Table 5. Linkage disequilibrium and haplotype analysis for 22 markers in the candidate region of 16q22.1-linked ADCA type III 8 families

DNA marker	Locus BAC	Haplotype of disease chromosome for 16q-linked ADCA type III pedigrees								Allele pattern	Allele frequency in general population (%)	Linkage disequilibrium (P value)
		P2	P4	P6	P12	P14	P15	T1	T2			
D16S3043	RP11-120P24	2	2	3	4	6	3	4	1	6	—	—
D16S3031	RP11-120P24	9	9	9	9	9	9	9	9	9	68.1	0.113
CTATT01	RP11-292B23	2	3	2	2	2	2	2	2	8	18.6/22.9	—
TAGA02	RP11-292B23	3	5	3	3	3	3	3	3	6	12.2/29.7	—
GGAA05	RP11-93H5	1	6	1	1	1	1	1	2	7	1.4/9.4/13.5	—
D16S3086	RP11-361L15	2	2	2	2	2	2	2	2	3	65.7	0.093
TTCC01	RP11-361L15	4	4	4	4	4	4	4	4	6	60.5	0.0462*
GATA01	RP11-5A19	2	2	2	2	2	2	2	2	5	44.1	0.002*
D16S421	CTC277H1	3	3	3	3	3	3	3	3	4	75.7	0.205
TTTA001	RP11-297D21	4	4	4	4	4	4	4	4	4	65	0.0566
CATG003	RP11-297D21	4	4	4	4	4	4	4	4	6	76.9	0.0519
D16S3085	RP1-167P11	2	2	2	2	2	2	2	2	4	81.8	0.32
D16S3107	RP1-167P11	7	7	7	7	7	7	7	7	7	13.9	<.0001*
AAT01	CTC479C5	2	2	2	2	2	2	2	2	6	47.5	0.0258*
D16S3025	R-615I2	4	4	4	4	4	4	4	4	6	75	0.215
TCTA01	R-615I2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	46	0.0227*
CTTT01	RP11-354N7	8	8	8	8	8	8	8	8	13	28.2	0.0009*
D16S496	RP11-521L9	5	5	5	5	5	5	5	5	5	54.2	0.032*
D16S3067	RP11-123C5	5	5	5	5	5	5	5	5	7	41.9	0.008*
D16S3141	RP11-123C5	3	3	3	3	3	3	3	3	7	44.4	0.011*
GT01	RP11-70O5	6	6	6	6	6	6	6	6	6	15.8	<.0001*
D16S3095	RP11-419C5	2	3	1	1	1	1	1	1	5	—	—

* *P* values show significant linkage disequilibrium by Fisher's exact probability test ($P < 0.05$)

mutation. If this is proven to be true, the mild anticipation observed in our families might be caused by another mechanism, as in SPG4 (Hazan et al. 1999). Obviously, it is still possible that a certain repeat that has a small repeat unit not detected by the RepeatMasker is specifically expanded in our patients. We also do not preclude the possibility of pathogenic expansion of a certain repeat hidden in the remaining small regions, whose nucleotide sequences have not been published. Screening not only dynamic expansion, but also other types of mutation is needed to discover the cause of 16q-linked ADCA type III.

Finally, the fruitfulness of this study may be important not only for 16q-linked ADCA type III, but also for other diseases linked to this chromosomal region. The finding of 11 new polymorphic markers as well as the present BAC contig in chromosome 16q22.1 might be valuable for diseases linked to 16q22.1, such as candidate tumor suppressor genes in breast cancer (Callen et al. 2002).

In conclusion, the finding of a complete BAC contig in 16q22.1, a number of new polymorphic markers, and a common haplotype in 16q-ADCA type III is very useful information for identifying the mutation for 16q-linked ADCA type III. Identification of the disease gene will greatly facilitate diagnosis of SCA patients and will also have an impact on our understanding of complex molecular mechanisms underlying ADCAs.

References

Callen DF, Crawford J, Derwas C, Cleton-Jansen AM, Cornelisse CJ, Baker E (2002) Defining regions of loss of heterozygosity of 16q in breast cancer cell lines. Cancer Genet Cytogenet 133:76–82

David G, Abbas N, Stevanin G, Durr A, Yvert G, Cancel G, Weber C, Imbert G, Saudou F, Antoniou E, Drabkin H, Gemmill R, Giunti P, Benomar A, Wood N, Ruberg M, Agid Y, Mandel JL, Brice A (1997) Cloning of the *SCA7* gene reveals a highly unstable CAG repeat expansion. Nat Genet 17:65–70

Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A, Millasseau P, Marc S, Hazan J, Seboun E, Lathrop M, Gyapay G, Morissette J, Weissenbach J (1996) A comprehensive genetic map of the human genome based on 5264 microsatellites. Nature 380:152–154

Flanigan K, Gardner K, Alderson K, Galster B, Otterud B, Leppert MF, Kaplan C, Ptacek LJ (1996) Autosomal dominant spinocerebellar ataxia with sensory axonal neuropathy (SCA4): clinical description and genetic localization to chromosome 16q22.1. Am J Hum Genet 59:392–399

Gardner K, Alderson K, Galster B, Kaplan C, Leppert M, Ptacek L (1994) Autosomal dominant spinocerebellar ataxia: clinical description of a distinct hereditary ataxia and genetic localization to chromosome 16 (SCA4) in a Utah kindred. Neurology 44:A361

Ginsberg D, Vario G, Chittenden T, Xiao ZX, Xu G, Wydner KL, DeCaprio JA, Lawrence JB, Livingston DM (1994) E2F-4, a new member of the E2F transcription factor family, interacts with p107. Genes Dev 8:2665–2679

Harding AE (1982) The clinical features and classification of the late onset autosomal dominant cerebellar ataxias. A study of 11 families, including descendants of the "the Drew family of Walworth." Brain 105:1–28

Hazan J, Fonkechten N, Mavel D, Paternotte C, Samson D, Artiguenave F, Davoine CS, Cruaud C, Durr A, Wincker P, Brottier P, Cattolico L, Barbe V, Burgunder JM, Prud'homme JF, Brice A, Fontaine B, Heilig B, Weissenbach J (1999) Spastin, a new AAA protein, is altered in the most frequent form of autosomal dominant spastic paraplegia. Nat Genet 23:296–303

Hebinck A, Dalski A, Engel H, Mattei M-G, Hawken R, Schwinger E, Zuhlke C (2000) Assignment of transcription factor NFAT5 to human chromosome 16q22.1, murine chromosome 8D and porcine chromosome 6p1.4 and comparison of the polyglutamine domains. Cytogenet Cell Genet 90:68–70

Herman-Bert A, Stevanin G, Netter JC, Rascol O, Brassat D, Calvas P, Camuzat A, Yuan Q, Schalling M, Dürr A, Brice A (2000) Mapping of spinocerebellar ataxia 13 to chromosome 19q13.3–q13.4 in a family with autosomal dominant cerebellar ataxia and mental retardation. Am J Hum Genet 67:229–235

Holmes SE, O'Hearn EE, McInnis MG, Gorelick-Feldman DA, Kleiderlein JJ, Callahan C, Kwak NG, Ingersoll-Ashworth RG, Sherr M, Sumner AJ, Sharp AH, Ananth U, Seltzer WK, Boss MA, Vieria-Saecker AM, Epplen JT, Riess O, Ross CA, Margolis RL (1999) Expansion of a novel CAG trinucleotide repeat in the 5′ region of PPP2R2B is associated with SCA12. Nat Genet 23:391–392

Imbert G, Saudou F, Yvert G, Devys D, Trottier Y, Garnier JM, Weber C, Mandel JL, Cancel G, Abbas N, Durr A, Didierjean O, Stevanin G, Agid Y, Brice A (1996) Cloning of the gene for spinocerebellar ataxia 2 reveals a locus with high sensitivity to expanded CAG/glutamine repeats. Nat Genet 14:285–291

Ishikawa K, Mizusawa H, Saito M, Tanaka H, Nakajima N, Kondo N, Kanazawa I, Shoji S, Tsuji S (1996) Autosomal dominant pure cerebellar ataxia. A clinical and genetic analysis of eight Japanese families. Brain 119:1173–1182

Ishikawa K, Tanaka H, Saito M, Ohkoshi N, Fujita T, Yoshizawa K, Ikeuchi T, Watanabe M, Hayashi A, Takiyama Y, Nishizawa M, Nakano I, Matsubayashi K, Miwa M, Shoji S, Kanazawa I, Tsuji S, Mizusawa H (1997) Japanese families with autosomal dominant pure cerebellar ataxia map to chromosome 19p13.1–p13.2 and are strongly associated with mild CAG expansions in the spinocerebellar ataxia type 6 gene in chromosome 19p13.1. Am J Hum Genet 61:336–346

Kawaguchi Y, Okamoto T, Taniwaki M, Aizawa M, Inoue M, Katayama S, Kawakami H, Nakamura S, Nishimura M, Akiguchi I (1994) CAG expansions in a novel gene for Machado-Joseph disease at chromosome 14q32.1. Nat Genet 8:221–228

Koide R, Kobayashi S, Shimohata T, Ikeuchi T, Maruyama M, Saito M, Yamada M, Takahashi H, Tsuji S (1999) A neurological disease caused by an expanded CAG trinucleotide repeat in the TATA-binding protein gene: a new polyglutamine disease? Hum Mol Genet 8:2047–2053

Koob MD, Moseley ML, Schut LJ, Benzow KA, Bird TD, Day JW, Ranum LPW (1999) An untranslated CTG expansion causes a novel form of spinocerebellar ataxia (SCA8). Nat Genet 21:379–384

Liquori CL, Ricker K, Moseley ML, Jacobsen JF, Kress W, Naylor SL, Day JW, Ranum LP (2001) Myotonic dystrophy type 2 caused by a CCTG expansion in intron 1 of ZNF9. Science 293:864–867

Lopez-Rodriguez C, Aramburu J, Rakeman AS, Rao A (1999) NFAT5, a constitutively nuclear NFAT protein that does not cooperate with Fos and Jun. Proc Natl Acad Sci USA 96:7214–7219

Matsuura T, Yamagata T, Burgess DL, Rasmussen A, Grewal RP, Watase K, Khajavi M, McCall AE, Davis CF, Zu L, Achari M, Pulst SM, Alonso E, Noebels JL, Nelson DL, Zoghbi HY, Ashizawa T (2000) Large expansion of the ATTCT pentanucleotide repeat in spinocerebellar ataxia type 10. Nat Genet 26:191–194

Miyoshi Y, Yamada T, Tanimura M, Taniwaki T, Arakawa K, Ohyagi Y, Furuya H, Yamamoto K, Sakai K, Sasazuki T, Kira J (2001) A novel autosomal dominant spinocerebellar ataxia (SCA16) linked to chromosome 8q22.1–24.1. Neurology 57:96–100

Nagafuchi S, Yanagisawa H, Ohsaki E, Shirayama T, Tadokoro K, Inoue T, Yamada M (1994) Structure and expression of the gene responsible for the triplet repeat disorder, dentatorubral and pallidoluysian atrophy (DRPLA). Nat Genet 8:177–182

Nagaoka U, Takashima M, Ishikawa K, Yoshizawa K, Yoshizawa T, Ishikawa M, Yamawaki T, Shoji S, Mizusawa H (2000) A gene on SCA4 locus causes dominantly inherited pure cerebellar ataxia. Neurology 54:1971–1975

Nakamura K, Jeong SY, Uchihara T, Anno M, Nagashima K, Nagashima T, Ikeda S, Tsuji S, Kanazawa I (2001) SCA17, a novel autosomal dominant cerebellar ataxia caused by an expanded polyglutamine in TATA-binding protein. Hum Mol Genet 10:1441–1448

Orr HT, Chung MY, Banfi S, Kwiatkowski TJ Jr, Servadio A, Beaudet AL, McCall AE, Duvick LA, Ranum LP, Zoghbi HY (1993) Expansion of an unstable trinucleotide CAG repeat in spinocerebellar ataxia type 1. Nat Genet 4:221–226

