

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

遺伝性脊髄小脳変性症(16q-ADCAIII)の
分子病態解明

平成 18 年度 総括研究報告書

Annual Report of the Study for Discovering the Molecular
Pathogenesis underlying the Inherited Spinocerebellar
Degeneration (16q-ADCA III),
the Ministry of Health, Labor and Welfare, Japan

主任研究者 石川欽也

Chairman: Kinya Ishikawa, MD, PhD.
Department of Neurology and Neurological Science,
Graduate School, Tokyo Medical and Dental University

平成 19 年(2007 年)4 月

目 次

総括研究報告書	1 頁
研究成果の刊行に関する一覧表	19 頁
刊行成果別刷り	23 頁

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業） 総括研究報告書

遺伝性脊髄小脳変性症(16q-ADCAIII)の分子病態解明

主任研究者 石川 欽也 東京医科歯科大学 医学部附属病院 神経内科 講師

研究要旨 我々は、本邦に存在する原因不明の遺伝性脊髄小脳変性症の中では最も頻度が高いと考えられる、第16番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(16q-ADCAIII)の原因遺伝子を同定する研究を行った。平成18年度はその2年度目である。昨年度は、16q-ADCAIIIの52家系を全国から集積し、共通するハプロタイプが存在する領域に存在する新しい遺伝子“*puratrophin-1*” (DKFZP434I216)の、翻訳開始直前16塩基の位置にあるシトシン(C)が、患者では特異的にチミン(T)に置換していることを誌上報告した(Ishikawa K & Toru S et al. *Am J Hum Genet* 77: 280-296, 2005)。しかし、公表後この遺伝子変化を有さず、ごく軽い運動失調を示す患者を1名見出したため、この領域付近に存在する別の遺伝子に真の変異がある可能性が出現した。このため、本年度は家系を出来る限り増やし、候補領域を再度設定し直すこととした。その結果、マイクロサテライトマーカーの不安定性を示すマーカーが多数存在することが判明し、以前、最も可能性が高いと限定化していた候補領域の外にもハプロタイプの共通する領域が認められた。このようなことから、再度候補領域を限定化したところ、以前決定した候補領域より動原体側に伸びる900kb領域が真の候補領域であることが分かった。この領域について、ゲノムシーケンシング、サザン解析、TaqMan解析、array CGH解析などを行ったところ、患者に特有の遺伝子変化を複数認めた。このうちの1つの変化については遺伝子変化の性質上、真の原因である可能性を強く疑っている。一方、患者の第16番染色体長腕16q22.1領域を含有するBAC cloneの連続によるcontigを構築した。現在までそのクローンのシーケンス解析中である。以上のことから、本疾患の原因同定は間近であると考えている。

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・教授

常深泰司 東京医科歯科大学・大学院脳神経病態学・助手

Mendelian Inheritance in Man (OMIM) <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/OMIM>においては「16q22.1-linked ADCA (OMIM#117210)」とも呼ばれている)の原因遺伝子を同定することである。本年度はその第2年度である。

昨年度、我々は本疾患患者に特異的に認められる新しい遺伝子、*puratrophin-1*の翻訳開始点の16塩基上流に位置する部位の1塩基(C→T)置換を報告した(Ishikawa K & Toru S et al. *Am J Hum Genet* 77: 280-296, 2005)。この遺伝子変化を有する家系は我々の研究成果でもそうであったように、他の複数施設での検討結果からも、我国に広く存在する頻度の高い疾患であることが証明された(Ouyang Y. et al. *J Neurol Sci* 247: 180-186, 2006)。

しかし我々の誌上報告後に、1家系にお

A. 研究目的

本研究の目的は、本邦に存在する原因不明の遺伝性脊髄小脳変性症のうち、最も頻度が高いと思われる病型、すなわち第16番染色体長腕に連鎖する常染色体優性遺伝性脊髄小脳変性症(16q-ADCAIII；またはNCBI(National Center for Biotechnology Information)のデータベース Online

いて他の発症者は全員この1塩基置換を有しているが、1名だけは置換を有さずに発症している患者を見出し、我々も共同研究者として誌上報告に加わった(Ohata T et al. *J Hum Genet* 51: 461-466, 2006)。このことは、本疾患の真の変異は *puratrophin-1* 遺伝子以外に存在する可能性を示唆している。このために、我々は当初の予定であった *puratrophin-1* 遺伝子変異の機能解析を中断し、再度ゲノム探索を行うこととした。具体的には、第2年度までに集積した家系について再度ハプロタイプの共有する領域を決定し、候補領域とする。次にこの新しい候補領域についてシーケンス解析を行い、候補領域内に存在する遺伝子について逐次患者での変異の有無を解析し、遺伝子変異を同定する。またさらに、挿入や欠質などの変異を見るためにサザン解析や、ゲノムコピー数の違いを見るために TaqMan 解析や aCGH(array comparative genomic hybridization)解析などを行う。遺伝子変異が同定されれば、この遺伝子の本来の機能を明らかにし、遺伝子変異がどのように疾患の発症をもたらすかを解明することによって、はじめて根本的な治療法の開発が可能となると考える。

本研究の必要性は、本病型が現在のところ原因不明で、かつ有効な治療法がない神経難病であることから明らかであるが、さらにこの病型の頻度が我々の統計では全優性遺伝性失調症の約15~20%程度を占める、高いものであることから明らかである。なお、本病型は同様な症候を呈する脊髄小脳失調症6型(SCA6)を含め脊髄小脳変性症の中で最も高齢で発症することが特徴である。

原因遺伝子が同定できれば、本疾患の正確な病態の解明と、ひいては発症機序に基づいた根本的治療法の確立に大きく寄与すると期待される。本疾患に類似した臨床像を呈する失調症の家系がアメリカやドイツ、イギリス、オーストラリアなど海外の広い地域からも記載されていることや、同じ領域に連鎖するものの、臨床症状の大きく異なる家系が脊髄小脳失調症4型(SCA4)としてアメリカやドイツから報告されている

ことから、本研究により原因遺伝子が解明されれば、世界的にもこの領域の研究推進に大きく貢献するものと期待される。

B. 対象と方法

B-1 遺伝子変異同定のための解析

遺伝子同定のためのステップは、次のとおりである。1) 候補領域の再設定、2) 候補領域内の候補遺伝子の塩基配列検索による遺伝子変異探索、3) 患者脳内での遺伝子発現パターン異常の検索、4) サザンブロット法によるゲノム欠失や挿入型変異の探索、5) TaqMan 法および aCGH 法によるゲノムコピー数の変化の探索、6) 患者由来第16番染色体長腕16q22.1を含むBAC contigの作製と解析、であった。これらについて逐次研究経過を報告する。

1) 候補領域の再設定

本疾患では「創始者効果」が見られ、変異遺伝子とその近傍の染色体領域では、全ての患者で共通する染色体になっている。あたかも一人の創始者患者から遺伝によって現在の発症者が見られるような現象であるため、変異遺伝子の近傍ほど全患者で染色体領域を共有している。したがって、より多数の家系でハプロタイプの共有する部位を決定できれば、共有する染色体領域を限定できるため、より確実に、早く変異の同定に至ることができる。

