染者のほうが心理的苦痛のリスク比が有意に低いことが示唆された。

また、昨年度収集した感染者の調査データから、精神科既往歴を有する者はそうでない者と異なって感染後経過期間が長くなるにつれ精神症状が重症化、もしくは軽減しないまま継続する可能性が示唆された。さらに、感染に伴う心理的体験と精神症状の不良の関連が示唆された。

4. 研究成果刊行一覧

1. 論文発表

- Megumi Hazumi, Kentaro Usuda, Emi Okazaki, Mayumi Kataoka, and Daisuke Nishi. (2022) Differences in the Course of Depression and Anxiety after COVID-19 Infection between Recovered Patients with and without a Psychiatric History: A Cross-Sectional Study. *Int J Environ Res Public Health*, 19-18,11316. DOI: 10.3390/ijerph191811316
- Megumi Hazumi, Emi Okazaki, Kentaro Usuda, Mayumi Kataoka, and Daisuke Nishi. (2022) Relationship between attitudes toward COVID-19 infection, depression and anxiety: a cross-sectional survey in Japan. *BMC Psychiatry* 22, 798.
- Mayumi Kataoka, Megumi Hazumi, Kentaro Usuda, Emi Okazaki, and Daisuke Nishi. (2023) Association of preexisting psychiatric disorders with post-COVID-19 prevalence: a cross-sectional study. *Sci Rep* 13, 346.

2. 学会発表

- 西大輔、新型コロナウイルス感染後の精神症状、第 118 回日本精神神経学会学術総会、2022 年 6 月

課題 1 分担課題名：COVID-19 感染後の予後に関連する要因の検討

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】

COVID-19 感染後、精神症状をはじめとした罹患後症状が長期的に継続する場合は指摘されているが、その期間について共通見解は十分得られておらず、また長期化に寄与する要因も十分明らかにされていない。罹患後症状の経過および関連要因が明らかになることで、当該患者へ治療・支援方針について示唆が得られると期待する。

そこで本研究では、感染から 1 年以上経過した時点で罹患後症状がみられる程度、および長期継続を予測する要因を明らかにすることを目的とした。

【方法】

昨年度実施した COVID-19 感染者を対象とした調査の参加者に対し、参加から 1 年経過した時点で、オンライン調査会社を介して追跡調査を行った。データ収集期間は 2022 年 7 月～9 月であった。昨年度収集した COVID-19 感染者のデータとともに、今回収集したデータを用いて分析を行った。

K6、PHQ-9、GAD-7 等の指標が収集された。

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】

昨年度にデータ収集した感染者 6010 名のうち 3495 名から回答が得られ、このうち 2571 名が解析対象となった。

K6 は、昨年時点では平均 4.54(標準偏差[SD]=5.32)点だったのに対し、今年時点では平均 3.40(SD=5.12)点だった。PHQ-9 は、昨年時点では 5.19(SD=5.91)点だったのに対し、今年時点では 3.87(SD=5.48)点だった。GAD-7 は、昨年時点では平均 3.34(SD=4.71)点だったのに対し、今年時点では 2.57(SD=4.37)点だった。

対応のある t 検定を行った結果、K6($t=7.05$, $p<0.001$)、PHQ-9($t=7.82$, $p<0.001$)、GAD-7($t=4.64$, $p<0.001$)ともに、

昨年時点よりも今年時点のほうが有意に低かった。

【考察】

本研究から、COVID-19 感染者が抱える罹患後精神症状は、1 年の時間経過を経ることで漸減する可能性が示唆された。今後は、長期化の程度にかかわる要因を同定するとともに、より長期的な縦断検討を進めていく必要がある。

課題2 分担課題名：感染時期による罹患後精神症状の比較検討

分担研究者：臼田謙太郎

所属施設：国立精神・神経医療研究センター

【研究の背景と目的】

COVID-19 感染拡大禍の長期化に伴い、感染拡大当初から最近までの間に、新規感染株の出現や COVID-19 感染者をとりまく環境の変化等が散見される。こうした要因は、COVID-19 感染者における精神症状をはじめとした罹患後症状の重症度にも影響する可能性がある。

そこで、本研究では、感染拡大当初の感染者と最近の感染者の罹患後精神症状や、各時期において罹患後精神症状に関連する要因について検討することとした。本研究により、状況の変化に即した治療支援を提供するための示唆が得られると考えられる。

【方法】

最近の COVID-19 感染者のデータを収集するため、2022 年 2 月以降に初めて COVID-19 に感染した者を対象に、オンライン調査会社を介して質問紙調査を行った。データ収集は 2022 年 9 月に行われた。昨年度収集した COVID-19 感染者のデータとともに、今回収集したデータを用いて分析を行った。

K6、PHQ-9、GAD-7 等の指標が収集された。

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】

今年度は感染者 7066 名から回答が得られ、うち 5344 名が解析対象となった。昨年度にデータ収集したデータは 6010 名であった。今年度収集した感染者のデータには、K6 は平均 2.41(SD=4.16)点、PHQ-9 は平均 3.13(SD=4.71)点、GAD-7 は平均 1.84(SD=3.52)点であった。t 検定によって昨年度と今年度の感染者のデータを比較したところ、K6 ($t=23.43$, $p<0.001$)、PHQ-9 ($t=20.29$, $p<0.001$)、GAD-7 ($t=19.06$, $p<0.001$)ともに今年度収集した感染者のほうが有意に低かった。

【考察】

本研究から、最近の COVID-19 感染者においては、感染拡大当初の COVID-19 感染者にくらべて、精神症状が軽度であることが示唆された。感染当初に比べて最近のほうが、最近の COVID-19 感染者の罹患後精神症状への懸念や対策は、感染拡大当初よりも緩めても差し支えないかもしれない。今後は、感染拡大当初と最近の相違を引き起こしている要因を明らかにするとともに、更なる新規株の出現が見られた際には、追加的な調査の実施も必要と考えられる。

課題3 分担研究課題名：COVID-19 罹患経験の有無による精神症状の比較

分担研究者：片岡真由美

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】

SARS-CoV-2 の感染拡大に伴うメンタルヘルスへの影響は、公衆衛生の観点から重要な問題となっている。令和4年度においては匿名オンライン横断調査データを使用し、SARS-CoV-2 の感染経験の有無による精神的症状の比較を行なった。

【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）。感染者データは「新型コロナウイルスの罹患後精神症状に関する疫学的検討研究」から、非感染者データは「日本における COVID-19 問題による社会・健康格差評価研究(JACSIS)」から取得した。データ収集期間は2021年7～10月であった。

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】

解析対象は、感染者 4,856 人と非感染者 26,828 人であった。感染者 448 人 (9.2%)、非感染者 2,212 人 (8.2%) が重度の心理的苦痛 (K6 \geq 13 点) を示した。感染経験と重度の心理的苦痛のリスク比は 0.85 (95%CI : 0.75-0.96, $P < 0.01$)、つまり感染者の方が有意に苦痛のリスクが低かった。しかし、未測定の交絡因子の影響が結果に影響を及ぼす可能性があると感じた感度分析で示された (感染経験の真のリスク比を 1.0 と 1.1 に設定した場合の E-value はそれ

ぞれ 1.63 と 1.91)。

【考察】

日本では SARS-CoV-2 感染者において、重度の心理的苦痛のリスクが有意に低いことが示された。これは、パンデミックによるストレス要因 (例：感染への不安、行動の制限、経済的困難等) が非感染者の精神的健康に影響を及ぼす可能性を示唆しているかもしれない。しかしながら、パンデミック状況下でのメンタルヘルスの悪化メカニズムは依然として不明であり、その解明にはさらなる研究が求められる。これは、国民のメンタルヘルスを守るために必要不可欠であると考えられる。

No. 4-3

The Epidemiological Study of Psychiatric Symptoms after COVID-19 Infection

Daisuke Nishi

The National Center of Neurology and Psychiatry

This study aimed to investigate: 1) the longitudinal change in the post-acute sequelae of COVID-19, including psychiatric symptoms; 2) the difference in the severity of such symptoms between individuals who were infected at the early phase and those who were infected at the late phase, and 3) the difference in the degree of such symptoms between individuals with and without COVID-19 infection.

Two online surveys were performed: a survey for individuals who participated in the study last year for study 1, with a one-year interval between studies, and those who were infected after February 2022 for the first time for study 2. Both sets of data were collected from July to October 2022. In addition, the online survey data of the general population during the COVID-19 pandemic that was collected for the other study was used for the control group of study 3.

For study 1, 2571 of the 6010 who participated in the survey last year were analyzed. Psychiatric symptoms were significantly reduced compared to the previous year.

For study 2, 5344 of 7066 participants were analyzed. Psychiatric symptoms were significantly less severe in participants who were infected after February 2022 than in those who were infected before February 2022.

For study 3, 4856 people who were infected with COVID-19 and 26828 people who were not infected with COVID-19 were analyzed. The risk of having psychiatric symptoms was significantly lower in those with COVID-19 than in those without COVID-19.

In addition, the cross-sectional studies showed that the severity of psychiatric symptoms persisted or worsened with time after infection and that negative attitudes toward COVID-19 infection, such as self-blaming for or helplessness toward COVID-19 infection, were associated with the risk of having psychiatric symptoms.

4 - 4 神経発達症の多様性の基盤となる病態解明と個別性に応じた治療法の開発と普及

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 知的・発達障害研究部
岡田 俊

総括研究報告

1. 研究目的

神経発達症は、発達初期から認められ、認知や行動面の偏倚により日常生活・社会生活・学業・職業における機能障害を引き起こされる障害であり、注意欠如・多動症(ADHD)、自閉スペクトラム症(ASD)、限局性学習症、運動症、知的能力障害などが含まれる。

しかし、同一の診断を受けていても当事者によって特性のパターンは多様であるほか、複数の神経発達症診断を持つ者も多く、特に診断閾値下の特性を含めれば、さらに併存率は高い。また、神経発達症の存在は、養育困難に伴う被虐待のリスク、また学校におけるいじめ被害に遭うこともしばしばである。このような発達過程における体験が、精神障害の二次的発症につながり、さらに神経発達症に伴う日常生活の困難を重篤化させる。他方では、神経発達症と精神疾患の病態上の共通性も指摘されており、一次性的併存障害も認められる。

神経発達症の病態の多様性を明らかにするためには、視線や表情といった社会認知、実行機能、報酬系、時間知覚といった従来から関与の指摘される認知機能に加え、精神疾患の交絡を考慮して、臨床表現型との関係を明らかにすることが大切になる。また、本課題では脳構造、脳機能画像を合わせてデータ取得し、神経基盤との関連を明確化する。

もう一点は、その病態の多様性に応じた介入方法の開発である。我々は、行動上の課題のある児

童とその養育者を対象にペアレントトレーニングを実施し、その効果と効果に関連した神経基盤を同定するランダム化比較試験を継続するとともに、その実装普及を図る研究を継続している。また、2 - 7歳の行動上の問題を抱える児童と養育困難を感じる養育者を対象に親子間相互交流療法(PCIT)の実践を提供している。これらの心理社会的治療の適応は経験的に選択されているが、その治療効果を最大化するための治療適応は必ずしも明確ではない。本研究課題では、最終的に病態に応じた介入手法の提案までを目標としていく。

2. 研究組織

主任研究者

岡田 俊 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

分担研究者

魚野翔太 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

石井礼花 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

3. 研究成果

1) 認知機能検査

ASDをはじめとする神経発達症では、心の理論や表情認識などの障害が認められる。心の理論や表情認識の発達は他者と対象への注意を共有する共同注意が成立することが前提となる。本研究では、より原初的な形態である他者の視線方向への反射的注意シフトを用いた。また、実行機能課題で

は、笑顔を報酬として提示し、その報酬の提示頻度を変えて、実行課題成績にどのような際が生まれるかを検討した。また、時間知覚課題では、時間長弁別、時間長再生、タイミングなど、多様な時間知覚を測定した。臨床評価では、対人反応性、感覚プロフィール、ADHD 症状、抑うつ、不安などを評価した。

現時点では 338 名 (ADHD65 名 (小児 7 名)、ASD58 名 (小児 13 名)、ASD・ADHD 併存 82 名 (小児 18 名)、定型発達群 133 名 (小児 53 名)) の検査を終了しているほか、国立国際医療研究センター国府台病院との連携で小児例を蓄積するなど、順調なサンプリングが進んでいる。

本年度は数の集積が得られた成人期 ADHD について検討を行った。成人 ADHD 群では定型発達者 (TD) と比べて、視線手がかり効果が小さいが、不注意症状が強い人ほど視線手がかり効果が大きいこと、実行機能と報酬系機能の組み合わせ課題では、定型発達では、報酬なし条件よりも確実条件の抑制精度が高く、笑顔フィードバックによる抑制精度の向上が確認された。一方で、ADHD 群では、報酬条件による差がなく、笑顔フィードバックによる影響は確認できなかった。時間知覚課題では、時間長再現課題の平均時間長は、併存群の時間長再現時間平均値が定型群に比べて短かった。また、ADHD 群、併存群の両方で定型群よりも再現時間長のばらつきが大きかった。時間長弁別課題の弁別率、音刺激のないタッピング課題のボタン押し間隔平均値、ボタン押し間隔標準偏差に群間差はなかった。ADHD 群と併存群には時間知覚の困難さがあることが示された。両群は定型発達群よりも再現時間長のばらつきが大きかったが、併存群のみで再現時間平均値が短かったことは併存群の基準時間認知の困難さを示唆している。来年度は児童の数を増やし、ライフステージにおける差異を検討する予定である。また、MRI (3T) を用いて、脳構造指標 (灰白質・白質体積、白質繊維走行、定量的磁化率、ミエリン化、neuromelanin-related contrast)、安静時脳賦活の計測を進め、本年度は 24 名のデータを取得した。定型発達群と各疾患群およ

び疾患群同士の比較に加えて、認知行動特性との関連を調べていく予定である。

ペアレントトレーニングについては、8~12 歳の発達障害児と親 60 組、通常診療のみを受ける群をコントロール群とするランダム化比較試験を計画しているが、2023 年 5 月までに RCT に登録完了は計 57 組のリクルートを終えており、介入前後と 3 ヶ月後に、児に対し CAI の面接を行い愛着評価、3 テスラ MR 装置を用いて MRI 検査。親のストレス指標、児の行動・情動制御指標、臨床症状も評価できている。加えて、実装の阻害促進要因の特定に関する臨床現場に実装する際の様々なレベルでの阻害・促進要因を評価する研究では、医療機関の小児科、精神神経科のスタッフおよび管理者、計 28 名のインタビューを終えており、今後の検証が待たれる。

4. 研究成果刊行一覧

- 1) 魚野翔太・江頭優佳・林小百合・高田美希・請園正敏・岡田俊 (2022). 注意欠如・多動症における視線方向への注意シフトの障害. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.
- 2) 林小百合・江頭優佳・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊 (2022). 笑顔のフィードバックは注意欠如・多動症の実行機能を改善するか? 成人期 ADHD を対象とした検討. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.
- 3) 江頭優佳・林小百合・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊 (2022). ADHD・ASD 併存群の時間知覚機能不全に関する検討. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.
- 4) Uono, S., Sato, W., Kochiyama, T., Yoshimura, S., Sawada, R., Kubota, Y., Sakihama, M., & Toichi, M. (2022). The structural neural correlates of atypical facial expression recognition in autism spectrum disorder. *Brain Imaging and Behavior*, 16, 3, 1428-1440.

- 5) Ishii-Takahashi A, Kawakubo Y, Hamada J, Nakajima N, Kawahara T, Hirose A, Yamaguchi R, Kuwabara H, Okada T, Kano Y: Changes in child behavioral problems and maternal attachment towards children with attention-deficit/hyperactivity disorder following behavioral parent training: A pilot study" *Psychiatry and Clinical Neurosciences*. In press
- 6) Suzuki A, Yamaguchi R, Kim L, Kawahara T, Ishii-Takahashi A. Effectiveness of mock scanners and preparation programs for successful magnetic resonance imaging: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Radiol*. 53(1):142-158, 2023
- 7) Yamaguchi R, Kawahara T, Kano Y, Ishii-Takahashi A. The Effectiveness of Exercise Programs Accessible from Home on Children and Adolescent's Emotional Well-being: Systematic Review & Meta-analysis. *PCN Reports*. In press

神経発達症の認知行動特性と併存精神症状に関連する神経生物学的基盤の解明

分担研究者 岡田 俊

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

緒言

神経発達症は、発達初期から認められ、認知や行動面の偏倚により日常生活・社会生活・学業・職業における機能障害が引き起こされる障害であり、注意欠如・多動症(ADHD)、自閉スペクトラム症(ASD)、限局性学習症、運動症、知的能力障害などが含まれる。これらの背景には、神経心理学的機能の障害があることが報告されている。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、限局性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。

加えて、精神障害を併存することが多いが、この背景には、共通する生物学的基盤によると推定される一次性の併存症と、神経発達症を有することによって生じる様々な心理的課題に伴って生じる二次性の併存症が考えられるが、その関係は必ずしも明確でない。加えて、これらの併存精神症状が、神経発達症特性を修飾することから、臨床表現型と神経心理学的基盤の関係を明らかにするためには、精神症状を共変量とした検討が求められる。

そこで、本研究は、ADHD、ASD、もしくは両方の診断をもつ児童・成人の認知行動特性と精神症状との関係を明らかにし、それぞれの群の認知行動特性をもたらす神経心理学的背景と二次障害リス

クとなる認知行動特性を明らかにすることを目的とする。

方法

1) 社会認知機能

ASDをはじめとする神経発達症では、心の理論や表情認識などの障害が認められる。心の理論や表情認識の発達は他者と対象への注意を共有する共同注意が成立することが前提となる。本研究では、より原初的な形態である他者の視線方向への反射的注意シフトを用いる。ターゲットの位置を予測しない視線手掛かりが呈示され、ターゲットが視線と同方向もしくは反対方向に呈示された。参加者はできるだけ早く検出することを求められ、視線による反射的注意シフトの大きさは2条件の反応時間差で評価する。

2) 実行機能

ADHDをはじめとする神経発達症では、実行機能の障害が認められる。報酬をフィードバックすることは、ADHD児の実行機能を向上させ、笑顔などの社会的報酬が効果的であるとされている。しかし、現実場面ではフィードバックの不確実性が常に伴う。本研究では、行動抑制課題を用いて、笑顔によるフィードバックがADHDのある成人の実行機能を向上させるか、フィードバックの不確実性がどのような影響を与えるか検討した。行動抑制課題は、3つの報酬条件(報酬なし/確実/不確実)下で参加者がgo cueとno-go cueに応じてそれぞれ反応を実行、抑制するものであった。

時間知覚 ADHDは時間知覚機能不全を有し、時間長の再現精度や弁別閾値の低さを示す。ADHDとの併存が多い自閉スペクトラム症(ASD)においても時間知覚機能不全が検討されているが、ADHDとは異なる不全を有する場合があります。ADHDとASDを併存する場合の時間知覚機能不全については不明点が多い。本研究では、認知神経基盤が異なる複数の時間知覚課題

を同一参加者に実施して検討した。時間長再現課題では、視覚的に提示される先行刺激の提示時間を記憶した後、ボタン押しの持続により先行刺激の時間長を再現した。時間長弁別課題では2回の基準音と1回の刺激音の3音の中の刺激音の提示位置を答えることで時間長を弁別した。タッピング課題では一定の刺激間隔で提示される音刺激に同期したボタン押しを15秒行った後、音刺激なしで同じペースのボタン押しを15秒間行った。

結果

現在338名（ADHD65名（小児7名）、ASD58名（小児13名）、ASD・ADHD併存82名（小児18名）、定型発達群133名（小児53名））の検査を終了している。国立国際医療研究センター国府台病院との連携で小児例を蓄積し、前方視的なフォローにつなげている。

本年度は数の集積が得られた成人期ADHDについて検討を行った。成人ADHD群では定型発達者（TD）と比べて、視線手がかり効果が小さいが、不注意症状が強い人ほど視線手がかり効果が大きかった。ADHDには視線方向の自動的な処理の困難さがあるが、不注意の症状が視線手がかりへの注意の維持やターゲット検出に影響した可能性が考えられる。

実行機能と報酬系機能の組み合わせ課題では、TD群では、報酬なし条件よりも確実条件の抑制精度が高く、笑顔フィードバックによる抑制精度の向上が確認された。一方で、ADHD群では、報酬条件による差がなく、笑顔フィードバックによる影響は確認できなかった。また、各報酬条件での群間差を検討したところ、ADHD群ではTD群と比較して、正答に必ず笑顔フィードバックがある確実条件で、抑制精度が低かった。成人期のADHDでは、フィードバックの不確実さがないときでさえ、笑顔フィードバックによる行動抑制の改善効果が観測されなかった。

時間知覚課題では、時間長再現課題の平均時間長は、併存群の時間長再現時間平均値が定型群に比べて短かった。また、ADHD群、併存群の両方で定型群よりも再現時間長のばらつきが大きかった。時間長弁別

課題の弁別率、音刺激のないタッピング課題のボタン押し間隔平均値、ボタン押し間隔標準偏差に群間差はなかった。ADHD群と併存群には時間知覚の困難さがあることが示された。両群は定型発達群よりも再現時間長のばらつきが大きかったが、併存群のみで再現時間平均値が短かったことは併存群の基準時間認知の困難さを示唆している。

考察

本研究では、従前の研究に比べて多数例において精神症状、発達障害特性の両面からの評価データの筑西を伴うデータ集積が得られている。しかし、現時点では、なお、年齢層のばらつきがあるほか、対象群とのマッチングに困難があり、さらなるデータ集積が求められる。

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、さらに二次障害リスクとの関連を明確することを可能にし、今後の個別化治療に道を開くものと考えられる。

〔参考文献〕

- 8) 魚野翔太・江頭優佳・林小百合・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). 注意欠如・多動症における視線方向への注意シフトの障害. 日本児童青年精神医学会第63回総会. 松本. 11月10-12日.
- 9) 林小百合・江頭優佳・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). 笑顔のフィードバックは注意欠如・多動症の実行機能を改善するか? 成人期ADHDを対象とした検討. 日本児童青年精神医学会第63回総会. 松本. 11月10-12日.
- 10) 江頭優佳・林小百合・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). ADHD・ASD併存群の時間知覚機能不全に関する検討. 日本児童青年精神医学会第63回総会. 松本. 11月10-12日.

