

令和5年度精神・神経疾患研究開発費

研究報告集

Annual Research Report by
Intramural Research Grant for
Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP
2023

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

課題番号	研究課題名	主任研究者	ページ
(3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	住吉 太幹	1
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	23
3-3	認知症・神経変性疾患の基礎・臨床融合研究	岩坪 威	43
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	63
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	89
3-6	小児期発症不随意運動症の克服に向けた研究	本橋 裕子	111
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	服部 功太郎	123
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	139
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	185
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	215
(2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	235
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	255
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	269
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	275
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	285
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	327

(初年度班)

5-1	睡眠ポリグラフデータバンクの拡充およびこれを活用した睡眠障害・精神神経疾患の病態解明と生理学的診断マーカー・治療法開発	栗山 健一	357
5-2	心的外傷後ストレス障害に対するメマンチンの有効性・安全性の検証	堀 弘明	381
5-3	認知機能、身体機能に対する機能再建に着目したニューロモデュレーションの機序解明と臨床応用に向けての基盤整備	原 貴敏	395
5-4	脳構成細胞の解析技術の基盤構築に基づく神経変性・修復機構の解明研究	村松 里衣子	433
5-5	筋ジストロフィーの臨床開発推進の基盤整備	小牧 宏文	455
5-6	筋レポジトリーの拡充と筋ジストロフィー関連疾患の病態解明	西野 一三	501
5-7	疾患モデルを駆使した筋ジストロフィーの治療法開発	青木 吉嗣	541
5-8	霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究	関 和彦	585
5-9	神経難病におけるナショナルセンターによる臨床開発促進のための基盤整備とレギュラトリーサイエンスの推進	中村 治雅	611

3 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

住吉 太幹

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)

住吉太幹 児童・予防精神医学研究部

山田光彦(R3.4.1～R5.3.31)

(分担研究者)

中込和幸 理事長

野田隆政 病院精神診療部

山田光彦 精神薬理研究部

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角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。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 2298 例が登録された。また、ウェアラブルデバイス(Fitbit Sense)で計測した心拍データによる心理評価の実施可能性に関する検討を行った結果、心理評価から 3 日以内の、睡眠中途覚醒時の心拍データが不安、QOL 評価と関連しているとの知見を得た(Nakagome, 2023)。

*生物学的評価指標による層別化研究では、統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉スペクトラム症患者及び健常者の 5549 例の MRI 画像を解析し、統合失調症と双極性障害において健常者と比較して有意な皮質厚の菲薄化が認められ、統合失調症とうつ病において健常者と比較して有意な皮質面積の減少を認めた。(Matsumoto, 2023)。

*Negative Valence System (NVS:負の感情価)研究について 249 名から同意を得た。その結果、IL-6

高値は、特性不安、自律性不満足、遂行機能低下と関連することを見出した。

* CSF 分子解析について精神疾患 CSF/血漿中ニューロペプチドの解析帝京大学との共同研究により精神疾患のニューロペプチド 5 種の測定を行った。CSF ではいずれも定量下限以下であり、血液では各疾患で健常との差はみられなかった(Hidese, 2023)。

【評価指標シーズについて】

(野田、吉池、三輪)

* ECT 治療後に PET で計測されるミクログリア活性が上昇することを重症の精神疾患患者で認めた。

* 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として、治療初期 1 週間における産出時間の日内変動差が、最終的なハミルトンうつ病評価尺度得点変化を予測した。

* 統合失調症・自閉症スペクトラム障害のモデルマウスにおいて、複数のラインでのスピンドル波の異常がノンレム睡眠時に観察された。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)異常の検出プロトコルの開発を進めている。

【治療介入法シーズについて】

(住吉、山田、野田)

* 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。この成果に基づき、「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」が治療的効果を発揮するという2つの作業仮説を提案した。

* 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 (jRCTs032220332)」を完遂した。その結果、taVNS 刺激により心拍変動における交感神経活動の指標、および淡蒼球と視床 vs 感覚野との安静時脳機能結合が有意に低下することが観察された。

* 低侵襲性脳刺激法である経頭蓋直流電気刺激 (tDCS) の陽極刺激部位による臨床効果の差異

を、統合失調症患者を対象に検討した。その結果、左側上側頭回への刺激が社会認知機能を改善するのに対し、神経認知機能および上位の機能的転帰である日常生活技能の向上には、左背外側前頭前野への刺激が有用であることを見出した。(Yamada, 2023)。

5. 考察

本研究班では、評価シーズとして、脳脊髄液、血液等を用いた測定に加えて、脳構造画像、認知機能、ノンレム睡眠時スピンドル波、ガンマ帯域オシレーション等の神経生物学的指標等をバイオマーカーとして検討した。得られたリソースやデータは、精神疾患の病態解明に貢献すると思われる。

治療法開発については、tDCS を用いた統合失調症の社会認知機能障害への効果の検証ため、偽刺激を対照におく無作為化試験の実施が今後必要となろう。taVNS に関しては、患者(心身症、PTSD、パーキンソン病、新型コロナウイルス感染症後症候群)を対象とした特定臨床研究の実施が期待される。

NCNP 精神疾患レジストリについては、薬事承認への利活用目的で収集するデータのみならず、登録されるデータの QC が今後の課題と思われる。

6 研究成果

1. Nakagome K et al. Feasibility of a wrist-worn wearable device for estimating mental health status in patients with mental illness. *Front Psychiatry*. 2023; 14:1189765. doi: 10.3389/fpsy.2023.1189765.
2. Matsumoto J et al. Cerebral cortical structural alteration patterns across four major psychiatric disorders in 5549 individuals. *Mol Psychiatry*, 28(11):4915-4923, 2023.
3. Hidese S et al. Plasma neuropeptide levels in patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder and healthy controls: A multiplex immunoassay study. *Neuropsychopharmacol Rep*
4. Yamada Y et al. Electrode montage for transcranial direct current stimulation governs its effect on symptoms and functionality in

- schizophrenia: *Front Psychiatry* 2023 Oct 4; doi:10.3389/fpsy.2023.1243859
5. Yoshiike T et al. Exploring the role of empathy in prolonged grief reactions to bereavement. *Sci Rep* 13, 7596, 2023. doi: 10.1038/s41598-023-34755-y
 6. Hirai S et al. The mouse model of intellectual disability by ZBTB18/RP58 haploinsufficiency shows cognitive dysfunction with synaptic impairment. *Mol Psychiatry*. 28, 2370-2381, 2023.
 7. Okada N et al. Subcortical volumetric alterations in four major psychiatric disorders: a mega-analysis study of 5604 subjects and a volumetric data-driven approach for classification. *Molecular Psychiatry*, online ahead of print, doi: 10.1038/s41380-023-02141-9
 8. Saito K et al. Profiling of cerebrospinal fluid lipids and their relationship with plasma lipids in healthy humans. *Metabolites*. 2021 24;11(5):268. doi: 10.3390/metabo11050268.
 9. 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
 10. Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. *Clin EEG Neurosci* 54:601-610, 2023
 11. Yamada Y., Sumiyoshi T.: Social cognitive impairments as a target of non-invasive brain stimulation for functional outcomes in schizophrenia. In Wei Wu (Ed). *Oxytocin and Social Function*. IntechOpen, London, 2023 DOI: 10.5772/intechopen.112742
 12. 吉村直記, 他: 統合失調症における脳刺激法の位置づけ. 特集「統合失調症の今を知る」*精神科治療学* 38(7): 807-13, 2023
 13. 山田悠至, 他.: 経頭蓋直流電気刺激(tDCS)の臨床総論. *精神科* 43:431-36, 2023
 14. 中込和幸. 精神疾患レジストリとは? *精神科*, 42(6): 707-715, 2023.
 15. 中武優子 他.: 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. doi: 10.1254/fpj.22104.
 16. 國石 洋, 山田光彦: 思春期の社会的経験剝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. doi: 10.1254/fpj.22108.
 17. 三輪秀樹 統合失調症とスピンドル活動(睡眠科学の仮説-睡眠機能と睡眠制御の謎を紐解く 連載第11回-) *睡眠医療* 第17巻第3号 371-377, 2023

分担研究報告

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】

2023 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】

2023 年度末の時点で、目標症例数 50 名中 35 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、動物研究に基づく tDCS の作用機序に関する系統的レビューを発信した(Yamada et al. *Clin EEG Neurosci* 2023)。

【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. Yamada Y, Sumiyoshi T. Preclinical evidence for the mechanisms of transcranial direct current stimulation in the treatment of psychiatric disorders; A systematic review. *Clin EEG Neurosci* 2023;54:601-610
2. Yamada Y, Narita Z, Inagawa T, Yokoi Y, Hirabayashi N, Shirama A, Sueyoshi K, Sumiyoshi T: Electrode montage for transcranial direct current stimulation governs its effect on symptoms and functionality in schizophrenia: *Front Psychiatry* 2023 Oct 4; doi:10.3389/fpsy.2023.1243859

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、構築している全国的なコホート・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。

【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29機関が分担研究機関として参加しており、うち19機関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】

2024年3月31日時点で登録者は2298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1307名であった。疾患別にみると、統合失調症が331名、うつ病が313名と多かった。

今年度の新たな試みとして、薬事目的での活用を目指して、疾患別の評価項目を含む新たなスロットを形成し、regulatory gradeでの信頼性を担保できるよう、厚生労働省のRWD活用促進事業に応募、採択され、ITプラットフォームの要件定義、システム改修、CSVを行った。また、医療情報の登録の負担軽減のために、電子カルテからの自動的情報収集システム(Cyber-NP)をNCNPを含む7施設に導入し、リクルート促進を図った。

さらに、自記式質問紙による評価の妥当性検証及び将来的なフォローアップ評価への導入を目指して、ウェアラブルデバイス(Fitbit Sense)で計測した心拍データによる心理評価の実施可能性に関する検討を行った結果、心理評価から3日以内の、睡眠中途覚醒時の心拍データが不安、QOL評価と関連している、との知見を得た。

【考察】

登録者数は、今年度719名に達した点は評価できると思われる。一方、データ入力を完了できたものは全体の約6割にとどまり、引き続きデータ入力の負荷を抑制する試みが必要と思われる。一部の分担研究機関に、電子カルテからの自動収集システム、データ入力支援のための人材派遣を試行したが、その効果について今後検証する必要がある。

近年のレジストリデータ等の RWD (Real World Data) を薬事承認に用いるという国の方針に合わせて、薬事承認に耐えうるデータを適正な品質の下で管理するシステムを作成したが、今後、実際に薬事承認に利活用していくことを目指す。

【結論】

登録者数は、今年度、順調に増加したと思われる。一方、データ登録に関しては伸び悩んでおり、また、その実態の把握もやや不十分な面がある。今後は、薬事承認への利活用目的で収集するデータのみならず、レジストリデータに登録されているデータの QC が重要な課題と思われる。

【参考文献】

Nakagome K, Makinodan M, Uratani M, Kato M, Ozaki N, Miyata S, Iwamoto K, Hashimoto N, Toyomaki A, Mishima K, Ogasawara M, Takeshima M, Minato K, Fukami T, Oba M, Takeda K, Oi H. Feasibility of a wrist-worn wearable device for estimating mental health status in patients with mental illness. *Front Psychiatry*. 2023; 14:1189765. doi: 10.3389/fpsyt.2023.1189765.)

生物学的評価指標にもとづく

ニューロモデュレーションの効果検討

野田 隆政

国立精神・神経医療研究センター
病院 精神診療部

【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ュレーションを実施する精神疾患患者を対象に、中長期的な治療効果を含めたバイオマーカーの検討を行うことを目的とする。

【方法】

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】

【バイオマーカーの検討】

これまでに、249 名から同意を取得し、MRI、光トポグラフィー検査、生体サンプル (血液、脳脊髄液)、臨床情報を収集した。髄液中のバイクラスター解析で見出された IL-6 高値群と臨床情報の関連を検討するため、年齢、性別、BMI、知的レベル (JART) を制御変数として偏相関分析を行った。その結果、特性不安 ($r = .25, p = .046$)、自律性不満足 ($r = .29, p = .018$)、SF12 の身体の痛み ($r = -.37, p = .002$)、WCST の達成カテゴリー数 ($r = -.33, p = .006$)、試行錯誤段階の評価値 ($r = .51, p = .000$) に相関がみられ、MRI においても右側坐核の用量低下の可能性が示唆された。このような特徴が縦断的に持続するのかが検討が求められる。

【治療効果】

ECT の作用機序および治療効果について検討を行った。研究対象者の約 6 割が HAM-D にて重症域であり、治療後は全体の約 9 割が寛解~軽症域となった。一方、ECT 後改善が見られなかった群が 1 割弱存在しており、特に認知機能検査では運動機能の障害が顕著であった。さらに、ECT 前後に PET 検査

を実施し神経炎症反応について解析したところ、治療後にミクログリア活性が上昇し、特に MDD において SUV_r(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)。治療反応性と神経炎症レベルとの関連について、引き続き中長期的な検討が必要である。

【結論】

構造 MRI、炎症 PET、血液、髄液、臨床情報などの関係性を多面的に検討することで、バイオマーカーとなる候補を検討することができた。今後は、サブタイプの同定、再燃・再発指標の検討、介入による予測を検討するとともに、精神疾患レジストリのプラットフォームを活用して縦断的に検討していく。

【参考文献】

Ota M. et al. (2023) Similar correlation between the causality orientation and regional brain structures in psychiatric disorders revealed by diffusional kurtosis imaging. *Neurocase*. NCS-OA 23-014

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】

思春期のストレス経験が眼窩前頭皮質 OFC を含む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。一方、迷走神経刺激 (VNS) は、心身相関のメカニズムを基盤としたニューロモデュレーションである。本研究では、神経回路特性に基づく精神疾患治療法の研究開発に資するためのトランスレーショナル研究を実施した。

【方法】

1. 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. マウス taVNS モデルを確立し、情動制御についての有用性を検討した。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た。

【結果と考察】

1. 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同時に、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。この成果に基づき、「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」が治療的効果を発揮するという2つの作業仮説を提案した。OFC-BLA 回路の治療介入研究については、

特定臨床研究としての実施可能性について病院診療部とともに議論を進めたい。

2. 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 (JRCTs032220332)」を、令和 4 年度において安全に完遂することができた。この RCT は、健常成人男性 10 例 (目標症例数 10 例) を対象に、ランダム化二重盲検クロスオーバー試験である。令和 5 年度は、収集したデータの解析を進めた。その結果、taVNS 刺激により心拍変動における交感神経活動の指標が有意に低下することが明らかになった。一方、瞳孔径は個人間及び個人内におけるばらつきが大きく、簡便で客観的な評価法として利用することが難しいことが確認された。また、taVNS 刺激中に淡蒼球と視床および感覚野との安静時脳機能結合が有意に低下することが観察された。今後、患者 (心身症、PTSD、パーキンソン病、新型コロナウイルス感染症後症候群) を対象とした特定臨床研究の実施が期待される。

【結論】

本研究により、神経回路特性に基づく精神疾患治療法の研究開発に資するためのトランスレーショナル研究のための基盤を NCNP 内に蓄積することができた。

【参考文献】

1. Kawashima Y, et al. Effects of riluzole on psychiatric disorders with anxiety or fear as primary symptoms: A systematic review. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2023 Sep; 43(3):320-327.

概日可塑性に着目した気分障害病態指標の開発

吉池卓也

国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 睡眠・覚醒障害研究部

【緒言】

精神疾患には高率に睡眠・生体リズムの変化が生じ、精神疾患の重症度、治療反応性、再発率、および患者の生活の質に強く影響する。睡眠・生体リズムの変化は特に気分障害で顕在化しやすい。近年、気分障害と睡眠・生体リズム異常は相互に影響することが明らかになりつつあり、気分障害の治療、再発予防、さらには発症予防の観点から、睡眠・生体リズムの是正が重要な意義をもつと考える。本課題は気分障害の病態・治療反応性に関わる新たな睡眠・生体リズム指標を開発することを目的とする。

【方法】

1) 光照度が時間認知に及ぼす影響:我々は、深部体温やメラトニン分泌といった概日リズムと関連する秒単位の時間認知が、気分症の症候及び治療反応性と密接に関わることを見出している。光は概日リズムの強力な同調因子であるが、時間認知への影響については検討が乏しい。クロスオーバーデザインを用いて、2日間にわたり概日リズムへの光の影響が乏しい日中に、高照度光もしくは低照度光への曝露下において、時間産出法により10秒の時間認知を定量化し、光照度の時間認知への影響を健常人26名において検討した。

2) 時間認知と rTMS 治療効果の関連:NCNP センター病院に入院し反復性経頭蓋磁気刺激療法(rTMS)を受けた患者を対象とした。3～6週にわたる治療期間において、秒単位の

時間認知の日内変動を時間産出法により評価し、治療効果との関連を20名のうつ病患者において検討した。

【結果と考察】

1) 時間産出中の高照度光条件 (high-intensity light: HL) 及び低照度光条件 (low-intensity light: LL) における平均光照度はそれぞれ9,151 lux 及び445 lux であった。H-L 群における産出時間は、HL:11.87 秒、LL:11.08 秒、L-H 群における産出時間は、HL:12.71 秒、LL:11.98 秒であった。産出時間はLLに比べHLで平均6.6%長かった。

2) 解析を終えた11名について報告する。6秒・10秒いずれの時間産出課題においても産出時間が午前に比べ午後に短縮する日内変動を認めた。治療初期1週間における産出時間の日内変動差が最終的なハミルトンうつ病評価尺度得点変化を予測した(6秒:B=1.71, p=.005、10秒:B=2.47, p=.003)。

【結論】

秒単位の時間認知は概日リズムに紐づいた気分障害の生物学的な病態・治療反応性指標として有用であることが示唆される。今後、心理療法の治療効果との関連や脳内機序について検討したい。

【参考文献】

Yoshiike T, Kuriyama K, Benedetti F et al. Association of circadian properties of temporal processing with rapid antidepressant response to wake and light therapy in bipolar disorder. J Affect Disord 263: 72-79, 2020.

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 マウスおよび MK-801 投与薬理モデル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。ノンレム睡眠スピンドル波解析により、複数のラインでスピンドル波の異常が観察された。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が、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し、改良に着手した。

【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の複数のラインにおいて共通する生理学的指標の異常が観察された。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、研究成果の頑健性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】(業績)

Hirai Sayaka# , Miwa Hideki#,*, Shimbo Hiroko#, Nakajima Keisuke, Kondo Masahiro, Tanaka Tomoko, Ohtaka-Maruyama Chiaki, Hirai Shinobu*, Okado Haruo*: Normal cortical laminar formation in *RP58*^{-/-} mice. *Mol Psychiatry*. 28:2173, 2023. (#: Equal contribution) *Corresponding Author

精神病症状に関連する生物学的評価指標の検討と患者層別化研究

橋本亮太

国立精神・神経医療研究センター

精神保健研究所 精神疾患病態研究部

【緒言】

精神疾患の診断は、医師の問診に基づく症状の評価によってなされている。その生物学的な妥当性は全く担保されておらず、客観的・科学的な診断法の開発が望まれている。本分担課題では、従来の診断カテゴリーではなく、精神病症状に関連する生物学的な評価指標を検討する。患者層別化を行い、新たな診断基準を構築する。その層別化された患者の病態メカニズムを明らかにすることにより、新たな治療法の開発に資することを目的としている。精神病症状を呈する患者において、認知機能や眼球運動などの生物学的指標にて層別化を行う。その層別化された患者群における脳病態を明らかにするために、三次元脳構造画像、拡散テンソル画像などを用いて解析を行う。

【方法】

精神疾患の診断ではなく、精神病症状に関連する生物学的な評価指標を検討して、患者層別化を行う。今までに精神病症状を呈する代表的な精神疾患における生物学的な評価指標の検討を行ってきており、同様の指標を用いて精神病症状との関連を解析し、その異同について検討する。具体的な生物学的指標としては、認知機能(ウェクスラー知能検査、ウェクスラー記憶検査、ウィスコンシンカードソーティングテスト、語流暢性課題など)や眼球運動(フリービューイング課題、スムーズパシュート課題、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 72 例と健常者 85 例のデータを収集した。また、既存の統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉スペクトラム症患者及び健常者の 5549 例の T1 強調脳 MRI 画像を用いて、FreeSurfer 解析を行い、大脳皮質厚及び大脳皮質面積について検討を行った。その結果、統合失調症と双極性障害において健常者と比較して有意な皮質厚の菲薄化が認められ、統合失調症とうつ病において健常者と比較して有意な皮質面積の小ささが認められた。健常者と比較した皮質厚菲薄化のパターンは、統合失調症、双極性障害、うつ病に共通性が認められ、健常者と比較した皮質面積の小ささのパターンは、統合失調症、うつ病、自閉スペクトラム症に共通性が認められた。

【考察】

本研究は四大精神疾患の大脳皮質菲薄化及び面積減少特徴を明らかにし、疾患ごとの共通性と特異性を明らかにしたことに意義があると考えられる。

【結論】

脳構造が精神疾患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) Matsumoto J, Fukunaga M, Miura K, Nemoto K, Okada N, Hashimoto N, Morita

K, Koshiyama D, Ohi K, Takahashi T, Koeda M, Yamamori H, Fujimoto M, Yasuda Y, Ito S, Yamazaki R, Hasegawa N, Narita H, Yokoyama S, Mishima R, Miyata J, Kobayashi Y, Sasabayashi D, Harada K, Yamamoto M, Hirano Y, Itahashi T, Nakataki M, Hashimoto RI, Tha KK, Koike S, Matsubara T, Okada G, Yoshimura R, Abe O, van Erp TGM, Turner JA, Jahanshad N, Thompson PM, Onitsuka T, Watanabe Y, Matsuo K, Yamasue H, Okamoto Y, Suzuki M, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R. Cerebral cortical structural alteration patterns across four major psychiatric disorders in 5549 individuals. *Mol Psychiatry*, 28(11):4915–4923, 2023.

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。得られた資源をNCNP内外と連携して解析し、精神疾患の精密医療につなげたい。

【方法】

統合失調症、うつ病、双極性障害の患者、および健常対照者より同意が得られた場合、研究目的の腰椎穿刺を行い CSF を得るとともに、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20件が追加され精神疾患CSFの在庫は累計1422検体(残量0を除いた数)となった。

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

前年度までに疾患横断的な CSF 分子解析で、特定の炎症性サイトカインが異常亢進した一群や、特定のアミノ酸が異常亢進した一群を見出していた。班員と連携して、それぞれの神経心理学的、脳画像的特徴を明らかにした。双方の変化は同時採取の血液ではみられず CSF 特異的

な変化であった(炎症性サイトカインは投稿中)。

③ 統合失調症 CSF 中 Myelin basic protein の解析

統合失調症の一部症例で Myelin basic protein が亢進しており、運動速度の低下や、頭頂部の白質障害と関連していることが判明した(Enokidaら投稿中)。

④ 精神疾患 CSF/血漿中ニューロペプチドの解析

帝京大学との共同研究により精神疾患のニューロペプチド5種の測定を行った。CSF ではないずれも定量下限以下であり、血液では各疾患で健常との差はみられなかった(文献1)。

⑤ 脳神経疾患研究への貢献

本研究で収集された健常・精神疾患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、福島県立医大との共同研究で、

特発性脳髄液漏出症のCSFマーカーとして脳型トランスフェリンが有用であること(大うつ病、統合失調症、健常では変化なし、文献2)、大阪大学との共同研究によりアルツハイマー病(AD)の血液脳関門障害マーカーを見出す等の成果が得られた(文献3)。

⑥ 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に腰椎穿刺の研修を2回行った。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4)。

【結論】

精神疾患CSF収集・連携体制を維持することができた。またCSF解析と疾患横断的評価により、精神疾患の亜型候補マーカーが得られた。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. Hidese S et al., Plasma neuropeptide levels in patients with schizophrenia, bipolar disorder, or major depressive disorder and healthy controls: A multiplex immunoassay study. Neuropsychopharmacol Rep . 2023 43:57-68.
- 2: Hoshi et al., Brain-Derived Major Glycoproteins Are Possible Biomarkers for Altered Metabolism of Cerebrospinal Fluid in Neurological Diseases. Int J Mol Sci. 2023, 24:6084.
- 3: Tachibana K et al., Association of Plasma Claudin-5 with Age and Alzheimer Disease. Int J Mol Sci. 2024 25:1419
4. 服部功太郎、榎田嵩子、精神科領域における脳脊髄液検査の可能性、臨床検査、67(5), 2023年5月

Development of novel treatments for psychiatric disorders based on biomarkers.

Tomiki Sumiyoshi, 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 isolation disrupts neurotransmission in the medial OFC-amygdala pathway, affecting social behavior and altering passive stress responses via the lateral OFC-amygdala pathway.

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. A clinical trial was conducted to explore possible indicators for taVNS in healthy adults (jRCTs032220332). The results indicated a significant reduction in sympathetic activity during taVNS. Significant reductions in resting brain functional connectivity were also observed, indicating potential applications of taVNS in treating various neurological conditions.

3. The Mental Illness Registry

The Mental Illness Registry (my-registry) 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, with the aim of using the information for pharmaceutical purposes, a new slot with disease-specific evaluation items was created to ensure reliability at the regulatory level. To this end, we applied for and were accepted into the Ministry of Health, Labour and Welfare's RWD Utilization Promotion Project, through which IT platform requirements were defined, system modifications and CSV were implemented. In addition, an automatic information collection system (Cyber-NP) from electronic medical records was introduced at seven facilities including NCNP to reduce the burden of medical information registration and promote recruitment.

4. A study of biomarkers for neuromodulation using brain neuroimaging

In this study, we obtained informed consent from 249 subjects and collected MRI, optical topography, biological samples (blood and cerebrospinal fluid), and clinical information. The mechanism of action and therapeutic effect of electroconvulsive therapy (ECT) were examined. PET scan before and after ECT was performed to analyze the neuroinflammatory response. The results suggested that microglial activation increased after ECT, with a particularly large increase in SUV_r (SUV of the region of interest/ SUV of the left ventricle) in MDD. To investigate the relationship between treatment responsiveness and neuroinflammatory levels, more sample are needed. In the future, we will identify subtypes, examine relapse/relapse indices, and examine prediction by intervention, as well as longitudinally utilizing the platform of the Mental Illness Registry.

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. Seconds range time perception as a circadian marker of mood disorders

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. Cerebral cortical structural alteration patterns across four major psychiatric disorders in 5549 individuals

According to the operational diagnostic criteria, psychiatric disorders such as schizophrenia (SZ), bipolar disorder (BD), major depressive disorder (MDD), and autism spectrum disorder (ASD) are classified based on symptoms. While its cluster of symptoms defines each of these psychiatric disorders, there is also an overlap in symptoms between the disorders. We hypothesized that there are also similarities and differences in cortical structural neuroimaging features among these psychiatric disorders. T1-weighted magnetic resonance imaging scans were performed for 5,549 subjects recruited from 14 sites. Effect sizes were determined using a linear regression model within each protocol, and these effect sizes were meta-analyzed. The similarity of the differences in cortical thickness and surface area of each disorder group was calculated using cosine similarity, which was calculated from the effect sizes of each cortical regions. The thinnest cortex was found in SZ, followed by BD and MDD. The cosine similarity values between disorders were 0.943 for SZ and BD, 0.959 for SZ and MDD, and 0.943 for BD and MDD, which indicated that a common pattern of cortical thickness alterations was found among SZ, BD, and MDD. Additionally, a generally smaller cortical surface area was found in SZ and MDD than in BD, and the effect was larger in SZ. The cosine similarity values between disorders were 0.945 for SZ and MDD, 0.867 for SZ and ASD, and 0.811 for MDD and ASD, which indicated a common pattern of cortical surface area alterations among SZ, MDD, and ASD. Patterns of alterations in cortical thickness and surface area were revealed in the four major psychiatric disorders. To our knowledge, this is the first report of a cross-disorder analysis conducted on four major psychiatric disorders. Cross-disorder brain imaging research can help to advance our understanding of the pathogenesis of psychiatric disorders and common symptoms.

8. Biobanking of cerebrospinal fluid samples, and biomarker development of psychiatric disorders

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 20 CSF samples in this fiscal year (total 1,422 excluding depleted samples). Using those samples, (1) we identified specific inflammatory cytokines and amino acids showing abnormal elevations, which were associated with distinct neuropsychological and neuroimaging characteristics. These changes were specific to CSF and not observed in simultaneously collected plasma samples. (2) A subset of schizophrenia samples showed elevated levels of myelin basic protein, which were associated with decreased motor speed and white matter abnormalities in the parietal region. (3) A collaborative study with Teikyo University measured five neuropeptides in psychiatric disorders. Neuropeptide levels were below the quantitation limit in CSF, and no differences were observed in the plasmas between patients and healthy controls. (4) Collected CSF samples were widely used as controls in neurological disorder research. Collaborative studies with Fukushima Medical University and Osaka University yielded findings such as the usefulness of brain-type transferrin as a CSF marker for idiopathic intracranial hypotension and the identification of blood-brain barrier dysfunction markers in Alzheimer's disease. Through CSF analysis and cross-disease evaluation, potential subtype biomarkers for psychiatric disorders were identified. We aim to continue elucidating the

pathophysiology of psychiatric disorders and contribute to the development of treatment strategies using the obtained resources and data.

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うとともに、研修受講後のCBT実施状況と実装に必要な体制の調査(⑤CBT実装に向けた体制構築研究)を行い、CBTの社会実装を目指す。

①行動医学領域における認知行動療法の展開に関する研究(痛みに対するCBT)

慢性痛に対する標準型CBTおよびIBSに対する集団CBTのRCT、そしてIBSに対するオンラインでの遠隔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。

⑤認知行動療法の社会実装に向けた体制構築研究（CBT実装に向けた体制構築研究）

CBT実装に向けた体制構築のために、研修受講後のCBTの実施状況、および実施阻害要因と必要なサポート体制について調査・分析を行う。

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

（令和3年4月1日～令和5年3月31日）

大井 瞳 NCNP 認知行動療法センター 認知行動療法診療部 特命室長

（令和5年4月1日～令和6年3月31日）

堀越 勝 NCNP 認知行動療法センター 特任部長

蟹江 絢子 NCNP 認知行動療法センター 客員研究員

（令和3年4月1日～令和4年3月31日）

近藤真前 NCNP 認知行動療法センター 認知行動療法診療部 室長

（令和5年4月1日～令和6年3月31日）

研究協力者

①行動医学領域における認知行動療法の展開に関する研究（痛みに対するCBT）

大江悠樹 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

渡邊恵介 奈良県立医科大学

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）

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

菅原由美子 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
 中島俊 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
 三田村康衣 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
 井上真里 NCNP 認知行動療法センター
 野網恵 NCNP 認知行動療法センター
 千葉裕之 NCNP 認知行動療法センター
 高松直岐 NCNP 認知行動療法センター
 小居秀紀 NCNP 病院臨床研究教育研修
 部門 病院管理・解析部
 中尾智博 九州大学精神病態医学

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

⑤認知行動療法の社会実装に向けた体制構築研究
 (CBT 実装に向けた体制構築研究)

野網恵 NCNP 認知行動療法センター
 高松直岐 NCNP 認知行動療法センター
 三田村康衣 NCNP 認知行動療法センター
 梅本育恵 NCNP 認知行動療法センター
 大井瞳 NCNP 認知行動療法センター
 伊藤正哉 NCNP 認知行動療法センター
 大野裕 一般社団法人認知行動療法研修開
 発センター
 中川敦夫 聖マリアンナ医科大学
 中尾智博 九州大学
 藤澤大介 慶応義塾大学
 豊見山泰史 九州大学大学院
 菊池俊暁 慶応義塾大学

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8例、共同研究機関全体としては31例を組
 み入れた。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)。IBS
 に対する遠隔CBTはリクルートを開始し、23例を組

み入れた。

②遠隔睡眠 CBT

社会実装を念頭においた治療マテリアルを開発し、それらを用いた臨床試験を実施した。4例が組み入れとなった。3例をシングルケース実験デザインでの解析対象とし、3名中2名において、プライマリアウトカムである不眠重症度尺度の改善が見られた。加えて、睡眠障害に対するCBTの普及実装を目指し、オンデマンド研修を行った。

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、CBTに特化したデータの項目（治療中の音声データ等）を決定した。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行った（「うつ病に対する効率型認知行動療法の有効性および実施可能性に関わるパイロットスタディ」における臨床試験登録患者14例全てをレジストリへ登録）。

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の作用機序を総説にまとめるとともに、観察研究や臨床試験の二次解析にて検証した（金子ら、2023, Sugita et al., 2022）。さらに、事例研究としてUPの実践をまとめた（太田ら、印刷中）。

⑤CBT実装に向けた体制構築研究

本邦初のCBT実践者に対するメール相談体制の実験をモデル事業的に行った。アンケート調査を50名、ヒアリングを6名に行い、解析・分析を終了した。研修後に受講者が継続してCBTを行うことのハードルは高く、相談体制を構築することは有効である可能性が示唆された。本研究の成果は、inductive thematic analysisを用いて本邦で初めてCBT実践者の相談事項を分析し、メール相談がCBT実践者のニーズに沿った相談体制の一環として機能することを確認できたことである。本成果は、2024年7月開催日本認知療法・認知行動療法学会でポスター発表、その後、論文化する予定である。

3. 研究成果刊行一覧

【論文】 計（4）件 うち査読付計（1）件

1. 金子響介、豊田彩花、杉田創、矢部魁一、永江亜紗、重枝裕子、伊藤正哉（2023）診断横断アプローチと感情調整：感情症への診断を越えた治療のための統一プロトコル（UP）. 精神療法, 49 巻第 2 号, 184-189. 査読無
2. 太田真右、他（印刷中）家族へのイライラを主訴とする女性との診断を越えた認知行動療法のための統一プロトコル：オンラインでの介入の試み、認知療法研究、査読有
3. 久我弘典. デジタルテクノロジー活用におけるエビデンス—心理社会的介入の観点から— 臨床精神医学.アークメディア, 52 (12) 1415-1420, 2023.

4. 高松直岐, 久我弘典, 中尾智博, 大曲貴夫, 高尾昌樹, 神庭重信. コロナ後遺症の現状と今後の展望：脳とこころの最前線, 認知療法研究, 17(1) 49-60 2024 年 2 月

Cognitive Behavioral Therapy with Online Psychotherapy Tools for Depression 10th World Congress of Cognitive and Behavioral Therapies, Seoul, 2023.6

【図 書】 計 (0) 件

【学会発表】 計 (5) 件

1. 堀越勝、慢性痛に対する認知行動療法についての基礎と臨床、第57回日本ペインクリニック学会学術集会、2023年7月
2. 久我 弘典, 梅本育恵, 三田村 康衣, 牧野みゆき, 駒沢 あさみ, 上原 陽子, 中島俊, 伊藤 正哉, 大野 裕, 堀越 勝. 認知行動療法の効率化と今後の実装に向けて－SCBT：効率型認知行動療法－. 第 119 回日本精神神経学会学術総会, 横浜市, 2023 年 6 月
3. 高松直岐, 木村 健太郎, 梅本 育恵, 久我弘典, 鬼頭 伸輔. コロナ後遺症における精神症状の研究と患者レジストリ構築. 第 119 回日本精神神経学会学術総会, 横浜市, 2023 年 6 月
4. Oi H, Nakajima S, Takashina H, Inoue M, Noma H, Tanaka H, Kuga H : Patients' perspectives on implementation of remote cognitive behavioral therapy for insomnia: A qualitative study. 10th world congress of cognitive and behavioral therapies, Seoul, 2023.6
5. Umemoto I, Makino M, Mitamura Y, Komazawa A, Kimura K, Horikoshi M, Kuga H : Efficacy of Delivering Streamlined

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。また、今年度より新たに奈良県立医科大学を共同研究機関に加えた。

（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。

（3）IBS に対するオンライン CBT のランダム化比較試験

名古屋市立大学、京都大学と共同で IBS に対するオ

ンライン CBT のランダム化比較試験を開始した。

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、およびに 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 8 例、研究機関全体としては 31 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⁶。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。

(3) IBS に対するオンライン CBT のランダム化比較試験

これまでに 23 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. 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た。希望する医療従事者に対して、登録を条件にこれら資料の配布を開始した。

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、複数の学会にてワークショップを行った。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 および IBS に対するオンライン 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 および IBS に対するオンライン CBT の RCT を進めていく。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.
6. 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*, 2022, 117, 668-677.

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：大井瞳¹⁾

研究協力者：井上真里¹⁾、大塚公美子¹⁾、野間紘久¹⁾、菅原由美子¹⁾、高階光梨¹⁾、新川瑤子¹⁾、中島俊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、日本では不眠症治療の多くは薬物療法となっている²⁾。不眠症患者の多くはプライマリ・ケア医療機関を受診するものの、プライマリ・ケア医療機関には CBT-I を実施できるセラピストがいないこと、医療機関の医師やコメディカルが診療時間内で CBT-I を実施することが困難であることから、日本の医療においては薬物療法や睡眠衛

生教育がスタンダードな治療法となっている³⁾。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⁴⁾。

これらの背景から、本研究では世界的に有効性が示されている CBT-I を提供すべく、不眠症患者の多くが受診するプライマリ・ケア医療機関との連携体制の構築、遠隔 CBT-I の普及実装を目指した治療資材の開発を目的とし、パイロットスタディを行った。また、CBT-I の普及を目的としてセラピスト養成のための研修を実施した。

2. 方法

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

研究デザインとして無作為化多層ベースラインデザインを用い、ベースラインが2週の群と4週の群を設けた。組み入れとなった研究対象者は、ランダムにいずれかの群に振り分けられ、2週または4週のベースライン期を経て1回30分全4セッションの遠隔 CBT-I を受療した (図1)。パイロットスタディの主要評価項目は不眠重症度尺度の得点とした。

プライマリ・ケア医療機関では、遠隔 CBT-I を実施するために部屋やスタッフの確保が困難であったことから、NCNP のセラピストと研究対象者の自宅を電話またはビデオ会議システムで接続することによって CBT-I を実施した。パイロットスタディでは、プライマリ・ケア医療機関を受診した不眠症患者4名が遠隔 CBT-I に組み入れとなった。



図1 パイロットスタディのフローチャート

2-2. CBT-I セラピスト養成のための研修

認知行動療法センターが主催となり不眠症に対する認知行動療法研修を実施した。

3. 結果および考察

3-1. 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

4名の研究対象者のうち、3名が解析対象者となった。その3名のうち2名において主要評価項目である不眠重症度の改善が見られた。2名はベースライン期間から介入期間にかけてそれぞれ、61%、38%の有意な改善が認められた。また、重篤な有害事象は発生せず、遠隔 CBT-I の安全性を支持する結果が得られた。本研究は、ケースレポートとして、英文雑誌への投稿を予定している。

2-2. CBT-I セラピスト養成のための研修

170名がオンデマンドによる CBT-I の研修を受講し、CBT-I の普及に寄与した。

5. 結論

パイロットスタディでは、遠隔 CBT-I によって3名のうち2名の不眠の改善がみられた。遠隔 CBT-I の有効性・安全性の検証に加えて、CBT-I を実施できるセラピストがいないプライマリ・ケア医療機関と連携体制を構築できたこと、研修によって CBT-I セラピストの養成を行ったことも本研究の成果といえる。また、本研究で作成した資料や動画等の治療マテリアルは汎用性が高く、患者向けに作成されていることから診療時間の限られるプライマリ・ケア医療機関でも大いに活用できる資料となった。本研究によって得られたパイロットスタディの結果や構築したプライマリ・ケア医療機関との連携体制をもとに CBT-I のさらなる普及実装戦略を検討することが望まれる。

6. 参考文献

1. Kim, K., Uchiyama, M., Okawa, M., Liu, X., & Ogihara, R. (2000). An epidemiological study of insomnia among the Japanese general population. *Sleep*, 23(1), 41-47.
2. Sun, J., McPhillips, M. V., Chen, K. C., Zang, Y., Li, J., Oehlke, J., ... & Gooneratne, N. S. (2021). Primary care provider evaluation and management of insomnia. *Journal of Clinical Sleep Medicine*, 17(5), 1083-1091..
3. Takaesu, Y., Sakurai, H., Aoki, Y., Takeshima, M., Ie, K., Matsui, K., Utsumi, T., Shimura, A., Okajima, I., Kotorii, N., Yamashita, H., Suzuki, M., Kuriyama, K., Shimizu, E., Mishima, K., Watanabe, K., & Inada, K. (2023). Treatment strategy for insomnia disorder: Japanese expert consensus. *Frontiers in Psychiatry / Frontiers*

Research Foundation, 14, 1168100.

<https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1168100>

4. Norwood, C., Moghaddam, N. G., Malins, S., & Sabin-Farrell, R. (2018). Working alliance and outcome

effectiveness in videoconferencing
psychotherapy: A systematic review and
noninferiority meta-analysis. *Clinical psychology
& psychotherapy*, 25(6), 797-808.

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、三田村康衣¹、上原陽子¹
梅本郁恵¹、井上真里¹、野網恵¹、千葉裕之¹、高松直
岐¹、小居秀樹²、中尾智博³

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臨床研
究・教育研修部門 情報管理・解析部、³ 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で現在進行中の他レジストリ研究（精神疾患レジストリ研究等）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、当センター内でのデータ管理体制の整備を行った。

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。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）に加え、CBTセッション中のセンシングデータ、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（図3）。また、従来のカテゴリカルアプローチに縛られずに、ダイメンジョナルな視点で捉えることが、精神疾患の病態解明や治療機序の解明の一助となる可能性が指摘された。

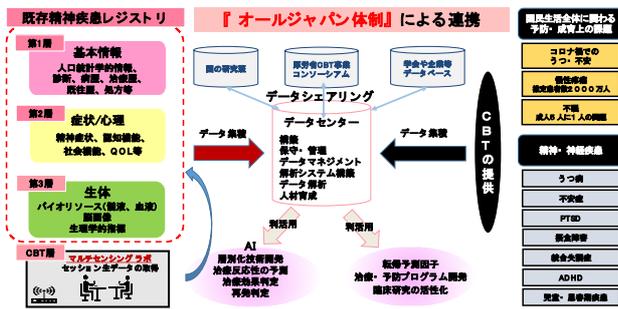


図3. CBTレジストリの構築体制

2. 他レジストリ研究との連携整備に係る検討

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²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14例の登録を行い、問題なく進めることができた。今後も、精神疾患レジストリへの登録を進め、CBT レジストリにおける症例数を増やす。さらに、AMED 研究「COVID-19 感染後の精神症状を有する患者レジストリの構築と病態解明及び新規治療法の開発に資する研究」³の成果物である PSCORE-J (Psychiatric Symptoms for COVID-19 Registry Japan) を利活用し、今後のコロナ後遺症に対する CBT 開発に向けたデータ蓄積と現状の検討を行った。レジストリに登録された922例のうち、軽度以上のうつ (PHQ-9)、不安 (GAD-7)、不眠 (ISI) が、それぞれ84パーセント、70パーセント、80パーセントであった。

結論

CBT の作用機序はまだ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や PSCORE-J 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〉](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〉](https://amedfind.amed.go.jp/amed/search/task_search_details.html) (2024.4.1)
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.
4. AMED 研究開発課題データベース COVID-19 感染後の精神症状を有する患者レジストリの構築と病態解明及び新規治療法の開発に資する研究
[〈https://www.amed.go.jp/koubo/14/03/1403_C_00032.html〉](https://www.amed.go.jp/koubo/14/03/1403_C_00032.html) (2024.4.1)

診断を越えた CBT の均てん化に関する研究

分担研究者：伊藤正哉¹

研究協力者：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、竹林由武⁴、大江悠樹^{1,5}、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

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 関西大学、³ 東京女子大学、⁴ 福島県立医科大学、⁵ 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改訂第2版（Barlow et al., 2017）の日本版を作成することとした。その際、UPにとり組んだことのある患者や、一般市民、臨床現場でUPを活用する専門家などの様々なステークホルダーからヒアリングを行った。

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。そのため、UPをすでに臨床で実践している期間を訪問してその工夫や実施法を調査した。

UPの治療機序の検討 様々な疾患群や健常群を有した既存の調査研究の二次解析を通して、統一プロトコルの実施に関与する変数を検証した。また、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を執筆した。

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、UPにとり組んだ患者や、臨床現場でUPを活用する臨床家からの意見を反映し、ワークブックについては日本の読者に馴染みやすいように様々なイラストを修正し、レイアウトも再度工夫を施した。集団版UPのヒアリングにおいては、現行の診療報酬において各機関で実施している工夫を聴取した。具体的には、UPがほかの

プログラムと並行して、病院全体の介入の中での位置づけのされかたについての情報を得た。

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) 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。UP を開発したボストン大学統一プロトコル研究所からコンサルテーションを受けた事例に関して、実践報告の事例論文としてまとめ、採択された (太田ら、印刷中)。

また、診断横断的な認知行動療法を均てん化するうえで、その査定法も重要となる。そこで、これまでの研究チームで実施してきた臨床試験の臨床査定に関する手法をまとめて、書籍として公表した (山口ら、2023)。

UP の治療機序の検討 臨床試験データの二次解析では、UP の治療機序として想定される感情調整が診断横断的な介入といかに関係するかについて整理し、総説として出版した (金子ら、2023)。さらにその論考を進め、日本認知療法・認知行動療法学会のシンポジウムで紹介した (伊藤ら、2023)。これらを抑うつ症状とゲーム行動を主訴とする青年に対し Unified Protocol を適用した一例としても発表した (金子、2023)。また、がん患者における睡眠障害に対する認知行動療法の治療機序に関してもまとめ、公表した (金子ら、2023)。実際のさらに、治療機序の解明に資すると考えられるネットワークアプローチとプロセスベースセラピーに関して翻訳を進め、出版した (菅原ら、2023)。加えて、不安感受性や Distress Tolerance については、過

去の大規模な観察研究のデータを用い、因子構造を疾患群と健常群で比較する検証を進めた。

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、臨床査定に関するテキスト、治療機序の理解に資するネットワークアプローチに関するテキストなどが含まれる。本年度は様々なステークホルダーからのヒアリングを行うこともでき、より現場で活用されやすいマテリアルを開発できたと考えてられよう。

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。UP が理論的に治療標的としている感情調整に関する知見を総説としてまとめ、シンポジウムとしても公表した。これらを裏付ける事例研究についても公表した。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

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.

伊藤正哉・金子響介・杉田創・矢部魁一・梶原真智子・豊田彩花・藤里紘子・加藤典子：診断横断アプローチによる認知行動療法：感情に注目した統一プロトコルを中心に，第23回日本認知療法・認知行動療法学会，広島，2023.12.01

金子響介、豊田彩花、杉田創、矢部魁一、永江亜紗、重枝裕子、伊藤正哉（2023）診断横断アプローチと感情調整：感情症への診断を越えた治療のための統一プロトコル（UP）. 精神療法, 49巻第2号, 184-189.

金子響介、杉田創、矢部魁一、伊藤正哉（2023）がん患者における睡眠障害に対する認知行動療法の適用可能性. *Progress In Medicine*, 43(10), 923-926.

金子響介・藤里紘子・加藤典子・伊藤正哉：抑うつ症状とゲーム行動を主訴とする青年に対し Unified Protocol を適用した一例，第23回日本認知療法・認知行動療法学会，広島，2023.12.01

太田真右、他（印刷中）家族へのイライラを主訴とする女性との診断を越えた認知行動療法のための統一プロトコル：オンラインでの介入の試み，認知療法研究

ステファン・G・ホフマン、ステイブン・C・ヘイズ、デイビット・N・ロールシャイト（著）菅原大地、樫原潤、伊藤正哉（監訳）（2023）プロセス・ベースド・セラピーをまなぶ：「心の変化のプロセス」をターゲットとした統合的ビジョン、金剛出版

山口慶子、大江悠樹、宮前光宏、伊藤正哉、堀越勝（2023）『エビデンスに基づく臨床査定メソッド 質の高い心理支援の基礎と実践』. 診断と治療社.

認知行動療法の社会実装に向けた体制構築研究

分担研究者：近藤真前¹

研究協力者：野網恵¹、高松直岐¹、三田村康衣¹、
梅本育恵¹、大井瞳¹、伊藤正哉¹

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

緒言

CBT は様々な精神疾患への有効性が確立しているが、我が国における社会実装は未だ十分ではない。普及を目的に平成 22 年より厚生労働省認知行動療法研修事業が行われてきたが、受講者の研修後の CBT 活用状況に関しては、CBT 実施率や実施を阻害する制度・施設面の要因等に関する実態調査¹が 2020 年に行われたのみである。本研究では、受講者の臨床面のサポート体制構築を目指して、CBT 実施状況に加えて CBT 治療スキル面の困難点、必要な相談サポート体制等の調査を行うとともに、モデル事業的にメール相談サポートを行い、CBT の社会実装に向けた体制構築について検討した。

方法

オンラインによるアンケート及びヒアリングを実施した。対象者は、2021 年度・2022 年度厚生労働省認知行動療法研修事業「認知行動療法の基礎研修及びうつ病に対する認知行動療法ワークショップ」受講者 278 名であった。研究参加依頼は、厚労省認知行動療法研修事業研修事務局が受講者メー

リングリストを用いてメールで行った。アンケート調査期間は、2023 年 12 月 4 日から 2024 年 2 月 15 日であった。アンケートの内容は基本情報、CBT 実施状況、CBT スキルの使用状況、及び相談体制に関してであり、資料¹⁻³を参考に作成した。加えて、CBT スキル面の困難点に関する相談をアンケート内で受け付け、研究チームでディスカッションした回答を相談者にメールで返信するという試みを行った。ヒアリングは、アンケートに相談事項を記述した参加者のうち 6 名を対象として、あらかじめ作成した質問項目による半構造化面接を実施した。相談事項に対しては、質的分析を行った。NVivo 14 を用いてデータ整理とコーディングを行い、inductive thematic analysis を実施した。

本研究は、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得て実施した。

結果

アンケート回答数は 50 件(男性 46.0%、女性 54.0%、年齢中央値 42.5 歳)であった。うつ病に対する構造化された CBT の実施率は 28.0%、CBT スキルの使用率は 88.0%であった。困った際の相談先がない者は 76.0%、相談体制を希望する者は 82.0%、相談体制があれば CBT を実施する機会が増えると考える者は 94.0%であった。希望する相談方法は、メール 82.0%、ビデオ会議システム 74.0%、対面 30.0%の順であった。研究チームからのメールによる回答に対して 90.0%が、ヒアリングに対して 100%が、「満足」と回答した。

相談事項は 22 名から 33 項目寄せられた。分析結果におけるコーディングカバー率は、「治療者要因：相談」30.0%、「構造・枠組み要因：患者

選定・CBTの適応」12.0%、「患者要因：患者特性・合併症」9.0%の順であった。

考察

研修後に受講者が継続してCBTを行うことのハードルは高く、相談体制を構築することはCBTの社会実装に有効である可能性が示唆された。

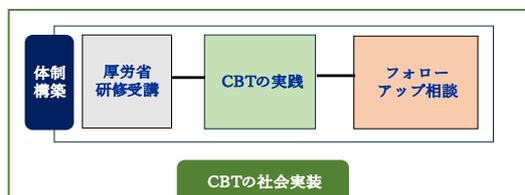
結論

本研究では、本邦初のCBT実践者に対するメール相談体制の実験をモデル的に行った。本研究の成果は、inductive thematic analysisを用いて本邦で初めてCBT実践者の相談事項を分析し、メールによる相談がCBT実践者のニーズに沿った相談体制の一環として機能することを確認できたことである。

引用文献

1. 特定非営利活動法人日本医療政策機構(HGPI). 認知行動療法及び認知行動療法の考え方に基づいた支援方法に係る実態把握及び今後の普及と体制整備に資する検討. 厚生労働省令和2年度(2020年度)障害者総合福祉推進事業. 2021.
2. Jesse H. Wright, Gregory K. Brown, Michael E. Thase, Monica R. Basco 著, 大野裕, 奥山真司監訳. 認知行動療法トレーニングブック [第2版]. 医学書院: 東京. 2018.
3. Misuzu Nakashima, Miki Matsunaga, Makoto Otani, et al. Development and validation of Group Cognitive Therapy Scale. medRxiv preprint. <https://doi.org/10.1101/2022.06.07.22276085>; this version posted June 8, 2022.

図1 相談体制構築と社会実装のモデル



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. 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、マイクロバイオームなど)が神経変性に影響するメカニズムの解明、3) バイオマーカー(画像、髄液など)の開発、4) 認知症のBPSD、介護者へのベストプラクティスの開発研究、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

橋本唯史 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

パーキンソン病(PD)の運動症状が顕在化する前の時期(前駆期)に出現する複数の非運動症状を再現したPD前駆期モデルマウスを用いて、慢性的な中途覚醒の増加による非運動症状(嗅覚低下・便秘)の発症時期とPD病理の変化を解析した。その結果、中途覚醒の増加によりPD前駆期モデルマウスの非運動症状の発症が早期化しPD病理が悪化すること

を見出した。野生型マウスで同様に検討したところ、中途覚醒による嗅覚低下は出現せず、便秘は出現したがPD前駆期モデルマウスと比較して軽微な変化にとどまっていた。以上より、睡眠の異常、なかでも慢性的な中途覚醒の増加がPD病態に寄与する非遺伝要因である可能性を見いだした。

臨床研究としては、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、認知機能の低下速度を検討した。結果、RBDが運動症状より先行した患者群において、一年あたりの認知機能スケールの低下速度が速いことが明らかになった。そのような認知機能低下の進行の早いレビー小体病患者の一群の髄液および髄液中エクソソーム中のプロテオーム解析を行なったところ、RBD先行群においてアミロイド関連分子が変動していた。

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、特にアルツハイマー病(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。

MCIやAD患者の側脳室内脈絡叢体積が、正常人に比べて増加するとの報告があるが、タウやアミロイドPETと脈絡叢体積の相関を調べた報告は無い。

本研究の結果、脈絡叢の体積は、タウ、アミロイド沈着共に正の相関を示した。特に AD 患者においてはタウとの相関を強く認めた。MRI で容易に求められる脈絡叢の体積は、AD 患者におけるタウ沈着の指標となりうることを示された。

異常分子の伝播機序・毒性と制御の解明

AQP4 活性化薬 TGN-073 の投与により、モデルマウス脳におけるタウタンパク質蓄積が軽減されることを実証した。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、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 3 年度にわたり累計 474 例に施行、高い予測能を実証した。レカネマブ治験結果の解析に参画し、アミロイド除去と臨床症状進行遅延効果を確認した。

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鑄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。

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。

FTLD-TDP Type A、Type B それぞれの剖検脳から調製した TDP-43 の繊維構造を決定し、TDP-43

の線維構造が神経変性疾患によって異なることが立証された。

神経変性疾患関連 RNA・タンパク質の細胞内分解機構の解明

リソソームが直接的に RNA・タンパク質を取り込み分解する機構を見だし研究を進めている。これまでに、直接的な取り込みをリソソーム膜タンパク質 SIDT2 が仲介することを明らかにした。また、ニューロパチーおよび縁取り空胞を伴うミオパチーの家系において SIDT2 の c.2226delG 変異を見いだした。本研究では、SIDT2 によるタンパク質取り込みのメカニズムについて、超解像共焦点顕微鏡を用いて解析を進め、取り込み形態を明らかにした。SIDT2 の c.2226delG 変異については、この変異を有するノックインマウスを作出し、解析中である。剖検脳の研究では、DLB および PD の前帯状皮質において、SIDT2 タンパク質量の上昇を見いだした。他にも、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。RNA 取り込みについては関与する RNA helicase を 1 種類見いだした。これらの分子は神経変性疾患の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

NCNP に設置された事務局を運営しレジストリ並びに自然歴調査を推進している。これまでに累積で 4906 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 2052 例に達している。プリオン病と遅発性ウイルス感染症に関する調査研究班と連携し、プリオン病における神経変性に関わる分子の検索を開始し継続している。

2) 臨床における医療・介護モデルの構築 自治体との協力的体制構築

これまでに小平市市役所、同医師会と協力的体制を構築し、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 93 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点へ上昇した。2022年度のデータは解析中である。

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。iSupport-Jの有用性を検証するためのRCTを開始し、目標症例数に到達した。中間解析の結果、早期介入群で Zarit 介護負担尺度 (介護負担) が有意に改善し、3ヶ月時点での継続率は90.1%であった。また、心理評価である Zarit 介護負担尺度、CES-D Scale (抑うつ症状)、GAD-7 (不安) の結果をフィードバックするシステムを開発し、iSupport-JのRCTにおいて被験者に提供した。

BPSDに対するロボットの有用性の検証

本研究では、認知症精査や認知症の行動・心理症状 (BPSD)治療等のために入院する患者を対象に、LOVOTによる不安や孤独感、ストレス、BPSDを軽減させる効果等を検証するための予備的研究を実施した。今後、実際に効果を評価する研究を実施予定である。

4. 研究成果刊行一覧

1. Sano T, Ochiai T, Nagayama T, Nakamura A, Kubota N, Kadowaki T, Wakabayashi T, Iwatsubo T: Reduced insulin signaling mitigates Alzheimer amyloid- β pathology by promoting expression of extracellular matrix proteins in the brain. *J Neurosci* 43:7226-7241, 2023 doi: 10.1523/JNEUROSCI.0071-23.2023
2. Sperling RA, Donohue MC, Raman R, Rafii M, Johnson K, Masters C, Van Dyck C, Iwatsubo T, Marshall G, Yaari R, Mancini M, Holdridge KC, Case M, Sims J, Aisen PS: Trial of Solanezumab in preclinical Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 389:1096-1107, 2023
3. Eguchi T, Sakurai M, Wang Y, Saito C, Yoshii G, Wileman T, Mizushima N, Kuwahara T, Iwatsubo T: The V-ATPase-ATG16L1 axis recruits LRRK2 to facilitate lysosomal stress responses. *J Cell Biol* 223:e202302067, 2024
4. Abe T, Kuwahara T, Suenaga S, Sakurai M, Funakawa K, Takatori S, Iwatsubo T: Lysosomal stress drives the release of pathogenic α -synuclein from macrophage lineage cells via the LRRK2-Rab10 pathway. *iScience* 27:108893, 2024
5. Kikuchi M, Miyashita A, Hara N, Kasuga K, Saito Y, Murayama S, Kakita A, Akatsu H, Ozaki K, Niida S, Kuwano R, Iwatsubo T, Nakaya A, Ikeuchi T: Polygenic effects on the risk of Alzheimer's disease in the Japanese population. *Alzheimer's Res Ther* 16:45, 2024
6. Fujiwara Y, Oroku K, Zhou Y, Takahashi M, Katayama T, Wada K, Tsutsumi N, Sato T, Kabuta T: Expression of RNautophagy/DNautophagy-related genes is regulated under control of an innate immune receptor. *RNA Biol.*, 21(1): 1-9, 2024
7. Yoshida K, Adachi T, Suzuki Y, Sakuwa M, Fukuda H, Hasegawa M, Adachi Y, Miura H, Hanajima R. Corticobasal degeneration with visual hallucination as an initial symptom: A case report. *Neuropathology*. 2024 Jan 30. doi: 10.1111/neup.12963.
8. Qi C, Verheijen BM, Kokubo Y, Shi Y, Tetter S, Murzin AG, Nakahara A, Morimoto S, Vermulst M, Sasaki R, Aronica E, Hirokawa Y, Oyanagi K, Kakita A, Ryskeldi-Falcon B, Yoshida M, Hasegawa M, Scheres SHW, Goedert M. Tau Filaments from Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism-Dementia Complex (ALS/PDC) adopt the CTE Fold. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023 Dec 19;120(51):e2306767120. doi: 10.1101/2023.04.26.538417.
9. Aiba I, Hayashi Y, Shimohata T, Yoshida M, Saito Y, Wakabayashi K, Komori T, Hasegawa M, Ikeuchi T, Tokumaru AM, Sakurai K, Murayama S, Hasegawa K, Uchihara T, Toyoshima Y, Saito Y, Yabe I, Tanikawa S, Sugaya K, Hayashi K, Sano T, Takao M, Sakai M, Fujimura H, Takigawa H, Adachi T, Hanajima R, Yokota O, Miki T, Iwasaki Y, Kobayashi M, Arai N, Ohkubo T, Yokota T, Mori K, Ito M, Ishida C, Tanaka M, Idezuka J, Kanazawa M, Aoki K, Aoki M, Hasegawa T, Watanabe H, Hashizume A, Niwa H, Yasui K, Ito K, Washimi Y, Mukai E, Kubota A, Toda T, Nakashima K; J-VAC study group. Clinical course of pathologically confirmed corticobasal degeneration and corticobasal syndrome. *Brain Commun*. 2023 Nov 3;5(6):fcad296. doi: 10.1093/braincomms/fcad296. eCollection 2023.
10. Zibold J, Lessard LER, Picard F, da Silva LG, Zadorozhna Y, Streichenberger N, Belotti E,

- Osseni A, Emerit A, Errazuriz-Cerda E, Michel-Calemard L, Menassa R, Coudert L, Wiessner M, Stucka R, Klopstock T, Simonetti F, Hutten S, Nonaka T, Hasegawa M, Strom TM, Bernard E, Ollagnon E, Urtizberea A, Dormann D, Petiot P, Schaeffer L, Senderek J, Leblanc P. The new missense G376V-TDP-43 variant induces late-onset distal myopathy but not amyotrophic lateral sclerosis. *Brain*. 2023 Dec 11;awad410. doi: 10.1093/brain/awad410.
11. Tarutani A, Hasegawa M. Ultrastructures of α -Synuclein Filaments in Synucleinopathy Brains and Experimental Models. *J Mov Disord*. 2024 Jan;17(1):15-29. doi: 10.14802/jmd.23213.
 12. Tarutani A, Kametani F, Tahira M, Saito Y, Yoshida M, Robinson AC, Mann DMA, Murayama S, Tomita T, Hasegawa M. Distinct tau folds initiate templated seeding and alter the post-translational modification profile. *Brain* 2023 Dec 1;146(12):4988-4999.
 13. Tanaka Y, Ito SI, Honma Y, Hasegawa M, Kametani F, Suzuki G, Kozuma L, Takeya K, Eto M. Dysregulation of the Progranulin-driven Autophagy-lysosomal Pathway Mediates Secretion of the Nuclear Protein TDP-43. *J Biol Chem*. 2023 Sep 20;299(11):105272. doi: 10.1016/j.jbc.2023.105272.
 14. Suzuki Y, Adachi T, Yoshida K, Taneda K, Sakuwa M, Hasegawa M, Hanajima R. Atypical TDP-43 proteinopathy clinically presenting with progressive nonfluent aphasia: A case report. *Neuropathology*. 2023 Sep 17. doi: 10.1111/neup.12942.
 15. Mori K, Shigenobu K, Beck G, Uozumi R, Satake Y, Suzuki M, Kondo S, Gotoh S, Yonenobu Y, Kawai M, Suzuki Y, Saito Y, Morii E, Hasegawa M, Mochizuki H, Murayama S, Ikeda M. A heterozygous splicing variant IVS9-7A > T in intron 9 of the MAPT gene in a patient with right-temporal variant frontotemporal dementia with atypical 4 repeat tauopathy. *Acta Neuropathol Commun*. 2023 Aug 10;11(1):130. doi: 10.1186/s40478-023-01629-3.
 16. Arseni D, Chen R, Murzin AG, Peak-Chew SY, Garringer HJ, Newell KL, Kametani F, Robinson AC, Vidal R, Ghetti B, Hasegawa M, Ryskeldi-Falcon B. TDP-43 forms amyloid filaments with a distinct fold in type A FTLD-TDP. *Nature*. 2023 Aug;620(7975):898-903. doi: 10.1038/s41586-023-06405-w.
 17. Tarutani A, Lövestam S, Zhang X, Kotecha A, Robinson AC, Mann DMA, Saito Y, Murayama S, Tomita T, Goedert M, Scheres SHW, Hasegawa M. Cryo-EM structures of tau filaments from SH-SY5Y cells seeded with brain extracts from cases of Alzheimer's disease and corticobasal degeneration. *FEBS Open Bio*. 2023 Aug;13(8):1394-1404. doi: 10.1002/2211-5463.13657.
 18. Matsui H, Ito S, Matsui H, Ito J, Gabdulkaev R, Hirose M, Yamanaka T, Koyama A, Kato T, Tanaka M, Uemura N, Matsui N, Hirokawa S, Yoshihama M, Shimozawa A, Kubo SI, Iwasaki K, Hasegawa M, Takahashi R, Hirai K, Kakita A, Onodera O. Phosphorylation of α -synuclein at T64 results in distinct oligomers and exerts toxicity in models of Parkinson's disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2023 Jun 6;120(23):e2214652120. doi: 10.1073/pnas.2214652120.
 19. Chakraborty R, Nonaka T, Hasegawa M, Zurzolo C. Tunnelling nanotubes between neuronal and microglial cells allow bi-directional transfer of α -Synuclein and mitochondria. *Cell Death Dis*. 2023 May 18;14(5):329. doi: 10.1038/s41419-023-05835-8.
 20. Morimoto S, Takahashi S, Ito D, Daté Y, Okada K, Kato C, Nakamura S, Ozawa F, Chyi CM, Nishiyama A, Suzuki N, Fujimori K, Kondo T, Takao M, Hirai M, Kabe Y, Suematsu M, Jinzaki M, Aoki M, Fujiki Y, Sato Y, Suzuki N, Nakahara J; Pooled Resource Open-Access ALS Clinical Trials Consortium; Okano H. Phase 1/2a clinical trial in ALS with ropinirole, a drug candidate identified by iPSC drug discovery. *Cell Stem Cell*. 2023 Jun 1;30(6):766-780.e9. doi: 10.1016/j.stem.2023.04.017.
 21. Qi C, Hasegawa M, Takao M, Sakai M, Sasaki M, Mizutani M, Akagi A, Iwasaki Y, Miyahara H, Yoshida M, Scheres SHW, Goedert M. Identical tau filaments in subacute sclerosing panencephalitis and chronic traumatic encephalopathy. *Acta*

- Neuropathol Commun. 2023 May 5;11(1):74. doi: 10.1186/s40478-023-01565-2.
22. 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 May;145(5):561-572. doi: 10.1007/s00401-023-02550-8.
 23. Okabe H, Hashimoto K, Norito S, Kume Y, Chishiki M, Hasegawa S, Sakai Y, Nomura K, Shibata T, Suzuki Y, Sunagawa T, Takao M, Hosoya M. Patients With Subacute Sclerosing Panencephalitis in Japan: A 2022 Nationwide Survey. *Pediatr Infect Dis J.* 2024 Apr 1;43(4):313-319. doi: 10.1097/INF.0000000000004234.
 24. Ota M, Sato N, Nakay M, et al. Relationship between the tau protein and choroid plexus volume in Alzheimer's disease. *NeuroReport* 2023, 34:546-550.
 25. Ota M, Sato N, Takahashi Y, et al. Correlation between the regional brain volume and glymphatic system activity in progressive supranuclear palsy. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2023;DOI:10.1159/000530075.
 26. 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.* 2023 Mar 14;18(3):688-705. doi: 10.1016/j.stemcr.2023.01.004. Epub 2023 Feb 9.
 27. Ota M, Sato N, Nakaya M, Shigemoto Y, Kimura Y, Chiba E, Yokoi Y, Tsukamoto T, Matsuda H. Relationship between the tau protein and choroid plexus volume in Alzheimer's disease *Neuroreport.* 2023 Aug 24;34(11):546-550. doi: 10.1097/WNR.0000000000001923. Epub 2023 Jun 7.
 28. Matsubara T, Murayama S, Tsukamoto T, Sano T, Mizutani M, Tanei ZI, Takahashi Y, Takao M, Saito Y. Parkinson's disease in a patient with olfactory hypoplasia: a model case of "body-first Lewy body disease" providing insights into the progression of α -synuclein accumulation *J Neurol.* 2023 Oct;270(10):5090-5093. doi: 10.1007/s00415-023-11783-2. Epub 2023 May 29.
 29. 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.* 2023 May 9;18(5):1246. doi: 10.1016/j.stemcr.2023.03.017.
 30. Niimi Y, Janelidze S, Sato K, Tomita N, Tsukamoto T, Kato T, Yoshiyama K, Kowa H, Iwata A, Ihara R, Suzuki K, Kasuga K, Ikeuchi T, Ishii K, Ito K, Nakamura A, Senda M, Day TA, Burnham SC, Iaccarino L, Pontecorvo MJ, Hansson O, Iwatsubo T. Combining plasma A β and p-tau217 improves detection of brain amyloid in non-demented elderly Alzheimers *Res Ther.* 2024 May 23;16(1):115. doi: 10.1186/s13195-024-01469-w.
 31. Nakaya M, Sato N, Matsuda H, Maikusa N, Ota M, Shigemoto Y, Sone D, Yamao T, Kimura Y, Tsukamoto T, Yokoi Y, Sakata M, Abe O. Assessment of Gray Matter Microstructural Alterations in Alzheimer's Disease by Free Water Imaging *J Alzheimers Dis.* 2024 May 15. doi: 10.3233/JAD-231416. Online ahead of print.
 32. Ueda T#, Takeuchi T#,* (#equal contribution), Fujikake N, Suzuki M, Minakawa EN, Ueyama M, Fujino Y, Kimura N, Nagano S, Yokoseki A, Onodera O, Mochizuki H, Mizuno T, Wada K, and Nagai Y*. Dysregulation of stress granule dynamics by DCTN1 deficiency exacerbates TDP-43 pathology in Drosophila models of ALS/FTD. *Acta Neuropathol Commun* 2024 Feb 4;12(1):20. doi: 10.1186/s40478-024-01729-8.
 33. Kohri N, Ota M, Kousaku H, Minakawa EN, Seki K, Tomioka I. Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. *PLoS One,* 2023 Jun 9;18(6):e0287065. doi: 10.1371/journal.pone.0287065.

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

認知症の原因疾患として最も頻度の高い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、プレクリニカル期 AD と呼ばれる無症候期の診断と病態については未解明の点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 J-TRC 等疾患コホート研究と連携し、超早期診断と治療介入の実現に向けた研究を展開する。第3年度にはモデルマウス脳におけるタウ蓄積の神経活動依存性について検討するとともに、J-TRC と連携した臨床研究を展開した。

方法

2.5 ヶ月齢タウトランスジェニックマウス(PS19)の側頭葉海馬傍回に線維化した recombinant タウ微小管結合部位タンパク質を注入すると同時にチャネルロドプシン SSFO を AAV を用いて導入した。4週間後より光刺激プローブを介して1日1回4週間にわたり光刺激を行ったのち、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。J-TRC 研究と連携して154例の高齢非認知症患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特に A β 42/40 の変化を解析した。

結果

3.5 ヶ月齢から 4.5 ヶ月齢までの 1 ヶ月間にわたり、海馬傍回より貫通線維路を介して海馬歯状回への入力経路に刺激を与えたタウトランスジェニックマウス(PS19)の海馬を抗リン酸化タウ抗体 PHF-1 で免疫染色すると、海馬のタウ陽性面積は 4-5 倍有意に上昇した。脳実質からギ酸で抽出される不溶性リン酸化タウ濃度も 3-4 倍の有意な上昇を示した。

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 2023 年度に組み入れた 154 例を含めて 668 例中 170 例 (25.4%) に見られ、国立精神神経医療センターでは 2023 年度に 26 例、5 年間で 79 例がスクリーニングされ、75 例中 23 例 (30.7%) がアミロイド上昇を示した。4 うち 74 例で検討した血漿 A β 42/40 比率 (島津テクニクス社にて測定) は、Area Under the Curve (AUC) 値 0.85 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、海馬入力系に慢性的な刺激を加えることにより、シード誘発性のタウ伝播が更新することを実証した。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 A β 42/40 比が高い予測能を発揮することが示された。

結論

タウのプリオン様伝播現象が、神経活動依存性に増大することをはじめて実証した。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 A β 42/40 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認した。今後リン酸化タウ等と組み合わせることにより、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、血液バイオマーカーは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. Sano T, Ochiai T, Nagayama T, Nakamura A, Kubota N, Kadowaki T, Wakabayashi T, Iwatsubo T: Reduced insulin signaling mitigates Alzheimer amyloid- β pathology by promoting expression of extracellular matrix proteins in the brain. *J Neurosci* 43:7226-7241, 2023
2. Sperling RA, Donohue MC, Raman R, Rafii M, Johnson K, Masters C, Van Dyck C, Iwatsubo T, Marshall G, Yaari R, Mancini M, Holdridge KC, Case M, Sims J, Aisen PS: Trial of Solanezumab in preclinical Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 389:1096-1107, 2023

プリオン病のレジストリ推進と自然歴・病態解明
ならびに本研究班における研究・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現地開催し合計548例を超える症例を検討し、累積で5055例をプリオン病と判定した。自然歴調査も順調に進捗し、登録は年度末に累計で約2192例に達している。

- (3) 近年、神経病理部門の強化が進んでいるが、高尾部長との共同研究で発症関連分子の抗体入手など免疫組織学的研究の基盤整備が進んだ。また、プリオン蛋白質とその遺伝子の検査について、東北大学からの要請によりNCNPで行う準備が進められた。

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できる。

結論

主任研究者、幹事との連携により、研究班全体の発展に貢献する体制の構築ができた。今後の融合・連携の進捗が期待される。

厚生労働省のプリオン病研究班と連携して、サーベイランス調査と自然歴調査を進め、特に後者のデータ解析の基盤が整備できた。またプリオン蛋白質・遺伝子検査は臨床的・基礎的研究に大きく貢献するものと期待される。

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. Hamada S, Takahashi-Iwata I, Satoh K, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Yabe I. Genetic Creutzfeldt-Jakob disease with 5-octapeptide repeats presented as frontotemporal dementia. *Hum Genome Var*. 2023; 10(1): 10.
2. Kai H, Teruya K, Takeuchi A, Nakamura Y, Mizusawa H, Yamada M, Kitamoto T. Preventive or promotive effects of PRNP polymorphic heterozygosity on the onset of prion disease. *Heliyon* 2023; 9(3): e13974.

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。

我々はこれまでに、リソソーム膜タンパク質 SIDT2 が核酸とタンパク質のリソソーム内への取り込みに機能することを見いだした。また、ニューロパチーおよび縁取り空胞を伴うミオパチーの疾患家系において SIDT2 の c.2226delG 変異（ヘテロ）を見いだした。生化学的解析の結果、この変異はドミナント・ネガティブとして機能することがわかった。

方法

培養細胞を用いて細胞生物学・生化学的解析により分解機構の分子メカニズムについて解析を進めた。また、分解機構に関わる分子について遺伝子改変マウスを用いて表現型を解析した。

結果、考察、結論

RDA の制御分子 SIDT2 や LAMP2C の発現が、核酸の自然免疫受容体シグナル活性化により上昇し、異常 RNA の分解促進に寄与することを見出した(文献 1)。

SIDT2 の c.2226delG ノックインマウスの解析を進めた。約 2 年齢の個体において握力が低下していた。現在病理学的解析について進めている。

肥満などの生活習慣病は認知症のリスクファクターであることから脂質分解についても研究を進めている。リソソームによる直接的な脂肪滴分解（ミク

ロリポファジー）を促進する分子を見だし、この分子を過剰発現するトランスジェニック・マウスについて解析した。リポドーム解析を進め、トランスジェニック・マウスでは脂質分解が促進しており、生活習慣病が予防されるという結果を得た。現在論文投稿の準備中である。

昨年度に引き続きタンパク質(α -synuclein など)のリソソーム分解を促進する因子 C について解析を進めた。超解像共焦点顕微鏡解析の結果から因子 C はマイクロオートファジーを促進することがわかった。また、分子メカニズムとして、この分解経路は VPS4 依存性であることが明らかとなった。

参考文献

1. Fujiwara Y, Oroku K, Zhou Y, Takahashi M, Katayama T, Wada K, Tsutsumi N, Sato T, *Kabuta T: Expression of RNautophagy/DNautophagy-related genes is regulated under control of an innate immune receptor. **RNA Biol** 21:1-9 (2024)

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

諸言

亜急性硬化性全脳炎 (SSPE) は、麻疹感染後、数年の無症状期間を経て発症する致命的な神経疾患で、神経病理学的には、大脳皮質の重度の神経細胞脱落、脱髄、血管周囲リンパ球浸潤、ウイルス性核内封入体と共に、線維化したタウの病変を伴う。また、TDP-43 を伴う前頭側頭葉変性症 (FTLD-TDP) Type A は、神経病理学的に神経細胞内封入体、短い突起内封入体、核内封入体を伴い、*PGRN* 変異や孤発性 FTLD で認められる病型の TDP-43 プロテインのパチーである。今回、これらの疾患脳に蓄積するタウ繊維や TDP-43 線維をクライオ電子顕微鏡解析により、その原子構造を解析した。また、ヒトタウを発現させた培養細胞に、患者脳由来のタウ線維シードを導入すると、シード依存的にタウ凝集、線維化するが、細胞内で凝集したタウ線維の構造がどのような構造で線維化しているかについて解析を行った。

方法

SSPE の 2 例は、愛知医大と国立精神・神経医療研究センターの症例で、両患者とも小児期に麻疹に罹患し、数年の無症状の後、SSPE の臨床像を呈し、3R タウと 4R タウの蓄積を伴う神経原線維変化が認められた症例である。サルコシル不溶性画分を調製し、ウェスタンブロット解析を実施した。また、FTLD-TDP Type A の患者の剖検脳はマンチェスターブレインバンクから提供された。凍結脳よりサルコシル不溶性画分を調製し、ウェスタンブロットにより生化学解析、質量分析を行うと共に、試料中の TDP-43 線維は免疫電顕にてその量や形態を観察した。いずれの試料も英国 MRC の研究者に送付し、クライオ電顕解析を行った。培養細胞に HA あるいは FLAG タグの付いたヒト 3R タウ、あるいは 4R タウを発現させ、AD 脳由来のタウ、あるいは CBD 脳由来のタウを培養細胞に導入し、3 日後に細胞内で凝集したタウ線維を回収し、クライオ電顕解析を行った。

結果

1. SSPE 患者脳のタウの折りたたみ構造
SSPE 患者脳から調製したタウ線維はクライオ電顕解析の結果、慢性外傷性脳症 (CTE) のタウ線維と同じタイプ I とタイプ II の 2 種類のタウ線維が観察

されること、また Type I タウ線維が 90%以上を占めることが判明した。生化学的には AD のタウと区別がつかないものの、その構造は異なる折りたたみ構造をとっており、その形成機序や蓄積機序が AD とは異なることが示唆される。CTE と SSPE の共通点から、慢性炎症がタウの線維形成の原因と推測される。

2. Type A 病理の TDP-43 線維の構造
TDP-43 の蓄積を伴う前頭側頭葉変性症 (FTLD-TDP) は、TDP-43 の蓄積形態や脳内分布の違いから、少なくとも 4 つのタイプがあるが、今回 2 例の家族例、1 例の孤発例の FTLD-Type A 剖検脳からサルコシル不溶性 TDP-43 線維を調製し、クライオ電顕解析した結果、ALS とは異なるシェブロンバジ様の特有の折りたたみの構造をとって TDP-43 線維が形成されていることが明らかとなった。以前に決定した ALS や FTLD-TDP Type B の TDP-43 の折りたたみとは異なっており、TDP-43 の線維構造が神経変性疾患によって異なることを立証された。また個々の TDP-43 線維内に構造多形が存在することも示された。このことは、アミロイド線維が必ずしも一様な繰り返し構造をとるとは限らないことを示している。

3. 培養細胞内で患者脳由来タウ線維をシードとして凝集したタウの構造
全長ヒト 3R タウを発現させた細胞に AD 患者脳から調製したタウ線維をリポフェクションで導入し、3 日間培養した細胞に形成したタウ線維は、AD 脳に蓄積する PHF に似た形態の線維が形成されていたが、クライオ電顕解析の結果、ほぼ同じ折りたたみ構造の線維が形成されていることが判明した。一方、4R タウを発現させた細胞に CBD 患者脳から調製したタウ線維を導入した培養細胞に形成されたタウ線維は、一部の構造が異なっていたが元の構造とよく似た線維が形成されていた。翻訳後修飾についても解析したが、リン酸化についてはかなり患者脳と同じ部位のリン酸化が再現されていたが、ユビキチン化やアセチル化などは患者脳に蓄積しているものほどは検出されなかった。このことは培養細胞内での線維が、形成初期の状態を反映しているためと考えられた。これらの結果から患者由来のタウ線維を導入する細胞モデルは患者脳のタウの線維化をよく再現するモデルであり、治療薬等のスクリーニングや評価に有用であると考えられた。

参考文献

1. Qi C, Hasegawa M, Takao M, Sakai M, Sasaki M, Mizutani M, Akagi A, Iwasaki Y, Miyahara

- H, Yoshida M, Scheres SHW, Goedert M.
Identical tau filaments in subacute sclerosing
panencephalitis and chronic traumatic
encephalopathy. *Acta Neuropathol Commun*
2023 May 5;11(1):74. doi: 10.1186/s40478-023-
01565-2 査読有.
2. Arseni D, Chen R, Murzin AG, Peak-Chew SY,
Garringer HJ, Newell KL, Kametani F,
Robinson AC, Vidal R, Ghetti B, Hasegawa M,
Ryskeldi-Falcon B. TDP-43 forms amyloid
filaments with a distinct fold in type A FTLD-
TDP. *Nature* 2023 Aug;620(7975):898-903.
doi: 10.1038/s41586-023-06405-w. 査読有.
 3. Tarutani A, Lövestam S, Zhang X, Kotecha A,
Robinson AC, Mann DMA, Saito Y, Murayama
S, Tomita T, Goedert M, Scheres SHW,
Hasegawa M. Cryo-EM structures of tau
filaments from SH-SY5Y cells seeded with
brain extracts from cases of Alzheimer's
disease and corticobasal degeneration. *FEBS
Open Bio* 2023 Aug;13(8):1394-1404. doi:
10.1002/2211-5463.13657. 査読有.
 4. Tarutani A, Kametani F, Tahira M, Saito Y,
Yoshida M, Robinson AC, Mann DMA,
Murayama S, Tomita T, Hasegawa M.
Distinct tau folds initiate templated seeding
and alter the post-translational modification
profile. *Brain* 10 August 2023.
doi.org/10.1093/brain/awad272. 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

高齢化の進む日本において、加齢に伴う様々な神経疾患があらためて注目されている。また、過去には指摘されてこなかったあらたな病態も確認されるようになってきた。

脳疾患に限った場合でも、脳血管疾患だけでなく、アルツハイマー病、レビー小体病、前頭側頭葉変性症、プリオン病など新たな疾患も発見されている。特に、アルツハイマー病においては、アミロイドβに対する抗体治療が保険診療として可能になったことで、高齢者における認知症疾患直考える上で、正確にアルツハイマー病を選択すること、同時に合併する神経疾患（例：アルツハイマー病+レビー小体病）などが、決して少なくないことを理解し、かつ臨床的に鑑別を行うことはたいへん重要な局面になってきた。

本研究においては、とくに超高齢者の脳病理学的変化の観点から、日本だけでまとまった研究が可能な超百寿者（110歳以上）の脳病理所見の検討を行い、長寿者における脳病理変化は、単なる加齢の連続ではない可能性を示唆することができた。

さらに、日本では高齢で発症をする遺伝性クロイツフェルト・ヤコブ病（プリオン病の1病型）が多いことが知られてきた。その変異はV180Iとして知られ、欧米では極めて稀であるが、日本では現在までに611例で遺伝性プリオン病の半数以上を占める。平均発症年齢が79歳、臨床経過は2年にも及ぶことから、症例によってはアルツハイマー病と診断をされていることもあり、臨床的に正確な診断が求められる。R5年度は、R4年度から継続してV180Iの病理学的検索を継続した。

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も含め、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

R4年度の検討をした症例を継続して検討した。肉眼病理所見では、中等度の脳萎縮、脳皮質の菲薄化、脳白質の容積減少と褐色変化を認めた。し

かし、これは臨床経過にもよるものと考えられる。組織学的には、脳皮質は重度の海綿状変性、あるいは、グリオシスが主体の高度の粗鬆化を呈する。小脳皮質では分子層に軽度のグリオシスを認めた。抗プリオン抗体による免疫染色では、脳皮質では微細な顆粒状のシナプス型沈着が認められた。小脳皮質では、一部の症例で点状の粗い沈着が観察された。この所見は、孤発性クロイツフェルト・ヤコブ病とは大きく異なる点であった。また、プルキンエ細胞の樹状突起に沿って抗プリオン抗体が陽性所見を示すこともあった。網膜では、主に外網状層と内網状層に二層性の抗プリオン抗体陽性所見が一貫して観察された。アルツハイマー病の病態である老人斑と神経原線維変化は多くの症例で観察された。ウェスタンブロッティングによる生化学的解析では、タイプ2のパターンが認められたが、2糖鎖のバンドが欠如することは一貫した所見であった。

考察

V180I変異を有するクロイツフェルト・ヤコブ病は、病理学的にアルツハイマー病病理変化を認めることは、年齢的にも稀な所見ではない。臨床経過が遅いことから、アルツハイマー病で発症をしていた症例に、プリオン病が発病をすることなども考えられ、また、アルツハイマー病と誤って診断をされることもあり得ると考えられる。認知症の治療方法が、特定の疾患をターゲットとしたものになるにつれて、より正確な臨床診断方法の確立もさらに重要になると推察された。

結論

3年間の研究において、超高齢者、特に110歳を超える例においては、アルツハイマー病病理変化は見られるものの、従来予想されてきたように、加齢に伴って、その病理変化が単調に伸展あるいは増悪をするといったものではないことが明らかになった。また、TDP-43をベースにするLATE病理を一定頻度認めるものの、脳血管疾患の程度は軽微であり、レビー小体病理を呈することは希有であった。

V180Iの病理変化については、上述した通りである。

認知症の治療選択肢が拡大する中で、高齢者の認知症を詳細に検討することは益々重要になる。その過程で、高齢者の脳病理における混合病理のコンセプトを、より広く周知し、かつ臨床診断、治療に生かすことも重要であると考えられた。

参考文献

1. Aiba I, Hayashi Y, Shimohata T, Yoshida M, Saito Y, Wakabayashi K, Komori T,

Hasegawa M, Ikeuchi T, Tokumaru AM, Sakurai K, Murayama S, Hasegawa K, Uchihara T, Toyoshima Y, Saito Y, Yabe I, Tanikawa S, Sugaya K, Hayashi K, Sano T, Takao M, Sakai M, Fujimura H, Takigawa H, Adachi T, Hanajima R, Yokota O, Miki T, Iwasaki Y, Kobayashi M, Arai N, Ohkubo T, Yokota T, Mori K, Ito M, Ishida C, Tanaka M, Idezuka J, Kanazawa M, Aoki K, Aoki M, Hasegawa T, Watanabe H, Hashizume A, Niwa H, Yasui K, Ito K, Washimi Y, Mukai E, Kubota A, Toda T, Nakashima K; J-VAC study group. Clinical course of pathologically confirmed corticobasal degeneration and corticobasal syndrome. *Brain Commun.* 2023 Nov 3;5(6):fcad296. doi: 10.1093/braincomms/fcad296. eCollection 2023.

2. Moody J, Kouno T, Kojima M, Koya I, Leon J, Suzuki A, Hasegawa A, Akiyama T, Akiyama N, Amagai M, Chang J-C, Fukushima-Nomura A, Handa M, Hino K, Hino M, Hirata T, Imai Y, Inoue K, Kawasaki H, Kimura T, Kinoshita T, Kubo K-i, Kunii Y, López-Redondo F, Manabe R, Miyai T, Morimoto S, Nagaoka A, Nakajima J, Noma S, Okazaki Y, Ozaki K, Saeki N, Sakai H, Seyama K, Shibayama Y, Sujino T, Tagami M, Takahashi H, Takao M, Takeshita M, Takiuchi T, Terao C, Yip CW, Yoshinaga S, Okano H, Yahamoto K, Kasukawa T, Ando Y, Carninci P, Shin JW, Hon C-C. A single-cell atlas of transcribed *cis*-regulatory elements in the human genome. *bioRxiv.* 2023:2023.11.13.566791.
3. Matsubara T, Murayama S, Tsukamoto T, Sano T, Mizutani M, Tanei ZI, Takahashi Y, Takao M, Saito Y. Parkinson's disease in a patient with olfactory hypoplasia: a model case of "body-first Lewy body disease" providing insights into the progression of α -synuclein accumulation. *J Neurol.* 2023 Oct;270(10):5090-5093. doi: 10.1007/s00415-023-11783-2.
4. 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.

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 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。拡散テンソル画像 (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た。またアルツハイマー型認知症 (AD) では側脳室内の脈絡叢体積が正常に比べて増大することが、最近MRI で報告されている。しかしこれまでタウやアミロイド PET と脈絡叢体積の相関を調べた報告は無い。また MRI で測定する脳の間質液の流れの指標、DTI-ALPS の有用性を昨年 AD にて示したが、進行性核上性麻痺 (PSP) 患者での研究報告はこれまでない。我々は脈絡叢体積とタウやアミロイド PET との関係や、PSP 患者における DTI-ALPS の有用性を検討した。

対象と方法

① AD における PET と脈絡叢体積の関係

20 例の AD と 35 例の正常例にて、MRI、18 F-THK5351-PET、11 C-PiB-PET 検査を施行した。MRI にて脈絡叢体積、テント上の脳体積とそれらの比と、PET でそれぞれの SUVR との相関を調べた。

② PSP 患者における DTI-ALPS の有用性の検討

24 例の PSP 患者と 30 例の正常健常者を対象に、3 DT1WI と DTI を撮影し、脳幹、脳室、全脳の体積と、DTI-ALPS を算出した。これらの測定値を健常者と PSP 患者において、VBM 解析にて 2 群間比較を行った。また PSP 患者にて、DTI-ALPS と脳部分容積の重回帰分析を行った。

結果

①の研究では脈絡叢の体積は、タウ、アミロイド沈着共に正の相関を示した。特に AD 患者においてはタウとの相関を強く認めた。

②の研究において、VBM の灰白質解析では、PSP 群は正常群に比して、両側前頭葉、側頭葉内側、島皮質に優位に体積の減少を認めた。白質解析では、PSP 群では脳幹に優位の体積減少を認めた。DTI-ALPS と脳部分容積の重回帰分析では、灰白質解析では右

前頭葉～島皮質に、また白質解析では、脳幹被蓋にそれぞれ正の相関を認めた。

結論

MRI で容易に求められる脈絡叢の体積は、AD 患者におけるタウ沈着の指標となりうることを示された。また DTI-ALPS と相関を認める部位が、灰白質では前頭葉、白質では脳幹被蓋という PSP のターゲット部位であり、DTI-ALPS は PSP の良いバイオマーカーになりうることを示した

参考文献

1. Ota M, Sato N, Nakay M, et al. Relationship between the tau protein and choroid plexus volume in Alzheimer's disease. NeuroReport 2023, 34:546-550.
2. Ota M, Sato N, Takahashi Y, et al. Correlation between the regional brain volume and glymphatic system activity in progressive supranuclear palsy. Dement Geriaty Cogn Disorder 2023;DOI:10.1159/000530075.

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る。PD 患者における認知症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。PD 患者は運動症状が発症する以前からすでに嗅覚低下や睡眠障害、自律神経障害などの非運動症状がみられることが明らかになり、これらは将来の PD 発症を予測するバイオマーカーとして注目されている。また、これらの非運動症状は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。この中で RBD は PD や Lewy 小体病で高頻度に見られる睡眠関連障害であるが、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、 α シヌクレイン病理の拡がりなど、病理学的な背景と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、臨床データベース化を進め、希少な神経変性性認知症に関する知見を提供する。

方法

本研究では PD 患者を RBD の出現時期によって層別化し、各群で認知機能障害や幻覚などの精神症状の出現様式などを検討した。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の結果から得られた予備的知見をもとに、関連する分子動態に違いがあるかを各群で検討した。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のデータベースを使用した。これまでに PD 患者

においては RBD の発症様式によって髄液中の蛋白発現量の違いがみられ、関連するパスウェイを同定しており、このパスウェイに関連する分子が PD コホート患者血液で変動しているかを検証した。

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・画像・病理などの臨床情報を中心に実施した。

結果

RBD に着目して層別化した PD コホート患者で、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。これら層別化した PD 患者における脳脊髄液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認知症関連蛋白質について、血液中での変化を検証したところ、この分子の増減は認知機能低下や精神症状の発症との関連が示唆された (脳脊髄液の網羅的解析はがん研究会植田幸嗣博士に実施していただいた)。

神経変性認知症疾患のデータベース化については、タウ蛋白質の変異を有する症例や孤発性タウオパチー、遺伝性プリオン病など、剖検で確定診断している症例を中心に臨床・画像・病理所見を統合的にデータベース化し、論文公表準備を進めている。

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、さらに脳脊髄液中の認知症関連分子との関連が示唆されていることが本研究から明らかになっている。さらに、血液中の当該分子の動態が PD 患者の認知症や精神症状発症に関連していることが明らかになったことは、侵襲性の少ない血液検体で PD 患者の認知症発症を予測するマーカーとして応用可能なことを示している。Lewy 小体病の病原蛋白質である α シヌクレインと、本研究で同定された認知症関連の分子が関連した病態なのか、あるいは独立した合併事象なのかなど、両分子間の相互作用などは本研究では検証できていない。今後、Lewy 小体病を足掛かりにした本研究成果もとにして、神経変性認知症疾患全体に共通する病態メカニズムが明らかになることが期待される。

結論

PD など Lewy 小体病における認知症発症リスクの同定に関する臨床・分子的バイオマーカーの探索を行った。本研究では特に侵襲性の少ない血液検体

から、認知症に関連する分子が PD 患者における認知症や精神症状を予測するバイオマーカーとして見出したことは、今後の Lewy 小体病患者における認知症の発症メカニズムの解明や、予後予測や薬剤選択などに臨床応用できると期待される。

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。本研究では、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コミュニケーションロボットを用いた研究において、不安、焦燥感、抑うつ、痛み、無気力、孤独感、興奮、不眠を軽減させるという効果が報告されており、QOL の向上、処方薬の使用量減少、費用対効果のメリットなども示されている。LOVOT (ラボット) は、GROOVE X 株式会社が開発したコミュニケーション・ペット型ロボットで、全身のタッチセンサーで触られ方を認識し、個人を識別して面倒を見てくれた人に懐く。本研究では、認知症を含む高齢入院患者を対象に、不安などの精神症状がロボットによって軽減する効果を検証するための研究計画を立案し、予備的研究を実施する。

方法

① 令和3年1月より開始した RCT を継続する。日本全国の認知症介護者を対象に、専用ホームページから被験者を募集する。全国紙等に広告を掲載し、被験者募集を促進する。iSupport-J システムへの登録後、心理評価とアンケート (ePRO) によるスクリーニングを行い、重度のうつ状態あるいは不安状態にある介護者は除外する。選択基準を満たし無作為割付の対象となった被験者は、ランダムで早期介入群とウェイトリングリスト (WL) 群とに分ける。早期介入群は、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 名とする。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。Zarit 介護負担尺度日本語版: J-ZBI (介護負担)、CES-D Scale (抑うつ症状)、GAD-7 日本語版 (不安) の結果を、被験者にフィードバックするシステムを開発し実装する。

② 研究の実現可能性や妥当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。予備的研究としての研究計画を立案し、倫理委員会に申請する。

結果

① 令和3年1月から令和6年1月まで RCT を実施した。同意取得数は 433 名、このうち割付対象は 240 名 (早期介入群 121 名、WL 群 119 名) であった。ベースラインは、女性が 82.4% と多く、平均年齢は 58.6 歳、J-ZBI 総得点の平均は 58.2 点と中等度負担感であった。3ヶ月時点でのデータを解析した結果、早期介入群において J-ZBI 総得点の有意な改善が認められた。CES-D Scale と GAD-7 は、統計学的有意差を示さなかった。WHO が主催する web 会議で各国の iSupport 研究チームと情報共有を行い、国際学会で発表した。J-ZBI、CES-D Scale、GAD-7 の結果をフィードバックするシステムを被験者に提供した。

② 軽度認知障害及び軽度認知症、軽度～中等度のうつ病・うつ状態、パーキンソン病の高齢入院患者を対象に、LOVOT を1週間使用する群と対照群とにランダムで割り付け、不安、抑うつ、プログラムへの満足度等を評価する計画を立案し、倫理委員会の承認を得た。

考察

① iSupport-J を 3 ヶ月間使用することで、介護負担感が軽減することが示された。抑うつと不安については、統計学的な有意差を認めなかったが、重度の抑うつ・不安を呈する介護者を除外したためと考えられる。

② 職員や病棟内での試用において好意的な意見が多かった中で、転倒や感染のリスク、大部屋で使用した場合の他患への影響といった懸念があり、研究計画の立案が難航した。ロボットを入院患者に導入する際には、環境などに十分な配慮が必要と考えられる。

結論

認知症介護者にとって、インターネットを用いた自己学習プログラムは有用であると考えられる。

BPSD に対するロボットの有用性の検証については、データの収集を開始する。

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・認知症疾患医療センター

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の人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。市と共に作成したマニュアルに従い、チェック会をほぼ毎月（年に 10 回）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 毎年募集される「健康ポイント」事業の参加者に対して、年度初めと年度末に認知機能検査を行い、運動による認知機能の向上、低下抑制などの介入効果を調べる。

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（2024 年 03 月 28 日現在 103 人）（昨年同時期 82 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、継続してきたが、2022 年からは年に 10 回、「もの忘れチェック会」を開催しており、2023 年とも同様に 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 で認知機能の評価し、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。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。しかし、2022 年後期となってからは、もの忘れチェック会や「健康ポイント」への参加も基に戻ってきている。今後の参加者の増加が見込まれる。

結論

アルツハイマー病の疾患修飾薬も上市され、早期認知症や前臨床期認知症の人を発見・登録する事業は、今後ますます重要な研究分野になると思われる。

参考文献

1. 塚本忠, 生活習慣と認知症発症予防, CLINICAL NEUROSCIENCE. vol.41(9) p1178-1181

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、欧米先進諸国の少なくとも一部では認知症の有病率や罹患率が減少に転じており、既知の非遺伝リスク要因（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。このような知見は認知症・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、認知症・神経変性疾患の予防標的となる未知の非遺伝要因を同定して、その背景機構を解明することがこれらの疾患の克服に向けた重要な手がかりとなるものと期待される。

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、なかでも神経変性疾患の患者や非認知症高齢者にしばしばみられる中途覚醒の増加に着目して研究を進めてきた。とりわけ、ヒトと同一性の高い睡眠-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。我々は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にもとづき、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、なかでも運動症状が顕在化する前の前駆期の病態に着目して、中途覚醒の増加をはじめとする睡眠の異常が PD 病態に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の顕在化以前の時期（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に慢性的な中途覚醒の増加を誘発した際

の、PD 患者の前駆症状に対応するマウスの行動学的表現型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行動学的表現型について、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。さらに、睡眠の異常の重症度とこれらの表現型の一部が有意に相関することを見出した。

考察

以上の結果は中途覚醒の増加が PD 病態に寄与する非遺伝要因である可能性を示唆するとともに、睡眠の異常による病態進行が AD 特異的な現象ではないことを示唆している。従来、中途覚醒の増加をはじめとする神経変性患者の睡眠の異常は、神経変性病理が睡眠-覚醒や概日リズムの制御機構に波及した結果として生じるものと考えられてきたが、我々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³⁾。

現在、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進めている。今後はこれらの解析を通じて、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の解明をめざす。

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.
3. [Minakawa EN](#). Bidirectional Relationship Between Sleep Disturbances and Parkinson's Disease. *Front Neurol*. 2022, 13:927994.

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 determined the structures of α -synuclein or TDP-43 filaments from the brains of patients with PD, PDD and DLB, or FTLD-TDP. 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.

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[進行性核上性麻痺 (PSP)、大脳皮質基底核変性症 (CBS)]・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。共通および疾患毎の観察項目を設定し、電子カルテのデータを効率よく収集するための環境を整備する。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。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。

[2] 血漿・髄液等の生体試料を取得し、疾患特異的・疾患横断的(神経変性)BMを探索する。iTReND登録情報を活用し、NCNPバイオバンクを活用したAMED研究プロジェクトGAPFREE4と連携して、神経変性疾患共通のバイオマーカー(BM)および各神経変性疾患特異的BMを発見する。

【個別研究】

研究成果はiTReNDに連結する。

[1] SCD: ① 厚生労働省難治性疾患政策研究班(失調班)と連携してJ-CATを継続し、網羅的ゲノム解析により分子疫学を解明し、新規原因遺伝子同定を目指す。

② 国際標準のPatient-reported outcome measure (PROM)であるFARS-ADL (Friedreich's Ataxia Rating Scale・Activities of

Daily Living)を活用した前向き自然歴調査体制を構築する。より精緻なPROMであるPROM-Ataxiaの日本語訳を作成して活用する。

③ SCDの歩行リズム障害特性の臨床指標としての有用性を検証し、前向き自然歴研究に応用する。小脳性失調歩行に対して、リズム・音楽療法における歩行への影響、改善効果についても検証する。

④ 失調班と連携して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を行う。マウス小脳切片に患者血清を適用し、シナプス機能への効果を解明する。特に長期抑圧LTDに対する患者血清の効果を調べる。

[2] ALS: ALSの原因遺伝子ERBB4の機能低下による運動神経細胞死のメカニズムをin vivoで解明する。タモキシフェン依存性の運動ニューロン(MN)特異的Erbb4コンディショナルノックアウトマウス(cKOマウス)を作製・解析する。これにより、ERBB4の機能低下がMN死の原因となるかどうか、またcKOマウスの孤発性ALSモデル動物としての妥当性を検証する。

[3] タウオパチー: 臨床診断が難しいPSP・CBSに関しては、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、診断精度向上に資する知見を得る。

[4] PD: ① 前班研究の腰曲がり治療プログラムMADIを継続し、PD/関連疾患(PDRD)に伴う姿勢異常の治療法開発を継続する。レボドパ・カルビドパ持続経腸療法(LCIG)やホスレボドパ・ホスカルビドパ持続皮下注製剤(FOCS)の普及に有用な臨床情報を収集する。

② PDの非運動症状に着目し、臨床画像相関を明らかにする。

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>

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

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

雑賀 玲子：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

小田 真司：国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経内科診療部

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

鈴木 一平：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

坪内 綾香：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

中柴 淳：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

古川 晃大：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

佐藤 美紅：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

中村 有希：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

大場 興一郎：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

宮下 季世：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

高橋 奈保：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 功一郎：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

久我 弘典：国立精神・神経医療研究センター CBT センター

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

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

板東 杏太：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

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

2. 研究成果

【全体研究】

[1]統合的疾患レジストリ iTReND を構築し、研究基盤を確立した。疾患共通・疾患特異的テンプレートを作成し、電子カルテに搭載して、効率よく臨床情報を収集する体制を整備した。JHにおける将来的な電子カルテデータ共有プロジェクト JASPER への移行を見据えて、共通フォーマットである FHIR システムに準拠した形式を採用した。登録のハードルを下げるために、専属の心

理士が患者への説明同意補助を担当し、共通項目の心理検査を実施した。さらに、専属の入力補助者を配置して、欠測値のないDB入力を達成した。登録例は原則的に全例バイオバンクに登録し、血清・ゲノムDNAを集積するとともに、可能な限り髄液検体も収集して登録した。

2022年7月から登録を開始し、2023年年度中にのべ520例の登録を達成した。内訳は、パーキンソン病218例、多系統萎縮症81例、タウオパチー58例、SCD 46例、ALS 40例、病型未確定例77例であった。

さらに、ゲノムデータとの連結のためのシステム構築を行った。脳神経内科においてこれまで実施されてきた複数の網羅的ゲノム解析プロジェクトを、iTreNDと共通のIDを用いて横串で管理し、iTreNDの臨床情報と連結することにより、表現型・遺伝子型相関を分析可能なシステム構築を開始し、基本的なDB構成は完成した。

[2] 神経変性疾患患者の血清・脳脊髄液を用いたオミックス解析を行い、複数の神経変性疾患共通BM候補を発見した。今後疾患の進行度との関連を分析予定である。また、MSAにおける有用な疾患特異的BM候補分子を発見し、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。そこで、候補分子のELISAによる測定を行い、オミックス解析の結果が検証された。

【個別研究】 [1] SCD: ① J-CATにおいて頻度の高い原因遺伝子変異陰性であった1058例に関して、全ゲノム解析を行い、82例で超希少hSCDの診断を確定した。

② FARS-ADLスケールの日本語版を作成し、妥当性・信頼性を担保した上で、J-CATから抽出した病型確定かつ軽症 SCD患者128名において半年に1回のインタビューを開始し、100例においては1年間計3回のインタビューが完了した。さらに、より簡便にかつ安価に前向き自然歴研究を行うために、構造化電話インタビューの方式を実装したPC・スマートフォン対応アプリ「J-CAT ePRO」の開発に着手した。現在実用化に向けて動作環境等検証中である。SCD患者の自記式評価指標であるPROM-Ataxiaの順翻訳作業・逆翻訳作業が完了した。

③ 自作のフットセンサーを作成し、脊髄小脳変

性症 (SCD) 症例の歩行リズムを計測する系を確立した。上記のシステムを用いて、歩行リズムの変化率の分布がべき乗則と対数正規分布の線形和で表現され、健常者と比較してSCD症例はべき乗指数が減少することを見出した(現在論文投稿中)。個人の歩行リズムに合わせて音楽を変調するシステムを構築、実際にシングルケース研究 (ABデザイン) を実施した。3名に実施し、1名 (中等度の歩行障害症例) において音楽療法が歩行リズムに及ぼす影響を観察できた。

④ 血清を効率よく活用してシナプス長期抑圧LTDを評価する系を確立し、長期抑圧LTDを阻害する小脳失調症症例が認められた。また、LTD誘導に必要な3分間の可塑性誘導刺激を1分間に短縮したところ、シナプス伝達の長期増強LTPというLTDとは逆のシナプス可塑性が誘導された。

[2] ALS: タモキシフェン投与による組換えによりErbB4をKOした。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割程度にまで減少した。表現型としては、cKOマウスにおいてclasp reflexの点数が有意に高くなり、神経系の障害が示唆された。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ところ、この時期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、KOマウスMN内TDP-43染色性の低下と核小体異常が観察された。

[3] タウオパチー: 当院におけるタウオパチーの臨床・病理診断との一致率については、Richardson症候群(RS)では正診例が多く、それ以外の病型では正診率が高くなかった。当院剖検例でMIBG心筋シンチグラフィ異常を示すPSP例の存在を確認した。病理所見として、心交感神経の脱落・タウ沈着を認めない例が存在し、機能異常(トランスポーター)等の他の要因が考慮された。正常圧水頭症様画像を呈するタウオパチー例の臨床的特徴を検討した。全例で姿勢反射障害を認め、病理学的にタウオパチーが確定した例の中に、生前にシャント術が一時的に有効な例が含まれていた。

[4] PD: ① 2017年にPDRDに伴う姿勢異常に対し、標準化した手順のリハビリテーション(手持ちマッサージ器による振動刺激と、立位での姿勢学習の組み合わせ)と、原因筋へのリドカイン注

射を統合した治療プログラム (Multidisciplinary Approach for Posture and Gait Disorders; MADI) を開発した。100例以上に実施したことから治療成績の解析に着手した。また、MADIのリハビリテーション部分のみを実施する群と、ストレッチや伸筋トレーニングなどを組み合わせた一般的なリハビリテーションを実施する群を比較する無作為化試験 (MADI-RCT) を開始、24名の患者に実施した。

当院の症例の解析からLCIGの経鼻空腸管による試験投薬の期間は2週間までが妥当であると確認した。LCIGの長期予後を調査し、日本人も既報の白人と同等の予後であることを確認した。

② PDの臨床画像相関について、主にパーキンソン病の精神症状について解析した。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。

まとめ

本研究期間内に統合的疾患レジストリ iTReNDを構築し、520例の症例を登録して構造化した臨床法とバイオリソースの蓄積を達成し、当初の計画以上の成果が得られた。今後の神経変性疾患研究の基盤となる体制が確立出来たと考える。引き続き次年度以降も登録を継続する予定である。またバイオバンクを活用したオミックス研究に関しても有用なデータが得られた。個別研究も順調に進捗しており、SCDではFARS-ADLの構造化電話インタビューによる前向き自然歴研究が順調に進捗し病型毎の特徴も明らかになってきている。自己免疫性小脳失調症についても測定系が確立したのみならず、その過程で新規治験が得られている。またリハビリテーションにおいても歩行リズムの数学的分析により新規知見が得られた得られ、音楽療法も順調に開始されている。PDにおいてはMADI-RCTが順調に進捗し、LCIGも他施設に先駆けてリアルワールドデータが蓄積されている。精神症状と画像との関連についても新規知見が得られている。ALSについては動物モデルの研究が順調に進み、MN変性につながる知見が得られている。以上、期間内に順

調に研究は進捗し、当初の計画以上の成果が得られた。

研究成果 (原著論文、学会発表、政策提言)

論文発表

1. Miyata K, Kondo Y, Bando K, Hara T, Takahashi Y. Structural Validity of the Mini-Balance Evaluation Systems Test in Individuals With Spinocerebellar Ataxia: A Rasch Analysis Study. Arch Phys Med Rehabil. 2024.
2. Matsushita M, Nakamura Y, Hosokawa T, Takahashi Y, Mizusawa H, Arawaka S. [Spinocerebellar ataxia 2 develop lower motor neuron involvement as an initial symptom: a case report]. Rinsho Shinkeigaku. 2024;64(1):28-32.
3. 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. 2024;23(1):22-30.
4. Kanazawa T, Sato W, Raveney BJE, Takewaki D, Kimura A, Yamaguchi H, Yokoi Y, Saika R, Takahashi Y, Fujita T, Saiki S, Tamaoka A, Oki S, Yamamura T. Pathogenic Potential of Eomesodermin-Expressing T-Helper Cells in Neurodegenerative Diseases. Ann Neurol. 2024.
5. 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.
6. Togo H, Nakamura T, Wakasugi N, Takahashi Y, Hanakawa T. Interactions

- across emotional, cognitive and subcortical motor networks underlying freezing of gait. *Neuroimage Clin.* 2023;37:103342.
7. Omura Y, Togo H, Kaminishi K, Hasegawa T, Chiba R, Yozu A, Takakusaki K, Abe M, Takahashi Y, Hanakawa T, Ota J. Analysis of abnormal posture in patients with Parkinson's disease using a computational model considering muscle tones. *Front Comput Neurosci.* 2023;17:1218707.
 8. Nishikawa N, Iwaki H, Mukai Y, Takahashi Y. Classification of l-DOPA pharmacokinetics shapes and creating a predictive model. *Parkinsonism Relat Disord.* 2023;114:105798.
 9. Mitsui J, Matsukawa T, Uemura Y, Kawahara T, Chikada A, Porto KJL, Naruse H, Tanaka M, Ishiura H, Toda T, Kuzuyama H, Hirano M, Wada I, Ga T, Moritoyo T, Takahashi Y, Mizusawa H, Ishikawa K, Yokota T, Kuwabara S, Sawamoto N, Takahashi R, Abe K, Ishihara T, Onodera O, Matsuse D, Yamasaki R, Kira JI, Katsuno M, Hanajima R, Ogata K, Takashima H, Matsushima M, Yabe I, Sasaki H, Tsuji S. High-dose ubinquinol supplementation in multiple-system atrophy: a multicentre, randomised, double-blinded, placebo-controlled phase 2 trial. *EClinicalMedicine.* 2023;59:101920.
 10. Matsubara T, Murayama S, Tsukamoto T, Sano T, Mizutani M, Tanei ZI, Takahashi Y, Takao M, Saito Y. Parkinson's disease in a patient with olfactory hypoplasia: a model case of "body-first Lewy body disease" providing insights into the progression of alpha-synuclein accumulation. *J Neurol.* 2023;270(10):5090-3.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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.
 14. 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.
 15. 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.
16. Fujiwara Y, Kabuta C, Sano T, Murayama S, Saito Y, Kabuta T. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in postmortem brains of Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies patients. *Neurochem Int.* 2022 Jan;152:105243. doi: 10.1016/j.neuint.2021.105243.
17. Saitoh Y, Miyazaki M, Arai N, Takahashi Y. Pneumomediastinum while using mechanical insufflation-exsufflation after recovery from riluzole-induced interstitial lung disease. *eNeurologicalSci.* 2021;22:100326.
18. 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.
19. 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;98:86-91.
20. 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;98:86-91.
21. 脊髄小脳失調症を対象とした Balance Evaluation Systems Test 各セクションの Keyform 開発 近藤 夕騎, 宮田 一弘, 板東 杏太, 中村 拓也, 原 貴敏, 高橋 祐二. *神経学療法学* 2(1) 24-34 2023.
- 学会発表
1. 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 口演
2. 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 回日本神経学療法学会学術大会 大阪 2022.10.15 口演
3. 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 回日本神経学療法学会学術大会 大阪 2022.10.15 口演
4. 加藤太郎, 近藤夕騎, 板東杏太, 松永彩香, 小笠原悠, 原貴敏 脊髄小脳変性症患者に対する短期集中リハビリテーション治療内容に関する実態調査 日本小脳学会 東京 2023 年 3 月 25 日 口演
5. 加藤 太郎, 板東 杏太, 近藤 夕騎, 勝田 若奈, 吉田純一郎, 原 貴敏, 中元ふみ子, 高橋 祐二, 武田 克彦, 水澤 英洋
Cerebellar cognitive affective syndrome

- scale 日本語版と既存の認知機能評価スケールの併存的妥当性の検証 第21回日本神経理学療法学会学術大会 横浜 2023年9月9日
6. 吉田純一郎, 板東 杏太, 宮崎 裕大, 高橋 祐二, 原 貴敏 脊髄小脳変性症における姿勢保持障害と静止立位制御 特性との関係性 第21回日本神経理学療法学会学術大会 横浜 2023年9月9日
 7. 近藤夕騎, 板東杏太, 有明陽佑, 勝田若奈, 轟 恭子, 加藤太郎, 坪内綾香, 小笠原悠, 松永彩香, 原 貴敏, 高橋祐二 集中リハビリテーションに複数回参加した模範的な脊髄小脳変性症者1症例: 自然経過予測モデルからみた長期効果の検討 第77回国立病院総合医学会 広島 2023/10 口演
 8. 加藤太郎, 近藤夕騎, 板東杏太, 有明陽佑, 松永彩香, 小笠原悠, 原 貴敏 脊髄小脳変性症患者に対する短期集中リハビリテーション治療内容に関する実態調査—第二報— 第77回国立病院総合医学会 広島 2023年10月21日 口演
 9. 向井 洋平, 岩田 恭幸, 鈴木 一平, 坪内綾香, 中柴 淳, 阿部 恭子, 中村 有希, 亀谷 柚月, 大場 興一郎, 齊藤 智之, 宮下 季世, 高橋 奈保, 水野 勝広, 高橋 祐二. パーキンソン病・関連疾患に伴う腰曲がりの治療法の検討. 第63回日本神経学会学術大会. 東京都. 2022.5.18, ポスター
 10. 吉田千晴, 向井洋平, 高橋祐二. レボドパ・カルビドパ持続経腸療法に関連したジストニアの特徴と対処法. 第63回日本神経学会学術大会. 東京都. 2022.5.19, ポスター
 11. 向井洋平, 三土修一郎, 黒澤亮二, 三森雅広, 栗原 董, 新見淳, 山川徹, 石原資, 濱由香, 小田真司, 滝澤歩武, 塚本忠, 高橋祐二. レボドパ/カルビドパ配合経腸用液(LCIG)の経鼻空腸管による試験投与期間の検討. 第64回日本神経学会学術大会. 千葉県. 2023.6.3, ポスター
 12. 三土 修一郎, 向井 洋平, 三森 雅広, 栗原 董, 黒澤 亮二, 新見 淳, 大岩 宏子, 山川 徹, 石原 資, 濱 由香, 小田 真司, 滝澤 歩武, 塚本 忠, 高橋 祐二. 当施設におけるレボドパ・カルビドパ経腸療法 of の長期予後. 第64回日本神経学会学術大会. 千葉県. 2023.6.3, ポスター
 13. Sano T, Saitoh Y, Nakayama Y, Mizutani M, Nakaya M, Sato N, Yamashita Y, Nishioka K, Hasegawa M, Takahashi Y, Takao M. An autopsy case report of a MAPT p.K298_H299insQ mutation. American Association of Neuropathologists, 98th Annual meeting. Bonita Springs, FL, USA. 2022.6.9-12. Poster.
 14. 石原 資, 佐野 輝典, 高尾 昌樹, 高橋 祐二, 当院におけるパーキンソン症候群・特発性正常圧水頭症(iNPH)合併例の臨床的特徴, 第64回神経学会総会, 千葉幕張メッセ, 2023年6月1日, ポスター発表
 15. 雑賀 玲子, 向井 洋平, 塚本 忠, 山本 敏之, 弓削田 晃弘, 高橋 祐二、The prevalence and characteristics of anxiety in the patients with Parkinson's disease、第62回日本神経学会学術大会、京都、2021年5月19日、ポスター発表
 16. Saika R, Mukai Y, Tsukamoto T, Yoko Shigemoto, Noriko Sato, Takahashi Y, Puramen caudate ratio in DAT SPECT were correlated with anxiety in PD patients、第63回日本神経学会学術大会、東京、2022年5月20日、ポスター発表
 17. 栗原 董, 雑賀 玲子, 濱 由香, 小松 奏子, 竹脇 大貴, 宮崎 将行, 小田 真司, 山本 敏之, 高橋 祐二、HDLs の遺伝子型と臨床像との関連—自験例4例の比較検討—、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 合同開催、東京、2022年11月26日、ポスター発表

18. 雑賀 玲子, 向井 洋平, 常山 篤子, 中元 ふみ子, 小田 真司, 石原 資, 濱由香, 波多野 賢二, 株田 智弘, 山口和彦, 原 貴敏, 高尾 昌樹, 高橋 祐二, 前方視的な神経変性疾患臨床経過研究のための総合レジストリ iTReND の構築, 第 64 回日本神経学会学術大会, 千葉, 2023 年 6 月 1 日, ポスター発表
19. 代田惇朗, 山口和彦, 一戸紀孝, マウス小脳における平行線維-プルキンエ細胞間シナプスの長期増強 LTP/長期抑圧 LTD は刺激回数に依存して変化する, 日本小脳学会, 東京, 2021 年 3 月 13 日, 口頭発表
20. 山口和彦, 代田惇朗, 高橋祐二, 一戸紀孝, マウス小脳プルキンエ細胞における刺激回数に依存した LTP から LTD への変化, 第 100 回日本生理学会大会, 京都, 2023 年 3 月 15 日, ポスター発表
21. 山口和彦, 学習する神経回路網としての小脳皮質, 第 21 回日本神経理学療法学会学術集会 シンポジウム, 横浜, 2023 年 9 月 10 日
22. 小田真司, 原田裕子, 水澤英洋, 高橋祐二. 「FAA-ADL (Friedreich's Ataxia Activities of Daily Living) 日本語訳とその妥当性の検証」. 第 63 回日本神経学会学術大会. 2022 年 5 月 20 日 ポスター発表
23. 小田真司, 高橋祐二, 芦澤哲夫, Schmahmann JD, 水澤英洋. 「PROM-Ataxia(Patient-Reported Outcome Measure of Ataxia)日本語版の作成」. 第 64 回日本神経学会学術大会. 2023 年 6 月 3 日 ポスター発表
24. 小田真司, 水澤英洋, 高橋祐二. 「FARS-ADL 日本語版の電話インタビュー追跡調査」. 第 65 回日本神経学会学術大会. (2024 年 5 月予定, ポスター発表)
25. 常山篤子ら,. 免疫介在性末梢神経疾患における感覚神経障害分布から見た病態解明の試み, 第 64 回日本神経学会学術大会.2023.5 千葉
26. 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. ポスター
27. 美代賢吾, 波多野賢二, 石井雅通, 高橋光政, 岡田靖士, 滝沢一輝, 垣内圭介, 岡田昌史. 多施設臨床研究を加速する診療録共通基盤の進展 - FHIR Questionnaire による診療テンプレートの定義と JASPEHR -. 第 42 回医療情報学連合大会 2022 年 11 月. 口演
28. 熊谷千尋, 桜井理紗, 北村真吾, 渡辺浩, 星本弘之, 波多野賢二, 平松治彦, 美代賢吾. データの利活用に向けたナショナルセンター (NC) の電子カルテ情報統合データベース構築におけるデータ整備の試み. 第 42 回医療情報学連合大会 2022 年 11 月. 口演
29. 木島かおり, 原田裕子, 石塚量見, 波多野賢二, 中村治雅, 小居秀紀, レジストリデータ利活用に向けた, データ提供業務の体制整備. 第 44 回日本臨床薬理学会学術集会. 2023 年 12 月. ポスター

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：病院 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り、症状の進行に伴い低下していくことがわかった。さらに同分子は、すでに多系統萎縮症の病勢との関連が示唆されている髄液中

Neurofilament light polypeptide よりも、他疾患との鑑別の精度が高いことも示唆された。

一方、血漿プロテオーム・メタボローム解析では、同分子は健常者や他疾患との相違は認められず、中枢神経系に特異的な変化を反映していることが示唆された。

【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思われる。同分子については追加検体の結果確認も含め、今後さらなる病態との関連を検討していく。また、他分子についても、疾患特異性のみでなく、神経系の障害部位による違いなど、多方面からの検討を行っていく予定である。

【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).

Chelban, et al. Neurofilament light levels predict clinical progression and death in multiple system atrophy. *Brain.* 145, 4398-4408 (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の LCIG トライアル期間の検討

分担研究者：向井洋平
所属：病院 脳神経内科診療部

【緒言】

①2017年にパーキンソン病 (PD) や関連疾患に伴う姿勢異常に対し、標準化した手順のリハビリテーション (手持ちマッサージ器による振動刺激と、立位での姿勢学習の組み合わせ) と、原因筋へのリドカイン注射を統合した治療プログラム (Multidisciplinary Approach for Posture and Gait Disorders; MADI) を開発した。MADI のリハビリテーション部分のみを実施する群と、ストレッチや伸筋トレーニングなどを組み合わせた一般的なリハビリテーションを実施する群を比較する無作為化試験 (MADI-RCT) を 2020 年に開始している (倫理委員会承認番号 A2020-053)。

②レボドパ/カルビドパ配合経腸用液 (LCIG) は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、LCIG 試験投与)。本邦では LCIG 試験投与期間が 1 週間 (途中から 2 週間に延長された) を超えると、トライアルで脱落した場合にコスト算定上病院が赤字になるという問題があり、1-2 週間で胃瘻を作成して継続するか、中止するかを決定する必要があった。2 週間の制限の中で十分に効果判定ができていないのかという問題が残った。本研究の目的は、LCIG 試験投与の効果判定に最適な評価期間を明らかにすることである。

【方法】

①認知機能低下がなく (MMSE 26 点以上)、骨格変形を伴わないパーキンソン病の腰曲がり患者を対象とした。国立精神・神経医療研究センターの臨床研究支援システム (CR システム) を用いて年齢、腰曲がり罹病期間、腰曲がり角度により通常リハ群もしくは MADI リハ群へ被

験者の割り付けを行った。入院し 15 日間のリハビリテーションを行った。

②LCIG 試験投与の期間を予め定めず、患者が希望する限り継続可能として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、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。

【結果】

①2023 年度は 9 例を新規に登録した。
②男性 22 例、女性 13 例が該当した。平均年齢 62.0 ± 8.4 歳、平均罹病期間 12.8 ± 4.9 年、WO の出現から平均 6.2 ± 3.3 年であった。LCIG 開始から効果判定終了までの平均期間は 13.1 ± 14.3 日であり、平均の薬剤変更回数は 8.7 ± 7.1 回であった。LCIG 試験投与の期間 1-14 日で 23 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 1 例が効果ありと判断された。

【考察】

①認知機能低下がなく、かつ骨格異常を伴わない腰曲がり患者は姿勢異常の患者の中では少数であり、被験者登録が進んでいない。
②20 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、本人や家族の強い希望で導入した例も、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。

【結論】

①今後も MADI-RCT 研究へ被験者の登録を進めていく。
②約 2 週間あれば、LCIG 試験投与の効果判定は可能である。2 週間を超えても LCIG の最適化ができない患者は、LCIG 療法に向いていないと判断できる。

【参考文献】

なし

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：病院 脳神経内科診療部

【緒言】筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は多彩な臨床経過をとり、初発部位、上位あるいは下位運動ニューロン徴候の程度で分類されるが、非典型的な例も少なくなく、病因や病態も複合的な要素が考えられる。総合的疾患レジストリ iTReND (inTegrated Registry for Neurodegenerative Disorders)における ALS の自然歴・臨床病型を前方視的に検討、診断基準に照らし合わせた分類を行い、生命予後に直結する呼吸不全に関して電気生理学的に検討した。

【方法】

2022年4月～2023年12月の間で、当院に入院歴のある ALS と診断された患者数 41 名のうち、iTReND に登録された 27 名を対象としたが、その中で GBS 後遺症 1 名、身体表現性障害合併 1 名、頸椎症 1 名の 3 名は最終的に ALS の診断ではなかったため、24 名が対象となった。また、生命予後に直結する呼吸不全に関して、呼吸機能検査と電気生理学的なデータの相関性を検証した。

【結果】

発症年齢の中央値は 67 歳 (中央値 54-73 歳) で、13 名 (54%) が男性であった。家族例を有するものは 1 例で、その他はすべて孤発性であった。球麻痺発症 3 名、頸髄発症 11 名、腰髄発症 10 名で、iTReND 登録時の罹病期間の平均は 23 か月、ALSFRS-R(The revised ALS Functional Rating Scale)の中央値は 38.5 だった。

既存の ALS の診断基準は、特異度が高いが感度が低いことが問題で、2020 年に発表された Gold Coast 基準は、上位運動ニューロン徴候がほぼ必須であった既存の Awaji 基準や改訂 El Escorial 基準と異なり、上位運動ニューロン徴候がなくても 2 領域以上の下位運動ニューロン

徴候があれば、ALS と診断できる点が大きく異なり、球発症、発症早期あるいは軽症、非典型的 ALS 症例で感度は高く、特異度の低下は少ないことが示されていた。当院では症例数が少ないため、感度・特異度の解析はできなかったが、既存の基準で診断基準を満たさなかった下位運動ニューロン徴候のみの 2 例が Gold Coast 基準には該当していた。

また、呼吸評価において、既存の呼吸機能検査と横隔膜の電気生理学的検査を行ったところ、球麻痺発症の ALS では %FVC (Forced Vital Capacity) と横隔膜の CMAP (compound motor action potential) 振幅に乖離が見られた一方で、脊髄発症の ALS では正の相関がみられた。

【考察】

ALS の診断における Gold Coast 基準の感度・特異度の有用性は当院では症例数が少ないため評価できなかった。

呼吸評価に関しては、口輪筋の筋力低下がある場合に実測値よりも低値となる可能性のある %FVC よりも、横隔膜の CMAP 振幅の方が実測値に近い可能性がある。

【結論】

ALS の早期診断につながる診断基準の妥当性の評価および正確な呼吸評価方法のさらなる検討が今後も重要である。

【参考文献】

筋萎縮性側索硬化症(ALS)診療ガイドライン
2023 日本神経学会

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：病院 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ーの解析では、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

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：病院 脳神経内科診療部

【緒言】

SCD(Spinocerebellar degeneration)の評価指標はSARA(Scale for the assessment and rating of ataxia)がgold standardであるが、SARAは神経学的診察に立脚した臨床指標であり、熟練した専門家の対面での診察が必須であるという課題がある。FARS-ADL(Friedreich's ataxia activities of daily living)¹⁾は日常生活動作9項目の評価から成り立っており、自記式あるいはインタビュー形式でのスコアリングが可能である。すでに海外においてはREADISCA²⁾、EFACTS³⁾といった疾患レジストリを基盤とした前向き自然歴研究に活用されており、前回我々はFARS-ADL日本語版を作成し、その妥当性・信頼性を証明した。今回我々はFARS-ADL日本語版を活用した構造化電話インタビュー体制を構築し、SCDの前向き自然歴研究を実施したため報告する。

【方法】

運動失調症の患者登録レジストリであるJ-CAT (Japan Consortium of Ataxias) に2019年4月以降に登録された、登録時SARA15点以下の遺伝子診断確定例353例を抽出し、最終的に同意が得られたSCD患者128例(SCA31 49例、SCA3/MJD 34例、SCA6 30例、SCA2 5例、SCA1 4例、SCA36 3例、SCA8 2例、CANVAS 1例)を対象に、FARS-ADLの構造化電話インタビューを半年ごとに施行し、追跡した。

【結果】

SCD患者128例のFARS-ADL電話インタビュー初回施行時の年齢は62.0±11.5歳(平均±標準偏差)、発症から初回電話インタビューまでの罹病期間は8.4±6.2年、J-CAT登録時SARAスコアは9.3±3.7点、初回FARS-ADLスコア

は10.4±4.9点だった。その後半年ごとに電話インタビューによるFARS-ADLスコアの追跡を行い、2023年12月時点で3回のインタビューが完了した。電話インタビューを3回とも追跡できているSCD患者100例における検討では、FARS-ADLベースライン得点は10.3±5.1点、半年後得点は10.5±5.6点、1年後得点は12.5±5.4点と経時的に悪化傾向にあり、疾患の進行を反映しているものと考えられた。

MJD/SCA3、SCA6、SCA31の病型別データにおいても、それぞれのFARS-ADLスコアは概ね経時的に悪化を認めていた。

【考察・結論】

FARS-ADL電話インタビューはSCD前向き自然歴研究において簡便かつ有用な評価指標となる可能性がある。引き続き追跡調査を継続するとともに、我々は更なる調査対象候補51例(2022年6月以降J-CAT登録・病型確定例)を抽出し、調査を開始している。また現在PC・スマートフォン対応アプリ「J-CAT ePRO」を開発中であり、更なる自然歴収集の簡易化・悉皆化を図る予定である。また我々は、SCD患者における患者自記式の評価指標であるPROM-Ataxia (Patient-Reported Outcome Measure of Ataxia)⁴⁾の日本語版を作成したため、今後妥当性・信頼性の検証を行い、SCDの前向き自然歴研究における有用性について検討する予定である。

【参考文献】

- 1) Subramony SH, May W, Lynch D, et al. Measuring Friedreich ataxia: Interrater reliability of a neurologic rating scale. *Neurology* 2005;64:1261.
- 2) 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.
- 3) 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.

4) Schmahmann JD, Pierce S, MacMore J, L'Italien GJ. Development and Validation of a Patient-Reported Outcome Measure of Ataxia. *Mov Disord.* 2021 Oct;36(10):2367-2377.

研究課題名 脊髄小脳変性症の運動リズム障害の分析と治療

分担研究者：原貴敏

所属：病院 身体リハビリテーション部

研究協力者；板東杏太、大場興一郎、轟恭子

【緒言】

脊髄小脳変性症を含む、小脳性失調歩行に対して、歩行やリズムによる介入は、歩行機能の改善に寄与する可能性が、これまでの我々の研究により示唆された。しかしながら、その効果のメカニズムと、予後予測、どのようなリズムがより効果的かなど、十分に解明されていない部分が多い。本研究では、上記を検証する。また加えて、リズムのみならず、音楽療法における歩行への影響、改善効果についても検証する。

【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自作のフットセンサーを作成し、脊髄小脳変性症 (SCD) 症例の歩行リズムを計測する系作成し、歩行リズムの評価を行った。②3次元動作解析装置および加速度センサーを用いた歩行解析システムの系を確立した。ビデオカメラのデータから深層学習を使い、2次元座標データを算出する系を確立した。③個人の歩行リズムに合わせて音楽を変調するシステムを構築、実際にシングルケース研究 (AB デザイン) を実施した。

【結果】

①に関して、健常者と比較して SCD 症例は歩行リズムがばらつくことを示した。本内容に関しては、現在論文投稿中である。②に関しては、症例集積中である。③に関しては、3名に実施し、1名 (中等度の歩行障害症例) において音楽療法が歩行リズムに及ぼす影響を観察できた。

【考察】

国際的な脊髄小脳変性症の研究団体 (Ataxia Global Initiative: AGI) のデジタル評価作成グループにおいても、2分間というこれまでに実施されてこなかった比較的長時間データの臨床応用可能性について議論が進んでいる。また、データの解析には分散や変動係数などの線形的なデー

タのばらつきに焦点が当てられている。我々の研究グループは、さらに長時間データ (歩数換算で 600 歩以上) のデータ計測を実施している。理由としては、データを非線形解析の観点から理解するためである。現在、SCD 群と健常コントロール群における歩行リズムの群間差を非線形解析を用いて明らかにしている。また、シングルケース研究に関しても同様の解析を実施し、音楽療法の効果を多角的な視点から明らかにしていく予定である。

【結論】

本年度の研究成果にて、音楽療法が SCD 症例の歩行パラメーターに何らかの影響を与えることが明らかとなった。しかし、その影響の良し悪しは未だ不明である。これを次年度の課題とする。また、今回刺激として用いた音楽はメトロノームのような定常刺激であった可能性がある。今後、リズム自体にフラクタル性を追加するなどの工夫を行なっていく。

研究成果 (原著論文、学会発表、政策提言)

【原著論文】

1. 脊髄小脳失調症を対象とした Balance Evaluation Systems Test 各セクションの Keyform 開発 近藤 夕騎, 宮田 一弘, 板東 杏太, 中村 拓也, 原 貴敏, 高橋 祐二 神経理学療法学 2(1) 24-34 2023.
2. Miyata K, Kondo Y, Bando K, Hara T, Takahashi Y. Structural Validity of the Mini-Balance Evaluation Systems Test in Individuals With Spinocerebellar Ataxia: A Rasch Analysis Study. Arch Phys Med Rehabil. 2024 Jan 11:S0003-9993(24)00032-7.

【学会発表】

1. 加藤太郎, 近藤夕騎, 板東杏太, 松永彩香, 小笠原悠, 原貴敏 脊髄小脳変性症患者に対する短期集中リハビリテーション治療内容に関する実態調査 日本小脳学会 東京 2023年3月25日
2. 加藤 太郎, 板東 杏太, 近藤 夕騎, 勝田 若奈, 吉田純一郎, 原 貴敏, 中元ふみ子, 高橋 祐二, 武田 克彦, 水澤 英洋

Cerebellar cognitive affective syndrome scale 日本語版と既存の認知機能評価スケールの併存的妥当性の検証 第21回日本神経理学療法学会学術大会 横浜 2023年9月9日

3. 吉田純一郎, 板東 杏太, 宮崎 裕大, 高橋 祐二, 原 貴敏 脊髄小脳変性症における姿勢保持障害と静止立位制御 特性との関係性 第21回日本神経理学療法学会学術大会 横浜 2023年9月9日
4. 近藤夕騎, 板東杏太, 有明陽佑, 勝田若奈, 轟 恭子, 加藤太郎, 坪内綾香, 小笠原悠, 松永彩香, 原 貴敏, 高橋祐二 集中リハビリテーションに複数回参加した模範的な脊髄小脳変性症者1症例: 自然経過予測モデルからみた長期効果の検討 第77回国立病院総合医学会 広島 2023年10月
5. 加藤太郎, 近藤夕騎, 板東杏太, 有明陽佑, 松永彩香, 小笠原悠, 原 貴敏 脊髄小脳変性症患者に対する短期集中リハビリテーション治療内容に関する実態調査—第二報— 第77回国立病院総合医学会 広島 2023年10月21日

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

所属：病院 検査部病理

研究協力者：石原 資，水谷真志，佐野 輝典，

佐藤亮太，大平雅之，初田裕幸，美原盤，

【緒言】

- ① タウオパチーに分類される進行性核上性麻痺(PSP)や大脳皮質基底核変性症(CBD)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 MIBG 心筋シンチグラフィ (MIBG) はパーキンソン病/レビー小体型認知症と PSP との鑑別に有用である。通常 PSP は MIBG で正常所見を示すが、集積低下例も経験される。
- ③ iNPH と臨床診断されたが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り、PSP・CBD に iNPH 合併例が多いという報告がある。

【方法】

- ① タウオパチーの剖検例(2009~2020 年)を用いて、臨床・病理診断の対応関係や、臨床的・病理学的特徴を検討した
- ② 2013 年 1 月~2019 年 4 月の期間で入院時診断: PSP (MDS 基準(2017))のうち、MIBG 正常群と低下群の臨床的特徴を比較した。さらに、病理診断 PSP かつ MIBG 低下例の臨床的特徴・病理所見を検討した。
- ③ 2014 年 1 月~2020 年 8 月の期間で、当院へ入院したパーキンソン症候群 1426 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(PD/DLB 10 例、PSP 13 例、CBS 3 例)について、臨床情報を後方視的に検討した。

【結果】

- ① 臨床 PSP 12 例中、病理 PSP 7 例、病理 CBD 3 例、2 例は確定診断がつかなかった。一方、臨床 CBS (大脳皮質基底核症候群)5 例中、病理 CBD 2 例、病理 PSP が 3 例であった。Richardson 症候群(PSP-RS)では正診例が多く、それ以外の亜型(PSP-P、PSP-F)では一致しない例が多く、眼球運動障害や初回転倒が遅い(>3 年)点が特徴的であった。臨床 CBS・病理 PSP 3 例全てで臨床症状の左右差を認めていた。
- ② PSP かつ MIBG 低下群 12 例・MIBG 正常群 74 例あり。嗅覚検査・レム睡眠行動障害・起立性低血圧・排尿障害について、両群で有意差を認めなかった。また、病理診断 PSP かつ MIBG 低下 4 例のうち、2 例は心交感神経の脱落があり、MIBG 低下の背景病理と考えられたが、2 例は心交感神経の脱落を認めず、AT8 染色は陰性であった。
- ③ iNPH+PSP(13/192例)の方がiNPH+PD合併例(10/878例)に比べて多かった(p<0.01)。また、病理学的にタウオパチーが確定した例の中に、生前にシャント術が一時的に有効な例が1例存在していた。iNPH 合併例でのシャント効果は限定的で持続しなかった。

【考察】

- ① 診断不一致例で、臨床症状・画像所見の左右差の有無が生前の臨床診断に影響を与えていた可能性があり、診断に際しての注意すべき点と考える。
- ② MIBG 異常を認める PSP 例で病理所見として心交感神経の脱落・タウ沈着を認めない例が存在し、機能異常(トランスポーター)等の他要因が考慮される。
- ③ PD 合併例に比べて、タウオパチー合併の iNPH でシャント術後の経過が悪いのは、原疾患(タウオパチー)の悪化の影響が大きいと考えられた。

【結論】

- ① PSP と CBS の臨床・病理診断の不一致例

では、典型的な PSP の経過ではない例が多く、症状の出現時期・経時的变化等の検討を今後進める。

- ② MIBG 異常を示す PSP の存在を確認した。背景病理に心交感神経脱落を伴わない例があり、MIBG 異常を解釈する際には、注意が必要である。
- ③ 当院の検討では PSP に iNPH 合併例が多かった。今後、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(タウ沈着等)を検討する。

【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.* 2022/05/19, 2022;9(4):508-15, doi: 10.1002/mdc3.13442, 査読有.
- 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.* 2022/04/14, 2022;269(9):5157-5161, doi:10.1007/s00415-022-11121-y, 査読有.

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 の機能低下による運動ニューロン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、運動ニューロン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・運動ニューロン特異的 *ErbB4* コンディショナルノックアウトマウス (cKO マウス) を作製・解析することにより、ERBB4 が運動ニューロン維持に必要であるかを明らかにする。また、cKO マウスの孤発性 ALS モデル動物としての妥当性を検証する。

【方法】

B6;129-ErbB4tm1Fej/Mmud 系統および B6;129-Chatm1(cre/ERT)Nat/J 系統を C57BL/6J 系統と 8 世代以上交配させ、遺伝的背景を C57BL/6J 純系とした系統を作出した。その後、B6-ErbB4tm1Fej/Mmud と B6-Chatm1(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 cKO マウスを作出した。Choline O-acetyltransferase (CHAT) の免疫染色により運動ニューロン変性を解析した。また、TDP-43 などの免疫染色を行った。

【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 週齢にてマウスにタモキシフェンを投与し cKO マウスを作出した。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運動ニューロン数が有意に約 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、cKO 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運動ニューロン数が有意に約 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、KO マウス運動ニューロン内 TDP-43 染色性の低下と核小体の異常が観察された。

【考察・結論】

マウス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。また、核小体の異常が変性に関与している可能性がある。今後、骨格筋の萎縮、運動ニューロンにおける分子変動について解析を進める。

研究課題名

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

分担研究者：山口 和彦

所属：神経研究所 微細構造研究部

【緒言】

自己免疫性小脳失調において、自己抗体により小脳の機能、特にシナプス機能がどのように阻害され、臨床症状が生じるか、の機序は解明が進んでいない。自己抗体がシナプス機能にどのような作用を及ぼすかを解明することは治療への洞察を得るためにも重要である。本研究ではマウス小脳スライスに患者血清を適用し、小脳の運動学習の基礎メカニズムと考えられる平行線維-プルキンエ細胞間シナプス伝達の可塑性である長期抑圧 LTD への効果を調べることにより、LTD と運動失調の因果関係について検討することを目的とした。

【方法】

バイオバンクより自己免疫性小脳失調症の患者4名の血清、および対照血清、各 1ml の供与を受けた。マウスを麻酔下で断頭、小脳摘出し、冷却後スライサーを用いて虫部の矢状スライスを厚さ 300 ミクロンで作製した。保温後、顕微鏡下でプルキンエ細胞よりパッチ電極を用いて、平行線維刺激により生じるシナプス電流を記録した。安定したところで希釈した血清を灌流投与し、さらに LTD 誘導刺激（平行線維バースト刺激+プルキンエ細胞脱分極刺激）を与え、LTD 誘導に対する患者血清の効果を検討した。

【結果】

血清の希釈は 40 倍とした。対照血清の灌流投与中には刺激により LTD が誘導された。一方、一部の患者血清には LTD 誘導を阻害する効果が認められた。流速 1ml/分、浸透のための時間は 10 分間とし、1 細胞で 10ml の希釈血清が必要であった。しかし同じ血清を用いた場合でも 60%の事例でしか LTD 阻害が認められず、10 分間の浸透時間では十分とは言えないことがわかった。今後、閉ループ式投与で浸透時間を延

長させる必要があるとが示唆された。

【考察】

自己免疫性小脳失調の患者血清が小脳神経回路機能を障害するメカニズムは不明で、患者血清を動物小脳スライスに適応しシナプス機能に及ぼす阻害効果を調べた研究は極めて少ない。今回は特に少量の患者血清を用いて、小脳運動学習に重要と考えられる LTD への効果を検討した。希釈濃度、浸透時間、流速等、試行錯誤を行い、一部の患者血清では確かに LTD を阻害することが観察された。しかし浸透時間が短いせいか、効果が安定せず、統計的検定には至らなかった。しかし一部の免疫性小脳失調患者の血清が LTD 阻害を起すことが見いだされた意義は大きい。

【結論】

本研究において、一部の免疫性小脳失調患者の血清には小脳の平行線維-プルキンエ細胞間シナプス伝達の長期抑圧 LTD を阻害する作用があることが示唆された。LTD は従来動物実験において、協調運動や運動学習の中心機構と考えられてきたが今回、自己免疫性小脳において患者血清が LTD を阻害したことから、LTD の阻害が小脳失調の原因の一つである可能性が示唆された。

【参考文献】

Daida et al., Different numbers of conjunctive stimuli induce LTP or LTD in mouse cerebellar Purkinje cell (投稿中)

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、さらなる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った。

【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 15 件)を設定し、データ入力を開始した。R5 年度まで 500 件余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 出力機能に加えて、個人情報を変名化した上でデータを一括自動出力するツールを開発した。

【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貢献できたと考える。蓄積されたデータについては、別途クラウド上で開発されているデータベースに登録される予定であり、その運用についても今後サポートを継続する。

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とすることも構想している。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・精緻化を目指したい。

【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

[1] We developed an integrated disease registry iTReND and established a research infrastructure. We created a system for efficiently collecting clinical information by creating common and disease-specific clinical data templates and installing them in electronic medical records. In anticipation of the future transition to JASPER, an electronic medical record data sharing project at JH, we adopted a format compliant with the FHIR system, a common format. In order to lower the hurdles for registration, a dedicated psychologist was in charge of providing informed consent to patients and conducted psychological tests on common items. Additionally, a dedicated data entry assistant was assigned to ensure data entry without missing values. In principle, all iTReND cases were registered in the biobank, and serum and genomic DNA samples were collected, as well as cerebrospinal fluid specimens where possible.

Registration began in July 2022, and a total of 520 cases were registered by the end of 2023. The patients included 218 cases of Parkinson's disease, 81 cases of multiple system atrophy, 58 cases of

tauopathy, 46 cases of SCD, 40 cases of ALS, and 77 cases of undetermined disease type. Furthermore, we constructed a system for linking with genome data.

Multiple comprehensive genome analysis projects that have been carried out in the Department of Neurology will be managed horizontally using a common ID with iTReND, and by linking them with iTReND's clinical information, we will analyze the correlation between phenotypes and genotypes. We have started building a possible system and have completed the basic DB configuration.

[2] We performed omics analysis using serum and cerebrospinal fluid from patients with neurodegenerative diseases and discovered BM candidates common to multiple neurodegenerative diseases. We plan to analyze the relationship with the degree of disease progression in the future. We also discovered useful disease-specific BM candidate molecules in MSA and examined their relationship with clinical information. The candidate molecules were measured by ELISA and verified.

[Individual research] [1] SCD: ① Whole genome analysis was performed on 1058 cases that were negative for frequently occurring causative gene mutations in J-CAT, and the diagnosis of ultra-rare hSCD

was confirmed in 82 cases.

② We created a Japanese version of the FARS-ADL scale and confirmed its validity and reliability. We began conducting biannual interviews with 128 patients with confirmed disease type and mild SCD extracted from J-CAT. In 100 cases, a total of three interviews were completed over a period of one year. Furthermore, we developed an application called "J-CAT ePRO" that implements a structured telephone interview method. Forward and reverse translation of PROM-Ataxia, a self-reported evaluation index for SCD patients, has been completed.

③ We measured the walking rhythm of patients with spinocerebellar degeneration (SCD). Using the above system, we clarified the mathematical characteristics of walking rhythm. We built a system that modulates music to match an individual's walking rhythm, and conducted a single-case study (AB design) with three people. We were able to observe the effect of music therapy on gait rhythm in one patient (a case with moderate gait disorder). ④ We established a system to efficiently utilize serum to evaluate synaptic long-term depression LTD, and found cases of cerebellar ataxia that inhibited long-term depression LTD. Furthermore, when the 3-minute plasticity-inducing stimulus required to induce LTD was shortened to 1 minute, synaptic plasticity, which is the opposite of LTD, was induced in the form of long-term enhancement of synaptic

transmission (LTP).

[2] ALS: Erbb4 was knocked out by recombination by administration of tamoxifen. One year after administration, the number of MN significantly decreased to about 60% compared to the control. As for the phenotype, clasping reflex scores were significantly higher in cKO mice, suggesting a nervous system disorder. In order to identify the timing of the degeneration process, analysis was performed 1, 2, and 3 months after administration, and even during this period, the number of MNs significantly decreased to about 60% compared to the control. Furthermore, one month after administration of tamoxifen, decreased TDP-43 staining and nucleolar abnormalities in the MNs of KO mice were observed.

[3] Tauopathy: Regarding the concordance rate with the clinical and pathological diagnosis of tauopathy at our hospital, there were many cases of correct diagnosis for Richardson syndrome (RS), but the accuracy rate was not high for other disease types. We confirmed the existence of PSP cases showing abnormal MIBG myocardial scintigraphy in autopsy cases at our hospital. There were cases in which cardiac sympathetic nerve loss and tau deposition were not observed as pathological findings, and other factors such as functional abnormalities (transporters) were considered. We investigated the clinical characteristics of

tauopathy cases presenting with normal pressure hydrocephalus-like images. Postural reflex impairment was observed in all cases, and among the cases in which tauopathy was pathologically confirmed, there were cases in which shunt surgery was temporarily effective before death.

[4] PD: ① In 2017, we developed a treatment program (Multidisciplinary Approach for Posture and Gait Disorders; MADI) that integrates standardized rehabilitation procedures and lidocaine injections into the causative muscles for postural abnormalities associated with PDRD. Since the treatment was performed on more than 100 patients, we began analyzing the treatment results. In addition, we started a randomized trial (MADI-RCT) comparing a group that only implemented the rehabilitation part of MADI with a group that implemented general rehabilitation that combined stretching and extensor training. carried out. Based on the analysis of cases at our hospital, we confirmed that a period of up to 2 weeks is appropriate for test administration of LCIG via a nasojejunal tube. We investigated the long-term prognosis of LCIG and confirmed that Japanese patients have the same prognosis as previously reported Caucasians.

② Regarding the clinical image correlation of PD, we mainly analyzed the psychiatric symptoms of Parkinson's disease. Analysis of nigrostriatal scintigraphy showed that the accumulation ratio of dopamine

transporters in the putamen/caudate nucleus was significantly higher in PD patients with anxiety than in patients without anxiety.

Summary

During this research period, we constructed an integrated disease registry, iTReND, registered 520 cases, and achieved structured clinical methods and accumulation of bioresources, achieving results that exceeded our initial plans. We believe that we have established a system that will serve as the foundation for future neurodegenerative disease research. We plan to continue registration from next year onwards. We also obtained useful data regarding omics research using biobanks. Individual studies are also progressing smoothly, and in the case of SCD, a prospective natural history study using structured telephone interviews for FARS-ADL is progressing smoothly, and the characteristics of each disease type are becoming clearer. In addition, new knowledge has been obtained through mathematical analysis of walking rhythm in rehabilitation, and music therapy has started smoothly. MADI-RCT is progressing smoothly at PD, and LCIG is accumulating real-world data ahead of other facilities. New findings have also been obtained regarding the relationship between psychiatric symptoms and images. Research on animal models for ALS is progressing smoothly, and knowledge that

leads to MN degeneration has been obtained. As described above, the research progressed smoothly within the period and achieved results that exceeded the initial plan.

