

となり、稀に大径線維が混在していた。罹病期間が 11 年と最も長かった例ではこれに類似していたが、その程度は著しく、高度な萎縮を示した。罹病期間が 5 年以上の他の 3 症例は、それぞれ 5 年、6 年、9 年と期間は異なるものの横隔膜病変はいずれも類似し、正常径線維の間に angular fiber が混在するのみで、横隔膜構造はよく保持されていた。

#### D. 考察

phrenic nerve の起始細胞数の脱落は、罹病期間が長くなるとともに進行し、横隔膜病変の程度とも相関することが確認された。しかし、補助呼吸なしでも 5 年以上生存し得た例では、神経細胞の減少は高度であるにもかかわらず筋病理は軽微であった。このことは、MND は横隔膜病変から二つの群に分けられることを示唆するものである。これら 2 群の違いを脊髄病変との関連で見ると、前者では脊髄の側索や前索の淡明化を伴う例が多く、これに対し後者の 3 例では索変性は明らかでなかった。これらのことから、横隔膜病変の形成には、錐体路変性の有無も影響するものと考えられた。

#### E. 考察

横隔膜病変の程度に影響を与える因子として、罹病期間とともに減少する脊髄前角細胞の数が確認された。更に脊髄側索の変性も一つの要因として推測された。

#### F. 研究発表

1. 論文発表： なし
2. 学会発表

著明な大脳白質病変を示した多系統萎縮症の一剖検例 (第 43 回日本神経病理学会総会)  
Myotonic dystrophy における大脳白質病変についての組織学的研究 (第 43 回日本神経病理学会総会)

## 日本人におけるサルコグリカン異常症の原因サブユニット

分担研究者 南 成祐 国立精神・神経センター武蔵病院 DNA 診断・治療室

**研究要旨：**サルコグリカン（SG）異常症における 4 つの原因サブユニット： $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ - SG の患者数の割合は日本人では明らかにされていない。当センターの免疫組織化学検査において SG 異常症と診断されている患者は 11 名である。今回、そのうち 6 名について各サブユニットの遺伝子変異を検索した。その結果、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -SG 遺伝子異常をそれぞれ 1 名、3 名、1 名に認めた。また、 $\beta$ -SG 異常症では R109X 変異が日本人の common mutation であることが示唆された。免疫組織化学的には、 $\beta$ -SG 異常症全例で全サブユニットの染色性が消失し、 $\alpha$ -SG 異常症では各サブユニットの染色性が減弱するが残存する傾向を示した。 $\gamma$ -SG 異常症では  $\delta$ -サブユニットが正常近く保たれていた。遺伝子解析を行っていない患者 5 名については、3 名が  $\alpha$ -SG 異常症に類似した染色性を、2 名が  $\beta$ -SG 異常症と同様の染色性を示した。以上の結果から、日本人では SG 異常症の原因の多くを  $\alpha$ -、 $\beta$ -SG サブユニットが占め、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG サブユニットは比較的稀であると推定した。

研究協力者 金 大成、杉江和馬、村山久美子、西野一三 国立精神・神経センター神経研究所

### A. 研究目的

ジストロフィン結合蛋白であるサルコグリカン（SG）複合体の欠損は早期発症型の肢帯型筋ジストロフィー（LGMD）を引き起こす。骨格筋の SG 複合体は  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG サブユニットから構成され、どのサブユニットに遺伝子異常を生じても複合体を形成できず、結果として全てのサブユニットが欠損する。そのため SG 異常症（sarcoglycanopathy）とも総称され、免疫組織化学法による診断は容易である。しかし、原因サブユニットを特定するためには遺伝子検査が必要である。本邦ではこれまで全サブユニットに対する系統的な遺伝子解析は行われておらず、異なる原因サブユニットの患者数の割合については不明確なままである。

そこで我々は、当センターで筋病理検査を施行され、免疫組織化学的に SG 異常症と診断された患者 11 名を対象として、各 SG サブユニットの染色性を比較するとともに、遺伝子診断を行うことについて同意が得られている 6 名を対象として、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG の遺伝子変異検索を行った。