昨年度誌上報告した、創始者効果が見られる染色体領域は、GATA01から17msmまでの450kb領域であり、これを第1の候補領域とした。これを検証するために、昨年よりさらに多数の62家系について、表1に示すマイクロサテライト型マーカーで検索した(Takashima M. et al. *J Hum Genet*, 46: 167-171, 2001; Li M. et al. *J Hum Genet*, 48: 111-118, 2003; Ishikawa K. et al. *Am J Hum Genet*, 77: 280-296, 2005; Owada K. et al. *Neurology*, 65: 629-632, 2005)。これらの家系の出身地は、北海道から九州に至るほぼ全国に分布した。

マイクロサテライト型マーカーの解析は容易で多数の解析を迅速に行えるが、これ

だけでは、稀に起きるマイクロサテライト型 DNA マーカーの不安定性によりたまたま起きたアレルの「違い」を、創始者染色体の「組み換え」と誤認する恐れがある。このため、本年度は後に述べるように患者のゲノム配列の検証から判明した、1塩基多型(single nucleotide polymorphism; SNP)が、確かに患者間で変わっているかを検討し、SNPでも変化している部位をハプロタイプの違いとして決定した。ここで用いたSNPを表2に示す。

2) 再設定した候補領域内の候補遺伝子の塩基配列検索による遺伝子変異探索

これまでの解析でもれた領域について、ホモ接合体患者のゲノム DNA を用いて、直接塩基配列を解析することにした。参照するゲノム配列については、NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>) や、Ensembl (<http://www.ensembl.org/>) などから取得した。

今回は、900kb の領域内であれば遺伝子のエクソンのみならず、イントロン配列や非翻訳領域を含む全てのゲノム領域について検索することにした。方法はホモ接合体患者のゲノム DNA を鋳型に PCR でゲノム断片を増幅し、その PCR 産物を直接シーケンスする方法である。増幅産物が約 800bp になるようにタンデム、かつそれぞれの増幅領域が重なるようにプライマーを設定し、PCR 産物をこのプライマーなどで直接シーケンシングした。結局、設定したプライマーは 1000 ペアを超えた。また、最初の実験において PCR 法で増幅しにくい箇所が残り、これらの箇所はソフトウェア RepeatMasker

(<http://ftp.genome.washington.edu/cgi-bin/RepeatMasker>) を用いてゲノム内に存在する Alu などの反復配列であるかを検討し、反復配列であれば、それを避けるようにプライマーを再度設計し直して実験した。次に、PCR 法でゲノム DNA を増幅した産物の塩基配列を、蛍光自動シーケンサー (ABI PRISM™ 3100 Sequencer) で解析した。塩基配列解読については、センス、アンチセンスの両側からシーケンシングするこ

とを原則とした。得られたシーケンス結果を Ensembl (<http://www.ensembl.org/>) などのデータベースと照合し、点変異などの有無を解析した。これによって最終的に 98% を超える領域について、直接塩基配列を決定することが出来た。

3) 患者脳内での遺伝子発現パターンの異常の検索

遺伝子の発現は、非常に広いゲノム内の調節領域によって決定されている。しかし、その調節領域の全てをゲノム解析によって探索するには大きな労力が必要であり、非効率的である。一方、遺伝子の発現パターンが、健常者と比べて患者で大きく変わっていることが判れば、この情報を元に広い範囲の調節領域から、一気に候補領域を絞り込み、変異を同定することができる可能性がある。このため、候補領域の遺伝子について、患者脳での mRNA を RT-PCR 法によって検索した。

メッセンジャー RNA の抽出・精製は、すでに我々が公表している方法を用いた (Ishikawa K. et al. *Hum Mol Genet* 8: 1185-1193, 1999)。患者および健常者の 2 名ずつについて凍結脳組織より全 RNA を抽出し、random hexamer を用いて逆転写し、mRNA を得た。これを用いて各遺伝子について最初のエクソンから翻訳領域最後のエクソンまで RT-PCR を行い、データベースと比較した。

4) サザン・プロット法による変異解析

再度設定しなおした候補領域について、健常染色体を含有する BAC clone を入手し、このインサートを 50kb 程度ごとに制限酵素で断片化し、cosmid クローンに再度クローニングしなおし、最終的には候補領域の cosmid contig を構築した。前年度構築した領域より 600kb 分の領域について、cosmid clone を作製することになった。各々の cosmid clone を ³²P ラジオアイソトープ存在下で random labeling 法によってアイソトープラベルし、プローブを作製した。

一方、昨年度 EB ウイルスによってリンパ

芽球株化した患者 5 名および健常者 3 名の末梢血液リンパ球から、高分子ゲノム DNA を抽出し、Bam HI など 5 種類の制限酵素で切断。電気泳動後、通常の方法でナイロンメンブレンに転写し、逐次 cosmid プローブをあてて、ゲノム DNA のサザンブロットィング解析を行った。ゲノム情報から各プローブで認められるはずのバンドと、実際に得られたバンドの差を検討し、患者で健常者と異なった所見がないかを検索した。

5) TaqMan 解析と aCGH 解析によるゲノムコピー数変異に関する検索

最近アルツハイマー病やパーキンソン病などの神経変性疾患で、関心領域の遺伝子のコピー数が、ゲノム上で増加していることが原因になっている、との報告がなされている。したがって、本疾患でもゲノムコピー数の違いにより疾患が起きる可能性を否定しきれない。

このため、東京大学大学院神経内科学教室 辻 省次教授のご協力を得て、候補領域を含む 2Mb(メガベース)領域について、反復配列を避けてオリゴマープローブを作製し、chip 上に固相化(array)し、aCGH(array comparative genomic hybridization)を行った。

また、この方法のみでは全領域をカバーできないため、遺伝子領域については、TaqMan 法を用いて real-time PCR 法によってゲノムコピー数を患者と健常者間で比較することにした。各遺伝子につき全エクソンを検証することは、費用・時間ともに困難であったため、各遺伝子につき上流と下流のエクソンを選定する方針で、プローブを各遺伝子につき 2~3 箇所デザインした。これを用いて、ホモ接合体、ヘテロ接合体患者、および正常者の 3 者間でのゲノムコピー数を解析した。

6) 患者由来第 16 番染色体長腕 16q22.1 を含む BAC contig の作製と解析

ホモ接合体患者のリンパ芽球を用いて、BAC (bacterial artificial chromosome) clone 内に 150kb 程度の染色体断片を導入した。本実験は、慶應義塾大学医学部分子

生物学教室の清水信義教授、浅川修一講師のご指導を得て行った。

方法は、患者末梢血液リンパ芽球由来の高分子 DNA を制限酵素で不完全切断し、パルスフィールドゲル電気泳動によって 150kb 程度の断片を採取。これを、BAC clone 内にサブクローニングした。これを多数回行い、ゲノム長の 3 倍に相当する 20,000 クローン分を作製。レプリカを作製した後に、関心の 16q22.1 ゲノム上のマーカーが存在するゲノム断片でハイブリダイゼーションを行い、複数個のクローンを得る、という方法をとった。

B-2 16q-ADCAIII の病態解明のための *puratrophin-1* 遺伝子機能の解析:

puratrophin-1 遺伝子の正確な機能は不明である。このため、この遺伝子のノックアウトマウス作製を作製することにした。

マウスでの *puratrophin-1* 遺伝子もゲノム解読によってすでに明らかにされていたため、マウスゲノムでの制限酵素地図を作製した。その上で、通常の targeting construct を作製する計画を立てた。