Ranum LP, Schut LJ, Lundgren JK, Orr HT, Livingston DM (1994) Spinocerebellar ataxia type 5 in a family descended from the grandparents of president Lincoln maps to chromosome 11. Nat Genet 8:280–284

Sanpei K, Takano H, Igarashi S, Sato T, Oyake M, Sasaki H, Wakisaka A, Tashiro K, Ishida Y, Ikeuchi T, Koide R, Saito M, Sato A, Tanaka T, Hanyu S, Takiyama Y, Nishizawa M, Shimizu N, Nomura Y, Segawa M, Iwabuchi K, Eguchi I, Tanaka H, Takahashi H, Tsuji S (1996) Identification of the spinocerebellar ataxia type 2 gene using a direct identification of repeat expansion and cloning technique, DIRECT. Nat Genet 14:277–284

Strachan T, Read AP (1996) Human molecular genetics. BIOS Scientific, Oxford UK, pp 266–267

Takashima M, Ishikawa K, Nagaoka U, Shoji S, Mizusawa H (2001) A linkage disequilibrium at the candidate gene locus for 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia type III in Japan. J Hum Genet 46:167–171

Verbeek DS, Schelhaas JH, Ippel EF, Beemer FA, Pearson PL, Sinke RJ (2002) Identification of a novel SCA locus (SCA19) in a Dutch autosomal dominant cerebellar ataxia family on chromosome region 1p21–q21. Hum Genet 111:388–393

Vuillaume I, Devos D, Schraen-Maschke S, Dina C, Lemainque A, Vasseur F, Bocquillon G, Devos P, Kocinski C, Marzys C, Destee A, Sablonniere B (2002) A new locus for spinocerebellar ataxia (SCA21) maps to chromosome 7p21.3–p15.1. Ann Neurol 52:666–670

Worth PF, Giunti P, Gardner-Thorpe C, Dixon PH, Davis MB, Wood NW (1999) Autosomal dominant cerebellar ataxia type III: linkage in a large British family to a 7.6-cM region on chromosome 15q14–21.3. Am J Hum Genet 65:420–426

Yamashita I, Sasaki H, Yabe I, Fukazawa T, Nogoshi S, Komeichi K, Takada A, Shiraishi K, Takiyama Y, Nishizawa M, Kaneko J, Tanaka H, Tsuji S, Tashiro K (2000) A novel locus for dominant cerebellar ataxia (SCA14) maps to a 10.2-cM interval flanked by D19S206 and D19S605 on chromosome 19q13.4-qter. Ann Neurol 48:156–163

Zhuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C, Dobyns WB, Subramony SH, Zoghbi HY, Lee CC (1997) Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the alpha 1A-voltage-dependent calcium channel. Nat Genet 15:62–69

ポリグルタミン病

――脊髄小脳失調症 6 型を中心に――

常深泰司　水澤英洋

◎ポリグルタミン病は原因遺伝子の読み枠内の CAG の 3 塩基繰返し配列(リピート)が異常伸長することにより生じる疾患の総称である．CAG の 3 塩基はグルタミンに翻訳されるため，ポリグルタミン病とよばれる．これらの疾患には，球脊髄型筋萎縮症，Huntington 舞踏病，歯状核赤核淡蒼球 Luys 体萎縮症と 6 つの脊髄小脳失調症が含まれるが，すべて神経変性疾患である．このうち脊髄小脳失調症 6 型はわが国で比較的多い疾患で，小脳皮質の Purkinje 細胞が選択的に障害され，Ca^{2+}チャネル$\alpha_1$2.1(α_1A)サブユニットの C 末端に位置するポリグルタミン鎖が異常伸長して発症することがわかっている．近年，脊髄小脳失調症 6 型の発症機序については，ポリグルタミン病としての側面と，Ca^{2+}チャネル異常としての側面の両面からの研究が進んでいる．

Key word：α_1 2.1Ca^{2+} channel subunit，ポリグルタミン，細胞質凝集体，チャネロパチー

ポリグルタミン病には球脊髄型筋萎縮症(SBMA)[1]，Huntington 舞踏病(HD)[2]，歯状核赤核淡蒼球 Luys 体萎縮症(DRPLA)[3,4]，脊髄小脳失調　症 1 型(SCA1)[5]，2 型(SCA2)[6-8]，Machado-Joseph 病 /3 型(MJD/SCA3)[9]，6 型(SCA6)[10]，7 型(SCA7)[11]，17 型(SCA17)[12,13]が含まれる(表 1)が，SBMA を除き常染色体優性の遺伝形式をとる神経変性疾患であり，多くの場合成人発症で，伸長したポリグルタミンの数と発症年齢の間には負の相関を認め，病理学的に核内あるいは細胞質凝集体がみられるなど，共通点が多い．また，遺伝子産物は mRNA，蛋白レベルで全身に広範に分布しているにもかかわらず，病変部位は中枢神経系に疾患選択性に限局しており，多くの疾患では遺伝子産物の機能がわかっていないという特徴がある．

Polyglutamine disease
Taiji TSUNEMI[1,2] and Hidehiro MIZUSAWA[1]：
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経機能病態学(神経内科学)[1]，現・日産厚生会玉川病院神経内科[2]

ポリグルタミン病における病態機序と脊髄小脳失調症 6 型

これらポリグルタミン病では遺伝子産物の機能変化には注目されず，異常伸長したポリグルタミン鎖のもつ細胞傷害性(gain of toxic function)についての研究が進んできた．当初はポリグルタミン病に共通の病理学的所見である核内凝集体に注目が集まり，核内凝集体そのものが細胞傷害性をもつと考えられた時期もあった．しかし，その後の培養細胞[14]やトランスジェニックマウスの研究[15]において，神経細胞死に核内凝集体は必須でないことがわかり，現在では核内凝集体が直接神経細胞に毒性をもつのではなく，むしろ核内に移行した変異蛋白質の一部が転写を阻害することにより細胞傷害性をもつと考えられている．Tsuji らのグループは，伸長したポリグルタミン鎖が転写調節因子である $TAF_{II}130$ と強い親和性をもつことを明らかにした[16]．$TAF_{II}130$ は cAMP-responsible element-binding protein(CREB)依存性の転写活性化因子である．また，Ross らも huntingtin と atropin-1 の伸長ポリグルタミン鎖が transcriptional coactivator である CREB binding protein

表 1　ポリグルタミン病の一覧

病　名	遺伝子	遺伝子座	蛋白質	CAG リピートサイズ	
				normal	disease
球脊髄型筋萎縮症	androgen receptor	Xq13-21	androgen receptor	9〜36	38〜62
Huntington 舞踏病	HD	4p16.3	huntingtin	6〜35	36〜121
歯状核赤核淡蒼球 Luys 体萎縮症	DRRLA	12p13.31	atrophin-1	6〜35	49〜88
脊髄小脳失調症 1 型	SCA1	6p23	ataxin-1	6〜44	39〜82
脊髄小脳失調症 2 型	SCA2	12q24.1	ataxin-2	15〜31	36〜63
Machado-Joseph 病（脊髄小脳失調症 3 型）	MJD1(SCA3)	14q32.1	ataxin-3	12〜40	55〜84
脊髄小脳失調症 6 型	CACNA1A	19p13	α_1 2.1 subunit	4〜19	20〜32
脊髄小脳失調症 7 型	SCA7	13p12-13	ataxin-7	4〜35	37〜306
脊髄小脳失調症 17 型	TBP	6q27	TBP	29〜42	47〜55

(CBP)と結合して転写を阻害することを報告した[17]．SBMA でもポリグルタミン鎖が異常伸長した androgen receptor が CBP と結合すると報告されている[18]．このように，伸長したポリグルタミン鎖が特定の遺伝子の転写を阻害する(gain of toxic function)ことにより，選択的な神経細胞変性を生じる可能性が考えられている．

ところが，脊髄小脳失調症 6 型(SCA6)の場合はほかのポリグルタミン病と異なり，原因遺伝子産物の機能が神経細胞にとって重要であるため，その機能障害(loss of function)によって発症する可能性が考えられてきた．通常，細胞内外では Ca^{2+} は 10,000 倍に及ぶ濃度差があり，細胞内では 10^{-7}M と低く保たれている．SCA6 の原因遺伝子 Ca^{2+} チャネル $\alpha_1$2.1 サブユニットは神経細胞に Ca^{2+} イオンを流入させる主要な膜蛋白であるため，その機能障害は細胞に障害をもたらすと想像される．実際，ヒト $\alpha_1$2.1 サブユニットの変異による疾患はほかにも知られており，一塩基欠失やスプライス異常により発作性失調症 2 型(EA2)が点変異により家族性片麻痺性片頭痛(FHM)が生じる[19]が，これらの変異をもつ Ca^{2+} チャネルの機能は障害され，疾患の病因と深く結びついていると考えられる[20,21]．さらに，この 2 疾患は多くのチャネル病あるいはチャネル異常症(channelopathy)と同様，通常は症状は発作的であるが，なかには SCA6 のように徐々に進行する症例もある[22]．以上のことから，SCA6 の場合はほかのポリグルタミン病と異なり，loss of function により発症する可能性がある．

本稿ではポリグルタミン病であり，かつチャネル病の可能性もある SCA6 について臨床，病理，分子遺伝学ならびに Ca^{2+} チャネル機能の変化について研究の現状を解説する．

SCA6──臨床，病理学的特徴

本症はおもに小脳皮質の Purkinje 細胞が傷害され，ほぼ純粋な小脳皮質症状を呈する．発症年齢は平均 45 歳(20〜66 歳)で緩徐進行性の経過をとる．臨床症状は失調性歩行，四肢の失調，小脳性構音障害，眼振がおもなものであり，小脳以外の症状ははっきりしない．画像上は虫部かつ上面に高度な小脳に限局した萎縮を認める[23]．

画像所見に対応し，病理学的にも小脳虫部および半球の萎縮を認める．光顕所見では Purkinje 細胞の著しい変性，脱落を認めるが，小脳顆粒細胞は比較的保たれる．Purkinje 細胞の脱落の著しい症例では下オリーブ核も障害される[24]．

SCA6──分子遺伝学的特徴

ヒト $\alpha_1$2.1 サブユニット遺伝子(CACNA1A)の CAG リピート数が正常対象群では 5〜19 であるのに対し，SCA6 では 20〜33 と軽度ながら異常伸長が認められた[10,23]．発症年齢と CAG リピート数の相関を検討したところ，有意な逆相関が得られ，SCA6 の発症に CAG リピートおよび翻訳されたポリグルタミン鎖の異常伸長が直接かかわっていることが明瞭に示された．これらのことは，ほかのポリグルタミン病と同様である．しかし，SCA6 にはほかのポリグルタミン病とは異なった特徴が

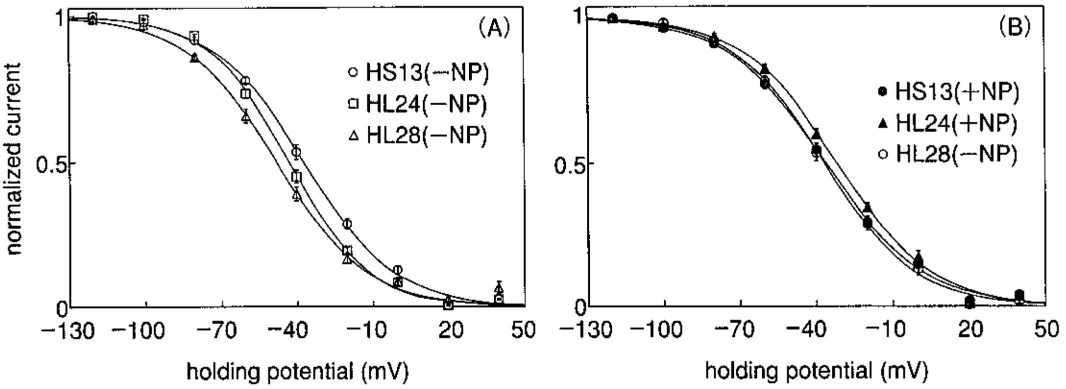

図 1　ポリグルタミン鎖の異常伸長による Ca^{2+} チャネルの機能変化

CAG リピート数が 13 回，24 回，28 回で NP(−)の $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA と NP(+)の $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA を $\alpha_2\delta$ と β_1 サブユニットと共発現させた．その結果，電位依存性の不活性化において NP(−)の Ca^{2+} チャネルでは過分極側へシフトしたのに対し，NP(+)の Ca^{2+} チャネルでは逆に脱分極側へのシフトがみられた．

