

多系統萎縮症の臨床病理学的研究

分担研究者 西澤正豊 新潟大学脳研究所神経内科教授

共同研究者 下畑享良、他田真理、他田正義、寺島健史、小澤鉄太郎（新潟大学脳研究所神経内科）、小野寺理（新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター）、中山秀章（新潟大学医歯学総合病院第2内科）、篠田秀夫（新潟大学医歯学総合病院耳鼻咽喉科）、朴月善、高橋均（新潟大学脳研究所病理学分野）

研究要旨

多系統萎縮症 MSA の病理学的な確定例についての解析から、わが国では MSA-C の頻度が MSA-P よりも高いこと、自律神経症状が早期に出現するほど進行が速く、突然死を生じるリスクが高いことを明らかにした。Probable MSA 16 例について、睡眠に伴う呼吸障害をポリソムノグラフィーや喉頭内視鏡を用いて多角的に解析した結果、声帯の外転障害を半数に、声帯以外の上気道における狭窄所見も半数に確認した。突然死の防止を目的として、非侵襲的持続陽圧換気による治療的介入を行い、経過を観察している。

A. 研究目的

多系統萎縮症 MSA のわが国における病型頻度、臨床像、予後規定因子の特徴を明らかにし、さらに睡眠に伴う呼吸障害の発症機序を解明して、MSA による突然死を防止することを目的とした。

B. 研究方法

新潟大学脳研究所病理学部門において過去 32 年間に病理学的に確定診断された MSA49 例について、診療録から臨床像を解析した。また、睡眠に伴う呼吸障害の発症機序を明らかにするため、ポリソムノグラフィー、喉頭内視鏡所見などを用いて多角的にその病態を解析した。気道狭窄所見が明らかな症例には、非侵襲的持続陽圧換

気 NPPV による治療的介入を行い、経過を観察した。

（倫理面の配慮）

対象者のプライバシーの保護は厳重に守り、診療録などの取り扱いでは、個人情報漏洩することがないように、細心の注意を払った。

C. 研究結果

MSA 確定例について臨床病型を解析した結果では、わが国では MSA-C が 63%、MSA-P が 37% を占め、欧州における比率とは丁度逆転していることが明らかになった。予後を規定する因子としては、自律神経障害が発症 2.5 年以内の早期に出現する例では、その後の進行が速く、また突然死

するリスクが高いことが示された。

Gilman の診断基準で臨床的に probable MSA と診断される 16 例について、喉頭内視鏡により睡眠時呼吸障害を解析した結果では、50%に声帯外転障害を認めた。さらに 50%に舌根部、喉頭蓋、披裂部など、声帯以外の上気道に高度の狭窄を認めた。気道の狭窄所見が明らかな症例には、非侵襲的持続陽圧換気（CPAP または bilevel NPPV）や気管切開による治療的介入を行い、現在その効果を追跡している。

D. 考察と結論

地域ないしは人種により MSA の臨床病型に大きな差異が認められることは、MSA の臨床病型を規定する環境や遺伝的因子の存在を示唆している。

自律神経障害は MSA の 90%以上の症例で出現するが、自律神経障害を発症早期から呈する群ではその後の進行が速く、生存

期間も短く、さらに突然死する頻度が高いことを示した。自律神経障害の早期出現は、進行速度や生命予後を予測する有用な指標となり得る。

MSA における突然死の原因としては声帯外転麻痺が想定されてきたが、今回 propofol で睡眠を誘導して施行した喉頭内視鏡の所見では、声帯以外の上気道における狭窄が高頻度に認められることが明らかになった。狭窄部位と程度に応じた治療プログラムの作成を目標として症例を蓄積しつつ、非侵襲的持続陽圧換気や気管切開による治療効果を追跡調査している。

E. 研究発表

1. 論文：投稿準備中

F. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

脊髄小脳変性症の臨床評価方法の整備および大規模臨床治験の方向性の検討

分担研究者 服部 孝道 千葉大学大学院医学研究院神経病態学 教授

共同研究者 金井 数明、新井 公人、桑原 聡、小河原 一恵、平野 成樹

研究要旨：本研究班の活動計画に挙げられている脊髄小脳変性症の臨床評価方法の整備－International cooperative ataxia rating scale（以下 ICARS と略す）の再評価、標準化と、より感度の高いもしくはより簡便な臨床評価方法の設定について検討した。初年度は本研究班班員に International cooperative ataxia rating scale (ICARS) の再評価、標準化に関するアンケートを行い、歩行能力の段階分けが多い一方で、姿勢・歩行の総点が少ないこと、上肢の企図振戦や動作時振戦の項が過剰であること、錐体外路系、自律神経系、ADL 評価を加えた重症度評価尺度を作成する必要があることが指摘された。また Machado-Joseph 病 (MJD) 患者に対し有痛性筋攣縮への塩酸メキシレチン治療法の大規模臨床治験の可能性をめぐり、医師主導の治験について予備調査を行った。二年度は初年度に引き続き、臨床評価方法の設定に関連して脊髄小脳変性症患者に対するタルチレリン水和物の効果を ICARS を用いて判定した。三年度は ICARS の検者間信頼性についての検討を行った。

A. 研究目的

初年度は本研究班の活動計画に挙げられている脊髄小脳変性症の臨床評価方法の整備－International cooperative ataxia rating scale（以下 ICARS と略す）の再評価、標準化と、より感度の高いもしくはより簡便な臨床評価方法の設定について検討した。また大規模臨床治験の可能性（臨床上の課題設定について、大規模臨床研究を構築する）についても今後の方向性を検討した。二年度は初年度に引き続き、臨床評価方法の設定に関連して患者に対するタルチレリン水和物の効果を脊髄小脳変性症患者に対して ICARS を用いて判定した。三年度は ICARS の検者間信頼性についての検討を行った。また初年度から 3 年度まで従前に引き続き脊髄小脳変性症での自律神経系異常について検討を行った。

初年度

B. 研究方法

臨床評価方法の整備については本研究班構

成員に ICARS の再評価、標準化に関するアンケートを行った。ICARS の内容に対して、重み付け、必要度、軽度及び中等度の境界、評価者、運動失調以外の評価、今後の課題について質問し、傾向を検討した。

大規模臨床治験の可能性については MJD の有痛性筋攣縮に対する塩酸メキシレチンの効果に関する大規模臨床治験を行うため、薬事法の改正点を踏まえて医師・医療機関が主体となる治験の可能性について検討した。

（倫理面での配慮）タルチレリン水和物の効果に関する臨床研究については、第 52 回世界医師会総会（エジンバラ）でのヘルシンキ宣言修正に則り、研究目的を説明し病歴に記載の上口頭同意の下に行った。

C. 研究結果

アンケートには 11 名の班員から有効回答を得た。

歩行能力の段階分けが多い一方で、姿勢・歩行の総点が少ないこと、上肢の企図振戦や動

作時振戦の項が過剰であること、錐体外路系、自律神経系、ADL 評価を加えた重症度評価尺度を作成する必要があることが指摘された。大規模臨床治験の可能性について、平成 14 年 7 月に成立した「薬事法の一部を改正する法律」においては、医師（医療機関）が主体となって実施する治験制度が規定された。本制度は平成 15 年 7 月までに施行される予定となっており、現在省令制定に向けての準備が行われている。