### B. 研究方法

対象は、臨床・筋病理学的所見と、抗ジストロフィン抗体と抗  $\alpha$ -SG 抗体などを用いた免疫組織化学的検

索の結果から SG 異常症が疑われた患者 11 名である。このうち 6 名については遺伝子診断の同意があり、残り 5 名については承諾書が整備される以前に採取された検体である。前者について、凍結筋から RNA を抽出し、 $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG 遺伝子の転写産物を RT-PCR 増幅して direct sequence 解析した。そして、ゲノム DNA で遺伝子変異を確認した。 $\zeta$ -SG 遺伝子についてはゲノム DNA から PCR 増幅し direct sequence 解析を行った。また、対象 11 名の凍結筋切片を作製し、ジストロフィンや各 SG サブユニットに対する抗体を用いて同時に免疫染色を行い比較した。

（倫理面への配慮）

凍結筋から RNA/DNA を抽出し、遺伝子診断・遺伝子解析を行うにあたって、承諾書にてその同意がある患者の検体のみを使用した。

### C. 研究結果

遺伝子変異検索を行った 6 名中 5 名に遺伝子異常を認めた。その内訳は、 $\alpha$ -SG 異常 1 名、 $\beta$ -SG 異常 3 名、 $\gamma$ -SG 異常 1 名で、 $\delta$ -SG 異常は見つからなかった。残り 1 名は  $\zeta$ -SG も含めて遺伝子異常を発見できなかった。

遺伝学的に診断が確定した 5 名の免疫組織化学の結果、 $\beta$ -SG 異常症では 3 名とも全サブユニットの染色性が消失していた一方、 $\alpha$ -SG 異常症では各サブユニットの染色性が減弱するものの筋細胞膜への局在が残存する傾向を示し、 $\gamma$ -SG 異常症では  $\delta$ -サブユニット

の染色性がほぼ正常に保たれていた。遺伝子解析を行えなかった 5 名については、3 名が  $\alpha$ -SG 異常症に類似した染色性を示し、2 名が  $\beta$ -SG 異常症と同様に全サブユニットの染色性が消失していた。

表

患者	免疫組織化学				遺伝子解析	
	$\alpha$ -SG	$\beta$ -SG	$\gamma$ -SG	$\delta$ -SG	遺伝子	変異
1	+/-	+	+/-	+/-	$\alpha$ -SG	R74W homo.
2	+/-	+/-	+/-	+/-		
3	+/-	+/-	+/-	+		
4	+/-	-	-	+/-		
5	-	-	-	-	$\beta$ -SG	R109X homo.
6	-	-	-	-	$\beta$ -SG	R109X homo.
7	-	-	-	-	$\beta$ -SG	R109X/ 214_221del
8	-	-	-	-		
9	-	-	-	-		
10	+	+/-	+/-	+	$\gamma$ -SG	EX6del/ EX1_EX8del
11	++	+	+	+	Not found in every SG genes.	

+++ : normal, ++ : slightly faint, + : faint, +/- : extremely faint, - : negative.

#### D. 考察

今回、5 名について遺伝学的に SG 異常症の診断を確定でき、1 名について確定できなかった。臨床・筋病理学的に LGMD と診断され、免疫組織化学法による dystrophin 異常症の鑑別と  $\alpha$ - ないしその他の SG に対する抗体を用いた検索を施行済みの LGMD 患者は、今回対象とした 11 名も含めて、136 名である。従って、LGMD に占める SG 異常症の割合は 5~10 名/136 名 (3.7~7.4%) と推定される。

本邦の過去の報告では、 $\alpha$ -SG 異常症が少なくとも 9 家系、 $\beta$ -SG 異常症は 1 家系、 $\gamma$ -SG が 4 家系あり、 $\delta$ -SG 異常症は LGMD としてはない。しかし今回、遺伝子解析を行った 6 名中 3 名までが  $\beta$ -SG 異常症であったことから、日本人の SG 異常症の原因サブユニットとして、 $\beta$ -SG もまた主要な割合を占めるものと考えられる。また、 $\beta$ -SG 異常において R109X 変異が 6 アレル中 5 アレル (83.3%) を占めたことから、本研究で初めて見つかったこの変異が日本人特有の common mutation である可能性も示唆される。さて、免疫組織化学的に SG 蛋白の欠損を認めながら  $\alpha$ -、 $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG 遺伝子の全てに異常を認めることのできない患者が 1 名存在したことは予想外であった。 $\zeta$ -SG

遺伝子についても残念ながら異常を発見できなかった。今回用いた遺伝子変異検索法で見逃される変異を持っている可能性も完全には否定できないが、SG 複合体の二次性の欠損を引き起こす新たな疾患である可能性もあるため、今後さらに検討していきたい。