倫理面での配慮

倫理面への配慮については、平成 12 年 4 月の厚生科学審議会の指針にもとづき本施設において新設された遺伝子研究のための倫理審査委員会の審議を経て許可されており、その後の個人情報保護に基づく平成 17 年度の倫理指針にも準拠している。また、動物の取り扱いも本学動物実験委員会の指針に基づいて行うなど配慮がなされている。

C. 結果

C-1 遺伝子変異同定のための解析

1) 候補領域の再設定

これまでに集積した 62 家系のハプロタイプを、D16S3043 から D16S3095 までの 3cM(センチモルガン)にわたる広い範囲のマーカーで検索した。その結果、40 近い家系では候補領域に強い創始者効果

があり、同じハプロタイプを共有していた。一方、残る 20 近くの家系ではこの間に何らかのアレルの違いを認めた。この結果について、さらに共通するアレルから、反復回数が 1 だけ違う場合と、2 以上異なる場合を区別すると、表 1 のようになる。

この結果から、共通するハプロタイプを有する領域は *puratrophin-1* 遺伝子を含む GATA01 から 17msm であるが、2006 年に Ohata らが報告した「例外」症例は *puratrophin-1* 遺伝子の 5' 非翻訳領域での組み換えがあり、第 16 番染色体では *puratrophin-1* 遺伝子翻訳領域より動原体側で他の患者との共通ハプロタイプが見られた。一方、家系によっては GGAA05 とそれより動原体側では連続した複数のマーカーでのアレルが他の家系と異なっている家系があり、先の Ishikawa らの論文 (Ishikawa K & Toru S et al. *Am J Hum Genet* 77: 280-296, 2005) に示したとおり、動原体側の境は GGAA05 である可能性が高いと考えられた。

一方、GATA01 で他の家系と異なるアレルを持った家系でも、途中のアレルが共有している家系がある。このことから候補領域は GGAA05 から *puratrophin-1* までの領域である可能性を挙げた。この区間の距離は約 900kb になる。

2) 再設定した候補領域内の候補遺伝子の塩基配列検索による遺伝子変異探索

マーカー GGAA05 と *puratrophin-1* 遺伝子の間には、Ensembl などのデータベースによると 25 個の異なった遺伝子が存在することが公表されていた。データベースによるとこれらのほとんどが脳で発現して、蛋白として機能していると考えることができた。逆に、これらのほとんどが原因遺伝子である可能性を否定できず、全てを風潰しに解析する必要があった。

このため、この全てについて翻訳領域を含む転写される領域を、PCR 後に直接塩基配列を検証した (PCR

product-direct sequencing)。その結果、1 つの遺伝子で塩基配列の違いによるアミノ酸置換が認められた。しかし、この 1 塩基置換は健常者でも認められ、疾患の原因とは考えられなかった。このほか、イントロン内にも 1 箇所、患者の全てで共通する変化が見られた。この変化は健常者では見られず、非常に強力な 16q-ADCAIII (16q22.1-linked ADCA) の遺伝子マーカーになると考えられた。このマーカーを用いて前述の例外症例を解析したところ、やはりこの変化を有していた。すなわち、確かに患者に共通する領域は *puratrophin-1* 遺伝子から動原体側にあると考えられた。

このような解析を遺伝子の存在の有無に関らず 900kb 領域全てについて行ったところ、PCR 法ではどうしても増幅できなかった領域を除いて、約 98% 程度の領域を増幅して、直接塩基配列を決定できた。その結果、患者特有の変化を複数箇所確認した (表 3)。

このマーカーを全ての患者で検索したところ、GGAA05 からいくつかの SNP (SNP01~SNP04) では、1 家系で連続して患者間で異なりが見られたが、SNP05 を含む telomere 側のマーカーでは全ての家系で一致したアレルを示していた (表 4)。このことは、SNP04 が動原体側の境であることを強く示唆している。

SNP04 から *puratrophin-1* 遺伝子 -16C>T 変化の区間のマーカーを網羅的に解析することで、遺伝子レベルで正確に 16q-ADCAIII の診断が可能になった。このマーカーの組み合わせを、*puratrophin-1* 遺伝子 -16C>T が陰性であった、純粋小脳失調症患者 18 例の DNA について検索したところ、表 3 のごとく 1 例をのぞいて全く異常が無かった。しかし、この 1 例は前述の「例外」症例 (Ohata et al. *J Hum Genet*, 2006) と同様に、*puratrophin-1* 遺伝子 -16C>T が陰性だが、他の動原体側のマーカーのアレルが他の 16q-ADCAIII 家系と一致していた。すなわち、第 2 例目の「例外」症例、ということになり、*puratrophin-1* 遺伝子以外

に真の遺伝子変化がある可能性を支持した結果と考えられた。

また重要なことに、これら患者特有の変化を認めたものの中に、疾患の原因と強く結びつくものが得られた。現在その遺伝子の変化が疾患の発症にどのように結びつくかを検討している。

3) 患者脳内での遺伝子発現パターンの異常の検索

候補領域内の遺伝子について、ヒト脳での発現を確認し、健常者と患者での発現パターンの違いを検索した。しかし検索した範囲ではいずれの遺伝子でも、患者脳で明瞭に発現パターンが健常者と異なる遺伝子は検出されなかった。

4) サザン・ブロット法による変異解析

患者群と健常者群で、cosmidプローブを用いてサザン・ブロット法で解析し、1kb以上の大きなDNA配列の挿入や欠質などの変化が無いかを検索している。検索を終了した範囲では、特に異常は検出できていない。

5) TaqMan解析とaCGH解析によるゲノムコピー数変異に関する検索

ゲノムのコピー数の違いを、ホモ接合体患者と健常者を中心に比較した。万一、疾患染色体に1コピー多くゲノム断片が含まれた場合、健常者に比べてホモ接合体患者ゲノムには、その部分が2倍、ヘテロ接合体患者では1.5倍存在することが予想できる。

aCGH解析では、反復配列を除く箇所についてTm値が一定になるようにオリゴヌクレオチドを設計し、固相化しarrayを作製した。このarrayと患者、あるいは健常者とでそれぞれハイブリダイゼーションした。

一方、TaqMan法では登録されている遺伝子のエクソンの塩基配列を基に、TaqManプローブを作製した。aCGHと異なり、網羅的に解析することは出来ないが、

正確にコピー数が算出されることと、aCGHがプローブに出来なかった高いTm値を示す遺伝子翻訳領域をプローブに出来る。このため、本研究ではaCGHとTaqMan法の両方で検索した。

しかし、いずれの方法でも患者で健常者より有意にゲノムコピー数が上昇している箇所は認められなかった。ただし、反復配列など厳密にはプローブの作製が困難であった部分が存在し、今回検索しなかった領域もあるため、さらに検索を重ねる必要がある。

6) 患者由来第16番染色体長腕16q22.1を含むBAC contigの作製と解析

ホモ接合体患者の末梢血液リンパ球から高分子DNAを抽出し、BAC cloneに導入するまで6ヶ月程度の期間を要した。ヒトゲノムライブラリーを完成させた後に、関心の16q22.1領域のマーカーで選択したところ、ほとんどの部分をカバーするBAC contigを作製できた。