D. 考察

ICARS は運動失調に対する薬物治療の効果判定に有用であるが、ADL 評価を含まず重症度分類としては不十分であると思われた。今後さらに簡便な評価尺度の設定が必要である。改正薬事法により、治験届出制が拡大し企業等外部からの未承認薬物・機器等の提供が可能となるが、既承認薬物の提供・治験の副作用被害に対する補償・多施設で行う場合の治験調整委員会の設置等問題が残っており、現時点での（特に財政面での）困難さが明らかとなった。

E. 結論

ICARS は運動失調評価尺度としては有用であるが、ADL 評価を含めた脊髄小脳変性症の重症度分類が必要と考えられる。医師・医療機関が主体となる治験に関しては、参加しやすい体制の整備が望まれる。

二年度

B. 研究方法

対象は脊髄小脳変性症 43 例—内訳は Machado-Joseph 病 (MJD) 21 例、CCA、SCA6 計 12 例、MSA10 例である。このうち 27 例 (MJD 群 14 例、CCA 群 6 例、MSA 群 7 例) にタルチレリン水和物 10mg/day を 24 ヶ月間投与し、タルチレリン非投与群 16 例 (MJD 群 7 例、CCA 群 6 例、MSA 群 3 例) を対照として ICARS を用いて 6 ヶ月毎に運動失調

を評価した。投与群、非投与群間で年齢、罹病期間、ICARS 前値等背景因子に有意差を認めない。ICARS の項目としては、1-19 のすべてを行ったが、このうち 1. 歩行能力と 2. 歩行速度を歩行のカテゴリーとし、以下 3-7 をバランス、8-9 を下肢、10-14 を上肢、15,16 を構音、17-19 を眼球のカテゴリーとして各カテゴリー別に entry 時との比較を行い、ANCOVA を用いて検定し、必要に応じ Tukey の多重比較を行った。また臨床個人調査票の改定に従い ICARS 簡略版の 5 項目 (歩行は 1、バランスは 3 及び 6、下肢機能は 8、上肢機能は 10) について同様の検定を行った。

(倫理面での配慮) タルチレリン水和物の効果に関する臨床研究について、第 52 回世界医師会総会 (エジンバラ) でのヘルシンキ宣言修正に則り、研究目的を説明し病歴に記載の上口頭同意の下に行った。

C. 研究結果

診断名と薬剤の交互作用が、構音の 24 ヶ月、眼球運動の 6 ヶ月、Total の 18 及び 24 ヶ月にみられた為、診断名別に前値を共変量として薬剤間比較を行った。その結果 MSA における眼球運動の 6 ヶ月、MJD,CCA における Total の 18 ヶ月でタルチレリン投与群に有意な改善を認めた ($p<0.05$)。交互作用を認めないものに再度共分散分析を行い以下の結果を得た。診断名は歩行の 6, 18, 24 ヶ月、眼球運動の 12 ヶ月で有意差がみられ、特に歩行の 18 ヶ月では CCA 群は MJD、MSA 両群に比し悪化の程度が有意に少なかった。薬剤はバランスの 12, 18 ヶ月、上肢の 6, 12, 18, 24 ヶ月、Total の 6, 12 ヶ月で有意差がみられた ($p<0.05$)。すなわちタルチレリン水和物は脊髄小脳変性症の上肢運動機能を改善すると思われた。

5 項目の ICARS 簡略版を採用した場合、歩行の 6 ヶ月とバランスの 18 ヶ月に交互作用がみられ上記同様薬剤間比較を行ったが、薬剤間に有意差はみられなかった。交互作用

のない場合、診断名では Total の 6, 12, 18 ヶ月で有意差がみられ、6 ヶ月では CCA が MSA に比し悪化の程度が有意に少なかった ($p < 0.01$)。薬剤についてはバランスと Total の 12 ヶ月で有意差がみられ、このうち Total では投与群に有意な改善を認めた ($p < 0.05$)。

D. 考察

薬剤効果の判定には 5 項目の簡略版 ICARS より full set を用いた方がより感度の高い評価を行える可能性が示唆された。これは ICARS では上肢機能の評価尺度が 5 項目 (10-14) と最も多く、尺度の項目数が増えることで信頼性が高まるためと思われた。今後は簡便な評価尺度の設定とともに ICARS の信頼性の検討を行うことが重要と思われた。

E 結論

タルチレリン水和物は運動失調、特に上肢運動機能に対して長期的な改善効果を有する薬物である。ICARS は運動失調評価尺度として有用である。

三年度

B-1. 対象

千葉大学神経内科外来に通院中の脊髄小脳変性症患者 49 名 {家族性脊髄小脳変性症 34 名、弧発型脊髄小脳変性症 14 名; Machado-Joseph disease (MJD) 18 名、脊髄小脳変性症 6 型 (SCA6) 6 名、歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症 (DRPLA) 4 名、脊髄小脳変性症 2 型 (SCA2)・脊髄小脳変性症 8 型 (SCA8)・脊髄小脳変性症 17 型各 1 名、責任遺伝子未知の家族性脊髄小脳変性症 3 名、多系統萎縮症 (MSA) 6 名、弧発型小脳皮質萎縮症 (CCA) 8 名}

B-2. 方法

上記の各患者に対して神経内科医 3 名のうち 2 名を割り付け (各医師間で患者の病型・重症度・年齢などは均等になるように配慮)、その神経内科医 2 名が各患者に対し同日中に

別個の部屋にて ICARS を施行しスコアを記載し、その総スコアのほか平衡・歩行機能、四肢機能などの各サブスコアについて Kendall の W 値を用いて検者間信頼性を検討した。同時に Cronbach の α 値を用いて内部整合性の検討も行った。

B-3. 倫理面への配慮

研究参加への同意を得る方法に関しては、第 52 回世界医師会総会 (エジンバラ) でのヘルシンキ宣言修正に則り、口頭による説明を行った後に文書にて同意を得た。

C. 研究結果

検者 3 名間の ICARS 総スコアおよび ICARS の 4 つのサブスコアである平衡・歩行機能 (評価項目 1~7)、四肢機能 (評価項目 8~14)、構音機能 (評価項目 15・16)、眼球運動 (評価項目 17~19) について Kendall の W 値を用いて検者間信頼性を検討した。また各疾患ごとの ICARS 総スコア/各サブスコアの検者間信頼性を Kendall の W 値を用いて検討した。ICARS の内部整合性も Cronbach の α 値を用いて検討した。

D. 考察

これまで提唱されてきている疾患別の半定量的臨床評価スケールとして、Unified Parkinson disease rating scale (UPDRS) のほか、Unified Huntington disease rating scale (UHDRS) 等が知られ、これらではすでに検者間信頼性の検討はなされており、UPDRS で 0.82、UHDRS で 0.94 (注: ただし級内相関係数を用いた評価) という値が報告されている。これらの値の解釈に絶対的な基準があるわけではないが、一般的に 0.6-0.8 で“良好”、0.8-1.0 で“ほぼ完全”と評価される。

このため今回の研究で得られた結果は ICARS に高い検者間信頼性があると解釈できる。

内的整合性に関しては、眼球運動と構音障害に関する項目が相対的に低値であることが目立った。これは眼球運動や構音障害に関する質問項目の設定がやや不適切で、臨床病期の

進行と必ずしも相関していないことを示唆しており、今後の改定が行われる際には検討項目となることが考えられた。

E. 結語

ICARS は、SCD の臨床病型によらず高い検者間信頼性を持つことが示された。このことから、ICARS は SCD に関する多施設共同研究で臨床評価を行う際に十分に実用的であると考えられた。

F. 健康危険情報

特に得られていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

Kanai K, Kuwabara S, Arai K, Sung JY, Ogawara K, Hattori T. Muscle cramp in Machado-Joseph disease: altered motor axonal excitability properties and mexiletine treatment. *Brain*. 2003; 126: 965-73.