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

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・企業との共同研究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目指した。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った。

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

研究成果

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、脳型ジストロフィンである DPI140 の欠損を原因とする扁桃体・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り、Exon skipping 法による遺伝子治療によってこのフェノタイプが治療可能で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分担研究者の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、また分担研究者の野口らと神経突起形成制御に関する共同研究を開始したことを挙げる。開始した共同研究については研究費共同申請を進めている。

精神疾患・発達障害に関しては、研究代表者グループは、上記のほか、主要な3つの成果を挙げた。

①自閉症スペクトラム障害 (ASD) 発症リスクとしての Na-H Exchanger(NHE)5 の発現低下 : NHE5 は主として神経細胞の Endosome/Lysosome 膜上に発現し、小胞内部の

酸性度を調節する蛋白であり、NHE5 欠損マウスでは Lysosome の酸性化障害によって引き起こされるシナプス膜・シナプス関連蛋白のリサイクリング障害により、神経回路形成期のシナプス剪定異常・未熟なシナプスの過剰な残存が生じ、ASD 様とされる社会性行動異常が観察される。本研究では、神経細胞での Angiotensin II 受容体シグナルが NHE5 の分解を誘導することによって NHE5 発現低下を惹起するという機序により、出生前の母体の高血圧が ASD リスクとなり得ることを、遺伝的高血圧モデルマウスのフェノタイプ解析により示した（論文投稿中）。

②ユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) 依存的蛋白分解の神経発達・回路形成への寄与：UPS によるシナプス構成蛋白の発現調節は、シナプスの形成維持に不可欠であり、シナプス領域に発現するいくつかの E3 ユビキチンリガーゼに関し、欠損による精神疾患・発達障害様のフェノタイプが生じることが報告されている。本研究では、ほぼ全ての神経細胞に発現する E3 である ZNRF1 の欠損モデルマウスが示す、不安様行動・恐怖条件付けにおける異常といった精神疾患様フェノタイプの発現機序として、生後発達過程における GSK3B 活性調節を介した電位依存性 Na channel の発現調節など軸索起始部の形成異常による活動電位の変化、ならびに胎生期における大脳皮質層構造の形成異常があることを明らかにした。

③シナプス形成機序を制御する新たな翻訳後修飾機序：ヒト染色体 16p11.2 領域の～600Kb の欠損は、ASD の遺伝的要因として最も高頻度であるとされている。この領域に存在する個別の遺伝子の欠損モデルの中で、脳発達における形態的異常が見つかった唯一の遺伝子は major vault protein (MVP) である。MVP は非常に大きな多量体を形成し、vault RNA と呼ばれる non-coding RNA と結合している。我々はこれまでに、シナプス形成期において MVP が Aurora A 依存的リン酸化による構造変化により vault RNA を放出すること、vault RNA はリン酸化酵素 MEK1 に結合することで MEK1 を活性化し、

MAPK 経路活性化によるシナプス形成誘導を行うことを示した。本研究では、Aurora A 活性化機序として、細胞内の酸化ストレス依存的なグルタチオン化修飾があることを示した。Aurora A の C290 グルタチオン化は、Aurora A の 2 量体形成による自己リン酸化による活性化を誘導し、シナプス形成を活性化すると考えられた。システイン残基のグルタチオン化は多くのシナプス関連蛋白に幅広く観察され、多くの酵素の活性制御においてリン酸化と類似した意義を持つ可能性が考えられた。

神経変性の分子機序に関する主要な成果としては、分担研究者である大木を中心とする、神経変性疾患の 2 段階細胞傷害機序の解明を挙げる。長鎖散在反復配列 (Long interspersed nuclear element-1, LINE-1, L1) は、トランスポゾン由来配列として、現生人類のゲノム中で転移を起こし得るエレメントであることが知られており、細胞増殖などゲノム複製が起こる際に転移が起こる可能性がある。神経細胞は一般に Postmitotic であるが、神経変性疾患などストレス下にある神経細胞では細胞周期の亢進が報告されている。

本研究において大木らは、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、これに伴って生じるゲノム DNA の架橋や二本鎖切断に対して、通常作動する Fanc ファミリーや Brcal などの DNA 修復関連因子が神経変性疾患では作動しないことから、L1 転移が神経細胞自律的な細胞死に繋がることを示した。また L1 転移はアルツハイマー病モデルである 5x FAD マウス脳や ALD モデルである変異 SOD1 過剰発現マウス脊髄にも認められることを明らかにした。これらのことから、神経変性疾患においても L1 転移による細胞死機序が働いているものと考えられた。

さらに、EAE マウスでは L1 がコードする ORF1 蛋白がプロトタイプ抗原となって、神経細胞障害性の Eomes 陽性 Th 細胞を活性化し、グランザイム B 依存性の神経細胞死を引き起

こす現象が観察されることを示した。この Eomes 陽性 Th 細胞の増加は、炎症性疾患モデルである EAE マウスのみならず、5x FAD マウス脳や変異 SOD1 過剰発現マウス脊髄、更には ALS 患者と AD 患者の末梢血でも増加が認められたことから、この炎症性細胞傷害機序についても広く神経変性疾患における意義が想定できる。実際、これらの機序に基づき、変異 SOD1 過剰発現へのレトロ転位阻害剤(3TC)投与、あるいは 5x FAD マウスにおけるグランザイム B 遺伝子欠損により、神経細胞障害が有意に改善することを見出した。また、L1 転移が惹起する別の炎症機序として、L1 転移により生じる RNA - DNA ハイブリッドが自然免疫系を活性化し、cGAS-STING 依存性の IFN-I 産生を強く誘導するが、これが T 細胞の Eomes 発現を誘導することを見出し、IFN-I シグナルの阻害により神経変性病態が改善することを示すデータを得た。この「L1 転移による運動神経細胞障害—Eomes 陽性 Th 細胞活性化による炎症性細胞障害」の二段階神経細胞障害機序は、AD、ALS といった異なる機序によると考えられてきた神経変性疾患に共通する病態機序として、新たな治療法開発に寄与する可能性がある。

野口は、ASD のシナプス病態の理解を目的とし、マーモセットもしくはマウスの妊娠母体へのバルプロ酸投与による産仔の ASD モデルの大脳皮質組織から、シナプス領域の蛋白・核酸を含む synaptoneurosome(SN)を取得する条件を最適化し、SN 中の蛋白・核酸の発現解析を開始した。この手法により、マーモセットでは、大脳皮質における発現が知られていなかったオキシトシン受容体がマウスと同様に発現していることを示した。また、2 光子顕微鏡を用いた観察に適する「シナプス活動検出プローブ」の作成を進めている。

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った。自身の研究としては、彼らが得意とする「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次元再構築技術」を活用し、髄鞘化機序と脱髄疾患に関する基礎的研究を実施した。具体的には、①単一のオリゴデンドロサイトの異なる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が、オリゴデンドロサイト毎に偏っており、またランビエ絞輪を隔てて隣接する髄鞘を比較した結果、隣り合う髄鞘の厚み、そしてその部位の軸索径には相関関係があることを示した。また、脳領域によってオリゴデンドロサイトは形態・機能的に異なる軸索を選好して髄鞘を形成する傾向が発生過程で確立されることを、小脳白質をモデルに示した。

②脱髄疾患における軸索障害と神経細胞内オルガネラ、特にミトコンドリアの動態の変化および役割についての解析を行った。、内包へのリゾレシチン注射による脱髄モデルでおこる運動機能の低下がミトコンドリア分裂抑制によって改善すること、電子顕微鏡画像上で軸索の Swelling 数が減少することを見出していた。③神経活動と髄鞘化の関連に関する検討を、視神経をモデルに行い、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し、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

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 自閉症スペクトラム障害 (ASD) 発症リスクとしての Na-H Exchanger (NHE)5 の発現低下: NHE5 は主として神経細胞の Endosome/Lysosome 膜上に発現し、小胞内部の酸性度を調節する蛋白であり、NHE5 欠損マウスでは Lysosome の酸性化障害によって引き起こされるシナプス膜・シナプス関連蛋白のリサイクリング障害により、神経回路形成期のシナプス剪定異常・未熟なシナプスの過剰な残存が生じ、ASD 様とされる社会性行動異常が観察される。本研究では、神経細胞での Angiotensin II 受容体シグナルが NHE5 の分解を誘導することによって NHE5 発現低下を惹起するという機序により、出生前の母体の高血圧が ASD リスクとなり得ることを、遺伝的高血圧モデルマウスのフェノタイプ解析により示した (論文投稿中)。

② ユビキチン・プロテアソーム系 (UPS) 依存的蛋白分解の神経発達・回路形成への寄与: UPS によるシナプス構成蛋白の発現調節は、シナプスの形成維持に不可欠であり、シナプス領域に発現するいくつかの E3 ユビキチンリガーゼに関し、欠損による精神疾患・発達障害様のフェノタイプが生じることが報告されている。本研究では、ほぼ全ての神経細胞に発現する E3 である ZNRF1 の欠損モデルマウスが示す、不安様行動・恐怖条件付けにおける異常といった精神疾患様フェノタイプの発現機序として、生後発達過程における GSK3B 活性調節を介した電位依存性 Na channel の発現調節など軸索起始部の形成異常による活動電位の変化、ならびに胎生期における大脳皮質層構造の形成異常があることを明らかにした。

③ シナプス形成機序を制御する新たな翻訳後修飾機序: ヒト染色体 16p11.2 領域の～

600Kb の欠損は、ASD の遺伝的要因として最も高頻度であるとされている。この領域に存在する個別の遺伝子の欠損モデルの中で、脳発達における形態的異常が見つかった唯一の遺伝子は major vault protein (MVP) である。MVP は非常に大きな多量体を形成し、vault RNA と呼ばれる non-coding RNA と結合している。我々はこれまでに、シナプス形成期において MVP が Aurora A 依存的リン酸化による構造変化により vault RNA を放出すること、vault RNA はリン酸化酵素 MEK1 に結合することで MEK1 を活性化し、MAPK 経路活性化によるシナプス形成誘導を行うことを示した。本研究では、Aurora A 活性化機序として、細胞内の酸化ストレス依存的なグルタチオン化修飾があることを示した。Aurora A の C290 グルタチオン化は、Aurora A の 2 量体形成による自己リン酸化による活性化を誘導し、シナプス形成を活性化すると考えられた。システイン残基のグルタチオン化は多くのシナプス関連蛋白に幅広く観察され、多くの酵素の活性制御においてリン酸化と類似した意義を持つ可能性が考えられた。

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。ZNR1 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 ZNR1 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っ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。

神経細胞内外の環境変化が細胞突起構造の変化に翻訳されるメカニズムとして、本研究で見出した酸化還元状態の変化による蛋白のグルタチオン化修飾の意義を引き続き検討し、シグナルとしての意義を明らかにする。

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 Dpl40 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 (Duchenne Muscular dystrophy: DMD) は X 染色体上にある DMD 遺伝子の変異により発症する難治性筋疾患である。ジストロフィン脳にも広く発現し、脳のジストロフィン欠失により約 30% の患者は不安障害といった中樞神経症状を呈する。DMD 遺伝子には複数のジストロフィン・アイソフォーム (Dp) が存在する。全長型の Dp427 を欠損する mdx マウスは恐怖応答の異常な亢進を示すことが報告されている (Sekiguchi et al., 2009)。しかしながら、Dp427 欠損に伴う中樞神経症状の発症機序については未だ不明である。

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。本研究では、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を目標とした。

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、複数

の自律神経系のパラメータ異常が示唆された。以上から、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。現在、扁桃体におけるシナプトソーム解析により、情動行動異常に関与する分子の同定作業を行っている。並行して、健常者とデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の尿由来細胞から iPS 細胞を樹立する技術を確認した。

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.doi: 10.1016/j.pneurobio.2022.102288.
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
3. hyaprakash C, Kunitake K, Aoki Y :Editorial: Challenges and Opportunities for Neuromuscular Disease Modelling

Using Urine-derived Stem Cells. Front
Physiol. 13:848220, 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・疾病研究第六
部

緒言：神経変性疾患の病態機序は依然として不明であり、有効な治療薬も得られていないことを考えるに、病態機序の根本的な捉え直しが必要と考えられる。私たちは、神経変性を伴う二次進行型多発性硬化症 (SPMS) の神経細胞障害の病原性因子として Eomes 陽性 Th 細胞を同定した。神経変性病態の形成過程における同細胞のより普遍的な関与を示すために、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) やアルツハイマー型認知症 (AD) のマウスモデル、およびそれらの患者を対象として同細胞の挙動を解析し、神経変性疾患に共通する病態機序の全容解明を行う。これまでに慢性炎症環境下の神経細胞が異所性に発現するレトロトランスポゾン LINE-1 由来の ORF1 タンパク質が、Eomes 陽性 Th 細胞の活性化抗原であることを見出した。ORF1 タンパク質の供給は先行する神経細胞死を必要とすることから、並行してこの自律的な神経細胞死と LINE-1 再活性化の関連を解析し、神経変性疾患の神経細胞障害が、自律的神経細胞死と免疫依存性神経細胞障害により生じるという二段階病態仮説を提唱している。本研究は、これまで個別の解析が主流であった神経変性疾患に共通する普遍的な病態機序を解明することで、いまだ有効な医薬品が存在しない神経変性疾患群の、画期的な治療法開発を可能にする病態理解と新規治療標的の同定と評価を目的とする。

方法・結果：

研究開始当初、NR4A2cKO マウスの EAE で認められる後期 EAE 病態の病原性細胞として、転写因子 Eomes を発現し、細胞障害性を獲得したユニークなヘルパー T (Th) 細胞 (Eomes 陽性 Th 細胞) を同定したこと、およびこの後期 EAE 病態が神経変性を伴う二次進行型多発性硬化症 (SPMS) 相当であることを示したこと (Nat Commun 2015) を皮きりに、Eomes 陽性 Th 細胞による免疫依存性神経細胞障害の分子機序の解明を目指して研究を進めた。その後の MS 患者の大規模解析から、末梢血中の Eomes 陽性 Th 細胞頻度 (Eomes 頻度) が、SPMS 患者に限局して著増し、病態進行度 (EDSS の変化量) と相関することを明らかにし、疾患バイオマーカーとしての Eomes 頻度の意義を示した (PNAS2021)。SPMS 患者の死後脳では、normal appearing white matter (NAWM) を含む脳内の広範な領域に、Granzyme B 陽性 Eomes 陽性 Th 細胞が広く分布することが示され、病原性因子としての Eomes 陽性 Th 細胞の意義を示唆する結果が得られた。

そこでより広範な神経変性病態における Eomes 陽性 Th 細胞の機能を解明するため、ALS モデルマウス (mSOD1) および AD モデルマウス (5xFAD) を追加して、より普遍的な神経変性病態の病原性因子としての同細胞の役割を解析した。その結果、神経変性に伴う慢性炎症環境に長く晒された神経細胞では、レトロトランスポゾン LINE-1 (Long interspersed nuclear element-1, L1) の顕著な脱抑制 (再活性化) が生じ、L1 由来の ORF1 タンパク質が Eomes 陽性 Th 細

胞を活性化するプロトタイプ抗原として作用することで、グランザイム B 依存性の神経細胞死を引き起こすことが示された (iScience 2022)。引き続きミクログリアの解析から、神経変性病態に関連するサブセットのうち、MHC II 分子を高発現するミクログリアが、神経細胞から Trem2 依存的に ORF1 タンパク質を取り込み、Eomes 陽性 Th 細胞に抗原提示することを明らかにした。一方、神経細胞における L1 由来核酸の蓄積が、核酸センサーを活性化して炎症性サイトカインである I 型インターフェロン (IFN-I) の産生を引き起こし、インターフェロン応答遺伝子を高発現するミクログリアを誘導することを明らかにした (Cells 2023)。IFN-I を過剰産生する遺伝子改変マウス (Trex1 欠損マウスあるいは UPS18 欠損マウス) で CNS への Th 細胞の集積が認められ、その多くが Eomes 陽性/グランザイム B 陽性であった (Yeh et al. unpublished observation) が、これは IFN 受容体欠損により Eomes 発現がキャンセルされたことから IFN-I 依存性であることが示された。ALS 患者あるいは AD 患者を対象とした Eomes 陽性 Th 細胞の解析が並行して進んでおり、SPMS と同様、患者末梢血中でもグランザイム B 陽性の同細胞が有意に増加すること、罹病期間や認知機能障害などと有意に相関することなどが示された (Kanazawa et al. under review)。

Eomes 陽性 Th 細胞依存性の免疫依存性神経細胞障害は、神経細胞が産生する ORF1 タンパク質の供給を必要とするため、先行する自律的神経細胞死の分子機序を並行して解析することにした。一般に、L1 再活性化は stochastic なレトロ転移を亢進させて

ゲノムストレスの原因となることから、L1 活性化、とくにレトロ転移と自律的神経細胞死の関連を詳細に解析した。その結果、L1 レトロ転移が、DNA ダメージの蓄積などにより部分的に細胞周期が亢進した神経細胞に生じる複製フォークを標的とすることを見出した。興味深いことに、5xFAD マウスの神経細胞では、複製フォークへの L1 アタックを抑制する作用を持つ一群の DNA 損傷修復因子の発現が顕著に低下しており、L1 RNA の結合領域に生じる 1 本鎖 DNA がヌクレアーゼにより切断されて、細胞死が生じる可能性が示された。とくにがん抑制遺伝子である Brca1 が、細胞死を回避する主要な L1 抑制因子であることがわかり、『細胞周期の亢進』、『L1 レトロ転移』、『DNA 修復機構の異常』の 3 条件が同時成立することで、意図しない神経細胞死が生じることが明らかとなった。

本研究の結果から、単純なタンパク質の蓄積だけでは説明できない神経変性疾患の複雑な発症機序の一端がはじめて明らかとなった。すなわち自律的神経細胞死と免疫依存性神経細胞障害の二段階の機序が神経変性疾患の原因となることが示され、神経細胞、ミクログリアと T 細胞で独立に生じる多様な事象が、意図せぬ相互作用を介して結果的に神経細胞死を導くことが示された。

考察： 自律的神経細胞死の詳細を引き続き解析し、提唱した分子機序の普遍性を検証する。神経変性における自律的神経細胞死と免疫依存性神経細胞障害の寄与度を解析し、早期に論文として発表することで本仮説の重要性を国内外にアピールする。全く新しい病態機序である二段階病態仮説か

ら、グランザイム B や L1 レトロ転移をはじめとする種々の新規治療標的分子/細胞が得られることから、各標的分子を標的とした治療的介入による神経変性病態の抑制効果を検証し、神経変性疾患に共通して適用可能な新規治療法の探索を行う。並行して ALS や AD に止まらず神経変性疾患の対象を拡大したヒト解析を進め、仮説の強化を図るとともに病態機序の全容解明を目指す。

参考文献：

1. Ben JE Raveney, Wakiro Sato, Daiki Takewaki, Chenyang Zhang, Tomomi Kanazawa, Youwei Lin, Tomoko Okamoto, Manabu Araki, Yukio Kimura, Noriko Sato, Terunori Sano, Yuko Saito, Shinji Oki, Takashi Yamamura, Involvement of cytotoxic Eomes-expressing CD4+ T cells in secondary progressive multiple sclerosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 118(11):e2021818118.(2021) DOI: 10.1073/pnas.2021818118
2. 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. doi: 10.1016/j.isci.2022.104278. eCollection 2022 May 20.
3. 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; e15864. doi: 10.15252/emmm.2022158

4. Chenyang Zhang, Ben Raveney, Fumio Takahashi, Tzu-wen Yeh, Hirohiko Hohjoh, Takashi Yamamura, Shinji Oki, Pathogenic Microglia Orchestrate Neurotoxic Properties of Eomes-Expressing Helper T Cells. *Cells* 12, 868 (2023) doi.org/10.3390/cells12060868

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(以下自閉症)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因と考えられている。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、疾患の理解に資する。

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という膜小胞として抽出し、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構成する核酸・タンパク質等を解析する方法論を開発する。

自閉症モデルマウスあるいはマーモセットにおける遺伝子発現変化や、社会性刺激を動物に加えた場合の発現変化の知見を得る。その知見をもとに社会性に関係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。母猿の妊娠期間中にバルプロ酸を経口投与して得られる自閉症モデルマーモセット・マウスとコントロール動物から、投射元-投射先既知のシナプトソームを抽出し、シナプスタンパク質の発現を比較する。これにより、特定の神経回路依存的な自閉症関連遺伝子の発現の変化を捉えることができる。候補遺伝子を絞り込んだのち、その遺伝子発現の2光子顕微鏡による可視化を試み、治療薬候補の評価等を実施する。

方法・結果：

1. Synaptoneurosome シナプトニューロソーム精製の最適化

ホモジナイズした脳をシヨ糖勾配密度遠心分離などによって精製することで、シナプスを構成していたシナプス前部とシナプス後部の一部が繋がった膜小胞として得られることが1960年頃から知られており、synaptosome (シナプトソーム)と呼ばれていた。この方法では、シナプス後部は細胞膜とそれに付着するシナプス後部肥厚(post-synaptic density; PSD)が主に得られ、シナプス後部であるスパインの大部分はシナプトソームに含まれないと考えられた。その後、ビーズを用いた脳組織の破碎とその破碎液を5ミクロンの孔径のフィルターを通すことを組み合わせること等で、シナプス後部(樹状突起スパイン)の成分をより多く含むsynaptoneurosome (シナプトニューロソーム)というシナプトソームの変法; 以下 SN)が得られることが示された。我々は、PSDの主要な構成タンパク質であるPSD95や、樹状突起スパインのネック部分あるいは、スパインアパラタスに含まれるタンパク質であるsynaptopodinの収率を指標に、シナプス後部の成分をより保存するように方法を最適化した。

2. マーモセット大脳皮質シナプトニューロソーム分画のオキシトシン受容体の検出

我々は、マウスあるいはマーモセットのSN分画をフローサイトメトリー法で解析し、SNが高純度で精製できていることを確認した。次にWestern blotting法を用いて予想されるタンパク質が含まれるか確認した。PSD95やsynaptopodinに加えて、オキシトシン受容体をマウス・マーモセットにおいて検出するこ

とができた。特にマーモセットでは、大脳皮質におけるオキシトシン受容体の発現は放射性ラベルの実験からこれまでほとんど無いとされており、我々の実験によって、オキシトシン受容体がマウスと同様に大脳皮質に発現していることが示された。我々の 2 光子顕微鏡を用いた樹状突起スパインの観察実験では、オキシトシンの慢性的な投与によって、近接したシナプス新生が抑制されることを支持するデータが得られた。今回の SN を用いた実験結果は、オキシトシンの効果が大脳皮質のオキシトシン受容体を介して生じる可能性を示唆した。

3. シナプス活動を検出するシナプスプローブの準備

例えば、シナプスに局在しカルシウムと UV 光依存的に蛍光色に変化するタンパク質プローブが知られている (SynTagMA; Perez-Alvarez et al. (2020) Nat. Commun.)。このようなプローブを用いて蛍光色で SN をソーティングすることで、活動シナプス由来の SN を精製可能なのではないかと考えている。これによって、特定のタスク（社会性に関連する経験など）の直後に、活動シナプスに含まれるタンパク質や核酸がどのように変化するかを調べる。動物個体におけるベクター発現の最適化を現在実施している。

4. シナプトニューロソームが含有する RNA, タンパク質の解析

SN から含有 RNA を精製することが可能であり、また SN を質量分析を共同研究先に委託することによって含有するタンパク質等を解析できる。同一の SN 分画から RNA の解析とタンパク質の解析の両方を行うことにより、それらの関連を分析し、タンパク質局所翻訳の解析等につなげる。バルプロ酸曝露自閉症

モデルマウスとコントロールマウスの比較解析を現在実施中である。

考察：

1. Synapto-neurosome シナプトニューロソーム精製の最適化

シナプスの大きさや投射元神経細胞、特定のシナプスタンパク質の発現等を指標に分画してそれぞれ含有する分子の特徴を明らかにする。

2. マーモセット大脳皮質シナプトニューロソーム分画のオキシトシン受容体の検出

オキシトシン投与によってシナプスを構成する RNA やタンパク質が変化するか否かを解析する。特にオキシトシン受容体の下流に存在する MAPK(ERK)シグナルに着目する。

3. シナプス活動を検出するシナプスプローブの準備

ベクター発現の最適化を完了させ、活動依存的な構成分子の変動の解析に移行する。また、cFos や Arc といったタンパク質は神経活動依存的に発現が上昇することが知られている。これらのタンパク質の発現を指標として、フローサイトメーターのソーティング機能を用いて活動神経細胞の SN を特異的に精製することを試みる。

4. シナプトニューロソームが含有する RNA, タンパク質の解析

上記で示した、特定の SN から含有 RNA を精製し、質量分析結果と比較解析を行い論文報告する。特定のシナプスを蛍光色を指標にフローサイトメーターのソーティング機能を用いて分離し、質量分析で特性解析を行った結果が最近報告された。(van Oostrum et al. (2023) Cell.)。我々も方法をより洗練して、自閉症モデル動物のシナプスにおける特徴的な

性質を明らかにする。

参考文献：

1. Noguchi J, Watanabe S, Oga T, Isoda R, Nakagaki K, Sakai K, Sumida K, Hoshino K, Saito K, Miyawaki I, Sugano E, Tomita H, Mizukami H, Watakabe A, Yamamori T & Ichinohe N. Altered projection-specific synaptic remodeling and its modification by oxytocin in an idiopathic autism marmoset model. *BioRxiv*. 2022: DOI: <https://doi.org/10.1101/2022.08.24.505057>.
2. Ucar H, Watanabe S, Noguchi J, Morimoto Y, Iino Y, Yagishita S, Takahashi N & Kasai H. Mechanical actions of dendritic-spine enlargement on presynaptic exocytosis. *Nature*. 2021; 600: 686–689. DOI: [10.1038/s41586-021-04125-7](https://doi.org/10.1038/s41586-021-04125-7).
3. Watanabe S, Kurotani T, Oga T, Noguchi J, Isoda R, Nakagami A, Sakai K, Nakagaki K, Sumida K, Hoshino K, Saito K, Miyawaki I, Sekiguchi M, Wada K, Minamimoto, Ichinohe N. Functional and molecular characterization of a non-human primate model of autism spectrum disorder shows similarity with the human disease. *Nat. Commun.* 2021; 12: 5388. Doi: [10.1038/s41467-021-25487-6](https://doi.org/10.1038/s41467-021-25487-6).

分担研究課題名

軸索変性に伴うオルガネラ動態・相互作用の変化とその制御機構の解明

名前：大野伸彦

所属：自治医科大学医学部解剖学講座組織学部門

緒言：

オルガネラの動態と機能、相互作用は神経・軸索変性に重要な役割を果たしている。しかし、その構造的な特性、病態下における変化と制御機構には、不明な点が多い。本研究では髄鞘関連疾患の軸索変性および再髄鞘化による組織再生に着目し、ミトコンドリアの動態と機能、そしてミトコンドリアと小胞体の相互作用 (Mitochondria associated membranes, MAM) の構造の制御と役割を、3次元超微形態解析技術や新たな標識・操作技術の開発と応用を通じて明らかにする。発達期の髄鞘形成あるいは加齢時の髄鞘形成・再生障害における検討も行い、組織の発達と再生におけるミトコンドリアと MAM を制御する機序の理解を目指す。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：

これまでの研究で脱髄や髄鞘の遺伝子異常によって軸索のオルガネラ異常や変性を惹起することを見出してきたが、障害の影響を受けやすい軸索の特徴については、ほとんどわかっていなかった。そこで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ことを糸口に、2021年度にはオリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する軸索の特性を電子顕微鏡による 3次元再構築技術を用いて検討した (Tanaka et al. 2021)。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、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の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

オリゴデンドロサイト毎に偏っていることが分かった。そして、それらの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比較した結果、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。以上の結果を総合することで、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。2023年度にかけて、髄鞘疾患における軸索障害とミトコンドリア動態の変化および役割についての解析を行ってきた小脳白質を対象にして、各オリゴデンドロサイトの軸索特異性および軸索の機能と生存への影響を明らかにするための研究を進めた (Battulga et al. 2023)。まず、弱毒化狂犬病ウイルスによるオリゴデンドロサイトのまばらな蛍光標識、軸索マーカーによる組織全体の免疫染色法および組織の透明化を組み合わせ、マウスの小脳白質内の単一のオリゴデンドロサイトとそのミエリン鞘、被覆される軸索の種類を観察する新規技術を開発した。この技術を使って観察した結果、成体マウスの小脳では約半数のオリゴデンドロサイトがプルキンエ細胞に由来する軸索を選好して髄鞘化していることが明らかになった。3次元免疫電顕も併用した解析の結果、プルキンエ細胞軸索への選好性は、小脳白質内での髄鞘形成が始まる発生期においてより顕著であり、その時期では90%以上のオリゴデンドロサイトがプルキンエ細胞軸索を選好して髄鞘化することが分かった。さらに、タモキシフェン注射の時期以前に分化したオリゴデンドロサイトだけを蛍光蛋白で標識できるトランスジェニックマウスを用いた解析から、初期にプル

キンエ細胞軸索を選好して髄鞘化するオリゴデンドロサイトは、成体まで継続してプルキンエ細胞軸索を選好して髄鞘を形成していた。こうした一連の結果から、脳領域によってオリゴデンドロサイトは形態・機能的に異なる軸索を選好して髄鞘を形成する傾向があること、そしてこうした髄鞘形成の軸索選好性は発生過程で確立されることが明らかになった。髄鞘の選好性を解明することは、これまでに作出した細胞種・時期特異的なミトコンドリア動態操作モデルなどを用いて、髄鞘疾患の軸索障害におけるオルガネラ変化の軸索種・神経回路特異的な役割を明らかにする上での重要な基盤となる。

また、2021度には、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が示唆され、末梢神経における軸索障害、髄鞘再生の検討に資すると考えられた。

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 (シリンダーテスト) 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. 2023)。

2023 年度にかけてこの内包脱髄モデルと独自に開発してきた生体内の時期・細胞特異的ミトコンドリア分裂抑制モデルマウス (KENG-Tet-Drp1K38A マウス) を組み合わせた、ミトコンドリアの分裂が脱髄に伴う神経機能障害に及ぼす影響を解明する研究を継続した。既にこの KENG-Tet-Drp1K38A マウスを大脳皮質および海馬の興奮性神経細胞に特異的に tTA を発現する系統 (CaMKII-

tTA) と交配させ、同神経細胞で時期特異的にミトコンドリア分裂を抑制できるマウス (CaMKII-Drp1K38A マウス) を作出していた。実際、神経細胞におけるミトコンドリアの 3 次元再構築による比較を行うと、CaMKII-Drp1 マウスの神経細胞体では顕著なミトコンドリアの巨大化が確認されていた。そして、内包へのリゾレシチン注射によっておこる運動機能の低下がミトコンドリア分裂抑制によって改善すること、電子顕微鏡画像上で軸索の Swelling 数が減少することを見出していた。

本研究では実際に内包の有髄軸索において、ミトコンドリアのサイズの比較を行った。その結果、大脳皮質の神経細胞体ほど顕著ではなかったが、多数の軸索におけるミトコンドリアの比較を行うと、CaMKII-Drp1 マウスの軸索ミトコンドリアの体積はコントロールに比較して大きい傾向が観察された。一方で、リゾレシチン投与後の脱髄病巣において軸索障害のマーカー (SMI32) と髄鞘 (PLP) の多重染色を行ったところ、予想に反して CaMKII-Drp1 マウスにおいても軸索障害マーカーの染色がコントロールと同様に観察された。同時に興味深いことに、髄鞘マーカーの染色がより多く認められる可能性が示唆された。この結果と前述のクレマスチン投与の研究成果 (Yamazaki et al. 2023) から、CaMKII-Drp1 マウスでは髄鞘の再形成に変化が起こる可能性が示唆された。軸索障害と同時に脱髄および再髄鞘化を比較する上では、クプリゾン投与による脳梁脱髄モデルが有用であることから (Ohno et al. PNAS 2014)、CaMKII-Drp1 マウスにおいてクプリゾン投与モデルを作製し、軸索の変性および再髄鞘化の評価を行った。ク

プリゾンの投与下で確認された脳梁の脱髄病巣において透過型電子顕微鏡による解析を行うと、軸索変性は CaMKII-Drp1 マウスでは軽減傾向はみられたが、統計的有意差には至らなかった。またクプリゾン投与では投与中も再髄鞘化が起こることが知られているが、クプリゾン投与下で脳梁における有髄軸索数には有意差を認めなかった。以上の結果から、脳梁には大脳皮質由来の交連線維が多数走行するが、これらの軸索のクプリゾン脱髄モデルでは、CaMKII-Drp1 マウスにおける大きな変化がみられない可能性が示唆された。

2021 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、2022 度に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。そ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、この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。また、こうした技術によって、髄鞘疾患において解析が困難であった神経伝導制御の形態パラメーターの評価が可能になると期待される。

本研究では連続電子顕微鏡画像からオルガネラ動態・相互作用の変化の高精度な解析を目指したが、こうした解析では対象を画像から抽出するセグメンテーションという工程が不可欠であり、この業務を手動で行うために大きなコストが必要となっていた。こうした問題の解決の一つとして、オートセグメンテーションに加えて、オルガネラの特異的な標識方法が注目されているが、そのパイプラインや有効性は確立されていない。そこで、本研究の中で古典的な金属による染色法である Z10 染色によるゴルジ体染色をモデルに用いて、連続電顕画像におけるオルガネラ特異的染色からのオルガネラ抽出・再構築パイプラインの確立を行った (Johkura et al. 2022)。その結果、自動抽出データにおける個々のオルガネラの 3D 分割技術を使うことで、極めて高い効率でセグメンテーションと構造的パラメーターの計測が可能であることが示された。こうした技術を応用することは、今後ミトコンドリアや小胞体の膜性オルガネラの高効率な解析に資すると期待される。

また、こうしたオルガネラ特異的標識、3D 分割技術に加えて、畳み込みニューラルネットワークを使用したオートセグメンテーションにおいても複数のモデルを組み合わせることで、精度を大きく向上させられる

ことが分かった。このアプローチを用いて、加齢組織におけるミトコンドリアなどのオルガネラや有髄軸索のセグメンテーションの高速化を実現しており、オートセグメンテーションが困難な細胞突起のマニュアルセグメンテーションと組み合わせ、加齢組織における細胞形態変化を明らかにしつつある。特に軸索とその髄鞘の形態学的パラメーターやオリゴデンドロサイトの突起先端の髄鞘形成率の加齢に伴う低下を見出した。

考察：

今後は、これまでの研究で確立した光顕および電顕レベルの軸索標識や (Nakamura and Ohno et al. eLife 2023)、自動セグメンテーション・解析パイプラインを細胞・時期特異的なミトコンドリア分裂の制御系と組み合わせ、内包を走行する運動野由来の軸索に注目した、ミトコンドリア動態・オルガネラ相互作用の変化とその制御による神経機能の改善機構の解明を継続し、成果発表につなげる。同時に、こうした技術・モデルを応用し、これまでの研究成果に基づいて (Nguyen et al. 2018)、脱髄病巣より遠位部のシナプスにおけるオルガネラ変化が機能再生に及ぼす影響についても検討を進める。

また、本研究の過程で見出した髄鞘の選好性が髄鞘疾患における選択的な軸索障害につながる可能性を検証するため、選好性を有するオリゴデンドロサイトを特異的に標識できる系統 (PLP-CreERT) を応用し、これらのオリゴデンドロサイト特異的に髄鞘形成異常を惹起するマウスモデル (Myrf コンディショナルノックアウト) と組み合わせ、

軸索障害の選択性を明らかにする。一方で、この選好性は脱髄後の髄鞘再生の際に失われることを見出しており、GABA をはじめとする神経伝達物質や細胞接着分子などを介した選好性のメカニズムを検証し、選好性回復の治療的介入法の開発やその効果の解明を目指す。

髄鞘再生能が加齢に伴い低下するメカニズムの解明に向けて、本研究で見出した異常な形態をもつオリゴデンドロサイトの出現に関わるマーカーをトランスクリプトーム解析から同定し、異常細胞出現のメカニズムの解明を目指す。さらに、加齢にミトコンドリアの機能異常は深く関わることから、ミトコンドリアの機能異常がオリゴデンドロサイトの形態異常や髄鞘形成能に果たす役割を検証するため、現在作製中のオリゴデンドロサイト特異的ミトコンドリア機能異常マウス (Mitochondrial transcription factor A (TFAM) コンディショナルノックアウト) におけるオリゴデンドロサイトの形態・髄鞘形成と髄鞘再生、軸索障害への影響を明らかにする。

参考文献 (研究成果)：

1. Yamazaki R, Osanai Y, Kouki T, Shinohara Y, Huang JK, Ohno N. Macroscopic detection of demyelinated lesions in mouse PNS with neutral red dye. *Sci Rep.* 2021 11:16906. doi: 10.1038/s41598-021-96395-4. 査読あり
2. Tanaka T, Ohno N, Osanai Y, Saitoh S, Thai TQ, Nishimura K, Shinjo T, Takemura S, Tatsumi K, Wanaka A. Large-scale electron microscopic volume imaging of interfascicular

oligodendrocytes in the mouse corpus callosum. *Glia*. 2021 69:2488–2502. doi: 10.1002/glia.24055.

3. 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.

4. Johkura K, Usuda N, Tanaka Y, Fukasawa M, Murata K, Noda T, Ohno N. Whole-cell observation of ZIO-stained Golgi apparatus in rat hepatocytes with serial block-face scanning electron microscope, SBF-SEM. *Microscopy (Oxf)*. 2022 71:262–270. doi: 10.1093/jmicro/dfac024.

5. Yamazaki R, Osanai Y, Kouki T, Huang JK, Ohno N. Pharmacological treatment promoting remyelination enhances motor function after internal capsule demyelination in mice. *Neurochem Int*. 2023 164:105505. doi: 10.1016/j.neuint.2023.105505.

6. Battulga B, Osanai Y, Yamazaki R, Shinohara Y, Ohno N. Axonal selectivity of myelination by single oligodendrocytes established during development in mouse cerebellar white matter. *bioRxiv*, 2023 doi: <https://doi.org/10.1101/2023.10.03.560586>.

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

本橋裕子

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。可能であれば患者参加型の登録システムの確立を目指す。

2) 遺伝学的検査：症状から本対象疾患が疑わしい場合は、次世代シーケンサーによる遺伝子解析で原因遺伝子の探索を行う。必要に応じて全エクソーム解析を行う。

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細胞樹立と病態解析：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

本橋裕子（令和5年度）

（佐々木征行 令和3・4年度）

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 竹下絵里

同上病院 馬場信平

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、住友典子、山本

薫、今井憲、末永祐太

3.研究成果

1) 患者疫学調査：小児期に発症する不随意運動症を有する症例を抽出し、症例・症例集積・疫学研究を行った。症例登録システムとして、医師主導のインハウスの症例データベースの基盤を整備した。小児期発症ジストニアの全国調査の二次調査を行い、ATP1A3関連疾患のジストニアの臨床的特徴と診療実態を明らかにした。

2) 遺伝学的検査：遺伝学的検査により、ATP1A3関連神経疾患3例、WDR45異常症1例、GNAO1異常症1例、ECHS1異常症1例、POLR3A異常症2例、COL4A1関連疾患1例、14q12欠失症候群1例、TMEM63A関連髄鞘形成不全症1例などを確定診断した。また、それぞれの自然歴に関する知見を得た。

3) ガイドライン作成：ATP1A3 関連神経疾患に polymicrogyria を呈する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案を作成し、診断の手引き案を作成した。また、GNAO1 異常症の診断の手引き案を作成した。

4) iPS細胞樹立と病態解析：8例の疾患特異的 iPS細胞の樹立に成功した（小児交互性片麻痺（AHC、ATP1A3 異常症）4例 POLR3 関連疾患 4例）。4例の AHC 患者由来 iPS 細胞を分化誘導し、単層培養、脳オルガノイドの双方で、ATP1A3 を発現する神経細胞を得ることができた。脳オルガノイドにおいて、熱負荷ストレス時に、AHC 患者特異的な NOS の上昇を見出した。

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.
 6. Yamamoto A, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Kurosawa K, Sasaki M, Sato N, Osaka H, Takanashi J, Inoue K. An open-label administration of bioavailable-form curcumin on patients with Pelizaeus-Merzbacher disease. Pediatr Neurol. 2024 Feb;151:80-83.
 7. 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.
 8. Tabata K, Sasaki M, Inoue K, et al. 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.
 9. Hashimoto K, Baba S, . . , Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Saito T, Inoue K, Sasaki M, et al. 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.
 10. Aihara Y, Sumitomo N, Shimizu-Motohashi
- Y, Inoue K, Goto Y, Komaki H. Long-term follow-up case of 14q12 deletion syndrome: A case report. Brain and Development Case Reports. June 2024 June;2 (2): 100013.

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】小児期に発症する不随意運動症をきたす遺伝性疾患は多数存在する。いずれも希少疾患であり、神経画像や生化学的検査などに加え、遺伝学的解析にて診断をつける。希少疾患であるため、その自然歴も不明な点が多い。

【目的】小児期発症の不随意運動症を呈する疾患の神経画像と臨床的特徴を明らかにする。

【方法】国立精神・神経医療研究センター脳神経小児科が診療している患者で、不随意運動を含む運動障害を呈する症例の神経画像、診断手順と臨床像を検討し、過去の報告と比較する。

【結果】① *COL4A1* 変異が遺伝学的に確認された症例 7 例の頭部画像を検討した。*COL4A1* 関連疾患は血管壁異常による出血や梗塞を起因とする破壊が原因で孔脳症や裂脳症を来すことで知られるが¹⁾、孔脳症を呈さない症例も多かった。また、基底核の形態または信号異常や、虚血と考えられる基底核や小脳歯状核の T2WI と FLAIR 高信号も診断の手掛かりとなると考えられた。② 14q12 欠失症候群を有する 40 歳患者の小児期から成人期の特徴を検討した。14q12 欠失症候群は出生後の小頭、精神運動発達遅滞、てんかん、不随意運動、脳梁欠損を特徴とする。コアは成人期まで持続し、てんかんは成人期には目立たなくなるという特徴があった。なお、本症例は過去の報告と比較しても最高年齢患者の報告となる²⁾。③ *TMEM63A* 関連髄鞘形成不全症の家族例の臨床像を検討した。頭部 MRI 検査で大脳/小脳白質にびまん性に T1WI 低信号、T2WI 高信号を認め、頸髄後索にも T2WI 高信号を認めた。発端者である患者以外に、母方家系に複数名幼少期の眼振、斜視、運動発達遅滞を呈する家族が存在

し、*TMEM63A* のバリエーションが同定された。家系内での表現型の違いがあること、眼振は年齢とともに目立たなくなることが分かった。

【考察】いずれの症例も不随意運動や臨床像の特徴、神経画像をはじめとする各種検査結果に加え、遺伝学的解析で診断をつけることができている。希少疾患であり、既報から得られる情報も限定的である。今後症例の蓄積を行い、疾患の特徴を明らかにしていくことで、診断や診療の指針作成、また、将来的には治療法開発研究促進に貢献していきたい。

【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. Long-term follow-up case of 14q12 deletion syndrome: A case report. Aihara Y, Sumitomo N, Shimizu-Motohashi Y, Inoue K, Goto Y, Komaki H. Brain and Development Case Reports. June 2024 June; 2(2): 100013.
3. Spinal cord involvement and paroxysmal events in "Infantile Onset Transient Hypomyelination" due to *TMEM63A* mutation. Tonduti D, Mura E, Masnada S, Bertini E, Aiello C, Zini D, Parmeggiani L, Cantalupo G, Talenti G, Veggiotti P, Spaccini L, Iacone M, Parazzini C. J Hum Genet. 2021 Oct; 66(10):1035-1037.

小児期発症不随意運動症の病態解明と治療法開発に向けた研究: 疾患特異的 iPS 細胞の確立と病態分子機序の解明

分担研究者:

国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第二部 井上 健

研究協力者:

研究協力者: 同 鈴木禎史、センター病院小児神経科 田畑健士郎、佐々木征行

【緒言】

小児交互性片麻痺(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】

新規に 1 名の患者検体を追加し、計 4 名の患者から樹立した AHC-iPS 細胞を用いた。iPS 細胞から ATP1A3 を発現する神経細胞への分化誘導、GAD/GABA を発現する神経細胞の誘導を単層培養、脳オルガノイド培養の双方にて確認した。脳オルガノイド培養にて誘導した AHC-神経細胞において、熱ストレスによる神経活動マーカー (c-Fos) を検出した。また、熱ストレスによって、主に神経細胞以外の細胞 (Nestin 陽性細胞、GFAP 陽性細胞) で活性酸素種が上昇することを認めた。

【考察】

AHC-神経細胞では、GAD/GABA を発現する神経細胞が共存する環境下であっても、熱ストレスによって誘導される神経活動が維持されることがわかった。熱ス

トレスによって Neuronal hyperactivity が誘導されることは単層培養の実験で示されており(4)、本研究の結果から、単層培養、脳オルガノイドの双方で、熱ストレスによって引き起こされる AHC 病態モデルを構築することができたと考える。このモデルを用いて、熱以外のストレスによっても同様の表現系が観察されるか検討していく。熱ストレスによって誘導される活性酸素種の上昇は、主に成熟神経細胞以外の細胞で起こっていることがわかった。近年、酸化ストレスとてんかん誘導に関する報告が出てきている。ストレスによって引き起こされる活性酸素種の上昇が病態に寄与するか inhibitor などを用いて詳細な解析を行なっていく必要がある。

【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)、別の細胞種、おそらくはより未熟な神経幹細胞で活性酸素種の上昇が起こることが本研究で明らかになった。今後、活性酸素種の上昇がどのように疾患の病態に寄与するのか明らかにする計画である。

【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) Pasca, 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】

患者 3 名 (POLR3B 1 名、POLR1C 2 名) と健常人 1 名の PBMCs のロングリード RNA-seq を行い、解析に十分な量と質のデータを取得した。また、wf-transcriptome と公開データ・データベース、エンリッチメント解析ツールを活用したデータ解析系を構築した。具体的には、①wf-transcriptome を用いた患者と健常人の網羅的な splice isoform pattern の解析。②患者特異的に intron retention が起きている遺伝子と起きていない遺伝子のリストアップ。③リストアッ

プ遺伝子のエンリッチメント解析による生物学的意義の探索。④公開データ・データベースを活用し本症の表現型に関わる遺伝子の重点的解析である。これまでに POLR1C の患者特異的イントロンリテンションを確認したほか、NARS1 にも患者特異的にイントロンリテンションを観察した。KARS1、RARS1、EPRS1 など NARS1 の類縁の aminoacyl-tRNA synthetase 遺伝子が先天性大脳白質形成不全症の原因遺伝子として同定されており、本疾患の髄鞘形成不全に関与している可能性が見いだされた。

【考察】

今後、明らかになったデータ解析系の課題を解決しつつ、患者と健常人との遺伝子発現差解析の結果と合わせ、イントロンリテンションと遺伝子発現量との相関関係に関する解析を進めていく予定である。また、POLR1C、POLR3B、POLR3A 変異患者と健常人の iPS 細胞でオリゴデンドロサイトへの分化誘導実験を行い、疾患標的細胞でも同様に解析を行う予定である。

【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

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

【緒言】小児期発症の神経疾患は、症状の特異性に乏しいことや、個々の疾患が非常に稀であることから、診断が困難であることが指摘されている(1)。一般的に、稀少疾患は80%が遺伝的要因により発症し、50%が小児期に発症すると言われている。次世代シーケンサーの導入により、遺伝子異常が考えられる疾患は、エクソーム解析で25-50%が診断され、全ゲノム解析はそれよりも10-15%診断率が高くなると言われている(2)。診断に至る例が増えてはいるものの、これらの技術でも、診断に至らないこともある。小児期発症の神経難病では、同一の疾患あるいは遺伝子異常でも症状は多様であり、発症時期や、成長により変化しうる。また、それぞれの疾患は希少であり、自然歴に関する知見も少ないことが多い。治療に関しても、質の高いエビデンスはほとんどない。一方、近年、これまで対症療法以外にはほとんど治療法の無かった希少疾患に対しても、自己免疫疾患・炎症性疾患に対する抗体医薬品や、核酸医薬品、遺伝子治療を含む様々な医薬品が開発されつつあり、これらの疾患に対する効率的な診断や自然歴に関する知見を収集、蓄積することが必要とされている。これらに対応するため、小児期発症の希少神経疾患のデータベースの作成が必要である。

【方法】(1)これまでの検討で、既存の小児神経科病名登録では、重複しないIDで、1964件の病名データの登録があり、疾患分野では、てんかん、筋疾患、精神・運動発達遅滞がそれぞれ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%)などがあつた。主病名は679件の登録があつた。「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%)であつた。てんかん、知的発達症の合併例が多いことを踏まえ、データベース個票を作成する。(2)市販のアプリケーションソフトを用いて、病名のほか画像や動画などのデータを登録可能

なデータベースを作成する。

【結果】(1)診療の一環として行なつた診断情報を登録し、病名以外に、疾患に関連する遺伝子名や検査所見等を入力可能な個票を電子カルテ上に作成した。(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、患者個人または数人ごとに記録メディアが作成されるため、整理や利用に制約がある。このため、映像データを記録メディアからハードディスクにデータを移した上、市販の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。これらのデータを集積するための研究の承認をうけた。

【考察】 今後は入院患者を中心に、データの登録を進める予定である。また、画像や動画に関しては、データの登録を進める。また、今後の研究での活用を考へて、データベースを拡充し、これまでに記録された映像や画像についても、症状などのタグを付与し、検索性を向上させ、記録する動画の標準化などを進める予定である。

【結論】小児希少疾患の病名や検査結果、映像などを含むデータを集積することで、これらの疾患に対する効率的な診断や自然歴に関する知見を収集できるほか、様々な形での二次利用による研究への貢献が期待される

参考文献

1. Crowther LM, Poms M, Plecko B. Multiomics tools for the diagnosis and treatment of rare neurological disease. *J Inherit Metab Dis*. 2018 May;41(3):425–34.
2. Sullivan JA, Schoch K, Spillmann RC, Shashi V. Exome/Genome Sequencing in Undiagnosed Syndromes. *Annu Rev Med*. 2023 Jan 27;74(1):489–502.

ATP1A3 バリエントを有する患者のジストニア診療

分担研究者：国立精神・神経医療研究センター病院小児神経科 竹下絵里

共同研究者：同上 末永祐太、馬場信平、齋藤貴志、佐々木征行、本橋裕子

【緒言】

2020年2月～2022年2月に小児神経専門医を対象に、日本における小児期発症のジストニアに関する質問票調査を実施した。その結果、遺伝性が467例(63%)を占め、特に DYT10、DYT5、ATP1A3 関連疾患 (DYT12 を含む) が多いという結果が得られた。この中で ATP1A3 関連疾患は多彩な表現型を呈し、ジストニアの詳細は把握されておらず、DYT5 や DYT10 とは異なり、ジストニアに対する管理、対応も確立していない。

【目的】

小児期発症のジストニアに関する質問票調査から、ATP1A3 関連疾患のジストニアの臨床的特徴と診療実態を明らかにする。

【対象・方法】

2020年2月～2022年2月に小児神経専門医を対象に実施した小児期発症のジストニア診療に関する質問票調査の二次調査で得られた ATP1A3 関連疾患の患者 31 名のうち、ATP1A3 バリエントが同定されている 28 名を対象に、回答結果を集計、分析した。

【結果】

患者の性別は男性 15 名、女性 13 名、調査時年齢 5 歳 10 か月～51 歳 7 か月 (中央値 10 歳 6 か月) だった。ジストニア発症時年齢は 0 か月～16 歳 1 か月 (中央値 1 歳 0 か月)、乳児期 (0～2 歳) 発症 21 名 (75%)、小児期 (3～12 歳) 発症 5 名 (18%)、青年期 (13～20 歳) 発症 2 名 (7%) で、家族歴なしが 26 名 (93%)、家族歴ありが 2 名 (7%) だった。ジストニアの部位については、局在性 0 名、分節性 2 名 (7%)、全身性 16 名 (57%)、多巣性 10 名 (35%)、ジストニアの経過については、停止性 12 名 (43%)、進行性 12 名 (43%)、不明 4 名 (14%)、ジストニアの変動性については、持

続性 9 名 (32%)、発作性 20 名 (71%) だった。ジストニア以外の運動徴候については、なし 8 名 (29%)、あり 20 名 (71%) で、具体的には痙縮 1 名 (4%)、小脳失調 9 名 (32%)、ミオクローヌス 3 名 (11%)、(ジストニアが) 発作性ジスキネジアの一部 4 名 (14%)、舞踏症 9 名 (32%)、その他 3 名 (11%) だった。ジストニア以外の症状については、なし 4 名 (14%)、あり 24 名 (86%) で、中枢神経症状は 24 名 (86%) に認めた。頭部 MRI は全例が実施しており、異常なし 22 名 (79%)、異常あり 6 名 (21%) だった。ジストニアの治療歴はなしが 2 名 (7%)、ありが 26 名 (93%) で、内服薬の使用ありは 25 名 (89%) で、1 剤が 9 名 (32%)、2 剤が 3 名 (11%)、3 剤以上が 13 名 (46%) だった。ジアゼパム 9 名 (32%)、クロナゼパム 13 名 (46%)、トリヘキシフェニジル 5 名 (18%)、L-ドーパ 5 名 (18%)、フルナリジン 8 名 (29%) だった。

【考察】

ATP1A3 関連疾患の患者の表現型は幅広く、交互性片麻痺、運動・知的障害、てんかん、眼球運動異常、ジストニアを含む不随意運動など多彩な症状を呈する。本疾患でのジストニア診療に関する詳細は把握されていないが、今回の調査で約 7 割が乳児期に発症し、約 6 割が全身性で、約 7 割が発作性であることがわかった。ATP1A3 関連疾患の患者のジストニアに対する治療法は確立されておらず、本調査でも約 9 割がジストニアに対する治療歴があり、半数近くが 3 剤以上の薬剤使用を行っており、ベンゾジアゼピン系や Ca 拮抗薬を用いている例が多かった。ATP1A3 関連疾患の患者のジストニアでは難治に経過する例の報告もあり、今後各治療に対する有効性や症例ごとの詳細な経過を把握し、ATP1A3 遺伝子の機能解析とともにエビデンスを積み重ねていくことが必要である。

【結論】

ATP1A3 関連疾患の患者のジストニアは乳児期発症、全身性、発作性であることが多く、大部分が治療を要し、難治に経過する例もある。

【参考文献】

1. Li Y, Liu X, Wang C, Su Z, Zhao K, Yang M, Chen S, Zhou L. Molecular and clinical characteristics of

ATP1A3-related diseases. Front Neurol. 2022 Jul 26;13:924788.

2. Salles PA, Mata IF, Brünger T, Lal D, Fernandez HH. *ATP1A3*-Related Disorders: An Ever-Expanding Clinical Spectrum. Front Neurol. 2021 Apr 1;12:637890.

3. Samanta D. Management of Alternating Hemiplegia of Childhood: A Review. Pediatr Neurol. 2020 Feb;103:12-20.

小児期発症不随意運動症の診療実態に関する研究

国立精神・神経医療研究センター病院

脳神経小児科 馬場信平

緒言

自己免疫性脳炎では意識障害、けいれんに加えて不随意運動の発症が多いことが知られる。近年成人例の知見の積み上がりは目覚ましいものがある一方で、小児期発症例はその疾患の希少性・診断の困難さもあり、その臨床像や治療に対する理解は進んでいない。

方法

当院で診療を受けた、Febrile infection-related epilepsy syndrome (FIRES)の13歳男子(症例1)、FIRESの19歳女性(症例2)抗NMDA受容体脳炎の1歳男児(症例3)について、臨床経過・頭部画像・脳波・治療反応性を評価した。

結果

症例1:13歳男子。9歳時にFIRESを発症、知的退行と薬剤抵抗性てんかんを後遺とした。11歳頃からてんかん発作が頻回となり、持続的な不随意運動とそれに伴う運動退行が出現、寝たきりとなった。FDG-PETでは両側基底核に強い代謝亢進を認めた。病因となる有意な抗神経抗体の上昇は検出されなかったが、抗TPO抗体・抗GAD抗体の上昇があり、不随意運動の出現に自己免疫的機序の関連が推定された。免疫療法を導入したところ不随意運動が改善、運動機能が向上した。

症例2:19歳女性。4歳時にFIRESを発症、重症心身障害、薬剤抵抗性てんかんを後遺とした。18歳からてんかん重積、呼吸不全による緊急入院を複数回要し、夜間人工呼吸器が導入された。てんかんコントロールの改善を期待してケトン食療法を導入したところ、てんかん発作の頻度・程度が軽減されたのみならず、呼吸状態の安定化が得られ、人工呼吸器を離脱し得た。

症例3:1歳男児。急性発症した一側下肢の運動麻痺とそれに伴う独歩不能、びくつきを主訴に当院を受診した。経過中にびくつきは自然に消失し、意識障害や意識の変容はなかった。Rasmussen脳炎といった自己免疫的機序に関わる脳炎を想定し、免疫グロブリン療法を導入したところ運動症状は緩徐に回復、独歩

を再獲得した。後日髄液の cell-based assay で抗NMDA受容体抗体が検出され、抗NMDA受容体脳炎と診断した。

考察

FIRESは急性期の超難知性けいれん重積とそれに連続する慢性期の薬剤抵抗性てんかん、神経学的退行を特徴とし、発症には自己免疫的機序の関与が推定されている。現在までの知見はその急性期の管理に集中しており、不随意運動出現を含めた慢性期の症状やその病態、治療法の報告に乏しい。症例1からはFIRESは慢性期においても緩徐な神経学的退行を呈しうること、その際不随意運動を伴いうることを示唆された。また本症例の不随意運動に対しては免疫療法が一定の効果を示した。症例2からはケトン食療法はFIRESの慢性期においても有効である可能性があること、てんかんのみならず全身状態の改善に寄与する可能性を示した。

症例3は不随意運動、単麻痺が主たる症状で、経過中に脳炎を想起する意識障害や精神症状を欠いたこと、FDG-PETでの集積低下域が一脳葉に限局していたことは抗NMDA受容体脳炎として非典型的であった²⁾。乳幼児期発症例の臨床像として留意すべきである。

結論

本研究では希少疾患であるFIRES・抗NMDA受容体脳炎について、小児期の臨床像にハイライトを当て、その病態や治療法に関する示唆を得た。今後多施設・多数例での検証が期待される。

参考文献

- 1) Wickstrom R, et al. *Epilepsia* 2022;63:2840-2864.
- 2) Titulaer MJ et al. *Lancet Neurol.* 2013;12:157-165.

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. Further, both monolayer culture and brain organoids were achieved from iPS cells derived from individuals harboring ATP1A3 variants. An increase in NOS during heat stress was observed in brain organoids from patients with AHC.

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. ATP1A3-related diseases were specifically assessed to clarify their clinical characteristics, which revealed dystonia begins in infancy, and are often symptomatic, systemic, or paroxysmal, and most of them were drug resistant.

Motohashi et al. conducted case series studies to clarify the natural history of genetic disorders manifesting movement disorders, in relation to brain images. This revealed the natural history and brain image characteristics of individuals with COL4A variants, 14q12 deletion syndrome, and TMEM63A variants. It was shown that individuals with COL4A variants may present with basal ganglia malformation and cerebellar atrophy, which resemble tubulinopathy. The study of 14q12 deletion syndrome elucidated the persisting chorea, whereas the epilepsy becomes less prominent in the adulthood. The familial case with TMEM63A variants provided the suggestive data on long term course of the nystagmus and the central nervous system involvement.

Saito proceeded with the establishment of patient registry database.

Baba et al. studied the cases with non-genetic diseases manifesting movement disorders, and conducted case series studies on febrile infection-related epilepsy syndrome (FIRES) and anti NMDAR autoimmune encephalitis. These studies elucidated the potentially effective therapeutic approaches.

Sasaki et al. proposed new diagnostic criteria for the disorders caused by *ATPIA3* 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
服部 功太郎

総括研究報告書

1. 研究目的

本研究課題では、バイオバンキングに関わる重要課題に取り組み、試料・情報の円滑な収集と利活用の活性化に資することを目的とした。具体的には以下の課題に取り組んだ。

① 試料・情報の収集と NCNP 内の連携推進 (服部)

試料・情報の収集を進めるとともに NCNP 内における試料・情報収集の標準化・効率化を目指し病院・研究所の関連部門・プロジェクトとの連携を進める。

② バイオバンク利活用の推進 (吉田、服部)

バイオバンクの最も重要な活動目標である利活用を推進し、特に日本の創薬研究における課題の一つとなっている試料の企業利用を加速させる。

③ バイオバンク標準化推進と NCNP への ISO 実装 (服部)

バイオバンクの標準化が世界的に進んでおり、服部は ISO の専門委員会で規格作成にも取り組んできた。本課題では国内実装、普及を進めるとともに、NCNP バイオバンクへの ISO 20387 実装に取り組む。

④ バイオバンクの情報基盤 (波多野、松村)

電子カルテの診療情報を活用し、バイオバンクに効率的かつ安全に臨床情報データを利用できるようにする。

⑤ ナショナルセンターバイオバンクネットワーク (NCBN) の連携 (後藤、服部)

他の NC のバイオバンクと連携し NCBN 全体の品質向上・利活用推進に貢献する。

⑥ ゲノム情報の解析基盤 (井上健、飯田)

小児神経科との連携により知的障害家系試料を収集し原因遺伝子の同定を試みる。また、最新のゲノム解析手法を用い、臨床型と遺伝型とを紐づけるとともに新規原因遺伝子の発見を目指す。

⑦ バイオバンクの倫理 (井上悠)

バイオバンクの運営、利活用等に関連する倫理面での諸課題を検討し、得られた知見を班員に共有することで知識・意識の向上を図る。

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
(R3 年～R4 年)

服部功太郎 国立精神・神経医療研究センター
分担研究者

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 東京大学医科学研究所

研究協力者

後藤雄一 国立精神・神経医療研究センター

大科京子 国立精神・神経医療研究センター

宮下由紀子 国立精神・神経医療研究センター

五十嵐愁子 国立精神・神経医療研究センター

阿部ちひろ 国立精神・神経医療研究センター

金城知嘉子 国立精神・神経医療研究センター

3.研究成果

①試料・情報の収集と NCNP 内の連携推進（服部）

本年度は血漿 933 件、脳脊髄液 322 件、脳組織 38 件など合計 3,151 検体を収集し、累計で血液 10,397 検体、脳脊髄液 6,568 検体、脳組織 469 検体を含む 48,628 検体となった。これらは、気分障害センター、もの忘れ外来、てんかんセンター、EDICS 等の専門疾病センターとの連携が順調に進んだことを反映している。また、IBIC の主導する PADNI 研究、脳神経内科診療部との GAPFREE4 などの AMED 大規模研究においてもバイオバンクが試料の収集・管理を担当し NCNP 内での試料収集の一元化が進んだ。

②バイオバンク利活用の推進（吉田、服部）

ISO 実装のため新規案件制限中にもかかわらず 33 件のプロジェクトに 2,668 検体の試料・情報を提供し利用累計 289 件となった。大半（62%）の利用が NCNP 外の施設に対してであった。また、今年度の利用のうち 8 件は製薬会社等の企業によるものであった。

③バイオバンク標準化推進と NCNP への ISO 実

装（服部）

ISO の委員会活動によりバンク関連の国際規格に国内関係者の意見（容器メーカー、深海生物等）を反映することができた。国内では ISO 20387 を日本の国家規格 JIS 20387 として制定することができ、普及の促進につながった。さらに NCNP バイオバンクは日本で初めて国際規格の認定を受けることができ、海外に遅れることなく日本のバイオバンクの信頼性を証明できた。

④バイオバンクの情報基盤（波多野、松村）

今年度は、システム統合に取り組んだ。研究目的の脳脊髄液収集に使用していた別システムの機能およびデータをメインのシステムに実装した。これにより、1,480 件の脳脊髄液、778 件の血漿、868 件の血清データを統合し、NCGM のカタログデータベースにも提供できるようになった。また、波多野らは NCGM のデータセンターに約 5 万人分の患者データを送信し、標準規格（HL-7 FHIR）への準拠にも取り組んだ。これらは将来バイオバンクの付随情報への利用にもつながると考えられる。

⑤NCBN の連携（後藤、服部）

後藤が NCBN バンク長会議議長ならびに研究活用 WG のリーダーを担当、服部が品質 WG のリーダーを担当し、NCBN の主要な会議の大半（12/16 回）で NCNP が議長を担った。特に ISO の実装についての各 NC の理解が進んだ。

⑥ゲノム情報の解析基盤（井上健、飯田）

知的障害患者 689 家系のうち、疾患原因が未同

定の 48 家系に対して全ゲノム解析を実施し、21 家系 (44%) で新規バリエーションを含む疾患原因変異を同定した。また筋疾患試料を用いて全ゲノム解析を行い、新規原因遺伝子を同定した。神経筋疾患において GAA リピートの異常伸長を発見した。また、ゲノムデータサイエンティストの育成を進め、臨床ゲノム研究の基盤を強化した。

⑧ バイオバンクの倫理 (井上悠)

井上は、バイオバンクの無償原則を検討し、人体組織・細胞提供に関する 21 件の法規・ガイドランスを精査した。提供時に無償が原則とされる一方、流通時に無償原則が明記されていないことが多いことが明らかになった。これにより、研究開発における不安定要因となる可能性が示された。無償原則の曖昧さが研究開発の制約となっているため、無償原則が足かせになっていないか再確認し、再評価と明確化が求められると結論づけた。

4.研究成果刊行一覧

【発表論文】

1. Kuroda Y, Matsufuji M, Enomoto Y, Osaka H, Takanashi JI, Yamamoto T, Numata-Uematsu Y, Tabata K, Kurosawa K, Inoue K. A de novo *U2AF2* heterozygous variant associated with hypomyelinating leukodystrophy. *Am J Med Genet A*. 2023 Aug;191(8):2245-2248. doi: 10.1002/ajmg.a.63229.
2. Yamashita K, Kikuchi K, Hatai E Fujii, F, Chong PF, Sakai Y, Saitsu H, Inoue K, Togao O, Ishigami K. Diagnostic MR imaging features of hypomyelination of early myelinating structures: A case report. *Neuroradiol J*. 2023 DOI: 10.1177/19714009231224419
3. Shirakawa Y, Li H, Inoue Y, Izumi H, Kaga Y, Goto YI, Inoue K, Inagaki M. Abnormality in GABAergic postsynaptic transmission associated with anxiety in *Bronx waltzer* mice with an *Srrm4* mutation. *IBRO Neurosci Rep*. 2023;16:67-77. doi: 10.1016/j.ibneur.2023.12.005.
4. Yamamoto A, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Kurosawa K, Sasaki M, Sato N, Osaka H, Takanashi J, Inoue K. An open-label administration of bioavailable-form curcumin on patients with Pelizaeus-Merzbacher disease. *PedNeurol*. 2024;151:80-83. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2023.11.014>
5. Maki H, Mori-Yoshimura M, Matsuda H, Hashimoto Y, Ota M, Kimura Y, Shigemoto Y, Ishihara N, Kan H, Chiba E, Arizono E, Yoshida S, Takahashi Y, Sato N. Brain Abnormalities in Becker Muscular Dystrophy: Evaluation by Voxel-Based DTI and Morphometric Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2023 Dec 11;44(12):1405-1410.
6. Yamada R, Fujii T, Hattori K, Hori H, Matsumura R, Kurashimo T, Ishihara N, Yoshida S, 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. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 2023, 30;21(2):296-303. doi: 10.9758/cpn.2023.21.2.296
7. Kawai K, Yusuke Watanabe Y, Omae Y, Miyahara R, Khor SS, Eisei Noiri, Kitajima K, Shimanuki H, Gatanaga H, Hata K, Hattori K, Iida A, Ishibashi-Ueda H, Kaname T, Kanto T, Matsumura R, Miyo K, Noguchi M, Ozaki K, Sugiyama M, Takahashi A, Tokuda H, Tomita T, Umezawa A, Watanabe H, Yoshida S, Goto YI, Maruoka Y, Matsubara Y, Niida S, Mizokami M and Tokunaga K. Exploring the genetic diversity of the Japanese population: Insights from a large-scale whole genome sequencing analysis. *PLOS Genetics*, 2023, 19(12): e1010625.
8. JIS Q 20387 原案作成委員会、JIS Q 20387:2023 バイオバンキングの一般要求事項、2023 年 5 月 22 日制定、50 頁
9. 服部功太郎、羊土社、ヒト生体試料・データ取扱い実践ハンドブック (森崎隆幸, 西原広史, 宮地勇人/監)、2023 年 08 月 02 日、p193, p215-217, p247-258

① 【学会報告】

1. 谷口直子、下村英毅、田中めぐみ、徳永沙知、李 知子、井上 健、黒澤健司、才津浩智、竹島泰弘 運動機能障害の緩やかな進行を契機に診断に至った *POLRIC* 遺伝子変異による *PolIII* 関連白質ジストロフィーの一例 第 65 回日本小児神経学会 2023 年 5 月 25 日—27 日 (25 日) (ポスター) 岡山 (岡山コンベンションセンター)
2. Inoue K, Yamamoto A, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Sasaki M, Sato N, Osaka H, Takanashi J. An open-label trial of bioavailable-form curcumin on patients with Pelizaeus-Merzbacher disease. 15th European Paediatric Neurology Society Congress. 2023,6,20-24. Prague Congress Centre, Prague, Czech. (poster)
3. 荒井篤、田畑健士郎、齋藤貴志、野々田豊、山本薫、住友典子、山本寿子、馬場信平、竹下絵里、本橋裕子、井上健、小牧宏文 *Waardenburg* 症候群と大脳白質形成不全症と表現型の異なる *SOX10* 遺伝子異常の兄妹例 多摩神経懇話会 2024 年 1 月 27 日 (口演)
4. 稲川雄太、岡本智子、小川眞太郎、吉田寿美子、林 幼偉、山村 隆、高橋祐二: 中枢神経系炎症性脱髄疾患患者における小児期逆境体験とメンタルヘルスに関する研究. 第 64 回日本神経学会学術大会, 千葉, 20230601, ポスター発表
5. 立山和久、綾部直子、羽澄恵、松井健太郎、吉田寿美子: 精神疾患患者の睡眠問題に対して 作業療法士が介入する利点—集団プログラムを通して—. 第 57 回日本作業療法学会 OH-4-2, 沖縄, 20231110-12
6. 木島かおり、原田裕子、石塚量見、波多野賢二、中村治雅、小居秀紀. レジストリデータ利活用に向けた、データ提供業務の体制整備. 第 44 回日本臨床薬理学会学術総会. 2023 年 12 月 (神戸市)
7. 保谷岳彦、木島かおり、藤井明子、大庭真梨、神坂遼、和泉翔喜、竹田和良、波多野賢二、小居秀紀、中込和幸. 「精神疾患レジストリ」の構築、運営・管理 ～データの信頼性確保と利活用に向けた保有情報数の提供の取り組みについて～. 臨床試験学会 第 15 回学術集会. 2024 年 3 月 (大阪市)

② 【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

主任研究者

国立精神・神経医療研究センター MGC

バイオリソース部 部長 服部功太郎

e-mail : hattori@ncnp.go.jp

【緒言】

2018年に国際標準化機構(ISO)にてバイオバンクの国際規格 ISO 20387 が発行され、各国で実装がすすめられている。さらに関連規格の作成も続けられている。本研究では、科学的な要請と国内外の現状から、あるべき標準化の姿を検討し、国際標準の作成に参加しつつ、NCNP ならびに国内バンク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 を含む国内のバイオバンクの標準化が推進され、長期的には研究の効率化、再現性向上に貢献することが見込まれる。

【方法と結果】

1) ISO 委員会

バイオバンクの専門委員会(ISO TC276 WG2)にて、専門委員ならびに国内委員会の主査として国内関係者の意見のとりまとめ、国際委員会への日本側意見の提出・説明を担当した。その結果、バンクで使用される容器規格や自動保管庫について日本のメーカーの意見を反映させることができた。また、深海生物の規格案について日本の海底資源開発のリスクを軽減させる文言を追加させることもできた。

2) JIS 原案作成委員会

2021年より国際規格の国家規格化を目指し、

JIS 原案作成委員長として委員会開催、原案とりまとめ、解説作成などを行ってきた。今年度は経産省ヒアリングや校正の対応を行い5月に制定された(文献1)。

2) NCNP における ISO 20387 実装

2019年より、施設・体制の整備や文書の作成、品質マネジメントシステム構築等をすすめてきた。本年度は、体制増強、リスクマネジメント、内部監査および是正処置などを行ったうえ、2024年1月に審査を受け、日本で初めて(NCGG など4施設同時)の認定に合格した。

3) 国内普及活動

国内団体等でセミナーを行うとともに、要員資格 BiTA の試験問題作成、テキスト執筆(文献2)などを行った。

【結論】

- ・日本で初めて国際規格の認定を受けることができ、海外に大きく遅れることなく日本のバイオバンクの信頼性を証明できた。
- ・ISO 20387 を日本の国家規格 JIS 20387 として制定することができ、より分かり易く安価になることで普及の促進につながった。
- ・ISO の委員会活動によりバンク関連の国際規格に国内関係者の意見を反映することができた。
- ・今後もバイオバンクの標準化・品質向上に主導的な役割を果たしていきたい。

【考察文献】

1. JIS Q 20387:2023 バイオバンキングの一般要求事項、2023年5月22日制定、50頁
2. 服部功太郎、羊土社、ヒト生体試料・データ取扱い実践ハンドブック、2023年08月02日、p193, p215-217, p247-258

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

e-mail : kinoue@ncnp.go.jp

研究協力者

同 阿部ちひろ

メディカルゲノムセンター 後藤雄一

センター病院小児神経科 竹下絵里,中川栄二

【緒言】精神神経疾患の臨床研究の推進には遺伝学的情報を含む質の高い臨床情報と試料をリサーチ・リソースとして保存・管理・提供するシステムが不可欠である。本研究では、これまでに臨床情報とあわせ収集した知的障害の血液由来 DNA に対してアレイ 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、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】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。本センター病院脳神経小児科を受診した原因不明の知的障害を有する患者に対して、主治医の要望に応じて、アレイ CGH、MECP2 変異解析を実施したが、トリオで収集され疾患原因が同定されなかった検体の一部は、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。

【結果】知的障害 NCNP バイオバンクに収集された 689 家系のうち、疾患原因変異が未同

定の 48 家系について全ゲノム解析を行い、エクソンあるいはスプライス領域のバリエーションにつき検討した。新規バリエーションを同定した 5 家系を含む 21 家系に疾患原因と考えられる変異を同定した (21/48=44%)。複数の疾患原因変異を同定した家系はなかった。

GRIN2B、WDR45、KCNQ2 遺伝子に変異を同定した家系はそれぞれ 2 例、2 例、3 例であったがそれ以外では家系ごとに異なる遺伝子に変異を同定した。

【考察】全ゲノム解析を行った 48 症例うち 21 例に疾患原因と考えられる変異を同定した。知的障害の原因遺伝子は 1500 以上同定されきわめて遺伝的異質性が高いとされるが、これを支持する結果であった。

【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。将来的には、全ゲノム解析のみで、エクソン領域のみならずイントロンや遺伝子間の領域の変異、疾患遺伝子を含む SV 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。

【考察文献】

Maia N, Nabais Sá MJ, Melo-Pires M, de Brouwer APM, Jorge P. Intellectual disability genomics: current state, pitfalls and future challenges. BMC Genomics. 2021 Dec 20;22(1):909. doi: 10.1186/s12864-021-08227-4.

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

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

室長 飯田有俊

e-mail: iidaa@ncnp.go.jp

【緒言】

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、質、量ともに世界最大級である。本研究では、精神・神経筋疾患データについてゲノム情報解析を行い、疾患原因遺伝子、疾患易罹患性遺伝子を同定する。期待される成果は、疾患の臨床型と遺伝型が紐づくこと、新規原因遺伝子の発見である。

【方法】

全ゲノムシーケンス由来のゲノムデータ解析、repeat primed PCR 法 (RP-PCR)、フラグメント解析などを行った。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 全ゲノムシーケンスデータを用いた神経筋疾患の解析

遺伝学的に未診断のミトコンドリアミオパシーなどの神経筋疾患症例について全ゲノム解析を行った。その結果、遺伝子 Y のイントロン内に GAA リピートの異常伸長を発見した。そのリピート配列は、複雑な異常伸長パターンを示し、特に患者群に於いて特異的な

リピート伸長構造を認めた。RP-PCR、フラグメント解析で確認した。

2 精神・神経疾患のゲノム情報を用いたデータサイエンティストの育成とゲノム解析
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不可欠である。本年度も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ながら、新規原因遺伝子を探索した。解析パイプラインは我々が構築したものを使用した。全ゲノムシーケンスデータについて、リピート配列、染色体構造異常を標的にしてベースコールからバリアントコールまでの一連の解析を行い、複数の候補遺伝子（領域）を見出した。

【考察】

本研究で展開するゲノムデータ解析法（解析パイプライン）は、臨床ゲノム研究に於いて十分に活用できる事が示された。今後、追加症例（疾患・対照群）を増やしてリピートサイズ、構造を検討する。

【結論】

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。

【考察文献】

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

国立精神・神経医療研究センター

訪問看護ステーション

施設長 吉田 寿美子

e-mai: lsyoshida@ncnp.go.jp

【緒言】

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。両疾患で ACE 得点は不安状態と有意な相関を認め、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) することが昨年度に分かっていたが、精神疾患合併との関係と QOL に関する要因を解析した。

【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)、睡眠の状態を AIS (アテネ不眠尺度 : Athens

Insomnia Scale)を用いて評価した。

【結果】

MS では ACE のある患者に有意に精神科受診歴があった。診断名は適応障害、うつ病、双極性障害、アルコール依存症、パニック障害など多岐にわたっていた。また、身体的 QOL は ACE や認知機能、精神状態、身体機能とは独立して睡眠と相関を認めめた (睡眠状態が良いと QOL も高い)。

【考察】

MS に精神疾患が合併する事が多い事は知られている²⁾が、神経炎症が関係するだろうという漠然としたものであった。今回の結果は幼少時逆境体験が精神疾患合併と関連している可能性を初めて見出した。

【結論】

幼少時逆境体験がある MS 患者は精神疾患を合併しやすい可能性がある。一方で、MS 患者の身体的 QOL には睡眠が重要な役割を持つことが明らかになった。

【考察文献】

- 1) Zannas AS, Chrousos GP. Epigenetic programming by stress and glucocorticoids along the human lifespan. *Mol Psychiatry*. 2017, 22:640–646
- 2) 北村聡一郎、岸本年史 Psychotic symptoms in multiple sclerosis. *Schizophrenia Frontier* 2011, 12(1):11-15

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

e-mail: khatano@ncnp.go.jp

【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、臨床情報の二次活用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) NCNP インハウスデータ連携についての現状整理と課題検討

バイオバンクの検体情報と臨床情報を統合的に管理するバイオリソースデータベースと、病院電子カルテ臨床情報との連携について、現状の整理と今後の連携の拡張に向けた課題を検討する。

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。

3) 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。

【結果】

1) NCNP 病院において、電子カルテ臨床情報と研究用システムとの連携の先駆けとして、2013 年からバイオバンクデータベースのインハウス臨床情報連携システムを運用している。本システムでは基本情報、処方、検査・アレルギー等の臨床情報の連携を行っており、本システムの運用経験が、後続の臨床データ利活用システムの開発・運用にも生かされている。

2) 当センター病院では、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。NC 研究者のデータの二次利用研究も徐々に進んでおり、当センターにおいても標準コード整備等のデータ品質管理に取り組んでいる。

3) 「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 規格に準拠した形式で出力するシステムを開発している。

【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、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交換規格である HL7-FHIR を用いたデータ収集が注目され、国内でも実装が進んでいる。今後の HL7-FHIR への移行に向けた準備と対応がますます必要になると考えられる。

【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

国立精神・神経医療研究センター

MGC バイオリソース部

研究員 松村 亮

e-mail: rmatsumura@ncnp.go.jp

【緒言】

バイオバンク事業の一旦である脳脊髄液研究において蓄積されたデータを一部標準化し、ナショナルセンター・バイオバンクネットワーク (NCBN) が運用するストレージであるカタログデータベース (カタログ DB) に格納することを目的とした。

【方法 (倫理面に対する配慮)】

前年度に実施した検体管理システム (脳脊髄液研究情報 DB) への機能追加および登録データから、既にカタログ DB にデータ提供しているバイオバンクデータとの統合を図った。データは個票データと試料データから成るため、それぞれのデータ作成に必要なプログラム 9 本の開発・改修を行った。本研究は、医療機関情報および被験者の個人情報を仮名加工することによって、被験者が特定されないよう配慮した。

【結果】

検体管理システムより個票・試料データを抽出し、バイオバンクデータとマージしてカタログ DB 提供データとした。検体管理システムは、症例数 1,205、脳脊髄液 1,662、血漿 1,267、血清 1,219 のデータを保有するが、統合過程で同一症例および同一採取日、同一検体種類でマージされるため、提供実数として

症例数 370、脳脊髄液 1,480、血漿 778、血清 868 のデータが付随情報とともに新たにカタログ DB に格納された。検体種類では脳脊髄液が最も多く、疾患名では統合失調症 78→456、健常対照 23→399、双極性障害 60→325、大うつ病性障害 144→398 の順に増加が示された。

【考察】

検体管理システムよりデータ抽出を行い、バイオバンクデータと統合する仕組みを構築し、カタログ DB へのデータ提供を可能とした。これにより、多くの精神疾患領域および健常対照の個票および試料情報がカタログ DB 上で情報閲覧可能となった。

【結論】

検体管理システムはバイオバンク事業開始以前より稼働しており、カタログ DB への格納データ形式等とは差異がみられた。調査を実施し、問診情報不足へのデータ充足、標準病名コード付与、検体情報精緻化を目的に機能を開発、データ登録・修正等を行い、データ正常化および品質向上を図った。

今回、検体管理システムのデータをカタログ DB に提供する仕組みを構築した。これにより、精神疾患領域の研究では貴重な脳脊髄液等の検体を、利用者がカタログ DB 上で選択可能な試料として視認でき、利用に繋がることからバイオリソース利活用の推進に資することができたと考えられる。

【考察文献】

なし

バイオバンクの倫理に関する研究
分担研究者
東京大学医科学研究所 公共政策研究分野
准教授 井上悠輔
e-mail : yinoue-kyt@umin.ac.jp

【緒言】

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。今年度は「バンクからユーザーに渡す試料に値段をつけてよいか？」との点から、無償原則の検討を行った(2021年度に報告した内容を刊行するにあたり、更新・追加された結果を含む)。

【方法】

医学・医療分野に関連する人体組織・細胞の取り扱いに関わる国内の法律・公的な指針を検索した。その上で「有償」「無償」に関する制約の有無、内容について精査した。

【結果】

医学・医療における人体組織・細胞の提供に関する文書として、27本の法令・文書を特定した。うち廃止されたものは6件あり、21件の法規・ガイドンスは現在も有効・廃止されていない。

【考察】

提供と流通とは、全体として異なる書きぶりの様相を呈している(提供時には無償原則がある一方、流通時において無償原則に言及するものは少数)。しかし、一部の活動では、提供時と流通時にまたがって無償原則の遵守を求めるものもある(胚研究や献血血液の二次利用の場合など)。人々の協力や理解を得る際、その後の活動の可能性を明確化(限定)することは、短期的には人々の不安を軽減させる効果があるかもしれない。しかし、活動の制約が過剰なものであったり、研究開発のサイクルを踏まえたものとなっていないと、研究活動が萎縮したり、あるいはルール自体が適切に見直されないと、むしろルール自体の空文化につながりうる。

【結論】

無償要件の有無や内容に一貫性がない点は、研究開発における不安定要因になりうる。ただ、それは無償原則自体の曖昧さに起因している点も多い。従来の無償原則が明確な方針のないまま研究開発の足かせになっていないか再確認すべきだろう。

【考察文献】

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*. 2023 June. 23: 1-7. Doi: 10.1016/j.reth.2023.02.004

Intergration and standardization of biobank facilities in NCNP and promoting utilization of specimens and information

Kotaro Hattori

Medical Genome Center/National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry, Tokyo

1. Aim of Study

This research project aimed to address critical issues in biobanking to facilitate the efficient collection and utilization of samples and information. The specific objectives were:

- A. Collection and Collaboration within NCNP: Enhance sample and data collection while promoting standardization and efficiency within NCNP by collaborating with hospital and research departments.
- B. Promotion of Biobank Utilization: Accelerate the use of biobank samples by companies, addressing a major challenge in Japan's drug discovery research.
- C. Standardization and ISO Implementation: Promote global biobank standardization and implement ISO 20387 in NCNP biobank.
- D. Information Infrastructure: Use electronic medical record data to ensure efficient and secure clinical information utilization in the biobank.
- E. NCBN Collaboration: Collaborate with other National Center biobanks to enhance overall quality and utilization.
- F. Genomic Analysis Platform: Collect samples from families with neuropsychiatric and muscular disorders and identify causative genes, linking clinical and genetic profiles using advanced genomic analysis.
- G. Ethical Considerations: Examine ethical issues related to biobank operations and utilization, sharing findings to improve knowledge and awareness among team members.

2. Members of the research group

Principal Investigator:

Kotaro Hattori National Institute of Neuroscience & Medical Genome Center, National Center
Neurology and Psychiatry (NCNP)

Members:

Ken Inoue	National Institute of Neuroscience, NCNP
Aritoshi Iida	Medical Genome Center, NCNP
Sumiko Yoshida	NCNP Hospital
Kenji Hatano	NCNP Hospital
Ryo Matsumura	Medical Genome Center, NCNP
Yusuke Inoue	Tokyo University School of Medicine

3. Results

- A. Collection and Collaboration within NCNP: A total of 3,151 specimens, including 933 plasma samples, 322 cerebrospinal fluid samples, and 38 brain tissue samples, were collected, reflecting successful collaboration with specialized disease centers including mood disorder centers, memory clinics, and epilepsy center.
- B. Promotion of Biobank Utilization: Despite restrictions on new projects due to ISO implementation, the biobank distributed samples and associated data to 33 projects, totaling 2,668 specimens, with the majority utilized by external institutions.
- C. Standardization and ISO Implementation: Through ISO committee activities, input from domestic stakeholders was incorporated into international standards. Japan's national standard, JIS 20387, was established, contributing to wider application. Moreover, NCNP biobank became one of the first in Japan to receive ISO accreditation, demonstrating its reliability internationally.
- D. Information Infrastructure: System integration merged separate data systems used for research purposes, consolidating 1,480 cerebrospinal fluid, 778 plasma, and 868 serum data into the main system and making them available in NCGM's catalog database.
- E. NCBN Collaboration: NCNP chaired most NCBN meetings (12 out of 16), notably advancing understanding among NCs, particularly regarding ISO implementation.
- F. Genomic Analysis Platform: We conducted whole-genome analysis on 48 of 689 families with intellectual disabilities, identifying new disease-causing mutations, including novel variants, in 21 families (44%). Additionally, we identified new causative genes using muscle disorder samples, and discovered abnormal GAA repeat expansion in neuromuscular disorders
- G. Ethical Considerations: Inoue reviewed the altruistic principle of biobanking, examining 21 regulations and guidelines on human tissue/cell donation. He found ambiguity, potentially hindering research, urging clarification and reassessment.

4. References

- Kuroda Y, Matsufuji M, Enomoto Y, Osaka H, Takanashi JI, Yamamoto T, Numata-Uematsu Y, Tabata K, Kurosawa K, Inoue K. A de novo *U2AF2* heterozygous variant associated with hypomyelinating leukodystrophy. *Am J Med Genet A*. 2023 Aug;191(8):2245-2248.
- Yamashita K, Kikuchi K, Hatai E, Fujii F, Chong PF, Sakai Y, Saitsu H, Inoue K, Togao O, Ishigami K. Diagnostic MR imaging features of hypomyelination of early myelinating structures: A case report. *Neuroradiol J*. 2023
- Shirakawa Y, Li H, Inoue Y, Izumi H, Kaga Y, Goto YI, Inoue K, Inagaki M. Abnormality in GABAergic postsynaptic transmission associated with anxiety in *Bronx waltzer* mice with an *Srrm4* mutation. *IBRO Neurosci Rep*. 2023;16:67-77.
- Yamamoto A, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Kurosawa K, Sasaki M, Sato N, Osaka H, Takanashi J, Inoue K. An open-label administration of bioavailable-form curcumin on patients with Pelizaeus-Merzbacher disease. *PedNeurol*. 2024:151:80-83.
- Hiroyuki Maki, Madoka Mori-Yoshimura, Hiroshi Matsuda, Yasumasa Hashimoto, Miho Ota, Yukio Kimura, Yoko Shigemoto, Naoko Ishihara, Hirohito Kan, Emiko Chiba, Elly Arizono, Sumiko Yoshida, Yuji Takahashi, and Noriko Sato ; Brain Abnormalities in Becker Muscular Dystrophy: Evaluation by Voxel-Based DTI and Morphometric Analysis. *AJNR Am J Neuroradiol* published online 9 November 2023
- Risa Yamada, Takeshi Fujii , Kotaro Hattori, Hiroaki Hori, Ryo Matsumura, Tomoko Kurashimo , Naoko Ishihara, Sumiko Yoshida, Tomiki Sumiyoshi, Hiroshi Kunugi : Discrepancy between Clinician-rated and Self-reported Depression Severity is Associated with Adverse Childhood Experience, Autistic-like Traits, and Coping Styles in Mood Disorders. *Clin Psychopharmacol Neurosci* 5 May 2023, 30;21(2):296-303
- Kawai K, Yusuke Watanabe Y, Omae Y, Miyahara R, Khor SS, Eisei Noiri, Kitajima K, Shimanuki H, Gatanaga H, Hata K, Hattori K, Iida A, Ishibashi-Ueda H, Kaname T, Kanto T, Matsumura R, Miyo K, Noguchi M, Ozaki K, Sugiyama M, Takahashi A, Tokuda H, Tomita T, Umezawa A, Watanabe H, Yoshida S, Goto YI, Maruoka Y, Matsubara Y, Niida S, Mizokami M and Tokunaga K. Exploring the genetic diversity of the Japanese population: Insights from a large-scale whole genome sequencing analysis. *PLOS Genetics*, 2023, 19(12): e1010625.

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・脳神経小児科診療部(R3-4年度)

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(R5年度)

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(R4-5年度)

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(R3-4年度)

木村大樹 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(R5年度)

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

白倉絵美 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・脳神経小児科児神経診療部

石山昭彦 国立精神・神経医療研究センター病院・脳神経小児科診療部 (R3年度)

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

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

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

山本薫 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

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
山下青葉 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
生田(石井)美佳 国立病院機構関門医療センター・検査科
見国真樹 国立病院機構関門医療センター・検査科
(R3-4年度)
鈴木祐也 国立病院機構関門医療センター・検査科
(R3-4年度)
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
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
奥村啓樹 名古屋大学医学部附属病院 薬剤部・特
任助教 (R5年度)
島さゆり 藤田医科大学医学部脳神経内科学
松本省二 藤田医科大学岡崎医療センター
金井弥栄 慶應義塾大学医学部病理学教
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神経研究の基盤であり（図1）、日本ブレインバンクネットワーク（18施設）のハブとしても機能している。単施設では解剖数は少ないが、重要な神経系疾患を有するNHO病院を支援・連携している。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（図2）。

【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活動）

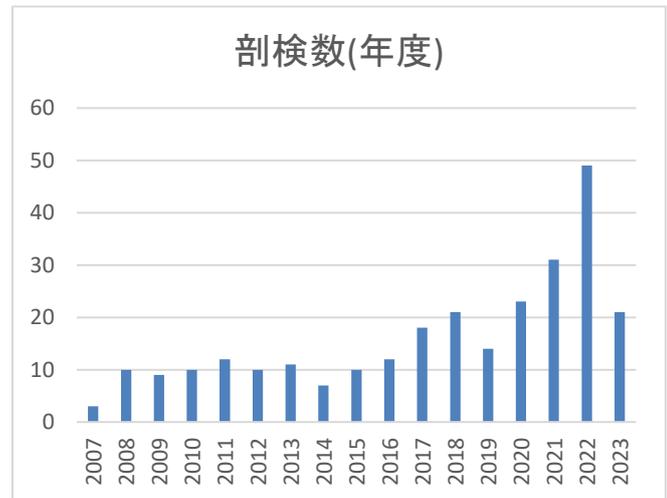
- ・ 日本にない prion pathology surveillance center の構築（分担施設）
- ・ センター病院各科との共同運営と協力施設（NHOネットワーク）の拡充。生前同意、精神疾患レジストリ、慶應大学精神神経科ブレインバンクネットワークなどの支援のもと、精神疾患症例の充実、こども病院や患者会などへの協力依頼による小児疾患の充実。
- ・ 超百寿研究のための高齢者試料の蓄積
- ・ 頭部外傷（TBI）のバンク構築
- ・ 若手医師の育成
- ・ 国際化と国際協力。海外からの依頼に応えることのできる体制

- ・ 基礎研究者への試料提供・支援拡充と企業への提供推進
- ・ 弁護士参加による倫理・法的面の整備と対応
- ・ 死後の脳画像と病理研究
- ・ 保管方法の改革、アーカイブ試料のバンク登録移行
- ・ COVID-19 病理解剖および Long-COVID に関する研究

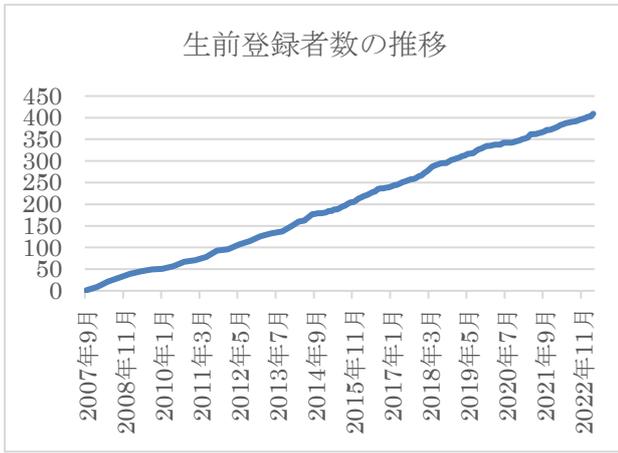
【研究成果】

（継続している活動）

- ・ 3年間の病理解剖・バンク登録数、生前登録数
令和3-5年度、病理解剖・バンク登録数は101例であった。COVID-19のパンデミック下でも病理解剖を断ることなく継続し、以前よりも多くの解剖を行ったことは、グラフ（図3）からもよくわかる。生前登録例の解剖数は31例だった。現在までのバンク登録数：318例（＝バンク同意の整備以降2008～2022：213例＋遡り同意取得など2002～2007：105例）であった。



生前登録制度の充実もすすみ。令和3-5年度の登録者数77、撤回数4例（2007年9月～2024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16名；病理解剖症例数42例、病理解剖未施行例数14例）。精神科疾患の登録は累計で47例であった。



・ 精神疾患のブレインバンクの充実

3年間（令和3-5年度）で17例の精神疾患のバンク登録を行うことができた。NCNP入院中・外来通院の例が6例、精神科単科病院（分担研究者の慶應義塾大学精神科の関連病院の駒木野病院、木野崎病院と、日本ブレインバンクネットワークの都立松沢病院から1例）からの依頼剖検が11例であった。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今後行っていく。今後も精神疾患に関して、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6例の解剖が施行（国立刀根山医療センター、東京都健康長寿医療センター、新潟大学、相模原医療センター、山口大学病院、よしみず病院）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18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

3年間（令和3-5年度）で、NCNPから51例（1年目19例、2年目17例、3年目21例）、NCNP以外の病院からは合計30例の試料提供を行った。企業への提供は、NCNPで2年目1例、3年目6例行った。企業

への提供も含め、研究者への試料提供が促進され成果も見られる。（研究成果刊行一覧参照）

院内カンファレンス; R3-5年度に約月1回のペースで剖検CPCを32回、脳外科術後CPCを34回開催した。対象は院内症例で、臨床、病理、放射線担当を若手医師とし教育をすすめた。また、外部症例についてもWEB等により解剖依頼施設でのCPCに参加した。

市民公開講座：コロナ後にWEBへ移行、NCNPチャンネル（登録者数4670人、2024年4月現在）で「web市民講演会」で開催した [NCNPchannel - YouTube](https://www.ncnp.jp/channel)。従来の会場形式よりも視聴される方は多く、第21回（3173回視聴）、第22回（1736回視聴）、第23回（810回視聴）（2024年4月現在）と堅調である。

2023年7月にNCNPブレインバンクの新しいロゴマークを定め、ホームページを刷新した (<https://brain-bank.ncnp.go.jp/>)。認知症学会、神経病理学会、日本病態生理学会の総会でブース、あるいはシンポジウムを企画しブレインバンク活動を紹介した。（下記は令和5年3月17日に開催した第22回市民公開講座



のパンフレット)。

・ Prion pathology surveillance center の構築

プリオン病の解剖はNCNPで3年間に23例を行った（日本の解剖数の30~40%）（図4）。院内死亡例は1例、他は全て、外部機関から依頼され当院に搬送後に解剖した。遠方からの例（北海道1例、大阪府4例、静岡県1例、岡山県1例）も増加し、生前からの相談件数が増加し、全国的にNCNPバンクのプリオン病解剖が全国に周知されつつある。班内で

は、美原記念病院で 16 例、兵庫中央病院で 1 例のプリオン病解剖が行われ、合計 40 例の解剖を施行（日本全体のプリオン病解剖の 45%）。センター化を目指し、東北大学病態神経学分野プリオン病研究体制の一部を NCNP へ移す準備を開始した。

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 4 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, 国立あきた病院 2 例）。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、多くのバンク登録症例を新たに得た。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。我々が向いて協同で病理解剖を行い、ブレインバンクの意義の理解が広がった。

・ 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 31 例、院外からの搬送剖検が 18 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

令和 3 年度は、1 名が死体解剖資格を取得した。令和 4 年度に、神経病理学会第 1 回認定医試験を経て NCNP から 2 名が神経病理学会認定医となった。NCNP の研修要件は診断だけでなく、感染性疾患を含む頭部・全身解剖を単独でできること（脊髄、網膜を含む）、出張解剖を単独で行えることを必須とし達成できた。現在 3 名の若手医師が当院で研修を開始している。

・ 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

神経病理診断を国際標準のものにするため、NCNP を中心に神経変性疾患関連蛋白の脳内の拡がりを示すステージングに *National Alzheimer's Coordinating Center (NACC)* の方法を導入した。新規の剖検例を NACC の基準に合わせたデータフォーマットに記録した。現在、デジタルスライドを紐付けるデータベースを日本ブレインバンクネットの事業として開始している。

インディアナ大学、MRC、ワシントン大学等との連携により、Cryo-EM による TMEM106B amyloid filaments の発見 (*Nature*. 2022 May;605(7909):310-314)、ミクログリアの研究 (*Nat Immunol*. 2023 Mar;24(3):545-557)、SSPE 脳におけるタウ蛋白の Cryo-EM 解析 (*Acta Neuropathol Commun*. 2023 May 5;11(1):74.)、若年 Lewy 小体病における新規シヌクレインの構造解析 (*Acta Neuropathol*. 2023 May;145(5):561-572.)、single-cell atlas の研究 (bioRxiv) など多くの貢献ができ、とくにたった 1 症例でも *high quality* の雑誌に評価を受けたことはブレインバンクの重要性を示した良い例と考える。

・ 弁護士参加による倫理・法的面の整備と対応

検査部所属で医師・弁護士資格を有する大平を協力者として、ヒト死後脳を取り扱う上で問題が生じたときの対応などを含めた体制を築いた。これは、欧米とヒト死後脳に関する考え方が異なる点などから

も、今後のブレインバンクでは重要な体制であり、成果も報告された (JMA J. 2023;6(4):393-396.)。

・ 死後の脳画像と病理研究

剖検直後の検体を用いて MRI を撮像した (佐藤)。ホルマリン液から air を取り除き、十分に固定した状態で撮像して良好な画質の画像が得られた。撮像シーケンスは、3D-プロトン密度強調画像、3D-T1 強調画像、3D-FLAIR 画像、位相差画像が評価に適していると考え、撮像プロトコールとした。視覚評価では生前の MRI 画像で萎縮が顕著な例においても剖検後の画像では萎縮が軽度な例を複数経験し、生前脳と剖検脳の萎縮に乖離があることが示唆された。また、死後脳の画像研究は、京都大学との連携も進んでいる。

・ 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 例が未だバンクとしての登録はできていない。各症例を調査し、この中でも比較的最近の 1990 年以降の症例において、約 20 例が個別の研究 (筋強直性ジストロフィー、アルツハイマー病) で御遺族の研究同意は取得された。可能な範囲でバンク登録を勧めるが、倫理的な面からもオプトアウトなどの方法による研究使用を進める。

・ Long-COVID の研究

COVID-19 パンデミック後、頭部解剖が減少する中、COVID-19 急性期症例の病理解剖を日本で最初に行い、以降急性期 4 例、亜急性期 7 例の解剖を施行し、論文報告、学会発表を行い研究を継続中。さらに、代表者らで NCNP コロナ後遺症外来を開始し (R3 年 6 月～)、同時に後遺症の科学的検討が広がるなか、同疾患の研究者とともにコロナ後遺症の臨床研究を (R3 年 11 月～) 本研究体制に追加した (高尾、尾崎・木村、三村、渡辺)。臨床研究を中心に多くの学会発表、論文報告をした。本研究をベースに NCNP 専門疾病センター開設、および PSCORE-J レジストリとも連携をした。抗コロナウイルス抗体測定を継

続し高い感度、特異度が実臨床で確認された。COVID-19 後遺症例において IL-1 β が優位に高いことも示された。COVID-19 脳炎後の病理学的検討された。後遺症と機能性神経障害との関連は重要なテーマで研究継続中。

【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) : 2021-2023 年度において、当院通院中の精神疾患を主とする生前ブレインバンク登録希望者から、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、12 名がブレインバンク生前登録に至った。また、他院通院中で生前ブレインバンク登録希望者の患者 57 名に対し、福島県立医大のブレインバンクを案内した。2021-2023 年度の NCNP 精神科に入院中の患者の解剖人数は、6 名であった。6 例の疾患内訳は、認知症 2 例、てんかん 1 名、統合失調症 3 例であった。

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) : 研究期間内の脳神経内科における剖検数は 11 件であった。内訳は、パーキンソン病(PD) 2 件、クロイツフェルト・ヤコブ病 2 件、筋萎縮性側索硬化症(ALS) 1 件、認知症 1 件、進行性核上性麻痺(PSP)/ 大脳皮質基底核変性症(CBS) 1 件、神経核内封入体病 1 件、白質脳症 1 件、ベッカー型筋ジストロフィー 1 件、眼咽頭遠位型ミオパチー 1 件であった。2024 年 3 月時点で 526 名を iTReND に登録した。内訳は、PD 230 例、ALS 40 例、PSP/CBS 58 例、多系統萎縮症(MSA) 80 件、脊髄小脳変性症 47 件、診断未確定例 71 例であった。これらの症例はバイオバンクにも登録を行った。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。脳神経内科の上級専門修練医 計 3 名が 3 ヶ月の病理ローテーションを行った。

岩崎真樹 (国立精神・神経医療研究センター病院脳神経外科) : 脳神経外科手術データベースを構築し、

ブレインバンク登録に向けた環境の整備を進めた。総手術件数は2021年度103件、2022年度130件、2023年度は11月末で66件であった。65歳以上の高齢者が占める割合は2021年度21件(20.4%)、2022年度30件(23.1%)、2023年度は現時点までで10件(15.2%)であった。R5年度11月末現在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生前脳では脳室が拡大し, 脳梁が菲薄化していたが, 剖検脳ではそれらの所見は消失し, 脳梁の萎縮も認めなかった。

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): 3年間の研究成果は以下の通りであった。2021年度は2例、2022年度は4例、2023年度は2例の入院患者の病理解剖を実施した。いずれも脳を含む全身解剖であった。当科および脳神経外科に通院してい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、当院に実施された。

女屋光基(下総精神医療センター): 3年間で、計8件の解剖を行い、全ての症例で、大脳半球のホルマリン固定と、残りの半球をdeep freezeの状態にして保存している。内訳は初年度がアルツハイマー型認知症の症例で、昨年度は臨床診断で前頭側頭型認知症と前頭側頭型認知症に筋萎縮性側索硬化症の合併した症例である。更に本年度は統合失調症2例、覚せい剤精神病、びまん性レビー小体型認知症、脳血管性認知症の症例の蓄積を行った。

尾方克久(東埼玉病院): 2021~2023年度の3年間に当院では神経筋疾患患者の剖検が4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。また、上記3年間に筋生検は6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。

剖検生前登録は、体制がまだ整っていない。

二村直伸(兵庫中央病院): 1) 剖検は本年度は院外よりクロイツフェルト・ヤコブ病の剖検依頼があり受け入れた。3年間で病理解剖数は2件だった。プリオン病の解剖数は1件だった。2) 生前登録の該当症例はなかった。3) COVID-19流行下での剖検体制の構築ができた。

村田健一郎(関門医療センター): 令和3年度からの3年間に、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、剖検時には再発所見はなかった。他の腫瘍性疾患として、肺腺癌、肺原発低悪性度B細胞性リンパ腫と胃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、当院で剖検したスーパーセンチナリアン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）：2021年度から2023年度の間に25件の剖検を実施し、うち13件は外部施設からの依頼解剖であった。依頼解剖は関東近郊が主で、大阪から搬送しての解剖も1件あった。症例はプリオン病15件、パーキンソン病5件、超百寿者1件、那須ハコラ病1件、脳出血後遺症1件、多系統萎縮症1件、前頭側頭型認知症1件であり、プリオン病の1件に関して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。当院が積極的にプリオン病の解剖を受け入れてきた実績により、多くの施設から剖検に関する問い合わせや解剖依頼があった。

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。一方、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。

木村大樹（名古屋大学）：a) COVID-19後遺症患者の3例の経過観察(うち一例は血漿及び髄液サイトカイン経過を確認した)、後遺症を呈した患者のWGSを実施した。現段階ではCOVID-19後遺症に関与が示唆されたゲノムバリエーションは同定されていない。b) 病態解明を目指し、1) 炎症性サイトカインが直接神経細胞に与える影響の評価、2) 脳と免疫系の相互作用評価系構築に向けリンパ芽球様細胞株(LCL)を用いた系を評価した。その結果、1) 健常者iPS細胞由来神経細胞に炎症性サイトカインを添加すると神経突起伸長の低下が確認された。2) LCLにリポポリサッカライド(LPS)刺激したところ、炎症性サイトカイン遺伝子発現の増加が確認され、LPS刺激に対する応答が認められた。c) COVID-19後遺症の病態解明

に繋げるために、COVID-19後遺症患者と健常者の血漿中炎症関連物質11項目の測定を実施した。その結果、既報でCOVID-19後遺症との関連が示唆されているIL-1 β がCOVID-19後遺症患者で統計学的に優位に高いことが示された。

渡辺宏久（藤田医科大学医学部脳神経内科学）：藤田医科大学において入院、通院しているCOVID-19陽性ならびにワクチン接種後に神経症状を呈した症例の臨床的特徴、一部は病理学的特徴を検討した。

まず、剖検例は、39歳の男性で、既往歴として糖尿病(HbA1c:6.9-8.0%程度)があった。発熱で発症し、ラゲブリオの内服にもかかわらず、1週間に渡って発熱が持続し、体動困難となり当院搬送。来院時、JCS I-1、GCS E4V5M6、頸部硬直あり、左方向の水平性眼振を認め、炎症反応の上昇(WBC 12.8 \times 10³/ μ L、CRP 4.14 mg/dL)、高血糖(361 mg/dL)、HbA1cの上昇(10.0%)、低Na血症(123 mmol/L)、髄液細胞数 70/ μ L、髄液総タンパク量 132 mg/dL、髄液糖量 124 mg/dLであった。頭部MRIでは、脳梁膨大部に拡散強調画像で高信号域を認め、ADC値は低下していた。レムデシビル、セフトリアキソン、ステロイドパルス療法を施行し、入院後第15病日の頭部MRIでは脳梁膨大部病変は消失したが、第15病日から血便が出現。食道胸部中部に潰瘍、上十二指腸角から下行部にかけて多発する潰瘍を認め、内視鏡による止血は困難で、輸血などで対応したが、状態は増悪。第20病日に急変され、ご家族の同意の下で剖検となった。

脳病理所見では、大脳皮質・白質、辺縁系、基底核、脳幹、小脳、脊髄に、多発性に小脱髄巣・不全軟化巣を認め、軟膜へ軽度の炎症細胞浸潤も伴っていた。脱髄巣の直径は20-300 μ m程度、比較的境界明瞭で白質の皮髄境界-深部白質まで散在性に認めた。グリオーススを認め、マクロファージの集簇、桿状ミクログリアの増生、軸索腫大があり、同部はMBPとSMI-31でも染色性の低下を認め、髄鞘の脱落とともに軸

索障害も加わっていると考えられた。CD3、CD20 はいずれも陰性であった。AQP4、MOG の染色性は保たれ、脳幹病変では経過時間が異なる病変の存在が示唆された。不全軟化巣も、直径は脱髄巣と同じ程度で、比較的境界明瞭であり、前頭葉から後頭葉の皮質に散在性に認めた。大脳皮質だけではなく、辺縁系や基底核、脳幹や小脳にも広く散在していた。髄鞘染色で染色性低下、軸索の debris を貪食するマクロファージの浸潤を認め、グリオシス、神経細胞脱落を伴っていた。軟膜にマクロファージを主体とする軽度の炎症細胞浸潤を認めたが、細菌、真菌、ウイルスなどを示唆する所見は認めず、髄膜炎、脳炎を示唆する所見は認めなかった。所見のまとめとして、病巣は髄鞘の障害がより優位で、血管支配とは一致せず、脳全体に多発性の脱髄病変を認め、急性散在性脳脊髄炎に類似した病態を考えるが、静脈に沿って細長く伸びている病変が乏しく、軸索障害が目立っていた。既報告 (Acta Neuropathol. 2020;140:1.) の COVID-19 罹患後の ADEM とも剖検所見は異なっており、COVID-19 の中枢神経病変の多彩さを示唆する貴重な症例と考えられた。

非剖検例では、デルタ株時代には、血管支配に一致しない多発虚血性脳卒中を呈した症例を複数経験し報告したが (第 63 回日本神経学会学術大会)、オミクロン株以後は、そのような症例は減少した。

COVID-19 感染後の Guillain-Barre 症候群は 3 例経験し、全例抗グングリオシド抗体は陰性で、 γ グロブリン療法で軽快し退院となった。またワクチン接種後に生じ、意識レベルの変容や運動機能障害を呈した急性散在性脳脊髄炎は、ステロイドパルス療法と γ グロブリン大量療法で後遺症無く退院となった。

Long COVID やワクチン接種の後遺症と紹介された症例では、functional neurological disorder (FND) と診断し、その治療により軽快した症例を。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に加え、通院加療を希望した症例に対しては、認知行

動療法的なアプローチを継続的に行うことで復職や復学に至った。

データベースに関しては、100 例を超える COVID-19 非感染者のレジストリの構築に成功し、高品質な血液と高次脳機能のサンプルが蓄積しており、剖検例の経験に基づき、ミクログリアの指標である sTREM2、GFAP、NfL などを測定していく基盤が整備された。

三村将 (慶應義塾大学予防医療センター特任教授) 当教室の関連精神科病院より 9 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 8 例 (統合失調症 2 例、覚醒剤精神病 1 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、レビー小体型認知症 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. Mizutani M, Nakayama Y, Saitoh Y, Ariga H, Enokida T, Ishihara T, Sano T, Hirata Y, Katano H, Suzuki T, Takao M. Pathologic and Neuropathologic Study of a Case of COVID-19. *JMA J.* 2022 Jan 17;5(1):157-160. doi: 10.31662.
 9. 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.
 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. Epub 2022 Oct 17.
 11. 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.
 12. 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
 13. Qi C, Hasegawa M, Takao M, Sakai M, Sasaki M, Mizutani M, Akagi A, Iwasaki Y, Miyahara H, Yoshida M, Scheres SHW, Goedert M. Identical tau filaments in subacute sclerosing panencephalitis and chronic traumatic encephalopathy. *Acta Neuropathol*

- Commun. 2023 May 5;11(1):74. doi: 10.1186/s40478-023-01565-2. 査読付き
(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.
 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. 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
 6. 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.
 7. 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.
 8. 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.
 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.
 10. 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)
 11. 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
 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. *Movement Disorders Clinical Practice*. 2022;9(4):508-15. doi: <https://doi.org/10.1002/mdc3.13442>.
 2. 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関与する因子. *機能的脳神経外科* 61: 97-102, 2022
 3. 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.
4. 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.
 5. 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-ドー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 をどのように取捨選択をするか. 第 62 回日本定位・機能脳神経外科学会 (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)
 2. 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 Tuberculous Sclerosis Complex: The Usefulness of T1WI with Chemical Shift Selective Images. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2022 Jul 14;43(8):1202-9. (分担研究者) 本橋裕子
 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.
- 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.
 - 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.
 - 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
 - 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
 - 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
 - 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
 - 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
 - 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.
 - 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, Mitsumoto N. Rapid and comprehensive diagnostic method for repeat expansion diseases using nanopore sequencing. *NPJ Genom Med* 2022;7(1):62.
 - 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.
 - 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
 - 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. 末梢神経障害が背景に立った成人型 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) 木村大樹

1. Jozuka R, Kimura H, Uematsu T, Fujigaki H, Yamamoto Y, Kobayashi M, Kawabata K, Koike H,

Inada T, Saito K, Katsuno M, Ozaki N Severe and long-lasting neuropsychiatric symptoms after mild respiratory symptoms caused by COVID-19: A case report. *Neuropsychopharmacol Rep* 2022, 42, 114-119, doi: 10.1002/npr2.12222,

(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
4. 渡辺宏久, 高尾昌樹, 下畑亨良. 罹患後症状のマネジメント 編集委員会. *新型コロナウイルス感染症診療の手引き. 別冊罹患後症状のマネジメント第 2 版.* 2022 年 10 月 p25-29

(分担研究者) 三村将

1. 滝上紘之, 菊地俊暁, 三村将, 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

研究協力者

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。2021-2023年度の活動を報告する。

【結果】

2021-2023年度において、当院通院中の精神疾患を主とする生前ブレインバンク登録希望者から、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、12名がブレインバンク生前

登録に至った。また、他院通院中で生前ブレインバンク登録希望者の患者57名に対し、福島県立医大のブレインバンクを案内した。2021-2023年度のNCNP精神科に入院中の患者の解剖人数は、6名であった。6例の疾患内訳は、認知症2例、てんかん1名、統合失調症3例であった。

【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】

研究の目的: 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。臨床研究と連動した形での生前同意取得を目指す。特に神経変性疾患の統合的レジストリ iTReND 登録患者において生前同意を取得することで、臨床データ・バイオリソースを前方視的に集積する疾患レジストリと、剖検脳を活用した病理学的研究が将来的に連結される体制を構築する。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。脳神経内科疾患のブレインバンクの充実、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。将来的には、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。iTReND 登録患者において生前同意を積極的に推進する。若手脳神経内科医が一定期間病理検査室にローテートする研修プログラムを実行し、教育機会を担保する。

【結果】 研究期間内の脳神経内科における剖検数は 11 件であった。内訳は、パーキンソン病(PD) 2 件、クロイツフェルト・ヤコブ病 2 件、筋萎縮性側索硬化症(ALS)1 件、認知症 1 件、進行性核上性麻痺(PSP)/大脳皮質基底核変性症(CBS) 1 件、神経核内封入体病 1 件、白質脳症 1 件、ベッカー型筋ジストロフィー 1 件、眼咽頭遠位型ミオパチー 1 件であった。2024 年 3 月時点で 526 名を iTReND に登録した。内訳は、

PD 230 例、ALS 40 例、PSP/CBS 58 例、多系統萎縮症(MSA) 80 件、脊髄小脳変性症 47 件、診断未確定例 71 例であった。これらの症例はバイオバンクにも登録を行った。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 計 3 名が 3 ヶ月の病理ローテートを行った。

【考察】

脳神経内科における剖検同意取得は順調に実施されており、剖検例も着実に蓄積している。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説明・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。

また、臨床側で統合的疾患レジストリ iTReND を開始し、将来的に剖検を見据えて、構造化され漏れの無い臨床データと、バイオバンクリソースの確保を推進した。将来的にこれらの症例が剖検になった場合に、蓄積した情報・試料を活用した疾患研究の推進が期待できる。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, 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. 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.

(分担課題名) 脳神経外科疾患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・生化学的変化を探る死後脳研究につなげる。

【結果】

脳神経外科手術データベースを構築し、ブレインバンク登録に向けた環境の整備を進めた。総手術件数は2021年度103件、2022年度130件、2023年度は11月末で66件であった。65歳以上の高齢者が占める割合は2021年度21件(20.4%)、2022年度30件(23.1%)、2023年度は現時点まで10件(15.2%)で

あった。R5年度11月末現在のブレインバンク生前登録患者はいなかった。2021年度からの総計で高齢者の正常圧水頭症に対するシャント術が17件、DBSは1例、不随意運動疾患に対するDBS電池交換術が24件あった。

手術データベースとは別に、疾患別の臨床データベースを構築した。2019年5月から現在までに、パーキンソン病76件、その他の不随意運動症5件、トゥレット症候群25件、正常圧水頭症31件が登録された。

【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, 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生前脳では脳室が拡大し、脳梁が菲薄化していたが、剖検脳ではそれらの所見は消失し、脳梁の萎縮も認めなかった。

【考察】

生前脳と剖検脳の MRI の比較から、

① プロトン密度強調画像はホルマリン液に浸した状態でも生前 MRI と類似した信号を示した。また 位相差画像は KB 染色と類似した画像を得られた。

② 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。

③ 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、一見脳梁は菲薄化しているように見えることがある。しかし、剖検脳 MRI では脳脊髄液の流れの影響がなくなるため、脳室拡大は消失し、脳梁の萎縮は脳室拡大圧排による見かけ上の事象であったことは示唆された。

【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。

【参考文献】

Atar M, Kizmazoglu C, Kaya I, et al. 3.0 Tesla MRI scanner evaluation of supratentorial major white matter tracts and central core anatomical structures of postmortem human brain hemispheres fixed by Klingler method. *Br J Neurosurg.* 2021;35(2):186-190.[doi:10.1080/02688697.2020.1779179](https://doi.org/10.1080/02688697.2020.1779179).

(分担課題名) 小児神経疾患のブレインバンク

分担研究者

本橋裕子 国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経小児科医長

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

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

山本薫 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】

3年間の研究成果は以下の通りであった。

2021年度は2例、2022年度は4例、2023年度は2例の入院患者の病理解剖を実施した。いずれも脳を含む全身解剖であった。当科および脳神経外科に通院してい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、当院に実施された。

【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る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】

日本では、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ます。

【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】3年間で、計8件の解剖を行い、全ての症例で、大脳半球のホルマリン固定と、残りの半球を deep freeze の状態にして保存している。内訳は初年度がアルツハイマー型認知症の症例で、昨年度は臨床診断で前頭側頭型認知症と前頭側頭型認知症に筋萎縮性側索硬化症の合併した症例である。更に本年度は統合失調症2例、覚せい剤

精神病、びまん性レビー小体型認知症、脳血管性認知症の症例の蓄積を行った。

【考察】

解剖数が全国的に減少傾向であり、当院も280床に年間700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ます。

現在ブレインバンクの維持、管理は少人数で家内工業的に細々と行っているが、研究補助員がいれば、ブレインバンクの運営がより円滑に行えると考えられる。

【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】

1. Tagai K, Ono M, Kubota M, Kitamura S, Onaya M, 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
2. Watanabe R, Kawakami I, Ikeuchi T, Murayama
S, Onaya M, 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: .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

鈴木 幹也 国立病院機構東埼玉病院・難治性疾患部門部長

田村 拓久 国立病院機構東埼玉病院・難治性疾患部門特任部長

中山(谷田部) 可奈 国立病院機構東埼玉病院・神経内科医長

重山 俊喜 国立病院機構東埼玉病院・循環器科医長

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

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・22-12)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・22-13)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】

2021～2023 年度の 3 年間に当院では神経筋疾患患者の剖検が 4 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。

また、上記 3 年間に筋生検は 6 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。引き続き、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・副院長・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 医長

【緒言】

分担研究者の施設はプリオン病やその他の神経難病患者が多数入院しているためこれらの患者さんを対象にブレインバンク生前登録システムの推進や登録例の病理解剖を行っていく。合わせて、110歳超者の脳研究の検体採取にも協力していく。またNCNPが推進するブレインバンクの地域拠点として活動するために、COVID-19流行下での自施設、他施設症例の病理解剖を安全に行うための体制を整えた。

【方法】

COVID-19流行下での病理解剖体制を整備したので、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。院内症例はなかったが院外から病理解剖依頼があった。

【結果】

- 1) 剖検は本年度は院外よりクロイツフェルト・ヤコブ病の剖検依頼があったので受け入れた。3年間での病理解剖数は2件だった。プリオン病の解剖数は1件、110歳超者の解剖が1件だった。
- 2) 生前登録の該当症例はなかった。
- 3) COVID-19流行下での剖検体制の構築ができた。

【考察】

COVID-19流行下でも病理解剖を再開でき、患者さんやご家族の希望にこたえることができるようになった。当院保管の検体から協力研究機関への試料提供も行った。

【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・110歳超者の脳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 (スーパーセンチナリアン) のブレインバンク

分担研究者

村田 建一郎 国立病院機構関門医療センター・病理診断科・医長

協力研究者

山下 青葉 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

生田(石井)美佳 国立病院機構関門医療センター・検査科・技師

見国 真樹 元国立病院機構関門医療センター・検査科・主任技師 (現国立病院機構浜田医療センター・検査科・副技師長)

鈴木 祐也 元国立病院機構関門医療センター・検査科・技師 (現国立病院機構山口宇部医療センター・検査科・技師)

【緒言】

超高齢化社会の到来に向けて、健康長寿を維持することは、高齢者本人やその家族にとっても、また、社会にとっても重要な課題である。慶應義塾大学百寿総合研究センターとの共同研究で、110 歳以上の超高齢者の病理解剖を分担し、真の健康長寿の機構を解明することを目指す。

【方法】

NCNP 生前登録症例の脳を含めた全身の病理解剖を実施し、病理組織標本を作製・検鏡して、全身諸臓器の疾患や病態を明らかにする。特に脳の病態と全身諸臓器の病態との関係について詳細に解析する。また、摘出した脳の一部は NCNP ブレインバンクにて、凍結保存し、研究者に供出する。また、必要に応じて、各臓器の一部も凍結保存する。

【結果】

令和3年度からの3年間に、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、剖検時には再発所見はなかった。他の腫瘍性疾患として、肺腺癌、肺原発低悪性度B細胞性リンパ腫と胃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、当院で剖検したスーパーセンチナリアン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。

【考察】

スーパーセンチナリアンの脳の萎縮が軽度であるにも関わらず、6症例中5症例と高率に、アミロイド沈着を認めたことは、アミロイド沈着との観点から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。

【結論】

当院で経験した剖検症例の所見から、スーパーセンチナリアン脳の健常性は脳血管の動脈硬化の軽度なことが理由と考えられるが、一方、加齢に伴う認知症の原因疾患として Alzheimer 病が最多とされている。スーパーセンチナリアン脳に、Alzheimer 病に関連する変化が弱いとすれば、脳循環動態のみで説明できるのか検討が必要である。

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
Alzheimer 病 石沢圭介 非腫瘍性疾患病理アトラス 中枢神経系 (文光堂) : 124-131, 2024

(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 (公財)脳血管研究所美原記念病院 院長

【緒言】

ヒト死後脳の研究が推進され, 病理標本の必要性が高まっている一方, 剖検例が減少しているためヒト死後脳の標本を収集することが困難となっている. 当院は NCNP ブレインバンクの活動を推進, 支援していくため, プリオン病をはじめ神経難病や高齢者の外部から剖検依頼の受け入れ, 対象疾患患者の剖検に対して生前同意を習得するなど, 積極的に病理解剖を実施している.

【取り組み】

当院かかりつけの神経難病患者およびその家族に対し, 剖検の事前同意の承諾を得るため「解剖意思表示書」の提出を依頼した.

外部施設からプリオン病を含めた神経難病患者の受け入れ, 剖検に関する相談, および解剖の依頼に対応した. 慶應義塾大学の百寿総合研究センターと協力し, 百寿者の解剖を実施した.

【結果】

2021 年度から 2023 年度の間に 25 件の剖検を実施し, うち 13 件は外部施設からの依頼解剖であった. 依頼解剖は関東近郊が主で, 大阪から搬送しての解剖も 1 件あった. 症例はプリオン病 15 件, パーキンソン病 5 件, 超百寿者 1 件, 那須ハコラ病 1 件, 脳出血後遺症 1 件, 多系統萎縮症 1 件, 前頭側頭型認知症 1 件であり, プリオン病の 1 件に関して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.

当院が積極的にプリオン病の解剖を受け入れてきた実績により, 多くの施設から剖検に関する問い合わせや解剖依頼があった.

【考察】

COVID-19 の流行は, ブレインバンクの運営に大きな影響を与えた印象がある. COVID-19 に関する感染対策により, 剖検の受け入れ, 剖検の方法に混乱が生じ, 依頼解剖が減少する結果となった.

剖検の生前同意を得られていた症例は, 当院および他の施設からの依頼も含めてすべて剖検を行ったが, 1 例がブレインバンク登録への協力が得られなかった. 原因は COVID-19 の流行により患者家族の面会時間が制限された, 病院職員とのコミュニケーションが少なくなり, 死亡確認後に行われる最終的な剖検の説明において同意が得られなかったと思われる.

【結論】

本開発費によりプリオン病など剖検が困難とされている症例や遠方の依頼解剖に対し費用負担を軽減できたため, 積極的に解剖を受け入れる体制を整えることができた.

【参考文献】

特になし

(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。

別表 1.

病名	全体	凍結
amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	42	35
Alzheimer's disease	22	20
schizophrenia	11	6
Parkinson disease	32	24
multiple system atrophy (MSA)	28	20
myotonic dystrophy	0	0
progressive supranuclear palsy (PSP)	8	7
Duchenne muscular dystrophy (DMD)	0	0
dementia with Lewy bodies (DLB)	9	8
Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)	16	12
spinocerebellar ataxia (SCA)	0	0
dentatorubral-pallidoluysian atrophy (DRPLA)	2	1
Machado-Joseph Disease (MJD)	7	7
cerebral thrombosis	0	0
cerebral hemorrhage	19	11
全症例(病理診断のついた症例数)	449	283

分担研究者

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

協力研究者

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

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

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

奥村啓樹 名古屋大学医学部附属病院 薬剤部・特

任助教

【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、COVID-19 罹患後の精神神経症状を呈する患者の臨床表現型評価、表現型に関与するゲノムバリエーションの同定及び、b)COVID-19 罹患後精神神経症状の病態解明に関連する神経回路・分子指標を同定する。

【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】 a)COVID-19 後遺症患者の 3 例の経過観察(うち一例は血漿及び髄液サイトカイン経過を確認した)、後遺症を呈した患者の WGS を実施した。現段階では COVID-19 後遺症に関与が示唆されたゲノムバリエーションは同定されていない。b)病態解明を目指し、1) 炎症性サイトカインが直接神経細胞に与える影響の評価、2)脳と免疫系の相互作用評価系構築に向けリンパ芽球様細胞株 (LCL) を用いた系を評価した。その結果、1)健康者 iPS 細胞由来神経細胞に炎症性サイトカインを添加すると神経突起伸長の低下が確認された。2)LCL にリポポリサッカ

ライド(LPS) 刺激したところ、炎症性サイトカイン遺伝子発現の増加が確認され、LPS 刺激に対する応答が認められた。c) COVID-19 後遺症の病態解明に繋げるために、COVID-19 後遺症患者と健常者の血漿中炎症関連物質 11 項目の測定を実施した。その結果、既報で COVID-19 後遺症との関連が示唆されている IL-1 β が COVID-19 後遺症患者で統計学的に優位に高いことが示された。

【考察】 健常者 iPS 細胞由来神経細胞に炎症性サイトカインを添加した結果は、精神疾患発症リスクゲノムバリエーションを有する患者神経細胞の表現型と類似しており、炎症性サイトカインが精神神経症状発症に関与する可能性を示唆している。また、IL-1 β が COVID-19 後遺症に関与していることが示唆された。

【結論】 a)引き続き、COVID-19 の精神神経症状を呈した患者の経過観察(末梢血を用いた解析)及び、全ゲノム解析により精神神経症状に関与するゲノムバリエーションの同定を試みる。b)-c)3 年間の研究を通じて、COVID-19 罹患後の精神神経症状に免疫系異常が関与していることが示唆されたため、今後の研究では、COVID-19 後遺症患者の血漿だけでなく PBMC (末梢血単核細胞) を取得し、免疫細胞や糖鎖機能を検討する。同時に、これまで炎症性サイトカインが直接的に神経細胞に与える影響を中心に検討を進めてきたが、脳と免疫系の細胞レベルの相互作用を検討するため、脳内の主要な免疫細胞であるミクログリアを iPS 細胞から作製し、ミクログリアと神経細胞、あるいはより生体脳に近い脳オルガノイドとの共培養を行い、脳免疫相互作用が中枢神経系に与える影響を検討する。また、LCL を用いた中枢神経系と末梢免疫系の相互作用評価も並行して実施する。以上から、COVID-19 の病態解明や新規治療薬開発に繋げていく。

【参考文献】

1. Jozuka R, Kimura H, Uematsu T, Fujigaki H, Yamamoto Y, Kobayashi M, Kawabata K, Koike H, Inada T, Saito K, Katsuno M, Ozaki N Severe and long-lasting neuropsychiatric symptoms after mild respiratory symptoms caused by COVID-19: A case report. *Neuropsychopharmacol Rep* 2022, 42, 114-119, doi: 10.1002/npr2.12222, 査読有
2. 木村大樹、診断と治療社、よくわかる！精神疾患対応これ1冊「COVID-19 罹患後に持続する精神症状への対応」、2024年3月26日, p326-330

(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、精神的な側面が影響を考慮する必要がある。さらに、基礎疾患や精神疾患の既往など持病がある場合には、それらの増悪との鑑別が必要である。COVID-19 の病態は多様であるため、神経系の遷延症状については、専門医が適切に臨床症状を評価するとともに、画像検査、更には免疫応答、血液凝固、血管透過性、脳血液関門などの破綻が症状に及ぼしている影響を評価しうる指標との対比を行い、ステロイドをはじめとする免疫治療などを行うべきか否かの客観的指標を確立していく必要がある。

そこで、1) 藤田医科大学に入院、通院している COVID-19 症例を対象として、神経系の後遺症や遷延症状の特徴を横断的に解明する、2) 自然経過を後方視的に検討する、3) 新規症例を中心として、臨床特徴と各種画像・血液マーカーとの関連を明らかにする。4) 積極的な内科的治療介入が必要な症例を検出できるシステムを構築する、以上を目的とし研究を推進している。

【結果】

藤田医科大学において入院、通院している COVID-19 陽性ならびにワクチン接種後に神経症状を呈した症例の臨床的特徴、一部は病理学的特徴を検討した。

まず、剖検例は、39 歳の男性で、既往歴として糖尿病 (HbA1c:6.9-8.0%程度) があつた。発熱で発症し、ラゲブリオの内服にもかかわらず、1 週間に渡って発熱が持続し、体動困難となり当院搬送。来院時、JCS I -1、GCS E4V5M6、頸部硬直あり、左方向の水平性眼振を認め、炎症反応の上昇 (WBC $12.8 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、CRP 4.14 mg/dL)、高血糖 (361mg/dL)、HbA1c の上昇 (10.0%)、低 Na 血症 (123mmol/L)、髄液細胞数 $70/\mu\text{L}$ 、髄液総タンパク量

132mg/dL、髄液糖量 124 mg/dL であった。頭部 MRI では、脳梁膨大部に拡散強調画像で高信号域を認め、ADC 値は低下していた。レムデシビル、セフトリアキソン、ステロイドパルス療法を施行し、入院後第 15 病日の頭部 MRI では脳梁膨大部病変は消失したが、第 15 病日から血便が出現。食道胸部中部に潰瘍、上十二指腸角から下行部にかけて多発する潰瘍を認め、内視鏡による止血は困難で、輸血などで対応したが、状態は増悪。第 20 病日に急変され、ご家族の同意の下で剖検となった。

脳病理所見では、大脳皮質・白質、辺縁系、基底核、脳幹、小脳、脊髄に、多発性に小脱髄巣・不全軟化巣を認め、軟膜へ軽度の炎症細胞浸潤も伴っていた。脱髄巣の直径は 20-300 μ m 程度、比較的境界明瞭で白質の皮髄境界-深部白質まで散在性に認めた。グリオシスを認め、マクロファージの集簇、桿状ミクログリアの増生、軸索腫大があり、同部は MBP と SMI-31 でも染色性の低下を認め、髄鞘の脱落とともに軸索障害も加わっていると考えられた。CD3、CD20 はいずれも陰性であった。AQP4、MOG の染色性は保たれ、脳幹病変では経過時間が異なる病変の存在が示唆された。不全軟化巣も、直径は脱髄巣と同じ程度で、比較的境界明瞭であり、前頭葉から後頭葉の皮質に散在性に認めた。大脳皮質だけではなく、辺縁系や基底核、脳幹や小脳にも広く散在していた。髄鞘染色で染色性低下、軸索の debris を貪食するマクロファージの浸潤を認め、グリオシス、神経細胞脱落を伴っていた。軟膜にマクロファージを主体とする軽度の炎症細胞浸潤を認めたが、細菌、真菌、ウイルスなどを示唆する所見は認めず、髄膜炎、脳炎を示唆する所見は認めなかった。所見のまとめとして、病巣は髄鞘の障害がより優位で、血管支配とは一致せず、脳全体に多発性の脱髄病変を認め、急性散在性脳脊髄炎に類似した病態を考えるが、静脈に沿って細長く伸びている病変が乏しく、軸索障害が目立っていた。既報告 (Acta Neuropathol. 2020;140:1.) の COVID-19 罹患後の ADEM と同剖検所見は異なっており、COVID-19 の中枢神経病変の多彩さを示唆する貴重な症例と考えられた。

非剖検例では、デルタ株時代には、血管支配に一致しない多発虚血性脳卒中を呈した症例を複数経験し報告したが (第 63 回日本神経学会学術大会)、オミクロン株以後は、そのような症例は減少した。COVID-19 感染後の Guillain-Barre 症候群は 3 例経験し、全例抗ガングリオシド抗体は陰性で、 γ グロブリン療法で軽快し退院となった。またワクチン接種後に生じ、意識レベルの変容や運動機能障害を呈した急性散在性脳脊髄炎は、ステロイドパルス療法と γ グロブリン大量療法で後遺症無く退院となった。Long COVID やワクチン接種の後遺症と紹介された症例では、functional neurological disorder (FND) と診断し、その治療により軽快した症例を。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に加え、通院加療を希望した症例に対しては、認知行動療法的なアプローチを継続的に行うことで復職や復学に至った。

データベースに関しては、100 例を超える COVID-19 非感染者のレジストリの構築に成功し、高品質な血液と高次脳機能のサンプルが蓄積しており、剖検例の経験に基づき、ミクログリアの指標である sTREM2、GFAP、NfLなどを測定していく基盤が整備された。

【考察】

剖検例は、既報告に認めない病理学的な特徴を有しているため、現在、英文による症例報告を準備している。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

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のかの把握に努め、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。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。特に免疫系の治療が必要な症例を適切にピックアップ出来るよう、これまで構築したデータベースを基盤として解析を加え、バイオマーカー開発を進めたいと考えている。

【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】

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.

伊藤瑞規、渡辺宏久、植田晃広. COVID-19 の治療と予防 軽症例の対症療法. Clinical Neuroscience. 2021; 39; 338

渡辺宏久 新型コロナウイルス罹患後症状に関する現在の知見 2022 年名古屋医報 8 月号

渡辺宏久 改定版新型コロナウイルス感染症の罹患後症状のマネジメントについて 2023 年名古屋医報 2 月号

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.

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 3.0 版 2022/10/20

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. 中外医学社 2022 年 5 月

(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 慶應義塾大学予防医療センター 特任教授

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 准教授

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。本分担研究では、主として関連の精神科病院において亡くなる患者について、倫理的問題に配慮しつつ、国立精神神経医療研究センター(NCNP)などの剖検可能な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、上記の条件を満たせないため対象外とした)。開始時より2024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9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8例(統合失調症2例、覚醒剤精神病1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、レビー小体型認知症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】

NCNP への搬送が継続的に実施され、また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ている。同意の問題は今後も議論が必要ではあるが、少なくとも組み入れられた方々やご家族のご厚意を無駄にしないよう、取り組んでいく必要がある。

【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。

【関連業績】

滝上紘之, 菊地俊暁, 三村 将: 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, 33(11): 1190-1193, 2022.

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 in demand for human brain tissues for neuroscience research, the role of the brain bank is important. We have a multi-disciplinary system including doctors, researchers, engineers, coordinators, and secretaries to maintain our brain bank. The following three subjects are considered important for our brain bank.

- Promotion of autopsy and registration of the brain bank including pre-life consent
- International-level neuropathological diagnosis
- Continuing activities as a hub for hospitals in the Japan Brain Bank Network
- Rapid preparation of human nervous system samples and contributions 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 a psychiatry brain bank, supported by Keio university psychiatric group, and a 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 preserved postmortem brains
- 11) Long-COVID research

The number of brain bank registrations in 2021-2023 was 101. The number of autopsies in the pre-registration case was 25 cases. The number of autopsies from psychiatric hospital was 17. As to the prion diseases, there were 23 cases in 2021-2023. Pre-registration for the brain bank were 409 individuals from 2007. In 2021-2023, 77 cases were registered and 4 cases were withdrawn. We provided web-based CPC 32 times in 2021-2023. Epilepsy pathology CPCs were also conducted 34 times. Both CPCs were conducted almost once a month. In collaboration with the Center for Supercentenarian Medical Research of Keio University, we started a pathological anatomical collaboration system for people over 110 years old in 2021-2023. In 2021-2023, the number of autopsies over 110 years old was 3. National Alzheimer's Coordinating Center (NACC) method for neuropathology was introduced to clarify neuropathologic diagnoses. Cooperation with the Japan Brain bank network (JBBN) has been continued. We have expanded the affiliated facilities (over 10 hospitals) in order to increase 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 received qualifications as board certified doctor of the Japanese Society of Neuropathology in 2021-2023. As to the long-COVID research, we have carried out clinical, pathological, and molecular analyses. Besides the establishment of the brain bank system, we have provided many samples to neuroscientists who have published many papers using the human brain tissues. We need to improve and develop our brain bank in terms of increasing variety of diseases such as prion diseases, aging, pediatrics, psychiatric, and COVID-19, as well as educating junior neurologists and neuropathologists for the future brain banks.

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著しく低下した。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。具体的にはまず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に導入することで、統合失調症、自閉スペクトラム障害、てんかん、Rett 症候群などの各種精神疾患、ALS、パーキンソン病等の各種神経変性疾患、遺伝性筋疾患などの各種神経筋疾患の動物モデルを、それぞれ作出した。次に、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、各種疾患の病態を理解し、これら疾患モデルの症状改善に有効な薬剤の体系的な探索などを通して、新たな治療法の開発をめざした。さらには医療新時代に対応するためにインシリコ解析・人工知能 (AI) 解析基盤をセンター内で醸成させることを目標とした。

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 ~R5.3)

古家 宏樹 (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 R5.4~)

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)

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)

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)

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部)

山下 祐一 (国立精神・神経医療研究センター・神経研究所・疾病研究第七部)

岩崎 真樹 (国立精神・神経医療研究センター・病院・脳神経外科)

宮下 聡 (新潟大学脳研究所システム脳病態学分野 ~R5.5→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 R5.5~)

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)

3. 研究成果

1. バイオリソース・技術開発研究・動物行動解析プラットフォームの提供

(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・修飾技術を用いた疾患モデルマウスの作出 (3 年間で遺伝子改変マウス 331 系統を作出完了) と解析基盤 (NCNP 内の網羅的動物行動解析実験の基盤整備も含む) のアップデートを進めた (井上高)。(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

に迫る基盤が整えられた（岩崎）。

2. 精神疾患研究

(3)精神疾患関連遺伝子 *AUTS2* およびイハラてんかんラットの原因遺伝子 *DSCAML1* とその類縁遺伝子 *Dscam* の組織特異的ノックアウトや各種疾患型変異導入マウスを用いた解析（星野）、(4)うつ病発症の要因である心理的ストレスが行動変容を生じさせる過程における神経基盤を明確にする研究（山田光・古家）、(5) ミクロオートファジーによるタンパク質や RNA/DNA 分解系関連遺伝子を破壊もしくは過剰発現したマウス個体の解析に基づく病理解明（株田）、(6) MeCP2 変異マウスにおけるミクログリア異常活性化機序の解析に基づく Rett 症候群病理の解明（中島）、(7) 次世代染色体工学的手法を用いて、自閉スペクトラム障害の原因となるコピー数多型 (CNV) の網羅的マウス ES 細胞モデルライブラリーを構築し、その病理神経基盤の解明に繋げる研究（内匠）、を進めた。

3. 神経疾患研究 (8) 神経突起の変容機構の鍵分子として同定したユビキチンリガーゼ *ZNF1* とナトリウム・プロトン交換輸送体 *NHE5*、非コード RNA である vault RNA の機能解析を通して神経回路の形成と維持、変容の分子基盤に迫る基礎研究（若月）、(9) 中枢神経障害後の神経回路修復メカニズムの探索から神経変性疾患の新規修復薬剤開発を行う研究（村松）(10) ALS で最も高頻度な遺伝的原因である *C9orf72* 遺伝子非翻訳領域内の GGGGCC リピート配列異常伸長現象をショウジョウバエで再現することからその病態解明を目指す研究（永井）、(11) マウス成体脳における神経細胞新生を支える転写カスケードの網羅的解析から新生過程の外因的制御をめざす研究（山田真）、(12) 細胞外小胞を介した脳と末梢臓器間のコミュニケーションをマウスの遺伝学的手法により可視化し明確にする研究（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再現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) 生体内でジストロフィン遺伝子のエキソンスキッピングを可視化する遺伝子操作マウスを作出し、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 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と DMD に付随する自閉スペクトラム症の病態解明（青木）、を進めた。

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) NCNP 手術検体を用いたてんかん病理の解明や小脳における非直接的な神経細胞産生様式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. センター内研究の相互理解、共同研究の推進

(17) 公表間近な成果を NCNP 内での研究報告会開催等によって共有し、それぞれの研究の相互理解と 30 課題に迫る共同研究が進んだ。

以上の成果は令和 5 年 10 月 19 日に AP 東京八重洲にて開催された班会議で統括報告された。

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やてんかん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

さまざまな Cre 系統や flox 系統等を用いた、*Dcam11* 遺伝子、*Dscam11* のファミリー遺伝子 *Dscam*、および *Auts2* 遺伝子についてのゲノム編集・遺伝子改変マウスを作出し、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 *AUTS2* タンパク質が、*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 *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。その後、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* タンパク質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。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り、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 cKO 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. Dewa K, Arimura N, Kakegawa W, Itoh M, Adachi T, Miyashita S, Inoue YU, Hizawa K, Hori K, Honjaya N, Yagishita H, Taya S, Miyazaki T, Usui C, Tatsumoto S, Tsuzuki A, Uetake H, Sakai K, Yamakawa K, Sasaki T, Nagai J, Kawaguchi Y, Sone M, Inoue T, Go Y, Ichinohe N, Kaibuchi K, Watanabe M, Koizumi S, Yuzaki M, Hoshino M. Neuronal *DSCAM* regulates the peri-synaptic localization of *GLAST* in Bergmann glia for functional synapse formation. *Nat Commun*. 2024 Feb 1;15(1):458.
2. Iijima K, Komatsu K, Miyashita S, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabé NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M.

Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells*. 2024 Mar;29(3):192-206.

3. Miyashita S, Owa T, Seto Y, Yamashita M, Aida S, Sone M, Ichijo K, Nishioka T, Kozo K, Kawaguchi Y, Taya S, Hoshino M: Cyclin D1 controls development of cerebellar granule cell progenitors through phosphorylation and stabilization of ATOH1. *EMBO J*. 40 (14) e105712, 2021.

分担研究報告書

(課題名) CRISPR/Cas9 および BAC システムを用いた病態モデルマウスの作出

(所属) (国研) 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

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解明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探索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) など自閉スペクトラム症 (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 関連ゲノム変異を申請者固有の 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。

結果と考察

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。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調節活性の有無を検索し、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同定を行った。さらにはシナプストランスポーター *Vmat1* 遺伝子のヒト特異的変異を導入したマウスの作出からヒトの不安・うつ傾向の進化仮説について初めて実験的な検証を行うことに成功した。以上のように ASD に関連する分子群を複数同時にノックアウトしたり、多種多様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機序を体系的にスクリーニングしたりする技術が確立したことによって、これまでになく規模で遺伝子非コード領域の機能理解が深まることが見込まれるのに加え、複雑な ASD 病態を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個体の機動的作出によって多様な ASD 関連ゲノム変異の機能的意義が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分担研究者による独自技術や新規開発手法を効率的に組み合わせることで、多因子性 ASD の実態を正確に反映した病態モデリングが大きく進展するとともに、それらヒト化モデルマウスの積極的活用によって新規診断法や治療法開発の加速につながることが見込まれる。

参考文献 (業績)

1. Sato DX et al. (2022) *iScience* 25, 104800.
doi:10.1016/j.isci.2022.104800.
2. Inoue YU et al. (2022) *eNeuro* 9, ENEURO.0423-21.2022.
doi:10.1523/ENEURO.0423-21.2022
3. Inoue YU et al. (2021) *Cells* 10, 1076.
doi:10.3390/cells10051076.

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
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

本研究では同定したヒト遺伝性筋疾患の患者変異について変異病因性とそこから引き起こされる分子機序の解明を目指している。①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* 遺伝子に片アレル性のミスセンス変異を認めた。疾患モデルマウスを作製することで病態の解明に迫った。②小脳萎縮、運動失調を呈する家系 3 患者で、*SNUPN* 遺伝子に両アレル性の複合ヘテロ接合変異を同定した。患者変異をもつモデルマウスを作製して疾患分子病態の解明を行った。③*LMNA* 顕性変異により拡張型心筋症を発症するモデルマウスを作製することに成功した。このマウスを用いて骨格筋病態の解析をすすめた。

方法

モデルマウス

各遺伝子に同定した患者変異ノックインマウスを、ゲノム編集によって作製した。患者変異に合わせて、ヘテロ接合性マウスまたは、複合ヘテロ接合性マウスを用いた。

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。

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

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

①*DNAJB4* 遺伝子変異体を導入した細胞では、ポリグルタミン伸長タンパク質および変異デスミンの細胞質集合体の形成を抑制した。一方で正常 TDP-43 による核内凝集形成を促進させた。この効果は、HSP70 との結合を抑制することで、キャンセルされた。*Dnajb4* 遺伝子変異疾患モデルマウスは、若齢においては異常がなかったが、高齢では握力の低下が認められ、かつ、ヒラメ筋の筋力は優位に低下した。ヒラメ筋の組織染色では、萎縮筋線維が認められるとともに、ヒト患者筋で観察されたような細胞内凝集物の蓄積が観察された。

②*SNUPN* 遺伝子変異体は、核への移動または、核から細胞質への移動の異常であった。これは、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。*Snupn* 変異疾患モデルマウスの解析では、小脳プルキニエ細胞核の Cajal body での U1snRNP の局在が顕著に低下していた。小脳プルキニ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的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。さらに、プルキニ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。

③*Lmna* E383K マウスは、約 30 週齢から致死を示し、心筋症を発症していた。心筋の電顕観察では、アポトーシスや mitophagy の所見が見られた。骨格筋ではヒラメ筋に顕著な単収縮の低下が観察された。しかし、筋ジストロフィーの所見(壊死、再生像)は観察されなかった。

考察

ヒト患者変異を有するモデルマウスを作製することで、変異の病因性を証明することができたとともに、患者病態の再現と分子病態機序を効率よく解析することが可能となった。

結論

ヒト変異を再現したマウスは遺伝性筋疾患の研究にとっても有用である。

分担研究報告書

(課題名) ストレス性精神疾患モデル動物の作成と評価

(所属) 国立精神・神経医療研究センター

精神保健研究所 精神薬理研究部

(氏名) 古家 宏樹

緒言

心理的ストレスへの慢性的な曝露はうつ病の主要な要因となっている。一方、前臨床試験に用いられるうつ病の動物モデルは、その作成過程において身体的ストレスを用いる点において、実際の疾患の発症過程とは大きく異なっている。このような実際の疾患とモデル動物との乖離が、うつ病の生物学的メカニズム解明の妨げになっていると考えられる。本研究課題では、身体的苦痛を排除した純粋な心理的ストレスをマウスに負荷する方法を確立し、心理的ストレスが情動に及ぼす影響とその神経機序を明らかにすることを目的とした。

方法

同種他個体が大型で攻撃的な ICR マウスに攻撃される社会的敗北場面を目撃させることにより C57BL/6J マウスに心理的ストレスを負荷し、情動行動への影響を評価した。また、オキシトシン受容体発現細胞に蛍光蛋白 tdTomato や DNA 組換え酵素 Cre を発現するマウスを用いて、組織学的手法および光遺伝学的手法により心理的ストレス負荷による行動変容過程におけるオキシトシンの役割を検討した。

結果と考察

同種他個体の社会的敗北場面を目撃による心理的ストレスへの曝露は、実際に攻撃を受けたことによる身体的ストレスと同様に、社会的

行動の減少やストレス感受性の亢進をもたらした。また、身体的ストレスが不安の亢進を引き起こした一方で、心理的ストレスのみが報酬感受性の低下を生じさせた。社会的敗北場面の目撃は、脳内報酬系の一部である腹側被蓋野を活性化させたことから、心理的ストレスは身体的ストレスとは異なり、報酬系により強い影響を及ぼすことでうつ病における快感消失と類似の症状を引き起こすことが示唆される。

社会的敗北場面を目撃により活性化する脳領域を探索した結果、前部島皮質 (aIC) のオキシトシン発現細胞が活性化することが判明した。また aIC のオキシトシン受容体発現細胞は大部分が興奮性ニューロンでありうつ様行動の発現に関連する側坐核に投射を持つことが明らかとなった。この経路を光遺伝学的に抑制した結果、社会的敗北場面を目撃による社会的行動の減少と報酬感受性の低下が生じなくなった。このことから、社会的敗北場面を目撃することによる心理的ストレスは、aIC のオキシトシンシグナルを介して側坐核を繰り返し活性化することにより、うつ様行動を形成することが示唆された。

結論

心理的ストレスは、身体的ストレスとは異なる影響を個体に及ぼすものであり、特に報酬系に作用してうつ病の中核症状である快感消失をもたらすことが示唆された。また他個体からの情動伝染を介したうつ様行動の形成において、前部島皮質のオキシトシンシグナルが重要な役割を果たすことが明らかとなった。本研究の成果は、心理的ストレスによって発症するうつ病の新規治療薬の開発に役立つものと期待される。

参考文献

1. Nakatake, Furuie, Yamada. An emotional stress model using witnessing social defeat scenes in mice. 2023. *Folia Pharmacol. Jpn.* 158, 39-42,

分担研究報告書

(課題名) リソソーム分解系の分子機構と疾患との関連

(所属) 国立精神・神経医療研究センター 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などの蓄積は神経変性疾患の原因となると考えられている。細胞内分解を促進できれば、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。我々はこれまでに、リソソームが直接的に核酸、タンパク質や脂質を取り込み分解する機構を見いだした。本研究では、これら分解機構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分解機構の機能減弱動物を作製・解析する。以上により分解機構の生理・病態的役割を明らかにする。

我々はこれまでに、リソソーム膜タンパク質 SIDT2 が核酸とタンパク質のリソソーム内への取り込みに機能することを見いだした。また、ニューロパチーおよび縁取り空胞を伴うミオパチーの疾患家系において SIDT2 の c.2226delG 変異 (ヘテロ) を見いだした。生化学的解析の結果、この変異はドミナント・ネガティブとして機能することがわかった。

方法

分解機構に関わる分子についてゲノム編集・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した。また、培養細胞を用いて細胞生物学・生化学的解析により分解機構の分子メカニズムについて解析した。

結果、考察と結論

(1) SIDT2 の疾患変異について

ゲノム編集により SIDT2 の c.2226delG ノックインマウスを作成した。約 2 年齢の個体において握力が低下していた。現在病理学的解析について進めている。

(2) RNautophagy/DNautophagy のメカニズム

RNautophagy における核酸のリソソームへの取り込みは、リソソームの酸性化に依存せず、しかし ATP 消費に依存することを示した (文献 2)。RNautophagy/DNautophagy の制御分子 SIDT2 や LAMP2C の発現が、核酸の自然免疫受容体シグナル活性化により上昇し、ウイルス核酸の分解やウイルス増殖抑制に寄与することを見出した (文献 1)。

(3) 脂質分解について

リソソームによる直接滴脂肪滴分解 (マイクロリポファジー) を促進する分子を見だし、過剰発現するトランスジェニック・マウスおよび KO マウスを作成した。リポドーム解析の結果、脂質代謝が大きく変化しており、論文投稿の準備が整った。

参考文献

1. Fujiwara Y, Oroku K, Zhou Y, Takahashi M, Katayama T, Wada K, Tsutsumi N, Sato T, *Kabuta T: Expression of RNautophagy/DNautophagy-related genes is regulated under control of an innate immune receptor. **RNA Biol** 21:1-9 (2024)
2. Contu VR, Sakai R, Fujiwara Y, Kabuta C, Wada K, *Kabuta T. Nucleic acid uptake occurs independent of lysosomal acidification but dependent on ATP consumption during RNautophagy/DNautophagy. **Biochem Biophys Res Commun** 12;644:105-111 (2023)
3. Fujiwara Y, Kabuta C, Sano T, Murayama S, Saito Y, *Kabuta T. Pathology-associated change in levels and localization of SIDT2 in

postmortem brains of Parkinson's disease and
dementia with Lewy bodies patients.
Neurochem Int 152:105243 (2022)

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

精神・神経疾患において、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した

方法

本研究では、神経突起の変容機構の鍵分子として我々が独自に同定したユビキチンリガーゼ ZNRF1 とナトリウム・プロトン交換輸送体 NHE5、ならびに非コード RNA である vault RNA に着目し、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、精神・神経疾患発病の新しい分子基盤の整備に注力した。

結果と考察

1) ZNRF1 について

ZNRF1 が酸化ストレスによって活性化する分子メカニズムの詳細を明らかにした。

2) NHE5 について

神経細胞に偏在する NHE5 はリソソーム

や膜小胞内腔 pH 調節に関わり、この調節系が破綻したマウスが神経発達障害を呈すること、神経細胞における NHE5 発現レベルが液性因子によってプロテアソーム依存性に調節されることを見出した。

3) vault RNA について

vault RNA は機能不明のリボ核タンパク質複合体 Vault の構成因子であり、MVP のリン酸化をきっかけにヴォールトからリリースされた 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、などを見出した (J Cell Biol. 2021 他)。また、シナプス領域において、Aurora A がグルタチオン化されることにより自己活性化することを見出した。

結論と考察

神経発達障害の要因は多岐に渡るが、それらが影響を及ぼす作用点は発達期のシナプス形成異常に収斂するため、シナプス形成を理解することは発症要因の解明に直結する。本研究により、神経発達障害に関連するシナプス形成・維持の新しい調節機構が複数提示された。今後、これらの調節機構にクロストークがあるのかなど、さらに詳細な検証を進める。

参考文献

1. [Wakatsuki S., Takahashi Y., Shibata M., Adachi N., Numakawa T., Kunugi H., Araki T. Small non-coding vault RNA modulates synapse formation by amplifying MAPK signaling. J Cell Biol. \(2021\) 220: e201911078.](#)
2. [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. \(2022\)](#)
3. [Nagayama T., Yagishita S., Shibata M., Furuno A., Saito T., Saido T. C., Wakatsuki S., Araki T. Transient sleep apnea results in long-lasting](#)

increase in β -amyloid generation and tau hyperphosphorylation. **Neurosci Res.** in press.