今回の免疫組織化学の結果は従来の知見とも一致しており、各サブユニットの染色パターンの違いによって primary な原因サブユニットをある程度推定しうることを示している。遺伝子解析を行えなかった患者 5 名について、その染色性から 3 名を  $\alpha$ -SG 異常、2 名を  $\beta$ -SG 異常であると仮定すると、全体では、 $\alpha$ -SG 異常症 4 名、 $\beta$ -SG 異常症 5 名、 $\gamma$ -SG 異常症 1 名となり、日本人の SG 異常症の原因サブユニットとして、 $\alpha$ -SG と  $\beta$ -SG が多くを占めることが推定される。

しかし、それを確かめるためにはこれらの患者についても遺伝学的に診断を確定することが不可欠である。5 名の遺伝子解析が行えなかったのは、承諾書が整備される以前に筋生検を受けており、承諾書そのものが存在しなかったためである。そこで現在、当時の依頼元施設に再度インフォームドコンセントを行うことを要請し、承諾書を取り直す努力を進めている。しかし、すでに転院するなどして連絡がつかない患者も存在するであろう。そういった検体についてどのように扱うかという問題が残されている。

#### E. 結論

日本人では  $\alpha$ -、 $\beta$ -SG 異常が患者の多くを占め、 $\gamma$ -、 $\delta$ -SG 異常は比較的稀であると推定される。ただし、遺伝学的な診断が未確定な患者らの免疫組織化学染色パターンにもとづく推定を含んでいる。本研究に限らず希少な遺伝性疾患の研究では、承諾書整備以前から保存されている既存検体について遺伝子解析を要する場合が多い。承諾書の取り直しが望ましいが、患者への連絡がつかない場合の扱いが課題である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名: 論文タイトル名. 発表誌名 巻号: ページ, 出版年

Takanashi M, Mori H, Arima K, Mizuno Y, Hattori N:

Expression patterns of tau mRNA isoforms correlate with susceptible lesions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration.

Molecular Brain Research 104: 210-219, 2002

Eto K, Asada T, Arima K, Makifuchi T, Kimura H:

Brain hydrogen sulfide is severely decreased in Alzheimer's disease.

Biochem Biophys Res Commun 293: 1485-1488, 2002

Okeda R, Arima K, Kawai M:

Arterial changes in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in relation to pathogenesis of diffuse myelin loss of cerebral white matter : Examination of cerebral medullary arteries by reconstruction of serial sections of an autopsy case.

Stroke 33: 2565-2569, 2002

Arikawa-Hirasawa E, Le AH, Nishino I, Nonaka I, Ho NC, Francomano CA, Govindraj P, Hassell JR, Devaney JM, Spranger J, Stevenson RE, Iannaccone S, Dalakas, MC, Yamada Y: Structural and functional mutations of the Perlecan gene cause Schwartz-Jampel syndrome, with myotonic myopathy and chondrodysplasia.

Am J Hum Genet 2002; 70: 1368-1375

Nishino I, Noguchi S, Murayama K, Driss A, Sugie K, Oya Y, Nagata T, Chida K, Takahashi T, Takusa Y, Ohi T, Nishimiya J, Sunohara N, Ciafaloni E, Kawai M, Aoki M, Nonaka I:

Distal myopathy with rimmed vacuoles is allelic to hereditary inclusion body myopathy.

Neurology 59: 1689-1693, 2002

後藤雄一:

遺伝形式からみたミトコンドリア病の分類と遺伝相談、693-697、諏訪庸人編集「ミトコンドリアとミトコンドリア病」日本臨床社、大阪、2002

後藤雄一:

ミトコンドリア脳筋症、神経研究の進歩 46 : 841-849、2002

Fujitake J, Mizuta H, Fujita H, Ishikawa Y, Sasamoto K, Goto Y-I, Nonaka I, Tatsuoka Y:  
Leber's hereditary optic neuropathy with intracranial arteriovenous malformation: a case  
report.

Acta Neurol Belg 102:82-86, 2002

Kimura N, Kimura I et al:

Neurofibromin and NF1 gene analysis in composite pheochromocytoma and  
ganglioneuroma and tumors associated with von Recklinghausen's disease. Modern Pathol  
15: 183-188, 2002

20020919

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、  
P.41-P.42の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。