数多く存在する．まず，SCA6 における CAG リピートの異常伸長はたかだか 33 であり，これはほかの多くのポリグルタミン病では正常範囲である．また，ほかのポリグルタミン病では CAG リピート数は不安定であり，世代間で伸張する表現促進現象がみられるが，SCA6 では CAG リピート数はきわめて安定であり，ごくまれに 1〜数個の伸長が報告されているにすぎない．また，神経細胞変性がかなり選択的であるにもかかわらず，CAG リピート数は脳内の各部位で安定で，いわゆる somatic mosicism を有するほかの CAG リピート病とは異なっている．以上の特徴から，SCA6 の発症はほかのポリグルタミン病とは異なった機序によるのではないかと予想される．さらに，マウス $\alpha_1$2.1 サブユニットの点変異やスプライス異常により tottering や leaner[25]，rolling Nagoya[26] などの変異マウスが生じるが，これらのマウスも小脳失調症を呈する．このことから，SCA6 での Ca^{2+} チャネルの機能変化に注目が集まった．

SCA6――チャネル機能異常

Ca^{2+} チャネルは，電気生理学的・薬理学的に異なった L, N, P, Q, R, T 型の 6 種類に分類されている．また，Ca^{2+} チャネルは α_1，β，$\alpha_2\delta$，γ サブユニットから構成されるが，その機能はメインの構造物である α_1 サブユニットにより決定され，それぞれの型により異なった α_1 サブユニットをもっている．ところが，P 型と Q 型の Ca^{2+} チャネルのみ同じ $\alpha_1$2.1 サブユニットを共有している．しかし，2 種の特性は大きく異なり，P 型は Q 型に比較してきわめて不活性化しにくく，ω-agatoxinIVA に対し感受性が非常に高い[27]．この違いはどのようなメカニズムで生じるのか，いまだ不明であるが，すくなくとも一部は $\alpha_1$2.1 サブユニットの転写後修飾により説明される．たとえば，アスパラギンとプロリン(NP)が欠損した variant は ω-agatoxinIVA の感受性が高くなる，つまり P 型となることが知られている[28]．また，SCA6 でもっとも障害される Purkinje 細胞には NP(−)の P 型 Ca^{2+} チャネルしか発現していないのに対し，比較的障害の軽い顆粒細胞では P 型と Q 型ともに発現している．そこで，著者らは Ca^{2+} チャネル機能に及ぼす CAG リピート数の影響を調べるのにあたり，NP(+)と NP(−)の 2 つのヒト $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA で比較した．実際には CAG リピート 13 回，24 回，28 回で P 型を示す NP(−)の $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA と Q 型を示す NP(+)の $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA を $\alpha_2\delta$ と β_1 サブユニットと共発現させホールセルパッチクランプ法により電気生理学的解析を行った[29]．その結果，NP(−)の P 型 Ca^{2+} チャネルでは電位依存性の不活性化において過分極側へシフトしたのに対し，NP(+)の Q 型では逆に脱分極側へのシフトがみられた(図 1)．これは，Purkinje 細胞では P 型 Ca^{2+} チャネルのみ発現しているため Ca^{2+} の流入低下が起こるが，ほかの神経細胞で

図 2　SCA6 患者の小脳 Purkinje 細胞質における凝集体

SCA6 患者では小脳 Purkinje 細胞の細胞体から近位樹状突起の細胞質に $\alpha_1$2.1 サブユニットに対する抗体で強く認識される凝集体を認める．

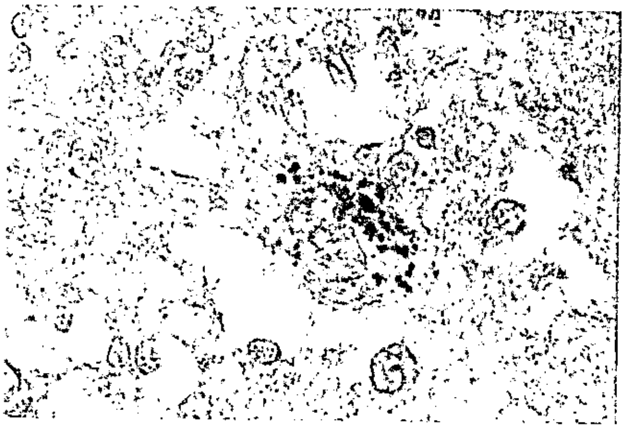

図 3　ポリグルタミンに対する抗体で染色される凝集体

SCA6 患者ではポリグルタミンに対する抗体(IC2)により認識される細かい多数の凝集体を小脳 Purkinje 細胞に認める．

は 2 つの variant がともに発現しているため，Ca^{2+} の流入に変化が起こらないことを意味し，SCA6 における選択的な Purkinje 細胞障害を説明しうる結果であった．ウサギ $\alpha_1$2.1 サブユニット cDNA にヒト CAG リピート部分をつないだキメラ $\alpha_1$2.1 サブユニット(NP(−))を BHK に発現させた実験でも同様の機能変化が報告された[30]．

しかし，その後これらとまったく異なる結果も報告されている．*Xenopus* oocyte での発現実験ではウサギ-ヒトキメラ $\alpha_1$2.1 サブユニットを β_4サブユニットと共発現させたときのみ，ポリグルタミンの異常伸長に伴い電位依存性の活性化において脱分極にシフトし，さらに不活性化が遅れ，Ca^{2+} の流入が増加する方向へ変化するという報告がなされた[31]．また，著者らと同じく HEK293 での発現実験で，ヒト $\alpha_1$2.1 サブユニットの CAG リピート伸長に伴い，膜に移行するチャネル数が増え電流密度が増すという，やはり Ca^{2+}流入が増加する報告もされている[32]．このようにさまざまな相反する結果が出てくる原因は，発現させる $\alpha_1$2.1 サブユニットや培養細胞が各実験で異なっているためと考えられる．

SCA6——病理学的特徴

ポリグルタミン病は変異蛋白が異常凝集し，核内あるいは細胞質に凝集体をつくる共通の病理学的特徴がある．SCA6 ではどうであろうか．著者らはヒト $\alpha_1$2.1 サブユニットの C 末端を認識する抗体をつくり，SCA6 患者脳内の蛋白発現を検討した[33]．その結果，$\alpha_1$2.1 サブユニットは中枢神経系の神経細胞に広く発現していたが，とくに小脳 Purkinje 細胞に強く発現していた．SCA6 ではさらに全例で小脳 Purkinje 細胞の細胞体から近位樹状突起の細胞質に抗体で強く認識されるこん棒状あるいは塊状の凝集体を認めた(図 2)．しかし，ほかのポリグルタミン病と異なり核内凝集体は認めず，この細胞質内凝集体はユビキチン化されていなかった．また，凝集体は SCA6 のみで認められ，ほかのポリグルタミン病では認められていない．

さらにポリグルタミンに対する抗体(IC2)を用いて染色した場合，SCA6 の異常伸長ポリグルタミンはこの抗体が本来認識しない程度の短いものであるが，同抗体により認識される細かい多数の凝集体をやはり小脳 Purkinje 細胞に認めた[34](図 3)．この凝集体はおもに細胞体に存在しているが，一部核内にも認められた．さらに，この凝集体はヒト $\alpha_1$2.1 サブユニットに対する抗体で認識される凝集体と一部共存していた．現在多くの神経変性疾患ではポリグルタミン病の核内凝集体を含め，異常蛋白の構造変化が凝集体を形成すると考えられており，この 2 種類の凝集体は SCA6 の病態機序にほかのポリグルタミン病と同じような異常伸長ポリグルタミンによる gain of toxicity が関与している可能性を示唆している．

おわりに
――gain of toxicity か loss of function か

SCA6ではポリグルタミン鎖の伸長に伴ってチャネル機能の変化が生じ，チャネル蛋白が凝集することが近年の研究でわかってきた．しかし，両者がどのようにしてPurkinje細胞の変性に対して寄与しているのか，gain of toxicityなのかloss of functionなのかの結論は出ていない．とくにチャネル機能の変化を調べるにあたり，培養細胞を用いた実験では実験系そのものの限界にあたっているといえる．よって，今後SCA6は多種類のモデルマウス作製による神経細胞での研究へと進んでいくと考えられる．

また，最近ではgain of toxicityで説明されてきたほかのポリグルタミン病でも遺伝子産物のloss of functionにより神経症状を呈する報告がある．たとえば，Cre/loxPシステムを用いて正常発生後にhuntingtinの発現量を低下させたマウスでは行動異常とともに線状体と大脳皮質の神経細胞の変性が生じた[35]．さらに，ショウジョウバエでのatrophinのノックアウトの実験からヒトatrophin-1が転写を抑制する働きがあり，ポリグルタミン鎖の伸長によりその働きが低下する報告もなされている[36]．このように今後はほかのポリグルタミン病でも遺伝子産物のloss of functionに着目した研究も進んでいくと考えられる．

文献

1) La Spada, A. R. et al.：*Nature*, **352**：77-79, 1991.
2) The Huntington's Disease Collaborative Research Group：*Cell*, **72**：971-983, 1993.
3) Koide, R. et al.：*Nature Genet.*, **6**：9-13, 1994.
4) Nagafuchi, S. et al.：*Nature Genet.*, **8**：177-182, 1994.
5) Orr, H. T. et al.：*Nature Genet.*, **4**：221-226, 1993.
6) Pulst, S. M. et al.：*Nature Genet.*, **14**：269-276, 1996.
7) Sanpei, K. et al.：*Nature Genet.*, **14**：277-284, 1996.
8) Imbert, G. et al.：*Nature Genet.*, **14**：285-291, 1996.
9) Kawaguchi, Y. et al.：*Nature Genet.*, **8**：221-228, 1994.
10) Zhuchenko, O. et al.：*Nature Genet.*, **15**：62-69, 1996.
11) David, G. et al.：*Nature Genet.*, **17**：65-70, 1997.
12) Koide, R. et al.：*Hum. Mol. Genet.*, **8**：2047-2053, 1999.
13) Nakamura, K. et al.：*Hum. Mol. Genet.*, **10**：1441-1448, 2001.
14) Saudou, F. et al.：*Cell*, **95**：55-66, 1998.
15) Klement, I. A. et al.：*Cell*, **95**：41-53, 1998.
16) Shimohata, T. et al.：*Nature Genet.*, **26**：29-36, 2000.
17) Frederick, C. et al.：*Science*, **291**：2423-2428, 2001.
18) McCampbell, A. et al.：*Hum. Mol. Genet.*, **9**：2197-2202, 2000.
19) Ophoff, R. A. et al.：*Cell*, **87**：543-552, 1996.
20) Kraus, R. L. et al.：*J. Biol. Chem.*, **273**：5586-5590, 1998.
21) Wappl, E. et al.：*J. Biol. Chem.*, **277**：6960-6966, 2002.
22) Yue, Q. et al.：*Am. J. Hum. Genet.*, **61**：1078-1087, 1997.
23) Ishikawa, K. et al.：*Am. J. Hum. Genet.*, **61**：336-346, 1997.
24) Ishikawa, K. et al.：*J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **67**：86-89, 1999.
25) Fletcher, C. F. et al.：*Cell*, **15**：607-617, 1996.
26) Mori, Y. et al.：*J. Neurosci.*, **20**：5654-5662, 2000.
27) Wheeler, D. B. et al.：*Prog. Brain Res.*, **105**：65-78, 1995.
28) Bourinet, E. et al.：*Nat. Neurosci.*, **2**：407-415, 1999.
29) Toru, S. et al.：*J. Biol. Chem.*, **275**：10893-10898, 2000.
30) Matsuyama, Z. et al.：*J. Neurosci.*, **19**：RC14, 1999.
31) Restituito, S. et al.：*J. Neurosci.*, **20**：6394-6403, 2000.
32) Piedras-Rentería, E. S. et al.：*J. Neurosci.*, **21**：9185-9193, 2001.
33) Ishikawa, K. et al.：*Hum. Mol. Genet.*, **8**：1185-1193, 1999.
34) Ishikawa, K. et al.：*Neurology*, **26**：1753-1756, 2001.
35) Dragatsis, I. et al.：*Nature Genet.*, **26**：300-306, 2000.
36) Zhang, S. et al.：*Cell*, **108**：45-56, 2002.