分担研究報告書

(課題名) 神経回路の修復に関わる分子機構の解明

(所属) 国立精神・神経医療研究センター神経研究所 神経薬理研究部

(氏名) 村松 里衣子

緒言

中枢神経傷害により、様々な機能に重篤な症状があらわれる。個人差や疾患の種類による差はあるものの、わずかではあるが症状は自然回復し、それは傷ついた神経回路が修復したためと考えられている。神経回路の修復は内因性と外因性の機序から制御され、本研究では内因性の機序の探索を行った。従来からの脳神経回路の修復研究から、複数の内因性機序に関わる分子が同定されているが、ここでは特に対象となる神経細胞に対して選択性が高い機序を同定するため、神経細胞に高発現する分子の中から神経回路の修復を制御する分子を探索することとした。

方法

本研究では、脊髄損傷後の運動機能の回復を研究対象とし、その機能制御を担う皮質脊髄路の回路修復に関わる分子の探索を行った。ヒトでの表現型情報を含む公開データベースから”motor dysfunction”で見出される遺伝子を抽出し、対象となる遺伝子について全身臓器での発現情報のデータベースから脳で高発現する遺伝子を選抜した。さらに、脳内の細胞種ごとの発現量がまとめられたデータベースから、神経細胞での発現が豊富な遺伝子を選び、同遺伝子を対象とした siRNA ライブラリーを作成した。マウス大脳皮質から採取した神経細胞の培養系に対して、siRNA ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、培養後の神経突起長を計測し、神経突起の伸長を阻害する siRNA を探索した。効果が認められた siRNA を用いて、in

vivo での神経回路修復への作用を検討するため、アデノ随伴ウイルスベクターに対象遺伝子の shRNA を組み込み、大脳皮質へ注入し、皮質脊髄路での遺伝子発現を抑制したマウスを作成した。同マウスに対して脊髄損傷を施し、神経回路の修復を組織的に評価した。同マウスの運動機能についても行動試験で検討した。

結果と考察

培養実験でのスクリーニングの結果、Syt4 遺伝子の発現を抑制すると大脳皮質培養神経細胞の突起長がコントロールと比較して短かったことから、内在性の Syt4 遺伝子は神経突起の伸長を促進させる働きがあることが示唆された。同遺伝子の発現を抑制させた神経細胞を対象とした RNAseq の結果からも、神経突起伸長にアノテーションされる遺伝子発現の変動が見いだされ、分子的にも示唆が得られた。脊髄損傷マウスにおける神経回路の修復も、Syt4 発現抑制群ではコントロールと比較して生じにくく、また時間経過に伴う運動機能の回復も Syt4 発現抑制群では阻害された。これらの結果から、内在性の Syt4 は神経回路の自発的な修復と神経機能の自然回復を支持するものであることが示唆された。

結論

今後 Syt4 の発現を高めることで機能回復が促進するか、治療効果を検討する。さらに Syt4 の発現制御により炎症など、神経回路の修復に関連する他現象には影響がないか精査し、神経細胞の内在性分子による回路修復作用を確認していきたい。

学会発表

樋口京香、田辺章悟、成田年、村松里衣子：Synaptotagmin 4 による脊髄損傷後の神経回路の修復、第 96 回日本薬理学会年会、神奈川、口演(2022. 12. 2)

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の創生

(所属) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部

(氏名) 土肥 栄祐

緒言

細胞外小胞 (Extracellular Vesicles: EVs) はあらゆる細胞から分泌され、体液中から検出され、細胞特異性を持つ有望なバイオマーカーとして開発が急速に進んでいる。測定技術も発達しているが、新たな課題としてバイオバンク内に保存されている血漿に血小板が混入し、この混入した血小板から放出された血小板由来のEVsが下流の解析に影響を与えると報告された。またその他にも食事の影響や日内変動など、バイオマーカー解析に影響を与える様々な潜在的な交絡因子が推定されているが、詳細な検討は未だなされていない。また、これらの状況を乗り越えるためには、EVsのバルク解析ではなく、一粒子レベルでの解析が求められている。そこで本研究では、細胞外小胞の内部にあるmiRNAをターゲットとした金粒子ビーコンを作成し、血清由来細胞外小胞のmiRNAを検出することで、細胞特異的なEVのmiRNAの検出系を樹立し、疾患を問わず詳細なバイオマーカー開発のための基盤技術を開発する。

方法

ヒト血液由来EVsおよびマウス血清由来EVsのmiRNAプロファイルを検討した既報文献に対しシステマティックレビューを行い、miRNAプロファイルの一貫性を検討する。また血小板の混入や血小板由来EVの混入を最小限にするサンプル調整法の開発を行う。また、ヒト血漿からEVsをSECにて抽出し、作成した金粒子分子ビーコンを処置し、NanoFCMにて計測することで、EV一粒子レベルでのmiRNA検出を試みた。

結果と考察

(1) 血中miRNAプロファイルについて
ヒト血液由来EVsのmiRNAプロファイルでは

研究間で一貫性が無く、条件の整えやすいマウス血清由来EVsのmiRNAプロファイル研究においても研究間で一貫性が無かった。ここからは、調整が出来ていない潜在的な交絡因子の潜在が考えられた。

2) 血小板と血小板由来EVsの混入を抑えるサンプル調整法

血小板は活性化の際にEVsを放出する事が知られている。特に採取の際に用いる穿刺の針の太さ・速度、採取部位から混入する組織、低温、また遠心速度、これらにより活性化し、また抗凝固薬の種類も影響するため、これらの最適化を行った。これらの調整により、日内変動に関するプレリミナリーなデータを得ることが達成できた。

3) 金粒子分子ビーコンを用いたEV一粒子解析技術の開発

miR-223-3pに対する金粒子ビーコンを作成したEV内miRNAの検出では、当初既報の方法ではヒト血漿由来EVのうちの1%弱しか検出ができなかった。そこで、EV内へ金粒子分子ビーコン導入のためのDetergentの最適化を行い、10%前後のEVで検出が可能となった。EVは抽出法により膜のintegrityが変化するため、抽出法ごとにDetergentの調整が必要であることが明らかとなった。

結論

EV解析結果を評価するには、詳細な実験条件の把握が必要であり、未だ明らかでない交絡因子の同定が重要である。また、一粒子解析には、ビーコン開発に合わせ、EV抽出法と導入方法の開発が併せて必要になる。今後は、本研究で確立した、血小板と血小板由来EVsの混入を抑制する方法を活かし、血漿EVのmiRNAの日内変動の解明を行う。また、ここに開発した一粒子解析技術を併用し、詳細かつ精密なバイオマーカー開発を展開してゆく。

参考文献

なし

分担研究報告書

(課題名) レポーター・マウス作製による神経筋疾患の遺伝子治療研究

(所属) 国立精神・神経医療研究センター 遺伝子疾患治療研究部

(氏名) 青木 吉嗣

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 患者の約 30%には、自閉スペクトラム症

(ASD) などの脳症状が見られる。これは、脳において発現するジストロフィンの短縮型アイソフォームである Dp140 の欠損が関与しているとされる。我々の先行研究において、Dp427 (全長型) 及び Dp140 を欠損した DMD モデルマウスである mdx52 マウスが、ASD 様の社会性行動異常を示すことが明らかにされている (Hashimoto et al., *Prog Neurobiol*, 2022)。しかし、Dp140 の欠損がなぜ ASD 様の症状を引き起こすのかについては、未だ明らかになっていない。本研究では、DMD の脳症状を対象に mRNA 医薬などによる Dp140 の補充治療を将来的に実施することを見据え、Dp140 の欠損によって生じる DMD の脳病態の解明を目指す。これにより、DMD 患者における認知機能障害の治療法の開発に貢献することを目標とする。

方法

野生型マウス (C57BL/6J)、mdx マウス、mdx52 マウスを対象に、ジストロフィン欠損と関連する精神神経症状の表現型と、背景となる分子メカニズムを解析する。さらに、前述の精神神経症状が、先端遺伝子治療によりジストロフィンを回復させた際に、正常化し得るかについても検討する。

結果と考察

Dp427 に加えて Dp140 を欠損する mdx52 マウスは、野生型マウスや mdx マウスと比べて、社会性行動が亢進することが分かった。

DMD モデルの mdx52 マウスにおいて、Dp140 mRNA を扁桃体に直接投与し、Dp140 の発現を回復させた結果、興奮性シナプス応答及び社会性行動異常が改善されること、また ASD 様の症状にも同様の改善効果が見られることが明らかとなった。

結論

Dp140 の欠損により、mdx52 マウスでは社会性行動異常および扁桃体の興奮性シナプス応答異常が生じ、これらは Dp140 の発現回復により正常化する。

今後は、mdx52 マウスにジストロフィン関連タンパク質の一つである AQP4 の活性化剤 TGN-073 を腹腔内投与し、社会性行動異常が改善し得るかを検討する。

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.

AIを用いた精神神経疾患の研究

国立精神・神経医療研究センター
疾病研究第七部・山下祐一

1. 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。

2. 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 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。

3. 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。

4. 結果

高次元データから DNN を用いて特徴抽出するための基盤技術として、畳み込みネットワーク自己符号化器 (CNN-AE) を用いて脳の構造 MRI からの特徴量抽出方法の開発を行った。結果として、MRI に含まれる階層性と非線形性を伴いながら、15 万次元の超高次元 3D 画像を約 1000 次元 (0.7%) まで圧縮し、高い精度で再構成することに成功した [1]。

続いて、開発した高解像度 (voxel-based)

の MRI データを CNN で解析する技術を安静時機能的 MRI に適用することで、脳活動の個人特徴や認知的特性を反映しうる汎用特徴量抽出技術の開発を試みた。結果として、学習では経験していない未知のサンプル被験者の脳活動 (rsfMRI 画像) を、一人の個人に由来すると認識した上で、学習で経験した人の特徴の組み合わせとして表現できることが確認された。CNN によって抽出した特徴量を用いて、精神疾患 (統合失調症) の診断予測を行ったところ、従来の機能的結合解析に基づく特徴量と同等以上の有効性を持つことが確認できた [2]。

また、DNN を用いて、脳画像を含むバイオマーカーから軽度認知障害 (MCI) における認知機能の自然経過における変化を高精度で予測する AI を開発した。このような認知機能自然経過予測 AI を用いて治験における割り付けを是正することで、治療薬の効果の検出力が向上しうることを示した [3]。

4. 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。

5. 主な発表論文等

1. Hashimoto Y, Ogata Y, Honda M, Yamashita Y* (2021) Deep Feature Extraction for Resting-State Functional MRI by Self-Supervised Learning and Application to Schizophrenia Diagnosis. *Front. Neurosci.* 15:696853.
2. Yamaguchi H, Hashimoto Y, Sugihara G, Miyata J, Murai T, Takahashi H, Honda M, Hishimoto A, Yamashita Y* (2021) Three-dimensional convolutional autoencoder extracts features of structural brain images with a diagnostic label-free approach: Application to schizophrenia datasets. *Front. Neurosci.* 15:652987.
3. Wang C, Tachimori H, Yamaguchi H, Sekiguchi A, Li Y, Yamashita Y (2024) A multimodal deep learning approach for the prediction of cognitive decline and its effectiveness in clinical trials for Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, 14, 105.

研究課題番号 3-9

手術脳組織検体を用いた精神神経疾患の研究

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

飯島圭哉 国立精神・神経医療研究センター
病院脳神経外科・医師

【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・ウェ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。38例に *BRAF*

V600E変異を、7例に *FGFR1* 変異を認めた。その他は稀な遺伝子異常が1~2例ずつに認められた。17症例では原因となる遺伝子変異が特定されなかった。*BRAF V600E mutant* に特異度の高い画像所見、*FGFR1 mutant* に特異的な画像所見を見出した。また、*BRAF V600E mutant* の一部は上記とは異なる画像所見を呈する少数の亜型があることが分かった。

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。特に *BRAF V600E mutant* の腫瘍において、エストロゲン関連遺伝子の発現上昇を認めた。

皮質形成異常の内、FCD type 2B with MTOR mutation の6症例の single nucleus RNA-seq 解析を行った。現時点では明らかな新規的データを見いだせていない。*PIK3CA mutant* の片側巨脳症例が3例、*SLC35A2 mutant* の皮質形成異常の症例が4例蓄積されており、今後の single nucleus RNA-seq の解析につなげる予定である。海馬硬化症の手術の際に切除される正常な側頭葉先端部からのヒトオリゴデンドロサイトの分離実験を6例に行った。結果は解析中である。

【考察と結論】

低悪性度てんかん原性腫瘍の分子型のサブタイプを同定し、これを予測するための術前のMRI画像の特徴を見出した。これにより最適な手術計画の立案に寄与することが可能となり、将来の分子標的薬の適切な選択にも寄与することができる。同様の手法を今後は皮質形成異常にも応用していくことで、適切な手術計画の立案および、分子標的薬に創薬、適切な分子標的薬の選択に寄与していく。

今後は低悪性度てんかん原性腫瘍の遺伝子変異の結果と画像解析の対応をまとめて論文化していく。皮質形成異常に対して sn-RNA seq の結果をまとめて論文化していく。海馬硬化症に関しては手術検体を蓄積し、分子生物学的な解析を進める

【参考文献】

1. Louis DN et al. The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Neuro-Oncology*. 2021;23(8):1231–1251.
2. Iijima K, Komatsu K, Miyashita S, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabe NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M. Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells*. 2024 Mar;29(3):192-206.

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(R3.4～R5.5)

国立精神・神経医療研究センター 病態生化学研究部(R5.5～)

(氏名) 宮下 聡

緒言

てんかんは意識障害やけいれん発作を引き起こす神経疾患であり、その有病率は人口の0.5-1%である。全てんかん患者のうちの20-30%は、抗てんかん薬に抵抗性の難治てんかん(薬剤抵抗性てんかん)の病態を示す。難治てんかん患者は、日本国内だけでも約20万人程度存在すると推定されているが、未だに難治てんかんを発症する細胞・分子生物学的な背景は解明されていない。本研究では、難治てんかんの病態を示す神経疾患のうち最もメジャーな疾患である大脳皮質形成異常(MCD; Malformation of Cortical Dysplasia)を中心に研究を行った。特に単一細胞核 RNA-seq(snRNAseq)などのオミクス解析と MCD の病態をよく反映した新規モデルマウスの開発を行うことで、難治てんかん病態の背後にある細胞分子メカニズムの解明を目指した。

方法

(1) ヒト MCD 手術検体を用いたオミクスデータの収集と解析

NCNP バイオバンクと連携し、MCD の手術脳検体の提供を受ける。提供を受けた検体に関して、snRNA-seq, bulk RNA-seq, 空間トランスクリプトームなどのオミクス解析を実施した。

(2) MCD モデルマウスの開発

変異型 MTOR 遺伝子を胎生期マウスに導入し、てんかん脳波の測定やてんかん発作行動を観察した。

結果と考察

(1) ヒト MCD 手術検体を用いたオミクスデータの収集と解析

NCNP バイオバンクから提供を受けた限局性皮質異形成(FCD)患者の手術脳検体 8 症例(type II 6 例、type III 2 例)から細胞核を抽出し、snRNA-seq を実施した。海馬硬化症患者から取得した側頭葉部で正常な脳構造を示した3症例をコントロールとして用いた。snRNA-seq データのバイオインフォマティクス解析によって、興奮性神経細胞、抑制性神経細胞、アストロサイトやオリゴデンドロサイトなどのグリア細胞における遺伝子発現の変化を詳細に解析し、数百の発現変動遺伝子を同定した。さらに、遺伝子発現変化と関連するシグナル経路についても探索し、mTOR 経路などシグナル活性が有意に亢進したシグナルを同定することができた。

(2) MCD モデルマウスの開発

胎生期マウスの神経幹細胞に対して、変異型 MTOR 遺伝子を強制発現させたところ、細胞の移動が阻害され、FCD と同様の形態異常が確認された。さらに出生後に脳波を測定するとてんかん様の脳波が観測された。

考察・結論

ヒト手術脳検体を使ったビッグデータ解析により、てんかんの発症メカニズムや治療標的候補を導出することができた。新たに開発した動物モデルを用いることで、導出した候補遺伝子の機能などの詳細をさらに解析することが可能となる。本研究成果をもとに、ヒトモデルマウスの間をシームレスに研究を行うことによって、難治てんかんの治療法開発に貢献する。

参考文献

1. Dewa K, Arimura N, Kakegawa W, Itoh M, Adachi T, **Miyashita S**, Inoue YU, Hizawa K, Hori K, Honjaya N, Yagishita H, Taya S, Miyazaki T, Usui C, Tatsumoto S, Tsuzuki A, Uetake H, Sakai K, Yamakawa K, Sasaki T, Nagai J, Kawaguchi Y, Sone M, Inoue T, Go Y, Ichinohe N, Kaibuchi K, Watanabe M, Koizumi S, Yuzaki M, Hoshino M. Neuronal DSCAM regulates the peri-synaptic localization of GLAST in Bergmann glia for functional synapse formation. *Nat Commun*. 2024 Feb 1;15(1):458.
2. Iijima K*, Komatsu K*, **Miyashita S***, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabe NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M. Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells*. 2024 Mar;29(3):192-206.
3. Tran DM, Yoshioka N, Bizen N, Mori-Ochiai Y, Yano M, Yanai S, Hasegawa J, **Miyashita S**, Hoshino M, Sasaki J, Sasaki T, Takebayashi H. Attenuated cerebellar phenotypes in Inpp4a truncation mutants with preserved phosphatase activity. *Dis Model Mech*. 2023 Jul 1;16(7)
4. Nakamura Y, Kurabe M, Matsumoto M, Sato T, **Miyashita S**, Hoshina K, Kamiya Y, Tainaka K, Matsuzawa H, Ohno N, Ueno M. Cerebrospinal fluid-contacting neuron tracing reveals structural and functional connectivity for locomotion in the mouse spinal cord. *Elife*. 2023 Feb 21;12:e83108.
5. Nakata S, Murai J, Okada M, Takahashi H, Findlay TH, Malebranche K, Parthasarathy A, **Miyashita S**, Gabdulkaev R, Benkimoun I, Druillennec S, Chabi S, Hawkins E, Miyahara H, Tateishi K, Yamashita S, Yamada S, Saito T, On J, Watanabe J, Tsukamoto Y, Yoshimura J, Oishi M, Nakano T, Imamura M, Imai C, Yamamoto T, Takeshima H, Sasaki AT, Rodriguez FJ, Nobusawa S, Varlet P, Pouponnot C, Osuka S, Pommier Y, Kakita A, Fujii Y, Raabe EH, Eberhart CG, Natsumeda M. Epigenetic upregulation of Schlafen11 renders ^{[L]_{SEP}}WNT- and SHH-activated medulloblastomas sensitive to cisplatin. *Neuro Oncol*. 2023 May 4;25(5):899-912.
6. **Miyashita S**, Hoshino M. Transit Amplifying Progenitors in the Cerebellum: Similarities to and Differences from Transit Amplifying Cells in Other Brain Regions and between Species. *Cells*. 2022 Feb 18;11(4):726.
7. **Miyashita S**, Owa T, Seto Y, Yamashita M, Aida S, Sone M, Ichijo K, Nishioka T, Kozo K, Kawaguchi Y, Taya S, Hoshino M: Cyclin D1 controls development of cerebellar granule cell progenitors through phosphorylation and stabilization of ATOH1. *EMBO J*. 40 (14) e105712, 2021.

分担研究報告書

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

近畿大学医学部脳神経内科

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し、2) 疾患モデルショウジョウバエを用いて、神経疾患病態を解明することを目的とした。

方法・結果・考察

(1) TDP-43 発現ショウジョウバエモデルを用いた ALS 病態研究

TDP-43 は DNA/RNA 結合タンパク質であり、通常は核内に分布するが、ALS 患者では神経細胞の細胞質に異常凝集して神経変性に関与する。一方、Dynactin (DCTN) 複合体は、微小管依存的な輸送に関与し、ALS 病態に関連することが示唆されている。我々は、TDP-43 を

発現する ALS ショウジョウバエモデルを用いて、微小管依存的輸送の障害が TDP-43 の動態や神経変性に与える影響を評価した。その結果、DCTN1 などの DCTN 複合体の構成分子やその他の微小管モータータンパク質のノックダウンにより ALS モデルショウジョウバエにおける TDP-43 細胞質内凝集が増加し、複眼変性や運動機能障害が増悪した。

以上の結果から、ALS において微小管依存的輸送の機能低下によって、TDP-43 が細胞質内凝集を形成し、神経変性を引き起こすという、新たな知見を得た。

(2) ショウジョウバエモデルによる *C9orf72* 遺伝子関連 ALS の病態修飾分子スクリーニング

C9orf72 遺伝子非翻訳領域内の GGGGCC リピート配列の異常伸長は、家族性 ALS の最も高頻度の遺伝的原因となる (C9-ALS)。我々は、異常伸長した GGGGCC リピート配列を発現する C9-ALS モデルショウジョウバエを樹立して病態修飾分子のスクリーニングを行った。その結果、hnRNPA3 と FUS が、変異遺伝子から転写された GGGGCC リピート RNA に結合し、GGGGCC リピート RNA による RNA foci の形成と、非古典的なリピート関連非 AUG 依存性翻訳によるリピートペプチドの産生を抑制することで、神経変性を改善することを発見した。その機序として、hnRNPA3 はリピート RNA の発現量を減少させて、FUS はリピート RNA が形成する高次構造を阻害することをそれぞれ明らかにした。

結論

疾患シミュレーションモデルを用いた解析から、ALS 病態に関与する複数の新規分子とそのメカニズムを明らかにした。これらの結果は、今後の治療戦略開発に向けた基盤的知見となることが期待される。

参考文献（業績）

1. Ueda T, Takeuchi T, Fujikake N, Suzuki M, Minakawa EN, Ueyama M, Fujino Y, Kimura N, Nagano S, Yokoseki A, Onodera O, Mochizuki H, Mizuno T, Wada K, Nagai Y. Dysregulation of stress granule dynamics by DCTN1 deficiency exacerbates TDP-43 pathology in *Drosophila* models of ALS/FTD. *Acta Neuropathol Commun*. 2024 Feb 4;12(1):20.
2. Fujino Y, Ueyama M, Ishiguro T, Ozawa D, Ito H, Sugiki T, Murata A, Ishiguro A, Gendron T, Mori K, Tokuda E, Taminato T, Konno T, Koyama A, Kawabe Y, Takeuchi T, Furukawa Y, Fujiwara T, Ikeda M, Mizuno T, Mochizuki H, Mizusawa H, Wada K, Ishikawa K, Onodera O, Nakatani K, Petrucelli L, Taguchi H, Nagai Y. FUS regulates RAN translation through modulating the G-quadruplex structure of GGGGCC repeat RNA in *C9orf72*-linked ALS/FTD. *elife*. 2023 Jul 18;12:RP84338.
3. Taminato T, Takeuchi T, Ueyama M, Mori K, Ikeda M, Mochizuki H, Nagai Y. Therapeutic reduction of GGGGCC repeat RNA levels by hnRNPA3 suppresses neurodegeneration in *Drosophila* models of *C9orf72*-linked ALS/FTD. *Hum Mol Genet*. 2023 May 5;32(10):1673-1682.

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。本研究では脳内免疫細胞であるミクログリアに着目し、ミクログリアの機能異常と RTT 発症との関与について検討し、そのメカニズムの観点から新たな治療法の開発を目指す。

方法

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 *MeCP2*KO マウスを交配して得た TLR9/*MeCP2* 二重欠損 (WKO) マウスを用いて、そのマウスの RTT 様の表現型を解析する。

結果と考察

*MeCP2*KO マウスと比較し、TLR9/*MeCP2*WKO マウスでは、RTT 様の行動スコアリングと寿命が著しく改善することが

わかった。また、*MeCP2*KO マウスと比較し、TLR9/*MeCP2*WKO マウスでは海馬でのミクログリアの活性化が抑制されていることが明らかとなり、ニューロンのスパイン形成が改善していることが明らかとなった。scRNA-seq 解析の結果から、野生型マウスと比較し、*MeCP2*KO 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おり、TLR9/*MeCP2*WKO マウスではその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。本研究から TLR9 シグナルの活性化が RTT 発症に寄与している可能性が示唆された。

結論

本研究から、TLR9 シグナルを抑制することで RTT 病態が改善することが示唆された。今後は、TLR9 の内在性リガンドを同定するとともに、TLR9 シグナルの阻害剤投与などにより RTT 様の表現型が改善するかどうかについて検討し、治療法の開発を目指す。

参考文献 (業績)

1. Irie T, Matsuda T, Hayashi Y, Nakashima K: Direct neuronal conversion of microglia/macrophages reinstates neurological function after stroke. *Proc Natl Acad Sci USA*, 120, 42, 2023.
2. Kasahara Y., Nakashima H. & Nakashima K. Seizure-induced hilar ectopic granule cells in the adult dentate gyrus. *Front Neurosci* 17, 1150283, 2023.
3. Nakashima H, Tsujimura K, Irie K, Imamura T, Trujillo C, Ishizu M, Uesaka M, Pan M, Noguchi H, Okada K, Aoyagi K,

Anodoh-Noda T, Okano H, Muotri, Nakashima K: MeCP2 controls neural stem cell fate specification through miR-199a-mediated inhibition of BMP–Smad signaling. *Cell Rep*, 35, 109124, 2021

分担研究報告書

(課題名) ゲノム編集技術を用いた自閉症モデル研究

(所属) 神戸大学

(氏名) 内匠 透

[緒言]

ヒト染色体 15q11-13 の重複は自閉症において高頻度に認められる染色体異常である。我々はこれまで、本領域を重複させた自閉症モデルマウス(15q dup)の作製し、自閉症様の行動学的異常、縫線核におけるセロトニン神経の活動低下、幼少期におけるシナプス代謝亢進など、種々の特徴的な異常を見出してきた。

本研究目的は自閉症様行動異常、および樹状突起スパインの異常に対して、15q11-13 領域におけるどの遺伝子が重要であるかを同定すること、またその分子メカニズムを明らかにすることである。

[方法]

15q dup マウスの重複領域、6 Mb 内に新たに 1.5 Mb の micro-duplication マウスを *in vivo* chromosome engineering 法を用いて作製し、本マウスで自閉症症状に相当する行動試験各種を行った。次に標的候補遺伝子を蛍光タンパク質と共に大脳皮質に導入し、2 日間の樹状突起スパインの動態、形態を二光子顕微鏡にて解析した。さらに、ゲノム編集技術を用いて、Ndn を 15q dup マウスから 1 コピー欠失させるマウスを作製し、その行動、または神経異常を調べた。

[結果]

1.5 Mb の重複マウスの行動解析の結果、本マウスは元々の 6 Mb 重複マウス(既報の自閉症モデル)と異なり、野生型マウスとの差が認められなかった。このことから、本領域に存在する snoRNA や miRNA の自閉症への関与が否定された。次に、樹状突起スパインへの関与を指標にし、残された候補遺伝子のスクリーニングを行ったところ、Ndn 遺伝子が樹状突起スパインの数、および、その形態を制御することが明らかとなった。更に、Ndn 遺伝子を CRISPR/Cas9 法により 6Mb 重複マウスから 1 コピー欠失させたマウスの表現型を調べると、行動学的異常だけでなく、大脳皮質の興奮/抑制バランス異常、樹状突起スパインの動態異常などが抑制された。

[考察]

ヒト染色体 15q11-q13 は数 Mb にもわたる領域であることから、特定の遺伝子が自閉症に寄与することを証明するのはこれまで技術的に難しかった。これを可能にしたのがゲノム編集技術であり、我々の行ったような解析パイプラインは他の染色体領域でも可能であり、特に範囲の広いコピー数多型においては強力なツールとなる。

[結論]

自閉症責任領域である 15q11-q13 の重複における原因遺伝子の一つとして、Ndn 遺伝子を同定した。

[参考文献]

1. Tamada K, Fukumoto K, Toya T, Nakai N, Awasthi JR, Tanaka S, Okabe S, Spitz F, Saitow F, Suzuki H, Takumi T. Genetic dissection identifies Necdin as a driver gene in a mouse model of

- paternal 15q duplications. *Nat Commun*, 12, 4056, 2021.
2. Lin CW, Septyaningtrias DE, Chao HW, Konda M, Atarashi K, Takeshita K, Tamada K, Nomura J, Sasagawa Y, Tanaka K, Nikaido I, Honda K, McHugh TJ, Takumi T. A common epigenetic mechanism across different cellular origins underlies systemic immune dysregulation in an idiopathic autism mouse model. *Mol Psychiatry* 27, 3343-3354, 2022.
 3. Lin CW, Ellegood J, Tamada K, Miura I, Konda M, Takeshita K, Atarashi K, Lerch JP, Wakana S, McHugh TJ, Takumi T. An old model with new insights: endogenous retroviruses drive the evolution toward ASD susceptibility and hijack transcription machinery during development. *Mol Psychiatry* 28, 1932-1945, 2023.
 4. Nakai N, Sato M, Yamashita O, Sekine Y, Fu X, Nakai J, Zalesky A, Takumi T. Virtual reality-based real-time imaging reveals abnormal cortical dynamics during behavioral transitions in a mouse model of autism. *Cell Rep* 42, 112258, 2023.
 5. Sato M, Nakai N, Fujima S, Choe KY, Takumi T. Social circuits and their dysfunction in autism spectrum disorder. *Mol Psychiatry* 28, 3194-3206, 2023.
 6. Kaizuka T, Hirouchi T, Saneyoshi T, Shirafuji T, Collins MO, Grant SGN, Hayashi Y, Takumi T. FAM81A is a postsynaptic protein that regulates the condensation of postsynaptic proteins via liquid-liquid phase separation. *PLoS Biol* 22, e30020006, 2024
 7. Kaizuka T, Suzuki T, Kishi N, Tamada K, Kilimann MW, Ueyama T, Watanabe M, Shimogori T, Okano H, Dohmae N, Takumi T. Remodeling of the postsynaptic proteome in male mice and marmosets during synapse development. *Nat Commun* 15, 2496, 2024.

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

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。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* の発現を光操作する。細胞増殖や細胞分化を誘導して RNA シークエンス解析や ATAC-seq 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、クロマチン構造の変化を解析する。

結果と考察

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。光照射開始後から様々なタイムポイントにおいて細胞を回収して 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。*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、GO 解析を実施した。このような解析から、*Ascl1* 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。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、*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恒常的に起きていることを明らかにした。

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。*Ascl1* の振動発現と蓄積発現の違いが、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。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。今後は脳全体を3次元画像で観察することにより、光操作あるいは薬剤投与を行なったマウス脳において新生ニューロンの分化、移動様式等を観察する必要があると考えている。

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

Systematic studies and modeling of neuropsychiatric and muscular diseases based on genome editing technology

Mikio Hoshino, M.D. Ph.D.

Department of Biochemistry and Cellular Biology, National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP)

[Purpose of the study]

The recent progress in genome editing technology allows us to rapidly and systematically generate animal models for diseases. Now that many of causative genetic elements for various muscular, neurological and psychiatric diseases have been identified in genome-wide association studies, it is highly expected that those elements, if evaluated in animal models, could stand as immediate targets for diagnosis and therapy. However, studies and modeling of neuropsychiatric and muscular diseases are still in an immature state and little is established to treat those diseases by regenerative means of medicine.

Based on useful information accumulated in the bioresource bank of NCNP, a novel platform for big data analyses, and our advanced protocols for genome editing, our group aims at development of various useful animal models for neuropsychiatric and muscular diseases to better understand the intricate pathology.

[Members]

Chief scientist: Mikio Hoshino (NCNP)

Shared scientists: Takayoshi Inoue (NCNP), Satoru Noguchi (NCNP), Mitsuhiro Yamada (NCNP), Hiroki Furuie (NCNP), Tomohiro Kabuta (NCNP), Shuji Wakatsuki (NCNP), Yoshitsugu Aoki (NCNP), Rieko Muramatsu (NCNP), Eisuke Dohi (NCNP), Yuichi Yamashita (NCNP), Masaki Iwasaki (NCNP), Satoshi Miyashita (Niigata University, NCNP), Yoshitaka Nagai (Kindai University), Kinichi Nakashima (Kyushu University), Toru Takumi (Kobe University), Mayumi Yamada (Kyoto 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 over three hundreds of disease model mouse lines. Dr. Iwasaki's group surgically collected human brain samples from epileptic patients in NCNP hospital in an ethically approved manner to establish the useful bioresource bank.

As for studies and modeling of psychiatric diseases, Dr. Hoshino's group revealed complex gene regulatory features for the autism spectrum disorder (ASD),

schizophrenia, attention deficit hyperactivity disorder, substance dependence and mental retardation related gene locus, *Auts2*. They also found out three types of human disease associated missense mutations in *DSCAML1*, the causative gene for epilepsy and modeled the mutations by knock-in mice. Dr. Mi Yamada and Furuie's group tried to generate various schizophrenic model mice based on the GABA hypotheses for effective drug screenings. Dr. Kabuta's group investigated the RN/DNautophagy system to find out the essential function of DNA/RNA transporters in lysosomes. Dr. Nakashima's group showed ideal ways in investigating complex mechanisms of neuropsychiatric diseases such as ASD, Rett syndrome, bipolar disorders and mental retardation. Dr. Takumi's group shared the useful information in editing huge genomic territory to recapitulate intricate ASD pathology with us.

Regarding studies and modeling of neurological diseases, Dr. Wakatsuki's group revealed possible roles of *ZNRF1*, *NHE5* and vault RNAs in neural circuit formation, maintenance and modification. Dr. Muramatsu's group screened molecules involved in neural circuit repair processes to identify several candidates. Dr. Nagai's group established the useful fruit fly bank for the modeling of various neurodegenerative diseases and clarified the correlation between GGGGCC repeat elongation and amyotrophic lateral sclerosis pathology in the fly model. Dr. Ma Yamada's group focused on the transcriptional cascade for mouse adult neurogenesis and visualized the process *in vivo* by means of CRSIPR/Cas9 based genome editing methods to finally achieve the optical control of adult neurogenesis. Dr. Dohi tried visualization of Extracellular Vesicles *in vivo* to elucidate the novel ways of brain-tissue communication machinery.

For muscular diseases, Dr. Noguchi's group comprehensively modeled mutations identified from various familial muscular diseases by using the CRSIPR/Cas9 system. Dr. Aoki's group successfully generated transgenic mouse lines to reliably monitor exon-skipping efficiency of Dystrophin gene *in vivo* and established the screening platform for nucleic acid medicine to treat Duchenne muscular dystrophy (DMD). They also tried to understand molecular pathology of DMD associated neuropsychiatric diseases.

As for in-silico and artificial intelligence (AI) based studies, Dr. Yamashita's group established protocols allowing effective extraction of feature values in using the deep neural network-based AI from various high dimensional medical bigdata such as chronologically changing brain waves and fMRI images. Dr. Miyashita's group found out a new method for the dimensional compression in analyzing variety of single cell RNA-seq data to better specify human epileptic pathology from NCNP brain bank and composition of interneurons in the mouse cerebellum.

We held the annual meeting where the results of our research were reported on Oct.19, 2023. 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

部長 佐藤 典子

1. 総括研究報告

(1) 研究目標

中枢疾患の画像研究において、MRI の 3D-T1 強調画像（構造 MRI）を用いた脳の標準化、MRI や PET の新しい撮像方や解析法の開発、そしてそれらの臨床応用研究を行う。これらの研究により多施設共同研究に貢献し、新たな中枢神経疾患の病態解明やバイオマーカーを創出することを目的とする。

＜脳画像の標準化＞

成人における構造 MRI を用いた代理バイオマーカーとして、年齢・性別・頭蓋内容積および MRI 撮像装置の磁場強度の因子を考慮した Harmonized Z-score を提案する。またこの手法を、日本においては未開発分野の小児の正常脳のデータベース作成にも応用する。そして成人のみならず小児においても、撮像機種間の補正が可能な性別・年齢別の詳細な脳形態の基準値を確立し、多施設で活用するための基盤を創出する。

＜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。Functioning MRI (fMRI) 研究では、脊髄神経活動イメージング技術を用いた運動感覚脳脊髄伝導路のマッピング技術を開発し、神経精神疾患で見られる運動機能障害、慢性疼痛、幻痛など感覚障害の評価法を確立する。統計解析手法の開発では、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 を用いた臨床研究＞

構造 MRI のデータ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。また拡散テンソル画像を用いた自由水イメージングなどの新しい解析手法を応用して慢性疲労症候群の病態を模

索する。

＜PET を用いた臨床研究＞

アミロイド PET やタウ PET での定量解析法を開発し、それらの PET データと、構造 MRI を用いたネットワーク解析とを組み合わせた相関解析を行い、AD 病理を探索する。脳内ミクログリアの活性を反映する [11C]DAA1106 のトレーサーを用いた脳内神経炎症 PET 検査を立ち上げて環境を整備し、健常者、慢性疲労症候群や気分障害患者等のデータを収集し、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
川口 淳 佐賀大学医学部

塩浜 直 千葉大学医学部附属病院

阿部 十也 国立精神・神経医療研究センター

沖田 恭治 国立精神・神経医療研究センター

木村 有喜男 国立精神・神経医療研究センター

研究協力者

重本 蓉子 国立精神・神経医療研究センター

真木 浩行 国立精神・神経医療研究センター

池之内 穰 国立精神・神経医療研究センター

宮城 賢治 国立精神・神経医療研究センター

釈迦堂 充 国立精神・神経医療研究センター

中谷 元 順天堂大学医学部附属順天堂医院

舞草 伯秀 東京大学医学部附属病院

石久保 洋子 国立精神・神経医療研究センター

加賀谷 理紗 国立精神・神経医療研究センター

草間 緑 国立精神・神経医療研究センター
田丸 武志 国立精神・神経医療研究センター
池田 憲昭 国立精神・神経医療研究センター
太田 深秀 国立大学法人筑波大学医学医療系
佐島 和晃 東京医科歯科大学大学院
澤田 大輔 千葉大学大学院医学研究院小児
萩原 翔 千葉大学医学部附属病院
内田 智子 千葉大学医学部附属病院
吉井 祥子 千葉大学大学院医学研究院小児
齋藤 千尋 千葉大学医学部附属病院
茂呂 美奈子 千葉大学大学院医学研究院小児
小倉正人 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
石丸 悠子 佐賀大学附属病院臨床研究センター

(3) 研究成果

<脳画像の標準化>

成人脳において、3T と 1.5T の構造 MRI データ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。この手法にて異なる磁場強度のデータを用いても、高精度に AD と軽度認知症 (MCI) 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。

小児脳において、日米 5 施設から 6 歳以上 18 歳未満の正常発達児の 846 例の構造 MRI 画像を集積し、解剖学的構造解析により 36 領域の脳容量を算出した。撮像機種間バイアスは、各領域の測定値を年齢・性別を共変量とした経験的ベイズ法の一つである ComBat-GAM に基づき統計的に統合した。またこの基準値に基づき、巨脳症性疾患、Rett 症候群について、Zスコアで評価して各疾患の脳形態の特徴を検出することが可能だった。

<新たな撮像法と解析手法の開発>

パーキンソン病などの診断に有用とされる神経メラニン画像は、一般的に T1 強調画像に MT パルスを負荷する手法を用いている。しかし脂肪抑制画像 CHESSE 法に、さらに脳内の脂肪信号を完全にゼロにする STIR 法を組み合わせた SPIR 法が、MT よりも短い時間で全脳をカバーし、かつ高い S/N 比を示す優れた撮像法であることを示した。

fMRI 研究では、脳脊髄神経活動を一気通貫型にマッピングできる撮像技術・解析パイプラインを確立した。本邦は同技術を有する唯一の施設である。この技術をもとに脳刺激装置と組み合わせた脳脊髄運動伝導路の活動マッピング技術や、末梢刺激装置を用いて触覚、痛覚、振動覚の感覚上行路の活動マッピング技術を開発した。そして大脳一次運動野の他に脊髄前角の神経活動を、また脊髄後角、脳幹神経核、視床、皮質感覚野の神経活動を観察した。

マルチモダル脳画像解析として、複数のモダリティから得られる脳画像データから、一被検者あたり少数のスコアを算出し、そのスコアがより病態を反映するような解析法を開発した。そしてマルチモダル脳画像から、サブグループを同定するためのスコアを算出する方法を開発した。

<MRI を用いた臨床研究>

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。聴力、認知機能スケール、HbA1C とも関連が高かった。

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複数の血中抗自律神経受容体抗体値との相関解析を行った。 $\beta 1$ アドレナリン受容体抗体と自由水は右前頭弁蓋部に有意な負の相関を認め、ターゲット部位である可能性を示した。

<PET を用いた臨床研究>

アミロイド PET とタウ PET の定量ソフトウェアを開発し、アミロイド β 蛋白および 3R/4R タウ蓄積と構造 MRI から解析したネットワーク指標の関連解析をボクセル単位で行った。ハブ機能を示す媒介中心性画像では、両側楔前部と内側前頭前野にアミロイドおよびタウ蓄積と有意な負の相関が得られた。これらの領域は AD においてアミロイド蓄積が最初に起り、かつ Default mode network においてハブ領域として機能している部位である。また、ネットワーク密度を示すクラスター係数画像では、大脳辺縁系および視床前核に、ネットワーク効率を示す特異的経路長画像では、内側前頭前野に、いずれもアミロ

イドおよびタウ蓄積と負の相関がみられた。

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。健常者では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健常者と比較してミクログリア活性が低く、つまり免疫機能が健常者と比較して低下していることが示唆された。さらに気分障害患者を対象に、電気けいれん療法 (ECT) 前後の神経炎症 PET の評価を行った。治療前の患者において、健常者と比較してミクログリア活性が低く、治療後にミクログリア活性が高まることを示唆された。つまり慢性疲労症候群や気分障害患者においては、脳内免疫機能が低下しており、ECT が低下した免疫機能を活性化させた可能性が考えられる。

(4) 今後の研究の進め方について

画像の標準化の研究では、Harmonized Z-score を用いて、AD 以外の変性疾患においてもその有効性を検証し、その解析手法の標準化と臨床応用を広げる。小児脳においては、脳 MRI 定量解析のアンケート調査に基づき、小児脳における撮影プロトコルを可能な限り均一化して、日本人小児により特化した年齢別の脳形態基準値を作成していきたい。また疾患脳研究において遺伝子多型が脳形態に与える影響はまだ明確ではなく、国際的な脳データバンクや自験例の出生コホート研究データの解析を通して明らかにしたい。

新たな撮像法や解析手法の開発に関しては、まず MRI 神経メラニン画像であるが、小児から成人におけるコントロールデータを集積して臨床応用を行い、広く日常診療に寄与したい。fMRI に関しては、健常者で脳脊髄神経活動を一貫型にマッピングできる撮像技術・解析パイプラインを確立したので、病気モデルに応用展開する。具体的にはパーキンソン病の痛覚処理異常に関する研究を進める予定である。解析手法の開発では、マルチモダル脳画像解析の手法を用いて、パーキンソニズムや脊髄小脳変性症を対象に行う予定で、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。

MRI と PET を用いた臨床研究は、今後も AD、慢性疲労症候群、神経炎症疾患、気分障害の疾患を中心に行う予定である。AD においては、アミロイドやタウ蓄積が脳局所の MRI 構造ネットワ

ークに及ぼす影響が鮮明になってきた。今後はさらに症例数を増やして、逆に構造 MRI データからアミロイド蓄積やタウ蓄積を推定することが可能になると期待され、AD の疾患修飾薬の適応判断や予防医学にも大きく貢献すると思われる。脳内神経炎症 PET では、今後はさらに疾患群の被験者リクルートを進めていく。慢性疲労症候群や神経炎症疾患では神経炎症 PET と自由水や構造ネットワークなど新しい MRI の解析手法を組み合わせた研究を行っていききたい。そして気分障害患者にて ECT 前に低下していたミクログリアの活性が ECT 後に上昇した事実を示せたことは、精神科医療の最終兵器とも言える ECT が持つ高い治療効果の生物学的な基盤についての新たな知見を得られる意義ある研究であり、今後も継続して進めていきたい。

(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ルである。

(6) 3 年間の研究成果の発表

(主任研究者・分担研究者)

【原著論文】 計 (34) 件 ※3 年間を通して 10 件以内を記載

1. Shigemoto Y, Sone D, Okita K, Maikusa N, Yamao T, Kimura Y, Suzuki F, Fujii H, Kato K, Sato N, Matsuda H, Gray matter structural networks related to ¹⁸F-THK5351 retention in cognitively normal older adults and Alzheimer's disease patients, eNeurologicalSci, 2021, 22:100309, doi.org/10.1016/j.ensci.2021.100309 (査読有り)
2. 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)
3. 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)
 4. 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、*Journal of Personalized Medicine*、2022.09、1555、DOI: 10.3390/jpm12101555 (査読有り)
 5. 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*、2022.10.04、doi: 10.1007/s12149-022-01792-y (査読有り)
 6. Kawaguchi A、Network-based diagnostic probability estimation from resting-state functional magnetic resonance imaging、*Mathematical Biosciences and Engineering*、2023、20(10)、17702-17725. (査読有り)
 7. Shigemoto Y, Sato N, Maikusa N, Sone D, Ota M, Kimura Y, Chiba E, Okita K, Yamao T, Nakaya M, Maki H, Arizono E, Matsuda H、Age and Sex-Related Effects on Single-Subject Gray Matter Networks in Healthy Participants、*Journal of Personalized Medicine*、2023、13(3)、419、<https://doi.org/10.3390/jpm13030419> (査読有り)
 8. Shiohama T, Maikusa N, Kawaguchi M, Natsume J, Hirano Y, Saito K, Takanashi JI, Levman J, Takahashi E, Matsumoto K, Yokota H, Hattori S, Tsujimura K, Sawada D, Uchida T, Takatani T, Fujii K, Naganawa S, Sato N, Hamada H、A Brain Morphometry Study with Across-Site Harmonization Using a ComBat-Generalized Additive Model in Children and Adolescents、*Diagnostics (Basel)*、2023.08.27、13(17)、2774、doi: 10.3390/diagnostics13172774. (査読有り)
 9. Kimura Y, Sato W, Maikusa N, Ota M, Shigemoto Y, Chiba E, Arizono E, Maki H, Shin I, Amano K, Matsuda H, Yamamura T, Sato N、Free-water-corrected diffusion and adrenergic/muscarinic antibodies in myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome、*J Neuroimaging*、2023.09、33(5)、845-851、doi: 10.1111/jon.13128. Epub 2023 May 27. PMID: 37243973 (査読有り)
 10. Maki H, Mori-Yoshimura M, Matsuda H, Hashimoto Y, Ota M, Kimura Y, Shigemoto Y, Ishihara N, Kan H, Chiba E, Arizono E, Yoshida S, Takahashi Y, Sato N、Brain Abnormalities in Becker Muscular Dystrophy: Evaluation by Voxel-Based DTI and Morphometric Analysis、*AJNR Am J Neuroradiol*、2023.11.09、doi: 10.3174/ajnr.A8041. Online ahead of print. PMID: 37945525 (査読有り)
- 【総説】 計(15)件 ※3年間を通して10件以内を記載
1. 松田博史, 重本蓉子, 佐藤典子、脳構造コネ

- クトーム (brain structural connectome) 、
Clin Neuroscience、2021、39(8)、1048-1050
2. 川口 淳、脳画像データハーモナイゼーションにおける統計学的解析方法、日本磁気共鳴医学会雑誌、2022、42(1)、1-14
 3. 重本蓉子、松田博史、特集・認知症の画像診断アップデート 脳内ネットワーク解析、MEDICAL IMAGING TECHNOLOGY、2022、40(3)、103-107
 4. Shiohama T, Tsujimura K, Quantitative Structural Brain Magnetic Resonance Imaging Analyses: Methodological Overview and Application to Rett Syndrome、Front Neurosci、2022. 04. 05、16:835964 、 doi: 10.3389/fnins.2022.835964
 5. Tsujimura K, Shiohama T, Takahashi E, microRNA Biology on Brain Development and Neuroimaging Approach、Brain Sci、2022. 10. 09 、 1366 、 doi: 10.3390/brainsci12101366
 6. 塩浜直、脳 MRI 定量解析の臨床応用への展望、日本小児科学会雑誌、2023、125(12)、1644-1654
 7. 阿部十也、特集 脳損傷後の神経可塑性変化 Up To Date 脳梗塞後の運動麻痺の機能回復と関係する神経可塑性変化一サルの知見とヒト脳機能イメージングから得た知見一、The Japanese Journal of Rehabilitation Medicine、2023、60(9)、792-798
 8. 松田博史、SPECT・PET Alzheimer 病 (AD)、Clinical Neuroscience、2023、41(9)、1157-1161
 9. Matsuda H, Yamao T, Tau positron emission tomography in patients with cognitive impairment and suspected Alzheimer's disease、Fukushima J Med Sci、2023 、 69(2) 、 85-93 、 doi: 10.5387/fms.2023-08.
 10. 木村有喜男、筋痛性脳脊髄炎と慢性疲労症候群：画像診断 特集 I 筋痛性脳脊髄炎と慢性疲労症候群、科学評論社、2023. 11、99(5)、55-60
- 【著書】 計 (6) 件 ※3年間を通して10件以内を記載
1. Kawaguchi A、CRC Press、Multivariate Analysis for Neuroimaging Data、2021
 2. 佐藤典子 (章編者)、秀潤社、間脳・下垂体系 トルコ鞍・傍鞍部 脳神経画像解剖ナビゲーション 岡本浩一郎編、2022、225-257
 3. 高橋晶、住田薫、佐藤典子、ぱーそん書房、神経軸索スフェロイド形成を伴う遺伝性び慢性認知症 血管内リンパ腫 こう読む認知症 原因診断のための脳画像 第2版 松田博史・朝田隆編、2022、114-120、322-327
 4. Matsuda H, Shimosegawa E, Shigemoto Y, Sato N, Fujii H, Suzuki F, Kimura Y, Sugiyama A, John Wiley & Sons Ltd., Diseases of the Central Nervous System. Radiology-Nuclear Medicine Diagnostic Imaging: A Correlative Approach、2023. 04. 07、163-193. <https://doi.org/10.1002/9781119603627.ch5>
 5. 松田博史 (共著)、中山書店、形態画像バイオマーカー精神疾患の臨床5 神経認知障害群書名、2章 認知症の診断バイオマーカー、2023. 05. 25、144-151
 6. Ishimaru and Kawaguchi A、Advances in Health and Disease、Subgroups Identification using Biomarkers from Multi-modal Brain Imaging、2023. 07、Volume 78
- 【学会発表】 計 (51) 件 ※3年間を通して10件以内を記載
1. 田尻涼、川口淳、異種脳画像統合解析のためのネスト成分法、日本計算機統計学会第35回大会、大分、2021. 06. 03、口頭
 2. 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、大規模健常データベースを用いたHarmonized Z-scoreによるAD代理バイオマーカーの検討、第40回日本認知症学会学術集会、東京、2021. 11. 26-2021. 11. 28、ポスター

3. Matsuda H, Hanyu H, Kaneko C, Centiloid scale measure of amyloid PET by CT-guided anatomic standardization, AAIC 2022, SanDiego, 2022. 07. 31、ポスター
 4. Shigemoto Y, Sato N, Maikusa N, Kimura Y, Chiba E, Ohnishi M, Nakaya M, Matsuda H, The chronological/brain-age and gender effects on structural gray matter brain networks, The Alzheimer's Association International Conference, USA, 2022. 08. 03、ポスター
 5. 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、BPCNP4学会合同年会、東京、2022. 11. 04、ポスター
 6. 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、東京、2022. 11. 25、ポスター
 7. 塩浜直, 舞草伯秀, 川口将宏, 夏目淳, 平野好幸, 齋藤慶斗, 高梨潤一, Levman Jacob, 高橋恵美, 松本浩史, 服部真也, 横田元, 辻村啓太, 澤田大輔, 内田智子, 高谷具純, 佐藤典子, 濱田洋通, MRI 機種間補正が可能な小児脳容量の基準値の創出、第126回小児科学会、2023. 04. 16、口頭
 8. 時村瞭, 阿部十也, 宇川義一, 小玉聡, 代田悠一郎, 濱田雅, 戸田達史、脳・脊髄同時記録機能的MRIを用いたヒト手指運動制御の観測、第64回日本神経学会学術大会、千葉、2023. 05. 31-2023. 06. 03、口頭
 9. Yamao T, Miwa K, Kaneko Y, Takahashi N, Miyaji N, Ito H. Matsuda H, Deep learning-based fully automatic approach to predict amyloid PET centiloid scales, SNMMI 2023, Chicago, 2023. 06. 25、ポスター
 10. Shiohama T, Maikusa N, Kawaguchi M, Natsume J, Hirano Y, Saito K, Takanashi JI, Levman J, Takahashi E, Matsumoto K, Yokota H, Hattori S, Tsujimura K, Sawada D, Uchida T, Takatani T, Fujii K, Naganawa S, Sato N, Hamada H, Across-site harmonization of brain morphometry in children and adolescents, The 18th congress of Asian Society for Pediatric Research (ASPR)、Web、2023. 11. 15、口頭
- 【講演会、一般向けシンポジウムなど】 計(21)件 ※3年間を通して10件以内を記載
1. Matsuda H, Reading and quantification of Amyloid PET, Emirates Interanational Virtual Conference in Nuclear Medicine, Molecular Imaging, and Theranostics, Web, 2021. 09. 25
 2. Matsuda H, Quantitative evaluation and its clinical impact of amyloid PET, The 5th Conference of Asia-Pacific Aging Protection, Kaoshung, web, 2021. 12. 19
 3. 塩浜直, 吉田健司, 村松一洋、実践教育セミナー6 エキスパートと話す小児神経科医についての医学研究—小児神経科医の目指す 医療と医学研究の将来— 2. 小児神経研究 脳画像研究のすゝめ (脳と発達 2022;54:S44)、第 64 回日本小児神経学、2022. 6. 5
 4. 佐藤典子, 藤井裕之, 鈴木文夫, 木村幸喜男, 飯島圭哉, 岩崎真樹、LEAT における遺伝子と画像所見の検討、第 55 回日本てんかん学会学術集会 シンポジウム 6 混乱する low-grade epilepsy-associated neuroepithelial tumors (LEAT) の概念、仙台、2022. 09. 20
 5. 木村有喜男、“NCNP 発”の読影に役立つ所見たち、第 14 回 NIRC (Neuro-Imaging Refresher Club)、Web、2022. 11. 06
 6. 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. 11. 24
 7. 佐藤典子, 木村有喜男, 重本蓉子, 千葉英美子, 松田博史、神経放射線領域における NCNP の画像研究における貢献、第 52 回日本神経放射線学会、東京、2023. 02. 18

8. Matsuda H, AT(N) profiles using amyloid and tau PET in patients with cognitive impairment and suspected Alzheimer's disease、Joint Symposium on Nuclear Cardiology and Neurology、Taiwan Society of Nuclear Medicine 2023、Taipei、2023.04.29
9. 塩浜直、シンポジウム 16 神経放射線医学の最先端と小児:小児科領域における脳MRI 定量解析の臨床応用、第 65 回日本小児神経学会、岡山県、2023.5.27
10. Matsuda H、Diagnosis of Alzheimer's disease by amyloid and tau positron emission tomography、Frontiers in Dementia Research-Master Lectures、Taipei Medial University、Web、2023.09.08

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

構造 MRI 解析の標準化と臨床応用に関する研究

分担研究者氏名：佐藤典子

分担研究者所属：国立精神・神経医療研究センター・放射線診療部

【緒言】

3DT1 強調画像（構造 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。また MRI 神経メラニン画像はパーキンソン病 (PD) などの診断に有用であるが、日常診療で使用するには限られた時間での撮像が求められ、未だ十分な画質は得られていない。我々は新たな神経メラニンの撮像法を開発し、最適な撮像法を提唱する。

【対象と方法】

① 構造 MRI を用いた能の標準化
国立精神・神経医療研究センターにおいて取得された 1131 名の健常ボランティアの 3T MRI 3DT1 画像および J-ADNI データベースで公開されている健常高齢者の 1.5TMRI 3DT1 画像から 133 の解剖学的関心領域を独自の画像処理アルゴリズムで分割した。年齢・性別・頭蓋内容積・MRI の磁場強度の影響を一般線形モデルにより推定・除去し、これらの因子に不変な Harmonized Z-score を求めた。また縦断的解析と横断的解析の比較検討を行うに当たり、J-ADNI データセットより、AD への Convert が見られる Progressive MCI(pMCI)群と Convert が観測されなかった Stable

MCI(sMCI)群のデータを取得した。2 時点画像から得られる脳萎縮マップを作製し、多時点での平均脳萎縮率を各脳領域において算出した。さらに機械学習法により、sMCI 群と pMCI 群の識別予測を行った。学習器は Support Vector Machine (SVM), XGBoost, Logistic Regression, Gaussian Naive Bayes (GNB)を用い、交差検証法は Leave One Out を用いた。

②新たな神経メラニン画像の開発

22 歳から 64 歳までの 30 例の男女の正常健常者を対象に、3 DT1WI に従来の MT を印加した画像と、3 つの異なった FA (19°, 22°, 25°) を用いた SPIR 画像の計 4 つの撮像を行った。黒質、青斑核、そして信号比の対象として上小脳脚交差のそれぞれに ROI を設定・計測し、黒質と青斑核のコントラストの評価を、視覚的、および定量的に比較検討を行った。

【結果】

①の研究では右海馬の Harmonized Z-score を用いた場合、AD vs NL で AUC=0.96 および sMCI vs pMCI で AUC=0.70 と高い精度で識別可能であった。さらに 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行った縦断的比較では、MCI 群と健常群および AD 病群と健常群の間で、横断的比較で検出した左右海馬および左側頭極の領域に加えて、左右尾状核および左右 Planum Polare でも有意差が認められた。さらに横断的比較では、MCI 群と健常群および AD 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。そして機械学習法による sMCI 群と pMCI 群の識別予測であるが、初回 Visti を用いた横断的検討では SVM が最も高い予測精度を示し Accuracy:0.696, AUC:0.716 であった。縦断的検討では、XGBoost が最も高い精度を示し、AUC:0.824, Accuracy:0.774 の結果を得ており、横断的結果を増強した結果となった。

②の神経メラニン画像での撮像法の検討で

は、視覚的評価では黒質において SPIR FA19° と SPIR FA 22° が優位に優れ、青斑核では SPIR FA 22° が最も優れていた。定量評価では黒質において MT が他の3つの SPIR よりも優位に低下し、青斑核ではいずれも有意差は出なかった。

【討論】

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。これにより年齢や磁場強度などによらず、AD と MCI を高精度で識別することができた。海馬の萎縮は AD においてよく知られているが、側頭極の萎縮も同様に AD の診断に優位な部位であり、さらに縦断的比較では尾状核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。尾状核の萎縮は 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】

本研究の成果より年齢・性別・頭蓋内容積・MRI の磁場強度に不変な代理バイオマーカーが算出可能であり、Harmonized Z-score が解析手法の標準化と臨床応用に有効であることが示された。また AD の発症予測には縦断的な脳体積の計測が重要であるという知見を得た。そして機械学習により進行型 MCI の識別 さらに神経メラニン画像では、従来の MT パルスをかける方法よりも、周波数選択的な脂肪抑制画像 CHES 法にさらに脳内の脂肪信号を完全にゼロにする STIR 法を組み合わせた SPIR 法が、MT よりも優れていることを示した。この方法は短い時間で全脳をカバーし、かつ高い S/N 比を示す優れた神経メラニン撮像法である。

【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.

1. Johnson W E, Cheng L, Rabinovic A: Adjusting batch effects in microarray expression data using empirical Bayes methods. *Biostatistics* 8(1), 118-127, 2007
2. Fortin JP, Parker D, Shinohara RT et al.: Harmonization of multi-site diffusion tensor imaging data. *NeuroImage* 161, 149-170, 2017
3. Fortin JP, Cullen N, Shinohara RT et al.: NeuroImage Harmonization of cortical thickness measurements across scanners and sites. *NeuroImage* 167, 104-120, 2018

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ため、多施設共同研究が困難なことが要因と考えられる。本研究の目的は、撮像機種間の補正が可能な小児脳の基準値を確立し、将来的に様々な先天異常症候群の研究に応用可能な基盤とすることである。

【方法】

本研究では、基礎疾患のない小児の 3D-T1 強調画像を撮像し、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、CIVET のプログラムを用いて Voxel 法で解析を行う。

【結果】

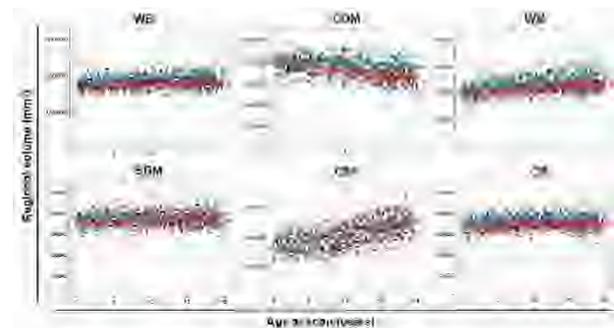
日米 5 施設より 846 画像 (6 歳以上 18 歳未満の正常発達児) を集積した。優先すべき解析対象として、代表的な 36 領域の脳容量について、CIVET を用いた Voxel 法で 36 領域の脳容量を算出した。多施設共同研究に由来する MRI 撮像機種間のバイアスの発生に対しては、各領域の測定値を年齢と性別を共変量として経験的ベイズ法に基づいて統合することで克服した。6 歳後の小児期では、皮質厚の変化が非線形性を有するため、非線形な GAM モデルである ComBat-GAM 法による Harmonization を用いた。この測定値をもとに年齢・性別毎の平均値と標準偏差を創出した。

補正後の性別毎の脳容量を男・女の順に、平均 [標準偏差] で示す。全脳 1902 [163]・1747 [138] cm³; 大脳皮質 778 [71]・692 [80] cm³; 大脳白質 481 [62]・432 [51] cm³; 基底核/脳弓 38 [3]・36 [3] cm³; 脳室系 419 [90]・416 [83] cm³; 小脳/脳幹 185 [15]・170 [14] cm³。また各領域の左右差について Laterality index 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。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)、Rett 症候群 4 例、正常対照例 4 例を解析して、Z スコアで評価した。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】

撮像機種間の補正が可能な小児脳の基準値を作成して、脳容量異常を伴う先天異常症候群への適応が可能なことを報告した (参考文献 1)。副次的な業績として中枢性思春期早

発症の脳 MRI 定量解析について報告した(参考文献 2)。全国の小児神経専門医の所属施設を対象として、3D-T1WI、DTI、MRS についてのアンケート調査を行った。本邦における小児における脳 MRI 定量解析の現状把握を行うことで、多施設共同研究の基盤となる撮影条件の均一化につなげていきたい。現在、集計結果の発表を準備している。

【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 を報告した。

【参考文献】

1. Shiohama T, Maikusa N, (16 authors), Sato N, Hamada H. A Brain Morphometry Study with Across-Site Harmonization Using a ComBat-Generalized Additive Model in Children and Adolescents. *Diagnostics*. 2023;13:2774. doi:10.3390/diagnostics13172774.
2. Yoshii S, Takatani T, Shiohama T, et al. Brain structure alterations in girls with central precocious puberty. *Front Neurosci*. 2023;17:1215492. doi:10.3389/fnins.2023.1215492.

パーキンソン病と健常者のオフセット鎮痛効果の差異に関する研究

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病院 脳病態統合イメージングセンター

【目的】

ヒト中枢神経系は疼痛を自ら和らげる機構を持つ。例えば戦闘中の兵士が重傷にも関わらず痛みを感じないことがある。これは内因性疼痛抑制と言われ、この破綻は慢性疼痛の原因となる。パーキンソン病 (PD: Parkinson's disease) は運動障害を主徴とする神経変性疾患である。慢性疼痛の合併が多数報告されているが、その発症に先行して内因性疼痛抑制機構が障害されているかは未だ検証されていない。我々は慢性疼痛のない PD 患者においても内因性疼痛抑制機構の障害があることを実証する。その機構破綻と関係する神経回路を同定する。

内因性疼痛抑制系を評価する方法としてオフセット鎮痛刺激がある。オフセット鎮痛 (OA: Offset analgesia) とは、実験者が痛み刺激を与えている時に刺激の強度をわずかに低下させると、被験者の感じる痛みの程度が不釣り合いに大きく低下する現象のことである。我々は、PD 患者では内因性疼痛抑制系の障害を反映してオフセット鎮痛が起こりにくいと仮説を立てた。ここでは、オフセット鎮痛の減弱を行動学的に実証したことを報告する。内因性疼痛抑制機構の減弱を観察する脳脊髄 fMRI 技術の開発の現状を報告する。

【方法】

健常者 16 人、PD 患者 6 人を対象とした。両群に対して上肢の C6 領域に温熱疼痛刺激によるオフセット鎮痛刺激を与えた。被験者は痛みの程度を VAS (visual analogue scale) でリアルタイムに評価した。温熱疼痛刺激強度を低下させる前後の VAS の最大値と最小値の差を ΔOA とし、両群での ΔOA を welch

の t 検定を用いて検定した。

【結果および考察】

PD 患者群は健常者群と比べ、オフセット鎮痛が有意に減弱していた (ΔOA , 健常群, 5.6 ± 2.3 , PD 群, 2.3 ± 1.1 , ノンパラメトリック検定)。この結果は我々の仮説を支持した。PD は内因性疼痛抑制機構の中でも下降性疼痛抑制系や報酬系の異常が先行研究で指摘されている。今回の結果はそのような PD の病理を反映している可能性がある。さらなる研究により、PD 患者において慢性疼痛を発症するリスクの層別化や、PD の慢性疼痛に対する特異的な治療法の発見につながる可能性が示唆される。また、我々は脳脊髄同時撮像 fMRI 技術の確立に成功し、今回と同様の刺激パラダイムを用いた実験を行っている。現時点で健常群において、オフセット鎮痛刺激中の下行性疼痛抑制系や報酬系の神経活動を検出することに成功している。今後、fMRI にて PD と健常者でのオフセット鎮痛化の神経活動の差異を明らかにする予定である。

【結論】

PD 患者では健常者と比較してオフセット鎮痛が起きにくかった。これは PD の内因性疼痛抑制系の障害を反映していると考えられる。

非負行列因子分解を用いたマルチモダル脳画像に基づくデータ駆動型疾患サブタイプ同定法

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

【緒言】

高齢化社会における神経変性疾患の増加に伴い、脳疾患の早期発見と個別化された治療がますます重要となっている。MRIなどの画像診断技術の進歩により、脳の詳細な情報が非侵襲的に得られるようになり、治療法や介入戦略の向上が期待されている[Reddy 2023]。しかしながら、脳疾患の分類と治療法の選択は複雑であり、従来の手法では十分な精度と効率が得られないことがある。

Multiblock法は、異なる情報源からのデータを複数のブロックとして扱い、関連するデータブロックを同時に分析する手法であり、高次元の脳画像データを効果的に統合し、疾患のサブタイプを特定することができる。この手法は主成分分析(PCA)や部分最小二乗法(PLS)などの行列分解手法を基盤としており、高次元データブロック間の関連性や階層構造をモデル化し、データの複雑な構造を捉えることができる。また、Supervised Multiblock Sparse Multivariable Analysis (SMSMA)法を用いたスコアリング法は、脳領域間の関連を同定し、解釈に役立つ[Kawaguchi 2017]。本研究では、Multiblock Sparse Multivariable Analysis (MSMA)法と非負行列因子分解(NMF)を組み合わせたClustering Multiblock Sparse Multivariable Analysis (CMSMA)法を提案し、OASIS-3データセットを用いて脳疾患患者のサブグループ分類に応用することで、より効果的な診断と治療の実現を目指す。

【方法】

OASIS Brains Projectは、ワシントン大学アルツハイマー病研究グループによる脳の神経画像データセットであり、OASIS-3は、正常老化とアルツハイマー病の縦断的な神経画像、臨床、認知、バイオマーカーデータセットである。被験者は609名の認知的に正常な成人と、489名の認知機能低下段階

の被験者で構成されており、2,842のMRセッションが含まれている。本研究では、特に臨床認知症尺度CDR=0.5となる被験者を軽度認知障害(MCI)群として取り上げ、T1w、T2w、TSE、T2*w、minIP、SWIの6つのモダリティが全て撮像された165名(年齢平均74.60、標準偏差7.17;男性101名61.2%、女性64名38.8%)の被験者を解析対象とした。

画像解析では、Rソフトウェアを用いて前処理後にCMSMA法を適用した。前処理では、ANTsRパッケージの拡張であるextrantsrとneuronormパッケージを使用して脳画像を統一化した。次に、PCAにより各blockデータセットから主成分スコアを取得し、それらを集めてsuperデータセットを構築した。その後、NMFを用いて被験者をクラスタリングし、superデータセットを作成した。Blockレベルでは成分数を10に固定し、superレベルではクラスター数に応じて成分数を3とした。CMSMA法は、msmaパッケージの最新バージョン(Ver. 3.1以降)で実行可能である。コードの詳細は、[Ishimaru 24]を参照されたい。

ベースライン時のマルチモダル脳画像データから得られたスコアを用いて、CMSMA法により被験者を分類し、ベースライン以降のデータがある141名の被験者について評価を行った。被験者はベースライン時にCDR=0.5であり、その後の病態を“stable”(CDR=0.5のまま)、“worse”(CDRが1以上に増加)、“better”(CDRが0に減少)の3つのサブグループに分類した。CMSMA法によるクラスターと実際の病態の関連性をFisher直接検定法で統計学的に評価した。

【結果】

特定の成分に着目し、Blockレベルでのクラスタリング結果を紹介する。成分1に対するsuperレベルのスコアに基づくクラスタリング結果では、3つのクラスターに分類された。このスコアは、CMSMA法によってMCI患者を分類する有望なマーカーとして機能することが示唆された。次に、各クラスターを決定するsuperレベルの成分の重みについて、クラスター1では、TSEとSWIが正の関連で重要であり、T2w、T2*w、minIPが負の関連で重要であることが明らかになった。一方、クラスター2で

は T1w が正の関連で、クラスター3 では T1w が負の関連で圧倒的に重要であることが示唆された。また block レベルの成分の重みによって、特に認知症患者によく見られる症状である海馬付近の灰白質容積が小さくなっていることが強調された。クラスター結果と予後分類の関連については、クラスター2 は比較的予後が悪いサブグループであることが示唆された ($p=0.0238$)。さらに super スコアのヒートマップと block スコアのヒートマップを通じて、クラスター毎の症例の特性が視覚化された。これらにより、特定の脳領域の関与や予後の予測に対する重要な洞察が得られた。

【考察】

脳画像から得られるバイオマーカーを活用し、疾患のサブグループ分類に貢献できることを示した。さらに、次元縮小法を用いて計算コストを削減し、解析結果を解剖学的に解釈可能な形に還元することが可能であることを示した。今後は、最適な成分の選択や複数成分の統合など、より効果的なクラスタリング手法の開発が求められる。また、経時測定脳画像データのクラスタリング手法への展開が期待される。

【結論】

異なる情報源からのデータを統合し、脳疾患患者をサブグループに分類するための有力なアプローチとして、マルチモダルな脳画像データと行列分解に基づく Multiblock 法の組み合わせが有効である。これにより、脳疾患の診断と治療の精度の向上への貢献が期待される。

【参考文献】

[Ishimaru 2024] Ishimaru, Y, and Kawaguchi, A.: Subgroups Identification using Biomarkers from Multi-modal Brain Imaging, Advances in Health and Disease. Volume 79, Nova Science Publishers, 2024

[Kawaguchi 2017] Kawaguchi, A, and Yamashita, F.: Supervised multiblock sparse multivariable analysis with application to multimodal brain imaging genetics, Biostatistics 18.4: 651-665, 2017

[Reddy 2023] Reddy, G. V, et al.: Alzheimer' s Disease Recognition Applying Non-Negative Matrix Factorization Characteristics from Brain Magnetic Resonance Images (MRI), E3S Web of Conferences. Vol. 391. EDP Sciences, 2023

研究課題名:難治性てんかんに対する脳梁離断術の Glymphatic system への影響:DTI-ALPS を用いた検討

分担研究者:木村有喜男

研究協力者:佐藤典子、飯島圭哉、岩崎真樹
分担研究者所属:国立精神・神経医療研究センター病院放射線診療部

【緒言】

脳内の老廃物排泄機能とされる Glymphatic system (GS)仮説が提唱され、様々な研究が進められている。Diffusion tensor image along the perivascular space (DTI-ALPS)法は、DTIを用いて血管周囲腔の走行方法の水拡散能を非侵襲的に測定する方法で、GS機能を反映するとされる。難治性てんかんに対し脳梁離断術を施行された患者において DTI-ALPS を用いて GS 機能を評価した。

【方法】

2018年から2022年までの間に施行された脳梁離断術患者53名の中で、術前および術後初回MRI(手術から3か月以降6か月未満)を受けた患者から、明確な構造異常、占拠性病変、部分脳梁離断術、または32軸DTI(b 値=0, 1000s/mm²)未撮影の患者を除外し、最終的に23名(男性17名、女性6名;平均年齢7.2±5.0歳)を対象とした。ALPS-indexは側脳室体部外側の血管周囲腔方向に沿った水の拡散係数を測定することで求められ、左右をそれぞれ測定した。ALPS-indexは術前群と術後群(右側、左側、左右平均)の比較は対応のある t 検定を用いた。また、術前の左右、術後の左右もそれぞれ比較した。2回目のMRIとして、6~9か月のMRIも32軸DTIが撮影されていた12名ではALPS-indexを測定し比較した。 p 値<0.05を統計的に有意とした。

【結果】

右側、左側および左右平均のALPS-indexはいずれも術前に比べ術後に有意に低下していた。術前の左右、術後初回の左右のALPS-indexの

比較ではそれぞれ有意な差はなかった。2回目のMRIが評価できた12名については、術前や術後初回と比べ有意差はなかったものの、7名は術後初回と比べALPS-indexが上昇した。術後の経過において、ほぼ全ての患者で発作の減少または転倒発作の消失が確認された。

【考察】

脳梁離断術後にALPS-indexが低下することが確認された。脳間質液排出の停滞は術後変化として説明できるが、ALPS-indexの低下にも関わらず、症状が増悪した患者はいなかった。しかしながら、術後2回目に上昇する傾向があり、ALPS-indexの低下は一過性である可能性がある。

【結論】

脳梁離断術後にGS機能は低下するものの、症状との関連は認められない。その後は改善しており、GS機能の低下は一過性である可能性がある。しかしながら、症例数が限られており、かつ短期間での評価であるため、より多くの症例を対象とした長期追跡が必要である。

【参考文献】

1. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med.* 2012;15:147ra111.
2. Taoka T, Masutani Y, Kawai H, et al. 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
3. Zhang W, Zhou Y, Wang J, et al. Glymphatic clearance function in patients with cerebral small vessel disease. *NeuroImage* 2021;238:118257.

構造 MRI 解析の標準化と臨床応用に関する研究

分担研究者氏名：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。

【方法】

① アミロイド蓄積とネットワーク指標の関連解析

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 71 歳）の 32 人（男性 18 人、女性 14 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、および最短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を搭載しわれわれが独自に開発したアミロイド定量ソフトウェアである Amyquant にてセンチロイドスケールを算出した。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。本研究は一般財団法人脳神経疾患研究所の倫理委員会承認を得て各被験者から文書による同意を得て行った。

② アミロイドおよびタウ蓄積とネットワーク指標の関連解析

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 23 人の患者（男性 11 人、女性 12 人、72.1 ± 6.6 歳、MMSE 25.3 ± 2.1）に特異性の高い ¹⁸F-NAV4694 によるアミロイド PET およびアルツハイマー病における 3R/4R タウに蓄積する ¹⁸F-MK6240 によるタウ PET を特定臨床研究（量子科学技術研究開発機構臨床研究審査委員会）として行った。アミロイド蓄積量は Amyquant にて解析しセンチロイドスケールを求めた。タウ蓄積量は PET と同位置に登録された 3 次元 T1 強調画像の FreeSurfer 解析から得られた関心領域を組み合わせて側頭葉内側部、側頭頭頂葉皮質、および他の大脳皮質の 3 領域の関心領域を個々の症例で作製した、これらの 3 領域と小脳皮質を参照領域としてタウ PET 画像にて 3 領域およびこれらの領域を合わせた総 SUVR を求めた。①の研究と同様にグラフ理論で個々の患者のネットワーク画像を作製し、センチロイドスケールとタウ総 SUVR との相関解析を SPM12 により行った。

【結果】

①の研究ではノード数と脳年齢を共変量として解析すると、両側楔前部にアミロイド蓄積を示すセンチロイドスケールとハブ機能を示す媒介中心性に有意な負の相関が得られた ($t=3.31, p<0.005$)。また局所ネットワークの粗密度を示すクラスタ係数とは左海馬、左視床前核、および左頭頂葉に負の相関が得られた ($t=4.17, p<0.005$)。脳局所体積とアミロイドのセンチロイドスケールに有意の相関は認められなかった。

②の研究でもノード数と脳年齢を共変量として解析すると、左楔前部と左内側前頭前野にアミロイド蓄積およびタウ蓄積と媒介中心性に有意な負の相関が得られた ($p<0.005$)。さらに、左海馬傍回においてアミロイドおよびタウ蓄積とクラスタ係数に有意の負の相関が得られた ($p<0.001$)。アミロイド蓄積量とタウ蓄積量を合算すると左海馬傍回と左側坐核に有意の

負の相関が得られた ($p < 0.001$)。局所ネットワーク効率を示す最短経路長はアミロイドおよびタウ蓄積の増加に伴い左内側前頭前野で増加した ($p < 0.005$)。一方で、局所脳体積はタウ蓄積の増加にともない両側海馬で減少した。

アミロイドおよびタウ蓄積量と Mini-Mental State Examination (MMSE) スコアの関連を求めたところ、アミロイド蓄積と MMSE スコアに有意の相関は認められなかった ($R = -0.368$, $p = 0.083$)。また側頭葉内側部のタウ蓄積量と MMSE スコアにも有意の相関は得られなかった ($R = -0.286$, $p = 0.184$)。一方でタウの総 SUVr は MMSE と有意の逆相関がみられ ($R = -0.463$, $p = 0.025$)、特に大脳新皮質のタウ SUVr と MMSE に比較的高い逆相関がみられた ($R = -0.501$, $p = 0.014$)。

【討論】

今回アミロイドおよびタウ蛋白蓄積において構造ネットワーク異常が観察された楔前部はデフォルトモードネットワークにおいてハブ領域として機能する重要な部位であり、視覚、感覚、運動、注意の情報に関与する。同様にネットワーク異常がみられた内側前頭前野もデフォルトモードネットワークにおいてハブ領域として機能し、個人情報、自伝的記憶、将来の目標や出来事など、自己処理に関する意思決定、家族などごく親しい人に関する意思決定に関与する。また、この腹側部位はポジティブな感情情報と内的な価値ある報酬にも関与する。これらの楔前部や内側前頭前野はアルツハイマー病においてアミロイド蓄積が最初にかかる部位であり、糖代謝や血流低下がみられる部位でもある。今回、3DT1 強調画像による構造 MRI 解析により、糖代謝 PET と同様の所見が得られたことは萎縮情報しか提供できなかった 3 次元 T1 強調画像の新たな応用として興味深い。

【結論】

アミロイ β 蛋白およびタウ蛋白沈着は Default mode network や Papez 回路に影響を与える。構造 MRI により測定されるネットワー

ク指標からアミロイ β 蛋白およびタウ蛋白沈着量を推定できる可能性がある。大脳新皮質におけるタウ蛋白蓄積は認知機能と関連する。

【参考文献】

Matsuda H, Yamao T. Software development for quantitative analysis of brain amyloid PET. *Brain Behav.* 2022;12 (3) : e2499.

Matsuda H, Soma T, Okita K, et al. Development of software for measuring brain amyloid accumulation using ¹⁸F-florbetapir PET and calculating global Centiloid scale and regional Z-score values. *Brain Behav.* 2023;13(7):e3092.

Matsuda H, Yamao T. Tau positron emission tomography in patients with cognitive impairment and suspected Alzheimer's disease. *Fukushima J Med Sci.* 2023;69(2):85-93.

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)。ヒトの生体脳における神経炎症レベルの評価は、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使って PET 検査をおこなうことで技術的には可能である。本プロジェクトではそうした PET リガンドの一つである 11C-DAA1106 の合成を当センター内で可能とし、希少疾患を含む精神・神経疾患の病態の解明に貢献する体制を整備し、実際に疾患群を対象として研究をおこなった。本プロジェクトは大きく 3 つの研究プロトコルに分けられる。

【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 3.62 ± 1.34 、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: $r = -0.351$, $p = 0.05$)。年齢を重ねるとミクログリアの活性が低下することが示唆された。

研究②：Long COVID 群 3 名、ME/CFS 群 9 名が研究参加を完了した。灰白質全体で SUVR 値は 2.76 ± 0.96 で、研究①の健常群との比較では $t = 2.331$ $p = 0.03$ で、Long COVID および ME/CFS 患者は健常者と比較してミクログリア活性が低い、つまり免疫機能が健常者と比較して低下していることが示唆された。

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。また研究①の健常群と ECT 導入前の患者群と t 検定で比較したところ $t = 2.955$ $p = 0.01$ (等分散を仮定しない) で、患者において健常者と比較してミクログリア活性が低いことが示唆された。

【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 値が高まることが示されたことから、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。

プロジェクト全体を振り返ると、比較対照のための十分な健常者データを収集するという目標は達成できたが、研究②および③における疾患群の被験者リクルートは想定したようには進んでおらず、論文発表ができるだけの十分なデータを収集できたとはいえない。特に研究③は分担者が精神科病棟で勤務していることもあり、着実にリクルートを進めることができる上、ECT が持つ精神科医療の最終兵器とも言える高い治療効果の生物学的な基盤についての知見を得られる意義ある研究であり、今後も継続して進めることができることが望ましい。

【参考文献】

Rupprecht, R., Papadopoulos, V., Rammes, G., Baghai, T.C., Fan, J., Akula, N., Groyer, G., Adams, D., and Schumacher, M. (2010). Translocator protein (18 kDa) (TSPO) as a therapeutic target for neurological and psychiatric disorders. *Nat Rev Drug Discov* 9, 971-988.

Research on standardization and clinical application of brain imaging
and analysis methods for psychiatric and neurological disorders

Noriko Sato, MD, PhD

National Center of Neurology and Psychiatry

In imaging research for central disease, we will standardize the brain using 3D-T1-weighted MRI images, develop new imaging methods and analysis methods for MRI and PET, and conduct research on their clinical applications.

<Brain morphometric standardization> In the adult brain, we calculated a Harmonized Z-score that is invariant to MRI magnetic field strength, age, gender, intracranial volume, which can be used for multicenter imaging studies. In the pediatric brain, we determined the standard range of each regional brain volume by sex and age in neurotypical children by 846 images collected at 4 different institutions.

<Development of new imaging and analysis methods> In neuromelanin images, the SPIR method, which combines the fat-suppressed image CHESSE method with the STIR method that completely eliminates fat signals in the brain, showed better images with shorter acquisition time than MT method. Using the cortico-spinal functional MRI techniques that we developed, we started the experiment for the purpose of identifying pathological circuits underlying impairments in the endogenous analgesia systems. In multimodal analysis method, we presented a novel method for identifying disease subtypes using multimodal brain images. Application to brain disease data highlights the potential of derived scores for data-driven disease subtyping.

<MRI and PET clinical application> We examined the effects of amyloid and tau accumulation on indices derived from individual-level network analysis using structural MRI in patients with suspected Alzheimer's disease. Significant negative correlations between amyloid and tau accumulation and betweenness centrality/ cluster coefficient in the areas correlated with default mode network. In the study of neuroinflammation PET scan with ¹¹C-DAA1106, Long COVID/ME/CFS and mood disorder participants showed lower microglial activity compared to healthy controls. And the patients with mood disorder showed increased microglial activation after ECT. These results suggested that microglial activation does not necessarily denote neurotoxicity, rather beneficial immune function.

2 年 度 班

研究課題番号 4-1

研究課題名: アディクションの病態・症候・治療に関する包括的研究 (2年度班)

主任研究者名 松本俊彦

(1) 3年間の研究目標

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。

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つのセッション、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セッション】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セッション】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」(石井香織, NCNP 病院薬剤部)

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)

(2) 昨年度および本年度の(あるいは2年間の)研究成果

昨年度・本年度は、各分担研究課題において以下の成果が得られた。

- 「ギャンブル障害患者の臨床的特徴に関する研究」(常岡): 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。この目的を遂行するために、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、現在実施中である。2022年12月対象者リクルートを開始し、現在までに33名同意を取得し、情報収集を行っている。
- 「ギャンブル障害の病態に関する神経画像的研究」(村井): 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の解明を目的とする。研究方法としては、京都大学精神科ギャンブル障害外来治療プログラム参加患者を対象として脳画像・心理検査データを収集したうえで、対象を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とともに、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。今年度は、延べ6名のギャンブル障害患者群、3名の娯乐的ギャンブラー群、3名の健康対照群のデータを取得している。
- 「ゲーム障害の臨床的特徴に関する研究」(佐久間): 本研究の目的は2つあり、1つは、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ためのプログラムを実施し、治療効果を検証することであり、もう1つは、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ことである。研究方法としては、さいがた医療センター、向陽台病院および肥前精神医療センター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 名を対象として、質問紙票による自記式及び対面式尺度を用いて評価する方法を採用した。すでに研究計画を策定し、各医療機関における倫理委員会承認を得て、2023 年 12 月より調査を開始している。

- 「ゲーム障害の病態に関する神経画像的研究」(高橋)：本研究の目的は、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である。研究方法としては、東京医科歯科大学病院精神科ゲーム障害外来に受診したゲーム障害患者 20 例を対象として、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 の撮像を行い、年齢、性別をマッチさせた健常被験者との比較を行う。本年度までに健常者 20 名、患者 13 名の課題機能的 MRI の撮像を終了しており、予備的な解析では、渴望誘発動画では、健常者と比較してゲーム障害群では前帯状回、眼窩前頭皮質、外側前頭前野で反応が強くみられ、渴望抑制条件下では、ゲーム障害群では楔前部、後部帯状回、外側前頭前野の反応が低下していることが確認されている。
- 「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)：本研究での目的は、2000 年以降の覚醒剤使用障害患者の特性の経時的変化を分析することで、覚醒剤使用に対する社会的・医学的対策の有効性を検証することである。研究方法としては、「全国の精神科医療施設における薬物関連精神疾患の実態調査(実態調査)」の 2000 年から 2022 年までのデータベースを二次利用し、各調査年度の実態調査の回答率、報告患者数、患者特性の crude prevalence rate (CPR)、ならびに、各調査年によって異なる年齢構成による影響を調整し、CPR と APR の変化に対して Cochran-Armitage 傾向検定を行った。現在までのところ、逮捕を契機に治療を受ける患者の増加が確認されており、覚醒剤使用者を司法から医療につなげる社会的対策の有効性を示唆するデータと考えられる。
- 「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)：本研究の目的は、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。研究方法としては、NCNP 病院通院中の覚醒剤依存症患者を対象とし、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 PET を用いた D2 受容体結合能変化の評価、ならびに衝動性に関する神経心理学的評価を行う、というものである。現在までに 8 名の被験者が研究参加を完了し、予備的な形跡では、イストラデフィリン投与により覚醒剤使用障害の患者のドパミン D2 受容体密度が上昇している可能性、ならびに、感情調節の問題にも改善をもたらしている可能性を示唆する結果が得られている。
- 「市販薬使用障害の臨床的特徴に関する研究」(石井)：本研究の目的は、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である。研究方法としては、2016 年から 2022 年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のある患者を対象として、診療録からの転記による後方視的情報収集を採用した。現時点までに 90 例以上の市販薬使用障害患者データ収集・解析が終了しており、予備的解析により、患者の過半数は女性であ

り、10代や20代などの若年層が7割以上を占めていること、高学歴・非犯罪傾向であり、虐待・いじめの経験がある患者も4割以上いることなどが明らかになっている。

- 「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)：本研究の目的は、NMDA 受容体拮抗薬として知られるデキストロメトルファン(DXM)の中枢神経系での作用機序を、実験動物を用いて明らかにすることである。研究方法としては、(1) 様々な DXM 濃度 (4.6, 24.6, 61.4, 138.2, 184.3 mg/kg) を C57BL/6J マウスに腹腔内投与して行動実験を行い、(2)高濃度 DXM に嗜好性があるのかを調べるために、61.4mg/kg の濃度の DXM を用いて 2 瓶法により検証した。現在までに、DXM 濃度依存的に驚愕反応の増加とプレパルス抑制の減弱、DXM 濃度 184.3mg/kg 投与による死亡、DXM を含む水への嗜好が濃度依存的に上昇しないことが確認されている。
- 「NMDA 受容体機能解析のための細胞作成」(富山)：本研究の目的は、NMDA 受容体発現細胞を作成し適切な評価法の確立を行った。研究は、2つのパートから構成されており、第1のパートでは、テトラサイクリン添加によって NMDA 受容体が発現する細胞株の樹立を行ない、現在までに HEK-NR2A と HEK-NR2B 細胞の維持培養を行うことができている。第2のパートでは、NMDA 受容体機能と薬物による阻害作用に着目して、1) オートパッチクランプ法による活動電位の測定、2) 陽イオン感受性蛍光色素による細胞膜電位変化の定量、3) Ca²⁺選択的蛍光色素による細胞内 Ca²⁺の定量とを比較検討を行っている。

(3) 今後の研究の進め方について

研究計画通りに研究を進めていく予定である。

(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)

本研究班における分担研究課題はいずれも分担研究者の所属施設、ならびに研究実施施設の倫理委員会の承認を得て実施中である。

(5) その他希望事項

アディクション分野における広範な領域をカバーする総花的な研究班であるが、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。より活発な研究活動を担保するためには十分な研究費が必要であり、研究費の金額決定にあたってはその点をご考慮願いたい。

(6) 本年度の研究業績 (主任研究者・分担研究者)

【原著論文】 計 (7) 件 ※5件以内を記載

1. Kondo A, Shimane T, Takahashi M, Kobayashi M, Otomo M, Takeshita Y, Matsumoto T: Sex differences in the characteristics of stimulant offenders with a history of substance use disorder treatment. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2023; 00: 1-9. <https://doi.org/10.1002/npr2.12357>
2. Katayama M, Sugiura K, Fujishiro S, Fujishiro S, Konishi J, Inada K, Shirakawa N, Matsumoto T: Factors influencing stigma among healthcare professionals towards people

- who use illicit drugs in Japan: a quantitative study. *Psychiatry Clin Neurosci Rep*. 2023; 2: e125. <https://doi.org/10.1002/pcn5.125>
3. Yuji Masataka, Takeshi Sugiyama, Yoshiyuki Akahoshi, Chihiro Nozaki, Toshihiko Matsumoto: Positive Urinalysis for Δ 9-tetrahydrocannabinol (THC) in Hexahydrocannabinol (HHC) Users A Cross-sectional Study. *Japanese Alcohol Study & Drug Dependence* 2023; 58(1): 23-30.
 4. Hirai Sayaka, Miwa Hideki, Shimbo Hiroko, Nakajima Keisuke, Kondo Masahiro, Tanaka Tomoko, Ohtaka-Maruyama Chiaki, Hirai Shinobu, Okado Haruo: Normal cortical laminar formation in RP58+/- mice. *Mol Psychiatry*. 2013; 28:2173.
 5. 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*. 2023; 28, 2370-2381.

【総説】 計 (14) 件 ※5件以内を記載

1. 佐久間寛之: 嗜癮性障害におけるとらわれ・こだわりの臨床と対応: 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. *精神科治療学*. 2023; 38(2): 219-24.
2. 小林七彩, 高橋英彦: 依存症と脳画像解析. *精神科*, 2013; 43(3): 1-5.
3. 沖田恭治, 松本俊彦: 物質およびアルコール使用障害の診断・治療において望まれる対応と検査. *精神医学* 2023; 65(6): 891-898.
4. 松本俊彦: 物質使用症の概念・症候・診断. *精神科治療学*, 2023; 38 増刊号: 84-88.
5. 沖田恭治, 石井香織: 市販薬使用症. *精神科治療学*, 2023; 38 増刊号: 178-183.

【著書】 計 (5) 件 ※5件以内を記載

1. 松本俊彦: 金剛出版, 薬物依存症地域支援の方法. こころの支援と社会モデル ト라우マインフォームドケア・組織変革・共同創造, 2023, 184-192.
2. 松本俊彦: 星和書店, 薬物依存症臨床における ADHD. 発達障害の精神病理Ⅳ-ADHD 編一, 2023, 65-87.
3. 松本俊彦: 中山書店, 1章 物質使用症群 物質使用症の病態 心理社会的視点. 講座 精神疾患の臨床 物質使用症又は嗜癮行動症群性別不合, 2023, 55-63.
4. 宇佐美貴士, 松本俊彦: 中山書店, 1章 物質使用症群 物質使用症各論 その他の物質使用症. 講座 精神疾患の臨床 物質使用症又は嗜癮行動症群性別不合, 2023, 207-216.
5. 松本俊彦, 田中紀子 監修: 風間暁 著: 学校で教えてくれない本当の依存症. 合同出版株式会社, 東京, pp1-233, 2023.

【学会発表】 計 (30) 件 ※5件以内を記載

1. Nanase Kobayashi, Daisuke Jitoku, Toshitaka Hamamura, Akio Yoneyama, Masaru Honjo, Genichi Sugihara, Hidehiko Takahashi: Difficulty in switching attention and its neural basis in problematic smartphone use; validation using a smartphone log application and brain MRI. *The International Behavioral Neuroscience Society (IBNS)*

Niagara Falls, 2023.6.27, Oral.

2. Ayumi Takano, Koki Ono, Makito Sato, Masaki Onuki, Jun Sese, Toshihiko Matsumoto: Impact of methamphetamine use on cardiovascular risk and sleep deprivation: objective assessment using wearable activity tracker and mobile application. The College on Problems of Drug Dependence (CPDD) 85th Annual Scientific Meeting, Colorado, 2023.6.20, Oral.
3. 沖田恭治, 佐藤典子, 木村有喜男, 重本蓉子, 釈迦堂充, 齊藤友美, 松本俊彦: アルコール使用障害を対象としたアミロイドPET/拡散尖度画像MRI研究. 2023年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 岡山, 2023.10.15. 口頭
4. 石井香織, 沖田恭治, 船田大輔, 勝海学, 松本俊彦: 国立精神・神経医療研究センターにおける市販薬使用障害患者背景の後方視研究. 2023年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 岡山, 2023.10.15. ポスター
5. 田中紀子, 松本俊彦, 常岡俊昭, 上村敬一, 金織来多: ギャンブル障害のスクリーニングツール「LOST」の有用性と妥当性に関する研究. 2023年度アルコール・薬物依存関連学会合同学術総会, 岡山, 2023.10.14. ポスター

【講演会、一般向けシンポジウムなど】 計（ 27 ）件 ※5件以内を記載

1. 佐久間寛之: 福井子どもこころの臨床研究会 特別講演会「ゲーム障害再考～嗜癖か、発達障害か、それとも大人のいらだちか～」、フェニックスプラザ(福井市). 2023.12.8
2. 佐久間寛之: 松原病院 公益事業講演会「ゲームを止めさせれば解決するの?～ゲーム障害を90分で理解する～」、福井県自治会館(福井市). 2023.12.9
3. 松本俊彦: 薬物依存症をもつ人を地域で支える. 東京大学医学部附属病院精神神経科主催 東京大学職域・地域架橋型 価値に基づく支援者育成Cコース, 東京, 2023.6.18.
4. 松本俊彦: 薬物依存症患者への対応の基礎 SMARPP の概要と改訂のポイント. 法務省矯正局成人矯正課 法務省保護局観察課共催 薬物依存対策研修, 東京, 2023.8.22.
5. 松本俊彦: 薬物依存の理解と援助. 厚生労働省医薬・生活衛生局監視指導・麻薬対策課中毒係主催 令和5年度再乱用防止対策講習会, 山形, 2023.10.18.

(7) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	出願年月日	国内・外国の別
〇〇の〇〇技術	〇〇 〇〇	NCNP	特許権、 特願 2020-.....	2021.6.1	国内

【取 得】 計（ 0 ）件

産業財産権の名称	発明者	権利者	産業財産権の種類、番号	取得年月日	国内・外国の別
なし				出願年月日	

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～治療法と司法制度の変化による影響～

松本俊彦(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所薬物依存研究部)

1. 背景と目的

薬物関連事犯の検挙人数の一位は覚醒剤であり、検挙者の6割以上が再犯者である。取締と刑罰では再犯者が減少しなかったため、2006年頃から覚醒剤使用者の社会復帰を促進する様々な社会的支援が行われた。同時期から医療現場において外来集団認知行動療法プログラムが開始され、全国の医療機関に広まった。本研究では2000年以降の覚醒剤使用障害患者の特性の経時的変化を分析することで、覚醒剤使用に対する社会的・医学的対策の有効性を検証する。

2. 方法

本研究では「全国の精神科医療施設における薬物関連精神疾患の実態調査(実態調査)」の2000年から2022年までのデータベースを活用した。研究実施にあたっては、国立精神・神経医療研究センター倫理委員会の承認を得た(A2020-042)。各調査年度の実態調査の回答率、報告患者数、患者特性の crude prevalence rate (CPR)を計算した。各調査年によって異なる年齢構成による影響を調整するために、2000年から2022年までの調査データは2022年の男女の年齢構成にしたがって年齢荷重調整し age-weighted prevalence rate (APR)を計算した。CPRとAPRの変化に対して Cochran-Armitage 傾向検定を行った。

3. 結果

2000年以降、実態調査の回答率は上昇傾向にあり、2012年以降は70%以上を超えた。報告された覚醒剤使用障害患者数は回答率の上昇以上に増加していた。男女ともに覚醒剤使用障害患者の年齢層は高齢化し、男性は女性よりも年齢層が高かった。男女ともにCPRとAPRが有意に増加傾向を示した患者特性は薬物関連逮捕歴、大麻乱用歴、1年間の覚醒剤断薬、依存症候群の診断、密売人からの覚醒剤入手だった。男女ともにCPRとAPRが有意に減少傾向を示した患者特性は精神病性障害の診断と覚醒剤の入手先不明だった。

4. 考察

治療を受ける覚醒剤使用障害患者数と薬物関連逮捕歴を持つ患者の割合は増加傾向にあることから、逮捕を契機に治療を受ける患者が増加したと考えられ、覚醒剤使用者を司法から医療につなげる社会的対策の有効性が示された。精神病性障害と診断される患者の割合が減少し、1年間の断薬を達成した患者の割合が増加したことから、精神病症状を生じる前に覚醒剤断薬に至る患者が増加したと考えられ、外来での依存症治療による医学的対策の有効性が示された。新たな問題として患者は高齢化し、大麻乱用を併存する患者が増加している。

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（BP_{ND}：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 D2 BP_{ND} 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。

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）を用いた D2 受容体結合能変化の評価に加え、衝動性と関連する神経心理検査 [Difficulties in Emotion Regulation Scale (DERS), Barratt Impulsivity Scale-11 (BIS-11) など] を行っている。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。

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

2023 年 12 月時点で、8 名の被験者が研究参加を完了した。

イストラデフィリンによる介入前後で背足線条体（尾状核+被殻）における D2 BP_{ND} の平均は介入前が 2.39 ± 0.38 、介入後が 2.53 ± 0.31 で、paired t 検定によれば $p=0.016$ と有意差を認めた。一方で腹部線条体（側坐核）においては介入前後の D2 BP_{ND} はそれぞれ 1.67 ± 0.29 と 1.75 ± 0.27

で前後比較の paired t 検定では $p=0.16$ で有意な変化は認めなかった。

また、感情制御の困難さの評価尺度である DERS では 103.88 ± 23.20 が介入後に 89.88 ± 25.03 となり paired t 検定では $p=0.049$ と統計学的に有意な変化を認めた。一方で BIS-11 では介入前後で 74.38 ± 8.19 と 73.13 ± 9.43 、 $p=0.44$ で差は認めなかった。

4. 考察

アデノシン 2A 受容体遮断薬、イストラデフィリンを 2 週間内服すること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。本研究ではコントロール群を設けていないため、薬理作用によるものか断定は出来ないものの、感情調節の問題についても改善をもたらしている可能性が示唆された。

現時点では研究参加を完了した被験者は 8 名に留まっているが、線条体 D2 BP_{ND} 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 15 例である。

市販薬使用障害の臨床的特徴に関する研究

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

市販薬は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を講じるための喫緊の課題と言える。

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。

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のある患者を対象に診療録より使用状況と患者背景を収集する。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. 研究結果

2023年12月時点で90例以上の市販薬使用障害患者データ収集・解析が終了した。

当院を受診した市販薬使用障害患者の過半数は女性であり、10代や20代など若年層が7割以上を占めていた。また、高学歴・非犯罪傾向であり、虐待・いじめの経験がある患者も4割以上いることが明らかとなった。

使用される市販薬成分は向精神薬作用を有する薬剤であり、過量服薬により救急搬送されたり処方されている薬剤を乱用したりするケースも5割弱見受けられた。

4. 結論

市販薬使用障害患者の背景を示唆するデータを得ることができたが、まだ全てのデータ解析が完了したわけではなく、今後更なる解析を行い臨床的特徴を明らかにするための情報を整理する予定である。本研究結果により今後の治療戦略や医薬品乱用の防止対策への有用な知見となる可能性がある。

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)

目的

世界的に、ケタミンやフェンサイクリジン(PCP)などと化学構造の類似した化合物(危険ドラッグ)の流通が報告されている。我が国では、幻覚作用を目的とした一部の市販薬乱用も社会問題となっている。これらの薬物による幻覚作用の発現は、イオンチャネル型グルタミン酸受容体(NMDA 受容体)の遮断によるものと考えられる。NMDA 受容体遮断による機能低下は、精神・神経活動異常の誘発や統合失調症様症状など引き起こす恐れがあるため、そのような薬物の適正な管理が必要となる。NMDA 受容体を標的とする薬物の薬理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、本研究で NMDA 受容体発現細胞を作成し適切な評価法の確立を行った。

研究 1 : NMDA 受容体発現細胞の樹立

NMDA 受容体を培養細胞に過剰発現させると Ca^{2+} の過剰流入によって、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 受容体が発現する細胞株の樹立を行なった。令和 5 年度までに HEK-NR2A と HEK-NR2B 細胞の維持培養が行えており、HEK-NR2C については細胞作成中で、NR2D に関しては、発現遺伝子の設計を行なっている段階である。

研究 2 : NMDA 受容体の機能評価

NMDA 受容体はイオンチャネル機能を持っており、グルタミン酸刺激によって細

胞内へ Na^{2+} や Ca^{2+} など陽イオン流入を引き起こす。取込まれた陽イオンによって活動電位が発生し、特に Ca^{2+} はセカンドメッセンジャーとして細胞機能の発現にも寄与している。この NMDA 受容体機能と薬物による阻害作用に着目して、1) オートパッチクランプ法による活動電位の測定、2) 陽イオン感受性蛍光色素による細胞膜電位変化の定量、3) Ca^{2+} 選択的蛍光色素による細胞内 Ca^{2+} の定量とを比較検討した。NR2B 選択的拮抗薬 Ro-25-6981 を用いて、HEK-NR2B の薬理的応答を上記 3 つの手法で確認した。Ro-25-6981 は、1) 濃度依存的に活動電位を抑制し、2) 細胞内への陽イオン取込みを抑制し、3) Ca^{2+} 注目してもその取込み阻害が確認できた。同様に、PCP においてもそれぞれの機能阻害が確認できた。HEK-NR2B において、受容体機能に着目したいずれの解析方法も薬物作用を反映する結果が得られたことから、適切な評価細胞であることが確認できた。一方で、パッチクランプ法は主要な活動電位測定法であるが、高度な技術と設備を要することから、薬物の迅速スクリーニングには向かない。今後は、簡便に行える(2)と(3)の選択的蛍光指示薬を用いた評価方法に絞り、危険ドラッグのスクリーニング評価を実施する予定である。

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。近年、市販薬の過剰摂取が問題となっている。NMDA 受容体拮抗薬として知られるデキストロメトルファン (DXM) が含まれる鎮咳薬の過剰摂取が問題となっているが、DXM の作用機序は不明な点が多い。本研究では、DXM の中樞神経系での作用機序を実験動物を用いて明らかにすることを目的とした。

【方法】

DXM の過剰摂取の影響を調べるために、以下の実験を行った。

- (1) Antoniou らの報告 (CMAJ, 2014) に従い、さまざまな DXM 濃度 (4.6, 24.6, 61.4, 138.2, 184.3 mg/kg) を C57BL/6J マウスに腹腔内投与し、行動実験 (驚愕反応及びプレパルス抑制試験、オープンフィールド試験) を行った。
- (2) 61.4mg/kg の濃度の DXM 投与時の脳内ドパミン及びセロトニン動態を測定するために、マイクロダイアリス法により側座核を標的として解析を行った。
- (3) 高濃度 DXM に嗜好性があるのかを調べるために、61.4mg/kg の濃度の DXM を用いて、2 瓶法により検証した。

【結果】

- (1) DXM 濃度依存的に驚愕反応の増加が見られ、DXM 投与時にはプレパルス抑制の減弱が観察された。オープンフィールド試験については解析途中であるが、高濃度 DXM 投与時には特徴的な行動が観察されているため、今後詳細な解析を行う予定である。また、DXM 濃度 184.3mg/kg 投与群では投与後 10 分以内に痙攣発作を起こし、死亡することを観察しており、実際の過剰摂取と同様の結果が得られた。
- (2) 61.4mg/kg 濃度の DXM 投与時に、セロトニンの増加が観察された。しかしながら、ドパミンの増加は観察されなかった。
- (3) まず、3 つの DXM 濃度 (4.6 mg/kg、61.4 mg/kg、138.2 mg/kg) について水との比較として、2 瓶法により検証した。その結果、濃度依存的に DXM を含む水を嗜好しない

ことが明らかになった。次に、DXM を含む実際の鎮咳薬はシロップなど甘味を追加した錠剤で提供されていることも考慮し、1% ショ糖水を用いて同様の実験を行ったが、DXM を含むショ糖水に嗜好性は観察されなかった。さらに、DXM 過剰摂取の環境因子としてストレス状況下ということを想定し、マウスを 4 時間拘束ストレスに置いたのちに、同様に検証して見たところ、DXM (61.4mg/kg) への嗜好性の傾向が観察された。

【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している。DXM の中樞神経系への影響は比較低濃度 (30mg/kg) での個体行動への影響しか報告がなく、過剰摂取に至る分子・細胞基盤の知見は不明な点が多い。現時点では、DXM 自体に嗜好性は認められず、ストレス下において嗜好性が増加傾向にあることからなんらかの外因によるものであると推測される。しかしながら、DXM 投与により驚愕反応の増加が観察されており、感覚過敏を生じていることが示唆される。それはマイクロダイアリス法によりセロトニン濃度の増加が観察されていることから、NMDA 受容体拮抗薬の効果よりも、LSD のような幻覚剤のような効果があるからではないかと推測している。この後、より詳細な解析を予定してそれらを明らかにしていく。

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、その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、やりがいを目的と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、向陽台病院および肥前精神医療センター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及び対面式尺度を用いて評価する。

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を評価する。

研究 2; プログラム参加を開始した 25 名を介入群、不参加の者 25 名を対照群とし、初診時、治療開始 6 か月後、治療開始 1 年後の 3 時点で評価する。

研究 3; 研究 2 と同時点で、家族の状況を評価する。

3. 結果

本年度は研究計画の策定および仮説設定と評価尺度の選定、研究タイムスケジュールの設定、各医療機関における倫理委員会申請と一部承認、及び調査開始（2023 年 12 月～）。

4. 考察

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られる。

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、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渴望誘発課題、渴望抑制課題を行う。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。

R5 年度は健常者および患者のリクルートおよび撮像を行う。

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

R5 年度は、健常者 20 名、患者 13 名の課題機能的 MRI の撮像を行った。予備的な解析では、渴望誘発動画では、健常者と比較し

てゲーム障害群では前帯状回、眼窩前頭皮質、外側前頭前野で反応が強くみられた。渴望抑制条件下では、ゲーム障害群では楔前部、後部帯状回、外側前頭前野の反応が低下していた。

4. 結論

患者の目標数は 20 例であり、令和 6 年度以降も引き続き残り 7 名のリクルート、データ収集を行う予定である。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。

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いにも関わらず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33名同意を取得し調査を行った。

33名は全員男性で平均年齢は37.6歳であった。JARTでの推定IQの平均は105.6、AQで33点を超すものはいなかった。SOGSの平均は14.1で回答した32名中全員が5点を超え、LOSTの平均は3.7で回答した31名中30名が2点を超えた。身体疾患を持つものは6名でギャンブル障害以外の精神疾患を合併する者は9名、ギャンブルに関して精神科に通院したことがあるものは7名で入院歴があるものはいなかった。16名がGAへの参加歴があった。生活環境は独居7名、家族と同居15名、施設入所中が9名であった。

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））

のため、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開始し、依存症専門医療機関申請に向けて院内での手続き中である。

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の解明を目的とする。

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、所属機関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9名のギャンブル障害患者群、3名の娯乐的ギャンブラー群、3名の健康対照群のデータを取得している。その一方で学外データを使用した臨床論文を出版した。

4. 結論

脳画像解析を施行するためにはデータ取得を継続する必要がある。データ取得加速

4-1

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.

In the second year of the research group, the following studies are progressing as planned.

Section 1: Project on the Clinical Characteristics and Pathophysiology of Addictive Behaviors.

1. "A Study of Clinical Characteristics of Patients with Gambling Disorders" examines the clinical characteristics and typology of the treatment course of patients with gambling disorders under treatment at Showa University Karasuyama Hospital by collecting forward-looking information.
2. "Neuroimaging Study of the Pathophysiology of Gambling Disorders" collects brain imaging and psychological test data from patients participating in an outpatient treatment program for gambling disorders at Kyoto University's Department of Psychiatry, compares patients who continue to participate with those who stop participating, and attempts to identify brain structural and functional characteristics that predict continued participation. We are

attempting to identify the structural and functional characteristics of the brain that predict continued participation. In the current fiscal year, data were obtained for a total of 6 patients with gambling disorder, 3 recreational gamblers, and 3 healthy controls.

3. "Research on Clinical Characteristics of Gaming Disorders" is examining the clinical characteristics of patients with gaming behavior disorders and their families who are being treated at three addiction-specific hospitals by collecting information through questionnaires and face-to-face interviews.
4. "Neuroimaging Study on the Pathophysiology of Gaming Disorders" examines the neural bases related to the pathophysiology of gaming disorders in patients with gaming disorders who visited the outpatient clinic of the Department of Psychiatry, Tokyo Medical and Dental University Hospital, using functional imaging research methods.

Section 2: Research on the Clinical Profile of Substance Use Disorders

5. "Research on Secular Changes in Clinical Image of Patients with Methamphetamine Use Disorder" examines how patients with methamphetamine use disorder are changing with changes in the judicial and medical systems by secondary analysis of the database

from the "National Survey on Drug-Related Psychiatric Disorders in Psychiatric Facilities in Japan (Fact-Finding Survey). The database is used to examine how patients with methamphetamine use disorder are changing as a result of changes in the justice system and medical system.

6. "Functional Brain Imaging Research for the Development of Pharmacotherapy for Methamphetamine Use Disorders" uses neuroimaging techniques to evaluate whether the striatal D2 receptor density-increasing effects of the selective adenosine 2A receptor blocker isradefylline can be reproduced in the biological brain of methamphetamine-dependent patients. The study is being conducted in the U.S. and Europe.
7. "Study on Clinical Characteristics of Over-the-Counter Drug Use Disorders" is investigating the psychosocial and clinical characteristics of patients with over-the-counter drug use disorders attending our outpatient clinic for addiction disorders by collecting retrospective information through transcription from their medical records.
8. "Analysis of Central Actions of NMDA Receptor Antagonists such as Phencyclidine (PCP) and Ketamine and Search for Therapeutic Targets for Drug Dependence" is investigating the mechanism of action of dextromethorphan (DXM), a

known NMDA receptor antagonist, in the central nervous system using experimental animals. The study is available on the following website.

9. In the "Creation of Cells for Analysis of NMDA Receptor Function," NMDA receptor-expressing cells are being created and appropriate evaluation methods are being established.

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、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⁾、岡野茉莉子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⁾、久保彩子⁵⁾、高尾碧⁶⁾、中西清晃¹⁾、松田太郎⁷⁾、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) 国立病院機構琉球病院

6) 島根県立こころの医療センター

7) 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、ステークホルダーである参加者が各アウトカム領域を地域精神保健領域におけるCOSとして加えるかどうかを検討するうえでの資料とするため、評価尺度の抽出作業を実施した。文献検索で1950件の文献を抽出し、導入基準に合致する166文献内で使用されている尺度635個を抽出した。これらの尺度から、精神科医師、看護師、臨床心理士・公認心理師、作業療法士、精神保健福祉士等から構成される研究チームメンバーによって各アウトカム領域を評価する尺度として代表的と思われるものを1～5個選定した。最終年度である令和6年度は、地域精神保健におけるステークホルダーに情報共有を行ったうえで、コンセンサス会議を実施する。COSに組み入れるアウトカムが決定されることで、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。

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、昨年度実施し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り得られた音声データの質的分析を行った。分析は、精神障害当事者2名と協働で実施した。その結果、精神保健福祉サービスが中断することや、普段の生活活動等が保てない環境での避難生活により、個々の困難が顕著になること、被災時に内服が中断されないための工夫が必要であること等、課題が多岐にわたることが明らかとなった。現行の精神保健福祉サービ

スや個別避難計画などの制度のあり方を精神障害当事者の視点で見直すことにより、災害時に抱える困難に対応できるものもあると考えられた。今後は、当事者参画による研究をさらに推進し、災害時の精神保健福祉体制に関わるガイダンスの開発を目指す。

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った。研修は、当事者、家族、多職種支援者が協働で作成した。研修前後における医療介護福祉の地域連携尺度の変化を分析した結果、研修参加者28名(支援者のみ)において、研修前の尺度平均値は84.54点(標準偏差12.79)であったのに対し、研修後には87.75点(標準偏差9.52)と有意に増加($p < 0.05$)したことが示され、多職種・多機関連携を高めるのに有用である可能性が示唆された。今後は、自由記述で得られたフィードバックを参考としながら研修を改善し、実施可能性を高める取り組みが求められる。

D 班の目的は、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、アンケート調査、エキスパート・オピニオン調査、および意見交換会を実施した。調査結果から、通院処遇に関わる支援者は、対象者を受け入れる心理的な負担や、司法精神医療の専門的な医療提供に強い不安を感じていた。この要因には、入院から地域への移行支援の難しさと、司法精神医療に特化した入院処遇体制から、一般精神医療が中心となる通院処遇体制に移行する難しさの双方が相まっていることが考えられた。解決に向けては、課題が生じる背景それぞれに対応する必要があり、診療報酬や人材の確保、教育体制は焦眉の課題であることが示唆された。

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(所属)：塩澤拓亮(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究、東京医科歯科大学 大学院保健衛生学研究科 在宅・緩和ケア看護学分野 未来創成ナースングリサーチセンター)

研究協力者(所属)：

阿部真貴子、五十嵐百花、岩永麻衣、臼井香、川口敬之、佐藤さやか、山口創生、安間尚徳、山田裕貴(国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究部)

【諸言】

科学的根拠に基づいた支援を提供する為のエビデンス構築に向けて、臨床・研究場面で設定するアウトカムに一定の基準を設ける動きが始まっている。特定領域で用いるアウトカムの枠組みを定めるものとして、近年コアアウトカムセット(Core outcome set: COS)の開発が進んでおり、精神保健領域でも注目が集まっている。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、行政機関で働く職員といった多様なステークホルダーの参画も重要視されており^{1,2}、患者・市民参画(Patient Public Involvement: PPI)を意識した取り組みが必要とされている。

塩澤らの先行研究(投稿準備中)から、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アウトカム領域 24 項目が特定された。本研究では、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領域の研究における COS を開発することを目的とする。

【方法】

コンセンサス会議にて、ステークホルダーである参加者が各アウトカム領域を COS として加える

かどうかを検討するうえでの資料とするため、評価尺度の抽出作業を実施した。

1. 文献検索

先行研究にて明らかとなったアウトカム領域 24 項目について、前年度に評価尺度を抽出するための文献検索キーワードの設定および文献抽出を実施した。前年度調査の結果、文献情報が少ないまたは検出されなかったアウトカム領域について、追加で文献抽出を実施した。文献検索には、COSMIN Database of Systematic Reviews, PubMed, 医中誌 Web を用いた。

2. 文献スクリーニング、尺度抽出

文献検索の結果検出された文献について、導入基準に合致する文献のスクリーニングおよび文献内で使用されている尺度を抽出する作業を実施した。

導入基準：(1) 尺度のレビュー論文であること、

(2) 文献で用いられている尺度が該当するアウトカム領域を評価するための尺度であること(別の概念を評価する尺度のレビュー論文ではないこと)、(3) 子供や特定の疾患(精神疾患を除く)に限って使用することを想定した尺度でないこと
文献からの抽出に加え、ハンドサーチで各アウトカム領域の評価に合致する尺度を抽出した。

3. 尺度選定

抽出したすべての尺度を検討資料として利用することは参加者への負担が大きくなることから、精神科医師、看護師、臨床心理士・公認心理師、作業療法士、精神保健福祉士等から構成される研究チームメンバーによって各アウトカム領域の評価尺度として抽出された尺度を確認、議論のうえ各アウトカム領域を評価する尺度として代表的と思われるものを1つ以上選定した。

【結果】

1. 文献検索

24 項目のアウトカム領域の評価尺度を抽出するため検索を実施した結果、前年度調査にて 21 項目

分合計 1387 件の文献が抽出された。本年度は、文献情報が少ないまたは検出されなかったアウトカム領域について、追加で PubMed、医中誌およびハンドサーチで文献検索を実施、563 件の文献を抽出し、合計 1950 件の文献が抽出された。

2. 文献スクリーニング、尺度抽出

合計 1950 件の文献から、導入基準に合致する文献のスクリーニングおよび文献内で使用されている尺度を抽出する作業を実施した結果、166 文献から 635 個の尺度が抽出された。抽出された尺度のアウトカム領域ごとの個数は以下のとおりである（カッコ内は個数）「居場所がある（6）」、「当事者と家族の関係性」（14）、「症状のコントロール感・コーピング」（34）、「日常生活能力」（121）、「服薬・治療への態度」（19）、「自己肯定感」（13）、「生活満足度」（224）、「社会とのつながり」（14）、「暴言・暴力」（4）、「希死念慮・自殺企図」（15）、「主体性・自己決定」（13）、「全般的な精神症状」（27）、「ニーズ充足度」（2）、「死亡（自殺）」（0）、「ヘルプシーキング（援助希求）」（7）、「支援者との関係」（10）、「精神疾患の再発」（3）、「服薬の順守」（14）、「住居の安定性」（0）、「家族の精神健康」（68）、「ストレス」（8）、「有害事象・副作用」（7）、「治療の継続」（0）、「家族の感情表出」（12）。

3. 尺度選定

抽出された 635 個の尺度について、研究チーム内で各アウトカム領域を評価する尺度として妥当と思われるものを選定した。選定の結果、各アウトカム領域を評価する尺度として代表的と思われるものが選定された。「死亡（自殺）」、「住居の安定性」のアウトカム領域に関しては、尺度による評価ではなく死亡や居住地の有無や日数による評価が妥当とされた。

【結論】

これまでの研究によって、166 文献から現在各アウトカム領域を評価する際に妥当と思われる尺度 635 個が抽出された。抽出された 635 個の尺度

について、研究チーム内で各アウトカム領域を評価する尺度として代表的と思われるものを選定した結果、各アウトカム領域に対して 1～5 個程度の尺度が抽出された。また、「死亡（自殺）」、「住居の安定性」のアウトカム領域に関しては、尺度による評価ではなく死亡や居住地の有無や日数による評価が妥当とされた。

令和 6 年度は、地域精神保健におけるステークホルダーに各アウトカム領域が現状どのような尺度や指標を用いて評価されているかという情報共有を行ったうえで、コンセンサス会議を実施する。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で、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】

1. Zendjidjian XY, Boyer L. Challenges in measuring outcomes for caregivers of people with mental health problems. *Dialogues Clin Neurosci* 2014; **16**(2): 159-69.
2. Chevance A, Tran VT, Ravaud P. Controversy and Debate Series on Core Outcome Sets. Paper 1: Improving the generalizability and credibility of core outcome sets (COSs) by a large and international participation of diverse stakeholders. *J Clin Epidemiol* 2020; **125**: 206-12. e1.

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ドランスの開発

氏名（所属）：

川口敬之（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究部）

研究協力者（所属）：

岩永麻衣、小池純子、山口創生、塩澤拓亮、藤井千代（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究部）、山田悠平、相良真央（一般社団法人精神障害当事者会ポルケ）

【諸言】

地域共生社会の実現のために、災害時に精神障害のある人が抱える困難に対応可能な精神保健福祉体制の構築が課題となっている。災害において、精神障害のある人はストレス要因やトラウマとなる出来事に対する対処方策および社会資源の不足や、精神保健福祉サービスの中断により、精神衛生上の問題を併発し困難が増大する可能性が高いといわれている。これを踏まえ、専門家による災害時の精神保健福祉体制に関わるガイドラインが策定されているが、当事者視点に基づく研究による提言はいまだないのが現状である。本研究は、被災経験のある精神障害当事者に対するインタビュー調査を通じて、災害時の精神保健福祉体制の課題について検討することを目的とし、当事者参画による災害時の精神保健福祉体制に関わるガイドランスの開発を目指す。

【方法】

1. 対象

対象は、東日本大震災や熊本地震などの被災経験のある精神障害当事者とした。Web ならびに協力機関での公告を行い、研究参加を募った。

2. データ収集

2022年7月に熊本県、同年10月に福島県で、ファシリテーター2名による半構造的なグループインタビューを実施した。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、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、とした。

3. 分析方法

分析は、インタビューの音声データの逐語録よ

り、被災時の経験や希望する支援に関する意味が含まれる文を抽出した。次に、抽出された内容を用いてコードを作成し、議論を重ねながら、類似するコードを整理・統合してカテゴリー化した。

4. 倫理的配慮

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（承認番号：A2022-022）、全ての対象者より書面による同意を得た。

【結果】

1. 対象者の属性

インタビューに参加した精神障害当事者は23名（福島県：13名、熊本県：10名）であり、女性12名、平均年齢は50.2±12.8年であった。主診断は、統合失調症12名、双極症2名、うつ病2名、発達障害2名、その他5名であった。

2. 被災時の経験や希望する支援に関する見解

主要なテーマが5つ生成された。各テーマは、心身への影響および精神保健福祉サービス、被災時の生活への影響と関連する災害時支援、家族・地域社会との関係の変化と関連する支援や対策の3つの大カテゴリーに分類された。以下、大中カテゴリーを【 】, 小カテゴリーを[]で示す。

1) テーマ1：被災によって感じた困難

347の切片から6つの中カテゴリーと35の小カテゴリーが生成された。

【体調の変化】では、被災によって「日内リズムの乱れ・不眠」や「症状の悪化」、中長期的な避難生活による「虚脱感」を経験し、「診察・受診が受けられない」や「薬が入手できない」ことで服薬を自己調整せざるを得ないなどの【日頃の医療・福祉が受けられない】状況を経験した。

【生活活動】では、水や食べ物が確保できず、「正しい情報が得られない」状況を経験し、【避難所での生活】では、「音・アラーム音で休まらない」や「プライバシーが保てない」他、「生理による避難生活の困難感」など女性特有の困難も語られた。

【家族】および【周囲からの影響】では、「家族関係の悪化」や「周囲からの偏見・スティグマ」など、家族・地域社会との関係の変化を経験した。

2) テーマ2：被災時に受けた支援

168の切片から8の中カテゴリーと33の小カテゴリーが生成された。

【医療サービス】および【福祉・行政サービス】

では、[薬の処方]における柔軟な対応や[支援者からの声かけ・ヒアリング]などの支援を受けた。

【生活活動】および【避難所での生活】では、[食べ物の配給]や[薬の提供]の支援を受けた。

【家族】では[家族の疾患・障害への理解]があり、【近隣・町内会】では住民同士の[声かけ・安否の確認]や[場所の提供・浴室の貸し出し]、【ピアのつながり】や【友人・SNS のつながり】では[理解・共感し合える]関係や[宿泊させてもらった]などの助け合いを経験した。

3) テーマ 3 : 災害以前に行っていた防災対策

34 の切片から 13 の小カテゴリーが生成された。一方、【防災対策をしていなかった】に該当する切片は 30 であった。

参加者の中には、[薬の備蓄]や[薬の保管場所・管理方法の固定]などの【心身の影響に対する対策】や、[家具の固定]や[備蓄(水・食べ物)]などの【災害に対する対策】の他に、【地域社会との関係】における対策として[ピアとの SNS を利用した情報配信システム]を行っていた者がいた。

4) テーマ 4 : 被災後に行うようになった防災対策

256 の切片から 6 つの中カテゴリーと 32 の小カテゴリーが生成された。一方、【防災対策をしていない】に該当する切片は 16 であった。

【薬の確保のための対策】では、[すぐに薬・薬手帳を持ち出せる準備]や[常に薬を携帯]の他に、[常備薬の補充・ローリングストック]や[処方(量)を主治医と相談している]を行っていた。また、[医療支援スタッフとの相談]や[福祉・相談窓口の利用]など【医療・福祉サービス】における対策を行っていた。

【生活活動】では、[夜間に避難できるよう服用時間の調整]や[普段からの片付け]を行うようになり、【制度・メディアの利用・工夫】では、[要支援者名簿の登録]、[緊急連絡先一覧を紙面にまとめる]などの対策を行っていた。

【関係づくり】の対策は、隣人や町内会、ピアや仲間での関係作りを行い、[共同住居利用者同士での安否確認]などの【連絡体制】を設定した。

5) テーマ 5 : 災害対策において希望する支援

211 の切片から 6 つの中カテゴリーと 40 の小カテゴリーが生成された。

【医療サービス】および【福祉・行政サービス】

で希望する支援は、薬の処方量や備蓄に関する[主治医との相談]や災害時の[医療情報の共有・臨時処方のシステム]の構築、行政による[ワンストップサービス・ネットワーク]や[連絡網の作成・メールによる安否確認]であった。

【生活活動】および【避難所での生活】では、[ボランティアによるマンパワーの確保]や[要支援者名簿の活用方法]における配慮、[参加しやすい防災訓練]、[補償の対象に関する情報開示]、[プライバシーの確保・仕切られた空間]、[障害にも対応できる避難所]に関する希望が語られた。

【ピア・仲間作り】では、[当事者が集えるワークショップの開催]が必要とされ、【地域・自治会とつながる要素】は[障害理解がすすむこと]が必要と語られた。

【結論】

結果より、精神障害のある人が日頃利用している精神保健福祉サービスが中断することや、普段の生活活動やプライバシーが保てない環境での避難生活を余儀なくされることにより、個々に抱えている様々な困難が顕著になることが明らかとなった。また、被災経験のある精神障害当事者の中には、薬の確保のために個人の自助努力の範囲で対策を行っている者がいる一方で、薬の確保や服用において主治医との相談や処方システム、支援者によるヒアリングの希望があるなど、被災時の心身への影響や生活活動の継続における課題が残されていることが示唆された。この点においては、現行の精神保健福祉サービスや個別避難計画などの制度のあり方が、精神障害当事者の視点で見直され発展することにより、災害時に抱える困難に対応できるものもあると考える。他方、平時の備えを個人レベルまで浸透させるうえで、防災・減災における対策や経験を共有するワークショップの実施など、ピアや仲間同士で参加しやすい啓発活動の取り組みが求められていることも重要な点である。本研究の結果で示された課題や希望する支援、制度の援用において、被災経験による経験知を活用することによって、精神障害当事者のエンパワメントを可能にする災害時の精神保健福祉体制を再構築できる可能性がある。今後は、当事者参画による研究をさらに推進し、災害時の精神保健福祉体制に関わるガイドランスの開発を目指す。

分担研究課題名：地域精神保健において当事者・家族を交えて考える多職種・多機関連携研修の開発と実施可能性に関する研究

氏名（所属）：安間尚徳（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所地域精神保健・法制度研究部、医療法人社団順風会上尾の森診療所）

研究協力者（所属）：藤井千代、山口創生、佐藤さやか、塩澤拓亮、川口敬之、岩永麻衣、臼井香、五十嵐百花、山田裕貴（国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所 地域精神保健・法制度研究部）

【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、地域精神保健に携わる研究者が協働して、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効果と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】

1. 研究デザイン

研究デザインは、研修の前後で自己記入式質問紙を用いた、前後比較試験とした。

2. 研究対象者の選定とリクルート方法

研究対象者の選定にあたり、以下の導入基準を設けた。研修を受ける当事者については、同意取得時に20歳以上であり、精神疾患を持ち、上尾市、桶川市、伊奈町に在住している必要がある。これは20歳以上の者は一定の同意能力が担保されていると考えられ、また、この研究が地域精神保健

医療福祉に関するものであり、特定の地域での多職種・多機関連携研修に焦点を当てているためである。研修を受ける家族に関しても、同じく同意取得時に20歳以上であること、精神疾患を持つ当事者を家族に持っていること、そして上尾市、桶川市、伊奈町に在住していることが求められる。これらの基準も当事者と同様、一定の同意能力の確保と研究の地域的な焦点に基づくものである。支援者や行政職員については、年齢が20歳以上であり、上尾市、桶川市、伊奈町で精神障害者を支援している者を対象とする。これは、支援者や行政職員も同意能力が担保されていると考えられる年齢である必要があり、またこれらの地域での精神保健医療福祉に関する活動が研修の重要な部分を形成しているためである。除外基準としては、20歳未満の者や研究責任者が不適当と判断した者が含まれる。20歳未満を除外する主な理由は、同意能力に一定の制限が仮定されるためである。

研究参加者のリクルート方法に関して、主任研究者であるNYは関連機関に研究参加依頼文を配布した。また、NYは申し込みのあった者に対して選択基準および除外基準をクリアしているかを確認し、研究内容を書面で説明し、同意のとれた者を登録した。さらに、研究参加を拒否した場合でも、その後の多職種・多機関連携や支援に関して一切不利益がないことを保証した。

3. 地域精神保健において当事者・家族を交えて考える多職種・多機関連携研修

多職種・多機関連携研修は、上尾市、桶川市、伊奈町、およびNCNPで活動する当事者、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、地域精神保健に携わる研究者たちが協力して開発した。この研修は2ヶ月に1回、各回2時間ほどのミーティングを10回実施し、作成された。研修は平日の14時から17時まで3時間行われ、約30分の講義と2時間半の事例検討から成る。この中には部屋の移動、自己紹介、休憩、グループワーク、発表の時間も含まれた。講義の

内容としては、1) 上尾市・桶川市・伊奈町における地域精神保健の理念共有、2) 多職種・多機関連携の意義と他機関に敬意を払う重要性、そして多職種・多機関連携をスムーズに進めるためのツールの紹介（保健・医療・福祉の社会資源マップやケースマネジメントシート）が行われた。事例検討はグループワーク方式で行われ、1 グループは当事者1名、家族1名、保健・行政1名、医療1名、福祉1名の5名で構成され、合計で50名（5名/グループ×10グループ）を参加予定とした。事例検討の内容は、前年度の自立支援協議会で話し合われた地域課題を基に作成した架空のケースを用いた。各グループにはファシリテーターが配置され、事例検討は問題解決に焦点を当てるのではなく、参加者に各自の立場からケースに対する意見や感想を述べてもらうように設計された。当事者の配慮として、ケースの内容は事前に当事者に伝えられ、過去の辛い体験を思い起こさせることがないかを確認した。また、当事者が必要に応じていつでも休めるように休憩場所を設け、看護師を1名配置した。

4. ファシリテーター研修

ファシリテーター研修では、事前にいくつかの重要な点を確認した。まず、参加者がそれぞれの立場からの意見や考えを自由に共有できるよう、発言しやすい環境と適度なゆめさを確保することを重視した。その上で、地域の課題を共有し、単なる問題解決を超えて、当事者、家族、保健、医療、福祉の各立場を尊重することに焦点を置いた。参加者の職種や背景を考慮し、意見が偏らないように調整も行った。さらに、全員が対等に感じられるよう、呼び方にも配慮し、「～先生」ではなく「～さん」と呼ぶようにした。

5. アウトカム

プライマリーアウトカムは医療介護福祉の地域連携尺度を用いた。この尺度は自己記入式質問紙で、26項目から成り、5件法を採用している。得点が高いほど、地域において連携が良好であるこ

とを示した。また、研修の満足度、研修に関する意見や感想を自由記述で記載してもらった。

6. 統計解析

統計解析はpaired t testを用いた。

7. 倫理的配慮

本研究はNCNP倫理委員会において承認された（承認番号A2023-070）。

【結果】

1. ベースラインの特徴

ベースラインの特徴は以下の通りである。出席者は48名で、欠席者は2名であった。性別では、男性が18名、女性が30名であった。年代別には、20代が6名、30代が10名、40代が14名、50代が10名、60代が4名、70代以上が4名であった。主治医から伝えられている疾患名については、統合失調症4名、うつ病4名、双極性障害（躁うつ病）1名、その他の疾患を持つ者が1名であった。精神疾患にかかっている年数は、1～5年が3名、5～10年が2名、10～20年が2名、20～30年が2名、30年以上が1名であった。精神疾患を持つ当事者との関係性では、親が6名、兄弟姉妹が1名、子どもが3名であった。ケアしている年数に関しては、1～5年が2名、5～10年が1名、10～20年が4名、20～30年が1名、30年以上が2名であった。現在主に従事されている職業では、精神科医が3名、看護師・訪問看護師が1名、保健師が3名、精神保健福祉士が11名、行政職員が4名、福祉施設職員が8名であった。地域で精神疾患を持つ当事者と関わった年数は、1～5年が9名、5～10年が2名、10～20年が10名、20～30年が6名、30年以上が1名であった。多職種・多機関連携研修の過去の参加経験については、「はい」と答えたのが11名、「いいえ」と答えたのが17名であった。

2. 主要評価項目に対する多職種・多機関連携研修の効果

研修前後における医療介護福祉の地域連携尺度の変化を分析した結果、研修参加者28名（支援者のみ）において、研修前の尺度平均値は84.54点

(標準偏差 12.79)であったのに対し、研修後には87.75点(標準偏差9.52)と有意に増加($p < 0.05$)したことが示された。

3. 研修の満足度

研修の総合的な満足度に関しては、「大変満足」と答えたのが22名、「満足」と答えたのが22名、「どちらともいえない」と答えたのが3名で、「不満」や「大変不満」と答えた者はいなかった。

4. 自由記述に関して

研修参加者の多くは、多職種支援者、当事者、家族との交流を新鮮で有益な体験として評価した。また、当事者や家族から直接的な経験談を聴くことで、新たな気づきが得られ、支援方法を深めるのに役立ったと感じる者もいた。一方で、研修が大規模過ぎて緊張する、話す順番について困惑する、個人的経験を話す際にためらいがある等、コミュニケーション面での課題が明らかとなった。また、事例検討において扱う情報量が多すぎる、議論の時間が十分でないなどの構造的な問題も指摘された。さらに、異なるグループ間や同じ立場の者同士のコミュニケーションや交流を増やしてほしい等の要望もみられた。研究参加者は、これらの研修が継続して提供されることにより、地域における多職種・多機関連携がより効果的に促進されることを期待していた。

【考察】

本研究により、当事者、家族を交えて作成した多職種・多機関連携研修は、地域精神保健における連携の促進に寄与する可能性を示した。当事者と家族が事例検討に参加し、当事者、家族の「経験知」を交えることで、支援者が持つ「専門知」では解決できない課題や見出せない視点が補われ、事例検討の議論がより深まった可能性がある。一方で、研修に対するコミュニケーションの面での課題や構造的な問題が指摘された。これらの課題に対処するために、更なる研修の運営方法の改善が必要となる。例えば、1度を実施する際の研修参加者数を少なくし、十分な発言機会の確保、よ

り安心できる雰囲気作り、情報量の適切な管理、異なるグループ間や同じ属性同士で交流する時間を多く設けるなどが挙げられる。

【結論】

当事者、家族、多職種支援者によって作成された本研修は、地域精神保健における、多職種・多機関連携を高めるのに有用である可能性があることが示唆された。今後は、自由記述で得られたフィードバックを参考としながら研修を改善し、実施可能性を高める取り組みが求められる。また同時に、無作為化比較対照試験による本研修の連携に対する効果検証を行い、エビデンスの構築に努める必要がある。

【今後の予定】

最終年度は、多職種・多機関連携をスムーズに進めるためのツール（保健・医療・福祉の社会資源マップやケースマネジメントシート）を完成させ、上尾市、桶川市、伊奈町において実装する。本研究の結果は、査読付きの雑誌に投稿し、学会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 (所属)：

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 (所属)：

柏木宏子、宮崎真理子、和田舞美、島田明裕、島田隆生、平林直次 (国立精神・神経医療研究センター病院)、小池純子、中西清晃、阿部真貴子、岡野茉莉子 (国立精神・神経医療研究センター精神保健研究所)、久保彩子 (国立病院機構琉球病院)、野村照幸 (国立病院機構さいがた医療センター)、高尾碧 (島根県立こころの医療センター)、松田太郎 (大阪府立病院機構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、通院処遇期間中に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、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当事者の視点も取り入れて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】

本研究では、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、通院処遇対象者や地域関係者などの当事者の意見を反映させる。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。

本年度は、コミットメントの開発に向けて2つの基礎調査を実施し、1つの調査の準備を進めた。

1) グループインタビュー調査

2023年2月～12月を調査期間とし、5都道府県で通院処遇に関わる多機関多職種支援者を対象としたグループインタビューを実施した。本研究では、医療観察法におけるケアコーディネートの実態と司法精神医療の専門医療に関するニーズに着目して把握した。インタビュー内容は、対象者の同意のもとで録音したうえで逐語録に起こし、テキストマイニングを用いて分析した。

2) アンケート調査

2023年9月～2024年3月を調査期間とし、通院処遇対象者、社会復帰調整官、指定通院医療機関等に対して、アンケート調査を行った。アンケート項目は、属性、支援体制や内容 (診療報酬、多職種の雇用状況、治療・支援内容など)、支援上の困難やニーズ (対象者を同時に受け入れることについての職員の不安、医療観察法業務による一般精神科医療の業務の圧迫など) について、先行研究をもとに網羅的に構成した。得られたデータは統計解析ソフトを用いて分析した。

3) エキスパート・オピニオン調査

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調査を行う。令和5年度は調査に向けた事前情報収集を目的としてトルコの司法精神医学者である Yasin Hasan Balcioglu 先生を国立精神・神経医療研究センターに招き、トルコの司法精神医学に関する講演会とトルコと日本の司法精神医療体制に関する意見交換会を行った。

4) 倫理的配慮

インタビュー調査とアンケート調査は、国立精神・神経医療研究センター、国立病院機構さいが

た医療センター等の関係機関の倫理委員会の承認を得て実施した。

【結果】

1) グループインタビュー調査

参加者は、5 道府県の通院処遇に関わる多機関多職種支援者 73 名であった。司法精神医療の専門医療の課題とニーズに関するデータを分析の対象とし、KH コーダで抽出された上位 100 語を用いて共起ネットワークを作成した。その結果、地域全体の課題として「対象者の思いを加味した入院から通院への移行支援」「多機関で地域生活を支える」「医療観察法と一般精神医療」などが挙げられた。地域ごとに抱える課題の分析では、共通課題に加え、「家族の立場」「クライシスプランの利用」「スーパーバイズが必要」「通院同行にかかる時間」「34 条のケース」などの各地域の固有の課題が抽出された。

2) アンケート調査

2023 年 9 月に全国の通院処遇対象者・指定通院医療機関を対象として、2024 年 1 月に全国の社会復帰調整官を対象としてアンケートを実施した。

指定通院医療機関を対象としたアンケート調査では、46 施設から回答が得られた。通院処遇対象者に司法精神医療の専門的治療プログラムを提供していた施設は 17%であった。指定入院医療機関との関わりは、「全くない」が 20%、「あまりない」が 27%を占めた。一方で、指定入院医療機関との関わり必要性を感じていた（「とても必要」44%、「少し必要」49%、「あまり必要ではない」7%）。

支援上の困難感、診療報酬や人員確保のための財源、複数の対象者を受け入れることでの職員不安について、平均 3 点を超えていた。ニーズは、すべての項目で平均 3 点を超えた。

3) エキスパート・オピニオン調査

意見交換会では、トルコと日本の司法精神医療制度や、患者特性の比較などを議論した。

【結論】

令和 5 年度は 3 種の調査、および意見交換会を

実施した。調査結果から、通院処遇に関わる支援者は、対象者を受け入れる心理的な負担や、司法精神医療の専門的な医療提供に強い不安を感じていた。この要因には、入院から地域への移行支援の難しさ、司法精神医療に特化した入院処遇体制から、一般精神医療が中心となる通院処遇体制に移行する難しさの双方が相まっていることが考えられた。解決に向けては、課題が生じる背景（医療観察法固有の課題、一般精神医療との共通の課題、地域ごとの支援基盤）のそれぞれの課題に対応する必要があり、診療報酬や人材の確保、教育体制は焦眉の課題であることが示唆された。

令和 6 年度は、エキスパート・オピニオン調査とスコーピング・レビューを実施予定である。司法精神医療では、患者の完全な自己意思決定と対立するという見解があるが、自己意思決定の共有が可能な場合とそうでない場合の境界を定義する必要性が指摘されている²⁾。このため PPI に基づく開発に先立って、司法精神医療において自己意思を尊重する支援方法を系統的にレビューし、患者の自己意思決定に関する支援者の関与、患者の自己意思決定の状況を明らかにし、司法精神医療における主体性、社会復帰、リスクアセスメント・マネジメントのバランスのあり方も検討する。最終的に、これらの研究結果に加えて、当事者の意見を踏まえて通院処遇に関する総合的なコミットメントの開発を目指す。

【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）
- 2) Zhao, J., et al. Engaging forensic psychiatry patients in health-care decision making. *The Lancet Psychiatry*. Jan. 15, 2024 DOI:[https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(23\)00427-3](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(23)00427-3)

4-2

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 conducted an extraction of assessment scales to provide materials for stakeholders, who are participants, to consider including each outcome domain in the regional mental health Core Outcome Set (COS). From a literature search, 1950 articles were retrieved, and 635 scales used within 166 relevant articles were extracted. A multi-disciplinary research team selected 1 to 5 scales deemed representative for assessing each outcome domain. Going forward, information will be shared with stakeholders involved in community mental health before conducting a consensus meeting. It is expected that determining the outcomes to be included in the COS will contribute to building more effective evidence.

Team B performed a qualitative analysis of audio data obtained from group interviews with individuals with mental disorders and supporters and administrative officials who had experienced the Great East Japan Earthquake and the Kumamoto Earthquake last year. The analysis was conducted collaboratively with two individuals with mental disorders. Reviewing the current mental health and welfare services and individual evacuation plans from the perspective of individuals with mental disorders suggested the potential to address difficulties encountered during disasters. Based on these results, next year's goal is to develop guidance related to mental health and welfare systems during disasters.

Team C, in collaboration with individuals with mental disorders, their families, clinicians, and researchers, created multi-disciplinary, multi-institutional training. A before-and-after trial to assess the feasibility of implementing training with 'collaboration' as an outcome suggested that conducting the creation and implementation of training collaboratively might be useful in enhancing multi-disciplinary and multi-institutional collaboration.

Team D conducted group interviews, surveys, expert opinion polls, and discussion forums. The results suggested that supporters involved in outpatient treatment feel a significant psychological burden in accepting subjects, and strong apprehensions about providing specialized medical care in forensic psychiatry. To address these issues, it was suggested that it is urgent to deal with each background where issues arise, with securing healthcare reimbursement, personnel, and education systems as critical challenges.

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

本研究は、疫学的観点から新型コロナ感染後の精神症状をはじめとした罹患後症状の経時変化および、その関連要因を明らかにすることである。そこで、①罹患後精神症状に関連する要因の検討、②感染時期による罹患後精神症状の比較検討、③新型コロナウイルス罹患後症状を有する者に対するピアサポートグループの効果検討、を行うこととした。

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

白田 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 常勤研究員

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

2021年度から1年ごとに実施している新型コロナウイルス感染者に対する縦断調査において3時点目調査を行い、1時点目の有効回答者6010人のうち2186人から有効回答を得た。並行して、2022年度から、所謂感染拡大後期の感染者（2022年2月以降に初感染）に対する縦断調査において2時点目調査を行い、1時点目の有効回答者5344人の

うち3144人から有効回答を得た。

並行して、オンライン自助グループの実施にあたってのマニュアルを作成するとともに、参加者募集により18人の参加者を得た。

また、従来株感染者の縦断データから、感染に伴う被差別体験と精神病症状をはじめとした精神症状の関連や、従来株感染者とオミクロン株感染者の被差別体験と精神的苦痛の関連の相違などが示唆され、原著論文として公表された。

4. 研究成果刊行一覧

1. 論文発表

- Megumi Hazumi, Mayumi Kataoka, Kentaro Usuda, Zui Narita, Emi Okazaki & Daisuke Nishi (2023) Difference in the risk of discrimination on psychological distress experienced by early wave infected and late wave infected COVID-19 survivors in Japan. Scientific reports, 13, 13139.
- Zui Narita, Megumi Hazumi, Mayumi Kataoka, Kentaro Usuda, Daisuke Nishi (2023) Association between discrimination and subsequent psychotic experiences in patients with COVID-19: A cohort study. Schizophr Res. 2024 Mar 25;267:107-112.
- 羽澄恵(2023) COVID-19 に起因する認知・感情と抑うつ・不安（精神症状）の関連性について. 精神科臨床 Legato, 9-3, 12-15.

2. 学会発表

- 羽澄恵、COVID-19 感染拡大初期と後期の感染者における被差別体験と精神的苦痛の関連の相違、第30回日本行動医学会学術総会、2023年12月

課題1 分担課題名：罹患後精神症状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】

新型コロナ感染後に精神症状をはじめとした罹患後症状が1年を超えて残遺することが指摘されているが、長期的変化は未だ十分に検討されていない。

そこで、本研究では、新型コロナ感染者を対象に2021年度より1年ごとに調査を実施する、縦断的調査を実施することとした。また、本年度は、3時点目の調査を行うこととした。

【方法】

PCR検査で陽性になった経験があると自己報告した者を対象に、オンライン調査を行い、これまで2021年7月～9月、および2022年7月～9月の2回、1年の間隔をあけて2時点の調査を行ってきた。

今年度は、2021年度の調査における有効回答者に対し、初回参加から2年経過した時点で、追跡調査を行った。調査期間は、2023年7月から9月であった。

アウトカムとして、Kessler distress scale (K-6)、Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9)、General Anxiety Disorder-7 (GAD-7)などの精神症状とともに、現在の各種罹患後身体症状の有無などを収集した。

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、2時点目では有効回答2571人だったのに対し、3時点目では2586人から有効回答を得られた。1時点目に対して2時点目の回収率は42.8%、3時点目の回収率は43.0%だった。K-6の平均得点は、1時点目と2時点目は 4.54 ± 5.32 点、 3.40 ± 5.12 点だったのに対し、3時点目では 3.38 ± 5.11 点だった。PHQ-9の平均得点は、1時点目と2時点目は 5.19 ± 5.91 点、 3.87 ± 5.48 点だったのに対し、3時点目では 4.01 ± 5.58

点だった。GAD-7の平均得点は、1時点目と2時点目では 3.34 ± 4.71 点、 2.57 ± 4.37 点だったのに対し、3時点目では 2.70 ± 4.45 点だった。

また、1時点目と2時点目のデータを用いて検討したところ、1時点目で感染に伴う被差別体験を受けた者のほうが、そうでないものに比べて精神症状、自殺念慮のリスクや、PTSD症状や精神的苦痛の程度が有意に重篤であった。

【考察】

K-6、PHQ-9の得点は、1時点目や2時点目に比べると低かった。GAD-7の得点は、2時点目よりも3時点目のほうが高かった。ただし、こうした得点の変化が有意か否かは不明である。今後は、継時変化について精緻な解析をおこなう必要がある。さらに、4時点目のデータ収集を進め、より長期的な変化を追跡していく。

また、感染時に差別を受けることで、その後に精神病症状や自殺念慮をはじめとした精神不調が見られる可能性が示唆された。罹患後症状の一つである精神症状の予防のためには、感染に伴う差別的風潮への対策が必要かもしれない。

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】

新型コロナ感染拡大以降、パンデミックの完全な収束の目途が立たないなかで、変異株の出現や新型コロナに関連する社会的風潮、政策等、新型コロナ感染者を取り巻く環境には変化がみられる。感染株の相違はもちろん、環境の相違が、新型コロナ感染者の精神症状をはじめとした罹患後症状の予後に影響可能性が考えられる。

そこで、本研究では感染時期の相違に伴う、新型コロナ感染者の罹患後症状等の相違を縦断的に検討することとした。

【方法】

分担課題「罹患後精神症状に関連する要因の検討」で収集したデータを感染拡大初期の感染者と定義して比較検討するため、2022年2月以降に初めてPCR検査で陽性になった者を感染拡大後期の感染者と定義し、2022年度に調査を行った。

今年度は、2022年度調査の有効回答者に対し、初回参加から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。調査は2023年9月に行われた。

アウトカムとして、Kessler distress scale (K-6) や、Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9)、General Anxiety Disorder-7 (GAD-7)などの精神症状とともに、現在の各種罹患後身体症状の有無などを収集した。

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】

1時点目の有効回答者 5344 人のうち 3144 人から有効回答が得られた。K-6 の平均得点は、1時点目は 2.42 ± 4.16 点だったのに対し、2時点目は 2.44 ± 4.14 点だった。PHQ-9 の平均得点は、1時点目は 3.14 ± 4.71 点だったのに対し、2時点目は 3.17 ± 4.55 点だった。GAD-7 の平均得点は、1時点目は 1.84 ± 3.52 点だったのに対し、2時

点目は 1.95 ± 3.47 点だった。

また、感染拡大当初の感染者と感染拡大後期の感染者を横断的に比較検討した。被差別体験の遭遇と精神的苦痛のリスクともに感染拡大後期の感染者のほうが低かった一方で、被差別体験に遭遇した場合に精神的苦痛が生じるリスクは感染拡大後期の感染者のほうが有意に高かった。

【考察】

精神的苦痛、抑うつ、不安ともに、平均得点は1時点目よりも2時点目のほうが若干高かったが、統計的検定等は行っていないため、その変化が有意なものか否かは不明である。今後、より精緻な解析が必要と考えられる。

また、感染拡大初期と後期では、差別された際に精神的苦痛が生じる可能性がより高いことが示唆された。感染拡大後期のほうが社会全体の差別的風潮は減っていると推察されることから、感染拡大後期における新型コロナ感染の差別への対策としては、社会全体への啓発だけでなく感染者に焦点を当てた事後ケアも重要かもしれない。

課題 3 分担研究課題名：新型コロナウイルス罹患後症状を有する者に対するピアサポートグループの効果検討

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】

新型コロナウイルス感染後、急性期を過ぎた後も罹患後症状が長期的に残遺する場合がある。身体症状を長期的に抱えながらの生活は精神的苦痛をもたらすと考えられるが、感染後に罹患後症状を有する者へのメンタルヘルスケアに関する研究は限られている。

本研究では、他の複数の慢性疾患ですでに一定の効果が示されているオンラインピアサポートを、感染後に罹患後症状を有する者に提供することで、メンタルヘルスへの効果が認められるか検討することを目的とした。具体的には、当該対象者に対するオンラインピアサポートの今日までの知見を集約するためシステマティックレビューを行うとともに、パイロット的に効果検討をすることとした。

【方法】

システマティックレビューは、PRISMA 声明に基づくプロトコルに沿って MEDLINE、PsycINFO、医中誌の 3 つのデータベースおよび、その他の情報源等から系統的に文献検索を行い、抽出論文の質の評価は Risk of Bias Assessment Tool for Nonrandomized Studies を用いて行うこととした。

オンラインピアサポートについては、介入前、後、6 か月後の 3 時点について、抑うつ等の変化を 1 群で比較することとした。

参加者は、罹患後症状を抱える者が集うオンラインコミュニティやソーシャルネットワーク、専門外来にて募集した。

オンラインピアサポートは、zoom をつかって 3~6 人の参加者と 2 人のファシリテーターが特定のトークテーマを中心に自由に語り合う機会を、週 1 回 1 時間、計 8 回開催した。

オンラインピアサポートの研究においては、国立精神・神経医療研究センターの倫理委員会の承認を受けて実施した。

【結果】

システマティックレビューでは、最終的に 2 本の文献が同定された。

オンラインピアサポートグループでは、18 人が介入に参加し、うち 15 人が介入を完遂した（8 回中 4 回よりも多く欠席した者はドロップアウトと定義）。また、ドロップアウト 2 人を含む 17 人から、介入前と後のデータを回収した。さらに、このうち 10 人がフォローアップ研究にも参加し、4 名がフォローアップ期間を終了した。

【考察】

システマティックレビューでは該当論文が 2 本であり、罹患後症状を抱える者に対するオンラインピアサポートが、世界的にみてまだ十分に検討、普及されていないことが推察される。

今後は、システマティックレビューの 2 論文の精査をすすめるとともに、オンラインピアサポートのフォローアップまでの追跡を引き続き行う予定である。

No. 4-3

The Epidemiological Study of Psychiatric Symptoms after COVID-19

Daisuke Nishi

The National Center of Neurology and Psychiatry

This study aimed to explore the specific nature of symptoms, such as psychiatric issues, following COVID-19 from an epidemiological standpoint. To this end, we initiated three distinct research efforts: 1) a study to identify the factors associated with symptoms, 2) a comparative study of symptoms in the early versus late COVID-19 waves, and 3) an evaluation of the effect of online peer support on psychiatric symptoms among individuals with post-acute sequelae of COVID-19 (PASC).