現在、逐次shotgunシーケンシング法によって、当該箇所の網羅的な塩基配列の決定を行っている。この手法により、高い確率で正確に遺伝子変異の発見が行えると期待している。

C-2 *puratrophin-1* 遺伝子機能の解析： *puratrophin-1* 遺伝子ノックアウトマウス作製の試み

マウスでの*puratrophin-1* 遺伝子をtargetするための計画を立て、これまでにtargeting constructを作製する実験を行っている。Targeting constructが完成すれば、筑波大学に依頼してノックアウトマウスを作製することにした。

D. 考察

我々は昨年度よりさらに家系を増やし62家系の16q-ADCAIII家系患者を集積した。この数は世界でも類を見ない。また、本邦の広い範囲の主な大学病院に勤務する神経内科医の協力を得ており、家系を集積したまさに本邦オリジナルの研究と言える。

昨年度我々は長くに渡るポジショナル・クローニングの結果、候補遺伝子領域を限定化し、健常者には認められず、患者に特異的なハプロタイプを見出し、最も可能性のある染色体領域をGATA01から17msmに至る600kb領域とした。この領域の中から、C→Tの1塩基置換が*puratrophin-1*遺伝子にあることを見出した(Ishikawa K & Toru S et al. *Am J Hum Genet* 77: 280-296, 2005)。しかし、その後ごく稀に1例においてこの遺伝子変化を有さずに極めて軽症の失調症を呈した症例を見出した(Ohata T et al. *J Hum Genet* 51: 461-466, 2006)。これより動原体側に別に真の変異遺伝子がある可能性がまったく否定できるわけではなかった。これを受けて、我々は予定していた*puratrophin-1*遺伝子・蛋白の機能解明を中断し、再度遺伝子探索を行った。

その結果、現在までにこの稀な例外患者を含めて発症者にのみ認める遺伝子変化を見出しており、近い将来その病的意義の解明と、真の遺伝子変異の解明ができると期待している。

*puratrophin-1*遺伝子の変化は、今回の研究で陰性発症者が2名見つかると、この変化は変異ではない可能性がさらに高まった。しかし、ごく少数例の例外を除いてほとんどの例(99.9%)で*puratrophin-1*遺伝子の変化はあることも確かめられたわけであり、依然として有力なマーカーであることも裏付けられた。この遺伝子変化が単なるマーカーであるのか、それとも機能的に*puratrophin-1*蛋白の減少や細胞内凝集を来し、確かに疾患の病態に関わるものであるかは不明な点が多く残っている。その解決のためにも、ノックアウトマウスを作製するなどが必要であると考えている。

E. 結論

我々は、本邦の優性遺伝性脊髄小脳変性症の20%を占めるほど高頻度に存在する、第16番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(16q-ADCAIII)の原因遺伝子を同定する研究の2年目を修了した。1年目に報告した*puratrophin-1*遺伝子の変化を有さず、ごく軽い運動失調を示す患者を1名見出したため、再度候補領域を設定し直し、ゲノム解析を行ったところ、患者特有の変化を見出し、その一つが真の原因である可能性を考えている。現在その確認作業を行っており、近々誌上報告できると期待している。

F. 研究発表

1. 論文発表

原著

- 1) Ishikawa K., Mizusawa H. On an autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) other than polyglutamine diseases, with special reference to chromosome 16q22.1-linked ADCA. *Neuropathology* 2006; 26: 352-360.
- 2) Ouyang Y., Sakoe K., Shimazaki H., Namekawa M., Ogawa T., Ando Y., Kawakami T., Kaneko J., Hasegawa Y., Yoshizawa K., Amino T., Ishikawa K., Mizusawa H., Nakano I., Takiyama Y. 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia: a clinical and genetic study. *J Neurol Sci* 2006; 247: 180-186.
- 3) Ohata T., Yoshida K., Sakai H., Hamanoue H., Mizuguchi T., Shimizu Y., Okano T., Takada F., Ishikawa K., Mizusawa H., Yoshiura K., Fukushima Y., Ikeda S., Matsumoto N. A -16C>T substitution in the 5'-UTR of the *puratrophin-1* gene is prevalent in autosomal dominant cerebellar ataxia in Nagano. *J Hum Genet* 2006; 51: 461-466.
- 4) Uchihara T., Takeda Y., Kobayashi T., Kasuga T., Ishikawa K., Kirei K., Mizusawa H., Endo T., Hirokawa K., Kuroiwa T. Unexpected clinicopathological phenotype linked to small elongation of CAG repeat in SCA1 gene. *J Neurol* 2006; 253: 396-398.
- 5) Shimazaki H., Nakano K., Ishikawa K., Takiyama Y., Nakano I. A case of

- spinocerebellar ataxia type 6 with its initial symptom of episodic ataxia-like phenotype. *No To Shinkei* 2006; 58: 63-67.
- 6) Ishibashi S, Kuroiwa T, Sun L, Katsumata N, Li S, Endo S, Mizusawa H: Long-term cognitive and neuropsychological symptoms after global cerebral ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neurochir Suppl.* 2006; 96: 299-302.
 - 7) Sakaguchi M, Shingo T, Shimazaki T, Okano HJ, Shiwa M, Ishibashi S, Oguro H, Ninomiya M, Kadoya T, Horie H, Shibuya A, Mizusawa H, Poirier F, Nakauchi H, Sawamoto K, Okano H: A carbohydrate-binding protein, Galectin-1, promotes proliferation of adult neural stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 7112-7117.
 - 8) Sun L, Kuroiwa T, Ishibashi S, Katsumata N, Endo S, Mizusawa H: Time profile of eosinophilic neurons in the cortical layers and cortical atrophy. *Acta Neurochir Suppl.* 2006; 96: 272-275.
 - 9) Sun L, Kuroiwa T, Ishibashi S, Katsumata N, Endo S, Mizusawa H: Transition of areas of eosinophilic neurons and reactive astrocytes to delayed cortical infarcts after transient unilateral forebrain ischemia in Mongolian gerbils. *Acta Neuropathol (Berl).* 2006; 111: 21-28.
 - 10) Ohkubo T, Sakasegawa Y, Toda H, Kishida H, Arima K, Yamada M, Takahashi H, Mizusawa H, Hachiya NS, Kaneko K: Three-repeat tau 69 is a major tau isoform in laser-microdissected Pick bodies. *Amyloid.* 2006; 13: 1-5.
 - 11) Ienaga Y, Mitoma H, Kubota K, Morita S, Mizusawa H: Dynamic imbalance in gait ataxia. Characteristics of plantar pressure measurements. *J Neurol Sci.* 2006; 246: 53-57.
 - 12) Nishida Y, Yokota T, Takahashi T, Uchihara T, Jishage K, Mizusawa H: Deletion of vitamin E enhances phenotype of Alzheimer disease model mouse. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2006; 350: 530-536.
- 総説
- 1) 石川欽也、融 衆太、水澤英洋: 第 16 番染色体長腕に連鎖する優性遺伝性脊髄小脳変性症. *神経研究の進歩* 50(3), 355-62, 2006.6.10
 - 2) 石川欽也: 悪性腫瘍に関連した神経障害「小脳障害」. *Clinical Neuroscience* 24(1), 70-72, 2006.1.1
 - 3) 水澤英洋: RNA 干渉による脊髄小脳変性症の治療. *神経治療学* 23(1): 17-24, 2006.1
 - 4) 野口悦正、水澤英洋: 脊髄小脳変性症—update. *総合臨床* 55(6), 1730-32, 2006
- 著書
- 1) Hidehiro Mizusawa & Kinya Ishikawa: Spineocerebellar Ataxia Type 6. Genetic Instabilities Neurological Diseases, Academic Press, pp379-385, 2006
 - 2) 水澤英洋: 種類と全体像. 水澤英洋/監修 月刊「難病と在宅ケア」編集部/編, 脊髄小脳変性症のすべて. 日本プランニングセンター (千葉), 15-18, 2006.1.14
 - 3) 水澤英洋: 痙性対麻痺. 水澤英洋/監修 月刊「難病と在宅ケア」編集部/編, 脊髄小脳変性症のすべて. 日本プランニングセンター(千葉), 92-94, 2006.1.14
 - 4) 高橋 真、水澤英洋: 予後と治療 多系統萎縮症の薬物治療. 月刊 臨床神経科学(Clinical Neuroscience), pp1045-1047, 中外医学社(東京), 2006.9.1
 - 5) 水澤英洋: CAG リピート病. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 974, 2006.3.10 19 版 1 刷
 - 6) 水澤英洋: 小脳萎縮症. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 1168, 2006.3.10 19 版 1 刷
 - 7) 水澤英洋: 脊髄小脳失調症. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 1395, 2006.3.10 19 版 1 刷
 - 8) 水澤英洋: 脊髄小脳失調症6型. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 1395, 2006.3.10 19 版 1 刷
 - 9) 水澤英洋: 脊髄小脳変性症. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 1395-1396, 2006.3.10 19 版 1 刷