認知神経科学に基づく神経発達症の神経生物学的基盤の解明

分担研究者 魚野翔太

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

緒言

神経発達症は、発達初期から存在する脳機能の偏りによって日常生活・社会生活・学業・職業における機能障害が引き起こされる障害であり、注意欠如・多動症(ADHD)や自閉スペクトラム症(ASD)が含まれる。神経発達症は、個々の障害内での多様性に加え、知的能力障害の有無、複数の神経発達症の併存などの多様性をもつ。また、社会認知、実行機能、報酬系、時間知覚など、多様な神経心理学機能の障害が指摘されているが、多くの研究では神経発達症群をひとまとめにしており、多様な臨床特性は考慮されていない。本研究課題では、ASDとADHDの臨床特性の背景となる神経心理学的機能とその神経学的基盤を明らかにすることを目的とする。

方法

ASD、ADHD、および両方を持つ成人と知能・年齢・性別をマッチした定型発達者、各群50名を目標にデータ取得を行う。取得する指標は以下の認知行動特性と脳画像である。

1) 認知行動特性

実行機能・報酬系機能：Go/NoGo課題を用いて抑制機能を測定し、笑顔などのフィードバックによる抑制機能の向上を測定する。

時間認知機能：視覚及び聴覚的刺激の時間長の弁別、評価、再現を行う能力を測定する。

社会認知機能：視線方向への反射的な注意シフト、表情認知能力を測定する。

2) 脳画像

MRI(3T)を用いて、脳構造指標(灰白質・白質体積、白質繊維走行、定量的磁化率、ミエリン化、neuromelanin-related contrast)、安静時脳賦活を計測する。定型発達群と各疾患群および疾患群同士の比較に加えて、認知行動特性との関連を調べる。

結果

1) 認知行動特性

国立国際医療研究センター国府台病院との協力のもと、2022年度末までに定型発達群と臨床群合わせて321名からデータを取得した。十分なサンプルサイズに達したADHDのある成人では、定型発達者と比較して、抑制機能の低下および笑顔フィードバックによる抑制機能向上の効果がみられず¹⁾、時間長再現課題のパフォーマンスのばらつきが大きく²⁾、視線方向の注意への影響が小さいことが示された³⁾。

2) 脳画像

国立精神神経医療研究センターの脳病態統合イメージングセンター(IBIC)との協力のもと、認知行動特性のデータを取得した参加者の中で体動や精神症状によってMRI撮像に支障がない参加者から順に撮像を行っている。現在臨床群24名のデータを取得し、予備的な解析を行っているところである。

考察と結論

認知行動特性を調べた心理実験の結果から、成人ADHD群ではADHDに特徴的な実行機能・報酬系機能、時間知覚機能の障害に加えて社会認知機能の障害があることが示唆された。用いた課題では、成人においてこれまでの知見とおおむね一致した結果が得られており、神経発達症の神経心理学的機能を評価する課題としての妥当性が確認された。

脳画像については現時点で解析中であるが、先行研究を総合すると、ASD群では側頭皮質と扁桃体などの皮質下領域の灰白質体積の低下および前頭皮質の灰白質体積の増加が認められ、それらの発達パターンにも違いがみられる。ADHD群では、前頭前野の発達

遅延や小脳体積の低下がみられる。本研究では精神病理学的症状の影響を統制し、灰白質・白質体積の他に複数の指標を用いて臨床症状との関係を検討することで頑健な知見を得る。また、実行機能・報酬系機能（前頭前野、側坐核）、時間知覚（前頭前野、補足運動野、大脳基底核、小脳）、社会認知機能（下前頭回、上側頭溝、扁桃体）⁴⁾、に関わる脳部位との関連が定型発達群および他の臨床群とで異なるか検討する。この結果からは、各臨床群で核となる神経心理学的機能が確認でき、どのような機能が補償的に働いているかについての示唆も得られると考えられる。今後は、児童の臨床群でのサンプリングを行う環境を整えるため、国府台病院との連携で進めている認知行動特性のデータ取得を加速する。

参考文献

1) 林小百合・江頭優佳・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). 笑顔のフィードバックは注意欠如・多動症の実行機能を改善するか? 成人期 ADHD を対象とした検討. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.

2) 江頭優佳・林小百合・魚野翔太・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). ADHD・ASD 併存群の時間知覚機能不全に関する検討. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.

3) 魚野翔太・江頭優佳・林小百合・高田美希・請園正敏・岡田俊(2022). 注意欠如・多動症における視線方向への注意シフトの障害. 日本児童青年精神医学会第 63 回総会. 松本. 11 月 10-12 日.

4) Uono, S., Sato, W., Kochiyama, T., Yoshimura, S., Sawada, R., Kubota, Y., Sakihama, M., & Toichi, M. (2022). The structural neural correlates of atypical facial expression recognition in autism spectrum disorder. *Brain Imaging and Behavior*, 16, 3, 1428-1440.

神経発達症に対するペアレントトレーニングの普及・実装と有用性の検討

分担研究者 石井礼花

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

緒言

注意欠如・多動症のペアレントトレーニング（親を対象にした心理教育と行動療法を主体としたトレーニング）（Behavioral parent training: BPT）については、児童の問題行動、親の育児ストレスを改善させることが、弱いエフェクトサイズながらもコクランレビューをはじめとして報告され、欧米でのほとんどの治療ガイドラインで推奨されている。本邦においても、海外のプログラムを導入することでエビデンスが蓄積されているが、精研方式、奈良方式、肥前方式などがあり、標準化がなされていなかった。厚生労働科学研究において、これらの共通する必須項目（コアエレメント）が抽出されており、その方式に基づく普及・拡大が求められている。しかしながら、診療報酬上の算定がなく、また人員的にも実施可能な施設に限られることから、普及が十分でないという実態がある。そのため、我が国で、客観的指標も含めたエビデンスの構築のためのランダム化比較試験、および、医療機関における実装の阻害促進要因を調べる。

方法

本研究では、BPTの評価法開発とその評価者養成を行う為、以下の研究を行った。

1) 発達障害児を持つ母への BPT ランダム化比較試験

対象と目標症例数は 8~12 歳の発達障害児と親 60 組。通常診療のみを受ける群をコントロール群(CL 群)としたランダム化比較試験(RCT)。介

入群は、6 組程度の発達障害児と親で 1 グループとし、計 30 組 10 週間の BPT に参加。CL 群は、PT に参加せず、通常診療のみを受ける発達障害児とし、介入群と同数を対象とする。介入前後と 3 ヶ月後に、児に対し CAI の面接を行い愛着評価、3 テスラ MR 装置を用いて MRI 検査。親のストレス指標、児の行動・情動制御指標、臨床症状も評価する。

2) 愛着に関連した MRI 信号

東京大学にある 3 テスラ MR 装置を用いてムービー鑑賞時の脳活動及び脳構造の撮像を行い、親子の脳活動の同期の程度の評価、CAI による愛着の質と社会的サポートの量に関連する MRI 信号を検出する。

3) BPT 実装の阻害促進要因の特定に関する研究現場に実装する際の様々なレベルでの阻害・促進要因を、実装研究のための統合フレームワーク(Consolidated Framework for Implementation Research: CFIR)として評価する。

4) 実施者養成研修

オンラインでの実施者養成研修を確立、施行する。

結果

1) 発達障害児を持つ母への BPT ランダム化比較試験

2023 年 5 月までに RCT に登録完了は計 57 名である。ターゲットサンプルサイズは 60 組であり、さらにリクルートを進める必要性がある。RCT のデザイン決定とサンプルサイズの計算のために行った pilot 研究では、BPT 前後の親の子供への愛着と子供の問題行動の変化が相関することを示した(Ishii-Takahashi 2023)。

2) 愛着に関連した MRI 信号

MRI 撮像を ADHD 母子 57 組、定型発達母子 30 組に対して行なった。線形回帰分析にて、父および母への愛着ネガティブ情動の有意な負の関係性が示された。また、児の脳部位体積に有意な負の関係性が認められた。さらに、児の脳部位体積からネガティブ情動の有意な正の関係性が示された。

3) 実装の阻害促進要因の特定に関する研究

医療機関の小児科、精神神経科のスタッフおよび管理者、計 28 名のインタビューを終えた。

4) 実施者養成研修

石井は岡田とともに令和 4 年度に 2 回（60 名）指導者養成研修を行った。今後も同様の研修を実施していく方針が決定している。

考察

BPT の効果についてはパイロット研究で、児の問題行動（親評価）と親の児への愛着の改善を認め、さらにそれが相関することを示し、今まで指摘されていながらもエビデンスとして示されていなかった、親から児への愛着の変化が、児の問題行動についての親の認識の変化をもたらすことを示したのは新しい知見であった。

結論

本研究の成果により、バイアスの少ない効果評価法の開発に繋がり、育児への社会サポートの向上、実装の阻害促進要因を明らかにすることにより BPT 実施の質と量の向上により、最も有病率の高い精神疾患である ADHD の予後改善による医療経済的な寄与が期待される。

参考文献

〔論文〕

1. Ishii-Takahashi A, Kawakubo Y, Hamada J, Nakajima N, Kawahara T, Hirose A, Yamaguchi R, Kuwabara H, Okada T, Kano Y: Changes in child

behavioral problems and maternal attachment towards children with attention-deficit/hyperactivity disorder following behavioral parent training: A pilot study" Psychiatry and Clinical Neurosciences. In press

2. Suzuki A, Yamaguchi R, Kim L, Kawahara T, Ishii-Takahashi A. Effectiveness of mock scanners and preparation programs for successful magnetic resonance imaging: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Radiol.* 53(1):142-158, 2023

3. Yamaguchi R, Kawahara T, Kano Y, Ishii-Takahashi A. The Effectiveness of Exercise Programs Accessible from Home on Children and Adolescent's Emotional Well-being: Systematic Review & Meta-analysis. *PCN Reports.* In press

〔招待講演〕

1. 石井礼花：ADHD 児の親へのペアレントトレーニング—研究から実装まで。共催シンポジウム 1 小児期 ADHD の心理社会的治療 第 64 回日本小児神経学会学術集会，群馬，2022.6.3.

2. 石井礼花：注意欠如・多動症の児童の長期追跡 MRI 研究のシステマティックレビュー。委員会シンポジウム 4 精神医学の到達点と展望 第 118 回日本精神神経学会学術集会，福岡，2022.6.16.

3. 石井礼花：ADHD 児の親への行動療法的ペアレントトレーニング。シンポジウム 3 ADHD の心理社会的理解と治療の本質 日本 ADHD 学会 第 14 回総会，東京，2023.3.5

〔著書〕

1. 石井礼花：ペアレント・トレーニング。齊藤万比古，飯田順三 編：注意欠如・多動症—ADHD—の診断・治療ガイドライン第 5 版。じほう，東京，pp276-283, 2022.1

Elucidation of the pathophysiology underlying the diversity of neurodevelopmental disorders and development and dissemination of tailor-made interventions

Takashi Okada

Department of Developmental Disorders, National Institute of Mental Health, National Center of Neurology and Psychiatry

Neurodevelopmental disorders are diverse in phenotype and coexist with a variety of psychiatric disorders. In order to understand the pathogenesis of neurodevelopmental disorders, it is necessary to take into account a variety of confounding factors and examine the relationship between neuropsychological functions and brain functions/structures that underlie developmental characteristics. In addition, it is necessary to individualize therapeutic interventions according to these diverse factors.

In this research project, we aimed to clarify the relationship between the clinical phenotype and cognitive functions such as gaze and facial expression recognition, executive function, reward system, and time perception, as well as the confounding of psychiatric disorders. In addition, this project will also collect data on brain structure and brain function images to clarify the relationship with the neural basis. At present, 338 patients (205 with neurodevelopmental disorders and 133 with typical developmental disorders) have been examined. Collaboration with Kohnodai Hospital is also underway to accumulate cases of children. This year, we published a paper on the relationship between attentional localization of gaze direction and facial expression recognition in adults with ADHD.

In addition, we are continuing a randomized controlled trial of parent training to identify the neural bases associated with its efficacy and effectiveness, as well as continuing research to disseminate its implementation. At this time, 57 pairs of evaluations have been conducted and MRI images obtained before and after the intervention.

4-5 持続可能で先進的なてんかん医療と遠隔医療を用いた データベースの確立に関する研究

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
主任研究者名：中川栄二

1. 研究の目的、必要性及び期待される成果

てんかん診療全国拠点機関として、てんかん診療の遠隔診療を推進し、てんかん整備事業で確立した「てんかん診療ネットワーク（約 1,523 診療科登録）」を活用して、てんかん医療に関するビッグデータベースを NCNP 内に確立させ、てんかん診療の均てん化、てんかん発症の病態解明、疫学調査、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、睡眠センターと協力して、神経発達症および精神症状、睡眠障害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、全国規模でのてんかん診療ネットワークを構築する。

てんかん診療における遠隔診療の推進のため、大阪市立総合医療センターと NCNP が協力し 2020 年 3 月にてんかん personal health record (PHR) の nanacara を開発、リリースした。NCNP のてんかん支援拠点事業で確立した全国てんかん支援ネットワークをベースに、てんかん PHR デバイスを利用した遠隔診療推進を進展させ、てんかん診療に関するビッグデータベースを NCNP 内に確立させる。

てんかんと併存する精神症状、神経発達症、睡眠障害を様々な脳形態・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。

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；てんかん患者台帳作成支援のため月次で実施しているてんかんの外来・入院患者のデータ抽出について、患者の抽出条件を継続的に見直している。データ管理の効率化とデータ安全性の向上を目的に、データベースサーバーを導入

し、データの蓄積を継続的に実施している。JASPEHR プロジェクトでは、各 NC 病院の電子カルテデータを SS-MIX2 標準ストレージを経由してデータセンターに集積し、これまで患者数として合計 60 万件に達する大規模なデータベース（6NC 電子カルテ統合データベース 6NC-EHRs）が構築されている。それに加え、レジストリ・臨床研究のデータ収集のための定型入力フォーム（テンプレート）を多施設の電子カルテシステムに効率よく展開するための基盤構築を進めている。電子カルテベンダと連携し、HL7-FHIR に準拠したテンプレート共通仕様の策定および、難病全ゲノムプロジェクトのテンプレートを題材として各社システムへの試験的な実装が進められている。

① 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；医療情報室からの抽出ファイルと医療連携室からの紹介患者リストをもとに、月単位でてんかんの入院患者と外来新患を抽出するフローに則り、データベースの構築を継続した。患者 ID に紐づいた病名をクエリで収集してデータベース化している。2017 年 6 月～2022 年 9 月の集計で、外来延べ患者数 5,470 名、入院延べ患者数 7,154 名のデータベースとなっている。脳神経外科手術データベースを構築し、手術情報と診断情報、合併症情報、患者転帰を収集し、2022 年 10 月 31 日時点で計 2,313 件のデータベースとなっている。外科治療を受ける難治てんかん患者を対象に、てんかんバイオバンクを構築し 2022 年 11 月 18 日現在、同意取得者 529 名で、脳試料 425 検体、血漿 386 検体、血清 221 検体が登録されている。てんかん原性腫瘍および皮質形成異常の遺伝子解析などに利活用されている。

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治療実態調査；レセプトデータを用いて、小児てんかん患者を定義する方法を確立し疫学を明らかにした。17 歳以下のてんかんの有病率は全体で 6.07（95%信頼区間 5.91 - 6.16）、男性 6.37（6.16 - 6.51）、女性 5.75（5.56 - 5.89）と統計学的に有意な差があり、3 歳ごとの年齢層では 12 歳以上で差が見られた。治療や検査の実態からは、低年齢発症のてんかん患者では、その他の年齢層の患者に比べ、多剤の抗てんかん薬を内服している患者が多く、内服抗てんかん薬に限らない治療が行われ、検査の頻度も高い。併存症は病名コードのみでの集計のため、診断の正確性に注意が必要だが、知的発達症 20.7%、自閉スペクトラム症 19.3%、脳性麻痺 12.6%などの割合が多かった。知的発達症、自閉スペクトラム症、注意欠如多動症、学習障害、脳損傷の割合は有意に男児に多く、脳形成異常、染色体異常の割合は有意に女児に多かった。

III. てんかん遠隔医療の構築と推進

① 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す。

② てんかん PHR を利用した遠隔診療の推進；2022年5月、6月にβ版を用いてオンライン診療を行い、てんかん専門医と患者家族にアンケートや聞き取り調査を行い、ニーズに合った開発をすすめた。ツールは、問診機能、てんかん患者の症状や処方履歴など様々な情報の提出機能、テレビ電話機能、オンライン決済、宛名印刷などの事務処理機能が可能である。このツールを用いた遠隔診療のモデル形成について検討を行った。診療のモデルとして大阪市立総合医療センターの医事課と実施のフローを検討し医事課負担を最小な形にした。県外の症例の場合、地域の医師との連携が重要であるため、地域の医師・病院・薬局との連携をおこなった。地域の医師・病院・薬局の認知度が極めて低いため、ポスターを作成して啓発に努めた。

IV. てんかんの適切な診断と治療戦略の研究

① てんかんの成立機序の解明と診断開発のための画像研究；小児交代制片麻痺は Na^+/K^+ -ATPase $\alpha 3$ subunit gene である *ATP1A3* 変異による生じる稀な神経発達障害をきたす疾患である。症状は運動や認知障害、てんかんなど多岐にわたる。希少疾患故に VBM (voxel-based morphometry) 解析を行った論文はごくわずかで、解析の結果も一定していない。今回我々は小児交代制片麻痺と正常対照者とで VBM 解析を行い、また臨床症状との相関も検討した。対象は、遺伝子学的に診断が確定され、かつ MRI の 3DTI 強調画像が撮像されている 30 歳以下の乳幼児の小児交代制片麻痺患者 9 人とコントロール 14 人を対象とした。MRI の 3DTI 強調画像を用いた VBM 解析にて、疾患群とコントロールで灰白質、白質の群間比較を行ったところ、疾患群では、海馬と小脳虫部、小脳半球内側に灰白質体積が優位に減少していた。また運動機能においては、小脳の灰白質と深部白質で負の相関が、認知機能では左の島皮質で負の相関が認められた。またてんかんの重症度と両側の海馬に負の相関を認めたが、小脳には相関を認めなかった。*ATP1A3* 変異は小脳皮質に最も強く表現されるといわれており、今回の解析はそれを反映していると思われる。MRI の VBM 解析は小児交代制片麻痺の臨床や病態の推測に有用な手段と思われる。

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

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；精神科てんかん初診患者 271 人のうち、抑うつスクリーニング and/or 不安スクリーニングでカットオフ以上は 136 人 (50%) に認めた。スクリーニング検査陽性で、実際に抑うつ and/or 不安症状を認めたのは 111 人 (41%) 精神科主診断はうつ病 39 人 (15%: 39/271) 不安障害 9 人 (3%: 8/271)、精神病 20 人 (7%: 20/271)、ASD (自閉症スペクトラム症) /ID (知的障害) 43 人 (16%: 43/271) (39%: 43/111) であった。うつ病患者のうち 15% は抑うつスクリーニングではカットオフ以下であった。抑うつ・不安を認めるてんかん患者の 39% (43/111) は ASD/ID を合併していた。臨床症状のある ASD/ID 患者の 37% (16/43) は不安のスクリーニング検査のみでカットオフ以上だった。39 人のうつ病患者は心理社会的要因が影響している患者が多い (77%: 30/39) 39 人のうつ病患者は病因分析によって Biological 群 (B 群) 18 人、Psychosocial 群 (P 群) 21 人に分類したところ、B 群は P 群よりも受診時年齢が高い傾向 ($0.05 < p < 0.10$) と P 群は B 群よりも PNES (心因性非てんかん発作) の合併が多い傾向 ($0.05 < p < 0.10$) を認めた。脳神経外科てんかん外来初診患者 181 人のうち抑うつスクリーニング and/or 不安スクリーニングでカットオフ以上だったのは 68 人 (38%) だった。脳神経外科患者はスクリーニング陽性が精神科患者に比べて有意に少なく ($P=0.008$)、脳外科患者でスクリーニング陽性のうち 16% は精神科に紹介となり、すべての患者で臨床症状を認めていた。

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 (HF0s)、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：8~15 歳の小児前頭葉てんかん (FLE) 4 症例と CSWS 2 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, ASSQ, ADHDRS) (2) 実行機能検査 (もぐら一ず, Stroop test)、(3) 学習検査 (K-ABC2 のことばの読み, 書き) (4) PSG 検査、⑤ PSG 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) について検討を行った。PSG 所見は、認知機能障害をともなうてんかん症例では、REM 睡眠時間の短縮、また高度の睡眠期脳波異常を伴う CSWS 症例では、Stage1-2 が低下し、Stage3-4 が増加していた。脳波解析では、実行機能障害や ADHD-RS で数値の高い例において覚醒時の θ/β 比の増加、stage2 での前頭葉優位の slow spindle のパワー値の増加を認めた。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、spindle の割合が少なく、前頭部優位の spindle を認めなかった。これまでの ADHD 児の報告で、覚醒時の θ/β 比の増加、前頭部優位の slow spindle の増加が知られて

おり、FLEにおいて、ADHD-RSスコアの高い例や実行機能障害例に θ 波の増加、前頭部優位のslow spindleの増加を認めたことから、前頭葉の機能障害を反映している可能性がある。CSWSや全般焦点合併てんかんでは、前頭部優位のslow spindleが認められなかったことから、前頭-視床のループ回路の異常が、認知機能障害を起こしている可能性が考えられた。

⑥成人てんかん患者の睡眠指標と心理社会的機能および生活機能との関連：当センターにおける成人てんかん患者のうち、どの程度の人数にPSGが実施されているかを調査し、研究の実行可能性について検証した。文献レビューの結果、成人てんかん患者を対象に、けいれん発作および心因性非てんかん性発作と客観的睡眠アウトカムとの関係を調べた研究、日中の眠気と客観的睡眠アウトカムとの関係を調べた研究はすでに多数報告されていることが判明した。また、当センターにおける成人てんかん患者のうちPSGを実施されたのは年間10数例であることが判明した。またそのうち、約65%は睡眠呼吸障害が疑われ、PSGを実施していた。

V. てんかん基礎研究

① 難治性てんかんの遺伝学的解析；45家系52例のジュベール症候群関連疾患（JSRD）患者の臨床遺伝学的解析の結果、13例にてんかん併発があった（25%）。これまで報告されていた割合より高く、本邦の患者ではてんかん併発例が多いことがわかった。このうち5例はCEP290遺伝子異常であり、これまでほとんど報告がない。また、新規候補原因遺伝子として11個の遺伝子が見つかった。このうち、6遺伝子がてんかん併発であった。11個の新規候補原因遺伝子（variants of unknown significance; VUS）について、病因性探究のための分子生物学的研究をおこなった。6遺伝子についてはin vitroでの細胞内局在を解明し、8遺伝子についてはin vivoで異常な表現型を確認した。

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

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；発作原性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、*Aldh111-creERT2::GCaMP6f* マウスを用いて、in vivo 脳波同時測定下全脳 Ca^{2+} imaging を施行した。その結果、1) ピロカルピンにより誘導したけいれん重積(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、2) SE 誘導 28 日後(てんかん原生獲得期)にも、同様の超広域 Ca^{2+} シグナルが惹起される、3) 超広域 Ca^{2+} シグナルは、脳波のてんかん性活動(棘波・多棘波など)に平均 900msec 先行して観察されることを見出した。また、アストロサイト Gap junction 機能異常が Ca^{2+} シグナルの超広域化を介して発作・てんかん原性獲得に果たす役割を解明するため、コネキシン(Gap junction 構成タンパクの一種)阻害薬の抗てんかん原性作用について、予備的検討を行った。その結果、SE 誘発後にコネキシン

ン阻害薬（INI-0602）を 20mg/kg/日・隔日投与することで、その後のアストログリオーシス（GFAP 陽性細胞の形態変化）およびけいれん閾値低下が抑制されることを見出した。

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2022年8月7日と12月11日に主催した。NCNP 総合てんかんセンター市民公開講座を2022年6月26日と12月17日に開催した。

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1,523医療診療科の登録を行った。今後、てんかん診療支援ネットワークを通じて、遠隔医療事業を進展させ、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。

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）

2022年度のまとめ

1. 主任研究者分 中川栄二

論文16編（英文論文6編、和文論文5編、書籍5編）、国内学会発表30回、国際学会発表4回、シンポジウム国内4回・国際1回、講演25回、受賞2回

2. 研究班全体合計

論文39編（英文論文28編、和文論文7編、書籍14編）、国内学会発表79回、国際学会6回

(1) 英文論文

1. Hashimoto K, Baba S, Nakagawa E, Noriko Sumitomo, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Saito T, Abe-Hatano C, Inoue K, Iida A, Sasaki M, Goto Y. Long-term changes in electroencephalogram findings in a girl with a nonsense SMC1A variant: A case report. *Brain Dev.* 2022 Sep;44(8):551-557. doi: 10.1016/j.braindev.2022.04.011.
2. Kato M, Kada A, Shiraishi H, Tohyama J, Nakagawa E, Takahashi Y, Akiyama T, Kakita A, Miyake N, Fujita A, Saito A, Inoue Y. Sirolimus for epileptic seizures associated with focal cortical dysplasia type II. *Annals of Clinical and Translational Neurology.* 2022 Feb;9(2):181-192. doi: 10.1002/acn3.51505. Epub 2022 Jan 18.
3. Kuroda N, ..., Nakagawa E, et al. Impact of COVID-19 pandemic on epilepsy care in Japan: A national-level multicenter retrospective cohort study. *Epilepsia Open.* 2022 May 28;7(3):431-41. doi: 10.1002/epi4.12616. Online ahead of print.
4. Kosugi K, Iijima K, Yokosako S, Takayama Y, Kimura Y, Kaneko Y, Sumitomo N, Saito T, Nakagawa E, Sato N, Iwasaki M. Low EEG Gamma Entropy and Glucose Hypometabolism After Corpus Callosotomy Predicts Seizure Outcome After Subsequent Surgery. *Front Neurol.* 2022 Mar 24;13:831126. doi: 10.3389/fneur.2022.831126. eCollection 2022.
5. Chiba E, Kimura Y, Shimizu-Motohashi Y, Miyagawa N, Ota M, Shigemoto Y, Ohnishi M, Nakaya M, Nakagawa E, Sasaki M, Sato N. Clinical and neuroimaging findings in patients with lissencephaly/subcortical band heterotopia spectrum: a magnetic resonance conventional and diffusion tensor study. *Neuroradiology.* 2022 Apr;64(4):825-836. doi: 10.1007/s00234-021-02836-2. Epub 2021 Oct 25.
6. Fujii H, Sato N, Kimura Y, Mizutani M, Kusama M, Sumitomo N, Chiba E, Shigemoto Y, Takao M, Takayama Y, Iwasaki M, Nakagawa E, Mori H. MR Imaging Detection of CNS Lesions in Tuberous Sclerosis Complex: The Usefulness of T1WI with Chemical Shift Selective Images. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2022 Jul 14;43(8):1202-1209. doi: 10.3174/ajnr.A7573. Online ahead of print.
7. Kaga Y, Ohyama T, Goto Y, Aoyagi K, Ishii S, Inukai T, Aihara M. Impairment of autonomic emotional response for executive function in children with ADHD: A multi-modal fNIRS and pupillometric study during the Wisconsin Card Sorting Test. *Brain Dev.* 2022;44:438-445. doi: 10.1016/j.braindev.
8. Dai H, Kitami Y, Goto Y, Itoh M. 5-HT_{1A} Receptor Agonist Treatment Partially Ameliorates Rett Syndrome Phenotypes in *mecp2*-Null Mice by Rescuing Impairment