Sakakibara R, Nakazawa K, Shiba K, Nakajima Y, Uchiyama T, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T. Firing patterns of micturition-related neurons in the pontine storage centre in cats. *Auton Neurosci*. 2002; 99: 24-30.

Sakakibara R, Uchiyama T, Asahina M, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T. Amezinium metilsulfate, a sympathomimetic agent, may increase the risk of urinary retention in multiple system atrophy. *Clin Auton Res*. 2003; 13: 51-3.

Sakakibara R, Matsuda S, Uchiyama T, Yoshiyama M, Yamanishi T, Hattori T. The effect of intranasal desmopressin on nocturnal waking in urination in multiple system atrophy patients with nocturnal polyuria. *Clin Auton Res*. 2003; 13: 106-8.

Asahina M, Kikkawa Y, Suzuki A, Hattori T. Cutaneous sympathetic function in patients with multiple system atrophy. *Clin Auton Res*. 2003;

13: 91-5.

Yamaguchi M, Arai K, Asahina M, Hattori T. Laryngeal stridor in multiple system atrophy. *Eur Neurol*. 2003; 49: 154-9.

Uchihara T, Tanaka J, Funata N, Arai K, Hattori T. Influences of intranuclear inclusion on nuclear size - morphometric study on pontine neurons of neuronal intranuclear inclusion disease cases. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2003; 105: 103-8.

Sakakibara R, Odaka T, Uchiyama T, Liu R, Asahina M, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Yamanishi T, Hattori T. Colonic transit time, sphincter EMG, and rectoanal videomanometry in multiple system atrophy. *Mov Disord*. 2004; 19: 924-9.

Sakakibara R, Uchida Y, Uchiyama T, Yamanishi T, Hattori T. Reduced cerebellar vermis activation during urinary storage and micturition in multiple system atrophy: 99mTc-labelled ECD SPECT study. *Eur J Neurol*. 2004; 11: 705-8.

Sakakibara R, Uchiyama T, Arai K, Yamanishi T, Hattori T. Lower urinary tract dysfunction in Machado-Joseph disease: a study of 11 clinical-urodynamic observations. *J Neurol Sci*. 2004; 218: 67-72.

Sakakibara R, Odaka T, Lui Z, Uchiyama T, Yamaguchi K, Yamaguchi T, Asahina M, Yamamoto T, Ito T, Hattori T. Dietary herb extract Dai-kenchu-to ameliorates constipation in parkinsonian patients (Parkinson's disease and multiple system atrophy). *Mov Disord*. 2004 on line.

Fukutake T, Shinotoh H, Nishino H, Ichikawa Y, Goto J, Kanazawa I, Hattori T. Homozygous Machado-Joseph disease presenting as REM sleep behaviour disorder and prominent psychiatric symptoms. *Eur J Neurol*. 2002; 9: 97-100.

Fukutake T, Kamitsukasa I, Arai K, Hattori T, Nakajima T. A patient homozygous for the SCA6 gene with retinitis pigmentosa. *Clin Genet*. 2002;

61: 375-9.

Mori M, Kuwabara S, Yoshiyama M, Kanesaka T, Ogata T, Hattori T. Successful immune treatment for non-paraneoplastic limbic encephalitis. *J Neurol Sci.* 2002; 201: 85-88.

朝比奈正人、鈴木敦也、吉川由利子、服部孝道. 多系統萎縮症における皮膚交感神経機能. *自律神経* 2004;41(2):155-160

榊原 隆次、内山智之、服部孝道. 神経因性膀胱 (1) 内科的基礎疾患. *排尿障害プラクティス* 2002; 10(2): 130-137.

榊原隆次、内山智之、服部孝道. シャイドレ_ガ_症候群の排泄コントロール. *難病と在宅ケア* 2002; 8(6): 7-11

榊原隆次、内山智之、芳山充晴、服部孝道. 大脳基底核と排尿機能. *自律神経* 2002;39(1):75-79

榊原隆次、内山智之、芳山充晴、服部孝道、市川智彦、山西友典. Parkinson 病と多系統萎縮症における性機能障害. *自律神経* 2002;39(2):148-155

服部孝道. シャイ-ドレ_ガ_症候群. 看護のための最新医学講座 Vol.1 脳・神経系疾患 (日野原重明、井村裕夫監修、祖父江 元編集) 中山書店 (東京) 2002:446-447

榊原隆次. 多系統萎縮症 MSA. *難病と在宅ケア* 2004;10(5):11-15

2. 学会発表

新井公人、服部孝道 Machado-Joseph 病に対するタルチレリン水和物の効果について 第 43 回日本神経学会総会 (2002.5.29-31)

新井公人、金井数明、服部孝道 ICARS (International cooperative ataxia rating scale) を用いたタルチレリン水和物の効果の検討 第 45 回日本神経学会総会 (04.5.11-14)

金井 数明、新井 公人、平野 成樹、服部 孝道. International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)の検者間信頼性の検討 第 46 回神経学会総会、鹿児島、2005. 5. 25-27

他、国内 26 件 国外 7 件

Ⅱ. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

特になし

小脳-大脳運動回路と大脳基底核運動回路のネットワーク解析

分担研究者：吉良潤一¹⁾

研究協力者：谷脇考恭¹⁾ 岡山 晶¹⁾ 飛松省三²⁾ 吉浦 敬³⁾

1) 所属：九州大学大学院医学研究院神経内科

2) 所属：九州大学大学院医学研究院臨床神経生理

3) 所属：九州大学病院臨床放射線科

研究要旨

脊髄小脳変性症で予想される小脳-大脳運動回路、および大脳基底核運動回路全体の機能連関の解析方法を開発した。若年健常人を対象に、手指複雑連続運動課題中に機能的 MRI を撮像し、ネットワーク解析を加えた。自己ペース運動中は大脳基底核運動回路に、外的ペース運動中は小脳-大脳運動回路に機能連関を認め、両回路の活動をヒトで解析する方法を確立できた。

A.研究目的

脊髄小脳変性症で予想される小脳-大脳運動回路、および大脳基底核運動回路の機能連関の解析方法の確立を目的とした。

B.研究方法

12 例の若年健常人を対象に、手指複雑連続運動課題を自己ペース、および外的ペースで行い、機能的 MRI を撮像後、ネットワーク解析を加え、両回路内の径路係数を算出した。

C.研究結果

自己ペース運動中は大脳基底核運動回路に、外的ペース運動中は小脳-大脳運動回路に機能連関を認めた。

D.考察

自己ペース運動中は大脳基底核運動回路が、外的ペース運動中は小脳-大脳運動回路の活動が示唆され、両回路は異なるタイミング調節に関与することが推定された。

E.結論

小脳-大脳運動回路、基底核運動回路の活動をヒトで解析する方法を確立できた。今後は脊髄小脳変性症患者を対象とし、小脳疾患の病態機序について解析する予定である。

F.健康危険情報

特になし

G.研究発表

1.論文発表

Yamada T, et al: J Neurol Sci 218: 91-97, 2004

Taniwaki T, et al: J Neurosci 23:3432-3438, 2003.

Taniwaki T et al. J Neurol Sci 200: 79-84, 2002.