Study 1 is an ongoing longitudinal study of individuals with COVID-19-positive polymerase chain reaction (PCR) tests. Surveys at 1-year intervals have been ongoing since 2021. This year, we conducted the third (T3) survey, which was completed by 2186 respondents out of the 6010 who were surveyed in 2021. Our longitudinal T1 to T2 data revealed that perceived discrimination regarding COVID-19 predicted psychiatric symptoms, such as psychotic experiences.

Study 2, is an ongoing longitudinal study of individuals who reported positive PCR test results for the first time since February 2022 (in 1-year intervals from 2022). This cohort represents individuals infected during the late COVID-19 wave compared to the early wave cohort from Study 1. Subsequently, the cohorts were compared. This year, a T2 survey was conducted, and available data were obtained from 3144 out of 5344 respondents. A cross-sectional comparative analysis showed that the late COVID-19 group had a lower risk of perceiving discrimination and experiencing psychological distress, while those who perceived discrimination had a higher risk of psychological distress.

Study 3 is a systematic review and a single-arm pilot study. We examined the effect of online peer support on individuals with PASC. For the systematic review, two relevant articles were extracted from article search engines: MEDLINE, PsycINFO, and the Japan Medical Abstract Society. The pilot study involved an 8-week peer support program (weekly one-hour sessions) involving groups of three to six participants, led by two facilitators. Of the 18 participants, 15 completed the 8-week program.

4 4 神経発達症の多様性の基となる病態 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、人生早期から認められる認知と行動の偏倚により多様な日常生活領域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ある。

しかし、同一の診断を受けていても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、さらに診断閾値下の特性に留まるケースも多い。また、神経発達症の存在は、養育困難に伴う被虐待やいじめ被害に与えることのリスクとも関連する。このような発達過程における体験が、自尊心の傷つきなどの二次的障害や精神疾患の発症リスクの上昇にも関与する。他方、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、時間知覚といった神経心理学的機能に加え、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。

また、病態の多様性に応じた介入方法の開発も本題である。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 題では、最終的に病態に応じた介入手法の実装までを目標としていく。

2. 研究組

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

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
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 では、心の理 解や表情 などの障害が認められる。また、このような社会 認知障害は、統合失調症やうつ病などの精神疾患でも認められることから、その交絡を考慮する必要がある。また、心の理 解や表情 などの発達に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ることで、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、感覚プロファイル、ADHD 症状、抑うつ、不安などを評価した。

現時点では 376 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、サンプリングを継続し、解析を進めている。ADHD の成人では定型発達者 (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、音刺激のないタッチ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。

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 6 名のデータを取得し、計 30 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。

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実施しており、2024 年 2 月に最終症例を組み入れており、現在、データクリーニング、データ固定を進めている。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 28 名の聞き取りを終えており、結果をまとめている。

4. 研究成果刊行一覧

- 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* 77(7): 412-413, 2023.
- 2) Motomura Y, Hayashi S, Kurose R, Yoshida H, Okada T, Higuchi S: Effects of others' gaze and facial expression on an observer's microsaccades and their association with ADHD tendencies. *Journal of Physiological Anthropology* 42(1): 19, 2023.
- 3) Uono S, Egashira Y, Hayashi S, Takada M, Ukezono M, Okada T: Reduced gaze-cueing effect with neutral and emotional faces in adults with attention deficit/hyperactivity disorder. *Journal of Psychiatric Research* 168: 310-317, 2023.
- 4) 江頭優佳, 林 小百合, 魚野翔太, 高田美希, 請園正敏, 岡田 俊: COVID-19 パンデミック下での神経発達症研究とこれから. *心理学評論* 67(1), 印刷中

神 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)などが含まれる。これらは、神経基盤を有する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、ASD 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、ADHD 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知、語認知、聴覚系のフィードバックの障害などである。しかしながら、個々の神経発達症は異質性が大きく、神経発達症同士の併存も多いことから、当事者に認められる認知神経科学的障害のプロフィールは多様である。

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問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。

本研究では、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関連する林相表現型を明らかにし、各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、心の理論や表情などの障害が認められる。心の理論や表情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376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。

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。実行機能と報酬系機能を組み合わせ行わせたところ、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、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。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かさがなくとも、笑顔フィードバックによる行動抑制の改善が示されなかった。

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を伴うデータ集積が得られており、さらなるデータを集積する。

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すると考えられる。

[参考文献]

- 1)Okada T: Heterogeneity in ADHD: possible contributions of cognitive neuroscience and their clinical implications. Symposium 33 Elucidating pathology of ADHD: updates from recent neuropsychological studies The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.28.
- 2)Egashira Y, Hayashi S, Uono S, Takada M, Ukezono M, Okada T: Investigation of the Characteristics of “Genuine” Time Perception in ADHD. Symposium 33 Elucidating pathology of ADHD: updates from recent neuropsychological studies The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.26-27.
- 3)Hayashi S, Uono S, Egashira Y, Ukezono M, Takada M, Okada T: Executive function in attention deficit hyperactivity disorder and its impact on reward feedback. Symposium 33 Elucidating pathology of ADHD: updates from recent neuropsychological studies The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.26-27.

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知行動特性と脳画像である。

1) 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、知行動特性との関連を調べる。

結果

1) 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、2023年度末までに定型発達群と臨床群合わせて376名からデータを取得した。

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(IBC)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30名のデータを取得し、解析を進めているところである。

考察と結

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、扁桃核）、
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) Hayashi S, Uono S, Egashira Y, Ukezono M, Takada M, Okada T: Executive function in attention deficit hyperactivity disorder and its impact on reward feedback. Symposium 33 Elucidating pathology of ADHD: updates from recent neuropsychological studies The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.26-27.
- 2) Egashira Y, Hayashi S, Uono S, Takada M, Ukezono M, Okada T: Investigation of the Characteristics of “Genuine” Time Perception in ADHD. Symposium 33 Elucidating pathology of ADHD: updates from recent neuropsychological studies The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.26-27.
- 3) Uono S, Egashira Y, Hayashi S, Takada M, Ukezono M, Okada T: Reflexive attention orienting triggered by gaze cues in adults with ADHD. The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.2

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（井上班）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

2024年2月にRCTに目標である計60名の組み入れを完了した。現在、データクリーニングを行いデータ固定を行っている。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60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、児の脳部位体積が

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、データを取りまとめている。

4) 実施者養成研修

石井は岡田とともに令和 5 年度(7 月)に指導者養成研修をオンラインにて開催した。今後も同様の研修を実施していく方針が決定している。また、学会とも連携して診療報酬化を要望していく。

考察

BPTの効果についてはパイロット研究で、児の行動上の問題(親評価)と親の児への愛着の改善を、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。

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、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

〔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*. 77(7):412-413, 2023

〔招待 演〕

1. : Behavioral parent training for Attention deficit hyperactivity disorder. Symposium 14 Medical support for Parents of children with neurodevelopmental disorders in healthcare facilities The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.26.

2. : Longitudinal MRI studies of children with Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. Research Topics 24 The 11th Congress of The Asian Society for Child and Adolescent Psychiatry and Allied Professions, Kyoto, 2023.5.28

〔著書〕

1. 石井礼花:「自閉症スペクトラム症」私の治療 P.56 日本医事新報社 2023.11.18

2. 石井礼花:発達「障害」でなくなる日 p126-129 朝日新聞取材班, 朝日新書 2023.11.30

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, 376 patients 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. We completed recruitment of participants in RCT trial and 60 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、総合てんかんセンター 主任研究者名：中川栄二

1. 3年間の研究目標及び研究計画の概要

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（1,554 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かん化、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。てんかんの診断、治療に関しては、総合てんかんセンターを核として、発達障害、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。てんかんの基礎研究に関しては、すでに当センターTMC でリサーチ・レポジトリーとして確立された利用可能な試料・情報を利用することにより、てんかんの分子病理学的研究、神経生理学的研究、遺伝学的基礎研究によるてんかんの病態解明等の基礎研究を行う。

2. 本年度の研究成果：

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：てんかんの外来・入院患者のデータ抽出について、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。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。

② てんかん臨床情報データベースおよび脳神経外科データベースの構築；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。2011 年 1 月から 2017 年 5 月の期間に、外来約 5,900 件、入院約 5,100 件のデータベースを構築した。2017 年てんかん国際分類に準拠したデータベースへの登録体制を 2017 年 6 月から開始した。2020 年度から 2023 年 10 月までに外来延べ患者数 2,443 名、入院延べ患者数 4,846 名が

登録されている。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、1999 年以降 2023 年 10 月末時点で 2,428 件のデータベースとなっている。2023 年 6 月末時点で 551 名から同意を取得し、脳検体 446 件、血漿 413 件、血清 245 件が登録され、てんかん原性腫瘍や皮質形成障害の遺伝子解析を行う研究が実施され、競争的資金の獲得を行っている。

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、男性 6.37、女性 5.75 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。低年齢発症のてんかん患者では、多剤の抗てんかん薬を内服している患者が多い。併存症は知的発達症 20.7%、自閉スペクトラム症 19.3%、脳性麻痺 12.6%などの割合が多い。小児てんかんの患者に対して向精神薬を処方された患者の割合は年齢の上昇により増加し、15-17 歳で 19.2～ 26.5%であった。

III. てんかん遠隔医療の構築と推進

てんかん PHR を利用した遠隔診療推進のモデル形成：てんかん PHR (Personal Health Record) として nanacara と nanacara for doctor のシステムを監修し全国で約 26,000 ダウンロードと利用者が広がった。てんかん専門医と患者家族にアンケートを行い、ニーズに合った開発をすすめた。診療のモデルとして NCNP と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。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 心因性非てんかん性発作 (PNES) 患者における脳の形態、白質傷害と glymphatic system の検討：心因性非てんかん性発作 (PNES) 患者において、MRI にて脳の灰白質体積、白質傷害、ALPS index を検討し、PNES の病態を推測した。コントロールと比較して、PNES 患者では①両側の扁桃体の体積が減少していた。②両側の後部帯状回で FA 値が低下していた。③ALPS index には有意差がなかった。PNES で後部帯状回白質の障害が生じているのにも関わらず、ALPS index には有意差がなかったことは、器質性てんかん患者とは機序が異なることが示唆された。また扁桃体が PNES の病態に関与していることも示唆された。

② 神経発達症に関する睡眠脳波研究：自閉スペクトラム症 (ASD) 児の睡眠時脳波を解析し定型発達児の睡眠時脳波と比較することで ASD 児に特有の所見を検討した。対象となったのは ASD 児 (男/女) 19 例/9 例 (年齢中央値 5.3/5.1)、ボランティア定型発達児 (男/女) 16 例/17 例 (年齢中央値 6.2/6.9 歳)、全電極平均パワーを TD/ASD 児間で比較し

たところ、ASD 男児において θ 帯域のパワーの有意な低下 ($p=0.0041$) を、 β/θ 比での検討では男女ともに ASD 児で有意な上昇を認めた。脳の左右対となる電極ペアの平均コヒーレンスについては、男女ともに ASD 児において θ 帯域のコヒーレンスの有意な低下が認められた。睡眠時の脳波での、 θ パワーの低下や θ 帯域のコヒーレンスの低下が ASD 児補助診断のツールとして有用である可能性がある。

③ てんかん患者のトランジションの実態調査：小児期発症のてんかんの 50~60%は小児期間に治療が終結することは可能であるが、それ以外に患者は成人期においても治療継続が必要である。小児期発症のてんかんの場合には神経発達症や身体障害などの併存症があることや、小児期発症の希少てんかんの診断や治療を成人診療科は不慣れなどの理由が小児期から成人診療科へのトランジションを妨げる要因となっている。当院精神科てんかん外来を初診した患者のトランジション年齢は平均 24.7 歳と比較的高い。神経発達症の併存は 70%、精神症状の併存は 58%、身体症状の併存は 22%であった。神経発達症のあるトランジション患者は、発作コントロール不良および精神症状の併存が多く、包括的なてんかん診療が必要である。

④ 成人・高齢者てんかんの臨床病態と治療の解析：通常脳波での棘波や鋭波に加え、wide-band EEG では直流(DC)電位、高周波数律動(HFOs)がてんかん原性の指標として示唆されている。DC 電位と HFOs の性状と時間的・空間的相関、臨床的有用性を評価し、ヒトのてんかん原性の病態を検討できれば、新たな治療法や薬剤の創造に貢献できる可能性がある。DC 電位と HFOs が焦点起始発作 重積状態及び抗てんかん薬によりどの様な影響を受けるか検討した。

⑤ てんかんの神経生理学的マーカーの開発と病態解明：認知機能障害のあるてんかん症例では、前頭部優位 spindle の分布やパワー値が定型発達児(TDC)と異なること、とくに前頭葉てんかんや中心側頭部に棘波を示す非定型小児てんかん(ACECTS)では前頭部 spindle のパワー値が大きくなり、徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症(ECSWS)では逆に前頭部 spindle が消失することが明らかになった。

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：閉塞性睡眠時無呼吸を中心とした睡眠障害や夜間の睡眠分断が、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。患者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した。当院にて PSG を実施した成人てんかん患者の診療録より、患者背景、各種重症度スケール、PSG による客観指標についての情報を収集した GAF、WHO-DAS 2.0 とともに抑うつおよび不眠と有意な関連を認めた。

V. てんかん基礎研究

① てんかん外科検体の遺伝子解析：NCNP 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用いて、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。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。54 症例で DNA メチレーション解析を行い、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。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 RNAseq の解析を進めたところ *SLC35A2* 遺伝子の変異が 4 例で確認された。

② 難治性てんかんの遺伝学的解析：Joubert 症候群関連疾患 (JSRD) の臨床遺伝学研究と併発するてんかんの病態について検討した。52 例の JSRD 患者の遺伝子解析を行った結果、約 25% (13/52) の症例がてんかんを併発していた。これら症例のてんかん併発 JSRD では、*CEP290* 遺伝子異常が 5 例、*TMEM67* 遺伝子異常が 1 例、*TCTNI* 遺伝子異常が 1 例、未知遺伝子 (VUS) が 6 例であった。この 6 例の VUS のうち、病因性解析の結果から同定された *SPTBN5* の分子生物学的解析を行った。*SPTBN5* は核内に複数カ所局在し、その結合する分子として *FOXG1* を同定した。*FOXG1* は発生初期に前脳に発現する転写因子で、てんかんを併発する遺伝性神経発達症である *FOXG1* 症候群をもたらすことから、その分子病態の解明はてんかんと脳形成障害の発症機序の理解につながることを期待された。

③ 手術脳検体を用いた一細胞核トランスクリプトーム解析による mTOR オパチーてんかんの細胞分子病態の探索：mTOR オパチーの代表的な疾患例として限局性皮質異形成 (FCD) typeIIb に着目し、mTOR オパチーに共通するてんかん原生に関わる細胞分子病態を解明することを目的とした研究を実施した。NCNP 病院及び、メディカルゲノムセンターと連携し、FCD typeIIb の手術脳検体 5 検体、FCD typeIIa 1 検体、コントロール 5 検体の提供を受け、一細胞核 RNA シーケンス (snRNA-seq) を実施した。snRNAseq では合計 57949 個におよぶ細胞核のデータを取得することができた。これは、これまでに実施された他のてんかんの snRNAseq データと比較しても大変規模の大きいデータである。FCD におけるてんかん原生を明らかにするために、snRNAseq データを使用した発現変動遺伝子解析、サブクラスタリングによる詳細な細胞分類、RNAvelocity 解析などを行い、近年注目されつつあるグリア細胞とてんかん原生との関連を支持する結果が得られた。

④ 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：活性化ミクログリアに誘導され、てんかん原性獲得に能動的に寄与する「てんかん原生型アストロサイト」の存在を明らかにした。さらに RNA-seq 解析により、てんかん原性型アストロサイトではシナプス新生関連遺伝子の代謝型グルタミン酸受容体 (mGluR5) が高発現していることを同定した。けいれん重積 (SE) 後のアストロサイト mGluR5 の再発現は、異常発芽苔状繊維上での

興奮性シナプス形成を介して、てんかん原性獲得に関与している可能性が示唆された。また、Gap junction 機能抑制を介するグリア細胞性抗てんかん原性作用には、SE 後早期の活性化ミクログリアを抑制することが重要である可能性が示唆された。

VI. 社会的貢献

第56回日本てんかん学会学術集会を2023年10月19日-21日に京王プラザホテルで開催した。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2023年7月23日と12月17日に開催した。NCNP総合てんかんセンター市民公開講座を2023年6月25日と12月10日に開催した。

3. 今後の研究の進め方について

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1,554医療機関登録）」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・提言を引き続き行う。てんかんリソースレポジトリシステムを継続的に構築する。

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. 本年度の研究業績 2023年度のみ（主任研究者・分担研究者） ※5件以内を記載

(1) 原著英文：（45編） 原著和文（9編）

1. Chiba E, Sato N, Kimura Y, Shigemoto Y, Maki H, Arizono E, Hamamoto K, Taniguchi G, Iwasaki M, Ota M, Matsuda H, Nakagawa E. Double inversion recovery MRI of subcortical band heterotopia and its variations. Journal of Neuroimaging. 25 June 2023 <https://doi.org/10.1111/jon.13141>
2. Watanabe S, Lei M, Nakagawa E, Takeshita E, Inamori KI, Shishido F, Sasaki M, Mitsuhashi S, Matsumoto N, Kimura Y, Iwasaki M, Takahashi Y, Mizusawa H, Migita O, Ohno I, Inokuchi JI. Neurological insights on two siblings with GM3 synthase deficiency due to novel compound heterozygous ST3GAL5 variants. Brain Dev. 2023 May;45(5):270-277. doi: 10.1016/j.braindev.2023.01.002.
3. 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 Jun;8(2):651-658. doi: 10.1002/epi4.12705. Epub 2023 Feb 14. PMID: 36740266; PMCID: PMC10235550.

4. 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 Jun;8(2):651-658. doi: 10.1002/epi4.12705.
5. 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.

(2) 総説：（ 10 編） ※5件以内を記載

1. 岩崎真樹, 中川栄二, 遠山潤, 飯田幸治, 高橋幸利, 中里信和, 下竹昭寛, 戸田啓介. わが国におけるてんかんセンターの実情と課題. *てんかん研究*. 2023;40(3):530-540.
2. 岡崎 伸, 中川栄二, 野崎拓朗, 福岡正隆, 温井めぐみ, 井上 岳司, 九鬼一郎. てんかん PHR と連動した遠隔診療ツール nana-medi を用いた離島とのオンライン診療の経験. *日本遠隔医療学会雑誌*. (1880-800X)19 巻 2 号 Page87-90(2023.10)
3. 谷口 豪, 加藤英生, 大竹眞央. 一過性意識消失発作の鑑別に必要な検査. *精神医学* 65: 855-865, 2023
4. 中田千尋, 谷口 豪. Gabapentin の適応外使用の背景と現在地. *臨床精神薬理* 26: 591-600, 2023
5. 中川 栄二. つながれ支援の輪～てんかん地域診療連携体制整備事業（各支援拠点の取組み）. *波*. 2023 ; 47(4) : 15-17.

(3) 書籍：（ 15 編） ※5件以内を記載

1. 中川栄二. 抗てんかん薬. エキスパートが教える小児の薬物治療. *小児内科* 2023 年 55 巻増刊号. 東京医学社. 東京. 2023 年 11 月 30 日発行 P.132-137
2. 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
3. 齋藤貴志. 早期ミオクロニー脳症、てんかん症候群 診断と治療の手引き. 2023 年 10 月、17-20
4. Matsuda H, Shimosegawa E, Shigemoto Y, Sato N, Fujii H, Suzuki F, Kimura Y, Sugiyama A. Diseases of the Central Nervous System. John Wiley & Sons Ltd. Radiology-Nuclear Medicine Diagnostic Imaging: A Correlative Approach. April 7, 2023. 163-193
5. 谷口 豪, 兼本浩祐. PNES（心因性非てんかん発作）臨床講義. 中外医学社、東京, 2023

(4) 国際学会発表：(10 回)、国内学会発表：(84 回)

1. Nakagawa E. National Epilepsy Regional Clinical Cooperation System Project in Japan. The 16th Asian Oceanian Congress of Child Neurology Conference 2023, Bangkok 4-6 August 2023 (発表8/4)
2. Iwasaki M., Takayama Y, Iijima K, Kimura Y. Stereotactic radiofrequency thermocoagulation for insulo-opercular focal cortical dysplasia. Asian Epilepsy Surgery Congress 2023. Nov 11, 2023 (Ho Chi Minh City) *platform
3. Y. Takayama, Y. Kimura, K. Iijima, M. Yoshitomi, K. Kosugi, T. Yamamoto, M. Iwasaki. Volume-based radiofrequency-thermocoagulation for insulo-opercular epilepsy. 13th Scientific meeting of Asian Australasian Society for Stereotactic and Functional Neurosurgery (Osaka), April 28, 2023 (Symposium 5: Epilepsy)
4. M. Itoh, Y. Aoki. LOX-1 mediates inflammatory activation of microglia through the P38-MAPK/NF- κ B pathways under hypoxic-ischemic condition. Neuroscience 2023 (Society for Neuroscience), Washington DC, Nov 13, 2023
5. S. Okazaki, T. Inoue. Cutting Edge of a Comprehensive Epilepsy Center in Japan: Looking to Collaboration with Doctors in Asia. The 15th Biennial Convention of the ASEAN Neurological Association 2023 - ASNA2023(Vietnam)

(6) シンポジウム：(21 回)、講演：(29 回)

1. 中川栄二. てんかん児に併存する神経発達症の治療. シンポジウム17. 第65回日本小児神経学会学術集会, 岡山, 5. 25-27, 2023
2. 中川栄二. 難治性てんかんにおけるカンナビジオール導入における期待と問題点. 薬事小委員会主催セミナー. 第65回日本小児神経学会学術集会, 岡山, 5. 25-27, 2023
3. 谷口 豪, 宮崎真理子, 中田千尋, 加藤英生, 大竹真央, 藤雄一郎, 飯島圭哉, 岩崎真樹, 中川栄二. 精神科とてんかん外科とのコラボレーション. 第56回日本てんかん学会学術集会, 東京, 10. 19-21, 2023
4. Itoh M. Molecular mechanism of KARS-related leukodystrophy with infantile epilepsy. XVII Workshop on Neurobiology of Epilepsy (WONOEP 2023). Kilkea, Ireland, Aug 30, 2023
5. Hoshino M. Roles of the transcription factor, PTF1a, in development and sex differentiation of the brain. 日本神経科学学会大会、シンポジウム、仙台、2023年8月1-4日

(8) 受賞 (4 回)

1. 第 56 回日本てんかん学会学術集会 English Presentation Award

小林揚子, 岩崎真樹, 馬場信平, 住友典子, 本橋裕子, 齋藤貴志, 川島貴大, 立森久照, 中川栄二. Patient journey to epilepsy surgery in children with focal cortical dysplasia: probable risk factors for delayed surgical intervention

2. 第56回日本てんかん学会学術集会 優秀ポスター賞

藤雄一朗, 谷口 豪, 大竹真央, 加藤英生, 中田千尋, 中川栄二. 当院におけるてんかん精査目的の検査入院での鎮静下頭部MRI検査についての検討.

3. 第56回日本てんかん学会学術集会 優秀口演賞

相原 悠, 馬場信平, 飯島圭哉, 木村唯子, 高山裕太郎, 本橋裕子, 齋藤貴志, 中川栄二, 岩崎 真樹. 小児の島回てんかん3例の発作徴候とSEEGによる検討.

4. 第56回日本てんかん学会学術集会 優秀口演賞

山本 薫, 馬場信平, 住友典子, 竹下絵里, 本橋裕子, 齋藤貴志, 中川栄二, 須貝研司, 小牧宏文. 乳児期早期発症てんかん性脳症患者の脳波変化と心電図変化の関連

6. 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) 神経発達症に関する睡眠脳波研究

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。そして症状は社会や職業その他の重要な機能に重大な障害を引き起こしている。しかしその病態や原因については解明されていない。

これまでに我々は ASD、注意欠如多動症(ADHD)、限局性学習症(SLD)、知的障害(ID)を含む神経発達症患者 354 人を対象として、睡眠時脳波と発作波の種類、部位、抗てんかん薬や抗精神病薬の内服状況と行動障害、精神症状、睡眠障害に対する薬物治療の検討を行った。対象とした神経発達症患者 354 人のうち男性 254 人(71.8%)、女性 100 人(28.2%)で、平均年齢は 13.9 ± 6.6 歳(2~46 歳)であった。そのうち脳波異常は 293 人(82.8%)に認め、男性 210 人(59.3%)、女性 83 人(23.4%)であった。脳波異常の内訳は前頭部の鋭波や徐波が 180 人(50.8%)、前頭部の棘波が 52 人(14.7%)、

前頭部棘徐波が 32 人 (9.0%)、全般性鋭波 39 人 (11.0%)、全般性徐波 32 人 (9.0%)、その他 29 人 (11.4%) であった。睡眠障害は全体の 47.5% に認められ、ASD では 51.3%、ADHD では 46.5%、ASD と ADHD 併存では 58.0% で認められた。てんかんの合併は 226 人 (63.8%) に認められた。脳波異常がある神経発達症に対する抗てんかん薬と抗精神病薬の併用により、睡眠障害や興奮性、衝動性などの行動面での改善が認められた。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。脳波を用いて入眠時の脳機能を定量的に評価することで、現在、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ある。2021 年から我々は田辺三菱製薬との共同研究として、徐波睡眠開始から最大 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 (A2020-104)。全電極平均パワーを定型発達児と ASD 児間で比較したところ、ASD 男児において θ 帯域のパワーの有意な低下が認められた。また、脳左右の θ 帯域のコヒーレンスを定型発達児と ASD 児間で比較したところ、ASD 児においてコヒーレンスの有意な低下が認められた。今回我々は、行動障害に対し診療上薬剤を投与した ASD 児における脳波について、これまで我々が得た知見である θ 帯域のパワーおよび脳左右のコヒーレンスの変化を投与前後で比較し、生活の質の改善との相関を検討する。

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を視覚化する枠組みを作成し、随時更新した。

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2024年3月31日までで臨床診断と術式を含む2482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・遂行に役立った。
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、2023年10月

26日現在、同意取得者571名で、脳試料457検体、血漿437検体、血清268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。2020年4月～2023年9月の集計で、外来延べ患者数2443名、入院延べ患者数4846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

小児てんかんの患者に対して併用される向精神薬の処方状況に関する研究

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

緒言 てんかんの患者は、行動や精神面での問題を高率に合併することが知られている(1)(2)(3)。このため、てんかんとは別に治療を行う必要があるが、どのように行うべきかの指針はない。また、実際の診療で、どのような治療が行われているかも不明である。本研究では、レセプトデータを用いて、実臨床での小児てんかん患者への向精神薬の処方状況を明らかにすることを目的とする。

方法 小児てんかん患者は、「てんかん(G40)」の病名を付与された18歳未満の患者のうち、(1)てんかん指導料、迷走神経刺激装置管理料の請求、(2)4週間以上の抗てんかん薬の処方のどちらかを満たすものとし、向精神薬はAnatomical Therapeutic Chemical (ATC)分類のN05精神安定薬及びN06精神賦活薬に分類されるものとし、抗てんかん薬や検査の鎮静に頻用される薬剤は除外した。2009年度から2018年度まで各年度ごとに上記の定義を満たすてんかん患者を同定した。抗精神病薬(ATCコードN05A)、抗不安薬(N05B)、睡眠薬・鎮静薬(N05C)、抗うつ薬(N06A)、神経刺激薬(N06B)の使用頻度を3歳ごとの年齢層ごとに算出した。

結果 JMDC のレセプトデータベースの登録数が年度ごとに異なるため、てんかん患者数は2009年度が1,229例で、2018年度が10,875例であった。5歳以下の年齢層では、抗不安薬と睡眠薬・鎮静薬の使用頻度が高かった。抗精神病薬は6歳以上の年齢層で最も使用頻度が高く、15-17歳以上では

各年度とも20%以上(20.1~37.4%)の患者に対して処方されていた。抗うつ薬は年長児で多く処方され、15歳以上で処方頻度は4.6~13.0%であった。精神刺激薬は12-14歳での処方頻度が高く、処方頻度の増加傾向が見られた。

考察 向精神薬の全体の使用比率は、2009年度から2018年度で大きな変化はなく、年齢が大きくなると処方比率は増加し、15歳から17歳では20%前後であった。睡眠薬は多くの年齢層で処方される割合が増加している。医師の治療が積極的になったことや、小児に使用しやすい薬剤が広く使われるようになったことが契機となっている可能性がある。精神刺激薬も増加傾向で、医師が治療に積極的になったほか、薬剤の選択肢が増加したことも一因と考えられる。

結論 小児てんかん患者では、向精神薬を併用され得る割合が高く、年齢によって併用薬に変化が見られ、治療が必要な行動障害や睡眠障害の合併頻度とその年齢による変化を反映していると考えられ、各年代に応じた併存症への対応が必要である。

参考文献

1. Parisi P, Moavero R, Verrotti A, Curatolo P. Attention deficit hyperactivity disorder in children with epilepsy. *Brain Dev.* 2010 Jan;32(1):10-6.
2. Hara H. Autism and epilepsy: A retrospective follow-up study. *Brain Dev.* 2007 Sep;29(8):486-90.
3. Gutter Th, Brouwer OF, De Weerd AW. Subjective sleep disturbances in children with partial epilepsy and their effects on quality of life. *Epilepsy Behav.* 2013 Sep;28(3):481-8.

研究課題番号:4-5

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：国立精神・神経医療研究センター・放射線診療部

分担研究者氏名：佐藤典子

緒言：近年 MRI 拡散テンソル画像から深部白質での水分子の脳内の間質液の流れを評価する手法 DTI-ALPS (diffusion tensor image analysis along the perivascular space) が提案された。そしててんかん患者において、DTI-ALPS の指標、ALPS Index が正常と比べて減少していることが報告されている。一方 PENES は、てんかん発作に似た症状を示すが脳波異常をきたさない心因性非てんかん性発作 psychogenic non-epileptic seizures (PNES) で、しばしてんかん患者との鑑別を要し、その科学的な病態解明が必要とされている。

対象と方法

16 人の PNES 患者と 25 人のコントロールに対して、3 TMRI にて 3 DT1WI と 15 軸の拡散テンソル画像 DTI を撮像した。以下の 3 つの解析を行い、得られた結果を PNES 患者とコントロールで比較検討した。

- ① 3 DT1WI より VBM(voxel based morphometry) 8 で脳の標準化を行い、SPM12 のソフトを用い、2 群間の灰白質の volume 解析を行った。
- ② DTI よりノイズ補正をした後画像を標準化し、FSL6. 0. 3 にて FMap を作成し、SPM12 にて白質の障害の指標となる FA 値を比較検討した。
- ③ DTI より②と同様な処理で FMap を作成した。FSLEyes を用い x, y, z 軸別のベクト

ルをカラー表示し、側脳室に隣接する投射線維と連合線維を同定可能とした。投射線維と連合線維に 5mm 径の ROI をおいて、それぞれの x, y, z 軸のベクトル値を計測した。それらを用いて以下の式で ALPS index を算出した。

$$\text{ALPS index} = \frac{\text{mean}(D_{xx \text{ proj}}, D_{xx \text{ assoc}})}{\text{mean}(D_{yy \text{ proj}}, D_{zz \text{ assoc}})}$$

結果：コントロールと比較して、PNES 患者では①両側の扁桃体の体積が減少していた。②両側の後部帯状回で FA 値が低下していた。③ ALPS index には有意差がなかった。

討論：PNES で後部帯状回白質の障害が生じているのにも関わらず、ALPS index には有意差がなかったことは、器質性てんかん患者とは機序が異なることが示唆された。また扁桃体が PNES の病態に関与していることも示唆され、興味深い結果となった。

結論：MRI の形態解析や拡散テンソル解析は PENES とてんかん疾患との鑑別に有用なツールである。

参考文献：

Ota M, Sone D, Shigemoto Y, Kimura Y, Matsuda H, Sato N. Glymphatic System Activity and Brain Morphology in Patients With Psychogenic Non-epileptic Seizures. *Cureus*. 2024 Jan 27;16(1):e53072. doi: 10.7759/cureus.53072. eCollection 2024 Jan. PMID: 38410305

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

小児期発症のホスホリパーゼ A2group6 変異陽性神経変性疾患に中年期でてんかんを合併した49歳女性例について検討した(1)。

結果

症例は49歳女性。6歳まで成長発達に問題なかった。7歳時に運動が苦手となり、また両足趾の屈曲変形をきたした。16歳時、両下肢の動かしづらさ、右手の使いづらさが出現した。運動機能は年単位で緩徐に低下し38歳で寝たきりとなった。39歳時に当科を初診。臨床像は複合型痙性対麻痺であった。遺伝子検査で PLA2G6 の両アレルにミスセンス変異 (c.662C>T; p.L221P / c.991G>T; p.D331Y) を認め、PLA2G6 関連神経変性症 (PLAN) と診断した。49歳時に短時間の意識障害を繰り返し、脳波で全般性鋭波を認

め、てんかんと診断した。

考察

PLA2G6 は、2006年に脳内鉄沈着を伴う神経変性症 (NBIA: neurodegeneration with brain iron accumulation)(2)、2009年に家族性パーキンソン病 (PARK14)(3)、2017年に複合型痙性対麻痺(4)における原因遺伝子として同定された。現在では、これらの疾患は PLA2G6 変異に伴う神経変性疾患 (PLAN) という概念でとらえられている。PLAN は常染色体潜性疾患であり、また発症年齢と表現型に基づき乳児神経軸索ジストロフィー (INAD: infantile neuroaxonal dystrophy)、非典型神経軸索ジストロフィー (ANAD: atypical neuroaxonal dystrophy)、PARK14 に大別される(5)。PLAN の有病率は100万出生に1例程度と推計され(6)、超希少疾患といえる。INAD では40%以上にてんかんを合併するとされるが(7)、ANAD における頻度は不明である。文献を渉猟した限り (Table 2) (8-14)、6/11例 (55%) でてんかんを合併していた。てんかん発症年齢はいずれも10-20歳代であり、本症例は既報告よりも晩発だった。本症例は両アレルのミスセンス変異であり、重症型変異ではないため臨床経過が比較的緩徐であった可能性がある。

結論

PLAN では少なからずてんかんを合併する可能性があり、意識障害を認めた際は繰り返し脳波検査を行う必要がある。

参考文献

1. 三森 雅広, 金澤 恭子, 佐藤 和貴, 雑賀 玲子, 塚本 忠, 弓削田 晃弘, 高橋 祐二. 小児期発症の PLA2G6 変異陽性神経変性症に中年期でてんかんを合併した49歳女性例. 第245回日本神経学会関東・甲信越地方会; 東京

- 2022;6:17.
2. Morgan NV, Westaway SK, Morton JE, Gregory A, Gissen P, Sonek S, et al. PLA2G6, encoding a phospholipase A2, is mutated in neurodegenerative disorders with high brain iron. *Nat Genet.* 2006;38(7):752-4.
 3. Paisan-Ruiz C, Bhatia KP, Li A, Hernandez D, Davis M, Wood NW, et al. Characterization of PLA2G6 as a locus for dystonia-parkinsonism. *Ann Neurol.* 2009;65(1):19-23.
 4. Ozes B, Karagoz N, Schüle R, Rebelo A, Sobrido MJ, Harmuth F, et al. PLA2G6 mutations associated with a continuous clinical spectrum from neuroaxonal dystrophy to hereditary spastic paraplegia. *Clin Genet.* 2017;92(5):534-9.
 5. Deng X, Yuan L, Jankovic J, Deng H. The role of the PLA2G6 gene in neurodegenerative diseases. *Ageing Res Rev.* 2023;89:101957.
 6. Kiel M, Kozaric A, Singer-Berk M, Wood J, Evangelista E, Hope A, et al. P170: An estimation of global genetic prevalence of PLA2G6-associated neurodegeneration. *Genetics in Medicine Open.* 2024;2.
 7. Altuame FD, Foskett G, Atwal PS, Endemann S, Midei M, Milner P, et al. The natural history of infantile neuroaxonal dystrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):109.
 8. Ahn H, Moon HJ, Jeon B. A Case of PLA2G6-Associated Neurodegeneration with Frequent Myoclonus And Generalized Onset Tonic-Clonic Seizures: Successful Treatment with Zonisamide. *J Clin Neurol.* 2021;17(2):319-21.
 9. Darling A, Aguilera-Albesa S, Tello CA, Serrano M, Tomás M, Camino-León R, et al. PLA2G6-associated neurodegeneration: New insights into brain abnormalities and disease progression. *Parkinsonism Relat Disord.* 2019;61:179-86.
 10. Illingworth MA, Meyer E, Chong WK, Manzur AY, Carr LJ, Younis R, et al. PLA2G6-associated neurodegeneration (PLAN): further expansion of the clinical, radiological and mutation spectrum associated with infantile and atypical childhood-onset disease. *Mol Genet Metab.* 2014;112(2):183-9.
 11. Karkheiran S, Shahidi GA, Walker RH, Paisán-Ruiz C. PLA2G6-associated Dystonia-Parkinsonism: Case Report and Literature Review. *Tremor Other Hyperkinet Mov (N Y).* 2015;5:317.
 12. Riku Y, Ikeuchi T, Yoshino H, Mimuro M, Mano K, Goto Y, et al. Extensive aggregation of α -synuclein and tau in juvenile-onset neuroaxonal dystrophy: an autopsied individual with a novel mutation in the PLA2G6 gene-splicing site. *Acta Neuropathol Commun.* 2013;1:12.
 13. Rohani M, Shahidi G, Vali F, Lang AE, Slow E, Gahl WA, Behnam B. Oculogyric crises in PLA2G6 associated neurodegeneration. *Parkinsonism Relat Disord.* 2018;52:111-2.
 14. Sakhardande KA, Reddi VSK, Mishra S, Navin K, Ramu A, Arunachal G, et al. Homozygous PLA2G6 (PARK 14) gene mutation associated neuropsychiatric phenotypes from southern India. *Parkinsonism Relat Disord.* 2021;90:49-51.

多施設てんかん臨床情報データベースに向けたシステム開発

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・研究に従事する医師・研究者が症例の情報を共有し、診療・研究に有効に活用しうる、多施設 てんかん臨床情報データベースシステム開発を目的とし、必要な調査・課題検討・環境整備およびシステムの設計開発を実施する。

方法

1. 電子カルテの構造化された臨床情報（処方・検査・診断情報等）や請求情報（レセプト・DPC）を収集し、他施設で統合するシステムに関する調査を実施し、課題を検討する。
2. 診療情報交換の新規格として注目され、国内でも普及実装が進んでいる **HL7-FHIR** 規格の動向について調査検討を行う。
3. 2022 年 11 月の ChatGPT リリースから全世界的なブームを巻き起こしている生成 AI について、疾患データベース開発への活用について検討する。

結果

NC の電子カルテ統合データベース（6NC-EHRs）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、R5 年度までに電子カルテベンダによってテンプレートの実装とデータ抽出を実施している。

GPT に代表される生成 AI は、急速なモデル改善と普及実装環境整備が進んでおり、幻視やプライバシー、著作権等の懸念はあるものの、今後必須の情報ツールとなると考えられた。GPT のカスタムアプリケーション開発環境（GPTs）で、てんかん診療ガイドラインに基づいててんかんの診断・治療についての質問に回答するアプリケーションを試作し、簡便な設定で実用的なツールが作成可能であることが確認された。

考察

6NC-EHRs 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。**HL7-FHIR** 新規格によるデータ収集により、これらの課題の解決が期待できる。生成 AI によりコンピュータの自然言語処理を飛躍的に進歩し、疾患データベースのデータ処理にも大いに活用が期待される。

結論

病院情報システムのデータを活用し、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。**HL7-FHIR** や生成 AI などの新規格・新技術は、疾患データベースの構築活用にもインパクトがあることが確認された。

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。

【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症候群などを含む疾患群である。JSRDの患者にてんかんの併発は極めて稀である。

本研究では、52例のJSRD患者の臨床遺伝学的解析を行い、その結果13例のてんかん併発例の臨床的特徴と病因性、てんかん原性について検討を行った。

【方法】

昨年度報告したJSRD患者の45家系52例のうち、てんかん併発の有無と遺伝子変異の相関解析を行った。

臨床診断はJSRD診療ガイドライン2018に従って行い、特徴的な臨床像を抽出した。また、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。

病因性の解明のために、遺伝子発現ベクターを作成し、HEK293T細胞に導入し細胞内局在を調べた。また、アフリカツメガエル卵にモルフリーノオリゴによる発現抑制を誘導し表現型解析を行った。

（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。

また、組換えDNA実験安全委員会の承認を得て細胞生物学的研究を行なった。

【結果】

45家系52例のJSRD患者の臨床症状の解析結果から、13例にてんかん併発が見つかった（25%）。この割合は、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。

13例のうち5例は*CEP290*であった。*CEP290*遺伝子異常にてんかんが併発する報告はない。てんかん併発例はすべて*CEP290* Arg2004Serfs*7を有し、有馬症候群であった。本邦の特徴であるかもしれない。

*CEP290*以外では、*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。

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い、細胞内局在を確認し、3遺伝子ではアフリカツメガエル胚の形成異常を誘導できた。

【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。*CEP290* 遺伝子異常が最も多く、有馬症候群に特徴的な *CEP290_Arg2004Serfs*7* を持つことがわかった。また、てんかん併発例の VUS を解明することで、繊毛異常の発症機序と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期待できる。

【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

(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、もしも良い動物モデル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。本研究では、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。これまでにNCMP てんかんデポジトリから、DSCAML1 遺伝子に変異を持つ症例を同定し、相同変異マウスを作出して、その病態を解明してきた。本研究ではさらに、その変異マウスに対して薬理的シャペロンを用いた治療法開発を目指す。さらに、手術脳検体のマルチオミックスデータの解析から、その細胞内病態の解明と新たな治療法の開発も期待される

方法

NCNP バイオバンクのてんかん手術脳検体 50 例余りを用いて total RNA-seq を行うとともに、十数例の検体については、単一核(sn)RNA-seq を行う。得られたデータをバイオインフォーマティクス解析し、てんかんの病態仮説を抽出する

結果

本年度は、手術脳検体を用いたトランスクリプトーム解析に力を入れた。そこで、mTOR オパチーの一種である限局性皮質異形成症(FCD, 特にFCD type IIb)によるてんかんと、低悪性度てんかん原生腫瘍(LEAT)によるてんかんの手術検体を用いた解析を開始した。まず、LEAT 56 検体分の Methyl 化解析、24 検体分の total RNAseq 解析(Iijima, Komatsu, Miyashita et al., under revision)を行い、LEAT の疾患内の新規サブグループやてんかん原生に関わる分子メカニズムの一端を示唆する結果を得ることができた。また、snRNA-seq 解析では、FCD

type IIb(6 検体)、コントロール 5 検体、LEAT(3 検体)について行った。FCD においては、コントロールと比較して発現が有意に変動する遺伝子群・パスウェイや、FCD でのみ確認される細胞クラスターの同定に成功した。LEAT の snRNAseq データについては、これからビッグデータ解析を行う予定である。

考察

上記(2)で得られたビッグデータを解析することによって、てんかん原性の病態仮説を抽出し、さらにそれを病態モデルマウスを用いて検証する。具体的には、胎児期の脳皮質神経前駆細胞に疾患型 mTOR を遺伝子導入することによって、FCD type IIb についての疾患病態モデルマウスを作出する。さらに、LEAT については、交配によって必要なマウス(RosaLSL-BrafCA; RosaAi9 マウス)を作出し、マウス胎児に子宮内エレクトロポレーション法で Cre 発現ベクターを導入し、Ganglioglioma を誘導し、そのマウスでてんかん発作が起きることを確認する。

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. Dewa K, Arimura N, Kakegawa W, Itoh M, Adachi T, Miyashita S, Inoue YU, Hizawa K, Hori K, Honjaya N, Yagishita H, Taya S, Miyazaki T, Usui C, Tatsumoto S, Tsuzuki A, Uetake H, Sakai K, Yamakawa K, Sasaki T, Nagai J, Kawaguchi Y, Sone M, Inoue T, Go Y, Ichinohe N, Kaibuchi K, Watanabe M, Koizumi S, Yuzaki M, Hoshino M. Neuronal DSCAM regulates the peri-synaptic localization of GLAST in Bergmann glia for functional synapse formation. *Nat Commun*. 15(1):458, 2024
2. Iijima K, Komatsu K, Miyashita S, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabe NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M. Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells*. 2024 Mar;29(3):192-206.

てんかん患者のトランジションの実態調査

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】小児期発症のてんかん患者の小児期から成人診療科へのトランジションは困難なことが多くない。

そのため当院精神科てんかん外来におけるトランジション患者について臨床的特徴について検討し、ニーズや課題について検討した。

今回のカルテ調査からは以下のことが明らかとなった。

当院精神科てんかん外来へのトランジション者は受診時の年齢は平均 24.7 歳と比較的高い。神経発達症の併存は 70%、精神症状の併存は 58%であった。精神科てんかん外来へのトランジションにおいては、てんかん発作コントロールの他にも知的障害・神経発達症や精神症状への対応へのニーズが高いことが推測された。

【はじめに】小児期発症のてんかんの場合には神経発達症や身体障害などの併存症があることや、希少てんかんの診断や治療の不慣れなどの理由により小児期から成人診療科へのトランジションが困難なことが少なくない。当院は脳神経小児科・脳神経内科・脳神経外科・精神科の 4 診療科のてんかん専門医が勤務しており院内外のトランジション症例を積極的に診療しており、そのカルテ調査によっててんかんのトランジションに関連した課題やその解決策が明らかにするのを研究目標としている。

【方法】

1) 2020 年 4 月から 2023 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 464 人のてんかん患者のうち、小児科からの紹介患者 79 人を対象とした (=小児科からのトランジション患者は 17%)。

それぞれの患者のてんかん診断、発作症状、併存症などの臨床情報を後方視的に解析し

た。

本調査は診療録の後方視的研究であり、新規の倫理審査申請は不要であることを NCNP 倫理委員会に確認している。

【結果】

1. 患者の全体像

79 人は男性 38 人、女性 41 人であった。

てんかん発症年齢は平均 6.2 歳 (0-22 歳、SD=5.8)。

精神科てんかん外来受診時年齢は平均 24.7 歳 (11-51 歳、SD=9.4) であった。

2. てんかん

てんかん診断は多岐に渡った。上位は病型不明てんかん 28 人、焦点てんかん 22 人、前頭葉てんかん 10 人、若年ミオクロニーてんかん 4 人、Lennox-Gastaut 症候群 4 人だった。発作頻度は「1 年以上発作なし」が 26 人

(33%) と最も多く、次いで「年単位」21 人 (27%)、「月単位」14 人 (18%)、「日単位」10 人 (13%)、「週単位」8 人 (10%) であった。

抗てんかん発作薬は平均 2.4 剤 (0-5 剤、SD=1.2) であり、5 人 (6%) がてんかん外科の既往 (複数回の手術歴 2 人を含む) があった。

3. 併存症

精神科初診時の時点で向精神薬が処方されていた患者は 36 人 (46%) であり、平均 2 剤 (1-4 剤,SD=0.9) の向精神薬が処方されていた。

精神科初診時の時点で「精神科的加療を要する精神・行動障害がある」と診断された患者は 46 人 (58%) であった。精神科診断としては神経発達症 31 人、心因性非てんかん発作 8 人、精神病症状 6 人、不安症状 5 人、抑うつ症状 4 人、At Risk Mental State 1 人、脳炎後遺症に伴う衝動行為 1 人であった。

精神科初診の時点で「神経発達症の併存がある (疑われる)」患者は 55 人 (70%) であった。知的能力障害 48 人、自閉症スペクトラ

ム症 36 人、ADHD6 人、学習障害 1 人であった。55 人のうち精神科的加療を要する患者は 31 人であった（24 人は特別な精神科加療は必要としなかった）。

精神科初診の時点で「身体的疾患・障害」があったのは 17 人（22%）であった。身体疾患は多岐に渡り、片麻痺 5 人、脳性麻痺 3 人、高次脳機能障害 2 人が上位を占めた。

4. てんかん発作と神経発達症の併存によるグループ化

「てんかん発作のコントロール」の有無と「神経発達症の併存」の有無とで 79 人のトランジション患者をグループ化したところ、「神経発達症（+）てんかん発作コントロール不良」群は 39 人（49%）、「神経発達症（+）てんかん発作コントロール良好」群は 16 人（20%）、「神経発達症（-）発作コントロール不良」群は 14 人（18%）、「神経発達症（-）、発作コントロール良好」群は 10 人（13%）であった。

【考察】

当院精神科てんかん外来を初診した患者のトランジション年齢は 24.7 歳であった。てんかん患者の移行医療を検討する時期はてんかん病型、病因、併存症の有無および患者の社会的背景を考慮する必要があるが、既存の報告に比べると年齢が高い。

てんかん病型は多岐に渡り、発作コントロール不良の患者が多かったが、33%の患者は 1 年以上発作が抑制されており、「てんかん専門外来」といっても主訴は必ずしもてんかん発作コントロールではないことが示唆された。神経発達症の併存は 70%、精神症状の併存は 58%、身体症状の併存は 22%であり、精神科てんかん外来においては神経発達症および精神症状への対応が求められているのが明らかとなった。

一方で、「てんかん発作のコントロール」の有無と「神経発達症の併存」の有無によるグループ分けからは、「神経発達症（+）てんかん

発作コントロール良好」群の患者、つまりてんかん専門医ではない精神科医でも対応が可能な患者は 20%と一定数いるのが明らかとなった。

【今後の研究計画と期待される研究成果】

引き続き、精神科てんかん新患者の林視床情報をカルテ調査すると共に、新たに脳神経外科・脳神経内科てんかん新患症例の臨床情報も収集する。

上記の成人てんかん診療データベースから当院における平均「トランジション年齢」を設定し、小児神経科てんかん新患における「トランジション年齢」をこえた患者の臨床情報を収集・解析する。

【行政政策への貢献度】

本研究が計画した目標を達し成果をあげることで、医学的にも心理社会的にも様々な背景をもつてんかん患者それぞれに最適なトランジションの方法が明らかとなることが期待できる。

【参考文献】

- 1) 谷口豪ら. てんかんのキャリアオーバーについての研究報告—小児神経科へのアンケート結果—. 脳と発達 2012; 44 :311-314
- 2) 渡辺雅子ら. てんかんのキャリアオーバーについての研究報告—神経内科へのアンケート結果—. 臨床神経 2012; 52: 730-738
- 3) 渡辺雅子ら. てんかんの小児から成人へのよりよいトランジションをめざして：報告と提言. てんかん研究 2013; 31: 30-39
- 4) Cafield P et al. The transition from pediatric to adult care for youth with epilepsy: Basic biological, sociological, and psychological issues. Epilepsy Behav 2017; 69:170-6
- 5) Devinsky O et al. Delivery of epilepsy care to adults with intellectual and developmental disabilities. Neurology 2015; 85:1512-21
- 6) 井上岳司ら. てんかんの移行医療. 神経治療 2022; 39: 59-63

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、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生を誘導する「てんかん原生型アストロサイト」の存在を明らかにした。しかし、このCa²⁺過活動から、てんかん原性および発作原生に至る分子メカニズムは解明されていない。そこで今回、てんかん原性型アストロサイト依存的な発作原生およびてんかん原生獲得機構の解明を目指して、さらなる検討を追加した。

【方法】

発作原生プロジェクト：アストロサイト Gap junction 機能異常が発作原性に与える影響を解明するため、コネクシン（Gap junction 構成タンパクの一種）阻害薬（INI-0602）を、SE 誘発直後に単回投与し、SE の重症度とその後の組織学的変化を解析した。

てんかん原生プロジェクト：1) コネクシン阻害薬（INI-0602）を、てんかん原性型アストロサイトの誘導に必須な活性化ミクログリアが顕著に認められる SE 誘発後早期（SE 直後から 6 日後まで）に限定して隔日投与し、その後の組織学的変化、行動変化を解析した。

2) てんかん原生型アストロサイトの mGluR5 依存的なてんかん性興奮性神経回路形成機構を解明するため、WT マウスとアストロサイト特異的 Grm5cKO マウス（Glast-creERT2::floxGrm5）における、異常発芽苔状繊維上での興奮性シナプス形成の差異につい

て検討を行った。

【結果】

発作原生プロジェクト：SE 誘発直後にコネクシン阻害薬を単回投与することで、SE 後の死亡率が有意に上昇した。また、コネクシン阻害薬投与群は対照群に比較して、SE 後早期のミクログリア活性化が有意に高度であった。

てんかん原生プロジェクト：1) SE 誘発後早期のコネクシン阻害薬投与により、SE 後早期のミクログリア活性化が有意に抑制され、SE 後後期（28 日後：てんかん原性獲得期）のアストロサイト活性化も有意に抑制された。さらに、SE 後後期の発作閾値低下も有意に抑制された。2) WT ではけいれん重積 4 週間後に苔状繊維異常発芽を認め、苔状繊維異常発芽を認める領域において、興奮性シナプスの新生が認められた。アストロサイト特異的 Grm5cKO マウスでは、苔状繊維異常発芽および興奮性シナプス新生が抑制されていた。

【考察および今後の展望】

コネクシン阻害薬の急性投与は発作原性を増悪させる可能性がある。一方で、慢性投与により SE 後早期の活性化ミクログリアの抑制を介して抗てんかん原性作用を示す可能性が示唆された。また、SE 後のアストロサイト mGluR5 の再発現は、異常発芽苔状繊維上での興奮性シナプス形成を介して、てんかん原性獲得に関与している可能性が示唆された。

【結論】

コネク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 mGluR5 の再発現は、興奮性神経回路形成を介して、てんかん原性獲得に関与する可能性がある。

【参考文献】

1) Sano, Koizumi et, al. JCI insight. 6, e135391 (2021)

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, 藤岡かおる 佐野史和, 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 (ECSWS) や, 夜間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. これまでの研究で, てんかん児における睡眠習慣と認知機能の関連について調べるために, 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, 特に認知機能と関連すると考えられる前頭部優位である slow spindle に着目して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紡錘波(特に slow spindle)の特徴

自然睡眠で脳波検査を行ったてんかん症例について, stage2 の spindle に焦点をあて, 脳波周波数解析 (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 名で, てんかん症候群分類は前頭葉に起始をもつ焦点性てんかん (FLE) 6 例, 中心側頭部に棘波を示す小児てんかん (CECTS) 4 例, 非定型小児焦点性てんかん (ACECTS) 3 例で既存の定型発達児 (TDC) データと比較検討した. また不注意や多動衝動性との関連を検討するために ADHD-RS のスコアと spindle power 値との相関について解析した. 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: 徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症 (ECSWS) 例の実行機能と睡眠の関係
徐波睡眠期持続性棘徐波を示すてんかん性脳症 (ECSWS) の初診時 8 歳男児について, 初診時 (spike-wave index > 85%), 5M 後 (55%), 1 歳 7 か月後 (0%) に, 終夜睡眠ポリグラフ検査 (PSG), 実行機能検査 (① CPT 課題 ② DN-CAS の干渉抑制 ③ 後出しじゃんけん課題による fNIRS), 脳波周波数解析 (stage2 spindle) を行い, 経時変化を比較検討した.

【結果】

検討 1: FLE および ACECTS で TDC, CECTS と比較して, 13Hz slow spindle の power 値が前頭部優位に高値であった (Fz 13Hz 含有率: TDC 1.3%, CECTS 1.4%, FLE 3.5%, ACECTS 6.9%). FLE と CECTS は ADHD-RS 不注意スコアと前頭部 13Hz 含有率間で正の相関を認めた.

検討 2: Spike-wave index (85→55→0%) の改善に伴い, PSG では, stage2 (14.3→32→54.2%), REM (1.6→8→18.9%) の割合が増加し, stage3-4 (79.6→53.6→18.9%) は減少した. また arousal index (12.8→7.4→5.7

times/h)も減少し、睡眠の質の改善を認めた。実行機能も①CPT (見逃しエラーの短縮, 反応時間のばらつきの改善), ②DN-CAS (SS6→9→9), ③fNIRS (左前外側部の酸素化 Hb の増加) 改善を認めた。Spindle の脳波解析では, 初診時 13Hz で中心部優位であったが, 次第に前頭部優位の spindle も見られ, 脳波改善後には, 中心部優位の spindle は 14Hz と周波数が増加した。

【考察】

これまでの ADHD 児の報告で, 12Hz slow spindle が増加²⁾し, ADHD-RS の不注意スコアと正の相関を認めたとしている。FLE や CECTS 症例においても, ADHD-RS の不注意スコアと前頭部優位の slow spindle の正の相関を認めたことから, slow spindle が認知機能障害, 特に不注意を反映している可能性がある。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 ACECTS 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可能性がある。このように前頭皮質-視床ループ回路の異常により, 認知機能障害や不注意症状が出現することが推測される。

一方, ECSWS 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認められた。ECSWS の増悪期には, 前頭部 slow spindle が消失し, 脳波の改善とともに前頭部 spindle が出現し認知機能も改善した。このことは前頭皮質-視床ループ回路が効果的に回らなくなったことにより脳機能障害が出現した可能性が考えられる。

【結論】

認知機能障害 (特に前頭葉機能障害) に関連するといわれているてんかん (FLE, ACECTS,

ECSWS) 症例において spindle は認知機能に関連したパワー値を認めた。前頭部 spindle がてんかんのてんかん児の前頭葉機能評価のバイオマーカーの一つになりうる可能性がある。

【文献】

- 1) Gibbon FM, McCormac E, Gringras P. Sleep and epilepsy: unfortunate bedfellows. Arch Dis Child. 2019;104:189-192.
- 2) 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.

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】

本研究で開発試験を一部になった、nana-medi は、2022 年 9 月にリリースされた。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(画面共有機能を有する)、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モデルを、全国に啓発することを目的とした開発研究を行った。

【結果】

2023 年度初頭に国立精神神経センターで nana-medi の利用開始、診療所へも広げた。

また、国際学会をはじめとした専門医の多い学術集会で講演を行い啓発に努めた。論文を記載するなど啓発に努めた。また、てんかん患者・家族や支援者と連携の為に訪れて、中には交流会やセミナーへの参加もおこなった。

【論文】 計 3 件 査読 3 件

論文 1:遠隔地へのてんかんオンライン診療の取り組み:初診から再診まで岡崎伸 難病と在宅ケア 2023 年 12 月号

論文 2 : 患者家族の声を反映したオンライン診療システム nana-medi (ナナメディ) 坂本桃子 林泰臣 難病と在宅ケア 2023 年 12 月号

論文 3 : てんかん PHR と連動した遠隔診療ツール nana-medi を用いた離島とのオンライン診療の経験

岡崎伸日本遠隔診療学会雑誌,第 19 巻第 2 号、2023 年

【学会発表】

発表 1 : Cutting Edge of a Comprehensive Epilepsy Center in Japan: Looking to Collaboration with Doctors in Asia. Shin Okazaki/Takeshi Inoue The 15th Biennial Convention of the ASEAN Neurological Association 2023 - ASNA2023(Vietnam)

発表 2:てんかん PHR と連動した専用アプリ nana-medi を用いたオンライン診療 岡崎伸 九鬼一郎、他 第 56 回日本てんかん学会学術集会 2023 年 10 月 (東京)

発表 3: てんかん PHR と連動するオンライン診療ツール(nana-medi®) を利用した遠隔診療推進のモデル

岡崎伸 九鬼一郎、他 第 56 回日本てんかん学会学術集会 2023 年 10 月 (東京)

発表 4: てんかん PHR と連動した遠隔診療ツール nana-medi を用いた離島とのオンライン診療の経験

岡崎伸 他 第 27 回日本遠隔医療学会学術大会

2023 年 11 月 12 日 (新潟)

【考察】てんかん PHR を用いた遠隔診療 (オンライン診療) は、再診としては一度利用した人にとっては有効で続けて利用したいというものであるが、初回のハードルが高い傾向にある。これは、啓発が足りておらず、患者と家族が身近に感じられないからということもある。また、最初から初診の利用においては、わが国のてんかん診療の均てん化に寄与するものである。今後広い啓発が広がることが期待される。

【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。しかし、オンライン診療に関する認知度は低く、医師と患者・家族の双方に向けて、その有用性などの啓発を強めることが必須である。

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。

方法

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を得た(A2023-046)。2019年4月1日から2023年3月31日の間に当院にてPSGを実施した成人てんかん患者を対象に、後方視的調査を行った。診療録より、患者背景、各種重症度スケール、PSGによる客観指標についての情報を収集した。調査対象となった、PSGを実施した成人てんかん患者105名のうち、45名が解析対象となった。第三者評価による社会的・心理的・職業的機能/自覚的な健康及び障害についてそれぞれ、Global Assessment of Functioning (GAF)、World

Health Organization Disability Assessment Schedule 2.0 (WHO-DAS 2.0)にて評価を行った。

結果

スピアマン順位相関では、GAFスコアの低さ、WHO-DAS 2.0の高さ(いずれも社会機能障害を示唆)ともに抑うつおよび不眠症状との有意な関連を認めた一方、いずれの評価もPSG指標との有意な関連を認めなかった。一方、PSGにおける中途覚醒時間が長さおよび覚醒反応指数の多さと不眠重症度の低さとの間に相関を認めた。

考察

成人てんかん患者の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³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⁴一方、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⁵もあった。本研究は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初めての報告である。PSG指標と社会機能障害との関連が乏しかった背景として、PSGにおける睡眠構築が悪いほど(中途覚醒時間が長いことおよび覚醒反応指数が多いほど)と不眠の重症度が高いという逆説的な相関があったことが挙げられた。

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^{6,7}。PSG 指標と不眠重症度との逆説的な相関が生じた背景としては、薬物の影響や、合併症の影響、睡眠状態の誤認の影響などが考えられるため、次年度はこれらについて追加解析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. 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.
4. Klobucnikova K, Siarnik P, Sivakova M, Kollar B. Sleep-disordered breathing and excessive daytime sleepiness in patients with epilepsy - a polysomnographic study. *Neuroendocrinology letters*. 2016;37(4):313-317.
5. Janssen 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.
6. 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.
7. 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.

研究課題番号 4-5

てんかん外科検体の分子遺伝学的解析
飯島圭哉

(1) 研究目標

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。

(2) 本年度の研究成果

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。38 例に *BRAF* V600E 変異を、7 例に *FGFR1* 変異を認めた。その他は稀な遺伝子異常が 1~2 例ずつに認められた。17 症例では原因となる遺伝子変異を特定できなかった。

54 症例で DNA メチレーション解析を行った。DNA メチレーションによる分類は、概ね遺伝子型と対応する分類となった。

52 症例で RNA-seq を行った。てんかんに関連する遺伝子群と腫瘍に関連する遺伝子群の発現上昇を認めた。

皮質形成異常の内、FCD type 2B with MTOR mutation の 6 症例の single nucleus RNA-seq 解析を行った。現時点では明らかな新規的データを見いだせていない。

海馬硬化症の手術の際に切除される正常な側頭葉先端部からのヒトオリゴデンドロサイトの分離実験を 3 例に行った。結果は解析中である。

(3) 今後の研究の進め方について

低悪性度てんかん原性腫瘍: 遺伝子変異の結果と画像解析の対応をまとめて論文化
皮質形成異常: sn-RNAseq の結果をまとめて論文化

海馬硬化症: 手術検体を蓄積し、分子生物学的な解析を進める

(4) 今年度の研究成果の発表

Senda, J., Tanaka, M., Iijima, K., Sugino, M., Mori, F., Jimbo, Y., . . . Kotani, K. (2024). Auditory stimulus reconstruction from ECoG with DNN and self-attention modules. *Biomedical Signal Processing and Control*, 89, 105761.

doi:10.1016/j.bspc.2023.105761

Firestone, E., Sonoda, M., Kuroda, N., Sakakura, K., Jeong, J. W., Lee, M. H., . . . Asano, E. (2023). Sevoflurane-induced high-frequency oscillations, effective connectivity and intraoperative classification of epileptic brain areas. *Clin Neurophysiol*, 150, 17-30. doi:10.1016/j.clinph.2023.03.004

Iijima, K., Komatsu, K., Miyashita, S., Suyama, K., Murayama, K., Hashizume, K., . . . Hoshino, M. (2024). Transcriptional features of low - grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes to Cells*, 29(3), 192-206. doi:10.1111/gtc.13096

Izumi, M., Kobayashi, K., Kajikawa, S., Kanazawa, K., Takayama, Y., Iijima, K., . . . Ikeda, A. (2023). Focal ictal direct current shifts by a time constant of 2 seconds were clinically useful for resective epilepsy surgery. *Epilepsia*. doi:10.1111/epi.17782

Kosugi, K., Yoshitomi, M., Takayama, Y., Iijima, K., Kimura, Y., Kaneko, Y., . . . Iwasaki, M. (2023). Safety, Feasibility, and Efficacy of Additional Extraventricular Anterior Commissurotomy With Corpus Callosotomy. *Oper Neurosurg (Hagerstown)*, 24(2), e68-e74. doi:10.1227/ons.0000000000000478

Roth, J., Bergman, L., Weil, A. G., Brunette-Clement, T., Weiner, H. L., Treiber, J.

M., . . . Uziel-Sibony, S. (2023). Added value of corpus callosotomy following vagus nerve stimulation in children with Lennox-Gastaut syndrome: A multicenter, multinational study. *Epilepsia*. doi:10.1111/epi.17796

【図 書】

なし

【学会発表】

飯島圭哉 佐藤典子 木村有喜男 宮田元
鈴木博義 後藤雄一 村山久美子 木村唯子
金子裕 岩崎真樹 てんかん原性腫瘍における頭蓋内電極留置の必要性について 日本てんかん学会 2023年10月20日

飯島圭哉 中島拓真 鈴木啓道 佐藤典子
木村有喜男 宮田元 鈴木博義 後藤雄一
村山久美子 木村唯子 金子裕 岩崎真樹 t
低悪性度てんかん原性神経上皮腫瘍の遺伝子型分類と画像所見の相関 日本脳神経外科学会 2023年10月25日

Keiya Iijima, Noriko Sato, Hiromichi Suzuki, Yakuma Nakashima, Yuichi Goto, Hajime Miyata, Hiroyoshi Suzuki, Terunori Sano and Masaki Iwasaki. Correlation between molecular and neuroimaging classification in low-grade epileptosis-associated neuroepithelial tumors. 2023. Dec. 4, Orland, USA

(7) 研究成果による産業財産権の出願・取得
状況
なし

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), Keiya Iijima (NCNP)

2. Research results:

1) Maintenance of the epilepsy clinical information database

Kenji Hatano

Department of Clinical Epidemiology, Translational Medical Center, National Center Hospital, NCNP

In the epilepsy group of NCNP, cross-departmental patient registers are being developed, and efficient collection and management of disease data using medical information from electronic medical records is desired. This project aims to develop a multicenter epilepsy clinical information database system that will enable physicians and researchers engaged in epilepsy treatment and research to share information on epilepsy cases and effectively use the information for treatment and research. The National Center EHR project is the first case in which medical data from our center's hospitals are linked to an external data center. In future data collection based on the new HL7-FHIR standard is expected to solve various data collection problems. Generative AI is expected to dramatically improve natural language processing and is also expected to be of great use in data processing for disease databases.

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 Oct 26, 2023, a total of 571 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 2443 and 4846 cases have been registered to the outpatient and inpatient databases, respectively between April 2020 and September 2023. 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

Although a high rate of behavioral and psychiatric comorbidity is known to occur in patients with epilepsy, there are few reports detailing the treatment of these symptoms. We investigated what kind of psychiatric drugs are prescribed in children under 18 years of age with epilepsy using health claim database. We defined epilepsy patients who met either of the following criteria: (1) claims for epilepsy management fees or other charge, or (2) prescription for anti-seizure drugs for at least 4 weeks, and patients with epilepsy who met the above definitions were identified for each year from FY2009 to FY2018. Psychotropic drugs were defined according to World Health Organization Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) Classification System. Frequency of antipsychotic (ATC code N05A), anxiolytic (N05B), Hypnotics (N05C), antidepressant (N06A), and neurostimulant (N06B) use was calculated for each 3-year age group. In the age group of 5 years and younger, anxiolytic and hypnotics were used more frequently. Antipsychotics were most frequently used in the age group 6 years and older, and were prescribed to more than 20% (20.1-37.4%) of patients in each year in the 15-17 years old group. Antidepressants were prescribed more frequently in older children, with prescription frequency ranging from 4.6 to 13.0% in the 15-17 years of age group. Psychostimulants were prescribed more frequently in the 12-14 age group, with a trend toward increased prescription frequency. The high rate of psychotropic medications in pediatric epilepsy patients may reflect the frequency of concomitant behavioral and psychiatric disorders requiring treatment, and age-related changes.

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

It has been reported that in patients with epilepsy, the DTI-ALPS index, is decreased compared to normal. Here, we performed MRI image analysis, including the ALPS index, in patients with psychogenic non-epileptic seizures (PNES) who exhibit symptoms similar to epileptic seizures but do not have EEG abnormalities. There was no significant difference in the ALPS index in PENES, suggesting that the mechanism was different from that in patients with epilepsy patients. In addition, the finding of volume reduction and white matter damage in the limbic system, which has a significant impact on mental activity, is thought to represent the pathology of PENES.

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] PLA2G6-Associated Neurodegeneration (PLAN) is an autosomal recessive disease due to *PLA2G6* mutation.

[Method] We report 49-year-old woman of early-childhood-onset PLAN with middle-age-onset epilepsy.

[Results] The patient was a 49-year-old female with normal development until 6 years old. At 7 years old, she started to have difficulties in exercise, and developed flexed deformities in toes. At 16 years old, she started to have difficulties in moving the bilateral lower extremities and in using the hands. Her motor function gradually declined thereafter, until she became bedridden at 38 years old. She came to our hospital at 39 years old, and was suspected of complex spastic paraplegia. Genetic testing revealed compound heterozygous missense mutations in *PLA2G6* (c.662C>T; p.L221P / c. 991G>T; p.D331Y), leading to the diagnosis of PLA2G6-associated neurodegeneration (PLAN). At 49 years old, she experienced episodes of short-term consciousness impairment. Electroencephalogram showed generalized sharp waves, leading to the diagnosis of epilepsy.

[Conclusion] PLA2G6-associated neurodegeneration may manifest with various neurological symptoms such as early-onset parkinsonism, dystonia, cerebellar ataxia, spastic paraplegia, and epilepsy. The overlap of these symptoms should prompt us to consider the possibility of, PLAN as a differential diagnosis.

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. Five of 13 patients had a common mutation of *CEP290*_ Arg2004Serfs*7, having in Arima syndrome. Six patients with epilepsy showed variants of uncertain significance (VUS). Therefore, we revealed that VUS gene knockdown led abnormal cell localization and brain malformation of *Xenopus* larva.

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) Survey of transitions in epilepsy patients

Go Taniguchi

Department of Epileptology and Comprehensive Epilepsy Center, National Center Hospital, NCNP

The transition of patients with childhood-onset epilepsy from childhood to adult care is often difficult. Therefore, we examined the clinical characteristics of patients transitioning from childhood to adult epilepsy in our outpatient psychiatric epilepsy clinic and discussed their

needs and challenges. The following findings were obtained from the survey of medical records. Patients transitioning to our outpatient psychiatric epilepsy clinic were relatively old, averaging 24.7 years old at the time of visit. 70% had comorbid neurodevelopmental disorders and 58% had comorbid psychiatric symptoms. It is assumed that patients transitioning to an outpatient psychiatric epilepsy clinic have a high need for intellectual disability, neurodevelopmental disorders, and psychiatric symptoms in addition to epilepsy seizure control.

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 ictogenesis and/or epileptogenesis. In this study, we demonstrated that inhibition of gap junction function could prevent epileptogenesis. Inhibition of gap junction function by early (0-6 days) but not late (8-28 days) treatment with INI-0602 (connexin channel inhibitor) after SE prevent activation of microglia (in early phase) and astrocytes (in late phase) and increase of seizure susceptibility, suggesting that connexin channel inhibitor could prevent epileptogenesis. Although the detailed cellular mechanisms remain unclear, at least connexin inhibitors could have antiepileptogenic effects via prevention of glial cells activation. Conversely, Mortality rate was significantly increased with single INI-0602 administration during SE, suggesting exacerbation of seizure. It should be noted that gap junctions could have a potential role in suppressing ictogenesis.

Repetitive seizures lead to epilepsy through the process of epileptogenesis, which likely results from alterations in neural circuits. However, it is unclear how network alterations occur after SE. Previously, we revealed that epileptogenic astrocyte increased the expression of various genes including mGluR5, which has been known to regulate synaptogenic molecules. We demonstrated that reactive astrocytes lead to mossy fiber sprouting and synaptogenesis via mGluR5 which can cause epileptogenesis. We detected a significant increase in the area of mGluR5 in GFAP-positive reactive astrocyte, ZnT3-positive mossy fiber sprouting and synapse density defined as colocalization of presynaptic elements (ZnT3) and postsynaptic elements (PSD95) at 4 weeks after SE. Less dose of pilocarpine was required for the induction

of the second SE (4 weeks after the first SE), indicating the first SE increased seizure susceptibility. Genetic deletion of astrocytic mGluR5 reduced mossy fiber sprouting and rescued the increased seizure-susceptibility. These results suggest that astrocyte mGluR5 signaling may contribute to epileptogenesis via hippocampal neural network alterations including mossy fiber sprouting and synaptogenesis.

10) The clarification of pathophysiological findings and exploration study of neurophysiological biomarker for epileptic children

Yoshimi Kaga, Kei Tamaru, Kaoru Fujioka, Fumikazu Sano, Sayaka Ishii, Kakuro, Aoyagi

Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Yamanashi University

Introduction: epilepsy and sleep are known to be closely related. As epilepsy, sleep and cognitive function are also associated with each other, the aim of this study was to clarify sleep and cognitive function with epilepsy and to investigate objective biomarkers of cognitive function using EEG analysis.

Study 1: EEG frequency analysis was performed on epilepsy cases, focusing on stage 2 spindle. The subjects were 13 children with epilepsy aged 7-12 years, 6 cases of frontal lobe epilepsy (FLE), 4 cases of childhood epilepsy with centrotemporal spikes (CECTS) and 3 cases of atypical CECTS (ACECTS), and were compared with typical developmental children (TDC) data. FLE and ACECTS had higher 13 Hz slow spindle power values with frontal dominance compared to TDC and CECTS; FLE and CECTS showed a positive correlation between ADHD-RS inattention scores and frontal slow spindle.

Study 2: For 8-year-old boys with ECSWS at the time of their first examination (spike-wave index>85%), 5 months later (55%) and 1 year and 7 months later (0%), polysomnography (PSG), executive function tests (1) CPT task, (2) DN-CAS interference suppression, (3) fNIRS during the rock-paper-scissors task), and EEG frequency analysis (stage2 spindle), and compared changes over time. In the PSG, the percentage of stage2 and REM increased, while stage3-4 decreased. The spindle had a 13 Hz central predominance at the first examination, but gradually a frontal predominant spindle was also observed, and after the EEG improved, the frequency of the central predominant spindle increased to 14 Hz.

Discussion: The positive correlation between ADHD-RS inattention scores and frontal slow spindle in FLE and CECTS suggests that the slow spindle may reflect cognitive dysfunction, especially inattention. The finding of spindle abnormalities in FLE and ECSWS suggests that brain dysfunction may have emerged due to the inability of the frontal cortex-thalamus circuit to turn effectively.

Conclusion: Frontal spindle may be a potential biomarker for the assessment of frontal lobe 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. As an optimal telemedicine device system for epilepsy treatment, an online treatment implementation model using a telemedicine device linked to the epilepsy PHR (Personal Health Record) was created to promote a telemedicine system "nana-medi" (KNOCK ON THE DOOR Inc.) that is easy for patients, families and hospitals to use.

The use of nana-medi started at the National Center of Neurology and Psychiatry at the beginning of 2023 and was extended to clinics. In addition, efforts were made to raise awareness by giving lectures at international conferences and other scientific meetings where there are many specialist doctors. Efforts were made to raise awareness by describing papers. We also visited epilepsy patients, their families and supporters for cooperation, and some of them participated in exchange meetings and seminars.

Paper 1: Online epilepsy treatment for remote areas: from initial consultation to reexamination, Okazaki, N. *Difficult Diseases and Home Care*, Dec. 2023.

Paper 2: An online medical care system reflecting the voices of patients and their families: nana-medi, Sakamoto Momoko, Hayashi Yasuomi, *Intractable Diseases and Home Care*, Dec. 2023.

Paper 3: Experiences of online medical care with remote islands using nana-medi, a telemedicine tool linked to the epilepsy PHR.

Okazaki, Shin *Journal of the Japanese Society for Telemedicine*, Vol. 19, No. 2, 2023

3 in total, 3 peer-reviewed

12) The Relationship between Sleep Indices and Psychosocial and Functional Abilities in Adult Epilepsy Patients

Kentaro Matsui

National Center of Neurology and Psychiatry

Department of Clinical Laboratory, National Center Hospital

Our retrospective study on adult epilepsy patients who underwent PSG from April 1, 2019, to March 31, 2023, sought to understand the relationship between sleep quality, both subjective and objective, and psychosocial functioning. Out of 105 patients who underwent PSG, 45 were analyzed for their

psychosocial and occupational functioning using the Global Assessment of Functioning (GAF) and the World Health Organization Disability Assessment Schedule 2.0 (WHO-DAS 2.0). Despite finding significant correlations between depression, insomnia, and both GAF and WHO-DAS 2.0 scores, no significant relationship was observed between PSG indices and these measures of functioning. The lack of association between PSG indices and social dysfunction may be attributed to a correlation between poor sleep architecture (long wake after sleep onset and high arousal index) and less severe insomnia symptoms.

While obstructive sleep apnea (OSA) in adult epilepsy patients has been previously linked to an increased risk of seizure recurrence and daytime dysfunction, our findings did not show a significant relationship between PSG measures of sleep fragmentation and social or psychological functioning. This suggests that while OSA severity may not directly correlate with daytime sleepiness or depressive symptoms, it remains a critical factor in managing epilepsy patients. Given the unexpected correlation between PSG indices and insomnia severity, further analysis is planned to explore potential influences such as medication effects, comorbidities, and misinterpretation of sleep states on these findings.

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.

14) Genetic analysis of epilepsy surgery specimens

Keiya Iijima

Department of Neurosurgery, National Center Hospital, NCNP

In a study of 78 cases of tumor-associated lesions within epileptogenic lesions, genetic analysis identified the BRAF V600E mutation in 45 cases and the FGFR1 mutation in 7 cases. Additionally, rare genetic abnormalities were observed in 12 cases. In 18 cases, no causative genetic mutations could be identified. When the imaging findings were analyzed using hierarchical cluster analysis, they were divided into three groups, which corresponded well with the genotypes. DNA methylation analysis was conducted in 54 cases. The classification based on DNA methylation generally corresponded with the genotypes, particularly showing alignment between three image types of BRAF V600E mutated LEATs and methylation subtypes. RNA-seq was performed in 52 cases, revealing elevated expression of genes related to epilepsy and tumors. There is an accumulation of 190 cases classified as cortical dysplasia, where genetic analysis and RNA-seq are being advanced similarly to the aforementioned tumor lesions. Research on hemimegalencephaly, a rare disease, is ongoing, with mutations in the recently highlighted rare gene SLC35A2 confirmed in 4 cases. There are 20 cases classified under hippocampal sclerosis, and these are also currently under analysis.

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.

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(～R5.5)、NCNP 神経研究所・病態生化学研究部 (R5.5～))

- ・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) 前年度に発足させた脳病態 AI センター (BAIC) 設立準備室（室長：NCNP 企画戦略局長、室長代理：本田）について、NCNP 内に区画を設置し、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) センター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) 情報基盤構築の専門家である特任室長、科研費研究員、および事務助手を採用し、NCNP 病院・バイオバンク・各研究所に散在する大規模情報資産に関するヒアリングを

実施し、センター内情報資産のカタログ化を実現した（本田）。

(4) 世界最大規模の UK Biobank とデータ使用契約を締結し、国際的データ連携体制を整えた（本田）。

(5) NCNP と民間企業 (NTT) とのパートナーシップ協定締結を支援し、産学官連携体制を整えた（本田）。

(6) 隔月で Web セミナー（脳病態数理・データ科学セミナー：計 15 回）を、さらに年 1 回のハンズオンセミナー及びシンポジウム形式の研究会 (CPSY コース東京) を開催し、NCNP 内外のデータサイエンス・AI 研究者に対して、教育のみでなく、研究者同士をつなぐハブとしての機能を果たした（山下）。

② データ駆動型研究

(7) 低悪性度てんかん原生腫瘍検体のメチル化や全 RNA シークエンスを対象に大規模データ解析を実施し、新規サブグループや疾患に関わる分子メカニズムを示唆する結果を得た（星野）。

(8) 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、筋疾患罹患筋の障害度を Mercuri スコアにより分類したデータセットの作成を進めた（西野）。

(9) 高感度ヒストン修飾解析系ならびにフローサイトメトリー解析を用いた細胞核分取技術をもとにパーキンソン病モデルマウスの解析を実施し、病理学的変化に関連した転写因子の変化を認めた（間野）。

(10) 統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉スペクトラム症の脳構造画像の大規模コホートデータ解析から、皮質下構造特徴パターンと認知・社会機能のパフォーマンス

によって4つの脳構造バイオタイプに分類できることを示唆した(三浦)。

(11) 心理療法におけるAI技術応用可能性に関する文献調査、ヒアリング、情報交換を文理の枠組みを超えて広く実施した(伊藤)。

(12) 昨年度クリーニングを行った精神疾患レジストリデータのクラスタリング解析を行い、QOLなどのアウトカム指標との関連を検討した(大庭)。

③ 理論駆動型研究・統合的アプローチ

(13) 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の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。さらに、デジタル脳モデルのプロトタイプとして、マカクザルのECoGデータを使用した脳波生成シミュレータを開発し、リアルタイムな脳状態の推測や脳波信号の生成、仮想的投薬シミュレーションに成功した(山下)。

(14) てんかん患者の手術脳検体を用いたトランスクリプトームデータの一次解析とデータベースへの登録作業、mTORシグナル経路の活性化状態の推定パイプラインの開発を行った(宮下)。

(15) 画像データとゲノムデータに適用できるデータサイエンス手法について理論面から手法開発を進め、関連する技術についてチュートリアル講演を行った(植木)。

(16) これまでに提案した所与のサブタイプ分類の予測の精度を測る指標 Cost of cluster-mean based prediction (CCMP)を、パーソナリティをもとに日常的な運動習慣を予測する問題に適用した。その結果、従来の統計的指標によるサブグループ分類が予測の観点からは最適でない可能性が示唆された

(片平)。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】

計21件(うち査読付論文14件)

1. Dang Minh Tran, Nozomu Yoshioka, Norihisa Bizen, Yukiko Mori-Ochiai, Masato Yano, Shogo Yanai, Junya Hasegawa, Satoshi Miyashita, Mikio Hoshino, Junko Sasaki, Takehiko Sasaki, Hirohide Takebayashi, "Attenuated cerebellar phenotypes in Inpp4a truncation mutants with preserved phosphatase activity." *Disease Models & Mechanisms* 16.7 (2023). 査読有
2. Diana Esteller, Marianela Schiava, Rocío-Nur Villar-Quiles, Boris Dibowski, Nadia Venturelli, Pascal Laforet, Jorge Alonso-Pérez, Montse Olive, Cristina Domínguez-González, Carmen Paradas, Beatriz Vélez, Anna Kostera-Pruszczyk, Biruta Kierdaszuk, Carmelo Rodolico, Kristl Claeys, Endre Pál, Edoardo Malfatti, Sarah Souvannanorath, Alicia Alonso-Jiménez, Willem de Ridder, Eline De Smet, George Papadimas, Constantinos Papadopoulos, Sofia Xirou, Sushan Luo, Nuria Muelas, Juan J. Vilchez, Alba Ramos-Fransi, Mauro Monforte, Giorgio Tasca, Bjarne Udd, Johanna Palmio, Srtuhi Sri, Sabine Krause, Benedikt Schöser, Roberto Fernández-Torrón, Adolfo López de Munain, Elena Pegoraro, Maria Elena Farrugia, Mathias Vorgerd, Georgios Manousakis, Jean Baptiste Chanson, Aleksandra Nadaj-Pakleza, Hakan Cetin, Umesh Badrising, Jodi Warman-Chardon, Jorge Bevilacqua, Nicholas Earle, Mario Campero, Jorge Díaz, Chiseko Ikenaga, Thomas E. Lloyd, Ichizo Nishino, Yukako Nishimori, Yoshihiko Saito, Yasushi Oya, Yoshiaki Takahashi, Atsuko Nishikawa, Ryo Sasaki, Chiara Marini-Bettolo, Michela Guglieri, Volker Straub, Tanya Stojkovic, Robert Y. Carlier, Jordi Díaz-Manera, "Analysis of muscle magnetic resonance imaging of a large cohort of patient with VCP-mediated disease reveals characteristic features useful for diagnosis." *Journal of Neurology* 270.12 (2023): 5849-5865. 査

- 読有
3. Reito Nakamura, Ikumi Tomizawa, Atsushi Iwai, Tetsuo Ikeda, Kota Hirayama, Yung Wen Chiu, Takanobu Suzuki, Airi Tarutani, Tatsuo Mano, Atsushi Iwata, Tatsushi Toda, Youhei Sohma, Motomu Kanai, Yukiko Hori, Taisuke Tomita, "Photo - oxygenation of histidine residue inhibits α - synuclein aggregation." *The FASEB Journal* 37.12 (2023): e23311. 査読有
 4. Yuta Takahashi, Shingo Murata, Masao Ueki, Hiroaki Tomita, Yuichi Yamashita, "Interaction between Functional Connectivity and Neural Excitability in Autism: A Novel Framework for Computational Modeling and Application to Biological Data." *Computational Psychiatry* 7.1 (2023). 査読有
 5. Kentaro Katahira, "Evaluating the predictive performance of subtyping: A criterion for cluster mean - based prediction." *Statistics in Medicine* 42.7 (2023): 1045-1065. 査読有
- エンズ、久留米大学バイオ統計センター公開セミナー、福岡、2023年11月
 3. 三浦健一郎、精神疾患における眼球運動所見と臨床応用の可能性、第42回日本精神科診断学会、富山、2023年9月
 4. 伊藤正哉、大江美佐里、竹林由武、藤里紘子、牧野みゆき、山口慶子、高岸百合子、佐藤珠恵、金子響介、堀越勝、心的外傷後ストレス障害の症候学：オンライン調査からの示唆、第22回日本トラウマティック・ストレス学会、東京、2023年8月
 5. 塘由惟、佐藤船斗、大庭真梨、Numerical evaluation of a multiple imputation approach for clustering with missing data. 計算機統計学会第37回シンポジウム、宮崎、2023年11月

【図書】

計2件

1. ステファン・G・ホフマン, スティーブン・C・ヘイズ, デイビット・N・ロールシャイト (著) 菅原大地・檜原潤・伊藤正哉 (監訳) (2023) プロセス・ベースド・セラピーをまなぶ：「心の変化のプロセス」をターゲットとした統合的ビジョン 金剛出版
2. 伊藤正哉・中島俊・久我弘典・蟹江絢子・堀越勝(監修)・アブラモウイツ JS, ディーコン BJ, ホワイトサイド SPH (著) (2023) 不安へのエクスポージャー療法：原則と実践 創元社

【学会発表】

計21件

1. Yamashita Y, Altered hierarchical predictive processing: Exploring psychiatric and neurodevelopmental disorders through a neurorobotics approach, International Symposium on Predictive Brain and Cognitive Feelings, Tokyo, July, 2023. <招待講演>
2. 植木優夫、遺伝統計解析とデータサイ

分担研究報告書

マルチオミックスデータを用いた脳病態解明

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

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

NCNP バイオバンクのてんかん手術脳検体 50 例余りを用いて total RNA-seq を行うとともに、十数例の検体については、単一核 (sn)RNA-seq を行う。得られたデータをバイオインフォーマティクス解析し、てんかんの病態仮説を抽出する。

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、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。そこか

ら病態に関連する可能性があるパスウェイを抽出し、論文として病態仮説を発表した (Iijima et al)。

(2) FCD (限局性皮質異形成症) について
コントロール 5 検体、FCD6 検体について snRNAseq を完了した。クラスタリングによりそれぞれの細胞種に分類し、その細胞種ごとの Differentially Expressed Genes (DEGs) を抽出した。更なる解析により、神経細胞、アストロサイト、オリゴデンドロサイトがそれぞれ病態に関連するという仮説を得つつある。

考察

LEAT に関しては一つ論文を出すことができた。脳腫瘍が原因であるてんかんに比べて、FCD はさらに病態が複雑と考えられる。得られたデータをさらに細かく解析することで、より有力な病態仮説を得るようになる。その上で、モデルマウスを用いてその仮説を検証する必要がある。

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. Dewa K, Arimura N, Kakegawa W, Itoh M, Adachi T, Miyashita S, Inoue YU, Hizawa K, Hori K, Honjaya N, Yagishita H, Taya S, Miyazaki T, Usui C, Tatsumoto S, Tsuzuki A, Uetake H, Sakai K, Yamakawa K, Sasaki T, Nagai J, Kawaguchi Y, Sone M, Inoue T, Go Y, Ichinohe N, Kaibuchi K, Watanabe M, Koizumi S, Yuzaki M, Hoshino M. Neuronal DSCAM regulates the peri-synaptic localization of GLAST in Bergmann glia for functional synapse

- formation. *Nat Commun.* 15(1):458, 2024
2. Iijima K, Komatsu K, Miyashita S, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabe NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M. Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells.* 2024 Mar;29(3):192-206.

AI を用いた筋疾患診断支援システム開発 分担研究者

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

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、カルバインパチー、先天性ミオパチーなどに高精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。本研究課題においては、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。

3) 画像診断学習ツール開発

骨格筋画像診断のためには骨格筋の解剖学的知識が必須である。筋疾患診療に関わる医師が骨格筋の解剖を学習するためのアプリを奈良先端科学技術大学院大学との共同研究で開発することとした。

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

眼咽頭遠位型ミオパチー (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。また眼咽頭筋ジストロフィー (OPMD) との鑑別には中殿筋、大殿筋、大内転筋が有用であることを明らかにし、論文として報告した。

3) 画像診断学習ツール開発

健常者の全身のマルチスライス CT データを用いて、個々の筋名をアノテーションしたアプリのプロトタイプが完成した。

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・OPMD 以外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、それぞれについて論文投稿を行う予定である。そのデータを用いて random forest supervised machine learning を用いたモデル作成を目指す。
- 3) アプリ上の骨格筋分離とアノテーションはまだ不完全であることから、その修正を行うべく、奈良先端科学技術大学院大学側と協議を重ねる。完成後は疾病研究第一部からアプリにアクセスできる

ようにする。

参考文献

1. Eura N, Noguchi S, Ogasawara M, Kumutpongpanich T, Hayashi S, Nishino I; OPDM/OPMD Image Study Group: Characteristics of the muscle involvement along the disease progression in a large cohort of oculopharyngodistal myopathy compared to oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Neurol.* 2023 Dec;270(12): 5988-5998.
2. 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
3. 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)
4. 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
5. 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)

神経変性過程における包括的エピゲノムアプローチ

間野 達雄

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

パーキンソン病において血管リスクが発症リスクを減らすという疫学データがあり、その現象の分子メカニズムを理解するために、シヌクレインの線維状態へのインジェクションとマイクロコイルを用いた総頸動脈狭窄のマウスモデル実験を行った。前年度の研究では、シヌクレイン病理の改善を確認し、神経変性過程における神経細胞やグリア細胞のエピゲノム解析の重要性が示唆された。孤発性神経変性疾患は遺伝的背景と後天的要因が複雑に関連し合って病態を形成しているため、エピゲノム変化から病態を理解することが重要である。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たが、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。そこで、本年度は、マイクロコイルを用いた総頸動脈狭窄の影響を調べるために、神経細胞特異的 ATAC-seq の解析を行い、ゲノムワイドに起きている現象を明らかにすることを目的とした。

方法

本研究では、シヌクレインの線維状態をマウスの脳内に注入し、マイクロコイルを用いて総頸動脈を狭窄させたマウスモデルを作成した。次に、マウス脳から神経細胞を単離し、ATAC-seq を行ってオープン

クロマチン領域を同定した。得られた ATAC-seq データを用いて Footprint 解析を行い、転写因子の結合部位を同定した。さらに、HIF1A の機能を検証するために、細胞モデルを用いて HIF1A 依存的オートファジーの評価を行った。

結果

神経細胞特異的 ATAC-seq 解析の結果、マイクロコイルを用いた総頸動脈狭窄により影響を受けた神経細胞のオープンクロマチン領域が同定された。Footprint 解析により、HIF1A が総頸動脈狭窄の影響を受けた神経細胞において重要な役割を果たしていることが明らかになった。さらに、細胞モデル実験の結果、HIF1A 依存的オートファジーがシヌクレイン病理の改善に関与していることが示された。

考察

本研究の結果から、マイクロコイルを用いた総頸動脈狭窄が HIF1A の活性化を介して神経細胞のエピゲノム状態に影響を与え、HIF1A 依存的オートファジーを誘導することでシヌクレイン病理を改善する可能性が示唆された。これは、血管リスクがパーキンソン病の発症リスクを減らすメカニズムの一端を説明するものと考えられる。本研究では、神経細胞特異的なエピゲノム解析を行うことで、従来の脳全体を用いた解析では見落とされていた細胞特異的な変化を捉えることができた。このアプローチは、孤発性神経変性疾患の病態理解に有用であると考えられる。

結論

神経細胞特異的 ATAC-seq 解析により、マイクロコイルを用いた総頸動脈狭窄が HIF1A を介してシヌクレイン病理を改善する可能性が示された。この結果は、血管リスクがパーキンソン病の発症リスクを減らすメカニズムの一端を説明するものであり、孤発性神経変性疾患の病態理解に役立つと考えられる。今後は、HIF1A 依存的オートファジーの詳細なメカニズムを解明し、パーキンソン病の新たな治療戦略の開発につなげていきたい。

参考文献

1. 間野達雄、岩田淳、医歯薬出版、医学のあゆみ、エピジェネティクスとアルツハイマー病、2023年12月、5ページ

脳計算理論を用いた精神疾患病態メカニズムの解明

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

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、予測情報処理の脳の計算理論に基づいて、行動や神経生理学的所見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。

得られた観察に基づいて、既存の精神障害カテゴリーにとらわれない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目指す。

結果

データ駆動的な手法として、深層ニューラルネットワークの一種である、マルチモーダル変分自己符号化器を用いた特徴表現学習手法と、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。マルチモーダル学習では、2つのモダリティ間の共通性を反映した、優れた潜在表現を獲得できることが明らかになった。さらに、シンボリック情報と、オブジェクト情報を用いたマルチモーダル学習は、順序構造やクラスタ構造など、数感覚に関連した潜在表現の獲得や、算術計算課題においても有益であった。このように、マルチモーダル学習は、情報の潜在表現の学習と、関連する下流タスクの成績に重要であることが明らかになった[1]。

理論駆動的な手法として、予測情報処理モデルを用いた、ニューラルネットワークモデリングと、実際にヒト被験者の行動データを用いた検証を行った。具体的には、予測

情報処理における“予測シグナルの遅延”が、統合失調症における意思作用感の障害に帰結する、との仮説をシミュレーションと実際の患者の行動データを用いて検証した[2]。

考察

本研究により、大規模なデータから深層学習技術を用いての潜在表現獲得、特徴量抽出に関する重要な知見を得た。また、理論駆動のモデリングが、神経生理・認知行動の知見に基づく仮説の検証に有効であることが示された。これらの成果は、データ科学・計算理論を用いた精神障害の新しい研究手法の開発に貢献し、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、患者個々人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. Wang C, Tachimori H, Yamaguchi H, Sekiguchi A, Li Y, Yamashita Y (2024) A multimodal deep learning approach for the prediction of cognitive decline and its effectiveness in clinical trials for Alzheimer's disease. *Translational Psychiatry*, 14(1), 105.
2. Noda K, Soda T, Yamashita Y (2024) Emergence of number sense through the integration of multimodal information: developmental learning insights from neural network models. *Front. Neurosci.* 18:1330512.
3. Okimura T, Maeda T, Mimura M, Yamashita Y (2023) Aberrant sense of

agency induced by delayed prediction signals in schizophrenia: a computational modeling study. *npj Schizophr* 9, 72.

4. Idei H, Yamashita Y (2024). Elucidating multifinal and equifinal pathways to developmental disorders by constructing real-world neurorobotic models. *Neural Networks*, 169, 57–74.

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

三浦 健一郎

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探索・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。

結果

R5年度は前年度に引き続き、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、眼球運動及び

脳神経画像の解析を進め、下記の成果を得た。統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉スペクトラム症の脳構造画像の大規模コホートデータを用いたデータ駆動型解析から、皮質下構造特徴パターンと認知・社会機能のパフォーマンスによって4つの脳構造バイオタイプに分類できることを示した[1]。大脳皮質の皮質厚、表面積を特徴量とした疾患横断的解析から、統合失調症、双極性障害、うつ病、自閉スペクトラム症の間に、皮質厚と表面積とで異なる類似性と相違点があることを明らかにした[2]。脳体積特徴により定義される統合失調症らしさの縦断的解析から脳体積の変化と認知機能の変化が関連することを示した[3]。統合失調症の眼球運動に視覚的サリエンス処理の異常があること [4]及び精神疾患間の比較において統合失調症が最も顕著であることを明らかにした。

考察

皮質下構造と認知・社会機能の組み合わせは精神疾患の客観的データに基づく分類・層別化に有用であることが示唆された。また、大脳皮質の構造、脳体積から得られる特徴量および眼球運動における視覚的サリエンス特徴などは、病態に基づく客観的な疾患分類に有用である可能性があり、その検討が今後の課題である。

結論

眼球運動、認知機能及び脳構造などの中間表現型情報は精神疾患の分類と層別化において有用な多次元特徴量なることが期待される。

参考文献

- [1] Okada N, Fukunaga M, Miura K, Nemoto K, Matsumoto J, Hashimoto N, Kiyota M, Morita K, Koshiyama D, Ohi K, Takahashi T, Koeda M, Yamamori H, Fujimoto M, Yasuda Y, Hasegawa N, Narita H, Yokoyama S, Mishima R, Kawashima T, Kobayashi Y, Sasabayashi D, Harada K, Yamamoto M, Hirano Y, Itahashi T, Nakataki M, Hashimoto RI, Tha KK, Koike S, Matsubara T, Okada G, van Erp TGM, Jahanshad N, Yoshimura R, Abe O, Onitsuka T, Watanabe Y, Matsuo K, Yamasue H, Okamoto Y, Suzuki M, Turner JA, Thompson PM, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R, Subcortical volumetric alterations in four major psychiatric disorders: A mega-analysis study of 5604 subjects and a volumetric data-driven approach for classification, *Mol Psychiatry*, 2023, doi:10.21203/rs.3.rs-2182255/v1
- [2] Matsumoto J, Fukunaga M, Miura K, Nemoto K, Okada N, Hashimoto N, Morita K, Koshiyama D, Ohi K, Takahashi T, Koeda M, Yamamori H, Fujimoto M, Yasuda Y, Ito S, Yamazaki R, Hasegawa N, Narita H, Yokoyama S, Mishima R, Miyata J, Kobayashi Y, Sasabayashi D, Harada K, Yamamoto M, Hirano Y, Itahashi T, Nakataki M, Hashimoto RI, Tha KK, Koike S, Matsubara T, Okada G, Yoshimura R, Abe O, van Erp TGM, Turner JA, Jahanshad N, Thompson PM, Onitsuka T, Watanabe Y, Matsuo K, Yamasue H, Okamoto Y, Suzuki M, Ozaki N, Kasai K, Hashimoto R, Cerebral cortical structural alteration patterns across four major psychiatric disorders in 5549 individuals, *Mol Psychiatry*, 2023, doi:10.1038/s41380-023-02224-7
- [3] Yamazaki R, Matsumoto J, Ito S, Nemoto K, Fukunaga M, Hashimoto N, Kodaka F, Takano H, Hasegawa N, Yasuda Y, Fujimoto M, Yamamori H, Watanabe Y, Miura K, Hashimoto R. Longitudinal reduction in brain volume in patients with schizophrenia and its association with cognitive function. *Neuropsychopharmacol Rep*. 2024;44(1):206-215. doi: 10.1002/npr2.12423
- [4] Yoshida M, Miura K, Fujimoto M, Yamamori H, Yasuda Y, Iwase M, Hashimoto R, Visual salience is affected in participants with schizophrenia during free-viewing., *Sci Rep*, 2024, 14, 4606, doi:10.1038/s41598-024-55359-0

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

伊藤正哉¹、重枝裕子¹、矢部魁一¹、杉田創¹、久我弘典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

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。前年度までの整理を踏まえ、本年度は新たに公表された文献を整理した。

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 2022年5月に Pubmed において "psychotherapy" AND "artificial intelligence" と検索した際には 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

た。2023 年 5 月に同条件で検索すると、343 件がヒットし、この 1 年で 200 本の論文が公表されている。

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。例えば、Lalk らは、124 名の患者における 552 の心理療法トランスクリプトから、自己記入式尺度で回答された治療関係や症状の重症度を判別する試みが報告されている (Lalk et al., 2024)。この研究では、抽出されたトピックと症状 ($r=0.45$, 95%-CI 0.40, 0.51) や治療関係 ($r=0.20$, 95%-CI 0.16, 0.24) との相関を見出している。同様に、心理療法における自然言語から治療関係を測定する試みがなされており、第一人称の使用法が治療関係に関与することが示唆されている (Ryu et al., 2023)。

人間が関与しないという特性を活かして、すでに運用されているサービスで挙げている成果も報告されている (Habichit et al., 2024)。この研究では、イングランドの National Health Services における約 130000 名の患者を対象とした観察研究において、AI による自己リファラル Chatbot システムの有効性を検討している。その結果、対照したサービスでは 6% の自己リファラル上昇であったところ、AI を用いた介入群では 15% の上昇が観察された。特に、ノンバイナリーでは 179%、人種マイノリティにおいては 29% の上昇が認められたことから、人間が介在しないリファラルの有効性が示唆されている。

他に、身体の姿勢や動作から急性ストレスの状態を判別する研究が報告されている (Richer et al., 2024)。

こうした研究の他、サイコーシスの臨床診断補助として自然言語に基づく臨床意思決定支援システムを仮定し、その有用性や懸念を専門家らが議論したワークショップの要約が報告されている (Corona Hernández et al., 2023)。ここでは自然言語をマーカーとした検出、モニタリング、予測の手法を期待する議論がされる一方、その倫理面での問題も指摘されている。

AIを活用した介入 AIによる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。2024年に公表されたメタ分析では、18のランダム化比較試験 ($n = 3477$)の結果、うつ ($g = -0.26, 95\% \text{ CI} = -0.34, -0.17$) と不安 ($g = -0.19, 95\% \text{ CI} = -0.29, -0.09$) に対する改善が報告されている (Zhong et al., 2024)。

また、空間コンピューティング、ヴァーチャル・リアリティ、大規模言語モデルを組み合わせ、VR上で心理療法を実施する Ceders-sinai 病院の試みも紹介されている (Spiegel et al., 2024)。同様のVRとAI補助の心理療法として、ドイツではマルチモーダルニューロフィードバック (fNIRS や EEG) を組み合わせたシステムの開発を紹介している (Klein et al., 2023)。

AIによる心理療法は様々なかたちを取る。その中で、人間が実施する心理療法をAIが代行する点で必要となる要件を整理した文献では、①人間が実施する心理療法のメカニズムが解明されていること、②人間が実施する心理療法では治療関係の構築が重要であること、③汎用AIが必要とさ

れうることを挙げている (Grodiewicz and Hohol, 2023)。

大規模言語モデルの有用性と懸念 Open AI社のGPT-4に代表される大規模言語モデルのヘルスケアへの活用が期待されている (Cheng et al., 2023)。行動ヘルスケアの分野での活用に関して、Stadeら (2024)が展望論文を公表しており、自動運転技術の比喩を用いて、心理療法補助AI、心理療法協働AI、完全自動心理療法AIの段階についてまとめている。心理療法補助AIとしては、感情状態の識別を高い精度で (人間の専門家に匹敵する精度で) ChatGPTが達成した報告がされている (Elyoseph et al., 2023)。

大規模言語モデルについては、それ以前のAIと同様に説明可能性に関する問題が懸念されており、トラストできるAIの開発や提供のあり方に関しての整理の必要性が指摘されている。同様に、生成AIによって誤ったメンタルヘルス関連の情報が広まることに関する懸念も示されている (Monteith et al., 2024)。そのユースケースとして、摂食症に対する治療ツールとしてAIサービスを想定した場合の可能性について議論されている (Abbade-Daga et al., 2023)。

結論

心理療法へのAI適用が進んでいるが、論文として報告されている知見はそのごく一部であると思われる。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、今後は研究開発の中心を患者自身に置くことの重要性が指摘されており (Turchioe et al.,

2024)、さらなる研究が必要である

(Espejo et al., 2023)。

心理療法研究分野においては、実践に基づく研究 (practice-oriented research) というアプローチが提唱されている。こうしたアプローチが根付くことによって、大量の心理療法データを活用した AI 研究が前進していくと期待される (Atzil-Slonim et al., 2024; Castonguay et al., 2024)。AI による開発にはデータの収集や利活用上での規制のあり方や個人情報の保護の問題も重要であり、今後の検討の余地が大きく残されていると考えられる。

レビューされた文献

- Abbate-Daga, G., Taverna, A., & Martini, M. (2023). The oracle of Delphi 2.0: considering artificial intelligence as a challenging tool for the treatment of eating disorders. *Eating and weight disorders : EWD*, 28(1), 50.
<https://doi.org/10.1007/s40519-023-01579-8>
- Atzil-Slonim, D., Penedo, J. M. G., & Lutz, W. (2023). Leveraging Novel Technologies and Artificial Intelligence to Advance Practice-Oriented Research. *Administration and policy in mental health*, 10.1007/s10488-023-01309-3. Advance online publication.
<https://doi.org/10.1007/s10488-023-01309-3>
- Castonguay, L. G., Atzil-Slonim, D., de Jong, K., & Youn, S. J. (2024). Practice-Oriented Research: An Introduction to New Developments and Future Directions. *Administration and policy in mental health*, 10.1007/s10488-024-01369-z. Advance online publication.
<https://doi.org/10.1007/s10488-024-01369-z>
- Cheng, S. W., Chang, C. W., Chang, W. J., Wang, H. W., Liang, C. S., Kishimoto, T., Chang, J. P., Kuo, J. S., & Su, K. P. (2023). The now and future of ChatGPT and GPT in psychiatry. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 77(11), 592–596.
<https://doi.org/10.1111/pcn.13588>
- 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>
- Elyoseph, Z., Hadar-Shoval, D., Asraf, K., & Lvovsky, M. (2023). ChatGPT outperforms humans in emotional awareness evaluations. *Frontiers in psychology*, 14, 1199058.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1199058>
- Espejo, G., Reiner, W., & Wenzinger, M. (2023). Exploring the Role of Artificial Intelligence in Mental Healthcare: Progress, Pitfalls, and Promises. *Cureus*, 15(9), e44748.
<https://doi.org/10.7759/cureus.44748>
- Grodniewicz, J. P., & Hohol, M. (2023). Waiting for a digital therapist: three challenges on the path to psychotherapy delivered by artificial intelligence. *Frontiers in psychiatry*, 14, 1190084.
<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2023.1190084>
- Habicht, J., Viswanathan, S., Carrington, B., Hauser, T. U., Harper, R., & Rollwage, M. (2024). Closing the accessibility gap to mental health treatment with a personalized self-referral chatbot. *Nature medicine*, 30(2), 595–602.
<https://doi.org/10.1038/s41591-023-02766-x>
- Klein, F., Müller-Von Aschwege, F., Elfert, P., Räker, J., Philipsen, A., Braun, N., Selaskowski, B., Wiebe, A., Guth, M., Spallek, J., Seuss, S., Storey, B., Geppert, L. N., Lück, I., & Hein, A. (2023). Developing Advanced AI Ecosystems to Enhance Diagnosis and Care for Patients with Depression. *Studies in health technology and informatics*, 309, 18–22.
<https://doi.org/10.3233/SHTI230731>
- Lalk, C., Steinbrenner, T., Kania, W., Popko, A., Wester, R., Schaffrath, J., Eberhardt, S., Schwartz, B., Lutz, W., & Rubel, J. (2024). Measuring Alliance and Symptom Severity in Psychotherapy Transcripts Using Bert Topic Modeling. *Administration and policy in mental health*, 10.1007/s10488-024-01356-4. Advance online publication.

- <https://doi.org/10.1007/s10488-024-01356-4>
Monteith, S., Glenn, T., Geddes, J. R., Whybrow, P. C., Achtyes, E., & Bauer, M. (2024). Artificial intelligence and increasing misinformation. *The British journal of psychiatry : the journal of mental science*, 224(2), 33–35.
<https://doi.org/10.1192/bjp.2023.136>
- Richer, R., Koch, V., Abel, L., Hauck, F., Kurz, M., Ringgold, V., Müller, V., Küderle, A., Schindler-Gmelch, L., Eskofier, B. M., & Rohleder, N. (2024). Machine learning-based detection of acute psychosocial stress from body posture and movements. *Scientific reports*, 14(1), 8251.
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-59043-1>
- Ryu, J., Heisig, S., McLaughlin, C., Katz, M., Mayberg, H. S., & Gu, X. (2023). A natural language processing approach reveals first-person pronoun usage and non-fluency as markers of therapeutic alliance in psychotherapy. *iScience*, 26(6), 106860.
<https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106860>
- Spiegel, B. M. R., Liran, O., Clark, A., Samaan, J. S., Khalil, C., Chernoff, R., Reddy, K., & Mehra, M. (2024). Feasibility of combining spatial computing and AI for mental health support in anxiety and depression. *NPJ digital medicine*, 7(1), 22.
<https://doi.org/10.1038/s41746-024-01011-0>
- Turchioe, M. R., Hermann, A., & Benda, N. C. (2024). Recentering responsible and explainable artificial intelligence research on patients: implications in perinatal psychiatry. *Frontiers in psychiatry*, 14, 1321265.
<https://doi.org/10.3389/fpsy.2023.1321265>
- Zhong, W., Luo, J., & Zhang, H. (2024). The therapeutic effectiveness of artificial intelligence-based chatbots in alleviation of depressive and anxiety symptoms in short-course treatments: A systematic review and meta-analysis. *Journal of affective disorders*, 356, 459–469. Advance online publication.
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2024.04.057>

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

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

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

前年度の医学研究における予測モデル構築の考え方の整理、予測モデルの文献的検討を踏まえ、精神疾患レジストリデータに対してクラスタリングを行った。具体的には、心理評価尺度の欠測を統計手法により補い、それらの多変量データに基づいてアンサンブルクラスタリングを行い、QOL等のアウトカム指標との関連を検討した。ベースラインデータの欠測や追跡不能の発生状況を整理し、結果に与える影響の評価を開始した。ランダムな欠測を仮定したクラスタリングについてシミュレーション実験を実施中である。

結果

精神疾患レジストリの同意取得数は2023年末の時点で2300件、約1200人の情報が入力済みで追跡割合は6割であった。欠測は殆どの対象者に存在し、欠測補完を行わない解析では解析データ数が4割に減少した。

欠測に対して連鎖方程式による多重代入法を用いた補完を行った。文献調査並びにシミュレーション実験を通じて、単一クラスタリングよりもアンサンブルクラスタリングの方が、性能が良いことが確認された。既存のアンサンブルクラスタリングについてシミュレーション実験による性能比較を行い、最も真のクラスターとの一致割合が高い手法を特定した。

考察

レジストリデータの欠測に対する多重補完法とアンサンブルクラスタリングは相性がよく、欠測を補いながら対象集団を分類し、解釈可能な結果を得ることができた。

今後はクラスタリング結果と、他の情報や経時データの関連を精査し、予後予測に資するクラスタリングか否かを検討する。

ランダムな欠測を仮定した多重補完の妥当性、欠測の生じ方によるクラスタリングの性能についてはまだ確認すべき点が多く、今後もレジストリデータにより近いシミュレーションデータを発生させ性能評価実験、あるいは手法上の拡張研究を継続する。

結論

欠測を有するデータを補完するとともに、クラスタリングの実用と手法に関する

性能評価を行った。今後は性能評価を継続するとともに成果発表を目指す。また、経時変化に対する予測についても検討を継続する。

学会発表

塘由惟, 佐藤船斗, 大庭真梨. Numerical evaluation of a multiple imputation approach for clustering with missing data. 計算機統計学会第 37 回シンポジウム、宮崎、2023 年 11 月 11 日、口頭発表

機械学習を用いたオミクスビッグデータの解析

宮下 聡

新潟大学脳研究所 システム脳病態学分野
(～R5.5)

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 (R5.5～)

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。R5 年度は、国立精神・神経医療研究センター(NCNP)で取得されたてんかん手術脳検体のデータを用いて、てん

かん患者の脳内で発現が上昇するシグナル経路の探索手法の開発と同定を試みた。

方法

NCNP バイオバンクから提供を受けた限局性皮質異形成(FCD)患者の手術脳検体 8 症例(type II 6 例、type III 2 例)から取得した単一細胞核 RNA-seq(snRNA-seq)データを用いた。海馬硬化症患者から取得した側頭葉部で正常な脳構造を示した症例をコントロールとして用いた。取得した snRNA-seq データは、SCPA(Bibby 2022)を用いて各シグナル経路の上昇・減少を評価した。

結果

FCD 患者由来のデータとコントロールを比較することによって、有意に上昇・減少したシグナル経路を同定することに成功した。興味深いことに、FCD 患者群では mTOR シグナル経路の上昇を同定することができた。加えて、本研究で用いた手法では、50 を超えるシグナル経路を網羅的に探索することができ、これまでに関連が報告されていないシグナル経路の増減も見出すことができた。

考察・結論

FCD は mTOR シグナルの上昇を特徴とする疾患である。mTOR シグナルは、本来タンパクのリン酸化などの情報をもとにシグナルの増減を評価することが多い。本研究手法では、タンパク情報ではなく、転写産物の情報を利用して mTOR 活性を評価することができた点が極めて重要な成果である。さらに、これまでに関連が報告されていなかったシグナル経路に関しても網羅的

に同定することができたため、今後のてんかん治療標的候補の探索につながることを期待される。

参考文献(業績)

1. Dewa K, Arimura N, Kakegawa W, Itoh M, Adachi T, **Miyashita S**, Inoue YU, Hizawa K, Hori K, Honjaya N, Yagishita H, Taya S, Miyazaki T, Usui C, Tatsumoto S, Tsuzuki A, Uetake H, Sakai K, Yamakawa K, Sasaki T, Nagai J, Kawaguchi Y, Sone M, Inoue T, Go Y, Ichinohe N, Kaibuchi K, Watanabe M, Koizumi S, Yuzaki M, Hoshino M. Neuronal DSCAM regulates the peri-synaptic localization of GLAST in Bergmann glia for functional synapse formation. *Nat Commun.* 15(1):458, 2024
2. Iijima K*, Komatsu K*, **Miyashita S***, Suyama K, Murayama K, Hashizume K, Tabe NK, Miyata H, Iwasaki M, Taya S, Hoshino M. Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes Cells.* 2024 Mar;29(3):192-206.

データサイエンスによる疾患予測モデリング

植木 優夫

長崎大学

情報データ科学部

緒言

近年のデータサイエンス技術の急速な発展に伴い、医学・生物学分野においても、統計的機械学習などの先端技術の活用が進んでいる。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、疾患リスク予測を目標とした統計・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を既存技術により統一的に扱うことは困難である。したがって、データ解析手法自体が重要な研究開発対象となる。本課題では、疾患リスク予測を目標としたテーラー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並びに疾患予測モデルの開発を試みる。

方法

今年度は、データサイエンス技術の先行研究の調査と手法の理論的検討および解析用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評価し、同時に、実データを用いて動作検証を行う。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

Lasso や Elastic net などの特徴選択が可能なデータ適応的な回帰手法を仮説検定に組

み込むことのできる柳井の一般化決定係数を用いた仮説検定手法[参考文献 1]について、プログラム実装を行い効果的な特徴量抽出を行うための手法研究に取り組んだ。この柳井の一般化決定係数による仮説検定手法を、単変量回帰や飽和回帰モデルなどの旧来のモデルに基づく仮説検定手法、それに加えて SKAT 検定、burden 検定、SKAT-O 検定などのグループ検定に対し、ゲノムデータを想定したシミュレーション実験を通じて比較し性能評価を行った。また、ADNI データに適用し、実データにおける挙動を確かめた。これらの比較実験により、柳井の一般化決定係数による仮説検定手法により、既存手法を上回る検出力が得られることが見出された。得られた知見を日本分類学会 2023 年度シンポジウムにおいて発表した（「データ適応的検定を用いたゲノムワイド関連解析」、2023 年 12 月 2 日、長崎）。さらに、柳井の一般化決定係数を fused lasso に適用し、ゲノムデータへの応用を想定したシミュレーションにより性能検証を行い、結果を論文にまとめた。

考察

シミュレーション研究により、仮説検定にデータに応じた特徴選択を用いることで既存の仮説検定手法を上回る検出力が得られた。従来の仮説検定は、帰無仮説のモデルを固定してデータとのあてはまりの程度を評価するために柔軟さに欠けるが、データに応じた特徴選択を加えることで性能が向上したと考える。

結論

特徴選択を組み入れた柳井の一般化決定係数による仮説検定手法[参考文献 1]が、既存の仮説検定手法を上回る性能を示す可能性が示唆された。以降、今回得られた知見を活かして疾患予測モデリングの研究を進める。

参考文献

1. Ueki M. Testing conditional mean through regression model sequence using Yanai's generalized coefficient of determination. Comput Stat Data Anal 158, 107168, 2021.

予測精度に注目した統計的クラスタリングに基づく個人分類の評価

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

緒言

医学や社会科学等の人間を対象とする諸分野においては、集団の異質性に対処するために対象者の特徴量に基づいてクラスタリングを行い、個人をサブグループに分類するアプローチがしばしば用いられる。そのような個人分類は個別化された治療・介入や予後の予測に役立つと考えられる一方で、連続的な量を離散化することによる情報の損失の問題がある。このような情報の損失が現実的には許容されるものであるのか、結果の予測にどのような影響を及ぼすのかについては、体系的に調査されていない。

方法

本研究では、パーソナリティ等の心理測定から身体活動（日常的な運動の習慣）を予測するという問題において、クラスタリングに基づく個人分類の性質を検討した (Katahira et al., 2023)。具体的には約2万人から得た身体活動とパーソナリティ特性を含む心理的特性に関する調査データを分析することで、サブグループに基づくアプローチの予測性能を、変数を離散化せずに予測に用いる次元的方法と比較しながら検討した。K-means 法等の基本的なクラスタリング手法を用い、心理的特徴の次元データに基づいて個人を分類し、いくつかの異なるクラスタ解を得た。クラスタ

数は Gap 統計量等に基づき決定した。次に、これらのクラスタを用いて身体活動レベルを予測し、その説明力を R^2 で評価した。その結果を、各特徴量を連続変数として重回帰モデルに投入した予測（次元アプローチ）と比較した。また、クラスタに基づく予測の精度を、前年度に開発した統計指標である Cost of cluster-mean based prediction (CCMP, Katahira, 2023) を用いて評価した。

結果

K-means 法を用いたパーソナリティに基づくクラスタリングにおいては、4つのクラスタからなる分類が支持された。その分類に基づく身体活動の予測は、連続変数に基づく回帰モデルの60%程度の予測力しか得られなかった。同等の予測精度を達成するためには、クラスタ数を少なくとも20に増やす必要があった。また、CCMPも20以上のクラスタ数を支持した。

考察・結論

本研究の結果は、クラスタリングに基づく分類を外部結果の予測に使用する場合、従来の統計的基準によって提案されたクラスタ解が最適ではない可能性があることを示唆している。

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数やクラスタ手法などが選択されていた。本研究は、特徴量の分布のモデルとしては適切ではないとされるモデルが、外的な変数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。適切な個別化医療のための個人分類は、予測や解釈性の観点も多面的に踏まえて検討していく必要があるだ

ろう。

参考文献

Katahira, K., Takano, K., Oba, T., Kimura., K. (2023). Evaluating the performance of personality-based profiling in predicting physical activity as an external outcome (under review)

<https://osf.io/preprints/psyarxiv/45x8u>

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

The aim is to promote the understanding, diagnosis, treatment, and prevention of mental, neurological, and muscular diseases as well as developmental disorders by integrating data science, AI technology, and computational neuroscience. The specific objectives are as follows:

- Establishing a framework and infrastructure for promoting brain pathology research using AI: Develop infrastructure to leverage research resources accumulated at NCNP Hospital, NCNP Biobank, and various research institutes.
- Developing AI-based clinical and basic big data analysis methods for brain pathologies (data-driven research): Analyze high-dimensional big data such as genetic, molecular, neurophysiological, clinical, and epidemiological data using data science techniques to extract features reflecting characteristics at each level and develop cross-level analysis techniques and theories.
- Modeling brain pathologies based on brain computation theory and statistical mathematics (theory-driven research) and developing integrated data-driven and theory-driven approaches: Implement brain computation theory using neural circuit models to propose hypotheses for brain pathology understanding and optimal therapeutic interventions. Develop theories and techniques for new disease concepts and personalized medical technologies by correlating proposed brain computation theories with actual basic and clinical data.

2. Research Outcomes

Organization and infrastructure building

- (1) Established the Brain Pathology AI Center (BAIC) Preparation Office within NCNP, designed the information infrastructure, and secured necessary equipment and personnel.
- (2) Set up a 10G network line for high-speed connection between internal and external information infrastructures of the center and improved security environments for external access.
- (3) Employed a special appointment director, research assistants, and administrative assistants with expertise in information infrastructure construction, conducted hearings on large-scale information assets scattered across NCNP Hospital, the Biobank, and various research institutes, and cataloged the information assets within the center.
- (4) Concluded a data usage agreement with the UK's UK Biobank, establishing an international data collaboration system.

- (5) Supported the signing of a partnership agreement between NCNP and a company (NTT), establishing an industry-academia-government collaboration system.
- (6) Conducted bimonthly web seminars and an annual hands-on seminar and symposium (CPSY Course Tokyo) to not only educate but also serve as a hub for connecting researchers within and outside NCNP.

Data-Driven Research

- (7) Conducted large-scale data analysis on methylation and whole RNA sequencing of low-grade epilepsy-associated tumor specimens, obtaining results suggesting new subgroups and molecular mechanisms related to the disease.
- (8) Developed an application for muscle pathology differential diagnosis using muscle pathology diagnostic algorithms and created a dataset classified by Mercuri scores for the degree of muscle involvement in muscle diseases.
- (9) Analyzed Parkinson's disease model mice using a highly sensitive histone modification analysis system and flow cytometry-based nuclear fractionation technique, identifying transcription factor changes associated with pathological changes.
- (10) Analyzed large cohort data of brain structural images in schizophrenia, bipolar disorder, depression, and autism spectrum disorder, suggesting the classification of four brain structure biotypes based on subcortical structural feature patterns and cognitive and social function performance.
- (11) Conducted literature reviews, hearings, and information exchanges on the applicability of AI technology in psychotherapy across various disciplines.
- (12) Conducted clustering analysis of mental disorder registry data cleaned last year and examined the association with outcome indicators such as QOL.

Theory-Driven Research and Integrated Approaches

- (13) Examined the applicability of multimodal variational autoencoders, a type of deep neural network, as cognitive function modeling. Additionally, developed a biosignal generation simulator using ECoG data from macaques as a prototype digital brain model, successfully simulating real-time brain state estimation, ECoG signal generation, and virtual drug administration.
- (14) Conducted primary analysis of transcriptome data from surgical brain specimens of epilepsy patients and registered the data in a database, developing a pipeline for estimating the activation state of the mTOR signaling pathway.
- (15) Developed data science methods applicable to image and genome data from a theoretical perspective and conducted tutorial lectures on related technologies.
- (16) Applied the proposed Cost of Cluster-Mean Based Prediction (CCMP) metric for subtype

classification prediction accuracy to the problem of predicting daily exercise habits based on personality. The results suggested that conventional statistical subgroup classification might not be optimal from a prediction perspective.

初 年 度 班

5-1 睡眠ポリグラフデータバンクの拡充およびこれを活用した 睡眠障害・精神神経疾患の病態解明と生理学的診断マーカー・ 治療法開発

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。

令和2年～4年度の精神・神経疾患研究開発費 (睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築研究) 事業において、日本国内の主要なPSG実施機関である4医療・研究機関と連携し、各医療・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・関連生体データを、クラウドサーバに収集するシステムを構築し、上記課題を達成するための基盤を整えた。連携医療・研究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っている。

初期連携機関は、関東地区最大のPSG実施施設である①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)、②日本大学医学部附属板橋病院睡眠センター、③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、④久留米大学神経精神医学講座の4機関から構成されるが、

本研究事業内で、さらに多くの医療・研究機関の参画を募り、事業を拡大させていく。

また、現在のクラウドサーバをデータ保存元としたデータバンクシステムの有用性を高めるため、システムの改善・機能向上を図るとともに、精神疾患レジストリ等、他のデータバンクシステムとの連携を高める工夫を検討する。

本データバンクの活用により、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。さらに、健康日本21における睡眠健康向上目標の一つである「睡眠休養感」の生理学的背景の解明にも本データバンクシステムが活用可能である。

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データバンク運営】

初期連携機関は、関東2機関、東北1機関、九州1機関であるが、これに含まれない北海道、北陸、中部、近畿、四国、沖縄地区の医療・研究機関を順次連携機関に組み込み、発展的展開を目指す。

本システムの運営委員会、利活用委員会の取りまとめ機関として活動する。

さらに、現在のデータバンクシステムの堅牢性、活用利便性の向上を目指す。

【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、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。課題設定は各機関の提案を優先するが、社会的意義の重さを考慮した利活用委員会の意見を反映させる。

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

角谷 寛 滋賀医科大学精神医学講座

高江洲義和 琉球大学大学院医学研究科 精神病態医学講座

3. 研究成果

I. 睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク運営 (栗山・井上・鈴木・竹島・小曾根・角谷・高江洲)

2022年3月17日に、NCNP倫理委員会より、多機関共同研究の実施許可(B2021-128)を得て以降、各機関からのデータ登録が着実に進められている。

今年度、新たに⑤滋賀医科大学精神医学講座、⑥琉球大学大学院医学研究科精神病態医学講座、の近畿、沖縄地区の2機関が加わり、より国内広域からデータが収集可能な体制となった。

II. 睡眠障害バイオマーカーの開発

① 分担研究課題名：日本人 restless legs 症候群患

者での周期性四肢運動の合併の実態とその高血圧への影響(井上)

PLMS (periodic limb movement of sleep) 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。RLS、PLMS いずれもドパミンの神経伝達経路の障害がその病態に関与していることが、RLS 患者の PLMS 合併率が高い理由であると考えられている。欧米における、成人の一般人口での RLS の有病率は、8~10%とされているのに対し、本邦では 20 歳以上を対象とした調査では RLS 有病率は 1.8%と報告されており、他のアジア諸国でも同様に低水準であると考えられている。また白人を対象とした研究では、病的基準となる PLMI \geq 15/h の割合は 62.7%であったが、アジアにおける RLS の PLMS 合併率は、韓国において 42.3%でやや低いとの報告はあるものの十分な結論は得られていない。PLMS は頻回の覚醒、睡眠分断を生じ、中途覚醒や熟眠感欠如といった症状をもたらすだけでなく、PLMS そのものや PLMS に伴う心拍数増加や血圧上昇により、日中の高血圧を引き起こすとの報告がある。また、PLMS における高血圧の長期罹患は、心脳血管系疾患をもたらすリスクが懸念されている。しかしながら、アジア人 RLS 患者での PLMS の高血圧への影響についての検討はみられない。

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対象とし、日本人 RLS 患者における PLMS の合併率および、高血圧の罹患とその関連要因について検討した。

468例が解析の対象となり(平均年齢 51.1 \pm 18.2歳、女性比率 61.8%、IRLS \pm 7.7)、高血圧ありの基準を満たしたのは 67例(14.3%)、PLMI \geq 15/hr は 200例(42.7%)であった。PLMI の上昇に関しては、ロジスティック回帰分析の結果、年齢の上昇が有意であり、IRLS に表される RLS の重症化は関連していなかった。各年代での PLMI \geq 5/hr、PLMI \geq 15/hr、AHI \geq 5/hr の割合をみると、60歳以上の高齢層で PLMI が上昇することが示された。高血圧の存在に関しては、multivariate の結果、高齢であること (OR

=1.092、95%CI=1.65-1.120、 $\rho < 0.05$)、BMI が高いこと (OR=1.112、95%CI=1.017-1.217、 $\rho < 0.05$) が高血圧に独立して有意に関連していた。高血圧と PLMS の関連性は否定された。

② うつ病に合併する睡眠障害の生理的解析 (鈴木)

うつ病患者の増加により、社会的負荷は甚大となっている。そのため、予防や診断、治療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、現時点で確立したものはない。うつ病では、8~9割の患者で不眠を認め、レム睡眠圧の上昇などの特徴的所見を認める。こうしたことから、睡眠検査のゴールドスタンダードである睡眠ポリグラフ (polysomnography: PSG) をバイオマーカー開発に利用するという考えは以前からあったが、通常の臨床研究の規模で安定したマーカーの開発に必要なデータを収集することは困難であった。

本課題は、国立精神・神経医療研究センター (NCNP) 精神・神経疾患開発費研究として行われている国内初となる PSG データバンク構築事業においてデータサーバーに集積された PSG データとそれに紐づく臨床情報を利用し、うつ病臨床に資するバイオマーカーの開発を検討した。

6名の未治療うつ病患者と、年齢・性別をマッチさせた7名の健常者の睡眠指標および各周波数帯域のパワー値を比較し、両群の鑑別に資する指標をいくつか同定することができた。また、近年、睡眠の質を表す指標として注目されている「睡眠休養感」とメンタルヘルスとの関連を調査するため、既存疫学データを利用した横断的検討も実施した。Nihon University Sleep and Mental Health Epidemiology Project (NUSMEP) に参加した一般成人約2500名について、睡眠関連症状と希死念慮との関係を調査したところ、休養感のない睡眠 (nonrestorative sleep: NRS) は不眠症状 (入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒) よりも希死念慮と強く関連することを明らかにした。

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である。睡眠状態誤認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の一つである。その抑止の観点からも睡眠状態誤認のリスク要因分析、臨床診断および治療法の開発が求められている。大うつ病性障害は睡眠状態誤認に関連する因子の有力な候補の一つである。しかしながら、大うつ病性障害において睡眠状態誤認が Trait marker なのか、それとも抑うつ症状の重症度を反映する state marker なのか、十分に明らかにされていない。

本研究では大うつ病性障害で入院した患者に対して入院時と退院時の睡眠状態誤認 (Δ TST) を調査し、病相期と比べて寛解期に睡眠状態誤認が改善されるのか、および抑うつ症状の重症度の変化量と睡眠状態誤認の変化量が相関するかを調べるため、探索的研究を行った。

大うつ病性障害7名が本研究に参加した。平均年齢は 57.0 ± 9.8 歳で、性別は女性が 42.9%(3/7)、BMI は 23.9 kg/m^2 であった。入院時の HAM-D17 は 20.1 ± 5.9 点で、退院時の HAM-D17 は 7.0 ± 6.1 点だった。退院時に HAM-D17 が7点以下であったものの割合は 71.4%だった。入院時の Δ TST は -33.4 ± 66.2 分で、退院時の Δ TST は -13.4 ± 103.2 分だった。退院時の Δ TST は入院時の Δ TST と比べて、 20.0 ± 126.1 分増大していたが、入院時と退院時の Δ TST に有意差はなかった ($p=0.735$)。抑うつ症状の改善度と睡眠状態誤認の改善度の間に有意な関連は認められなかった ($r=-0.036$, $p=0.939$)。

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

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症例を、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。今後も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。令和 5 年 6 月の第 119 回日本精神神経学会学術総会（水木慧：統合失調症における睡眠紡錘波異常の病態的意義と今後の展望）および令和 5 年 9 月の日本睡眠学会第 45 回定期学術集会（兵頭佑規：ナルコレプシーにおける睡眠紡錘波の経時的発生頻度の解析」で研究成

果を発表した。

⑤ 睡眠関連呼吸障害に併存する日中症状重症度を予測する生理指標の開発：眠気と睡眠関連呼吸障害の関係（角谷）

日中の眠気は睡眠関連呼吸障害の主要な自覚症状と考えられてきたが、その関係について十分な考察はなされていない。過去に実施した職域男性を対象とした疫学研究では、睡眠関連呼吸障害が重症になるほど眠気がある傾向は認められたが、統計学的に有意な相関は認められなかった。さらに睡眠関連呼吸障害のスクリーニング項目を選定した際には、眠気は予測項目に含まれなかった。そこで、睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気の関係の有無について、職域および臨床群を対象に解析した。

臨床研究対象群のうち、大学病院の睡眠時無呼吸症候群専門外来受診者(n=583)は、年齢：51.3 ± 17.5 歳、男性：68.8%、BMI: 26.1 ± 5.38kg/m² であり、市立病院の受診者(n=450)は、年齢：58.8 ± 14.8 歳、男性：75.8%、BMI:26.3 ± 5.33kg/m² であった。そのうち、睡眠関連呼吸障害軽症、中等症、重症のものは、大学病院では 24.7%、16.9%、25.0% であり、市民病院では 22.9%、30.3%、37.6% であった。また、眠気あり、強い眠気ありのものは、それぞれ、大学病院で 21.6%、21.2%、市民病院で 20.9%、9.6% であった。甲賀市の市職員 1550 名のうち、717 名が在宅での睡眠検査に参加した。参加者は年齢：45.0 ± 11.6 歳、男性：41.7%、BMI:22.5 ± 3.84kg/m² であり、そのうち、睡眠関連呼吸障害軽症、中等症、重症のものは 23.4%、9.20%、3.70% であり、また、眠気あり、強い眠気ありのものは、それぞれ、17.8%、7.4% であった。 χ^2 二乗検定にて、睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気の間を解析したところ、職域、大学病院、市民病院のそれぞれにおいて $p = 0.319$, $p < 0.01$, $p = 0.03$ であり、職域においては有意な関係性は認められず、臨床研究対象群においては、むしろ睡眠関連呼吸障害のない群で、眠気のある人の割合が最も高かった。

⑥ 心拍変動解析と MSLT データを用いた眠気

定量化研究（高江洲）

反復睡眠潜時検査（Multiple Sleep Latency Test: MSLT）は日中の眠気を定量化する検査であり、中枢過眠症の診断に必須の検査である。一方でその実施は容易では無く、睡眠専門医療機関で時間と労力をかけて実施できる検査である。近年はウェアラブルデバイスの精度が飛躍的向上しており、簡易的かつ非侵襲的に生理指標の測定が可能となっている。しかしながら、MSLTの判定に必要な脳波を日常生活で簡易的に測定することは困難であるため、眠気を定量化するために他の生理指標の活用が求められている。心拍変動（Heart Rate Variability: HRV）は自律神経の指標として以前から知られており、解析方法により交感神経/副交感神経の比率を定量化することが可能である。近年はウェアラブルデバイスによる心拍変動の測定が可能であり日常生活での実用化が期待されている。先行研究ではウェアラブルデバイスによる心拍変動解析により運転中の眠気の感知が可能であることが示されている。

本研究ではPSGデータバンクを用いて、MSLTにより定量化された眠気を、心電図による心拍変動解析から定量化できるかについての検討を行う。本結果から心拍変動により眠気の定量化が可能であることが示されれば、ウェアラブルデバイスによる心拍変動解析から日常生活で簡易的に眠気の測定が可能となる。

本PSGデータバンクのMSLTデータとMSLT実施中の心電図のデータを用いて解析を実施する。ハイスループットAIによる機械学習を用いて、MSLTデータを教師データとして、心拍変動による予測モデルの構築を目標とする。個人間のデータを比較することにより眠気の定量化を目指す。MSLTは通常1回の検査において4-5回連続で測定するため、個人内の眠気の変化量を予測するモデルを作成することにより、過眠症の薬物療法の効果判定にも応用可能な技術となり得る。

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。連携機関が当機関を含め5機関から7機関に拡大し、より大量のデータ蓄積が可能となった。さらに産科買収機関を増やすとともにバンクの利便性・堅牢性を高める工夫を行っていく。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（30）件 うち査読付論文（23）件

1. Yoshiike T, Kawamura A, Utsumi T, Matsui K, Kuriyama K. A prospective study of the association of weekend catch-up sleep and sleep duration with mortality in middle-aged adults. *Sleep Biol Rhythms* 21(4): 409-418, 2023.
2. Izuhara M, Matsui K, Okubo R, Yoshiike T, Nagao K, Kawamura A, Tsuru A, Utsumi T, Hazumi M, Sasaki Y, Takeda K, Komaki H, Oi H, Kim Y, Kuriyama K, Miyama T, Nakagome K. Association of COVID-19 preventive behavior and job-related stress with the sleep quality of healthcare workers one year into the COVID-19 outbreak: a Japanese cross-sectional survey. *Biopsychosoc Med* 18(1): 8, 2024.

3. Hazumi M, Kawamura A, Yoshiike T, Matsui K, Kitamura S, Tsuru A, Nagao K, Ayabe N, Utsumi T, Izuhara M, Shinozaki M, Takahashi E, Fukumizu M, Fushimi M, Okabe S, Eto T, Nishi D, Kuriyama K. Development and validation of the Japanese version of the Bedtime Procrastination Scale (BPS-J). *BMC Psychol* 12(1): 56, 2024.
4. Izuhara M, Matsui K, Yoshiike T, Kawamura A, Utsumi T, Nagao K, Tsuru A, Otsuki R, Kitamura S, Kuriyama K. Association between sleep duration and antibody acquisition after mRNA vaccination against SARS-CoV-2. *Front Immunol* 14: 1242302, 2023.
5. Nagao K, Yoshiike T, Okubo R, Matsui K, Kawamura A, Izuhara M, Utsumi T, Hazumi M, Shinozaki M, Tsuru A, Sasaki Y, Takeda K, Komaki H, Oi H, Kim Y, Kuriyama K, Hidehiko Takahashi, Miyama T, Nakagome K. Association between health anxiety dimensions and preventive behaviors during the COVID-19 pandemic among Japanese healthcare workers. *Heliyon* 9(11): e22176, 2023.
6. Matsui K, Kuriyama K, Yoshiike T, Kawamura A, Nagao K, Izuhara M, Hazumi M, Inada K, Nishimura K. Relapse of schizophrenia associated with comorbid delayed sleep-wake phase disorder but not with evening chronotype. *Schizophr Res* 261: 34-35, 2023.
7. Saitoh K, Yoshiike T, Kaneko Y, Utsumi T, Matsui K, Nagao K, Kawamura A, Otsuki R, Otsuka Y, Aritake-Okada S, Kaneita Y, Kadotani H, Kuriyama K, Suzuki M. The effect of nonrestorative sleep on incident hypertension 1-2 years later among middle-aged Hispanics/Latinos. *BMC Public Health* 23(1): 1456, 2023.
8. Takaesu Y, Sakurai H, Aoki Y, Takeshima M, Ie K, Matsui K, Utsumi T, Shimura A, Okajima I, Kotorii N, Yamashita H, Suzuki M, Kuriyama K, Shimizu E, Mishima K, Watanabe K, Inada K. Treatment strategy for insomnia disorder: Japanese expert consensus. *Front Psychiatry* 14: 1168100, 2023.
9. Nakajima S, Kaneko Y, Fujii N, Kizuki J, Saitoh K, Nagao K, Kawamura A, Yoshiike T, Kadotani H, Yamada N, Uchiyama M, Kuriyama K, Suzuki M. Transdiagnostic association between subjective insomnia and depressive symptoms in major psychiatric disorders. *Front Psychiatry* 14: 1114945, 2023.
10. Yoshiike T, Benedetti F, Moriguchi Y, Vai B, Aggio V, Asano K, Ito M, Ikeda H, Ohmura H, Honma M, Yamada N, Kim Y, Nakajima S, Kuriyama K. Exploring the role of empathy in prolonged grief reactions to bereavement. *Sci Rep* 13(1): 7596, 2023.
11. Otsuka Y, Kaneita Y, Tanaka K, Itani O, Kaneko Y, Suzuki M, Matsumoto Y, Kuriyama K. Nonrestorative sleep is a risk factor for metabolic syndrome in the general Japanese population. *Diabetol Metab Syndr* 15(1): 26, 2023.
12. Kitajima T, Kuriyama K. Editorial: Circadian rhythm sleep-wake disorders: Pathophysiology, comorbidity, and management. *Front Psychiatry* 14: 1134798, 2023.
13. Stefani A, Trenkwalder C, Arnulf I, Bliwise DL, Boeve BF, Inoue Y, Iranzo A, Lewis SJ, Provini F, Schenck C, Wenning GK, Wing YK, Hogl B, Videnovic A. Isolated rapid eye movement sleep behaviour disorder: clinical and research implications. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 94(7): 581-582, 2023.
14. Futenma K, Takaesu Y, Komada Y, Shimura A, Okajima I, Matsui K, Tanioka K, Inoue Y. Delayed Sleep-Wake Phase Disorder and its related sleep behaviors in the young generation. *Frontiers in Psychiatry* 14: 1174719, 2023.
15. Tanioka K, Hirasawa T, Yanagihara M, Takeuchi N, Nakayama H, Usui A, Inoue Y. Reliability and validity of the Japanese version of the Ullanlinna Narcolepsy Scale and Swiss Narcolepsy Scale for screening Japanese individuals with narcolepsy type 1. *Sleep Med* 109: 245-251, 2023.

16. Dauvilliers Y, Mignot E, Villegas R DR, Du Y, Hanson E, Inoue Y, Kadali H, Koundourakis E, Meyer S, Rogers R, Scammell T E, Sheikh S I, Swick T, Szakács Z, Rosenstiel P V, Wu J, Zeitz H, Murthy N V, Plazzi G, Hehn C V. Oral Orexin Receptor 2 Agonist in Narcolepsy Type 1. *N Engl J Med* 389(4): 309-321, 2023.
17. Takagi S, Sugihara G, Takahashi H, Inoue Y. The optimal dose of Ramelteon for the better treatment adherence of delayed sleep-wake phase disorder: a dropout rate study. *Front Neurol* 14: 1280131, 2023.
18. Hirasawa T, Kobayashi M, Nakayama H, Yanagihara M, Inoue Y. Anthropometric screening approach for obstructive sleep apnea in Japanese men: development and validation of the ABC scale. *Sleep Science and Practice* 7(10), 2023.
19. Sato M, Matsui K, Nishimura K, Inoue Y. Coexistence of periodic limb movements during sleep with restless legs syndrome and its association with hypertension in Japanese patients. *Sleep Med* 115: 187-192, 2024.
20. Osao M, Okajima I, Inoue Y. Cross-sectional analyses of factors associated with the presence and aggravation of chronic insomnia by symptom subtypes. *Psychiatry Clin Neurosci Rep* 3(1): e194, 2024.
21. Takeshima M, Yoshizawa K, Enomoto M, et al. Effects of Japanese policies and novel hypnotics on long - term prescriptions of hypnotics. *Psychiatry Clinical Neurosci* 77: 264-272, 2023.
22. 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.
23. Thannickal TC, Kadotani H. Editorial: Emerging Talents in Sleep Disorders. *Frontiers in Neurology* 14: 1259390, 2023.
24. 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 Biol Rhythm* 21: 85-95, 2023.
25. Kuimoto N, O'higashi T, Kadotani H, Ukai S, Yamada M, Kitano M, Kawamoto T, Enomoto H, Hashimoto K, Kurimoto F. Electroconvulsive Therapy Anesthesia Without Raising the Convulsive Threshold With Dexmedetomidine and Remifentanyl. *Journal of ECT* 39(2): 117-118, 2023.
26. Hida A, Iida A, Ukai M, Kadotani H, Uchiyama M, Ebisawa T, Inoue Y, Kitamura S, Mishima K. Novel CLOCK and NR1D2 variants in 64 sighted Japanese individuals with non-24-hour sleep-wake rhythm disorder. *Sleep* 46(6): zsad063, 2023.
27. 角谷寛. DHA と睡眠の関わり. *食品と開発* 58(2) : 7-9, 2023.
28. 角谷寛. 産業保健領域で注意すべき睡眠の問題と対応. *京都工場保健会労働衛生ジャーナル創健* 184: 3-6, 2023.
29. 角谷寛. 体内時計と睡眠覚醒. *Precision Medicine* 6(5): 10-13, 2023.
30. 角谷寛. 睡眠障害と生活習慣病との関連について *精神科治療学* 38(9): 1013-1016, 2023.

分担研究課題名：日本人 restless legs 症候群患者での周期性四肢運動の合併の実態とその高血圧への影響の検討
 分担研究者：井上 雄一¹⁾
 研究協力者：中山秀章¹⁾、咲間妙子¹⁾、武井洋一郎²⁾、谷岡洗介¹⁾、西條史祥¹⁾
 所属施設：¹⁾ 東京医科大学睡眠学講座、²⁾ 睡眠総合ケアクリニック代々木

緒言

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。RLS、PLMS いずれもドパミンの神経伝達経路の障害がその病態に関与していることが、RLS 患者の PLMS 合併率が高い理由であると考えられている。欧米における、成人の一般人口での RLS の有病率は、8~10%とされている¹⁾。それに対して本邦では、20歳以上を対象とした調査では RLS 有病率は 1.8%²⁾ と報告されており、他のアジア諸国でも同様に低水準であると考えられている³⁾。また白人を対象とした研究では、病的基準となる PLMI \geq 15/h の割合は 62.7%であったが⁴⁾、アジアにおける RLS の PLMS 合併率は、韓国において 42.3%でやや低いとの報告はあるものの⁵⁾ まだ十分な結論は得られていない。PLMS は頻回の覚醒、睡眠分断を起こし、中途覚醒や熟眠感欠如といった症状をもたらすだけでなく、PLMS そのものや PLMS に伴う心拍数増加や血圧上昇により、日中の高血圧を引き起こすとの報告がある⁶⁾。また、PLMS における高血圧の長期罹患は、心脳血管系疾患をもたらすリスクが懸念されている⁷⁾。しかしながら、アジア人 RLS 患者での PLMS の高血圧への影響についての検討はみられない。本研究では、日本人 RLS 患者臨床連続例について、PLMS の合併率を調べ、高血圧の罹患の実態、その関連要因について検討した。
 方法

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対象とした。(a) 睡眠障害国際分類第三版⁸⁾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 患者で PSG (polysomnography) にて PLMI \geq 15/h であったものを PLMS ありと診断し、診断のための PSG 実施時の血圧を用い、収縮期血圧 \geq 140mmHg もしくは拡張期血圧 \geq 90mmHg であるもの⁹⁾、また血圧は正常値であっても降圧薬を服用しているものを高血圧あり群とした。まず、対象者 (Table 1) における PLMS の合併率を調査し、PLMS 陽性の関連要因、高血圧の有無に関連する要因として、年齢、性別、肥満度 (BMI)、RLS 重症度得点 (IRLS)、無呼吸低呼吸指数 (AHI)、周期性四肢運動指数 (PLMI) を連続変数となる独立変数として取り扱いロジスティック回帰分析を行った。この解析では最初にすべての変数について単変量解析を行い、これで有意であった変数を用いて多変量解析を行った。

結果

468 例が解析の対象となった (平均年齢 51.1 \pm 18.2 歳、女性比率 61.8%、IRLS \pm 7.7 であった)。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)。また、PLMI \geq 15/hr は 200 例 (42.7%) であった。PLMI の上昇に関しては、ロジスティック回帰分析の結果、年齢の上昇が有意であり、IRLS に表される RLS の重症化は関連していなかった (Table 2)。各年代での PLMI \geq 5/hr、PLMI \geq 15/hr、AHI \geq 5/hr の割合を表すと Figure 1 のようになり、60 歳以上の高齢層で PLMI が上昇することが示された。高血圧の存在に関しては、multivariate の結果、高齢であること (OR=1.092、95%CI=1.65-1.120、 $\rho < 0.05$)、BMI が高いこと (OR=1.112、95%CI=1.017-1.217、 $\rho < 0.05$) が高血圧に独立して優位に関連していた (Table 3)。高血圧と PLMS の関連性は否定された。

Table 1. Demographic and clinical characteristics of patients with RLS

	Total (n= 468)
Age	51.1 \pm 18.2 [20-89]
Female	289 (61.8)
BMI (kg/m ²)	21.7 \pm 3.2 [14.5-35.6]
SBP (mmHg)	120.6 \pm 17.7[80-210]
DBP (mmHg)	70.1 \pm 11.0 [40-104]
HT	108 (23.1)
IRLS score	22.4 \pm 7.7 [0-39]
Serum ferritin (ng/mL) (429)	79.0 \pm 77.2 [0.4-620]
Family history	77 (16.5)
n-PSG variables	
PLM index (/h)	25.4 \pm 36.6 [0-203.0]
PLM index \geq 15 /h	200 (42.7)
PLM arousal index (/h)	6.8 \pm 14.5 [0-176.3]

The 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; IRLS, International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale; n-PSG, nocturnal polysomnography; TST, total sleep time; AHI, apnea-hypopnea index; PLM, periodic limb movements during sleep.