- of Neuron Transmission and the CREB/BDNF Signaling Pathway. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 14025. doi.org/10.3390/ijms232214025.
9. Takahashi S, Takeguchi R, Tanaka R, Fukuoka M, Koike T, Otani H, Inoue K, Fukuda M, Kurahashi H, Nakamura K, Tominaga K, Matsubayashi T, Itoh M, Tanaka T. CDKL5 deficiency causes epileptic seizures independent of cellular mosaicism. *J Neurol Sci* 2022; 443: 120498. doi.org/10.1016/j.jns.2022.120498.
 10. Uda D, Kondo H, Tanda K, Kizaki Z, Nishida M, Dai H, Itoh M. Two siblings showing a mild phenotype of Joubert syndrome with a specific CEP290 variant. *Neuropediatrics* 2022. doi: 10.1055/a-1865-6890.
 11. Matoba K, Chihara N, Satake W, Tokuoka H, Otsuka Y, Ueda T, Sekiguchi K, Itoh M, Matsumoto R. Long-surviving adult siblings with Joubert syndrome harboring a novel compound heterozygous CPLANE1 mutation. *Neurol Genet* 2022; 8: e200031. doi.10.1212/NXG.000000000200031.
 12. Matsui K, Sato N, Idei M, Arakida M, Seino Y, Ishikawa JY, Nakagawa M, Akaho R, Nishimura K, Nomura T. An Automated Algorithm for Determining Sleep Using Single-Channel Electroencephalography to Detect Delirium: A Prospective Observational Study in Intensive Care Units. *Healthcare (Basel)*. 2022 Sep 15;10(9):1776. doi: 10.3390/healthcare10091776.
 13. Hazumi M, Matsui K, Tsuru A, Otsuki R, Nagao K, Ayabe N, Utsumi T, Fukumizu M, Kawamura A, Izuhara M, Yoshiike T, Kuriyama K. Relationship between COVID-19-specific occupational stressors and mental distress in frontline and non-frontline staff. *Heliyon*. 2022 Aug;8(8):e10310. doi: 10.1016/j.heliyon.2022.e10310.
 14. Tsuru A, Matsui K, Kimura A, Yoshiike T, Otsuki R, Nagao K, Hazumi M, Utsumi T, Fukumizu M, Mukai Y, Takahashi Y, Sakamoto T, Kuriyama K. Sleep disturbance and health-related quality of life in Parkinson's disease: A clear correlation between health-related quality of life and subjective sleep quality. *Parkinsonism Relat Disord*. 2022 May;98:86-91. doi: 10.1016/j.parkreldis.2022.04.014.
 15. Otsuki R, Matsui K, Yoshiike T, Nagao K, Utsumi T, Tsuru A, Ayabe N, Hazumi M, Fukumizu M, Kuriyama K. Decrease in Social Zeitgebers Is Associated With Worsened Delayed Sleep-Wake Phase Disorder: Findings During the Pandemic in Japan. *Front Psychiatry*. 2022 Jun 9;13:898600. doi: 10.3389/fpsy.2022.898600.
 16. Utsumi T, Yoshiike T, Kaneita Y, Aritake-Okada S, Matsui K, Nagao K, Saitoh K, Otsuki R, Shigeta M, Suzuki M, Kuriyama K. The association between subjective-objective discrepancies in sleep duration and mortality in older men. *Sci Rep*.

- 2022 Nov 4;12(1):18650. doi: 10.1038/s41598-022-22065-8. (査読有り)
17. Shinozaki Y, Leung A, Namekata K, Saitoh S, Nguyen HB, Takeda A, Danjo Y, Morizawa YM, Shigetomi E, Sano F, Yoshioka N, Takebayashi H, Ohno N, Segawa T, Miyake K, Kashiwagi K, Harada T, Ohnuma S, *Koizumi S. Astrocytic dysfunction induced by ABCA1 deficiency causes optic neuropathy. *Sci. Adv.* 2022 November;8(44):eabq1081. doi: 10.1126/sciadv.abq1081.
 18. Yagasaki H, Sano F, Narusawa H, Watanabe D, Kaga Y, Kobayashi K, Asano Y, Nagata M, Yonei A, Inukai T. Compound heterozygous variants of the NARS2 gene in siblings with developmental delay, epilepsy, and neonatal diabetes syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 2022 August;188(8):2466-2471. doi: 10.1002/ajmg.a.62873.
 19. Watanabe Y, Sano F, Fukao T, Shimizu T, Sawanobori E, Kobayashi A, Fujioka K, Yagasaki H, Inukai T, Kaga Y. Arterial spin labeling perfusion imaging in an infant with anti-N-methyl-D-aspartate receptor encephalitis: A case report. *Brain dev.* 2022 Jun; 44 (6): 405-409. doi: 10.1016/j.braindev.2022.03.001.
 20. Danjo Y, Shigetomi E, Hirayama YJ, Kobayashi K, Ishikawa T, Fukazawa Y, Shibata K, Takanashi K, Parajuli B, Shinozaki Y, Kim SK, Nabekura J and *Koizumi S. Transient astrocytic mGluR5 expression drives synaptic plasticity and subsequent chronic pain in mice. *J Exp Med*, 2022 April ;219 (4): e20210989. doi: 10.1084/jem.20210989.
 21. Mitsuyoshi Nakatani, Morito Inouchi, Masako Daifu-Kobayashi, Tomohiko Murai, Jumpei Togawa, Shunsuke Kajikawa, Katsuya Kobayashi, Takefumi Hitomi, Takeharu Kunieda, Satoka Hashimoto, Motoki Inaji, Hiroshi Shirozu, Kyoko Kanazawa, Masaki Iwasaki, Naotaka Usui, Yushi Inoue, Taketoshi Maehara, Akio Ikeda, Ictal direct current shifts contribute to defining the core ictal focus in epilepsy surgery、Brain Commun、2022 Sep、4(5):fcac222、10.1093/braincomms/fcac222. eCollection 2022.
 22. 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; 125 - 132
 23. Saito Y, Sugai K, Iwasaki M, Atobe M, Sato N, Kakita A, Saito Y, Ohtsuki T, Sasaki M. Periodic cycles of seizure clustering and suppression in children with epilepsy strongly suggest focal cortical dysplasia. *Dev Med Child Neurol*. 2022, Epub ahead of print10.1111/dmcn.15365.
 24. Takayama Y, Ikegaya N, Iijima K, Kimura Y, Kosugi K, Yokosako S, Kaneko Y, Yamamoto T, Iwasaki M. Is Hippocampal Resection Necessary for Low-Grade Epilepsy-Associated Tumors in the Temporal Lobe? *Brain Sciences*. 2022,

138110.3390/brainsci12101381

25. Takayama Y, Kimura Y, Iijima K, Yokosako S, Kosugi K, Yamamoto K, Shimizu-Motohashi Y, Kaneko Y, Yamamoto T, Iwasaki M. Volume-Based Radiofrequency Thermocoagulation for Pediatric Insulo-Opercular Epilepsy: A Feasibility Study. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*. 2022, 23; 241 - 249, 10.1227/ons.000000000000294.
26. Sano T, Kawazoe T, Shioya A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Maruo K, Nishino I, Hoshino M, Murayama S, Saito Y. Unique Lewy pathology in myonic dystrophy type 1. *Neuropathology*. 2022 ;42(2):104-116. doi: 10.1111/neup.12790.
27. Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol*. 2022 ;216:102288. doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102288.
28. Fujiyama T, Takenaka H, Asano F, Miyanishi K, Hotta-Hirashima N, Ishikawa Y, Kanno S, Seoane-Collazo P, Miwa H, Hoshino M, Yanagisawa M, Funato H. Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis *Front Behav Neurosci*. 2022 ;16:910461. doi: 10.3389/fnbeh.2022.910461.

(2) 和文論文

1. 中川 栄二. てんかんの移行期医療. 脳と発達. 2022 ; 54(3) : 2.
2. 中川 栄二. 天候とてんかん発作. ともしび. 2022 ; 6 : 14.
3. 中川 栄二. 小児てんかんに併存する障害. 小児科. 2022 ; 63(9) 1008-1016.
4. 中川 栄二. 学校等におけるてんかん発作時の口腔用液 (ブコラム) 投与について. ともしび. 2022 ; 10 : 14.
5. 中川 栄二. てんかん. 成人患者における小児期発症慢性疾患. 小児内科. 2022 ; 54(9) 1562-1567.
6. 佐野史和, 繁富英治, 小泉修一. てんかん病態とニューロングリア連関. 日本臨牀. 2022年12月; 80 (12): 1916-1920.
7. 長岡大樹, 谷口豪, 庄司瑛武, 岡村由美子, 山本有沙, 近藤伸介, 笠井清登. 心因性症状の存在を見出すことで QOL 改善に繋がった非けいれん性てんかん重積状態 (NCSE) の 1 例. 総合病院精神医学 34 : 175-184, 2022

(3) 書籍

1. 新分類・新薬でわかる小児けいれん・てんかん診療 V章 医療ケアのプランと実行
中川 栄二. 精神症状、発達障害の薬物療法 P. 348-357 中山書店（東京） 編集 浜野
晋一郎 2022年5月6日発行
2. 国立精神・神経医療研究センター 脳神経小児科診断・治療マニュアル 改定第4版
編著：佐々木 征行、中川 栄二、小牧 宏文. 2022年5月20日発行
3. 中川 栄二. 小児難治性てんかん治療の進歩 週刊医学のあゆみ 小児医療の最先端 第
282巻第5号 P. 463-470 企画：五十嵐 隆 医歯薬出版株式会社
2022年7月30日発行
4. 中川 栄二. 発達障害を伴う小児てんかん患者の治療の実際. ペランパネルによるてんか
ん治療のストラテジー第2版 P. 90-96 編集：高橋幸利 先端医学社
2022年9月30日発行
5. 中川 栄二. 小児期によくみられる精神疾患 てんかん 精神疾患診療. 日本医師会雑誌
第151巻特別号(2) S185-S187. 編集：尾崎紀夫、中込和幸、村井俊哉
2022年10月15日発行
6. 伊藤雅之. 有馬症候群（脳-眼-肝-腎症候群）. 腎臓症候群（第3版）. 東京，日本臨床
社. 258-263pp, 2022年10月.
7. 伊藤雅之. Rett症候群. 小児疾患診療のための病態生理3（改訂第6版）. 小児内科，東
京，東京医学社，2022年12月.
8. 伊藤雅之. 細胞のメカニズムと神経疾患. 我が国での神経系繊維毛症候群の現状（ジュベ
ール症候群）. CLINICAL NEUROSCIENCE. 東京，中外医学社，553-556pp, 2022年5月.
9. 加賀佳美，稲垣真澄. 知的発達症、自閉スペクトラム症 第7章 てんかんでみられる
精神症状と心理学的課題. てんかん専門医ガイドブック改訂第2版. 日本てんかん学会
編、診断と治療社 p342-344, 2020. 12. 25
10. 石井雅通、波多野賢二. FHIR を用いた診療テンプレート情報標準化への取り組み. 新
医療. 2022年6月.
11. 谷口豪、宮川希、加藤英生. 精神症状を伴うてんかん患者の治療の実際：ペランパネル
によるてんかん治療のストラテジー(第2版). 先端医学社，東京，pp119-123, 2022
12. Ikegaya N, Iwasaki M. Vascularization of the Insula: Key points for Safe
Epilepsy Surgery. In: Nguyen D, Isnard J, Kahane P (eds.), Insular Epilepsies.
Cambridge University Press 2022. pp. 26-30

(4) 受賞

1. 加藤英生、宮川 希、谷口 豪、中川栄二. 第55回日本てんかん学会
「多彩な発作症状とてんかん発作との鑑別が困難な焦点てんかんの1例」
「高橋剛夫賞（優秀演題賞）」受賞

2. 中川栄二 第76回国立病院総合医学会 2022年10月7日 熊本
『てんかん診療支援コーディネーター認定制度の進捗状況』「ベストポスター賞」受賞

7. 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

出 願 なし

分担研究

てんかん診療支援コーディネーター認定制度
の進捗状況

国立精神・神経医療研究センター病院 てん
かん診療部 中川栄二

(はじめに) てんかん診療の均てん化をはか
るために、厚労省のてんかん地域診療連携体
制整備事業が 2015 年からモデル事業として
開始された。3 年間のモデル事業を経て、2018
年から本事業となった。各都道府県で医療機
関 1 か所がてんかん地域診療拠点機関として
指定される事業である。2022 年度には 28 か
所のてんかん診療拠点が整備された。てんか
ん地域拠点病院として業務を円滑に遂行する
ため、てんかん診療支援コーディネーターの
詳細な定義、業務、研修方法、認定制度につ
いての構築を行った。

(目的と方法) てんかん地域診療連携体制整
備事業における、てんかん診療コーディネ
ーター業務の整備、研修方法、認定制度につ
いての進展状況について報告する。

(結果) てんかん診療支援コーディネーター
の要件は、てんかん診療に従事する者であ
って、精神障害者福祉に理解と熱意を有す
ること、てんかん患者及びその家族に対し
相談援助を適切に実施する能力を有するこ
と、医療・福祉に関する国家資格を有する
ことである。てんかん診療支援コーディネ
ーターは、関係機関(精神保健福祉セン
ター、管内の医療機関、保健所、公共職
業安定所等)との連携・調整を図ることを
業務として求められている。てんかん診
療支援コーディネーター認定のための条
件として、3 時間以上のてんかんに関
する下記の講義・研修を 3 年間に 6 回以
上受講することが認定条件となる。てんか
ん地域

診療連携体制整備事業が行う研修会(年 2
回開催)、全国てんかんセンター協議会
(JEPICA)での研修会、国内外てんかん
学会などである。てんかん診療支援コ
ーディネーター認定制度の普及により、
てんかん地域診療連携の促進と治療の
均てん化を目指す。

(2) 自閉スペクトラムを併存するてんか
んにおける新規抗てんかん薬の効果と影
響
国立精神・神経医療研究センター病院
てんかん診療部 中川栄二

(はじめに) 発達障害ではてんかんの併
存率が高く、てんかんに発達障害が併
存する場合の抗てんかん薬投与の選
択は、併存する精神・神経症状を考
慮した薬剤選択が必要である。ペ
ランパネル(PER)は、既存の薬剤とは
異なる新しい作用機序を有した薬剤
である。グルタミン酸によるシナプ
ス後 AMPA 受容体の活性化を選
択的に阻害して、神経の過興奮を
抑制する、非競合的 AMPA 受容
体拮抗薬である。抗てんかん作用に
加え、認知機能を高める報告があ
る。ラコサミド(LCM)は、電位依
存性 Na⁺の緩徐な不活性化を選
択的に促進することで、過興奮状
態にある神経細胞膜を安定化させ
る薬剤である。精神安定作用が期
待される新規抗てんかん薬である。

(目的) 自閉スペクトラム症(ASD)を
併存するてんかんに対する PER と
LCM の発作抑制効果と有害事象に
ついて検討した。当院倫理委員会の
同意を得た。

(対象と方法) 当院てんかん・発達障
害外来を受診したてんかん患者で
発達障害を併存し、PER、LCM を
投与している患者を対象にした
(2016 年 5 月～2022 年 3 月)。て
んかん発作消失とてんかん発作頻
度 50%以上減少を治療

効果ありと判断した。てんかん発作頻度 25%以下の発作減少は変化なしと評価した。

(結果) PER 使用てんかん症例総数は 106 例であった。発作抑制は 67%で効果を認めた。効果なしは 34%であった。ASD 併存てんかん患者における PER 使用症例数は 30 例であった。男女比 22 : 8、平均年齢は 18.6 歳 (5-35 歳)。罹病期間平均は 13.5 年 (1-35 年)、併用抗てんかん薬剤数の平均は 4.1 剤 (1-7 剤) であった。ASD 併存てんかんにおける発作完全抑制は 10%、50%以上発作抑制した割合は 57%で、67%に効果を認めた。効果なしは 30%であった。主な PER 中止理由は、易興奮性、傾眠であった。LCM 使用てんかん症例総数は 88 例で 59%に発作抑制効果を認めた。ASD 併存患者における LCM 使用症例数は 29 例であった。男女比 22 : 7、平均年齢は 19.2 歳 (6-39 歳)、罹病期間の平均 14.7 年 (2-35 年) であった。抗てんかん薬剤数の平均は 4.0 剤 (1-7 剤) であった。ASD 併存における LCM の治療効果は 58%であった。効果なしは 24%であった。主な副作用は浮動性めまい、傾眠であった。

(考察) 自閉スペクトラムにてんかんが併存する場合の抗てんかん薬投与の選択は、併存する精神・神経症状を考慮した薬剤選択が必要である。新規抗てんかん薬の PER は易刺激性や攻撃性の副作用が報告されているが、少量から開始し緩徐に増量することで有害事象を防ぐことが可能であった。LCM は、Na⁺チャンネル阻害作用薬であり気分調整作用として情緒を安定させる作用が期待できるが、有害事象として浮動性めまい、傾眠などがあるため省力から開始し緩徐に増量することで有害事象を予防することが可能であった。

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

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】

本研究では、当センターにおけるてんかんを対象とした臨床研究、共同研究および治験を促進することを目的に、患者データベースの構築を進めている。

以下、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の2点に分けて記載する。

1. 脳神経外科データベース： 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いる。また、外科的に切除される脳検体は研究用試料として非常に貴重である。これらを有効に利活用する仕組みが求められる。
2. てんかんセンターデータベース： 共同研究や治験を促進するためには、継続的に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。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。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どのように一定の質を担保しつつ入力を進めるかが課題である。

【方法】

1. 脳神経外科データベース
データベースソフトウェア (Microsoft Access®) を用い、手術情報と診断情報、合併症情報、患者転帰を別のテーブルとして登録し、リレーションを持たせた。要望

に応じて研究用にデータを提供できるクエリを作成した。患者基本情報、術前検査情報 (MRI、脳波など)、術後の発作転帰、病理所見、手術分類を加え、国際抗てんかん連盟 (ILAE) の 2017 年新てんかん分類(1) に基づいた診断項目を、術前サマリーから収集する体制を構築した。また、データビジュアライゼーションソフト (Tableau®) を活用して、手術件数の推移や転帰などの視覚化を試みた。

手術検体の利活用を促進するために、NCNP バイオバンクと連携し、同意取得できた外科治療患者を全例バイオバンクに登録する仕組みを運用した。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。2017 年新てんかん分類に基づいた診断情報を、診療支援システム上のテンプレートから収集できるようにした。

【結果】

1. 脳神経外科データベース
1999 年以降 2023 年 3 月 31 日までで臨床診断と術式を含む 2364 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を追加して前向きに登録を進めている。当センター内の共同研究者に共有することで、外科症例を対象にした臨床研究の発案・遂行に役立てた。NCNP バイオバンクとの連携体制を構築し、手術適応のある難治てんかん患者の登録を 2017 年 6 月に開始し、2022 年 11 月 18 日現在、同意取得者 529 名で、脳試料 425 検体、血漿 386 検体、血清 221 検体が登録されている。研究課題「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瘍および関連する皮質形成障害の診断に関する研究」「多機関共同研究によるマルチオミックス解析に基づく脳腫瘍の発生・進展の分子機構の解明」などにて利活用されている。

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年の新しいてんかん国際分類に準拠したデータベースへの新しい登録体制を2017年6月から開始した。2017年6月～2022年9月の集計で、外来延べ患者数 5470名、入院延べ患者数 7154名のデータベースとなっている。外来帳簿と共通して抽出される患者は50～72%である。電子カルテ上のテンプレートをを用いた収集した診断情報は、2022年9月現在 667件である。

【考察】

1. 脳神経外科データベース

2017年の国際抗てんかん連盟 (ILAE) による新しいてんかん国際分類に続いて、2022年にはてんかん症候群分類が発表された。近年は国際分類に準拠した学術発表が強く求められており、素早い対応が必要である。診断情報の収集はまだ十分ではなく、周知を拡げるなど工夫が必要である。バイオバンクとの連携により、外科検体を用いた共同研究への発展が期待される。難治てんかんに特化した脳試料のバンクは世界的にも貴重であり、今後も継続していく必要がある。利活用を促進するための、工夫を重ねていく。

2. てんかんセンターデータベース

現状では、診断情報が保険病名に限られている点が課題である。テンプレートを用意することで一部の患者については、質の高い診断情報を収集できているが、全体の10%程度にすぎない。より簡便に診断情報

を収集するための工夫が必要である。

【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る。

参考文献

1. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, et al: ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia* 58: 512-521, 2017
2. Wirrell E, Tinuper P, Perucca E, Moshe SL: Introduction to the epilepsy syndrome papers. *Epilepsia* 63: 1330-1332, 2022
3. Wirrell EC, Nabbout R, Scheffer IE, Alsaadi T, Bogacz A, et al: Methodology for classification and definition of epilepsy syndromes with list of syndromes: Report of the ILAE Task Force on Nosology and Definitions. *Epilepsia* 63: 1333-1348, 2022

3-6 レセプトデータを使用したてんかんの治療実態調査

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

齋藤 貴志

【緒言】 てんかんの診療を適切に行ない、必要な医療資源を把握するためには、てんかんの患者数を把握し、実際にどのような診療が行われているかを把握することが基礎的資料として必要である。これまで、本法では全国的なてんかんの疫学的調査が行われたことがなく、市町村¹または県単位²のもので、2000年代になってからはほとんど行われていない。レセプトデータを用いて、治療の実態を明らかにする。まず、レセプトデータを用いて、小児てんかん患者を定義する方法を確立し、疫学を明らかにする。その上で、てんかんの治療の実態、抗てんかん薬使用状況の時間的推移、合併症に対する治療の実態を明らかにする。

【方法】 JMDCより取得したレセプトデータベースの登録者のうち、2018年1月から12月のいずれかの期間に登録されて、2018年12月に18歳未満となる患者を母集団とした。レセプトデータベースの病名は、保険請求上の病名であるため、より実際のてんかん患者数に近い推計とするため、てんかん患者を以下の(1)を満たし、(2)または(3)に合致する場合と定義した。
(1)ICD-10により、レセプト上てんかん(G40)の病名が付与されていること。
(2)2018年にてんかん指導料、迷走神経刺

激装置管理料の請求、(3)2018年の前2年間、後1年を含む期間(2016年から2019年)のうち、4週間以上の抗てんかん薬の処方を受けた。てんかんの患者数を3年ごとの年齢層で算出し、これらの患者に行われた抗てんかん薬の数や、合併症の割合などをレセプトに記載された病名から算出した。

【結果】 17歳以下のてんかんの有病率は全体で6.07(95%信頼区間 5.91-6.16)、男性6.37(6.16-6.51)、女性5.75(5.56-5.89)と統計学的に有意な差があり、3歳ごとの年齢層では12歳以上で統計的に有意な男女差が見られた。治療や検査の実態からは、低年齢発症のてんかん患者では、その他の年齢層の患者に比べ、多剤の抗てんかん薬を内服している患者が多く、内服抗てんかん薬に限らない治療が行われ、検査の頻度も高いことが明らかになった。併存症はICD-10による病名コードのみでの集計のため、診断の正確性に注意が必要だが、知的発達症20.7%、自閉スペクトラム症19.3%、脳性麻痺12.6%などの割合が多かった。知的発達症、自閉スペクトラム症、注意欠如多動症、学習障害、脳損傷の割合は有意に男児に多く、脳形成異常、染色体異常の割合は有意に女児に多かった。

【考察】 今回の結果で得られた有病率は、これまでの報告に概ね合致するものであった³。てんかんの有病率は12歳以上で優位に男性に多かった。これまでにもてんかん患者が男性患者に多いという報告が散見され³、それを支持する結果となった。治療や検査の実態からは、低年齢発症のてんかん患者では、その他の年齢層の患者に比べ、多剤治療や抗てんかん薬以外の治療の割合が検査の頻度も高かったことは、低年齢時

のてんかんが重症あるいは難治であることを反映していると考えられ、他の年齢層よりも多くの医療資源を必要としていることが示された。知的発達症、自閉スペクトラム症の割合が高いことは、小児期のてんかん患者の支援には、このような併存症に対する対策も同時に必要なことを示している。またてんかんの有病率の男女差の一因として、併存症の男女差(自閉スペクトラム症が男児に多いこと)が一因となっている可能性がある。

【結論】 今回の結果は、これまでのてんかんの疫学的な報告と一致するものである。また、幼児は青年よりも多くの医療資源を受け、てんかんの手術は十分に活用されていないことが示唆された。今後、さらに調査を進めることで、てんかんの管理の改善や対策の開発に役立つと思われる。

【参考文献】

1. Okamoto K, Fukuda M, Saito I, Horiuchi I, Okazawa T, Ishii E. Incidence of childhood epilepsy: A population-based study in rural Japan. *Brain Dev.* 2018;40(10):904-908.
2. Oka E, Ohtsuka Y, Yoshinaga H, Murakami N, Kobayashi K, Ogino T. Prevalence of Childhood Epilepsy and Distribution of Epileptic Syndromes: A Population-based Survey in Okayama, Japan. *Epilepsia.* 2006;47(3):626-630.
3. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of

international studies. *Neurology.* 2017;88(3):296-303.