*　　*　　*

特集 ポリグルタミン病の病態機序

核内封入体を伴わないポリグルタミン病*

水 澤 英 洋**

脊髄小脳失調症6型（spinocerebellar ataxia type 6：SCA6）は，常染色体優性遺伝性の脊髄小脳失調症で，わが国ではMachado-Joseph病に次いで多く，α_{1A}-Caチャンネル遺伝子のCAGリピートの異常伸長によるポリグルタミン病に属する。ほぼ純粋な小脳失調症状（失調歩行，四肢協調運動障害，眼振，失調性構音障害など）を呈するが，めまいの訴えや垂直性眼振が比較的多く，特徴の一つと思われる。また，同じ遺伝子の異なる変異による反復発作性失調症2型や，家族性片麻痺性片頭痛のように，発作性症状を示すこともある。SCA6の原因遺伝子のリピートは短く非常に安定であるという特徴を有するが，主に障害される小脳プルキンエ細胞においては，他のポリグルタミン病のようなユビキチン化された明瞭な核内封入体はみられず，細胞質内にチャンネル蛋白からなる塊状封入体と，伸長ポリグルタミン鎖を含むと思われる微細顆粒状封入体とがみられる。また，SCA6の遺伝子変異がチャンネル機能の障害をきたすことも知られている。したがって，SCA6の発症機序は他のポリグルタミン病とは異なる可能性があり，その解明に向けてさらなる努力が必要である。

キーワード：脊髄小脳失調症，ポリグルタミン病，核内封入体，カルシウムチャンネル

はじめに

本特集のテーマであるポリグルタミン病は，原因遺伝子の翻訳領域にあるCAGリピートの異常伸長により，ポリグルタミン鎖の異常に伸長した変異蛋白ができて発症する疾患である。そのほとんどが，核内に当該の異常伸長したポリグルタミン鎖を含む，変異蛋白からなる明瞭な封入体を形成することが特徴である。ところが，脊髄小脳失調症6型（spinocerebellar ataxia type 6：SCA6）ではそのような，いわゆる核内封入体は存在しておらず，ポリグルタミン病の中ではきわめてユニークである[1]。本稿ではSCA6の歴史的背景と疫学，臨床的特徴，診断，分子遺伝学的特徴，中枢神経系での原因遺伝子の発現（正常とSCA6における異常），Caチャンネル機能の異常について概説し，発症機序について考察する。

I．SCA6の歴史的背景と疫学

SCA6は，従来の臨床病理学的分類では主に小脳が侵される小脳型に分類され，その中でも小脳皮質が主に障害される，遺伝性皮質性小脳萎縮症（hereditary cortical cerebellar atrophy：HCCA）あるいはHolmes型遺伝性失調症に属している[2,3]。常染色体性優性遺伝性小脳失調症（autosomal dominant cerebellar ataxia：ADCA）を3群に分けたHardingの分類では，第Ⅲ型（ADCCA-Ⅲ）に入る。神経病理学的にプルキンエ細胞

2002年8月6日受稿

* A polyglutamine disease without so-called intranuclear inclusions.

** 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経機能病態学（神経内科学）（〒113-8519 東京都文京区湯島1-5-45）
Hidehiro MIZUSAWA：Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Sciences, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

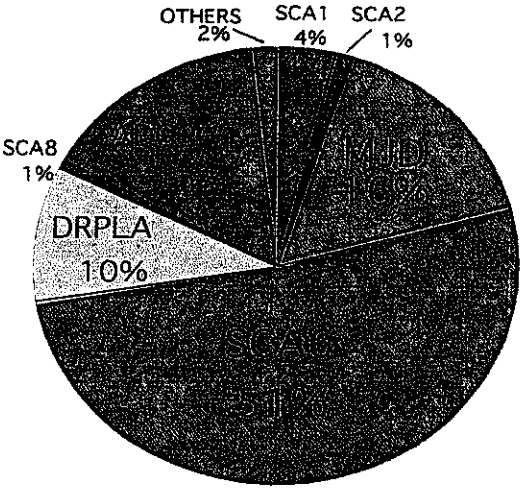

図 1　当教室(101 家系)の遺伝性脊髄小脳失調症の頻度

研究上のバイアスもあり SCA6 の頻度が大きい。また原因遺伝子不明の大部分を占める ADCCA (常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症) は第 16 番染色体に連鎖する病型である。

を中心とする小脳皮質が侵されるが，ときには下オリーブ核も障害されるため，小脳オリーブ核萎縮症(cerebello-olivary atrophy : COA)とも呼ばれる[4,5]。筆者らは，HCCA の原因遺伝子を同定すべく本邦の 15 家系について連鎖解析を行い，9 家系が 19p13.1 に遺伝子座を有することを同定した[6]。その直後，Zuchenko らは CAG リピートの異常伸長を伴う神経変性疾患を検索している過程で見いだした，電位依存性 Ca チャンネルの α_{1A} サブユニットの遺伝子(*CACNA1A*)の変異による失調症を，SCA6 として報告した[7]。筆者らの第 19 番染色体連鎖小脳失調症と SCA6 の遺伝子座がぴったり重なるため，遺伝子変異を検索したところ 8 家系が SCA6 であると判明した。すなわち，本邦の HCCA の約半数が SCA6 という結果であった。残りの半数の家系についても筆者らはさらに連鎖解析を進め，遺伝子座を第 16 番染色体長腕の SCA4 のそれと重複する位置に同定している[8,9]。

本邦では HCCA そのものが多いが，SCA6 は東日本

表 1　SCA6 の臨床的特徴

	当教室	Ikeuchi	Matsumura	Yabe	Schols	Gomez	Geschwind	Stevanin
患者数	89	48	35	43	21	34	12	12
平均発症年齢 (歳)	47.3	52	52.3	47.3	52	45.5	51	45
罹病期間 (年)	17±11.9	8±1	9±6.3	—	11±10	14-16	—	10
小脳性神経症候								
歩行/体幹失調	100	100	94	100	100	91.1	100	75
四肢失調	92.1	100	100	100	100	—	100	—
小脳性言語	95.5	96	80	100	100	88	92	58
眼振	65.1	90	>71	88.3	94	>96.7	>83	—
小脳外神経症候								
眼症状								
外眼筋麻痺	0	0	29	0	36	—	25	0
複視	—	—	—	—	—	44	—	—
錐体外路症状								
振戦	6.7	23	—	—	6	—	0	—
ミオクローヌス	4.5	—	—	—	0	—	—	—
ジストニア	0	15	—	—	0	—	8	—
choreoathetosis	1.1	—	—	—	—	—	—	—
筋固縮	0	—	—	—	6	—	—	—
アキネジア	0	—	—	—	6	—	—	—
錐体路徴候								
下肢痙縮	5.6	—	3	—	35	—	33	0
Babinski 徴候	1.1	6	—	7	0	41.7	0	0
振動覚低下	4.5	8	43 (深部覚)	18.6	35	—	58	—
嚥下障害	3.4	—	26	—	50	—	—	33
記銘力障害，痴呆	2.2	8	—	—	0	5.9	0	—
膀胱直腸障害	2.2	6	6	—	6	—	—	—
その他								
繰り返すめまい	0 (3.4)	—	—	—	0	62	41.6	—
発作性失調症状	0	—	—	—	0	17	33	—

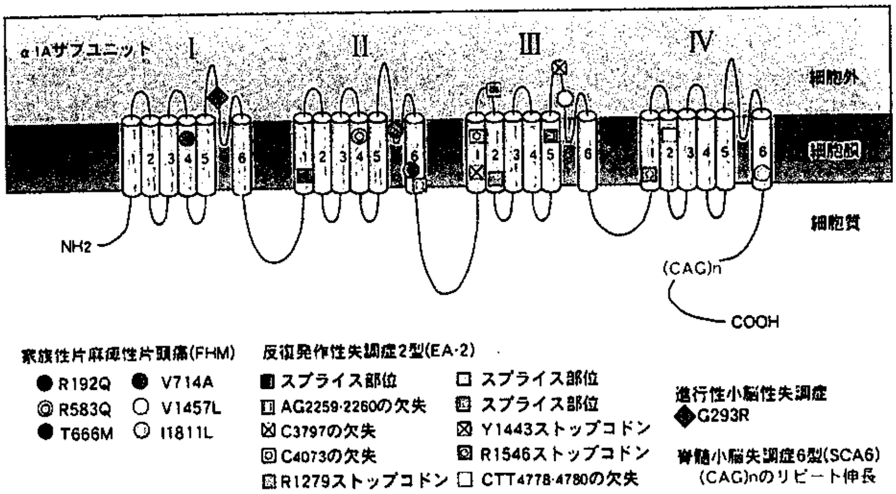

図 2 電位依存性 Ca チャンネル α1A サブユニット分子のシェーマ
変異の種類・部位とその異常で生じる疾患

では Machado-Joseph 病 (MJD) に次いで多く，西日本では最も多い SCA と報告されている[10]。したがって，本邦の SCA6 の頻度はかなり高く，かつ地域差があると思われる。図 1 に当教室での各 SCA の割合を示す。今後，全国レベルでの正確な統計が望まれる。また，世界的にはドイツや米国では優性遺伝性小脳失調症の約 10% と報告されているが，フランスでは約 1% であり，地域性があり国により大きく異なる可能性がある[11〜14]。

II．SCA6 の臨床的特徴

筆者らの観察では，SCA6 の発症年齢は平均 45 歳 (20〜66 歳) で，経過は緩徐進行性であり，診察時の罹病期間は平均 16.5 年であった[6]。他の文献報告も併せ臨床症状は，小脳性失調性歩行，四肢の失調，小脳性構音障害，注視眼振が主体であった (表 1)[6,11〜16]。小脳以外の症状には腱反射の亢進や低下，病的反射，痙性，ジストニアなどの不随意運動，深部感覚低下，末梢神経障害，括約筋障害，痴呆など様々な症状が報告されているが，筆者らの経験ではまれであり，報告間でも頻度に多くの隔たりがあり，さらに病理学的検索でも小脳と下オリーブ核以外に，症状を説明しうる明らかな病変は指摘されていない[17〜24]。本症の患者はかなり高齢であることや頸椎症，糖尿病など合併症の有無と程度も考慮して，今後これらの症状のどれが原疾患によるものかを明らかにしていく必要がある。

一方，本症では，“めまい”や動揺視の訴えが比較的多く，眼振でも垂直方向とくに下眼瞼向きの眼振の頻度が高いとの印象がある[25〜30]。実は，*CACNA1A* の点変異や欠失などで家族性片麻痺性片頭痛 (familial hemiplegic migrain：FHM)，反復発作性失調症 2 型 (episodic ataxia type 2：EA2) が生じることが知られており (図 2)[31〜34]，SCA6 でも CAG リピートが 20 回〜軽微伸長である例などで，持続的な失調症状以前に眼振を含む反復発作性の失調症状や，“めまい”を呈する例が報告されている。これらのめまいや垂直性眼振，また反復発作性の症状は SCA6 に特徴的であり，他の SCA との鑑別診断上有用である。

臨床検査で最も重要なのは MRI による画像所見で，虫部かつ上面に高度な小脳萎縮をみるが，脳幹や大脳は保たれる[35,36]。しかしまれには橋の萎縮もみられたとの報告があり，注意を要する[37]。