2.学会発表

Taniwaki T, et al: The 8th international Evoked Potentials Symposium. Fukuoka 2004. 10.8.

谷脇考恭 他： 第 45 回日本神経学会総会、東京 2004. 5.13

H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1.特許取得
- 2.実用新案登録
- 3.その他

厚生科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合研究報告書

遺伝性脊髄小脳変性症の起因遺伝子および病態に関する研究

分担研究者 佐々木秀直 北海道大学大学院医学研究科神経病態学講座神経内科学分野

共同研究者：矢部一郎、相馬広幸

所 属：北海道大学大学院医学研究科神経病態学講座神経内科学分野

研究要旨：我が国の脊髄小脳変性症(SCA)は30%前後が遺伝性疾患よりなる。初めに、その中で本邦において頻度の高いSCAである脊髄小脳変性症6型(SCA6)の臨床像について解析した。SCA6の主要な臨床像は緩徐進行性の小脳性運動失調であるが、その一方で‘めまい’などの変動する付帯症状を伴う群も存在することが知られている。臨床像解析の結果、この付帯症状と関連した downbeat positioning nystagmus (DPN)が高頻度に認められ、SCA6の臨床的特徴であることが明らかとなった。次に、SCA14の該当遺伝子について検討した。SCA14は19q13.4-qterに遺伝子座を有する優性遺伝性脊髄小脳変性症であり、本邦からの報告に次いで、北米を中心に同一領域に遺伝子座の有する家系が報告されていたが、北米家系において該当遺伝子が protein kinase C γ (PRKCG)であることが判明した。そこで、本邦のSCA14において検討した結果、PRKCG第4エクソンのミスセンス変異が発症に関与していることを確認した。更に遺伝性SCAにおける候補遺伝子の一つとして、原因不明の遺伝性SCAについて phospholipase C β 4 (PLCB4)遺伝子を解析した。PLCB4はPRKCGと共にイノシトールリン脂質を介する細胞内情報伝達系として機能し、かつ小脳に高発現している。解析の結果、現時点では、PLCB4エクソン内に病的意義のある変異は認められなかった。

A.研究の背景と目的

1. SCA6の臨床像について

我が国の脊髄小脳変性症(SCA)において30%は遺伝性疾患からなり、そのうちSCA6は我が国に多い遺伝性SCAである。SCA6の主要な臨床像は緩徐進行性の小脳性運動失調である。しかし、運動失調のみで経過する群がある一方で、‘めまい’などの変動する付帯症状が目立つ一群があることが知られている。このような変動する付帯症状は、頭位変換時によく認められることが記載されているが、それらの中で、頭位変換下眼瞼向き眼振 (downbeat positioning nystagmus; DPN) に伴い‘めまい’を自覚する症例の報告も散見される。これらの事実をふまえて、SCA6におけるDPNの頻度、特異性およびSCA6の変動する付帯症状との関連を検討することを目的とした。

2. SCA14の起因遺伝子の同定について

遺伝性SCAのうち約30~40%の原因は特定されていない。その中でSCA14が第19染色体長腕に位置していることが報告された。本邦からの報告に次いで、北米からも同一領域に遺伝子座を有する家系が報告され、2003年に北米の家系において、その該当遺伝子が protein kinase C γ (PRKCG)であることが明らかにされた。報告された起因変異は全て1塩基置換によるミスセンス変異であり、いずれも変異部位は第4エクソンに位置していた。そこで、本邦のSCA14においてもこの遺伝子変異について検討を行った。

3. 遺伝性SCAにおけるPLCB4遺伝子解析について

PRKCGは、イノシトールリン脂質を介する細胞内情報伝達系として機能し、かつ小脳に高発現している。これらのことより、この情報伝達系は小脳機能維持に対し重要な役割を為していることが推定

される。そこで、PRKCGと関連してその情報伝達系機能を維持し、かつ小脳に発現している phospholipase C β 4 (PLCB4)は遺伝性SCAの有力な候補遺伝子の一つであると考え、原因不明の遺伝性SCAについて解析を行った。

B.研究方法

1. SCA6 の臨床像について

脊髄小脳変性症患者 83 名を対象とした。その構成は SCA1 6 名, SCA2 5 名, MJD 16 名, SCA6 25 名, SCA6 以外の優性遺伝性皮質性小脳萎縮症 (dominantly inherited cortical cerebellar atrophy; DCCA) 15 名, 多系統萎縮症 (multiple system atrophy-C; MSA-C) 16 名である。SCA1, SCA2, MJD, SCA6 は遺伝子解析により診断した。既知の遺伝子異常が否定された優性遺伝性皮質性小脳萎縮症を DCCA 群とした。MSA-C は Gilman らの診断基準によって診断された。対象患者の臨床症状を問診した後、DPN の有無を診察した。DPN は、フレンツェル眼鏡を使用した状況と使用していない状況下で、診察者の介助のもと、座位から仰臥位に体位を変換した直後に肉眼的に観察された。

2. SCA14 の起因遺伝子の同定について

本邦の SCA14 を対象に PRKCG 遺伝子全 18 エキソンを PCR 法にて増幅した後、蛍光 DNA シークエンサー (ABI PRISM377) を用い direct sequence 法にて解析した。加えて既知の SCA 遺伝子変異が否定された SCA 家系の発端者 24 名についても同様の解析を行った。PRKCG 遺伝子変異が同定された後、その変異について、対照として健康者 50 名、多系統萎縮症 70 名を分析した。

3. 遺伝性 SCA における PLCB4 遺伝子解析について

既知の遺伝子変異が否定された SCA 家系の発端者 24 名を対象とした。その臨床病型は ADCA I が 6 家系(25%)、DCCA が 18 家系(75%)であった。PLCB4 遺伝子の全 40 エキソンを PCR 法にて増幅した後、蛍光 DNA シークエンサー (ABI PRISM377) を用い direct sequence 法にて解析を行った。

(倫理面での配慮)

いずれの研究においても、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針 (平成 13 年 3 月 29 日文科科学省・厚生労働省・経済産業省告示第 1 号) を遵守した上で実施し、北海道大学医学研究科医の倫理委員会の承認を得た。対象者には研究の趣旨を文

書で説明し、文書で同意を得た。

C.研究結果

1. SCA6 の臨床像について

SCA6 群では 25 名中 17 名の方が、‘めまい’などの変動する付帯症状を自覚していた。そのうち約 80%の方は、まだ運動失調の軽微な病初期の段階から、このような付帯症状に気がついていた。他の疾患群では MJD 4 名が‘ちらつき’を自覚するのみであった。

DPN は SCA6 患者 21 名の方に観察された。上述の付帯症状を伴った 17 名全てに DPN を認め、実際に、その DPN に伴い付帯症状を自覚した。SCA6 の DPN はフレンツェル眼鏡の有無に関わらず観察可能であった。SCA6 群以外では DCCA 2 名, MSA 1 名でも DPN は認められたが、フレンツェル眼鏡下でのみ観察可能な微弱なものであった。これらの結果より、DPN は SCA6 に高頻度に認められ、頭位変換時に起こる付帯症状に関与しているものと推定された。

2. SCA14 の起因遺伝子の同定について

本邦の SCA14 において PRKCG 遺伝子 380 番目のアデニンがグアニンに置換する一塩基置換を認めた。これは 127 番目のアミノ酸をグルタミンからアルギニンに置換するミスセンス変異であった。この変異は発症者と保因者にのみ認められ、対照群には認められなかった。該当遺伝子が未知の SCA 発端者 24 名には、PRKCG 遺伝子変異は認められなかった。このことより、本邦の SCA14 も PRKCG 遺伝子変異に起因することが確認された。