研究課題番号:4-5

研究課題：てんかんの成立機序の解明と診断開発のための画像研究

分担研究者所属：NCNP 病院 放射線診療部

分担研究者氏名：佐藤典子

緒言：MRI の 3 DTI 強調画像を用いた解析法に VBM (voxel-based morphometry) があり、灰白質や白質の volume の増減や、臨床指標との相関をボクセル単位で評価可能であるが、小児においては MRI の正常データベースを構築する困難さから、成人に比べて解析研究が進んでいない。我々は小児データベースを作成し、小児てんかん疾患の VBM 解析を行い、その病態の究明に貢献する。小児交代制片麻痺は $\text{Na}^+/\text{K}^+\text{-ATPase } \alpha 3$ subunit gene である *ATP1A3* 変異による生じる稀な神経発達障害をきたす疾患である。症状は運動や認知障害、てんかんなど多岐にわたる。希少疾患故に VBM (voxel-based morphometry) 解析を行った論文はごくわずかで、解析の結果も一定していない。今回我々は小児交代制片麻痺と正常対照者とで VBM 解析を行い、また臨床症状との相関も検討した。

対象と方法：遺伝子学的に診断が確定され、かつ MRI の 3 DTI 強調画像が撮像されている 30 歳以下の乳幼児の小児交代制片麻痺患者 9 人とコントロール 14 人を対象とした。MRI の 3 DTI 強調画像を用いた VBM 解析にて、疾患群とコントロールで灰白質、白質の群間比較を行った。また運動機能やてんかんの重症度との相関も検討した。

結果：疾患群では、海馬と小脳虫部、小脳半球内側に灰白質体積が優位に減少していた。

また運動機能においては、小脳の灰白質と深部白質で負の相関が、認知機能では左の島皮質で負の相関が認められた。またてんかんの重症度と両側の海馬に負の相関を認めたが、小脳には相関を認めなかった。

討論：*ATP1A3* 変異は小脳皮質に最も強く表現されるといわれており、今回の解析はそれを反映していると思われる。

結論：MRI の VBM 解析は小児交代制片麻痺の臨床や病態の推測に有用な手段と思われる。

参考文献：

1. M. Sasaki, et al. Progressive Brain Atrophy in Alternating Hemiplegia of Childhood. MOVEMENT DISORDERS CLINICAL PRACTICE 2017; 406 doi:10.1002/mdc3.12451
2. M. Severino, et al. White matter and cerebellar involvement in alternating hemiplegia of childhood. Journal of Neurology 2020;267:1300-1311 doi.org/10.1007/s00415-020-09698-3
3. R. Ghusayni, et al. Magnetic resonance volumetric analysis in patients with alternating hemiplegia of childhood: a pilot study. European journal pediatric neurology 2020; 26: 15-19.

成人・高齢者てんかんの
臨床病態と治療の解析

金澤 恭子¹、山田 知香²、藤井 裕之³
森本 笑子⁴、木村 有喜男³、池谷 直樹⁵
塚本 忠¹、斎藤 貴志⁶、佐藤 典子³
岩崎 真樹⁷、高橋 祐二¹、中川 栄二⁶

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科¹、放射線科³
脳神経外科⁷、小児神経科⁶
東京女子医科大学東医療センター
脳神経外科²
大阪市立大学大学院 医学研究科
放射線診断学・IVR 学⁴
横浜市立大学附属病院 脳神経外科⁵

諸言

超高齢社会とともに、認知症、てんかん、免疫介在性神経疾患等の神経疾患の有病率はこの20年間で倍増している。

方法

最遅発性統合失調症発症24年後に、短期間に新出・縮小を繰り返す大脳病変を認めた抗NAE抗体陽性の症例について検討した(1)。

結果

症例は、84歳女性。

60歳時、被注察妄想、幻聴が出現し、閉居傾向となった。当院精神科を受診し、最遅発性統合失調症と診断。薬物療法で妄想に行動が左右されなくなり、自宅退院。以後は精神的には安定していた。

79歳時、妄想を認めることがあった。

84歳時、転倒を契機に撮像されたMRIで大脳皮質～白質に異常信号を認め、当科を紹介受診。精査加療目的に入院。

MMSE 25/30、FAB 13/18。軽度のパーキンソンニズム、口唇ジスキネジア、右難聴があり、

やや多幸的であった。

検査所見：甲状腺機能：異常なし。抗Tg、抗TPO、抗NAE抗体：陽性。髄液検査：異常なし。頭部MRI：両側前頭葉内側・底部、側脳室周囲のFLAIR高信号病変。慢性経過の抗NAE抗体陽性脳炎と診断。対応する神経所見に乏しく無治療で経過観察の方針。

2ヵ月後、頭部MRIで前頭葉の病変は縮小。4ヵ月後、右側頭葉に新たな病変が出現。退院から7ヵ月後、全身性けいれんがあり、抗てんかん薬が開始。その1ヵ月後、意識障害で当科に再入院。2日目の脳波で右優位の鋭徐波が出続けており、DZPの投与で頓挫。頭部MRIで左島皮質・側頭頭頂葉にFLAIR高信号の新規病変。FDG-PETで病変部位を含め左半球に集積増加。抗NAE抗体陽性脳炎によるNCSE、非痙攣性てんかん重積と考え、fPHT、PHTを投与、その後LCMへ置換。IVMP3クール実施し、意識状態は1週間後より改善。28日目、経口摂取再開。

考察

橋本脳症のMRIは正常か、非特異的な白質変化を示し、治療に伴い白質病変が縮小することもあると報告されている(2-5)。本症例も急性経過の意識障害を認めた際は治療後に病変が縮小したが、初診時から無治療にもかかわらず病変が縮小した点は特徴的であった。全統合失調症のうち、60歳以上で発症する最遅発性統合失調症患者の割合は2.3%と報告されている(6)。橋本脳症で精神症状を認めた患者46人のうち、急性精神症状は12人、抑うつ症状は11人に認め、統合失調症様の症状は1人に認めたと報告されている(7)。統合失調症と診断されていた橋本脳症の症例の既報告では、MRI異常所見は乏しいことが多いが、本症例では明らかな異常を認めた(8-10)。既報告では全例で抗精神病薬では精神症状のコントロールがつかずステロイドを

投与され著効したが、本症例では精神症状は軽度残存したが、抗精神病薬への反応性は良好だった。精神症状の発症が高齢だった点も既報告とは異なる経過だった。

本症例で起きた統合失調症は、橋本脳症とは別に起きた可能性も残るが、経過が良好な統合失調症ではMRIや抗体検査をする機会がそもそも少ないと考えられ、本症例のように一見経過が良好な統合失調症と診断されている患者の中にも橋本脳症の患者が潜在的にいるかもしれないということに留意を要する。

結論

最遅発性統合失調症の経過中に新出・消退を繰り返す大脳病変を呈した抗NAE抗体陽性脳炎の84歳女性例を経験した。無治療にもかかわらず、経時的なMRIでの大脳病変の変化が大きかった点が特徴的であった。橋本脳症の中に、慢性経過の精神症状で統合失調症と診断されている場合があり、本症例も橋本脳症で一元的に説明できる可能性がある。

参考文献

1. 石原 資, 弓削田 晃弘, 金澤 恭子, 久保田 智香, 米田 誠, 高橋 祐二. 最遅発性統合失調症(VLOS)発症 24 年後に, 短期間に新出・縮小を繰り返す大脳病変を認めた抗 NAE 抗体陽性の 84 歳女性例. 第 240 回日本神経学会関東・甲信越地方会; web 開催. 2022.3.5.
2. Graus F, Titulaer MJ, Balu R, Benseler S, Bien CG, Cellucci T, et al. A clinical approach to diagnosis of autoimmune encephalitis. *Lancet Neurol.* 2016;15(4):391-404.
3. Matsunaga A, Ikawa M, Kawamura Y, Kishitani T, Yamamura O, Hamano T, et al. Serial brain MRI changes related to autoimmune pathophysiology in Hashimoto encephalopathy with anti-NAE antibodies: A case-series study. *J Neurol Sci.*

2019;406:116453.

4. Chen N, Qin W, Wei C, Wang X, Li K. Time course of Hashimoto's encephalopathy revealed by MRI: report of two cases. *J Neurol Sci.* 2011;300(1-2):169-72.
5. Uwatoko H, Yabe I, Sato S, Abe M, Shirai S, Takahashi I, et al. Hashimoto's encephalopathy mimicking a brain tumor and its pathological findings: A case report. *J Neurol Sci.* 2018;394:141-3.
6. Abou Kassm S, Limosin F, Naja W, Vandel P, Sánchez-Rico M, Alvarado JM, et al. Late-onset and nonlate-onset schizophrenia: A comparison of clinical characteristics in a multicenter study. *Int J Geriatr Psychiatry.* 2021;36(8):1204-15.
7. Menon V, Subramanian K, Thamizh JS. Psychiatric Presentations Herald Hashimoto's Encephalopathy: A Systematic Review and Analysis of Cases Reported in Literature. *J Neurosci Rural Pract.* 2017;8(2):261-7.
8. Endres D, Perlov E, Riering AN, Maier V, Stich O, Dersch R, et al. Steroid-Responsive Chronic Schizophreniform Syndrome in the Context of Mildly Increased Antithyroid Peroxidase Antibodies. *Front Psychiatry.* 2017;8:64.
9. Prat S, Jouan Y, Magnant J, Graux J, El-Hage W. Hashimoto encephalopathy diagnosis after 40 years of a schizophrenia-like disorder. *Schizophr Res.* 2012;139(1-3):269-70.
10. Haider AS, Alam M, Adetutu E, Thakur R, Gottlich C, DeBacker DL, et al. Autoimmune Schizophrenia? Psychiatric Manifestations of Hashimoto's Encephalitis. *Cureus.* 2016;8(7):e672.

てんかん臨床情報データベースの整備

分担研究者 波多野賢二
国立精神・神経医療研究センター 医療情報室

緒言

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。てんかんグループでは、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。

本分担研究では、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

1. てんかんグループで作成・管理されている患者台帳の運用支援：台帳の基礎データとして提供している病院情報システムの患者データの精緻化と、管理の効率化および、台帳データの活用に向けた開発および検討を行う。
2. 病院情報システムの診療情報の活用：電子カルテデータの二次活用について、参画中のNC電子カルテデータ収集基盤構築プロジェクト（JASPEHR）や他の多施設プロジェクトの現況と課題の検討を行う。

結果

病院情報システムから抽出する患者の名簿に、病名のコード・属性情報を追加することで、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。台帳のデータベース環境を、デスクトップアプリケーション（Access）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 Server）へ試験的に移行し、それによりデータ管理機能とセキュリティが向上することを確認した。

JASPEHRプロジェクトにおいては、2015年度以降の当センター病院受診患者（約50,000人）の診療データ（基本情報・受診情報・処方・検体検査、病名等）をオンラインでデータセンターに送信する環境が整備された。このプロジェクトでは、電子カルテのテンプレート記載データをHL7 FHIR標準形式で収集するシステム基盤構築にも取り組んでおり¹⁾、R4年度までに試験的なテンプレートの実装とデータ抽出を実施している。

考察

てんかん患者台帳はすでに6000人余りの患者の基本属性および診断データが収集されており、今後このデータを診療・疾患研究に活用できる環境の整備を検討していきたい。

JASPEHRプロジェクトは当センター病院の診療データを外部データセンターと連携する初めての事例であり、システム導入の目的のひとつである診療データ利活用が実現した。データはSS-MIX2標準ストレージと呼ばれる標準形式で出力されるが、データの不備・欠落等の問題があり、継続的なメンテナンスが必要とされている。

結論

病院情報システムのデータを活用し、てんかんのインハウスデータベースの支援および、多施設診療データベースへのデータ送信の環境を整備するとともに、解決すべき課題について検討を行った。

参考文献

1. 石井雅通、波多野賢二、FHIRを用いた診療テンプレート情報標準化への取り組み、新医療、2022年6月。

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、北見欣一

【緒言】

ジュベール症候群関連疾患 (JSRD) は新生児期・乳児期の筋緊張低下、中枢性呼吸異常、眼球運動異常、精神運動発達障害、小脳虫部欠損、脳幹形成異常を主兆候とする疾患群で、有馬症候群やSenir-Loken症候群、COACH症候群などを含む。これまで、てんかんの併発は極めて稀であると報告されている。

本研究では、45家系52例のJSRD患者データからてんかん併発例の臨床遺伝学的特徴を抽出し、てんかん原性の要因を明らかにする。さらに、JSRD患者データから発見した新規原因遺伝子の病因性とてんかん原性を分子生物学的に解明する。

【方法】

2014年7月から2021年6月までに診断依頼があった45家系52例について、臨床と画像情報による臨床診断と遺伝子解析を行った。

臨床診断はJSRD診療ガイドライン2018に従って行った。また、特徴的な臨床像を抽出した。

遺伝子解析は、全エクソーム解析とサンガー法による遺伝子解析を行った。

(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。

【結果】

45家系52例のJSRD患者の臨床遺伝学的解析の結果、13例にてんかん併発があった(25%)。これまで報告されていた割合より高く、本邦の患者ではてんかん併発例が多いことがわかった。このうち5例は*CEP290*であり、これまで報告がない。それ以外に*TMEM67*が1例、*TCTN1*が1例、病因性不明の未知遺伝子(VUS: variants of uncertain significance)が6例であった。

また、52例のうち既報告の遺伝子異常(*ARL13B*、*CC2D2A*、*CEP290*、*ZNF423*、*KIAA0586*、*AHI*、*OFD1*)以外の12例に11個のVUSが見つかった。これらVUSについて、病因性を解明するために分子生物学的研究をおこなった。その結果、6遺伝子については*in vitro*での細胞内局在を解明し、8遺伝子については*in vivo*で異常な表現型を確認した。

【考察】

JSRD のてんかん合併率は約 3%程度と報告されていたが、本邦の JSRD 患者では高率に有することがわかった。

今回見つかった VUS を解明することで、JSRD の新たな原因遺伝子が加わることが考えられる。さらに、これらの遺伝子の解明は、新たな繊毛研究が展開できるだけでなく、てんかん原性獲得の生物学的基盤を明らかにすることができる。

【結論】

45家系52例のJSRD患者の臨床遺伝学的解析をおこなった。25%にてんかん合併があり、これまで報告されていた頻度より高いことがわ

かった。また、11 個の VUS を見つけ出した。今後、分子生物学的研究を行い、病因性とてんかん原性を解明する。

【参考文献】

1. Dai H, Kitami Y, Goto Y, Itoh M. 5-HT_{1A} Receptor Agonist Treatment Partially Ameliorates Rett Syndrome Phenotypes in *mecp2*-Null Mice by Rescuing Impairment of Neuron Transmission and the CREB/BDNF Signaling Pathway. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 14025. doi.org/10.3390/ijms232214025.
2. Takahashi S, Takeguchi R, Tanaka R, Fukuoka M, Koike T, Otani H, Inoue K, Fukuda M, Kurahashi H, Nakamura K, Tominaga K, Matsubayashi T, Itoh M, Tanaka T. CDKL5 deficiency causes epileptic seizures independent of cellular mosaicism. *J Neurol Sci* 2022; 443: 120498. doi.org/10.1016/j.jns.2022.120498.
3. Uda D, Kondo H, Tanda K, Kizaki Z, Nishida M, Dai H, Itoh M. Two siblings showing a mild phenotype of Joubert syndrome with a specific CEP290 variant. *Neuropediatrics* 2022. doi: 10.1055/a-1865-6890.
4. Matoba K, Chihara N, Satake W, Tokuoka H, Otsuka Y, Ueda T, Sekiguchi K, Itoh M, Matsumoto R. Long-surviving adult siblings with Joubert syndrome harboring a novel compound heterozygous CPLANE1 mutation. *Neurol Genet* 2022; 8: e200031. doi.10.1212/NXG.0000000000200031.
5. 伊藤雅之. 有馬症候群(脳-眼-肝-腎症候群). 腎臓症候群 (第3版). 東京, 日本臨床社. 258-263pp, 2022年10月.
6. 伊藤雅之. Rett症候群. 小児疾患診療のための病態生理3 (改訂第6版). 小児内科, 東京, 東京医学社, 2022年12月.
7. 伊藤雅之. 細胞のメカニズムと神経疾患. 我が国での神経系繊維毛症候群の現状 (ジュベール症候群). CLINICAL NEUROSCIENCE. 東京, 中外医学社, 553-556pp, 2022年5月.

分担研究報告書

(課題名) てんかんモデル動物を用いた病態解明と治療法の開発

(所属) 国立精神・神経医療研究センター 病態生化学研究部

(氏名) 星野 幹雄

緒言

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。我々はこれまでに、Dscamファミリー遺伝子のKOマウス、Aut2 KO (Aut2-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的とする。

方法

複数種類のてんかんモデル動物を作製・解析し、同じ原因で惹起されるヒトてんかんの病理を理解し、さらに診断法の開発につなげる。また、NCNP バイオバンクの手術脳検体に対して、RNA-seq 解析、snRNAseq 解析、を行い、その細胞内病態について明らかにする。

結果

(1)Aut2 遺伝子について。

これまでに、Aut2 ノックアウト (KO) マウスの解析から、AUTS2 が神経細胞移動、神経突起伸長、興奮性シナプス数の制限、に働くことを明らかにしてきた。今年度の解析によって、さらにAUTS2 が Intermediate Progenitors の分裂促進に働き、浅層ニューロンの産生に関与することを見出した。KO マウスでは、そのために大脳皮質が薄くなっていた。

(2)Dscam ファミリー遺伝子について

我々は、IER の原因遺伝子として Dscam11 を同定し、その KO マウスの解析から、この遺伝子異常によるてんかん発症メカニズムについて報告してきた。今年度は、この遺伝子ファミリーの Dscam 遺伝子についても解析した。そこで DSCAM が神経細胞の後シナプスに局在し、アストロサイトで発現する GLAST をシナプス近傍へ

局在させる機能を持つことを明らかにした (現在論文リバイズ中)。

考察

Aut2 遺伝子に変異を持つ症例では、しばしば小脳症が観察される。Aut2 KO マウスの表現型と一致していることから、ヒト症例でもやはり Intermediate Progenitors の増殖が障害されている可能性が考えられる。

我々の研究から、DSCAM タンパク質の機能が失われると、シナプスに放出されたグルタミン酸のアストロサイトへの回収がうまくいかなくなり、脳内の遊離グルタミン酸の量が増えることがわかった。これは、結果として易興奮性を惹起し、てんかんの誘因になりうると考えられる。

また、今回 DSCAM1 とてんかんと関連を明らかにしたが (Hayase et al, 2020)、蛋白質のコンフォメーション異常によるてんかんの場合には、4PBA のような分子シャペロンが治療薬として使えるかもしれないことがわかった。そちらは投稿準備中である。

結論

Aut2 及び Dscam ファミリー遺伝子の KO マウスを使った解析から、いくつかのてんかん病理の可能性が示唆されてきている。また、ヒト手術脳検体を使った解析を進めることにより、マウスモデルで得られた知見がヒト検体でも整合性が見られるかどうかについて、今後検証していく。

参考文献

1. Fujiyama T, Takenaka H, Asano F, Miyanishi K, Hotta-Hirashima N, Ishikawa Y, Kanno S, Seoane-Collazo P, Miwa H, Hoshino M, Yanagisawa M, Funato H. Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis. *Front Behav Neurosci.* 2022, 16:910461.
2. Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and

social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol.* 2022, 216:102288.