- 10) 水澤英洋: 晩発性皮質性小脳萎縮症. 南山堂医学大辞典. 南山堂(東京), 2034, 2006.3.10 19 1 刷
 - 11) 水澤英洋: 運動失調の診かた. 平山恵造/監修 廣瀬源二郎、田代邦雄、葛原茂樹/編, 臨床神経内科学. 南山堂(東京), 137-141, 2006.3.14 5 版 1 刷
 - 12) 水澤英洋: 小脳・脊髄萎縮症 1. 非遺伝性小脳萎縮症. 平山恵造/監修 廣瀬源二郎、田代邦雄、葛原茂樹/編, 臨床神経内科学. 南山堂(東京), 458-461, 2006.3.14 5 版 1 刷
 - 13) 水澤英洋: 小脳・脊髄萎縮症 3. 続発性小脳疾患. 平山恵造/監修 廣瀬源二郎、田代邦雄、葛原茂樹/編, 臨床神経内科学. 南山堂(東京), 473-474, 2006.3.14 5 版 1 刷
 - 14) 石川欽也、融 衆太、水澤英洋: 難聴を伴う遺伝性脊髄小脳変性症の責任遺伝子. 喜多村健/編, 内耳病態の解明と展開. 東京医科歯科大学耳鼻咽喉科学(東京), 86-91, 2006.5.11
2. 学会発表
- 1) Ishikawa K., Amino T., Ishiguro T., Tsunemi T., Toru S., Mizusawa H. Autosomal dominant cerebellar ataxia linked to chromosome 16q22.1 (16q22.1-linked ADCA) is a common subtype among inherited ataxia in Japan. 58th Annual Meeting, The American Academy of Neurology, San Diego, CA, USA. April 6th, 2006.
 - 2) Tsunemi T., Ishikawa K., Mizusawa H. Cell-specific alternative splicing in spinocerebellar ataxia type 6. 58th Annual Meeting, The American Academy of Neurology, San Diego, CA, USA. April 6th, 2006.
 - 3) Mizusawa H., Ishikawa K., Owada K., Toru S., Ishida G., Yoshida M., Hashizume Y. Neuropathology of a newly identified 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia. A new pathology of the Purkinje cell. 82nd Annual Meeting of the American Association of Neuropathologist, San Francisco, CA, USA. September 7th, 2006.
 - 4) Ishikawa K., Amino T., Sato N., Ishiguro T., Tsunemi T., Toru S., Mizusawa H. Clinical and genetic correlations in subjects with the puratrophin-1 (-16 C>T) genetic change. 56th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, New Orleans, LO, USA. October 12, 2006.
 - 5) Tsunemi T., Ishikawa K., Jun H., Mizusawa H. Analysis of gene dosage of alpha-synuclein gene in multiple system atrophy. 56th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, New Orleans, LO, USA. October 11, 2006.
 - 6) Ishiguro T., Ishikawa K., Amino T., Tsunemi T., Mizusawa H. Cytoplasmic aggregates and proteolytic cleavage of the alpha 1A calcium channel in spinocerebellar ataxia type 6. 56th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, New Orleans, LO, USA. October 11, 2006.
 - 7) Amino T., Sato N., Ishiguro T., Tsunemi T., Toru S., Toda T., Mizusawa H., Ishikawa K. Haplotype analysis in patients with chromosome 16q22.1-linked autosomal dominant cerebellar ataxia. 56th Annual Meeting, The American Society of Human Genetics, New Orleans, LO, USA. October 10, 2006.
 - 8) Ishiguro T., Amino T., Tsunemi T., Ishikawa K., Mizusawa H. Calcium channel protein aggregation in spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6). The 5th International Conference on Unstable Microsatellite and Human Diseases, Granada, Spain. November 13, 2006.
 - 9) 石川欽也、融 衆太、網野猛志、常深泰司、水澤英洋. 第 16 番染色体連鎖型優性遺伝性失調症の臨床病理像と関連遺伝子同定. 第 47 回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 11.
 - 10) 常深泰司、石川欽也、水澤英洋. 脊髄小脳失調症 6 型の細胞特異的な選択的スプライシングの変化. 第 47 回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 11.
 - 11) 網野猛志、石川欽也、常深泰司、融 衆太、戸田達史、水澤英洋. 16 番染色体長腕連鎖型優性遺伝性脊髄小脳変性家系のハプロタイプの解析. 第 47 回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 11.
 - 12) 欧陽 疑、迫江公己、嶋崎晴雄、滑川道

- 人、小川朋子、安藤喜仁、川上忠孝、金子 仁、長谷川幸祐、吉沢和朗、石川欽也、水澤英洋、中野今治、瀧山嘉久. 第16番染色体に連鎖する優性遺伝性失調症の臨床・分子遺伝学的検討. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 11.
- 13) 坂本昌巳、藤ヶ崎浩人、藤ヶ崎純子、石川欽也、水澤英洋. SCA6 細胞モデルにおける ubiquitin 陽性封入体の解析. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 11.
- 14) 姜 喜玲、石川欽也、水澤英洋. SCA1 の新しい遺伝子診断法の開発. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 12.
- 15) 新美祐介、山脇正永、融 衆太、石川欽也、水澤英洋. 球脊髄性筋萎縮症に対する抗アンドロゲン療法の有用性. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 12.
- 16) 高橋博樹、越坂部学、石川欽也、水澤英洋、新谷周三. 脳梗塞感受性遺伝子についての検討. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 13.
- 17) 石黒太郎、石川欽也、網野猛志、坂本昌巳、藤ヶ崎浩人、水澤英洋. SCA6 における細胞内凝集体形成について. 第47回日本神経学会総会. 東京, 2006. 5. 13.