3. 遺伝性 SCA における PLCB4 遺伝子解析について

6 名において 4 種類のエクソン内遺伝子変化を認めた。しかしながら、データベース上これらの塩基置換は既に single nucleotide polymorphism (SNP) として登録されており、病的意義は無いものと考えられた。

D.結論

1. SCA6 の臨床像について

DPN 及びそれに伴う変動する付帯症状は、他の病型の SCA 患者よりも SCA6 患者に高頻度に認められ、これらは SCA6 の臨床的特徴と考えられる。

2. SCA14 の起因遺伝子の同定について

SCA14 は PRKCG 遺伝子変異に起因する。

3. 遺伝性 SCA における *PLCB4* 遺伝子解析について

今回の検討では遺伝性 SCA と関連する *PLCB4* 遺伝子変異は認められなかった。しかしながら、*PLCB4* は遺伝性 SCA の有力な候補遺伝子であると思われるので、今後も更なる検討が必要である。

E. 研究発表

1. 論文発表

- 1). Yabe I, Sasaki H, Kikuchi S, Nonaka M, Moriwaka F, Tashiro K. Late Onset Ataxia Phenotype in Dentatorubro-pallidoluysian Atrophy (DRPLA). *J Neurol.* 249: 432-436, 2002
- 2). Yabe I, Sasaki H, Tashiro K, Matsuura T, Takegami T, Satoh T. Spastin gene mutation in Japanese with hereditary spastic paraplegia. *J Med Genet.* 39: e46, 2002
- 3). Sasaki H, Yabe I, Tashiro K. The hereditary spinocerebellar ataxias in Japan. *Cytogenetics and Genome research.* 100, 198-205, 2003
- 4). Yabe I, Sasaki H, Chen DH, Raskind WH, Bird T D, Yamashita I, Tsuji S, Kikuchi S, Tashiro K. Spinocerebellar ataxia type 14 caused by a mutation in Protein Kinase C Gamma. *Arch Neurol.* 60, 1749-1751, 2003
- 5). Yabe I, Sasaki H, Takeichi N, Takei A, Hamada T, Fukushima K, Tashiro K. Positional vertigo and macroscopic downbeat positioning nystagmus in spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). *J Neurol.* 250, 440-443, 2003
- 6). Yabe I, Soma H, Takei A, Fujiki N, Sasaki H. No association between *FMR1* and multiple system atrophy. *J Neurol.* 251, 1411-1412, 2004
- 7). 矢部一郎, 佐々木秀直, 田代邦雄. Spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6)の臨床像についての再考. *脳神経.* 55, 299-306, 2003
- 8) 相馬広幸, 矢部一郎, 佐々木秀直. 片頭痛発作を伴う常染色体優性遺伝性小脳皮質萎縮症. *神経内科.* 60, 483-486, 2004
- 9). 矢部一郎, 佐々木秀直. Spinocerebellar ataxia type 14. *神経内科.* 60, 493-496, 2004

2. 学会発表

- 1). Yabe I, Sasaki H, Takeichi N, Takei A, Hamada T, Fukushima K, Tashiro K. positional vertigo and macroscopic down-beating positioning nystagmus in spinocerebellar ataxia

type 6 (SCA6), 127th Annual Meeting American Neurological Association, New York, 2002

2). Yabe I, Sasaki H, Chen DH, Raskind WH, Bird TD, Yamashita I, Tsuji S, Tashiro K. Spinocerebellar ataxia type 14 is caused by a mutation in Protein Kinase C Gamma, 128th Annual Meeting American Neurological Association, San Fransisco, 2003

3). Soma H, Yabe I, Takei A, Fujiki N, Sasaki H. Clinical features of multiple system atrophy in Japan - MSA-C is the most common manifestation of MSA in Japan, 129th Annual Meeting American Neurological Association, Toronto, 2004

F. 知的所有権の取得状況

該当なし

第 16 染色体長腕に連鎖する常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症 の原因遺伝子の同定

分担研究者 水澤 英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学分野 教授

この 3 年間に、我々は、第 16 染色体長腕に連鎖する常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の原因遺伝子の同定を行うために、ハプロタイプ解析・遺伝子解析を行った。その結果、候補領域の絞り込みに成功し、患者に特有な遺伝子変化を見出した。また、病理学的検索で本病型に特徴的な変化を見出した。

A. 研究目的

我々は本邦の常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症(ADCCA)の家系を多数集積し、その半数が SCA6 であり、残る家系は第 16 番染色体長腕 (16q13-q22) の約 10cM の領域に連鎖することを見出した (Nagaoka et al. Neurology, 2000)。本症の遺伝子座は、既に報告されていた SCA4 遺伝子座にほぼ一致していた (Flanigan et al. Am J Hum Genet, 1996)。しかし、SCA4 と本症では臨床的にはかなり異なっており、SCA4 は、米国とドイツから各一家系のみ報告されている稀な病型で小脳失調を認めるほか、感覚障害や腱反射減弱といった末梢神経障害が 100% にみられ、また錐体路徴候がみられる例もある。一方、本症は本邦の ADCCA のなかで比較的多いものと思われ、高齢発症 (平均 55.9 歳) の純粋な小脳失調で、表現促進現象に関しては、本症ではより軽度である (平均 4.9 歳)。したがって、SCA4 と本症とが allelic disease であるかどうか今後の研究により解明していく必要がある。本症について、さらにこの領域の多数の DNA マーカーを検索した結果、この部分では、全家系に共通する創始者ハプロタイプを認め、候補領域を約 3cM に狭めた (Takashima et al. J

Hum Genet, 2001)。

H13 年度までに報告したとおり、我々が連鎖を見出した第 16 番染色体に連鎖する優性遺伝性皮質性小脳萎縮症に関して、これまでこのポジショナルクローニングの結果、候補領域は約 3cM と考えられていたが、この領域内のマイクロサテライト DNA マーカーと sequence tagged site (STS) マーカーを用いて bacterial artificial chromosome (BAC) クローンを選定し、BAC クローンの連続化 (contig) の構築を行い、また、公表されたデータベースの解析を行った結果、この BAC contig は最大で約 5.8Mb の領域を有することが分かった。さらに、多数例でのハプロタイプ解析の結果、H13 年度までに候補領域は約 4.8Mb まで絞り込めた。本疾患が、優性遺伝性で緩徐進行性の経過をとる神経変性疾患であり、軽度ながら表現促進現象を認めるなど、CAG リピートを含めたいわゆるリピート病に合致しており、その範疇に入る可能性が十分考えられたので、リピート伸長の有無を検索した。この領域内に認められる tandem repeat を、リピート伸長の有無について解析した。現在までのところ、CAG リピートを含めて明らかなりピートの異常伸長は見つかった。

ていない。

本研究の目的は、この第 16 染色体連鎖 ADCCA の原因遺伝子を同定し、その発症機序の解明と治療法の開発を行うことである。

B. 研究方法

想定される原因遺伝子の候補領域をさらに狭めるために、多施設の協力を得て、連鎖が示唆され出身地の異なる新たな家系を追加し、既知のマイクロサテライト DNA マーカー 10 個、および我々が独自に見出した 15 個のマーカーについて、患者および正常対照者のゲノム DNA を用いて PCR を行い、蛍光オートシーケンサーを用いて解析を行い、元の 6 家系との共通したハプロタイプを示す領域を検索した。