3. Sano T, Kawazoe T, Shioya A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Maruo K, Nishino I, Hoshino M, Murayama S, Saito Y. Unique Lewy pathology in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology.* 2022, 42(2):104-116
4. Inoue, Y.U., Miwa, H., Hori, K., Kaneko, R., Morimoto Y., Koike, E., Asami, J., Kamijo, S., Yamada, M, Hoshino, M. and Inoue, T.: Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation. *eNeuro.* 9(1): 0423-21, Feb, 2022

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などを後方視的に検討した。

今回の研究では抑うつ症状は精神科受診患者の37%に認め、実際にうつ病の診断に至った精神科受診患者の14%という結果であった。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。抑うつと不安のスクリーニング検査を両方施行することで、精神症状のあるてんかん患者の見逃しを防ぐことが可能になると考えられる。

スクリーニング陽性の脳神経外科受診患者は精神科受診患者よりも少なかった。しかし、脳神経外科から精神科コンサルトとなった患者は全て精神的治療を要する状態であり、今後はスクリーニング陽性の患者を精神科に紹介しやすいような体制を作ることが望まれる

【はじめに】

てんかん患者は一般人口に比べて高率に精神障害が合併するが、その中でも抑うつと不安が多いことが知られている。

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が、本邦における実際の精神科的診断や必要な治療は不明なままである。

【方法】

1) 2020年4月から2022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

428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271人を対象患者とした。

2) 2020年6月から2022年10月までに当院てんかんセンター脳神経外科外来を受診し13歳以上の300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181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)、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. 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99人(99/271: 37%)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81人(81/271: 33%)であった。GAD-7でカットオフ(10点)以上だった103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87人(87/271: 32%)であった。対象患者の44%にあたる合計111人の患者が抑うつあるいは不安の症状を認めていた。

2. 精神科診断

抑うつあるいは不安症状を認めた111人の患者を、精神科診断に基づき分類した。その結果、次いで知的障害・発達障害43人が最も多く(43/111: 39%)、次いでうつ病39人(39/111: 35%)、精神病20人(20/111: 18%)、不安障害9人(8%)だった。つまり、精神科初診患者271人中、知的障

害・発達障害は16%、うつ病は14%、精神病は7%、不安障害は3%であった。

3. 脳神経外来対象群の解析

対象患者のうち、NDDI-Eでカットオフ以上だったのは54人(54/181:30%)、GAD-7でカットオフ以上だったのは50人(50/181:28%)であった。対象患者の38%にあたる合計68人の患者が抑うつあるいは不安のスクリーニング検査陽性であった。スクリーニング陽性の68人中11人(11/68:16%)は精神科に院内コンサルトとなっていて、精神科の診察においても実際に臨床症状を認めた。

4. 精神科てんかん初診と脳神経外科てんかん初診患者の比較

精神科初診患者群は脳神経外科初診患者群に比べてスクリーニング陽性は統計的に有意に多いのが確認できた(P=0.008)。

【考察】

今回の研究では抑うつ症状は精神科受診患者の37%に認め、実際にうつ病の診断に至ったのは精神科受診患者の14%という結果であった。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。

GAD7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。今回の我々の研究でもGAD7を実施することで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示された。

脳神経外科初診患者においてスクリーニング陽性の患者すべてに精神科診察を行ったわけではないので、実際に臨床的な抑うつ・不安を有する患者の割合は不明だが、精神科コンサルトになった11人はスクリーニング陽

性であり、実際に抑うつ・不安症状を認めていた。

スクリーニング陽性率において脳神経外科初診患者は精神科患者に比べて少ない傾向があるものの、実際に臨床症状をもっている患者は少なからずいることが予想される。スクリーニング陽性のコンサルト率は16%であるが、今後はコンサルトがスムーズになりやすい体制の構築が望まれる。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

引き続き、精神科・脳神経外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。

、成人てんかん診療全体における抑うつ・不安の臨床像がより正確になり、適切な精神科コンサルト体制を整備することができる。また両者を比較することで、診療科ごとの対策などを練ることができる。

【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によって、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) Micoulaud-Franchi JA, 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
- 2) Fiest KM, et al. Depression in epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurology* 80: 590-599, 2013
- 3) Micoulaud-Franchi JA, 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

小泉修一^{1,2}、佐野史和^{1,2,3}、星野廣樹^{1,2,4}

山梨大 院医 薬理¹、山梨 GLIA センター²、

山梨大 医 小児³、東邦大 医 小児⁴

【緒言】

これまで我々は、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、てんかん病態におけるグリア細胞の役割を検討し、Ca²⁺過活動依存的にてんかん原性を誘導する「てんかん原性型アストロサイト」の存在を明らかにした。しかし、このCa²⁺過活動から、てんかん原性および発作原性に至る分子メカニズムは解明されていない。そこで今回、てんかん原性型アストロサイト依存的なてんかん原性獲得機構および、グリア細胞依存的な発作原性機構の解明を目指して、さらなる予備的な検討を開始した。

【方法】

てんかん原性プロジェクト：アストロサイト Gap junction 機能異常がてんかん原性獲得に果たす役割を解明するため、コネキシン (Gap junction 構成タンパクの一種) 阻害薬の抗てんかん原性作用について予備的検討を行った。具体的には、SE 誘導後にコネキシン阻害薬 (INI-0602) を 20mg/kg/日・隔日投与し、その後の組織学的変化を蛍光免疫組織染色法で、けいれん閾値の変化を行動評価で解析した。発作原性プロジェクト：発作原性にアストロサイトのCa²⁺過活動が果たす役割を解明するため、Aldh111-creERT2::GCaMP6f マウスを用いて、ピロカルピンによる SE 誘導中および、誘導 28 日後に in vivo 脳波同時測定下全脳 Ca²⁺ imaging を施行した。

【結果】

てんかん原性プロジェクト：SE 誘導 28 日後

(てんかん原性獲得期) に対照群で観察されたアストログリオシス (GFAP 陽性細胞の形態変化) およびけいれん閾値低下は、コネキシン阻害薬投与群で有意に抑制されることを見出した。

発作原性プロジェクト：全脳 Ca²⁺ imaging により、ピロカルピンにより誘導した SE 中および誘導 28 日後 (てんかん原性獲得期) に、生理的条件下では観察されない超広域 Ca²⁺シグナル (複数の脳領域にまたがる同期性の高い Ca²⁺シグナル) の出現頻度が有意に増加することを見出した。さらに、ピロカルピンにより誘導した SE 中に脳波同時測定下全脳 Ca²⁺ imaging を施行したところ、超広域 Ca²⁺シグナルが、脳波でのてんかん性活動 (棘波・多棘波など) に平均 900msec 先行して観察されることを見出した。

【考察および今後の展望】

コネキシン阻害薬が抗てんかん原性作用を示す可能性が示唆された。今後、コネキシン機能異常を介するてんかん原性獲得メカニズムを解明するため、コネキシン阻害薬投与の有無が SE 中のグリア伝達物質の放出に与える影響を検討する。アストロサイト Ca²⁺活動がてんかん発作の起始や拡散の契機となる可能性が示唆された。しかし、今回の検討では超広域 Ca²⁺シグナルと神経活動の因果関係を検討できておらず、今後薬理学的介入などにより、その因果関係を解明する。

【結論】

コネキシン阻害薬は抗てんかん原性作用を示す可能性がある。アストロサイト Ca²⁺活動がてんかん発作の契機となる可能性が示された。

【参考文献】

1) Kim et al, J Clin Invest, 126, 1983-1997 (2017)

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】

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)

【緒言】

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)、中心側頭部に棘波を示す小児てんかん (CECTS) 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。これまでの検討により、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²⁾。また、睡眠習慣と認知機能検査を行い検討したところ、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。そこで、睡眠と認知機能障害との関連性について明らかにするために、終夜睡眠ポリグラフ検査 (PSG) を用いて、てんかん児の睡眠の状態を明らかにし、認知機能との関連を明らかにすること、さらに睡眠脳波を用いた脳波解析を行い、認知機能の客観的バイオマーカーとしての有用性について検討することを目的とした。

【方法】

検討 1: 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 CSWS 2 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 (CGFE) 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; もぐら一ず, 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)。

検討 2: てんかん児の発作間欠期脳波による脳波周波数解析

2017～2021 年までに山梨大学附属病院、および国立病院機構甲府病院にて、てんかんの診断にて自然睡眠で脳波検査を行った症例について、stage2 の spindle に焦点をあて、脳波周波数解析を行った。解析方法はてんかん性の異常波を除外した 120 秒間を選択してフーリエ変換を行い、パワースペクトラム解析を行った。対象は、7～12 歳のてんかん児 13 名 (男児 9 名、女児 4 名) で、抗てんかん薬を 1-2 剤内服していたが、抗 ADHD 薬の服用している例はなかった。てんかん症候群分類は FLE 6 例 (ADHD 併存 3 例)、CECTS 4 例 (限局性学習症 1 例)、非定型小児焦点性てんかん (ABPE) 3 例 (ASD 2 例, ADHD 1 例) であった。定型発達児 (TDC) はこれまでの研究によるデータを用いて比較検討した³⁾。

【結果】

検討 1: 心理検査では FLE 症例 1-2 で ADHD の併存、実行機能障害、症例 3 で限局性学習症の併存を認めた。また CSWS の 2 症例、CGFE の症例では ADHD、ASD 併存、実行機能障害を認めた。

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、Stage1-2 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。脳波解析では、実行機能障害や ADHD-RS で数値の高い例において覚醒時の θ/β 比の増加を認めた。Stage2 の spindle の検討では 12Hz slow spindle のパワー値の増加を FLE4 例中 1 例で認めた。実行機能障害のない 1 例では、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 CGFE では、spindle の割合が少なく、前頭部優位の spindle を認めなかった。抗てんかん薬治療後、夜間の異常脳波の継続時間が短縮した一例では、ADHD-RS スコア、実行機能検査の改善、REM および stage2 持続時間の延長、spindle 分布の前方位を認めた。

検討 2 : FLE および ABPE 症例では、前頭部優位の spindle のピークを 13Hz、中心部優位の spindle を 14Hz に認めた。FLE および ABPE 全例で定型発達児 (TDC) と比較して、13Hz slow spindle の power 値が前頭部優位に高値であった (F_z 13Hz 含有率:TDC 1.95%、FLE 3.54%、ABPE 3.6%)。一方、中心部 14Hz spindle では明らかな差を認めなかった。CECTS 症例では前頭部 spindle のピークは 12Hz、中心部 14Hz で、それぞれの power 値はどちらも TDC に類似した結果であった。

【考察】

これまでの ADHD 児の報告で、覚醒時の θ/β 比の増加⁴⁾、12Hz slow spindle の増加³⁾が知られており、FLE において、ADHD-RS スコアの高い例や実行機能障害例に θ 波の増加、前頭部優位の slow spindle の増加を認めたことから、前頭葉の機能障害を反映している可能性がある。CSWS や CGFE では、前頭部優位の 12Hz spindle が認められず、治療とともに出

現傾向が見られたことから、前頭-視床のループ回路の異常が、認知機能障害を起こしている可能性が考えられた。

Spindle は視床網様核、視床皮質ニューロンの過分極により発生するとされている。FLE で出現する前頭部に起始を持つ棘波や ABPE の特徴である睡眠時に増加する両側同期性広汎性棘徐波が、前頭皮質や視床で繰り返し発生することで前頭皮質視床ループを介して前頭部 slow spindle の賦活に関与している機序が考えられる。

【結論】

てんかん児においても睡眠と認知機能障害との関連が推測される。また前頭部優位の slow spindle はてんかん児の前頭葉機能の客観的指標となる可能性がある。

【文献】

- 1) Gibbon FM, Maccormac E, Gringras P. Sleep and epilepsy: unfortunate bedfellows. Arch Dis Child. 2019;104:189-192.
- 2) Ueda R, Kaga Y, Kita Y, et al. Postoperative improvement of executive function and adaptive behavior in children with intractable epilepsy. Brain Dev. 2021;43:280-287.
- 3) Saito Y, Kaga Y, Nakagawa E, et al. Association of inattention with slow spindle density in sleep EEG of children with attention deficit hyperactivity disorder. Brain Dev 2019; 41:751-759.
- 4) Snyder SM, Rugino TA, Hornig M, Stein MA. Integration of an EEG biomarker with a clinician's ADHD evaluation. Brain Behav. 2015;5:e00330.

分担研究報告

てんかん PHR を利用した遠隔診療推進のモデル形成
岡崎 伸
大阪市立総合医療センター

緒言

てんかん患者は突然の発作から意識障害や転倒などを繰り返すことと共に、併存疾患があることも多いため、通院することの負担が大きいことが考えられる。また、専門医や専門診療を提供している医療機関は都市部に偏在しており、難治てんかん例など専門的な治療が求められる場合に、地方（山間部など）や離島などに居住している患者は十分な診療を受けるのが困難とされる。その解決策の一つとして、遠隔診療が発展すれば、てんかん医療の均てん化が可能で、多くのてんかん患者の生活の質も上がることが見込まれる。その発展のため、てんかん診療に最適な遠隔診療デバイスシステムとして、てんかん PHR（Personal Health Record）と連動した遠隔診療デバイスを用いたオンライン診療実施モデルを作成し、患者や家族及び病院が利用しやすい遠隔診療体制の推進を目指して本研究を計画した。

【方法】

てんかん診療のために開発を進めていたオンライン診療サービス「nana-medi（ナナメディ）、ノックオンザドア株式会社」のプロトタイプを利用した模擬診察を大阪市立総合医療センターで行った。難治てんかん患者家族を対象に、発作や服薬履歴などをてんかん患者向けの PHR アプリ「nanacara（ナナカラ）」に保存してもらい、医師側のパソコンと共有しながら診療を進めた。模擬診察後に医師・患者双方から感想を含めたヒアリングを行い、そこで出されたオンライン診療に対する期待や課題などのニーズを検討した。また、当センター医事課の事務作業についても確認しながら、医事課負担の軽減度合いについても検討した。

【結果】

初動として、通院が困難な大阪府外在住者 2 例で施行、2 例が施行予定になった。また、患者所在地域の医師との連携が重要であるため、地域の医師・病院・薬局との連携の協力を依頼したところ、問題なく診療が行えたことを確認した。模擬診察では、問診機能、てんかん患者の症状や処方履歴など様々な情報の提出機能、

テレビ電話機能、オンライン決済、宛名印刷などの事務処理機能が可能であることを確認した。また、医事課職員の負担も大きくないことを口頭にて確認した。

【考察】

オンライン診療実施にあたって nana-medi の有用性を示唆できる結果を得ることが出来た。この様な遠隔診療デバイスは、てんかんの遠隔診療における利便性の向上につながると共に、疫学調査やてんかん診療の進展につながることも期待される。しかしながら、日本ではオンライン診療の保険収載が達成から日が浅いこともあり、オンライン診療の受け入れ体制が不十分な地域もある。そのためにも啓発活動を進めながら、オンライン診療が出来る病院を増やしていく必要がある。難治てんかん症例に対する専門的なてんかん診療地区を離島や山間部などに作ることで、てんかん診療の均てん化に寄与できることも期待できる。

【結論】

PHR データの観点に着目したオンライン診療は、小児てんかん患者と家族にとっても役立つ可能性がある。また、診療データをクラウド保存することで遠隔診療への活用が期待される。一方、オンライン診療に関する認知度は全国的には高くないことから、その有用性を含めた啓発を強め、オンライン診療出来る病院を増やすことが求められる。

参考文献

- Gali K, et al., Barriers, access and management of paediatric epilepsy with telehealth. J Telemed Telecare. 28, 213-223, 2022.
- Kikuchi K, et al., Telemedicine in epilepsy management during the coronavirus disease 2019 pandemic. Pediatr Int., 64, e14972, 2022
- 岡崎伸 てんかんと遠隔診療（オンライン診療）、ともしび 2022.4, 3-10

成人てんかん患者の睡眠指標と心理社会的機能および生活機能との関連

松井 健太郎

国立精神・神経医療研究センター病院
臨床検査部

緒言

夜間の睡眠剥夺が痙攣閾値を下げる事が古くから報告され¹、習慣的な睡眠不足(すなわち睡眠の量的な障害)がけいれん発作を生じやすくすると報告されている²が、睡眠障害の併存、すなわち睡眠の質的障害も、発作予防の観点で重要であることが指摘されてきた。しかし一方で、客観的に計測された夜間の睡眠分断が、成人てんかん患者の心理社会的機能や生活機能に及ぼす影響は十分に検討されていない。そこで、成人てんかん患者において、本人の自覚的な睡眠の質および睡眠ポリグラフ検査から得られる客観的睡眠指標について包括的に調査し、心理社会的機能および生活機能について検証することを本分担研究の課題とする。本分担研究では、睡眠ポリグラフ検査を実施した成人てんかん患者を調査対象としたい。そのため本研究の実施の前段階として、当センターでどの程度の成人てんかん患者に、睡眠ポリグラフ検査が実施されたかの調査を行った。

方法

2019年4月から2023年3月までの間にPSGが実施された成人てんかん患者の件数および、併存が疑われた睡眠障害の内訳について、診療データベースをもとに調査を行った。

結果

2019年4月から2023年3月までの間に成人

てんかん患者83名にPSGが実施されていた。そのうち睡眠呼吸障害が疑われたものが最も多く約69%を占めていた。

考察

成人てんかん患者における閉塞性睡眠時無呼吸の影響についてはすでに複数の論文が発表されており、メタアナリシスから、閉塞性睡眠時無呼吸の併存はその後のけいれん発作リスクとなることが指摘されている³。日中機能障害については、成人てんかん患者の約25%が日中の過度の眠気を自覚している⁴ことから、日中の眠気に注目した研究が多い。成人てんかん患者の日中の眠気は閉塞性睡眠時無呼吸の重症度に関連したとの報告があった⁵一方、成人てんかん患者の眠気は閉塞性睡眠時無呼吸の重症度との関連は乏しく、抑うつとの関連が顕著であったとの報告⁶もあった。一方、成人てんかん患者における社会機能障害を主要アウトカムとし、閉塞性睡眠時無呼吸の併存との関連、睡眠ポリグラフ検査から得られた睡眠分断との関連について調査した研究はなかった。

結論

近年多くの精神疾患において、症状の改善だけではなく、社会機能の改善(functional recovery)の重要性が指摘されてきている^{7,8}。成人てんかん患者において、閉塞性睡眠時無呼吸の重症度を含めた客観的睡眠指標と、心理社会的機能や生活機能について調査することは、患者の状態をより詳細に把握し、適切な治療や生活改善のための支援を行う上で重要と考えられる。次年度はこれらの実態調査を進めていく予定としている。

参考文献

1. Geller MR, Gourджи N, Christoff N, Fox E. The effects of sleep deprivation on the EEGs of epileptic children. *Developmental medicine and child neurology*. 1969;11(6):771-776.
2. Samsonsen C, Sand T, Bråthen G, Helde G, Brodtkorb E. The impact of sleep loss on the facilitation of seizures: A prospective case-crossover study. *Epilepsy research*. 2016;127:260-266.
3. Lin Z, Si Q, Xiaoyi Z. Obstructive sleep apnoea in patients with epilepsy: a meta-analysis. *Sleep & breathing = Schlaf & Atmung*. 2017;21(2):263-270.
4. Lee SA, No YJ, Jo KD, Kwon JH, Kim JY, Shin DJ. Factors contributing to excessive daytime sleepiness in Korean adults with epilepsy: A sleep questionnaire-based study. *Epilepsy & behavior : E&B*. 2019;90:61-65.
5. Klobucnikova K, Siarnik P, Sivakova M, Kollar B. Sleep-disordered breathing and excessive daytime sleepiness in patients with epilepsy - a polysomnographic study. *Neuro endocrinology letters*. 2016;37(4):313-317.
6. Jenssen S, Gracely E, Mahmood T, Tracy JI, Sperling MR. Subjective somnolence relates mainly to depression among patients in a tertiary care epilepsy center. *Epilepsy & behavior : E&B*. 2006;9(4):632-635.
7. Onitsuka T, Hirano Y, Nakazawa T, et al. Toward recovery in schizophrenia: Current concepts, findings, and future research directions. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2022;76(7):282-291.
8. Yang H, Gao S, Li J, et al. Remission of symptoms is not equal to functional recovery: Psychosocial functioning impairment in major depression. *Frontiers in psychiatry*. 2022;13:915689.

4-5 Research on establishing a database with sustainable and advanced epilepsy care and telemedicine

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*

1. Purpose, necessity and expected results of the research:

The objectives of this research group are to promote telemedicine for epilepsy treatment as the National Center for Epilepsy Care, to establish a big database on epilepsy care within NCNP by utilizing the Epilepsy Care Network (about 1,523 registered epilepsy departments) established through the Epilepsy Development Project, to equalize epilepsy care, to clarify the pathology of epilepsy onset, to conduct epidemiological surveys, and to develop and make recommendations on diagnosis and treatment methods.

Regarding the diagnosis and treatment of epilepsy, the Epilepsy Center will be the core of the project, and will collaborate with the Departments of Psychiatry, Neurology, Pediatric Neurology, Neurosurgery, Radiology, and the Sleep Center to propose a desirable medical treatment system from both soft and hard aspects for patients with neurodevelopmental disorders, psychiatric symptoms and epilepsy with coexistent sleep disorders. Conduct research to realize a model medical treatment for epilepsy. In addition to continuing to accumulate a high-quality clinical database of epilepsy patients, an EEG database will be developed and a system for diagnosis and treatment based on EEG will be proposed to establish a nationwide epilepsy treatment network.

To promote telemedicine in epilepsy treatment, the Osaka City General Medical Center and NCNP collaborated to develop and release nanacara, a personal health record (PHR) for epilepsy, in March 2020. The project will develop telemedicine promotion using epilepsy PHR devices based on the nationwide epilepsy support network established through NCNP's epilepsy support base project, and establish a big database on epilepsy care within NCNP.

We aim to establish effective medical and surgical treatment methods for epilepsy and comorbid psychiatric symptoms, neurodevelopmental disorders, and sleep disorders through appropriate evaluation and diagnosis as early as possible using various brain morphological/functional imaging and neurophysiological analyses.

Regarding basic research on epilepsy, we will conduct basic research on the molecular pathology of epilepsy, neurophysiology, and pathophysiology of epilepsy through basic genetic research by using available samples and information already established as research repositories at TMC.

Members of the research group

Principal Investigator: Eiji Nakagawa (NCNP)

Co-Investigator: Masaki Iwasaki (NCNP), Kenji Hatano (NCNP), Takashi Saito (NCNP), Shin Okazaki (Osaka City General Hospital), Noriko Sato (NCNP), Kyoko Kanazawa (NCNP), Yoshimi Kaga (University of Yamanashi), Masayuki Itoh (NCNP), Mikio Hoshino (NCNP) and Schuichi Koizumi (University of Yamanashi).

2. Research results:

1) Maintenance of the epilepsy clinical information database

Kenji Hatano

Department of Clinical Epidemiology, Translational Medical Center, National Center Hospital, NCNP

About 10 years have passed since the introduction of electronic medical records in the NCNP hospital, and the quantitative and qualitative value of accumulated medical information is increasing day by day. We have developed a system that links the in-house epilepsy patient database with electronic medical records in the NCNP hospital, and have realized efficiency and refinement of case extraction using medical information. Furthermore, the database system was improved by migration of the local database to the RDB server. With a view to linking the clinical information database to external databases, we have promoted the development of system for clinical data exchange between the NCNP Hospital and the disease registries or databases outside the center. In the JASPEHR project, which is a joint research project of 6 National Centers, we first carried out online external transmission of medical data of NCNP hospital, and examined the results and related issues.

2) Development of neurosurgical epilepsy database for clinical trial networks

Masaki Iwasaki

Department of Neurosurgery, National Center Hospital, NCNP

Development of patient database is essential to promoting joint researches and clinical trials. Here we report progress in developing 1. Neurosurgical database and 2. Epilepsy patient database of the NCNP Epilepsy Center.

1. NCNP Neurosurgical database was built with the database software Microsoft Access®. It was designed as a relational database between patient basic profiles, diagnostic information, surgical information, surgical complications, and pathological diagnosis. Epilepsy classification was adapted to the new 2017 international classification system of epilepsy and seizures (1). The registration of epilepsy patients to the NCNP Biobank was started in June 2017. Blood samples and surgical specimen,

if available, in all surgical cases are prospectively stored for future research. As of Nov 18, 2022, a total of 529 patients have been registered in the Biobank. The database is shared with researchers to conduct clinical studies.

2. With help from medical information staffs and bio-resource division, a new workflow was established to generate inpatient and outpatient database from electric medical records. Epilepsy classification was adapted to the new 2017 classification system. Total 5470 and 7154 cases have been registered to the outpatient and inpatient databases, respectively between January 2017 and September 2022. Diagnostic information is based on the disease code for insurance claims and is not always accurate or specific. Further improvement is necessary to obtain rich clinical information.

3) Epidemiology of childhood epilepsy in Japan using a health claim database.

Takashi Saito

Department of Child Neurology, National Center Hospital, NCNP

Objective: This study was conducted to assess the prevalence, comorbidities, and real-world management of childhood epilepsy using a health claim databases.

Methods: Persons aged 0–17 years as of December 2018, registered at any time in 2018 in JMDC health claims database from January to December 2018 were included in this study. Epilepsy was defined as follows; (1) diagnosis of epilepsy based on International Classification of Diseases, Tenth Revision codes, (2) claimed management fee for epilepsy and/or (3) anti-seizure medication (ASM) prescription for longer than 4 weeks. The prevalence of epilepsy, patient characteristics including comorbidities, and management status such as prescription of ASMs were evaluated.

Results: Of the 1,528,905 registered children, 9,279 were identified as having epilepsy. Prevalence of epilepsy less than the age of 18 years were 6.07 per 1,000 persons with significantly higher in boys (6.37/1,000) than girls (5.75/1,000). Its prevalence was the lowest at 1.97 per 1,000 population in the 0–2-year age group and increased with age to 9.34 per 1,000 population in the 15–17-year age group. The prevalence of epilepsy was significantly higher in boys than in girls in the ≥ 12 -year age group. ASMs were prescribed to 88.3%–92.5% of patients. Moreover, 27 (0.29%) patients underwent epilepsy surgery. The frequency of claiming intravenous ASM and long-term electroencephalogram fees increased with a decrease in age. Autism spectrum disorder was the most prevalent comorbidity in both boys (24.6%) and girls (13.1%).

Discussion: The results of this study are consistent with those of previous epidemiologic reports of epilepsy and are also suggested that young children receive more medical resources than adolescents. Further investigations will help improve the management of and develop measures against epilepsy.