G. 知的所有権の取得状況
とくになし

H. 健康危険情報
とくになし

表 1

Marker	most common haplotype	frequency in control (%)	family No.																							
			P2	P4	P14	I2	I3	I4	I5	I6	I7	T12	T15	T19	T21	T25	T26	T28	T30	T37	T42	T43	T44	T46		
D16S3043	1	25.0	1	1/6	7	5	8	1	1/8	1	1/5	5	1/7	n.e.	1/8	n.e.	n.e.	1	n.e.	1	n.e.	1	n.e.	1/5	1/5	1
D16S3031	9	68.1	9	9	9	9	9	10	1	10	9	9/10	9	9	9	9	9	1/9	9	9	9	9	9	9	9	9
D16S3019	4	41.4	4	4	4	4	4	4/5	3/4	3/4	1/4	4	n.e.	4	n.e.	n.e.	4/7	3/4	2/4	n.e.	3/4	3/4	3/4	3/4	1	9
CTATT01	1	32.4	1	2/4	1	1	1	1/4	1	1	1	1/3	n.e.	1/3	n.e.	n.e.	1/3	n.e.	1	n.e.	1	n.e.	1/2	1	0/3	1
TAGA02	4	10.3	4	6	4	4	4	4/6	4/6	4/5	4	2/4	4/5	n.e.	4/5	n.e.	4/5	4	3/4	n.e.	5/6	4/5	5/6	4/5	2/6	1
GGAA05	1	1.4	1	6	1	1	5	1	1	1	2	1	2/4	1/3	1/5	5	1/2	1/7	1/5	1/3	1/3	1/5	2/4	3/6	3/6	1
D16S397	1	47.1	n.e.	1/2	1	1	1	0/4	1/2	1/3	1/3	2/3	1	n.e.	1	n.e.	n.e.	1/4	-3/0	-3/1	n.e.	-3/1	1	1	-3/1	1
GGAA10	3	13.2	3	3	3	3	4	3/5	3	3	3	3	3	3/6	2/3	2/4	3/7	3/5	3/8	4/6	3	3/6	3/5	3/5	3/7	1
GATA01	2	44.1	2	2/3	2	2	2	3	3	3	2	1/2	2/3	1/3	3/4	1/3	1/3	1	2	3	1/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1
D16S421	3	75.7	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
<i>paratrophin-1</i> (C/T)	T	0.0	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T	T
TA001	1	23.8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1/9	1/7	2/8	1/6	1/10	1/9	1/9	1	1/9	1/9	1/9	1/5	1
GA001	4	0.1	4	4	4	4	4	4	4	4/7	4/7	4	4	1/4	4/8	4/5	4/7	4/7	4/6	4/11	4/5	4/7	4/5	4/7	4/5	4/7
I7msm	2	8.3	2	2	2	2	2	2	2	2	2	5	2	2/5	2/4	2/4	2/4	2/4	2/4	2/4	2/5	2/4	2/4	2/4	2/4	2/4
D16S3107	7	13.9	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	5	6	5/6	3/7	6/10	6	7	5/7	3/7	6/7	4/7	6/7	6/7	
GGAA01	6	18.8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	1/6	3/6	2/6	2/6	4/6	6/7	6	6	6	6	6	6/7	5/6	
CTTT01	8	28.2	8	8	8	8	8	9/10	8	5	9	8	10	8	9/10	3/9	9/10	8/10	8	8/11	6/9	8/15	9/10	1/7	3/8	1
GT01	6	15.8	6	6	6	6	6	6	6	7	6	6	4	6	2/6	1/6	4/6	4/6	2/6	5/6	4/6	6	3/6	3/4	4/6	
D16S3095	1	9.7	2	3	1	0	1	1	1	2	3	2	1/2	1	1/2	1/2	1/2	1/3	1	1	1/2	1/3	2	1	1	
D16S512	1	32.3	n.e.	2/4	1	4	1/5	4	2/4	1/5	1/5	4	n.e.	4/5	n.e.	n.e.	5	1	1/2	n.e.	2/4	4	4/5	4/5	4/5	

■ は、共通するハプロタイプ(common haplotype)から2つ以上アレルが異なる場合。
 ■ は、共通するハプロタイプ(common haplotype)から1つだけアレルが異なる場合。

表 2

Marker	most common haplotype	frequency in control (%)	Family No.																						
			U01	U02	U03	U04	U05	U06	U07	U08	U09	U10	U11	U12	U13	U14	U15	U16	U17	U18	U19	U20	U21	U22	
Family history			n.c.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	A.D.	n.c.	n.c.	n.c.
D16S3043	1	25.0	1/6	4/8	1/2	1/7	1	4/6	5	5	1/7	1/7	4/5	4/5	1/6	1/5	5	1/6	5/7	1/6	1	1	1/5	1/8	
D16S3019	4	41.4	4	1/4	4	1	3/4	5	3/4	4	4	3/4	1	2	4	4/5	4/5	3/4	1	2	1	1	1/3	1/2	
CTATT01	1	32.4	3/4	1/4	1/3	3	2/4	1/2	3	3	1/4	1/3	1/3	1/3	4	1	1/3	2/5		2/3	1/3	1/2	1	1/3	
TAGA02	4	10.3	3/5	6	2/4	4/5	5/6	4/6	5/6	5/6	4/5	5	5	6/7	5	2/6	3/5	4/5	6	4/5	4/6	3/6	2/6	5/6	
GGA05	1	1.4	3	4/5	4/5	4	5	3/4	4/6	4	1/3	3	2/4	4	4	5	4/5	2/6	4	4/5	4/6	5/6	4/6	4/5	
D16S397	1	47.1	-1/1	1/3	2/3	4/6	4	1	3	4	1	3	1/4	1	1	1/2	1/4	3/5	1/4	2/6	1	-3/3	1/3	-3/6	
D16S3086	2	65.7	2	2/3	3/4	3/4	3	2	3	3	2	3	2/4	2	2	2/3	2/3	2/3	2/4	2	3	2/3	3/4	3/4	
GATA01	2	44.1	2	1/2	1/3	2/4	3	3	1/3	3	1/2	2/3	2	2/3	2	2/3	2/3	2	1	0/2	3/4	2	1	0/2	
<i>paratrophin-1</i> (C/T)	T	0.0	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	
GA001	4	0.1	1/8	6/8	8	8/9	8	7/11	8/9	1	5/7	7/10	6/7	5/8	5	5/8	5/9	1/7	6/7	5/7	6/9	6/8	7/9	7/8	
17msm	2	8.3	3/4	4	4/5	4/5	5	2/6	5	2	5	3/4	4	3/4	4	1/3	2/4	7	5	2/6	4	2/4	4/5	2/5	
CTTT01	8	28.2	5/7	3/10	6/10	6/9	4/5	7/10	5/6	9	5/10	6/7	9	7/9	5/6	7/8	7/10	5/11	5/7	7/10	8/10	4/7	6/8	7/9	
GT01	6	15.8	2/4	4/6	2/6	2/4	2/5	1/2	2/3	7	2/4	2/6	1/4	4/6	3/4	4	2/6	3/4	4/7	2/6	3/6	4/6	5/8	2	
D16S3095	1	9.7	2	1/3	2/3	2/5	1/3	2/3	2/4	6	2	2/3	2/4	1/2	3	2/3	1/2	1/3	3/4	3/4	1/2	2/6	2/4	2/4	
D16S512	1	32.3	2/4	1/5	4/5	2/4	2/4	4	2/4	1	2	2/4	1/4	4/5	4	2/4	4	2/3	1/4	2	4/5	4/5	4/5	4	