また、候補領域の中に含まれる遺伝子をデータベースの中から検索し、それぞれにつきエクソンを含む領域を増幅するようなプライマーを設定し、患者および正常対照者のゲノム DNA を用いて PCR を行い、DNA 蛍光オートシーケンサーを用いて直接シーケンシングを行い、変異の有無について検索した。また、ゲノム情報から 5' 端あるいは 3' 端の遺伝子情報が得られないものについては RACE 法を用いて塩基配列を決定し、同様に患者での変異の有無を解析した。これまでに解析した遺伝子の総数は 50 近くに上った。

さらに、我々の集積した家系で剖検例が得られたので、病理学的検索を行った。

(倫理面での配慮)

遺伝子解析を協力していただいた被検者には、該当施設の倫理規定に則った方法でインフォームドコンセントを得て、文書にて承諾を取り、実験を行った。

C. 研究結果

1. ハプロタイプ解析

他施設の協力を得て、連鎖が示唆される家系は 5 2 家系に増やした。既知のマイクロサテライト DNA マーカー 10 個および我々が独自に見出したマーカー 15 個、計 25 個につき、ハプロタイプ解析を行った結果、複数のマーカーについて全家系の発症者が共通したアレルを有しており、創始者

効果を認めた。この結果、約 4.8Mb あった候補領域は約 600Kb に狭めることができた。

2. 遺伝子解析

この領域は、遺伝子が大変豊富に存在しており、既に登録されているもので 30 以上ある。これらの遺伝子のほぼすべて解析をおこないその結果、患者に特異な遺伝子変化を見出した。同変化は日本人健常者 5 0 0 人には見られていない。

3. 病理学的検索

剖検例は死亡時 96 歳の女性で、小脳性失調症が 70 歳頃より出現し、末期は難聴と老年性痴呆を伴っていた。

マクロ所見では小脳虫部上面に軽度の萎縮を認めた。

組織学的には小脳皮質の変性がみられ、特にプルキンエ細胞の萎縮・神経細胞脱落を認めるが、顆粒細胞の脱落は軽度であった。この変化は小脳虫部に最も強く認められた。強拡大でみると、萎縮したプルキンエ細胞の周囲にはアモルファスな構造物を認めた。これを、シナプス前終末に特異的なシナプトフィジンで染色すると、このアモルファスな構造物の少なくとも一部はシナプトフィジン陽性であった。

次に、プルキンエ細胞のマーカーであるカルペンディンに対する免疫染色を行うと、形態の異常な樹状突起を多数胞体から出している異常なプルキンエ細胞が認められた。胞体がやや萎縮したものではアモルファスな構造が形成され、顆粒状の構造物がみられた。さらに萎縮が進んだものでは、顆粒状の構造物がはっきりしていた。

ユビキチンの染色を行っても、これらの顆粒はみられた。

また、以上に示したような特徴的な病理学的変化を示す別の例においても、やはり上記した遺伝子変化が確認され、病理学的変化と遺伝子変化が 1 対 1 対応することが判明した。

D, E. 考察および結論

3 年間の間に、他施設からの協力でさらに多数例の家系を追加して、ハプロタイプ解析を行った結果、本症の遺伝子の候補領域を 600Kb に狭めることができた。こ

の領域に存在する遺伝子を解析した結果、患者に特有な遺伝子変化を有する遺伝子内に見出した。同変化は日本人健常者には見られていない。現在、これが真の遺伝子変異であるかどうかについて、剖検脳を用いた遺伝子の転写産物の解析を含めて、詳細に検討している。また、この遺伝子は機能について十分には判明していず、これについても検討している。

また、病理学的検索を行った結果、萎縮したプルキンエ細胞の周囲には少なくとも一部はシナプトフィジン陽性であるアモルファスな構造を認め、したがってプルキンエ細胞が変性・萎縮する過程で、これに inputs するシナプス前終末が増生しているという可能性が考えられる。MSA や SCA6 を含めプルキンエ細胞の変性を来す他の疾患では認められないこと、また、同様な変化を示す別の剖検例においても同じ遺伝子変化が認められたことから、本病型に特徴的な変化であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

石川欽也, 融 衆太, 大和田 潔, 石田 玄, 水澤英洋. 【遺伝性脊髄小脳変性症 遺伝子未解明の疾患を中心に】 第 16 番染色体長腕に連鎖する優性遺伝性純粋小脳失調症. 神経内科 60 巻 5 号 Page462-468(2004.05)

Li M. Ishikawa K. Toru S. Tomimitu H. Takashima M. Goto J. Takiyama Y. Sasaki H. Imoto I. Inazawa J. Toda T. Kanazawa I. Mizusawa H. Physical map and haplotype analysis of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) type III in Japan. J Hum Genet. 2003; 48: 111-118.

2. 学会発表

融 衆太, 石川欽也, 李 明順, 水澤英洋. 第 16 番染色体長腕連鎖型優性遺伝性皮質性萎縮症(16q-ADCCA)の原因遺伝子探索.

第 45 回日本神経学会総会. (2004.5.11-4, 東京)

石川欽也, 融 衆太, 大和田 潔, 石田 玄, 李 明順, 水澤英洋. 第 16 番染色体長腕連鎖型優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の臨床的・神経病理学的研究. 第 45 回日本神経学会総会 (2004.5.11-4, 東京)

融 衆太, 李 明順, 石川 欽也, 高橋博樹, 大和田 潔, 水澤 英洋. 第 16 番染色体に連鎖する優性遺伝性小脳失調症の頻度と臨床的特徴. 第 44 回日本神経学会総会. (2003.5.15-7, 横浜)

大和田 潔, 石川欽也, 石田 玄, 融 衆太, 水澤英洋. 第 16 番染色体に連鎖する皮質性小脳萎縮症 1 家系の臨床・神経病理学的所見. 第 167 回日本神経学会関東地方会 (2003.11.29, 東京)

李 明順, 融 衆太, 高島 実, 富満弘之, 石川欽也, 水澤英洋. 第 16 番染色体に連鎖する常染色体優性遺伝性皮質性小脳萎縮症(ADCCA)の候補遺伝子の検討. 第 43 回日本神経学会総会 (2002.5.29-31, 札幌)

融 衆太, 李 明順, 石川欽也, 水澤英洋. 第 16 番染色体長腕に連鎖する優性遺伝性皮質性小脳萎縮症の臨床学的検討. 第 43 回日本神経学会総会 (2002.5.29-31, 札幌)

H. 知的所有権の獲得

なし

都城地域に多発する常染色体優性脊髄小脳変性症の臨床的、遺伝学的研究

分担研究者 納 光弘

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経内科、老年病学

共同研究者：高嶋 博、平野隆城、大窪隆一、荒田 仁、
有里敬代、田島圭子、有村公良

研究要旨

都城に多発する高齢発症の常染色体優性脊髄小脳変性症の患者 8 家系 15 例について、臨床的に解析し、発症や臨床経過、症状、神経所見、MRI などについて疾患の特徴をまとめた。