4) Imaging studies to elucidate the mechanism of formation of epilepsy and to develop a diagnosis

Noriko Sato

Department of Radiology, National Center Hospital, NCNP

VBM analysis was performed in 9 genetically confirmed pediatric alternating hemiplegia and 14 normal controls. In the diseased group, gray matter volume decreased predominantly in the hippocampus, cerebellar vermis, and medial cerebellar hemispheres. In motor function, a negative correlation was observed in the cerebellar gray matter and deep white matter, and in cognitive function, a negative correlation was observed in the left insular cortex. In addition, the severity of epilepsy was negatively correlated with the bilateral hippocampi, but not with the cerebellum. ATP1A3 mutations are supposed to be most strongly expressed in the cerebellar cortex, and this analysis seems to reflect it. VBM analysis is considered to be a useful method for estimating the clinical and pathophysiology of pediatric alternating hemiplegia.

5) The analysis of clinical pathophysiology and treatment of epilepsy in the adult and elderly

Kyoko Kanazawa

Department of Neurology, National Center Hospital, NCNP

[Purpose] In Hashimoto's encephalopathy (HE), cerebral lesions in MRI typically reduce in size after immunotherapy (Chen et al., 2011), but natural courses of the lesions without treatment are unknown.

[Method] We report an 84-year-old woman of Hashimoto's encephalitis with fluctuating MRI findings without treatment.

[Results] A 60-year-old woman was diagnosed as very late onset schizophrenia with psychiatric symptoms well-controlled with antipsychotics. At 84 years old, MRI incidentally showed hyperintensity lesions at the bilateral medial and basal frontal lobes. Anti-Tg, anti-TPO and anti-NAE antibodies were positive. Follow up MRI showed the frontal lobe lesions reduced in size with a new lesion at the right temporal lobe. 4 months later, she developed NCSE with new lesions at the left insula and temporal lobe with the lesions at the bilateral frontal lobes and the right temporal lobe reduced in size. After steroid therapy, the lesion at the left insula and temporal lobe reduced in size.

[Conclusion] We presented the first case of HE presenting as spontaneously changing brain lesions on MRI. Patients with spontaneously changing brain lesions on MRI should be placed under careful observation even if the lesions are asymptomatic, as it may evolve into overt clinical presentation, and prove to be medically treatable diseases such as HE.

6) Molecular pathophysiology of intractable epilepsy

Masayuki Itoh

Department of Mental Retardation and Birth Defect Research, National Institute of Neuroscience,

NCNP

Joubert syndrome-related diseases (JSRD) is consisted of Arima syndrome, Senir-Loken syndrome, COACH syndrome and so on and caused by mutations of many cilia-related genes. It has been reported that intercurrent epilepsy with JSRD patients was rare and its prevalence was approximately 3 %.

In the study, we performed clinical and genetic analyses of 52 patients of 45 families, using JSRD clinical guideline, whole-exome sequencing and Sanger sequencing as well as molecular biology technique. This study was approved by the ethical committee of NCNP for handling of human materials and DNA recombination. In addition, we obtained an informed consent with all patients or their parents and registered with the document.

As a result, 13 patients (25% of participants) showed epilepsy as a part of their symptoms. And then, we confirmed novel 11 genetic variants of uncertain significance (VUS). We revealed that six gene-products localized to nucleus or cytoplasm and eight VUS led to form morphological abnormality by *in vivo* study.

In conclusion, we considered high prevalence of epilepsy in Japanese JSRD patients and discovered novel candidate genes of JSRD.

7) Elucidation of pathophysiology and development of treatment using animal models of epilepsy

Mikio Hoshino

Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience, NCNP

There are many epilepsy patients in Japan, but not a few of them have epilepsy whose pathophysiology is still unknown and, therefore, diagnostic and therapeutic methods have not yet been established. However, if we can develop good animal models of such epilepsies, we can better understand the pathophysiology and investigate diagnostic and therapeutic strategies. We are trying to solve this problem by generating and analyzing several animal models of epilepsy, including Dscam family gene KO mice, Auts2 KO (Auts2-KO) mice, and others. This year, we found that AUTS2 is involved in the production of cortical upper layer neurons and that DSCAM is involved in the retrieval of free glutamate at synapses. Further analysis will reveal the mechanism by which these genetic abnormalities cause epilepsy.

8) Study on depression and anxiety in patients with epilepsy

Go Taniguchi

Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center, National Center Hospital, NCNP

Patients with epilepsy are associated with a higher rate of psychiatric disorders than the general population, among which depression and anxiety are known to be common.

Although screening tests to evaluate depression and anxiety are widely used in Europe and the United States, the actual psychiatric diagnosis and necessary treatment in Japan remain unclear.

Therefore, in this study, we investigated depression and anxiety in epilepsy patients who visited an outpatient clinic of an epilepsy center.

In this study, depressive symptoms were found in 37% of patients seen by a psychiatrist, and a diagnosis of depression was made in 14% of patients seen by a psychiatrist. In addition to depression, depressive symptoms were also found to be present in psychosis and secondary disorders of intellectual and developmental disabilities, suggesting that patients who screen positive for depression should not be treated as depressed, but should instead be given a psychiatric diagnosis. In our study, anxiety was found in 8% of patients with epilepsy, which differs significantly from previous reports. However, screening for both depression and anxiety could help prevent underestimating patients with epilepsy who have psychiatric symptoms.

Patients who screened positive for depression and anxiety in neurosurgery were statistically less likely than those seen in psychiatry. However, all patients who were referred from neurosurgery to psychiatric consultation required psychiatric treatment, and it is desirable to establish a system that facilitates referral of screening-positive patients to psychiatry in the future.

9) Molecular Pathophysiology of Epilepsy from a Glial Cell Perspective

Schuichi Koizumi^{1,2}, Fumikazu Sano^{1,2,3}, Hiroki Hoshino^{1,2,4}

Dept Neuropharmacol¹, Yamanashi GLIA center², Dept Pediatrics³, Univ Yamanashi

Dept Pediatrics⁴, Univ Toho

Using pilocarpine-induced status epilepticus (SE) model, we reported that reactive astrocytes (we termed “epileptogenic astrocyte”) are strongly induced after SE. The epileptogenic astrocyte could be important role for the induction of epileptogenesis via Ca^{2+} hyperexcitability mediated by IP_3 receptor type 2 (IP_3R2). However, it remains unclear how epileptogenic astrocyte are induced and leads to epileptogenesis. In this study, we demonstrated that inhibition of gap junction function could prevent epileptogenesis. Pilocarpine was administrated to induce SE in 8-week-old C57BL/6J male mice. Inhibition of gap junction function by INI-0602 (connexin channel inhibitor) prevent activation of astrocytes and increase of seizure susceptibility, suggesting that connexin channel inhibitor could prevent epileptogenesis. These results suggest that epileptogenic astrocyte could lead epileptogenesis via dysfunction of gap junction.

Previously, we show that the reduction of astrocytic Ca^{2+} signals suppresses epileptogenesis. However, it is unknown whether astrocytic Ca^{2+} signals are associated with ictogenesis. To clarify whether astrocytic Ca^{2+} signals, associated with neural activity, are implicated in the initiation or spread of epileptic seizure, we investigated the temporal features between astrocytic Ca^{2+} signals and neural

activities during and after pilocarpine-induced seizures. To assess the spatiotemporal feature of astrocytic activities in the cortex of mice showing epileptiform activities, transcranial widefield Ca^{2+} imaging under simultaneous EEG recording was performed. Synchronized astrocytic Ca^{2+} signals appeared in the cortex from the frontal lobe to the occipital lobe cortex (ultra-wide Ca^{2+} spread) during SE and at 28 days after SE, which was not observed in control mice. On average, ultra-wide Ca^{2+} spread preceded epileptiform activity by approximately 900 msec during the pilocarpine-induced seizures. These results suggest the ultra-wide Ca^{2+} spread in astrocytes may contribute to seizure spread and/or abnormal synchronization in epileptic seizures (ictogenesis). We plan to perform additional experiments to clarify the causal relationship between them.

10) The clarification of pathophysiological findings and exploration study of neurophysiological biomarker for epileptic children

Yoshimi Kaga, Kei Tamaru, Toshiki Inumaru, Fumikazu Sano, Toshinobu Fukao, Sayaka Ishii, Kakuro, Aoyagi

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yamanashi University

Although it is known that epilepsy, sleep, and cognitive function are closely related, there are few reports objectively evaluating the effects of sleep on cognitive function in children with epilepsy. Therefore, the purpose of this study was to clarify the relationship between cognitive function and sleep in children with epilepsy using neurophysiological and psychological techniques such as polysomnography (PSG) and EEG frequency analysis. Study 1: Seven children with epilepsy were evaluated for sleep using PSG, and the relationship between EEG frequency analysis and cognitive function was investigated. Cases with cognitive dysfunction had shorter REM sleep and higher power values of 12 Hz slow spindle with frontal dominance. All epileptic children with cognitive dysfunction showed slow wave EEG on awakening, suggesting reduced daytime brain function and possible frontal lobe dysfunction. Study 2: Frequency analysis of sleep stage 2 spindle in 13 children with epilepsy using the interictal EEG used in routine clinical practice revealed that frontal spindle power values were higher in frontal lobe epilepsy and atypical childhood focal epilepsy cases. These findings suggest that children with epilepsy, especially those with cognitive dysfunction, have poor sleep quality, and that poor sleep quality may induce cognitive dysfunction. The frontal spindle may be useful in assessing cognitive function in children with epilepsy.

11) Formation of Telemedicine promotion model using epilepsy PHR system

Shin Okazaki

Department of Child Neurology, Osaka City General Hospital

The burden of going to the hospital for epilepsy patients is large. In addition, medical institutions that

provide epilepsy treatment are unevenly distributed in urban areas, and it is difficult for patients living in mountainous areas or remote islands to receive adequate treatment. Telemedicine can equalize epilepsy care and is expected to improve the quality of life of many epilepsy patients.

This time, as a telemedicine device system that is optimal for epilepsy treatment, we conducted the simulated medical practice, using a prototype of the online medical treatment service "nana-medi" (KNOCK ON THE DOOR Inc.) that uses a telemedicine device linked to the epilepsy PHR (Personal Health Record), we considered building a telemedicine system that is easy for patients, families, and hospitals to use.

The subjects were family members of intractable epilepsy patients who had difficulty in going to the hospital. Information such as seizures and medication history saved in the PHR application "nanacara" (KNOCK ON THE DOOR Inc.) for epilepsy patients was shared with the doctor's PC to proceed with medical care. In addition, while confirming the clerical work of the medical affairs department of our Hospital, we also examined degree of reduction of a medical affairs department's burden. The simulated clinic confirmed that it is possible to perform the following functions: interview, checking symptoms and prescription history, videophone, online payment and paperwork.. In addition, it was verbally confirmed that the burden on the medical affairs staff was not too great.

This study suggests that using a telemedicine device linked to an epilepsy PHR may also be helpful for pediatric epilepsy patients and their families. The development of PHR system is expected to improve the convenience of telemedicine for epilepsy and to advance epidemiological research and epilepsy treatment. For that reason, it is necessary to increase the number of hospitals that can provide online medical care.

12) The Relationship between Sleep Indices and Psychosocial and Functional Abilities in Adult Epilepsy Patients

Kentaro Matsui

Department of Clinical Laboratory, National Center Hospital NCNP

Sleep deprivation has long been reported to lower the seizure threshold and provoke seizure onset in patients with epilepsy. However, qualitative sleep disturbances have also been identified as significant factors for seizure prevention. The impact of objectively measured sleep fragmentation on the psychosocial and functional abilities of adult epilepsy patients remains insufficiently explored. In our retrospective investigation, PSG was performed on 83 adult epilepsy patients from April 2019 to March 2023. Sleep-disordered breathing was the most common comorbid condition, accounting for approximately 69% of cases. Although recent research highlights the importance of functional recovery in various mental disorders, no study has examined the relationship between OSA comorbidity, sleep fragmentation from PSG, and psychosocial functioning. In adults with epilepsy,

examining the relationship between objective sleep measures, including OSA severity, and psychosocial and functional abilities is essential to accurately assess patient status and provide appropriate treatment and lifestyle support. We plan to conduct an observational study in the next year to clarify these relationships.

13) National Epilepsy Regional Clinical Cooperation System Project in Japan

Eiji Nakagawa

Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center,, National Center Hospital, NCNP

Introduction: Epilepsy care in Japan has been provided by departments such as pediatrics, psychiatry, neurology and neurosurgery, resulting in a situation where not only patients but also medical institutions do not know which medical institution provides specialized epilepsy care in many regions.

Methods: In view of this situation, each prefecture selects a medical institution to provide measures against epilepsy and designates one of the medical institutions specializing in the treatment of epilepsy as an epilepsy treatment center, which provides specialized consultation support, and cooperation and coordination with other medical institutions, local authorities, and patients' families.

Result: After a three-year model project, the project became the main project in 2018. The duties of the epilepsy treatment centers include: specialized consultation support and treatment for epilepsy patients and their families; advice and guidance to medical institutions in the area; cooperation and coordination with mental health and welfare centers, health centers, municipalities, welfare offices and public employment security offices; training for medical personnel, staff of relevant institutions, epilepsy patients and their families; and public awareness raising activities for epilepsy patients and their families, local residents and other people with epilepsy. The epilepsy medical support coordinator plays an important role in this epilepsy support project. A coordinator training and certification system was launched in 2020 to educate and train coordinators. In addition, to expand the scope of epilepsy treatment, medical facilities providing epilepsy treatment nationwide are listed on the website of the National Epilepsy Support Network.

3. How to proceed with future research:

As a nationwide epilepsy support center under the Ministry of Health, Labour and Welfare's Epilepsy Regional Clinical Cooperation System Project, the Epilepsy Clinical Support Network has been established and approximately 1,523 medical departments have been registered. In the future, through the Epilepsy Medical Support Network, the telemedicine business will be developed and the epilepsy medical device will be used to conduct analysis by combining test data such as images, blood, and electroencephalogram (EEG) in epilepsy and comorbid psychiatric symptoms and neurodevelopmental disorders with digital phenotyping data such as seizure symptoms, behavior, and

physical findings using AI technology to make early diagnosis possible. The project aims to promote research and development of medical device programs and other programs that enable early diagnosis through combined analysis, and to establish the introduction of effective medical and surgical treatment methods through early and appropriate evaluation and diagnosis.

In FY2023, the 56th Annual Meeting of the Japanese Epilepsy Society is scheduled to be held. We hope to further improve the level of our research.

研究課題番号: 4-6

研究課題: データサイエンスと計算論研究の融合による脳病態研究の推進

主任研究者: 本田学 (NCNP 神経研究所・疾病研究第七部 部長)

総括研究報告

1. 研究目的

データサイエンス・AI 技術と脳計算理論を融合的に用いた精神・神経・筋疾患ならびに発達障害の脳病態解明・診断・治療・予防法の開発の推進、およびそのための基盤構築を行う。以下の小項目をそれぞれ具体的な目的とする。

① 脳病態 AI 活用研究推進のための体制・基盤構築

NCNP 病院や NCNP バイオバンク、各研究所に蓄積されたリサーチリソースを最大限に活用した先導的研究を推進するための基盤を整備する。

② AI を活用した脳病態臨床・基礎ビッグデータ解析手法の開発(データ駆動型研究)

遺伝子・分子情報、神経生理学的データ、臨床・疫学情報といった高次元ビッグデータをデータサイエンス技術によって解析し、各水準での特性を反映した特徴量抽出技術を開発するとともに、それらの水準間を架橋する解析技術・理論を開発する。

③ 脳計算理論・統計数理に基づく脳病態モデリング(理論駆動型研究)とデータ駆動・理論駆動の統合的アプローチの開発 神経回路モデルなどを用いて脳計算理

論を計算機実装し、精神・神経疾患の病態モデリングを行うことで、脳病態解明と最適な治療的介入手法開発に資する仮説の提案を行う(理論駆動型研究)。さらに提案する脳計算理論と実際の基礎・臨床データとを照合する融合的アプローチを用いることで、精神・神経疾患の新しい疾病概念・個別化医療技術の創出につなげる理論・技術の開発を行う。

2. 研究組織

主任研究者

・本田学 (NCNP 神経研究所・疾病研究第七部)

分担研究者

・星野幹雄 (NCNP 神経研究所・病態生化学研究部)

・西野一三 (NCNP 神経研究所・疾病研究第一部、メディカルゲノムセンター)

・間野達雄 (NCNP 神経研究所・疾病研究第四部)

・山下祐一 (NCNP 神経研究所・疾病研究第七部)

・三浦健一郎 (NCNP 精神保健研究所・精神疾患病態研究部)

・伊藤正哉 (NCNP 認知行動療法センター)

・大庭真梨 (NCNP 病院 臨床研究・教育研修部門 情報管理・解析部)

- ・宮下聡（新潟大学 脳研究所 システム脳病態学分野）
- ・植木優夫（長崎大学 情報データ科学部）
- ・片平健太郎（産業技術総合研究所 人間情報インタラクション研究部門）

研究協力者

- ・高橋雄太（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・小島大樹（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・山口博行（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・出井勇人（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・宗田卓史（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・内田裕輝（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）
- ・小林般（NCNP 神経研究所・疾病研究第七部）

3. 研究成果

① 体制・基盤構築

- (1) 脳病態 AI センター(BAIC)設立準備室（室長：永田充生 NCNP 企画戦略局長、室長代理：本田）を発足させ、情報基盤整備の設計立案、必要な設備・人材の確保を行った（本田）。
- (2) NCNP 内に設立準備室の区画を設置し、NCNP 内外の情報基盤を高速につなぐ10Gネットワーク回線、および外部からの接続に関するセキュリティ環境を整備した（本田）。
- (3) 知識情報基盤構築の専門家を新規に

BAIC 設立準備室特任室長に採用するため、複数の候補者とヒアリングを行った。2023年度4月より、慶應義塾大学医学部 立森教授を特任室長（兼任）として採用した（本田）。

(4) 世界最大規模の UK Biobank とデータ使用契約を締結し、データを活用できる体制を整えた（本田）。

(5) 脳病態数理・データ科学セミナーを隔月（年度内計6回）開催し、データベースやAI活用のための教育を行った（山下）。

② データ駆動型研究

(6) 低悪性度てんかん原生腫瘍などの検体について、total RNA シークエンシングを行い、検体の特徴を表出するクラスタリングに成功した（星野）。

(7) 筋病理診断アルゴリズムを利用した筋病理鑑別アプリケーションの開発を進めるとともに、罹患筋の障害度を Mercuri score により分類したデータセットを作成した（西野）。

(8) 高感度ヒストン修飾解析系、および、Flow cytometry を用いた細胞核の分取技術の立ち上げをおこなった（間野）。

(9) 眼球運動と認知機能データを組み合わせ、健常者と統合失調症を高い精度で判別できるモデルを作成した（三浦）。

(10) 心理療法における AI 技術応用可能性に関する文献調査とヒアリングを実施した（伊藤）。

(11) 精神疾患レジストリ解析の研究計画について審査と承認を得て、データのクリーニング・解析に着手した（大庭）。

③ 理論駆動型研究・統合的アプローチ

(12) 多モダリティ変分自己符号化器を用いた特徴表現学習手法(データ駆動的手法)の開発に加え、強化学習・予測情報処理モデルを用いた、意思決定行動・知覚認知プロセスのモデル化(理論駆動的手法)を行った。さらに、それらを統合する試みとして予測情報処理モデルにおけるパラメータ間相互作用について安静時 fMRI データを用いた検証を行った(山下)。

(13) Variational Autoencoder を適用することで細胞遺伝子発現の高精度な再現に成功し、ヒトてんかん患者のシングルセル RNA シーケンシングデータの解析を開始した(宮下)。

(14) 非線形ランダム効果とベータ負の二項分布を用いたデータサイエンス手法を用いた時空間的モデリングによって、既存モデルの課題を緩和できることを示した(植木)。

(15) 所与のサブタイプ分類の予測の精度を測る指標である Cost of cluster-mean based prediction (CCMP) を提案し、シミュレーションとオープンデータへの適用を通してその有用性を明らかにした(片平)。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】

計 13 件(うち査読付論文 9 件)

1. Sano, T., Kawazoe, T., Shioya, A., Mori-Yoshimura, M., Oya, Y., Maruo, K., Nishino, I., Hoshino, M., Murayama, S., & Saito, Y. (2022). Unique Lewy pathology in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology: official journal of the Japanese Society of*

Neuropathology, 42(2), 104–116.

<https://doi.org/10.1111/neup.12790> (査読有)

2. Sato, K., Niimi, Y., Mano, T., Iwata, A., & Iwatsubo, T. (2022). Automated Evaluation of Conventional Clock-Drawing Test Using Deep Neural Network: Potential as a Mass Screening Tool to Detect Individuals With Cognitive Decline. *Frontiers in neurology*, 13, 896403. <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.896403> (査読有)
3. Uchida, Y., Hikida, T., & Yamashita, Y. (2022). Computational Mechanisms of Osmoregulation: A Reinforcement Learning Model for Sodium Appetite. *Frontiers in neuroscience*, 16, 857009. <https://doi.org/10.3389/fnins.2022.857009> (査読有)
4. Ito, S., Miura, K., Miyayama, M., Matsumoto, J., Fukunaga, M., Ishimaru, K., Fujimoto, M., Yasuda, Y., Watanabe, Y., & Hashimoto, R. (2022). Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 76(11), 602–603. <https://doi.org/10.1111/pcn.13465> (査読有)
5. Nagamitsu, S., Kanie, A., Sakashita, K., Sakuta, R., Okada, A., Matsuura, K., Ito, M., Katayanagi, A., Katayama, T., Otani, R., Kitajima, T., Matsubara, N., Inoue, T., Tanaka, C., Fujii, C., Shigeyasu, Y., Ishii,

R., Sakai, S., Matsuoka, M., Kakuma, T., Horikoshi, M. (2022). Adolescent Health Promotion Interventions Using Well-Care Visits and a Smartphone Cognitive Behavioral Therapy App: Randomized Controlled Trial. *JMIR mHealth and uHealth*, 10(5), e34154.
<https://doi.org/10.2196/34154> (査読有)

【図書】

計 4 件

1. 間野達雄, 岩田淳 (2022 年 7 月), 加齢脳とエピジェネティクス異常, 老年精神医学雑誌, ワールドプランニング, pp. 715-720.
2. 間野達雄, 岩田淳 (2022 年 7 月), 【Endosome、Lysosome、Exosome-小胞とは?】 Exosome と疾患: アルツハイマー病, *Clinical Neuroscience*, 中外医学社, Exosome と疾患, pp.862-864.
3. Tatsuo Mano, Atsushi Iwata (2022 年 8 月), [Section VII: Autophagy and other disorders causing dementia] Autophagy and Huntington's disease, *Autophagy dysfunction in Alzheimer's disease and dementia*, Academic press, pp.245-262.
4. 山下祐一 (2022 年 11 月), 計算論的精神医学の視点からみた統合失調症, 統合失調症という問い, 日本評論社, pp.163-186.

【学会発表】

計 15 件

1. Hoshino M, Research on brain

development and disorders by utilizing spontaneous mutant animals, NEURO2022, July 2022, Okinawa, Japan (招待講演).

2. Yamashita Y, Psychiatric and neurodevelopmental disorders as failures in hierarchical predictive process: neurorobotics approach, International Symposium on Artificial Intelligence and Brain Science (AIBS2022), July 2022, Okinawa, Japan (招待講演).
3. 山下祐一, 計算論的精神医学: 数理・データ科学を用いて精神疾患を理解する, 日本神経科学会・教育講演, 2022 年 6-7 月, 沖縄 (招待講演).
4. 三浦健一郎, 臨床現場で使えるタブレットを用いた統合失調症の補助診断法の開発, 第 41 回日本精神科診断学会, 2022 年 9 月, オンライン.
5. 宮下聡, 発生期小脳顆粒細胞における一過的な神経前駆細胞の増殖メカニズム, NEURO2022, 2022 年 7 月, 沖縄.