Table 2. Factors associated with PLMI \geq 15/h

Factors	n (%)	Univariate			Multivariate			
		AOR	95% CI	P	AOR	95% CI	P	
Age (yr)	<40	159 (34.0)	1		1			
	40 to <60	117 (25.0)	4.115	2.394-7.075	<0.001	3.983	2.312-6.863	<0.001
	\geq 60	192 (41.0)	6.695	4.080-10.986	<0.001	6.298	3.802-10.432	<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					
	\geq 25	63 (13.5)	1.688	0.990-2.878	0.054			
Serum ferritin (ng/mL)*	\geq 50	238 (55.5)	1					
	<50	191 (44.5)	0.696	0.473-1.025	0.067			
IRLS score	<11	31 (6.6)	1					
	11 to <21	151 (32.3)	0.712	0.327-1.547	0.391			
	21 to <31	228 (48.7)	0.518	0.249-1.102	0.088			
	\geq 31	58 (12.4)	0.624	0.259-1.501	0.292			
AHI	<5	353 (75.4)	1					
	5 to <15	112 (24.0)	2.051	1.334-3.155	0.001	1.484	0.934-2.356	0.094
	15 to <30	3 (0.6)	0.798	0.072-8.883	0.854	0.376	0.033-4.242	0.429
\geq 30	0							

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

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

Table3. Factors associated with the presence of hypertension

Factors	n (%)	univariate			multivariate		
		AOR	95%CI	P	AOR	95%CI	P
Age (yr)	468 (100)	1.088	1.062–1.114	<0.001	1.092	1.065–1.120	<0.001
Sex	Male 179 (38.2)	1					
	Female 289 (61.8)	1.129	0.659–1.934	0.659			
BMI (kg/m ²)	468 (100)	1.084	1.006–1.169	0.035	1.112	1.017–1.217	0.020
IRLS	468 (100)	1.004	0.971–1.039	0.816			
PLMI	468 (100)	1.006	1.000–1.012	0.060			
PLMAri	468 (100)	1.003	0.986–1.019	0.754			
AHI	468 (100)	1.090	1.025–1.158	0.006	0.986	0.916–1.061	0.699

The data was controlled for total sleep time, N1, N2, N3 and arousal index on nocturnal polysomnography. BMI, body mass index; IRLS, International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale; PLMI, periodic limb movements index; PLMAri, PLM related arousal index; AOR, adjusted odds ratio; CI, confidence interval

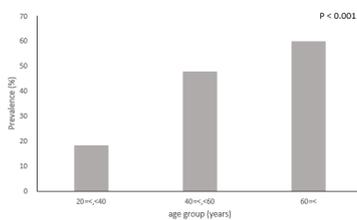


Figure 1. The prevalence of periodic limb movement index (PLMI) ≥ 15/h in each age group. The prevalence of PLMI ≥ 15/h increases with age.

考察

本研究の RLS 患者の PLMS ≥ 15/hr の合併率は 42.7% であり、前述したヨーロッパでのそれに比べて低く、韓国での結果 (PLMS ≥ 15/h 42.3%) とほとんど同様の割合で合った⁵⁾。RLS での PLMS 合併率の人種差に関する検討は無いが、アメリカの一般人口を対象に PSG を施行した調査ではアフリカ系アメリカ人は白色人種に比べて PLMS 有病率が低かったという報告がある¹⁰⁾。一般人口での PLMS の罹患率に人種差があるとすれば、RLS 患者の PLMS 合併率にも人種差がある可能性がある。アジア人では白人に比べて PLMS 発現に関連する BTBD9 の rs3923809 の頻度が少ないという報告がある¹¹⁾ ので、われわれの結果はこの所見を反映しているものかもしれない。一方で対象 RLS 患者において年齢依存性に PLMS が増加していた点は、非 RLS の一般人口での PLMS の動向と類似している¹²⁾ ので、RLS 人口においても、年齢による脊髄交感神経機能の変化が最も PLMS 発現に影響を及ぼすのかもしれない¹³⁾。本研究において高血圧に罹患していた RLS 患者の割合は 23.3% と、一般人口と同等の割合であり¹⁴⁾、RLS 罹患により高血圧の罹患率が上がる可能性は否定的であった。また、本研究の RLS 患者では RLS 年齢と肥満度という一般的なリスク要因¹⁵⁾ が高血圧の関連要因として抽出された。RLS と高血圧の因果関係については、地域差・人種差が存在する可能性が指摘

されているが、本研究結果からみて、少なくとも日本人 RLS での高血圧リスクが比較的 low、しかも随伴する PLMS の影響は受けていないものと考えられた。

結論

日本人 RLS では、PLMS の合併率は欧米人より低く、その発現は RLS 重症度よりも年齢に依存する。また、日本人 RLS では、高血圧の合併率は上昇しておらず、その合併に PLMS の水準は影響していない。

参考文献

- 1) 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.
- 2) T. Nomura, Y. Inoue, M. Kusumi, Y. Uemura, K. Nakashima, Prevalence of restless legs syndrome in a rural community in Japan, *Mov. Disord.* 23 (2008) 2363–2369. <https://doi.org/10.1002/mds.22274>.
- 3) N.-H. Chen, L.-P. Chuang, C.-T. Yang, C.A. Kushida, S.-C. Hsu, P.-C. Wang, S.-W. Lin, Y.-T. Chou, R.-S. Chen, H.-Y. Li, S.-C. Lai, The prevalence of restless legs syndrome in Taiwanese adults, *Psychiatry Clin. Neurosci.* 64 (2010) 170–178
- 4) 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
- 5) J.-W. Shin, Y.S. Koo, B.U. Lee, W.C. Shin, S.K. Lee, Y.W. Cho, K.-Y. Jung, Prevalence and Characteristics of Periodic Limb Movements during Sleep in Korean Adult Patients with Restless Legs Syndrome, *J. Clin. Sleep Med.* 12 (2016) 1089–1097. <https://doi.org/10.5664/jcsm.6042>
- 6) 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
- 7) Siddiqui, F., et al., *Rise of blood pressure with periodic limb movements in sleep and wakefulness*. Clin Neurophysiol, 2007. 118(9): p. 1923-30
- 8) American Academy of Sleep Medicine, International classification of sleep disorders-third edition (ICSD-3), American Academy of Sleep Medicine, Darien, IL, 2014.
- 9) K. Shimamoto, K. Ando, T. Fujita, et al., Japanese Society of Hypertension Committee for Guidelines for the Management of Hypertension, The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2014), *Hypertens. Res.* 37 (2014) 253–390.

- 10) M.M. Ohayon, T. Roth, Prevalence of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder in the general population, *J. Psychosom. Res.* 53 (2002) 547–554.
- 11) H. Moore, J. Winkelmann, L. Lin, L. Finn, P. Peppard, E. Mignot, Periodic leg movements during sleep are associated with polymorphisms in BTBD9, TOX3/BC034767, MEIS1, MAP2K5/SKOR1, and PTPRD, *Sleep.* 37 (2014) 1535–1542.
- 12) K. Berger, J. Luedemann, C. Trenkwalder, U. John, C. Kessler, Sex and the risk of restless legs syndrome in the general population, *Arch. Intern. Med.* 164 (2004) 196–202.
- 13) E.B. Leary, H.E. Moore, L.D. Schneider, L.A. Finn, P.E. Peppard, E. Mignot, Periodic limb movements in sleep: Prevalence and associated sleepiness in the Wisconsin Sleep Cohort, *Clin. Neurophysiol.* 129 (2018) 2306–2314.
<https://doi.org/10.1016/j.clinph.2018.08.022>.
- 14) K. Shimamoto, K. Ando, T. Fujita, et. al., Japanese Society of Hypertension Committee for Guidelines for the Management of Hypertension, The Japanese Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension (JSH 2014), *Hypertens. Res.* 37 (2014) 253–390.
- 15) Nagao, T., et al., *Effects of Alcohol Consumption and Smoking on the Onset of Hypertension in a Long-Term Longitudinal Study in a Male Workers' Cohort.* *Int J Environ Res Public Health*, 2021. 18(22).

分担研究課題名：うつ病に合併する睡眠障害の生理学的研究

分担研究者：鈴木正泰

研究協力者：金子宜之、斎藤かおり、大槻怜、藤井伸邦
所属施設：日本大学医学部附属板橋病院

緒言

うつ病患者の増加により、その社会的負荷は甚大となっている。そのため、予防や診断、治療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、現時点で確立したものはない。うつ病では、8~9割の患者で不眠を認め、レム睡眠圧の上昇などの特徴的所見を認める²⁾。こうしたことから、睡眠検査のゴールドスタンダードである睡眠ポリグラフ (polysomnography: PSG) をバイオマーカー開発に利用するという考えは以前からあったが³⁾、通常の臨床研究の規模で安定したマーカーの開発に必要なデータを収集することは困難であった。

本分担課題では、2020年度より国立精神・神経医療研究センター (NCNP) 精神・神経疾患開発費研究として行われている国内初となる PSG データバンク構築事業においてデータサーバーに集積された PSG データとそれに紐づく臨床情報を利用し、うつ病臨床に資するバイオ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 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が集積され次第、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。

また、上記と併行して、精神健康における睡眠の意義を検討するため、既存データを用いた調査研究も実施する。

結果

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 1500 例の PSG データをサーバーに納めている。

上記と併行して、主任研究者のグループとともに、うつ病診断における睡眠脳波の有用性を検討するための予備的調査を行った。6名の未治療うつ病患者と、年齢・性別をマッチさせた7名の健常者の睡眠指標および各周波数帯域のパワー値を比較し、両群の鑑別に資する指標をいくつか同定することができた。

また、近年、睡眠の質を表す指標として注目されている「睡眠休養感」⁴⁾とメンタルヘルスとの関連を調査する

ため、既存疫学データを利用した横断的検討も実施した。Nihon University Sleep and Mental Health Epidemiology Project (NUSMEP)⁵⁾に参加した一般成人約 2500 名について、睡眠関連症状と希死念慮との関係を調査したところ、休養感のない睡眠 (nonrestorative sleep: NRS) は不眠症状 (入眠困難、中途覚醒、早朝覚醒) よりも希死念慮と強く関連することを明らかにした。

考察

バンクへのデータ集積は順調に進んでいる。本事業に参画している施設の既存データが集積され次第、バンクデータを利用したうつ病バイオマーカーの探索を開始する予定である。その実施に当たっては今年度に行った文献調査²⁾の結果も参考にする。

うつ病診断に関する予備的調査からは、睡眠脳波がうつ病と健常者の鑑別に有用な生理指標となる可能性が示唆された。一方で、本結果はごく少数例での検討で導き出された結果であることから、より大きなサンプルで再現可能か検証する必要がある。

既存疫学データを用いた検討では、自殺リスク評価における NRS の重要性が示された。これまで、睡眠問題と心身の健康との関連については、主に睡眠時間や不眠症状 (睡眠困難) を睡眠状態の評価指標に用いてきた。本結果から、睡眠休養感に着目することによって、より有効な自殺予防対策を実践できる可能性が見出された。

結論

予備的検討から睡眠脳波がうつ病診断に有用なマーカーになり得る可能性が示唆された。既存疫学データを用いた調査から、睡眠休養感への着目がメンタルヘルスの向上に寄与する可能性が示唆された。

参考文献

- 1) Sunderajan P et al. Insomnia in patients with depression: a STAR*D report. *CNS Spectr.* 15 : 394-404, 2010
- 2) 鈴木正泰. うつ病のバイオマーカーとしての睡眠脳波. *精神医学.* 66(2) : 172-178:19-22, 2024
- 3) Steiger A and Kimura M. Wake and sleep EEG provide biomarkers in depression. *J Psychiatr Res.* 44 : 242-52, 2010
- 4) 厚生労働省: 健康づくりのための睡眠ガイド 2023 (<https://www.mhlw.go.jp/content/001237245.pdf>)
- 5) Suzuki M et al. Stressful events and coping strategies associated with symptoms of depression: a Japanese general population survey. *Journal of Affective Disorders.* 238: 482-488, 2018.

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である。睡眠状態誤認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一つである。その抑止の観点からも睡眠状態誤認のリスク要因分析、臨床診断および治療法の開発が求められている。大うつ病性障害は睡眠状態誤認に関連する因子の有力な候補の1つである²。しかしながら、大うつ病性障害において睡眠状態誤認が Trait marker なのか、それとも抑うつ症状の重症度を反映する state marker なのか、十分に明らかにされていない。

そこで、本研究は大うつ病性障害で入院した患者に対して入院時と退院時の睡眠状態誤認を調査し、病相期と比べて寛解期に睡眠状態誤認が改善されるのか、および抑うつ症状の重症度の変化量と睡眠状態誤認の変化量が相関するかを調べるため、探索的研究を行った。

方法

1. 対象者

大うつ病性障害の治療目的に秋田大学医学部附属病院に入院し、入院時と退院時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])、②入院時と退院時の主観的総睡眠時間 (subTST)、③入院時と退院時の PSG で測定した客観的総睡眠時間 (objTST)、④17項目ハミルトンうつ病評価尺度 (HAM-D₁₇)。睡眠状態誤認 (Δ TST) は objTST - subTST で算出した。 Δ TST が正の場合は睡眠の過小評価を示し、負の場合が過大評価を示す。

3. 統計解析

名義変数は数 (%) で、連続変数は平均 (標準偏差) 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

大うつ病性障害7名が本研究に参加した。平均年齢は 57.0 ± 9.8 歳で、性別は女性が 42.9%(3/7)、BMI は 23.9 kg/m^2 であった。入院時の HAM-D₁₇ は 20.1 ± 5.9 点で、退院時の HAM-D₁₇ は 7.0 ± 6.1 点だった。退院時に HAM-D₁₇ が7点以下であったものの割合は71.4%だった。

図1に入院時と退院時の Δ TST を示す。入院時の Δ TST は -33.4 ± 66.2 分で、退院時の Δ TST は -13.4 ± 103.2 分だった。退院時の Δ TST は入院時の Δ TST と比べて、 20.0 ± 126.1 分増大していたが、入院時と退院時の Δ TST に有意差はなかった ($p=0.735$)。

2. 抑うつ症状と睡眠状態誤認の改善度の関連

図2に抑うつ症状の改善度と睡眠状態誤認の改善度の散布図を示す。抑うつ症状の改善度と睡眠状態誤認の改善度の間に有意な関連は認められなかった ($r = -0.036$, $p=0.939$)。

考察

本研究の参加者のうち、入院時に睡眠の過小評価をしていたものは1名しかおらず、我々の仮説とは反していた。また、睡眠状態誤認の改善度と抑うつ症状の改善度に有意な相関は見られず、本研究から大うつ病性障害患者において睡眠状態誤認が大うつ病性障害の state marker であることを示唆する所見は得られなかった。

結論

本探索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.

図 1. 入院時と退院時における睡眠状態誤認の変化



略語：TST, 総睡眠時間

注釈： $\Delta TST=PSG$ で測定した客観的 TST－主観的 TST

図 2. 入院時と退院時における抑うつ症状の改善度と睡眠状態誤認の改善度の散布図



略語：HAM-D₁₇, 17 項目ハミルトンうつ病評価尺度; TST, 総睡眠時間

注釈： $\Delta TST=PSG$ で測定した客観的 TST－主観的 TST

分担研究課題名：睡眠障害・睡眠ポリグラフデータバンク構築研究 特発性過眠症をはじめ眠気の生理学的指標としての睡眠ポリグラフマーカーの開発

分担研究者：小曾根基裕

研究協力者：内村直尚、土生川光成、小鳥居望、比江嶋啓至、森裕之、和佐野研二郎、大島勇人、加藤隆郎、兵頭佑規、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5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進めている。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症例を、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。今後も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

現在もデータ集積中であるが、本研究に登録した当院の院内データを使用し、令和5年6月の第119回日本精神神経学会学術総会（水木慧：統合失調症における睡眠紡錘波異常の病態的意義と今後の展望）および令和5年9月の日本睡眠学会第45回定期学術集会（兵頭佑規：ナルコレプシーにおける睡眠紡錘波の経時的発生頻度の解析）でそれぞれ学会発表を行った。

[参考：Spindle 出現率の解析結果 兵頭佑規 日本睡眠学会学術集会]

Subject	Spindle出現率 (%)	Spindle出現率 (95% CI)	Mean (SD) Spindle/HR
D1	24.31 ± 3.32	20.00 - 28.62	1.670
D2	24.31 ± 3.32	20.00 - 28.62	1.670
D1	1.82 ± 1.82	0.00 - 3.64	0.400
D2	1.82 ± 1.82	0.00 - 3.64	0.400
D1	0.71 ± 0.71	0.00 - 1.42	0.175
D2	0.71 ± 0.71	0.00 - 1.42	0.175

今後はデータバンクに登録された多施設データを利用し、日中の主観的眠気と関連する睡眠パラメータについて、さらに研究を進める予定である。

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.

分担研究課題名：睡眠関連呼吸障害に併存する日中症状重症度を予測する生理指標の開発：眠気と睡眠関連呼吸障害の関係

分担研究者：角谷寛

研究協力者：藤原幸一、角幸頼、松田有史、Uyanga Tsovoosed
所属施設：滋賀医科大学

緒言

日中の眠気は睡眠関連呼吸障害の主要な自覚症状と考えられてきたが、その関係について十分な考察はなされていない。

過去に実施した職域男性を対象とした疫学研究では、睡眠関連呼吸障害が重症になるほど眠気がある傾向は認められたが、統計学的に有意な相関は認められなかった(文献1)。さらに睡眠関連呼吸障害のスクリーニング項目を選定した際には、眠気は予測項目に含まれなかった(文献2)。

そこで、睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気の有無について、職域および臨床群を対象に解析した。

方法

睡眠関連呼吸障害の程度について、終夜睡眠ポリグラフ検査(入院による脳波も含めたもの、あるいは在宅における簡易検査の双方を含む)における、睡眠1時間あるいは検査1時間あたりの無呼吸・低呼吸数(AHI/REI: apnea-hypopnea index/respiratory event index)が5未満、5-15、15-30、30以上をそれぞれ、睡眠関連呼吸障害なし、軽症、中等症、重症とした。

また、標準的な眠気の質問票であるJ-ESS(日本語版エプワース眠気尺度)の得点が10点以下のものを眠気なし、11-15点を眠気あり、16点以上を強い眠気ありとして、睡眠関連呼吸障害の程度と眠気の程度を解析した。

解析対象は、滋賀県内の大学病院(n=583)および市立病院(n=450)の睡眠時無呼吸症候群の専門外来を2015/4/1-2019/3/31に受診したもの(臨床研究対象群)、および、滋賀県甲賀市市職員を対象とした疫学研究の参加者(教育委員会所属者を除く)のうちで在宅検査に参加したもの(文献4)(疫学研究対象群)とした。

統計解析にはMedCalc version 22.023(MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium)を用いた。

結果

臨床研究対象群のうち、大学病院の睡眠時無呼吸症候群専門外来受診者は、年齢:51.3±17.5歳、男性:68.8%、BMI:26.1±5.38kg/m²であり、市立病院の受診者は、年齢:58.8±14.8歳、男性:75.8%、BMI:26.3±5.33kg/m²であった(文献3)。そのうち、睡眠関連呼吸障害軽症、中等症、重症のものは、大学病院では24.7%、16.9%、25.0%であり、市民病院では22.9%、30.3%、37.6%であった。また、眠気あり、強い眠気ありのものは、それぞれ、大学病院で

21.6%、21.2%、市民病院で20.9%、9.6%であった。

甲賀市の市職員1550名のうち、717名が在宅での睡眠検査に参加した。参加者は年齢:45.0±11.6歳、男性:41.7%、BMI:22.5±3.84kg/m²であり、そのうち、睡眠関連呼吸障害軽症、中等症、重症のものは23.4%、9.20%、3.70%であり、また、眠気あり、強い眠気ありのものは、それぞれ、17.8%、7.4%であった。

χ^2 乗検定にて、睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気との関係を解析したところ、職域、大学病院、市民病院のそれぞれにおいてp=0.319, p<0.01, p=0.03であり、職域においては有意な関係性は認められず、臨床研究対象群においては、むしろ睡眠関連呼吸障害のない群で、眠気のある人の割合が最も高かった(図1)。



図1. 睡眠呼吸障害の重症度と眠気の関係。

さらに、職域においては、睡眠関連呼吸障害重症度をなし/軽症と中等症/重症の2群に分けて男女別に解析したところ、男性では中等症/重症群の方が、なし/軽症群と比べて眠気のある割合が高いが、一方女性では逆に中等症/重症の方が眠気のある割合が低かった(図2)。



図2. 睡眠関連呼吸障害と眠気の関係(男女別)

考察

睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気との関係を職域と臨床研究対象群で解析した結果、睡眠関連呼吸障害が重症になるほど眠気が強くなるといった関係は必ずしも認められなかった。

その理由として、男女で眠気と睡眠関連呼吸障害の関

係性が異なっている可能性とともに、睡眠時無呼吸症候群専門外来受診者のうち、とくに睡眠関連呼吸障害が正常の人において、睡眠関連呼吸障害以外の理由で眠気の強い人が多く受診するという参加者バイアスが考えられる。

結論

睡眠関連呼吸障害の重症度と眠気の関係の有無についても、より大規模なサンプルを用いたさらなる解析が必要であろう。

参考文献

- 1) Nakayama-Ashida Y, Takegami M, Chin K, et al. Sleep-disordered breathing in the usual lifestyle setting as detected with home monitoring in a population of working men in Japan. *Sleep*. 2008 Mar;31(3):419-25.
- 2) Takegami M, Hayashino Y, Chin K, et al. Simple four-variable screening tool for identification of patients with sleep-disordered breathing. *Sleep*. 2009 Jul;32(7):939-48.
- 3) Ito K, Uetsu M, Ubara A, Matsuda A, Sumi Y, Kadotani H. Obstructive Sleep Apnoea Severity Is Negatively Associated with Depressive Symptoms: A Cross-Sectional Survey of Outpatients with Suspected Obstructive Sleep Apnoea in Japan. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Apr 20;19(9):5007.
- 4) Omichi C, Kadotani H, Sumi Y, et al. Prolonged Sleep Latency and Reduced REM Latency Are Associated with Depressive Symptoms in a Japanese Working Population. *Int J Environ Res Public Health*. 2022;19(4):2112.

分担研究課題名：心拍変動解析と MSLT データを用いた
眠気の定量化研究
分担研究者：高江洲義和
研究協力者：普天間国博、笹生明也乃
所属施設：琉球大学

緒言

反復睡眠潜時検査 (Multiple Sleep Latency Test: MSLT) は日中の眠気を定量化する検査であり、中枢過眠症の診断に必須の検査である。一方でその実施は容易では無く、睡眠専門医療機関で時間と労力をかけて実施できる検査である。近年はウェアラブルデバイスの精度が飛躍的向上しており、簡易的かつ非侵襲的に生理指標の測定が可能となっている。しかしながら、MSLT の判定に必要な脳波を日常生活で簡易的に測定することは困難であるため、眠気を定量化するために他の生理指標の活用が求められている。

心拍変動 (Heart Rate Variability: HRV) は自律神経の指標として以前から知られており、解析方法により交感神経/副交感神経の比率を定量化することが可能である。近年はウェアラブルデバイスによる心拍変動の測定が可能であり日常生活での実用化が期待されている。先行研究ではウェアラブルデバイスによる心拍変動解析により運転中の眠気の感知が可能であることが示されている。

以上から、本研究では PSG データバンクを用いて、MSLT により定量化された眠気を、心電図による心拍変動解析から定量化できるかについての検討を行う。本結果から心拍変動により眠気の定量化が可能であることが示されれば、ウェアラブルデバイスによる心拍変動解析から日常生活で簡易的に眠気の測定が可能となる。

方法

本研究は国立精神神経医療研究センター (NCNP)、秋田大学、東京医科大学、日本大学、滋賀医大、久留米大学琉球大学より集められた PSG データバンクの MSLT データと MSLT 実施中の心電図のデータを用いて解析を実施する。ハイスループット AI による機械学習を用いて、MSLT データを教師データとして、心拍変動による予測モデルの構築を目標とする。個人間のデータを比較することにより眠気の定量化を目指す。MSLT は通常 1 回の検査において 4-5 回連続で測定するため、個人内の眠気の変化量を予測するモデルを作成することにより、過眠症の薬物療法の効果判定にも応用可能な技術となり得ると考える。本研究は NCNP 倫理審査委員会の中央一括審査による承認を得て実施する。

結果

現在、各施設から PSG、MSLT データを NCNP のデータバンクのサーバーにアップロード中であり、必要なデータ数 (約 50 症例) が集まり次第解析を開始する予定である。次年度中にはデータ解析を終了する予定である。

参考文献

- 1) Burlacu A, Brinza C, Brezulianu A, Covic A. Accurate and early detection of sleepiness, fatigue and stress levels in drivers through Heart Rate Variability parameters: a systematic review. *Rev Cardiovasc Med.* 2021 Sep 24;22(3):845-852.
- 2) Anna Persson, Hanna Jonasson, Ingemar Fredriksson, Urban Wiklund, Christer Ahlstrom. Heart Rate Variability for Driver Sleepiness Classification in Real Road Driving Conditions. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* 2019 Jul;2019:6537-6540.
- 3) Ke Lu, Anna Sjors Dahlman, Johan Karlsson, Stefan Candefjord. Detecting driver fatigue using heart rate variability: A systematic review. *Accid Anal Prev.* 2022 Dec;178:106830.

Development of the Sleep Disorders and Polysomnography Databank, and its utility for elucidating the pathophysiology, developing diagnostic markers and treatment methods of sleep disorders and neuropsychiatric disorders

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

We have been collaborated with above four major facilities of sleep medicine in Japan, we will expand the project by inviting more facilities of sleep medicine to participate during the current research project.

In addition, the system was built to collect PSG data from each facility of sleep medicine, as well as associated metadata on patients with sleep disorders, on a cloud server, thus laying the groundwork to accomplish the above tasks. The NCNP manages access privileges and access information for collaborating facilities, and operates as a core facility for conducting clinical research using multi-center data.

In order to increase the usefulness of the cloud-based databank system, we will improve the system and enhance its functions, and also consider ways to improve linkage with other databank systems, such as the mental disorders registry.

Using the collected PSG data and the associated metadata, we will develop objective biomarkers for sleep 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.

Research outcomes

I. Operation of the Sleep Disorders and Polysomnographic Databank

Since March 17, 2022, when we received permission from the NCNP Ethics Committee to conduct the multicenter study (B2021-128), data registration from each facility has been steadily proceeding.

Two new facilities, (E) Department of Psychiatry, Shiga University of Medical Science, and (F) Department of Psychiatry, Graduate School of Medicine, University of the Ryukyus, participated in the study from Kinki and Okinawa regions, making it possible to collect data from a wider area in Japan.

II. Development of Biomarkers for Sleep Disorders

① Complications of periodic limb movements in Japanese patients with restless legs syndrome and its effect on hypertension

PLMS (periodic limb movements of sleep) are repetitive involuntary movements of the limbs that occur during sleep and are frequently associated with restless legs syndrome (RLS). The pathophysiology of both RLS and PLMS is thought to involve a disturbance in dopamine neurotransmission pathways, which may explain the high complication rate of PLMS in RLS patients. The prevalence of RLS in the general adult population in Europe and the United States is estimated to be 8-10%, whereas in Japan, the prevalence of RLS was reported to be 1.8% in a survey of subjects aged 20 years and older, and is thought to be low in other Asian countries as well. In a study of Caucasian subjects, the rate of $PLMI \geq 15/h$, the morbidity criterion, was 62.7%, while the PLMS complication rate of RLS in Asia is reported to be slightly lower in Korea (42.3%), but this is not fully conclusive. Not only does PLMS produce symptoms such as frequent awakenings and sleep disruption, resulting in mid-sleep awakenings and lack of a sense of sound sleep, but PLMS itself and the increased heart rate and blood pressure associated with PLMS have been reported to cause hypertension during the day. In addition, there is concern that long-term hypertension in PLMS may pose a risk of cause of cardiovascular disease. However, there have been no studies on the impact of PLMS on hypertension in Asian RLS patients.

We investigated the complication rate of PLMS and the incidence of hypertension and its associated factors in Japanese RLS patients with first visit to Yoyogi Sleep Disorder Center between December 2002 and May 2015 who met the criteria.

468 patients were included in the analysis (mean age 51.1 ± 18.2 years, 61.8% female, $IRLS \pm 7.7$), 67 (14.3%) met the criteria for having hypertension, and 200 (42.7%) had $PLMI \geq 15/hr$. The proportion of $PLMI \geq 5/hr$, $PLMI \geq 15/hr$, and $AHI \geq 5/hr$ in each age group showed that $PLMI$ increased just in the older age group (>60 years). Regarding the presence of hypertension, multivariate results showed that being older ($OR=1.092$, 95% $CI=1.65-1.120$, $p<0.05$) and having a higher BMI ($OR=1.112$, 95% $CI=1.017-1.217$, $p<0.05$) were independently significantly associated with hypertension.

The association between hypertension and PLMS was ruled out.

② Physiological analysis of sleep disorders associated with major depressive disorder

The increase in the number of depressed patients has resulted in an enormous social burden. Therefore, there is a strong need to develop biomarkers that contribute to prevention, diagnosis, and treatment, but none have been established at this time. In depression, 80-90% of patients show insomnia and characteristic findings such as increased REM sleep pressure. Given this, the idea of using polysomnography (PSG), the golden standard of sleep evaluation, for biomarker development has been around for some time, but it has been difficult to collect the data necessary for stable marker development on the scale of a typical clinical study.

In this project, we investigated the development of biomarkers for clinical depression using PSG data collected on the data server of the first PSG data bank project in Japan, which is funded by the National Center of Neurology and Psychiatry (NCNP) for the development of psychiatric and neurological diseases.

We compared sleep indices and power values in each frequency band of 6 untreated depressed patients and 7 age- and sex-matched healthy subjects, and were able to identify several indices that contribute to differentiation between the two groups. We also conducted a cross-sectional study using existing epidemiological data to investigate the relationship between mental health and "sleep restfulness," which has recently been attracting attention as an indicator of sleep quality. The results showed that nonrestorative sleep (NRS) was more strongly associated with feelings of hopelessness than insomnia symptoms (difficulty falling asleep, mid-morning awakenings, and early morning awakenings).

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

Among the factors resisting treatment of chronic insomnia, sleep state misperception is the most difficult to deal with. Sleep state misperception is a condition in which subjective sleep evaluation remains worse despite objective sleep improvement and is one of the main causes of refractory and long-term use of multiple medications for insomnia. It is one of the main causes of refractory to medications, use of multiple medications and prolonged use of sleep medications. Major depressive disorder is a strong candidate for factors associated with sleep state misperception. However, whether sleep state misperception is a trait marker or a state marker reflecting the severity of depressive symptoms in major depressive disorder is not well defined.

In this exploratory study, we investigated sleep state misperception (Δ TST) at admission and discharge in patients hospitalized for major depressive disorder to determine whether sleep state misperception improves during the remission phase compared to the illness phase, and whether changes in depressive symptom severity correlate with changes in sleep state misperception.

Seven patients with major depressive disorder participated in the study. The mean age was 57.0 ± 9.8 years, 42.9% (3/7) were female, and BMI was 23.9 kg/m². The HAM-D17 on admission was 20.1 ± 5.9 points and on discharge was 7.0 ± 6.1 points. The proportion of those with a HAM-D17 of less than 7 points at discharge was 71.4%. The Δ TST at admission was -33.4 ± 66.2 minutes and at discharge was -13.4 ± 103.2 minutes. The Δ TST at discharge increased by 20.0 ± 126.1 minutes compared to the Δ TST at admission, but there was no significant difference between the Δ TST at admission and discharge ($p = 0.735$). There was no significant association between improvement in depressive symptoms and improvement in sleep state misperception ($r = -0.036$, $p = 0.939$).

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

In addition to central hypersomnia, sleep-disordered breathing, and insufficient sleep syndrome, 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-based sleep-disordered breathing index, while insufficient sleep syndrome and circadian rhythm sleep-wake disorder can be diagnosed by sleep diaries and actigraphy. Central hypersomnia 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 (International Classification of Sleep Disorders, 3rd edition). However, since there are no objective criteria for the diagnosis of idiopathic hypersomnia, the diagnosis is made by excluding other diseases that cause hypersomnolence. In sleep-disordered breathing, there is a problem of residual sleepiness even after recovery in PSG-based index after treatment with continuous positive airway pressure, and the pathogenesis of this problem is not clear. In this study, we collected PSG data from multicenter study and examined the correlation between the subjective and objective measures of daytime sleepiness (MSLT) and various indices such as sleep index, k-complex, number of spindle waves, 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 goal 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. By using the disease-specific indices found, idiopathic hypersomnia can be diagnosed proactively, and indices related to the degree of sleepiness can be used to objectively evaluate hypersomnia with unknown pathology (e.g., residual sleepiness) and to predict and evaluate treatment effects.

We are extracting and analyzing the registered in-hospital data of patients with hypersomnia (narcolepsy, idiopathic hypersomnia, cyclical hypersomnia, sleep apnea, etc.) who have undergone MSLT and Epworth Sleepiness Scale. Analysis is performed for each case using conventional sleep analysis, frequency analysis, CAP analysis, spindle wave count measurement, and heart rate variability analysis. We will continue to collect and use data from other facilities in the data-bank, which is the core of this study, and consolidate them with data from our hospital, while continuing to register in-hospital data. The results of this research were presented at the 119th Annual Meeting of the Japanese Society of Psychiatry and Neurology in June 2023 (Toshi Mizuki: Pathological significance of abnormal sleep spindle wave in schizophrenia and future prospects) and at the 45th Annual Meeting of the Japanese Society of Sleep Research in September 2023 (Yuki Hyodo: Analysis of temporal incidence of sleep spindle waves in narcolepsy).

⑤ Development of a physiological marker to predict daytime symptom severity comorbid with sleep-related breathing disorders: relationship between sleepiness and sleep-related breathing disorders

Daytime sleepiness has been considered a major subjective symptom of sleep-related breathing disorders, but the relationship between them has not been fully explored. In a previous epidemiological study of men in the workforce, a trend toward sleepiness with more severe sleep-related breathing disorders was observed, but no statistically significant correlation was found. Furthermore, when screening items for sleep-related breathing disorders were selected, sleepiness was not included as a predictor. Therefore, we analyzed whether there is a relationship between sleep-related breathing disorder severity and sleepiness in the occupational and clinical groups.

Among the clinical study group, the outpatient at the university hospital (n=583) was 51.3 ± 17.5 years old, 68.8% male, BMI: 26.1 ± 5.38 kg/m², and the outpatient at the city hospital (n=450) was 58.8 ± 14.8 years old, 75.8% male,

BMI: 26.3 ± 5.38 kg/m². 26.3 ± 5.33 kg/m². Of these, 24.7%, 16.9%, and 25.0% had mild, moderate, and severe sleep-related breathing disorders, respectively, at the university hospital, and 22.9%, 30.3%, and 37.6% at the city hospital. Those with sleepiness and strong sleepiness were 21.6% and 21.2% at the university hospital and 20.9% and 9.6% at the city hospital, respectively. Of the 1550 municipal employees in Koka, 717 participated in the sleep study at home. Participants were age: 45.0 ± 11.6 years, male: 41.7%, BMI: 22.5 ± 3.84 kg/m², of whom 23.4%, 9.20%, and 3.70% had mild, moderate, and severe sleep-related breathing disorders, respectively, and 17.8% and 7.4% had sleepiness and strong sleepiness, respectively. The relationship between severity of sleep-related breathing disorder and sleepiness was analyzed by χ -square test, and the results were $p=0.319$, $p<0.01$, and $p=0.03$ in the occupational group, university hospital, and city hospital, respectively. In the clinical study group, the proportion of individuals with sleepiness was highest in the group without sleep-related breathing disorder.

⑥ Quantification study of sleepiness using heart rate variability analysis and MSLT data

The Multiple Sleep Latency Test (MSLT) is a test to quantify daytime sleepiness and is essential for the diagnosis of central hypersomnia. On the other hand, it is a test that requires time and effort to perform at facilities of sleep medicine. In recent years, the accuracy of wearable devices has improved dramatically, making it possible to measure physiological parameters in a simple and non-invasive manner. However, since it is difficult to simply measure EEG, which is necessary to determine MSLT, in daily life, there is a need to utilize other physiological indicators to quantify sleepiness. Heart Rate Variability (HRV) has long been known as an indicator of the autonomic nervous system, and it is possible to quantify the ratio of sympathetic/parasympathetic nerves through analytical methods. In recent years, wearable devices have made it possible to measure heart rate variability and are expected to be put to practical use in daily life. Previous studies have shown that it is possible to detect sleepiness while driving by analyzing heart rate variability using wearable devices.

In this study, we investigate whether the sleepiness quantified by MSLT can be quantified by heart rate variability analysis using electrocardiograms, using the PSG databank. If the results of this study show that it is possible to quantify sleepiness by heart rate variability, it will be possible to simply measure sleepiness in daily life by heart rate variability analysis using a wearable device.

The analysis will be conducted using MSLT data from this PSG data bank and ECG data during MSLT implementation. Using machine learning with high-throughput AI, the goal is to construct a prediction model based on heart rate variability using MSLT data as teacher data. The goal is to quantify sleepiness by comparing data between individuals. Since MSLT is usually measured 4-5 times in a row during one examination, creating a model to predict the amount of change in sleepiness within an individual could be a technology that could be applied to determine the effectiveness of drug therapy for hypersomnia.

Summary:

The Sleep Disorders and PSG Databank has been established in collaboration with major facilities of sleep medicine in Japan, and the foundation is being built to accomplish the above tasks. The number of collaborating facilities has expanded from 5 to 7, including us, enabling the accumulation of a larger volume of data. We will further increase the number of facilities that purchase obstetricians and devise ways to improve the convenience and robustness of the bank. The collected PSG data and associated metadata will be used for research on the development of biomarkers for sleep disorders and mental disorders, for which objective indices are lacking

in diagnosis and pathological evaluation.

The clinical research topics set for each collaborating facility were judged to be appropriate for further study. In the future, data collected from all facilities will be used to carry out each research project through repeated discussions among us.

5-2 心的外傷後ストレス障害に対するメマンチンの有効性・安全性の検証

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 行動医学研究部
堀 弘明

1. 研究目的

PTSD は生涯有病率が1%を超えるありふれた疾患であるにもかかわらず、保険適用を有する薬剤はパロキセチンとセルトラリンの2剤のみであり、治療選択肢は乏しい。加えて、これらは抗うつ薬として開発された選択的セロトニン再取り込み阻害薬であり、PTSD の病因・病態に対応した薬剤ではなく、実際、効果は限定的である。これらの状況もあり、PTSD を有する者のうち医療機関で治療を受けている患者は少数に留まり、大部分は受診にも至っていない。したがって PTSD の病態に基づく新規治療薬の開発は喫緊の課題である。N-methyl-D-aspartate 受容体拮抗薬であるメマンチンは、マウスにおいて恐怖記憶の顕著な忘却効果が見出されている。この基礎研究の知見に基づき我々が実施したオープン臨床試験の結果、長年にわたって様々な治療が試みられたものの症状が改善せず遷延している PTSD 患者に対してメマンチンが著効すること、また忍容性も概して良好であることが見出された。

本研究では、無作為化二重盲検プラセボ対照デザインによる RCT を行い、PTSD に対するメマンチンの有効性・安全性を検証する。この RCT では、PTSD 患者 40 名を実薬群とプラセボ群にランダムに割付けて 17 週間の試験を行う。さらに、治療前後での認知心理評価、血液採取、脳 MRI 撮像を行い、メマンチンの効果の評価・予測に役立つ

バイオマーカーを探索する。血液マーカーについては、治療研究と並行して当研究部で実施中の PTSD レジストリ研究から特定されてきた分子に着目し、メマンチン治療との関連で詳細な検討を行う。レジストリ研究も引き続き行い、新たに着目すべき分子・遺伝子が見出された場合、メマンチン RCT のバイオマーカー候補として検討する。並行して、複雑性 PTSD に対する心理療法である STAIR Narrative Therapy の治療研究を実施する。

本 RCT によって PTSD に対するメマンチンの有効性・安全性が明らかになれば、PTSD に苦しむ多くの患者にとって非常に有益な成果となる。加えて本研究では、治療との関連でバイオマーカーを検討することにより PTSD の異種性や亜型を考慮した分析も行い、各患者の病因・病態に即した個別化医療に役立つバイオマーカーの開発を目指す。さらに、複雑性 PTSD 患者に対する STAIR Narrative Therapy によって、薬物療法より心理療法の方が適した患者に対しても有益となるエビデンスを創出する。

2. 研究組織

主任研究者：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）

分担研究者：

金 吉晴（国立精神・神経医療研究センター 精神

保健研究所)

成田 瑞 (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)

丹羽 まどか (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)

研究協力者：

小川眞太郎¹⁾，井野敬子¹⁾，成田恵¹⁾，中野稚子¹⁾，吉田冬子¹⁾

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

3. 研究成果

RCTについては、R6年5月現在までにPTSD患者を14名組み入れ、継続している。脳MRIは、3テスラMRI装置を用い、脳形態画像として3次元収集T1強調像、拡散テンソル画像、T2強調画像、FLAIR画像を撮像し、脳機能画像として安静時脳活動を撮像している。一方で、メマンチンの服用を希望して研究参加を検討する患者が多数存在することが予想され、本RCTでプラセボ群に割り付けられる確率が50%存在する点は参加の障壁となる可能性が想定された。したがって、確実に実薬を服用できる機会を担保することにより被験者リクルートを促進するために、RCTの参加を完了した患者を対象にしたメマンチン単群の長期(1年間)オープン試験のプロトコルを作成し、R5年11月にNCNPのCRB承認を受け、開始している。この試験は、1年間にわたってメマンチンの有効性と安全性を検討することも目的としている。

病因・病態研究からは、血中炎症物質の濃度に影響するCRP遺伝子・IL6遺伝子の多型がPTSD患者の自殺リスクに関連することを見出し、炎症に関与するこれらの遺伝子多型によってPTSD患者の自殺予防に繋がる可能性が示唆さ

れた(Kawanishi et al., *Brain Behav Immun.* 2023)。さらに、東京大学農学部・喜田聡教授グループと基礎-臨床連携研究を行い、ヒト血液とマウス海馬のトランスクリプトーム比較解析およびヒト血液DNAメチル化解析により、PTSDの鍵分子としてcyclic AMPの分解酵素であるPDE4Bを見出した(Hori et al., *Mol Psychiatry.* in press)。

STAIR Narrative Therapyについては、オープン臨床試験は15名のフォローアップが終わり、最初に参加した10名についての論文(Niwa et al., 2022)と同様に大きな効果が確認された。また治療前後で認知機能、特に記憶機能の改善が認められ、この結果について現在論文投稿準備中である。

4. 研究成果刊行一覧

Hori H, Fukushima H, Nagayoshi T, Ishikawa R, Zhuo M, Yoshida F, Kunugi H, Okamoto K, Kim Y, Kida S. Fear memory regulation by the cAMP signaling pathway as an index of reexperiencing symptoms in posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry.* 2024 Online ahead of print.

Hori H, Yoshida F, Ishida I, Matsuo J, Ogawa S, Hattori K, Kim Y, Kunugi H. Blood mRNA expression levels of glucocorticoid receptors and FKBP5 are associated with depressive disorder and altered HPA axis. *J Affect Disord.* 2024; 349: 244-253.

Kawanishi H, Hori H, Yoshida F, Itoh M, Lin M, Niwa M, Narita M, Otsuka T, Ino K, Imai R, Fukudo S, Kamo T, Kunugi H, Kim Y. Suicidality in civilian women with PTSD: Possible link to childhood maltreatment, proinflammatory molecules, and their genetic variations. *Brain Behav Immun Health.* 2023; 30: 100650.

- Hakamata Y, Hori H, Mizukami S, Izawa S, Yoshida F, Moriguchi Y, Hanakawa T, Inoue Y, Tagaya H. Blunted diurnal interleukin-6 rhythm is associated with amygdala emotional hyporeactivity and depression: a modulating role of gene-stressor interactions. *Front Psychiatry*. 2023; 14: 1196235.
- Narita Z, Oh H, Koyanagi A, Wilcox HC, DeVlyder J. Association of a history of incarceration and solitary confinement with suicide-related outcomes in a general population sample from two U.S. cities. *Arch Suicide Res*. Online ahead of print.
- Hori H, Hakamata Y. "Chapter 8. Inflammation and traumatic stress." *Stress: Immunology and Inflammation: Handbook of Stress Series Volume 5*, Fink G (Editor), Academic Press, London, 2023 Sep, pp 65-75.
- 堀 弘明: 複雑性 PTSD の神経生物学 -逆境的小児期体験(ACEs)と心的外傷後ストレス症(PTSD)の研究からの考察-. *精神医学* 2023; 65: 1172-1182.
- 堀 弘明: PTSD への薬物療法. *精神科* 2023; 43: 209-217.
- 堀 弘明: 心的外傷後ストレス障害 (PTSD) における環境要因と遺伝-環境相互作用—逆境的小児期体験に着目した検討. *医学のあゆみ* 2024; 288 : 577-582.
- 堀 弘明: 心的外傷後ストレス症における栄養学的問題. *精神医学* 2024; 66: 295-301.
- 丹羽 まどか, 加藤知子, 大友理恵子, 須賀楓介, 大滝涼子, 金 吉晴: STAIR Narrative Therapy 実践の勘所. *トラウマティック・ストレス* 2023 ; 21: 22-28.
- 丹羽 まどか: 複雑性 PTSD に対する STAIR Narrative Therapy. *精神医学* 2023 ; 65: 1138-1143.
- 丹羽 まどか, 金 吉晴: 複雑性 PTSD に対する認知行動療法. *臨床精神薬理* 2024; 27: 53-58.

分担研究課題名：統括、メマンチン RCT 実施、 遺伝子発現・バイオマーカー解析

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 は生涯有病率が 1%を超えるありふれた疾患であるにもかかわらず、治療選択肢は乏しい。そういった状況もあり、PTSD を有する者のうち医療機関で治療を受けている患者は少数に留まる。したがって PTSD の病態に基づく新規治療薬の開発は喫緊の課題であり、PTSD の中核症状の軽減がモデルマウスの基礎研究と患者のオープン臨床試験で示されたメマンチンは、そのような治療薬の有力候補である。本研究では、無作為化二重盲検プラセボ対照デザインによる RCT を行い、PTSD に対するメマンチンの有効性・安全性を検証する。並行して PTSD の病因・病態解明を目指したレジストリ研究を実施し、バイオマーカー候補を探索するとともに、治療との関連で遺伝子発現やタンパク濃度の変化を調べることで、メマンチンの効果メカニズムを検討するとともに、効果予測や個別化医療に役立つバイオマーカーの開発を目指す。

方法

RCT は、PTSD 患者 40 名をメマンチン群とプラセボ群に 20 名ずつランダムに割付けて 17 週間の介入を行う。メマンチンの用量設定は、アルツハイマー型認知症の治療基準に則る。主要評価項目は、構造化面接 CAPS-5 を用いて評価する PTSD 診断および重症度である。有害事象については UKU を用いて調査する。治療開始前ベースライン時点および治療終了時点で、これらの臨床評価に加え、認知機能検査、採血を行う。血液を

用いて候補分子のタンパク濃度および mRNA 発現を測定する。ベースライン時点での血液所見が症状改善効果を予測するか、また、血液所見の治療前後での変化が症状改善効果と相関するかを解析する。これらの検討により、メマンチンの有効性・安全性を検証するとともに、効果メカニズムの探索、治療効果の予測・客観的代理マーカーの同定を試みる。同時にレジストリ研究において候補分子を探索する。

結果

RCT については、R6 年 5 月現在までに PTSD 患者を 14 名組み入れ、継続している。レジストリ研究からは、血中炎症物質の濃度に影響する CRP 遺伝子・IL6 遺伝子の多型が PTSD 患者の自殺リスクに関連することを見出し、炎症に関与するこれらの遺伝子多型によって PTSD 患者の自殺予防に繋がる可能性が示唆された (Kawanishi et al., Brain Behav Immun. 2023)。さらに、東京大学農学部・喜田聡教授グループと基礎-臨床連携研究を行い、ヒト血液とマウス海馬のトランスクリプトーム比較解析およびヒト血液 DNA メチル化解析により、PTSD の鍵分子として cyclic AMP の分解酵素である PDE4B を見出した (Hori et al., Mol Psychiatry. in press)。

考察

RCT は順調に進行しており、病態研究からはバイオマーカー候補が見出されてきた。引き続きメマンチン RCT の被験者組み入れを行っていく。治療に関連するバイオマーカーについては、メマンチン投与前後の十分なサンプル・データが収集された段階で解析を行う。

結論

被験者リクルートを継続し、早期に RCT を完

了させるとともに、バイオマーカー開発を進め、将来的なメマンチン治療の実装普及を目指していく。

参考文献

1. Ishikawa R, Fukushima H, Frankland PW, Kida S. Hippocampal neurogenesis enhancers promote forgetting of remote fear memory after hippocampal reactivation by retrieval. *Elife*. 2016; 5: e17464.
2. Hori H, Itoh M, Matsui M, Kamo T, Saito T, Nishimatsu Y, Kito S, Kida S, Kim Y. The efficacy of memantine in the treatment of civilian posttraumatic stress disorder: an open-label trial. *Eur J Psychotraumatol*. 2021; 12: 1859821.
3. Kawanishi H, Hori H, Yoshida F, Itoh M, Lin M, Niwa M, Narita M, Otsuka T, Ino K, Imai R, Fukudo S, Kamo T, Kunugi H, Kim Y. Suicidality in civilian women with PTSD: Possible link to childhood maltreatment, proinflammatory molecules, and their genetic variations. *Brain Behav Immun Health*. 2023; 30: 100650.
4. Hori H, Fukushima H, Nagayoshi T, Ishikawa R, Zhuo M, Yoshida F, Kunugi H, Okamoto K, Kim Y, Kida S. Fear memory regulation by the cAMP signaling pathway as an index of reexperiencing symptoms in posttraumatic stress disorder. *Mol Psychiatry*. 2024 Online ahead of print.

分担研究課題名:PTSD に対するメマンチン RCT の実施

分担研究者：金 吉晴

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

緒言

PTSD には心理療法である持続エクスポージャー療法の有効性が確立されているが、実施に大きな労力を要するため十分に普及していない。薬物療法については選択肢が乏しく、効果も限定的である。これらの状況もあり、PTSD を有する者のうち医療機関で治療を受けている患者は少数に留まる。したがって PTSD の病態に基づく新規治療薬の開発は喫緊の課題である。NMDA 受容体拮抗薬であるメマンチンは、モデルマウスの基礎研究と患者のオープン臨床試験により、PTSD の中核症状を軽減させる可能性が示されており、新規治療薬の有力候補である。

本研究では無作為化二重盲検プラセボ対照比較試験を実施し、PTSD に対するメマンチンの有効性および安全性を検証する。

方法

PTSD 患者 40 名をメマンチン群とプラセボ群に 20 名ずつランダムに割付けて 17 週間の介入を行い、メマンチンの有効性と忍容性を評価する。メマンチンの用量設定は、アルツハイマー型認知症の治療基準に則り、1 日 5mg から投与開始し、その後は、有害事象によって増量が困難なケースを除き、毎週 5mg ずつ、20mg まで増量し、以降は同用量で維持する。メマンチンは、各被験者が研究参加時点ですでに服用している薬剤に追加する形で用い、それらの併用薬は 17 週間の試験期間を通じて原則変更しない。主要評価項目は、PTSD に対する構造化面接の gold standard であ

る CAPS-5 を用いて評価する PTSD 診断および重症度である。副次評価項目は、抑うつ (BDI-II) や不安 (STAI)、認知機能 (RBANS) などである。有害事象については、確立された評価尺度である UKU を用いて調査する。すでに被験者リクルートを開始しており、引き続き目標症例数に到達するまでデータ収集を継続する。

一方で、メマンチンの服用を希望して研究参加を検討する患者が多数存在することが予想され、本 RCT でプラセボ群に割り付けられる確率が 50% 存在する点は参加の障壁となる可能性が想定された。したがって、確実に実薬を服用できる機会を担保することにより被験者リクルートを促進するために、RCT の参加を完了した患者を対象にしたメマンチン単群の長期 (1 年間) オープン試験のプロトコルを作成し、R5 年 11 月に NCNP の CRB 承認を受け、開始している。この試験は、1 年間にわたってメマンチンの有効性と安全性を検討することも目的としている。

結果

RCT は、R6 年 5 月現在までに PTSD 患者を 14 名組み入れ、継続している。現在までのところ特段の問題や重篤な有害事象が生じることなく、被験者リクルート、データ収集は順調に進んでいる。

考察

民間人 PTSD に対するメマンチン RCT の報告は存在せず、我々が世界初となる RCT を計画・実施している。PTSD へのメマンチンの有効性・安全性が確立されることで、既存の治療法で改善が得られない患者への治療選択肢が増えることや、患者が医療機関を受診しやすくなる効果も期待される。とくに本邦では東日本大震災、熊本地震、能登半島地震など大規模災害が頻繁に発生するため、多くの被災者が同時にトラウマを体験し

PTSD を発症する可能性があるが、効果的で安全な薬剤が開発されれば多くの患者に対する同時の治療が可能になる。

結論

現在のペースで被験者リクルートを継続し、早期に RCT を完了させ、将来的な治療の実装普及を目指していく。

参考文献

1. Ishikawa R, Fukushima H, Frankland PW, Kida S. Hippocampal neurogenesis enhancers promote forgetting of remote fear memory after hippocampal reactivation by retrieval. *Elife*. 2016; 5: e17464.
2. Hori H, Itoh M, Matsui M, Kamo T, Saito T, Nishimatsu Y, Kito S, Kida S, Kim Y. The efficacy of memantine in the treatment of civilian posttraumatic stress disorder: an open-label trial. 2021; *European Journal of Psychotraumatology* 12 (1): 1859821.

分担研究課題名：心的外傷後ストレス障害に対するメマンチンの効果と脳 MRI の関連についての研究

分担研究者：成田 瑞

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 は社会的・職業的・または他の重要な領域における機能の障害を引き起こし、社会経済的損失も非常に大きい。しかし治療の選択肢は限られており、特に薬物療法の選択肢は非常に限られている。これを受けて当研究部はメマンチン PTSD への効果検証をオープン試験で探索し、結果大きな効果が認められた (Hori et al. 2021)。この結果をさらに検証するため、同薬のランダム化比較試験を開始している。このような知見は当事者にとって大きな利益になり得る一方で、その治療マーカーに関する知見はほとんど存在しない。本研究ではメマンチンが PTSD 症状を改善する分子機序に海馬を基軸とした脳回路変化が関与する可能性を想定し、ランダム化された被検者を対象に脳 MRI 撮像を行い、治療マーカーの開発を目指す。

方法

治療群とプラセボ群に PTSD 患者 20 名ずつ割り付け、治療群にはメマンチン 5-20mg/を 17 週まで投与し、介入前後の脳 MRI を撮像する。これにより両群の治療過程と生理的な回復過程を比較する。

脳 MRI 検査においては、当センター内の脳病態統合イメージングセンター (IBIC) に設置されている、3 テスラ MRI 装置 (Siemens 社 Skyrafit) を用いる。脳形態画像として 3 次元収集 T1 強調画像、拡散テンソル画像、T2 強調画像、FLAIR 画

像を撮像し、脳機能画像として安静時脳活動を撮像する。これらに加えて利き手テスト、スタンフォード眠気尺度の測定を行う。

結果

これまで 6 名の被検者がランダム化試験に参加しており、順次 MRI を撮像している。ただし 17 週間という長期の介入試験であるため、現状は介入前の脳 MRI 撮像のみが完了している。本分担研究はこのランダム化比較試験に紐づいたデザインであり、こちらの試験が終了後にキーオープンされるまでは治療者および被検者の盲検化は継続される。したがって、現時点で脳 MRI のデータを解析することは研究計画上、許されていない。一方で、これまで脳 MRI 検査を受けた被検者については全例において問題なく施行を終えており、ランダム化比較試験に伴う治療マーカー検査としての負担は被検者の許容範囲であると考えられる。

考察

PTSD は社会的経済的損失が非常に大きい疾患であるが、治療メカニズムや治療指標に関する脳 MRI の知見はほとんど存在していない。とりわけランダム化比較試験を用いた、バイアスの少ない治療効果に対するマーカーの知見は乏しいためこのような問題点をクリアすることで、PTSD の生物学的なメカニズムを理解する上で重要な知見が得られると考えられる。

また上述の研究デザインによって、バイアスの影響を最小限にすることで、生物学的なメカニズムのみならず、当事者にとって実際に意義のある治療マーカーとしての情報を加えることができると期待される。

結論

本分担研究はメマンチンのランダム化比較試験に紐づいた治療マーカーの研究であるが、脳MRI検査の施行は順調に進捗しており、またその負担も被検者の許容範囲内だと考えられた。現状のペースで同様のリクルーティングと検査を継続していく。

参考文献

- 1) Hiroaki Hori, Mariko Itoh, Mie Matsui, Toshiko Kamo, Takuya Saito, Yoshiko Nishimatsu, Satoshi Kito, Satoshi Kida, and Yoshiharu Kim. 2021. "The Efficacy of Memantine in the Treatment of Civilian Posttraumatic Stress Disorder: An Open-Label Trial." *European Journal of Psychotraumatology* 12 (1): 1859821.
- 2) American Psychiatric Association. 2013. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (5th Ed.)*. American Psychiatric Publishing.
- 3) Etkin, Amit, and Tor D. Wager. 2007. "Functional Neuroimaging of Anxiety: A Meta-Analysis of Emotional Processing in PTSD, Social Anxiety Disorder, and Specific Phobia." *The American Journal of Psychiatry* 164 (10): 1476–88.
- 4) Francati, V., E. Vermetten, and J. D. Bremner. 2007. "Functional Neuroimaging Studies in Posttraumatic Stress Disorder: Review of Current Methods and Findings." *Depression and Anxiety* 24 (3): 202–18.
- 5) Greenberg, P. E., T. Sisitsky, R. C. Kessler, S. N. Finkelstein, E. R. Berndt, J. R. Davidson, J. C. Ballenger, and A. J. Fyer. 1999. "The Economic Burden of Anxiety Disorders in the 1990s." *The Journal of Clinical Psychiatry* 60 (7): 427–35.
- 6) Hernán, M., and J. Robins. 2020. *Causal Inference: What If*. Edited by Raton Boca. Chapman & Hall/CRC.
- 7) Kawakami, Norito, Masao Tsuchiya, Maki Umeda, Karestan C. Koenen, Ronald C. Kessler, and World Mental Health Survey Japan. 2014. "Trauma and Posttraumatic Stress Disorder in Japan: Results from the World Mental Health Japan Survey." *Journal of Psychiatric Research* 53 (June): 157–65.
- 8) Kessler, R. C., A. Sonnega, E. Bromet, M. Hughes, and C. B. Nelson. 1995. "Posttraumatic Stress Disorder in the National Comorbidity Survey." *Archives of General Psychiatry* 52 (12): 1048–60.
- 9) Lanius, R. A., R. Bluhm, U. Lanius, and C. Pain. 2006. "A Review of Neuroimaging Studies in PTSD: Heterogeneity of Response to Symptom Provocation." *Journal of Psychiatric Research* 40 (8): 709–29.
- 10) New, Antonia S., Jin Fan, James W. Murrough, Xun Liu, Rachel E. Liebman, Kevin G. Guise, Cheuk Y. Tang, and Dennis S. Charney. 2009. "A Functional Magnetic Resonance Imaging Study of Deliberate Emotion Regulation in Resilience and Posttraumatic Stress Disorder." *Biological Psychiatry* 66 (7): 656–64.

分担研究課題名：複雑性 PTSD に対する STAIR Narrative Therapy の無作為化比較試験

分担研究者：丹羽まどか

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

複雑性心的外傷後ストレス症 (Complex Posttraumatic Stress Disorder: CPTSD) は、2018 年に公表された国際疾病分類の第 11 回改訂版 (ICD-11) で、新たに採用された診断項目であり、CPTSD に対してどのような治療が有効かを明らかにすることは国際的にも喫緊の課題となっている。これまでの関連する研究の積み重ねにより、トラウマ焦点化治療の中でも CPTSD の多様な症状に対応した治療が有望であることが報告されている (Coventry et al., 2020)。該当する治療として、STAIR Narrative Therapy が米国で開発されており、虐待関連の PTSD に対する複数の無作為化比較試験でその有効性が確認されている (Cloitre et al., 2002; 2010, Oprel et al., 2021)。ただしこれらの研究では ICD-11 の CPTSD を対象としているわけではない。

我々は STAIR Narrative Therapy を日本に導入し、ICD-11 の CPTSD 診断を満たす成人患者を対象とした前後比較試験を実施した。その結果、この治療の実施可能性、安全性、潜在的有効性が確認された (Niwa et al., 2022)。ただし、この研究は少数例でのパイロット試験であり、有効性の検証においては無作為化比較試験による厳格な検証が必要である。そこで本研究では、CPTSD に対する STAIR Narrative Therapy の有効性と安全性を無作為化比較試験によって検証することを目的とする。

方法

CPTSD に対する STAIR Narrative Therapy の潜在的有効性を検討するオープン臨床試験を完了させ、得られた効果量に基づいて無作為比較試験を計画、開始する。

それに先立って、主要評価項目である国際トラウマ面接 (International Trauma Interview; Roberts et al., 2019) および国際トラウマ質問票 (International Trauma Questionnaire; Cloitre et al., 2018) の日本語版の妥当性検証を遂行する。並行して、当該治療の開発者 (Marylene Cloitre 博士) および STAIR Institute の指導者 (Christie Jackson 博士) との連携のもと、日本で STAIR Narrative Therapy の治療者および指導者育成を進め、無作為化比較試験の実施体制を整備するとともに、将来的な治療の実装普及を目指す。

結果

オープン臨床試験は 15 名のフォローアップが終わり、最初に参加した 10 名についての論文 (Niwa et al., 2022) と同様に、STAIR Narrative Therapy の治療前後で大きな効果量が確認された。また治療前後で認知機能、特に記憶機能の改善が認められ、この結果について現在論文投稿を準備中である。

また、本研究の主要評価項目である国際トラウマ面接および国際トラウマ質問票について日本語版の妥当性検証を進めている。令和 5 年度までにトラウマ体験を持つ臨床群 53 名の面接調査が完了し、リクルートを継続中である。53 名のうち、PTSD の診断基準を全て満たした者は 31 名、そのうち CPTSD に特有の自己組織化の障害 (Disturbance in self-organization : DSO) の基準も全て満たし、CPTSD 診断に該当した者は 21 名であった。国際トラウマ面接については、ICD-11 の記載整備に伴う改訂が行われ、リリースバージョンが作成されたため、リリースバージョンの翻

訳と逆翻訳を行い、開発者 (Neil Roberts 博士) の承認を得て、日本語版を整備した。

加えて、令和5年度は、当該治療の指導者育成のためのトレーニングに継続的に参加し、現在までに分担研究者 (丹羽) を含む2名が指導者認定を受け、さらに3名が今後数ヶ月で認定を受ける見込みである。同時に STAIR Narrative Therapy を実施する治療者へのコンサルテーションを通して、新たに10名ほどの認定治療者の育成も進めた。

考察

国際トラウマ面接の日本語版の妥当性研究により日本で標準的に使用できるツールが整備されることが期待される。なお、今年度作成したリリースバージョンの日本語版については、研究者や臨床家が訓練を受けた上で使用できるように、公開準備中である。

また国内での STAIR Narrative Therapy の指導者が誕生したことで、今後国内での治療者育成を進めていくことが可能となった。このため、無作為化比較試験の介入におけるスーパービジョン体制や治療者の確保という面においても前進している。

結論

本研究により、CPTSD の診断評価ツールの整備や、将来的な日本での治療 (STAIR Narrative Therapy) の実装普及につながる成果を得つつある。引き続き本研究を継続・発展させることで、CPTSD に罹患した患者に対する、適切な診断評価や有効な治療が整備されることが最終目標である。

参考文献

- 1) Coventry PA, Meader N, Melton H, et al. Psychological and pharmacological interventions for posttraumatic stress disorder and comorbid mental health problems following complex traumatic events: Systematic review and component network meta-analysis. *PLoS Med* 2020; 17(8): e1003262.
- 2) Cloitre M, Koenen KC, Cohen LR, et al. Skills training in affective and interpersonal regulation followed by exposure: a phase-based treatment for PTSD related to childhood abuse. *J Consult Clin Psychol* 2002; 70(5): 1067.
- 3) Cloitre M, Stovall-McClough KC, Noonan K, et al. Treatment for PTSD related to childhood abuse: A randomized controlled trial. *Am J Psychiatry* 2010; 167(8): 915-924.
- 4) Oprel DA, Hoeboer CM, Schoorl M, et al. Effect of prolonged exposure, intensified prolonged exposure and STAIR+ prolonged exposure in patients with PTSD related to childhood abuse: a randomized controlled trial. *Eur J Psychotraumatol* 2021; 12(1): 1851511.
- 5) Niwa M, Kato T, Narita-Ohtaki R, et al. Skills Training in Affective and Interpersonal Regulation Narrative Therapy for women with ICD-11 complex PTSD related to childhood abuse in Japan: a pilot study. *Eur J Psychotraumatol* 2022; 13(1): 2080933.
- 6) Roberts NP, Cloitre M, Bisson J, et al. International Trauma Interview (ITI) for ICD-11 PTSD and complex PTSD, test version 3.2 [Unpublished measure] 2019.
- 7) Cloitre M, Shevlin M, Brewin CR, et al. The International Trauma Questionnaire: Development of a self-report measure of ICD-11 PTSD and complex PTSD. *Acta Psychiat Scand* 2018;138(6): 536–546.

5-2 Verification of the efficacy and safety of memantine for post-traumatic stress disorder

Hiroaki Hori

Department of Behavioral Medicine, National Institute of Mental Health,
National Center of Neurology and Psychiatry

Although PTSD is a common disease with a lifetime prevalence of over 1%, treatment options are limited, with only two drugs, paroxetine and sertraline, covered by insurance. In addition, these are selective serotonin reuptake inhibitors developed as antidepressants, and are not drugs that address the etiology or pathology of PTSD, and in fact, their effectiveness is limited. Due to these circumstances, only a small number of people with PTSD receive treatment at medical institutions, and the majority do not even seek medical attention. Therefore, the development of new therapeutic agents based on the pathology of PTSD is an urgent issue. Memantine, an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, has been found to have a significant effect of forgetting fear memory in mice. Results of an open-label clinical trial that we conducted based on the findings of this basic research showed that memantine is highly effective for PTSD patients whose symptoms persisted despite various treatments attempted over many years, and that memantine is well tolerated.

In this study, we conduct an RCT with a randomized, double-blind, placebo-controlled design to verify the efficacy and safety of memantine for PTSD. The RCT is a 17-week study in which 40 patients with PTSD are randomly assigned to the active drug group or the placebo group. Furthermore, we conduct detailed psychological and cognitive evaluations, blood sampling, and brain MRI imaging before and after the treatment in order to search for biomarkers that will be useful in evaluating and predicting the effect of memantine. Regarding blood markers, we will focus on molecules that have been identified from our PTSD registry research, and will investigate them in relation to memantine treatment. We will continue to conduct the registry research, and if new molecules or genes of interest are identified, they will be considered as biomarker candidates for memantine. In parallel, we conduct a treatment study on the STAIR Narrative Therapy, a psychological therapy for complex PTSD.

If this RCT reveals the effectiveness and safety of memantine for PTSD, it will be very beneficial for many patients suffering from PTSD. In this study we will also perform analyses that consider the heterogeneity and subtypes of PTSD by examining biomarkers in relation to treatment, and aim to develop biomarkers that will be useful for personalized medicine based on the etiology and pathology of each patient. Furthermore, STAIR Narrative Therapy for patients with complex PTSD will generate evidence that can help identify patients for whom psychotherapy is more suitable than

pharmacotherapy.

As of May 2024, the RCT has enrolled 14 patients with PTSD and is continuing. Brain MRI uses a 3-Tesla device to capture three-dimensionally collected T1-weighted images, diffusion tensor images, T2-weighted images, and FLAIR images as brain morphological images, and resting-state functional brain images. On the other hand, it is expected that there will be many patients who wish to take memantine when considering the participation in the study, and the fact that there is a 50% probability of being assigned to the placebo group in this RCT can be a barrier to participation. Therefore, to promote participant recruitment by ensuring the opportunity to take the active drug, we created a protocol for a long-term (1 year) open-label study of memantine for patients who completed the RCT participation. This open-label trial has been started after receiving NCNP's CRB approval in November 2023. The trial also aimed to examine the efficacy and safety of memantine over a one-year period.

The registry research has found that polymorphisms in the CRP gene and IL6 gene, which affect the concentrations of CRP and IL-6 (respectively) in the blood, are associated with suicide risk in PTSD patients (Kawanishi et al., *Brain Behav Immun.* 2023). Further, we conducted basic-clinical collaborative research with Professor Satoshi Kida's group at the University of Tokyo, and through comparative transcriptome analysis of human blood and mouse hippocampus and through human blood DNA methylation analysis, we found that PDE4B, a cyclic AMP degrading enzyme, is a key molecule in PTSD (Hori et al., *Mol Psychiatry.* in press). Regarding STAIR Narrative Therapy, the follow-up of 15 participants in the open clinical trial has been completed, and similar to the paper on the original 10 participants (Niwa et al., *Eur J Psychotraumatol.* 2022), a large effect was confirmed. In addition, improvements in cognitive function, especially memory function, were observed after the treatment, and the manuscript is currently being prepared for submission.

5-3 認知機能、身体機能に対する機能再建に着目したニューロモデュレーションの 機序解明と臨床応用に向けての基盤整備原貴敏

1. 研究目的

神経疾患・精神疾患に対しては、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)、brain-machine interface (BMI)、末梢神経機能的電気刺激(funcional electrical stimulation: FES)、電気痙攣療法(electroconvulsive therapy: ECT)、神経疾患に対する深部脳刺激(deep brain stimulation: DBS)、脊髄刺激(spinal cord stimulation :SCS)などのニューロモデュレーション(NM)手法が幅広く臨床応用されている。またプリズム療法やボツリヌス療法などのように bottom up に脳の可塑性を誘導する手法もリハビリテーション領域に広く用いられている。これらの手法は、個々に適応疾患、適応手法が設定されているが、各疾患や各障害に対する一対一の改善にとどまらず、その脳可塑性を誘導する過程で波及効果により、他の障害に対する改善効果も期待されると報告されている。そのため、本研究では、認知機能・身体機能の機能再建に着目し、これら NM 手法の改善メカニズムの解明や治療技術の向上について研究を行う。また病院と研究所と相互連携することで、新たな治療開発・臨床応用をシームレスに行える研究基盤を整備する。

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

有江文栄

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

3. 研究成果

1) 神経疾患に対する機能再建に着目したニューロモデュレーションの確立

身体機能に対する障害に対しては、上肢の機能再建や、歩行再建に着目し、top-down 型の NM と bottom-up 型の NM を組み合わせることにより、より大きな機能の向上が期待できると仮定されるが、その効果について過去の検証されたことはない。神経疾患における機能障害に対する NM を組み合わせたリハビリテーション治療の確立を検討した。高次脳機能障害の対する rTMS の実施に向けて、倫理面また過去の研究データから実施体制の構築を検討した。神経疾患の自覚性低下に対する rTMS の効果と忍容性に関して検討し、過去の報告からシステマティックレビューを行った。これによると AD,PPA,MCI、脳卒中に対して、その効果があることが示された。この内容はトロント大学のメンバーと共同で執筆し論文化した。今後は、本邦においてもその実証を行っていく必要があると考えられる一方で、脳活動の変化を同時に計測し、効果メカニズムの解明にもつなげる必要があると考えられた。

難治性てんかん術後に生じる歩行障害に対して、カスタムメイドの油圧ダンパーを備えた装具を小児用に開発した。難治性てんかんに関しては、術後の麻痺による上肢機能障害、歩行障害に対するリハビリテーション手法が確立していない。今回、油圧ダンパーを備えた装具を作成し、症例に応じて実用化を検討したい。また一般的な難治性てんかん術

後の機能障害についての経過を集積する必要性が考えられた。

またこれらの NM 手法のメカニズムの解明にむけて下肢の運動時における脊髄内の fMRI による賦活を画像化する取り組みを行った。

2) 精神神経疾患へのニューロモデュレーションの臨床応用と新規治療法の開発

精神疾患は、広範な機能障害を呈し患者に著しい苦痛をもたらす。主となる薬物療法、精神療法などの標準治療によっても、症状が遷延し、治療に難渋することが経験される。本分担研究課題では、うつ病、双極性障害、強迫性障害、統合失調症を対象にニューロモデュレーションによる新規治療法の開発を行った。磁気けいれん療法 (MST)、accelarated intermittent theta burst stimulation (aiTBS)、deep TMS (dTMS) などの新規ニューロモデュレーションの開発は、iPNT-UB にて、探索的に有効性および安全性を評価した。EASyS-BD および mTMS-D については、データ収集を継続し、有効性および安全性の評価を行った。他施設と共同し、rTMS、TBS に関するメタ解析を実施する。なお、iPNT-UB、EASyS-BD、mTMS-D のいずれも認定臨床研究審査委員会の承認を得た。iPNT-UB では、総計うつ病 22 例、強迫性障害 3 例を登録した。80 歳代のうつ病患者 2 例に MST を実施し、有効性と安全性を報告した。EASyS-BD では、計 32 例登録した。mTMS-D では、計 29 例

登録した。また、プロトコル論文を投稿した。rTMS、TBSに関するメタ解析を実施し、4編が論文として受理された。

3) 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

脳神経疾患においては薬物療法を補完する治療法としてニューロモデュレーションが脚光を浴びている。本研究では下記の課題について治療効果を検証してエビデンスを創出する。①パーキンソン病(PD)のうつ・不安症状に対するrTMS・iTBSの効果と運動症状に与える影響②神経変性疾患における歩行障害のリズム分析と音楽療法による介入。特に本年度は項目②に関して重点的に研究を実施し、脊髄小脳変性症(SCD)の歩行リズム障害の特性を分析し、それを活用した音楽療法の開発に着手した。SCDの歩行リズム分析を進め、歩行リズム比の分布がフラクタル性を反映したPower-law則と対数正規分布の線形結合で表現されることを明らかにした。さらに、運動失調症状により歩行リズムのフラクタル性が崩れること、またPower-law則のべき乗のパラメーターが、SCD患者において正常対照よりも有意に低値を示すことを見出した。本研究で歩行リズムの新たな特性を明らかにしてSCD患者における歩行フラクタル性の減少を見出した。Power-law項におけるべき乗値は、SCDの有用な臨床指標になり得る可能性が示唆された。今後重症度や他の臨床指標との相関を明らかにすると共に、疾患特異性についても検討す

る。さらに、音楽療法の介入によるフラクタル性の変化を追求するとともに、治療最適化を目指した検討を継続する。

4) 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

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検討した。

2020年から2023年度に、トゥレット症候群に対するDBS 10件、パーキンソン病に対するDBS 13件、本態性振戦に対するDBS 1件、ジストニアに対するDBS 4件が実施された。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。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く。

5) Hybrid Assistive Limb を用いた neuromodulation の効果の可視化に関する研究

ロボットスーツ HAL (Hybrid Assistive Limb) 両下肢タイプ (サイバーダイン社, 日本) は患者の生体電位信号を読み取って解析し, 円滑な歩行動作となるよう下肢の動作をアシストする装着型ロボットである。2024年1月1日現在, 計10疾患に保険適応が認められており, 臨床の場で使用することが可能である。封入体筋炎は HAL による歩行運動処置が保険適応となっている疾患の一つで, 歩行機能の改善効果が期待されている。今回我々は封入体筋炎患者に HAL による歩行運動処置を実施し歩行機能の改善を見た。

対象患者は4名, 男性3名女性1名, 平均年齢は 59.3 歳, 平均 Berthel Index の平均値は 76.3 であった。歩行パラメータでは2分間歩行テストにて歩行距離が $55.9 \pm 17.7\text{m}$ から $65.6 \pm 22.7\text{m}$ に延長した ($P < 0.05$)。また10m歩行テストによる歩数は 32.3 ± 6.9 歩から 28.0 ± 7.3 歩に減少し ($P < 0.05$)。歩行スピードは時速 $1.5 \pm 0.4\text{km/hour}$ から $1.7 \pm 0.6\text{km/hour}$ に増加した ($P < 0.05$)。

本研究の結果は過去の報告と合致しており, 本研究では CPK 値にて運動負荷量の適正をモニタリングしながら引き

続き症例数を増やし, また歩行動画の解析などの視覚的評価を加えながら封入体筋炎に対する HAL の安全性, 有効性, 継続的効果などを検証していく。

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。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背外側前頭前野 (DLPFC) 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。また, 社会認知の神経基盤をなす前頭前野-上側頭回-扁桃体からなる脳内神経ネットワークに注目し, 左側上側頭回/溝 (STS) をターゲットとした tDCS 陽極刺激が, 社会認知機能 (心の理論など) を改善することを国内外で初めて報告した。以上の知見に基づき今回は, tDCS の陽極設置部位により認知機能及び社会機能の改善効果がどのように異なるか検証した。日常生活技能 (機能的な能力) の向上には, 特に左側 DLPFC への tDCS 陽極刺激が有用であることが示唆された。以上より, 統合失調症患者の臨床症状に応じて, tDCS の陽極刺激を実施する脳領域を選択することが有効である可能性が示された。

7) 疾患横断的なニューロモジュレーション効果の評価系確立

本研究班の目的は、NCNP 病院において感覚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、身体リハビリテーション、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。

ヒトにおける脊髄および延髄の fMRI 撮像プロトコルを決定し、サル実験と比較対象なレベルまで撮像精度を向上させた。実験動物における臍移植モデル作成について、投稿論文の洗練化を行った。具体的にはヒト患者の知見をもとにデータを解釈することによって、中枢神経系の適応過程、筋シナジー変化プロセスがより詳細に説明できるようになった。さらに、ヒトの患者を対象とした研究も進捗し、キネマティクスや筋電図と脊髄活動の変化

との間に興味深い連関が観察できた。

今後は IBIC との筋シナジーや感覚ゲーティングに関する共同研究を推進するとともに、整形外科との共同研究の論文化を行う。

8) 脳波ブレイン・マシン・インターフェイス技術を用いた運動想起学習の神経基盤の同定

運動麻痺患者のブレイン・マシン・インターフェイス (Brain-Machine Interface, 以下 BMI) 治療法開発の前段階としてその神経基盤の解明を行う。脳と機械を直接連結させ、脳神経活動情報を使用して、機械を操作する技術を BMI と呼ぶ。運動を想起させることで運動関連領域直上に出現する $7\sim 13\text{Hz}$ の μ 波を用いる。この μ 波は随意に調整でき、この手法を利用した BMI 操作が主流である。

先行研究では μ 波を調整する大脳神経回路が調べられている。しかし、患者研究の知見から大脳だけでなく、脊髄神経活動が μ 波調整に関わっていると我々は仮説を立て研究を進めた。BMI 技術の最大の問題は、 μ 波の調整能力に上手い下手がある。脊髄損傷患者や脳卒中片麻痺患者は μ 波操作能力が低下している。また、健常者でも μ 波操作能力に上手い下手があることから健常者を対象に運動想起時の μ 波操作能力に着目し、操作能力の違いが脊髄神経活動だけで説明できることを検証した。運動想起中に大脳皮質だけでなく、脊髄神経活動も認められた。運動想起中に μ 波のパワー値減衰に伴って脊髄

神経活動が増加することが認められた。 μ 波変化率が大きいほど(μ 波操作が上手い)、脊髄神経活動が大きく、小さいほど(μ 波操作が下手)、脊髄神経活動が小さいことが示唆された。

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について他機関の生命倫理研究者と情報交換を行い、検討した。また、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との情報共有等にも努めていく必要があるだろう。また、ニューロテクノロジーの臨床応用について、文化が異なる地域・国によって懸念の傾向が異なることが報告されているが、日本国内においては明らかになっていない為、今後調査が必要であろう。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。

3. 研究結果刊行一覧

<論文>

1. Espiritu AI, Hara T, Toledo JK, Blair M, Burhan AM. Repetitive transcranial magnetic stimulation for apathy in patients with neurodegenerative conditions, cognitive impairment, stroke, and traumatic brain injury: a systematic review. *Front Psychiatry*. 2023;14:1259481.
2. Kishi T, Sakuma K, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for mania: A systematic review and meta-analysis. *Bipolar Disord* 25: 160-161, 2023.
3. Matsuda Y, Sakuma K, Kishi T, Esaki K, Kito S, Shigeta M, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for preventing relapse in antidepressant treatment-resistant depression: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Brain Stimul* 16: 458-461, 2023.
4. 鬼頭伸輔：うつ病への反復経頭蓋磁気刺激療法と最新のトピックス. 日本ステイミュレーションセラピー学会誌

- 4: 11-17, 2023.
5. Kishi T, Ikuta T, Sakuma K, Hatano M, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for bipolar depression: A systematic review and pairwise and network meta-analysis. *Mol Psychiatry* (in press).
 6. Yamazaki R, Ohbe H, Matsuda Y, Kito S, Shigeta M, Morita K, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H: Effectiveness of medical fee revisions for psychotropic polypharmacy in patients with mood disorders in Japan: An interrupted time-series analysis using a nationwide inpatient database. *Asian J Psychiatr* 84: 103581, 2023.
 7. 鬼頭伸輔: ニューロモデュレーションとプラセボ効果. *臨床精神薬理* 26: 845-850, 2023.
 8. Yamazaki R, Matsuda Y, Oba M, Oi H, Kito S: Maintenance repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) therapy for treatment-resistant depression: A study protocol of a multisite, prospective, non-randomized longitudinal study. *BMC Psychiatry* 23: 437, 2023.
 9. Kishi T, Sakuma K, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Intermittent theta burst stimulation vs. high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res* 328: 115452, 2023.
 10. Ito A, Hiyoshi F, Kanie A, Maruyama A, Oba MS, Kito S: Feasibility study of virtual reality-based cognitive behavioral therapy for patients with depression: Protocol for an open trial and therapeutic intervention. *JMIR Res Protoc* 12: e49698, 2023.
 11. Noda Y, Miyashita C, Komatsu Y, Kito S, Mimura M: Cost-effectiveness analysis comparing repetitive transcranial magnetic stimulation therapy with antidepressant treatment in patients with treatment-resistant depression in Japan. *Psychiatry Res* 330: 115573, 2023.
 12. 鬼頭伸輔: 反復経頭蓋磁気刺激(rTMS)の普及と課題. *心と社会* 194: 125-131.
 13. Hayashi D, Igarashi S, Yamazaki R, Matsuda Y, Inagawa T, Kawakami Y, Okita K, Noda T, Sumiyoshi T, Kito S: Magnetic seizure therapy for depression in the very elderly: A

- report of two patients in their 80s. *Asian J Psychiatr* 90: 103806, 2023.
14. 鬼頭伸輔：プラセボ効果をハンドリングする (巻頭言). *日本ステイミュレーションセラピー学会誌* 5 (in press).
 15. Mitsui J, Matsukawa T, Uemura Y, Kawahara T, Chikada A, Porto KJL, Naruse H, Tanaka M, Ishiura H, Toda T, Kuzuyama H, Hirano M, Wada I, Ga T, Moritoyo T, Takahashi Y, Mizusawa H, Ishikawa K, Yokota T, Kuwabara S, Sawamoto N, Takahashi R, Abe K, Ishihara T, Onodera O, Matsuse D, Yamasaki R, Kira JI, Katsuno M, Hanajima R, Ogata K, Takashima H, Matsushima M, Yabe I, Sasaki H, Tsuji S. High-dose ubiquinol supplementation in multiple-system atrophy: a multicentre, randomised, double-blinded, placebo-controlled phase 2 trial. *EClinicalMedicine*. 2023;59:101920.
 16. Togo H, Nakamura T, Wakasugi N, Takahashi Y, Hanakawa T. Interactions across emotional, cognitive and subcortical motor networks underlying freezing of gait. *Neuroimage Clin*. 2023;37:103342.
 17. Matsukawa T, Porto KJL, Mitsui J, Chikada A, Ishiura H, Takahashi Y, Nakamoto FK, Seki T, Shio 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.
 18. 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.
 19. Nishikawa N, Iwaki H, Mukai Y, Takahashi Y. Classification of l-DOPA pharmacokinetics shapes and creating a predictive model. *Parkinsonism Relat Disord*. 2023;114:105798.
 20. 高橋 祐二, and 水澤 英洋. 【運動失調症の病態と治療】運動失調症患者のレジストリ Japan Consortium of Ataxias(J-Cat)..*脳神経内科* 99, no. 4 (2023.10 2023): 510-17.
 21. 高橋 祐二, and 水澤 英洋. 【患者レジストリ】運動失調症患者のレジストリ japan Consortium of Ataxias(J-CAT). *神経治療学* 40, no. 1 (2023.01 2023): 17-22.
 22. Izumi M, Kobayashi K, Kajikawa S, Kanazawa K, Takayama Y, Iijima K, Iwasaki M, Okahara Y, Mine S, Iwadate Y, Ikeda A. Focal ictal direct current shifts by a time constant of 2 seconds were clinically useful for resective epilepsy surgery. *Epilepsia*. 2023 Oct 31. doi: 10.1111/epi.17782. Epub ahead of print.
 23. Roth J, Bergman L, Weil AG, Brunette-Clement T, Weiner HL, Treiber JM, Shofty B, Cukiert A, Cukiert CM, Tripathi M, Sarat Chandra P, Bollo RJ, Machado HR, Santos MV, Gaillard WD, Oluigbo CO,

- Ibrahim GM, Jallo GI, Shimony N, O'Neill BR, Budke M, Pérez-Jiménez MÁ, Mangano FT, Iwasaki M, Iijima K, Gonzalez-Martinez J, Kawai K, Ishishita Y, Elbabaa SK, Bello-Espinosa L, Fallah A, Maniquis CAB, Ben-Zvi I, Tisdall M, Panigrahi M, Jayalakshmi S, Blount JP, Dorfmueller G, Bulteau C, Stone SS, Bolton J, Singhal A, Connolly M, Alsowat D, Alotaibi F, Ragheb J, Uliel-Sibony S. Added value of corpus callosotomy following vagus nerve stimulation in children with Lennox-Gastaut syndrome: A multicenter, multinational study. *Epilepsia*. 2023 Oct 12. doi: 10.1111/epi.17796. Epub ahead of print.
24. Firestone E, Sonoda M, Kuroda N, Sakakura K, Jeong JW, Lee MH, Wada K, Takayama Y, Iijima K, Iwasaki M, Miyazaki T, Asano E. Sevoflurane-induced high-frequency oscillations, effective connectivity and intraoperative classification of epileptic brain areas. *Clin Neurophysiol*. 2023 Jun;150:17-30.
25. 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 Jun;8(2):651-658.
26. 岩崎真樹、中川栄二、遠山潤、飯田幸治、高橋幸利、中里信和、下竹昭寛、戸田啓介. わが国におけるてんかんセンターの実情と課題. *てんかん研究* 40: 530-540, 2023
27. Yamada Y, Narita Z, Inagawa T, Yokoi Y, Hirabayashi N, Shirama A, Sueyoshi K, Sumiyoshi T: Electrode montage for transcranial direct current stimulation governs its effect on symptoms and functionality in schizophrenia: *Frontiers in Psychiatry* 2023 Oct 4; doi:10.3389/fpsyt.2023.1243859
28. 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 Neurosciences* 2023;54:601-610
29. 吉村直記、和田 歩、住吉太幹: 統合失調症における脳刺激法の位置づけ. 特集「統合失調症の今を知る」*精神科治療学* 38(7): 807-13, 2023
30. 山田悠至, 末吉一貴、和田歩、山田理沙、住吉太幹: 経頭蓋直流電気刺激 (tDCS) の臨床総論. *精神科* 43:431-36, 2023
31. 和田歩、末吉一貴、山田理沙、住吉太幹: 統合失調症における認知機能障害の意義と治療の展望. 特集「統合失調症診療のフロンティア Part 2」*臨床精神医学* 52(5): 527--33, 2023
32. Wakasugi N, Hanakawa T: It is time to study overlapping molecular and circuit pathophysiologies in Alzheimer's disease and Lewy body disease spectrums. *Front Systems Neurosci* 15:777706, 2021 Nov, doi.org/10.3389/fnsys.2021.777706.
33. Hishikawa K, Yoshinaga K, Togo H, Hongo

- T, Hanakawa T: Changes in functional brain activity patterns associated with computer programming learning in novices. *Brain Struct Funct.* 2023 Sep;228(7):1691-1701. doi: 10.1007/s00429-023-02674-3. Epub 2023 Jul 20. PMID: 37474776
34. Kawanishi H, Hori H, Yoshida F, Itoh M, Lin M, Niwa M, Narita M, Otsuka T, Ino K, Imai R, Fukudo S, Kamo T, Kunugi H, Kim Y. Suicidality in civilian women with PTSD: Possible link to childhood maltreatment, proinflammatory molecules, and their genetic variations. *Brain Behav Immun Health.* 2023 Jun;30:100650. doi: 10.1016/j.bbih.2023.100650.
35. Tomatsu S, Kim G, Kubota S, Seki K: Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. *Nature Communications* 14:6537. 2023, Oct, 10.1038/s41467-023-42077-w
36. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki. Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. *Cell Rep.* 2024;43:113884.
37. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki. Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. *Nature Communications*, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
38. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuo Tomioka. Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. *PLOS ONE*, June 9, 2023, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>
39. 青柳 遼, 菱川 賢志, 渋谷 菜里, 水野 泉, 福田 貴則, 井上 裕美. ジノプロストン内服製剤とジノプロストン腔内留置用製剤の分娩誘発予後の比較(原著論文) *日本周産期・新生児医学会雑誌* (1348-964X)59 巻 2 号 Page212-218(2023.09)
40. 阿部 十也:神経科学の素朴な疑問 Q & A 「神経線維の太さが変わるの本当でしょうか？」 *Clinical Neuroscience* 40:7, 904-905, 2022.7.
41. 辻本憲吾, 水野勝広:プリズム適応の基礎とその応用 *Journal of Clinical Rehabilitation.* 32(1):72-77:2023.

<著書>

1. 原貴敏. 上下肢に対するボツリヌス治療:ニューロモデュレーションを用いたリハビリテーション治療. *Journal of Clinical Rehabilitation.* 2023; 32:7:709-716.
2. 原貴敏, 安保雅博. リハビリテーション医学・医療における処方作成テキスト 立位歩行訓練(主に脳血管障害に対する). 東京:医学書院,2023年6月
3. 原貴敏. 特別巻 リハビリテーション診療 update. リハビリテーションが必要となる疾患 神経筋疾患 筋疾患. 第152巻 日本医師会雑誌,2023年10月.
4. 原貴敏. 高次脳機能障害ポケットマニュアル 3章高次脳機能障害の評価 1 高次

脳機能障害の評価の流れ、2 どのような評価方法を選択・実施すればよいか 3.注意・ワーキングメモリー、4 章高次脳機能障害のリハビリテーション 1 認知リハビリテーションの考え方、5 章認知機能改善の経頭蓋磁気刺激 (rTMS) 治療. 東京: 医歯薬出版株式会社, 2023 年 11 月.

5. 原貴敏. 下肢ボツリヌス療法とリハビリテーション医療. 第 3 章 BoNT-A 療法の下肢痙縮に対する EBM. 東京: 新興医学出版社, 2023 年 11 月.
6. 鬼頭伸輔: 内科医にも知ってほしい最近の精神疾患関連トピックス. 反復経頭蓋磁気刺激療法. 『診断と治療』 112 巻増刊号. 診断と治療社. 2024 年 3 月.
7. 高橋 祐二. Basic Neuroscience 生化学(分子生物学) ポリグルタミン病に対する治療戦略.. Annual Review 神経 2023 (2023.06 2023): 27-32.
8. 岩崎真樹. てんかんの外科治療. 精神科レジデント 4(2): 30-32, 2023
9. 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
10. 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
11. Yamada Y., Sumiyoshi T.: Social cognitive impairments as a target of non-invasive brain stimulation for functional outcomes in schizophrenia. In Wei Wu (Ed). Oxytocin and Social Function. IntechOpen, London, 2023

〈分担研究課題〉神経疾患に対する機能再建に着目したニューロモデュレーションの確立

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、西田大輔、宮崎裕大、板東 杏太

松永 彩香、坪内 綾香、上村 亜希子

【緒言】

身体機能に対する障害に対しては、上肢の機能再建や、歩行再建に着目し、top-down 型の NM と bottom-up 型の NM を組み合わせることにより、より大きな機能の向上が期待できると仮定されるが、その効果について過去の検証されたことはない。同様に、脳障害に伴う高次脳機能障害や半側空間無視などの認知機能障害に対するリハビリテーションでは、認知リハビリテーションが主流であるが top-down 型の NM にあたる tDCS や bottom-up 型の NM にあたるプリズム療法などを組み合わせた新たな認知リハビリテーションの作用メカニズムや効果に関しては十分検証されていない。神経疾患における機能障害に対する NM を組み合わせたりハビリテーション治療の確立を、病院、研究所とシームレスに連携を行うことで解明していく。

【方法】

精神疾患に対して応用されている NIBS に関する神経難病や神経疾患に対する応用に関して検討した。

身体機能面においては、難治性てんかんの術後において、半球離断術などの症例においては、術後に麻痺を呈することがある。これら多くの小児期症例においては、家族の付き添いを必要とするため長期の入院が困難である。

そのため発症早期からリハビリテーションを開始しても、麻痺が完全に回復しない状況での退院もあり、一部の症例においては、のちの評価入院で重度の歩容の乱れが生じていた症例もあった。そのため術後早期のリハビリテーションを促進するリハビリテーション治療の開発を検討した。

【結果】

高次脳機能障害の対する rTMS の実施に向けて、倫理面また過去の研究データから実施体制の構築を検討した。神経疾患の自発性低下に対する rTMS の効果と忍容性に関して検討し、過去の報告からシステムティックレビューを行った。2023 年 6 月までの期間を対象として、PubMed、Scopus、PsycINFO などの主要な電子健康データベースで体系的な検索を実施。比較臨床試験とコホート研究、および前後のデザインを含む研究を含めた。結果として、14 研究が抽出され、418 人の患者が対象であった。疾患としては、アルツハイマー病 (AD)、パーキンソン病 (PD)、原発性進行性失語症 (PPA)、軽度認知障害 (MCI)、脳卒中、脳外傷であった。AD に対する rTMS については全ての研究で一貫して効果を認める結果であった。PD に関しては統計的に有意な結果は得られていなかった。PPA に関しては単一の RCT 研究で自発性低下に対する有意な結果が得られていた。MCI に対する報告では、3 件の研究が抽出されたが、有意な結果は 1 件のみであった。脳卒中においては、自発性低下に対する有意な改善効果があった。外傷性脳損傷に対しては、有意な関連性は見いだせていなかった。また全体として、使用されたプロトコルの安全性が示されていた。この内容はトロント大学のメンバーと共同で執筆し論文化

した。

難治性てんかん術後に生じる歩行障害においては、術後早期からの離床・立位訓練、歩行訓練が必要となる。これらのリハビリテーションを促進する目的で、カスタムメイドの油圧ダンパーを備えた装具を小児用に開発した(図1)。義肢装具士と共同で油圧ダンパーを備えた長下肢装具(短下肢にも使用可能)を作成した。2種類のサイズを作成し、術後慢性期の患者に装着を行い、歩行速度の向上を確認した。

これらのNM手法のメカニズムの解明にむけて下肢の運動時における脊髄内のfMRIによる賦活を画像化する取り組みを行った。

【考察】

自発性低下に対するrTMSに関して過去の報告からシステムティックレビューを実施し、AD,PPA,MCI、脳卒中に対して、その効果があることが示された。今後は、本邦においてもその実証を行っていく必要があると考えられる一方で、脳活動の変化を同時に計測し、効果メカニズムの解明にもつなげる必要があると考えられる。

難治性てんかんに関しては、術後の麻痺による上肢機能障害、歩行障害に対するリハビリテーション手法が確立していない。今回、油圧ダンパーを備えた装具を作成し、症例に応じて実用化を検討したい。また一般的な難治性てんかん術後の機能障害についての経過を集積する必要性が考えられた。

下肢の運動時における脊髄内のfMRIによる賦活を画像化する取り組みは、今後症例の蓄積をおこなっていく予定である。

【結語】

本研究は、神経疾患に対するNM手法とリハビリテーション治療に関する効果とその応用の確立をめざした研究である。症例確保が難しいこれらの疾患に対する治療として、機能向上に着目した研究は、これまであまり散見されない。top-down型のNM、bottom-up型のNMの双方の有効性を、あらゆる角度から検証していく必要性が求められていると考えられた。



図1:作成した装具

研究成果(原著論文、学会発表、政策提言) 学会発表

・ T Hara, D Nishida, Y Miyazaki, K Hagiwara, T Yamamoto, M Takeuchi, A Tsubouchi, A Matsunaga, A Kamimura, M Yamano, Gait Restoration with Early Brace Therapy Following Postoperative Refractory Epilepsy, the Asia Oceanian Congress of Neurorehabilitation 2023 (AOCNR 2023) Bangkok, Thailand 2023/12/14

・ A. I. Espiritu, T Hara, J K Tolledo, M Blair, A M. Burhan, Repetitive transcranial magnetic stimulation for apathy in patients with neurodegenerative conditions, cognitive impairment, stroke, and traumatic brain injury: A systematic review 11th Canadian Conference on Dementia Toronto Canada 2023年11月2日

論文発表

・ Espiritu AI, Hara T, Tolleo JK, Blair M, Burhan AM. Repetitive transcranial magnetic stimulation for apathy in patients with neurodegenerative conditions, cognitive impairment, stroke, and traumatic brain injury: a systematic review. *Front Psychiatry*. 2023;14:1259481.

分担研究報告

精神神経疾患へのニューロモデュレーションの臨床応用と新規治療法の開発

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

精神疾患は、広範な機能障害を呈し患者に著しい苦痛をもたらす。主となる薬物療法、精神療法などの標準治療によっても、症状が遷延し、治療に難渋することが経験される。本分担研究課題では、うつ病、双極性障害、強迫性障害、統合失調症を対象にニューロモデュレーションによる新規治療法の開発を行う。特定臨床研究である統合的プレシジョンニューロモデュレーション療法（iPNT-UB）にて、探索的に有効性および安全性を評価し、検証的試験のためのデータを蓄積する。先進医療 B である双極性障害への rTMS（EASyS-BD）は、引き続きデータ収集を行う。先進医療 B である維持 rTMS 療法（mTMS-D）は、参画医療機関を募り、引き続きデータ収集を行う。rTMS、TBS に関するメタ解析を実施し、ガイドライン、指針に資する EBM を構築する。

方法

磁気けいれん療法（MST）、accelarated intermittent theta burst stimulation（aiTBS）、deep TMS（dTMS）などの新規ニューロモデュレーションの開発は、iPNT-UB にて、探索的に有効性および安全性を評価する。EASyS-BD および mTMS-D については、データ収集を継続し、有効性および安全性の評価を行う。他施設と共同し、rTMS、TBS に関するメタ解析を実施

する。なお、iPNT-UB、EASyS-BD、mTMS-D のいずれも認定臨床研究審査委員会の承認を得ている。

結果および結言

iPNT-UB では、総計うつ病 22 例、強迫性障害 3 例を登録した。80 歳代のうつ病患者 2 例に MST を実施し、有効性と安全性を報告した。EASyS-BD では、計 32 例登録した。mTMS-D では、計 29 例登録した。また、プロトコル論文を投稿した。rTMS、TBS に関するメタ解析を実施し、4 編が論文として受理された。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）

1. 鬼頭伸輔：精神神経疾患へのニューロモデュレーション療法. 第 55 回関東機能的脳外科カンファレンス、東京、2023 年 4 月.
2. 鬼頭伸輔：広がるうつ病治療の選択肢：rTMS 療法. 第 6 回日本うつ病リワーク協会年次大会、千葉、2023 年 5 月.
3. 鬼頭伸輔：高齢者のうつ病に対するニューロモデュレーション療法. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
4. 鬼頭伸輔：治療抵抗性うつ病への反復経頭蓋磁気刺激による維持療法. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
5. 鬼頭伸輔：rTMS 適正使用指針の改訂. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
6. 鬼頭伸輔：磁気けいれん療法（MST）. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.

7. 鬼頭伸輔：新型コロナウイルス感染症の罹患後症状における精神症状の病態と治療の最前線（指定発言）. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
8. 松尾淳子, 林大祐, 五十嵐俊, 松田勇紀, 山崎龍一, 稲川拓磨, 川上裕, 沖田恭治, 藤井猛, 野田隆政, 住吉太幹, 鬼頭伸輔:精神疾患へのニューロモデュレーション療法のための探索的マスタープロトコル: アンブレラ・バスケット試験. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月
9. 稲川拓磨, 佐竹直子, 岡野宏紀, 榎田嵩子, 宇佐美貴士, 鶴沼敦, 齊藤勇二, 佐伯幸治, 高野和夫, 宇都宮智, 有賀元, 野田隆政:当院における精神・神経疾患患者に対する新型コロナウイルス感染症診療の変遷. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月
10. 野田隆政:精神病性障害急性期における ECT の使いどころ. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月林大祐、五十嵐俊、山崎龍一、松田勇紀、松尾淳子、稲川拓磨、川上裕、沖田恭治、藤井猛、野田隆政、住吉太幹、鬼頭伸輔：磁気けいれん療法（MST）により寛解した高齢者うつ病の一例. 第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
11. 林大祐、五十嵐俊、山崎龍一、松田勇紀、松尾淳子、稲川拓磨、川上裕、沖田恭治、藤井猛、野田隆政、住吉太幹、鬼頭伸輔：磁気けいれん療法（MST）から電気けいれん療法（ECT）に切り替えた高齢者うつ病の一例.第 119 回日本精神神経学会学術総会、横浜、2023 年 6 月.
12. 鬼頭伸輔：広がるうつ病治療の選択肢：rTMS 療法の臨床と研究開発動向. 第 40 回日本脳電磁図トポグラフィ研究会・第 22 回釧路ニューロサイエンスワークショップ合同学術集会、釧路、2023 年 6 月.
13. 鬼頭伸輔：広がるうつ病治療の選択肢：NCNP での取り組み. NCNP 精神科セミナー. 2023 年 7 月.
14. 鬼頭伸輔：うつ病へのニューロモデュレーション療法と最新のトピックス. 第 460 回国際治療談話会例会、オンライン講演、2023 年 7 月.
15. 鬼頭伸輔：適正使用指針と保険診療. 第 9 回反復経頭蓋磁気刺激（rTMS）講習会、オンライン、2023 年 7 月.
16. 野田隆政:精神科領域における新医薬品・医療機器開発の現状と課題 中枢神経領域における新医薬品・医療機器の開発を促進するために ～精神科領域、脳神経内科領域の連携も含めて～.第 53 回日本神経精神薬理学会年会、東京、2023 年 09 月
17. 野田隆政:発達障害の小児期から成人期への移行期（トランジション）を考える.第 10 回成人発達障害支援学会横浜学会、横浜、2023 年 10 月
18. 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 18 回 ECT 講習会、東京、2023 年 9 月
19. 鬼頭伸輔：うつ病へのニューロモデュレーション療法：維持 rTMS 療法、磁気けいれん療法. 第 53 回日本臨床神経生理学会学術大会、福岡、2023 年 12 月.

20. 野田隆政:令和5年度難治性精神疾患地域支援体制構築事業による難治性精神疾患研修開催(2023年8~2024年2月)および相談窓口開設(通年)
21. Kishi T, Sakuma K, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for mania: A systematic review and meta-analysis. *Bipolar Disord* 25: 160-161, 2023.
22. Matsuda Y, Sakuma K, Kishi T, Esaki K, Kito S, Shigeta M, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for preventing relapse in antidepressant treatment-resistant depression: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Brain Stimul* 16: 458-461, 2023.
23. 鬼頭伸輔: うつ病への反復経頭蓋磁気刺激療法と最新のトピックス. *日本ステイミュレーションセラピー学会誌* 4: 11-17, 2023.
24. Kishi T, Ikuta T, Sakuma K, Hatano M, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Repetitive transcranial magnetic stimulation for bipolar depression: A systematic review and pairwise and network meta-analysis. *Mol Psychiatry* (in press).
25. Yamazaki R, Ohbe H, Matsuda Y, Kito S, Shigeta M, Morita K, Matsui H, Fushimi K, Yasunaga H: Effectiveness of medical fee revisions for psychotropic polypharmacy in patients with mood disorders in Japan: An interrupted time-series analysis using a nationwide inpatient database. *Asian J Psychiatr* 84: 103581, 2023.
26. 鬼頭伸輔: ニューロモデュレーションとプラセボ効果. *臨床精神薬理* 26: 845-850, 2023.
27. Yamazaki R, Matsuda Y, Oba M, Oi H, Kito S: Maintenance repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) therapy for treatment-resistant depression: A study protocol of a multisite, prospective, non-randomized longitudinal study. *BMC Psychiatry* 23: 437, 2023.
28. Kishi T, Sakuma K, Matsuda Y, Kito S, Iwata N: Intermittent theta burst stimulation vs. high-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation for major depressive disorder: A systematic review and meta-analysis. *Psychiatry Res* 328: 115452, 2023.
29. Ito A, Hiyoshi F, Kanie A, Maruyama A, Oba MS, Kito S: Feasibility study of virtual reality-based cognitive

behavioral therapy for patients with depression: Protocol for an open trial and therapeutic intervention. *JMIR Res Protoc* 12: e49698, 2023.

30. Noda Y, Miyashita C, Komatsu Y, Kito S, Mimura M: Cost-effectiveness analysis comparing repetitive transcranial magnetic stimulation therapy with antidepressant treatment in patients with treatment-resistant depression in Japan. *Psychiatry Res* 330: 115573, 2023.
31. 鬼頭伸輔: 反復経頭蓋磁気刺激 (rTMS) の普及と課題. *心と社会* 194: 125-131.
32. Hayashi D, Igarashi S, Yamazaki R, Matsuda Y, Inagawa T, Kawakami Y, Okita K, Noda T, Sumiyoshi T, Kito S: Magnetic seizure therapy for depression in the very elderly: A report of two patients in their 80s. *Asian J Psychiatr* 90: 103806, 2023.
33. 鬼頭伸輔: プラセボ効果をハンドリングする (巻頭言). *日本ステイミュレーションセラピー学会誌* 5 (in press).
34. 反復経頭蓋磁気刺激 (rTMS) 適正使用指針改訂版 (日本精神神経学会 2023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機序解明と臨床応用

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

緒言】

脳神経疾患においては薬物療法を補完する治療法としてニューロモデュレーションが脚光を浴びている。本研究では下記の課題について治療効果を検証してエビデンスを創出する。
①パーキンソン病(PD)のうつ・不安症状に対する rTMS・iTBS の効果と運動症状に与える影響②神経変性疾患における歩行障害のリズム分析と音楽療法による介入。特に本年度は項目②に関して重点的に研究を実施し、脊髄小脳変性症(SCD)の歩行リズム障害の特性を分析し、それを活用した音楽療法の開発に着手した。

【方法】

SCD 患者9名および正常対照11名に対してウェアラブルデバイスにより歩行リズムデータを取得した。隣接2ステップの歩行時間の比あるいはその逆数を計測してその分布を検討した。さらに、各自の歩行リズムの最頻値を明らかにして、そのリズムに合わせた音楽療法を考案した。SCD 患者4名において音楽療法を実施し、前後の歩行リズムデータを取得して分析を進めた。

【結果】

SCD の歩行リズム分析を進め、歩行リズム比の分布がフラクタル性を反映した Power-law

則と対数正規分布の線形結合で表現されることを明らかにした。

$$y = ax^{-b} + \frac{1-a}{2} \operatorname{erfc}\left(\frac{\log x - \mu}{\sqrt{2}\sigma}\right),$$

さらに、運動失調症状により歩行リズムのフラクタル性が崩れること、また Power-law 則のべき乗のパラメーターが、SCD 患者において正常対照よりも有意に低値を示すことを見出した。

現在論文投稿中である。音楽療法の分析においては、心理面においては好影響を及ぼすものの、実際の歩行リズムについてはむしろフラクタル性が低下する傾向が認められた。

【考察】

本研究で歩行リズムの新たな特性を明らかにして SCD 患者における歩行フラクタル性の減少を見出した。Power-law 項におけるべき乗値は、SCD の有用な臨床指標になり得る可能性が示唆された。今後重症度や他の臨床指標との相関を明らかにすると共に、疾患特異性についても検討する。さらに、音楽療法の介入によるフラクタル性の変化を追求するとともに、治療最適化を目指した検討を継続する。

【結論】

SCD における歩行リズムの分布特性を分析することにより、SCD の新たな臨床評価指標を確立出来る可能性がある。

【参考文献】

なし。

<分担課題名>

難治性不随意運動症に対する脳神経外科ニューロモジュレーションのエビデンス創出

研究分担者：

木村唯子，岩崎真樹

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経外科

【諸言】

脳深部刺激療法（DBS）はパーキンソン病、ジストニア、振戦といった不随意運動症に適応がありその有効性は確立されている。一方、難治性トゥレット症候群に生じる重度チックに対しても DBS の効果が知られているが、その長期的有効性や安全性はまだ十分に明らかになっていない。トゥレット症候群は DSM-V で神経発達症群に分類され、強迫性障害（チック関連）を合併することも多い。自然寛解の可能性や、精神症状への影響などから、手術リスクと効果を十分考慮した慎重な手術適応が求められる。本研究では、難治性トゥレット症候群に対する DBS の効果を明らかにし、その適応基準の標準化を目指す。

重度のトゥレット症候群では、チックや不随意運動症による外傷や、通学就労が妨げられるなど生活に多大な支障をきたしている症例も多い。本研究の成果によって適切な DBS 治療が確立することで、患者の身体損傷のリスクが減り、社会進出が進むなど大きな意義が期待される。また、将来的にうつ、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。

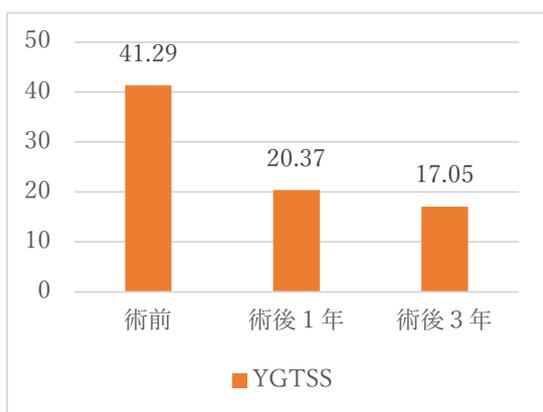
DBS 非実施群との比較により自然経過、予後予測因子を探る。精神科との連携を図り、衝動性など精神的要素に対する効果も検討する。

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 2023 年度は、トゥレット症候群に対する DBS 10 件、パーキンソン病に対する DBS 13 件、本態性振戦に対する DBS 1 件、ジストニアに対する DBS 4 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。

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。また、岩崎と木村は定位・機能神経外科ガイドライン第4版 (一般社団法人日本定位・機能神経外科学会) の編集委員となり、治療抵抗性抑うつと強迫性神経症に対する脳深部刺激療法の記載を担当した。

【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、24 例の登録を行った。現在、米国では HDE

(humanitarian device exemption) の枠組みで限られた施設で本治療が実施されているが、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掲載を目指す。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. 重度かつ難治のトゥレット症候群に対する脳深部刺激療法の効果に関与する因子. *機能的脳神経外科* 61(2022)97-102.

<分担研究課題>Hybrid Assistive Limb を用いた neuromodulation の効果の可視化に関する研究

分担研究者:松井彩乃 国立精神・神経医療研究センター病院 総合外科部整形外科医長

【はじめに】ロボットスーツ HAL (Hybrid Assistive Limb) 両下肢タイプ (サイバーダイナ社, 日本) は患者の生体電位信号を読み取って解析し, 円滑な歩行動作となるよう下肢の動作をアシストする装着型ロボットである。2024年1月1日現在, 計10疾患に保険適応が認められており, 臨床の場で使用することが可能である。

封入体筋炎は筋肉に慢性的な炎症が生じ, 四肢体幹筋力が低下して活動性を制限する疾患で, 典型的には骨格筋細胞内に縁取り空砲と呼ばれる封入体を形成する。発症から数年で歩行補助具が必要となり, 有効な薬物療法は確立されていない。封入体筋炎は HAL による歩行運動処置が保険適応となっている疾患の一つで, 歩行機能の改善効果が期待されている。

今回我々は封入体筋炎患者4名にHALによる歩行運動処置を実施し歩行機能の改善を見た。

【対象と方法】対象者は封入体筋炎で, 通常の保険診療としてHALを実施した患者4名で, いずれも研究参加に際し文書による同意を得た。HAL トレーニングは, 転倒防止装置としてオールインワン歩行器 (サイバーダイナ社, 日本) による吊り下げを行った上で, HAL を装着し, 生体電位信号を下肢に貼付した電極から読み取り, 下肢が軽

く上がるように関節トルクを設定して下肢の振り出し, 立脚動作にスムーズに追従するよう調整した。1日1時間 (装着時間20分を含む) を1回として, 4~9回のトレーニングを2~3週かけて実施した。そのほかのリハビリテーションは実施しなかった。HAL トレーニング前後での歩行機能評価として10m歩行速度, 10m歩行歩数, ケイデンス, 歩幅の計測, 2分間歩行テストを実施した。運動負荷量のモニタリングのため, 血清CPK値をトレーニング実施前後で計測した。結果をt検定にて評価した。

【結果】対象患者は4名, 男性3名女性1名, 平均年齢は59.3歳, 平均Berthel Indexの平均値は76.3であった。2名は自力での起立動作不可能で2名はつかまっても立ち上がる事が出来た。HAL 実施回数は4回から9回 (平均7.2回) であった。皮膚トラブルや転倒, 筋肉痛などの顕著な有害事象はなく運動実施され, CPK値が上昇した患者はいなかった。

歩行パラメータでは2分間歩行テストにて歩行距離が55.9±17.7mから65.6±22.7mに延長した (P<0.05)。また10m歩行テストによる歩数は32.3±6.9歩から28.0±7.3歩に減少し (P<0.05), 歩行スピードは時速1.5±0.4km/hour から1.7±0.6km/hour に増加した (P<0.05)。

【考察】Nakajima らは神経筋疾患に対しHAL トレーニングを行い2分間歩行テストで10%の歩行距離改善が得られることを報告した⁽¹⁾。この報告には封入体筋炎1例が含まれている。Suzuki らは封入体筋炎の3例にHALを8クール実施し, 2分間歩行距離及び6分間歩行距離において改善が得られたことを報告した⁽²⁾。本研究の結果と合

致しており，本研究では CPK 値にて運動負荷量の適正をモニタリングしながら引き続き症例数を増やし，また歩行動画の解析などの視覚的評価を加えながら封入体筋炎に対する HAL の安全性，有効性，継続的効果などを検証していく。

1. 1. Nakajima T, Sankai Y, Takata S, Kobayashi Y, Ando Y, Nakagawa M, et al. Cybernic treatment with wearable cyborg Hybrid Assistive Limb (HAL) improves ambulatory function in patients with slowly progressive rare neuromuscular diseases: a multicentre, randomised, controlled crossover trial for efficacy and safety (NCY-3001). *Orphanet J Rare Dis.* 2021;16(1):304.
2. 2. Suzuki N, Soga T, Izumi R, Toyoshima M, Shibasaki M, Sato I, et al. Hybrid Assistive Limb(R) for sporadic inclusion body myositis: A case series. *J Clin Neurosci.* 2020;81:92-4.

<分担課題名>経頭蓋直流刺激の精神疾患治療における有用性に関する研究

分担研究者

所属 国立精神・神経医療研究センター
精神保健研究所 児童・予防精神医学研究部

職名 部長 氏名 住吉 太幹

【緒言】

経頭蓋直流電気刺激 (tDCS) とは、頭皮上に置いた電極から 1-2mA 程度の微弱な電流を流すことで脳の神経活動を修飾する、簡便で低侵襲な電気刺激法である。主として左前頭部への陽性刺激でうつ病や統合失調症の幻聴・陰性症状に対する改善効果が報告されている。われわれはこれまで、統合失調症の認知機能障害に対する左背外側前頭前野 (DLPFC) 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。また、社会認知の神経基盤をなす前頭前野-上側頭回-扁桃体からなる脳内神経ネットワークに注目し、左側上側頭回/溝(STS)をターゲットとした tDCS 陽極刺激が、社会認知機能 (心の理論など) を改善することを国内外で初めて報告した。以上の知見に基づき今回は、tDCS の陽極設置部位により認知機能及び社会機能の改善効果がどのように異なるか検証した。

【方法】

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 NCNP 臨床研究審査委員会の承認を得て、参加者全員から書面による同意を取得して行った。左側 DLPFC および左側 STS の刺激には、それぞれ陽極電極を F3 あるいは T3 に設置し、5 日間で 10 回の 2 mA 刺激を行った (Narita et al. 2017; Yamada et al, 2021)。神経認知機能の評価には Brief Assessment of Cognition in

Schizophrenia (BACS)(Kaneda, Sumiyoshi et al. 2007)を、社会認知機能の評価には、Social Cognition Screening Questionnaire (SCSQ) (Kanie et al 2014), Facial Emotion Selection Test (FEST)(Hagiya, Sumiyoshi et al 2015)を用いた。また、日常生活技能の評価には UCSD Performance-based Skills Assessment - Brief(UPSA-B)(Sumiyoshi et al. 2014)を使用した。

【結果】

左側 DLPFC の陽極刺激:28 名、左側 STS 刺激: 15 名のデータを解析対象とした。

UPSA-B 成績は左側 DLPFC への陽極刺激で有意に改善した ($d = 0.70, p < 0.001$)。一方、STS ($d = 0.02, p = 0.939$)への同刺激では改善を認めなかった。BACS 成績については、左側 DLPFC への陽極刺激で有意な改善を認めた ($d = 0.49, p < 0.001$)。一方、左側 STS への刺激ではそのような効果は認めなかった ($d = 0.05, p = 0.646$)。

【結論】

上位の機能的転帰である日常生活技能(機能的な能力)の向上には、特に左側 DLPFC への tDCS 陽極刺激が有用であることが示唆された。以上より、統合失調症患者の臨床症状に応じて、tDCS の陽極刺激を実施する脳領域を選択することが有効である可能性が示された。

【参考文献】

1. Yamada Y, Narita Z, Inagawa T, Yokoi Y, Hirabayashi N, Shirama A, Sueyoshi K, Sumiyoshi T: Electrode montage for transcranial direct current stimulation governs its effect on symptoms and functionality in schizophrenia: *Front Psychiatry* doi:10.3389/fpsyt.2023.1243859
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.

<分担研究課題>疾患横断的なニューロモジュレーション効果の評価系確立

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 病院において感覚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、IBIC と関連して、筋シナジーの脊髄内表現、また感覚ゲーティングの脳内機構に関するヒトとサル両方を用いた研究を行った。具体的には、ヒトにおける脊髄および延髄の fMRI 撮像プロトコルを決定し、サル実験と比較対象なレベルまで撮像精度を向上させた。さらにその成果を発表する第一回ジョイントミ

ーティングを教育研修棟で行い、3名の発表者の進捗発表と議論を行った。また整形外科と共同で、実験動物における腱移植モデル作成について、投稿論文の洗練化を行った。具体的にはヒト患者の知見をもとにデータを解釈することによって、中枢神経系の適応過程、筋シナジー変化プロセスがより詳細に説明できるようになった。さらに、ヒトの患者を対象とした研究も進捗し、キネマティクスや筋電図と脊髄活動の変化との間に興味深い連関が観察できた。

今後の展望

IBIC との筋シナジーや感覚ゲーティングに関する共同研究を推進するとともに、整形外科との共同研究の論文化を行う。今年度の大きな共同研究の進捗の勢いを失うことなく、次年度の目標達成を目指す。さらに前年度は進捗のなかった脳外科との ECOG 電極を用いた共同研究を進めてゆく。

研究発表

1. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki (2023). Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. *Cell Reports*, 7 March 2024, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113884>
2. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki (2023). Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. *Nature Communications*, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
3. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuo Tomioka (2023). Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. *PLOS ONE*,

June 9, 2023,

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>

4. 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>脳波ブレイン・マシン・インターフェイス技術を用いた運動想起学習の神経基盤の同定

分担研究者 阿部 十也

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

緒言

本研究班の目的は、運動麻痺患者のブレイン・マシン・インターフェイス (Brain-Machine Interface, 以下 BMI) 治療法開発の前段階としてその神経基盤の解明を行う。

脳と機械を直接連結させ、脳神経活動情報を使用して、機械を操作する技術を BMI と呼ぶ。運動を想起させることで運動関連領域直上に出現する 7~13Hz の μ 波を用いる。この μ 波は随意に調整でき、この手法を利用した BMI 操作が主流である。

先行研究では μ 波を調整する大脳神経回路が調べられている。しかし、患者研究の知見から大脳だけでなく、脊髄神経活動が μ 波調整に関わっていると我々は仮説を立て研究を進めた。

また、BMI 技術の最大の問題は、 μ 波の調整能力に上手い下手がある。脊髄損傷患者や脳卒中片麻痺患者は μ 波操作能力が低下している。また、健常者でも μ 波操作能力に上手い下手があることから健常者を対象に運動想起時の μ 波操作能力に着目し、操作能力の違いが脊髄神経活動だけで説明できることを検証した。

方法

我々は脳脊髄神経活動を計測する技術と解析方法を有している (Takasawa and Abe et al.,

2022 Communications Biology)。

手指開閉運動の実行およびその想起実施中に脳脊髄 fMRI および脳波を同時測定した。現在 20 名のデータを収集している。脳波データは時系列脳波データから運動関連領域の電極である C3 と C4 (10-20 法) から α 、 β 周波数帯域のパワー値を算出し、その変動と相関する脊髄神経活動の解析を行なった。

結果

右手運動想起中に運動前野および補足運動野、頭頂葉の活動が認められた。脊髄は手指運動の髄節レベルである C6-7 レベルの右側前角および後角に活動が認められた (図 1 左)。脳波との相関では、運動想起時の μ 波のパワー値減衰に伴って、C6-7 レベルの右側前角および後角の活動が認められた (図 1 右)。安静時から課題時に μ 波減衰の変化率は脊髄後角の神経活動と正相関が認められた (図 2)。



結論

- ・運動想起中に大脳皮質だけでなく、脊髄神経活動も認められた。
- ・運動想起中に μ 波のパワー値減衰に伴って脊髄神経活動が増加することが認められた。
- ・ μ 波変化率が大きいほど (μ 波操作が上手い)、脊髄神経活動が大きく、小さいほど (μ 波操作が下手)、脊髄神経活動が小さいことが示唆された。

今後の展望

今後は μ 波操作が下手な人に対して抹消感覚刺激を実施することで μ 波操作能力向上を目指して研究を実施していく。

参考文献

Eiji Takasawa †, Mitsunari Abe †*, Hirota 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について他機関の生命倫理研究者と情報交換を行い、検討した。また、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研究会を他機関の研究者らと共同開催し、課題について意見交換・検討した
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発展に伴う ELSI について、シンポジウム及び研究会を他機関と共同企画した。ニューロテクノロジーを臨床応用するための法整備について、「神経法学」という新しい学問分野の構築に取り組んでいることや、当該技術について、文化的、道徳的個人特性に基づく懸念の方向性等の調査結果が共有された。
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、個人情報の取扱いがあげられた。

考察

ニューロモデュレーション技術の研究や臨床応用について生命倫理の課題は未だ議論がされつくしてはいない。法整備に必要な法学的な学問の構築や、社会とのコミュニケーションも十分とは言えない状況であると言える。

研究の文脈においては、他の技術と同様に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ないと考ええる。研究と医療の混同という問題もある。

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ーとの情報共有等にも努めていく必要があるだろう。

また、ニューロテクノロジーの臨床応用について、文化が異なる地域・国によって懸念の傾向が異なることが報告されているが、日本国内においては明らかになっていない為、今後調査が必要であろう。

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。

5-3 Establish the foundation for the elucidation of neuromodulation mechanisms focusing on the Functional reconstruction of cognitive and physical functions, and towards clinical applications

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

For neurological and psychiatric disorders, a wide range of neuromodulation (NM) techniques are being clinically applied, including transcranial magnetic stimulation (TMS), transcranial direct current stimulation (tDCS), brain-machine interfaces (BMI), functional electrical stimulation (FES) of peripheral nerves, electroconvulsive therapy (ECT), deep brain stimulation (DBS) for neurological disorders, and spinal cord stimulation (SCS). Additionally, methods that induce brain plasticity from the bottom up, such as prism therapy and botulinum therapy, are widely used in the rehabilitation field. While these methods have specific indications and applications set for individual diseases, they are reported not only to improve specific disorders one-to-one but also to have spill-over effects improving other disabilities through the process of inducing brain plasticity. Therefore, this study focuses on the rehabilitation of cognitive and physical functions, investigating the mechanisms of improvement and the advancement of treatment techniques using these NM methods. Furthermore, by coordinating between hospitals and research institutions, we aim to develop a research foundation that allows for the seamless development and clinical application of new treatments.

1. Establishment of neuromodulation focusing on functional reconstruction for neurological diseases

For disorders related to physical function, it is hypothesized that a greater improvement in function can be expected by focusing on functional reconstruction of the upper limbs and gait reconstruction, and by combining top-down NM and bottom-up NM. However, its effectiveness has never been verified. We investigated the establishment of rehabilitation treatment combining NM for functional impairment in neurological diseases. In order to implement rTMS for higher brain dysfunction, we considered ethical aspects and building an implementation system based on past research data. We investigated the effects and tolerability of rTMS on apathy in neurological diseases, and conducted a systematic review of past reports. According to

this study, it was shown to be effective against AD, PPA, MCI, and stroke. In the future, it is thought that it will be necessary to demonstrate this in Japan as well, while simultaneously measuring changes in brain activity and elucidating the effect mechanism.

We developed an orthosis for children with a custom-made hydraulic damper to treat gait disorders that occur after surgery for intractable epilepsy. Regarding intractable epilepsy, rehabilitation methods for upper limb dysfunction and gait disorders due to postoperative paralysis have not been established. We are supposed to create an orthosis equipped with a hydraulic damper and consider its practical use depending on the case. It was also considered necessary to compile the progress of functional disorders after surgery for general intractable epilepsy.

In addition, in order to elucidate the mechanism of these NM techniques, we conducted an effort to image the activation using fMRI in the spinal cord during lower limb movement.

2. Clinical application of neuromodulation to neuropsychiatric disorders and development of new treatments

Psychiatric disorders present with a wide range of functional impairments and cause significant suffering to patients. Even with standard treatments such as drug therapy and psychotherapy, the symptoms persist and treatment becomes difficult. In this shared research project, we developed a new treatment method using neuromodulation for depression, bipolar disorder, obsessive-compulsive disorder, and schizophrenia. New neuromodulation developments such as magnetoconvulsive therapy (MST), accelerated intermittent theta burst stimulation (aiTBS), and deep TMS (dTMS) were exploratorily evaluated for efficacy and safety at iPNT-UB. Data collection continued for EASyS-BD and mTMS-D, and efficacy and safety were evaluated. We will conduct a meta-analysis on rTMS and TBS in collaboration with other institutions. Additionally, iPNT-UB, EASyS-BD, and mTMS-D were all approved by a certified clinical research review board. In iPNT-UB, a total of 22 cases of depression and 3 cases of obsessive-compulsive disorder were enrolled. We performed MST on two depressed patients in their 80s and reported its efficacy and safety. A total of 32 patients were enrolled in EASyS-BD. A total of 29 patients were enrolled in mTMS-D. He also submitted a protocol paper. We conducted a meta-analysis on rTMS and TBS, and 4 papers were accepted as papers.

3. Creation of evidence for neuromodulation in cranial nerve diseases

For cranial nerve diseases, neuromodulation is attracting attention as a treatment method that complements drug therapy. In this study, we verified the therapeutic effects and create evidence for the following issues. ① Effects of rTMS/iTBS on depression and anxiety symptoms of Parkinson's disease (PD) and their influence on motor symptoms ② Rhythm analysis of gait disorders in neurodegenerative diseases and intervention using music therapy. This year, in particular, we focused our research on item 2, analyzed the characteristics of gait rhythm disturbances in spinocerebellar degeneration (SCD), and began developing music therapy that utilizes the characteristics. We proceeded with gait rhythm analysis of SCD and clarified that the distribution of gait rhythm ratio is expressed by a linear combination of the Power-law law reflecting fractal nature and the log-normal distribution. Furthermore, we found that the fractal nature of the gait rhythm is disrupted by ataxic symptoms, and that the power-law parameter of the Power-law law was significantly lower in SCD patients than in normal controls. In this study, we revealed new characteristics of gait rhythm and found a decrease in gait fractality in SCD patients. It was suggested that the power value in the power-law term could be a useful clinical index for SCD. In the future, we will clarify the correlation with severity and other clinical indicators, and also examine disease specificity. Furthermore, we will continue to pursue fractal changes through music therapy intervention and continue studies aimed at optimizing treatment.

4. Creation of evidence for neurosurgical neuromodulation for intractable involuntary movement disorders

Deep brain stimulation (DBS) is indicated for involuntary movement disorders such as Parkinson's disease, dystonia, and tremor, and its effectiveness has been established. On the other hand, DBS is also known to be effective for severe tics that occur in refractory Tourette syndrome, but its long-term efficacy and safety have not yet been fully clarified. Tourette syndrome is classified as a neurodevelopmental disorder in the DSM-V, and is often accompanied by obsessive-compulsive disorder (tic-related). Due to the possibility of spontaneous remission and the impact on psychiatric symptoms, careful surgical adaptation is required, with sufficient consideration of surgical risks and effects. In this study, we clarified the effectiveness of DBS for refractory Tourette syndrome and considered standardization of its adaptation criteria.

From 2020 to 2023, 10 DBS for Tourette syndrome, 13 DBS for Parkinson's disease, 1 DBS for essential tremor, and 4 DBS for dystonia were performed. To date, DBS has been performed for 39 consecutive cases of Tourette syndrome at our hospital. With DBS, YGTSS decreased by an average of 50.6% after 1 year and by 58.7% at 3 years after surgery, which was a significant improvement compared to before surgery. On the other hand, device infections occurred in 10.2% of cases. We will use the results of this research to approach academic societies and aim to include them in guidelines in the future. When it comes to insurance inclusion and revision, new evidence and positioning in guidelines are becoming more important.

5. Research on visualization of neuromodulation effects using hybrid assistive limbs

The robot suit HAL (Hybrid Assistive Limb) dual-limbed type (Cyberdyne Corporation) is a wearable robot that reads and analyzes the patient's bioelectrical potential signals and assists the movement of the lower limbs to achieve smooth walking movements. As of January 1, 2024, insurance coverage has been approved for a total of 10 diseases, and it can now be used in medical settings. Inclusion body myositis (IBM) is one of the diseases for which walking exercise treatment using HAL is covered by insurance, and it is expected to be effective in improving walking function. In this study, we performed walking exercise therapy using HAL on patients with IBM and observed improvements in walking function. Regarding gait parameters, walking distance increased from 55.9 ± 17.7 m to 65.6 ± 22.7 m in the 2-minute walk test ($P < 0.05$). Furthermore, the number of steps in the 10-meter walk test decreased from 32.3 ± 6.9 steps to 28.0 ± 7.3 steps ($P < 0.05$), and walking speed increased from 1.5 ± 0.4 km/h to 1.7 ± 0.6 km/h ($P < 0.05$).

The results of this study are consistent with past reports, and in this study, we increased the number of cases while monitoring the appropriateness of exercise load using CPK values, and added visual evaluation such as analysis of walking videos. We will verify the safety, efficacy, and sustained effects of HAL on IBM.

6. Research on the usefulness of transcranial direct current stimulation in the treatment of mental disorders

Transcranial direct current stimulation (tDCS) is a simple and minimally invasive electrical stimulation method that modifies neural activity in the brain by passing a weak current of about 1-2 mA through electrodes placed on the scalp. It has been

reported that positive stimulation, mainly to the left frontal region, can improve auditory hallucinations and negative symptoms of depression and schizophrenia. We have previously confirmed that tDCS to the left dorsolateral prefrontal cortex (DLPFC) improves positive symptoms, motor function, verbal memory, and verbal fluency for cognitive dysfunction in schizophrenia.

We also focused on the neural network in the brain consisting of the prefrontal cortex, superior temporal gyrus, and amygdala, which forms the neural basis of social cognition. And we reported that tDCS anodal stimulation targeting the left superior temporal gyrus/sulcus improved social cognitive function.

Based on the above findings, this time we examined how the improvement effects on cognitive and social functions differ depending on the location of the anode of tDCS.

Our results suggest that tDCS anodal stimulation of the left DLPFC is especially useful for improving daily living skills (functional abilities). The above results indicate that it may be effective to select brain regions for anodal stimulation with tDCS depending on the clinical symptoms of schizophrenia patients.

7. Establishment of an evaluation system for cross-disease neuromodulation effects

The purpose of this research team is to provide technical support for analyzing muscle synergy in patients with different types of sensorimotor abnormalities at NCNP Hospital. We will establish quantitative evaluation of movement abnormalities across diseases and further support the development of new treatment methods using muscle synergy feedback. We mainly use a method to extrapolate experimental results from macaque monkeys, a species closely related to humans, to humans. This research group has developed a technique for analyzing muscle synergy during various types of exercise in macaque monkeys, and has reported on its neural basis. We have also completed the development of technology and equipment to apply the above analysis to humans. Against this background, we have been preparing to introduce this analysis to NCNP Hospital in collaboration with physical rehabilitation, orthopedics, and neurosurgery departments. We determined an fMRI imaging protocol for the spinal cord and medulla oblongata in humans, and improved the imaging accuracy to a level comparable to monkey experiments. We refined the submitted paper regarding the creation of a tendon transplant model in experimental animals. Specifically, by interpreting data based on findings from human patients, it has become possible to explain in more detail the adaptation process of the central nervous system and the process of muscle synergy change. Furthermore, progress has been made in research on

human patients, and an interesting relationship has been observed between kinematics, electromyography, and changes in spinal cord activity. In the future, we will promote joint research with IBIC on muscle synergy and sensory gating, as well as publish joint research with orthopedics.

8. Identification of the neural basis of motor recall learning using EEG brain-machine interface technology

As a preliminary step to developing a Brain-Machine Interface (BMI) treatment for patients with motor paralysis, we elucidated its neural basis. Previous research has investigated the cerebral neural circuits that regulate μ waves. However, based on findings from patient studies, we hypothesized that not only the cerebrum cortex, but also spinal nerve activity is involved in μ -wave regulation and proceeded with our research. The biggest problem with BMI technology is that it has both good and bad ability to adjust μ waves. Spinal cord injury patients and stroke hemiplegia patients have a decreased ability to manipulate μ -waves. In addition, since even healthy people have good and bad μ -wave manipulation abilities, we focused on the μ -wave manipulation ability of healthy people during motor recall and verified that differences in manipulation ability could be explained solely by spinal nerve activity. During motor recall, not only cerebral cortex but also spinal cord neural activity was observed. During motor recall, spinal nerve activity was observed to increase as the power value of the μ -wave attenuated. It was suggested that the larger the μ -wave change rate (better μ -wave manipulation), the greater the spinal nerve activity, and the smaller the μ -wave change rate (lower μ -wave manipulation), the lower the spinal nerve activity.

9. Consideration of ethical issues and ethical support in neuromodulation treatment and research

To promote neuromodulation treatment and clinical research, it is essential to establish a clinical and research support system. However, the clarification of ethical issues in this field and the support system for research ethics have not been sufficiently examined. Therefore, in this shared research, we exchanged information with bioethics researchers from other institutions and discussed bioethical issues in neuromodulation treatment and research.

Additionally, a point of contact for clinical and research ethics support for specific treatments and research has been established, and a system has been established to

provide advice. It cannot be said that there is sufficient prior research on bioethics issues specific to neuromodulation, so while continuing to research the literature, we are working to collect information and share information with the community at related academic conferences and international conferences.

Additionally, it has been reported that concerns about the clinical application of neurotechnology vary depending on the region and country with different culture, but this is not clear in Japan, so future research will be necessary. Although support is provided from the ethical aspects of research through the Bioethics Office and the Clinical Research Consultation Desk, there is almost no consultation specific to neuromodulation research. Therefore, we should move forward as soon as possible to collaborate with other organizations and share information.

5-4 脳構成細胞の解析技術の基盤構築に基づく神経変性・修復機構の解明研究
主任研究者 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 部長 村松 里衣子

総括研究報告

1. 研究目的

超高齢化社会を迎える我が国において、持続可能な社会を実現するために、神経疾患の治療法や予防法の開発は重要な課題である。近年の科学技術の革新に伴い、シングルセルレベルでの網羅的遺伝子発現の解析や空間的な遺伝子発現解析等、疾患と関連するビッグデータの取得が進められている。それらのデータの解析手法にも一定の見解が得られ、従来からの仮説駆動型の研究の成果を強化するとともに、データ駆動型研究も推進されている。しかし、このような解析技術は未だ開発が続いており、専門性の高い情報学や工学研究者との連携が、基礎医学の知見を最大化するために有効と考えられる。本開発費では、ビッグデータを活用した神経疾患の病態解明研究を革新するために、疾患基礎研究者と情報学および工学の研究者との持続可能な連携を構築することを目的とする。特に、アルツハイマー型認知症等での神経変性および神経組織の修復を対象として、特定の標的細胞に限らないアンバイアスな解析を機能未知の分子を含め網羅的検討し、候補分子の機能評価のためのマイクロ流体デバイス等を用いた技術開発とその活用を通じて、神経疾患の病態形成において真に重要なメカニズムの発見につなげる。

2. 研究組織

<主任研究者>

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)

<分担研究者>

橋本 唯史 (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)

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部)

川内 大輔 (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)

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)

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)

阿部 十也 (国立精神・神経医療研究センター病院 病態統合イメージングセンター)

関島 良樹 (信州大学 脳神経内科)

加藤 有己 (大阪大学大学院 医学系研究科)

松永 行子 (東京大学生産技術研究所)

<研究協力者>

飯島 圭哉 (国立精神・神経医療研究センター病院 脳神経外科)

3. 研究成果

本研究班では、1) 神経変性および修復に関連するビッグデータの取得とその解析技術の共有と効率化、2) 新規のデータ取得技術の開発、3) 病態解明研究についての検討を実施している。今年度、橋本らはアルツハイマー病患者由来検体を用いて similarity network fusion (SNF)解析を行い、APOE e4/e4 のサブ

グループがあることを見出し、APOE e4 キャリア脳では A β 蓄積が促進している可能性を示唆した。また、新規アミロイド斑形成モデルマウスを作出し A β 蓄積依存的な遺伝子変動を検出した。青木は筋萎縮性側索硬化症モデルである SOD1-G93A マウスを用いて、腓腹筋の萎縮期を同定し、同時期における分子発現を検討した。川内らは悪性度の高い成人グリオーマにおいて新規の腫瘍標的機構である「腫瘍とシナプスを形成する抑制性ニューロン」に関する研究を実施した。林は金疾患における線維化原因細胞の同定のために snRNAseq を行い、有望なクラスターを見出した。岩崎・飯島は、てんかん原性病変における遺伝子発現解析を行い、複数の原因遺伝子とまれな遺伝子異常を検出した。さらに村松らとともに手術脳検体からヒトオリゴデンドロサイトの分離実験を行い、遺伝子発現を解析している。阿部は認知症コホート研究のデータから、アルツハイマー病とパーキンソン病の混合病理スペクトラムを観察し、同病理を有する症例における認知機能の特徴付けを行った。関島は ATTR アミロイドーシスおよび非アミロイドーシス患者において TTR C 末フラグメントの凝集体に対する自己抗体を検出し、アミロイドーシスの発症あるいはその予防に関与する可能性を考察している。加藤は村松とともに、肺機能の異常と脳機能異常の相関を機械学習により検出する手法を作成している。松永は村松と共同で、オリゴデンドロサイトのまきつきの評価に活用しうるデバイスの作成を実施した。

分担研究報告書

アルツハイマー病及びモデルマウス脳を用いたマルチオミクス解析と病態形成機序の解析

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第四部
分担研究者 橋本唯史

緒言

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) は初老期に発症し、認知症を呈する進行性の神経変性疾患である。AD 患者脳には線維化した amyloid b peptide (Ab)がニューロピルに老人斑として、また血管周囲腔に cerebral amyloid angiopathy (CAA)として蓄積することが病理学的特徴であり、近年抗 Ab 抗体を用いて蓄積した Ab を除去する Ab ワクチン療法が開発され、臨床試験において軽度認知症患者の認知機能低下を軽減したことから、Ab 蓄積は AD の有効な治療標的であると考えられている。しかし、AD の大多数を占める孤発性 AD において、どのような脳内要因が Ab 蓄積に影響を与えるのか、さらに Ab 蓄積がどのようにして神経変性を招来するのかその機序は明らかではなく、AD 治療開発の障害となってきた。

そこで本研究では AD 患者脳において Ab 蓄積の要因を明らかにするため、(I) AD 患者脳から得られたマルチオミクス解析を行い、AD 患者脳を層別化することで、サブグループごとの Ab 蓄積要因を明らかにする。また、分担研究者これまでに同定した Ab 蓄積の蓄積核として働く Ab 分子種の接種実験を行うことで、(II) 老人斑誘導マウスモデル、あるいは CAA 誘導マウスモデルを開発し、Ab 蓄積がどのように脳構成細胞を変容させ、神経

変性を引き起こすか明らかにする。

方法

(I) AD 患者脳の similarity network fusion を用いたマルチオミクス解析による層別化
単一の AD 患者脳より gene-chip 解析、DNA methylation、histone acetylation、RNA-seq の各データを取得し、similarity network fusion 解析を行うことで AD 脳を層別化する。各サブグループを特徴づける要因を抽出し、Ab タウ伝播モデル実験系で評価する。

(II) 病因タンパク質伝播モデルを用いた時間依存的な脳構成細胞の変容解析

AD 患者脳、あるいは APP トランスジェニック (tg)マウス脳から段階抽出、続けてゲルろ過カラム分離により、TBS 可溶で 100 kDa 以上の Ab オリゴマー”peak 1 Ab”を粗精製する。得られた peak 1 Ab を用い、APP tg マウス脳海馬へ注入する老人斑モデル、脳大槽へ注入する CAA モデルを作出し、RNA-seq 解析により b-amyloidosis の出現に伴う脳の変容を解析する。さらに、AD 患者脳ニューロピルから得た peak 1 Ab と脳髄膜組織から得た peak 1 A b と相互作用分子を IP-MS 解析し、老人斑あるいは CAA 形成に関与する分子を網羅的に解析する。

結果

(I) AD 患者脳の similarity network fusion を用いたマルチオミクス解析による層別化
20 例の AD 患者脳前頭葉を用いて similarity network fusion (SNF)解析を行ったところ、APOE e4/e4 キャリアで、また病理学的に嗜銀顆粒を伴う患者 6 例がサブグループ化されることがわかった。そこで APOE e4 が AD 発症に及ぼす影響を検討するため、ヒト APOE e2、APOE e3 及び APOE e4 をノックインした APP

トランスジェニックマウス脳で Ab 蓄積を評価したところ、いずれのヒト APOE をノックインしても、Ab 蓄積を抑制するが、APOE e4 をノックインしたマウスでは”seed”依存的な Ab 蓄積抑制能が他の genotype に比べ弱いことがわかった。今後さらに多くの AD 患者脳を用いて SNF 解析を進める。

(II) 病因タンパク質伝播モデルを用いた時間依存的な脳構成細胞の変容解析

Ab 蓄積を呈する高齢 APP tg マウス脳由来 peak 1 Ab を抽出し、若齢の APP tg マウス脳左海馬へ注入すると、2 ヶ月後左海馬歯状回分子層に沿って帯状の Ab 蓄積が出現することがわかった。そこで peak 1 Ab 接種後 1 ヶ月後、及び 3 ヶ月後の APP tg マウス左脳及び右能を採取し、RNA-seq 解析を行ったところ、1 ヶ月後には統計学的優位な遺伝子変動は認められなかった。一方 1 ヶ月後の左脳と、Ab 蓄積開始後 3 ヶ月後の左脳を比較したところ、22 遺伝子の発現が上昇し、10 遺伝子の発現が減少することがわかった。発現変動した遺伝子を公知の AD 患者脳 single-cell transcriptome データベースと比較解析したところ、発現上昇遺伝子は主に astrocyte (TMEM184B, POU2F1)、oligodendrocyte (AMER2, ACER3)、microglia (SKAP2)などで発現し、また AD 脳においても発現上昇していた。一方発現低下遺伝子は主に excitatory 或いは inhibitory neuron で発現しており、AD 脳の inhibitory neuron (NPTX2)でも発現が低下していた。

次に、peak 1 Ab を若齢の APP tg マウス脳大槽へ注入し、脳脊髄液中に peak 1 Ab を拡散させたところ、3 ヶ月後解析したところ、主に脳髄膜下や、血管周囲に Ab 蓄積を呈することが分かり、CAA を誘導するモデルの作出に成功した。

最後に、AD 患者脳において peak 1 Ab 量を定量したところ、CAA が豊富に存在する群 (CAA-rich, n=10)では、CAA が乏しい群 (CAA-minimal, n=8)に比べ有意に peak 1 Ab 量が多いことがわかった。さらに、CAA-rich 群の脳血管・髄膜組織を剥離して抽出したところ、脳実質よりも有意に peak 1 Ab が存在することがわかった。そこで、脳実質由来 peak 1 Ab と脳血管・髄膜組織由来 peak 1 Ab を用いて、抗 Ab 抗体による高感度 IP-MS 解析を行い、得られたタンパク質の enrichment 解析を行ったところ脳血管・髄膜組織由来 peak 1 Ab からは、ECM の構成、維持に関与する matrisome 分子が多く検出された。

考察

SNF を用い AD 患者脳をパイロット解析し、APOE e4/e4 のサブグループを同定した。また、ノックインマウスを用いた解析から APOE e4 は Ab 蓄積を促進する可能性があることを見出した。APOE e4 は AD 発症の最大の危険因子であることが知られ、本研究から APOE e4 キャリアは Ab 蓄積を促進することが AD 発症の driving force となっていることが考えられた。今後さらに SNF 解析を進め、非 APOE e4 群における AD 発症要因の解明を試みる。

また peak 1 Ab 脳内注入実験により、アミロイド斑、及び CAA それぞれの病態を再現するマウスモデルを開発し、RNA-seq 解析によりアミロイド斑蓄積によって生じた脳内構成細胞それぞれにおける遺伝子発現変動を見出した。今後さらにその意義について検討する。さらに、peak 1 Ab と相互作用して CAA 形成に関わる因子を網羅的に探索し、matrisome の関与を見出した。これまでに apoE や C1q、CLAC など複数の matrisome 分子が老人斑に蓄積していることが知られ、脳

内の Ab 蓄積とその多様性に細胞外マトリクスの関与が予想され、さらに詳細に検討する。

結論

SNF により AD に APOE e4/e4 のサブグループがあることを見出し、APOE e4 キャリア脳では Ab 蓄積が促進している可能性が示唆された

アミロイド斑, CAA それぞれを形成するマウスモデルを作出し、アミロイド斑形成モデルにおいて Ab 蓄積依存的な遺伝子変動が認められた

AD 患者脳において peak 1 Ab は CAA に濃縮しており、細胞外マトリクスとの相互作用が予想された

参考文献

1. Watanabe H, Murakami R, Tsumagari K, Morimoto S, Hashimoto T, Sonn I, Imaizumi K, Yamada K, Iwatsubo T, Okano H: Astrocytic APOE4 genotype-mediated negative impacts on synaptic architecture in human pluripotent stem cell model. *Stem Cell Rep*, 18(9), 1854-1869, 2023
2. Nakamura R, Tomizawa I, Iwai A, Ikeda T, Hirayama K, Chiu YW, Suzuki T, Tarutani A, Mano T, Iwata A, Toda T, Sohma Y, Kanai M, Horii Y, Tomita T: Photo-oxygenation of histidine residue inhibits α -synuclein aggregation. *FASEB J*, 37(12), e23311, 2023

分担研究報告書

筋萎縮性側索硬化症と加齢性の筋萎縮に共通する分子機構のオミクス解析

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
分担研究者名 青木吉嗣

緒言

家族性筋萎縮性側索硬化症 (SOD1-ALS) は、成人に発症する上位および下位運動ニューロンが選択的かつ進行性に変性・消失する難病である。本症は、SOD1 遺伝子の変異に関連している。他方、MuRF1 (muscle ring finger 1) をはじめとする筋萎縮原因遺伝子 (Atrogenes) は、運動神経の切断、不活動、および神経筋疾患など多様な筋萎縮モデルにおいて発現が増加する。特に、SOD1-G93A マウスモデルでは、筋萎縮発症時に MuRF1 の発現が増加し、運動による筋重量の増加に伴い、発現は減少することが報告されている。本研究では、SOD1-G93A マウスの萎縮骨格筋を対象にプロテオームの変動を詳細に調査し、正常加齢マウスの骨格筋とのプロテオーム変動との共通点及び相違点を明確にすることを旨とする。この研究は、筋萎縮疾患の治療に向けた新たなアプローチの提供を目的とする。

方法

1. 正常マウスを対象に、廃用性筋萎縮に対する siRNA 医薬の経静脈全身投与による MuRF1 発現抑制の効果を検証する
2. SOD1-G93A マウスを対象に、経時的に全身の骨格筋を採取のうえ、重量を測定し、筋萎縮および MuRF1 発現レベルの自然歴を明らかにする。

結果

1. 正常マウスを対象に、siRNA 医薬を用いた全身経静脈投与による MuRF1 の発現抑制が、廃用性筋萎縮に対して有意な改善効果を示すことが判明した。

2. 村松班長から雌雄個体の提供を受け、SOD1-G93A マウスコロニーを樹した。SOD1-G93A マウスを対象に、経時的に腓腹筋を採取のうえ、重量および MuRF1 発現レベル測定をした。この結果、70 日齢頃から同筋の萎縮は顕在化し、MuRF1 発現レベルは上昇することが分かった。実験の過程で、SOD1-G93A マウスの血清には、筋線維の萎縮を悪化させる疾患修飾分子 (リガンド) が含まれることを見出した。

考察

正常マウスにおける廃用性筋萎縮および SOD1-G93A マウスにおける筋萎縮の両方で、骨格筋における MuRF1 の発現増加を確認できた。R6 年度は、siRNA 医薬の全身経静脈投与により MuRF1 の発現を抑制することで、SOD1-G93A マウスの筋萎縮に対して有意な改善効果を示すか検討する計画である。一方、最適な治療時期を予測するための、SOD1-G93A マウスの骨格筋における MuRF1 発現レベルの経時的変化の確認、ヒト SOD1-ALS の骨格筋において、SOD1-G93A マウスと同様に骨格筋における MuRF1 発現レベルの上昇を認めるかについても確認する必要がある。

本研究で目指す骨格筋を対象にした MuRF1 の発現抑制は、アンメットメディカルニーズであるヒトの ALS における、骨格筋萎縮の直接的な治療法としての可能性を有する。本研

究の成果は、筋萎縮の複雑な分子病態を解明することに基づき、指定難病である ALS 及び社会的課題である加齢性筋萎縮の克服に寄与することが期待される。

本研究は、ALS 患者における骨格筋萎縮の治療選択肢を拡大し、生活の質の向上を目指すものである。また、加齢に伴う筋力の低下を緩和し、高齢者の自立支援と健康寿命の延伸にも貢献する可能性がある。

結論

SOD1-G93A マウスでは、70 日齢頃から腓腹筋の萎縮は顕在化し、MuRF1 発現レベルは上昇する。

参考文献

1. Neyroud et al. Blocking muscle wasting via deletion of the muscle-specific E3 ligase MuRF1 impedes pancreatic tumor growth. *Commun Biol*, 6(1), 519, 2023
2. Léger et al. Human skeletal muscle atrophy in amyotrophic lateral sclerosis reveals a reduction in Akt and an increase in atrogen-1. *FASEB J*. 20, 583–585, 2006

分担研究報告書

悪性脳腫瘍による神経変性・回路網破綻の理解を基盤とした新規がん治療法の開発

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 病態生化学研究部
分担研究者名 川内大輔

緒言

脳腫瘍は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。特に成人グリオーマは非常に悪性度が高く、効果的な化学療法が確立されていない。一方で、最近脳腫瘍と脳内細胞の相互作用が腫瘍増殖に影響を与えることが報告されつつあり、「腫瘍-ニューロン・コミュニケーション」の観点からグリオーマ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

成人グリオーマのがん幹細胞は培養下で維持可能である。まず、大阪医療センターとの共同研究で、レンチウイルスを用いて培養下で緑色タンパク質 EGFP とルシフェラーゼをコードする遺伝子を発現させる腫瘍細胞株を樹立した。さらに、狂犬病ウイルスの形成に必要な糖タンパク gp4 を発現させることにより、弱毒化狂犬病ウイルスの宿主細胞の能力を付加した株も樹立することに成功している。次に、gp4 発現グリオーマ細胞に mCherry をコードした弱毒化狂犬病ウイルスを感染させ、数日後に免疫不全マウスの脳内に移植し、一週間後に腫瘍とシナプスを介して相互作用する神経細胞群を mCherry で標識する。次に標識された細胞を分子マーカーで

同定し、それらの細胞に DREADD を特異的に発現させるアデノ随伴ウイルスを作成し、免疫不全マウスの脳内でグリオーマ細胞と共存させる。その後適切なタイミングで、CNO により DREADD 発現ニューロンの電気的な活動を操作し、その条件下で腫瘍細胞の増殖がどのように変化するかを解析する。

結果

狂犬病ウイルスによる経シナプス性逆光標識により、グリオーマが興奮性および抑制性神経細胞とシナプスを形成していることが明らかとなった。特に抑制性神経細胞とのシナプス形成は報告されておらず、その生物学的な機能の検証を開始した。まず、抑制性ニューロン特異的に M3Dq を発現させるアデノ随伴ウイルスを作成し、グリオーマとの共存下で神経細胞を活性化させると、腫瘍細胞で増殖マーカーである Ki67 陽性細胞の割合が低下した。

考察

現存する治療に使用可能なテモゾロミドは分子標的薬ではないため、腫瘍特異的な効果は得られないため、より特異的な機構を阻害する新しい抗がん剤の探索が望まれている。今回、アデノ随伴ウイルスを用いてグリオーマ細胞の増殖を抑制することに成功したことにより、シナプス伝達を制御することで脳腫瘍の増殖抑制する新しいアプローチの視野が広がったと考えられる。

結論

悪性度の高い成人グリオーマにおいて新規の腫瘍標的機構である「腫瘍とシナプスを形成する抑制性ニューロン」の寄与を明らかにした。

参考文献

1. Watanabe T, Mizuno HL, Norimatsu J, Obara T, Cabral H, Tsumoto K, Nakakido M, Kawauchi D*, Anraku Y*. Ligand installation to polymeric micelles for pediatric brain tumor targeting. *Polymers*. 15(7), 1808, 2023
2. Okonechnikov K, Joshi P, Sepp M, Leiss K, Sarropoulos I, Murat F, Sill M, Beck P, Chan CH, Korshunov A, Sahm F, Deng MY, Dominik Sturm D, Desisto J, Donson A, Green AL, Robinson G, Orr BA, Gao Q, Darrow E, Hadley JL, Northcott PA, Gojo J, Ryzhova M, Kawauchi D, Hovestadt V, Filbin MG, Zuckermann M, Pajtler KW, Kool M, Jones DTW, Jäger N, Kutscher LM, Kaessmann H, Pfister SM. Mapping pediatric brain tumors to their origins in the developing cerebellum. *Neuro Oncol*. 25(10), 1895-1909, 2023
3. Ghasemi DR, Okonechnikov K, Rademacher A, Tirier S, Maass KK, Schumacher H, Joshi P, Gold MP, Sundheimer J, Statz B, Rifaioğlu AS, Bauer K, Schumacher S, Bortolomeazzi M, Giangaspero F, Ernst KJ, Clifford SC, Saez-Rodriguez J, Jones DTW, Kawauchi D, Fraenkel E, Mallm J-P, Rippe K, Korshunov A, Pfister SM, Pajtler KW. Compartments in medulloblastoma with extensive nodularity are connected through differentiation along the granular precursor lineage. *Nat Commun*. Accepted.