III．SCA6 の診断

常染色体優性遺伝性の家族歴を呈して，ほぼ純粋な小脳失調症を呈する患者を診たときは SCA6 の可能性が高い。しかし，いくつか注意する点がある。まず，本邦の HCCA のなかで SCA6 は約半数にすぎない。また，前述のように SCA6 でも小脳症候以外の症候を伴ったり，MRI 上脳幹の萎縮を示すこともあることや，逆に MJD などの多系統萎縮症型の SCA であってもリピート数が小さければ軽症で，小脳症候のみを呈するときもある[38]。さらに，SCA6 が高齢発症であることもあり，孤発例の中にこの遺伝子変異を有するものがあり，SCA6 はいわゆる遅発性皮質性小脳萎縮症の鑑別診断に入ってくる。したがって，臨床的に SCA6 が疑われる場合でも，遺伝子検索により診断を確定することが望ましい。なお，*CACNA1A* の点変異でも EA2 や FHM だけでなく，進行性小脳失調症を来すことが報告されており，鑑別上考慮する必要がある[39]。

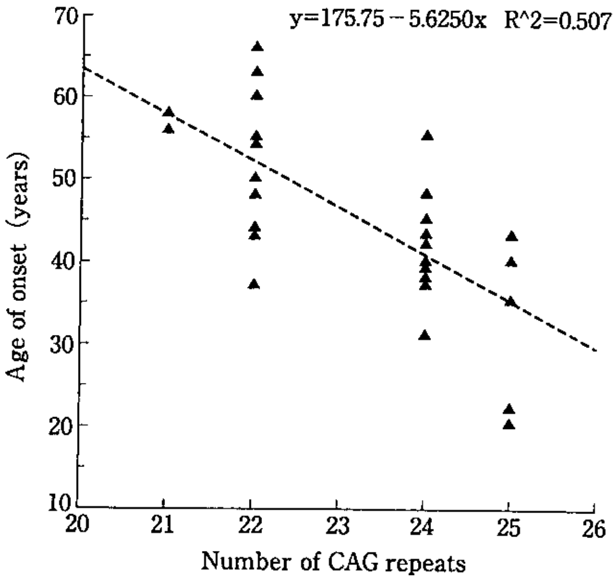

図 3　SCA6 の発症年齢と *CACNA1A* の CAG リピート数との相関（文献 6 より引用）

Ⅳ．SCA6 の分子遺伝学的特徴

筆者らの最初の検索では *CACNA1A* の CAG リピートが，正常対照群では 5 から 20 であるのに対して，SCA6 では 21 から 24 と軽度ながら異常伸長が認められた。その後 20 の症例で後述の特異的封入体を見出しており，20～33 が疾患の範囲として確定している。実は臨床例ではリピート数 19 の報告もあり，下限はさらに小さくなる可能性がある[40]。このようにリピート数は小さいものの，発症年齢と CAG リピート数の相関を検討したところ有意な逆相関が得られ，CAG リピートの異常伸長が SCA6 の発症に原因として関わっていることが明瞭に示された（図 3）[6]。すなわち SCA6 は CAG リピート病あるいはポリグルタミン病の一つである。本症が高齢発症であること，またリピート数の正常域と疾患域が近接していることを考慮すると，一見孤発例と思われる中に SCA6 が紛れ込んでいる可能性や，de novo の変異，すなわち CAG リピートの異常伸長により孤発例として発症することが予想されるが，実際にそのような報告がなされている[41]。ちなみに健常者の中で疾患域に近いリピート数（中間型）を持つ者の割合を比較すると，SCA6 や歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症（DRPLA）などの本邦に多い疾患の遺伝子については本邦に多く，逆に Huntington 病や SCA1 のように欧米に多い疾患の遺伝子については欧米に多いことが知られ，中間型からのさらなる伸長により発症に至るものと思われる[42]。

SCA1，SCA2，MJD，SCA7，DRPLA，Huntington 病，球脊髄筋萎縮症など典型的ポリグルタミン病では，CAG リピート数は正常で 3～44 くらいであり，疾患では 34～88 くらいである。SCA6 ではリピート数は正常でも少なく，異常伸長といってもたかだか 30 前後であり，他の CAG リピート病では正常範囲に入ってしまう大きさである。また，他のポリグルタミン病では CAG リピートは不安定で世代間で伸長し，それに対応して表現促進現象（anticipation）がみられるが，SCA6 では CAG リピート数は世代間できわめて安定であり，ごくまれに 1～数個の伸長が報告されているに過ぎない。SCA6 でも表現促進現象がみられたとの報告はあり，筆者らも個々の家系では表現促進を示すものも経験しているが，家系全体としては有意なものはみられなかった[6]。また，この異常をホモ接合体で有する症例についても，発症年齢がやや若年化したとの報告はあるものの，自験例も含め遺伝子異常の量的な効果が全くみられない症例もある。このことは，同じリピート数を有していても発症年齢は最大約 30 年異なっており（図 3），発症には CAG リピートの異常伸長以外の要因も関わっていると思われることと関係しているかもしれない。CAG リピート数を脳の各部位で検索したが，全て末梢血と同一であり，皮質と白質の違いもなかった[19]。すなわち SCA6 のリピートは，他のポリグルタミン病と異なり減数分裂でも，体細胞分裂でもきわめて安定であることを示している。

Ⅴ．中枢神経系とそこでの *CACNA1A* の発現：正常と SCA6 における異常

CACNA1A の mRNA には 6 種類のスプライスバリアントが知られているが，GGCAG 挿入の有無により CAG リピートのあるものとないものに大別される。正常対照ではこの両者が発現しているのに対して，SCA6 すなわち CAG リピートの異常伸長した DNA からは，CAG リピートを持たないものはほとんどみられず，CAG リピートを持つもの，すなわち変異蛋白を翻訳するほうへ偏った発現をしている[43]。この *CACNA1A* の mRNA は，正常では大脳の各部位，脳幹から脊髄に至るまで中枢神経系全体に，ほぼ均等に発現していたが小脳で際だって多く，in situ hybridyzation ではほとんど全ての神経細胞の細胞質にびまん性に反応がみられた。小脳では顆粒細胞にもよくみられるが，とくにプルキンエ細胞に強く発現していた。α_{1A}-Ca チャンネル蛋白の発現は，ポリグルタミンを有するチャンネル蛋白のみを認識する C 末端に対する抗体と，ポリグルタミンを持たない短い蛋白をも認識する中央部分に対する抗体を用いて免疫組織化学的に検索した。α_{1A}-Ca チャンネル蛋白も中枢神経系の神経細胞に広汎に

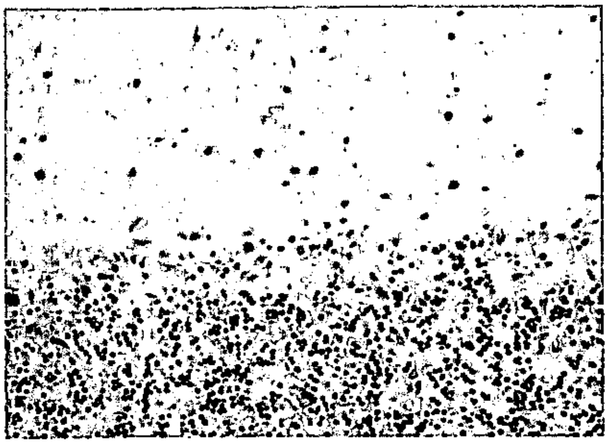

図 4　SCA6 の神経病理所見
小脳虫部に優位なプルキンエ細胞の脱落がみられる
(HE 染色，×75)

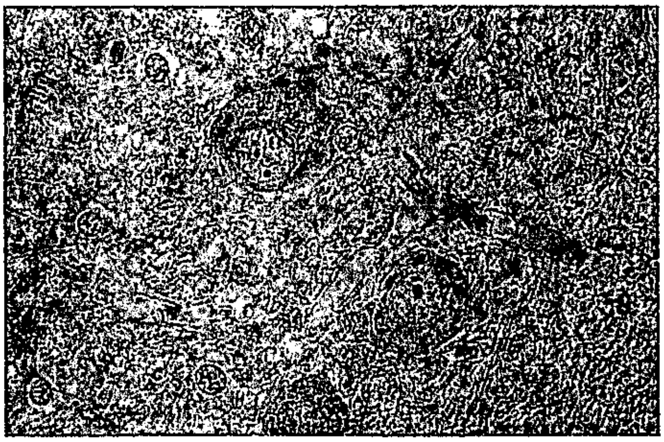

図 5　Machado-Joseph 病の神経細胞核内封入体
橋核神経細胞の核内にユビキチン陽性の明瞭な封入体がみられる (抗ユビキチン抗体による免疫染色，×100)

表 2　3 例の SCA6 脳における形態計測 (文献 19 より引用)

	プルキンエ細胞 (cells/mm)			顆粒細胞 ($\times 10^6$cells/mm^3)			下オリーブ核 ($\times 10^2$cells/mm^3)
	虫部上面	半球上面	扁桃	虫部上面	半球上面	扁桃	
コントロール (n=5，平均値)	5.64	5.88	5.93	2.24	2.21	2.16	150.83
Patient 1	0.42	4.74	4.52	1.67	1.86	2.12	135.47
Patient 2	0.37	5.12	5.27	1.02	2.03	2.15	129.95
Patient 3	0.31	0.97	2.53	0.77	1.50	1.84	76.26

—— 高度の神経細胞脱落，------ 中等度の神経細胞脱落

発現していたが，プルキンエ細胞にとくに強く認められ，mRNA の発現パターンと同様であった[43]。

SCA6 は高齢発症，比較的軽症であることも関係していると思われるが，神経病理の報告は少なく，主に小脳皮質の変性が知られていたが，その詳細は不明であった。そこで神経病理学的に詳細に形態計測したところ，SCA6 では小脳プルキンエ細胞が虫部上面優位に脱落し，半球のプルキンエ細胞，顆粒細胞，下オリーブ核細胞の変性・脱落は，虫部のプルキンエ細胞消失が高度の症例で初めて明瞭であった (図 4，表 2)[19]。かつて Holmes が自ら報告した小脳失調症について，プルキンエ細胞の消失が一次的であり，下オリーブ核神経細胞の変化は二次的であると考察したが，それと矛盾しない結果であった[3]。

SCA6 における α_{1A}-Ca チャンネル蛋白の発現は，正常でみられた広汎な発現に加え，プルキンエ細胞の細胞体から近位樹状突起の細胞質内に，桿状あるいは塊状の 1〜2 個の陽性構造物を認めた (図 5)。免疫電子顕微鏡的には線維状構造が一部は束状になっており，顆粒状物質も混在した凝集体 (封入体) であった (図 6)[43]。しかし，MJD 等でみられるいわゆる核内封入体はなく，この細胞質内封入体もユビキチン化はされていない点で，他のポリグルタミン病とは大きく異なっている。典型的ポリグルタミン病の核内封入体は，異常伸長したポリグルタミン鎖のみを認識するといわれている抗体 1C2 にて陽性に染色されることから，SCA6 においても検索したところ，プルキンエ細胞の細胞質内に小〜微細顆粒状陽性構造物が多数認められ，一部は核内にも存在するかのようにみえている (図 7)[44]。SCA6 での異常伸長ポリグルタミンは 19〜33 個であることからは単純には予測しがたい結果である。この両封入体の関係は，一部の微細顆粒では両者共存しているが，大きなチャンネル蛋白陽性封入体は必ずしも 1C2 陽性ではなく，完全な一致はみられない。いずれの封入体も SCA6 にのみ，しかもプルキンエ細胞にのみ認められており，きわめて特異的である。このことは SCA6 の発症機序の研究に重要な手がかりを与えるとともに，SCA6 は小脳組織標本の免疫組織