分担研究報告書

(課題名) マルチオミックスデータを用いた脳病態解明

(所属) 国立精神・神経医療研究センター
病態生化学研究部

(氏名) 星野 幹雄

緒言

てんかんの発症・進展機構の理解は不足しており、現在は対症療法が治療の主流である。本研究では、NCNP のバイオリソースに蓄積されているてんかん手術検体から、ゲノム、トランスクリプトーム、プロテオーム情報を取得し、様々なビッグデータ AI 解析を行うことによって、てんかんの細胞内病態仮説を抽出する。さらにそれを、遺伝子改変マウス、遺伝子導入マウス等を用いて検証する。これにより、新たなてんかんの疾患概念の提唱と分類の提案をすることができる。また、細胞内情報伝達におけるハブ因子を同定することで、そのインヒビター、アクチベーターを用いた新たな治療法の開発も目指す。

方法

今年度は、NCNP バイオバンクのてんかん手術脳検体を用いて、total RNA-seq を行う。また、一部の検体については、単一核(sn)RNA-seq を行う。得られたデータをバイオインフォマティクス解析し、てんかん病態を理解するための基盤となる情報を集める。

結果

(1) LEAT (低悪性度脳腫瘍によるてんか

ん) について。

48 検体の total RNA-seq データの取得を完了した。また LEAT の大部分の検体について遺伝子変異(VRAF や FGFR1 など)を同定した。遺伝子発現に基づくクラスタリングにより、同じ遺伝子変異を持つ LEAT の中でもサブクラスターの存在が示唆され、それぞれが異なる病態を反映している可能性が示唆された。さらに、3 検体については、snRNAseq のデータ取得を完了したので、これから解析を行う。

(2)FCD (限局性皮質異形成症) についてほぼ全ての検体について、mTOR パネルによる遺伝子変異の検出を完了している。また、10 検体の total RNAseq データを取得したが、この検体すうは今後も増やす予定である。それに先行して、mTOR 遺伝子そのものに遺伝子変異を持つ 6 検体については、先行して snRNAseq を行った。そのデータをコントロール (5 検体) のデータと比較し、各細胞種ごとで異なる発現をする遺伝子群(DEG)を抽出した。詳細な解析はこれからである。また、一部の検体については、mTOR 系の活性をウエスタンブロットで調べた。

考察

まだ全てのデータを取得しているわけではないので、次年度もデータ取得に努める。もちろん、次年度からはデータ解析に本格的に取り組む。病態仮説が描出されたら、モデルマウスを用いてその仮説を検証することになる。

結論

NCNP バイオバンクの貴重な手術脳検体

を用いて、近年の技術進歩によって可能となるマルチオミックス解析を行うことで、大きなブレークスルーが果たされるものと期待している。

参考文献

1. Fujiyama T, Takenaka H, Asano F, Miyanishi K, Hotta-Hirashima N, Ishikawa Y, Kanno S, Seoane-Collazo P, Miwa H, Hoshino M, Yanagisawa M, Funato H. Mice Lacking Cerebellar Cortex and Related Structures Show a Decrease in Slow-Wave Activity With Normal Non-REM Sleep Amount and Sleep Homeostasis. *Front Behav Neurosci.* 2022, 16:910461.
2. Hashimoto Y, Kuniishi H, Sakai K, Fukushima Y, Du X, Yamashiro K, Hori K, Imamura M, Hoshino M, Yamada M, Araki T, Sakagami H, Takeda S, Itaka K, Ichinohe N, Muntoni F, Sekiguchi M, Aoki Y. Brain Dp140 alters glutamatergic transmission and social behaviour in the mdx52 mouse model of Duchenne muscular dystrophy. *Prog Neurobiol.* 2022, 216:102288.
3. Sano T, Kawazoe T, Shioya A, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Maruo K, Nishino I, Hoshino M, Murayama S, Saito Y. Unique Lewy pathology in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology.* 2022, 42(2):104-116
4. Inoue, Y.U., Miwa, H., Hori, K., Kaneko, R., Morimoto Y., Koike, E.,

Asami, J., Kamijo, S., Yamada, M, Hoshino, M. and Inoue, T.: Targeting Neurons with Functional Oxytocin Receptors: A Novel Set of Simple Knock-In Mouse Lines for Oxytocin Receptor Visualization and Manipulation. *eNeuro.* 9(1): 0423-21, Feb, 2022

分担研究報告書

(課題名) AI を用いた筋疾患診断支援システム開発

(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) 西野 一三

緒言

AI を活用する事で、専門家の少ない筋疾患診断支援ツールの開発を目指す。このようなツールの開発を行うことで、地球規模での筋疾患医療均てん化に寄与することを目指す。具体的には、1) 筋病理診断支援アルゴリズムおよび2) 画像診断補助ツールの開発を目指す。1) についてはこれまでに開発したアルゴリズムを更に進化させるべく、他施設データを使用した場合の診断率低下の克服を目指す。2) については、各種筋疾患について罹患筋の障害度を Mercuri score により分類したデータセットを作成し、これに対して random forest supervised machine learning を用いたモデル作成を目指す。

我々は筋病理 HE 染色標本を CCD カメラで取り込んだ画像を用い、筋炎と遺伝性筋疾患を、さらには、筋炎を免疫介在性壊死性ミオパチー、皮膚筋炎、抗合成酵素諸症候群、封入体筋炎に、遺伝性筋疾患をジストロフィノパチー、ジスフェルリノパチー、カルパインノパチー、先天性ミオパチーなどに高確度で分類できることを示した (Lab Invest 2022)。これは世界で初めての AI を活用した筋病理診断アルゴリズムである。筋病理を評価するアルゴリズムを

開発したのは、世界で我々のグループのみである。本研究課題に小居ては、この成果をさらに発展させて、より汎用性の高いアルゴリズムへと進化させることを目指す。また筋画像をもちいた診断アルゴリズムの開発についても検討を行う。これらのアルゴリズム開発には充実したデータセットが不可欠であるが、NCNP は世界最高峰の筋レポジトリを有しており、課題達成に極めて有利な条件を備えている。

方法

1) 筋病理診断支援アルゴリズム開発

これまでに開発したアルゴリズムを更に進化させるべく、構築を進めてきた筋炎判別アプリを AWS 上で稼働させ、他施設の筋病理医に利用してもらうことで、現在の筋炎判別モデルとそのアプリに対する評価を客観的に受け取り、改善する。また他施設でのデータを使用した場合の診断率低下の克服を目指す。

2) 画像診断補助ツール開発

各種筋疾患について罹患筋の障害度を Mercuri score により分類したデータセットを作成し、これに対して random forest supervised machine learning を用いたモデル作成を目指す。

結果

1) 筋病理診断支援アルゴリズム開発

他施設で筋病理診断支援アルゴリズムを使用できる様、安全で信頼性の高い AWS 環境を構築し、運用テストを行った。また本研究について、2023 年 1 月倫理承認を得た。

2) 画像診断補助ツール開発

OPDM について罹患筋の障害度を Mercuri score により分類したデータセットを作成した。LRP 遺伝子、GIPC 遺伝子、NOTCH2NLC 遺伝子のいずれの遺伝子を原因遺伝子とした OPDM も同様の画像パターンを呈した。また OPDM との鑑別には中殿筋、大殿筋、大内転筋が有用であることが分かった。

考察・結論・今後の展望

- 1) AWS 環境は構築され、他施設での運用テストが可能な状況が整った。限定されたユーザーに公開、検証とデータ収集を進めるためのオリエンテーションを調整中である。
- 2) OPDM の解析結果については論文投稿中である。他の筋疾患についても各筋の Mercuri score のデータ収集を行っており、random forest supervised machine learning を用いたモデル作成を目指す。

参考文献

1. 大久保真理子, 壁谷佳典, 西野一三: 「人工知能 (AI) による筋病理判読アルゴリズム」の開発. Brain Nerve. 74(8): 1019-1024, Aug, 2022
2. 西野一三: AI を用いた筋病理診断アルゴリズム. 第 63 回日本神経学会学術大会 (東京国際フォーラム), 千代田区, 5.20, 2022 (5.18-5.21)
3. 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

4. Kabeya Y, Iwamori T, Yonezawa S, Takeuchi Y, Nakano H, Nagisa Y, Okubo M, Inoue M, Tokumasu R, Ozawa I, Takano A, Nishino I: AI-based muscle histopathologist can differentiate major muscular dystrophies better than human. 24th International Congress of the World Muscle Society (Tivoli Concert Hall), Copenhagen, Denmark, 10.4, 2019(10.1-5)

分担研究報告書

(課題名) 神経変性過程における包括的エピゲノムアプローチ

(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) 間野 達雄

緒言

孤発性神経変性疾患は遺伝性背景と後天的要因が複雑に関連しあって病態を形成している。このような病態理解において死後脳を出発点とした網羅的解析が重要であり、本研究では神経変性疾患のエピゲノム変化から病態を理解する。従来のエピゲノム解析は脳全体を用いた研究がなされてきているが、個々の細胞において異なる反応が起きているのに対して、全体を用いた解析は平均化してそれぞれの変化への感度が乏しい。従って、本研究では特に、神経変性過程における神経細胞、グリア細胞（アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリア）のエピゲノム解析を行い、ゲノムワイドに起きている現象を明らかにする。

方法

脳組織における主要な細胞群について、それぞれの核および細胞質マーカーの検索を行う。その上で、フローサイトメトリーに利用可能な抗体について蛍光標識を行い、脳組織から分離した核の染色を行い、それぞれの細胞種を適切に染色できていることを確認する。これらの抗体を用いて、各種細胞核をフローサイトメトリーにより分離し、CUT&Tag法によるヒストン修飾解析を行った。

結果

神経細胞およびアストロサイトについては、細胞質マーカー(NeuN および GFAP)を用いて分離することが可能であった。オリゴデンドロサイトおよびミクログリアについては、核マーカー(Olig2 および PU.1)を用いることにより分離可能であった。ヒストン修飾解析については、HH3K4me3 および H3K27ac について行い、5000 個の核からゲノムワイドのヒストンプロファイルデータを得ることができた。Technical replicate ではいずれも相関係数 0.9 以上と、少ない細胞数から良好な再現性のあるデータを得ることができた。Gene ontology 解析ではそれぞれの細胞種の機能を反映した遺伝子領域のピーク検出ができていることを確認した。

考察

細胞種特異的な解析を行うにあたって、(1)少数の核から効率の良い方法でライブラリ調整をする、(2)細胞種に応じたマーカーを選択する、という2点が課題であり、本検討から解決することができた。本検討で確立した手法を疾患モデル、および患者脳に適用することで細胞種ごとの病態をエピゲノム解析からアプローチすることが可能となる。

結論

細胞種特異的ヒストン修飾解析の手法を確立した。実験間の再現性も高く、疾患脳およびモデル系に適用する。

参考文献

1. 間野達雄、岩田淳、ワールドプランニング、老年精神医学雑誌 加齢脳とエピジェネティクス異常、2022年7月、6ページ

分担研究報告書

(課題名) 脳計算理論を用いた精神疾患病態メカニズムの解明

(所属) 国立精神・神経医療研究センター
疾病研究第七部

(氏名) 山下祐一

緒言・背景

現行の精神障害カテゴリーは、生物学的基盤の非特異性と異種性のため、その生物学的妥当性に疑問が投げかけられている。近年、数理・データ科学を用いた研究手法が注目され、精神医学が直面するこの問題を解決する上で極めて強力な研究方略を提供することが期待されている。実際、精神医学に数理・データ科学を用いた研究報告も増加しているが、それらの多くが依然として現行の疾病カテゴリー分類に基づいて実施されている。特に、データ駆動型の研究では、症状、神経生理学、認知行動など、水準の相関を明らかにするものの、そのメカニズムになかなか迫れないという困難がある。これに対して、本研究では、疾患横断的・次元的アプローチに基づいて、データ駆動と理論駆動を用いた統合的アプローチを試みる。

研究の目的

本研究の目的は、精神障害に関する症状・神経生理・認知行動のビッグデータに対して、データ科学・機械学習技術を用いたデータ駆動的な手法と、脳の計算理論に基づく理論駆動的な手法を組み合わせることで、精神障害の統合的理解と新しい疾病概念を創出するための基盤技術を開発することであ

る。

研究の方法

データサイエンス・機械学習技術を用いた「データ駆動」的手法として、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（変分自己符号化器など）を用いた特徴量抽出法を探索的に検討する。同時に、「理論駆動」的手法として、ベイズ推論・強化学習などの脳の計算理論に基づいて、各水準間のデータ生成を説明する病態モデルを提案し、個別データの違いをモデルのパラメータ・特徴量として表現することを試みる。

得られた特徴量に基づいて、既存の精神障害カテゴリーにとらわれない疾患横断的・次元的アプローチに基づいて、疾患亜型を探索的に検討し、精神障害の統合的理解と新しい疾病概念を創出することを試みる。

結果

データ駆動的な手法として、深層深層ニューラルネットワークの一種である、多モダリティ変分自己符号化器を用いた特徴表現学習手法の開発と、認知機能モデリングとしての適用可能性の検討を行った。理論駆動的な手法として、強化学習モデル、予測情報処理モデルを用いた、意思決定行動・知覚認知プロセスのモデル化を行った。さらに、これらのアプローチを統合する試みとして、予測情報処理モデルによって予測されるパラメータ間の相互作用を、実際の精神疾患における安静時 fMRI データを用いて検証した。

今後は、これらの成果に基づいて、データ

駆動的手法、モデル駆動的手法によって得られた特徴量に基づいて、既存の精神障害カテゴリーにとらわれない疾患横断的・次元的方法に基づいて、疾患亜型を探索的に検討し、精神障害の統合的理解と新しい疾病概念を創出することを試みる。

考察

本研究により、従来の疾患カテゴリーに基づく精神医療では困難であった、患者個人の人々の特性に応じた病状評価・疾患経過や治療反応性予測といったオーダーメイド医療の進歩に貢献する可能性がある。

主な発表論文等

1. Idei H, Ohata W, Yamashita Y, Ogata T, Tani J. Emergence of sensory attenuation based upon the free-energy principle. *Sci Rep* 12, 14542, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-18207-7>, 2022Aug, 査読有
2. Uchida Y, Hikida T and Yamashita Y, Computational Mechanisms of Osmoregulation: A Reinforcement Learning Model for Sodium Appetite. *Front. Neurosci.* 16:857009, 2022May. doi: 10.3389/fnins.2022.857009, 査読有
3. Takahashi Y, Murata S, Ueki M, Tomita H, & Yamashita Y (2022) Interaction between functional connectivity and neural excitability in autism: A novel framework for computational modeling and biological validation. *PsyArXiv*. 28 Apr. 2022, <https://doi.org/10.31234/osf.io/ut39r>

, 査読無

4. 山下 祐一, 計算論的精神医学：精神医学における計算理論と知能モデルの役割と展望, *日本神経回路学会誌* 29 巻, p. 37-40, 2022Jun. <https://doi.org/10.3902/jnns.29.37>, 査読無
5. Noda K, Soda T, & Yamashita Y, Emergence of Number Sense in Deep Multi-modal Neural Networks. *PsyArXiv*. 2022Aug. doi:10.31234/osf.io/4bfam, 査読無.

分担研究報告書

(課題名) 精神神経疾患の中間表現型情報による分類・層別化の研究

(所属) 国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所・精神疾患病態研究部

(氏名) 三浦健一郎

緒言

精神疾患の脳病態はまだ明らかになっておらず、そのためには臨床検査などで取得された中間表現型ビッグデータの解析が必須である。しかし、精神疾患の多次元データから診断や治療に有益な情報を得る試みは始まったばかりであり、そのための確立した方法はまだない。本研究では、精神神経疾患の脳病態研究を推進するための基盤整備に資するため、精神疾患の包括的なリサーチリソースデータベースに集積された中間表現型データを用いて、データサイエンスを活用した疾患の分類・層別化のための方法を開発する。

方法

ヒト脳表現系コンソーシアムデータベースに集積されたデータのクオリティチェックを行い、使用可能なデータを抽出する。次いで健常者および患者から収集された特徴量を算出し、それを要素として含む多次元中間表現型データを構成する。その多次元データを用いて、多変量解析手法及び機械学習法を適用し、精神疾患の分類・層別化を試みる。

R4年度は、眼球運動、認知機能、脳神経画像をはじめとする中間表現型データのクオリティチェックを行いデータベースの整

備を進めつつ中間表現型と症状などとの関連についての基礎的知見を得た[1]。また、以下に記すように、眼球運動と認知機能の組合せによる統合失調症と健常者の分類を試みた[2]。

注視、追跡運動、自由視などの種々の課題を用いて得られる眼球運動の各種特徴量及びウェクスラー式知能検査(WAIS-III)及び記憶検査(WMS-R)によって定量化される各検査のスコアからなる認知機能データを組み合わせて特徴量ベクトルを構成し、L1正則化及びL2正則化に基づくロジスティック回帰分類器を構成し、その性能を評価した。さらに眼球運動及び認知機能の特徴量からそれぞれ一つずつの特徴量のペアを用いて分類器を構成し、その正診率を評価した。

尚、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」を遵守した研究計画書を作成し、研究施設での倫理委員会の承認を得て参加者からは書面による同意を得て実施した。

結果

眼球運動 16項目と認知機能 25項目の計 41項目の特徴量を用いた L2 正則化に基づくロジスティック回帰分類器は、トレーニングセットとテストセットに対してそれぞれ 92.0%と 75.8%の正診率を示した。また、41項目を用いた L1 正則化に基づくロジスティック回帰分類器では、トレーニングセットとテストセットでそれぞれ 93.2%と 81.6%の正診率を示した。L1 正則化に基づく分類器には、眼球運動の自由視課題におけるスキャンパスの長さ及び WAIS-III の符号、算数、記号探し、理解の 5つ

の検査のスコアの回帰係数が非ゼロであった。眼球運動及び認知機能の特徴量からそれぞれ一つずつの特徴量の組合せを用いた解析では、WAIS-III の眼球運動の特徴量と符号あるいは記号探索の組合せにおいて高く、ロバストな正診率（トレーニングセットとテストセットの両方に対し>80%）を示した。

考察

眼球運動は視覚機能を維持する脳の生理的な感覚運動機能である。一方、WAIS-III や WMS-R は、脳の高次統合機能を評価するものである。これらは脳病態の異なる側面を反映したものと考えられる。本研究の結果は、中間表現型情報を組み合わせた多次元情報を持ちることにより高い正診率を持つ分類器を構成できることを示唆する。統合失調症を客観的に検査する試みがいくつか行われている中で、眼球運動や認知機能の検査は、タブレットなどの小型の情報機器を用いて非侵襲的に行うことができるという利点がある。また、本研究の結果は、短時間で行うことができるわずか数個の検査で 80%以上の高い正診率が得られることを示している。さらに、特別な訓練を受けたスタッフ無しに遠隔で実施できるように構成できる可能性もあり、近年発展してきているデジタルヘルスとしての実用性が高いと考えられる。

精神科医は、ICD-11 や DSM-IV/5 などの診断基準を用いて統合失調症を診断し、PANSS などを用いて症状を評価する。しかし、症状が曖昧な場合には、統合失調症の有無の鑑別が困難なこともある。本知見を応用した医療機器は、そのような場合

に、より正確な臨床診断に寄与する可能性がある。また、治療にあたっては、客観的情報の提示により、医師と患者の間の shared decision making の促進にも寄与すると考えられる。

結論

眼球運動と認知機能の中間表現型特徴量を組み合わせることで、健常者と統合失調症を高い正診率で判別することができる。これらの中間表現型は、統合失調症の臨床診断を補助する際に有効である。本結果は、より正確な診断及び、医師間の診断の一貫性の向上、患者と医師の間の shared decision making を助ける客観的な補助診断法の開発に寄与する。

参考文献

- [1] Ito S, Miura K, Miyayama M, Matsumoto J, Fukunaga M, Ishimaru K, Fujimoto M, Yasuda Y, Watanabe Y, Hashimoto R. Association between globus pallidus volume and positive symptoms in schizophrenia. *Psychiatry Clin Neurosci.*, 76, 602-603, 2022.
- [2] Okazaki K, Miura K, Matsumoto J, Hasegawa N, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Makinodan M, Hashimoto R. Discrimination in the clinical diagnosis between patients with schizophrenia and healthy controls using eye movement and cognitive functions. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2023, in press.

分担研究報告書

(課題名) 認知行動療法に関する人工知能技術の応用可能性の検討

(所属) 国立精神・神経医療研究センター
認知行動療法センター

(氏名) 伊藤正哉

諸言

心理療法の研究領域において、人工知能技術が積極的に活用されつつある

(Koutsouleris, 2022)。当センター主導により精神疾患レジストリが構築されてきたが、その一方で、心理療法に関するビッグデータの構築については今後の開発が期待されている。また、心理療法中のコミュニケーションにおいて、マルチモーダルでのセンシングデータを収集する手法も提案されつつある。産業分野でも、メンタルヘルステックへの巨額の資本が投入され、デジタル技術を応用した心理ケアのサービス構築が進んでいる。本年度は、様々な側面で発展を続ける心理療法分野における人工知能技術の適用について整理した。

方法

Pubmed等の文献データベース、及びウェブ上で関連する記事や報告書を調査し、心理療法に対して人工知能技術を適用する上で参考となる研究のレビューを行った。

結果

文献の動向 Pubmedにおいて

"psychotherapy" AND "artificial intelligence"と検索すると141件がヒットし、2016年まで年間5本以下だったが、

2022年には55本と10倍に増えている。

精神状態の識別や診断補助に関するAIの適用

メンタルヘルスに関連する研究において、データ駆動型のAI技術を用いて、大量のデータから特定の感情状態や精神症状を識別させようと試みる研究が複数報告されている。心理療法の研究においても、心理療法中の対話データに対して自然言語処理を適用し、セッションの評価や患者の精神状態を推論させる研究が報告されている(Graham et al., 2019)。モダリティーとしては、自然言語だけでなく、音声や顔認識技術を用いて、患者の感情を解析する試みもなされている(Poria, Cambria, Bajpai, & Hussain, 2017)。こうした技術は、患者が自身の感情を適切に表現できない場合や、非言語的な感情表現を解析するのに特に有用である(Calvo, D'Mello, Gratch, & Kappas, 2015)。また、統合失調症や精神科疾患の診断補助として自然言語マーカー(Corona Hernández et al., 2023)や音声マーカー(Cummins et al., 2015)を用いる試みや、自殺リスクの予測に応用する研究(Lejeune et al., 2022)も生まれつつある。

心理療法後の予後予測 プロセス、遺伝、デモグラフィック、臨床データといったマルチモーダルな69変数を用いて、インターネット認知行動療法後の寛解を予測する試みが報告されている(Wallert et al., 2022)。

AIを活用した介入 AIによる完全自動型のチャットボットを通して認知行動療法を提供する試みも進んでいる。その先駆けとなるWoebot社のアプリについて報告したFitzpatrick et al(2017)は1294回引用され

ており、同アプリは物質使用障害などにも拡大されている。興味深い知見として、36070 ユーザーに調査した結果、人間のセラピストに感じるのと同等の“絆”の感覚を、デジタル会話エージェントにも抱かれることが報告されている (Darcy et al., 2021)。

会話エージェントによる介入の 32 研究についてのレビューでは、17 研究がウェルビーイングの促進に、21 研究が精神症状の治療として報告されていた (Jabir et al., 2023)。ただし、AI によるメンタルヘルスアプリとして有効性が検証されているのは、Fitzpatrick et al (2017) のほか、2 研究に限られている (Milne-Ives et al., 2022)。

心理療法の補助 チャットボットや会話エージェントについての文献レビューでは、これらがセラピストと患者との間のコミュニケーションを促進したり、心理教育やアドヒアランスの補助となりうることを示している (Vaidyam, Wisniewski, Halamka, Kashavan, & Torous, 2019)。

アクセス性とコスト効率性 必ずしも AI が搭載されている必要はないが、デジタルプラットフォームは、リモート地域に住む患者や、コストや時間の制約から対面の治療にアクセスできない患者にとって、心理療法を受けるための手段を提供する (Kretzschmar, Tyroll, Pavarini, Manzini, & Singh, 2019)。これにより、心理療法へのアクセスが向上し、全体的なメンタルヘルスケアの質が向上する可能性がある (Torous, Myrick, Rauseo-Ricupero, & Firth, 2020)。また、チャットボットによって、心理療法を擬似的に体験することにより、心理療法活用の心理的抵抗を減らす