分担研究報告書

シングル核解析による遺伝性筋疾患の病態 解明

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究第一部
分担研究者 林晋一郎

緒言

罹患組織を用いたオミックス解析は、分子病態ことのみならず、診断、予後、治療評価に対する分子マーカーの発見にとっても有効である。しかしながら、①骨格筋組織には様々な細胞種が存在すること、②罹患筋の病的変化はすべての場所で一様に起こるわけではないことから、これまでのような筋組織全体を解析する方法では十分な成果を上げられてこなかった。これらの問題を克服するために、本分担研究者は患者凍結筋を用いたシングル核トランスクリプトーム解析を確立し、骨格筋に存在する個々の細胞核毎に RNA 発現解析を行うことで、細胞毎に異なる発現応答かつ不均一な病態進行をも解析することに成功した。一方、空間的マルチオミックス解析は、シングル核トランスクリプトーム解析で失われる細胞同士の相互作用や罹患部位の“空間的”情報という必要不可欠な知見を与える。本研究課題では空間的マルチオミックス解析系を樹立し、シングル核情報と特徴的な空間的情報を直接的に結びつけることで、疾患病態を統合的に理解することを目指す。

方法

患者凍結筋組織（正常筋および各罹患筋）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 RNA-

seq 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

本年度はこれまで取得した snRNA-seq データに加え、新たに疾患筋から snRNA-seq ライブラリを作製し、計 19 の筋疾患、正常筋 4 例を含む 42 サンプルを統合して解析した。筋疾患病理では線維化が共通して見られ、進行度、重症度と相関することが多い。そこで、線維化の原因と考えられる間質に存在する Fibro Adipogenic Progenitor cell (FAP) に着目した。クラスター解析の結果、疾患共通あるいは特異的な DEG を取得した。ほぼ全ての筋疾患で共通するクラスター解析をした結果、線維症で発現が上昇するペリオスチンをコードする POSTN (1,2) が高発現するクラスターを同定した。また、このクラスターには線維化の原因となるコラーゲンやファイブロネクチン(FN1)も高発現しており、筋疾患における線維化原因細胞と考えられた。一方、他の線維症、がんで線維化の原因とされる筋線維芽細胞のマーカーである α -平滑筋アクチン (ACTA2) の発現は見られず、この細胞集団は他の疾患とは異なることが示唆された。

考察

snRNA-seq によって、筋疾患で見られる線維化の原因細胞クラスターを同定した。興味深い事に、この細胞集団は ACTA2 を発現しておらず、他の疾患において線維化の原因とされる筋線維芽細胞とは性質が異なることが強く示唆された。今後は得られた DEG をもとに免疫組織化学的染色法あるいは in situ

hybridization 法によりこの線維化原因細胞の性質を詳細に解析するとともに、空間的な位置情報を取得し、線維化メカニズムを解明する。一方、線維化においては筋線維芽細胞の活性の上昇と協調して、マクロファージやその他免疫細胞の浸潤を伴う慢性炎症環境が形成される。この細胞環境では、線維化の過程の主要なエフェクターとして作用する TGF- β ファミリーや Wnt1 など、サイトカインと成長因子が多量に放出される。TGF- β と Wnt1 は細胞表面受容体に結合し、下流シグナルである Smad2/3 と CBP/ β -Catenin の核移行を引き起し、筋線維芽細胞の分化と、コラーゲン、ラミニン、ファイブロネクチンなどの ECM タンパク質の産生と分泌をさらに高める。今後は snRNA-seq のデータを活用し、FAP と線維化を促進する成長因子を放出する細胞との相互作用解析およびそのシグナルカスケードの解明を目指す。

結論

本研究により、筋疾患における線維化原因細胞クラスターを同定した。本研究の進展により筋疾患における線維化機序の解明と、新規バイオマーカーおよび治療法の発見が強く期待される。

参考文献

1. Buechler MB, Pradhan RN, Krishnamurty AT, Cox C, Calviello AK, Wang AW, Yang YA, Tam L, Caothien R, Roose-Girma M, Modrusan Z, Arron JR, Bourgon R, Müller S, Turley SJ. Cross-tissue organization of the fibroblast lineage. *Nature*. 593(7860), 575-579, 2021
2. Yamato H, Kimura K, Fukui E, Kanou T, Ose N, Funaki S, Minami M, Shintani Y.

Periostin secreted by activated fibroblasts in idiopathic pulmonary fibrosis promotes tumorigenesis of non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 11(1), 21114, 2021

分担研究報告書

てんかん外科手術検体を用いたてんかん焦点病変の分子分類と脳画像との対応

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 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
研究協力者 飯島圭哉

緒言

本研究では、てんかん外科手術検体の分子生物学的な解析を行い、未知の分子病態を解明すること、および、新規分子標的薬の開発を目的とする。てんかん外科の治療対象となる難治てんかんは薬剤抵抗性であり、このような薬剤抵抗性てんかんに対する新規治療薬の創薬のために本研究は必要である。本研究で期待される成果は、てんかん原性病変の未知の原因を発見することであり、この結果は治療の標的になりうる。NCNP 病院脳神経外科は難治てんかんに対する外科治療を実施しており、毎年 20~30 検体をバイオバンクに登録し、研究への利活用を推進している。生体のヒト脳検体は脳科学研究において貴重な研究材料となる。てんかん外科手術検体の内訳は「海馬硬化症」「皮質形成異常」「低悪性度てんかん原性腫瘍」の3つが代表的である。本研究では、てんかん外科手術検体の分子生物学的な解析を行い、未知の分子病態を解明して、新規治療薬の開発へとつなげていく。

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。38 例に BRAF V600E 変異を、7 例に FGFR1 変異を認めた。その他は稀な遺伝子異常が 1~2 例ずつに認められた。17 症例では原因となる遺伝子変異が特定されなかった。

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。

皮質形成異常の内、FCD type 2B with MTOR mutation の 6 症例の single nucleus RNA-seq 解析を行った。現時点では明らかな新規的データを見いだせていない。

海馬硬化症の手術の際に切除される正常な側頭葉先端部からのヒトオリゴデンドロサイトの分離実験を 6 例に行った。結果は解析中である。

考察と結論

低悪性度てんかん原性腫瘍の分子型のサブタイプを同定し、これを予測するための術前の MRI 画像の特徴を見出した。これにより最適な手術計画の立案に寄与することが可能となり、将来の分子標的薬の適切な選択にも寄与することができる。同様の手法を今後は

皮質形成異常にも応用していくことで、適切な手術計画の立案および、分子標的薬に創薬、適切な分子標的薬の選択に寄与していく。

今後は低悪性度てんかん原性腫瘍の遺伝子変異の結果と画像解析の対応をまとめて論文文化していく。皮質形成異常に対して sn-RNA seq の結果をまとめて論文文化していく。海馬硬化症に関しては手術検体を蓄積し、分子生物学的な解析を進める

今年度の研究成果の発表

原著論文

1. Senda, J., Tanaka, M., Iijima, K., Sugino, M., Mori, F., Jimbo, Y., . . . Iwasaki, M., Kotani, K. (2024). Auditory stimulus reconstruction from ECoG with DNN and self-attention modules. *Biomedical Signal Processing and Control*, 89, 105761, 2023
2. Firestone, E., Sonoda, M., Kuroda, N., Sakakura, K., Jeong, J. W., Lee, M. H., . . . Iwasaki, M., . . . Asano, E. (2023). Sevoflurane-induced high-frequency oscillations, effective connectivity and intraoperative classification of epileptic brain areas. *Clin Neurophysiol*, 150, 17-30, 2023
3. Iijima, K., Komatsu, K., Miyashita, S., Suyama, K., Murayama, K., Hashizume, K., . . . Iwasaki, M., . . . Hoshino, M. (2024). Transcriptional features of low-grade neuroepithelial tumors with the BRAF V600E mutation associated with epileptogenicity. *Genes to Cells*, 29(3), 192-206. 2024
4. Izumi, M., Kobayashi, K., Kajikawa, S., Kanazawa, K., Takayama, Y., Iijima, K., . . . Iwasaki, M., . . . Ikeda, A. (2023). Focal ictal

direct current shifts by a time constant of 2 seconds were clinically useful for resective epilepsy surgery. *Epilepsia*. 64(12), 3294-3306, 2023

5. Kosugi, K., Yoshitomi, M., Takayama, Y., Iijima, K., Kimura, Y., Kaneko, Y., . . . Iwasaki, M. (2023). Safety, Feasibility, and Efficacy of Additional Extraventricular Anterior Commissurotomy With Corpus Callosotomy. *Oper Neurosurg* (Hagerstown), 24(2), e68-e74. 2023
6. Roth, J., Bergman, L., Weil, A. G., Brunette-Clement, T., Weiner, H. L., Treiber, J. M., . . . Iwasaki, M., . . . Uliel-Sibony, S. (2023). Added value of corpus callosotomy following vagus nerve stimulation in children with Lennox-Gastaut syndrome: A multicenter, multinational study. *Epilepsia*. 64(12), 3205-3212, 2023

図書

なし

学会発表

1. 飯島圭哉 佐藤典子 木村有喜男 宮田元 鈴木博義 後藤雄一 村山久美子 木村唯子 金子裕 岩崎真樹 てんかん原性腫瘍における頭蓋内電極留置の必要性について 日本てんかん学会 2023年10月20日
2. 飯島圭哉 中島拓真 鈴木啓道 佐藤典子 木村有喜男 宮田元 鈴木博義 後藤雄一 村山久美子 木村唯子 金子裕 岩崎真樹 てんかん原性神経上皮腫瘍の遺伝子型分類と画像所見の相関 日本脳神経外科学会 2023年10月25日

3. Keiya Iijima, Noriko Sato, Hiromichi Suzuki, Yakuma Nakashima, Yuichi Goto, Hajime Miyata, Hiroyoshi Suzuki, Terunori Sano and Masaki Iwasaki. Correlation between molecular and neuroimaging classification in low-grade epilepsy-associated neuroepithelial tumors. 2023. Dec. 4, Orland, USA

研究成果による産業財産権の出願・取得状況
なし

分担研究報告書

脳画像コホートデータから観察したアルツハイマー病とパーキンソン病の混合病理像

国立精神・神経医療研究センター
病院 病態統合イメージングセンター
分担研究者 阿部十也

目的

高齢者認知症は加齢とともにアミロイド、タウ、 α シヌクレイン、TDP43などの異常タンパクが蓄積して引き起こされる神経変性疾患である。動物を用いた個々の異常タンパク病理モデルから病態回路の理解が進んでいる。しかし実際には複数の病理が組み合わさって病気が進行することが分かってきた。

例えばアルツハイマー病(AD)とパーキンソン病(PD)は前者が記憶障害、後者が運動障害の代表的疾患と考えられている。一見、両極をなす二疾患だが個々の症例を観察すると両者の間に症状スペクトラムが見て取れる。ADとPDの混合病理で症状スペクトラムが説明できるかの検証を目的に戦略的国際脳科学研究推進プログラム(AMED 国際脳)事業の認知症コホート研究(H30-R5 年度、研究代表者 花川隆[現所属 京都大学])が実施された。

収集データをもとに AD/PD 病理の混合で症状表現がどのように修飾されるのか、回路の変調に相互作用が観察されるのか、を京都大学の連携下でコンセプト立証の解析を阿部が担当している。そこで得た結果を非公開の条件で提示する。

方法

AD/軽度認知機能障害、PD/レビー小体認知症、高齢健常者を対象に MRI 画像、核医学画

像(アミロイド PET、DAT-SPECT)、生体試料(血漿、髄液)、認知心理検査成績、その他臨床情報を多施設で収集した。AD 病理は髄液 $A\beta_{42/40}$ 比もしくはアミロイド PET 集積値で評価した。PD 病理は線条体ドパミン神経変性を DAT-SPECT で評価した。

収集した DAT-SPECT、およびアミロイド PET 画像もしくは髄液アミロイド検査の多施設データの施設間補正を行い、データ駆動型に病理陰性症例のカットオフ値を設定した。これにより一つ一つの症例を下図のような AD-PD スペクトラム表現に当てはめることが可能になった。

結果および考察



国際脳終了時点で、登録 332 名の内訳は、AD 病理と PD 病理がともに陽性(重複病理) 31 例、AD 病理陰性で PD 病理陽性(典型的 PD スペクトラム) 88 例、AD 病理陽性で PD 病理陰性(典型的 AD スペクトラム) 59 例、AD 病理と PD 病理がともに陰性 100 例、分類不能または検査確定待ち)が 54 例であった。単独病理で表出する精神認知機能低下は、AD もしくは PD 単独病理の典型的な症状を認めた。例えば、記憶障害は AD、PD とともに

認めた。AD ではその低下が顕著であった。実行機能障害も AD、PD ともに認めたが PD で顕著であった。嗅覚障害も同じパターンを認めた。一方、覚醒度およびうつ症状は PD に特異的で AD では認めなかった。上記した AD、PD ともに低下する記憶、実行機能は混合病理によってさらに悪化する像を突き止めた。このような AD/PD 分類もとに責任回路の解析を京都大学と連携して行っている。混合病理の症状悪化を表現する回路変調を突き止める計画である。

結論

認知症コホート研究のデータから AD/PD 混合病理のスペクトラムを観察した。混合病理を有する症例は特に記憶、実行機能において症状の悪化を認めた。今後その回路理解を行う予定である。

分担研究報告書

脳および全身組織における ATTR アミロイドーシスの病態解明と治療法開発

信州大学脳神経内科
リウマチ・膠原病内科
分担研究者 関島良樹

緒言

ATTR アミロイドーシスは、トランスサイレチン (TTR) を前駆蛋白とするアミロイドーシスで、アミロイドの全身沈着により、末梢神経障害、脳アミロイドアンギオパチー (CAA)、心不全などの臓器障害を呈する致死性の疾患である。脈絡叢で産生され髄液中に分泌された TTR が脳組織に、肝臓で産生され血液中に分泌された TTR が脳以外の全身組織に沈着する。本研究では、脳および全身組織における ATTR アミロイドの分解除去機構を解明し、病態に基づいた新たな治療法を開発する。また、自然経過および疾患修飾療法による生体内のアミロイド沈着量の変化を定量的なアミロイドイメージングにより明らかにする。

方法

1. TTR 四量体安定化薬であるタファミジス内服中に末梢神経障害が悪化し siRNA 製剤であるパチシランに切り替えた遺伝性 ATTR (ATTRv) アミロイドーシス患者 12 名の血清中の Neurofilament light chain (NfL) を Simoa 法で解析した。
2. ATTRv アミロイドーシス患者 34 名で CAA の出現状況の解析と、11C-PiB-PET による脳への ATTR アミロイド沈着の定量的な評価を行った。

3. 野生型 ATTR (ATTRwt) アミロイドーシス患者 35 名、非アミロイドーシス患者 68 名を対象に、血清中の TTR タンパクに対する自己抗体の存在を確認するために、TTR リコンビナントタンパクを SDS-PAGE し、PVDF メンブレンに転写して血清を一次抗体としてウェスタンブロットを行なった。

結果

1. タファミジスからパチシランへの切り替えにより、神経障害の血液バイオマーカーである NfL は有意に低下した 1。
2. ATTRv アミロイドーシスに関連した CAA は 34 名中 8 名でみられ、Transient focal neurologic episodes が 7 名、小脳出血と認知機能低下がそれぞれ 2 名で認められた。アミロイドーシス発症から中枢神経症状出現までの期間は平均 17.0 年で、PiB の集積は罹病期間に比例して増加し、SUVR の増加率は女性で有意に高かった。3D-SSP z-score 画像ではアミロイド沈着は発症約 10 年後に小脳上面から始まり、15 年後には小脳表面全体、シルビウス裂、大脳縦裂前部へと拡大した。発症 25 年後には大脳表面全体にアミロイド沈着を認めた 2。
3. ATTR アミロイドーシス患者および非アミロイドーシス患者の血清中に TTR C 末フラグメントの凝集体に対する自己抗体が検出され、加齢に従って抗体価が高くなる傾向を認めた。

考察・結論

1. NfL は ATTRv アミロイドーシスにおける治療反応性を評価する有用な血液バイオマーカーであり、パチシランはタフ

アミジスに比較し、末梢神経障害抑制効果が高いと考えられた。

2. ATTRv アミロイドーシス患者における脳アミロイドーシスの特徴的な分布と進行様式が明らかになった。また、罹病期間に加え女性も ATTR 型脳アミロイドーシス発症の危険因子であることが明らかになった。さらに、PiB-PET が ATTR 型 CAA の早期診断と治療評価のための有用なバイオマーカーになる可能性が示された。
3. ATTR アミロイドーシスおよび非アミロイドーシス患者に TTR C末フラグメントの凝集体に対する自己抗体が存在することが明らかになり、この自己抗体がアミロイドーシスの発症あるいは発症予防に関与している可能性が考えられた。

参考文献

1. Sato M, Mochizuki Y, Takahashi Y, Takasone K, Aldinc E, Ticaú S, Jia G, Sekijima Y. Neurofilament light chain as a biomarker for monitoring response to change in treatment in hereditary ATTR amyloidosis. *Amyloid*. 30, 351-352, 2023
2. Takahashi Y, Oguchi K, Mochizuki Y, Takasone K, Ezawa N, Matsushima A, Katoh N, Yazaki M, Sekijima Y. Distribution and progression of cerebral amyloid angiopathy in early-onset V30M (p.V50M) hereditary ATTR amyloidosis. *Amyloid*. 30(1), 109-118, 2023

分担研究報告書 機械学習に基づく複合生体データのマルチ モーダル情報処理

大阪大学
大学院医学系研究科
分担研究者 加藤有己

格言

生物の脳の機能を解明することは重要な課題の1つである。特に、ヒトの脳の機能の解明を目指して、本研究では独自の切り口として肺機能から脳の老化状態を予測することを目標とする。ここでは、脱髄がもたらす大脳皮質による呼吸中枢機能における調節機能の破綻から、呼吸機能の乱れが生じるものと仮定する。特に、ミエリンは脳機能の時間変化を捉える良い候補として期待されている[1]。脳の状態を予測するモデルが広く社会で利用されるためには、その入力データが簡単に入手できることが望ましい。本研究ではまず、比較的入手しやすい呼吸データから、脳の髄鞘の状態をある程度予測できる機械学習モデルを開発することを目指す。

方法

マウスの2週齢、4週齢、9週齢、9週齢でLPC注入、そして84週齢の5群全体の特徴を捉えるため、主成分分析を実行した。一方、9週齢でLPCを注入したサンプルをケース、9週齢をコントロールとしたケース・コントロール解析にはt検定を用いた。また、ケース・コントロールの二値分類にはサポートベクターマシン (SVM) を用いた。

結果

上述した条件で10秒間隔で取得したマウスの呼吸器データを解析の対象とした。なお、これらを時系列データとして機械学習で扱うにはサンプル数が少ないこと、および時系列として見ても各群の特異的なパターンを抽出することが困難であったため、各時刻のデータを独立した1単位として解析を行った。まず、全5群のデータセットを主成分分析によって教師なし次元削減を行った結果、定性的にある程度各群の特徴量を捉えられることを確認した。次に、LPCと9週齢マウスのケース・コントロール解析を行ったところ、2群間で有意差がある観測値(1呼吸あたりの吸気量や気管支収縮の指標など)を検出することができた。さらに、

RBF(動径基底関数)カーネルを用いたサポートベクターマシンによる二値分類を行った結果、平均分類精度(適合率と再現率のF値)が80-85%程度となり、比較的単純な機械学習モデルを用いても精度よく分類できることを確認した。

考察

上記ではすべての観測値を考慮したが、実際に分類に不可欠な観測値を同定することは重要である。実際、呼吸数と気管支収縮の指標だけで、線形分離ではあるものの9週齢と9週齢でLPC注入の2クラスをある程度分類できることを確かめている。今後はランダムフォレストモデルなどを使って、識別に寄与する観測値を絞り込むことが必要であろう。

結論

今回は呼吸器データのみで脳の状態を予測することに挑戦した。これにより、呼吸器データに加え、画像を組み込んだバイモーダルなデータを利用して、脳の状態を予測するマ

マルチモーダル情報処理に基づく研究への足掛かりになる。また、呼吸器データのみから学習したモデルと、脳の画像データを組み合わせ学習したモデルとの分類性能の差を明らかにすることが可能となる。現在まではマウスのデータを用いているが、ヒトのデータに関してはUK Biobank [2]から取得し、最終的にはヒトへの応用に展開する予定である。

参考文献

1. de Faria O Jr et al. Nat Neurosci 2021.
2. Sudlow et al. PLoS Med 2015.

分担研究報告書

微小空間制御による脳構成細胞の高精度細胞解析技術の開発

東京大学生産技術研究所

分担研究者 松永行子

緒言

オリゴデンドロサイトによる神経軸索への再髄鞘化（巻き付き）のメカニズムは未だ不明な点が多く、本研究では、人工軸索を模したナノファイバー状の足場を有する *in vitro* 評価系を構築し、再髄鞘化におけるオリゴデンドロサイトの巻き付を定量的に評価可能な *in vitro* 培養プラットフォームを開発する。本年度は、バイオマテリアルのナノファイバー形成と三次元プリンティングを組み合わせたパターン化ナノファイバー培養基板を試作した。生体適合性を有するポリ-ε-カプロラクトン(PCL)を用い、顕微鏡での細胞観察を容易にするため、透明なガラス基板上へのパターン化条件について種々検討を行い、ヒトオリゴデンドロサイト細胞株 (MO3.13) によるミエリン様構造の形成について検討した。

方法

・エレクトロスピンニング法による配列を制御した人工軸索アレイ基板の作製
人工軸索を模したナノファイバー形成には、自作の走査型エレクトロスピンニング装置 (Direct-writing electrospinning: DWE) を用いた。装置は XYZ 軸に稼働する導電性ステージ、高圧電源に接続された注射針、注射針に PCL の高分子溶液を供給するシリンジポンプで構成される。一定の走査速度、印加電圧条件でカバーガラス上へ間隔 50 μm の平行

な配列の形成を試みた。人工軸索に対し、酸素プラズマ処理とラミネコート処理を行い、表面処理によるミエリン様構造形成への影響について検討した。

・細胞培養

MO3.13 を人工軸索アレイ基板上に播種し、10%FBS 含有高グルコース DMEM で培養した。培養 24 時間後、細胞核およびアクチンを染色し、共焦点レーザー顕微鏡により画像を取得した。画像解析により人工軸索上に形成されたミエリン様構造を被覆率として評価した。

結果

湿度制御およびガラス基板と導電性ステージの間に導電性溶液を封入する帯電抑制を施すことで、ナノファイバー同士が融合することなく、50 μm 間隔の高精度でパターンニングすることに成功した。細胞培養評価においては、コントロールガラス表面では、細胞の配向性は確認されなかったが、人工軸索アレイ基板上で培養した MO3.13 はナノファイバーと同じ方向への配向が観察された。また、酸素プラズマ処理とラミネコート処理は、ミエリン様被覆構造形成を有意に向上させることが示された。

結論

絶縁体ガラス基板上で、50 μm 間隔の高精度で高分子溶液のパターンニングを達成した。ヒトオリゴデンドロサイト細胞株による人工軸索アレイ基板上へのミエリン様構造形成について評価を行い、再髄鞘化におけるオリゴデンドロサイトの巻き付を定量的に評価可能な *in vitro* 培養プラットフォームの基盤技術を構築した。

Elucidating the mechanism of neurodegeneration and regeneration based on the communication of the brain constitute cells

Rieko Muramatsu

Director, Department of Molecular Pharmacology, National Institute of Neuroscience,
National Center of Neurology and Psychiatry

The development of treatments and preventive methods for neurological diseases is a crucial issue for achieving a sustainable society in Japan as well as in the world. With recent advancements in scientific technology, comprehensive gene expression analysis at the single-cell level and spatial gene expression analysis are being utilized to obtain large datasets related to diseases. These datasets have provided insights into analytical methods, reinforcing traditional hypothesis-driven research and promoting data-driven research. However, these analytical technologies are still in development, therefore, collaboration with highly specialized researchers in informatics and engineering is considered effective for maximizing fundamental medical research.

Our team aims to establish sustainable collaboration between disease-based researchers and those in informatics and engineering to revolutionize research into the pathology of neurological diseases using big data. Specifically, we aim to conduct comprehensive, unbiased analyses, including unknown molecules, without limiting ourselves to specific target cells, focusing on neurodegeneration and neuroregeneration in diseases such as Alzheimer's disease. By developing and utilizing technologies such as microfluidic devices for the functional evaluation of candidate molecules, we seek to uncover mechanisms that are truly critical in the pathogenesis of neurological diseases with the following aims: 1) acquiring and analyzing big data related to neurodegeneration and repair, and sharing and improving these analysis techniques, 2) developing new data acquisition technologies, and 3) investigating pathological research.

This year, each researcher advanced their studies on disease pathology and discussed the direction of joint research. Muramatsu (PI) collaborated with researchers in engineering and informatics to develop new culture systems and evaluation methods.

研究課題番号 5-5

研究課題名 筋ジストロフィーの臨床開発推進の基盤整備

主任研究者名 小牧宏文

(1) 3年間の研究目標及び研究計画の概要

【概要】神経筋疾患患者登録システム (Remudy、2009年～) と全国38施設が加盟している筋ジストロフィー臨床試験ネットワーク (MDCTN、2012年～) を基盤とした治験、臨床研究の推進を本研究班は担ってきた。エクソン53スキッピング薬ビルトラルセンの薬事承認、エクソン44スキッピング薬の医師主導治験でのPOC取得など大きな成果を上げてきたが、時代とともに求められるもの内容は変化しているため両基盤について改良を加える。Remudyは患者主体、患者のみで登録情報が更新できる形式とし、臨床研究への患者の主眼的参画 (PPI) 推進の基盤としても活用する。これらの基盤を用いてウェアラブル機器を用いた臨床評価法の探索と検証、自然歴研究の実施、バイオマーカー探索、QOL/Patient reported outcome (PRO)、情報公開などの研究を進める。

【臨床開発に関わる臨床研究】加速度・活動量計・画像解析などウェアラブル機器を用いた非侵襲的なアウトカムメジャーの探索、姿勢推定技術、LiDAR センサーを用いた新しいデジタルメジャー技術の臨床応用、AIを用いた骨格筋画像を用いた骨格筋量の定量化、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の自然歴研究、ベッカー型筋ジストロフィー (BMD) の自然歴研究、ウールリッヒ型先天性筋ジストロフィー (UCMD) の自然歴・バイオマーカー探索研究、尿中タイチンを用いた筋ジストロフィーのバイオマーカーの妥当性検証、発症前・早期診断に向けた体制整備、ならびに倫理的課題の検討、National Database (NDB)を用いた疫学研究などをテーマとした臨床開発に寄与する臨床研究を実施する。

【エビデンス創出を目的とした臨床研究】新規心

保護治療法の確立、呼吸ケアのガイドライン整備、嚥下障害に関わる研究、側弯症の予後因子に関する研究、ウェブサイト、公開講座などを用いた国民への情報発信、啓発活動、患者家族会と密に連携した臨床研究、情報公開を進める。

【ポータルサイトの開設】核酸医薬品、遺伝子治療などの発展によって大きな進展がみられる筋疾患の診療環境の変化に対応できるようポータルサイトを開設し、情報拠点、PPIの基盤として活用する。

【Remudyの改良】デジタル技術を活用し改良する。この基盤を活用し臨床開発を中心とした臨床研究を展開する。Remudyは臨床開発のニーズに応じて徐々に対象疾患を増加させ、現在は6疾患を対象に登録を行っている。DMDを中心に疫学情報、治験の実施可能性調査、被験者リクルートなどにおいて一定の成果が得られているものの、登録率や情報更新率の伸び悩みがみられる。現在のRemudyの登録システムは患者起点の形式であるが、情報の正確性を担保するために初回登録、ならびに更新ともに主治医の協力が必須であることが伸び悩みの一因と考えている。従来のレジストリに認められていたニーズに加えてレジストリを用いた新薬の市販後の安全性有効性評価も求められるようになり、また臨床開発の対象疾患も広がりを見せているが従来の登録形式では対象疾患の増加は徐々に困難となりつつある。スマートフォンやアプリを用いることでより簡便にレジストリが運営できるよう改良を行う。

(2) 本年度の研究成果

【臨床開発に関わる臨床研究】

活動量計、加速度計などのウェアラブル機器を用

い、動作時の Root Mean Squar (RMS)、strideなどを解析し、DMD の Waddling gait の特徴を検討するとともに運動機能指標との関連性を検討している。LiDAR を用いた 3DToF、姿勢推定技術などの次世代技術を用いた DMD の動作解析システムの構築について研究計画の策定を進めている（竹下班員）。ウェアラブル機器による身体活動量・心拍数・自律神経機能を測定し、起立時間、10MWT、NSAA、6MWT との関連について検討した結果を英文論文に投稿しアクセプトされた（中村昭班員）。UCMD の自然歴、バイオマーカー探索は研究を開始しており、5名の被験者の登録が得られている。基底膜破壊に伴い上昇するIV型コラーゲン由来のペプチドやアミノ酸の解析によるバイオマーカー探索について症例数は少ないものの有望な結果が得られている（石垣班員）。世界で初めて、DMD 患者の血清中のタイチン分解産物の濃度を測定し、尿中のタイチン分解産物（尿中タイチン）の濃度、および血液検査値との関連を検討したところ血清タイチンと CK、AST、ALT、LDH に強い相関を認めた（栗野班員）。NDB 研究は厚労省へ NDB データ利用申請を行い、データを本年度受理し公表許可を得た。2023 年 12 月本研究班会議で主な疾患の患者数などの速報を発表した（本橋班員）。AI を用いた骨格筋量測定の自動化研究は筋疾患 25 例、神経疾患 6 例、非神経疾患患者 14 例、合計 45 例（平均年齢 54+/-14.7 歳）の大腿と下腿の筋 CT 画像を元に組織別画像を出力し、AI の畳み込みニューラルネットワークモデルを利用して画像演算処理を最適化した（中山班員）。

【エビデンス創出を目的とした臨床研究】

IBIC の IBISS を用いた骨格筋画像のデータベース研究は本年度パイロット研究としてビルトラルセンによる治療を実施した DMD2 例の筋量について検討し、筋量評価は骨格筋 CT の大腿部スライスにおける%MVI を用いた評価で対照群（自然歴）に比して筋量が保たれており、治療効果を定量的に示すことが可能であった（久留班員）。呼吸

ケアの標準化研究は DMD の呼吸機能の評価と呼吸リハビリテーションの効果を検討するための研究を実施している（石川班員）。摂食嚥下機能に関わるエビデンス創出のための研究は DMD 患者の代替栄養法の導入を決定する因子を統計的手法で同定し論文発表した（山本班員）。心筋障害の評価ならびに、心保護治療法に関わる研究は、10 歳から ACE 阻害薬を投与した DMD 患者と左室駆出率<55%で ACE 阻害薬を開始した DMD 患者では、15 歳時の左室駆出率<45%の割合に差がなく、左室駆出率<55%で ACE 阻害薬を開始した患者の 10 年後の生存率は良好である結果が得られた（瀬川班員）。側弯症治療研究では、弛緩型神経筋性脊柱側弯症に対する手術治療の中長期成績を調査するため患者立脚型アンケート調査である Muscular Dystrophy Spine Questionnaire (MDSQ) の日本語訳版を作成しバリデーション研究を行うとともに MDSQOL/Patient を用いて脊柱固定術前後のデータを収集した（高相班員）。

【Remudy の改良】

Remudy は 6 疾患を対象に登録事業を継続している。医師、製薬会社関係者、患者・家族などとの複数の意見交換を行い、新しい Remudy の基本方針に関わる骨格が固まった。2024 年にはより具体的な改良を進めていく。

【ポータルサイトの開設】

入札のうえベンダーを決定し、ポータルサイトの開設準備を進めており、2024 年春に運用が開始できる見込みとなった（中村治班員）。新しいポータルサイトは会員制の機能も持たせ、PPI 推進の基盤として活用させる（池上班員）。自前の情報発信のほか、患者会、製薬企業などのウェブサイトとの連携によってより多面的な情報拠点を目指す。

【その他】

筋ジストロフィーの医療、臨床開発に関する ELSI、電子的同意に関する検討を進めている（有江班員）。Complex innovative design (CID) の整理及び筋ジストロフィー研究デザインの現状をまとめ、今

後有望な柔軟な研究デザインの提案を目指す研究を進めている（大庭班員）。筋ジストロフィーの臨床開発推進に資する IT プラットフォーム構築及び品質マネジメント体制整備に関する現状調査及び分析を進めている（小居班員）。

（3）今後の研究の進め方について

比較的順調に初年度の研究が進められており、引き続き基盤的研究を中心に進めていく。

（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）

各研究は必要に応じ倫理申請を行ったうえで研究を実施している。

（5）その他希望事項

特になし

（6）本年度の研究業績（主任研究者・分担研究者）

【原著論文】 計 24 件

1. Nakamura A, Matsumura T, Takeshima Y, Kuru S, Imazaki M, Nonomura H, Kaiya H. The Association Between Physical Activity/Heart Rate Variability Data Obtained Using a Wearable Device and Timed Motor Functional Tests in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy: A Pilot Study *J Neuromuscul Dis.* 2024 Apr 6. doi: 10.3233/JND-230142. Online ahead of print.
2. Yamamoto T, Mori-Yoshimura M, Oya Y, Komaki H, Takahashi Y. Factors influencing the decision to introduce alternative nutrition in patients with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve.* 2023 Nov;68(5):737-742. doi: 10.1002/mus.27970.
3. Nakamura A, Matsumura T, Ogata K, Mori-Yoshimura M, Takeshita E, Kimura K, Kawashima T, Tomo Y, Arahata H, Miyazaki D, Takeshima Y, Takahashi T, Ishigaki K, Kuru S, Wakisaka A, Awano H, Funato M, Sato T, Saito Y, Takada H, Sugie K, Kobayashi M, Ozasa S, Fujii T, Maegaki Y, Oi H, Tachimori H, Komaki H. Natural history of Becker muscular dystrophy: a multicenter study of 225 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2023 Oct 26. doi: 10.1002/acn3.51925.
4. Miyagi M, Saito W, Mimura Y, Nakazawa T, Imura T, Shirasawa E, Uchida K, Ikeda S, Kuroda A, Inoue S, Yokozeki Y, Tanaka Y, Akazawa T, Takaso M, Inoue G. Posterior Spinal Fusion Surgery for Neuromuscular Disease Patients with Severe Scoliosis Whose Cobb Angle Was over 100 Degrees. *Medicina (Kaunas).* 2023 Jun 5; 59(6):1090. doi: 10.3390/medicina59061090.
5. Fujimoto A, Mizuno K, Iwata Y, Yajima H, Nishida D, Komaki H, Ishiyama A, Mori-Yoshimura M, Tachimori H, Kobayashi Y. Long-term Observation in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy with Early Introduction of a Standing Program Using Knee-ankle-foot Orthoses. *Prog Rehabil Med.* 2023 Oct 28;8:20230038. doi: 10.2490/prm.20230038. PMID: 37901357; PMCID: PMC10602754.
6. Ishizuka T, Komaki H, Asahina Y, Nakamura H, Motohashi N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Yonee C, Maruyama S, Hida E, Aoki Y. Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-089/NCNP-02 for skipping of exon 44 in patients with Duchenne muscular dystrophy: Study protocol for a phase I/II clinical trial. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2023 Jun;43(2):277-286. doi: 10.1002/npr2.12335. Epub 2023 Apr 3. PMID: 37326950; PMCID: PMC10275280.

【総説】計 24 件

1. 竹下絵里. 筋ジストロフィー. 小児内科 2023 Vol.55 増刊号 エキスパートが教える小児の薬物療法、2023 年 11 月、579-582
2. 森まどか、滝澤歩武. 遺伝性神経筋疾患と妊娠. リハビリテーション医学. 2023 年 7 月、589-594
3. 石垣景子, 大澤真木子. 福山型筋ジストロフィー 臨床の歴史. CLINICAL NEUROSCIENCE 2023;41(1):103-6
4. 高橋正紀. 筋強直性ジストロフィー研究の進歩. 遺伝子医学. 2023 年 10 月、13(4)60-65.
5. 小牧宏文. 小児の治療方針：筋ジストロフィー. 小児科診療(0386-9806)86 巻春増刊 Page802-804(2023.04)

【著書】計 14 件

1. 原貴敏. 日本医師会、リハビリテーションが必要となる疾患 神経筋疾患 筋疾患. 日本医師会雑誌 第 152 巻 特別巻 リハビリテーション診療 update、2023、S180-S181.
2. 石垣景子. 筋疾患—7 福山型先天性筋ジストロフィー, 東京医学, 小児疾患診療のための病態生理 3 改訂第 6 版, 495-501
3. 久留聡他. 医学書院、筋疾患の骨格筋画像アトラス、令和 5 年 5 月、226 頁
4. 高橋正紀. 筋強直性ジストロフィー. 福井次矢、高木誠、小室一成総編集 今日の治療指針 2024 年版—私はこう治療している 医学書院印刷中
5. 松村剛. 筋強直性ジストロフィー. 今日の治療指針 2023. 2023; 986-987, 医学書院. 東京

【学会発表】計 65 件

1. 竹下絵里、岩田恭幸、矢島寛之、丸尾和司、脇坂晃子、石垣景子、尾方克久、船戸道徳、里龍晴、小牧宏文、デュシェンヌ型筋ジストロフィー自然歴研究ワーキンググループ、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、第 65 回日本小児神経学会学術集会、岡山、2023 年 5 月

2. 小牧宏文. 脊髄性筋萎縮症の新生児マスキリーニング 現状と課題 脊髄性筋萎縮症に対する新たな治療法. 第 65 回日本小児神経学会学術集会、岡山 2023 年 5 月

3. Komaki H. Gene therapy for hereditary neuromuscular diseases. The 29th Annual Meeting of Japan Society of Gene and Cell Therapy、2023 年 9 月

4. Komaki H. Risdiplam treatment for Spinal Muscular Atrophy. KCNS 30th Anniversary International Symposium、2023 年 11 月

5. Komaki H. mRNA targeting therapeutics for pediatric neuromuscular disorders. 30th KCNS Anniversary International Symposium、2023 年 11 月

【講演会、一般向けシンポジウムなど】計 30 件

1. 中村治雅. 患者レジストリの薬事利用について RWD/RWE の最近の動向、第 27 回日本神経感染症学会総会・学術大会、2023 年 10 月

2. 高橋正紀. 筋強直性ジストロフィー：知っておくべき重要点、筋強直性ジストロフィー着床前診断の今 大事なことを、夫婦一緒に考えるために 2023 年 11 月

3. 松村剛. 筋強直性ジストロフィー療養のコツ. 国際筋強直性ジストロフィー啓発の日 in 大阪. 大阪市. 2023 年 9 月

4. 小牧宏文. 筋ジストロフィー. 日本筋ジストロフィー協会 60 周年記念大会特別講演 2023 年 9 月

5. 小牧宏文. 重症心身障害児者と小児神経疾患. 東京都重症心身障害児(者)を守る会両親の集い(月例会、2023 年 10 月

(7) 研究成果による産業財産権の出願・取得状況

【出 願】 計 0 件

【取 得】 計 0 件

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。

本研究の一環として、筋ジストロフィーの早期遺伝子診断に関して、遺伝子診断を行っている医療者側である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、内容分析を行った後、現象学的方法にて、語りの解釈を行っているので、その経過を報告する。

方法

対象者：遺伝カウンセリング経験が3年以上ある臨床遺伝専門医又は遺伝カウンセラー4名

研究方法：質的帰納的研究

非構造化面接（ZOOM） 各2回実施
現象学的解釈学を用いた語りの解釈

結果

以下のテーマが抽出された。

- ① 遺伝（遺伝性疾患）を特別なものではないということ
- ② 誰かの責任ではないということ
- ③ 正しい知識を伝えるということ
- ④ 可能性を伝えるということ（将来の見通しを伝えるということ）
- ⑤ 相手の思いや目的を知り、医療者側の価値観を押し付けない
- ⑥ 患者や家族の人生と並走すること
その他、専門性の違いで、患者や家族等とのかわりや、遺伝カウンセラーとしてどうありかた、どうあるべきかという意識の違いが明確になった。

①のテーマでは、遺伝が普遍的で確率論であることを伝えたいということ。当事者にとっては特別で、大変であるが、固定観念をつけたくないということが語られた。

②のテーマでは、原因を説明することが、誰かの責任の意味も入る可能性があるため、誰か一人の責任にしないことが語られた。

③のテーマでは、遺伝学の現象を正確かつ客観的に伝えることの大切さを研究対象者全員が主張した。

④のテーマでは、患者や家族の将来を共に考える、カウンセリングの流れを「今後どうするのか」という方向に持っていく態度がみられた。

⑤患者や家族の目的や価値観を知り、それに寄り添うことが語られた。

⑥共に歩む、背負う、待つ、意思決定に積極的に関わる等、医療の専門的バックグラウンドによって、ことなるあり方が語られた。

考察

筋ジストロフィーとともに生きるもの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。

本インタビューを通じて、遺伝カウンセラーが「遺伝」について正確に客観的に伝えたいということが一義的であると思われた。その上で患者や家族の価値観、目的、ペースを理解し、それにできるだけ寄り添うよう努めていることが分かった。また、重要な点として、わが国には「遺伝」に関する差別や偏見の問題があり、そのような状況が、誰かの責任論にも結びつきやすいため、遺伝について伝える際に特別な配慮を要することになるのだろう。米国には「遺伝差別禁止法」があるが、わが国にはそのような法律は存在しない。そのため、「遺伝について伝える」側の医療者も、当事者や家族の受け止め方や懸念点により注意を払わなくてはならなくなる。

その他、専門資格によって、例えば看護師の場合、受け身あるいは傾聴の態度に重きを置いており、心理士の場合、対象者により積極的に介入する等、能動的な態度が顕著であった。医師の場合、より意思決定をサポートすることを目的としていた。対象数が少ないため、個人の意識の違いであって、一般化はできないが、専門性に基づいた役割や価値観が、遺伝カウンセラーとしてのあり方に影響あるということは否定できない。

結論

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。

今後は、患者や家族を対象に「遺伝を伝えられる」体験の意味、双方が持つ意味を明らかにしたい。

あ参考文献

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臨床開発推進に資する IT プラットフォーム構築及び品質マネジメント体制整備

国立精神・神経医療研究センター

病院 臨床研究・教育研修部門

情報管理・解析部 小居 秀紀

緒言

筋ジストロフィーの臨床開発では、対象患者数が少なく、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リアルワールドデータ (RWD) の薬事目的での利活用 (治験対照群、製造販売後の長期の有効性確認と安全性監視) の議論が進んでいる。一方、早期探索的臨床試験では、医師主導治験のスキームでの治験実施が基本であるが、昨今では臨床研究法に基づく特定臨床研究の薬事目的での利活用の議論も進展しており、より効率的かつ質の高い医師主導治験や特定臨床研究の実施が期待される。

方法

国立精神・神経医療研究センター (NCNP) の臨床開発支援の経験をもとに、NCNP における ARO (Academic Research Organization) として、筋ジストロフィー患者を対象とする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、並びに生命科学・医学系研究に基づくレジストリ構築研究及びレジストリデータ利活用研究において、臨床開発推進に資する、DCT (Decentralized Clinical Trials; 分散型臨床試験) に対応する IT プラットフォームの構築、並びに、Regulatory grade での品質マネジメント体制 (QMS (Quality Management System; 品質マネジメントシステム) の整備、QbD (Quality by Design; 計画に基づいた質の確保の考え方) の構築、RBA (Risk Based Approach; リスクベースドアプローチ) の実装等を行う。

<研究計画の概要>

・2023 年度:

2023 年 4 月～2024 年 1 月: 筋ジストロフィーの臨床開発推進に資する IT プラットフォーム

構築及び品質マネジメント体制整備に関する現状調査及び分析

2024 年 2 月～2024 年 3 月: 筋ジストロフィーの臨床開発推進に資する IT プラットフォーム構築

及び品質マネジメント体制整備に関する課題の抽出及び改善策の検討

なお、本分担研究課題の実施においては、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とも連携して実施した。

- 1) 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)」、R4
- 2) AMED 難治性疾患実用化研究事業、「福山型先天性筋ジストロフィー患者における内服ステロイド薬の第 II 相治験 (研究開発代表者: 石垣景子 (東京女子医科大学))」・研究開発分担者、R4～R6
- 3) 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、R4～R6
- 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、R3～R5
- 5) 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)」・研究開発協力者、R3～R5
- 6) 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、R5
- 7) 厚生労働省医薬局医薬品審査管理課、「リアル

ワールドデータ活用促進事業（研究代表者：中込和幸）」・共同研究者、R5

結果

筋ジストロフィーの臨床開発推進に資する IT プラットフォーム構築及び品質マネジメント体制整備に関する現状調査及び分析、課題の抽出及び改善策の検討：

患者登録システム (Remudy)・KIBAN (基盤部分) は、DMD を中心に疫学情報、治験の実施可能性調査、被験者リクルートなどにおいて一定の成果が得られているものの、登録率や情報更新率の伸び悩みがみられる。現在の Remudy の登録システムは患者起点の形式であるが、情報の正確性を担保するために初回登録、ならびに更新ともに主治医の協力が必須であることが伸び悩みの一因と思われる。また、Remudy-DMD (2 階建て部分) においては、医薬品の条件付き早期承認制度に基づく、製造販売後の長期有効性・安全性情報の収集に資するレジストリとして運用しているが、参加医療機関で原資料を作成・保管し、それに基づく EDC 入力によりデータを収集していることから、医療現場の原資料マネジメントやデータ入力の業務負荷が大きく、症例登録伸び悩みの一因となっている。また、モニタリングやデータマネジメント等の品質マネジメントにおいても、COVID-19 感染拡大の中で制限していた施設モニタリングを複数医療機関 (NHO あきた病院、NHO 箱根病院、NHO 長良医療センター、NHO 大阪刀根山医療センター、兵庫医科大学、愛媛大学、国立成育医療研究センター) で実施しているが、各研究責任者・分担者の努力による信頼性担保が確認できているものの、実際に医療現場の業務負荷やその軽減策としてのデータ入力支援者の派遣を望む声等の課題も抽出できており、モニタリングやデータマネジメントの担当者の業務負担も大きく人的リソースの確保も課題である。

筋ジストロフィーの臨床開発推進には、疾患レジストリである Remudy・KIBAN (基盤部分) 及び Remudy-DMD (2 階建て部分) において、EDC と同じ Web 入力をベースとするも“eSource”の考えを採用した Web によるデータ収集システムや、

医療機関を介さずに直接患者さんや介護者から患者日誌や QOL 等に関する情報を収集する ePRO システム等の IT プラットフォームの採用を検討すべきである。また、品質マネジメント体制に関しては、AMED・令和 5 年度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 の概念に関する研究者及び研究支援者への教育研修に係る研究」研究班 (研究開発代表者：小居秀紀) でも議論しているが、治験・臨床研究における QMS による体制整備、並びに、QbD の構築と、それに基づく RBA の実装に基づく質管理活動 (モニタリング、データマネジメント等) の体制整備を実施する必要がある。

【学会等での発表 (シンポジウム・国内)】

1. 小居秀紀 ほか、AMED「臨床研究中核病院以外の医療機関に対する QMS/RBA に関する教育研修」研究班活動報告～アンケート調査結果 (医療機関用) ～、日本臨床薬理学会学術総会、神戸、2023 年 12 月、口頭発表
2. 小居秀紀 ほか、AMED「臨床研究中核病院以外の医療機関に対する QMS/RBA に関する教育研修」研究班活動報告～アンケート調査結果 (研究者・研究支援者用) ～、日本臨床試験学会学術集会総会、大阪、2024 年 3 月、ポスター発表
3. 木村基、小居秀紀、支援委員会活動報告. 第 5 回レジストリフォーラム、2024 年 2 月、東京
4. 小居秀紀、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研修、独立行政法人国立病院機構 (NHO) 令和 5 年度臨床研究センター長・部長新任研修、Web セミナー形式、2023 年 6 月
5. 小居秀紀、臨床研究・治験の品質マネジメント～AMED 研究班 (QMS 教育) の活動を中心に～、精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーの臨床開発推進の基盤整備」研究班会議、2023 年 12 月

考察

筋ジストロフィーの臨床開発推進に資する IT プラットフォーム構築及び Regulatory grade での品質マネジメント体制整備及び信頼性担保方法論に関する課題や、抽出された課題に対する改善策の検討と、実践に向けた要件定義が必要である。

具体的には、まず、Remudy・KIBAN（基盤部分）において、“eSource”の考えを採用した Web によるデータ収集システムや、医療機関を介さずに直接患者さんや介護者から患者日誌や QOL 等に関する情報を収集する ePRO システムによる IT プラットフォームを構築する。また、その際には、その IT プラットフォームにおけるコンピューター化システムバリデーション（CSV）への対応等の QMS 体制を整備し、並行して、QbD の構築と、それに基づく RBA の実装に基づく質管理活動の体制を整備する。

結論

令和 5 年度の本検討課題の成果として、患者登録システム（Remudy）・KIBAN（基盤部分）、並びに、Remudy-DMD（2 階建て部分）において、現状把握と課題抽出を行った。特に Remudy-DMD において、医療現場の原資料マネジメントやデータ入力の業務負荷が大きいことが症例登録伸び悩みの一因となっている点は、今後の改善が必要と思われる。

今後の筋ジストロフィーの臨床開発推進には、例えば、疾患レジストリである Remudy・KIBAN（基盤部分）及び Remudy-DMD（2 階建て部分）において、“eSource”の考えを採用した Web によるデータ収集システムや、直接患者さんや介護者から患者日誌や QOL 等に関する情報を収集する ePRO システム等の IT プラットフォームの採用が必要と考える。

また、品質マネジメント体制に関しては、治験・臨床研究における QMS による体制整備、並びに、QbD の構築と、それに基づく RBA の実装に基づく質管理活動（モニタリング、データマネジメント等）の体制整備が必要と考える。

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) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.
- 7) 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.

- 8) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課、「レジストリ又は医療情報データベースのデータを医薬品の承認申請、再審査等申請に利用する場合の信頼性担保に係る留意点に関する質疑応答集(Q&A)」について、事務連絡：令和4年9月14日.

超希少疾患を対象とした臨床試験における統計的デザインの検討

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

【緒言】

本研究の3年間の目標は、超希少疾患を対象とした複雑で革新的な臨床研究デザイン（超希少疾患 Complex innovative design (CID)）の整理および筋ジストロフィー研究デザインの現状をまとめ、今後有望な柔軟な研究デザインの提案を目指すことである。

【方法】

初年度の2023年度はCIDに分類される柔軟な臨床研究デザインの方法および実用例をレビューした。同時に、筋ジストロフィー研究で採用された研究デザインの方法をまとめ研究会で共有した。さらにN-of-1デザインに関連する文献、システムティックレビューを中心に調査した。

【結果】

複雑で革新的なデザインとしてリアルワールドデータの活用、アダプティブデザイン、バイオマーカーで層別する試験のほかに、超希少疾患では以前から知られているN-of-1デザインが注目されている。

N-of-1デザインは新治療T、対照治療Rを繰り返し一人の被験者に割り付け、個人内で治療効果を推定するクロスオーバー法である。ランダム化の要素を取り入れる場合には、新治療先行(T-R)、対照治療先行(R-T)のいずれかを1人の患者の各サイクルに割り付けることになり、例えば2サイクル連続で新治療先行が割り付けられれば受ける治療順はT-R-T-Rとなる。被験者が複数いる場合

はメタアナリシス手法で統合効果を推定することができ、ベイズ法の適用が議論されていた。

Stunnenbergらによる神経疾患領域のN-of-1デザインのシステムティックレビューでは、95%が有効性評価に用いられていた。また神経疾患領域では、神経筋疾患35%、神経変性・運動障害25%、発作性神経疾患5件、睡眠障害2件、心的外傷疾患5件が報告されていた。介入の種類は薬理学的介入が85%、電気刺激12%、栄養介入が1件であった。大半が慢性期対象であったが、急性期または進行性の病態を対象とした研究は、22%報告された（パーキンソン病のジスキネジア、日中の経眠、アルツハイマー病のアパシー、多発性硬化症の疼痛、脳卒中後の手指機能など）

その他解説文献も含めN-of-1の特徴をまとめると、適した状況は以下の通りであった：短期間の介入、速やかな評価、盲検化、ウォッシュアウトが可能。不適切あるいは治療効果の推定が困難な状況は以下にまとめられた：効果のウォッシュアウトが不可能な介入（遺伝子治療等）、可逆的でない副作用が生じる介入、毒性が蓄積する介入、進行の早い疾患（状態がサイクルごとに変化してしまう）。それ以外に、大きな治療効果が観察された場合は有効中止ができるよう計画する必要があると報告されていた。

統計解析の手法には典型的なクロスオーバー試験と同様、混合効果モデルが多く用いられていた。十分な症例数の確保が困難なことを鑑みると、ベイズ流の手法を用い臨床的に意味のある差に対する事後確率で議論することが適していると考えられた。

【考察】

本検討を通じ、リハビリテーションや医療機器といったメカニズムがある程度明確かつ速やかな効果が表れる状況に適したデザインだと考えられた。また、エンドポイントに関しては速やかに測定できるという性質から生理学的指標やデジタルバイ

オマーカーとの相性が良いと考えられた。
国際的に事例が少なく、また介入によって注視すべき評価指標も異なると考えられるため、次年度以降も、事例に基づくの情報収集が重要と考えられた。また、統計学的なモデル、デザインパラメータの検討、解析上の利点と欠点の検討を行う。

引用文献 : Stunnenberg BC, et al. 2022. N-of-1 Trials in Neurology: A Systematic Review. Neurology.

本年度の研究業績

【原著論文】

なし

【総説】

なし

【著書】

なし

【学会発表】

なし

【講演会、一般向けシンポジウムなど】

なし

デュシェンヌ型筋ジストロフィー心筋症に対する ACE 阻害薬開始時期の検討

国立精神・神経医療研究センター病院
循環器科 瀬川和彦

1. 緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー(DMD)の心筋症に対する根本的な治療法は確立しておらず、一般的に進行は非可逆性であることから、早期の薬物治療開始が推奨されている。

2. 目的

10歳のLVEF>55%のDMD患者に対し、LVEF<55%でアンジオテンシン変換酵素(ACE)阻害薬を開始したときと10歳からACE阻害薬を開始したときの5年後の心機能を評価すること

3. 方法

10歳のLVEF>55%のDMD患者を対象とし、LVEF<55%でACE阻害薬を開始した15例(Group A)と10歳でACE阻害薬を開始した7例(Group B)の5年後にLVEF<45%となった患者の割合をカイ二乗検定で比較した。LVEFは心エコーによりTeichholtz法で計測した。

4. 結果

5年後にLVEF<45%となった例はGroup Aで2/15例(13%)、Group Bで1/7例(14%)で両群間に差を認めなかった(p=0.95)。

5. 考察

DMD患者の多くは10歳代でLVEFの低下を認め、一部の患者は進行して心不全で死亡する。2010年、Bushbyらは心エコーで左室機能の異常を認めた場合は年齢に関係なく薬物治療を開始し、第一選択薬はACE阻害薬とすることを提唱した¹⁾。2018年、Birnkrantらは、左室機能に関係なく10歳までにACE阻害薬またはアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)を開始することを推奨した²⁾。当施設では、2011年より、左室駆出率(LVEF)<55%になったときにACE阻害薬とβ遮断薬を開始していたが、2018年より、10歳からACE阻

害薬を開始し、LVEF<55%になったときにβ遮断薬を追加する方針に変更した。10歳のDMD患者について、5年後のLVEFを評価したところ、両群間に差を認めなかった。症例数が少なかったことと、DMD患者のLVEF低下は、10歳から20歳の間に認められることが多いことから、20歳までフォロー・アップすることが望ましいと考えられた。

6. 結論

10歳のDMD患者に対し、LVEF<55%でACE阻害薬を開始した場合と、10歳から開始した場合で、5年後のLVEF<45%となった割合に差を認めなかった。

ACE阻害薬の早期投与開始の効果を評価するためには、さらに長期のフォロー・アップが必要と考えられた。

参考文献

- 1) Bushby, Katharine, et al. "Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: implementation of multidisciplinary care. " *The Lancet Neurology* 9.2 (2010): 177-189.
- 2) Birnkrant, David J., et al. "Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management. " *The Lancet Neurology* 17.4 (2018): 347-361.

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの臨床評価とウェアラブル機器を用いた探索的研究

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 竹下絵里

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 矢島寛之、藍原由紀、亀谷柚月

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

【諸言】

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の臨床開発が進む中で、6分間歩行テスト、North Star Ambulatory Assessment (NSAA) など病院の特殊な環境での評価だけでなく、日常生活での運動機能を反映した指標としてウェアラブル機器を用いた研究が注目されている。多施設共同研究「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」では、Actigraph GT9X (アクチジャパン社) を用いて運動量、運動強度、座位時間について評価し、運動強度は52週後以降に有意に低下し、座位時間は130週後に有意に延長することが明らかになった。

【方法】

DMD の患者を対象とする臨床評価とウェアラブル機器を用いた探索的研究の意義、課題について検討し、研究計画を立案する。

計画①：ウェアラブル機器を用いた DMD の動作解析

計画②：ウェアラブル機器を用いた DMD のモニタリング、健康管理

計画③：姿勢推定技術を用いた動作解析システムの構築

計画④ AI を用いた運動機能評価法の自動判定システムの構築

【結果】

①については、小型、軽量、コスト面などからウェアラブル機器として AMWS020B (ATR-Promotions) を選定し、DMD の比較対象として、同年齢の健康な男児、脊髄性筋萎縮症 (SMA) の患者を設定した。装着部位は胸部および腰部とし、10m 走行歩行、床からの立ち上がりを実施し、DMD の Waddling gait、Gowers' sign の特徴を解析する。

②については、ウェアラブル機器として Apple Watch を数名が日常生活の中で装着し検証した。病院以外のさまざまな環境や場面での運動量、運動強度、バイタルサ

イン等の測定が簡便に実施できる可能性が示唆され、将来的に DMD 患者を対象に、日常生活でのモニタリング、健康管理を行う。

③については、過去の DMD の動作解析で用いられている VICON などの光学式モーションキャプチャは、機材が非常に高額、解析に高度な専門知識を有する、設置した場所でしか評価できない、複数の関節にマーカーを貼付する必要があるなどの課題があった。姿勢推定技術 (AnyMotion (NTT コミュニケーションズ)、3D TOF (ATR 社) など) を用いて、今後バリデーションの検証を行い、マーカーレスで日常での動画を評価するシステムを構築し、DMD の動作解析を行う。

④については、10m 走行歩行時間、床からの立ち上がり時間、NSAA、Performance of the upper limb (PUL) などの運動機能評価法は、正確な評価を実施するには熟練やマンパワーが必要であり、日常診療で実施するには手間や時間を要するため、広く実施されてはいない。一定の条件で撮影した動画をもとに AI を用いた画像解析でまずは Brooke score など撮影のしやすい評価法から DMD の運動機能評価法を自動判定するシステムを構築する。

【考察】

従来の DMD の臨床評価にはさまざまな課題があり、AMWS020B などのウェアラブル機器、AnyMotion、3D TOF などの次世代技術を用いた探索的研究は今後のアウトカムメジャーとして、診療や臨床開発に有益である可能性が示唆された。今後、研究計画書を確定、倫理申請を行い、来年度は実際の評価を開始する。

【結論】

ウェアラブル機器、次世代技術を用いた DMD の臨床評価は今後のアウトカムメジャーとして期待でき、探索的研究を実施予定である。

【参考文献】

- 1) Kidziński L, Yang B, Hicks JL, Rajagopal A, Delp SL, Schwartz MH. Deep neural networks enable quantitative movement analysis using single-camera videos. Nat Commun. 2020 Aug 13;11(1):4054.
- 2) Ricotti V, Kadirvelu B, Selby V, Festenstein R, Mercuri E, Voit T, Faisal AA. Wearable full-body motion tracking of activities of daily living predicts disease trajectory in Duchenne muscular dystrophy. Nat Med. 2023 Jan;29(1):95-103.

筋ジストロフィーの臨床開発における疾患登録の効率的運営と薬事制度下での有効活用の検討

中村治雅

臨床研究支援部

病院 臨床研究・教育研修部門

国立精神・神経医療研究センター

緒言

臨床開発研究基盤として、特に希少疾患領域における患者レジストリの有用性については疑う余地がない。

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、患者自身による登録への関与、PPIの推進、さらにはDecentralized Clinical Trial(DCT)との連携を目指して、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へ向けて、これまでのRemudyの疾患横断的運用、DM事務局の移行、Remudyに続き薬事制度下での活用を目指してのRemudy-

DMDの構築の経験も踏まえて、以下を行う。

令和5年度：Remudyでの統合的運用の実施可能性踏まえた検討

令和6年度：新たな疾患レジストリの統合的運用の計画策定、試行

令和7年度：筋ジストロフィーレジストリの統合的運用

結果

Remudy委員会開催し、これまでのRemudyの課題と今後の方向性について検討した。また、それらの結果も踏まえて、本研究班の班会議、続く施設代表者会議においても議論を継続した。より幅広く登録可能にするための疾患拡大に着手できていないこと、現行Remudy及びRemudy-DMDにおいて、患者、事務局、登録医師等における負担が増大しており、今後の登録数の増大、効率的運用が難しくなっている。

今後の方向性として、

ガバナンス体制はCCNMDの元で運用を継続するものの、今後は学会等の関与も考えること
運用をより効率的に継続性を持って行うために、運用部分の法人化も視野に入れること

Remudy委員会での合意を得て進めるコアメンバーによる実行、決定をすること

可能な限り、疾患内での研究を拡散させず、共通化を目指すこと

登録情報の収集においては、特に基礎的情報については、原則としては患者自身での登録、更新が可能にすること

医療施設での評価、検査値等については、研究機関において収取すること

などを話し合った。

また薬事制度での活用においては、Remudy-DMDから日本新薬への製造販売後データベース調査の一環としてのデータ提供を、NCNP内での委員会（治験に係る受託共同研究審査委員会）等での審査も踏まえて実施することで手順を整えた。

考察

本年度に行った課題とそれの解決に向けた方向性について整理し、具体的にRemudyの再構築に

に向けた活動を行う。レジストリ運用体制の構築(全体のガバナンス像、疾患レジストリ運営の構造、運用効率化に向けた法人化の検討も含む)、疾患を拡大した際のレジストリ構築の全体像の提示、レジストリ登録項目の決定、これらを含めた研究実施計画書案の作成に着手する。

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. Fujino H, Takahashi MP, Nakamura H, Heatwole CR, Takada H, Kuru S, Ogata K, Enomoto K, Hayashi Y, Imura O, Matsumura T. Facioscapulohumeral muscular dystrophy Health Index: Japanese translation and validation study. *Disabil Rehabil.* 2024 Mar 31:1-10. doi:10.1080/09638288.2024.2322035.
2. Nabbout R, Zanello G, Baker D, Black L, Brambilla I, Buske OJ, Conklin LS, Davies EH, Julkowska D, Kim Y, Klopstock T, Nakamura H, Nielsen KG, Pariser AR, Pastor JC, Scarpa M, Smith M, Taruscio D, Groft S: Towards the international interoperability of clinical research networks for rare diseases: recommendations from the IRDiRC Task Force. *Orphanet J Rare Dis.* 2023 May 9;18(1):109. doi: 10.1186/s13023-023-02650-4.
3. 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.

Remudy 登録例のキュレーションおよび遺伝学的解析

西野一三

国立精神・神経医療研究センター

緒言

遺伝性筋疾患は、希少である一方で、原因となる遺伝子の数が多く、更にはしばしば原因遺伝子が巨大である。そのため、商業的な遺伝学的解析サービスが提供されていない疾患も少なくない。一方で、変異特異的な筋ジストロフィーの新規治療法が開発されつつあることから、遺伝学的診断を確定することが急務である。また、Remudy 登録時に遺伝学的診断が正確であること、確定されていることは、Remudy の運営、データベースの構築、臨床試験のリクルートにおいて非常に重要である。Remudy 登録時の遺伝学的診断のキュレーション、疾患遺伝子データベース構築、未確定診断例の解析による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

Remudy 対象筋疾患(ジストロフィノパチー、GNE ミオパチー、および、FSHD)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った。また、未診断例の診断確定、変異の病的意義の検討、病態解明を目的に、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]

国内例に関しては、公益財団法人かずさ DNA 研究所で保険診療下において DMD 遺伝子全シークエンスを行うことが可能となったため、筋病理診断で診断が確定した BMD/DMD の内、MLPA 法、サンガーシークエンス法、次世代シークエンサーによる DMD ターゲットリシークエンス法にて変異が同定できなかった例に対し RNA-seq を行い、変異の同定を行い、結果を解析した。また、海外例に対しては、DMD 遺伝子全シークエンスを行った。

[GNE ミオパチー]

国内例に関しては、公益財団法人かずさ DNA 研究所で保険診療下において GNE 遺伝子全シークエンスを行うことが可能となったが、まだ広く周知されていない。また臨床症状のみでは鑑別困難な例もある。当センターでは筋生検を行った例全例を対象に、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 (HM パネル)を作成し、パネルシークエンスを実施した。また臨床的に GNE ミオパチーが疑われ、当センターに依頼があった例に対しても、同パネルシークエンスを実施した。さらに、片側のみに病的バリエーションが見つかった例、および、ホモ接合体を対象に、CNV 解析、および、中国で見つかった deep intron variant 解析目的に GNE パネルを施行した。

[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クエンサーを用いた解析の手法を確立した。

結果

[ジストロフィノパチーの解析実績]

2023 年度は外国人例 12 例、日本人例 5 例に対し、DMD 遺伝子解析を行った。

[ジストロフィノパチー研究実績]

日本人 5 例の未解決例のうち、2 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。また残りの 3 例では、相互転座によるジストロフィン発現低下を確認し、5 例とも遺伝学的診断を確定した。

[GNE ミオパチーの解析実績]

2023 年度、HM パネル・GNE パネルで GNE ミオパチーと遺伝学的に診断が確定した例は日本人例 8 例、外国人例 2 例の合計 10 名であった。

[GNE ミオパチー研究実績]

W.Zhu らが新たな deep intron variant を 2023 年 5 月日本神経学会で報告したため、従来の方法では GNE 病的バリエーションが 1 つしか見つかっていなかった例全例に網羅的に調べたところ、日本人例 2 例、外国人例 1 例で同バリエーションを認め、GNE ミオパチー患者の診断が確定した。

[FSHD の解析実績]

2023 年度 174 例の FSHD 遺伝学的解析を行った。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 7 症例を対象に 4qA ハプロタイプの解析を行った。

[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は、RNA-seq、全ゲノム解析、ロング

リードシーケンスを組み合わせることで遺伝学的に未解決なジストロフィノパチーのほぼ全例で原因を同定することができた。今後このような例では同様に変異を同定する方針である。

[GNE ミオパチー]

GNE ミオパチーのシアル酸補充療法が承認され、早期の遺伝学的診断確定は責務であり、引き続き CNV や deep intron variant の解析を行う。また、Remudy - GNE10 年間のデータをまとめ、発症年齢が歩行喪失までの年数の予測因子になること、呼吸機能低下が主に歩行を喪失した p.V603L ホモ接合体で見られることを報告した（森まどか先生との共同研究、森先生報告書参照）が、引き続きキュレーション、および、Remudy 登録によるデータ蓄積を行う。

[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ている。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 3 例に RNA-seq を用いることで変異を同定することができた。GNE ミオパチーの診断未確定例に、新たに報告された deep intron variant のスクリーニングを行い、3 例で診断が確定した。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、筋疾患患者の遺伝子解析システムの保険収載、および、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

特になし

筋ジストロフィーの臨床開発推進にむけた身体機能評価に関するエビデンス構築を目指した研究

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 西田大輔
宮崎裕大

緒言

近年、デュシェンヌ型筋ジストロフィーに対するエクソスキップ薬など革新的な新規治療薬が開発、導入されている。これらの背景から、身体機能の向上に注目が集まっている。そのため、筋ジストロフィー患者に対する最適なリハビリテーションの構築のために、最適な評価指標の構築と図るとともに、治療薬の効果を最大限に発揮するためのリハビリテーション手法の開発に努める。

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) 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) や 9 ホールペグテスト、Brooke Scale(Brooke)、握力、上肢運動機能障害分類などの自然的経過についてデータを取得し、半年おきに 2 年間経過を観察する。
- 3) DMD の上肢機能評価には一般的に 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。
- 4) DMD における重症度分類は、患者の機能予後や生命予後の評価に大きな役割を果たしている。日本国内では厚生省研究班による機能障害新分類が一般的に使用されている。一方海外では主に Vignos scale や Swinyard らによる機能障害段階が存在するが、これらの分類は、移動能力や姿勢保持機能の程度に基づいて患者をいくつかのカテゴリーに分けることを目的としている。しか

しながら、これらの分類は作成から時間が経過しており、必ずしも現状における DMD 患者の実態に即した分類になっているとは言えない可能性があるため、その実態把握と新たな分類の作成について検討した。

結果および結言

- 1) DMD 患者を①完全実施群：在宅立位訓練を 15 分/日、週 3 回以上かつ 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。
- 2) UMIN000046838 として UMIN に研究登録をした。現在 16 名の患者を登録した。
- 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。
- 4) 当院で 2017 年以降に理学療法の実施歴のある DMD379 例 (平均年齢 18.9 ± 9.9 歳、死亡 21 例と転医 14 例を含む) での分布は階段昇降可能 112 例、歩行可能 25 例、座位可能 106 例、座位不能 96 例と従来の分類では分布が不均等になるという問題があった。

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。本内容は、Prog

Rehabil Med に掲載された。

2) 現在、データ取得中である。100 例の登録をめ
ざす。

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。本件は現在投稿中である。

4) 前述の課題を踏まえ、現在の機能障害分類を見
直し、より現状に適した重症度分類の検討が必要
である。下肢運動機能に特化した指標として
North Star Ambulatory Assessment が汎用され
ているが、この評価は時間がかかることなど、デ
メリットもある。一方で、重症度新分類は、現状に
おける DMD 患者の下肢運動機能を反映している
とは必ずしもいえないと考えている。そのため、
リハビリテーション治療方針の決定や機能予後予
測に直結しづらいという課題がある。今後は、新
しい重症度分類を作成し、リハビリテーション治
療方向の決定に重要な運動能力や機能のマイルス
トーンを明らかにしていきたい。

研究成果（原著論文、学会発表、政策提言）

1. Fujimoto A, Mizuno K, Iwata Y, Yajima H, Nishida D, Komaki H, Ishiyama A, Mori-Yoshimura M, Tachimori H, Kobayashi Y. Long-term Observation in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy with Early Introduction of a Standing Program Using Knee-ankle-foot Orthoses. Prog Rehabil Med. 2023 Oct 28;8:20230038.

2. 上村 亜希子, 山野真弓, 佐々木俊輔, 樋口
彩花, 大澤朋幹, 宮崎裕大先生, 原貴敏, 小牧宏文、学
齢期デュシェンヌ型筋ジストロフィー患者の生活
に関する調査、第 77 回 国立病院総合医学会 広
島、2023/10、ポスター session

3. 樋口彩花, 上村亜希子, 佐々木俊輔, 大澤
朋幹, 山野真弓, 宮崎裕大, 原貴敏, 小牧宏文、当院外
来通院中のデュシェンヌ型筋ジストロフィー
(DMD) 患者の就労状況に関する報告、第 77 回 国
立病院総合医学会 広島、2023/10、ポスター
session

4. 宮崎裕大, 上村亜希子, 山野真弓, 萩原和
樹, 西田大輔, 竹下絵里, 小牧宏文, 水野 勝広, 辻哲也,
安保雅博、DMD 患者における上肢運動機能障害
度分類の併存的妥当性の検討、第 77 回 国立病院
総合医学会 広島、2023/10、口答

筋疾患に対する腱延長術と Hybrid Assistive Limb (HAL) の小経験

総合外科部整形外科 松井彩乃

【はじめに】神経筋疾患の多関節拘縮に対する軟部組織手術は、関節可動域改善が利点ながら、利便性の高い代償運動を大きく変化させ、筋力低下と相まって肢の機能損失のリスクを生じることから慎重に行う必要がある。術後の損失を防ぎ十分な効果を得るには、慎重な術式選択および術式の利点を生かした適切な学習による随意運動協応の獲得が重要である。

今回整形外科軟部組織手術に続き Hybrid Assistive Limb (以下 HAL) 歩行運動学習を実施し、術後1年時に活動性拡大を維持した症例を経験したので報告する。

【症例】21歳男性、Emery-Dreifuss型筋ジストロフィー、両下肢拘縮。元来歩行可能で会ったが、成人期に差し掛かり尖足が進行し歩行困難となった。初診時、両アキレス腱短縮による尖足のほか、両股関節、両膝関節の拘縮が見られた。下肢粗大筋筋力はMMT3+と保たれており、尖足が改善すれば歩行可能との判断がなされ、手術を実施することとなった。

手術は、両側縫工筋筋膜切開、両側内転筋筋膜切開、両側ハムストリングス筋腱移行部での筋間腱延長、両側アキレス腱延長術(Hoke法)を実施した。足関節背屈は代償歩行の維持を目的として0°までに制限をした。術後はAKギプス固定を3週行い、以後BKギプスにて立位保持練習より開始。長下肢装具にて膝足関節伸展位保持時間を確保するとともに、短下肢装具にて立位歩行を実施。安定した立位保持を獲得し、片脚立位保持練習とともに歩行練習を開始。懸垂下トレッドミル歩行トレーニング(BWSTT)を実施。装具オフで短距離独歩可能となったところでHALを実施するためA病院転院となった。

A病院では4か月入院し集中的にHALトレーニングを実施。自覚的に「歩行が上手になった」感

覚が得られ、歩幅は0.49m/歩から0.55m/歩に改善、2分間歩行距離は88.2mから95.3mに延長した。歩容は立脚期支持が安定し下肢振り出しが大きくなり、体幹過伸展による代償姿勢が改善した。

【考察】Emery-Dreifuss型筋ジストロフィーは1966年にEmeryとDreifussにより報告され、緩徐に進行する筋力低下、関節拘縮、心伝導障害を特徴とする。関節拘縮は肘、足関節、脊椎にみられ、足関節では尖足を生じる。歩行機能が比較的長期に保たれるため、尖足に対する手術は許容される(Shapiro, 1991)

手術前は尖足のため踵接地が得られず、特に右側は強い尖足のため、立脚期の左下肢振り子運動が得られず、下肢の前方への振り出しが見られなかった。術後BWSTTでは両側股関節・膝関節の伸展、踵接地が得られ、下肢運動は安定した倒立振り子運動が得られた。HALによる反復歩行運動学習後は倒立振り子運動をよりスムーズかつ大きく行えるようになり歩幅の増大と2分間歩行距離延長に繋がったと考えられる。

【まとめ】進行性神経筋疾患に対して、予後予測と適切な術式検討、術後の十分なリハビリテーションにより歩行能力の維持拡大が得られることが確認された。術後リハビリとしてのロボットスーツHALにおいても歩行の安定性向上、パラメータ改善に寄与する可能性がある。

神経筋疾患の National database を用いた疫学研究，並びに自然歴研究

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，希少難治性疾患に該当する．近年，神経筋疾患では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おり，早期診断と治療開始の重要が認識されている．本邦の患者数を把握することは治療を十分に浸透させるためにも必要であるが，一方で本邦の希少難治性神経筋疾患の正確な患者数は分かっていない．

National database (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，悉皆性が高い疫学データが得られることが期待される．また，自然歴に関する情報が得られる可能性がある．

【方法】NDB 特別抽出データを用いた後ろ向き研究となり，NDB を用いて患者数調査を行う．また，使用されている医薬品，診療行為に関するデータも収集し，現在の診療実態を把握する．

【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．2021 年度には厚労省へ NDB データ利用申請を行ない，2021 年 10 月 29 日付で無条件承諾の通知を受領した．2022 年度には NDB を用いた研究の実施

に関する規定を整備した．2023 年 8 月に NDB データを受領し，現在データの公表確認作業を進めている．

【考察】現段階では各疾患の有病者数を解析している．今後，医薬品や診療行為に関するデータも解析する予定である．NDB は匿名レセプト情報・匿名特定健診等情報データベースであり¹⁾，疾患に関する調査・提言を行う上で重要な情報源である．バイアスとしては，実際にその者が疾患を持つかどうかと，電子カルテから抽出・推定可能な疾患情報にはどうしてもずれがあり，その差が情報バイアス（誤分類）と考えられるが，専門家としての疾患についての知識から蓋然性の高い定義を作成する予定である．また，今後，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．

【結論】NDB を利用することで，悉皆性が高い疫学データや，診療実態に基づく神経筋疾患の自然歴に関する知見が得られる可能性がある．

【参考文献】

1)https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/iryuuhoken/reseputo/index.html

Remudy登録GNEミオパチー患者における10年間の観察研究

国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 疾病研究一部 吉岡和香子、同
病院 臨床研究・教育研修部門 臨床研究支援
部 中村治雅
同 病院 脳神経内科 森まどか

A. 緒言

GNE ミオパチーは、シアル酸生合成の重要な酵素をコードする GNE 遺伝子を原因遺伝子とする常染色体潜性遺伝形式の遠位型ミオパチーである[1]。シアル酸生合成の低下が筋力低下の原因と考えられ、モデルマウスではシアル酸補充療法の有効性が示された[2]。この結果を受け複数の臨床試験が行われてきたが、現時点では承認された治療法はない[3, 4]。また超希少疾患であり、長期にわたる大規模な観察研究がなく、進行や合併症に関する知見が不足している。

我々は 2012 年より Remudy (Registry of muscular dystrophy : 神経・筋疾患患者登録) で遺伝・病理学的に確定された GNE ミオパチー患者の登録事業を行い、2014 年に横断研究として発表した[5]。本研究の目的は、登録開始後 10 年分のデータを用いて、罹病年数に応じた歩行能力、遺伝子型・表現型相関、合併症をまとめ、患者の将来の疾患進行予測や臨床試験計画に有用な情報を明らかにすることである。

B. 研究方法

神経・筋疾患患者登録(Remudy)に登録中の GNE ミオパチー患者 220 例 (男性 86 例、女性 134 例) の 2013 年の登録開始からの登録情報および年次更新情報 (年齢、性別、初発症状、合併症、遺伝子検査結果、%肺活量、歩行の可否、車椅子使用年齢、歩行喪失年齢、握力、クレアチンキナーゼ(CK)値) を解析した。また頻度の高い遺伝子変異ごとに表現型を比較した。

C. 研究結果

①患者特性: 男性 86 (39.1%)、女性 134 (60.9%)、血族婚あり 9.5%、発症年齢は 28.8±9.8 歳(12-62、n=219)、初発症状は歩行障害 54%、転倒 44%、階段昇り困難 17%、走行困難 6%、上肢筋力低下 6%であった。平均装具使用年齢、車椅子利用年齢、歩行喪失年齢は 37 歳、43 歳、58 歳 (発症後 35 年) であった。合併症は高血圧 8.2%、糖尿病 6.4%、高脂血症 4.1%、血小板減少症 3.2%

であった。CK 値は最大 2295IU/L であった。発症 10 年以上の患者においては、p.D207V/p.V603L 複合ヘテロ接合体では 17.4%(4/23 例、観察期間中央値 21.5 年)で呼吸機能が低下していたが、p.V603L ホモ接合体例は 67.9%(19/28 例、観察期間中央値 24.5 年)で呼吸機能が低下していた。また呼吸機能低下例はほとんどが歩行不能例であった。人工呼吸器使用開始年齢は発症後 42.7±3.9 年であった。

②遺伝子検査結果: 遺伝子変異はホモ接合 25%、複合ヘテロ接合 73%、ヘテロ接合 2%、頻度の高い遺伝子型は p.D207V / p.V603L 25.5%、p.V603L ホモ 21.8%、p.D207V / p.V603L 以外の複合ヘテロ接合 27%、p.V603L/p.D207V 以外の複合ヘテロ接合 14%であった。

p.V603L ホモ接合体 (n=48) は、Kaplan -Meier 解析により発症から歩行不能までの罹病期間が 10 年(中央値)と推定された。一方、p.D207V/p.V603L 複合ヘテロ接合体では、90%以上が発症から 20 年後でも歩行可能と推定された。

D. 考察

本研究の結果は、日本人患者、特に p.D207V/p.V603L 複合ヘテロ接合体および p.V603L ホモ接合体の疾患進行予測に有用である。特に歩行困難な患者では、呼吸機能をモニターする必要性が示された。また、希少疾患の臨床試験においては統計学的有意性を達成することがしばしば困難であり、シアル酸徐放錠の試験では試験間の結果の相違が問題となったが、遺伝子型に基づいた患者割り付けが重要であると考えた。

E. 結論

GNE ミオパチーでは遺伝子型により重症度・予後に差がみられる。発症後長期経過した GNE ミオパチー患者では呼吸機能の評価・治療が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1.論文発表 : Madoka Mori-Yoshimura, Naoki Suzuki, Masahisa Katsuno, Masanori P Takahashi, Satoshi Yamashita, Yasushi Oya, Atsushi Hashizume, Shinichiro

Yamada, Masayuki Nakamori, Rumiko Izumi, Masaaki Kato, Hitoshi Warita, Maki Tateyama, Hiroshi Kuroda, Ryuta Asada, Takuhiro Yamaguchi, Ichizo Nishino, Masashi Aoki : Efficacy confirmation study of aceneuramic acid administration for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis*. Free PMC article. 2023 Aug; 18 (1) : 241

2. 学会発表

① Wakako Yoshioka, Madoka Mori-Yoshimura, Nobuyuki Eura, Yoshihiko Saito, Yasushi Oya, Shinichiro Hayashi, Noriko Sato, Satoru Noguchi, Ichizo Nishino : A large cohort study of muscle imaging in GNE myopathy : Progression profile and diagnostic tips to distinguish from other distal myopathies. *World Muscle Society 2023 Virtual Congress*. 20231003-1007. Charleston South Carolina USA

② Madoka Mori-Yoshimura : Clinical characteristics and differential diagnosis of GNE myopathy. 第 64 回日本神経学会学術大会. 東京 : 20230603

H. 参考文献

[1] 1. Noguchi S, Keira Y, Murayama K, et al. Reduction of UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase activity and sialylation in distal myopathy with rimmed vacuoles. *J Biol Chem* 2004;279:11402-7.

[2] Malicdan MC, Noguchi S, Hayashi YK, et al. Prophylactic treatment with sialic acid metabolites precludes the development of the myopathic phenotype in the DMRV-hIBM mouse model. *Nat Med* 2009;15:690-5.

[3] Suzuki N, Mori-Yoshimura M, Katsuno M, et al. Phase II/III Study of Aceneuramic Acid Administration for GNE Myopathy in Japan. *J Neuromuscul Dis* 2023;10:555-66.

[4] Mori-Yoshimura M, Suzuki N, Katsuno M, et al. Efficacy confirmation study of aceneuramic acid administration for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis* 2023;18:241.

[5] Mori-Yoshimura M, Hayashi YK, Yonemoto N, et al. Nationwide patient registry for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis* 2014;9:150.

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの舌萎縮が嚥下に与える影響に関する研究

班員 山本敏之

国立精神・神経医療研究センター病院
脳神経内科，嚥下障害リサーチセンター

緒言

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー(FSHD)では、舌が萎縮し、構音障害や嚥下障害を認めることがある一方で、進行期にも経口摂取を継続していることが多い。FSHD患者の舌萎縮が嚥下に与える影響を検討することを目的とした。

方法

2005年8月から2023年7月までの間に当院で嚥下造影検査(VF)を実施したFSHD1患者47人[女性31人,年齢中央値48歳,体格指数(BMI)中央値19.7 kg/m²]を後ろ向きに調査した。VFでは液体バリウム10mlの嚥下から、誤嚥、喉頭蓋谷の残留、梨状陥凹の残留、最大咽頭収縮時の咽頭後壁の隆起(パッサバン隆起)前後長と第二椎体下端(C2)の前後長の比(パッサバン隆起C2比)を評価した。安静時の側面透視像から、舌根部の咽頭前後長がC2前後長より長い患者を舌根萎縮群、短い患者を非舌根萎縮群に分類した。患者背景、人工呼吸器の使用頻度、VF所見について2群を比較した(Mann-Whitney U検定,ロジスティック回帰分析)。さらにVF実施5年後の累積経口摂取継続率を2群で比較した(ログランク検定)。

結果

舌根萎縮群は14人(29.8%)で、年齢、性別、BMI、上肢運動機能、下肢運動機能、人工呼吸器の使用頻度は、非舌根萎縮群と差がなかった。VFで誤嚥を認めたのは舌根萎縮群の2人のみであった。喉頭蓋谷の残留、梨状陥凹の残留の頻度は、舌根萎縮群27.8%、22.2%、非舌根萎縮群0%、0%

で、それぞれ有意差があった($p < 0.05$, 0.05)。パッサバン隆起C2比の中央値は、舌根萎縮群0.88、非舌根萎縮群0.61で、有意に舌根萎縮群で高かった($p < 0.05$)。ロジスティック回帰分析ではパッサバン隆起C2比のみ有意差があった。検査5年後の累積経口摂取継続率は、舌根萎縮群87.7%、非舌根萎縮群93.8%で、有意差はなかった。

考察

日本人FSHD患者151人の検討では、7人(4.6%)に舌萎縮を認め、そのうち5人に舌運動の制限、5人に構音障害(舌音)、2人に嚥下障害を認めたという報告がある(1)。

本研究では、舌根部に萎縮があるFSHD患者は、嚥下時の食物輸送が障害されうることを示した。しかしながら、検査5年後の累積経口摂取継続率は舌根萎縮群と非舌根萎縮群に有意差はなかった。舌根萎縮群では嚥下時のパッサバン隆起が、舌萎縮を代償し、経口摂取を継続できていることが示唆された。

結論

透視像による舌根部の萎縮の評価は、嚥下障害合併の予測に有用である可能性があった。

参考文献

1. Yamanaka G, Goto K, Matsumura T, et al. Tongue atrophy in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology*. 2001;57(4):733-5.

「Duchenne 型筋ジストロフィー患者の血清タイチン値に関する研究」

栗野 宏之

緒言

タイチンは筋サルコメアに存在し分子バネの役割を果たしている。私たちは Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)患者の尿中にタイチン分解産物が健康人より多く排泄されることを明らかにしたが (1)、タイチン分解産物の体内の動態は不明であった。そのため、本年度は世界で初めて、DMD 患者の血清中のタイチン分解産物の濃度を測定した。そして、尿中のタイチン分解産物 (尿中タイチン) の濃度、および血液検査値との関連を検討した。

方法

神戸大学附属病院に通院歴があり、尿中タイチン測定日の血清サンプルが得られる DMD 患者 72 人 (3~33 歳) から、合計 156 個の血清タイチンサンプルを得た。血清タイチンは ELISA 法 (Human Titin-N fragment[Serum] ELISA kit-IBL, 株式会社免疫生物研究所) を用いて測定した。統計学的検討は、Spearman の順位相関係数を用い、相関係数(|r|)が 0.7 以上を強い相関と定義した。

結果

血清タイチン値は 364~104,525 pmol/L と幅広い分布を示した。血清タイチンと尿中タイチンに強い相関を認めなかった ($r=0.65$)。随時尿中タイチン (N=39) と早朝尿中タイチン (N=117) に分類して血清タイチンとの関連を検討したところ、相関係数はそれぞれ 0.73、0.61 と、血清タイチンと随時尿中タイチンに強い相関を認めた。次に、血清および尿中タイチンと血液検査値の関連を検討したところ、血清タイチンと CK、AST、ALT、LDH に強い相関を認めた。

考察

血清タイチンと筋逸脱酵素に強い相関を認め、筋破壊時にタイチン分解産物が血中へ放出されることが示唆された。また、血清タイチンと随時尿中タイチンに強い相関を認め、タイチン分解産物は時間単位で血中から尿中へ排泄されることが示唆された。

結論

タイチン分解産物は、DMD 患者の血中に幅広い濃度で存在した。血中タイチンは筋破壊の急性期

マーカーとなることが示唆された

参考文献

- 1, Awano, H., Matsumoto, M., Nagai, M., Shirakawa, T., Maruyama, N., Iijima, K., Nabeshima, Y. I., & Matsuo, M. (2018). Diagnostic and clinical significance of the titin fragment in urine of Duchenne muscular dystrophy patients. *Clin Chim Acta*, 476, 111-116. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2017.11.024>

医学研究・臨床試験における患者参画 (PPI :
Patient and Public Involvement) の取組の促進
日本筋ジストロフィー協会

池上 香織

はじめに

患者会の設立当初からの願いは「一日も早い根本治療の確立」で、これは協会活動の柱ともなっている。近年では様々な治療薬の開発が進んでいるが、患者家族と関係者が一丸となって根本治療の確立をさらに進めるために、当事者参画の取組の促進の活動を重要と考えている。その実現のため、患者・家族の現状把握や意識調査のための全国からの問い合わせに対応できる相談機能の設置および病型ごとの分科会の設立を行い情報の収集と情報の提供をし、また研究の基礎となる遺伝子データベースの整備と推進を行った。

実施内容・結果

1. 分科会活動

(1) 福山型 (FCMD) 分科会「参考資料①」

福山型の子どもの持つ親の悩みや不安の相談、介助に便利な商品の情報共有などを目的として、月2回の懇親会を開催し、専門医や医学生含め延べ254名の参加があり、特に専門医、医学生が参加する会は人気が高く参加者も多かった。

(2) 顔面肩甲上腕型 (FSHD) 分科会「参考資料②」

(a) ホームページの運営・更新 (b) 会員の募集・登録 (c) 四半期ごとの FSHD ワールドアライアンスへの参加 (d) 国内での生活向上委員会の開催 (e) REMUDY 通信への投稿 (f) SNS の活用 (g) 医療関係者との定期ミーティング (h) 厚生労働省とのコネクション構築 に取り組んだ。結果、国内外のネットワークが強化され、情報の迅速な共有と広範囲な啓発活動が評価され、会員が50名となり、患者の関与が向上した。

(3) ベッカー型 (BMD) 分科会「参考資料③」

患者自身の BMD や研究成果への理解や課題の抽出に重点を置き (a) ホームページの運営・更新 (b) 会員の募集・登録 (c) 会員の交流 (オンライン交流会、SNS の活用、専門医 (中村昭則先生) へ直接相談機会の試行) (d) 勉強会の開催 (e) 日本筋学

会、班会議への参加による研究者等の関係者と交流・研究開発の進捗状況や課題等の共有 を行った。結果、会員は86名となり、課題を相談・共有する会員も増え、交流会や LINE オープンチャットは医療・生活の質を向上する一助になった。

2. 電話・メール相談「参考資料④」

毎月の電話相談に加えメールでの相談に対応。今年度コロナに関係しての問い合わせはなかった。平成5年度 (平成4年11月～平成5年12月) の相談件数は総計34例。内、業者、主治医、薬剤師から各1件。昨年と同様筋強直性ジストロフィー関連質問が最も多く12件(35%)、ジストロフィン異常関連が8件(24%)、DMD と BMD は各4件、肢帯型3件、FSHD2件だった。また診断不明例も多かった。相談内容については広範囲だが、遺伝や予後の相談も多い。7年前と比べると件数が少なくなり、当時は DMD に関する質問がほとんどであったが、今年は BMD 関連が半数と増加、筋強直性ジストロフィーは6年前 23%だったのが35%に増加した。6年前当時は本人からが31%だったが、今年度56%(12件)と増加している。次に多かったのが母からの10件で6年前の28%から29%と変化なし。残りの相談者は父親6例(18%)と増加した。上記疾患や脊髄性筋萎縮症における相談数変化は、これらの疾患の遺伝子関連治療が進んだことおよび 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。

3. 神経筋疾患論文集の作成

最近論文数が増え平成6年1月時点で ALS36,001、筋萎縮 47,546、呼吸筋 39,463、炎症性筋疾患 32,219、LGMD9,671、ジストロフィン関連 27,827、筋強直性ジストロフィー7,861、先天型筋ジストロフィー5,454件と集積してきた。今年度も文献集 DVD を作成し報告した。

考察・展望

患者が深く理解する機会に重点を置いたことで、会員の医療・生活の質や PPI への意欲の向上に貢献できた。今後も患者リテラシーの向上、国内外の研究者や関連企業・団体との連携の強化に努め、社会生活や制度に関する課題にも対応していく。

先天性筋ジストロフィーに対する治療の臨床開発

分担研究者：石垣 景子（東京女子医科大学小児科）

研究協力者：佐藤孝俊 1), 石黒久美子 1), 七字美延 1), 木原祐希 1)2), 多賀祐喜 3), 本橋裕子 4), 大和雅之 2), 村上てるみ 1)5), 永田 智 1), 所属

- 1) 東京女子医科大学病院 小児科
- 2) 東京女子医科大学 先端生命医学研究所
- 3) 株式会社ニッピ バイオマトリックス研究所
- 4) 国立精神・神経医療研究センター 脳神経小児科
- 5) 国立病院機構東埼玉病院神経内科

I. 福山型先天性筋ジストロフィー患者 (FCMD) の嚥下障害に関する検討

【緒言】FCMDでは、呼吸不全や心不全の合併症が重篤化する前に、嚥下障害の問題が顕在化する。嚥下障害は気管切開の適応にも影響し、適切な治療介入が必要であるが、これまで十分な検討はなされていない。

【方法】2010年から2022年に当科通院歴のあるFCMD患者46例の嚥下障害について、後方視的に研究を行った。

【結果】重症7例、典型29例、軽症10例を対象とした。重症例は全例、乳幼児期早期より哺乳障害のため経鼻胃管を必要とし、4例が早期に胃ろう・噴門形成術を要した。典型例は中央値10歳で食事時間延長、水分摂取時の咽せなどの臨床症状が出現しており、独坐例は7～9歳、シャフリング例は12～14歳と最高運動到達能により異なった。臨床症状出現時の嚥下造影検査では、喉頭蓋谷貯留などの咽頭相の異常が主体だった。唾液誤嚥や窒息のため、気管切開・喉頭気管分離術を必要とした例（10.3～22.2歳）では、エピソード前の呼吸障害の程度は軽度で、夜間のNPPVのみであっ

た。

【考察】典型例では10歳前後から臨床的に嚥下障害が明らかとなるが、嚥下造影検査では、より早期に異常が認められた。胃ろう造設は、誤嚥性肺炎による入院回数減少にはつながるが、10代後半に生じる唾液誤嚥による急性呼吸不全・窒息を防ぐことはできず、機械的咳介助にも限界があった。喉頭気管分離術は窒息予防のための有用な手段であるが、元々運動障害が強く、発声・会話がより重要な位置を占めるFCMD患者にとって、声を失うデメリットは大きい。気管切開は完全に唾液誤嚥を防ぐ方法ではないが、声を完全に失うことは少ない。

【結論】FCMDでは呼吸不全が重篤になるよりも前に、窒息、誤嚥性肺炎などの致命的なエピソード防止に備え、治療方針を十分に検討する必要がある。

【参考文献】

- 1) 藤岡智仁ら. 脊髄性筋萎縮症I型患者における喉頭気管分離術施行例の検討, 脳と発達 47 (5):360-362, 2015.
- 2) 石井光子. 誤嚥性肺炎の管理, 小児科診療 85(8): 1026-1031, 2022

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の1つであり、わが国の先天性筋ジストロフィーでは福山型先天性筋ジストロフィーに次いで2番目に頻度が高い疾患である。筋症状の程度は様々で、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や近位関節の拘縮を認め、一方で遠位関節は初期には過伸展を認め、経過と共に遠位関節でも拘縮が見られるようになる。

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。しかし、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、クレアチンキナーゼが疾患進行と相関しないことが知られており、治療効果を反映するバイオマーカーが存在していない。

今後臨床研究がヒトを対象としたものに移行するとしても、これらの評価項目が確立されていなければ、臨床研究の効果判定を行うことは困難であり、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、今回は中間報告を行う。

【方法】①運動機能評価：ベースラインから6か月毎に、2か年計画で Gross Motor Function Measure(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。②バイオマーカー研究：上記の運動機能評価と同時に、血液検査、呼吸機能検査を行い、運動機能の低下と相関する項目を探索する。一般生化学、呼吸機能検査に加え、本研究で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)由来ペプチドの解析、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が目的である。

【結果】東京女子医科大学倫理委員会にて承認を得た。これまで5例の患者登録があり、GMFM を用いた運動機能評価を実施、同時に生体電気インピーダンスを用いた筋量評価を実施した。IV型コラーゲン由来ペプチドの解析に関しては、疾患群1名、コントロール群1名の解析ではあるものの、コントロール群と比較して2倍程度の上昇を認め

る物質を見出した。

【考察】本研究により、自然歴やバイオマーカーが確立されたものとなれば、希少疾患であるがゆえに对照群を置くことができずとも、ヒストリカルコントロールとの比較やバイオマーカーの推移により新薬の治験を行うことが可能となる。今年度から開始し、現在5例の患者登録があった。IV型コラーゲン由来ペプチドの解析に関しては、少数の解析ではあるものの、コントロール群と比較して2倍程度の上昇を認める物質を見出すことができおり、今後、症例数を増やし、運動機能などとの相関を評価する。

現在も、患者家族会を通して、リクルートを継続しており、更に症例を追加できる見通しである。

【結論】現在、患者リクルートを通し、両研究を実施中である。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.

NPPV を使用しているデュシェンヌ型筋ジストロフィーの呼吸機能と経口摂取

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 三浦利彦

【目的】

当院フォローのデュシェンヌ型筋ジストロフィー（DMD）患者の年齢、呼吸機能、機械による咳介助の使用頻度、NPPV 使用時間、栄養摂取の方法、電動車いす使用、療養場所について調査、検討する。

【対象】

当センター開設の 2020 年 9 月以降、当院を受診または入院した DMD で 2023 年 10 月 1 日に生存確認され、調査項目を実施したことがある患者。

【方法】

下記の調査項目について対象患者を 4 つの年齢群に分けて比較検討する。

年齢、病歴、治療歴、ジストロフィン遺伝子異常、呼吸機能評価：肺活量(vital capacity=VC)、咳のピークフロー (cough peak flow=CPF)、最大強制吸気量 (maximum insufflation capacity=MIC)、NPPV 使用時間、機械による咳介助 (mechanical insufflation exsufflation=MIE) 使用頻度、栄養：経口摂取、経鼻胃管栄養／胃瘻(経口摂取併用含む)、電動車いす使用の有無 (日常的に)、療養場所：在宅か入院 (筋ジス病棟など)

【結果】

当院フォローの DMD で 2023 年 10 月 1 日に生存確認された患者総数は 105 例 (5～53 歳、平均 28.7±11.3 歳)。7 例は呼吸機能検査実施不能のため除外 (理解力低下 5 例、気管切開 2 例：低酸素性脳症 1 例、1990 年以前 1 例)。対象となった症例は 98 例 (9～53 歳 平均 28.7±11.1 歳)。

年齢群が上がると呼吸機能が低下し 経口摂取率が低下したが、40 歳以上で終日 NPPV 使用で

81.3%経口摂取し、50 歳以上の 6 例は全例経口摂取していた。

【考察】

経口摂取率は ドイツの Ulm の神経筋センター¹⁾と同程度で、わが国の 2012 年の筋ジス病棟 733 例の経口摂取率 66.8%より高かった。経口摂取の際に マウスピースや鼻インターフェイスによる NPPV を使用することで 経口摂取が改善した²⁾。誤嚥対策として MIE を活用できると考えられた³⁾。

【結論】

デュシェンヌ型筋ジストロフィーの終日 NPPV 例において、MIE を活用して経口摂取が可能であった。

【文献】

- 1) Wollinsky KH, Kutter B, Geiger PM. Long-term ventilation of patients with Duchenne muscular dystrophy: experiences at Neuromuscular centre Ulm. Acta Myol 2012;31:170-8
- 2)McKim DA, et al. Twenty-four hour noninvasive ventilation in Duchenne muscular dystrophy : A safe alternative to tracheostomy. Can Respir J 20:e5-e9, 2013
- 3) Toussaint M, et al. Dysphagia in Duchenne muscular dystrophy: practical recommendations to guide management. Disability and Rehabilitation 2016;38, 2052–2062

筋量指標を用いたビルトラルセンの効果判定の試み

国立病院機構鈴鹿病院脳神経内科 久留聡

【背景】

われわれはこれまで骨格筋 CT を用いた筋量定量研究を行ってきた。その中で筋量の新規指標として muscle volume index(MVI)および%MVI を提案し、これが Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の経過観察に有用であることを示し、現在治験においても使われている¹⁾。

2019 年に DMD に対する本邦初の治療薬であるビルトラルセンが承認され広く使われるようになってきた。その効果判定は様々な形で行われ検討されているが、実際にリアルワールドにおいて自然歴と比較してどの程度の効果があるかを測定するのは極めて重要である。

【目的】

筋量指標%MVI を用いて自験 DMD2 例のビルトラルセンの効果を検討する

【対象と方法】

*治療実施例 (自験)

症例 1 : exon48-52 欠失、7 歳よりステロイド治療を継続。9 歳よりビルトラルセン投与を開始、10 歳、12 歳時に骨格筋 CT を撮影、13 歳時点で歩行可能

症例 2 : exon52 欠失、11 歳で車椅子生活となる。15 歳よりビルトラルセン投与開始、16 歳、17 歳時に骨格筋 CT を撮影

*対照群

骨格筋 CT を撮影している自験例 59 例 (4~18 歳、平均 11.3±3.3 歳)

*方法

既報告²⁾通りの方法で骨格筋 CT の大腿中央スライスで%MVI を計測した。

【結果】

症例 1

10 歳 53.3 %

(同年齢対照 28.2±13.4、n=7)

12 歳 45.5 %

(同年齢対照 21.0±14.6、n=4)

症例 2

16 歳 19.8 %

(同年齢対照 11.0±4.6、n=3)

17 歳 16.4% (同年齢の対照なし)

なお、自験未治療例 59 例の%MVI と年齢の関係を見ると、指数減衰曲線によくフィットした ($R^2 = 0.6549$)。

【考察と結論】

症例 1、2 ともに対照に比して CT 上の%MVI が保たれており、残存筋肉量においてビルトラルセン投与の効果があると考えられた。

今回の検討では大腿中央部のスライスで計測を行い、自験 2 例ともに対照に比して%MVI が保たれておりビルトラルセンの効果があると考えられた。ただし後方視的な検討であり、スライスレベルの妥当性および誤差などの点で課題がある。また、計測は ImageJ をもちいたマニュアルでの作業を実施したが、AI を応用することで効率および精度の向上を図りたいと考えている。

さらには今後他のスライスレベルでの計測や、多数例での検討が必要である。

【文献】

1) Komaki et al: Ann Clin Trans Neurol 7(2):181-190, 2020

2) Kuru et al: Neurology and Clinical Neuroscience 1: 63-68, 2013

筋ジストロフィーに伴う脊柱側弯症治療発展のためのエビデンス構築

患者立脚型アンケートを用いた弛緩性神経筋性脊柱側弯症手術の臨床成績

高相 晶士

北里大学医学部整形外科

緒言

弛緩型神経筋原性側弯症 (fNMS) 患者の手術成績¹⁾ や周術期合併症²⁾ に関するエビデンスは蓄積してきたが、機能や症状に着目した評価ができていない。今まで日本語で使用できる患者立脚型アンケートがなかったが、我々は英語で作成された Muscular Dystrophy Spine Questionnaire (MDSQ)³⁾ を和訳し、使用している。そこで本研究では MDSQ を用いて fNMS 患者の術前後の臨床成績について検討した。

方法

当院で 2006 年から 2022 年までに施行された弛緩性 NMS に対して後方矯正固定術を施行し術後 1 年以上経過した 147 例に MDSQ アンケートを郵送し術前・術後・現在の MDSQ を調査した。返送された 42 例 (男児 27 例、女児 15 例; Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) 14 例、脊髄性筋萎縮症 (SMA) 17 例、その他 11 例) を対象に術前・術後・現在の MDSQ を調査しその推移を評価した。

結果

手術時の平均年齢は 14.1 歳、平均手術時間は 327.9 分、平均失血量は 1380ml、平均在院日数は 19.5 日、平均術後 7.3 年 (1~16 年) 経過しており、術前後 Cobb 角は 90.8 度が 42.1 度 (平均矯正率 53.7%) に改善していた。MDSQ の合計値 (術前, 退院時, 現在) は DMD 患者は 62.8, 51.7, 35.7; SMA 患者は 72.8, 66, 79.2; その他患者は 72.9, 63.5, 62.9 と推移した。下位項目の解析では座位や痛みに関する項目は退院時、最終経過観察時に改善する傾向だが、かがむ動作などは術前より低下する傾向にあり、退院時のスコア低下に寄与していた。手術満足度・推奨度については 92.8%、

70.7%が大いにか、満足する/推奨すると回答した。

結論

本研究では SMA 患者の最終経過観察時の機能や症状は有意に改善していたが、DMD 患者の最終経過観察時には低下しており、原疾患の進行によるものと考えられた。術後、疼痛や座位に関する愁訴は改善が期待でき、満足度はおおむね良好であった。一方、かがむ動作など術前より退院時に悪化する動作もあり、リハビリテーションの介入やインフォームドコンセントの重要性が示唆された。また、経過観察期間が長くなると原疾患の病勢により QOL が悪化する症例が少なくなく、本アンケート調査をする時期の統一が重要であると考えられた。

参考文献

1. Takaso M, Nakazawa T, Imura T, et al. Two-year results for scoliosis secondary to Duchenne muscular dystrophy fused to lumbar 5 with segmental pedicle screw instrumentation. *J Orthop Sci.* 2010 Mar;15(2):171-7.
2. Matsumoto M, Miyagi M, Saito W, et al. Perioperative Complications in Posterior Spinal Fusion Surgery for Neuromuscular Scoliosis. *Spine Surg Relat Res.* 2018 Apr 7;2(4):278-282.
3. Wright JG, Smith PL, Owen JL, et al. Assessing functional outcomes of children with muscular dystrophy and scoliosis: the Muscular Dystrophy Spine Questionnaire. *J Pediatr Orthop.* 2008 Dec;28(8):840-5.

筋強直性ジストロフィーの臨床開発推進の基盤的研究

分担研究者 高橋正紀 1)

研究協力者

石垣景子 2)、杉本真里佳 1)、七字美延 2)、山内 亨佑 1)、久保田 智哉 1)、小牧宏文 3)、中村 治雅 3)

1) 大阪大学大学院医学系研究科 生体病態情報科学

2) 東京女子医科大学 小児科

3) 国立精神・神経医療研究センター

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る。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 Remudy の枠組みで運用開始し、TREAT-NMD の国際レジストリとも協調している¹⁾。本登録は、医師主導治験への患者リクルート、臨床研究の情報提供、患者アンケート調査や医師・患者二次調査などに幅広く活用されてきた^{2,3)}。

DM 患者登録が 1000 名に達した 2020 年時点での登録患者について、患者の自覚症状の特徴や成人患者の医療管理の状況について報告した^{4,5)}。本年度はこれまで手付かずであった先天性筋強直性ジストロフィー(CDM)について検討を行った。

方法

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、CDM 患者の遺伝的異常、出生週数、出生時体重、周産期異常、分娩異常について解析した。また、知的精神面の障がい、発達歴については、その状況に加え、障害と関連する因子についても検討した。

結果

対象は CDM 患者 110 名、登録時年齢は 15.0±13.7 歳、CTG リポート長は 1630±560(n=109)であった。出生週数は 35.7±3.5 週(n=67)であり、周産期異常は 89% (61/69)で認め、新生児仮死・呼吸障害(60%)、羊水過多 (55%)、筋緊張低下(52%)の頻度が高かった。分娩異常は 77% (54/70)で帝王切開が 67% (47/70)が多かった。知的精神面の問題は 81%がありと回答しており、有意に関連する因子は見いだせなかった。

考察

これまでのわが国での報告をはるかに超える数の患者のデータが集積できた。しかしながら、以下のような問題も明らかになった。患者ごとの登録のため、親のデータとの連結が出来ず、多くでは父母どちら由来の遺伝なのかすら不明であり、親のリポート数などは全く不明である。また、出生・発達歴について、15 歳以上は記入不要としていたため、CDM であっても登録時の年齢が対象年齢以上のため記入されていない例が多く見受けられた。

CDM に加えて小児期発症 DM についてのデータもあわせ、最新のデータで解析を行う予定である。また、現在の患者登録での収集が不十分なデータを洗い出したうえで、全国規模の二次調査を実施する予定である。

結論

筋強直性ジストロフィーの患者登録により、これまでのわが国での報告をはるかに超える数の先天型患者のデータが集積できた。いっぽうでデータの不足、正確性の問題も明らかになった。

参考文献

1. Wood L, Bassez G, Bleyenheuft C, et al. Orphanet J Rare Dis. 2018 Sep 5;13(1):155.
2. 高橋正紀、山本理沙、久保田智哉 ら. 臨床

神経学 2020;60(2):130-136.

3. Hama M, Horie R, Kubota T, et al. J Neurol Sci. 2021 Aug 15;427:117511.

4. Sugimoto M, Kuru S, Takada H, et al. J Neurol Sci. 2022 Jan 15;432:120080.

5. Yamauchi K, Matsumura T, Takada H, et al. Muscle Nerve. 2023 May;67(5):387-393.

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

分担研究者：竹島泰弘
兵庫医科大学小児科学

Duchenne 型筋ジストロフィー小児例における約 3 年間のビルトラルセン治療経過

【緒言】

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、2020 年にジストロフィン遺伝子エクソン 53 スキッピング誘導治療薬であるビルトラルセンが国内で初めて DMD 治療薬として承認された。このような新規治療法は、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。

本研究では、新規治療法の実臨床での有効性に関与する因子を検討するとともに、CK などのバイオマーカーおよび遺伝学的解析による DMD 男児および DMD 保因者女児の診断における問題点を明らかにするとともに、早期さらには胎児期の診断を含めた超早期診断に関する臨床的・倫理的な問題を検討している。

今年度は、実臨床においてビルトラルセン治療を施行している症例の検討し、治療効果に及ぼす因子について解析を行った。これまで治験では、少数の短期間データのみ限定されているため、実臨床に基づいたより多くの情報が求められており、Remudy-DMD により国内の情報が収集されているところである。当科での DMD 小児例における約 3 年間のビルトラルセン治療経過について報告する。

【対象と方法】

当科にてビルトラルセン治療経過をフォローしている DMD 患者 6 名を対象とした。治療開始時から約 3 年間の運動・循環・呼吸機能の経過と有害事象について検討した。また、治療に対するアンケート調査も行った。(当院倫理委員会承認済)

【結果】

治療開始時年齢：5-13 歳、ジストロフィン遺伝子欠失変異：エクソン 48-52 (2 名)、49-52 (2 名)、50-52 (1 名)、52 (1 名)。治療開始時、3 名 (5-

7 歳) は歩行可能、3 名 (10-13 歳) は常時車椅子、呼吸器使用 1 名 (13 歳) であった。歩行可能であった 3 名のうち 1 名は 1 年後 (8 歳時) に歩行不能となった。2 名 (ともに開始時 5 歳) は現在も歩行可能であり、10m 歩行時間は短縮、床からの立ち上がり時間はほぼ不変であった。上肢運動機能評価スコアは、改善 (1 名)、不変 (2 名)、悪化 (3 名) であった。2 名で心機能 (EF) 低下を、2 名で呼吸機能 (%VC) 低下を認めた。全例で治療に関連する明らかな有害事象は認めなかった。治療開始後 3 年時アンケートでの治療への満足度は、「やや満足」「どちらでもない」「やや不満」と様々であった。

【考察と結語】

実臨床における治療の有効性を評価する上において、疾患の自然歴を明らかにし、自然歴との比較を行うことが必要になる。現在、Remudy-DMD において、自然歴の前向き研究が行われており、その成果が期待される。一方、私たちは、後方視的に自然歴の解析を行った¹⁾。今回の解析は少数例での検討ではあるが、症例によって治療経過は異なり、治療開始時の年齢などが、有効性と関連する可能性が示唆された。実臨床における有効性・安全性を明らかにし、DMD 患者家族への適切な情報提供を行うためには、ビルトラルセン治療症例のデータを蓄積していく必要がある。

【参考文献】

1) Awano H, Nambu Y, Itoh C, Kida A, Yamamoto T, Lee T, Takeshima Y, Nozu K, Matsuo M. Longitudinal data of serum creatine kinase levels and motor, pulmonary, and cardiac functions in 337 patients with Duchenne muscular dystrophy. *Muscle Nerve*. 2024;69(5):604-612.

ジストロフィン異常症におけるウェアラブル機器より得られた身体活動量/心拍変動と各種運動機能との関連

中村 昭則

国立病院機構まつもと医療センター
脳神経内科・臨床研究部

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の運動機能評価は外来受診時などの定期的に行われるが、慣れない環境、気分や体調などの影響を受けることが少なくない。また、心機能障害のひとつである不整脈は外来での心電図検査や 24 時間ホルタ心電計では検出されないことも少なくない。近年、ウェアラブル機器により様々な生体情報の取得が可能となり臨床応用が進められていることから、本研究ではウェアラブル機器を用いて DMD 患児の各種身体活動量と心拍変動を計測し、健常児との比較や各種運動機能との関連を明らかにすることを目的とした。

方法

対象は身長・体重・BMI を一致させた DMD 患児 7 名 (6.8 ± 0.5 歳) と健常男児 8 名 (8.6 ± 1.0 歳) とした。ウェアラブル機器には多機能ワイヤレスホルタ記録器 (FL ホルタカルディック[®]、(株)MEDI LINK) を用いて、DMD 患者の 24 時間の身体活動情報 (活動量、脂肪燃焼量、歩数、活動距離、運動強度、歩行中の前傾度)、心拍数および心拍変動 (HRV) を計測した。身体活動および HRV パラメータを DMD 患児と健常男児で比較したほか、DMD 患児における身体活動および HRV と各種運動機能 [起立時間、10m 歩行時間 (10MWT)、NSAA、6 分間歩行距離 (6MWT)] の関連について検討した。

結果

DMD 患児における 24 時間の身体活動量、脂肪燃焼量、総歩数、活動距離、平均歩数、歩行中平均運動強度、Exercise、歩行中前傾度、活動時最大心拍数、活動時最大運動強度、及び覚醒時低周波パワー (LF norm) は健常児に比べ低値であった。DMD 患児において、起立時間はいずれの身体活動および HRV パラメータとも関連しなかった。10MWT は覚醒時平均心拍数と正相関し、NSAA は覚醒時平均心拍数、全周波数パワー (TF)、及び超低周波数パワー (VLF) と逆相関していた。また、6MWT は LF/HF 比と逆相関を示していた。

考察

複数の身体活動パラメータが DMD 患児と健常児との間で有意差が認められたが想定範囲であった。HRV の中では交感神経活動を示す覚醒時の LF norm が DMD 患児で低下していた。起立時間と HRV との間に相関はなかったが、10MWT、NSAA および 6MWT と HRV パラメータとの間に相関関係を認め、交感神経活動が DMD の運動耐容能に関係している可能性がある。DMD の運動機能と自律神経機能との関連の報告はないが、DMD では迷走神経活動の消失と交感神経活動の亢進が報告されており、交感神経活動が高いほど運動機能が低下しているかもしれない。健常児でも交感神経活動が高いほど運動能力テストが低値であったことが報告されている。

結論

DMD 患児において健常児に対して差のみられた身体活動/HRV パラメータや各種運動機能と相関していた HRV はデジタルバイオマーカーとなる可能性がある。しかし、今回は対象者数が限られた試験であったことからより人数を増やした検討を行い、これらのデジタルバイオマーカーが自然歴の把握や治療・治験に応用可能であるかについて検討したいと考えている。(付記：本研究成果は 2024 年 2 月に J Neuromuscul Dis に採択された。)

参考文献

- 1 1. Nakamura A, Matsumura T, Ogata K, Mori-Yoshimura M, Takeshita E, Kimura K, Kawashima T, Tomo Y, Arahata H, Miyazaki D, Takeshima Y, Takahashi T, Ishigaki K, Kuru S, Wakisaka A, Awano H, Funato M, Sato T, Saito Y, Takada H, Sugie K, Kobayashi M, Ozasa S, Fujii T, Maegaki Y, Oi H, Tachimori H, Komaki H. Natural history of Becker muscular dystrophy: a multicenter study of 225 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2023 Dec;10(12):2360-2372.
- 2 2. Nakamura A, Matsumura T, Takeshima Y, Kuru S, Imazaki M, Nonomura H, Kaiya H. The Association Between Physical Activity/Heart Rate Variability Data Obtained Using a Wearable Device and Timed Motor Functional Tests in Patients with Duchenne Muscular Dystrophy: A Pilot Study *J Neuromuscul Dis.* 2024 Apr 6. doi: 10.3233/JND-230142. Online ahead of print.

AI を用いた骨格筋量測定の自動化

横浜労災病院 中山貴博

【目的】筋 CT 画像を用いた筋量測定の自動化では、推定関数を用いた組織別画像から画像演算による筋組織弁別における精度には限界がある。対象データを処理してえられた教師データと、演算処理した画像データと関連データを組み合わせる AI (深層機械学習) の枠組みを構築し、その AI に畳み込みニューラルネットワークモデルを取り入れて、精緻化を目指す。

【方法】筋疾患 25 例、神経疾患 6 例、非神経疾患患者 14 例、合計 45 例(平均年齢 54+/-14.7 歳)の大腿と下腿の筋 CT 画像を元に組織別画像を出力し、AI の畳み込みニューラルネットワークモデルを利用して画像演算処理を最適化した。また画像でない、画像診断データ(筋疾患 23 例、神経疾患 5 例、正常所見 17 例)、年齢・性別、位置データも畳み込みニューラルネットワークモデルに取り入れその結果で組織量を計算した。教師データがない 14 例について、疾患群を AI 診断した。

【結果】AI 学習による骨格筋量測定は、手動での処理とほぼ同様の値となり、大腿では 3 年前より経年的に精度が上がり、下腿でも同様に処理できた。また、AI 診断では、10/14 例で正答が得られた。

【考察】撮像状態が異なる画像データから画像毎に画像演算を最適化することに成功し、今後深層学習の適正化をすることにより CT を用いた筋量測定が自動化できると考えられた。なお、AI 診断で誤答した理由として、神経疾患の教師画像データが少ないことが上げられた。

骨格筋量の定量化は、誤差が 15cm³程度となり、
ほぼ実用化が可能なレベルとなった。

【今後の研究の進め方について】

%MVI が測定できるよう、皮下脂肪画像の精緻化を行う。

大腿・下腿中央部以外の画像での AI 処理ができるように工夫をする。

今後、MRI 画像でも同様の処理ができるよう、
Nakayama T, et.al. Automatic calculation of Mercuri grades from CT and MR muscle images. Brain & development 41: 870-877, 2019 の自己

の論文を用いて、演算処理を試行する。

【著書】

中山貴博ら、医学書院. 筋疾患の骨格筋画像アトラス. 2023 年. 久留 聡編

【学会発表】

1. 中山貴博, AI を用いた骨格筋量測定の自動化, 筋学会, 大阪, 2023 年 8 月, ポスター
2. 中山貴博, Quantitative analysis of brain atrophy in patients with myotonic dystrophy (DM1) using MRI, 神経学会総会, 千葉, 2023 年 5 月, ポスター
3. 中山貴博, 筋強直性ジストロフィーの脳量, 筋ジス医療研究会, 大阪, 2023 年 8 月, ポスター

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録と活用

松村 剛

国立病院機構大阪刀根山病院医療センター

緒言

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (Facioscapulohumeral muscular dystrophy: FSHD) は、筋ジストロフィーの中では、ジストロフィノパチー、筋強直性ジストロフィーに次いで患者数の多い疾患であるが、発症年齢や重症度の幅が大きいこと、呼吸不全や心不全など致死的な合併症が少ないと思われること、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。近年海外で開発される治療薬が、日本で開発されないドラッグ・ロスが深刻な問題となってきている。関連他班や開発企業、行政、当事者などを含め体位策を協議する。関連他班と共催で筋ジストロフィーの CNS 障害研究会や生殖医療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、2024 年 2 月末時点までに 193 名に達した。登録データの解析結果は班会議で報告し、2024 年度は国内外の学会や論文でも報告予定である。また、患者グループで TREAT-NMD や the World FSHD Alliance など科以外のグループと連携する動きも生まれている。

一方でこれまでの患者登録数の伸びは、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緩やかである。本症は軽症例が多く致死的な合併症も少ないことから、医療機関の受診頻度が低く遺伝学的診断を受けていない患者も多い。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などの課題もあるが、海外で治験がでている状況では患者登録の促進や自然歴データの収集は喫緊の課題である。

対策として、2024 年から遺伝学的診断の報告に患者登録の案内を添付することを開始した。また、患者グループと共同しウェブセミナーに加え市民公開講座など、多チャンネルでの情報発信を強化する予定である。医療機関受診頻度が低いことも踏まえ、医療機関データだけに依存しない患者登録更新方法も工夫の余地があり、MDCTN の委員会で検討が続けられている。自然歴データについても、デジタル技術やウェアラブル端末などを用い

た分散化臨床試験での実施を目指し検討中である。

FSHDHI の妥当性評価については、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、66 名の協力を得ることができ、その結果は Disability and Rehabilitation にアクセプトされた。

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、筋ジストロフィーの CNS 障害研究会や生殖医療セミナーを実施した。

考察

顔面肩甲上腕型筋ジストロフィーの患者登録で、これまでに 200 名弱の登録を得た。登録データの解析を行い班会議で報告、2024 年には国内外の学会・論文にて報告予定である。患者グループも海外のグループと連携するなど活発に活動している。患者登録を活用して実施した、疾患特異的主観的臨床評価指標である FSHDHI の妥当性評価は 66 名の協力を得て無事実施できた。その結果は英文誌にアクセプトされている。

患者登録の促進にむけて、遺伝学的検索を受けた患者への案内送付など新たな試みを開始。ウェブセミナーや市民公開講座など多チャンネルでの情報提供に加え、医療機関データに依存しない更新方法などの工夫も考慮中である。自然歴データについても、分散化臨床試験の手法を用い患者負担を減らし持続可能な方法を模索中である。

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。

Research project number 5-5

Research project name: Establishing the foundation for promoting clinical development of muscular dystrophy

Principal investigator: Hirofumi Komaki

(1) Summary of research goals and plans for the next three years

[Summary] This research group has been promoting clinical trials and clinical research based on the Neuromuscular Disease Patient Registry System (Remudy, from 2009) and the Muscular Dystrophy Clinical Trials Network (MDCTN, from 2012), which has 38 affiliated facilities nationwide. We have achieved many results, such as the approval of the exon 53 skipping drug viltolarsen and the acquisition of proof-of-concept in an investigator-initiated clinical trial of an exon 44 skipping drug, but as the needs change with the times, we will continue to improve both platforms. Remudy will be formatted so that registered information can be updated by patients alone, and will also be used as a platform for promoting patient-directed participation in clinical research (PPI). Using these platforms, we will advance research on the exploration and verification of clinical evaluation methods using wearable devices, the implementation of natural history studies, biomarker exploration, QOL/Patient reported outcome (PRO), and information disclosure.

[Clinical research related to clinical development] Conduct clinical research that contributes to clinical development on themes such as the search for non-invasive outcome measures using wearable devices such as accelerometers, activity meters, and image analysis, posture estimation technology, clinical application of new digital measurement technology using LiDAR sensors, quantification of skeletal muscle mass using skeletal muscle images using AI, natural history research of Duchenne muscular dystrophy (DMD), natural history research of Becker muscular dystrophy (BMD), natural history and biomarker exploration research of Ullrich congenital muscular dystrophy (UCMD), validation of biomarkers for muscular dystrophy using urinary titin, establishment of a system for pre-symptomatic and early diagnosis, examination of ethical issues, and epidemiological research using the National Database (NDB).

[Clinical research aimed at generating evidence] Establishment of new cardioprotective treatments, establishment of respiratory care guidelines, research on swallowing disorders, research on prognostic factors for scoliosis, dissemination of information to the public using websites, open lectures, etc., awareness-raising activities, clinical research in close cooperation with patient and family associations, and information

disclosure.

[Opening a portal site] A portal site will be opened to respond to the changes in the clinical environment for muscle diseases, which are seeing great progress due to the development of nucleic acid drugs and gene therapy, and will be used as an information center and a foundation for PPI.

[Improvement of Remudy] Remudy is gradually increasing the number of target diseases in response to the needs of clinical development, and currently registers six diseases. Although certain results have been achieved in epidemiological information, feasibility studies for clinical trials, and subject recruitment, mainly for DMD, there is a lack of growth in the registration rate and information update rate. The current Remudy registration system is patient-driven, but in order to ensure the accuracy of the information, the cooperation of the attending physician is essential for both initial registration and renewal, which is thought to be one of the reasons for the lack of growth. In addition to the needs recognized for the conventional registry, there is now a demand for post-marketing safety and effectiveness evaluation of new drugs using the registry, and the target diseases for clinical development are expanding, but it is gradually becoming difficult to increase the number of target diseases with the conventional registration format. Improve the registry so that it can be operated more easily using smartphones and apps.

(2) This year's research results

[Clinical research related to clinical development] We are using wearable devices such as activity monitors and accelerometers to analyze the root mean square (RMS) and stride during movement, and are examining the characteristics of waddling gait in DMD and its relationship with motor function indices. We are currently formulating a research plan for the construction of a motion analysis system for DMD using next-generation technologies such as 3DToF using LiDAR and posture estimation technology. We measured physical activity, heart rate, and autonomic nervous function using wearable devices, and the results of examining the relationship with standing time, 10MWT, NSAA, and 6MWT were submitted as an English paper and accepted (Nakamura Akira group member). We have begun research into the natural history and biomarker search of UCMD, and five subjects have been enrolled. Although the number of cases is small, promising results have been obtained in the search for biomarkers by analyzing peptides and amino acids derived from type IV collagen, which increase with basement membrane destruction. For the first time in the world, we measured the concentration of titin degradation products in the serum of DMD patients and examined the

relationship between the concentration of titin degradation products in urine (urinary titin) and blood test values, and found a strong correlation between serum titin and CK, AST, ALT, and LDH. The NDB study applied for NDB data use to the Ministry of Health, Labor and Welfare, and the data was accepted this year and permission to publish was obtained. A preliminary report on the number of patients with major diseases was announced at the research group meeting in December 2023. In the study to automate skeletal muscle mass measurement using AI, tissue-specific images were output based on muscle CT images of the thighs and lower legs of 45 patients (average age 54 +/- 14.7 years), including 25 cases of muscle disease, 6 cases of neurological disease, and 14 patients with non-neurological diseases, and image calculation processing was optimized using an AI convolutional neural network model.

[Clinical research aimed at generating evidence] A database study of skeletal muscle images using IBISS was conducted as a pilot study this year to examine muscle mass in two cases of DMD treated with viltolarsen. Muscle mass was evaluated using %MVI in thigh slices of skeletal muscle CT, and muscle mass was maintained compared to the control group (natural history), making it possible to quantitatively demonstrate the effectiveness of treatment. A study on standardization of respiratory care is being conducted to evaluate respiratory function in DMD and examine the effects of respiratory rehabilitation. A study to generate evidence related to eating and swallowing function identified factors that determine the introduction of alternative nutritional methods in DMD patients using statistical methods and published a paper. Research into the evaluation of myocardial damage and cardioprotective treatment showed that there was no difference in the proportion of DMD patients who had been administered ACE inhibitors since the age of 10 and those who started ACE inhibitors with a left ventricular ejection fraction of <55% at age 15, and that patients who started ACE inhibitors with a left ventricular ejection fraction of <55% had a good 10-year survival rate. In a study on scoliosis treatment, a Japanese translation of the Muscular Dystrophy Spine Questionnaire (MDSQ), a patient-based questionnaire survey, was created to investigate the mid- to long-term outcomes of surgical treatment for atonic neuromuscular scoliosis, and validation research was conducted, while data was collected before and after spinal fixation surgery using MDSQOL/Patient.

[Improvement of Remudy] Remudy continues to register for six diseases. After multiple exchanges of opinions with doctors, pharmaceutical company personnel, patients and their families, the framework for the new Remudy basic policy was solidified. More specific improvements will be made in 2024.

[Opening of portal site] After bidding, we have decided on a vendor and are preparing

to open the portal site, which is expected to begin operation in spring 2024. The new portal site will also have a membership system and will be used as a platform for promoting PPI. In addition to disseminating our own information, we aim to become a more multifaceted information hub by linking with the websites of patient groups and pharmaceutical companies.

[Other] We are currently examining ELSI and electronic consent for medical care and clinical development of muscular dystrophy (Arie, team member). We are currently conducting research to summarize complex innovative design (CID) and the current status of muscular dystrophy research design, and to propose promising flexible research designs for the future. We are currently conducting research and analysis on the construction of an IT platform that will contribute to the promotion of clinical development of muscular dystrophy and the establishment of a quality management system.

5-6 筋レポジトリーの拡充と筋ジストロフィー関連疾患の病態解明

主任研究者 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所

西野 一三

総括研究報告

1. 研究目的

国立精神・神経医療研究センターでは過去 45 年に亘り筋病理診断を中心とする診断サービスを全国の医療機関に向けて提供し、本邦の筋疾患医療を後方支援してきた。その結果として本邦筋生検の7割以上が集まる、名実ともに国内の筋疾患診断支援センターとして機能するに至っている。特に 2017 年以降のこの 5 年間は年間解析検体数（凍結筋）が毎年 1000 を超え、その結果として構築された筋レポジトリーは、総検体数（凍結筋）が 23000 を超えて、名実ともに世界最高水準のものとなっている。本申請研究においては、下記の 3 課題を柱として研究を進める。

(1) 筋疾患診断後方支援による筋レポジトリーの拡充

過去 45 年に亘り筋病理診断を中心とする筋疾患診断後方支援を行うことで、国立精神・神経医療研究センターは筋疾患分野における揺るぎない国内診断拠点として機能するに至っている。この筋疾患診断後方支援を継続するとともにさらに発展させる。その結果として構築される筋レポジトリーをさらに充実させる。さらには、その筋レポジトリー検体を有効に活用することにより、筋疾患の病態解明・治療法開発研究を積極的に推進する。また、海外の筋疾患医療発展途上地域からの検体も一部受け入れて診断支援を行うとともに、筋病理セミナーを開催するなどして国内外の医師に対して教育機会の提供も行う。このことにより、国内のみならず、全世界的な筋疾患医療水準向上に寄与し、国際的な筋疾患診断・研究拠点として機能することを目指す。

(2) 病因・病態解明研究

筋疾患には依然として原因や病態が不明のものが多。 (1) の筋レポジトリーに集積された検体を有効活用しつつ、本邦の筋学研究者の力を結集して、筋ジストロフィーおよび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・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診断

法を開発する。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し、筋疾患診断体制をさらに充実させる。また、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、筋線維肥大薬、ならびに低分子医薬品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
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
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	山口大学大学院医学系研究科 臨床神経学
竹田哲也	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科
久保田暁	東京大学医学部附属病院 神経内科
粟屋智就	京都大学医学系研究科
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
株田智弘	国立精神・神経医療研究センター

本橋紀夫

神経研究所 疾病研究第四部

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

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

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) 筋疾患診断後方支援による筋レポジトリの拡充、(2) 病因・病態解明研究、(3) 診断法・治療法開発、の3つを柱として研究を進めた。

1) 筋疾患診断後方支援による筋レポジトリの拡充

a) 筋病理診断と検体数

2023年(暦年)の総筋病理診断件数(凍結筋年次検体数)は、過去最高の1147件を記録した。総検体数は、2023年末で24644検体となった。また培養筋も2270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

2023年11月に、タイ・マヒドン大学シリラート病院との共同で第3回国際筋病理セミナーをバンコクで

開催し、好評を博した。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、Google Analytics旧バージョン(2023年7月終了)では2018年1月の公開開始以来2023年7月までに世界139カ国のアクセスがあった。その後バージョンが更新され、データが確認できる2022年8月~2024年3月の期間では世界115カ国からのアクセスを集めている。

2) 病因・病態解明研究

a) 眼咽頭遠位型ミオパチー

2019年、東京大学の石浦らとの共同研究で、これまで原因が不明であった眼咽頭遠位型ミオパチーが*LRP12*遺伝子の5'非翻訳領域のCGGリピートの異常伸長によることを明らかにした(Ishiura H, et al. *Nat Genet.* 2019 Aug;51(8):1222-1232)。この発見を元に、更に*GIPCI*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。また中国から報告された第4の原因遺伝子*RILPL1*については、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ている(Eura N, et al. *Am J Hum Genet.* 2022 Nov 3;109(11):2088-2089)。さらには、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)。今回は、白質脳症を伴う眼咽頭ミオパチーの原因として当初報告されたLOC642361/*NUTM2B-AS1*非翻訳領域のCGGリピート伸長が眼咽頭遠位型ミオパチーを引き起こすこと、むしろ、白質脳症を伴う眼咽頭ミオパチーではなく、眼咽頭遠位型ミオパチーこそが典型的な表現型であることを明らかにした(Pongpakdee et al. *Neurol Genet.* in press)。また眼咽頭遠位型ミオパチーの典型的画像所見を明らかにした(Eura et al. *J Neurol.* 2023 Dec;270(12):5988-5998)。

b) *SRPK3/TTN*の二遺伝子病

共同研究により、*SRPK3*遺伝子のバリエントと*TTN*の特定のバリエントの組合せでミオパチーを来しうることを初めて明らかにした(Ana Töpf et al. *Nat Genet.* 2024 Mar;56(3):395-407)。

c) Ullrich型先天性筋ジストロフィー

*COL6A2*のcanonicalなpolyadenylation siteを含む領域の欠失を原因とするUllrich型先天性筋ジストロフィー一例を世界で初めて同定した(El Sherif et al. *Neurol*

Genet. 2024 Mar 25;10(2):e200137)。

d) VCP ミオパチー

国際共同研究により、VCP 遺伝子バリエーションと臨床病型の分類に関する報告 (Schiava et al. *Neurol Genet*. 2023 Aug 15;9(5):e200093) を行うとともに、VCP ミオパチーの骨格筋 MRI 上の特徴を明らかにした (Esteller et al. *J Neurol*. 2023 Dec;270(12):5849-5865)。

e) その他

大野班員らは iPS 細胞を用いて DOK7 による先天性筋無力症候群の病態を明らかにした (*Hum Mol Genet*. 2023)。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・治療法開発

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)。今回更に、抗合成酵素症候群において陽性自己抗体ごとの病理所見の違いがあることを明らかにするとともに (*Brain Pathol*. 2023 Jul;33(4):e13155)、り免疫介在性壊死性ミオパチーが特定の HLA 遺伝子多型と相関があることを見いだした (Ohnuki et al. *HLA*. 2023 May;101(5):449-457)。さらには共同研究により、マウスでの cN1A ペプチドの免疫感作により IBM 病態における抗 cN1A 抗体の病原性を明らかにした (Yamashita et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2023 Dec;94(12):1018-1024)。また、炎症性筋疾患の国際ガイドライン作成にも寄与した (Oldroyd et al. *Nat Rev Rheumatol*. 2023 Dec;19(12):805-817)。

b) 変異検索と治療標的

栗屋班員らとともに、FKTN 遺伝子 c.647+2084G>T のスプライシング反応に必須な branchpoint が治療標的となり得ることを見出した。フクチン (FKTN) の c.647+2084G>T は、早期停止コドンを持つ偽エクソンを作る。c.647+2084G>T スプライシングレポーターを用いてスプライシング制御に着目した化合物をスクリーニングし、スプライシング反応に必須な branchpoint (BP) が治療標的となり得ることを明らかにした。エクソンスキッピングの標的としての BP の有効性を確認するため、BP を標的としたアンチセンスオリゴヌクレオチド (BP-AON) を設計した。この結果、FCMD 患者の筋管細胞において、FKTN の mRNA とタンパク質の産生が正常に回復した。スプライシング中間体を検出し、FKTN レポーター遺伝子

に BP 変異を作ることにより、機能的 BP を同定した。この BP は、BP-AON によって十分にブロックされた。次に、FCMD を引き起こす別の変異体について BP-AON を設計した。この変異体は、共通の SINE-VNTR-Alu 型レトロトランスポゾンによって病的なエクソンのトラッピングを誘導する。注目すべきことに、この BP-AON は FCMD 患者の筋管細胞における FKTN の mRNA とタンパク質の産生を正常に回復させた。この結果は、BP が遺伝性疾患のエクソンスキッピング治療戦略における潜在的な標的となりうることを示唆している (Ohara et al. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2023 Jul 17;33:404-412)。

c) GNE ミオパチーの治療法開発

2009 年のモデルマウスでの有効性証明以来継続的に支援してきた GNE ミオパチーに対するシアル酸補充療法の第 2/3 相試験 (Suzuki et al. *J Neuromuscul Dis*. 2023;10(4):555-566, Mori-Yoshimura et al. *Orphanet J Rare Dis*. 2023 Aug 11;18(1):241) および追加第 3 相試験 (Suzuki et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, in revision) で有効性を示し、その結果を受けて、シアル酸徐放剤であるアセノベルが 2023 年 3 月正式に薬事承認を受けるに至った。

4. 研究成果刊行一覧

- 1) Komaki S, Kubota A, Katsuse K, Kitamura A, Maeda M, Matsukawa T, Eura N, Saito Y, Nishino I, Toda T: A Case of a Patient with Calpainopathy Carrying Compound Heterozygous Mutations of a de novo Pathogenic Variant of c.1333G>A and a Novel Variant of c.1331C>T in CAPN3. *Intern Med*. 2024 Mar 18.
- 2) Hamaguchi T, Nishino I, Hirano Y, Uchida N, Fujita-Nakata M, Nakanishi M, Sakai T, Asahina M: Sporadic Late-onset Nemaline Myopathy Associated with Sjögren's Syndrome: A Case Report. *Intern Med*. 2024 Mar 4.
- 3) Izumi R, Warita H, Niihori T, Furusawa Y, Nakano M, Oya Y, Kato K, Shiga T, Ikeda K, Suzuki N, Nishino I, Aoki Y, Aoki M: Comprehensive Analysis of a Japanese Pedigree with Biallelic ACAGG Expansions in RFC1 Manifesting Motor Neuronopathy with Painful Muscle Cramps. *Cerebellum*. 2024 Feb 7.

- 4) Saito M, Uchiyama A, Kim J, Endo Y, Yasuda M, Aoki S, Ikeda Y, Nishino I, Motegi SI: Case report of anti-survival motor neuron complex antibody-positive overlap syndrome of diffuse cutaneous systemic sclerosis and idiopathic inflammatory myopathies. *J Dermatol.* 2023 Dec 27.
- 5) Fukushima K, Yoshida T, Yamazaki H, Takamatsu N, Nagai T, Osaki Y, Harada M, Nishino I, Okiyama N, Sugie K, Izumi Y: A Case of Anti-NXP2 Antibody-positive Juvenile Dermatomyositis with Characteristic Fascial Thickening on Muscle Ultrasound and Improvement with Immunotherapy. *Intern Med.* 2023 Nov 6.
- 6) Umemoto D, Kanzawa Y, Nakamura T, Nishino I, Mizuki S, Ohnishi J, Nakajima T, Ishimaru N, Kinami S: Immune-mediated Necrotizing Myopathy in a Patient with Microscopic Polyangiitis: A Case Report. *Intern Med.* 2023 Oct 6.
- 7) El Sherif R, Saito Y, Awaya T, Noguchi S, Nishino I: Splicing Switching of Alternative Last Exons Due to a Deletion Including Canonical Polyadenylation Site in COL6A2 Gene Causes Recessive UCMD. *Neurol Genet.* 10(2):e200137. Mar, 2024. eCollection 2024 Apr.
- 8) Töpf A, Cox D, Zaharieva IT, Di Leo V, Sarparanta J, Jonson PH, Sealy IM, Smolnikov A, White RJ, Vihola A, Savarese M, Merteroglu M, Wali N, Laricchia KM, Venturini C, Vroling B, Stenton SL, Cummings BB, Harris E, Marini-Bettolo C, Diaz-Manera J, Henderson M, Barresi R, Duff J, England EM, Patrick J, Al-Husayni S, Biancalana V, Beggs AH, Bodi I, Bommireddipalli S, Bönnemann CG, Cairns A, Chiew MT, Claeys KG, Cooper ST, Davis MR, Donkervoort S, Erasmus CE, Fassad MR, Genetti CA, Grosman C, Jungbluth H, Kamsteeg EJ, Lornage X, Löscher WN, Malfatti E, Manzur A, Martí P, Mongini TE, Muelas N, Nishikawa A, O'Donnell-Luria A, Ogonuki N, O'Grady GL, O'Heir E, Paquay S, Phadke R, Pletcher BA, Romero NB, Schouten M, Shah S, Smuts I, Sznajder Y, Tasca G, Taylor RW, Tuite A, Van den Bergh P, VanNoy G, Voermans NC, Wanschitz JV, Wraige E, Yoshimura K, Oates EC, Nakagawa O, Nishino I, Laporte J, Vilchez JJ, MacArthur DG, Sarkozy A, Cordell HJ, Udd B, Busch-Nentwich EM, Muntoni F, Straub V: Digenic inheritance involving a muscle-specific protein kinase and the giant titin protein causes a skeletal muscle myopathy. *Nat Genet.* 56(3):395-407. Mar, 2024
- 9) Eura N, Noguchi S, Ogasawara M, Kumutpongpanich T, Hayashi S, Nishino I: OPDM/OPMD Image Study Group: Characteristics of the muscle involvement along the disease progression in a large cohort of oculopharyngodistal myopathy compared to oculopharyngeal muscular dystrophy. *J Neurol.* 270(12):5988-5998. Dec, 2023
- 10) 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.* 62(20):3027-3031. Oct, 2023
- 11) Maruo Y, Saito Y, Nishino I, Takeda A: Successful treatment of frequent premature ventricular contractions and non-sustained ventricular tachycardia with verapamil and flecainide in *RYR1*-related myopathy: a case report. *Eur Heart J Case Rep.* 7(10):ytad509. Oct, 2023. eCollection 2023 Oct.
- 12) Nomiya H, Hamano T, Takaku N, Sasaki H, Usui K, Sanada S, Yamaguchi T, Kitazaki Y, Endo Y, Kamisawa T, Enomoto S, Shirafuji N, Matsunaga A, Ueno A, Ikawa M, Yamamura O, Hasegawa M, Kimura H, Nishino I, Nakamoto Y: Magnetic resonance imaging findings of the lower limb

- muscles in anti-mitochondrial M2 antibody-positive myositis. *Neuromuscul Disord.* 33(9):74-80. Sep, 2023
- 13) Tanboon J, El Sherif R, Inoue M, Okubo M, Malfatti E, Nishino I: A 53-year-old man with a 16-year history of asymmetrical proximal muscle weakness, facial muscle weakness, and scapular winging. *Brain Pathol.* 33(5):e13171. Sep, 2023
- 14) 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.* 62(15):2261-2266. Aug, 2023
- 15) Ohara H, Hosokawa M, Awaya T, Hagiwara A, Kurosawa R, Sako Y, Ogawa M, Ogasawara M, Noguchi S, Goto Y, Takahashi R, Nishino I, Hagiwara M: Branchpoints as potential targets of exon-skipping therapies for genetic disorders. *Mol Ther Nucleic Acids.* 33:404-412, Jul, 2023. eCollection 2023 Sep 12.
- 16) 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.* 33(4):e13155. Jul, 2023
- 17) Haji S, Miyamoto R, Morino H, Osaki Y, Tsuji S, Nishino I, Abe M, Izumi Y: Autosomal Recessive Spinocerebellar Ataxia Type 9 With a Response to Phosphate Repletion: A Case Report. *Neurol Genet.* 9(3):e200070. May, 2023. eCollection 2023 Jun.
- 18) Ohnuki Y, Suzuki S, Uruha A, Oyama M, Suzuki S, Kulski JK, Nishino I, Shiina T: Association of immune-mediated necrotizing myopathy with HLA polymorphisms. *HLA.* 101(5):449-457. May, 2023

カベオリン-3 を起点とする筋ジストロフィーの病態治療研究

分担研究者 大澤 裕

所属 川崎医科大学神経内科学

緒言

カベオリンは、細胞膜の特殊陥入構造物であるカベオラの構成蛋白質で、その形態形成を司る。さらに、興味深いことに、nNOS, Ras, Src, EGFR など様々なシグナル分子とも直接結合し、その活性を制御するシグナル伝達の足場蛋白質として機能していることが知られている。筋鞘膜には、アイソフォームであるカベオリン-3 が発現しているが、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、カベオリン-3 著減する。すなわち、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未だ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 型膜受容体と結合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。

本研究では、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 を代表とする筋ジストロフィー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 モデルマウスおよびサルコペニアモデルマウスに全身投与し、その有効性についての非臨床 POC 取得を目指す。すなわち、ペプチドによる disease modifying therapy の基盤を確立する。

2023年度マイルストーン:①モデルマウス作出、②DMD マウスのジストロフィー変化改善。

2024年度マイルストーン:①モデルマウス解析、②サルコペニアマウス筋力低下改善。2025年度マイルストーン:①カベオリン-3 の DMD 病態

シグナル制御機構解明、②DMD マウスおよびサルコペニアへの有効性確立。

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:筋特異的プロモーター下に、カベオリン-3 を欠損する LGMD1C 型変異カベオリン-3 (P104L)、および野生型のカベオリン-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、またその基盤となる分子機構についての解析に着手した。

③マイオスタチン阻害ペプチド医薬のサルコペニアモデルマウス投与解析:全身投与によって、寿命、筋萎縮、および遅筋化が改善するか否かについて解析を予定している。

結果

①カベオリン-3 高発現及び欠損 DMD モデルマウス作出・解析:

筋特異的プロモーター (MCK promoter/enhancer) 下に、野生型カベオリン-3 cDNA と常染色体潜性肢帯型筋ジストロフィー 1C (LGMD1)1C 型変異 CAV3^{P104L} 相補 DNA と SV40 ポリ A 付加配列を組み込んだトランスジーンを、それぞれ作成した。最重症型 DMD モデルマウス (DBA/2-*mdx*) 受精卵に注入、前者で 4 系統、後者で 6 系統のマウスが誕生した。ウエスタンブロット解析では、骨格筋・心筋のカベオリン-3 蛋白質量の増加、減少が確認できた。(2023年度マイルストーン:達成)

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:

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

プチドを同定できた。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 に対する有効性について非臨床 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。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を策定した (未発表)。現在、このペプチドの筋線維壊死抑制の分子機構について、筋組織染色と培養細胞を用いて検討中である。(2023 年度マイルストーン: 達成)

③マイオスタチン阻害ペプチド医薬のサルコペニアモデルマウス投与解析:

サルコペニアモデル α -Klotho マウス (Ohsawa Y, Am J Pathol. 193(5):591-607, 2023) に対する全身投与解析を準備している。

考察

ジストロフィンの発見から現在までに多く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、共通して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、「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を想定することが可能である。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、できればシグナル阻害の立場か

ら治療介入への突破口を開きたい。

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 2023 年 6 月に実施した PMDA RS 戦略相談によって、毒性試験を中心とした非臨床試験内容について合意が得られ、現在その実施について検討している。一方、我々は既に長寿蛋白質 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を報告している (Ohsawa Y, Am J Pathol. 193(5):591-607, 2023)。マイオスタチン阻害戦略のサルコペニアへの有効性を α -Klotho 欠損マウスを用いて検証する予定である。

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を、それぞれ達成できた。2024 年度には、①モデルマウス解析を進め、②将来のペプチド上市に向けた非臨床試験を実施とサルコペニアモデルマウスへの投与を予定している。

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

中村尚子 1)、鈴木直輝 1)、井泉瑠美子 1)、小野洋也 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

筋ジストロフィーは進行性の筋力低下と筋萎縮を呈する遺伝性の筋疾患であり、骨格筋の壊死・再生を主病態とする。Dysferlinopathy は dysferlin 遺伝子の変異により筋細胞膜タンパク dysferlin が欠損することで引き起こされる常染色体潜性(劣性) 遺伝の成人発症の筋ジストロフィーで、治療は対症療法のみで根治療法はおろか進行を抑制する治療法すら未だに開発されていない。Dysferlin の主な機能は細胞膜修復であり、常に機械的ストレスにさらされている骨格筋にとって、筋幹細胞による筋再生とともに筋損傷に対抗する本質的で重要な機能である。細胞膜損傷によって引き起こされる細胞膜修復過程におい

ては、Ca²⁺の細胞内への流入をトリガーとし、小胞が損傷部位に集まりシールのように損傷部位を埋める「パッチ形成」が行われると言われており、mitsugumin 53 (MG-53) や annexins など dysferlin と結合し細胞膜修復に関わるタンパクもいくつか発見されている。しかし、シグナル経路やタンパク同士の相互作用については未解明な部分が多く全容解明には至っていない。dysferlin 遺伝子の変異は遺伝子全長にわたって見られるものの、頻度別に見ると膜結合ドメインである C2 ドメインの 3、4 番目に挟まれた領域(第 II 領域) に集中している。第 II 領域には機能ドメインの多くが存在しているが、その機能は明らかになっていない。以上の背景を踏まえ、この第 II 領域に注目し、新たな dysferlin 結合タンパクの探索と同定したタンパクと細胞膜修復機能との関係を解明することを目的に研究を行った。

方法

Dysferlin のドメイン構造に着目し、C2 ドメインの間に挟まれた第 II 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した。

結果

はじめに、質量分析により第 II 領域に結合するタンパク候補を探索し、セリン・スレオニンキナーゼ蛋白 X に注目した。実際にレーザーにより骨格筋細胞膜に損傷を起こすと損傷部位に X が集積し、dysferlin と共局在することを確認した。X を Knock Out (KO)したマウス筋芽細胞(C2C12)ではレーザー膜損傷実験で細胞膜

修復機能が低下しており、また、シリンジローディングによる膜損傷時に漏出した ATP を測定すると、X 欠損筋芽細胞では野生型よりも有意に漏出量が多く、細胞膜修復率が低下していた。そして、dysferlin 欠損 Bla/J マウスにおいて同様のレーザー膜損傷実験を行うと、X の過剰発現により、細胞膜修復機能の改善がみられた。さらに阻害剤により X のキナーゼ活性を阻害すると膜修復率が低下していた。以上から X が細胞膜修復機能を正に制御することが明らかになった。

次に、X のリン酸化基質を同定するため KO 筋芽細胞と野生型筋芽細胞を用いてリン酸化プロテオミクス解析を行ったところ、X 欠損細胞においてリン酸化が減少しているタンパクとして dysferlin と共に細胞膜修復機能に関わることが報告されている annexin A1 が見出された。annexin A1 は Ca²⁺イオンの流入を契機に膜損傷部位に速やかに動員され、dysferlin と結合し、特に前述した“パッチ形成”に関わることが報告されており、リン酸化 annexin A1 と細胞膜修復との関連の報告はないものの、annexin A1 のリン酸化により膜局在や小胞集簇が起こるといった報告はあり X が annexin A1 のリン酸化に関与することで細胞膜修復機能を制御している可能性が示唆された。

考察

本研究結果より、細胞膜損傷が生じた際に dysferlin と共に X と annexin A1 が損傷部位に動員され、X による annexin A1 のリン酸化を介して、“パッチ形成”が起こることが想定された。dysferlin-蛋白 X-リン酸化 annexin A1 の分子連関は細胞膜修復機能を改善させる治療標的候補であり、dysferlinopathy 以外の筋ジストロフィーの筋再生にも広く重要な役割を担っていることが予想される。

結論

本研究の成果は根治療法がまだない 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. Izumi R, Ikeda K, Niihori T, Suzuki N, Shirota M, Funayama R, Nakayama K, Warita H, Tateyama M, Aoki Y, Aoki M. Nuclear pore pathology underlying multisystem proteinopathy type 3-related inclusion body myopathy. *Ann Clin Transl Neurol* 11, 577-592, 2024.
2. 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 Neuromuscul Dis* 10, 555-566, 2023.
3. Mori-Yoshimura M, Suzuki N, 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. Efficacy confirmation study of aceneuramic acid administration for GNE myopathy in Japan. *Orphanet J Rare Dis*. 18, 241, 2023.