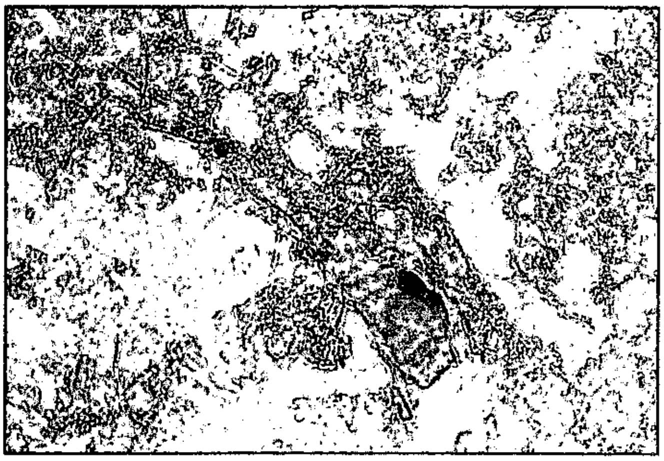

図 6 SCA6 におけるプルキンエ細胞の封入体 I
プルキンエ細胞の細胞体内や近位樹状突起内に塊～顆粒状の封入体がみられる。
(抗 α_{1A}-Ca チャンネル抗体による免疫染色，×250)

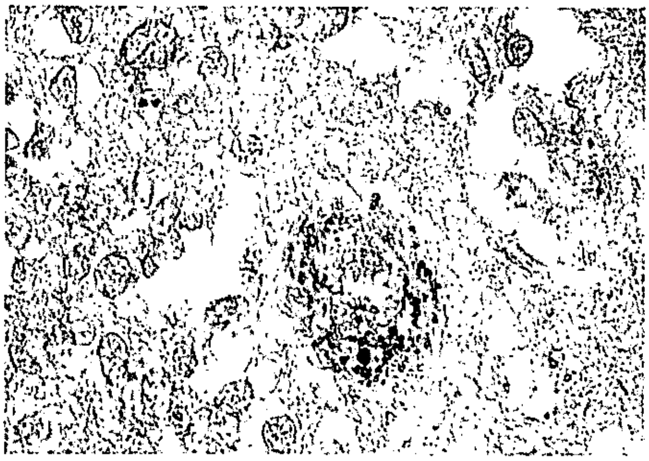

図 7 SCA6 におけるプルキンエ細胞の封入体 II
多くのプルキンエ細胞の細胞質内に多数の微細顆粒状の封入体がみられる。ごく一部は核内にも存在するようにみえる。(1C2 による免疫染色，×250)

化学的検索で，診断が確定できることを示している。

VI. SCA6 における Ca チャンネル機能の異常

Ca チャンネルは α，β，γ，δ などのサブユニットから成り，中でも α_1 サブユニットは Ca イオンの透過孔を形成する主要な分子であり，多くの種類が知られている。α_{1A}サブユニットは前述のように中枢神経系に広汎に発現しており，電気生理学的・薬理学的には P/Q 型の性質を示すことが知られている。ポリグルタミン鎖は α_{1A}-Ca チャンネルの C 末端に近い細胞質内領域に存在し，Ca^{2+}の通過孔からは離れているが（図 2），その異常伸長が何らかのチャンネル機能の障害を来すことは十分にありうると思われる。筆者らは SCA6 患者からクローニングした変異 α_{1A}-Ca チャンネル遺伝子を培養 HEK293 細胞に導入して，Ca チャンネル機能の変化を検討した[45]。なお，最近 Bourinet らはドメインIVのアスパラギン・プロリン（NP）の有無により，P 型と Q 型の違いが生じる可能性を報告しており，筆者らも両者のコンストラクトを準備した[46]。すなわち，CAG リピートがそれぞれ 13 回，24 回，28 回であり，かつ NP（−）の P 型ヒト α_{1A}-Ca チャンネル遺伝子 cDNA，あるいは NP(＋)の Q 型ヒト α_{1A}-Ca チャンネル遺伝子 cDNA とを導入して，ホールセル・パッチクランプ法により解析した。その結果，P 型チャンネル機能については，電流密度，活性化のキネティクス，電位依存性活性化については差がなかったが，電位依存性不活性化について CAG リピートが伸長するにしたがって，不活性化曲線の過分極側へのシフトが見られた。なお，ウサギの α_{1A}-Ca チャンネル遺伝子 cDNA に，ヒトの CAG リピート部分をつないだキメラ α_{1A}コンストラクトを用いた実験では，リピート数が 30 回以上で初めて同様の結果が報告されている[47]。このことは変異遺伝子を有する細胞では，静止膜電位付近における利用可能な Ca チャンネルが減少し，Ca 流入は減少することを示唆している。一方，NP 挿入のある Q 型チャンネル機能については，リピート数が 28 回のもので不活性化曲線が逆に脱分極側にシフトしていた。これらは P 型のみを発現しているプルキンエ細胞では，過分極側へのシフトが細胞の変性（機能障害および/あるいは細胞死）に関わっており，P 型，Q 型ともに発現している顆粒細胞では，両チャンネルによる相殺機転により変性が軽度であるという説明に合致する結果である。詳細なメカニズムは不明であるが，Ca 流入の減少で細胞死が生じるとの報告もある[48,49]。しかし，別の二つの報告では SCA6 変異により Ca 流入はむしろ増加するとされている[50,51]。このような異なる結果が得られる理由については，用いたコンストラクトや細胞種類の相違があげられているが，単一プルキンエ細胞からクローニングした cDNA を用いても，なおプルキンエ細胞以外の培養細胞では真の P 電流が得られないということも関係していると思われる[52]。いずれにせよ，SCA6 におけるチャンネル機能の変化についてはまだ確定しておらず，今後 SCA6 の動物モデルを含め，プルキンエ細胞そのものを用いるなど，さらなる検討が必要である。なお，動物モデルとして α_{1A}-Ca チャンネル遺伝子の点変異などにより，常染色体劣性遺伝性の欠神発作や小脳失調を来す tottering mouse (*tg*)[53]，leaner mouse (tg^{la})[54]，rolling

mouse Nagoya (tg^{rol})[55]などが知られている。これらのモデルのプルキンエ細胞は選択的細胞死を示さず，チャンネル機能の障害によりCa流入が40～60%も減少するとされており，チャンネル機能異常が失調症の主な原因と思われている。しかし，ここでも顆粒細胞病変の関与など，まだ解明すべき点も多い。

Ⅶ. SCA6の発症機序について

SCA6は，*CACNA1A*のCAGリピートの異常伸長を一次的原因として，プルキンエ細胞に優位ないし選択的な変性，すなわち機能障害や細胞死をきたす。この変性細胞の選択性については，原因遺伝子のメッセージ，蛋白ともにプルキンエ細胞に他よりも格段に多く発現していることで,ある程度は説明可能と思われる。さらに，原因蛋白や異常伸長ポリグルタミン鎖を含む2種類の疾患特異的かつプルキンエ細胞特異的封入体が存在することは，この考えを支持している。なお，これらの封入体は，他のポリグルタミン病と異なりユビキチン化された明瞭な核内封入体ではなく，いずれも主に細胞質内に存在するが，1C2で認識されるもののごく一部は核内にも局在する可能性があり，他のポリグルタミン病と共通するメカニズムが存在する可能性もある。その場合,最も短いリピートに属するSCA6における発症機序の解明が，他のポリグルタミン病の病態解明にも役立つと期待される。さらに，SCA6では他のポリグルタミン病と異なり，原因蛋白の機能はα_{1A}-Caチャンネルと判明している。培養細胞レベルではあるがSCA6の遺伝子変異により，確かにチャンネル機能の障害が存在すると思われる点も重要である。もちろん，その詳細な内容と程度の解明，さらにはin vivoでの発症への寄与などは今後の課題である。

文　献

1) 水澤英洋：脊髄小脳失調症6型―電位依存性Caチャンネルα_{1A}サブユニット遺伝子のCAGリピート異常伸長―. 脳の科学 20：505-510, 1998
2) 水澤英洋：神経症候群―その他の神経疾患を含めて―II Holmes型皮質性小脳萎縮症. 別冊・日本臨牀 N0.27, 諏訪庸夫・編, 日本臨牀社, 大阪, 1999, pp231-234
3) Holmes G：A form of familial degeneration of the cerebellum. Brain 30：466-489, 1907
4) 水澤英洋：神経症候群―その他の神経疾患を含めて―II小脳オリーブ核萎縮症. 別冊・日本臨牀 No. 27, 諏訪庸夫・編, 日本臨牀社, 大阪, 1999, 239-242
5) Eadie MJ：Cerebello-olivary atrophy (Holmes type). In：Handbook of clinical neurology. Vol 21, Hereditary neuropathies and spinocerebellar atrophies. eds by Vinken PJ, Bruyn GW, North-Holland Publish, Amsterdam, 1957, pp403-414
6) Ishikawa K, Tanaka H, Saito M, Watanabe M, Ohkoshi N, Fujita T, Yoshizawa K, Takiyama Y, Nishizawa M, Nakano I, Matsubayashi K, Miwa M, Shoji S, Kanazawa I, Tsuji S, Mizusawa H：Japanese families with autosomal dominant pure cerebellar ataxia map to chromosome 19p, and show strong association with mild CAG expansions in the spinocerebellar ataxia type 6 gene in chromosome 19p13.1. Am J Hum Genet 61：336-346, 1997
7) Zuchenko O, Bailey J, Bonnen P, Ashizawa T, Stockton DW, Amos C, Dobyns WS, Subrany SH, Zoghbi HY, Lee CC：Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6) associated with small polyglutamine expansions in the α_{1A}-voltage-dependent calcium channel. Nature Genetics 15：62-69, 1997
8) Nagaoka U, Takashima M, Ishikawa K, Yoshizawa K, Yoshizawa T, Ishikawa M, Yamawaki T, Shoji S, Mizusawa H：A gene on SCA4 locus causes dominantly inherited pure cerebellar ataxia. Neurology 54：1971-1975, 2000
9) Takashima M, Ishikawa K, Nagaoka U, Shoji S, Mizusawa H：A linkage disequilibrium at the candidate gene locus for 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia type III in Japan. J Hum Genet 46：167-171, 2001
10) 水澤英洋：遺伝性運動失調症の臨床. 神経進歩 44：999-1007, 2000
11) Riess O, Schoels L, Boettger H, Nolte D, Vieira-Saecker AMM, Schmming C, Kreuz F, Macek Jr M, Krebsova A, Macek Sen. M, Klockgether T, Zuehlke C, Laccone FA：SCA6 is caused by moderate CAG expansion in the α_{1A}-voltage-dependent calcium channel gene. Hum Mol Genet 6：1289-1293, 1997
12) Schoels L, Amoiridis G, Buettner T, Przuntek H, Epplen JT, Riess O：Autosomal dominant cerebellar ataxia：Phenotypic differences in genetically defined subtypes? Ann Neurol 42：924-932, 1997
13) Geschwind DH, Perlman S, Figueroa KP, Karrim J, Baloh RW, Pulst SM：Spinocerebellar ataxia type 6. Frequency of the mutation and genotype-phenotype correlations. Neurology 49：1247-1251, 1997
14) Stevanin G, Durr A, David G, Didierjean O, Cancel G, Rivaud S, Tourbah A, Warter JM, Agid Y, Brice A：Clinical and molecular features of spinocerebellar ataxia type 6. Neurology 49：1243-1246, 1997
15) Matsumura R, Futamura N, Fujimoto Y, Yanagimoto S, Horikawa H, Suzumura A, Takayanagi T：Spinocerebellar ataxia type 6. Molecular and clinical features of 35 Japanese patients including one homozygous for the CAG repeat expansion [see comments]. Neurology 49：1238-1243, 1997
16) Ikeuchi T, Takano H, Koide R, Horikawa Y, Honma Y, Onishi Y, Igarashi S, Tanaka H, Nakao N, Sahashi K, Tsukagoshi H, Inoue K, Takahashi H, Tsuji S：Spinocerebellar ataxia type 6：CAG repeat expansion in α_{1A} voltage-dependent calcium channel gene and clinical variations in Japanese population. Ann Neurol