可能性も考えられる。

AI の活用に関するリスク 心理療法プロセスを支援するために機械学習を用いる危険性について指摘する論文もある。例えば、データの二次利用についての法規制が整備されていない現状にあって、個人情報が無断で第三者に売却される危険性が指摘されている (Lewanowicz et al., 2022)。また、AI による誤った判断や有害事象が適切に報告されるためのシステム整備や、そのような事態が発生した場合の責任の所在も明確化されておらず (Luxton, 2014)、多く課題が残されている。

結論

心理療法への AI 適用が進んでいるが、その多くはチャットボットによる介入が多い。自然言語以外では、音声や表情等のモダリティーを扱う研究も散見される。しかし、心理療法セッションにおける様々なモダリティーのデータを扱うような研究はまだかなり限定的である。AI を活用した心理療法に関する Ethical, Legal, Social Issue に関する議論も十分とは言えず、さらなる研究が必要である。

文献

- Calvo, R. A., D'Mello, S., Gratch, J., & Kappas, A. (2015). *The Oxford handbook of affective computing*. Oxford University Press.
- Corona Hernández, H., Corcoran, C., Achim, A. M., de Boer, J. N., Boerma, T., Brederoo, S. G., Cecchi, G. A., Ciampelli, S., Elvevåg, B., Fusaroli, R., Giordano, S., Hauglid, M., van Hessen,

- A., Hinzen, W., Homan, P., de Kloet, S. F., Koops, S., Kuperberg, G. R., Maheshwari, K., Mota, N. B., ... Palaniyappan, L. (2023). Natural Language Processing Markers for Psychosis and Other Psychiatric Disorders: Emerging Themes and Research Agenda From a Cross-Linguistic Workshop. *Schizophrenia bulletin*, 49(Suppl_2), S86–S92. <https://doi.org/10.1093/schbul/sbac215>
- Cummins, N., Scherer, S., Krajewski, J., Schnieder, S., Epps, J., & Quatieri, T. F. (2015). A review of depression and suicide risk assessment using speech analysis. *Speech communication*, 71, 10-49.
- Darcy, A., Daniels, J., Salinger, D., Wicks, P., & Robinson, A. (2021). Evidence of Human-Level Bonds Established With a Digital Conversational Agent: Cross-sectional, Retrospective Observational Study. *JMIR formative research*, 5(5), e27868. <https://doi.org/10.2196/27868>
- Fitzpatrick, K. K., Darcy, A., & Vierhile, M. (2017). "Delivering cognitive behavior therapy to young adults with symptoms of depression and anxiety using a fully automated conversational agent (Woebot): a randomized controlled trial". *JMIR Mental Health*, 4(2), e19.
- Graham S, Depp C, Lee EE, Nebeker C, Tu X, Kim HC, Jeste DV. Artificial Intelligence for Mental Health and Mental Illnesses: an Overview. *Curr Psychiatry Rep*. 2019 Nov 7;21(11):116. doi: 10.1007/s11920-019-1094-0. PMID: 31701320; PMCID: PMC7274446.
- Jabir, A. I., Martinengo, L., Lin, X., Torous, J., Subramaniam, M., & Tudor Car, L. (2023). Evaluating Conversational Agents for Mental Health: Scoping Review of Outcomes and Outcome Measurement Instruments. *Journal of medical Internet research*, 25, e44548. <https://doi.org/10.2196/44548>
- Koutsouleris, N., Hauser, T. U., Skvortsova, V., & De Choudhury, M. (2022). From promise to practice: towards the realisation of AI-informed mental health care. *The Lancet. Digital health*, 4(11), e829–e840. [https://doi.org/10.1016/S2589-7500\(22\)00153-4](https://doi.org/10.1016/S2589-7500(22)00153-4)
- Lejeune, A., Le Glaz, A., Perron, P. A., Sebti, J., Baca-Garcia, E., Walter, M., ... & Berrouiguet, S. (2022). Artificial intelligence and suicide prevention: a systematic review. *European psychiatry*, 65(1), e19.
- Lewanowicz, A., Wiśniewski, M., & Oronowicz-Jaśkowiak, W. (2022). The use of machine learning to support the therapeutic process - strengths and weaknesses. *Postepy psychiatrii neurologii*, 31(4), 167–173. <https://doi.org/10.5114/ppn.2022.125050>
- Luxton, D. D. (2014). Artificial intelligence

- in psychological practice: Current and future applications and implications. *Professional Psychology: Research and Practice*, 45(5), 332.
- Milne-Ives, M., Selby, E., Inkster, B., Lam, C., & Meinert, E. (2022). Artificial intelligence and machine learning in mobile apps for mental health: A scoping review. *PLOS digital health*, 1(8), e0000079. <https://doi.org/10.1371/journal.pdig.0000079>
- Kretzschmar, K., Tyroll, H., Pavarini, G., Manzini, A., & Singh, I. (2019). "Can your phone be your therapist? Young people's ethical perspectives on the use of fully automated conversational agents (chatbots) in mental health support". *Biomedical Informatics Insights*, 11, 1178222619829083.
- Poria, S., Cambria, E., Bajpai, R., & Hussain, A. (2017). "A review of affective computing: From unimodal analysis to multimodal fusion". *Information Fusion*, 37, 98-125.
- Torous, J., Myrick, K. J., Rauseo-Ricupero, N., & Firth, J. (2020). "Digital mental health and COVID-19: Using technology today to accelerate the curve on access and quality tomorrow". *JMIR Mental Health*, 7(3), e18848.
- Vaidyam, A. N., Wisniewski, H., Halamka, J. D., Kashavan, M. S., & Torous, J. B. (2019). "Chatbots and conversational agents in mental health: A review of the psychiatric landscape". *The Canadian Journal of Psychiatry*, 64(7), 456-464.
- Wallert, J., Boberg, J., Kaldo, V., Mataix-Cols, D., Flygare, O., Crowley, J. J., Halvorsen, M., Ben Abdesslem, F., Boman, M., Andersson, E., Hentati Isacsson, N., Ivanova, E., & Rück, C. (2022). Predicting remission after internet-delivered psychotherapy in patients with depression using machine learning and multi-modal data. *Translational psychiatry*, 12(1), 357. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02133-3>

分担研究報告書

(課題名) レジストリに蓄積される臨床ビッグデータを活用した予測モデル開発と精度評価

(所属) 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

(氏名) 大庭真梨

緒言

本研究では、臨床症状を中心に経時的に収集したレジストリビッグデータに対してデータサイエンス手法を適用し、特性を共有する集団の探索やイベント予測モデルの開発、およびその評価を行う。予測モデルとして統計モデル等を用い、精神・神経疾患、発達障害の病態モデリングを行うことで、脳病態解明や予測、介入手法開発に資する解析手法の提案を行うことを目標とする。

3年間で (1) 時系列データ解析手法と層化・予測モデル方法の情報収集 (文献的検討)、(2) 精神疾患レジストリ等の実データへの適用 (3) 成果発表を目指す。

方法

本年は医学研究における予測モデル構築の考え方について整理した。また、予測モデルおよび時系列データ解析に関する勉強会、文献的検討を行った。並行して、精神疾患レジストリデータの利活用申請、取得、取得後のクリーニング、テキスト情報のコード化、および基本的な集計を行った。

結果

医学研究における予測モデルの構築に関するガイドライン Transparent Reporting of a multivariable prediction model of Individual Prognosis Or Diagnosis (TRIPOD) statement、TRIPOD Explanation and Elaboration (E&E)、Protocol for development of a reporting guideline (TRIPOD-AI)をレビューし要点をまとめた。

・ TRIPOD statement および TRIPOD E&E¹

医学研究における予測モデルは時間の概念に基づいて診断予測モデルと予後予測モデルに大別され、前者は因子が測定された時点に有病である可能性、後者は将来までのある期間でアウトカムが発生する可能性を推定する。いずれも高い予測能を目指すもので、予測能評価には較正と識別と過剰適合の定量化が必要である。予測能評価は内部検証として、ブートストラップ法やクロスバリデーションにより行う。さらに外部検証も強く推奨される。外部検証データには、時間差や地域差のあるデータを使用されることが多く、予測と観測値に系統的なズレがあればモデルは検証データに基づき再較正される。

予測モデルの発表には以下の要素が必要である：データの詳細 (対象集団、サンプル数とイベント数、予測因子とアウトカムおよび測定方法、時期と追跡期間、欠測の有無と対処)、モデルのタイプと選択理由と構築過程、検証方法、検証に使用したデータ詳細等、および資金源である。これらは再現性や一般化可能性、バイアスリスク、

使い分けを理解するのに役立つ。線形モデルにおける変数選択に関しては、単変量解析による予測因子の選択は推奨されない。情報量基準や変数増加法や減少法がE&Eには紹介されていたが、変数の無数の組み合わせを評価する代わりにLasso法の採用も有用である。

・TRIPOD-AI, Prediction model Risk Of as ASsessment Tool(PROBAST)-AI^{2,3}
作成中のTRIPOD-AI,PROBAST-AIについて、作成プロトコルのみが公開されている。大規模データ、多くの因子を用いた機械学習やAIの予測モデルは実践研究の増加が著しい。一方、医学研究では方法由来の欠点、非透明性、再現性の低さの懸念もあり、公正な評価と既存モデルとの中立的な比較が推奨されている。教師あり学習全般を対象にTRIPODと同様の手順で検討が進んでいること、全医学研究およびがん研究を関連論文をレビューし、バイアスリスクを評価し、報告内容について検討されていることが報告されている。³
機械学習を用いた予測モデルに関するレビュー研究⁴によると、出版されレビューされた152件の論文うち3分の1は欠測について記載がなく、3分の2はその処理方法の記載はあったが、そのメカニズムや理由への言及は稀であった。3分の2に含まれる処理方法は多くが削除による完全データの解析であり、そのほか多重補完、surrogate splitsなどの方法が挙げられていたと報告されており、依然として完全データを用いた解析が多く、欠測考慮による予測や分類の影響は不明であった。

精神疾患レジストリは同意取得数は2022年末の時点で1424件、600人に近い基本情報が収集されており、クリーニングや再コーディング、欠測状況の確認などを行った。

考察

リスク因子とアウトカムの関連解析では、データの欠測メカニズムを、ランダムに発生したとみなせる欠測と、欠測理由が欠測値自体にある欠測、に分けてアプローチすることが多い。前者に対して多重補完

(Rubin, 1976)や混合モデルの当てはめが多用される。あるいはいずれにも様々な感度解析手法が適用される。特に多重補完は予測モデルでも実用例がみられ、今後検討する価値があると考えられた。

実データにおいて欠測理由を知ること及び観測データの特徴を知ることは重要であるものの、欠測と予測能の関係はデータに依存するため、現在利活用中の精神疾患レジストリデータの状況に合わせた方法の探索が必要であると考えられた。

結論

予測モデル構築に関するガイドンスとその発展をまとめ、解析方法と欠測への処理方法について情報収集を行った。欠測対応の重要性は指摘されているものの既存の予測研究ではその対処法は定まっておらず、データに合わせた方法の検討の必要性が感じられた。

文献

1. Moone KGM, et al. Transparent Reporting of a multivariable prediction

- model for Individual Prognosis Or
Diagnosis (TRIPOD): Explanation
and Elaboration. *J Annals of Internal
Medicine*. 2015; 162; w1-73.
2. Collins GS and Moons KGM.
Reporting of artificial intelligence
prediction models. *Lancet*. 2019; 393:
1577-9.
 3. Collins GS, et al. Protocol for
development of a reporting guideline
(TRIPOD-AI) and risk of bias tool
(PROBAST-AI) for diagnostic and
prognostic prediction model studies
based on artificial intelligence. *BMJ
Open* 2021; 11: e0480008.
 4. Nijman SWJ, et al. Missing data is
poorly handled and reported in
prediction model studies using
machine learning: a literature review.
JCE. 2022;142:218-29.

分担研究報告書

(課題名) 機械学習を用いたオミクスビッグデータの解析

(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

シングルセル RNA シーケンシング技術に代表される、近年のシーケンス技術の飛躍的な技術革新の結果、今や医学・生物学の研究手法は大きく変容した。一方で、シーケンシングの結果得られるビッグデータから、真に生物学的に重要な知見を引き出すためには、ビッグデータ解析技術のさらなる向上が必要である。特に、シングルセル RNA シーケンシングに特有の問題である dropout や sparse 性といった技術的な問題によって、正確性の高い 2 群間の遺伝子発現の違いや希少細胞クラスターの同定は現状では困難であり、さらなる技術開発が求められている。こうした諸問題に対して、近年は、機械学習を適用して解決を図ろうとする試みが多くなされてきている。本研究では、特に、シングルセル RNA シーケンシングから得られるビッグデータを用いて、オートエンコーダーや深層学習のアルゴリズムで学習を行うことにより、従来の手法では同定されなかった新規細胞集団や、精神・神経疾患の原因となる遺伝子の抽出を行う。この技術開発により、生物学ビッグデータ解析手法の新しい解析手法の提案を目指す。

方法

シミュレーションデータや公共の成体マウスの single cell RNAseq(scRNAseq)データ、公共の自閉症患者の scRNAseq データを取得した。それらのデータの遺伝子発現量を Seurat によって用いて標準化したもの、もしくは、MAGIC によって処理をし、発現量を normalize したものをを用いた。Normalize したデータを training 用と validation 用に分割し、Variational Autoencoder(VAE)モデルによって学習を行わせた。

結果

本年度は研究計画に従い、VAE を用いたシングルセル RNA シーケンシングデータの解析を行なった。はじめに、マウス小脳顆粒細胞を用いて、我々の VAE モデルが、既知の細胞種の分類・特徴量抽出に適しているかを、検証した。学習後の VAE の潜在空間を UMAP によって、次元圧縮し、既知のマーカーを用いてそれぞれのクラスターで発現している分子を調べた。その結果、我々の VAE モデルは、神経細胞とグリア細胞といった異なる細胞種を適切に分類できただけでなく、神経細胞の中でも興奮性、抑制性、神経前駆細胞を異なるクラスターとして分類することができた。

次に、自閉症患者の scRNAseq データを用いて解析を行ったところ、自閉症患者に固有のアストロサイト群があることを見出した。

考察・結論

以上の結果は、我々の VAE モデルが脳サンプルから得られた scRNAseq データの

細胞分類に対して効果的であることを示している。今後は他のデータに対する適応可能性を検討するとともに、細胞分類に寄与している分子の同定を行い、解釈性の向上を目指す。

参考文献(業績)

1. Nakamura Y, **Miyashita S**, et al.
Cerebrospinal fluid-contacting neuron tracing reveals structural and functional connectivity for locomotion in the mouse spinal cord. *Elife*. 2023
2. Nakata S, **Miyashita S**, et al., Epigenetic upregulation of *Schlafen11* renders WNT- and SHH-activated medulloblastomas sensitive to cisplatin. *Neuro Oncol*. 2022

分担研究報告書

(課題名) データサイエンスによる疾患予測モデリング

(所属) 長崎大学 情報データ科学部

(氏名) 植木 優夫

緒言

近年の統計的機械学習に代表されるデータサイエンスの目覚ましい発展に伴い、医学・生物学分野においてもその活用が進められている。本研究では、脳病態研究領域における神経生理学的データおよび臨床・疫学情報といった高次元ビッグデータに対して、疾患予測を目標とした統計モデリング・データサイエンス手法の研究を通じて、各水準での特性を反映した特徴量抽出の技術開発を目指す。一般に、高次元ビッグデータでは、内在する本質的な複雑さによって統一的な取り扱いが難しく、解析手法の開発自体が最先端の研究対象となる。本課題では、疾患予測を目標としたテラメイドな統計モデリング手法の研究を行い、効果的な特徴量抽出法の開発を目指す。

方法

今年度は、データサイエンス技術の調査と理論的検討を行い、並行して技術開発とプログラム開発を行う。その後、開発した技術をシミュレーションにより動作確認し、同時に、実データを用いて妥当性を検証する。実データとしては公開されている医学・生物学分野のオープンデータや ADNI(米国 Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative)の遺伝子データを

利用する。

結果

(1) 機械学習手法による医学・生物学データ解析について

データ解析手法のプログラム実装を行い、統計的機械学習手法による疾患予測モデリングの研究に取り組んだ。様々なモデリングによる予測性能をシミュレーションによって調べるとともに実際のデータにおいて動作を検証した。得られた知見を国際シンポジウム JOINT SYMPOSIUM Co-hosted by SixERS & USTP, Okayama, Japan (2022.12.9)において発表した。また、計算論的精神医学における機械学習モデルを用いた研究を行った[参考文献 1]。

(2) 時空間疫学データのモデリング手法の研究について

時空間データをモデリングする際には、時間方向の依存関係と空間方向の依存関係を同時に考慮する必要がある、注意深い統計モデリングが求められる。今年度は、新型コロナウイルス感染症の感染者数の時空間データに対して、ベータ負の二項分布を用いた新たな時空間データモデリング手法を開発し、統計学の専門誌に論文を発表した[参考文献 2]。

考察

今年度に得られた研究成果を発展させて、今後は、脳病態に関する臨床ビッグデータを用いた疾患予測のための統計モデリング手法の開発を推進する。機械学習手法による疾患予測性能の検証から、データの特性による手法の振る舞いを把握することができた。また、時空間データモデリング研究

で得られた知見は、空間依存性を有する脳画像の解析にも活用できるものと期待する。次年度は、臨床データと大規模遺伝子データを用いた疾患予測手法開発に取り組む。

結論

脳病態研究領域におけるデータに対して、データの性質を加味したテーラーメイドな統計モデリングを行うことで、既存手法を上回る予測性能が得られることを期待している。

参考文献

1. Takahashi Y, Murata S, Ueki M, Tomita H, Yamashita Y. Interaction between functional connectivity and neural excitability in Autism: a novel framework for computational modeling and application to biological data. *Computat Psychiatry*, 2023, 7:14-29.
2. Ueki M. Beta-negative binomial nonlinear spatio-temporal random effects modeling of COVID-19 case counts in Japan. *J Appl Stat*, 2022
DOI:
10.1080/02664763.2022.2064439

分担研究報告書

(課題名) 個別化医療に向けた高次元データモデリングの方法と理論

(所属) 産業技術総合研究所

(氏名) 片平健太郎

緒言

同じ診断がついた患者の間でもその病態や治療反応性に異質性があることが認識されはじめ、個人の特性に応じた治療を施す個別化医療への関心が高まっている。疾患の異質性を扱う方法として、クラスター分析を使用して特徴の類似した患者をグループ化する、サブグループ化が用いられている。精神疾患に関してもサブグループ化研究はこれまで多くなされている

(Marquand et al., 2016)。しかしながら、サブグループ化の方法やその妥当性を評価するため指標はまだ十分に検討されていない。本研究では、アウトカムの予測精度に着目し、計算機シミュレーションを通してその理論的性質を検討した (Katahira, 2023)。

方法

シミュレーションによる検討 患者の特徴量の分布やそれに対するアウトカムを生成する統計モデルを構築し、シミュレーションにより生成したデータをもとに、K-means や階層クラスター分析、混合正規分布等の代表的なクラスターリング手法を評価した。

サブグループ分類の評価指標の提案 サブグループ分類に基づく予測精度を評価する指標である Cost of cluster-mean based

prediction (CCMP) を提案し、シミュレーションによりその妥当性を評価した。また、CCMP をもとに各種のクラスターリング手法を評価した。

実データでの検討 糖尿病に関するオープンデータを用いて、各種のクラスターリング手法、および異なるクラスター数の結果を評価した。

結果

シミュレーションの結果、予測する対象であるアウトカムが予測に用いる特徴量の線形関数である場合は、K-means 法が最適な予測を与えることが、シミュレーションおよび理論解析により示された。また、提案した指標である CCMP はサブグループ分類に基づく予測の精度をバイアスなく評価することが可能であり、最適なサブグループ分類を選択できることが示された。また、糖尿病のデータセットへの CCMP の適用の結果、従来のクラスター数の決定指標に基づいたクラスター数は必ずしも最適なサブグループ分類とはならず、K-means 法によるクラスターリングが最適な予測精度を与えることが示された。

考察・結論

これまでのサブグループ分類においては、特徴量の分布のみに注目してクラスター数やクラスター手法などが選択されていた。本研究で得られた CCMP は、アウトカムの予測の観点からサブグループ分類を評価するものであり、個別化医療のための疾患の分類に有用な指標となりうる。本研究は、特徴量の分布のモデルとしては適切ではないモデルが、アウトカムの予測のため

に有用である場合があることを示唆している。本研究の成果は、個別化医療のための疾患のサブグループ分類に有益な示唆をもたらすことが期待される。

参考文献

- Marquand, A. F., Wolfers, T., Mennes, M., Buitelaar, J., & Beckmann, C. F. (2016). Beyond lumping and splitting: a review of computational approaches for stratifying psychiatric disorders. *Biological psychiatry: cognitive neuroscience and neuroimaging*, 1(5), 433-447.
- Katahira, K. (2023). Evaluating the predictive performance of subtyping: A criterion for cluster mean-based prediction. *Statistics in Medicine*, 42(7), 1045-1065.

**Brain Pathophysiology AI Research:
Integration of Data-driven and Theory-driven Approach**

Manabu Honda, M.D., Ph.D.

Department of Information Medicine, National Institute of Neuroscience, NCNP

1. Research Objectives

Our project studies on psychiatry, neurology, myopathy, and developmental disorders for comprehensive outcomes including finding brain pathophysiology, diagnoses, treatments, and preventions. Especially, we focus on the computational approaches: data science, AI methods, and brain computation. Our project also involves infrastructure building for the abovementioned objectives.

Our project consists of following three subjects:

- I. Building organization and infrastructure for researches on computational brain pathophysiology.
- II. Developing data-driven and AI-driven methods for clinical and fundamental brain pathophysiology.
- III. Integrating brain pathophysiological modeling and data-driven approaches.

2. Research Outcomes

- I. Organization and infrastructure building
 - a) We built the preparation office for Brain pathophysiology AI research center (BAIC) in NCNP designed the infrastructure. We also acquire human resources for BAIC.
 - b) We located the preparation office for BAIC in NCNP and build the network and security

environment.

- c) We conducted preliminary surveys for seeking a project section chief of the preparation office for BAIC. Finally, we hired Tachimori Hisateru, Ph.D., from April 2023.
 - d) We signed a contract with UK Biobank.
 - e) We hosted the Seminar Series on Computational Theory and Data Science in Brain Pathophysiology. We held 6 seminars in FY 2022.
- II. Developing data-driven and AI-driven methods
 - f) We successfully clustered total RNA sequencing of specimens, including low-grade epileptogenic tumors, to express specimen characteristics.
 - g) We proceeded the development of a muscle pathology identification application using a muscle pathology diagnostic algorithm, and created a dataset classifying the degree of disability of affected muscles according to the Mercuri score.
 - h) We have launched development of a highly sensitive histone modification analysis system and a cell nucleus preparative technique using flow cytometry.
 - i) By Combining eye movement and cognitive function data, we create a model that can

discriminate normal subjects and schizophrenia accurately.

- j) We surveyed and interviewed about the potential application of AI-driven methods in psychotherapy.
- k) We got the review and approval of the research plan for the psychiatric disease registry analysis and began data cleaning and analysis.

III. Integrating brain pathophysiological modeling and data-driven approaches

- l) We developed a feature representation learning method using a multimodal variational autoencoder and a model of decision-making behavior and perceptual-cognitive processes using reinforcement learning and predictive information processing models. Furthermore, as an attempt to integrate these methods, we examined the interaction between parameters in the predictive information processing model using resting-state fMRI data.
- m) By applying Variational Autoencoder, we succeeded in reproducing cellular gene expression with high accuracy and started analyzing single-cell RNA sequencing data from human epilepsy patients
- n) We showed that spatio-temporal modeling using data science methods with nonlinear random effects and beta-negative binomial distribution can relaxes the issues of existing models.
- o) We proposed Cost of Cluster-Mean based Prediction (CCMP), a measure of the

accuracy of prediction of a given subtype classification, and its effectiveness is demonstrated through simulation and application to open data.

令和4年度
精神・神経疾患研究開発費による研究報告集

令和5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