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 Paniz Farshadyeganeh¹⁾、大河原美静¹⁾、Mohammad Nazim¹⁾、増田章男¹⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科神経遺伝情報学

緒言

先天性筋無力症候群(CMS)は神経筋接合部(NMJ)に発現する遺伝子の先天的な遺伝子変異によって神経筋接合部信号伝達が障害される疾患群であり、原因遺伝子によって臨床症状と治療方法が大きく異なる¹⁻⁴。CMSの臨床症状として、筋の易疲労性・持続的な筋力低下・筋萎縮・筋低形成に加えて、耳介低位・高口蓋などの顔面小奇形が時に認められる。自己免疫機序による重症筋無力症と異なり日内変動や易疲労性が明らかでなく、日差変動を呈する症例がある。CMSの多くは、2歳以下に発症するが、出生直後の数日間のみ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。特に常染色体顕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、*SNAP25B*-CMS⁷、*PURA*-CMS⁸の3型も常染色体顕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潜性遺伝形式を示す。

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、37種類の遺伝子における原因遺伝子変異が同定されており14の病型に分類が可能である。

*GFPT1*はヘキソサミン生合成経路(hexosamine biosynthesis pathway, HBP)の最終産物 uridine diphosphate N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc)の律速酵素である。*GFPT1*遺伝子の病的バリエーションが糖化酵素欠損によるCMSを惹き起こす。*GFPT1*のエクソン9は骨格筋・心筋特異的に選択的スプライシングを受け長い*GFPT1-L*が生成される。*GFPT1-L*のスプライシング制御と生理的意義は未解明である。

方法

ヒト*GFPT1*エクソン9の選択的スプライシングを制御する分子機構の解析を、splicing cis-elementへの変異導入、RNA結合タンパク質のartificial tethering、ならびにearly spliceosomal complexの単離により行った。骨格筋における*GFPT1-L*の役割を解明するために、*Gfpt1*エク

ソン9ノックアウト(KO)マウスを作出し、メタボローム解析、経口ブドウ糖負荷試験およびインスリン負荷試験、運動能評価、免疫蛍光顕微鏡法、電子顕微鏡による微細構造解析により行った。

結果

RNA結合タンパク質のsiRNAによる解析により、SRSF1、Rbfox1/2がスプライシングエンハンサーとして機能し、hnRNPH/Fがスプライシングサイレンサーとして機能することを明らかにした。次に、ヒト*GFPT1*エクソン9のミニ遺伝子を構築し、splicing cis-elementsに変異を導入した。その結果、SRSF1とRbfoxの結合モチーフの破壊はスプライシングを阻害し、hnRNPH/F結合モチーフの破壊はスプライシングを増強した。RNA probeのSRSF1およびRbfox1/2の結合部位に変異を導入することによりU1 snRNPとRNAプローブとの結合が阻害され、hnRNPH/Fの結合部位に変異を導入することによりこの結合が亢進した。さらに核抽出液からこれらのRNA結合タンパク質を除去してU1 snRNPプルダウンを行ったところ、 Δ SRSF1および Δ Rbfox1/2核抽出液ではU1 snRNP分子の結合が減少し、 Δ hnRNPH/F抽出液ではU1 snRNP分子の結合が亢進した(図1)。



図1. SRSF1とRbfox1/2が協調的にU1 snRNPの5' splice siteへの動員を促進することにより*GFPT1*エクソン9のスプライシングを増強する。逆にhnRNPH/FはU1 snRNPの5' splice siteへの動員を阻害することによってこのスプライシングを抑制する。

次に、*Gfpt1* エクソン 9 の骨格筋における機能を解析するため、CRISPR/Cas9 システムにより *Gfpt1* エクソン 9 欠損(KO)マウス系統を作製した。KO マウスの上腕三頭筋では、総 *Gfpt1* mRNA 量が 1.3 倍に増加し、総 *Gfpt1* タンパク質が 4.5 倍に増加した。同様に、KO マウスでは上腕三頭筋の UDP-HexNAc (UDP-GlcNAc + UDP-GalNAc) が 2.8 倍に増加した。さらに、ドットプロット解析では、KO マウスの骨格筋では O-および N-グリコシル化タンパク質が約 2 倍増加していた。メタボローム解析では KO マウスにおける解糖経路と TCA サイクルの抑制が示された。また、KO マウスではアスパラギン酸とその下流の代謝物が著しく減少していた。OGT と ITT テストでは、加齢 KO マウスでは、インスリンに対するグルコース取り込みが障害されていた。

次に KO マウスの運動機能と NMJ 構造を解



図 2. 骨格筋特異的に GFPT1-L を欠損する KO マウスでは、骨格筋における GFPT1-S と UDP-HexNAc が顕著に増加し、グルコースの細胞取り込み、ミトコンドリア電子伝達系、神経筋接合部構築が抑制された。

析した。ロタロッド試験とぶら下がり試験の両者において KO マウスの運動能力は加齢とともに徐々に低下した。次に、12~14 ヶ月齢の KO マウスの上腕三頭筋、腓腹筋、大腿直筋におけるアセチルコリン受容体 (AChR) クラスターの定量的解析を行ったところ、AChR クラスター面積は有意に減少し、断片化した AChR クラスター数は有意に増加していた。生後 12 ヶ月から 14 ヶ月の NMJ の超微細構造では、神経筋接合部終板構造の単純化と神経末端の矮小化が観察された。高齢の *Gfpt1* エクソン 9 KO マウスは、*GFPT1*-CMS 患者で観察されるような異常な NMJ 構造を示した。KO マウスの表現系は、*GFPT1* の機能欠損変異を持つ CMS 患者に認められる肢帯型筋無力症に合致した(図 2)。

考察

SRSF1 と Rbfox1/2 が協調的に U1 snRNP の 5' splice site への動員を促進することによってヒト *GFPT1* エクソン 9 のスプライシングを増強し、逆に hnRNP H/F は U1 snRNP の 5' splice site への動員を阻害することによってこのスプライシングを抑制することを明らかにした。さらに、骨格筋特異的に *GFPT1*-L を欠損する KO マウスを作出し、骨格筋における *GFPT1*-L 欠損は *GFPT1*-S と UDP-HexNAc の量を顕著に増加させ、グルコースの細胞取り込み、ミトコンドリア電子伝達系、神経筋接合部構築を抑制することを明らかにした。その結果、高齢 KO マウスは、筋力低下と易疲労性を示し、*GFPT1*-CMS と類似の表現系を示した。

結論

GFPT1 エクソン 9 のスプライシングによる骨格筋特異的な *GFPT1*-L の発現は HBP への glucose flux を抑制し、骨格筋エネルギー産生への glucose の効率的な活用を目的とすることが示唆された⁹。

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. *Clinical and Experimental Neuroimmunology*. 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. Qashqari H, McNiven V, Gonorazky H, et al.: PURA syndrome: neuromuscular junction manifestations with potential therapeutic implications. *Neuromuscul Disord.* 32:842-844, 2022
 9. Farshadyeganeh P, Nazim M, Zhang R, et al.: Splicing regulation of GFPT1 muscle-specific isoform and its roles in glucose metabolisms and neuromuscular junction. *iScience.* 26:107746, 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 (EDMD) を中心に、モデルマウスを用いた解析を進めている。また、小型魚類を用いて各種筋疾患モデルを作製し、病態解明と治療法開発を進めている。

エメリー・ドレイフス筋ジストロフィー (EDMD) をはじめとする核膜関連筋疾患について、エメリン欠損マウス (Emd)、Lmna H222P ノックインマウス (H222P)、Emd と H222P の重複変異マウス (EH) の 3 種の核膜病モデル動物や初代骨格筋培養細胞や患者由来 iPSC 細胞を用いて、核膜病における筋障害機序の解明を推進することを目的とする。

各種筋疾患モデルを作製し、病態解明と治療法開発を進める。

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

EDMD モデルマウスである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) について、骨格筋と心筋の症状の経過を組織学的、生理学的に解析した。

一方、ゼブラフィッシュを活用した研究では、麻酔薬による骨格筋障害の病態解明と治療法

開発に関する研究を進めた。また、Jagged 1 の発現を可視化可能なゼブラフィッシュを作製し、筋変性を改善する化合物スクリーニングを行った。

うことによって、

結果

H222P と EH はいずれも 18 週、30 週で心機能低下、心筋の線維化が経時的に増悪したが、両者に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。

Jagged 1 の発現を可視化できるモデルフィッシュの作製に成功し、化合物スクリーニングによって DMD モデルフィッシュの表現系を改善する薬剤を見出した。

考察

エメリンの欠損は H222P の骨格筋症状を増悪させるが、心筋では差が認められず、同じ横紋筋であってもエメリンの機能が異なる可能性が示唆された。

Jagged 1 の発現を促進する薬剤は、筋再生能を活性化する可能性がある。

結論

核膜タンパク質は同じ横紋筋であっても、組織特異的な機能を有している可能性を明らかにした。

ゼブラフィッシュモデルを用いて DMD フィッシュの筋変性を抑制する薬剤を見出すことができた。

参考文献

1. Wada E, Matsumoto K, Susumu N, Kato M, Hayashi YK. Emerin deficiency does not exacerbate cardiomyopathy in a murine model of Emery-Dreifuss muscular dystrophy caused by an *LMNA*

gene mutation. *J Physiol Sci*
2023;73:27. DOI:10.1186/s12576-023-
00886-0

2. Wongkitikamjorn W, Wada E, Hosomichi J, Maeda H, Satrawaha S, Hong H, Yoshida K, Ono T, Hayashi YK. Metabolic dysregulation and decreased capillarization in skeletal muscles of male adolescent offspring rats exposed to gestational intermittent hypoxia. *Front. Physiol.* 2023;14:1067683.
3. 林由起子. 成人で見られる先天性ミオパチーの診断と治療. *脳神経内科* 2023; 99(2): 195-200.
4. 林由起子. Emery-Dreifuss 型筋ジストロフィー. *小児内科* 2023;55(12):1937-1940.

細胞外環境を標的とした筋疾患の病態解明と治療方法開発

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

研究期間全体を通じて、細胞外環境に着目した病態を解明し治療に繋げていく。細胞外環境には骨格筋の基底膜とこれが制御するメカニカルストレスとその下流シグナルを広く定義して研究の標的としていく。これまでに、3次元の筋培養の開発を通じて、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てきた。健常筋は、適切なメカニカルストレスにより維持されているが、疾患筋においては、メカニカルストレスへの脆弱性が筋崩壊の原因になることが知られる。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を視野に入れる。メカニカルストレスを定性、定量的に負荷する培養システムを用いて形態学的、生化学的に解析し、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を開発する基礎とする。

方法

疾患 iPS 細胞由来筋細胞を使った3次元培養を確立し、一軸伸展を用いた機械的刺激による変化を検証する。特に Duchenne 型筋ジストロフィー筋を使ってモデル系の確立を行い、機械

的刺激前後の培養上清中 CK、培養上清中 microRNA を測定した。

結果

細胞生存率アッセイの結果、健常筋管では機械的刺激後の細胞生存率は 72.4%なのに対して、ジストロフィン変異筋管は 21.9%となっていた。細胞外に漏出する miR に関しては、miR-22, -95a, -206 はジストロフィン変異を持つ筋管でのみ機械的刺激後に培養上清中に漏出した。また、miR-1, -30a, -133a, 133b, -193b, 208b, 378a, -499a は健常筋管、ジストロフィン変異筋管どちらも機械的刺激後に培養上清中に漏出したが、ジストロフィン変異は漏出を助長した。

考察

今年度の結果から、神経や血管支配にかかわらない、骨格筋自身のメカニカルストレスへの応答の分子機構が一部明らかになった。本モデルの優越性としては、免疫応答等生体の総合的反応から切り外して骨格筋細胞をはじめとする特定の細胞へのメカニカルストレスへの反応を抽出できる点である。また、細胞外マトリックス構造を残した培養系であることから、播種する細胞種やスカホールドの質を変えることで、細胞外環境を標的とした筋疾患の病態解明と治療方法開発に貢献するものと考えられる。また、別途、運動などのメカニカルストレスによる血管構築の可変性などの検討も行っており、将来的には、本モデルに共培養技術をくわえることで、組織全体のメカニカルストレス応答性の変化について検証を加える必要がある。

結論

骨格筋自身の細胞外環境、メカニカルストレスへの応答の分子機構が一部明らかになった。

参考文献

- 1 Dyssegmental dysplasia Rolland-Desbuquois type is caused by pathogenic variants in HSPG2 - a founder haplotype shared in five patients Paniz Farshadyeganeh, Takahiro Yamada, Hirofumi Ohashi, Gen Nishimura, Hiroki Fujita, Yuriko Oishi, Misa Nunode, Shuku Ishikawa, Jun Murotsuki, Yuri Yamashita, Shiro Ikegawa, Tomoo Ogi, Eri Arikawa-Hirasawa & Kinji Ohno *Journal of Human Genetics* 2024
- 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 平澤 恵理、山下 由莉 難治性疾患(難病)を学ぶ シュワルツ・ヤンペル症候群 遺伝子医学 10(3) 98 - 100 2020 年 7 月
- 4 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. doi:10.1038/s41598-018-25635-x.
- 5 *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.
- 6 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
- 7 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).
- 8 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.
- 9 Furuya N, Ikeda S, Sato S, Soma S, Ezaki J, Oliva JA Trejo, Takeda-Ezaki M, Fujimura T, Arikawa-Hirasawa E, Tada N, Komatsu M, Tanaka K, Kominami E, Hattori N and Ueno T, PARK2/Parkin-mediated mitochondrial clearance contributes to the proteasome 2 activation during slow-twitch muscle atrophy via NFE2L1 nuclear translocation. *Autophagy* 2014 Apr;10(4):631-41.

分担研究課題名 骨格筋の萎縮・肥大の分子機構と筋疾患の病態解明に関する研究

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 難病治療学研究部門

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

所属

1) 藤田医科大学 医科学研究センター 難病治療学

2) 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

筋ジストロフィーと関連難治性神経筋疾患については、多くの原因遺伝子の変異が明らかになり患者登録・診断・治療応用が展開されている。しかし、治療法はいまだに限定的であり、萎縮・肥大・変性・細胞浸潤といった病態の詳細な解明は重要課題である。サルコペニアにおいても筋ジストロフィーと類似の病態・病理が観察され、その分子病態の把握は重要である。骨格筋は可塑性の高い組織である。本研究では、筋収縮を担う骨格筋構成分子の翻訳後修飾の詳細解析、筋量・筋質の制御機構、筋萎縮制御解析を推進した。筋萎縮・筋分化の破綻に関与する機構を多角的な手法で解析した。

方法

骨格筋構成分子の要であるミオシンに着目した研究を展開している。ミオシンには速筋型、遅筋型、胎児型、心筋型のサブタイプが存在する。速筋型ミオシン重鎖をコードする *Myh1, 4* のダブルノックアウト(dKO)を遺伝子改変で作成し詳細な解析を進捗させた。

速筋型ミオシンがモノメチル化翻訳後修飾を示すという新知見を明らかにしている。ミオスタチン抑制による筋肥大モデルでは骨格筋

のミオシンのメチル化酵素が上昇しモノメチル化が増加するという興味ある現象を見いだした。メチル化抗体による解析、網羅的解析手法を駆使して研究を進捗させた。さらに、筋レポジトリーに保存されている各種の筋ジストロフィー試料を解析し、メチル化の増減を調査した。

平面内細胞極性を担う分子の4回膜貫通型分子 *Vangl2* と接着分子 *N-cadherin* は分子間相互作用する。両者の二重ヘテロ変異体を解析したところ尾部の二分脊椎をきたすことを示し詳細な組織学的解析、結合解析、局在解析を行なった。*N-cadherin* と同様にクラシックカドヘリンである *M-cadherin* は筋衛星細胞の静止期のマーカーとして解析が進んでいる。*M-cadherin* と *Vangl2* との筋衛星細胞と筋線維近傍組織における相互作用研究を3次元的な蛍光染色解析を取り入れて着手した。

結果

Myh1, 4 の dKO は生後3週齢程度から顕著な筋萎縮を示し、4週齢までにすべての個体が死亡する。筋力低下、体重低下、サルコメア構造の破綻、ミトコンドリアの形態異常が解析され新たな筋萎縮モデルとなることが示された。骨格筋での高感度の一分子レベルでの mRNA を解析する *in situ hybridization chain reaction* 法を応用した解析から *Myh4* 発現筋線維での萎縮が顕著であることがわかった。腓腹筋では、筋萎縮に関連した *Smad* シグナルやユビキチン系の上昇のみならず、代償性に *mTOR* などの筋肥大シグナルの変化が観察された。さらに、生後2~3週齢の時点での筋組織の解析を行なったところ、野生型マウスと比べて dKO マウスは早期から著しい筋萎縮を示した。筋衛星細胞や間葉系間質細胞の数的な変動が観察された。 μ CT 解析から頭蓋骨を含めた全身の骨組織の形成不全・希薄化が観察された。

ミオシン重鎖がメチル化修飾されることを示し、その酵素 (*Mett121e*) を同定した。ヒトやマウスの骨格筋でのモノメチル化が確認された。

種々の筋疾患の筋試料を用いてミオシンのメチル化を精査したところ、筋硬直性ジストロフィーで低下が見られた段階である。データベース解析でメチル化酵素ファミリーの中で *Mettl21e* のみが低下することが確認された。*Mettl21e* の KO マウスの解析を進め、筋量・筋張力の低下、アクトミオシンの動態の変化が示された。筋衛星細胞の表面マーカーとして Pax7 と共に M-cadherin が知られている。M-cadherin と細胞の極性決定分子である Vangl2 が相互作用することを示した。足底筋組織全体を用いた whole mount immunofluorescence 染色法を取り入れ解析し、両者が筋衛星細胞で共局在することを 3次元解析で示すことができた。筋衛星細胞と筋線維との相互作用について解析を進めている。

考察

速筋型ミオシンの中で Myh4 (MyHC-IIb) は最も強い瞬発力を示すが、ヒトでの発現は定常状態では少ないとされており筋疾患での変異の報告はまだない。点変異により軽度の筋萎縮を呈する可能性が示唆され解析を進めている。

骨格筋収縮の要であるミオシン分子の制御にメチル化が関与することを示した。酵素系を明らかにし、筋疾患との関連についての理解を深める研究を遂行した。筋ジストロフィーの一種ではミオシンのメチル化が低下することを認めた。今後は、その機序や生理学的意義についての理解を深める研究を行う予定である。筋衛星細胞のマーカーとして頻用されている M-cadherin の相互作用分子として平面内細胞極性因子を見いだしたので、さらに詳細な解析を行う計画である。

結論

骨格筋は可塑性の高い組織でありこれまでに様々な手法を駆使して筋肥大・萎縮についての解析を行ってきた。本研究では、骨格筋の収縮系タンパク質であるアクトミオシン系、特にミオシンについての解析を行なった。ミオシン

重鎖の二重変異モデルが早期から重度の筋萎縮を示すことを明らかにした。速筋型ミオシンがモノメチル化修飾を受けることを生化学および細胞生物学的に解析し筋ジストロフィー病態との関連を示唆することを示した。筋衛星細胞のマーカーである M-cadherin と細胞極性決定因子との相互作用についての解析を開始した。衛星細胞が筋線維と基底膜側では極性が異なる可能性があり引き続き詳細な解析を行う予定である。

参考文献

1. 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.
2. 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.

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。さらに、膜脂質分子の性質の違いによる細胞膜物性の変化についても着目し、特に脂肪酸鎖の不飽和化をもたらす酵素群の役割解明を目指した。

方法

Piezo1 欠損マウス (*Piezo1^{umlc(KOMP)Wisi}*) 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、FACS を用いた筋幹細胞の単離を行い、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 *Piezo1-tdTomato* マウスを用いて、

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。これらの原因として、*Piezo1-tdTomato* マウスを用いた解析により、PIEZO1 チャネルが幹細胞の分裂時に分裂溝に強く集積することを明らかにした。同欠損マウスの解析により細胞分裂の遅延が認められたことから、PIEZO1 は幹細胞の秩序だった分裂の促進に係ることが示された（文献 2 にて報告）。

一方、PIEZO1 は物理的な力を感知しカルシウムイオンなどのカチオン流入をもたらすことから、種々の役割を有することが想定された。明らかになりつつある。実際、同欠損マウスの解析により、休止状態の筋幹細胞では *Pax7* 陽性細胞数の減少が認められた。すなわち筋幹細胞プールの維持に関わることが示唆される。また、単離筋幹細胞の解析により、PIEZO1 の発現量は幹細胞ごとで異なる現象が認められた。筋幹細胞ではそれぞれの細胞群にて性質がことなるいわゆる「不均一性」が幹細胞プールの維持、継続的な筋再生に重要であることが明らかになりつつある（文献 3）。そこで我々は PIEZO1 の発現量の高低に基づき細胞を分取し、*Pax7* の発現強度を免疫染色法により検討したところ、PIEZO1 高発現細胞群では *Pax7* 発現量が高く、PIEZO1 低発現細胞では *Pax7* 発現量が有意に低

いことが示された。これらの結果から、PIEZO1が筋幹細胞の幹細胞性を制御する可能性が示唆された（論文準備中）。

また、PIEZO1 以外の機械受容イオンチャンネルとして、高発現する因子について、それらの遺伝子欠損マウスの作出ならびに解析を試みた。興味深いことに TRP チャンネルのひとつの欠損マウスでは、*Piezo1* 欠損と比較してより強い表現型が認められた。

機械受容イオンチャンネルは、脂質分子により活性制御されることが明らかになりつつある。また脂質分子の組成とくに疎水性部分の脂肪酸鎖については、不飽和化（二重結合の導入）により膜の流動性が変動することで、膜物性に大きな影響をもたらす。そこで今年度は脂肪酸鎖の不飽和度を導入する酵素に着目し、筋芽細胞株 C2C12 ならびに単離筋衛星細胞に対して RNA 干渉法を用いて解析を行った。その結果、脂肪酸鎖不飽和化をもたらす酵素の発現減少により、筋管形成不全とともに幹細胞の性質の変動が認められた（論文準備中）。

考察

本研究では PIEZO1 を中心とした、機械受容チャン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ン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、幹細胞に掛かる物理的な力を感じて自身の局在を変化させ、幹細胞の活性化、分裂、増殖など適切な機能をもたらすと考えられる。また PIEZO1 の発現は、各幹細胞にて不均一であった。すなわち PIEZO1 が発現変動することで、筋幹細胞としての幹細胞性を規定する最上流因子のひとつであることが示唆された。PIEZO1 と複数の TRP チャンネルは機能的なすみわけをもって機能することが示唆された。現在、これらの複数のチャンネル群がどのような下流経路を活性化制御し、筋再生をもたらすか、オミクス解析を行うことで詳細な検討を行う予定である。

細胞膜物性は筋幹細胞の機能に重要な役割

を果たすことが想定されてきたが、その詳細は以前不明である。我々は脂質分子の不飽和化をもたらす酵素について、その発現ノックダウンにより筋管形成不全などが認められた。興味深いことに筋芽細胞の融合に係る因子(Myomaker など) の発現も減少したことから、脂質分子の性質が変化することで、遺伝子発現変動をきたすものと考えられる。今後、その分子機構の解明を遺伝子欠損マウスの解析等により明らかにする予定である。

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ンネル群は、チャンネル間の機能的なすみわけをもって、骨格筋再生能に重要な役割を果たすことが示された。また膜脂質分子の組成は、筋管形成等に重要であることが示唆された。今後、更なる分子機構解明により、筋幹細胞の活性化メカニズムや幹細胞性の維持機構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. 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).
3. Tierney MT, Sacco A. Satellite Cell Heterogeneity in Skeletal Muscle Homeostasis. *Trends Cell Biol*. 26(6):434-444 (2016).

骨格筋興奮収縮連関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、遠藤 ゆかり

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+} 遊離チャンネルであり、T管膜の脱分極によって開口する (脱分極誘発性 Ca^{2+} 遊離、DICR)。DICRはRyR1の他にCav1.1、 $\beta 1a$ 、Stac3、JP2の4因子が必須であるが、それらの因子の突然変異が悪性高熱症 (MH) や種々のミオパチー等の先天性筋疾患を引き起こすことがわかってきた。Cav1.1の遺伝子変異はMH患者から見つかっているが、なぜCav1.1変異が悪性高熱症を引き起こすのかは不明である。本研究では、申請者らが最近開発したDICR再構成系を利用して、Cav1.1の遺伝子変異によるMHの発症機構を解明することを目的とした。

方法

DICR再構成系はRyR1発現HEK293細胞に4因子とKir2.1遺伝子をバキュロウイルスで導入することにより構築した。小胞体内 Ca^{2+} 測定を行うためR-CEPIA1er遺伝子も併せて導入した。96ウェルプレートに細胞を播種して、翌日にバキュロウイルス溶液を添加した。ウイルス感染24-28時間後にFlexStation3プレートリーダーを用いて小胞体内 Ca^{2+} 濃度を経時的に測定した。

結果

広島大学で悪性高熱症疑い患者から同定された4種類の新規Cav1.1変異 (A560T、S879P、F1161L、D1382V) についてDICR再構成系を

用いて機能評価を行なった。4種類の変異のうち、S879PとF1161LはDICRのカリウム濃度依存性が野生型に比べて亢進していた。Cav1.1ゲーティング電流を測定したところ、両変異では電位依存性が負電位側にシフトしていた。以上の結果から、Cav1.1活性化の膜電位依存性が亢進していることがわかった。興味深いことに、両変異を発現する再構成細胞ではカフェイン依存性が野生型発現細胞に比べて亢進していた。この亢進は溶液のカリウム濃度の低下 (5 mM から 1 mM) またはDICR構成因子 ($\beta 1a$ 、Stac3) の除去で消失した。

考察

今回異常が見られた変異 (S879P、F1161L) はいずれも膜貫通ドメインに存在し、電位センサーであるS4セグメントに近接している。そのため、S4セグメントの構造変化に影響を与えて電位依存性を更新した可能性が考えられる。

一方、異常が見られなかった変異 (A560T、D1382V) も別々の家系で報告されていることから、MHに関連する可能性がある。DICR再構成系は興奮収縮連関の最小単位でのアッセイ系であり、他の収縮因子を含んでいない。したがって、他の因子を介する何らかの制御機構がある可能性もある。筋系細胞を用いて検証する必要がある。

S879PとF1161Lではカフェイン依存性が亢進していた。カフェイン依存性はRyR1の Ca^{2+} 誘発性 Ca^{2+} 遊離 (CICR) を反映しているため、両変異体発現細胞ではRyR1のCICRが亢進していることを意味する。両変異では静止状態でのDICR活性が持続的に高まっていて、これが何らかのメカニズムでCICR活性を亢進しているものと考えられるが、詳細な機構については今後の検討が必要である。

結論

Cav1.1 の遺伝子変異は DICR の亢進を起こして MH を発症する可能性が示唆された。今後は、Cav1.1 変異導入マウス等のモデル動物を用いて、疾患発症機構を検討していく予定である。

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 Ca²⁺ release platform for validation of skeletal muscle disease mutations and drug discovery. *J Gen Physiol*, **154**: e202213230, November, 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, April, 2023
3. Matsukawa H, Murayama T. Development of ryanodine receptor (RyR) inhibitors for skeletal muscle and heart diseases. *Juntendo Med J*, **69**: 180-187, April, 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5年度は劣性遺伝形式の筋疾患のモデルフィッシュの開発手法と解析手法の構築を目指し、CRISPR/Cas9によるゲノム編集を用いた肢帯型筋ジストロフィー(LGMDR6)モデルの開発をおこなった。

方法

劣性遺伝形式の筋ジストロフィーとして *sgcd* 遺伝子(δ サルコグリカン遺伝子)の機能喪失変異によって生じる LGMDR6 を選んだ。その理由として、これまでにジストロフィン、ジストログリカン、ラミニンに機能喪失変異を持つゼブラフィッシュが単離されており、いずれも顕著な筋ジストロフィー症状を示したため、ゼブラフィッシュでもジストロフィン-糖タンパク質複合体(DGC)の機能は保存されていると考えたためである。その上で、サルコグリカン変異を持つゼブラフィッシュはまだ報告されていないため、新規なモデル開発でもあった。

ゼブラフィッシュの *sgcd* 遺伝子のエキソン2とエキソン5に対する gRNA 合計3種を設計し、Cas9タンパク質とともにゼブラフィッシュ

受精卵にインジェクションした。受精卵を成魚まで育て、野生型と交配して F1 世代を獲得した。F1 世代の尾からゲノム DNA を抽出し、ヘテロ二本鎖移動度解析(HMA)及びサンガーシーケンシスによってゲノム編集個体を選別した。F1 世代どうしを掛け合わせ、*sgcd* 変異をホモで持つ個体を作成し、顕微鏡で表現型を観察した。筋ジストロフィー症状の評価のため、生後24時間における自発的なコイリング運動と生後5日目における自発的な水泳距離を計測した。また、病理像を調べるため、骨格筋アクチン線維及び、 δ -サルコグリカンと複合体を形成するジストロフィン、 β -ジストログリカン、 β -サルコグリカン、 γ -サルコグリカンを免疫染色し、共焦点レーザー顕微鏡で観察した。

結果

3種類の gRNA を設計したが効率よく *sgcd* のゲノム編集が起きたのはそのうちの1つのみであった。ゼブラフィッシュにおけるゲノム編集の効率は gRNA の配列に大きく依存することがわかった。F1 世代では高い確率でゲノム編集個体が得られた。ゲノム編集個体のジェノタイプについて、PCR と電気泳動のみで判別がつく迅速な HMA 法を確立した。得られた系統では *sgcd* のエキソン2内に14塩基の欠失が確認できた。また、mRNA の配列においても同じ欠失が確認された。この欠失により、フレームシフトが起こるため、正常な δ -サルコグリカンタンパク質が欠損することが推定された。F1 世代の *sgcd* 変異をヘテロで持つ個体どうしの掛け合わせでは、メンデルの法則通り、約3:1の割合で正常個体と異常個体が生まれ、異常個体では心臓の肥大と体幹の筋肉の複屈折の低下が見られた。複屈折の低下はゼブラフィッシュで簡単に筋変性を検出する方法で筋ジストロフィー症状のマーカーとなる。

運動機能については、受精後 24 時間の段階では正常な個体と異常な表現型を示す個体間でコイリング運動に有意差はなかったが、受精後 5 日目では異常な表現型を示す個体において、総水泳距離が減少していた。ファロイジン染色では、変異体において筋変性が観察され、特に筋節中隔（ヒトの腱に相当する部位）から筋線維が脱離する観察像が見られた。免疫染色の結果、 β -サルコグリカンと γ -サルコグリカンの筋節中隔への局在が減少していたが、ジストロフィンと β -ジストログリカンでは正常であった。

考察

ゲノム編集個体の *sgcd* 遺伝子の DNA 及び mRNA の塩基配列解読の結果から δ -サルコグリカンの機能欠損に成功したと考えられた。 δ -サルコグリカン変異は拡張型心筋症の原因遺伝子としても報告されており、本研究のモデルでは心症状も示したものと考えられる。 δ -サルコグリカンノックアウト個体の運動能力について、受精後 24 時間では正常であったが、受精後 5 日目では有意に低下しており、これは筋ジストロフィーが進行性の疾患であることを再現する結果となったと考察できる。また、 β -サルコグリカン及び γ -サルコグリカンの筋節中隔上への局在が減少していたのは、 δ -サルコグリカンがノックアウトされたことで、ジストロフィン-糖タンパク質複合体が不安定となったためと考えられ、その結果、筋細胞膜を裏打ちが脆弱になり筋ジストロフィーを発症するという DGC 欠損によるヒト筋ジストロフィーの発症機序がゼブラフィッシュで再現されたものと考えられた。

結論

本研究により、CRISPR/Cas9 によるゲノム編集

によって劣性遺伝形式の筋ジストロフィーのモデルゼブラフィッシュが作製可能であることが示されたため、今後、原因不明の筋ジストロフィー関連疾患の候補遺伝子についても、同手法で病原性の確認やモデル作製をおこなうことができると期待される。

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 山口大学 医学系研究科 臨床神経学

緒言

筋強直性ジストロフィー (myotonic dystrophy, DM)は、CTG 繰り返し配列が異常に伸長する DM1 型 (DM1) と、CCTG 繰り返し配列の異常伸長による DM2 型 (DM2) からなる。DM1、DM2 ともに異常に伸長したリピートをもつ RNA が、MBNL 蛋白をはじめとする核内のスプライシング制御因子を障害する。このため DM は、さまざまな選択的スプライシング調節機構の破たんをきたすスプライシング異常症とされている。DM では多くのスプライシング異常が報告され、症状との関連が示唆されているが、ADL 障害要因となる進行性筋萎縮や心伝導障害・心筋症、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。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 患者ではしばしば拡張型心筋症 (DCM) 様の心不全症状がみられ、死因となることも多いが、その原因はわかっていない。一方、先行研究より、DM1 心筋ではマイクロ RNA のプロセッシング異常のため miR-1 が低下することが判明している。DM1 における miR-1 の意義について検証するため、心筋特異的 miR-1 ノックダウン *Drosophila* モデルを作成し、心内径や収縮能を評価した。また、*Drosophila* における miR-1 のターゲットを、in silico スクリーニングにより探索した。心筋特異的 Mp 発現

Drosophila モデルでの心機能を評価するとともに、*Drosophila* モデルおよび DM1 患者由来心筋での Multiplexin (Mp) /Col15A1 mRNA 発現を qPCR により、また蛋白発現をウエスタンブロットならびに蛍光免疫染色法により解析した。

結果

心筋特異的 miR-1 ノックダウン *Drosophila* モデルでは、心内径の拡大と心室内径短縮率の低下といった DCM 様の症状がみられた。一方、DM1 *Drosophila* モデルとしてすでに確立している (CUG)⁹⁶⁰ 発現モデル、CELF1 発現モデル、Mbl ノックダウンモデル心筋において、いずれも miR-1 発現が低下していた。In silico スクリーニングより、*Drosophila* における miR-1 ターゲットのなかから、Multiplexin (Mp) を同定した。実際に、miR-1 ノックダウン *Drosophila* モデル心筋では Mp 発現が上昇していた。さらに、心筋特異的 Mp 発現亢進 *Drosophila* モデルでは、心内径の拡大と心室内径短縮率の低下がみられた。

Mp のヒトオルソログである Col15A1 について、DM1 患者由来心筋で mRNA レベルおよび蛋白レベルで発現が亢進しており、特に心不全を合併している患者で発現レベルがより上昇していた。

さらに、Mp/Col15A1 発現亢進が DCM の原因となるかを検証するため、DM1 *Drosophila* モデルで RNA 干渉により Mp 発現を低下させた。その結果、DM1 *Drosophila* モデルで DCM 症状の改善がみられた。

考察

本研究の結果から、DM1 *Drosophila* モデル心筋において、miR-1 発現が低下しており、DCM 様の心不全症状を来すことが確認された。

また、miR-1 のターゲットとして Mp/Col15A1 を同定し、実際の DM1 Drosophila モデル心筋および DM1 患者心筋でこれら蛋白の発現レベルが上昇しており、DCM 様症状と関連することも確認された。

Okazawa H, Wold MS, Pearson CE: Antagonistic roles of canonical and Alternative-RPA in disease-associated tandem CAG repeat instability. *Cell*. 186(22):4898-4919, Oct, 2023

結論

DM1 心筋組織では、異常 RNA によるマイクロ RNA プロセッシング障害のため miR-1 発現が低下し、その標的である Col15A1 の発現が亢進するため心筋症を引き起こすことが示唆された。

参考文献

1. Souidi A, Nakamori M, Zmojdzian M, Jagla T, Renaud Y, Jagla K: Deregulations of miR-1 and its target Multiplexin promote dilated cardiomyopathy associated with myotonic dystrophy type 1. *EMBO Rep*. 2023 Apr 5;24(4):e56616, Apr, 2023
2. Nakamori M, Nakatani D, Sato T, Hasuike Y, Kon S, Saito T, Nakamura H, Takahashi MP, Hida E, Komaki H, Matsumura T, Takada H, Mochizuki H: Erythromycin for myotonic dystrophy type 1: a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *EClinicalMedicine*. 26:67:102390, Dec, 2023
3. Gall-Duncan T, Luo J, Jurkovic CM, Fischer LA, Fujita K, Deshmukh AL, Harding RJ, Tran S, Mehkary M, Li V, Leib DE, Chen R, Tanaka H, Mason AG, Lévesque D, Khan M, Razzaghi M, Prasolava T, Lanni S, Sato N, Caron MC, Panigrahi GB, Wang P, Lau R, Castel AL, Masson JY, Tippet L, Turner C, Spies M, La Spada AR, Campos EI, Curtis MA, Boisvert FM, Faull RLM, Davidson BL, Nakamori M,

「細胞膜リモデリング分子の機能異常に起因する先天性ミオパチーの病態解明」

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生化学分野

緒言

中心核ミオパチー (Centronuclear Myopathy: CNM) は、先天性ミオパチーの一つで、乳児期の発育の遅れ、近位筋優位の筋力低下、非進行性など、他の先天性ミオパチーと同様の臨床病態を示す。一方、骨格筋の筋病理は、中心核、T管形成不全、ミトコンドリアなどのオルガネラ分布異常、コストメア構造異常、神経筋接合部の形成不全など多岐にわたる。しかし、どの病態が筋力低下を引き起こす主要因になっているかは明らかになっていない。

方法

細胞膜リモデリングに関わる *BIN1*、*DNM2* は、CNMの原因遺伝子として知られている。本研究では、*BIN1*、*DNM2* 変異による CNM を対象とし、*BIN1* および *DNM2* 遺伝子がコードする *BIN1* とダイナミン 2 の機能異常が、骨格筋病態を引き起こすメカニズムを、①*in vitro* 再構成系による分子レベルの解析、②骨格筋細胞を用いた細胞レベルの解析、③モデル生物を用いた個体レベルの解析を行い、CNM の発症機序をマルチスケールで解明し、新たな診断や治療法、創薬開発に向けた学術的基盤を創成する。

結果

研究分担者はこれまでに、(1) *in vitro* および細胞内の T 管様構造再構成系を用い、ダイナミン 2 の膜リモデリング機能を定量的に評価することに成功した。またこの解析系を用いて、(2) CNM 変異型ダイナミン 2 では、膜切断

に必要な GTP アーゼ活性が亢進していること、(3) NCNP の筋レポジトリーから同定された CNM 患者由来の新規 *DNM2* バリエーションから、病因性バリエーションを同定することに成功した。これらの成果は、主任研究者と共著で、原著論文 2 報 (Fujise et al., *JBC* 2021 ; Fujise et al., *Human Mutation* 2021) と総説 1 報 (Fujise et al., *IJMS* 2022)、著書 1 報 (竹田、医学のあゆみ 2022) として発表した。

本年度は、T 管様構造の再構成系を用いて、(1) T 管様構造のメカニカルストレス耐性にダイナミン 2 が必要であること、(2) SH3 ドメインを部分的に欠失した CNM 変異型 *BIN1* が、異常に凝集した T 管様構造を形成することを明らかにした (論文準備中)。

考察

今後は、CNM 変異型 *BIN1* やダイナミン 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。さらに主任研究者のグループと共同で、新たな CNM モデルマウス (*Dnm2* E368K 変異を持つノックインマウス) を作成し、病態 (表現型) 解析を進めることにより、CNM 患者で起こる骨格筋病態の主要因を明らかにする。

結論

本研究で用いる解析アプローチは、CNM の発症機序を分子・細胞・個体レベルのマルチスケールで解明し、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を持つ。

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.

免疫介在性壊死性筋症におけるコレステロール代謝異常

分担研究者

久保田 暁 1)

研究協力者

小巻 奨吾 1)、北村 明日香 1)、前田 明子 1)、戸田 達史 1)

所属

1) 東京大学大学院 医学系研究科 神経内科学

緒言

免疫介在性壊死性ミオパチー (Immune-mediated necrotizing myopathy, IMNM) は病態不明の炎症性筋疾患である。血清自己抗体として、抗 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase (HMGCR) 抗体、抗 signal recognition particle (SRP) 抗体が知られている⁽¹⁾⁽²⁾。HMGCR 抗体はスタチン内服後の患者に見いだされ、HMGCR がスタチンの標的であることから、コレステロール代謝が病態と関係があると疑われていたが明らかではない。また SRP 抗体がなぜ HMGCR 抗体と類似の病態を呈するか明らかではない。

我々は HMGCR-IMNM において相対的に高 HDL 血症があることを明らかにし⁽³⁾、コレステロール代謝の異常が病態に関与しているという仮説を立てた。

方法

急性期の血清 HDL 濃度の測定：HMGCR-IMNM、SRP-IMNM、皮膚筋炎 (DM)、抗合成酵素症候群 (ASS) の急性期の血清 HDL を比較した。また、HMGCR-IMNM と SRP-IMNM

については治療後の血清 HDL も比較した。

生検筋組織の RNA seq : HMGCR-IMNM 21 例、SRP-IMNM 20 例の生検筋の RNA seq のデータを解析し、血清 HDL 代謝に重要な役割を果たす ABCA1、ABCG1 の mRNA 発現を比較した。また HDL 代謝に関与しうる発現変動遺伝子を同定するために網羅的解析を行った。免疫組織学的検討：上記網羅的解析で明らかになった遺伝子の産物が組織学的にどのように産生されているか、免疫染色を行った。

結果

急性期の血清 HDL は HMGCR-IMNM において SRP-IMNM、DM、ASS に比較して有意に高かった。また、治療後の血清 HDL は HMGCR-IMNM、SRP-IMNM のいずれも有意に上昇し、差がなくなった。

生検筋組織の RNA seq では、ABCA1 mRNA 発現には差が無かったが、ABCG1 mRNA は HMGCR-IMNM において有意に発現が高かった。発現変動遺伝子では APOA4 mRNA が HMGCR-IMNM において有意に発現亢進し、特に病理学的変化が顕著な例でより発現亢進していることが明らかになった。

ApoA4 免疫染色では ApoA4 は筋線維ではなく筋組織に浸潤する炎症細胞に陽性になり、CD68 との共染色で共局在が明らかとなった。

考察

急性期の HMGCR-IMNM において血清 HDL が比較的高いことが明らかとなった。RNA seq の解析により HDL 代謝に関与する ABCG1 や APOA4 が HMGCR-IMNM において発現亢進しており、HMGCR-IMNM におけるコレステロール代謝異常が示唆された。ApoA4 は筋線維では産生されず、炎症細胞とくにマクロファージで産生されていることが明

らかとなったが、IMNM では一般的にリンパ球浸潤に乏しくマクロファージ浸潤が目立つことが知られている⁽⁴⁾。また、HMGCR-IMNM の方が SRP-IMNM に比較してマクロファージの浸潤が多いことが知られており、今回の RNA seq 解析で認められた差はマクロファージ浸潤の差も関与しているかもしれない。

ApoA4 は HDL 代謝に関与するリポ蛋白で、抗炎症作用を有していると報告されている⁽⁶⁾。また、HMGCR-IMNM では SRP-IMNM に比較して病理所見が軽いことが知られており⁽⁷⁾、HMGCR-IMNM において APOA4 mRNA 発現亢進がみられることは、筋保護的作用が働いている可能性がある。

結論

HMGCR-IMNM においてコレステロール代謝異常があることを明らかにした。HMGCR-IMNM におけるコレステロール代謝は筋病理像や臨床像に影響を与えている可能性がある。コレステロール代謝異常の病態解明は新たな治療法の開発につながる可能性が有る。

参考文献

1. Andrew L Mammen , Tae Chung, Lisa Christopher-Stine et al., Autoantibodies against 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase in patients with statin-associated autoimmune myopathy. *Arthritis Rheum.* 2011 Mar;63(3):713-21.
2. I N Targoff , A E Johnson, F W Miller, Antibody to signal recognition particle in polymyositis. *Arthritis Rheum.* 1990 Sep;33(9):1361-70.
3. **Akatsuki Kubota**, Jun Shimizu, Atsushi Unuma et al, Alanine transaminase is predominantly increased in the active phase of anti-HMGCR myopathy. *Neuromuscul Disord.* 2022 Jan;32(1):25-32.
4. Tae Chung, Lisa Christopher-Stine, Julie J Paik et al., The composition of cellular infiltrates in anti-HMG-CoA reductase-associated myopathy. *Muscle Nerve.* 2015 Aug;52(2):189-95.
5. Anna Lia, Tiziana Annese, Marco Fornaro et al., Perivascular and endomysial macrophages expressing VEGF and CXCL12 promote angiogenesis in anti-HMGCR immune-mediated necrotizing myopathy. *Rheumatology (Oxford).* 2022 Aug 3;61(8):3448-3460.
6. David Roula, Anna Theiler, Petra Luschnig et al., Apolipoprotein A - IV acts as an endogenous anti - inflammatory protein and is reduced in treatment - naïve allergic patients and allergen - challenged mice. *Allergy.* 2020 Feb; 75(2): 392–402.
7. Yves Allenbach, Louiza Arouche-Delaperch, Corinna Preusse et al., Necrosis in anti-SRP+ and anti-HMGCR+myopathies: Role of autoantibodies and complement. *Neurology.* 2018 Feb 6;90(6):e507-e517.

遺伝性筋疾患レポジトリデータを用いた非コード領域の遺伝子変異の探索

分担研究者 粟屋 智就

所属 京都大学 総合解剖センター

緒言 次世代シーケンス技術の進歩、特にショートリード遺伝子解析技術の普及により、遺伝性筋疾患の遺伝子診断の精度は飛躍的に向上した。しかしながら、大規模な染色体構造異常はまだ検出が難しく、非コード領域の変化はその病的意義の推定が困難である。仮に臨床的に診断がついている場合であっても、責任遺伝子やその病原性変異が同定できていない場合には、遺伝カウンセリングにおいて遺伝学的再発リスクや家族計画等に必要な情報を提供することが出来なかった。病原性遺伝子変化が決定されることで、はじめて科学的な遺伝カウンセリングが実施可能となり、いままで遺伝学的に未診断であった患者やその家族にとって非常に重要な意味を持つ。また、非コード領域の病原性変化の情報が蓄積されれば、より簡便かつ正確に遺伝子変化の病原性について判定するシステムを構築出来る可能性が高まり、今後の遺伝子解析技術の向上に資する成果となる。

また、RNA スプライシングの異常を誘発する非コード領域のゲノム変化については、遺伝子産物のアミノ酸配列のコードには変化がないため、正規の RNA スプライシングパターンを回復させることが出来れば、基本的に野生型のタンパク質が回復することが期待出来る。このため、特に深部イントロンに新規のエクソン様構造が出現する偽エクソン生成型変異については、アンチセンスオリゴ核酸、低分子化合物等、スプライシング制御薬のよい標的となる。これまでに我々のグループでも、偽エクソン生成型変異に対する新たなアンチセンスオリゴ

核酸の設計法を開発してきた(参考文献 1)。非コード領域のゲノム変化を探索することで、筋疾患におけるこれらの新しい治療法の適用可能性を検証することが可能となる。

方法 筋疾患レポジトリの遺伝学的未診断患者データのうち、全ゲノムデータ (WGS)、および全トランスクリプトームデータ (WTS) を再解析し、特に RNA スプライシング異常により非コード領域のエクソン化を生じるような変化を探索する。新規に開発した深部イントロンの病原性変異の推定プログラム PDIVAS (Pathogenicity predictor for Deep-Intronic Variants causing Aberrant Splicing, 参考文献 2)、および既存のアノテーションプログラムを用いて、病原性変化と思われるゲノム変化を抽出する。また、予測された RNA スプライシング変化について、患者サンプルがある場合には骨格筋中の転写産物解析を行い、実際に mRNA レベルでの変化が検出されるかを確認する。

結果 国立精神・神経医療研究センターの筋レポジトリ症例のうち、片側アリルのみに病原性変異が推定されている常染色体潜性遺伝性疾患 11 例の WGS を再解析し、3 症例で病原性変異と推定されるゲノム変化を検出した (*SGCD* 遺伝子深部イントロン変異 1 件, *GAA* 遺伝子 20 塩基挿入欠失変異 1 件, *CAPN3* 遺伝子スプライスサイト 15 塩基重複変異)。また *DYSF* 遺伝子の深部イントロン領域に偽エクソン生成型変異と思われるゲノム変化を検出したが、これはアリル頻度が比較的高く、非病原性変化と考えられた。また、病理診断上サルコグリカノパチーが疑われる症例のうち、5 症例でイントロン領域のゲノム変化を検出し、全てのゲノム変化について高い確率で病原性が推定された。

考察 現時点で、新規に開発した深部イントロンの病原性変異の推定プログラム PDIVAS, および既存のアノテーションプログラムを用いて、表現型から責任遺伝子がある程度絞り込んでいるものについては、効率良く病原性変化と推定されるゲノム変化を抽出することが出来るようになった。しかしながら、表現型が未知、あるいは非常に多くの責任遺伝子が想定されるような場合について、どの程度の診断性能を発揮出来るかは今後の検討課題である。

欧州では WGS データと WTS データとの併用による解析プログラムが主として用いられつつあり、米国では Illumina 社や Google 社をはじめとしてゲノム解析プログラムが次々に更新されている。今後はこれらの新たな手法も取り入れつつ、得られた結果の細胞レベルでの検証を進めるとともに、表現型に頼らない unbiased なゲノム診断法の確立を目指す。また、RNA スプライシング異常が同定された患者で細胞試料が得られる場合には、診断研究と並行して、アンチセンス核酸や低分子化合物による異常 RNA スプライシングの是正を試みる。これにより、現在、明確な治療法のない様々な遺伝性筋疾患において、転写産物への介入という新たな視点での治療開発が期待出来る。

結論 新規に開発した深部イントロンの病原性変異の推定プログラム PDIVAS, および既存のアノテーションプログラムを用いて、表現型から責任遺伝子がある程度絞り込んでいるものについては、効率良く病原性変化と推定されるゲノム変化を抽出することが可能であり、遺伝子診断精度の向上が見込まれる。

参考文献

1. Ohara H, Hosokawa M, Awaya T, Hagiwara A, Kurosawa R, Sako Y, Ogawa M, Ogasawara M, Noguchi S, Goto Y, Takahashi R, Nishino I, Hagiwara M. Branchpoints as potential targets of exon-skipping therapies for genetic disorders. *Mol Ther Nucleic Acids*. 33:404-412, Jul, 2023
2. Kurosawa R, Iida K, Ajiro M, Awaya T, Yamada M, Kosaki K, Hagiwara M. PDIVAS: Pathogenicity predictor for Deep-Intronic Variants causing Aberrant Splicing. *BMC Genomics*. 24:601, Oct, 2023

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、遺伝学的に異質性が高い進行性の希少難病である。根本的な治療法は未だ確立されていない。本研究では、体系的、網羅的なゲノム解析から疾患の原因遺伝子を明らかにすると共に遺伝子診断により臨床の後方支援、ゲノム医療実装の基盤構築を目的とする。本年度は、特に眼咽頭遠位型ミオパチー (OPDM) に於ける *LOC642361/NUTM2B-AS* の CGG/CCG リピートの異常伸長について報告する。

方法

遺伝子診断では、パネル解析 (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)、エクソームシーケンス (exome seq)、全ゲノムシーケンス (WGS) を用いて病因性バリエーションを解析した。候補病因性バリエーションは、フォローアップシーケンスで確認した。OPDM のゲノム解析については、Nanopore ロングリード WGS、repeat primed PCR 法 (RP-PCR)、フラグメント解析、患者に於けるメチル化解析などを行った。

結果

1. 遺伝性筋疾患のパネル解析

NCNP では、2014 年から遺伝性筋疾患症例を対象に筋病理診断の結果を基に遺伝子診断 (パネル解析) を行ってきた。本年度も昨年度と同様に年間約 1,000 例を解析した。それぞれの症例について、臨床・病理学的表現型や公共データなどを参照しながら、病因性バリエーションと疾

患の関連性を解釈して、genotype-phenotype correlation を確立した。解析結果は、常にフォローアップシーケンスで確認し、適時、主治医に報告した。

2. OPDM のゲノム解析

OPDM は、進行性の遠位筋の筋力低下、眼瞼下垂、嚥下障害などを呈する遺伝性筋疾患である。一方、*LOC642361/NUTM2B-AS* は機能不明のノンコーディング RNA である。2019 年に白質脳症を伴う眼咽頭型ミオパチー (OPML) の 1 家系 4 例の患者に於いて、同 RNA 遺伝子領域内の CGG/CCG リピートの異常伸長が報告された。本研究では、Nanopore ロングリード WGS を用いたタイ人 OPDM の解析により、*LOC642361/NUTM2B-AS* に於ける CGG/CCG リピートの異常伸長を発見した。RP-PCR、フラグメント解析により、最終的に、血縁のないタイ人 OPDM 3 家系 4 症例と日本人 1 例について同 RNA 遺伝子に於ける CGG/CCG リピートの異常伸長を明らかにした。更に Nanopore ロングリードのデータ解析から *LOC642361/NUTM2B-AS* の CGG/CCG リピート領域は脱メチル化していることを見出した (論文投稿中)。

考察

本年度は、*LOC642361/NUTM2B-AS* の CGG/CCG 異常伸長が OPML のみならず OPDM でも生じていることを明らかにした。特に調べたタイ人 OPDM 全症例で CGG/CCG リピートを認めた。

結論

NCNP 筋レポジトリに於ける解析システムは、遺伝性筋疾患の診断、発見に有用である。

参考文献
なし

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。我々は近年、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、RNautophagyにおいてリソソームによるRNA取り込みに関与するRNA helicaseを探索した。

方法

リソソーム膜タンパク質のプロテオミクスのデータから、リソソーム膜に存在するRNA helicaseを抽出した。候補のRNA helicaseを

siRNAを用いてノックダウンし、生化学・細胞生物学的によりその影響を解析した。

結果

Mouse embryonic fibroblast (MEF)においてsiRNAを用いて候補RNA helicaseそれぞれをノックダウンし、pulse-chaseアッセイによって細胞内のRNA分解を測定した。その結果、候補D(ここではhelicase Dと呼ぶ)をノックダウンにより細胞内のRNA分解が顕著に抑制された。リソソーム内酵素を阻害するクロロキンで細胞を処理したところ、helicase Dを介したRNA分解が抑制されたことから、このRNA分解はリソソームを介したものであることがわかった。SIDT2 KO MEFではhelicase DノックダウンによるRNA分解抑制効果が観察されず、helicase DはRNautophagyによるRNA分解を仲介することが明らかとなった。これに対し、マクロオートファジー不全細胞であるATG5 KO MEFにおいてはhelicase DノックダウンによってRNA分解が抑制され、この分解がマクロオートファジーを介した分解ではないことを確認した。

考察・結論

RNA helicase DはRNautophagyによるRNA分解を仲介する。この機能にRNA helicase活性が必要かどうかについて現在検討中である。またRNautophagyはCAGリピートRNAを分解することがわかっており、RNA helicase DのリピートRNA分解への影響も今後明らかにする予定である。

骨格筋代謝に着目した筋疾患病態解明と治療法開発

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>

遺伝性筋疾患である Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)は、ジストロフィン・タンパク質欠損により筋線維は壊死・再生を繰り返し、次第に筋萎縮を呈する。DMDの治療薬開発は進み、エクソン・スキップを誘導するアンチセンス核酸医薬「ビルトラルセン」が治療薬として2020年に本邦で初めて承認販売された。一方、骨格筋・心筋への核酸導入効率が限定的であることから、筋萎縮予防の治療戦略と併用する事が必要と考えられる。しかし筋萎縮機構は、炎症亢進や脂質代謝・ミトコンドリア異常など複合的要因が関与する為、詳細は未だ不明である。

これまで、高解像度プロテオミクス解析を用いて DMD マウス骨格筋の解析を行い、発現が変化するタンパク質を複数同定した¹。その中の一つ、Major vault protein(Mvp)は核-細胞質間で物質輸送を行う RNA 結合タンパク質であるが²、その本質的な機能は不明である。Mvp 発現は、野生型および DMD 筋において高く、年齢依存的に増加する。更に Mvp 発現は飢餓条件下において特に発現が上昇する事から、Mvp は代謝制御に関連する可能性を考えた。そこで本研究では、骨格筋における Mvp の機能を追究し、DMD 病態を明らかにする事を目的とした。

<方法・結果>

1. Mvp 発現抑制による DMD への影響

Mvp 発現が上昇している DMD モデル *mdx52* マウスに対して、siRNA を用いて Mvp 発現を抑制させた。その結果、マウスの移動距離、

および筋トルクが減少する事を見出した。また Sirius Red 染色による線維化領域を評価した結果、明らかな増加を認めた。更にミトコンドリア活性の指標である SDH (Succinate dehydrogenase)染色を行った結果、顕著な染色性の低下を認め、Mvp は DMD 病態進行に重要な役割を果たしている可能性を示した。

2. Mvp による脂質代謝制御

次に Mvp 発現抑制した骨格筋を用いて RNA シークエンス解析を行った結果、Mvp 発現抑制によって脂質代謝に関連する遺伝子が主に変動する事を認め、Mvp 発現は脂質代謝に関与する可能性を見出した。

そこで C2C12 筋芽細胞に対して Mvp を過剰発現させ、細胞外フラックスアナライザーを用いて脂質代謝能を評価した結果、明らかな上昇を認めた。一方、Mvp 発現を抑制すると顕著な脂質代謝能の低下を認め、Mvp 発現は脂質代謝に関与する事を見出した。

3. Mvp と結合する microRNA の同定

RNA 結合タンパク質である Mvp は、特に多くの microRNAs (miRNAs)と結合し、核などへ輸送して細胞機能に影響を与える事が報告される^{3,4}。そこで、Mvp と同様の発現パターンを示す miRNAs を探索した結果、Mvp 発現に呼応して変化する miRNA を複数同定した。そのうちの一つである miR-423 は、Mvp と結合する事を RNA 免疫沈降法によって明らかにした。

4. miR-423 による脂質代謝制御

次に筋芽細胞に対して miR-423 を過剰発現させ、細胞外フラックスアナライザーを用いて脂質代謝能を評価した結果、明らかな脂質代謝の上昇を認めた。更に高脂肪食を負荷した野生型マウスに対して、アデノ随伴ウイルス(AAV)を介して miR-423 を過剰発現させると、明らかな体重増加の抑制を認めた。重要な事に、筋芽細胞において Mvp を発現抑制させると、

miR-423 過剰発現による脂質代謝亢進効果は抑制され、以上の結果から、Mvp-miR-423 複合体形成が脂質代謝に重要である事が示唆された。

5. miR-423 の標的遺伝子の同定

miR-423 の標的遺伝子をアルゴリズム Target Scan を用いて解析した結果、Crtc2(CREB regulated transcription coactivator2)を候補遺伝子として見出した。Luciferase assay により miR-423 は Crtc2 に直接結合して発現抑制する事、更に miR-423 による Crtc2 発現抑制が脂質代謝亢進に必須である事を見出した。

6. miR-423 発現による DMD への影響

miR-423 発現による脂質代謝亢進が DMD 病態に影響するか否かを検証する為、*mdx52* マウスに対して miR-423 を過剰発現させた。その結果、筋トルクの改善、線維化領域の減少、および SDH 活性化領域の増大を認め、miR-423 過剰発現による脂質代謝亢進が、DMD 病態進行抑制に有効である可能性を示した。

<考察および結論>

本研究の結果から、RNA 結合タンパク質 Mvp は DMD とサルコペニアに共通して生じる現象に対して応答するタンパク質である事が予想された。骨格筋における Mvp の詳細な機能は不明であった事が、本研究結果から脂質代謝に大きく関与する事が明らかとなった。特に Mvp-miR-423-Crtc2 経路は、脂質代謝を制御する新たな経路として、肥満メカニズムの解明や治療ターゲットになりうる可能性が期待される。また動物実験結果から、Mvp-miR-423 経路活性化による脂質代謝亢進が、DMD・サルコペニアと関連する可能性も示唆され、今後さらに有効性を検証する研究を行う予定である。

一方、本研究では Mvp 発現、あるいは miR-423 発現が何故 DMD・サルコペニアで上昇するかを未だ明らかにしていない。これらの発

現を制御するトリガーを明らかにできれば、サルコペニアの要因同定に繋がる事が期待され、将来的には治療薬開発に進展する事が期待される。

<参考文献>

1. van Westering, T. L. E. *et al.* Mutation-independent Proteomic Signatures of Pathological Progression in Murine Models of Duchenne Muscular Dystrophy. *Molecular and Cellular Proteomics* **19**, 2047–2067 (2020).
2. Mikyas, Y. *et al.* Cryoelectron Microscopy Imaging of Recombinant and Tissue Derived Vaults: Localization of the MVP N Termini and VPARP. *J Mol Biol* **344**, 91–105 (2004).
3. Teng, Y. *et al.* MVP-mediated exosomal sorting of miR-193a promotes colon cancer progression. *Nat Commun* **8**, (2017).
4. Statello, L. *et al.* Identification of RNA-binding proteins in exosomes capable of interacting with different types of RNA: RBP-facilitated transport of RNAs into exosomes. *PLoS One* **13**, (2018).

シングル核解析を用いた炎症性筋疾患の病態解明

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

自己免疫性筋炎は異なる病態を呈す一群の筋疾患の総称であり、その特徴的な臨床病理像から現在では皮膚筋 (dermatomyositis: DM)、抗合成酵素症候 (anti-synthetase syndrome: ASS)、免疫介在性壊死性ミオパチー (immune-mediated necrotizing myopathy: IMNM)、封入体筋炎 (inclusion body myositis: IBM) に分類される。さらに近年、いくつかの筋炎で特異的自己抗体の存在が報告され、陽性自己抗体ごとに筋病理像の異なることが明らかとなってきた。このことは陽性自己抗体ごとに疾患病態が異なる可能性を強く示唆するものの、それらの病態発症・進行メカニズムは未だ不明であり、筋炎サブタイプ間の違いを決定する因子等についても明らかではない。本研究の目的は、筋炎ごとに特異的に発現する因子および病態カスケードを同定し、その病態を解明することである。具体的には筋炎患者の凍結筋を用いてシングル核 RNA-Seq (snRNA-seq) を実施し、罹患筋に存在する種々の細胞の特徴的な遺伝子発現変化を特定し、筋炎病態メカニズムを明らかにする。本研究により、自己免疫性筋炎特異的なバイオマーカーの同定や治療法開発への基盤的知識が構築されると期待される。

方法

1. 患者凍結筋組織 (正常筋および各罹患筋) 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。

2. IBM 筋における PD-1 と PD-L1 の作用部位を特定するため、IBM 罹患筋を近接ライゲーションアッセイ (Proximity Ligation Assay: PLA) 法にて解析した。さらに、培養筋細胞株 C2C12 をインターフェロン (IFN) α , β , γ で刺激し、PD-L1 (Cd274) および PD-L2 (PDCD1LG2) の発現を解析した。

結果

本年度は特に IBM に着目して研究を進めた。IBM 症例 3 例と、病理学的に正常であるコントロール 2 例、さらにその他筋炎 36 例の計 41 例の罹患筋を用いて snRNA-seq を実施した。R パッケージ Seurat によって計 214,1638 細胞を解析した結果、マクロファージの増加は全ての罹患筋に認められたが、IBM において他の筋炎と比較して顕著な T 細胞の増加が認められた。同様の T 細胞の増加は抗 Jo-1 抗体陽性 ASS や肉芽腫が観察されるサルコイドーシスにおいても見られたが、これらの筋炎では同時に B 細胞数も増加していた。一方、IBM では B 細胞の増加は見られず、T 細胞が特異的に増加していた。IBM の筋病理では、リンパ球が非壊死性線維を囲み、さらに非壊死性線維内部への浸潤する特徴的な病理像が見られる。これらは CD8 陽性の細胞障害性 T 細胞であり、疲弊マーカーの PD-1 を発現し、さらに KLRG1 を発現する終末分化した T 細胞であることが報告されている (参考文献 1)。これらの発現を snRNA-seq で解析した結果、PD-1(PDCD1)の発現が T 細胞で特異的に見られた。PLA 法により T 細胞で発現する PD-1 とそのリガンドである PD-L1 の作用部位

を解析した。その結果、興味深いことに PD-1 と PD-L1 のインタラクションは筋線維の膜上で見られ、T 細胞由来の PD-1 は主に筋線維で発現する PD-L1 と相互作用していることが示唆された。マクロファージなどでは IFN- γ の刺激により PD-L1 が誘導されることが知られている (参考文献 2)。そこで、C2C12 を IFN- α , β , γ で刺激したところ、IFN- γ でのみ C2C12 において PD-L1 が誘導された。一方、PD-L2 の発現には何れの IFN の刺激でも変化が無かった。

最後に、IBM 中の T 細胞で特異的に発現する遺伝子を探索した結果、遺伝子 X を同定した。遺伝子 X は T 細胞の活性化に重要とされ、IBM における細胞障害性 T 細胞の特徴はこの遺伝子 X によって規定されている可能性さらには IBM のマーカーとなる可能性が示された。

考察

snRNA-seq および PLA 法によって、IBM 筋においては、T 細胞に発現する PD-1 と IFN- γ の刺激により筋線維が発現する PD-L1 が相互作用し、T 細胞の活性を抑制方向へと制御することが明らかとなった。一方、IBM 中の T 細胞特異的な遺伝子 X を見出した。X は T 細胞の活性化に重要との報告があり、PD-1 と PD-L1 による T 細胞の障害抑制機構と因子 X による障害活性化機構のバランスが破綻したときに筋線維がより傷害されることが示唆された。CD8 陽性 T 細胞はナイーブ T 細胞、セントラルメモリー T 細胞、エフェクターメモリー T 細胞、CD45RA 陽性の最終分化型エフェクター T 細胞に分類される。今後は snRNA-seq 中に見られる T 細胞をより詳細に分類し、遺伝子 X を発現する T 細胞の同定と、X の機能解析を進め、X が IBM の新たなマーカーとなり得るかを検証する。また、今回 IFN- γ により筋線維において PD-L1 の発現が誘導されることが明らかとなった。今後は snRNA-seq と合わせてウェスタンブロッ

ットによりそのシグナルカスケードの詳細を解明する。

結論

本研究により、IBM で T 細胞数が増加すること、これらの T 細胞の一部では PD-1 の発現が高く、筋線維において IFN- γ の刺激により誘導された PD-L1 と相互作用して T 細胞の細胞障害性を抑制していることが明らかとなった。また、T 細胞の一部では因子 X を高発現し、T 細胞の活性化を亢進していることが考えられた。本研究の進展により IBM における新たな病態機序の解明と、新規バイオマーカーの発見が強く期待される。

参考文献

1. Greenberg SA, Pinkus JL, Kong SW, Baecher-Allan C, Amato AA, Dorfman DM. Highly differentiated cytotoxic T cells in inclusion body myositis. *Brain*. 2019 Sep 1; 142(9):2590-2604. doi: 10.1093/brain/awz207.
2. Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, Okazaki T, Honjo T. PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver

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 is therapy unavailable, but even the cause is unknown for many muscle diseases, including limb-girdle muscular dystrophy. To overcome this situation, we need to elucidate the mechanisms and develop therapies for muscle diseases by making maximum use of our muscle repository. In this project, we aim: 1) to maintain and further improve the diagnostic network system for muscle diseases and the muscle repository; 2) to elucidate the causes and mechanisms of muscle diseases; and 3) to develop diagnostic markers and therapies for muscle diseases. The number of muscle biopsy samples we receive has been steadily increasing over the last 10 years, with the annual number of frozen muscle samples reaching a historical high of 1,147 in 2023. As a result, by the end of December 2024, the total number of frozen and cultured muscle samples has reached 24,644 and 2,270, respectively, making this the world's leading muscle repository. Using this muscle repository and through national and international collaboration, we have made several significant achievements, including: 1) identifying CGG repeat expansion in the noncoding region of the LOC642361/NUTM2B-AS1 gene as a cause of oculopharyngodistal myopathy; 2) identifying a new myopathy with digenic inheritance involving the SPRK3 and TTN genes; 3) identifying a case of Ullrich congenital muscular dystrophy due to a deletion involving the canonical polyadenylation site; 4) characterizing VCP myopathy on muscle MRI; and 5) identifying the branch point for the c.647+2084G>C variant in FKTN as a therapeutic target.

5-7 疾患モデルを駆使した筋ジストロフィーの治療法開発

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

当研究班には疾患研究・筋学研究・神経科学研究のフロントランナーが参加し、3本の柱を軸とした独自のインハウス基盤研究を展開する。1つ目の柱は「疾患モデル動物を用いた新たな治療法の開発」である。これは班研究活動の中核であり、a. 疾患モデル動物やヒト 3D 培養疾患モデルの作出と評価、b. 遺伝子治療研究、c. 幹細胞研究、d. 新たな発想・技術に基づく治療開発を推進する。具体的には、エクソン・スキップ治療の課題克服のため、複数のエクソンを同時にスキップさせるマルチエクソン・スキップ治療や、骨格筋のみならず、心筋や神経系への薬剤デリバリー能を高め、全身的な治療を可能とする次世代核酸医薬の研究開発を行う。更に、新しい治療モダリティである mRNA 医薬、アデノ随伴ウイルスベクターを用いた遺伝子治療やゲノム編集治療の有効性と安全性を、マウス・筋ジストロフィー・マイクロプタ・ラット等のモデルを用いて検証する。並行して、疾患モデル動物の筋機能評価系や、脂質解析手法について、プロトコルやマニュアルの準備を進める等、新しい治療モダリティ開発のためのプラットフォームを確立する。2つ目の柱は「筋ジストロフィーモデル動物の維持」、3つ目は「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」である。新しい疾患モデル・機能評価系・解析法について、プロトコルやマニュアルの準備を進める等、新しい治療モダリティ開発のためのプラットフォームを確立して、社会的、倫理的問題についても十分な検証を進めながら、新規治療法の臨床応用を図る。

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

間野 達雄

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

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

林 晋一郎

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

土肥 栄祐

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

若月 修二

国立精神・神経医療研究センター神経研究所

峰岸 かつら

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

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

櫻井 英俊

京都大学 iPS 細胞研究所

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

出澤 真理

東北大学 大学院医学系研究科

奥野 恭史

理化学研究所 計算科学研究センター

池田 真理子

藤田医科大学病院 臨床遺伝科

大竹 正剛

静岡県畜産技術研究所 中小家畜研究センター

竹田 保

日本筋ジストロフィー協会

保田 昌彦

実験動物中央研究所

藤本 崇宏

京都府立医科大学 大学院医学研究科

3. 班会議報告

2023 年度開発費研究会議を 12 月 19 日から 20 日にかけて教育研修棟でオンサイト開催した。当班の会議の特徴は、多数のアカデミアに加え、製薬系企業の関係者、患者会のメンバー、官庁の代表者が参加した点である。班会議は、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貴重な機会であり、国民との科学・技術対話を促進するものである。最先端研究成果の発表に加えて、研究への患者・市民参画 (PPI) 等の重要なテーマについて、活発な意見交換が行われた。

4. 疾患モデル動物を用いた新たな治療法の開発

班研究活動の中核である疾患モデル動物を用いた新たな治療法の開発において、有意義な進展があった。世界最小のマイクロミニブタ Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) モデルの作出に成功し、骨格筋および心筋病理を中心に解析を行い、論文投稿を完了した。ジストロフィン短鎖産物 (Dp71) 特異的タグ挿入マウスを作製し、小脳における Dp71 発現細胞の同定と Dp71 相互作用蛋白プロファイリングを行い、バーグマングリアにおいて Dp71 が AQP4 や Kir4.1 チャネル蛋白と共に機能することを発見した (Mol Neurobiol, 2023)。mdx52 マウスを対象に Dp140 mRNA を扁桃体に直接投与し Dp140 を発現させたところ、興奮性シナプス応答や社会性行動異常が改善した (Prog Neurobiol, 2023)。さらに、DMD に関しては、Gene Expression Omnibus に登録されているヒト脳組織の long-read snRNA-seq データ (GSE178175) を用いた検討により、DP140 が深部皮質の興奮性神経細胞、特にセロトニン受容体 HTR2C をマーカーとする細胞群に強く発現することを明らかにした (論文準備中)。

幹細胞研究では、尿由来細胞から運動ニューロンを分化させる手法を開発し、DMD 患者由来の尿由来細胞を用いて 3D 脳オルガノイドの作製に成功した。また、ヒト iPS 細胞から骨格筋幹細胞を分化・純化する方法として microRNA スイッチを用いた手法を開発した (iScience, 2023)。間葉系幹細胞が生体内で「場の論理」に応じてエラーなく分化し、傷害細胞を置き換える

機構を解明した (Cell Commun Signal)。さらに、骨格筋に内在する間葉系前駆細胞を発見し、この細胞が筋を維持・強化する一方で、線維化や脂肪化を引き起こして病態を悪化させる二面性を持つことを明らかにした (Nat Rev Endocrinol)。細胞の増殖に必要なマイクロサテライト座における TUG1 を介した R ループの意義も解明し発表した (Nature Communications, 2023)。

顕性遺伝型 LMNA 変異マウスモデルを作成し、心筋症を再現した。筋萎縮性側索硬化症モデルでは、症状の発症に先立ち血中飽和脂肪酸の含有量が低下し、オリゴデンドロサイトを介した脂肪酸の補充により筋萎縮性側索硬化症マウスの症状の進行が抑制できることを示した (Front Cell Neurosci, 2023)。

Nat. Commun. 2021 の成果に基づき、筋ジスマウスを対象に CRISPR-Cas9 を搭載した脂質ナノ粒子による in vivo ゲノム編集の実用化に向けた非臨床研究を推進した。また、Nucleic Acids Res 2021 で発表したアンチセンス配列予測のためのウェブインターフェース eSkip-Finder の配列予測精度を向上させ、その結果を報告した (Pharmaceutics, 2023)。これらの成果により、新規のエクソン・スキップ薬開発向け、配列予測から治療モダリティの有用性評価までをハイスループットに解析する基盤を確立した。

5. 筋ジストロフィーモデル動物の維持

筋ジストロフィーの病態解明や治療研究のため、筋ジストロフィー関連モデル動物を微生物学のおよび遺伝学的に統御し、多くの班員に供給した。また、モデルマウスの育成を目的に育種繁殖技術や生殖工学技術を開発し、これらの技術を応用して実験動物学的改良を行った。維持動物の品質管理として、ビニールアイソレーター内での定期的な微生物学のおよび遺伝学的モニタリング検査を実施している。筋ジストロフィーモデルマウスを維持し、分担研究機関を中心に国内研究機関に供給しており、令和 5 年には国内 22 機関に 52 回供給した。B10-mdx マウスの生産を日本クレア株式会社に移管し、新規モデルマウスを作出した。高水準の微生物・遺伝モニタリング検査を実施し、再現性あるモデル動物を供給することで、筋ジストロフィー研究に寄与している。供給実績は令和 4 年に次ぐ最高水準であり、特に国内製薬メーカーへの供給数が増加している。今後、モデルマウスの遺伝的信頼性を強化し、新規免疫不全モデルを構築して供給体制を整えるとともに、胚バンクセンターとしての役割を充実させる。

6. 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

日本筋ジストロフィー協会は「根本治療法の確立」を最優先課題に掲げ、新薬承認手続きの改善と患者参画の強化に取り組んでいる。今回の調査では、患者のインターネット利用状況、医療情報の入手方法と信頼する情報源、新薬への関心、希少疾病患者が抱える困難の所在を把握することを目的とした。令和5年10月10日から11月10日に全国の筋ジス協会会員および北海道難病連所属の希少疾病患者 196 人を対象に無記名アンケート調査を実施した。結果として、筋ジス患者のパソコンとスマホの所有率は8割以上で、電子メールの利用が最多であった。9割が新薬開発に関心を持ち、ネットニュースや患者会の機関誌、テレビニュースを情報源と期待していた。97%が医者情報を信頼し、治療法不足(90%)や病院・医師不足(86%)が主な困難として挙げられた。インターネットを通じた医療情報の提供、新薬開発情報の発信を強化し、ペイシエント・ジャーニーに基づく分析を今後の調査に活用することが求められる。

今後の研究の進め方

引き続き、筋ジストロフィーを対象にした核酸医薬の開発基盤を横串に活用し、早期から製薬会社とも密に連携のうえ、筋ジストロフィーを中心とする様々な神経筋難病の克服を目指す。本研究では、開発してきたモデル動物を駆使して遺伝子・細胞・低分子治療等の先端治療モダリティの有効性と安全性を検証し、患者市民参画のうえ治療プロトコルやマニュアルの準備を進め、社会的、倫理的問題についても十分な検証を進める。神経筋疾患を対象に、エクソン 53 スキップ薬(ビルトラルセン)に続く新規治療法の実用化を目指す。当班の強みであるマウス、イヌ、マイクロプタ、ラット等の筋ジストロフィーモデル動物と機能評価系を駆使して、遺伝子治療、幹細胞移植治療、低分子治療等の基盤研究を更に推進する。また、神経筋難病患者の尿由来細胞分取・分化技術を駆使し、骨格筋、心筋、神経筋接合部、脳等の3D組織モデルを作製し、病態・治療研究を推進する。さらに、先端脂質解析を中心としたマルチオミックス解析技術を駆使し、新規疾患病態解明に加えて、バイオマーカー探索や治療評価法の確立を目指す。班研究成果の実用化に向け、AMED等の大型競争的資金獲得を引き続き積極的に進める。

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継続の機会を頂いたことに深く感謝したい。

分担研究者 間野 達雄

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

Duchenne 型筋ジストロフィー(DMD)は、ジストロフィン (DP) タンパクをコードする *DMD* 遺伝子の変異によって発症する遺伝性進行性筋疾患であり、中枢神経系の異常を伴うことがある。特に、DP の isoform の一つである DP140 が欠損する変異では、自閉スペクトラム症(ASD)様症状のリスクが高いことが知られている。本研究では、ヒト脳組織の long-read snRNA-seq データを用いて、DP140 の発現分布と ASD 様症状との関連性を検討した。

方法

Gene Expression Omnibus (GEO)に登録されているヒト脳組織の long-read snRNA-seq データ (GSE178175)を用いて解析を行った。このデータセットは、ヒト前頭前野の凍結組織から単離された核を用いて、10x Genomics のプラットフォームによってシングルセルレベルでの RNA-seq が行われたものである。Short-read および long-read snRNA-seq が共通の cellular barcode を有することを利用して、DP140 を発現している細胞群を同定した。

結果

Short-read snRNA-seq データの解析により、前頭前野の各種細胞種の同定を行なった。これらの細胞タイプはさらに細かなサブタイプに分類され、それぞれ特徴的な遺伝子発現プロファイルを示した。Long-read snRNA-seq データの解析の結果、DP140 は主に興奮性神経細胞で発現していることが明らかになった。さらに詳細に解析したところ、DP140 は皮質深層部の興奮性神経細胞、特にセロトニン受容体 HTR2C をマーカーとする細胞群に強く発現していることが明らかになった。一方、その他の細胞タイプや興奮性神経細胞のサブタイプでは DP140 の発現はごくわずかであった。

考察

本研究では、ヒト脳組織の long-read snRNA-seq データを用いて、DP140 の発現分布を明らかにした。その結果、DP140 は皮質深層部の興奮性神経細胞、特に HTR2C 陽性細胞に強く発現していることが明らかになった。HTR2C は、セロトニン受容体のサブタイプの一つであり、セロトニン系の機能に重要な役割を果たしている。一般的に自閉症では脳内セロトニン量の減少が知られており、セロトニン系の機能異常が ASD の病態生理に関与していると考えられている。本研究の結果から、DMD における ASD 様症状の基盤として、DP140 の欠損によるセロトニン系の機能異常が関与している可能性が示唆された。

結論

Long-read snRNA-seq データの解析により、DMD における ASD 様症状とセロトニン系の関連性が示唆された。DP140 は皮質深層部の興奮性神経細胞、特に HTR2C 陽性細胞に強く発現しており、DP140 の欠損がセロトニン系の機能異常を介して ASD 様症状を引き起こす可能性が考えられる。本研究の成果は、DMD における中枢神経系の異常の解明と治療法開発に寄与すると期待されるが、今後さらなる研究が必要である。特に、DP140 とセロトニン系の機能的な関連性を明らかにするための分子生物学的・電気生理学的な研究や、DP140 欠損モデル動物を用いた行動学的・病理学的な解析が求められる。

参考文献

1. Hardwick SA, Hu W, Joglekar A, Fan L, Collier PG, Foord C, Balacco J, Lanjewar S, Sampson MM, Koopmans F, Prjibelski AD, Mikheenko A, Belchikov N, Jarroux J, Lucas AB, Palkovits M, Luo W, Milner TA, Ndhlovu LC, ... Tilgner HU: Single-nuclei isoform RNA sequencing unlocks barcoded exon connectivity in frozen brain tissue. *Nature Biotechnology*, 40(7):1082–1092, July, 2022

顕性ラミノパチーマウスモデルの開発

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

緒言

LMNA 遺伝子は、核膜の裏打ちタンパク質である中間系フィラメント分子（構造タンパク質）であるラミン A をコードし、その変異は、早老症、心筋症、筋ジストロフィー、リボジストロフィーなどの様々な疾患を引き起こす。その中で、早老症については *LMNA* 遺伝子変異から引き起こされる詳細な病態メカニズムが知られている。成熟型への中間体であるファルネシル化された A 形ラミンがペプチダーゼによる切断を受けず、核内で封入体を形成し、細胞分裂時に核が不安定になり、細胞死が引き起こされるというものである。一方、心筋症/筋ジストロフィーを引き起こす *LMNA* 顕性変異からの病態機序については、心筋・骨格筋における収縮機械的ストレスに関連した MAPK 経路の活性化、細胞核の破壊、クロマチン DNA の核膜からの突出、ダメージ DNA の修復不全、ヘテロクロマチンの分布変化や遺伝子発現変化などが、複数の文献で提唱されている。しかしながら、示されている内容はそれぞれ異なり、統一的な理論の確立には至っていない。我々は、最近 *LMNA* 顕性変異により拡張型心筋症を発症するモデルマウスを作製することに成功し、このマウスを用いて骨格筋病態を解析した。

方法

ヒト患者変異を再現した *Lmna* 遺伝子変異ノックインマウスを、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。

Hela 細胞に、野生型および変異 *LMNA* を発現させ、変異タンパク質集合体形成に対を解析した。様々な、液-液相分離を阻害する化合物で処理した。さらに、ヘテロクロマチンを構成する場である液-液相分離との関連を調べた。

結果

Hela 細胞でのミオパチー型変異をもつ *LMNA* 変異体の過剰発現では、球状の構造物が核内に形成された。抗体染色では外側しか反応しなかったため、EGFP との融合タンパク質を発現させ、直接観察した。変異 *LMNA* は核内に球状の大きな構造物を形成した。この変化はドミナント効果であり、変異体とともに導入された野生型 *LMNA* も球状物に取り込まれた。液-液相分離阻害剤の処理により、球状物は消失、融合など短時間で動的変化を示し、安定な構造物ではないことが示された。また、ヘテロクロマチンタンパク質とは異なる分布を示した。

Lmna E383K ノックインマウスを作成した。約 30 週齢から致死を示し、心筋症を発症していた。心筋の電顕観察では、アポトーシスや mitophagy の所見が見られた。一方、骨格筋ではヒラメ筋に顕著な単収縮の低下が観察された。しかし、筋ジストロフィーの所見（壊死、再生像）は観察されなかった。筋線維径を測定した結果、平均径は低下していた。筋核の詳細解析では、核膜の崩壊はなく、異常な構造が観察され、電顕観察では、核膜の陥入と核膜を取り巻く細胞骨格の異常が顕著であった。ヘテロクロマチンの分布や量には異常は認めなかった。

考察

細胞実験では、変異 *LMNA* は液-液相分離を示し、凝集しているものと考えられたが意義は不明である。心筋症では心室内壁に線維化が多数みられることから、心筋細胞の変性を疑って解析を進めている。一方、骨格筋ではヒト患者で見られるような筋ジストロフィーの所見は見られず、筋萎縮とそれに伴う線維化を主とするミオパチーの所見が観察された。

結論

心筋症及び筋ジストロフィーの原因となる *LMNA* 遺伝子変異は、マウスで高齢発症の心筋症を引き起こしたが、骨格筋病態はミオパチー症状にとどまった。

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発症後数年で重篤な神経機能障害に陥る致死性の指定難病である。承認薬はあるもののその治療効果は十分ではなく、疾患の成り立ちを理解し、その機序に立脚した治療効果の高い薬剤の開発が患者や寄り添う家族から切望されている。筋萎縮性側索硬化症における神経機能障害のキーは神経細胞死であるが、細胞体の死に先立ち、神経回路の変性など組織学的変化が認められる。従来から、このような神経変性の機序の解明は、変性部位の近傍に備わる細胞や分子の機能解析により進められてきたが、分担研究者はこれまでに変性部位を取り巻く循環系の環境が変性誘導に関わる可能性について検討を進めてきた。昨年度までは、筋萎縮性側索硬化症モデルマウスの循環における代謝物含有量の変化に着目し、その変化が神経組織に与える作用について検討した。メタボローム解析から筋萎縮性側索硬化症モデルマウスは経時的に複数の脂肪酸の血中含量を変化させることを見出した。また、脂肪酸の作用点を探索する際に、筋萎縮性側索硬化症患者検体でも認められるミエリンの脱落に着目した。ミエリンは、グリア細胞の一種であるオリゴデンドロサイトから形成される構造物で、神経活動の伝導の高速化に関わることが知られる。昨年度は、マウスから採取したオリゴデンドロサイトを培養し、グルタミン酸による細胞死誘導に対する脂肪酸の保護効果を見出した。また cleaved caspase 3 染色を用いた検討から、グルタミン酸による細胞死に対する脂肪酸の保護効果は、カスパーゼ依存性の細胞死に対するものであることが示唆された。そこでこれらの *in vitro* の結果が *in vivo* での神経機能障害にも関わるものであるか検討するため、筋萎縮性側索硬化症モデルマウスに対して脂肪酸を投与し、組織および

行動観察を実施した。

方法

筋萎縮性側索硬化症モデルマウスは、家族性の筋萎縮性側索硬化症で高い頻度で認められる SOD1 遺伝子変異マウスを用いた(SOD1^{G93A})。脂肪酸を投与し、神経機能を実験により評価し、その後に脊髄組織を提出し、脊髄内の細胞死および炎症状態を可視化して観察した。

結果

本研究では脂肪酸の中でもリノール酸とオレイン酸に着目した。各脂肪酸を投与した SOD1^{G93A} マウスの脊髄組織では対照群と比較しオリゴデンドロサイトの数が多く、cleaved caspase 3 陽性オリゴデンドロサイト数も対象群より少なかった。また同条件において、リノール酸およびオレイン酸を投与した群では運動神経細胞数も対照群と比較して多く、一方でミクログリアの数には群間で差がなかった。運動機能評価のために Grip strength を行ったところ、リノール酸およびオレイン酸投与群では経時的なスコアの低下有意に減弱した。

考察

脂肪酸の作用点の一つにオリゴデンドロサイトの細胞死抑制を見出したが、脂肪酸の取り込みに関わる分子はオリゴデンドロサイトに限らず、神経細胞など多様な脳構成細胞に発現する。脂肪酸量の変化による個体レベルでの機能低下抑制効果には、オリゴデンドロサイト以外の細胞の寄与も影響しているかもしれない。

結論

オリゴデンドロサイトにおける細胞死抑制は、筋萎縮性側索硬化症モデルマウスにおける症状悪化抑制の作用点である。

参考文献

Maruyama T, et al. Free fatty acids support oligodendrocyte survival in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 2023;17:1081190.

R5 精神・神経疾患研究開発費

「疾患モデルを駆使した筋ジストロフィーの 治療法開発」 班 報告書

分担研究課題名

シングル核解析による筋ジストロフィーの病 態解明

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が増加するとの報告がある (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 およびより DMD の病態に近い表現型を示す DBA/2N 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 *MYOG* 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、*FOXO3* 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、*Foxo3* 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。そこで、*Foxo3* の阻害剤であるカルベノキソロン (Carbenoxolone: CBX) をマウスに投与したところ、筋サテライト細胞の活性化 (Ki67 陽性の筋サテライト細胞数の増加) と筋再生の亢進 (embryonic Myosin heavy chain 陽性筋線維数の増加) が見られた。

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

誘導可能なことが示された。CBX は筋サテライト細胞の再活性化を誘導するが、ジストロフィン欠損による筋線維の脆弱化は防ぐことができない。CBX による筋サテライト細胞の再活性化と、エクソンスキップや遺伝子治療によりジストロフィンの発現を回復させる方法とを組み合わせることでより効果の高い治療法となると期待される。

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 *Foxo3* 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していた。また *Foxo3* のインヒビターである CBX を投与することにより、筋サテライト細胞を再活性化するという重要な知見を得た。

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.
4. Garcia-Prat L, Perdiguero E, Alonso-Martín S, Dell'Orso S, Ravichandran S, Brooks SR, Juan AH, Campanario S, Jiang K, Hong X, Ortet L,

Ruiz-Bonilla V, Flández M, Moiseeva V, Rebollo E, Jardí M, Sun HW, Musarò A, Sandri M, Del Sol A, Sartorelli V, Muñoz-Cánoves P. FoxO maintains a genuine muscle stem-cell quiescent state until geriatric age. *Nat Cell Biol*. 2020 Nov;22(11):1307-1318.

細胞外小胞を活用した筋ジストロフィーの 治療開発

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
土肥 栄祐

緒言

細胞外小胞 (Extracellular Vesicles: EVs) はあらゆる細胞から分泌され、体液中から検出され、細胞特異性を持つ有望なバイオマーカーとして開発が急速に進んでいる。測定技術も発達しているが、新たな課題としてバイオバンク内に保存されている血漿に血小板が混入し、この混入した血小板から放出された血小板由来の EVs が下流の解析に影響を与えると報告された。またその他にも食事の影響や日内変動など、バイオマーカー解析に影響を与えうる様々な潜在的な交絡因子が推定されているが、詳細な検討は未だなされていない。また、これらの状況乗り越えるためには、EVs のバルク解析ではなく、一粒子レベルでの解析が求められている。そこで本研究では、細胞外小胞の内部にある miRNA をターゲットとした金粒子ビーコンを作成し、血清由来細胞外小胞の miRNA を検出することで、細胞特異的な EV の miRNA の検出系を樹立し、疾患を問わず詳細なバイオマーカー開発のための基盤技術を開発する。

方法

ヒト血液由来 EVs およびマウス血清由来 EVs の miRNA プロファイルを検討した既報文献に対しシステムティックレビューを行い、miRNA プロファイルの一貫性を検討する。

また、ヒト血漿から EVs を SEC にて抽出し、作成した金粒子分子ビーコンを処置し、NanoFCM にて計測することで、EV 一粒子レベルでの miRNA 検出を試みた。

結果

ヒト血液由来 EVs の miRNA プロファイルを見た研究では、研究間での一貫性が認められなかった。実験条件の整えやすいマウスの血清由来 EVs の miRNA プロファイルをみた研究においても研究間での一貫性が認められなかった。

金粒子ビーコンを用いた検出では、ヒト血漿由来 EV のうちの 1%弱しか検出ができなかった。そこで、EV 内へ金粒子分子ビーコンを導入するための Detergent の最適化を行うことで、miR-223-3p に関して 10%前後の EV に検出が可能となった。

考察

過去の報告ではマウス血清由来であっても miRNA プロファイルの一貫性が認められず、調整が十分できていない交絡因子の存在が考えられた。また EV 一粒子解析のための金粒子分子ビーコンの導入では、既報の方法では EV 抽出に用いた方法に依存する事が明らかとなり、抽出法ごとに Detergent の調整が必要であることが明らかとなった。

結論

EV 解析結果を評価するには、詳細な実験条件の把握が必要であり、未だ明らかでない交絡因子の同定が重要である。また、一粒子解析には、ビーコン開発に合わせ、EV 抽出法と導入方法の開発が併せて必要になる。

今後の展望

血小板の混入を抑えた条件にて EV 抽出条件を確立し、日内変動、食事の影響、など新たな交絡因子の同定を行う。また EV 一粒子レベルの解析技術を確立し、詳細なバイオマーカー創出を行う。

参考文献

なし

筋強直性ジストロフィーにおける CTG リ ピート不安定性の機序の解明

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

筋強直性ジストロフィーI型 (DM1) は、筋萎縮や筋強直などのミオパチーや認知障害などの中枢神経系の異常を含む多臓器症状を特徴とする全身疾患である。ミオトニンプロテインキナーゼ遺伝子 (DMPK) の3'非翻訳領域に位置するCTGリピート配列の異常な伸長がDM1患者ゲノムに見出され、この変異遺伝子から産生される拡大CUGリピートを含む異常な転写産物が核内に蓄積し、さまざまなRNAのスプライシングに欠陥を誘発することが疾患の原因とされている。DM1患者では加齢や遺伝によりCTGリピート長が拡大する傾向があり、リピート長を不安定にする潜在的なメカニズムの存在が示唆されている。CTGリピート長はDM1の重症度と正の相関を示すことが知られている。これらのことから、CTGリピートサイズを拡大するメカニズムを明らかにすることは、病態の理解のみならず、治療法の開発においても極めて重要である。本研究では、DM1患者由来iPS細胞を研究対象として、CTGリピート長の拡大メカニズムの解明を目指す。

方法と結果

本研究では、リピート長の不安定性に関与する分子として我々がDM1-iPS細胞よ

り同定したZNF850の機能解析を通じて、CTGリピート長の不安定性に影響を及ぼす分子メカニズムを調査した。その結果、ZNF850の発現量はリピート長と正の相関を示すこと、また、ZNF850はCTGリピート配列に結合し、ミスマッチ修復系因子と近接することを明らかにした。これらの結果は、ZNF850がミスマッチ修復系のはたらきに介入することでリピート長の不安定性に影響を与える可能性を示唆した。

考察

ミスマッチ修復系がリピート長の不安定性を助長し、拡大させる可能性は既に指摘されている。例えば、ハンチントン病 (HD) や脊髄性小児失調症など、DM1以外のトリプレットリピート病においても、DNA修復遺伝子の多型性との関連が示唆されている。本研究により、トリプレットリピート病に共通するリピート長拡大の分子メカニズムが明確となり、その成果は治療法の確立につながると期待できる。

結論

DM1患者由来iPS細胞を研究対象として、CTGリピート長の拡大メカニズムを解明するためのヒト細胞モデルを確立した。

参考文献 (業績)

1. 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*. 2023. 18: e0285897.
2. Hagihara H. et al. (Wakatsuki S. as a co-authors) Large-scale animal model study

uncovers altered brain pH and lactate levels as a transdiagnostic endophenotype of neuropsychiatric disorders involving cognitive impairment. *eLife*. 12: 2023. RP89376. (2023)

3. Nagayama T., Yagishita S., Shibata M., Furuno F., Saito T., Saido TC., Wakatsuki S, Araki T. Transient sleep apnea results in long-lasting increase in β -amyloid generation and tau hyperphosphorylation. *Neurosci Res.* in press

筋強直性ジストロフィーに対する筋指向性脂質 付加 siRNA 医薬品の探索研究

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
峰岸かつら

緒言

希少性難病である筋強直性筋ジストロフィー・タイプ1 (DM1) は成人最多の筋ジストロフィーである。原因遺伝子である DMPK 遺伝子の非翻訳領域にある CTG リピートは健常者では 50 リピート程度であるのに対し DM1 患者では数百~数千リピートにまで伸長する。この伸長した CTG リピートが様々な遺伝子のスプライシング異常を引き起こすことで、筋力低下、ミオトニア、心機能異常といった症状が現れる。現時点では根治的な治療は存在せず対症療法にとどまっている。

近年、新規の治療モダリティの活用による DM1 に対する根本的な治療法の研究が国内外で盛んに行われている。しかし、核酸医薬の筋組織への移行性が不十分なことから、DM1 に対して有効な核酸医薬開発を成功させた例はない。我々は、共同研究者とともに筋指向性の高い医薬品を開発することを目指している。開発にあたって、モデル生物を用いた医薬品の有効性を評価することが必要である。そこで我々は DM1 モデルマウスの表現型を詳細に解析することで、治療薬の有効性を正確に効率的に評価する実験系の樹立を試みた。

方法

今回、我々はヒト DMPK を標的とする核酸医薬品の開発を念頭においていることから、CTG リピートが付加された Human DMPK 遺伝子を導入した DMPK* 24Lutz/77J トランスジェニックマ

ウス (Homozygous) (ジャクソン・ラボラトリー) を用いて表現型の詳細な解析を行なった。

結果

このマウスの表現型を詳細に解析したところ、体重の減少に加え、以下のような特徴的な表現型が確認できた。

1) ミオトニア放電の測定

ミオトニア放電と呼ばれる DM1 の病態に特徴的な筋電図の波形を示した。

2) 心電図の測定

一部のマウスで PR インターバルが伸びるといった心伝導障害を示した。

3) 筋疲労の測定

麻酔下にて、マウスの足関節を固定し、下腿三頭筋に電気刺激を連続で 50 回負荷し、筋収縮を誘発し、その際に得られる発揮トルクをモニタリングすることで、筋疲労の程度を評価した。その結果、このモデルマウスは、野生型マウスに比べて、筋疲労しやすいことが明らかになった。

考察・結論

DMPK* 24Lutz/77J マウスは DM1 の症状に特徴的な表現型を示した。よって、この DM1 モデルマウスは原因遺伝子である DMPK 遺伝子を標的にした核酸医薬の評価に適していることが明らかになった。しかしながら、今回、このマウスに対して機能的な解析はほぼ終了したものの、RNA foci やスプライシング異常の有無に関しては明らかになっていない。よって、今後は RNA foci の検出に加え、RNA seq を用いた網羅的なスプライシングバリエーション解析等を行う予定である。

【参考文献(業績)】

Motohashi N, [Minegishi K](#), Imamura M, Aoki Y. Techniques for Injury, Cell Transplantation, and Histological Analysis in Skeletal Muscle. *Methods Mol Biol*

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。これまでに融合遺伝子 ZFTA-RELA をマウス脳内に導入し、腫瘍形成を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。特に昨年度より ZFTA-RELA により直接発現が誘導される LICAM に着目し、ヒト上衣腫細胞株 EP1NS を用いて細胞増殖における寄与を shRNA によるノックダウンを中心に解析を行う。特に LICAM の下流で働く分子の機能を探るために、HTS を行い、その結果からがんシグナルを特定する。

結果

ZFTA-RELA を発現するヒト上衣腫細胞株 EP1NS において LICAM を shRNA を用いてノックダウンした結果、腫瘍増殖の低下と細胞死の増加が認められた。また LICAM と結合して細胞移動を担う分子 SHTN1 を shRNA で機能阻害した結果、同様の細胞増殖の低下が確認されたことから、LICAM-SHTN1 複合体が上衣腫増殖に非常に重要であることが考えられた。

この複合体の下流で機能するがんシグナルを推測するため、FDA 認可薬ライブラリを用いた薬剤スクリーニングを行った結果、YAPI と SRC シグナルを

中心としたシグナルの阻害剤がヒットし、実際にこれらの分子の shRNA による阻害は EP1NS 細胞の増殖を阻害した。またヒト検体に対する ChIP-seq 解析により YAPI タンパクは ZFTA 型上衣腫に特徴的な遺伝子の遺伝子座に結合することが判明し、治療標的として有効ながんシグナル考えられる。

そこで YAPI の機能阻害剤である Verteporfin を EP1NS に培養下で投与したところ、増殖効果の阻害が観察された ($IC_{50} < 1\mu M$)。

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がる事が可能になるとと思われる。実際に YAPI の阻害剤は脳血液関門を透過可能であるため、In vivo で PDX に対する前臨床研究が期待される。

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、下流シグナルを同定した。

参考文献

Watanabe T, Mizuno HL, Norimatsu J, Obara T, Cabral H, Tsumoto K, Nakakido M, [Kawauchi D*](#), Anraku Y*. Ligand installation to polymeric micelles for pediatric brain tumor targeting. *Polymers*. 2023; 15(7):1808. PMID: 37050422

Okonechnikov K, Joshi P, Sepp M, Leiss K, Sarropoulos I, Murat F, Sill M, Beck P, Chan CH, Korshunov A, Sahm F, Deng MY, Dominik Sturm D, Desisto J, Donson A, Green AL, Robinson G, Orr BA, Gao Q, Darrow E, Hadley JL, Northcott PA, Gojo J, Ryzhova M, [Kawauchi D](#), Hovestadt V, Filbin MG, Zuckermann M, Pajtler KW, Kool M, Jones DTW, Jäger N, Kutscher LM, Kaessmann H, Pfister SM. Mapping pediatric brain tumors to their origins in the developing cerebellum. *Neuro Oncol*. 2023; 25(10):1895-1909. PMID: 37534924

Ghasemi DR, Okonechnikov K, Rademacher A, Tirier S, Maass KK, Schumacher H, Joshi P, Gold MP, Sundheimer J, Statz B, Rifaioglu AS, Bauer K, Schumacher S, Bortolomeazzi M, Giangaspero F, Ernst KJ, Clifford SC, Saez-Rodriguez J, Jones DTW, [Kawauchi D](#), Fraenkel E, Mallm J-P, Rippe K, Korshunov A, Pfister SM, Pajtler KW. Compartments in medulloblastoma with extensive nodularity are connected through differentiation along the granular precursor lineage. *Nat Commun*. Accepted.

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 H 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

患者由来 iPS 細胞での CRISPR-Cas3 を用いたゲノム編集効率を高めるべく、細胞への導入方法の条件検討を行う。また、長距離切断を効率良く検出して切断パターンを解析するために、ロングリードシーケンサーを用いた解析系を立ち上げる。

結果

CRISPR-Cas3 と 2 つの crRNA を搭載し発現するベクターを、DMD 患者由来 iPS 細胞株に導入し、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。また、同様の結果を 3 名の DMD 患者由来 iPS 細胞で確認した他、全ゲノムシーケンスを行い目立ったオフターゲット変異は検出されなかった。以上の結果については昨年論文発表を行った[Kita Y et al., Stem Cell Reports, 2023]。また、さらなる Cas3 ゲノム編集効率向上に向けて、発現ベクターの検討を行った。また、Nanopore シーケンサーの実験系を立ち上げ、長距離ゲノム DNA 切断を簡便に検出できるようになった。

考察

Dual-Cas3 は長距離切断に有効な手法であるが、効率を向上させる必要がある。細胞への導入部分が律速と考えており、様々な発現方法や導入方法を今後、検討する必要がある。

結論

Dual-Cas3 システムを利用することにより、340 kb 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に成功した。現在、さらなる効率向上に取り組んでいる。

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 H et al., Nat Commun, 2020

Kita Y et al., Stem Cell Reports, 2023

間葉系前駆細胞を標的とした新たな筋ジストロフィー治療法の開発

上住聡芳
九州大学

緒言

筋ジストロフィーでは、骨格筋の脂肪化・線維化が生じ病態の進行に寄与する。脂肪化・線維化はそれ自体が筋力・筋機能低下の要因となるだけでなく、他の治療法（細胞移植治療や遺伝子治療）の効率を低下させることにもつながり問題となる。骨格筋の脂肪化・線維化の原因は長らく不明であったが、分担研究者らは筋間質に存在し筋衛星細胞とは異なる間葉系前駆細胞の同定に成功し、この細胞が脂肪化・線維化の起源となることを世界で初めて明らかにした^{1,2)}。間葉系前駆細胞は病態に寄与する一方、再生過程では筋衛星細胞を支持するニッチ細胞として機能し、筋再生を促進する³⁾。さらに、分担研究者らは定常状態の筋の維持に間葉系前駆細胞が必須の役割を果たしていることも明らかにしている⁴⁾。このように、間葉系前駆細胞には筋にポジティブな影響を及ぼす側面とネガティブな影響を及ぼす側面の二面性が存在する。よって、真に効率的な筋ジストロフィーの治療には間葉系前駆細胞の二面性を理解し、制御することが必要になる。本研究では、脂肪化・線維化の原因となる間葉系前駆細胞を制御する手法の開発に取り組む。脂肪化・線維化の責任細胞に焦点を当て、研究開発を行うことで、これまで不可能であった脂肪化・線維化を抑制する画期的治療が可能になると期待される。また、間葉系前駆細胞による筋衛星細胞支持機能を明らかにできれば、筋再生促進療法へ発展することも期待できる。さらに、原因遺伝子の発現回復を図る他の根本的治療法の治療効果を向上させることにもつながるため、本研究は筋ジストロフィー治療の実現に資する有益な成果をもたらすと考えられる。

方法

本研究では、間葉系前駆細胞を制御することで脂肪化・線維化を抑制し、筋再生を促進する筋ジストロフィーの治療法開発を目指す。すでに、間葉系前駆細胞の二面性の解析、および、

ヒト骨格筋由来の高品質な間葉系前駆細胞を利用した薬剤スクリーニングからレチノイン酸シグナルが間葉系前駆細胞の病的表現型を抑制することを見出している。レチノイン酸シグナルによる間葉系前駆細胞の制御機構を生体内で明らかにするため、間葉系前駆細胞特異的にレチノイン酸シグナルが阻害されるマウス（Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウス）を作製し、表現型を精査した。

結果

レチノイン酸シグナルの機能的意義を精査するため、Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスを用いて筋再生過程を精査した。コントロールマウスと比較して、Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスでは、筋再生に不全を来した。Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスの間葉系前駆細胞における変化を調べたところ、myogenesis 関連遺伝子の発現低下が見られた。また、Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスの間葉系前駆細胞では炎症関連遺伝子が高発現することも見出した。この遺伝子発現を反映し、Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスでは、炎症の収束が顕著に遅延していた。

考察

Pdgfra-CreER/R26^{RAR403} マウスの表現型から、レチノイン酸シグナルによって間葉系前駆細胞における遺伝子発現が変化し、筋再生を支持すると同時に、炎症を収束させる機能も発揮していると考えられた。

結論

間葉系前駆細胞は、筋再生の支持と炎症の収束に必要な役割を果たしており、間葉系前駆細胞における cell-autonomous なレチノイン酸シグナルが、この作用の中心的な分子機構であると考えられた。

参考文献

- 1) Uezumi A, Fukada S, Yamamoto N et al., Mesenchymal progenitors distinct from satellite cells contribute to ectopic fat cell formation in skeletal muscle. *Nat Cell Biol* 12(2):143-52. 2010.
- 2) Uezumi A, Ito T, Morikawa D et al., Fibrosis and adipogenesis originate from a common mesenchymal progenitor in skeletal muscle. *J Cell Sci* 124(Pt 21):3654-64. 2011.
- 3) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Tsuchida K. Roles of nonmyogenic mesenchymal progenitors in pathogenesis

and regeneration of skeletal muscle. *Front Physiol* 5: 68. 2014.

4) Uezumi A, Ikemoto-Uezumi M, Zhou H et al., Mesenchymal Bmp3b expression maintains skeletal muscle integrity and decreases in age-related sarcopenia. *J Clin Invest.* 131(1):e139617. 2021.

筋再生を制御する細胞間ネットワーク解析 —運動刺激時におけるカルシトニン受容体の 役割—

深田 宗一朗

大阪大学大学院薬学研究科

再生適応学分野

張 礫丹*, 岩森歌奈子*

*大阪大学大学院薬学研究科

再生適応学分野

緒言

筋ジストロフィー治療開発において、「遺伝子・核酸・ゲノム治療」、「薬物治療」、及び「幹細胞・再生治療」の三つが基盤となる治療の柱として挙げられている。これらの中で、他の治療法には見られない「幹細胞・再生治療」の最大の長所は、失われた筋線維を新たに再構築できる点にある。しかし、この「幹細胞・再生治療」は局所の細胞移植が想定されており、全身性の疾患である筋ジストロフィーにおいては、これが常に課題となっている。筋サテライト細胞の機能低下は、筋ジストロフィーの病態進行と深く関連しているため、人為的に全身の筋サテライト細胞の再生能力を向上させることができれば、「幹細胞・再生治療」のブレイクスルーになることが期待される。

分担者らはマウスの筋肥大モデルや運動モデル等において、負荷筋の筋サテライト細胞が実質的に増殖することを発見している[1,2]。実験的な筋再生モデルと比較して、これらのモデルにおける筋サテライト細胞の周辺環境の変化は劇的ではないため[2]、筋サテライト細胞の増殖及び自己複製機構の解明において、非常に優れたモデルと考えられている[3]。本研究では、これら非再生筋での筋サテライト細胞の動態や分担者がこれまで行ってきた筋サテライト細胞の維持機構の研究から[4-6]、全身の筋サテライト細胞の増殖を誘導する手法開発のための基礎的な検討を行った。

方法

マウス

筋サテライト細胞特異的カルシトニン受容体欠損マウス(cKO: $Pax7^{CreERT2+}::Calcr^{flox/flox}$)、カルシトニン受容体と gp130 の二重欠損マウス (cDKO: $Pax7^{CreERT2+}::Calcr^{flox/flox}::gp130^{flox/flox}$) を当

該施設の倫理規定に従い飼育、交配、実験を行なった。

自発運動モデル

Running wheel を装着したケージ (140 mm in diameter, MELQUEST, Toyama, Japan) で二週間飼育することで自発運動モデルとした (+Ex 群)。また、通常のケージで飼育した群をコントロール群とした (-Ex 群)。走行距離は、CNT-10 (MELQUEST) にて計測した。また、全てのマウス群にチミジンアナログである EdU を運動期間処置する (-Ex 群にも処置) ことで、増殖筋サテライト細胞および、筋サテライト細胞由来筋核を EdU で標識した。

筋サテライト細胞の増殖・活性化

各群のマウスより長趾伸筋 (EDL) を単離し、一本の筋線維上の筋サテライト細胞数を計測した。1 匹のマウスあたり 20 本以上の筋線維を測定し、平均値を求めた。また、各群のマウスより前脛骨筋 (TA) を単離・固定し、切片を作成後に染色することで、EdU 陽性筋サテライト細胞数や、EdU 陽性筋核数を定量解析した。

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 Prism10 (GraphPad Software) を用いて行った。

結果

1. 走行距離・負荷筋

cKO マウスと cDKO マウス間に二週間の総走行距離には違いがなかった。以上の結果より、両グループ間で運動能力に違いがないことが明らかとなった。

2. 運動負荷のかからない筋肉での筋サテライト細胞の増殖 I

Running wheel による exercise において、EDL や TA の筋サテライト細胞は増殖しないことが知られている。実際に我々の検討においても +Ex 群の

C57BL/6 マウスの EDL や TA では筋サテライト細胞の増殖や EdU 陽性の筋線維核は -Ex 群と違いがなかった。しかし、cKO マウスでは、EDL より単離した筋線維上で筋サテライト細胞の増殖が観察されていた。カルシトニン受容体シグナルは筋サテライト細胞の静止期維持に働き、-Ex 群ではその数が減少する。そのため、運動による物理的な負荷ではなく、運動により増加することが知られているエキソカインが cKO マウスの EDL や TA の筋サテライト細胞の増殖に寄与している可能性が考えられた。そこで、代表的なエキソカインである IL-6 の受容体の中で、共通受容体である gp130 を cKO マウスで欠損させたマウスを解析した。その結果、cKO でみられた単離筋線維上での筋サテライト細胞の増殖は cDKO では抑制されていた。

3. 運動負荷のかからない筋肉での筋サテライト細胞の増殖 II

前脛骨筋を用いた組織学的な解析においても、cKO では EdU 陽性の筋線維核や筋サテライト細胞が、運動をした場合においてのみ観察されるが、gp130 を同時に欠損させた cDKO においては、これら EdU 陽性核や細胞が有意に低下していた。

考察

コントロールマウスでは EDL や TA などの運動により負荷が増加しない筋肉内で筋サテライトが増殖しない理由は、運動依存的な因子が存在しても、カルシトニン受容体からのシグナルにより静止期を維持できるためと考えられる。逆に運動負荷のかかる筋肉内で筋サテライト細胞が増殖するためには、カルシトニン受容体シグナルの抑制が必要であり、実際に以前の研究により下流シグナルを増加させることで、運動負荷依存的な筋サテライト細胞の増殖が完全に抑制できることを観察している。また、gp130 の欠損により cKO で見られた筋サテライト細胞の増殖を抑制できたことは、カルシトニン受容体発現抑制と運動依存的な gp130 のわずかに二つのシグナル経路の制御で、全身性の MuSC の増殖誘導が可能であることを示唆しており、今後筋ジストロフィーモデルマウスを用いた検討を行う予定である。

結論

・カルシトニン受容体シグナルの抑制と、gp130 の活性化により、人工的に全身の筋サテライト細胞を増殖させることは可能である。

参考文献

- 1 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.
- 2 Zhang L, Saito H, Higashimoto T et al. Regulation of muscle hypertrophy through granulin: Relayed communication among mesenchymal progenitors, macrophages, and satellite cells. *Cell reports* 2024;43(4):114052.
- 3 Fukada SI, Higashimoto T, Kaneshige A. Differences in muscle satellite cell dynamics during muscle hypertrophy and regeneration. *Skeletal muscle* 2022;12(1):17.
- 4 Yamaguchi M, Watanabe Y, Ohtani T et al. Calcitonin Receptor Signaling Inhibits Muscle Stem Cells from Escaping the Quiescent State and the Niche. *Cell reports* 2015;13(2):302-314.
- 5 Zhang L, Noguchi YT, Nakayama H et al. The CalcR-PKA-Yap1 Axis Is Critical for Maintaining Quiescence in Muscle Stem Cells. *Cell reports* 2019;29(8):2154-2163 e2155.
- 6 Baghdadi MB, Castel D, Machado L et al. Reciprocal signalling by Notch-Collagen V-CALCR retains muscle stem cells in their niche. *Nature* 2018;557:714-718.

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、谷脇 香
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の治療に向けては、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期待が寄せられている。その一方で、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なっている。

本分担研究では、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(ナノ医薬)の研究開発に取り組んだ。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、DNA/RNAハイブリッドからなるヘテロ核酸(HDO)の筋組織デリバリーを実施した。

方法

ユニットポリイオンコンプレックスの調製

約18 nm径のサイズを有するナノ医薬として、ユニットポリイオンコンプレックス(uPIC)を調製した。具体的には、2分岐ポリエチレングリコールとポリリシンのY字型ブロック共重合体(YBC)とHDOを緩衝液中で混合することで調製した。この際、混合比(YBCのアミノ基/HDOのリン酸基)を0, 1, 2と変え、その寄与を評価することとした。

HDO搭載uPICの物性評価

アガロースゲル電気泳動、動的光散乱測定、および電気泳動光散乱により、uPIC中へのHDOの内包挙動、uPICの粒径、およびuPICの表面(ゼータ)電位をそれぞれ測定した。

HDO搭載uPICの血中動態評価

蛍光標識HDOを用いてuPICを調製し、筋ジストロフィーモデル(*mdx*)マウス尾静脈への投与後、耳

介の血管を共焦点レーザー走査顕微鏡により経時的に観察することで、uPICの血中動態を観測した。また、同様の手法に基づいて大腿四頭筋組織を観察することで、筋組織への移行性を評価した。さらに、本実験の比較対象として、脂質ナノ粒子(LNP)を調製し、同様の評価を実施した。

結果と考察

アガロースゲル電気泳動の結果から、混合比1以上ではHDOのuPIC内包率は100%近いことが確認された。また、uPICの粒径とゼータ電位は、~18 nmと~0 mVであった。従って、想定通り20 nm以下のサイズであること、および表面は非イオン性かつ親水性のポリエチレングリコール鎖で覆われていることが示唆された。

mdx マウスにおける血中動態評価を通じて、混合比が0, 1, 2と増加するに伴い、血中滞留性が劇的に増加することが明らかになった。Area under curve (AUC)換算では、HDO単体(混合比0)と比べ、混合比2のuPICは20倍大きい値を示した。この値は、LNPの5倍であったことから、既存のナノ医薬と比べても高い値であることがわかる。次いで、骨格筋(大腿四頭筋)への移行性に関しては、uPICはAUC換算でHDO単体の7.5倍という優れた筋組織集積性を示すことが明らかになった。一方、LNPに関しては、血中AUCはHDO単体よりも4倍大きかったのに対し、骨格筋AUCはHDO単体よりも低い値を示した。これは、LNPのサイズが~100 nmと大きく、骨格筋組織の毛細血管から組織側に漏出できなかったためと考察される。

以上、本研究を通じて、~18 nmサイズの極小ナノ医薬uPICは、筋組織への核酸医薬デリバリーに有望であることが示唆された。

参考文献

[1] M. Naito, Y. Aoki, 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：疾患モデルを駆使した筋ジストロフィーの治療法開発

分担研究課題名：廃用性筋萎縮の制御因子解析と創薬応用

東京農工大学大学院 工学府
生命工学専攻 稲田 全規

緒言

本研究の目的は、廃用性筋萎縮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、筋ジストロフィーやサルコペニアなどの筋萎縮性疾患の治療法の解明につなげることである。プロスタグランジンは主に14種からなる炎症性メディエーターで、筋疾患への関与が示唆されている。そこで、本課題では筋萎縮における5種の代表的なプロスタグランジンであるPGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2 α の質量分析技術を用いた産生動態と機能解析を行い、筋萎縮の主因となっているプロスタグランジンを明らかにする。さらに、遺伝子の網羅解析を行い、筋萎縮性疾患の治療薬開発につなげる。

本年度は、筋組織におけるプロスタグランジンの解析と機能性実験を実施した。

検討項目：

筋組織におけるプロスタグランジンの定性解析

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。スプレーニング検討、イオン化効率の検討、質量分析イメージング装置を用い、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 の産生を検討した。

筋組織におけるプロスタグランジンの定量解析

酵素抗体法と質量分析を用いた筋組織におけるプロスタグランジンの解析と機能性実験

を実施した。マウス下肢骨格筋を用い、定量的解析を行った。今年度は最適な条件検討を進め、ELISAとの測定結果の融合をはかり、筋組織におけるプロスタグランジンの解析基盤を構築した。このうち、数種のプロスタグランジンを用いた筋細胞分化の機能性実験を行い、RNA-seqによる廃用性筋萎縮の関連遺伝子の網羅解析への予備検討をあわせて行った。

結論

本研究課題では、筋萎縮におけるPGE2, PGD2, PGJ2, PGI2, PGF2ファミリー因子の産生動態を質量分析イメージング、LC-MS質量分析、酵素抗体法による組織動態を解析し、どのプロスタグランジンが筋萎縮の主因となっているかを動物試験および細胞機能実験と共に検討してゆく。今年度は、筋組織におけるプロスタグランジンの検出ならびに産生動態を解析した。さらに、これらプロスタグランジンを用いて、筋細胞分化の機能性実験を実施した。今後はRNA-seqによる廃用性筋萎縮の関連遺伝子の網羅解析をあわせて進め、筋萎縮性疾患の治療につながる分子標的を解析し、将来の治療薬の開発につなげたい。

参考文献

1. Urano K, Tanaka Y, Tominari T, Takatoya M, Arai D, Miyata S, Matsumoto C, Miyaura C, Numabe Y, Itoh Y, Hirata M, Inada M. The stiffness and collagen control differentiation of osteoclasts with an altered expression of c-Src in podosome. *Biochem Biophys Res Commun*, 2024, 16:704:149636.
2. Tominari T, Takatoya M, Matsubara T, Matsunobe M, Arai D, Matsumoto C, Hirata M, Yoshinouchi S, Miyaura C, Itoh Y, Komaki H, Takeda S, Aoki Y, Inada M. Establishment of a Triple Quadrupole HPLC-MS Quantitation Method for Dystrophin Protein in Mouse and Human Skeletal Muscle. *International Journal of Molecular Sciences*, 2024, 25, 303.

筋ジストロフィーに対する遺伝子細胞治療法の社会実装に向けた取り組み

分担研究者

氏名 (所属施設) 岡田 尚巳
(所属・職名) 東京大学医科学研究 所 遺伝子・細胞治療センター 教授

諸言

間葉系間質細胞 (Multipotent mesenchymal stromal cells : MSCs) は、移植時の拒絶反応が少なく、炎症組織に集積して抗炎症作用を示すため、本邦においても、ステロイド抵抗性移植片対宿主病に対する細胞性医薬品として既に販売承認されている。しかし、筋疾患における MSCs の社会実装に向けては、移植細胞による作用機序の曖昧性や病態評価系の課題が残されている。

Duchenne 型筋ジストロフィー (DMD) の根本治療としてジストロフィン産生を目的とする遺伝子編集や遺伝子治療の開発が進められる一方で、慢性炎症は筋機能障害を誘導する要因の一つであり、炎症制御および組織保護効果が期待できる MSCs による細胞治療が注目される。

これまでに、MSCs を用いた DMD への治療アプローチとしては、臍帯由来 MSCs の臨床試験が海外で実施されている。一部の患者における治療効果が報告されているものの、効果の持続性や治療標的は未確認である。我々はこれまでに、DMD モデル動物を用いた MSCs による運動機能の維持効果^{1),2)}、MSCs の免疫制御能を活用したマイクロジストロフィン発現アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターの有効性³⁾ について報告した。

本課題では、DMD に対する遺伝子・細胞治療法の本格的な社会実装を目指し、(1) MSCs を用いた抗炎症療法、(2) 根本治療として AAV ベクターを用いた遺伝子治療、(3) MSCs と遺伝子治療の併用療法について、モデル動物を用いた評価を

実施する。特に、全身反復投与による抗炎症作用、筋保護効果、さらに運動機能の改善における有効性評価を実施することで、これまでに十分に解析されていない作用機序や新たな治療評価の有用なバイオマーカーとなる項目を検討する。

方法と結果

MSCs を投与した DMD モデル *mdx* マウスを用いて、骨格筋組織における炎症抑制効果を検証した。*mdx* マウス骨格筋は、炎症性 Mφ などの細胞浸潤、壊死線維、大小不同の筋線維などの病理所見を示す一方、MSCs 投与 *mdx* マウスは細胞浸潤領域が限定的であり、筋壊死を経て再生した中心核線維数が減少し、病理組織学的に軽症の傾向を示した。また、若齢の *mdx* マウスでは、広範囲な細胞核浸潤領域の Mφ (F4/80 陽性) の大部分が炎症性 Mφ であると示唆されたが、MSCs 投与マウスでは、Mφ の多くが炎症抑制性 M2Mφ (CD206 陽性) であることが確認された。

さらに、骨格筋組織におけるマイオカイン発現解析を行い、MSCs 投与マウスは非投与マウスと比べて、細胞増殖や抗アポトーシスに関与するケモカイン tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1)、および IL-1 受容体アンタゴニスト (IL-1Ra) の発現が増加していた。

考察

マウス骨格筋を用いた組織解析の結果、MSCs 投与による M1 および M2Mφ のポピュレーション変化を伴った炎症抑制効果、マイオカインの微小環境の変動が示唆された。本結果より、我々は MSCs

投与による病理所見の改善効果が炎症病態の緩和によるものと推察した。その効果は、MSCs 分泌因子や筋細胞との相互作用を介した炎症制御・組織保護につながる事が考えられる。

今後、MSCs 投与組織における微小環境の変化や作用標的を精査することで、MSCs の炎症制御作用・組織保護における機序解明が期待される。さらに、遺伝子治療との併用療法の可能性について検討する。

結論

MSCs 投与による DMD 骨格筋組織における M1 および M2Mφ のポピュレーション変化を伴った炎症制御作用、炎症制御・組織修復に関連するマイオカインの微小環境の変動が明らかとなった⁴⁾。これにより、MSCs を用いた筋ジストロフィーに対する炎症制御療法の推進が期待された。

参考文献

- 1) Nitahara-Kasahara Y, Kuraoka M, Oda Y, Hayashita-Kinoh H, Takeda S, Okada T. Enhanced cell survival and therapeutic benefits of IL-10 expressing multipotent mesenchymal stromal cells for muscular dystrophy. *Stem Cell Research & Therapy*. Vol. 12. No.1, 105-119. 2021.
- 2) Nitahara-Kasahara Y, Kuraoka M, Herrera Guillermo P, Hayashita-Kinoh H, Maruoka Y, Nakamura-Takahasi A, Kimura K, Takeda S, Okada T. Dental pulp stem cells can improve muscle dysfunction in animal models of Duchenne muscular dystrophy. *Stem Cell Research & Therapy*. 2021; 12(1):78-94.
- 3) Hayashita-Kinoh H, Herrera Guillermo P, Nitahara-Kasahara Y, Kuraoka M, Okada H, Takeda S, Okada T. Improved transduction of canine X-linked muscular dystrophy with rAAV9-microdystrophin via multipotent MSC pretreatment. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020; 20:133-141.
- 4) 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*. 2023; 14(1):108-128.

iPS 細胞由来骨格筋幹細胞による細胞治療の開発

分担研究者 櫻井 英俊

京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門

緒 言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) に対し、骨格筋幹細胞であるサテライト細胞を用いた細胞移植治療法は、モデルマウスでは治療効果を発揮している。しかしながらヒトでは治療に十分な量のサテライト細胞を得ることは困難である。そこで iPS 細胞から骨格筋幹細胞を分化誘導し移植細胞のソースとすることで、再生医療製剤の開発も可能であると期待されている。我々はヒト iPS 細胞から骨格筋幹細胞を分化誘導し、筋再生能を持つことを明らかにしたが、目的外細胞の混入により移植後に線維化や脂肪化といった重篤な副作用が生じることが明らかになった。本研究では目的外細胞を完全に除去する方法を確立し、安全な移植法を確立することを目指す。

方 法

健常者 iPS 細胞から骨格筋幹細胞を分化誘導し、近年開発された microRNA スイッチシステム¹⁾を用いて分化細胞の中から骨格筋幹細胞を純化可能であるか評価する。具体的には骨格筋特異的 microRNA に応答したオフスイッチに Barnase という RNase を発現させることで非筋細胞を死滅させ、さらにその効果を増強させるために、骨格筋特異的 microRNA に応答したオンスイッチに Barster と呼ばれる Barnase の阻害分子を強制発現させる。純化効率を免疫染色やフローサイトメトリーにて評価する。

結 果

骨格筋幹細胞マーカーである PAX7 に Venus をノックインしたレポーター iPS 細胞を分化誘導し、分化 70 日目以降でシングルセルに細胞を分

散し、FGFR4 の抗体染色も実施して FACS によりソーティングした。得られた PAX7+FGFR4+細胞群を骨格筋幹細胞、PAX7-FGFR4-細胞群を非筋細胞と定義して RNA を抽出し microRNA sequence にて網羅的発現解析を行った。18 種の候補が同定され、発現量を検証したところ、microRNA-206(miR-206) が骨格筋特異的 microRNA として同定された。共同研究者の齊藤博英博士らに miR-206 応答性スイッチ mRNA を作製していただいた。次に健常者由来 iPS 細胞 414C2 を骨格筋幹細胞へ分化誘導し、分化 70 日目以降でシングルセルに分散しリポフェクタミン mRNA MAX を用いて miR-206 応答スイッチ mRNA をトランスフェクションした。コントロールとして、蛍光蛋白発現 mRNA を用いた。遺伝子導入後 2 日目よりスイッチ mRNA 導入細胞では細胞死が顕著となり、導入後 21 日目で免疫染色により骨格筋幹細胞の純度が上がっていた。

考 察

本年度は骨格筋特異的 microRNA-206 に応答する microRNA スイッチシステムの有用性を示唆するデータが得られた。今後は純化度を定量評価するため PAX7 レポーター iPS 細胞由来の骨格筋幹細胞を用いて解析を進める。

結 論

骨格筋特異的 microRNA-206 を用いたスイッチシステムは iPS 細胞由来骨格筋幹細胞分化系への導入により効果を発揮する。

参考文献

- 1) Fujita et al. A versatile and robust cell purification system with an RNA-only circuit composed of microRNA-responsive ON and OFF switches Science Advances. 8, eabj1793(2022)

糖鎖異常型筋ジストロフィーモデルマウスを用いた分子病態機構の解明と治療法開発

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潜性遺伝性疾患で、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を解明し、それに基づく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。

次に ISPD の基質であるリビトール 5 リン酸の生合成経路の特定を試みた。LC-MS を利用した組織中の CDP-リビトールおよびリビトール 5 リン酸の高感度高精度定量測定法を活用し、アルデヒド基とケト基の還元に関連する酵素群 Aldo-keto reductase(AKR) family のリビトール 5 リン酸生合成に関わる役割を検討した。その結果、AKR1B1 がリボースをリビトールへ還元し、リン酸化酵素がリビトールをリン酸化してリビトール 5 リン酸となる経路が CDP-リビトールの産生を担っていることが示された(3)。

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。また、CDP-リビトール補充療法およびリビトール補充療法のいずれの作用機序を理解するためにも、CDP-リビトールの生合成・代謝経路の解明が急務であったが、本研究によってリボースから CDP-リビトール生合成に関わる代謝経路が明らかになったことは、治療法の Mechanism of Action の解明に繋がる重要な知見と考えられる。

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およびリビトール補充療法の有効性を実証した。CDP-リビトールの生合成に関わる酵素として AKR1B を同定し、CDP-リ

ビトールおよびリビトール補充療法の開発に重要な学術的知見を得た。

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) Hoshino, et al. Endogenous reductase activities for the generation of ribitol-phosphate, a CDP-ribitol precursor, in mammals. *J Biochem.* *Accepted* doi: 10.1093/jb/mvad115.

ジストロフィン欠損筋に対する等尺性運動の効果

山田 崇史
札幌医科大学

緒言

ジストロフィン欠損筋は、伸張性収縮による損傷を受けやすい特徴を有する。一方、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 患者の運動機能を維持する上で、安全かつ効果的な運動処方の実現に対する期待は大きい。そこで本研究では、DMD モデル (mdx52) マウスを用い、損傷性の低い等尺性トレーニング (ISO) が DMD 筋の病態および機能に及ぼす影響を検討した。

方法

15-22 週齢の WT および mdx52 マウスの下腿三頭筋に対し、麻酔下にて神経-筋電気刺激 (NMES) を用い、ISO (45 V, 100 Hz, 0.25 秒刺激/0.25 秒休息, 60 収縮, 6 セット, セット間のインターバル 4 分) を 2 日に 1 回の頻度で 4 週間負荷した (Yamada *et al.*, 2021; Yamada *et al.*, 2022)。最終 ISO 負荷の 2 日後に NMES を用いて下腿三頭筋の疲労耐性を測定し、その翌日に足底筋および腓腹筋を採取し解析に供した。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: 20-084_21-062_21-013_23-020)。

結果

mdx52 マウスの非 ISO 側では、Evans blue dye 陽性の損傷線維が集団で観察された。また、それは慢性的な mTOR 経路の活性化 (Akt のリン酸化)、ミトコンドリア関連因子の低下 (PGC-1 α 発現量およびクエン酸合成酵素活性の減少)、オートファジーフラックスの低下 (p62 発現量の増加, LC3BII/I の減少)、マクロファージの増加 (CD68 および CD206 発現量の増加) を伴っていた。一方、4 週間の ISO は mdx52 筋におけるこれらの変化をすべて改善するとともに、筋持久力を顕著に向上させた。

考察

近年、ジストロフィン欠損筋の病態機序に、オートファジー機能の低下が関与することが報告され注

目を集めている。本研究では、運動がオートファジーの活性化因子であること、また、ジストロフィン欠損筋は ISO では損傷を起こしにくいことに着目し、ISO がジストロフィン欠損筋の病態を改善するかどうかを検討した。驚くべきことに、4 週間の ISO は、mdx マウス骨格筋のオートファジー機能を正常化するとともに、筋病変ならびに筋持久力を顕著に改善した。先行研究において、ジストロフィン欠損筋では、慢性的な mTOR 経路の活性化がオートファジー障害を引き起こすこと、一方、PGC-1 α は mTOR 経路に拮抗して作用することが報告されている。したがって、ISO によるオートファジー機能の正常化には、PGC-1 α 発現量の増大による mTOR 経路の不活性化が関与すると考えられる。

結論

ISO は、PGC-1 α による mTOR 経路の抑制を介したオートファジー機能の正常化ならびにミトコンドリア機能の向上により、ジストロフィン欠損筋の病態を改善することが示唆された。これらの知見は、DMD 患者に対する適切な運動処方を実現するために、ISO が活用できる可能性を示すものである。

参考文献

- Yamada T, Ashida Y, Tamai K, Kimura I, Yamauchi N, Naito A, Tokuda N, Westerblad H, Andersson DC & Himori K. (2022). Improved skeletal muscle fatigue resistance in experimental autoimmune myositis mice following high-intensity interval training. *Arthritis Res Ther* **24**, 156.
- 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.

ドナー由来 Muse 細胞の点滴による筋ジストロフィー治療戦略

国立大学法人 東北大学大学院医学系研究科
出澤 真理

緒言

ドナー Muse 細胞は 10 万人に 1 人の確率でしか適合しない HLA 型や免疫抑制剤の投与なしで患者に点滴投与が可能である。ドナー Muse 細胞が DMD 患者の変性筋組織に生着し、ジストロフィンを発現する機能的な筋線維に分化することで、筋組織の変性治療だけでなく、喪失した筋線維を補完することも期待される。また、骨髄への Muse 細胞移植は他に類例がなく、DMD の慢性筋病態を反復投与の必要なく改善させることができると考える。これらにより、DMD 患者に対する新規細胞治療法の研究基盤を確立することを目指す。

方法

Muse 細胞移植による変性筋組織の治療効果を解明するため、マウス (B6 や mdx52 マウス) の骨格筋に cardiotoxin (CTX) 等の局所ないし静脈投与を行い、ヒト骨髄由来 Muse 細胞を投与して経時的に筋病態解析を行う。比較群として、MSC の投与群を用意する。中心核線維数、筋線維化は Sirius Red 染色、筋壊死・炎症サイトカイン測定、神経筋接合部 (NMJ) の構成等を評価する。さらに Muse 細胞を骨髄に移植し、Muse 細胞単回投与によって慢性的な筋変性への効果を検討する。野生型 C57BL/6 マウスに放射線暴露による骨髄損傷を与え、ヒト Muse 細胞の局所ないし静脈投与による骨髄移植を行い筋変性への Muse 細胞動員、治療効果を検討する。

結果

細胞は傷害を受けると細胞膜の外膜を構成するスフィンゴシンが転換され、スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) を警報として産生する。Muse 細胞は S1P receptor 2 を発現するため、点滴で投与すると傷害部位に選択的に遊走・集積することが可能である。全ての組織が細胞で出来ており、S1P は最も普遍性の高い傷害警報の一つである。このため Muse 細胞はどの組織であっても点滴投与で傷害部位に到達することができる (Yamada et al., 2018 *Cir Res*)。また Muse 細胞は独特の機構で分化することが明らかとなった。傷害細胞・死細胞の断片を貪食し、分化シグナルを再利用することで迅速に分化する。このため日単位でエラー無く

傷害・死細胞と同じ細胞種に分化することが可能であり、この機構によって組織を修復することが分かった (Wakao et al., 2022, *Cell Mol Life Sci*)。これまでの予備実験において、Cardiotoxin (CTX) により変性したマウス筋組織においてヒト Muse 細胞が Pax7 陽性、またはジストロフィン陽性の骨格筋細胞に分化することを見出している (Kuroda et al., *PNAS*. 2010)。

考察

これまでの予備実験において、Cardiotoxin (CTX) により変性したマウス筋組織においてヒト Muse 細胞が Pax7 陽性、またはジストロフィン陽性の骨格筋細胞に分化することを見出している (Kuroda et al., *PNAS*. 2010)。本研究では、DMD 筋組織において Muse 細胞がどのように変性した筋組織に生着し、機能性を持つ骨格筋に分化できるのか、ジストロフィンを発現するのか、Muse 細胞由来筋線維は正常な筋機能を示すのかなどを解明する。また慢性疾患は、徐々に組織破壊や荒廃が進んで行く。そのために頻回にドナー Muse 細胞を点滴投与することは負担である。この解決の一つとして生体にドナーの健常者 Muse 細胞が正着し、恒常的に健常 Muse 細胞が変性骨格筋を置き換えることができる方法を模索する。骨髄を一つのターゲットとして研究を進める。

結論

Muse 細胞の生体内でどのように「場の論理」に応じてエラーなく分化し、傷害細胞を置き換えるのか、その分化機構を解明した。また MSC と Muse 細胞の遺伝子発現やシグナル伝達系の違いも解明した。

参考文献

- Oguma Y, Alessio N, Aprile D, Dezawa M, Peluso G, Di Bernardo G, Galderisi U. Meta-analysis of senescent cell secretomes to identify common and specific features of the different senescent phenotypes: a tool for developing new senotherapeutics. *Cell Commun Signal*. 2023 Sep. 21(1):262. doi:10.1186/s12964-023-01280-4.
- Li G, Wakao S, Kitada M, Dezawa M. Tumor suppressor let-7 acts as a key regulator for pluripotency gene expression in Muse cells. *Cell Mol Life Sci*. 2024 Jan 23; 81(1):54. doi:10.1007/s00018-023-05089-9.

エクソンスキッピングのためのアンチセンス核酸のデータベース構築およびスキッピング予測に関する研究

奥野恭史
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始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ている。

結果

R5 年度には、予測モデルのアルゴリズムの再検討することで、モデルの計算速度および予測性能を向上させられることを示した（参考文献）。また、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大規模に実施し、データベースに収録する遺伝子を

拡充し公開した（<https://eskip-finder.org>, 2024 年 3 月 22 日更新）（表）。

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録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、予測モデルについても、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

A Zhu, S Chiba, Y Shimizu, K Kunitake, Y Okuno, Y Aoki, I Yokota, Ensemble-Learning and Feature Selection Techniques for Enhanced Antisense Oligonucleotide Efficacy Prediction in Exon Skipping, *Pharmaceutics*, 15(7) 2023.

表、公開したデータベースの遺伝子名およびエントリー数（2024 年 3 月 22 日）

DMD	MSTN	DYSF	SCN1	COL7A1	IAMA2	MAPT	USH2A	DMPK
10653	819	112	143	223	25	18	10	48
MS4A2	ATM	ALK2/ACVR1	NF1	PMM2	NPC1	NF2	MLC1	MFSD8(CLN7)
6	4	4	19	1	1	1	1	2
FRS3 FRS3/FRS3	ATN1	IL1RAP	ABCA4	AKR1A1	APP	GLDC	HTT	TBP
32	52	29	66	6	10	59	66	14
ATXN3	ATXN7	COL4A5	C5	CASK	CD44	CEP290	CFTR	DMD/MSTN
58	9	404	16	1	14	7	8	3
FBN1	GYS1	HNRNPH1	LMNA	LUC	PAH	SMN2	STAT3	TTN
20	10	3	10	28	17	8	10	10
SOD1	SRC1	MADD	SNAP25A	SNAP25B	IL12RB1	IL12RB2	IL12RB3	IL12RB4
9	2	1	1	1	1	1	1	1
IL12RB5	IL12RB6	IL12RB7	IL12RB8					
1	1	1	1					

福山型筋ジストロフィーの疾患モデル作成と機能評価

池田真理子
藤田医科大学病院
臨床遺伝学

緒言

FCMD は本邦に患者の多い重篤な遺伝性難病である。乳幼児時期より発症する重度の筋ジストロフィーに加え、網膜剥離・白内障などの眼症状、胎内発症する滑脳症、てんかん、知的障害など重度な神経症状も併発する。責任遺伝子 FKTN は α ジストログリカンの糖鎖転移酵素であり、標的遺伝子 α DG タンパク質上の糖鎖を付加する。FCMD ではその糖鎖欠損が病態である。モデルマウスでは特に骨格筋や中枢症状が軽く、治療薬の効果の評価ができない。申請者はこれまで FCMD のアンチセンス核酸の治療法開発などにかかわってきた。福山型筋ジストロフィー (FCMD) の病態解明と、先行研究において革新的な薬効機序が示唆されている塩基性環状低分子化合物 Mn007 の創薬開発の実現を目指し、患者由来 iPSCs を駆使して、動物モデルでは再現しえなかった病態を本邦で開発されたヒト三次元培養技術法を応用し再現し、低分子化合物の薬効機序を解明しその効果を評価する。

方法

- 1 Mn007 のマトリグリカン伸長に対するアッセイ系を作成し、糖鎖伸長を評価する
- 2 Mn007 を大脳オルガノイドに投与し、糖鎖の変化を免疫染色で検討する
- 3 single cell RNA sequencing を行い大脳オルガノイドでの遺伝子発現の変化を検討し標的分子を同定する
- 4 Mn007 の薬効機序を解明するため、Mn007 の凝集での効果検討及び DNase 分解阻害について検討する

結果

- 1 マトリグリカン伸長アッセイにより、Mn007 はその濃度依存性にマトリグリカン糖鎖が付加されることが明らかになった。
- 2 大脳オルガノイドへの Mn007 投与においても濃度依存性に糖鎖シグナルの回復が示

唆された。

3 single cell RNA sequencing を大脳オルガノイド day 60, 130 の 2 ポイントで検討した。結果 day 60 では疾患と対照で有意な差がみられる遺伝子群は少なく、一方グリオーシスの進行した 130 日目では抑制性ニューロンの挙動の変化がみられた。

4 Mn007 は DNA 分解酵素を阻害することが実験的に証明されている。本要素と Mn007 の α DG 糖鎖伸長の関係はわかっていない。Mn007 の DNase 阻害効果により、人食いバクテリアである劇症型溶連菌の感染を好中球レベルで阻止できるかを検討した

考察

Mn007 のアッセイ系の確立、大脳オルガノイドの遺伝子発現解析や Mn007 による糖鎖回復を検討した。Mn007 は大脳オルガノイドでの効果を検討するのに良いツールである。アッセイ系により濃度や効果がより詳細に検討できるようになったので、今後は vivo での検討も行いたい。一方で Mn007 の毒性や vivo 投与における消化管吸収での検討も必要と考えた。

結論

Mn007 の新しい機能やその評価方法の確立を行った。大脳オルガノイドを用いることでマウスなどの疾患モデルでは表現できない脳表での糖鎖付加の検討が可能であると考えた。scRNA の挙動の検討や、アッセイ系について、論文執筆を準備中である。また、あらたに福山型重症型に対する治療法として核酸を用いたエクソンスキップ法が有効であることを 2022 年に報告した。本治療法においても大脳オルガノイドを用いた検討が可能であり、来年度にその検討を行うことで治療臨界期の検討ができると考えている。

参考文献

1. [Taniguchi-Ikeda M, Koyanagi-Aoi M, Maruyama T, Takaori T, Hosoya A, Tezuka H, Nagase S, Ishihara T, Kadoshima T, Muguruma K, Ishigaki K, Sakurai K, Mizoguchi A, Novitch BG, Toda T, Watanabe M, and Aoi T. Restoration of the defect in radial glial fiber migration and cortical plate organization in a brain organoid model](#)

- of Fukuyama muscular dystrophy.
iScience 2021;24(10):103140.
2. Enkhjargal S, Sugahara K, Khaledian B, Nagasaka M, Inagaki H, Kurahashi H, Koshimizu H, Toda T, and Taniguchi-Ikeda M. Antisense oligonucleotide induced pseudoexon skipping and restoration of functional protein for Fukuyama muscular dystrophy caused by a deep-intronic variant. Hum. Mol. Genet. 2022 ; 32(8) : 13011312 .
 3. K. Morita, T. Moriwaki, S. Habe, M. Taniguchi-Ikeda, T. Hasegawa, Y. Minato, T. Aoi, T. Maruyama, Molecular aggregation strategy for inhibiting DNase. JACS Au, accepted (2024).