42：879-884, 1997
17) 水澤英洋，吉沢和朗，金澤一郎，他：Holmes 型小脳皮質萎縮症の 1 家系．神経内科 26：257-264, 1987
18) Subramony SH, Fratkin JD, Manyam BV, Currier RD：Dominantly inherited cerebello-olivary atrophy is not due to a mutation at the spinocerebellar ataxia-I, Machado-Joseph disease, or dentatorubro-pallido-Luysian atrophy locus. Mov Disord 11：174-180, 1996
19) Ishikawa K, Watanabe M, Yoshizawa K, Fujita T, Iwamoto H, Yoshizawa T, Harada K, Nakamagoe K, Komatsuzaki Y, Satoh A, Doi M, Ogata T, Kanazawa I, Shoji S, Mizusawa H：A clinical, neuropathological and molecular study in two families with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). J Neurol Neurosurg Psychiatry 67：86-89, 1999
20) Tsuchiya K, Miyazaki H, Akabane H, Yamamoto M, Kondo H, Mizusawa H, Ikeda K：MELAS with prominent white matter gliosis and atrophy of the cerebellar granular layer：a clinical, genetic, and pathological study. Acta Neuropathol 97：520-524, 1999
21) Takahashi H, Ikeuchi T, Honma Y, Hayashi S, Tsuji S：Autosomal dominant cerebellar ataxia (SCA6)：clinical, genetic and neuropathological study in a family. Acta Neuropathol 95：333-337, 1998
22) Sasaki H, Kojima H, Yabe I, Tashiro K, Hamada T, Sawa H, Hiraga H, Nagashima K：Neuropathological and molecular studies of spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). Acta Neuropathol 95：199-204, 1998
23) Tashiro H, Suzuki SO, Hitotsumatsu T, Iwaki T：An autopsy case of spinocerebellar ataxia type 6 with mental symptoms of schizophrenia and dementia. Clinical Neuropathol 18：198-204, 1999
24) Yang Q, Hashizume Y, Yoshida M, Wang Y, Goto Y, Mitsuma N, Ishikawa K, Mizusawa H：Morphological Purkinje cell changes in spinocerebellar ataxia type 6. Acta Neuropathol 100：371-376, 2000
25) Gomez CM, Thompson RM, Gammack JT, Perlman SL, Dobyns WB, Truwit CL, Zee DS, Clark HB, Anderson JH：Spinocerebellar ataxia type 6：Gaze-evoked and vertical nystagmus, Purkinje cell degeneration, and variable abe of onset. Ann Neurol 42：933-950, 1997
26) Jodice C, Mantuano E, Veneziano L, Trettel F, Sabbadini FG, Calandriello L, Francia A, Spadaro M, Pierelli F, Salvi F, Ophoff RA, Frants RR, Frontali M：Episodic ataxia type 2 (EA2) and spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) due to CAG repeat expansion in the CACNA1A gene on chromosome 19p. Hum Mol Genet 6：1973-1978, 1997
27) Jen JC, Yue Q, Karrim J, Nelson SF, Baloh RW：Spinocerebellar ataxia type 6 with positional vertigo and acetazolamide responsive episodic ataxia. J Neurol Neurosurg Psychiatry 65：565-568, 1998
28) Harada H, Tamaoka A, Watanabe M, Ishikawa K, Shoji S：Downbeat nystagmus in two siblings with spinocerebellar ataxia type 6 (SCA 6). J Neuro Sci 160：161-163, 1998
29) 矢部一郎，佐々木秀直，山下　功，武井麻子，深澤俊行，濱田　毅，田代邦雄：Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) の初期症状ならびに神経症候の推移に関する検討．臨床神経 38：489-494, 1998
30) Takeichi N, Fukushima K, Sasaki H, Yabe I, Tashiro K, Inuyama Y：Dissociation of smooth pursuit and vestibulo-ocular reflex cancellation in SCA-6. Neurology 54：860-866, 1999
31) 長岡詩子，水澤英洋：ヒトの反復発作性失調症 2 型，家族性片麻痺性片頭痛 1 型，脊髄小脳失調症 6 型，"進行性小脳失調症"．脳の科学 21：95-99, 1999
32) Ophoff RA, Terwindt GM, Vergouwe MN, van Eijk R, Oefner PJ, Hoffman SM, Ferrari MD, Frants RR：Familial hemiplegic migraine and episodic ataxia type-2 are caused by mutations in the Ca^{2+}channel gene CACNL1A4. Cell 87：543-552, 1996
33) Denier C, Ducros A, Vahedi K, Joutel A, Thierry P, Ritz A, Castelnovo G, Deonna T, Gerard P, Devoize JL, Gayou A, Perrouty B, Soisson T, Autret A, Warter JM, Vighetto A, Van BP, Alamowitch S, Roullet E, Tournier LE：High prevalence of CACNA1A truncations and broader clinical spectrum in episodic ataxia type 2. Neurology 52：1816-1821, 1999
34) Ducros A, Denier C, Joutel A, Cecillon M, Lescoat C, Vahedi K, Darcel F, Vicaut E, Bousser M-G, Tournier-Lasserve E：The clinical spectrum of familial hemiplegic migrane associated with mutations in a neuronal calcium channel. N Engl J Med 345：17-24, 2001
35) Murata Y, Kawakami H, Yamaguchi S, Nishimura M, Kohriyama T, Ishizaki F, Matsuyama Z, Mimori Y, Nakamura S：Characteristic magnetic resonance imaging findings in spinocerebellar ataxia 6. Arch Neurol 55：1348-1352, 1998
36) Satoh JI, Tokumoto H, Yukitake M, Matsui M, Matsuyama Z, Kawakami H, Nakamura S, Kuroda Y：Spinocerebellar ataxia type 6：MRI of three Japanese patients. Neuroradiology 40：222-227, 1998
37) Sugawara M, Toyoshima I, Wada C, Kato K, Ishikawa K, Hirota K, Ishiguro H, Kagaya H, Hirata Y, Imota T, Ogasawara O, Masamune O：Pontine atrophy in spinocerebellar ataxia type 6. Eur Neurol 43：17-22, 2000
38) Ishikawa K, Mizusawa H, Igarashi S, Takiyama Y, Tanaka H, Ohkoshi N, Shoji S, Tsuji S：Pure cerebellar ataxia phenotype in Machado-Joseph disease. Neurology 46：1776-1777, 1996
39) Yue Q, Jen JC, Nelson SF, Baloh RW：Progressive ataxia due to a missense mutation in a calcium-channel gene. Am J Hum Genet 61：1078-1087, 1997
40) Mariotti C, Gellera C, Grisoli M, Mineri R, Castucci A, Di Donato S：Pathologic effect of an intermediate-size SCA-6 allele (CAG) 19 in a homozygous patient. Neurology 57：1502-1504, 2001
41) Shizuka M, Watanabe M, Ikeda Y, Mizushima K, Okamoto K, Shoji M：Molecular analysis of a de novo mutation for spinocerebellar ataxia type 6 and (CAG) n

repeat units in normal elder controls. J Neurol Sci 161 : 85-87, 1998

42) Takano H, Cancel G, Ikeuchi T, Lorenzetti D, Mawad R, Stevanin G, Didierjean O, Durr A, Oyake M, Shimohata T, Sasaki R, Koide R, Igarashi S, Hayashi S, Takiyama Y, Nishizawa M, Tanaka H, Zoghbi H, Brice A, Tsuji S : Close association between prevalences of dominantly inherited spinocerebellar ataxias with CAG-expansions and frequencies of large normal CAG alleles in Japanes and Caucasian populations. Am J Hum Genet 63 : 1060-1066, 1998

43) Ishikawa K, Fujigasaki H, Saegusa H, Ohwada K, Fujita T, Iwamoto H, Komatsuzaki Y, Toru S, Toriyama H, Watanabe M, Ohkoshi N, Shoji S, Kanazawa I, Tanabe T, Mizusawa H : Abundant expression and cytoplasmic aggregations of alpha 1A-voltage-dependent calcium channel protein with neurodegeneration in spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). Hum Mol Genet 8 : 1185-1193, 1999

44) Ishikawa K, Owada K, Ishida K, Fujigasaki H, Shun LM, Tsunemi T, Ohkoshi N, Toru S, Mizutani T, Hayashi M, Arai N, Hasegawa K, Kawanami T, Kato T, Makifuchi T, Shoji S, Tanabe T, Mizusawa H : Cytoplasmic and nuclear polyglutamine aggregates in SCA6 Purkinje cells. Neurology 56 : 1753-1756, 2001

45) Toru S, Murakoshi T, Ishikawa K, Saegusa H, Fujigasaki H, Uchihara T, Nagayama S, Osanai M, Mizusawa H, Tanabe T : Spinocerebellar ataxia type 6 mutaion alters P-type calcium channel function. J Biol Chem 275 : 10893-10898, 2000

46) Bourinet E, Soong TW, Sutton K, Slaymaker S, Mathews E, Monteil A, Zamponi GW, Nargeot J, Snutch TP : Splicing of α_{1A} subunit gene generates phenotipic variants of P-and Q-type calcium channels. Nat Neurosci 2 : 407-415, 1999

47) Matsuyama Z, Wakamori M, Mori Y, Kawakami H, Nakamura S, Imoto K : Direct alteration of P/Q-type Ca^{2+} channel property by polyglutamine expansion in spinocerebellar ataxia 6. J Neurosci 19 : RC14 : 1-5, 1999

48) Koh JY, Cotman CW : Programmed cell death : its possible contribution to neurotoxicity mediated by calcium channel antagonists. Brain Res 587 : 233-240, 1992

49) Galli C, Meucci O, Scorziello A, Werge TM, Calissano P, Schettini G : Apoptosis in cerebellar granule cells is blocked by high KCl, forskolin, and IGF-1 through distinct mechanisms of action : the involvement of intracellular calcium and RNA sysnthesis. J Neurosci 15 : 1172-1179, 1995

50) Restituito S, Thompson RM, Eliet J, Raike RS, Riedl M, Charnet P, Gomez CM : The polyglutamine expansion in spinocerebellar ataxia type 6 causes a β subunit-specific enhanced activation of P/Q-type calcium channels in Xenopus oocytes. J Neurosci 20 : 6394-6403, 2000

51) Piedras-Renteria ES, Watase K, Harata N, Zhuchenko O, Zoghbi HY, Lee CC, Tsien RW : Increased expression of α_{1A} Ca^{2+}channel currents arising from expanded trinucleotide repeats in spinocerebellar ataxia type 6. J Neurosci 21 : 9185-9193, 2001

52) Tsunemi T, Saegusa H, Ishikawa K, Nagayama S, Murakoshi T, Mizusawa H, Tanabe T : Novel Cav2.1 splice variants isolated from Purkinje cells do not generate P-type Ca^{2+}current. J Biol Chem 277 : 7214-7221, 2002

53) Wakamori M, Yamazaki K, Matsunodaira H, Teramoto T, Tanaka I, Niidome T, Sawada K, Nishizawa Y, Sekiguchi N, Mori E, Mori Y, Imoto K : Single tottering mutations responsible for the neuropathic phenotype of the P-type calcium channel. J Biol Chem 273 : 34857-34867, 1998

54) Lorenzon N, Lutz CM, Frankel WN, Beam KG : Altered calcium channel currents in Purkinje cells of the neurological mutant mouse leaner. J Neurosci 18 : 4482-4489, 1998

55) Mori Y, Wakamori M, Oda S, Fletcher CF, Sekiguchi N, Mori E, Copeland NG, Jenkins NA, Matsushita K, Matsuyama Z, Imoto K : Reduced voltage sensitivity of activation of P/Q-type Ca^{2+}channels is associated with the ataxic mouse mutation *rolling Nagoya* (*tg^{rol}*). J Neurosci 20 : 5654-5662, 2000

Abstract

A polyglutamine disease without so-colled intranuclear inclusions

Hidehiro Mizusawa

from

Department of Neurology and Neurological Science, Tokyo Medical and Dental University, Graduate School of Medical and Dental Sciences, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan.

Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) had initially been reported to be an hereditary ataxia caused by a small expansion of CAG repeat of α 1A-Ca channel gene (*CACNA1A*). We had independently found a gene locus for Japanese families of Holmes type hereditary ataxia or autosomal dominant cerebellar ataxia type III (Harding), which turned to be SCA6. Although SCA6 belongs to so-called CAG-repeat diseases or polyglutamine diseases because age at onset is inversely correlated with repeat length, there are some features distinct from those of other polyglutamine diseases. The repeat length is quite stable and usually the same between different generations in a given SCA6 family or among various areas of SCA6 brain. The genetic anticipation does not appear significant. There is no intranuclear, ubiquitinated inclusions but 2 types of cytoplasmic inclusions. One is recognized with anti-α 1A-Ca channel protein antibody and the other is positively stained with 1C2 which is known to recognize only pathologically expanded polyglutamine. Almost all 1C2-positive inclusions were located in cytoplasm but a few 1C2-positive fine granules appeared to be within nuclei. These two inclusions were specific to Purkinje cells as well as SCA6. The characteristic features including cytoplasmic inclusions may provide important clues to elucidate the pathomechanism of SCA6.

(*Received* : *August 6, 2002*)

Shinkei Kenkyu no Shinpo (Advances in Neurological Sciences), Vol. 46, No. 5, pp637-646, 2002.
IGAKU-SHOIN Ltd., Tokyo, Japan.

Triplet repeat 病研究の進歩

Progress in research on triplet repeat disease

水澤　英洋*

Key words
triplet repeat disease,
CAG repeat diseae,
polyglutamine diseases,
anticipation,
spinocerebellar degenetion

はじめに

Triplet repeat病とは医学関係者にとってもまだ聞き慣れない言葉の一つと思われるが，文字通り遺伝子上の四つの塩基（C, A, G, T）のうち三つの塩基が並んだ配列 (triplet) が繰り返す（リピートする）構造において，そのリピートが異常に伸びる，すなわち数を増すことが原因で生じる疾患を指す。大きく分けてリピートがエクソン内に存在し転写，翻訳されて蛋白になる場合とイントロンなどにあり翻訳されない場合に分かれる。前者はリピート数が正常で30以下，異常でも50～80位であるのに対して後者では数百～数千といった非常に長い伸長になる。このリピート構造の異常伸長という変異は，ここで紹介するようにヒトの神経疾患で初めて見つかったものであり，点変異，欠失，挿入など古典的な遺伝子変異しか知らなかった我々に鮮烈な印象を与えた。しかも，最初の球脊髄性筋萎縮症に引き続き，ハンチントン病，マシャドジョセフ病，脊髄小脳失調症1型，同2型，同7型，同6型などの多くの神経変性疾患とくに脊髄小脳変性症 (spinocerebellar degeneration) の原因がこのCAGリピートの異常伸長という変異であることがわかり，これらはCAGリピート病 (CAG repeat disease) あるいは翻訳される蛋白を考慮してポリグルタミン病 (polyglutamine disease)と呼ばれるようになった。現在，triplet repeat病の中でもとくにこのCAGリピート病の研究が猛烈な勢いで進んでいる。

Hidehiro Mizusawa*
*東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科脳神経機能病態学（神経内科学）：Department of Neurology and Neurological Science Graduate school, Tokyo Medical and Dental University

1．CAGリピート異常伸長変異の意義とそのメカニズム

CAGリピート病の発見は単に多くの神経疾患の原因になっていたということのみならず，それまで説明不可能であった多くの臨床的特徴をほとんど説明することができるようにした。まず，リピートの長さ（数）が発症年齢に逆相関するということである。すなわちリピート数が多ければ多いほど発症年齢が若返る。またリピート数は症状の内容はもちろん重症度に相関しリピートが多いほど重症化する。したがって，同一疾患でも患者によってさまざまに異なった症候が観察されていたがそれがリピート数によって規定されていることが判明したわけである。また，これらは全て常染色体優性遺伝性であり，世代を降るごとに発症年齢が若返る表現促進現象 (genetic anticipation) が知られていたが，これも減数分裂に際してリピートが不安定性となり異常伸長が生じる（リピート数が増加する）ことが原因である。この不安定性は疾患ごとに異なっていて，歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA)では一世代あたり十数年の若返りが認められることもあり，発症は幼小児期から高齢まで幅が広い。ちなみにDRPLAでは，若年発症ではミオクローヌスてんかんとなり，成人発症では失調症状と舞踏運動などの不随運動が主症状であり，その病像も大きく異なる。一方，脊髄小脳失調症6型 (SCA6) では家系内では異なった世代も含めリピート数はほぼ一定ときわめて安定であり，表現促進現象もはっきりしない。DRPLAなどでは父親から遺伝した方が母親から遺伝するよりも重症化し若年発症することが知られているが，これも精子形成過程での不安定性が大きいこ

とから説明できると思われる。さらに，これらのCAGリピート病には人種差があり例えばDRPLA，脊髄小脳失調症6型などは日本人に多くハンチントン病や精髄小脳失調症1型などは白人に多いが，それぞれの人口での正常人を調べてみると疾患領域にまでは至らないまでもかなり伸長したCAGリピートを持つものの比率が大きく，これらが発症予備軍となっていることを思わせる結果も得られている。

このように多くの臨床的事象がCAGリピート数で説明されることは判明したものの，それでは何故CAGリピートは伸長するのか，その安定性・不安定性は何によって制御なれているのかなどは不明のままであさる。本特集では，先ず最初にCAGリピートおよびポリグルタミンそのものの生物学的側面を詳述していただいた。

2．CAGリピート病の発症機序

CAGリピート病の発症機序はまだ完全には解明されていないが，かなり研究が進んできた。ほとんどの疾患で共通するのは，神経細胞の中にCAGリピートを含む原因遺伝子産物，すなわち原因蛋白から構成される細胞質内あるいは核内封入体（凝集体）が存在することである。培養細胞に原因遺伝子を発現させる実験からは，異常伸長したCAGリピートあるいはそれが翻訳された異常伸長ポリグルタミン鎖そのものが原因となって細胞死が生じるとも思われるが，原因遺伝子を組み込んだマウスなどの動物モデルからの研究では核内封入体ができる前から，そして神経細胞死が生じる前から動物は症状を発現し，脳の萎縮も生じてくるらしいということがわかってきた。封入体になってしまったものはあまり毒性はないのかもしれないが，異常伸長したポリグルタミンを含む変異蛋白の存在が神経細胞機能の障害をきたしていることは間違いなく，この変異蛋白の生成を抑制する，できた変異蛋白が毒性を発揮する機序を明らかにしそこを治療ターゲットとする，あるいは変異蛋白そのものの分解を促進するなどさまざまな治療戦略が考えられている。

ほとんどのCAGリピート病は原因遺伝子の機能は不明であるが，まれにそれが判明している場合がありまた違った戦略が可能かもしれない。球脊髄性筋萎縮症は原因遺伝子の機能がアンドロジェンレセプターと判明しているが，トランスジェニクマウスの実験からは雌は発症せず，そこにテストステロンを投与すると発症するようになり，雄を去勢すると発症しなくなるなど男性ホルモンの密接な関与が示されている。本特集では，まずCAGリピート病の発症機序について一般的にレビューしていただき，次いで遺伝子機能が判明しており特徴的な所見を呈する2つの疾患，脊髄小脳失調症6型と球脊髄性筋萎縮症について概説していただいた。

3．非翻訳領域triplet repeat病

イントロンや3'，5'側非翻訳領域に存在するtriplet repeatの異常伸長も幾つかの疾患の原因遺伝子変異となっている。例えば，成人で最も多い筋ジストロフィーである筋強直性ジストロフィー1型（DM1：3' 側非翻訳領域のCTG)，脊髄小脳失調症12型（SCA12：5' 側非翻訳領域のCAG)，脆弱X症候群（5' 側非翻訳領域のCG G，CCG)，Friedreich症候群（イントロンのGAA）などである。ここでDM1とSCA12は常染色体優性遺伝性であるが後二者は常染色体劣性遺伝性であるなど，その発症機序も単純ではないと思われる。しかし，非翻訳領域のリピート構造の異常伸長という点は共通であり，イントロンの4塩基CCTGの異常伸長による筋強直性ジストロフィー2型（DM2)，イントロンの5塩基ATTCTの異常伸長による脊髄小脳失調症10型などの発症機序とも関連しているものと推測され，triplet repeat病での研究成果が貢献するものと期待される。本特集では，主にDM1についての研究の最先端をご紹介いただいた。

以上，限られた紙面ではあるが非常にユニークな遺伝子変異であるtriplet repeatの異常伸長を原因とするtriplet repeat病について，幸いにもそれぞれの領域の第一人者の方々にご執筆いただき最先端の研究をレビューしていただくことができた。この特集が，読者の皆様がtriplet repeat病を理解する上で多少なりとも役立てば大変幸甚である。

核封入体を作らないCAGリピート病
ー脊髄小脳失調症6型ー

CAG repeat disease without neuronal intranuclear inclusion -spinocerebellar ataxia type 6-

融　衆太*, **・水澤　英洋*

Key words
spinocerebellar ataxia type6, CAG repeat, cytoplasmic inclusion, α 1A voltage dependent calcium channel

はじめに

脊髄小脳失調症6型 (SCA6) は，第19染色体短腕19p13.1に位置するα1A電位依存性Caチャネル遺伝子(CACNA1A)内の3'側翻訳領域内にあるCAGリピートの軽度の異常伸長により発症することが報告され[1, 2]，本邦の優性遺伝性小脳失調症の中では，かなり頻度の高い疾患である。いわゆるCAGリピート病の一つではあるが，他の疾患とは，いくつか異なる特徴がみられる。本稿では，SCA6の特徴と，病態機序に関して現在までに解ったことを述べる。

1．SCA6と他のCAGリピート病との相違点

1) 臨床的特徴

SCA6はほぼ純粋に小脳症状を呈し，頭部MRIでは，小脳に限局した萎縮が認められる。他の常染色体優性遺伝のCAGリピート病と同様に，経過は緩徐進行性で，中枢神経系がターゲットであり，それぞれ分布に特徴をもった神経の変性脱落を示す神経変性疾患の一つとして位置づけられる。一方，我々の検討では，発症年齢は平均45歳で，他のCAGリピート病が平均して30代で発症するものが多いのに対し，SCA6は比較的高齢発症であるといえる[2]。また，CAGリピート病で共通してみられるanticipation（表現促進現象）がほとんど明らかでない点もSCA6に特徴的である。さらに，反復発作性の失調症状やめまいを呈する例もあり，CACNA1Aの遺伝子変異である反復発作性失調症2型，家族性片麻痺性片頭痛との関連を示唆する。

Shuta Toru*, **, Hidehiro Mizusawa**
*東京医科歯科大学大学院脳神経機能病態学：Department of Neurology and Neurological Science, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University
**（財）ヒューマンサイエンス振興財団：The Japan Health Sciences Foundation

2) 病理学的特徴

SCA6の病理学的な特徴は，小脳皮質の変性であり，特に小脳虫部上面のプルキンエ細胞の脱落が強いことである[3]。CAGリピート病に共通してみられる所見として，翻訳産物であるポリグルタミンを有する異常蛋白による神経細胞の核内封入体がある。しかし，SCA6が他と大きく異なるのは，このような核内封入体はなく，プルキンエ細胞の細胞質内に封入体の形成を認める点である（図１）。しかも，この細胞質内封入体は，他のCAGリピート病の核内封入体を共通して認識するユビキチンでは認識されない[4]。

3) 分子遺伝学的特徴

SCA6において，発症年齢とCAGリピート数には有意な逆相関が得られ，他のCAGリピート病と同じようにリピートの異常伸長がSCA6の発症に原因として関わっていることを示している[1, 2]。

しかし，他と異なるのは，SCA6ではCAGリピート数の異常伸長は非常に軽度であり（20-33回），正常のリピート数（4-19回）と近接しており，そのリピート数は，他のCAGリピート病では正常範囲に入ってしまう大きさである点である。また，もう一つの違いは，リピートの安定性である。他のCAGリピート病ではリピートは不安定であり，世代間で伸長し，それに対応してanticipationがみられるが，SCA6ではリピート数は世代間で通常一