遺伝子学的にも検討し、2 点連鎖解析では遺伝子マーカー D16S3141 で Lod score 6.01 優位な値を示し、本家系は、16 番染色体に連鎖する、高齢発症の pure な小脳失調症と特徴づけられた。さらにハプロタイプ解析では 1.25MB の範囲に原因遺伝子の存在を同定しえた。この範囲内のすべての遺伝子をシーケンス解析したが、疾患に関連する遺伝子異常は見られなかった。今後は、さらなる新しい候補遺伝子存在の可能性を検索しつつ、イントロンの異常、特殊なりपीト病、micro deletion/duplication の可能性、メチル化の異常など幅広く調べる必要がある。

分担研究者： 納 光弘
鹿児島大学医歯学総合研究科
神経病学講座 神経内科・老年病学・教授

に、絞り込んだ範囲にある 36 の遺伝子について、翻訳領域および splice site のシーケンス解析を行った。

A. 研究目的

都城に多発する高齢発症の常染色体優性脊髄小脳変性症の臨床的特徴、および遺伝的原因を明らかにする。

B. 研究方法

患者 8 家系 15 例について、臨床的に解析し、発症や臨床経過、症状、神経所見、MRI などについて疾患の特徴をまとめた。

ヒトゲノム・遺伝子解析に伴う倫理指針に準拠した研究概要について詳細に説明したのち、文書にて同意を得た 8 家系 34 名（うち患者 24 名）において遺伝子学的検討を行った。

はじめに、既知の遺伝子異常の有無を調べるため、SCA 1, 2, 3, 6, 7, 8, 12, 17, DRPLA について、トリプレットリピートの異常を調べた。次に多型 DNA マーカーを用いて遺伝子連鎖解析を行い、疾患遺伝子存在部位を決定した。さら

C. 研究結果

1. 臨床的特徴

- 1) 40～65 歳で発症し、常染色体優性遺伝の形式を示す。
- 2) 小脳症状（歩行障害または構音障害）で発症し、緩徐進行性。
- 3) 全家系が都城盆地の狭い地域を出生地とする。
- 4) 小脳症状以外に、軽度の腱反射亢進、軽度の下肢筋力低下、感覚障害（主に深部感覚障害）が多く見られる。
- 5) 画像上は、小脳および橋被蓋部の萎縮を認めた。
- 6) 痴呆などの精神症状なし。
- 7) 全体的に生命予後は良好。
- 8) タルチレリン水和物に効果を示す例有り。
- 9) 既知の SCA 遺伝子異常なし。

2. 遺伝子学的検討

SCA 1, 2, 3, 6, 7, 8, 12, 17, DRPLA について、トリプレットリピートの異常を調べたが異常は認めなかった。

次に、他の SCA との異同を調べるため、連鎖解析法にて現在報告されている既知の遺伝子座について調べたところ、唯一、16q22 に位置するマーカーに連鎖を認めた。

2点連鎖解析では、遺伝子マーカー D16S3141 で Lod score 6.01 と最も高い値を示した。この周囲の 8 つのマーカーで Lod score 3 以上の優位な値を示した。

ハプロタイプ解析では、遺伝子マーカー 17msm (自作) と CTTT01 の間の 1.25MB の範囲に原因遺伝子の存在が考えられた。

この 1.25MB の範囲にある 21 の遺伝子と 15 のプログラムで予測された遺伝子の検討で、7 つの遺伝子において 9 種の遺伝子異常が認められた。

ZFP90 遺伝子で heterozygous 822insG, 29polyglutamine を含む THAP11 では、1 glutamine deletion、その他 4 つの新しいシークエンスバリエーションを見つけたがこれらは、疾患と co-segregate していなかった。

homozygous に疾患関連遺伝子を持つ患者において、PCR 法で欠失を検討したが、明らかな遺伝子の欠失は認めなかった。

D. 考察

本家系は、常染色体の 16 番染色体に連鎖する、高齢発症の pure な小脳失調症と特徴づけられる。

この領域は、既報告の SCA4 または、16q-ADCCA (16qADCA type III) と重なる領域であり、今回の検討から導かれた我々のデータは、今までの報告のほぼ中央部に存在した。この領域は、1.25MB にもかかわらず、推定されるものを含め、遺伝子が 36 もあり、遺伝子密度の高い領域であった。この範囲の考えられるすべての遺伝子をシークエンス解析したが、疾患に関連する遺伝子異常は見られなかった。

今後は、さらなる新しい候補遺伝子存在の可能性を検索しつつ、イントロンの異常、特殊なリピート病、micro deletion/duplication の可能性、メチル化の異常など幅広く調べる必要があると考えられた。

E. 結論

1. 都城に多発する脊髄小脳変性症の臨床型を明らかにした。
2. 本疾患は、タルチレリン水和物に効果がある例が多い。
3. 遺伝子解析の結果から本疾患は 16q22 にマップされ、SCA4 または、16q-ADCCA と同一の原因 (遺伝子異常) で起こる可能性が高い。
4. 候補領域は 1.25MB まで狭まっており、原因究明は近いと考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hirano R, Takashima H, Osame M, et al. Fine mapping of 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia type III in Japanese families. *Neurogenetics*. 2004, 5:215-221
2. Takashima H, Nakagawa M et al. Mutation of TDP1, encoding a topoisomerase I-dependent DNA damage repair enzyme, in spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Nat Genet*. 2002 Oct;32(2):267-72.
3. 大窪隆一、平野隆城、高嶋 博、有村公良、納 光弘 都城地域に集積する予後良好な常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症 *神経内科* 60(5),477-482, 2004

2. 学会発表

第 45 回日本神経学会総会(2004 年,東京)

高嶋 博ら

都城地域に多発する常染色体優性脊髄小脳変性症の臨床的、遺伝学的研究

大窪隆一ら

都城地域に多発する優性遺伝性脊髄小脳変性症の臨床的特徴について

長野県南部地域に集積する優性遺伝性脊髄小脳変性症の連鎖解析

分担研究者 池田修一 信州大学医学部第三内科 教授

共同研究者 吉田邦広¹⁾、清水雄策²⁾、岡野友美³⁾、堺 温哉⁴⁾、福嶋義光¹⁾、松本直通⁴⁾

¹⁾ 信州大学医学部附属病院遺伝子診療部、²⁾ 伊那中央病院神経内科、³⁾ 諏訪赤十字病院神経内科、⁴⁾ 横浜市立大学大学院環境分子医科学

研究要旨：長野県伊那地域に集積する原因遺伝子未同定の常染色体優性遺伝性の脊髄小脳変性症の病因解明を目的として連鎖解析を始めた。罹患者 6 名を含む 22 名の研究協力者が得られた 1 家系において全ゲノムのスクリーニングを行ったところ複数の染色体において LOD 値が 1 を超える DNA マーカーを見出したが、いずれも有意な連鎖を示唆する (LOD 値>3) までには至らなかった。その要因として、マーカー間の遺伝学的距離が大きいこと、配偶者を含めて本家系の遺伝的背景が比較的均一なためアレルの種類が少なく、マーカーのヘテロ接合性が低いこと、などが考えられた。今後、LOD>1 のマーカーを中心に、その周辺に新たなマーカーを設定して候補領域を絞り込む予定である。

A. 研究目的

昨年度までに長野県における常染色体優性遺伝性の脊髄小脳変性症 (autosomal dominant cerebellar ataxia, ADCA) 86 家系の疾患頻度を解析した結果、長野県では現時点で原因遺伝子未同定の ADCA が 55 家系 (65%) と高頻度に存在することが判明した。しかもこれらの未同定家系は木曾、佐久、伊那などの比較的限局した地域に集積する傾向が見られた。また臨床的にはこれらの未同定家系の大半が中年期以降に発症する緩徐進行性の純粋小脳型を呈していた。このような知見を