■ は、共通するハプロタイプ(most common haplotype)と共通するアレルを示した。
 ■ は、共通するハプロタイプ(most common haplotype)とアレルが共通しないものを示した。

表 3

SNP/Marker	position on Chr 16	SNP change on 16q- ADCA	frequency in control (%)
	GGAA05	64,938,933	
SNP01	64,972,150	A → G	27.8
SNP02	64,977,170	A → C	22.2
SNP03	64,977,733	T → C	30.0
SNP04	64,982,678	C → T	27.8
SNP05	65,049,292	G → A	0.0
	D16S397	65,295,770	
SNP06	65,337,827	A → G	0.0
SNP07	65,449,825	C → T	56.3
SNP08	65,451,833	T → A	45.5
	GGAA10	65,452,426	
SNP09	65,457,741	T → A	42.4
SNP10	65,458,302	T → C	45.5
SNP11	65,669,454	T → C	30.3
	GATA01	65,700,022	
SNP12	65,771,917	G → A	18.2
SNP13	65,793,152	C → T	8.7
<i>puratrophin-1</i> (C/T)	65,871,434	C → T	0.0

表 4

SNP	position change on Chr 16	SNP 16q- ADCA	SNP frequency in control (%)	family No.													U09		
				P4	P14	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T12	T15	T21	T28	T37		T43	T44
SNP01	64,972,150	A → G	27.8	G/A	G/A	G	G/A	G/A	G	G	G/A	G/A	G/A	G	G/A	G	G/A	G	A
SNP02	64,977,170	A → C	22.2	C/A	C/A	C	C/A	C/A	C	C	C/A	C/A	C/A	C	C/A	C/A	C/A	C/A	A
SNP03	64,977,733	T → C	30.0	C/T	C/T	C	C/T	C/T	C	C	C/T	C/T	C/T	C	C/T	C	C/T	C	T
SNP04	64,982,678	C → T	27.8	T/C	T/C	T	T/C	T	T	T	T/C	T	T/C	T	T/C	T	T/C	T	C
SNP05	65,049,292	G → A	0.0	A/G	A/G	A	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G
SNP06	65,337,827	A → G	0.0	G/A	G/A	A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A	G/A
SNP07	65,449,825	C → T	56.3	T	T	T	T/C	T/C	T	T	T/C	T/C	T	T	T/C	T/C	T/C	T	T/C
SNP08	65,451,833	T → A	45.5	A	A	A	A/T	A/T	A	A	A/T	A/T	A	A	A/T	A/T	A/T	A	A/T
SNP09	65,457,741	T → A	42.4	A	A	A	A/T	A/T	A	A	A/T	A/T	A	A	A/T	A/T	A/T	A	A/T
SNP10	65,458,302	T → C	45.5	C	C	C	C/T	C/T	C	C	C/T	C/T	C	C	C/T	C/T	C/T	C/T	C
SNP11	65,669,454	T → C	30.3	C	C/T	C	C/T	C/T	C	C	C/T	C/T	C	C	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T
SNP12	65,771,917	G → A	16.2	A	A/G	A	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G	A	A/G	A/G	A/G	A/G	A/G
SNP13	65,793,152	C → T	8.7	T	C/T	T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T	C/T
<i>puratrophin-1</i>	65,871,434	C → T	0.0	T	T	T	T	T	T	T	T/C	T/C	T/C	T	T/C	T/C	T/C	T/C	T/C

研究成果の刊行に関する一覧表

原著論文	著者名	論文題目名	雑誌名	巻:頁、発行西暦年号
Ishikawa K., Mizusawa H.	Ouyang Y., Sakoe K., Shimazaki H., Namekawa M., Ogawa T., Ando Y., Kawakami T., Kaneko J., Hasegawa Y., Yoshizawa K., Amino T., Ishikawa K., Mizusawa H., Nakano I., Takiyama Y.	On autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) other than polyglutamine diseases, with special reference to chromosome 16q22.1-linked ADCA.	Neuropathology	26: 352-360, 2006.
		16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia: A clinical and genetic study.	Journal of the Neurological Sciences	247: 180-186, 2006.
	Ohata T., Yoshida K., Sakai H., Hamanoue H., Mizuguchi T., Shimizu Y., Okano T., Takada F., Ishikawa K., Mizusawa H., Yoshiura K., Fukushima Y., Ikeda S., Matsumoto N.	A -16C>T substitution in the 5' UTR of the <i>puratrophin-1</i> gene is prevalent in autosomal dominant cerebellar ataxia in Nagano.	Journal of Human Genetics	51: 461-466, 2006.
	Uchihara T., Takeda Y., Kobayashi T., Kasuga T., Ishikawa K., Kirei K., Mizusawa H., Endo T., Hirokawa K., Kuroiwa T.	Unexpected clinicopathological phenotype linked to small elongation of CAG repeat in SCA1 gene.	Journal of Neurology	253: 396-398, 2006.
書籍	著者名	題目	書籍名、編集者	頁、発行西暦年号、出版社
Ishikawa K., Mizusawa H.		Spinocerebellar ataxia type 6.	Genetic Instabilities and Neurological Diseases. 2nd Edition. Editors: Robert D. Wells & Tetsuo Ashizawa	Chapter 25, p379-385, 2006, Academic Press.

研究成果の刊行に関する一覧表

総説	著者名	論文題目名	雑誌名	巻:頁、発行西暦年号
石川欽也, 融 衆太, 水澤英洋.		特集 脊髓小脳変性症の最近の進歩 第10号 脊髄小脳変性症の最近の進歩 第10号 脊髄小脳変性症の最近の進歩	神経研究の進歩	50(3): 355-362, 2006.
石川欽也.		悪性腫瘍に関連した神経障害「小脳障害」	Clinical Neuroscience	24 (1): 70-72, 2006.

Symposium: The Frontier of Spinocerebellar Degeneration

On autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) other than polyglutamine diseases, with special reference to chromosome 16q22.1-linked ADCA

Kinya Ishikawa and Hidehiro Mizusawa

Department of Neurology and Neurological Science, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

Autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) is a group of heterogeneous conditions. More than 20 genes or gene loci have been identified that are responsible for ADCA. Although expansions of the trinucleotide (CAG) repeat that encode polyglutamine are known to cause some forms of ADCA, growing knowledge about the genetic basis of ADCA indicates that many subtypes of ADCA are caused by mutations other than the CAG repeat/polyglutamine expansion. In this paper, we review ADCA caused by mutations other than polyglutamine expansions (i.e. “non-polyglutamine diseases”). We also describe the neuropathology of chromosome 16q22.1-linked ADCA, which appears to be the most common non-polyglutamine disease in Japan. What we find to be characteristic on the chromosome 16q22.1-linked ADCA brain is the presence of atrophic Purkinje cells surrounded by the formation of amorphous material, the latter composed of the Purkinje cell dendrites stemming from the cell bodies, the presynaptic terminals innervated by certain neurons, and the astroglial processes. Such neuropathological findings seem to be unique for this disease.