DMD 遺伝子編集マイクロミニピッグの基礎情報及びキャリアメスブタの繁殖能力調査

分担研究者 大竹 正剛

所属 静岡県畜産技術研究所中小家畜研究センター 養豚・養鶏科

緒言

デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) の病態解明や治療方法開発にはモデル動物が不可欠であり、これまでマウスやイヌが使用されてきた。より解剖学・生理学的にヒトに近い特徴を有する動物種としてブタが有望視されてきたが、ES 細胞が樹立されていないブタでは遺伝子改変に体細胞クローン技術が必要なことや、ミニブタであっても成体で 100 kg 程に達すること(1)から取り扱いが煩雑である欠点があった。近年では遺伝子編集技術の確立によってブタも効率的に遺伝子改変が可能になりつつあり、筋ジストロフィーモデル作出も報告されてきたものの(2)、体格の課題は残されていた。

我々は、成体で 25 kg 程度とミニブタの中でも格段に小さく取り扱い易い実験用ミニブタである“マイクロミニピッグ(3)”を用いて、CRISPR/Cas9 システムによって、DMD 遺伝子のエクソン 23 を欠損させた遺伝子編集マイクロミニピッグ(以下、「MD ブタ」)を作出した。MD ブタは、他のミニブタより体格が小さいことに加え、長命である可能性とキャリアメスブタの有性生殖によって MD ブタを生産できることが特長として見出されつつある。しかし作出した MD ブタは外因性ストレスに敏感で取り扱いに注意が必要で基礎情報を得ることが難しい点や、キャリアメスブタの生産性が不明である点

に課題が残されている。そこで本研究では、MD ブタの取り扱い手技確立と MD ブタおよびキャリアメスブタの基礎情報を収集し、本動物の有用性と実用性について評価することを目的とする。

方法

1. MD ブタの基礎情報調査

(1) 取り扱いのための不動化の検討

MD ブタ (オス n=2) に塩酸メドミジン (0.1mg/kg) 及びミタゾラム (0.5 又は 1.0mg/kg)、または上記 2 種混合にケタミン (10 mg/kg) 若しくはアルファキサロン (5.0mg/kg) を加えて筋肉内投与した。投薬後、起立不能、眼瞼反射および指間刺激への反応消失にて鎮静および鎮痛を確認した。復帰は起立後の摂食行動にて確認した。

(2) 体格および血液生化学的性状調査

MD ブタ (オス n=2) 及び WT ブタ (オス n=1) を投薬による不動化後、体重、体長、体高、胸囲および血液生化学的性状 (AST、ALT、 γ -GT、LDH、CK、cTnT) を経時的に調査した。

2. キャリアメスブタの特性調査

(1) キャリアメスブタの繁殖能力調査

キャリアメスブタ (n=9) の繁殖成績 (妊娠期間、総産子数、生存産子数、死産数) を WT メスブタ (n=18) と比較した。またキャリアメスブタから得られた産子における変異型 DMD 遺伝子の出現状況および出生時体重との関係を解析した。

(2) キャリアメスブタの血清学的性状

キャリアメスブタ (n=7)、WT メスブタ (n=4) から採血し、血清学性状 (AST、ALT、 γ -GT、LDH、CK) を調査した。

結果

1. MDブタの基礎情報収集

(1) MD ブタは、いずれの投薬方法においても5分以内に鎮静が、20分後には鎮痛が確認でき、その後の正常な復帰も確認した。なお復帰に3時間以上要する事例が認められた。

(2) MD ブタは、WT ブタに比較して体格がやや小さく推移したものの順調に成長していることが確認された(9ヶ月齢のMDブタは11.5 kgと10.7 kg、WTは14.3 kg)。血清学的性状は、AST、ALT、LDH、CK、cTnTにおいてWTブタに比較し高値を示し、特にCKは23,680~29,507 U/Lと高値で推移した(WTブタ; 545~616 U/L)。

2. キャリアメスブタの特性調査

(1) キャリアメスブタはWTメスブタに比較して、妊娠期間に差は認められなかったが、総産子数(3.9±1.6頭 vs. 5.1±2.0頭; $p<0.05$)や生存産子数(3.0±1.5頭 vs. 4.0±2.4頭; $p<0.01$)が有意に低かった。キャリアメスブタ由来の生存産子における変異型DMD遺伝子の出現頻度は49.2%(32/65)であり、うちオスの比率は50.0%(16/32)であった。死産産子45頭中15頭の変異型DMD遺伝子の出現頻度は53.3%(8/15)であった。キャリアメス由来の生存産子における出生時体重は、変異型で有意に低かった(MD, 413.7±94.5 g vs. WT, 360.3±78.4 g; $p<0.05$)。変異型における性別毎の出生時体重に有意な差はなかった。(2) キャリアメスブタにおける血清学的性状(AST、ALT、 γ -GT、LDH、CK)は、WTメスブタと有意な差はなかった。

考察

これまでMDブタは体重測定や移動のための保定のストレスによっても過敏に反応することがあったが、鎮静薬と麻酔薬の投与により不動化することで安定して処置でき正常に復帰させることが可能となった。投薬カクテルは塩酸メドミジン(0.1mg/kg)とミタゾラム(1.0mg/kg)の組合せが最適と考えられたが、輸送等の継続的なストレスにはアルファキサロン等の追加や、早期復帰のため拮抗薬の選択も検討が必要であると考えられた。

MDブタの血液性状は、AST、ALT、LDH、CK、cTnTにおいてWTブタに比較し高く推移することが確認され、ヒトDMDの特徴と酷似していた。

キャリアメスブタの繁殖能力は、生存産子数は低値を示し死産が多い傾向も確認されたが、生存産子における変異型DMD遺伝子の出現頻度は1:1であり性差もなかったことから、1腹で4頭得られれば変異型が1頭は得られることが示唆された。DMD遺伝子に変異を有する産子の出生時体重はWTブタに比べ低値を示したが、その理由は今回の調査では不明であった。キャリアメスブタの血清学的性状は、Okamotoらが作出したキャリアメスブタではCK値で高値を示す個体を報告している(3)が、我々のキャリアメスブタはWTメスブタと差は認められなかった。

今回の調査は、傾向は明らかであったものの、今後引き続き例数を増やし、本モデル動物の特性解明に努めることとする。

参考文献

- (1) Ganderup NC, et al., *Int J Toxicol.* 2012.;31(6):507-28. PMID: 23134714

- (2) Echigoya Y, et al., *Int J Mol Sci* . 2021
Dec 2;22(23):13065. PMID: 34884867
- (3) Kaneko N, et al., *J Pharmacol Sci*. 2011;
115:112-4. PMID: 32272527
- (4) Okamoto K, et al. *Regen Ther*. 2023.
2023; 20:24:451-458.PMID: 37772130

一般社団法人 日本筋ジストロフィー協会 竹田 保
 ホップ福祉問題研究所 中岡 良司

【研究の背景と目的】

日本筋ジストロフィー協会は1964年の設立以来、常に「根本治療法の確立」を最優先課題と考えてきた。そのような中で、2020年3月、我が国で初の筋ジス治療薬「ビルトラルセン」が承認されたが、2021年1月には治験を終えた他の筋ジス新薬は有効性が認められず承認されなかった。そこで、本協会は「希少疾患における新薬の承認手続きの改善」と「新薬開発における患者参画」への取り組みを強化することとした。

今回実施した調査においては、①今後の情報ツールとしてのインターネットに関して患者の利用環境および利用状況を把握すること、②患者が望む医療情報の入手方法、新薬への関心、どのような新薬の開発情報を知りたいか、誰の情報を信用しているか等を知ること、③ペイシエント・ジャーニーの観点から、希少疾病患者が抱える困難の所在と程度を明らかにすることを目的とした。

【調査の概要】

令和5年10月10日～11月10日、全国の筋ジス協会会員および北海道難病連所属の希少疾病患者を対象に無記名アンケート調査を実施した。回答人数は196人であった。調査内容は以下の通りである。

①属性(性別、年齢、住所、病名)、②インターネットの利用状況(利用できる情報機器、電子メールの所有、インターネットの利用目的)、③医療情報の入手(新薬への関心、新薬情報の入手方法、信頼できる情報の発信者、新薬開発段階への関心)、④ペイシエント・ジャーニーへの反応(検査と発症、診断、治療、社会の支援の各段階の経験)。

【調査結果】

① インターネットの利用状況に関しては、筋ジス患者のパソコンとスマホの所有率は8割以上で、電子メールの利用が最も多かった(図1)。また、電子メール、ホームページ閲覧、SNS、情報検索、商品の購入は半数以上が

利用していた。オンライン会議、金融取引、商品の購入、動画の視聴、電子申請など先進的利用も見られた。

② 医療情報の入手に関しては、筋ジス患者の9割が新薬開発に関心を持っていた。その情報をネットニュース、患者会の機関誌、テレビのニュースで受け取ることを期待している(図2)。なお、患者の97%が医者からの情報を信用すると回答している。

③ ペイシエント・ジャーニーによる分析に関しては、筋ジス患者においては「治療法不足」(90%)、「病院・医師不足」(86%)の困難が突出していた(図3)。また、「周囲の理解が得られない」(70%)も多かった。他の項目、「初期の検査」や「診断」における困難は50～60%にとどまっていた。

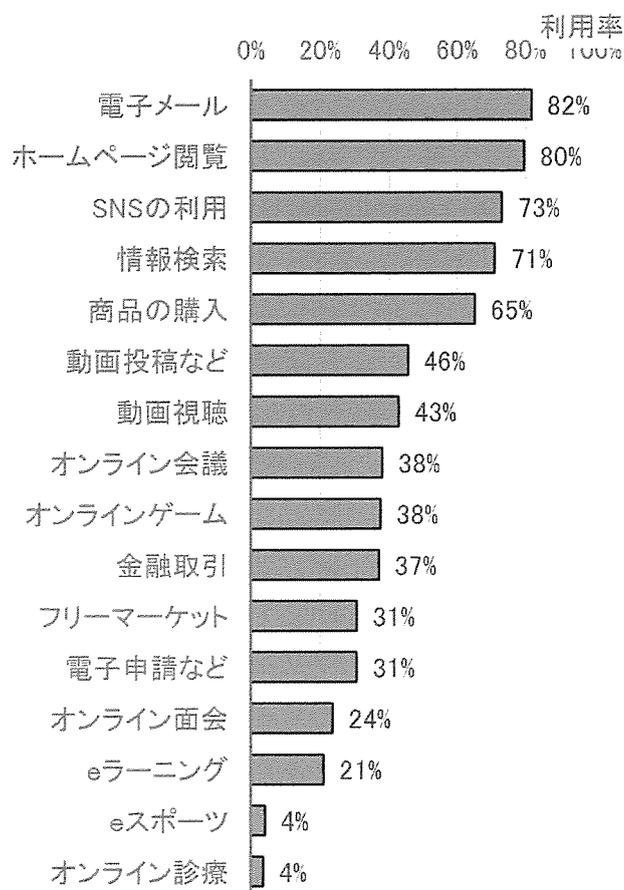


図1 インターネットの利用目的

【今後の課題】

筋ジス患者にとって、インターネットはもはや生活に不可欠な存在となっており、今後はインターネットを通じた医療情報の提供に積極的に取り組む必要がある。新たな治療薬への関心は極めて高く、新薬開発に関わる医療情報の発信を製薬会社および医師へ働きかける必要がある。また、ペイシェント・ジャーニーに基づく分析は患者が長い療養生活のどの過程でどの程度の困難を感じているかを数値化することが可能であり、有用な分析ツールとして今後の調査等に活用することが期待される。

参考文献

- 1)令和3年通信利用動向調査の結果:総務省、2021.8
- 2)新薬に関する意識調査:米国研究製薬工業協会(PhRMA)、2019.6
- 3)日本における希少疾患の課題:武田薬品工業株式会社、提言書、2020.4

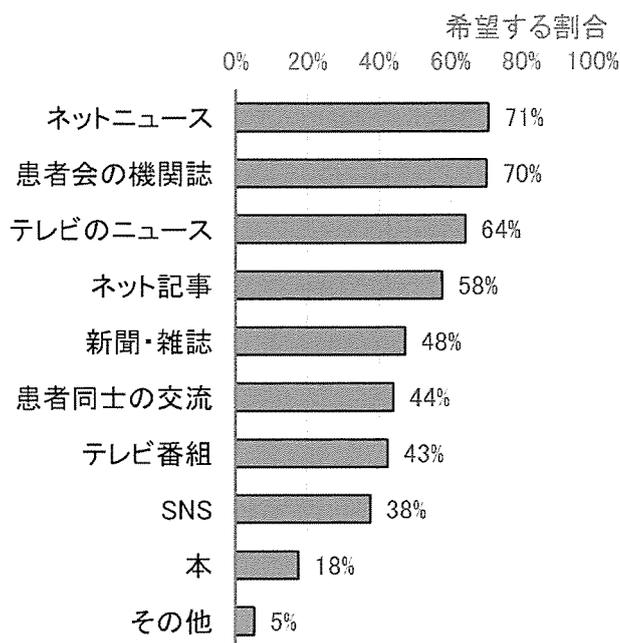


図2 希望する医療情報の入手方法

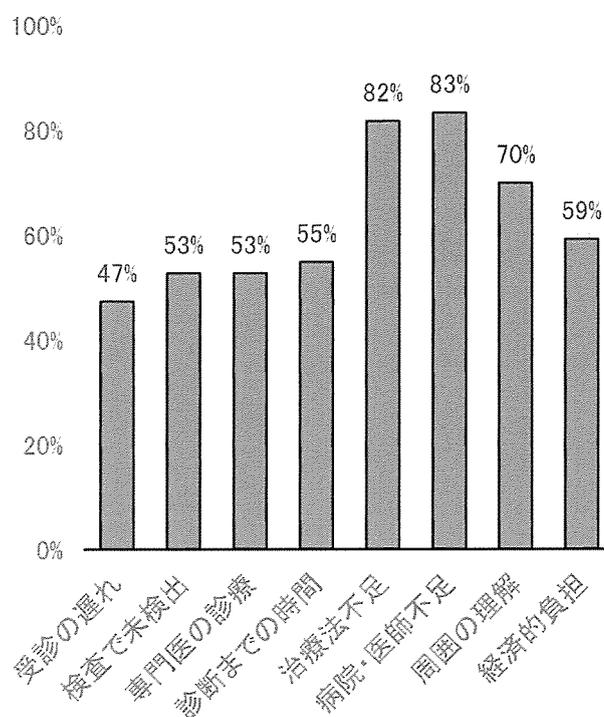


図3 ペイシェント・ジャーニーにおける筋ジス患者の困難(不満)

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、ビニールアイソレーター (VI) 装置内で管理している維持動物の定期的な微生物学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5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/10 (B10)-mdx、C57BL/6J-mdx、B10-mdx. utrophin KO、NOG-mdx、DBA/2N (D2)-mdx、D2-mdx-IL2RgKO、RAG2 KO 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5年の供給実績は、国内22機関に52回供給し、B10-mdx を908匹、そのコントロール系統 B10Jic を30匹、D2-mdx を141匹とその胚を140個、NOG-mdx を15匹の累計1094匹の動物と140個の胚を分与・供給した。この供給実績は、昨年の実績に次ぐ最高水準であった。

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完全移管した。また B10-mdx の背景コントロール系統として C57BL/10ScSnJic (B10Jic) を樹立し、10週齢ならびに26週齢の背景データを取得し、mdx 表現型の再現性を確認した。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、背景データの取得を実施中である。

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令和4年に次ぐ最高水準であった。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 B10Jic 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.

Dp71 特異的遺伝子改変マウスを用いた DMD 分子病態研究

藤本 崇宏

京都府立医科大学大学院医学研究科

緒言

ジストロフィン遺伝子の異常は筋壊死とさまざまな程度の神経発達症を主徴とする神経筋疾患をもたらす。脳や筋組織以外の広範囲の諸臓器においても同遺伝子の全長型産物または短鎖産物が発現しているが、神経・筋組織以外での病態形成の有無や分子機能の実態は不明である。本研究では全身臓器・組織におけるジストロフィン短鎖産物 Dp71 の発現・分子複合体の実体を、分子・細胞・マウス組織レベルで明らかにすることで、ジストロフィン異常症の分子機序解明と分子標的創出に寄与することを目指とする。近年、我々は Dp71 を全長型ジストロフィン Dp427 と区別して検出することを可能にする遺伝子改変マウス (HA-Dp71 マウス) を樹立し、マウス海馬および小脳における Dp71 と Dp427 の発現プロファイルを報告してきた (参考文献 1, 2)。さらに発展させるべく、ヒト症例報告があったジストロフィン遺伝子ミスセンス変異に着目し、同変異を有するモデルマウスの樹立に着手した。

方法

HA-Dp71 マウスの受精卵を宿主として、CRISPR-Cas ゲノム編集技術によって標的とする塩基に変異を有する一本鎖オリゴヌクレオチドの導入を試みた。

結果

F0 マウス 45 匹中 35 匹に目的としたミス

センス変異の導入をサンガーシーケンス解析で検出できた。現在 F1 マウスを作成して次世代への変異遺伝子の伝播を試みている。

考察

今年度の 10 月より分担研究者として研究班に参加し当該研究を開始したが、ゲノム編集技術の使用により迅速かつ高効率で F0 マウスの獲得に至った。今後樹立されるジストロフィン遺伝子ミスセンス変異マウスを用いて表現型解析を行うことで、希少症例ではあるがミスセンス変異によって神経発達症を発症する病態機序の解明に資する所存である。野生型マウスではなく、我々が独自に保有する HA-Dp71 マウスを宿主に用いたことにより、ミスセンス変異を有する Dp71 蛋白の動態を Dp427 と区別してマウス組織レベルで検討できる点に優位性がある。すなわちミスセンス変異がもたらすマウス個体レベルの表現型と変異分子病態の両者の理解に資するモデルマウスになることを期待する。

結論

HA-Dp71 マウスを宿主としたミスセンス変異モデルマウスの樹立の目途が立った。HA-Dp71 マウスの有用性に関する知見は今後も積み上げていきつつ、ミスセンス変異マウスとの比較研究によって病態解明や分子標的の創出に繋げる。

参考文献

1. Fujimoto T et al., Cell Mol Life Sci. 2022;79(2):109.
2. Fujimoto T et al., Mol Neurobiol. 2023;60:3664-3677.

Development of novel therapies for neuromuscular disorders using 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: FY2023

We have achieved significant progress in developing new therapies utilizing disease model animals in our research endeavours. Our accomplishments include creating the world's smallest micro-miniature pig model for Duchenne Muscular Dystrophy (DMD) and completing a comprehensive skeletal and cardiac muscle pathology analysis. We developed a mouse model with a specific tag inserted into the dystrophin short product (Dp71), identifying Dp71-expressing cells in the cerebellum and their functional relationship with AQP4 and Kir4.1 channel proteins in Bergmann glia. Administering Dp140 mRNA directly into the amygdala of mdx52 mice improved excitatory synaptic responses and ameliorated abnormal social behaviour (Prog Neurobiol, 2023). Using long-read snRNA-seq data from human brain tissue, we discovered high DP140 expression in excitatory neurons of the deep cortex, particularly in cells marked by serotonin receptor HTR2C. In stem cell research, we developed a method to differentiate motor neurons from urine-derived cells and successfully created 3D brain organoids from urine-derived cells of DMD patients. Additionally, we developed a method using microRNA switches to differentiate and purify skeletal muscle stem cells from human iPS cells, elucidating the differentiation mechanism of mesenchymal stem cells in response to "field logic" within the body (iScience, 2023; Cell Commun Signal, 2023). Furthermore, we identified mesenchymal progenitor cells intrinsic to skeletal muscle, revealing their dual role in muscle maintenance/enhancement and promoting fibrosis and adipogenesis, thus exacerbating the pathology (Nat Rev Endocrinol, 2023). We clarified the significance of R-loops mediated by TUG1 at microsatellite loci necessary for cell proliferation (Nature Communications, 2023). Additionally, we created a dominant genetic LMNA mutation mouse model replicating cardiomyopathy and demonstrated the potential of supplementation through oligodendrocytes to inhibit ALS progression (Frontiers in Cellular Neuroscience, 2023). Our initiatives also included advancing preclinical studies on in vivo genome editing using lipid nanoparticles loaded with CRISPR-Cas9 for muscular dystrophy mice. We enhanced and reported the accuracy of the eSkip-Finder web interface for predicting antisense sequences (Pharmaceutics, 2023), enabling sequence prediction and therapeutic modality evaluation, thus establishing a high-throughput research infrastructure for developing new exon-skipping drugs.

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
Tatsuo Mano, Section Chief
Satoru Noguchi, Section Chief
Rieko Muramatsu, Director
Shin'ichiro Hayashi, Section Chief

Eisuke Doi, Section Chief
Shuuji Wakatsuki, Section Chief
Katsura Minegishi, Section Chief
Daisuke Kawauchi, Section Chief

Kyoto University

Akitsu Hotta, Associate Professor

Kyushu University

Akiyoshi Uezumi, Professor

Osaka University

Soichiro Fukada, Professor

Tokyo University

Kanjiro Miyata, Professor

IMSUT, Tokyo University

Takashi Okada, Professor

Tokyo University of Agriculture and Technology

Masaki Inada, Associate Professor

Kyoto University

Hidetoshi Sakurai, Associate Professor

Ehime University Graduate School of Medicine

Motoi Kanagawa, Professor

Sapporo Medical University

Takashi Yamada, Associate Professor

Tohoku University

Mari Dezawa, Professor

RIKEN

Yasushi Okuno, RIKEN Center for Computational Science, Director

Fujita Health University Hospital

Mariko Ikeda, Associate Professor

Shizuoka Prefectural Research Institute of Animal Industry

Masayoshi Otake, Director

Central Institute for Experimental Animals

Masahiko Yasuda, PhD

Japan Muscular Dystrophy Association

Tamotsu Takeda, Representative Director

Kyoto Prefectural University of Medicine

Takahiro Fujimoto, Lecturer

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: Takeda

5-8 霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患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。また自閉症の患者数の増加も喫緊の社会問題となっている。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。本研究は 3 プロジェクトから構成する。①アルツハイマー病(AD)モデルサル開発と表現型評価：これまで作出してきた、げっ歯類で早期発症の実績がある 5x FAD タイプの TG マーモセットを対象に、作出されたマーモセットの表現型を行動、生化学、脳機能イメージングバイオマーカーの開発を進める。②自閉症モデルの開発と表現型評価：親個体へのバルプロ投与によってモデル動物を作出し、ヒト患者との相同性を電気生理学的、生化学的、実験心理学的手法によって解明する。③霊長類モデルを対象とした新規バイオマーカーの開発：霊長類疾患モデル動物を用いた、国内の有力若手研究者と連携することにより、NCNP 内の研究リソースのみでは不可能であった、上記対象疾患などの新規バイオマーカーを開発する。

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

一戸紀孝 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
加藤孝一 国立精神・神経医療研究センター
郷康広 自然科学研究機構・生命創成探究センター
國松淳 筑波大学・医学医療系
武井智彦 玉川大学・脳科学研究所
宮本健太郎 理化学研究所 脳神経科学研究センター 思考・実行機能研究チーム
小松三佐子 東京工業大学科学技術創成研究院
梅田達也 京都大学大学院医学研究科・脳統合イメージング分野
佐々木亮 京都大学 大学院医学研究科
網田英敏 京都大学・ヒト行動進化研究センター
二宮太平 生理学研究所・システム脳科学研究領域・認知行動発達機構研究部門

研究協力者

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
HASEGAWA Woranan 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
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
野口潤 国立精神・神経医療研究センター
渡邊恵 国立精神・神経医療研究センター
中垣慶子 国立精神・神経医療研究センター
松田真悟 昭和薬科大学
安江みゆき 国立精神・神経医療研究センター
山口和彦 国立精神・神経医療研究センター
土屋明子 国立精神・神経医療研究センター
境 和久 国立精神・神経医療研究センター
黒谷亨 国立精神・神経医療研究センター
磯田李紗 国立精神・神経医療研究センター
中村月香 国立精神・神経医療研究センター
長谷川有美 国立精神・神経医療研究センター
佐藤知子 国立精神・神経医療研究センター
熊本卓也 広島大学大学院
井上謙一 京都大学
ヤン・ガオゲ 京都大学
磯田昌岐 生理学研究所
三村京子 国立精神・神経医療研究センター
大谷暢子 国立精神・神経医療研究センター
宮本絵美 国立精神・神経医療研究センター

3 研究成果

「AD モデルマーモセットの作出と解析」では研究全体の統括をおこなった。項目1では、発

生工学的な手法を用いて個体作出を継続するとともに、疾患バイオマーカーの検索を継続した。項目2では国内若手研究者との連携研究によって、さまざまな角度からの霊長類疾患バイオマーカーの開発を継続して行った。「**マーモセット自閉症モデルの作出と解析**」では、バルプロ酸マーモセットを用いた ASD モデルを構築し、その遺伝子発現やバイオマーカーを調査した。マーモセットとヒトの自閉症サブタイプの相関を解析し、バルプロ酸マーモセットが ASD の G1 サブタイプの良いモデルであることを示した。また、バルプロ酸曝露によるヒストンアセチレーションの亢進を確認し、ASD サブタイプの特定に成功した。「**認知症モデルマーモセットの生化学および行動表現型評価**」では、遺伝子改変 AD モデルマーモセットの CSF および血漿中の A β 42/40 比を測定し、AD 患者に類似する生化学的变化を示す個体を特定した。行動学的解析では、AD モデルと野生型マーモセット間に明確な差は見られなかったが、AD バイオマーカーの有効性が示唆された。

「**PET による AD モデルマーモセットの評価**」では、AD モデルマーモセットの脳内変化を PET で評価し、アミロイドプラークの形成や TSP0 の高発現、タウ病理の存在を確認した。これにより、AD モデルとしての妥当性が示され、さらなるモデル評価のための重要なデータが得られた。「**霊長類モデル動物を用いたトランスクリプトーム解析とトランスレータブル指標の開発**」では、バルプロ酸曝露マーモセットの遺伝子発現解析を行い、興奮性ニューロンの発現低下やグリア細胞の発現亢進を確認した。これにより、自閉症スペクトラム症の遺伝子発現動態の一部を明らかにし、トランスレータブル分子マーカーの開発に成功した。「**自律神経機能を指標とした病態評価**」では、アカゲザルを

用いて随意呼吸の制御機構と情動の情報処理の関連を調査した。呼吸タイミングを変化させる課題で、補足運動野と前補助運動野の神経活動を記録し、呼吸制御が情動制御に関与することを示唆した。「**感覚フィードバック応答計測による前頭-頭頂障害の評価**」では、マカクザルを用いた感覚フィードバック応答計測により、長潜時応答の調整に関与する前頭-頭頂皮質の機能を解析した。前頭-頭頂皮質の神経活動記録に基づき、フィードバック応答の予測的調整メカニズムを明らかにした。「**マカクサルを用いた強迫性障害の神経メカニズムの解明**」では、マカクザルを用いて OCD 様行動と内省の同時計測を行い、前帯状皮質や外側前頭葉の神経活動を解析した。内省と確認行動の関連を明らかにし、OCD の神経基盤を解明した。

「**広域皮質脳波を用いた疾患バイオマーカーの開発**」では、健常および疾患モデルマウスの広域皮質脳波を比較し、ASD やてんかんモデルの異常を検出した。広域皮質脳波が疾患バイオマーカーの有効なツールであることを示した。「**マウスのバイオマーカー創出に向けた大規模神経活動記録・解析法の開発**」では、マウスの脳活動を層別に計測し、皮質層別 fMRI データから情報伝達ネットワークを解析する方法を開発した。触覚刺激に対する層特異的応答を明らかにし、双方向の階層的体性感覚処理の理解を深めた。「**脳多様性が導く柔軟な意思決定の神経基盤とその障害の定量化**」では、マカクザルを用いた VR 環境での探索課題により、多様な行動戦略を解析した。光遺伝学手法を用いたサル(マカク)の意思決定操作に成功し、多様性を生む脳基盤を解明した。「**遺伝子導入サルを用いた「前頭葉-基底核」連関の機能解析と行動指標開発**」では、マカクザルの前頭葉から線条体への投射様式を解析し、腹

側前頭前野が注意喚起、背側前頭前野と島皮質が接触感覚の信号処理に関与することを示した。「**自己と他者の行動情報処理における前頭葉機能連関の解明**」では、マカクザルを用いた認知行動課題中の神経活動解析により、PMv が他者の行動感覚情報を処理し、MPFC が他者の行動予測と誤差情報を処理することを示した。

4 研究成果刊行一覧

1. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki (2023). Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. Cell Reports, 7 March 2024, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113884>
2. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki (2023). Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. Nature Communications, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
3. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuo Tomioka (2023). Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. PLOS ONE, June 9, 2023, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>
4. Chao, Z., Komatsu, M., Matsumoto, M., Iijima, K., Nakagaki, K., Ichinohe, N.

Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder. bioRxiv (2023) doi: <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.

5. Miyamoto K., Rushworth MF, Shea N. (2023) Imagining the future self through thought experiments. Trends in Cognitive Sciences. 10.1016/j.tics.2023.01.005
6. Miyamoto K. (2024) Neural circuits for retrospective and prospective introspection for the past, present and future in macaque monkeys and humans. Neuroscience Research. 10.1016/j.neures.2024.02.003
7. Z. Chao, M. Komatsu, M. Matsumoto, K. Iijima, K. Nakagaki, N. Ichinohe, Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder., bioRxiv, 2023, 2023. 11.19.567773, <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
8. Y. Nakagami*, M. Komatsu*, K. Nakae*, M. Otsuka, J. Hata, H. Mizukami, H. Takemori, S. Ishii, H. Okano, A. Watakabe, T. Yamamori, Epileptic responses in marmosets induced by knockdown of CREB Regulated Transcription Coactivator 1 (CRTC1)., bioRxiv, 2023, 2023.09. 22.558929, <https://doi.org/10.1101/2023.09.22.558929>

2-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) AD モデルマーマーモセットの作出と解析

分担研究者 関 和彦
国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 モデル動物開発研究部

【緒言】

I. AD サル開発と表現型評価：げっ歯類で早期発症の実績がある 5x FAD タイプの TG マーマーモセットを作出し、作出されたマーマーモセットの表現型を解析する。II. 霊長類モデルを対象とした新規バイオマーカーの開発：霊長類疾患モデル動物を用いた、国内の有力若手研究者と連携することにより、NCNP 内の研究リソースのみでは不可能であった、上記対象疾患などの新規バイオマーカーを開発する。AD モデルサルは世界的にいくつかの研究期間で開発が行われているがそのラインはまだ樹立されていない。本研究の目的は、世界に先駆けて同モデルを樹立することである。また、本研究で扱う疾患モデルマーマーモセットについて、確実な表現型解析技術は、世界的に見てもまだ存在しない。この点、日本国内の気鋭の霊長類疾患モデル研究者を結集し、疾患モデルの評価方法の開発を共同して進める点に独創性がある。

【目的】

I. 世界初の認知症モデルマーマーモセットが作出され、このモデルサルを有する NCNP や我が国が AD 病態研究において戦略的優位性を確保できる。AD はもともと患者数の多い神経疾患の一つであり、メジャーな認知症であることから、社会的な波及効果も大きい。II. 実験動物としてのマーマーモセットは歴史が浅く、また AD モデルの表現型も予想できないため、多様な視点からの表現型解析手法を開発しておく必要がある。この点、NCNP 内リソースでは限界があるため、所外との共同研究によってこれを実現する。

【方法と結果】

本項目では、研究全体の統括をおこなった。項目 1 では、発生工学的な手法を用いて個体作出を継続するとともに、疾患バイオマーカーの検索を継続した。その結果、イメージング及び脳画像バイオマーカーにおいて、ヒト疾患と共通の疾患反応性を示している可能性が示唆された。また病理解析の準備を継続した。項目 2 では国内若手研究者との連携研究によって、さまざまな角度からの霊長類疾患バイオマーカーの開発を継続して行った。

今後の展望

各プロジェクトは予定通り順調に進行している。次年度も引き続き、予定された研究計画を遂行してゆく。

参考文献

1. Shinji Kubota, Chika Sasaki, Satomi Kikuta, Junichiro Yoshida, Sho Ito, Hiroaki Gomi, Tomomichi Oya, Kazuhiko Seki (2023). Modulation of somatosensory signal transmission in the primate cuneate nucleus during voluntary hand movement. *Cell Reports*, 7 March 2024, <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2024.113884>
2. Saeka Tomatsu, GeeHee Kim, Shinji Kubota & Kazuhiko Seki (2023). Presynaptic gating of monkey proprioceptive signals for proper motor action. *Nature Communications*, 14, Article number: 6537 (2023), 25 October 2023
3. Nanami Kohri, Mitsuo Ota, Hikaru Kousaku, Eiko N. Minakawa, Kazuhiko Seki, Ikuro Tomioka (2023). Optimization of piggyBac transposon-mediated gene transfer method in common marmoset embryos. *PLOS ONE*, June 9, 2023, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0287065>

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) マーモセット自閉症モデルの作出と解析

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

自閉症スペクトラム障害 (ASD) は、社会的コミュニケーションや行動の特異性が特徴の神経発達障害である。この障害の特徴は個人によって大きく異なるが、現在のところ、ASD の効果的な治療法は限られており、その多くは症状の緩和に焦点を当てたものである。ASD の病因や病態は極めて多様であり、その複雑性が治療法開発の大きな障壁となっている。ターゲットを持つ治療法の開発は、このような背景から見ても、極めて重要である。

1993 年に ASD のマウスモデルが初めて作成されて以来、多くの研究がげっ歯類を用いて行われてきたが、これらのモデルは人間の ASD を完全に再現するには至っていない。そのため、異なるアプローチが求められるようになり、マーモセットを用いた研究が注目され始めた。マーモセットは、ヒト自閉症のトランスクリプトームと高い相関を示し、ASD のメジャーなサブタイプを再現している可能性がある (Watanabe et al., 2021, Nat Commun)。一方、げっ歯類モデルではこのような相関が見られないため、バルプロ酸マーモセットは、ヒトの自閉症、特にサブタイプの特性を研究する上で貴重なモデルである。

本研究では、バルプロ酸マーモセットの遺伝子発現をはじめとする多様なバイオマーカーを詳細に調査し、その結果をヒトの対応するデータと比較することで、ASD の病態理解を深め、新たな治療法開発に寄与することを目指す。こうした統合的なアプローチにより、ASD のトランスクリプトーム研究をさらに推進し、効率的かつ実効性のある治療戦略を開発するための基盤を築くことが期待される。

方法

以下の 3 つの課題を本年度は遂行した。

課題 1: 多次元・統合的 omics 解析によるヒト自閉症サブタイプの探索・確立

NIMH から取り寄せたヒト自閉症者の死後脳遺伝子発現データを用いて、クラスタリング法を含むバイオインフォマティクス技術を駆使し、サブタイプの存在を探索した。次に、このサブタイプが独立したデータセットである Zhan et al. (2023: PNAS) によっても成り立つかをテストするために、そのデータセットを解析した。さらに、バルプロ酸マーモセットとヒトサブタイプとの transcriptome 比較を行い、バルプロ酸マーモセットがモデル化しているヒトサブタイプの特定を試みた。また、バルプロ酸曝露ヒト皮質 organoid の transcriptome がどのヒト自閉症サブ

タイプを再現しているかを調査した。最後に、transcriptome が genome 構造と epigenome の影響を受けるため、各サブタイプの個体から採取されたヒストンアセチレーションの結果を解析し、それぞれのサブタイプのエピゲノムの特徴を調べ、バルプロ酸マーモセットのヒストンアセチレーションも調べてヒトのサブタイプと比較した。

課題 2: マーモセットを用いた血液バイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの脳と血液の DNA メチル化解析をおこなった。

課題 3: マーモセットを用いた電気生理・イメージングバイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの local-global task 下の神経活動を ECoG で取得し、予測符号化理論に基づいた解析を行った。

結果・考察

課題 1: 多次元・統合的 omics 解析によるヒト自閉症サブタイプの探索・確立

Parikshak らによる 2016 年の Nature 誌の研究で用いられたヒト自閉症者の死後脳遺伝子発現のオリジナルデータを解析し、バルプロ酸マーモセットと類似のサブタイプの存在を探索した。自閉症において SD の高い遺伝子がばらつきが大きくサブタイプの要因になっていると考え、各遺伝子の SD を解析した。全部の遺伝子を使うとサブタイプへの寄与が低い遺伝子がノイズとなり、サブタイプ化が曖昧になり検出能が低下するためである。結果として、脳の 4 つの主要細胞種 (ニューロン、アストロサイト、ミクログリア、オリゴデンドロサイト) において特異的遺伝子のトップ 50 が一貫して SD が高いことを見いだした。また、各細胞種特異的トップ 50 は細胞種内では相互に相関が高く、他の細胞種とは相関が低いことも見いだした。これはこれらの遺伝子がサブタイプの検知において有用であることを示している。クラスター数予測解析の結果、3 個が適当とされた。実際にクラスター解析を行った結果、3 つのクラスター (G1、G2、G3) に分離された。G1、G2、G3 の各個人は、グループ内部で相関が高く、グループ間では相関が低かった。これは各グループの独立性を支持する。主成分分析の結果、各グループは PC1、PC2 の平面でオーバーラップがなかった。これも各グループの独立性を支持する。また、細胞種特異的遺伝子だけに依存するクラスターではないことを全遺伝子のモジュールを用いた主成分分析によっても確認され、オーバーラップが極めて少ないことが確認された。G1 はミクログリアのアップレギュレーション、オリゴデンドロサイトとニューロンのダウンレギュレーションで特徴づけられ、G2 はアストロサイト、オリゴデンドロサイトのアップレギュレーション、ニューロンの著しいダウンレギュレーションで特徴づけられた。各細胞種の遺伝子発現において、G1 と

G2 は相補的な関係にあった。G3 はオリゴデンドロサイトのダウンレギュレーション以外には、他の細胞種においてコントロールとの差異が見いだしにくかった。G1、G2、G3 には年齢差、性差、死後脳の時間、RNA のクオリティーにおいて差異は見られなかった。G2 の個人はすべててんかんを併発していた。このサブタイプがこのデータセットでだけ成り立つサブタイプではないことをテストするために、Zhan et al. (2023: PNAS) で用いられたデータセットを解析した。G1、G2、G3 の各個人とよりよく相関する個人をそれぞれ G1'、G2'、G3' とした。この新しいグループ内の個人はよく相関し、グループ間での相関は低かった。この新しいデータセットにも 3 つのサブタイプがあることが指示された。G1-G3 の各個人の平均値と G1'-G3' の各個人の平均値間の相関をとると G1: $r = 0.88$, G2: $r = 0.72$ と驚くべき高い相関を示した。各細胞種の遺伝子発現の特徴も G1'-G3' は G1-G3 をそれぞれよく再現していた。主成分分析の結果、PC1、PC2 の平面で G1'-G3' と G1-G3 の各個人の分布はよくオーバーラップしていた。Zhan et al. (2023: PNAS) の結果は、Parikshack et al. (2016: Nature) のデータを全体で平均すると、相互に矛盾があった。特にオリゴデンドロサイト特異的遺伝子の平均値において、逆方向に変化していた。これは、自閉症に関する多くの報告にしばしば見られる、お互いの研究結果が相矛盾するという現象である。我々は Zhan et al. (2023: PNAS) の G1'-G3' の平均値を G1-G3 の平均値と置き換え、G1'-G3' 各個人の数を掛けた線形加算を行うと、2 つの研究の食い違いがなくなるを見いだした。これは、これまで想定されていた、研究間の相違がサブタイプの比率から来ているという仮説を支持する。以上のように、Zhan et al. (2023: PNAS) のデータにおいて、G1-G3 と同様な分離されたサブタイプが存在することが示唆された。

バルプロ酸マーモセットの遺伝子発現は、細胞種特異的遺伝子において G1 と高い相関を示した。この高い相関は全体の遺伝子発現においても確認された。また主成分分析の結果も、G1 の各個人の分布とバルプロ酸マーモセットの各個体の分布がよくオーバーラップすることを見いだした。これはバルプロ酸マーモセットが自閉症の G1 のよいモデルになっていることを示すとともに、G1 が死後脳研究において問題とされる、死後変化という **confounding factor** によるアーティファクトではないことをサポートし、重要である。我々は、バルプロ酸を投与した organoid 研究のデータ (Cui et al. 2020) との G1-G3 との比較を行った結果、G1 と最も近いことを見いだした。この結果とバルプロ酸マーモセットの遺伝子発現が G1 に近づくことから、バルプロ酸の母体投与が G1 の方向へ遺伝子発現の **trajectory** を向けているという可能性を示唆している。G1 との大きな違いは、ニューロン関連遺伝子のアップレギュレーションであ

るが、これは脳の巨大化を示す自閉症の organoid でも見られており、organoid 自体が未成熟で妊娠中期までしか発達できていないことを関連する可能性がある。

さらに G1-G3 の各個体から採取されたヒストンアセチレーションの結果を解析した。G1 の各個人はすべてアセチレーションが亢進しているグループであることがわかった。G3 はアセチレーションに関してよりヘテロであった。バルプロ酸マーモセットは G1 と同様にヒストンアセチレーションが亢進していた。バルプロ酸が HDAC を抑制してアセチル化を亢進させることから、organoid のデータも組み合わせて、ヒストンのアセチレーションと G1 方向への **trajectory** のなんらかの関係があることが示唆された。

これらの結果は、バルプロ酸マーモセットが自閉症サブタイプのモデルとして特定されたはじめてのモデル動物であることを示している。今回のサブタイプは、複数の研究、動物モデル、organoid のデータを用いて包括的に捉えられたもので、自閉症の異なるサブタイプを理解し、診断や治療に役立てるための新しい方向性を提供する。バルプロ酸マーモセットモデルを用いた今後の研究は、自閉症の神経生物学的基盤をさらに深く探求し、治療法の開発に貢献することが期待される。

課題 2: マーモセットを用いた血液バイオマーカーの開発

バルプロ酸マーモセットの脳と血液の DNA メチル化を検討し、脳と血液の DNA メチル化サイトの中で相関が高いものが多数見いだされた。これは血液のメチル化から、脳の状態を予測するバイオマーカーとして用いられる可能性がある。

課題 3: マーモセットを用いた電気生理・イメージングバイオマーカーの開発

自閉症における非典型的な感覚知覚は、予測符号化の異常によるものという仮説がある。この理論は、脳が予測と予測誤差信号の階層的かつ双方向のカスケードによって感覚世界の内部モデルを作成し、ASD においては弱い予測または過度に正確な感覚観察によって非典型的なモデルが確立されると提案している。しかし、これらのメカニズム理論のための神経基盤は未だ不明であり、この解明は自閉症のバイオマーカー開発につながる可能性がある。我々はバルプロ酸マーモセットにおいて、聴覚課題中の ECoG を使用してこれらの理論を検証した。定量的モデルを用いて、階層の 2 つのレベルで予測誤差信号を抽出し、基礎となる感覚感度と予測の強さを評価した。結果は、ASD が感覚過敏と不安定な予測に関連していることを明らかにした。またバルプロ酸マーモセットの個体間において階層間で感覚規則性の過小評価および/または過大評価の多様なパターンが認められ、同様な脳の遺伝子異常があっても、症状の発現には多様性があるという説を支持した。我々の発見は理

論をその神経実装にマッピングし、自閉症のための潜在的なメカニズム的バイオマーカーを提供すると期待される。(Chao et al. 2023: bioRxiv)。

結論

本研究により、バルプロ酸マーモセットがヒト自閉症の G1 サブタイプと極めて似た病態を持っていることを示した。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く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. Chao, Z., Komatsu, M., Matsumoto, M., Iijima, K., Nakagaki, K., Ichinohe, N. Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder. bioRxiv (2023) doi: <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
2. 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.
3. 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.
4. 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

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 認知症モデルマーモセットの生化学および行動表現型評価

皆川栄子

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】

アルツハイマー病 (AD) の患者数は世界で 5500 万人以上と推測されているがいまだ有効な根治療法はなく、さらなる病態解明と治療法開発は喫緊の課題である。

AD をはじめとする神経変性疾患においては、臨床症状の顕在化以前から脳内に様々な変化が起こり、その一部は生前に検出可能である。AD 患者において認知機能低下の顕在化以前 (プレクリニカル期) に AD 病態を検出する生化学的徴候としては脳脊髄液 (CSF) 中の可溶性アミロイド β (A β) タンパク質レベルの低下があり、AD 患者における生化学バイオマーカーとして確立している。またプレクリニカル期に検出する行動徴候としては夜間の睡眠-覚醒パターンの変化 (中途覚醒の増加など) がある。

本分担研究の目的は、小型霊長類であるコモンマーモセットを用いて我々が樹立した遺伝子改変 AD モデル動物の表現型を多角的に解析することにより、ヒト-サルに共通する生化学および行動バイオマーカーを確立し、また、AD モデル系統樹立をめざして、モデルとして妥当性の高い個体を早期に継代することである。これらの表現型の中でも、ヒトのプレクリニカル期に相当する時期に特に注目して解析を進める。

【方法】

生化学的解析については、遺伝子改変 AD モデルマーモセットのうち安全に CSF を採取できる年齢に到達した個体において経時的な CSF 採取を実施した。また対照群として年齢をマッチさせた野生型マーモセットにおいて CSF 採取を実施した。また遺伝子改変 AD モデルマーモセットのうち安全に血漿を採取できる年齢に到達した個体において経時的に血漿を採取した。年齢をマッチさせた野生型マーモセットにおいても血漿を採取した。これらの血漿と CSF を用いて酵素結合免疫吸着測定法 (ELISA) により A β_{40} と A β_{42} を測定して A β_{40} 、A β_{42} 、A $\beta_{42/40}$ 比を計算した。またこれらのうち一部の検体について、量子科学技術研究開発機構の徳田隆彦博士との共同研究として超高感度 ELISA (Simoa 法) による A β 測定を実施した。

行動学的解析については、我々のグループが過去に開発した、赤外線センサーを活用してホームケージでの活動を 24 時間連続モニターできる装置¹⁾を用いて活動量を計測し、睡眠-覚醒パターンの個体ごとの経時的变化を解析した。

【結果】

生化学的解析においては、遺伝子改変モデルマーモセットのうち、野生型マーモセットと比較して、CSF および血漿で A $\beta_{42/40}$ 比が上昇している可能性のある個体や、ヒト AD 患者同様に脳内 A β 蓄積に伴って血漿 A $\beta_{42/40}$ 比の経時的な低下が見られる個体が同定された。行動学的解析においては遺伝子改変マーモセットと野生型マーモセットの間に明らかな差は見出されなかった。

【考察】

本研究では、過去に我々が作出した、発症し進行性の症状を呈する世界初の神経変性疾患モデルマーモセット²⁾における独自の表現型解析の経験にもとづき、これまで我々が作出した早期発症型 AD モデルマーモセットの表現型解析法の開発を早期から戦略的に進めている。今回、ヒトの AD 病態評価にも用いられる種間共通生化学 AD バイオマーカーが陽性である遺伝子改変 AD モデルマーモセット個体を同定し得た。これらの個体は今後も経時的な表現型解析を通じて AD モデルとしての妥当性評価を継続する。

本研究を通じて得られる成果は AD の新規診断法や新規治療法の開発につながるのみならず、国内外で樹立されると見込まれる種々の遺伝子改変 AD モデルマーモセットの病態解析にも資するものと期待される。

【参考文献】

1. Koizumi M., *et al.* Motility Profile of Captive-Bred Marmosets Revealed by a Long-Term In-Cage Monitoring System. *Frontiers in Systems Neuroscience* 15:645308 (2021).
2. Tomioka I., *et al.* Transgenic Monkey Model of the Polyglutamine Diseases Recapitulating Progressive Neurological Symptoms. *eNeuro* 4(2): e0250-16.2017 (2017).

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) PET による AD モデルマーモセットの評価

分担研究者 加藤 孝一
国立精神・神経医療研究センター
神経研究所 ラジオアイソトープ管理室

緒言

霊長類の遺伝子改変モデルはヒトの疾患を理解し、その治療法を開発する上で非常に重要である。本研究では遺伝子を改変して産出された認知症 (AD) モデルマーモセットの脳内に生じている変化を PET により画像化し、動物の病態を評価することを目的とする。アミロイド B が脳内に蓄積することにより生じるアミロイドプラーク、およびプラークの周りで誘導される活性化ミクログリアで高発現する TSPO を撮像する。また遺伝子の改変によりリン酸化タウタンパクの蓄積も病変として生じる可能性が考えられるため、タウ PET の撮像も行う。

方法

作出した AD モデルマーモセットの妥当性を PET の画像により評価する。用いる PET トレーサーは、アミロイドプラークに対して Chi らにより開発された FC-119S、TSPO に対して QST の張博士らにより開発された DAC、タウタンパクに対して QST の樋口博士らにより開発された PM-PBB3 を選択した。マーモセットは 12 か月齢から撮像することとし、以後継続的に 12 か月間隔で撮像を行う。

結果

本研究で用いるトレーサーの中で PM-PBB3 は動物画像解析施設で合成実績のないものであった。PM-PBB3 は光感受性が高い化学構造をしており、UV 領域の光を吸収することによりジエン構造が異性化する特徴がある。そこで、QST および NCNP 病院での合成プロトコルを基に動物画像解析施設においても UV カットの蛍光灯および懐中電灯を用いた状況下でトレーサー合成、分注、および投与する環境を整えた。これらの結果、PM-PBB3 のジエン構造の異性化は生じないことを確認した。

今年度は 24 か月齢の F0 個体 7 頭に対して FC-119S、DAC、PM-PBB3 の撮像を行った。これらの個体は本研究計画開始以前に 12 か月齢での撮像を行っている。PET を撮像した個体の内、3 頭の個体については解析を終えている。海馬における FC-119S の集積の上昇を認める結果が得られた。現在もさらに、その発現量が高い個体からはより高い集積を示す脳画像が得られた。また DAC については小脳に高い集積が認められ、PM-PBB3 は 1 頭において集積の上昇が認められた。

考察

FC-119S の PET 画像において脳内への集積に上昇が認められたことは、本モデルマーモセットの脳内にアミロイドプラークが形成している可能性を示唆する結果であり、AD モデルとしての妥当性を評価する際の指標となり得る。また PM-PBB3 の集積の上昇が認められた個体が 1 頭得られたことは、遺伝子可変モデルマーモセットの有用性を示すものと言える。すなわち、本モデルはアミロイド B の蓄積を促進する遺伝子改変動物であるが、遺伝子の発現における種々の相互作用から AD のもう一つの特徴とされるタウ病理が生じた結果と考えられる。

結論

今回得られた PET の結果は本研究で産出した AD モデルマーモセットが有用な動物モデルである可能性を示唆するものと言える。今後残る 4 個体の撮像結果の解析の結果を待つとともに、新しく次年度 12 か月齢になる F1 個体の撮像、および現個体の 36 か月齢での撮像を行っていき、さらなるモデルの評価に努める。

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 霊長類モデル動物を用いたトランスクリプトーム解析とトランスレータブル指標の開発

分担研究者 郷 康広
(所属) 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が指摘されている。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難しい現状にある。そこで本研究では、ヒトに近縁で、高度な社会性・認知機能をもつマーモセットを対象とし、ヒト自閉症スペクトラム症の分子基盤解明およびトランスレータブル分子マーカーの開発を行うことを目的とした。国立精神・神経医療研究センター・微細構造研究部の一戸研究室においては、世界に先駆けてバルプロ酸曝露マーモセットの作出に成功しており、作出されたマーモセットは自閉症様行動を示すことが明らかになっている。また、自閉症スペクトラム症の一つの中間表現型と考えられるシナプスの刈り込み不全によるシナプス形成異常がバルプロ酸曝露マーモセットでは観察されており、マウスではこのシナプス形成異常は観察されないため、その点においても本研究で用いるマーモセットの有用性は非常に高いものと考えられる。本研究では、それらの利点を最大限に活かし、薬理的に作出された自閉症様マーモセット脳における遺伝子発現およびエピジェネティクス動態の変化を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モセット (VPA 個体) の脳を用いたシングル細胞核遺伝子発現解析 (single-nucleus RNA-seq) を行った。定型発達群 (バルプロ酸非曝露マーモセット: UE 個体) との比較解析により、霊長類疾患モデルとしてのマーモセット脳内における遺伝子動態を単一細胞レベルで明らかにし、ヒト自閉症スペクトラム症を含む発達障害の治療法の基盤となるトランスレータブル分子マーカーの開発を行った。

バルプロ酸を母体投与した3ヶ月齢のマーモセット脳の眼窩前頭前野 (area12) と前部帯状皮質 (area24)、および成体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モセット (以後、VPA マーモセット) と定型発達・バルプロ酸非曝露マーモセット (以後、UE マーモセット) を比較対象とし、最もシナプス形成が盛んな3ヶ月齢のマーモセット5個体 (UE: 2個体、VPA: 3個体) の2脳領域 (内側前頭前野、前帯状皮質)、成体マーモセット8個体 (UE: 4個体、VPA: 4個体) の2脳領域 (前頭眼野、側頭葉) を用いたシングル細胞核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) の細胞核から平均 4,352 遺伝子 (2,385~5,648 遺伝子) の遺伝子発現データを取得した。取得したデータをもとに、UMAP 法による次元圧縮・グラフ理論に基づいたクラスタリング法による細胞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した。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明らかにすることができた。同定した細胞タイプごとに、VPA マーモセットと UE マーモセットの発現比較を行った結果、VPA マーモセットにおける興奮性ニューロンでは発現低下が認められた。逆に、抑制性ニューロンとアストロサイト、オリゴデンドロサイト、オリゴデンドロサイト前駆細胞、ミクログリアなどのグリア細胞において多くの遺伝子に発現亢進が認められた。自閉症スペクトラム患者における神経生理学的な特徴の一つである興奮性活動と抑制性活動の不均衡が、遺伝子発現動態においても類似の現象として認められた。

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

胎生期バルプロ酸曝露による自閉症マーモセットモデルと定型発達マーモセットの複数脳領域におけるシングル細胞核遺伝子発現比較解析を行ったところ、各細胞タイプにおいて数十から数百の有意な遺伝子発現の差を示す遺伝子を同定した。これらの遺伝子群は、遺伝子オントロジー、生物学的パスウェイ解析から自閉症スペクトラムを含む多くの精神疾患との関連が示されているため、今回の作出されたマーモセットモデルは、自閉症スペクトラム症の有力なモデル動物となる可能性を示している。

今後は、異なる発達段階におけるシングル細胞核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、カリフォルニア州立大学ロサンゼルス校の Geschwind 博士のグループがプレプリントとして発表したヒト自閉症死後脳のシングル細胞核発現解析結果 (Wamsley et al. 2023 *bioRxiv*) を用いた種間解析・データ統合解析を進め、バルプロ酸投与マーモ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、精緻な層別化を行う。

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モセットの発達に応じた脳内遺伝子発現変動を明らかにし、その分子基盤とトランスレータブル指標の開発を目的とした。定型発達個体群とバルプロ酸暴露個体群との発現変動を示す遺伝子がシングルセルレベルで同定することが可能となった。その多くがシナプス機能と関連し、また自閉症スペクトラム症との関連が示唆される遺伝子であったことは特筆すべき点である。これらの研究結果から、今回作出された自閉症様マーモセット個体群は自閉スペクトラム様のモデルとなり、精度の高いトランスレータブル分子マーカーの開発につながる可能性を示すことができた。

参考文献

Wamsley B, Bicks L, Cheng Y, Kawaguchi R, Quintero D, Grundman J, Liu J, Xiao S, Hawken N, Margolis M, Mazariegos S, Geschwind DH. (2023) Molecular cascades and cell-type specific signatures in ASD revealed by single cell genomics. *bioRxiv* 2023.03.10.530869. doi: 10.1101/2023.03.10.530869.

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 自律神経機能を指標とした病態評価

分担研究者 國松 淳
(所属) (筑波大学)

緒言

うつ病や不安症（パニック症）といった精神疾患では、顕著に呼吸の頻度が変化することが報告されている。呼吸は進化的にもっとも古くからある原始的な神経系の機能の一つであり、その制御は心と身体に様々な影響を与えていると考えられている。たとえば、ヨガでは独特な呼吸法によってストレスを解消することができることは、呼吸が情動機能の制御に関与している可能性を示唆しており、上記の精神疾患においても呼吸制御の異常が情動障害の一因となっているのかもしれない。そこで本研究では、随意呼吸の制御機構を調べ、情動の情報処理に与える影響を明らかにする。

方法

本研究では、アカゲザル（メス、7.0 kg）を用いた。サルの飼育管理及び以下に記載する実験手技は筑波大学動物実験委員会に事前に承認を得て、文科省バイオリソースプロジェクト「ニホンザル」のプロトコールを遵守して実験を行なった。

行動課題として、視覚的な手がかりの呈示後、早いタイミング（100 - 1500 ms）、遅いタイミング（1500 - 4000 ms）、または任意のタイミングで呼吸を行うと報酬が得られる課題を用いた。

結果

行動データを解析したところ、サルは与えられた指示に従って呼吸タイミングを変化させていることが明らかになった。サルが上記の行動課題を行っている際に、補足運動野（SMA）と前補助運動野（pre-SMA）から単一ニューロンの活動を記録した。両領域から記録した 244 個のニューロンのうち、69 個（28%）が、手がかりの呈示後および吸気開始前に活動の上昇を示した。特に、呼吸運動に関連するニューロンの多くは SMA から記録され、手掛かり刺激に関連するニューロンの多くは pre-SMA から記録されていた。

考察

本研究では新たに考案した行動課題によってサルに指示したタイミングで随意的に呼吸を行わせることに成功した。また、神経活動記録の結果は、SMA が自発的な呼吸の生成に寄与し、pre-SMA がルールや運動計画を表していることを示唆している。この機能分離は、身体運動の随意制御に焦点を当てた先行研究（Matsuzaka et al., 1992）と一致している。これまで、随意的な身体運動が感覚認知を変化され

ることが報告されており、随意呼吸も同様の神経機構で感覚情報処理に影響を与えている可能性がある。

結論

随意的な呼吸と身体運動は、少なくとも前頭葉皮質では共通のメカニズムで制御されていると考えられる。

参考文献

Matsuzaka Y., Aizawa H., and Tanji J.(1992) A motor area rostral to the supplementary motor area (presupplementary motor area) in the monkey: neuronal activity during a learned motor task. *J Neurophysiol* 68(3):653-62.

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 感覚フィードバック応答計測による前頭-頭頂障害の評価

武井智彦
(玉川大学脳科学研究所)

緒言

脳損傷による運動障害は脳卒中や外傷性脳損傷などによって引き起こされ、患者の生活の質を大きく低下させる重大な問題である。従来、運動障害のリハビリテーションは、評価紙などによる評価が行われてきたが、個人の経験に依存する部分が多くまた効果にも患者ごとの大きな個人差があり、より客観的な障害機能、予後の予測、リハビリテーション効果の評価法の確立が求められている。

関節にトルク外乱を与えて筋肉の伸張反射応答を測定する手法は、主に末梢神経障害や筋障害などの評価に用いられている。しかし、伸張反射応答の中の特に長潜時成分 (long-latency response, LLR, 刺激後 50~100 ミリ秒) は、運動中の文脈や行動目標、意思決定、注意など、高次機能を反映して応答の大きさ (ゲイン) が変化することが知られている¹。また近年、霊長類を用いた神経活動記録や不活性化の研究から、長潜時応答のゲイン調整に、運動前野や後頭頂葉を含む広範な前頭-頭頂ネットワークが関わることを示されてきた^{1,2}。そのため、長潜時応答の計測によって、前頭葉および頭頂葉の機能障害をより客観的に評価可能になる可能性が考えられる。

そこで、本研究では 1) 前頭-頭頂皮質の広範囲神経活動記録により長潜時応答の調整に関わる神経メカニズムを明らかにし、さらに 2) 前頭-頭頂皮質の機能脱落を起こした動物モデルを用いて感覚フィードバック応答を計測することで、前頭-頭頂機能障害を客観的に評価する方法を確立することを目標とする。特に本年度は、感覚フィードバック応答計測による前頭-頭頂障害の機能評価法の確立を目指し、上肢の運動課題を訓練したサルに対して、前頭-頭頂皮質をターゲットとした硬膜下皮質電極 (ECoG 電極) の埋め込みを行い、上肢到達運動中に感覚入力 (トルク外乱) を与えた際の前頭-頭頂皮質の電位応答を慢性的に記録する方法の確立を目指した。

方法

まず実験対象として、ヒトと類似した上肢の巧緻機能、身体構造、中枢神経系構造を持つマカクザルを選んだ。マカクザルの広範な大脳皮質の前頭-頭頂皮質 (大脳皮質運動前野、一次運動野、一次体性感覚野、頭頂葉 5 野) をカバーするような多チャンネル (32ch) 皮質電位記録電極 (electro-corticogram, ECoG 電極) をカスタムデザインし、専門業者 (ユニークメディカル社) に作成を依頼した。マカクザル 2 頭を対象として外科的手術を行い、作成した ECoG 電極の硬膜下

慢性埋込み手術を行った。肩と肘の運動に関わる筋群 (16 筋) の活動は、慢性的に皮下に埋め込んだワイヤー電極により、網羅的にした。さらに上肢の運動計測およびトルク外乱を適用するためサルに外骨格型ロボット (NHP KINARM Exoskeleton Lab) を装着し、視覚情報および体性感覚情報に応じた運動課題を行わせた。運動課題としては、文脈 (行動目標) に依存した長潜時応答のゲイン調整メカニズムを調べるため、同一の感覚入力 (トルク外乱) に対して行動目標 (ターゲット位置) に依存して異なる運動応答を行う必要がある運動課題 (行動目標依存的なフィードバック運動課題) をサルに行わせた。

結果

上記外科的手術及び運動課題トレーニングを行うことで、マカクザル 2 頭において、(1) 広範な前頭-頭頂皮質活動の記録、(2) 網羅的な筋活動の記録、(3) 外骨格型ロボットによる詳細な運動計測を同時に行えるセットアップを確立することに成功した。さらに、行動目標依存的なフィードバック運動課題中のサル上肢筋活動を解析したところ、ターゲット (行動目標) に依存して伸張反射応答の変化が長潜時応答成分から見られることがわかった。さらに、課題中の前頭-頭頂皮質 (背側運動前野、一次運動野、一次体性感覚野、頭頂葉 5 野) の ECoG 信号に対して時間周波数解析を行ったところ、ターゲット提示からトルク外乱が与えられる準備期間中に、ターゲット位置に応じた β 帯域 (15-35Hz) パワーの変化が特に背側運動前野に顕著に認められた。この結果は、行動目標に依存した長潜時応答の予測的調整において、背側運動前野の β 帯域同期が重要な役割を果たしていることを示唆している。

考察

申請者の先行研究において、フィードバック運動課題中に行っているサルの背側運動前野を局所冷却法によって不活性化すると、長潜時応答が減少することを見出した²。しかしこの結果だけでは、背側運動前野が「感覚入力に対するフィードバック応答を作り出す機能」自体を担っていたのか、それとも「フ

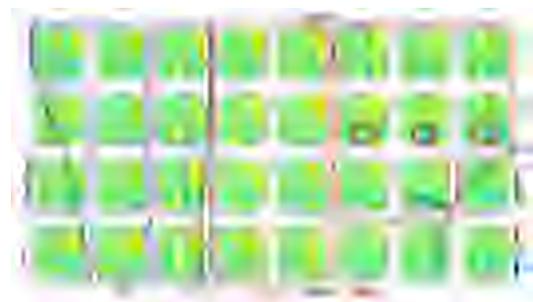


図 1. 行動目標に依存したフィードバック運動課題中の背側運動前野の β 帯域パワーの変化。PMd:背側運動前野、M1:一次運動野、S1:一次体性感覚野、A5:頭頂葉 5 野

ィードバック応答のゲインを状況に応じて適切に調節する機能」を担っていたのかを分離することが不可能であった。本研究の結果から、背側運動前野でのβ帯域同期が、行動の目標に応じたフィードバック応答のゲインの調節を担っていることが示唆された。

外部の状況に応じて適切な運動を行う機能の障害としては、観念失行において見られる。観念失行では、運動麻痺はなく、道具の理解はできるにも関わらず、適切な方法で道具を使うことができない。古典的には観念失行の病巣は左の頭頂葉が考えられてきた^{3,4}。しかし近年、観念運動失行における前頭葉や前頭前野の関連を示唆する意見もあり、より詳細な神経基盤の解明が求められている⁵。今後、霊長類を用いた機能損傷モデルを用いることで、前頭-頭頂ネットワークの機能分担を明らかにし、感覚フィードバック応答を用いた客観的な評価法の確立につながることを期待される。

結論

本研究では感覚フィードバック応答を計測による前頭-頭頂機能障害の客観的評価方法の確立を目標とした。本年度は上肢の運動課題中のサルの前頭-頭頂皮質の ECoG 応答の記録の確立を行い、着実に研究を推進した。今後、大脳皮質の神経活動阻害におけるフィードバック応答の変化を評価していくことで、前頭-頭頂機能障害の客観的評価法の確立へとつながると期待される。

参考文献

1. Scott, S. H., Cluff, T., Lowrey, C. R. & Takei, T. Feedback control during voluntary motor actions. *Curr. Opin. Neurobiol.* **33**, 85–94 (2015).
2. Takei, T., Lomber, S. G., Cook, D. J. & Scott, S. H. Transient deactivation of dorsal premotor cortex or parietal area 5 impairs feedback control of the limb in macaques. *Curr. Biol.* **31**, 1476–1487.e5 (2021).
3. Goldenberg, G. Apraxia and Beyond: Life and Work of Hugo Liepmann. *Cortex* **39**, 509–524 (2003).
4. Bartolo, A. & Osiurak, F. One century after Liepmann's work on apraxia: Where do we go now? *Cortex* **154**, 333–339 (2022).
5. 丹治 順. 頭頂連合野と運動前野はなにをしているのか? 理学療法学 **40**, 641–648 (2013).

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) マカクサルを用いた強迫性障害の神経メカニズムの解明

分担研究者 宮本健太郎
(所属) (理化学研究所)

緒言

本分担研究では内省(メタ認知)の能力を有し、解剖学的に前頭極が存在するマカクザルを用いて、自分の意に反し望ましくない思考や行動を反復してしまう強迫性障害(OCD)の実験動物モデルを確立することを目標とする。更に、確立した実験系から得られるデータに基づいて、内省と強迫行為・強迫観念が乖離するOCDの病態を計量精神医学的にモデル化し、脳においてメタ認知のセルフモニタリングとセルフコントロールの能力が生じるメカニズムを解明して、究極的には意識を対象とした認知神経科学にリバーストランスレーションすることを目指す。

方法

強迫行為に類似したOCD様行動と、内省の状態を同時に計測する課題「メタ認知—確認行動測定課題」を開発し、2頭のマカクサルを訓練して、課題のルールを習得させる。同時に、ヒト健常被験者に対して、マカクと課題を課し、行動と脳活動を調べるfMRI実験を行い、内省を確認行動に変換するための責任神経基盤を同定する。ヒトで同定した責任領域のマカク相同領域の活動を経頭蓋超音波刺激法を用いて可逆的に抑制し、行動成績への影響を測定することで、内省の行動への変換に関わる因果的な神経基盤を同定する。

結果

マカクの訓練は順調に進捗した。2頭ともにランダムドットモーションを使った課題のルールを習得した。ヒトのfMRI実験の結果、前帯状皮質や外側前頭葉などが、メタ認知に基づいたモニタリング、およびそのモニタリングに基づいて、確認行為を行うかどうか意思決定する時に関与することが明らかになった。

考察

ヒトにおいて、内省に基づいて最適なタイミングで確認行為を行うために重要な神経基盤として同定した外側前頭葉領域は、特にヒトで進化的によく発達した領域である(Miyamoto et al., 2023, 2024)。マカ

クの訓練が完了したら、そのマカクでの相同領域の活動を抑制し、行動への影響を検証する計画を立てている。その比較を通じて、進化的な側面からも、OCDと内省の関係が明らかになることが期待される。

結論

ヒトの前帯状皮質や外側前頭葉などが、メタ認知に基づいたモニタリング、およびそのモニタリングに基づいて、確認行為を行うかどうかの意思決定に関与する。

参考文献

1. [Miyamoto K., Rushworth MF, Shea N. \(2023\) Imagining the future self through thought experiments. Trends in Cognitive Sciences. 10.1016/j.tics.2023.01.005](#)
2. [Miyamoto K. \(2024\) Neural circuits for retrospective and prospective introspection for the past, present and future in macaque monkeys and humans. Neuroscience Research. 10.1016/j.neures.2024.02.003](#)

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 広域皮質脳波を用いた疾患バイオマーカーの開発

分担研究者 小松三佐子
(所属) 東京工業大学

緒言

脳は時々刻々と変化する外界の状況に対し予測的に適応している。自閉症や統合失調症ではそれらの認知機能の障害が報告されているが、関連する神経機構の詳細については明らかにされていない。本分担課題では、脳に溝が少なく大脳皮質の領域が表面に露出した小型の霊長類、マーモセットをモデル動物として、行動観察および皮質全域に皮質脳波電極を埋設・慢性記録を行う方法を用いて、大脳皮質における予測符号化の神経メカニズムに迫る。この研究は、予測符号化を実現する神経回路メカニズム解明への道を開き、当該機能に障害があると考えられている自閉症や統合失調症の病態生理の解明、さらにはヒト・サル共通の疾患バイオマーカーや治療手法の開発に続く入口となると考えられる。

方法

本分担課題は、1) 広域皮質脳波を用いたヒト・サル共通バイオマーカーの開発および2) マーモセット用行動観察システムの開発の2項目からなる。1) 広域皮質脳波を用いたヒト・サル共通バイオマーカーの開発では、既に取得済みの健常マーモセットおよび疾患モデルマーモセットの広域皮質脳波の比較を行い、脳機能の異常が検出可能かを検証した。健常・ASDモデルマーモセットの比較に使用するデータは、NCNP 微細構造研究部および理化学研究所 CBS において健常マーモセット 3 個体および母体へのバルプロ酸投与により作出された ASD モデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し、聴覚予測機能が関わるとされる Local-Global Paradigm と呼ばれる音刺激提示中の神経活動の計測を実施したものをを用いた。さらに、理化学研究所 CBS において遺伝子ノックダウンにより作出されたてんかんモデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し安静時皮質脳波を 2 か月および 5 か月縦断的計測したデータについて縦断的解析を行った。2) マーモセット用行動観察システムの開発では疾患モデル動物の行動異常を見出すためのホームケージでの行動観察系の開発を行う。

結果

NCNP 微細構造研究部および理化学研究所 CBS において健常マーモセット 3 個体および母体へのバルプロ酸投与により作出された ASD モデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し、聴覚予測機能が関わるとされる Local-Global Paradigm と呼

ばれる音刺激提示中の神経活動の計測を実施したものをを用い、聴覚予測時の皮質脳波に健常群とモデル動物群で差がみられるかを検証した。東京大学 IRCN Chao 博士の主導で行われたモデルベース解析の結果、神経活動から推定される聴覚予測符号化モデルのパラメータ値は健常マーモセットの 3 個体で同様の値をとったのに対し、ASD モデルマーモセットの予測符号化のパラメータ値は健常マーモセットから推定された値とは有意に異なった。また、ASD モデルマーモセットのパラメータ値の分散はモデル動物間で非常に大きかった。この結果は ASD モデルマーモセットの予測符号化の様式は健常マーモセットとは異なる事、ASD モデルマーモセット間でも予測符号化の様式が異なる事が示唆された。これらは、聴覚予測符号化に関わる広域皮質脳波を用いたモデルベース解析が ASD のさまざまなサブタイプに特異的な神経マーカーの同定に貢献する可能性を示唆している。これらの成果は preprint として公開(業績 2)するとともに論文誌への投稿を行った。

また、理化学研究所 CBS において 1 次視覚野の遺伝子ノックダウンにより作出されたてんかんモデルマーモセット 2 個体に広域皮質脳波電極を埋設し安静時皮質脳波を 2 か月および 5 か月縦断的計測したデータについて縦断的解析を行った。その結果、遺伝子導入初期は 1 次視覚野を起始として生じた皮質広域のてんかん様脳波が約 2 月後には側頭葉を起始としたてんかん様脳波に遷移することが分かった。また、皮質広域の安静時機能ネットワークがノックダウン後定常状態から逸脱するが 2 か月程度で定常状態に収束することを明らかにした。これらの成果について preprint として公開(業績 3)するとともに論文誌への投稿を行った。

さらに、自由行動下マーモセットを用いた疾患バイオマーカー開発に向け、自由行動下マーモセットからの神経活動計測・解析を実施し、マルチモーダルデコーディングには皮質高次連合野の寄与が大きいことを見出し査読付き国際会議にて口頭発表を行い(業績 1)論文投稿を行った。

考察

すでに取得済みの健常マーモセットおよび疾患モデルマーモセットのデータを用いて疾患バイオマーカーの検出を試みた。ASD モデルマーモセットについては計算論的モデルベース解析を実施し、それぞれ健常マーモセットに対する逸脱を明らかにした。また、てんかんモデルマーモセットについては縦断的解析を実施し定常状態からの逸脱を明らかにした。このことは、広域皮質脳波が、その広域性および長期計測可能性から、様々な疾患モデルマーモセットの脳機能異常を検出するための有効なツールである可能性を示している。

一方で疾患モデルマーモセットの脳機能異常は個体間の分散が大きいことが ASD モデル・てんかんモ

デルに共通してみられており、疾患モデルを用いた疾患バイオマーカーの開発にはサンプリングサイズを多くとる必要性が確認された。広域皮質脳波電極はその広域性からデータ駆動での異常検出が可能であり、疾患モデル動物において十分なサンプリングサイズが実現できれば、精神・神経疾患の様々なサブタイプに特異的な神経マーカーの同定に貢献する可能性がある。

結論

本年度は、すでに取得済みの健常マーマセットおよび疾患モデルマーマセットのデータを用いて、ASDモデルマーマセットについては計算論的モデルベース解析、てんかんモデルマーマセットについては縦断的機能ネットワーク解析を実施し、それぞれ健常マーマセットに対する逸脱を明らかにした。このことは、広域皮質脳波が、その広域性および長期計測可能性から、様々な疾患モデルマーマセットの脳機能異常を検出するための有効なツールである可能性を示している。

参考文献

1. M. Komatsu, M. Sato, A. Yoshida, J. Tsunada, S. Sasai, The whole-cortical ECoG reveals association cortices contribute multimodal intentional decoding., Proceedings of the 10th International Brain-Computer Interface Meeting 2023, 108, 2023.
2. Z. Chao, M. Komatsu, M. Matsumoto, K. Iijima, K. Nakagaki, N. Ichinohe, Diverse Configurations of Erroneous Predictive Coding Across Brain Hierarchies in a Non-Human Primate Model of Autism Spectrum Disorder., bioRxiv, 2023, 2023. 11.19.567773, <https://doi.org/10.1101/2023.11.19.567773>.
3. Y. Nakagami*, M. Komatsu*, K. Nakae*, M. Otsuka, J. Hata, H. Mizukami, H. Takemori, S. Ishii, H. Okano, A. Watakabe, T. Yamamori, Epileptic responses in marmosets induced by knockdown of CREB Regulated Transcription Coactivator 1 (CRTC1)., bioRxiv, 2023, 2023.09. 22.558929, <https://doi.org/10.1101/2023.09.22.558929>

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 疾患マーモセットのバイオマーカー創出に向けた大規模神経活動記録・解析法の開発

分担研究者 梅田達也
(所属) 京都大学大学院医学研究科

緒言

超高磁場 MRI (Magnetic Resonance Imaging) システムにより大脳皮質の活動を層別に計測する皮質層別機能的 MRI (皮質層別 fMRI) が実現し、大脳皮質の多領域のネットワークを皮質層レベルで解析できるようになり、ヒト脳機能の理解が促進されると期待される。しかし、現在の fMRI 技術の限界として、血液動態変化である fMRI 信号から領域内と領域間の神経伝達信号の入出力まで分析することができない。本研究では、小型霊長類 (マーモセット) の神経生理学的データを基に、皮質層別 fMRI データから領域内外の皮質層レベルでの情報伝達を推定する数理モデルを開発し、マクロスケール (脳全体) の活動データからメソスケール (領野における神経回路) の精度で情報伝達ネットワークを算出する大規模神経活動記録・解析法を開発する。この新しい計測方法は、脳機能の神経基盤の解明を大きく進めるとともに、精神・神経疾患の病態解明にも大きく貢献することが期待される。

方法

本研究では、体重 350-360g のオスのコモンマーモセット 1 頭を用いた。7T/ボア径 20cm の Bruker-Biospin 製マグネットを使用し、内径 70mm のサドルコイルを送信コイルとして採用した。また、マーモセットの頭部周囲に配置した 1 つのループコイルを用いて MR 信号を収集した。デクスメデトミジン (投与量 5 μ g/kg/hr) を持続的に静脈内注入し、0.5%イソフルラン気化麻酔を行った。さらに、30nm の超小型超常磁性酸化鉄 (USPIO) 粒子 (Molday ION) を静脈注入し、脳血液量 (CBV) 強調 fMRI データをグラジエントエコー・エコープラナー・イメージングシーケンスで取得した。撮影条件は以下の通り：視野 (FOV) は 42 \times 34mm²、マトリックスサイズは 72 \times 34、スライス厚は 1mm、空間分解能は 0.36 \times 0.36 \times 1.0mm³、帯域幅は 3472.22kHz、エコータイム (TE) は 9.9ms、リピートタイム (TR) は 2000ms、フリップ角は 60 度。実験は 30 秒オン・30 秒オフのブロックデザインで行い、マーモセットの右手にエアパフ刺激を与えた。

結果

まず、BOLD 変化よりも灰白質における CBV 信号変化が最も大きいのは大血管領域であることを確認した。次に、右手の触覚刺激により、マーモセットの脳では左視床、S1 (area 3b、1/2)、両側 S2 が活性

化されることを見出した。マーモセットアトラスに基づいて area 3b、1/2、S2 の ROI を決定し、各 ROI の層別マスクを作成した。area 3b の上層や深層よりも中層に、手に対応する明らかな活性化が見られた。一方、領域 1/2 と S2 には明確な中層活動のピークは見られなかった。

考察

皮質層別活動を全脳における記録はヒトでは脳の大きさから不可能であり、非ヒト霊長類でも世界で初めての成果である。当初、聴覚野応答が計測されたが、コントロールとして空刺激の条件を用いることで検出されなくなった。

結論

本研究では、マーモセットの脳における複数の皮質領域及び皮質下構造にわたる層特異的な体性感覚処理を明らかにするため、USPIO イメージング剤を用いて、7T MRI とそれに合わせて設計した送受信コイルセットを使用した。この装置は、層特異的 fMRI で BOLD イメージングに比べて高い信号感度と空間特異性を実現するのに理想的である。本研究により、マーモセットの全脳における層特異的な触覚刺激関連反応を記録することに成功した。このアプローチは、双方向の階層的体性感覚処理の理解を深める新たな方法として期待できる。

参考文献

なし

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 脳多様性が導く柔軟な意思決定の神経基盤とその障害の定量化

分担研究者 佐々木亮
(所属) 国立大学法人京都大学
大学院医学研究科 神経生物学分野

緒言

脳神経の多様性が導く柔軟な意思決定の脳神経基盤はいまだ謎に包まれている。そこで本研究では、報酬を獲得する際の戦略性を個における多様性の一つと定義し、この多様性を導くニューラルネットワークのダイナミクスを解明する。また、これらの意思決定に関わる脳機構における変異が導く障害の定量化を試みる。

方法

限りなくヒトに近い脳を有する実験動物であるマカクサルを用い、本年度は、①研究計画の立案と実験機器導入およびヴァーチャルリアリティ(VR)環境の設計、②探索課題を用いた多様な行動戦略の開発と定量化を試みた。

結果

サルが、VR環境において採餌行動を探索課題として実施できるよう設計し、訓練した。

具体的には、サルがモーションプラットフォームに座し、スクリーンに提示されるVR空間において様々なパターンで動き回る物体を、ジョイスティック操作により探索する訓練を行い、動物が選択する生存戦略を駆動する際の神経回路機構を、経済学や生態学において用いられる限界効用理論と最適採餌理論を軸とした解析を試みた。その上で、報酬量とコスト、意思決定因子の柔軟な有機的統合処理に基づく種特有の行動戦略を定量化した。また、光遺伝学手法を用いて、サルの意思決定を操作することに成功した(Sasaki et al., *Science* 2024)。

考察

多様性(Diversity)は、近年ますます重要視されており、その理解と応用は、あらゆる学問分野において世界規模で注目されている。とりわけ、環境(社会、自然、生態系)が急速に変化する現代において、人類を含めた動物が、その変化に柔軟に適応し生存するためには、多様性を駆動した戦略的意思決定が求められる。しかし、なぜどのようにこの認知多様性が生まれるかについての科学的な説明は、未だなされていない。

本研究において着目しているように、巨大脳を有するマカクサルの脳深部も含めた、複数脳領野における多数神経活動のデコーディング解析による計算論的理解を深めることなどを含め、多様性を発生さ

せるニューラルネットワークを解明するための新たな手法が確立すれば、巨大脳における全脳ネットワークの可視化を一気に加速できる。本研究の独創性かつ先駆性はこの点にある。

結論

今後は、サルの課題遂行中の意思決定様式を脳多領域かつ多細胞記録から表象し、その細胞群活動について、計算論的手法を用いたデコーディング解析を用いて検証する。これにより、サルの意思を再構成することで、意思の多様性を創発する脳機構を解明するとともに、その障害の定量化を試みる。

また、視覚座標、外界座標、運動座標の脳統合処理を一連の行動として検討できるようにするため、サルに行動課題の訓練と、予備データの獲得も進めていく。さらに、課題遂行中のサルからニューロン活動を記録する。その上で本実験を開始し、サルの自由行動様式を、経済学や生態学において用いられる限界効用理論と最適採餌理論を軸として解析する。

「脳や神経、それに由来する個人レベルでの様々な特性の違い」を定量化することで、未だあいまいに定義されている個の行動様式としての多様性について明示することが可能となる。さらに、その多様性を生み出す脳基盤を解明することで、多様性の創発及び意思決定障害の治療戦略を導くことが将来的な成果として期待できる。

研究成果

R. Sasaki *et al.*, *Science*. **383**. 55-61 (2024)

5-8「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 遺伝子導入サルを用いた「前頭葉-基底核」連関の機能解析と行動指標開発

分担研究者 網田 英敏
(所属) 京都大学ヒト行動進化研究センター

緒言

これまで大脳基底核の線条体は、哺乳類で共通の構造と機能を有すると考えられてきたが、近年、線条体において霊長類特有の細胞種や神経路の存在が報告されている (Balsters et al. 2020; Krienen et al. 2020)。このことは、霊長類特有の「前頭葉-線条体」ネットワークによって高次認知機能が実現している可能性を示唆する。この神経基盤を明らかにするため、線条体に投射する前頭葉ニューロンを調べた。

方法

MRI ガイドナビゲーションシステムを用いて、マルチカラー逆行性ウイルスベクター (AAV2.retro) を 2 頭のマカクザル尾状核頭部および被殻前部にそれぞれ注入し、神経終末から蛍光タンパク質の遺伝子を取り込んだ神経細胞を標識させた。注入 1 か月後に脳を取り出して脳切片を作成し、Nissl 染色、DAB 染色、抗体染色を実施した。Neurolucida を用いて標識された細胞の分布をプロットした。

結果

解析の結果、尾状核頭部と被殻前部に投射する前頭葉領域にはオーバーラップが見られた。一方で、いくつかの脳領域では尾状核頭部と被殻前部に投射するニューロンの割合に違いが見つかった。腹側前頭前野には尾状核頭部への投射ニューロンが数多く分布していた。対して、背側前頭前野および島皮質には被殻前部に投射するニューロンが数多く分布していた。

考察

これまでの生理学的研究から、尾状核頭部は視覚的注意に関与しており、被殻前部は味覚や体性感覚の処理に関与していることが示唆されている。この機能的な違いは、上記の前頭葉からの投射様式の違いによって説明できるかもしれない。すなわち、腹側前頭前野は注意喚起を呼び起こす信号を尾状核頭部に送り、一方で背側前頭前野および島皮質は接触感覚の信号を被殻前部に送っていると考えられる。

結論

本研究によって、同一個体内で複数の前頭葉-線条体ネットワークの投射様式を調べることができた。尾状核頭部と被殻前部はどちらも前頭葉から幅広い投射を受け取っているが、その投射様式には差異があり、このことが情報処理プロセスの違いを反映していると考えられる。どのような細胞種がどの皮質層

に分布しているかを調べることで、霊長類特有の「前頭葉-線条体」ネットワークを明らかにしていく。

参考文献

Balsters JH., Zerbi V., Sallet J., Wenderoth N., Mars RB. (2020) Primate homologs of mouse cortico-striatal circuits. *Elife* 16:9:e53680.
doi: 10.7554/eLife.53680.
Krienen FM., Goldman M., Zhang Q. et al. (2020) Innovations present in the primate interneuron repertoire. *Nature* 586:262-269.
doi: 10.1038/s41586-020-2781-z

5-8 「霊長類モデル動物を用いた脳神経機能及びその疾患に関する基盤的研究」

(分担課題名) 自己と他者の行動情報処理における前頭葉機能連関の解明

分担研究者 二宮太平
(所属) 生理学研究所
システム脳科学研究領域・認知行動発達機
構研究部門

緒言

社会的動物であるヒトにとって、社会的認知機能は生存適応に非常に重要な脳機能である。本研究ではマカクザルを実験動物として、社会的情報処理に関わる大域的神経ネットワーク(社会脳ネットワーク)の機能解明と、その破綻と疾患との関連の理解に向けた実験をおこなう。

方法

本年度はまず、マカクザル3頭を対象に、ペアでおこなう認知行動課題のトレーニングをおこなった。神経活動記録実験対象の個体が十分な課題正答率(75%以上)に達した時点で、社会脳ネットワークの中核領域である、腹側運動前野(PMv)と内側前頭前野(MPFC)を対象とした、電気生理学的手法による脳領域の同定作業をおこなった。その後、当該2領域から課題遂行中の神経活動同時計測を進めた。

結果

課題遂行中の神経活動データについて、一部解析が完了しており、(1) PMv は他者の行動に関する視覚情報の有無によって応答が変化する神経細胞が多いのに対して、MPFC は変化しない神経細胞が多いこと、(2) MPFC は PMv に比べて、他者の行動選択の予測が難しいときにより活動する神経細胞が多いことを見出している。

考察

PMv と MPFC の性質の違いから、PMv は他者の行動に由来する感覚情報を処理している一方で、MPFC は他者の行動の予測やその誤差に関する情報を処理していると考えられる。

結論

以上の結果は、分担研究者が提案している社会脳ネットワークに関する機能仮説と概ね矛盾しない。今後、神経活動の更なる解析と、神経路選択的操作実験を実施し、社会脳ネットワークのより詳細な理解を推し進めていく。

参考文献

特になし。

Intramural Research Grant (5-8) for
Neurological and Psychiatric Disorders of NCNP

Fundamental research into brain function and its diseases using primate
model animals

Principle investigator: Kazuhiko SEKI (NCNP)

Research Objective

It is estimated that there are 3 million patients with Alzheimer's disease (AD) in Japan and 18 million worldwide. Including other forms of dementia, the number is said to reach 5 million in Japan. Additionally, the increasing number of autism patients has become an urgent social issue. This research aims to establish the world's first model animal system for these diseases using monkeys and to develop biomarkers that reflect the onset and progression of these conditions. The study consists of three projects:

1. **Development and Phenotypic Evaluation of Alzheimer's Disease (AD) Model Monkeys:** We will focus on 5xFAD-type TG marmosets, which have a proven record of early onset in rodents. We will develop behavioral, biochemical, and brain function imaging biomarkers for these marmosets.
2. **Development and Phenotypic Evaluation of Autism Models:** We will create model animals by administering valproate to parent animals and elucidate their homology with human patients using electrophysiological, biochemical, and experimental psychological methods.
3. **Development of New Biomarkers for Primate Models:** By collaborating with prominent young researchers in Japan and utilizing primate disease model animals, we will develop new biomarkers for the above-mentioned diseases and others, which were previously impossible to achieve using only NCNP's research resources.

Results

In the creation and analysis of the AD model marmoset, we oversaw the entire research. In item 1, we continued producing individual models using developmental engineering techniques and continued searching for disease biomarkers. In item 2, we

continued developing primate disease biomarkers from various angles in collaboration with young domestic researchers. **In the creation and analysis of the marmoset autism model**, we constructed an ASD model using valproic acid marmosets and investigated their gene expression and biomarkers. We analyzed the correlation between marmoset and human autism subtypes and demonstrated that the valproic acid marmoset is a good model for the ASD G1 subtype. Additionally, we confirmed the enhancement of histone acetylation due to valproic acid exposure and successfully identified ASD subtypes. **In the biochemical and behavioral phenotypic evaluation of the dementia model marmoset**, we measured the A β 42/40 ratio in the CSF and plasma of genetically modified AD model marmosets and identified individuals showing biochemical changes similar to those of AD patients. Behavioral analysis showed no clear difference between the AD model and wild-type marmosets, but the effectiveness of AD biomarkers was suggested. **In the evaluation of the AD model marmoset using PET**, we evaluated brain changes in AD model marmosets using PET and confirmed the formation of amyloid plaques, high expression of TSPO, and the presence of tau pathology. This demonstrated the validity of the AD model and provided important data for further model evaluation. **In the development of transcriptome analysis and translatable markers using primate model animals**, we analyzed the gene expression of valproic acid-exposed marmosets and confirmed the downregulation of excitatory neurons and the upregulation of glial cells. This clarified part of the gene expression dynamics of autism spectrum disorders and succeeded in developing translatable molecular markers. **In the evaluation of disease states using autonomic nervous function as an indicator**, we investigated the relationship between the control mechanism of voluntary breathing and emotional information processing using macaques. By recording neural activity in the supplementary motor area and pre-supplementary motor area during tasks that changed breathing timing, we suggested that respiratory control is involved in emotional control. **In the evaluation of fronto-parietal impairment by measuring sensory feedback responses**, we analyzed the function of the fronto-parietal cortex involved in the adjustment of long-latency responses using macaques. Based on the neural activity recordings of the fronto-parietal cortex, we clarified the predictive adjustment mechanism of feedback responses. **In the elucidation of the neural mechanisms of obsessive-compulsive disorder using macaques**, we conducted simultaneous measurement of OCD-like behavior and

introspection using macaques and analyzed the neural activity of the anterior cingulate cortex and lateral prefrontal cortex. We clarified the relationship between introspection and checking behavior and elucidated the neural basis of OCD. **In the development of disease biomarkers using wide-area cortical EEG**, we compared wide-area cortical EEGs of healthy and disease model marmosets and detected abnormalities in ASD and epilepsy models. This demonstrated that wide-area cortical EEG is an effective tool for disease biomarkers. **In the development of large-scale neural activity recording and analysis methods for creating biomarkers in marmosets**, we measured the brain activity of marmosets in layers and developed a method to analyze information transmission networks from layer-specific fMRI data. We clarified layer-specific responses to tactile stimulation and deepened the understanding of bidirectional hierarchical somatosensory processing. **In the quantification of the neural basis of flexible decision-making led by brain diversity and its impairment**, we analyzed diverse behavioral strategies using macaques in a VR environment. We succeeded in manipulating macaque decision-making using optogenetics and elucidated the brain basis that generates diversity. **In the functional analysis and behavioral indicator development of the "prefrontal-basal ganglia" connection using gene-introduced macaques**, we analyzed the projection patterns from the prefrontal cortex to the striatum in macaques and demonstrated that the ventral prefrontal cortex is involved in attention arousal, and the dorsal prefrontal cortex and insular cortex are involved in the processing of tactile sensory signals. **In the elucidation of prefrontal lobe function connections in processing self and others' behavioral information**, we analyzed neural activity during cognitive behavioral tasks using macaques and demonstrated that the PMv processes sensory information about others' actions and the MPFC processes predictions and error information about others' actions.

精神・神経疾患研究開発費（課題番号）5-9

総括研究報告書

神経難病におけるナショナルセンターによる臨床開発促進のための基盤整備と
レギュラトリーサイエンスの推進

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の、研究・治療法開発促進のために、精神・神経疾患研究開発費「神経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」（令和2～4年度、昨年度研究班）において挙げられた課題である、開発事案増加に向けての具体的な方策、医師主導治験、特定臨床研究に限らない研究支援（RWD活用含む）、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強化、他NCやAROとの連携、外部委託の活用も含めて、具体的な開発事例も踏まえて解決、また更なる推進策を提言する。

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

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

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

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 倫理相談・教育研修室

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

横井 優磨

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 教育研修部 臨床研究教育研修室

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. 研究結果

本研究においては、各領域における専門性を生かし以下の通り分析、検討した。

・ARO 機能の現状分析とその機能拡大、外部連携の促進策の提示、実行

ARO 人員である主任研究者、分担研究者により、NCNP が主導する医師主導治験支援 (OCH、リツキサン等)、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) の実施などを行っている。これらは、AMED 研究費獲得前段階から関与し、研究費を獲得、論文文化も含めての支援である。さらに、薬事制度化での活用を視野に入れたリアルワールドデータ (Remudy-DMD、JCAT-PRIME、精神疾患レジストリなど) の構築・利活用支援、さらに企業へのデータ提供を行ない、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支援を継続した。

品質管理、QMS に関する開発支援策の検討においては、神経難病疾患レジストリ Remudy 及び Remudy-DMD について、ePRO システム等 IT プラットフォームの採用や、QMS による体制整備、並びに QbD の構築と、それに基づく RBA の実装に基づく品質管理活動 (モニタリング、データマネジメント等) の体制整備実施の検討を開始した。

生物統計関連支援、生命倫理支援は他施設専門家とのネットワークによる情報共有継続し、医師主導治験や特定臨床研究、臨床研究のプロトコール作成や研究相談を継続した。生物統計関連において、RWD を用いる問題点として比較可能性のバイアスおよび欠測が主要な問題である、バイアスの評価およびコントロールのためには Hybrid control アプローチ (ランダム化比較試験+外部対照) の検討を始めた。

外部の臨床研究中核病院からは、外部資金獲得の取組み状況として橋渡し事業について情報共有した。また、他施設の神経内科研究者からの聞き取りより、必要な支援策を共有した。

・NCNP の研究開発力、海外開発動向調査を踏まえた注力領域の検討と研究開発の実施

小児神経科及び脳神経内科診療部と ARO が定期的に連携し、シーズ、開発案件の検討、研究費

獲得前段階からの話し合いを開始。小児神経内科からは、レジストリとバイオリソース連携、研究所と病院、外部との連携を進めること、ドラッグロス対策としての臨床研究ネットワーク、企業相談窓口や患者会との連携が重要と考えられた。脳神経内科診療部からは、NRG-ErbB4 シグナリング障害を是正する可能性があり筋萎縮性側索硬化症への開発候補としてゾニサミドに注目されており、文献検索、開発可能性の検討を開始した。

・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

当センターのパーキンソン病、脊髄小脳変性症、デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD)、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の身体機能評価データ、作業療法部門において DMD 以外の筋疾患データ蓄積を継続、加えて本年度から脊髄性筋萎縮症等に対するデータセット作成、蓄積を開始した。ALS については、呼吸リハビリテーションの効果を国際学会において発表した。神経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が生み出される基盤を整備している。

・専門的支援(生物統計家、生命・研究倫理等)における他施設支援部門との連携促進

昨年度研究班で構築した他施設支援部門とのネットワークを継続、情報共有を進めた。生物統計においては、レジストリを活用した臨床研究の国内外取り組み、アダプティブデザイン、リアルワールドデータを対象とした試験、欠測のある試験における解析手法の勉強会を定期開催、各医療機関事例を共有した。これら検討を踏まえ、医薬品医療機器総合機構 (PMDA) との意見交換を計画している。

・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 (RS) 分野の動向調査

・希少・難病領域、精神疾患領域での医薬品等開発における RS として検討すべき課題の抽出と実施(外部研究資金の獲得含む)、関連人材育成

難治性・希少疾患領域における新規治療薬等の開発促進及び早期実用化に向けた国の支援策等のうち、条件付き承認制度の運用状況を調査した。また、米国における同様の制度である迅速承認

(Accelerated Approval) 制度について、これまでの運用状況及び制度見直しの状況について情報を収集した。神経系難病に対する適用事例を中心に、日米の制度比較を行う。国内で希少疾病用医薬品に指定された精神・神経領域の薬剤について、指定要件の調査も開始した。これらを踏まえて、RS 研究課題を検討する。精神科領域においても、米国既承認で日本で同一の成分が未承認のものについて、国内外開発状況、国内開発の阻害要件を検討開始した。

国内外での開発状況をふまえて、精神・神経・筋・発達障害それぞれの領域によってレギュラトリーサイエンスの観点からの課題が異なると考えられ、それぞれの領域の特徴に沿った課題設定を進める必要がある。

- 今後の研究の進め方について

NCNP 現状分析を継続しつつ、ARO 各部門における最近の開発、臨床研究の動向を踏まえて新たな取り組みを開始する。各診療部との開発シーズ探索、新たな支援案件も継続する。NCNP が行っている取り組みについては、積極的に学会発表、論文投稿を行う。

本年度の RS 分野の動向調査をもとに、NCNP が実施すべき RS 課題を抽出、科学研究費、AMED 等研究費獲得を視野に進める。

4. 研究成果刊行一覧

【論文】

1. Ueda K, Sato Y, Shimizu S, Suzuki T, Onoda A, Miura R, Go S, Mimatsu H, Kitase Y, Yamashita Y, Irie K, Tsuji M, Mishima K, Mizuno M, Takahashi Y, Dezawa M, Hayakawa M. Systemic administration of clinical-grade multilineage-differentiating stress-enduring cells ameliorates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Sci Rep.* 2023; 13(1): 14958, doi: 10.1038/s41598-023-41026-3.
2. Ishizuka T, Komaki H, Asahina Y, Nakamura H, Motohashi N, Takeshita E, Shimizu-Motohashi Y, Ishiyama A, Yonee C, Maruyama S, Hida E, Aoki Y: Systemic administration of the antisense oligonucleotide NS-089/NCNP-02 for skipping of exon 44 in patients with Duchenne muscular dystrophy. Study protocol for a phase I/II clinical trial. *Neuropsychopharmacol Rep.* 2023

Jun;43(2):277-286. doi: 10.1002/npr2.12335. Epub 2023 Apr 3. PMID: 37326950

3. Nabbout R, Zanello G, Baker D, Black L, Brambilla I, Buske OJ, Conklin LS, Davies EH, Julkowska D, Kim Y, Klopstock T, Nakamura H, Nielsen KG, Pariser AR, Pastor JC, Scarpa M, Smith M, Taruscio D, Groft S: Towards the international interoperability of clinical research networks for rare diseases: recommendations from the IRDiRC Task Force. *Orphanet J Rare Dis.* 2023 May 9;18(1):109. doi: 10.1186/s13023-023-02650-4. PMID: 37161573
4. Sato W, Noto D, Araki M, Okamoto T, Lin Y, Yamaguchi H, Kadowaki-Saga R, Kimura A, Kimura Y, Sato N, Ishizuka T, Nakamura H, Miyake S, Yamamura T: First-in-human clinical trial of the NKT cell-stimulatory glycolipid OCH in multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 2023 Mar 23;16:17562864231162153. doi: 10.1177/17562864231162153. eCollection 2023. PMID: 36993937

【学会発表】

1. 河口大洋, 原貴敏, 中村拓也, 宮崎裕大, 萩原和樹, 安保雅博, 辻哲也, 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 患者に対し肺容量リクルートメントトレーニング (LVRT) が呼吸機能へ与える効果発表標題、第 7 回日本リハビリテーション医学会秋季学術集会 宮崎、2023/11
2. 寄本恵輔, 森まどか, 花井亜紀子, 有明陽佑, 宮崎裕大, 原貴敏、独歩で移動する先天性ミオパチー患者における非侵襲的人工呼吸器の移動支援について、第 77 回 国立病院総合医学会 広島、2023/10
3. 吉田 みちる, 中村治雅, 五郡直也, 小牧宏文, 竹下絵里, 山野真弓, 原貴敏、国立精神・神経医療研究センター病院の理学療法部門の役割 ～診療外業務: 治験と機能評価に着目して～、第 77 回 国立病院総合医学会 広島、2023/10
4. Taiyo Kawaguchi, Takatoshi Hara, Keisuke Yorimoto, Takuya Nakamura, Yuta Miyazaki, Kazuki Hagiwara, Michiyuki Kawakami, Tetsuya Tsuji, Relationship between Lung Volume Recruitment (LVR) and Survival in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis , The Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in

- ALS (PACTALS) Kuala Lumpur, 2023/9
5. Keisuke Yorimoto, Akiko Hanai, Taiyo Kawaguchi, Yuta Miyazaki, Takatoshi Hara, Survey of Respiratory Care in Different Care Environments for Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis、The Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS (PACTALS)2023 Kuala Lumpur, 2023/9
 6. 西田大輔, シンポジウム 6 神経筋疾患におけるリハビリテーション医学・医療の継承と革新「筋疾患のリハビリテーション医療・医学 筋ジストロフィーを中心として」, 第 7 回日本リハビリテーション医学会秋季学術集会, 宮崎, 2023/11/4
 7. 寄本 恵輔, 花井 亜紀子, 河口大洋, 宮崎 裕大, 原 貴敏, 筋萎縮性側索硬化症患者の療養環境の違いにおける呼吸ケアの実態調査, 第 5 回日本在宅医療連合学会大会, 新潟, 2023/6/24
 8. 寄本 恵輔, 森まどか, 有明陽佑, 原 貴敏, 35 歳以上の Duchenne 型筋ジストロフィー症 呼吸ケアの実態, 第 9 回日本筋学会学術集会/第 10 回筋ジストロフィー医療研究会大阪, 2023/8/18
 9. 寄本恵輔, 森まどか, 花井亜希子, 宮崎裕大, 原貴敏, 重度呼吸障害を呈した独歩可能な筋疾患患者における人工呼吸療法の移動支援の課題, 第 9 回日本筋学会学術集会/第 10 回筋ジストロフィー医療研究会, 大阪, 2023/8/8
 10. 有明陽佑, 森まどか, 岡本 智子, 原貴敏, "Lung insufflation capacity を用いて排痰補助装置の設定を行った筋萎縮性側索硬化症症例 その後 6 年の経過報告", 第 21 回日本神経理学療法学会学術大会, 横浜, 2023/9/9
 11. 寄本恵輔, 森まどか, 花井亜紀子, 有明陽佑, 宮崎裕大, 原貴敏, 独歩で移動する先天性ミオパチー患者における非侵襲的人工呼吸器の移動支援について, 第 77 回国立病院総合医学会, 広島, 2023/10/20
 12. 寄本 恵輔, 森まどか, 有明陽佑, 原 貴敏, 当センターにおける医療的ケアの自然史と呼吸ケア -30 歳以上 DMD 患者 44 例からの検討- 第 11 回日本難病医療ネットワーク学会学術集会, 愛知, 2023/11
 13. 小居秀紀ほか, AMED「臨床研究中核病院以外の医療機関に対する QMS/RBA に関する教育研修」研究班活動報告～アンケート調査結果 (医療機関用) ～, 日本臨床薬理学会学術総会, 神戸, 2023/12, 口頭発表
 14. 木島かおり, 原田裕子, 石塚量見, 波多野賢二, 中村治雅, 小居秀紀, レジストリデータ利活用に向けた, データ提供業務の体制整備, 第 44 回日本臨床薬理学会学術集会, 2023/12, ポスター
 15. 原田裕子, 山本理代, 五郡直也, 高嶋佳代, 有江文栄, 中村治雅, 神経難病領域における研究への患者・市民参画 (PPI) の促進を目指したデュシェンヌ型筋ジストロフィー患者家族への実態調査, 日本臨床薬理学会, 2023/12/14～16, 神戸, ポスター
 16. Taiyo Kawaguchi, Takatoshi Hara, Keisuke Yorimoto, Takuya Nakamura, Yuta Miyazaki, Kazuki Hagiwara, Michiyuki Kawakami, Tetsuya Tsuji, Relationship between Lung Volume Recruitment (LVR) and Survival in Patients with Amyotrophic Lateral Sclerosis, The Pan-Asian Consortium for Treatment and Research in ALS (PACTALS) Kuala Lumpur, 2023/9 ポスター
 17. Poll A, Benett N, Chieh Chua H, Nakamura H, et. Al. TREAT-NMD global registry network: an insight into a global neuromuscular patient registry, World Muscle Society 2023, Charleston, 2-6 Oct 2023, poster
- 【講演会、一般向けシンポジウムなど】
1. 小居秀紀, 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研修、独立行政法人国立病院機構 (NHO) 令和 5 年度臨床研究センター長・部長新任研修、Web セミナー形式、2023/6
 2. 横井優磨, PMDA における精神科医臨床医学担当の役割とその先、第 119 回日本精神神経学会学術総会シンポジウム 77 医薬品・医療機器のエコシステムと精神科医—本邦のレギュラトリーサイエンスに対する精神科医の役割、横浜、2023/6
 3. 中村治雅, 筋疾患、希少疾患の臨床開発推進に向けて、昨今の話題と課題の解決に向けて、合同学術集会第 9 回日本筋学会学術集会/第 10 回筋ジストロフィー医療研究会、大阪、

- 2023/8/18、口頭
4. 中村治雅、患者レジストリの薬事利用について、第 27 回日本神経感染症学会、横浜、2023/10/13、口頭
5. 中村治雅、日本神経治療学会員に対する「研究開発活動に関する調査」結果のご報告、第 41 回日本神経治療学会、東京、2023/11/13、口頭

【出 願】 なし

【取 得】 なし

【図 書】

1. 野上健一郎、中村治雅、武田伸一、3.疫学研究
1)世界の DMD の疫学研究 特集デュシェンヌ型筋ジストロフィー (DMD) 診療の最前線、Progress in Medicine 43(11) 1005-1010、2023/1
2. 原貴敏、日本医師会、リハビリテーションが必要となる疾患 神経筋疾患 筋疾患日本医師会雑誌 第 152 巻 特別巻 リハビリテーション診療 update、2023、S180-S181.
3. 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.
4. 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.
5. 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（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（NCNP）
トランスレーショナル・メディカルセンター
センター長
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では 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、並びに近年課題として呈示されているドラッグロスに関する対応策を念頭に課題整理を行った。

結果、考察

小児神経疾患の臨床開発を考えるうえで考慮すべき点として以下の点を抽出したうえで考察した。

1. 総論的事項

- ・単一遺伝子変異による（超）希少疾病、難治性疾患が多い
- ・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、脊髄性筋萎縮症は NCNP が得意としている疾患であるが、より多くの疾患に臨床開発が行われようとしている。
- ・近年国際共同治験に日本が参画できていない状況などの理由からドラッグロスが問題となりつつある。

2. 臨床試験を検討する際の課題

- ・疫学情報、自然歴データが不足している。
- ・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。

・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：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。

・レジストリ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。

・レジストリとバイオリソースの連携が今後重要となる。

・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 が主体的に管理する意義は大きい。

4. 独自のシーズ開発という観点での検討

・核酸医薬は基礎、臨床両面において NCNP が中心となって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。

・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。

・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。

・先進医療を進める観点で病院機能の充実も課題である。

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、そのノウハウを活かして基盤を提供できるとよい。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、次に外部研究者との連携を強化できるとよい。

ドラッグロス対策としては、我々がすでに構築している神経筋疾患を対象として臨床研究ネットワークなどを活用して他施設共同研究支援体制の構築、NCNPに企業相談窓口の設置、中央一括審査の推進策、患者会との連携策などが課題としてあげられ、次年度以降これらの課題について検討を具体的に深掘りしていく。

神経系難病（脳神経内科領域）の臨床開発促進のための研究者からの課題検討

国立精神・神経医療研究センター
病院・脳神経内科
高橋 祐二

緒言

本研究では、神経変性疾患の基礎研究の成果を治療薬開発に結びつける過程における課題を抽出し、解決を図る。具体的なモデルケースを設定して、薬剤シーズ探索・POC 確立研究計画立案・医師主導治験のプロトコール作成・体制構築における課題を抽出し解決を図る。分担研究者はこれまで NNRG-ErbB4 シグナリングの機能低下が ALS の原因となり得ることを、ゲノム研究¹⁾、病理学的分析²⁾により明らかにしてきている。

方法

筋萎縮性側索硬化症(ALS)をモデルケースとして、ドラッグリポジショニング(DR)による治療薬開発を目指した研究を実践する際の課題を抽出し解決する。本研究の成果として、最終的には医師主導治験のプロトコール作成と実施体制整備を視野に入れる。

結果

R5 年度は NRG-ErbB4 シグナリング障害を是正する薬剤シーズを文献的検索・データベース探索により同定することを試みた。NRG を上昇させる薬剤・方法に関する文献を狩猟したところ、ゾニサミド及びケトン食の報告があった。ただしケトン食の ALS に対する影響は現時点で定まっておらず、シーズとしては最適ではないと考えられた。ゾニサミドと ALS との関連を検討した文献は認められなかった。

考察

本研究では NRG-ErbB4 パスウェイの活性化を来す薬剤の探索を試みたが、有望な候補物質は抽出出来なかった。DR を効率よく推進する為には、薬剤データベースとパスウェイデータベースの連携の深化とそれを活用した幅広い候補薬剤の探索が必要であると考えられた。

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 DR は重要な役割を占める。さらなる基礎的研究による病態の解明と創薬シーズの同定、候補薬剤データベースの充実と、疾患パスウェイを軸とした検索による候補薬剤の選定、非臨床 POC の蓄積が必要である。

参考文献

- 1) Takahashi Y, et al. ERBB4 mutations that disrupt the neuregulin-ErbB4 pathway cause amyotrophic lateral sclerosis type 19. *Am J Hum Genet.* 2013;93(5):900-5.
- 2) Takahashi Y, et al. Altered immunoreactivity of ErbB4, a causative gene product for ALS19, in the spinal cord of patients with sporadic ALS. *Neuropathology : official journal of the Japanese Society of Neuropathology.* 2019;39(4):268-78.

神経難病の臨床開発促進に資する Regulatory grade での品質マネジメント体制の整備及び信頼性担保方法論の検討

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

神経難病の臨床開発では、対象患者数が少なく、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リアルワールドデータ（RWD）の薬事目的での利活用（治験対照群、製造販売後の長期の有効性確認と安全性監視）の議論が進んでいる。一方、早期探索的臨床試験では、医師主導治験のスキームでの治験実施が基本であるが、昨今では臨床研究法に基づく特定臨床研究の薬事目的での利活用の議論も進展してきており、より効率的かつ質の高い医師主導治験や特定臨床研究の実施が期待される。

方法

国立精神・神経医療研究センター（NCNP）の臨床開発支援の経験をもとに、既存の臨床研究中核病院や製薬企業等では研究開発が進まない神経難病において、NCNPにおけるARO（Academic Research Organization）支援部門として、他のARO所属の研究者と協力し、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、並びに生命科学・医学系研究に基づくレジストリ構築研究及びレジストリデータ利活用研究において、臨床開発促進に資するRegulatory gradeでの品質マネジメント体制の整備及び信頼性担保方法論の面から、NCNPの実績、現状の分析と今後のあるべき支援体制を検討した。具体的には、臨床開発促進に資する、DCT（Decentralized Clinical Trials；分散型臨床試験）に対応するITプラットフォームの構築、並びに、Regulatory gradeでの品質マネジメント体制（QMS（Quality Management System；品質

マネジメントシステム）の整備、QbD（Quality by Design；計画に基づいた質の確保の考え方）の構築、RBA（Risk Based Approach；リスクベースドアプローチ）の実装等を行った。

<研究計画の概要>

2023年度：

2023年4月～2024年1月：神経難病の臨床開発促進に資するRegulatory gradeでの品質マネジメント体制の整備及び信頼性担保方法論に関する現状調査及び分析

2024年2月～2024年3月：神経難病の臨床開発促進に資するRegulatory gradeでの品質マネジメント体制の整備及び信頼性担保方法論に関する課題の抽出及び改善策の検討

なお、本分担研究課題の実施においては、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とも連携して実施した。

- 1) 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料の作成に資する研究（研究開発代表者：小居秀紀）」、R4
- 2) AMED 難治性疾患実用化研究事業、「福山型先天性筋ジストロフィー患者における内服ステロイド薬の第II相治験（研究開発代表者：石垣景子（東京女子医科大学）」・研究開発分担者、R4～R6
- 3) 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、R4～R6
- 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、R3～R5

- 5) 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)」・研究開発協力者、R3~R5
- 6) 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、R5
- 7) 厚生労働省医薬局医薬品審査管理課、「リアルワールドデータ活用促進事業 (研究代表者: 中込和幸)」・共同研究者、R5

結果

神経難病の臨床開発促進に資する Regulatory grade での品質マネジメント体制の整備及び信頼性担保方法論に関する現状調査及び分析、並びに課題の抽出及び改善策の検討:

患者登録システム (Remudy) ・ KIBAN (基盤部分) は、DMD を中心に疫学情報、治験の実施可能性調査、被験者リクルートなどにおいて一定の成果が得られているものの、登録率や情報更新率の伸び悩みがみられる。現在の Remudy の登録システムは患者起点の形式であるが、情報の正確性を担保するために初回登録、ならびに更新ともに主治医の協力が必須であることが伸び悩みの一因と思われる。また、1. Remudy-DMD (2 階建て部分) においては、医薬品の条件付き早期承認制度に基づく、製造販売後の長期有効性・安全性情報の収集に資するレジストリとして運用しているが、参加医療機関で原資料を作成・保管し、それに基づく 2. EDC 入力によりデータを収集していることから、医療現場の原資料マネジメントやデータ入力の業務負荷が大きく、症例登録伸び悩みの一因となっている。また、モニタリングやデータマネジメント等の品質マネジメントにおいても、COVID-19 感染拡大の中で制限していた施設 3. 設モニタリングを複数医療機関 (NHO あきた病院、NHO 箱根病院、NHO 長良医療センター 4. 一、NHO 大阪刀根山医療センター、兵庫医科大学、愛媛大学、国立成育医療研究センター) で実施しているが、各研究責任者・分担者の努

力による信頼性担保が確認できているものの、実際に医療現場の業務負荷やその軽減策としてのデータ入力支援者の派遣を望む声等の課題も抽出できているし、モニタリングやデータマネジメントの担当者の業務負担も大きく人的リソースの確保も課題である。

神経難病の臨床開発推進には、例えば、疾患レジストリである Remudy ・ KIBAN (基盤部分) 及び Remudy-DMD (2 階建て部分) において、EDC と同じ Web 入力をベースとするも “eSource” の考えを採用した Web によるデータ収集システムや、医療機関を介さずに直接患者さんや介護者から患者日誌や QOL 等に関する情報を収集する ePRO システム等の IT プラットフォームの採用を検討すべきである。また、品質マネジメント体制に関しては、AMED ・ 令和 5 年度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 の概念に関する研究者及び研究支援者への教育研修に係る研究」研究班 (研究開発代表者: 小居秀紀) でも議論しているが、治験・臨床研究における QMS による体制整備、並びに、QbD の構築と、それに基づく RBA の実装に基づく質管理活動 (モニタリング、データマネジメント等) の体制整備を実施する必要がある。

- 【学会等での発表 (シンポジウム・国内)】
- 小居秀紀ほか、AMED「臨床研究中核病院以外の医療機関に対する QMS/RBA に関する教育研修」研究班活動報告～アンケート調査結果 (医療機関用)～、日本臨床薬理学会学術総会、神戸、2023 年 12 月、口頭発表
- 小居秀紀ほか、AMED「臨床研究中核病院以外の医療機関に対する QMS/RBA に関する教育研修」研究班活動報告～アンケート調査結果 (研究者・研究支援者用)～、日本臨床試験学会学術集会総会、大阪、2024 年 3 月、ポスター発表
- 木村基、小居秀紀、支援委員会活動報告. 第 5 回レジストリフォーラム、2024 年 2 月、東京
- 小居秀紀、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

支援者への教育研修、独立行政法人国立病院機構（NHO）令和5年度臨床研究センター長・部長新任研修、Webセミナー形式、2023年6月

5. 小居秀紀、臨床研究・治験の品質マネジメント～AMED研究班（QMS教育）の活動を中心に～、精神・神経疾患研究開発費「筋ジストロフィーの臨床開発推進の基盤整備」研究班会議、2023年12月

考察

神経難病の臨床開発促進に資するITプラットフォーム構築及びRegulatory gradeでの品質マネジメント体制整備及び信頼性担保方法論に関する課題や、抽出された課題に対する改善策の検討と、実践に向けた要件定義が必要である。

具体的には、まず、Remudy・KIBAN（基盤部分）において、“eSource”の考えを採用したWebによるデータ収集システムや、医療機関を介さずに直接患者さんや介護者から患者日誌やQOL等に関する情報を収集するePROシステムによるITプラットフォームを構築する。また、その際には、そのITプラットフォームにおけるコンピューター化システムバリデーション（CSV）への対応等のQMS体制を整備し、並行して、QbDの構築と、それに基づくRBAの実装に基づく質管理活動の体制を整備する。

結論

令和5年度の本検討課題の成果として、患者登録システム（Remudy）・KIBAN（基盤部分）、並びに、Remudy-DMD（2階建て部分）において、現状把握と課題抽出を行った。特にRemudy-DMDにおいて、医療現場の原資料マネジメントやデータ入力の業務負荷が大きいことが症例登録伸び悩みの一因となっている点は、今後の改善が必要と思われる。

今後の神経難病の臨床開発推進には、例えば、疾患レジストリであるRemudy・KIBAN（基盤部分）及びRemudy-DMD（2階建て部分）において、“eSource”の考えを採用したWebによるデータ収集システムや、直接患者さんや介護者から患者日誌やQOL等に関する情報を収集するePROシステム等のITプラットフォーム

の採用が必要と考える。

また、品質マネジメント体制に関しては、治験・臨床研究におけるQMSによる体制整備、並びに、QbDの構築と、それに基づくRBAの実装に基づく質管理活動（モニタリング、データマネジメント等）の体制整備が必要と考える。

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) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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.

- 7) 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ー第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ー, 臨床評価, 50(1): 21-48, 2022.
- 8) 厚生労働省医薬・生活衛生局医薬品審査管理課、「レジストリ又は医療情報データベースのデータを医薬品の承認申請、再審査等申請に利用する場合の信頼性担保に係る留意点に関する質疑応答集(Q&A)」について、事務連絡: 令和4年9月14日.

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

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
波多野賢二

緒言

当室はこれまで NCNP ARO のデータマネジメント (DM) 部門として、10 年余り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を担当してきた。その経験を踏まえ、当室が神経系難病の臨床研究開発の促進に果たすべき役割と解決すべき課題・ARO 他部門との連携の在り方等について、検討を行う。

方法

当室で実施している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、DM 支援業務について以下の 4 件の課題を抽出し検討を行った。

1. レジストリ研究支援への対応
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

結果

1. 大規模なレジストリ研究では、多数の参加施設・被験者・長期研究期間が設定され、その間に頻回な外部データ提供が発生する。レジストリ研究への支援は、従来の単回の臨床試験への対応とは異なるアプローチが必要である。さらに薬事・製販後調査レベルの品質が担保されたデータの製薬企業等へ提供事例を経験しているが、レジストリデータの品質管理について手順の整備を手探りでやっているのが現状である。
2. 昨今の臨床試験・レジストリ研究ではデジタルデバイスや ePRO 等によるデジタルデータ収集が頻用され、従来の EDC システムのみでは対応できない事例も多くなっている。試験によっては紙 CRF によるデータ収集が残っており、多様なデータ収集への対応が課題であると考えられた。また、DM の試験データ管理に

おいても、データチェックに BI ツールやデータ可視化ツールを用いて、業務の効率化と精緻化が図っているが、従来の EDC システムとのデータ連携は十分ではなく、活用を進める上での課題であると考えられた。

3. NCNP ARO の一員として ARO 他部門と共同で対応する支援案件が増えており、PM・モニター・統計担当者等との連携が必須である。試験によっては、PM が不在である研究もあり、DM は研究者側および支援側それぞれの体制に応じて、足りないところを埋める臨機応変な対応が求められている。

4. DM 業務の量的・質的拡大に比して、室の人的・システムのリソースは限定されている。大規模な長期多施設レジストリ研究の DM 支援を安定的に実施するためには、現状のリソースの維持およびさらなる拡大が望ましいと思われる。

考察

DM 部門が発足し 10 年ほどの間に、リアルワールドデータ活用やデジタルデータ収集、BI ツールによるデータ分析など、DM 業務を取り巻く環境は大きく変化し、試験データ収集管理が効率化した。DM はそのような新しい環境に適応し業務の見直しを不断に行っていく必要があると思われる。

NCNP ARO 部門では、の PM・モニター・DM・統計家および症例登録の各部門が密接に協調して支援を実施している特徴がある。DM は試験ごとに異なる研究者側の実施体制および ARO の支援体制に応じて、各関係者をつなぐ役割を果たすことが多く、データ管理だけではない試験実施に関わる広い見地での対応が求められていると考えられた。

結論

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、研究支援における本部門の果たしてきた役割を再整理した。それを踏まえて、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・問題点を抽出し、本部門の望ましい将来像とそれに向けて必要な課題を考察した。

神経系難病の臨床開発促進のため生物統計における開発支援体制の構築

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
大庭 真梨

緒言

神経系難病の臨床開発促進のためには、適切な研究デザインが必要であり、デザインとしては、対象者の選択・追跡、測定可能な指標を用いた変化の測定、適切な比較対照が重要な論点である。希少疾患に対して、少数例を対象とした研究デザインや外部データ利活用、ベイズ流の解析手法が複数提案されているが、本邦の神経系難病では実績が十分でなく、どのように適用するか、具体的なオペレーション、各プロセスの妥当性、統計学的利益と限界、医薬品開発に資する情報となるかどうかは十分に議論・共有されていない。本研究班では、以前の研究班において構成した生物統計専門家からなる検討委員会において、事例検討や新規手法の情報共有を重ね、現状や問題点をまとめ、さらにそのまとめに関して提言や支援体制の構築を試みる。

方法

前班で構築したナショナルセンターおよび大学病院の生物統計家からなるネットワーク内で、希少疾患の臨床試験デザインについて、引き続き経験の共有やディスカッションを行った。

ビッグデータを扱う統計手法に関する継続的な勉強会、外部データを利活用する統計手法の専門家による講演会および臨床研究者らを含めた情報交換会を開催した。

生物統計家の本ネットワーク内での効果安全性評価委員の委嘱、独立した統計チームとしての研究への参画の可能性を検討した。

結果

本年度は、新規性の高い臨床試験の統計的デザインに関する研究や、統計解析方法論について勉強会を定期的に開催した。

ネットワーク内での効果安全性評価委員の

委嘱は相互に継続した（東京大学病院、国立がん研究センター、国立精神・神経医療研究センター）。

がん領域でリアルワールドデータ (RWD) の臨床開発利活用に取り組む研究者の講演・ディスカッションを通じ、RWD を用いる問題点として比較可能性のバイアスおよび欠測が主要な問題であることが確認された。また、バイアスの評価およびコントロールのためには Hybrid control アプローチ（ランダム化比較試験＋外部対照）を採用することが今後主流となると再確認された。

考察・結論

外部対照の利用については以前から議論されてきたが、ICH-E8(R1)にも存在が明記され、レジストリを有する神経系疾患での活用が期待される。

一方、承認申請にたえる外部対照をえるためには、統計解析だけでなく、RWD データベースの選択、解析を伴わない内容の精査（重要な背景因子とエンドポイントの有無、妥当性）、対象者の選定、データベースの管理等々、多くの専門家が前向き研究と異なる作業をする必要がある。今年度の講演会を通じ、研究者、データマネージャ、レジストリ所有者、プロジェクトマネージャ等様々な専門家と事前に認識を共有できたことは有用であった。

また、解析計画の事前規定、そのための統計的シミュレーション、外部データセット作成、中間解析など、生物統計専門家内でも複数の立場とディスカッショングループが必要であることから、本班で構築、維持しているグループの研鑽を維持、拡充することも重要であると考えられた。

神経系難病の臨床開発促進のための生命倫理 支援における他施設支援部門との連携促進

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
有江 文栄

緒言

神経難病の領域における臨床研究・治験の推進のためには、研究支援体制を整えることが不可欠であるが、研究倫理の支援については、研究を適正に促進するために重要な役割をもつが、支援体制について検討されはじめつつあるが、提言等は公表されていない。そこで本分担研究では、神経難病の研究領域の生命倫理の課題、倫理支援の取り組みや体制に関する現状の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、共通のニーズについて調査を行った。更に、他施設支援部と連携を促進するために情報交換を行ったので、その経過を報告する。

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

(1) 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】 2023 年度 臨床研究相談窓口
65 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。

- ① IC 等の手続きについて
- ② データの二次利用、第三者提供について
- ③ 他機関との試料・情報の授受に関する手続き

(2) 他の研究機関の研究倫理の支援や倫理審査に携わっている担当者との連携

現在、名古屋大学医学部附属病院と岐阜大学医学部附属病院の研究倫理担当者と意見交換を行っているが、神経難病に特化した相談や倫理審査を行っているわけではなく、神経難病に特有の倫理問題については、相談事例は殆どないという状況であった。ただし、疾患に限らず、データの二次利用や他機関提供、特に企業に情報を提供することに関する事例が増え、倫理審査や契約の締結等に関する支援が実施されている。

その他、都内の障がい者のリハビリテーションを主に行っている医療機関の倫理担当者からは、施設として倫理相談等の対応を行っていないという状況であるという情報を得た。

考察

(1) について

情報保護法及び指針の改正により、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を整備と研究者への周知が十分とは言えず、倫理的・法的課題に対応しつつ、データの利活用を推進するためには、教育・研修や倫理相談対応を通じて、継続して研究者に法規制や施設内ルールについて周知することが求められる。

また、国内外の研究機関ではデータの利活用が推進され、データベース構築系の研究が増えており、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 の方法に関する規程も整える必要があるため、施設内規程も整えつつ、国内の他の研究機関（特に共同研究を行っている機関）との共通認識の確認も必要である。

更に、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 の簡略化やオプ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今後検討する必要がある。

(2) について

現時点で意見交換を行った機関は少ないため十分な情報が得られていないが、神経難病の領域における臨床研究や治験を行っている機

関であっても、専門の医療機関でない限り、神経難病の倫理問題に特化したケースを取り扱うことは多くないと思われる。現在、まだ4機関から情報収集にとどまっているため、今後、神経難病の臨床研究や治験を多く行っている機関に焦点を当てつつ情報収集する対象機関の拡大を図る必要がある。研究倫理専門家コミュニティも活用して、実態調査を進めていく必要がある。

結論

神経難病の臨床研究や治験を多く行っている NCNP での研究倫理相談内容は多岐にわたっているが、この領域に特有の問題については同定できている状況ではないため、更に NCNP の過去の相談内容の分析を進めるとともに、他の機関との連携を拡大し、意見交換を通じて情報の収集を行うことが重要である。

希少・難病領域、精神疾患領域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
石塚 量見

緒言

難治性・希少性疾患においては、病態の解明が不十分であることや患者の希少性から、研究・治療法開発が進まない領域と言われている。難治性・希少性疾患領域における臨床研究・治験の推進に必要であり、国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）として整備すべき神経系難病領域での研究基盤、支援役割について検討し、提言（特に、「希少・難病領域、精神疾患領域の臨床開発促進のための開発戦略、薬事、プロジェクトマネジメントに関する開発支援策」）を行う。

方法

他の分担者と専門領域（希少疾患、神経難病、精神疾患）での医薬品等開発に検討すべき課題、関連人材育成方針、ARO 機能の現状分析、外部研究者との連携促進策について検討する。

結果

得られた課題も踏まえ、当院の研究者の研究計画について、開発戦略、薬事、プロジェクトマネジメントを実際に行い、開発支援策の適切性を検討する。

考察・結論

これまでの NCNP の実績で得た経験（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実績で得た経験）を軸に新たなプロジェクトについて開発支援策を進めることは問題なさそうである。開発支援策のノウハウが属人化してしまうことは課題と考える。

以上

希少・難病領域、精神疾患領域での医薬品等開発におけるレギュラトリーサイエンスとして検討すべき課題の抽出と実施（外部研究資金の獲得含む）、関連人材育成

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
 教育研修部 臨床研究教育研修室
 横井優磨

諸言

近年再びドラッグラグ又はドラッグロスについて、主に米国との比較で語られることが増えているが、全ての科が同じ課題を抱えているわけではなく、新薬に対する危機感や期待も科によって大きく異なる。当センターで治療対象となる患者は精神科、脳神経内科、小児神経科など多岐に渡り、その各科において近年使用可能となっている新薬の承認状況が異なることから、レギュラトリーサイエンス研究として、精神・神経領域、神経難病・希少疾患領域での重要な検討課題の洗い出しを行うにあたっては、それぞれの領域が抱えるアンメットニーズの違いについて、神経科学領域での新薬開発や承認の現況を踏まえた俯瞰的な視野を持つことが重要と考える。また、近年プログラム医療機器が、神経科学においては精神科で特に開発が盛んになっていることから、プログラム医療機器についても述べる。

方法

2020年1月1日から2024年3月31日までにFDA又はPMDAにおける神経科学領域での新薬承認情報について、FDA¹⁾及びPMDA²⁾の公表情報をもとに集計を行う。ただし、申請・承認の内容は国ごとに差異があるため、大まかに効能効果領域としてまとめるにとどめている。遺伝子治療及びプログラム医療機器についてはそれぞれ個別に公表情報について検索を行う。

結果及び考察

効能及び効果領域ごとの承認数及び日本未承認数については表1に示した。当該期間に43品目の承認が日米いずれかの当局により行われているが、2024年3月31日時点では21

品目(48.9%)が本邦未承認であった。50%以上の日本未承認薬がある領域はデュシェンヌ型筋ジストロフィー、筋萎縮性側索硬化症、大うつ病性障害、失調症、産後うつ病がいずれも100%(各3/3, 2/2, 2/2, 1/1, 1/1)、多発性硬化症及び痙攣発作関係の新薬が75%(いずれも2/3)、片頭痛、アミロイドーシス、不眠症、統合失調症が50%(各4/8, 1/2, 1/2)であった。一方全身型重症筋無力症及び視神経脊髄炎スペクトラム症ではいずれの新薬も日本に導入されている。

効能効果領域	承認数	日本未承認
Migraine	8	4
gMG	4	0
AD	3	1
DMD	3	3
MS	3	2
Seizure	3	2
ALS	2	2
Amyloidosis	2	1
Insomnia	2	1
MDD	2	2
NMOSD	2	0
Schizophrenia	2	1
Ataxia	1	1
DMRV	1	0
NF1	1	0
PD	1	0
PPD	1	1
SMA	1	0
TD	1	0
Sum	43	21

表1 効能効果ごとの承認数・日本未承認数

これらの領域の特徴をさらに大まかに示すために、神経変性疾患、神経免疫疾患、その他の神経疾患・精神疾患の3つに分け、さらに希少疾病用医薬品の指定を受ける領域であるかどうかも考慮に入れることで、日本での開発が米国に遅れるかどうかの傾向を掴むことができる。すなわち、神経免疫疾患かつ希少疾病用医薬品の指定を受ける領域(gMG、NMOSD、神経関連アミロイドーシス)では米国に遅れることなく承認される割合が高いと考えられる。また同様の領域としてMSが挙げられるが、

MSで新薬の承認が少ない理由としては、日本での既承認薬が多いこと、日米で有病率に大きな差異があること、などが理由として考えられる。

神経変性疾患では、ALSは希少疾病用医薬品の対象になりうる疾患であり、日本でも米国に遅滞なく承認されることが望まれる領域である。ただし過去の本邦の承認品目の多くが日本独自の開発で行われている一方近年の米国ではかなり積極的な承認が行われているなどスタンスの違いが明確になってきている。例えばSOD-1遺伝子変異を持つALS患者に対するQuliptaは検証的試験においては統計学的有意差を示していないものの承認されている。また小規模な治験結果をもとに2022年9月に米国承認されたRelyvrioは検証的試験での検証に失敗し販売を中止することが2024年4月に伝えられた⁶⁾。このような状況では日米で承認状況に大きな差異が出やすく、また解決も難しい可能性がある。希少疾病用医薬品対象ではないアルツハイマー病では、国内未承認の1品目(Aduhelm)も米国で先行して承認されたものの販売が中止されているものであり³⁾、遅滞なく日本において承認されている領域である。

その他の神経疾患として痙攣性疾患、及び精神疾患として統合失調症、うつ病(産後うつ病を含む)においては、いずれも希少疾病用医薬品に指定される割合は低い。またこれらの領域で用いられる薬剤は低分子化合物がほとんどで、作用機序も新たな仮説に基づくものが少ない。米国で承認された医薬品が日本でも承認される割合が以前と比べてもあまり変化がなく、他領域と比較して開発意欲が高い領域とは言えない。

細胞治療や遺伝子治療などの新たな治療モダリティについてはZolgensma(SMN1stimulant)が日米共に承認されているもののそれ以外に現時点で大きな差異を見出すことはできず、日本での開発を促すための方策について特段の情報が集まっていない状況である。また、日本におけるプログラム医療機器については、日本では不眠障害用アプリとして1品目が承認されているものの保険収載は執筆時点で行われておらず、市場形成が未熟な状態であるため承認情報から課題を定義すること

が困難である。一方米国の精神科プログラム医療機器を多く開発していたPears therapeuticsは2023年4月に破綻(Chapter 11)し⁴⁾、その原因の一つとして保険償還の割合が低いこと、使用者(保険者)側の理解が得られなかったことなどが原因として挙げられている⁵⁾。

以上を踏まえて、各領域について抱えている課題ごとに組み替えることで、以下のような項目にまとめることができる。

1. 企業の開発意欲の高い領域

希少疾病用医薬品になりうる神経免疫疾患や遺伝子治療、アルツハイマー病などが当てはまる。企業の開発意欲により国際共同試験が行われている。アカデミア及びレギュラトリーサイエンスの観点からは特に大きな課題は見当たらない。日本が国際共同試験に適切に参加できるように、専門医による治療体制、治験実施体制を充実させていくことが肝要である。

2. 日本独自開発になりやすい希少疾病領域

ALS、MS、DMDなどは希少疾病用医薬品になりうる疾患ではあるものの、日本または米国でそれぞれ開発するケースが多い領域である。アカデミア及びレギュラトリーサイエンスの課題が最も多く認められる領域と考えられる領域であるが、その課題は疾患ごとの状況により大きく異なることが考えられる。ALSでは当局ごとの承認スタンスの違いが窺われ、MSでは疾患の国内外差が開発に大きな影響を与えている。プログラム医療機器についてもそもそもその市場の成熟度の低さ及び支払い者並びに実臨床の理解の低さを考えると国際共同試験が各国での開発を促すものとなることは考えにくい。この領域においては、国内でのエビデンスが不十分なものになりがちであることから、アカデミアは専門診療体制や治験体制を整備しつつ、規制当局や開発者、患者団体等と協力し、到達可能な現実的目標を探していくことが重要と考える。

3. その他の領域

精神科領域を含むその他の領域では、希少疾病用医薬品に該当しないことなどを踏まえると、規制当局と協力して上記のような現実的目標を設定することの難易度が高くなり、開発者やアカデミア側の治験体制整備の重要性が今後さらに高まるものと考えられる。その際に国内

での治験開発が盛んであればあるほど体制整備が進むものと考えられるため、鶏と卵の議論になる可能性がある。

結論

神経・精神領域だけで見ても、それぞれの疾患ごとにレギュラトリーサイエンスの観点からの課題の種類や重みが大きく異なる。そのため当センターにおいて、あるいはレギュラトリーサイエンスの観点において課題を解決していくためには、開発品目及びその対象となる疾患ごとにその重要性を評価した上で、可能な限り多くのカウンターパートとの交渉を行うことが重要と考える。

参考文献

- 1) Novel drug approvals for 2020-2024:
<https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2024>,
<https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2023>,
<https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2022>,
<https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2021>,
<https://www.fda.gov/drugs/novel-drug-approvals-fda/novel-drug-approvals-2020>
- 2) 医療用医薬品 情報検索:
<https://www.pmda.go.jp/PmdaSearch/iyakuSearch/>
- 3) <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-realign-resources-alzheimers-disease-franchise>
- 4) <https://www.sec.gov/Archives/edgar/data/1835567/000183556723000020/peartherapeuticsfilesforch.htm>
- 5) <https://www.sanamedi.jp/2023/07/4216.html>
- 6) <https://www.amylyx.com/news/amyl-lyx-pharmaceuticals-announces-formal-intention-to-remove-relyvrior/albrioatm-from-the-market-provides-updates-on-access-to-therapy-pipeline-corporate-restructuring-and-strategy>
- 7) <https://investors.biogen.com/news-releases/news-release-details/biogen-announces-topline-results-tofersen-phase-3-study-and-its>

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基盤構築

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
西田 大輔
宮崎 裕大

緒言

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指す。

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昨年度より開始した。

結果

2023年末までの時点で、前述の5疾患以外の希少難病を含めて、理学療法部門では237件、作業療法部門では723件、言語聴覚部門では、129件の症例を登録した（重複含む）。これらのデータを用いて、ALSに対する肺容量リクルートメント（LVR）の実施は、LVRを必要と

しなかった呼吸障害のないALS症例と比較して、生命予後に差がなかったことを報告した（論文執筆中）。また、SMAに対するヌシネルセンの投与とリハビリテーションの効果について、身体機能評価面より評価し、Hammersmith Functional Motor Scale-Expandedの点数の変化が平均25点→27点であったことがわかった（国際学会発表予定）。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、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開始している（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を得る可能性が示唆される。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とともに、各評価の最小変化量（Minimal clinically important difference: MCID）なども計測したい。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開始した。脊髄性筋萎縮症においては、ビルトラセン、リスジプラムにおける効果も検討したい。また動作解析装置、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） 学会発表

1. 河口大洋,原貴敏,中村拓也,宮崎裕大,萩原和樹,安保雅博,辻哲也、筋萎縮性側索硬化症（ALS）患者に対し肺容量リクルートメントトレーニング（LVRT）が呼吸機能へ与える効果発表標題、第7回日本リハビリテーション医学会秋季学術集会 宮崎、2023/11
2. 寄本恵輔,森まどか,花井亜紀子,有明陽佑,宮崎裕大,原貴敏、独歩で移動する先天性ミオパチー患者における非侵襲的人工呼吸器の移動支援について、第77回国立病院総合医学会 広島、2023/10

2. 吉田 みちる,中村治雅,五郡直也,小牧
宏文,竹下絵里,山野真弓,原貴敏、国立精神・神
経医療研究センター病院の理学療法部門の役
割 ～診療外業務：治験と機能評価に着目して
～、第 77 回 国立病院総合医学会 広島、
2023/10

4. Taiyo Kawaguchi,, Takatoshi Hara,
Keisuke Yorimoto, Takuya Nakamura, Yuta
Miyazaki, Kazuki Hagiwara, Michiyuki
Kawakami, Tetsuya Tsuji, Relationship
between Lung Volume Recruitment (LVR)
and Survival in Patients with Amyotrophic
Lateral Sclerosis, The Pan-Asian
Consortium for Treatment and Research in
ALS (PACTALS) Kuala Lumpur, 2023/9

5. Keisuke Yorimoto,Akiko Hanai,Taiyo
Kawaguchi,Yuta Miyazaki,Takatoshi Hara,
Survey of Respiratory Care in Different Care
Environments for Patients with
Amyotrophic Lateral Sclerosis、The Pan-
Asian Consortium for Treatment and
Research in ALS (PACTALS)2023 Kuala
Lumpur、2023/9

6. 西田大輔 シンポジウム 6 神経筋疾患に
おけるリハビリテーション医学・医療の継承と
革新 「筋疾患のリハビリテーション医療・医
学 筋ジストロフィーを中心として」第7回日
本リハビリテーション医学会秋季学術集会
宮崎 2023.11.4

7. 寄本 恵輔,花井 亜紀子, 河口大洋,宮崎 裕
大,原 貴敏 筋萎縮性側索硬化症患者の
療養環境の違いにおける呼吸ケアの実態調査
第 5 回日本在宅医療連合学会大会 新潟
2023.6.24

8. 寄本 恵輔,森まどか,有明陽佑,原 貴敏 35
歳以上の Duchenne 型筋ジストロフィー症 呼
吸ケアの実態 第 9 回日本筋学会学術集会/
第 10 回筋ジストロフィー医療研究会大阪
2023.8.18

9. 寄本恵輔,森まどか,花井亜希子,宮崎裕大,原
貴敏 重度呼吸障害を呈した独歩可能な筋
疾患患者における人工呼吸療法の移動支援の
課題 第 9 回日本筋学会学術集会/第 10 回
筋ジストロフィー医療研究会大阪 2023.8.18

10. 有明陽佑, 森まどか,岡本 智子,原貴敏
"Lung insufflation capacity を用いて排痰補
助装置の設定を行った筋萎縮性側索硬化症症

例 その後 6 年の経過報告" 第 21 回日本神経
理学療法学会学術大会 横浜 2023.9.9

11. 寄本恵輔,森まどか,花井亜紀子,有明陽佑,
宮崎裕大,原貴敏 独歩で移動する先天性ミオ
パチー患者における非侵襲的人工呼吸器の移
動支援について 第 77 回国立病院総合医学会
広島 2023.10.20

12. 寄本 恵輔, 森まどか, 有明陽佑, 原 貴敏
当センターにおける医療的ケアの自然史と呼
吸ケア -30 歳以上 DMD 患者 44 例からの検討
- 第 11 回日本難病医療ネットワーク学会学術
集会 愛知

神経難病における臨床開発促進のためのナショナルセンターとの連携の推進とレギュラトリーサイエンスの推進

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である。国立精神・神経医療研究センター（以下、NCNP）は、神経系難病領域を中心に研究基盤、支援体制を充実させ、難治性・希少性疾患領域における臨床研究・治験の推進を進めている。臨床研究中核病院である名古屋大学での取組み等を共有することで、今後のNCNPでの研究基盤、支援体制の提言を行うものである。

方法

難治性・希少性疾患における研究・治療法開発促進のために、精神・神経疾患研究開発費「神経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」（令和2～4年度）において挙げられた課題について、具体的な開発事例も踏まえて、課題の解決策や更なる推進策をNCNPの研究者らと、議論し、提言につなげるため、以下の点を中心に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、議論を行う。

- ・ARO機能の現状分析とその機能拡大、外部連携の促進策の提示、実行
 - ・希少・難病領域、精神疾患領域での医薬品等開発におけるレギュラトリーサイエンスとして検討すべき課題の抽出と実施（外部研究資金の獲得含む）、関連人材育成
- なお、提示する事例は、主に医師主導治験、特定臨床研究に対するものである。

結果

名古屋大学は、平成28年1月に臨床研究中核病院として、承認され、これまでいくつ

かの医師主導治験の支援を実施してきた。神経難病である慢性炎症性脱髄性多発神経炎や新生児低酸素性虚血性脳症に対する医師主導治験も立ち上げ、完遂している。令和5年度も神経難病にかかる医師主導治験を計画しており、令和6年度の研究費が獲得できたため、治験届の提出ができ次第、準備の状況や生じた課題について、可能な範囲で情報共有を行う予定である。

また、昨年度までNCNPの研究者らと、精神・神経疾患研究開発費「神経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」（令和2～4年度）においてNCNPの取り組むべき支援方策、研究基盤のあり方について調査、検討してきた。令和5年度は、研究推進に向けた外部資金獲得の取組み状況として、橋渡し研究プログラムについて、共有した。シーズパッケージ戦略の内容、橋渡し研究支援機関による支援や選考の方法について、情報共有を行った。

また、臨床研究計画策定までの取組みや関連人材育成の取組みとして、令和3年度日本医療研究開発機構（AMED）研究開発推進ネットワーク事業「研究計画立案早期からのインタラクティブな多職種協調による高品質の臨床研究計画作成支援体制の構築」で進めてきた多職種によるプロトコル作成（支援）業務標準化にかかる成果物であるプロセス分担表と標準業務手順書について、説明し、情報共有した。

考察

名古屋大学は橋渡し支援機関として、名古屋大学以外の他施設の研究支援も行っている。研究開発を進めるためには、研究費獲得が必要であり、NCNPも活用可能な一つの方策である橋渡し研究プログラムを紹介した。また、質の高い臨床研究・臨床試験を行うためには、臨床試験計画の作成が重要であり、Quality by design (QbD)の観点を盛り込み研究計画を練る必要がある。「研究計画立案早期からのインタラクティブな多職種協調による高品質の臨床研究計画作成支援体制の構築」で進めてきた多職種によるプロトコル作成（支援）業務標準化にかかる成果物の

考え方は多くの介入研究にも応用可能である。当該事業を踏まえ、令和4年及び令和5年に中核病院以外の病院でも使用可能な汎用性のある実施計画書作成の業務フローがAMED研究開発推進ネットワーク事業の「臨床研究中核病院以外のAROにおける多職種の視点による高品質の臨床研究計画作成支援体制の構築」及び「QbDの概念が導入された業務フローの活用による多職種連携の研究計画支援体制・方法の汎用化に向けた検討」で提案されているため、これらも参考にすることも一つの方策になるかもしれないと考える。

今後も、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、研究者と共に研究資金を獲得しながら、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。

神経難病における臨床開発促進のためのナショナルセンターとの連携の推進とレギュラトリーサイエンスの推進

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

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 Academic Research Organization（以下、ARO）の支援組織の人員として、以下の点を中心に検討する。

- ・神経難病領域の支援における ARO 機能の現状分析とその機能拡大、外部連携の促進策の提示、実行
- ・希少・難病領域、精神疾患領域での医薬品等開発におけるレギュラトリーサイエンス (RS) として検討すべき課題の抽出と実施 (外部研究資金の獲得含む)、関連人材育成の検討

非中核病院において、神経難病領域の臨床研究・治験をより推進するためには、国立精神・神経医療研究センター (NCNP) を含む外部機関と連携することが必須である。本研究では、外部機関の非中核病院として、岐阜大学医学部附属病院の先端医療・臨床研究推進センターにおける神経難病領域の支援に関する ARO 機能の現状分析を再度行うことにより、機能を拡大すること、NCNP を中心とした外部組織との連携を促進することを目的とする。

また、レギュラトリーサイエンス (RS) 研究として、精神・神経領域、神経難病・希少疾患領域での重要な検討課題の洗い出すことも目的とする。

NCNP と非中核病院の連携が促進されること、RS 研究の促進により、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

ARO の現状分析として、岐阜大学医学部附属病院の脳神経内科医を中心に、ARO 機能で充実すべき内容を調査する。

希少・難病領域、精神疾患領域における医薬品等開発における RS として検討すべき課題の抽出として、希少疾病用医薬品の指定に関する現状を調査する。

結果

岐阜大学医学部附属病院の脳神経内科医を対象に意見聴取を行った。その結果、希少・難病を対象とした臨床研究において、症例集積のサポート体制等が必要との意見があった。また、研究費の獲得、モニタリングの実施のサポートを求める意見も出た。

希少疾病用医薬品の指定に関する現状の調査として、指定時の状況（医療上の必要性、開発の可能性等）に関する情報を収集した。

考察

脳神経内科医を対象とした調査の結果から、臨床研究における必要とする支援内容を明らかにすることができた。

希少疾病用医薬品の指定時の状況を情報収集することにより、日本の指定制度の現状をまとめることができた。

希少疾病用医薬品の指定制度について、さらに掘り下げて、問題点等を検討する必要があると考えている。

結論

今後、調査結果を踏まえて、神経系難病領域の臨床研究の支援について、NCNP を含む中核病院と非中核病院における具体的な連携体制を検討する必要がある。

希少疾病用医薬品の指定制度について、さらに掘り下げて、問題点等を検討する必要があると考えている。

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

北里研究所
北里大学薬学部 臨床医学
成川 衛

緒言

本分担研究は、神経系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て、レギュラトリーサイエンス分野に着目した国内及び海外の動向及び研究支援策等の情報を収集・整理し、今後、国立精神・神経医療研究センターに求められる機能や人材育成のあり方等について検討することを目的とした。

方法

難治性・希少疾患領域における新規治療薬等の開発促進及び早期実用化に向けた国の施策のうち、条件付き承認制度について、これまでの運用状況を調査した。また、米国における類似の制度である迅速承認（Accelerated Approval）制度のもとで承認された神経系難病に対する医薬品の状況を整理し、日本の制度や状況と対比することにより、今後の我が国の制度のあり方や国立精神・神経医療研究センターの役割等について考察した。

結果

1) 日本及び米国における医薬品の条件付き承認制度の枠組み

日米の医薬品の条件付き承認制度の概要を表1に整理した。

日本の条件付き承認制度は、2017年に従来の運用が「条件付き早期承認制度」として行政通知として文書化されたことに始まり、2019年（令和元年）医薬品医療機器等法改正により「条件付き承認制度」として法制化された。対象とされるのは希少疾病用医薬品など「医療上特にその必要性が高いと認められる医薬品」であり、それに対する「検証的臨床試験の実施が困難であるとき又はその実施に相当の時間を要すると判断されるとき」と規定されている。

米国の迅速承認制度は、重篤又は生命を脅かす疾患に対する有望な治療を迅速に承認することを目的に1992年に導入されたものであり、「臨床上の有益性を合理的に確からしく予測できる代替エンドポイント」の結果に基づいて承認するとされているのが特徴である。迅速承認を取得した企業は、当該薬剤の臨床上の有益性を検証するための市販後臨床試験の実施が求められ、それが確認されると通常承認に移行する。

2) 日本及び米国における医薬品の条件付き承認制度の運用状況

日本における条件付き承認制度に基づく承認事例はこれまでに5件あり、内訳は抗悪性腫瘍薬が4件、遺伝性筋疾患治療薬が1件である。いずれも上述の法制化以前に承認されたものである。（表2）

米国における迅速承認制度に基づく承認事例は約300件あり、抗悪性腫瘍薬が全体の約7割、感染症薬が2割弱を占める。本制度に基づいて承認された神経系難病に対する医薬品を表3に整理した。

考察・結論

日米での条件付き承認制度の枠組みについては、日本では「検証的臨床試験の実施が困難又は相当の時間を要すること」が適用条件とされている一方、市販後における有効性の検証の必要性について明確な言及がないこと、米国では代替エンドポイントの結果に基づいて承認することが強調されていることが特徴として挙げられる。なお、米国では、迅速承認制度のより適切な運用に向けた議論が進んでおり、今後の動向をフォローしていく必要がある。

米国では、迅速承認制度に基づく承認事例が多数確認され、その積極的な運用が把握できた。一方で、医薬品の薬効領域別では抗悪性腫瘍薬及び感染症薬が多くを占め、神経系難病に対する医薬品への適用事例は多くはなかった。そもそも本領域における有望な開発候補薬が出現しなかったことが理由と考えられるが、本領域での臨床試験で利用可能な「臨床上の有益性を合理的に確からしく予測できる代替エンドポイント」が少ないこともその背景にあるものと

推察する。

神経系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の促進及び患者への早期の提供を図っていく上で、条件付き承認制度の活用は現実的な対応と考えられる。今後、同制度をより積極的に適用し、また、その持続可能性を高めていくためには、(1)開発候補薬の臨床上の有益性を一定程度確からしく予測できる評価指標(代替エンドポイント)の検討・確立、(2)当該医薬品が条件付きで承認され市販された後に、その有効性・安全性を検証するための体制及びシステムの開発・確立が必要と考える。

今後、これらの事項に関する米国及び欧州の具体的な状況を調査していくこととしたい。併せて、神経系難病等に対する新規治療薬の早期臨床試験で使用可能な評価指標の探索・開発、患者レジストリの構築・維持整備を含めた市販後における医薬品の有効性・安全性を積極的に検証していくためのシステムや研究体制の整備という視点から、国立精神・神経医療研究センターに求められる機能・役割について検討していくこととする。

表1 日本及び米国の条件付き承認制度の概要

	日本	米国
	条件付き承認 (医薬品医療機器等法 第14条第5項)	Accelerated Approval (21 CFR Part 314 Subpart H)
適用条件	<ul style="list-style-type: none"> ● 希少疾病用医薬品、先駆的医薬品など医療上特にその必要性が高く*、検証的臨床試験の実施が困難又は相当の時間を要する (* 重篤な疾患を対象とし、既存の治療法がない又はそれと比較して優れる) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 重篤又は生命を脅かす疾患を対象とする ● 適切な代替エンドポイントにおいて、既存治療を上回る有益な治療効果が示される
市販後の義務など	<ul style="list-style-type: none"> ● 使用の成績に関する調査、適正使用の確保のために必要な措置等の実施 ● 承認時に指定された期間内に調査成績等を提出し、中間評価を実施 	<ul style="list-style-type: none"> ● 臨床効果を証明する試験の実施 ● 市販後臨床試験の実施状況を定期的にFDAに報告 ● Labelingに迅速承認された医薬品である旨を記載 ● 迅速な承認取り下げ手続きの規定あり

表2 日本の条件付き承認制度の下で承認された医薬品の概要

承認日	販売名 (有効成分：製造販売企業)	効能・効果の概要	承認条件への対応
2018/9/21	ローブレナ錠 (ロルラチニブ：ファイザー)	ALK 融合遺伝子陽性の非小細胞肺癌	対応済み
2018/12/21	キイトルーダ点滴静注 (ペムブロリズマブ (遺伝子組換え)：MSD)	マイクロサテライト不安定性 (MSI-High) を有する固形癌など [効能追加]	対応中
2020/3/25	ビルテプソ点滴静注 (ビルトラルセン：日本新薬)	デュシェンヌ型筋ジストロフィー (エクソン 53 スキッピングにより治療可能)	対応中
2020/3/25	エンハーツ点滴静注用 (トラスツズマブ デルクステカン (遺伝子組換え)：第一三共)	化学療法歴のある HER2 陽性の手術不能又は再発乳癌	対応済み
2020/9/25	アキシャルックス点滴静注 (セツキシマブ サロタロカンナトリウム (遺伝子組換え)： 楽天メディカルジャパン)	切除不能な局所進行又は局所再発の頭頸部癌	対応中

表3 米国の迅速承認制度の下で承認された医薬品（神経系難病）の概要

販売名（成分名）	迅速承認	適応症	通常承認	迅速承認時の有効性評価指標	市販後検証的試験の有効性評価指標
LEQEMBI (lecanemab)	2023年 1月	アルツハイマー病	未	脳内アミロイドβ蓄積量	CDR-SB
ADUHELM (aducanumab)	2021年 6月	アルツハイマー病	未	脳内アミロイドβ蓄積量	CDR-SB
AMONDYS 45 (casimersen)	2021年 2月	エクソン45スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の変異が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー	未	ジストロフィン発現	6分間歩行距離
VILTEPSO (viltolarsen)	2020年 8月	エクソン53スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の変異が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー	未	ジストロフィン発現	立ち上がり時間
VYONDYS 53 (golodirsen)	2019年 12月	エクソン53スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の変異が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー	未	ジストロフィン発現	6分間歩行距離
EXONDYS 51 (eteplirsen)	2016年 9月	エクソン51スキッピングにより治療可能なジストロフィン遺伝子の変異が確認されているデュシェンヌ型筋ジストロフィー	未	ジストロフィン発現	ノース・スター歩行能力評価
NORTHERA (droxidopa)	2014年 2月	原発性自律神経障害（パーキンソン病など）、ドパミンβ水酸化酵素欠損症、非糖尿病性自律性ニューロパチーによる症候性神経原性起立性低血圧症患者の起立性めまい、立ちくらみ	未	起立性低血圧症状評価	起立性低血圧症状評価
TYSABRI (natalizumab)	2004年 11月	多発性硬化症（再発型）	2006年 6月	年間再発率（1年間）	年間再発率（2年間）
BETASERON (interferon beta-1b)	1993年 7月	多発性硬化症（再発完解型）	2003年 3月	年間増悪率	総合障害度スケール（4・6年間）

Establishment of Infrastructure and Promotion of Regulatory Science for Accelerating Clinical Development by the National Center for Neurological Intractable Disorders

Harumasa Nakamura, M.D. Ph.D.
Department of Clinical Research Support,
Clinical Research & Education Promotion Division, National Center Hospital

Objectives

In order to promote the research and development (R&D) of treatments for intractable and rare neurological diseases, we aim to address the challenges identified in the previous research project, "Establishment of Research Infrastructure by the National Center to Promote Clinical Development of Neurological Diseases" (FY2020-2022, Last Year's Research Group). We will propose concrete measures to increase the number of development projects, support physician-initiated clinical trials, and provide research support clinical studies including the use of Real-World Data. Additionally, we will focus on strengthening cooperation with support departments at other facilities, such as biostatisticians and experts in bioethics and research ethics, as well as enhancing collaboration with other NCs and AROs, including the use of external outsourcing. Our goal is to solve these issues with concrete development cases and further promote strategies.

Analysis of the Academic Research Organisation Functions and Promotion of External Collaboration

ARO researchers supported physician-initiated and multi-center clinical trials, securing funding and helping publication. ARO also built and utilized real-world data (RWD) platforms for regulatory use, providing data to companies and supporting various research types. Quality management support included adopting IT platforms for registries and developing QMS, QbD, and RBA-based activities. Biostatistics and bioethics support involved information sharing, protocol development, and addressing RWD biases through hybrid control approaches with other institutes. They also shared external funding efforts and necessary support measures with other clinical research hospitals.

Research Development Strength of NCNP and Focus Areas Based on Overseas Development Trends

The department of Pediatric neurology and neurology regularly collaborated with ARO, discussing seeds and development projects and starting conversations from the funding stage. It is emphasized advancing registries and biorepository cooperation, strengthening links between research institutes and hospitals, and external collaborations, and highlighted the solution of drug loss by importance of clinical research networks, corporate consultation services, and patient association collaborations. The department of neurology focused on zonisamide as a potential treatment for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) by correcting NRG-ErbB4 signaling impairment, starting literature searches and feasibility studies for development.

Standardization of Physical Function Evaluation for Promoting Clinical Development of Neurological Diseases

NCNP continued to accumulate data of physical function evaluation for Parkinson's disease, spinocerebellar degeneration, Duchenne muscular dystrophy (DMD), and ALS. Additionally,

from this fiscal year, they began creating and accumulating datasets for conditions such as spinal muscular atrophy. They are establishing a foundation for generating new insights through the accumulation of data specialized in physical rehabilitation for neurological diseases.

Promotion of collaboration with Support Departments at Other Facilities in Specialized Support

The network with support departments continued, advancing information sharing. Biostatistics study sessions covered clinical research initiatives and analysis methods for trials with missing data. Plans included exchanging opinions with the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA).

Trends in Administrative and Regulatory Science (RS) for Promoting Clinical Research and Trials in Intractable and Rare Disease Areas

The conditional approval system and the US accelerated approval system are discussed and compared for neurological diseases. In addition, the requirements for orphan drug designation and barriers to domestic development of substances approved in the US but not in Japan were discussed. Regulatory science issues varied from field to field, so each issue needed to be addressed.

Future Research Directions

NCNP will continue analyzing its current state and initiate new efforts based on recent development trends in each ARO department. They will explore new support projects, actively present at conferences, and submit papers. Based on this year's RS trend survey, they will identify and address RS issues, aiming to secure research funds such as scientific research grants and AMED.

令和6年7月発行

発行 国立研究開発法人国立精神・神経医療研究センター

編集 国立精神・神経医療研究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