踏まえて、長野県内に集積する原因遺伝子未同定の ADCA の病因を解明することを目的にした。

B. 研究方法

対象は長野県伊那地域出身の ADCA 家系 3 家系である。今回はこの中から最も多くの検体数 (罹患者 6 名を含めて家系全体で 22 名) が得られた 1 家系を用いて全ゲノムのスクリーニングを行った。末梢血白血球からゲノム DNA を抽出し、ABI PRISM Linkage Mapping Set ver. 2.5 を用いてゲノム上の約 400 の DNA マー

カーを PCR で増幅した。増幅した PCR 産物は ABI 3100 を用いてサイズ解析を行った。得られたデータをもとに MLINK による二点パラメトリック連鎖解析を行い、各マーカーに対する LOD 値を算出し、候補領域の絞り込みを行った。

(倫理面での配慮)

本研究は「ヒト遺伝子研究」として信州大学医学部倫理委員会の承認を得た。遺伝子解析にあたっては、研究協力者に対して口頭と文書による説明を行い、インフォームド・コンセントを得た。特に原因遺伝子の解明を目的にしたヒト遺伝子研究であり、すぐさま臨床的に有益な情報が得られるものではないこと、原則として結果は伝えないことを十分に説明した。また検体、遺伝子解析結果は当遺伝子診療部において一括管理し、個人情報保護には十分に配慮した。

C. 研究結果

浸透率 1.0 とした場合、第 3、6、8、10、16、17 番染色体に最大 LOD 値が 1 を超えるマーカーをいくつか見出したが、最大でも 1.7 程度にとどまり、LOD 値が 3 を超えるような有意なマーカーは見出せなかった。

D. 考察

結果的に本家系においては有意な連鎖が示唆される (LOD 値 > 3) マーカーは見出せなかった。この理由としてはいくつかの要因が考えられる。最も大きな要因としては使用したマーカー間の平均の遺伝学的距離が 9.2 cM と大きいことが上げられる。このために原因遺伝子座が 2 つのマーカーから同程度の距離にある場

合にはそのいずれのマーカーでも LOD 値が十分に上がらないことが予測される。次に配偶者を含めて本家系の遺伝的背景が比較的均一なためアレルの種類が少ない、マーカーのヘテロ接合性が低いという可能性が考えられる。さらに臨床情報の精度の問題がある。本家系では大半の罹患者が 40-50 歳台に発症しているが、60 歳頃に発症した方もあった。今回は一様に浸透率 1.0 として LOD 値を算出したが、罹患者の子供で採血時に 57 歳、55 歳で無症状の方を非罹患者とみなすことには若干問題があるかも知れない。

いずれにしても今後はいくつかの染色体で確認された LOD 値 > 1 のマーカーを中心にその周辺に新たなマーカーを設定して、候補領域を絞り込む予定である。

E. 結論

長野県に高頻度に存在する原因遺伝子未同定の ADCA の病因解明をめざして連鎖解析を始めた。現在までのところ有意な連鎖を示唆する理想的なマーカーには行き着いていない。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

論文発表

Shimizu Y, Yoshida K, Okano T, Ohara S, Hashimoto T, Fukushima Y, Ikeda S. Regional features of autosomal-dominant cerebellar ataxia in Nagano: clinical and molecular genetic analysis of 86 families. *J Hum Genet* 49: 610-616, 2004.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)

なし

遺伝性脊髄小脳失調症 6,8,14 型(SCA6,SCA8,SCA14)の分子疫学

分担研究者 川上秀史 広島大学病院脳神経内科

共同研究者：和泉唯信、寺澤英夫、丸山博文、織田雅也、森野豊之、宮地隆史、中村重信、松本昌泰、岡田隆之¹⁾、伊東秀文²⁾、佐々木石雄³⁾、田中洋康⁴⁾、小牟禮修⁵⁾、宇高不可思⁶⁾、酒井規雄⁷⁾、平本恵子⁷⁾、関 貴弘⁷⁾、井上貴美子⁸⁾、足立直子⁹⁾、斎藤尚亮⁹⁾

広島大学大学院脳神経内科、¹⁾北野病院神経内科、²⁾関西医科大学神経内科、³⁾香川医科大学第3内科、⁴⁾弘前大学第3内科、⁵⁾宇多野病院神経内科、⁶⁾住友病院神経内科、⁷⁾広島大学大学院 神経・精神薬理、⁸⁾兵庫県立リハビリテーションセンター、⁹⁾神戸大学分子薬理

研究要旨 Spinocerebellar ataxia 8 (SCA8) は遺伝性 SCA のうち唯一 CTA/CTG リピートの伸長が問題となっている。また SCA6 は、日本に一番多く、なかでも西日本に多いが、その分子的背景は不明である。さらに SCA14 は、プロテインキナーゼ C(PKC)の神経特異的な分子種である γ PKC のミスセンス変異が発症原因と考えられているが、日本で1家系報告されているのみで、その頻度、病型など不明な点が多い。これらの問題を明らかにするため、約2000名の脊髄小脳変性症患者ライブラリーを検索した。その結果、SCA患者群は正常コントロール群に比し有意に large なリピート(85 \leq CTA/CTG $<$ 400)が多く、SCA8 CTA/CTG リピートの SCA の関与が確認された。SCA6 には、3つの主要なハプロタイプが存在し、うち2つは全国的に分布し、残り1つが、中国・関西地方に特異的な分布を示すことを明らかにした。さらに γ PKC の新たな変異による SCA14 家系を同定し、PKC のターゲティングに注目して解析を行い、変異 γ PKC は容易に細胞内で凝集体を形成することを明らかにした。SCA14 はタンパク質の異常蓄積を起因とする神経細胞死により発症することが推測された。

A. 研究目的

Spinocerebellar ataxia 8 (SCA8) は遺伝性 SCA のうち唯一 CTA/CTG リピートの伸長が問題となっている。また SCA6 は、日本に一番多く、なかでも西日本に多いが、その分子的背景は不明である。さらに SCA14 は、プロテインキナーゼ C(PKC)の神経特異的な分子種である γ PKC のミスセンス変異が発症原因と考えられているが、日本で1家系報告されているのみで、その頻度、病型など不明な点が多い。これらの問題点を明らかにするため、多数例からなるライブラリーを検索することにした。

B. 研究方法

SCA8 の検索において、SCA 患者 694 名、PD 患者 224 名、AD 患者 158 名、正常コントロ

ール 327 名に対して PCR 法またはサザンプロットングにて CTA/CTG リピート数を決定した。SCA6 患者 150 名と正常コントロール 100 名を対象とし、"D19S1150-nt1457-nt2369-rs16031"の CACNA1A 遺伝子内マーカーを用いてハプロタイプの同定を行った。SCA14 に関しては、 γ PKC の C1 領域(exon4-5 領域)を解析した。既知の遺伝子異常を除外した孤発例 650 人と家族歴を有する例 232 人のゲノムから γ PKC 遺伝子 PRKCG の exon4-5 を PCR 法によって増幅させ、その産物を Denatured High-Performance Liquid Chromatography (WAVE^R) を用いて遺伝子変異を検出し、その後直接塩基解析法によって決定した。さらに変異 γ PKC-GFP 発現ベクターを作製し、各種培養細胞に発現させ、局在、受容体刺激によるトランスロケーション、