Key words: cerebellar ataxia, non-polyglutamine disease, Purkinje cell, somatic sprout.

INTRODUCTION

Autosomal dominant cerebellar ataxia (ADCA) is clinically and genetically a heterogeneous condition, in which progressive ataxia is the cardinal clinical symptom.¹ Hard-

ing classified ADCA into three forms by clinical features.¹ ADCA type I and type II show clinical evidence of multiple system degeneration, such as pyramidal tract and extrapyramidal signs or macular degeneration. Autosomal dominant cerebellar ataxia type III is clinically characterized by purely cerebellar ataxia throughout different generations.² However, ADCA could be classified by assigned gene loci or mutated genes. At least 21 different gene loci have been identified as responsible for ADCA.³ Among these, causative gene mutations have been identified in 14 diseases, including eight caused by the expansion of the trinucleotide CAG repeat encoding polyglutamine (“polyglutamine diseases”) (Table 1). The neuropathology of ADCA is also heterogeneous. Different groups of neurons are affected among the disease types.⁴ In addition, neuronal or cytoplasmic aggregations formed by expanded polyglutamine tract are the hallmark of polyglutamine diseases.⁴

In this paper, we focus on ADCAs other than polyglutamine diseases (“non-polyglutamine” ADCA). The non-polyglutamine ADCA is classified into three groups: (i) ADCA with non-coding repeat expansions; (ii) ADCA with static mutations, such as point mutations causing amino acid changes; and (iii) ADCA without known mutations, including chromosome 16q22.1-linked ADCA.

AUTOSOMAL DOMINANT CEREBELLAR ATAXIA WITH REPEAT EXPANSIONS IN THE NON-CODING REGIONS OF SCA8, SCA10, AND SCA12

Autosomal dominant cerebellar ataxia with repeat expansions in non-coding regions include: (i) SCA8, which is caused by CTG repeat expansion in the 3'-untranslated region in the SCA8 gene;⁵ (ii) SCA10 caused by pentanucleotide ATTCT repeat expansion in the intron of the SCA10 gene;⁶ and (iii) SCA12 caused by CAG repeat

Correspondence: Kinya Ishikawa, MD, PhD, Department of Neurology and Neurological Science, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, Yushima 1-5-45, Bunkyo-ku 113-8519, Tokyo, Japan. Email: kishikawa.nuro@tmd.ac.jp

Received 8 December 2005; revised and accepted 13 February 2006.

Table 1 Genes, mutations, and proteins of various spinocerebellar ataxias

Disease	Gene locus	Gene	Mutation pattern	Mutation site	Protein	Protein function
SCA1†	6p23	<i>ATXN1</i>	CAG repeat	Coding exon	Ataxin-1	?
SCA2†	12q24	<i>ATXN2</i>	CAG repeat	Coding exon	Ataxin-2	?
Machado-Joseph disease/SCA3†	14q24.3–q31	<i>ATXN3</i>	CAG repeat	Coding exon	Ataxin-3	?
SCA4¶	16q22.1	?	?	?	?	?
SCA5§	11p11–q11	<i>SPTBN2</i>	Missense, in-frame deletion	Coding exon	βIII-spectrin	Vesicle trafficking
SCA6†	19p13.1	<i>CACNA1A</i>	CAG repeat	Coding exon	α1A-Calcium channel	?
SCA7†	3p21.1–q12	<i>ATXN7</i>	CAG repeat	Coding exon	Ataxin-7	?
SCA8‡	13q21	<i>ATXN8</i>	Non-coding CTG repeat	3'-UTR	?	?
SCA10‡	22q13	<i>ATXN10</i>	Non-coding AATCT repeat	Intron	?	?
SCA11¶	15q14–q21.3	?	?	?	?	?
SCA12‡	5q31–q33	<i>PPP2R2B</i>	Non-coding	CAG repeat	5'-UTR	?
SCA13§	19q13.3–q13.4	<i>KCNC3</i>	Missense	Coding exon	VGKC (potassium channel)	Kv3.3
SCA14§	19q13.4	<i>PKCγ</i>	Missense mutation	Coding exon	PKCγ (protein kinase)	?
SCA15¶	3p24.2–p25.3	?	?	?	?	?
SCA16¶	8q22.1–q24.1	?	?	?	?	?
SCA17†	6q27	<i>TBP</i>	CAG repeat	Coding exon	TBP (basic transcription factor)	?
SCA18¶	7q22–32	?	?	?	?	?
SCA19¶	1p21–q21	?	?	?	?	?
SCA20¶	11p13–q11	?	?	?	?	?
SCA21¶	7p21–15	?	?	?	?	?
SCA22 (=SCA19)¶	1p21–q23	?	?	?	?	?
SCA23¶	20p	?	?	?	?	?
SCA25¶	2p21–p13	?	?	?	?	?
SCA26¶	19p13.3	?	?	?	?	?
DRPLA†	12p13.31	<i>DRPLA</i>	CAG repeat	Coding exon	Atrophin-1	?
SCA27§	13q34	<i>FGF14</i>	Missense, frame shift	Coding exon	<i>FGF14</i>	?
SCA28¶	Chr18	?	?	?	?	?

†Polyglutamine diseases; ‡non-polyglutamine diseases caused by non-coding repeat expansions; §non-polyglutamine diseases caused by point mutations; ¶non-polyglutamine diseases without identified mutations. ?, not fully understood.

expansion in the 5'-untranslated region of the PPP2A gene.⁷ These repeat expansions are directly related to the pathogenic mechanism of these diseases as the length of expansion is inversely correlated with the age of onset of the disease. Reports on the neuropathology of these diseases are very limited. Only two patients with SCA8 have been reported showing prominent degeneration in the Purkinje cells, granule cells, and inferior olivary neurons.⁸ In these brains, the presence of aggregations that are immunoreactive against antipolyglutamine antibody 1C2 has been documented.⁸ This finding might indicate that the aggregation of certain proteins, possibly with leucine expansion, could be involved in SCA8. This finding is interesting as CTG expansion in the *SCA8* gene has not been predicted to be translated, at least in the direction of the *SCA8* mRNA.⁵ Mechanisms by which non-coding repeat expansion causes neurodegeneration remain to be elucidated.

AUTOSOMAL DOMINANT CEREBELLAR ATAXIA WITH MISSENSE MUTATIONS: SCA14 AND AUTOSOMAL DOMINANT CEREBELLAR ATAXIA WITH FGF14 MUTATION

Although repeat expansions are the common cause of ADCA, two diseases caused by single nucleotide substitutions have been identified. SCA14 is caused by missense mutations in the gene for protein kinase Cγ (*PKCγ*) (gene symbol: *PRKCG*).⁹ *PKCγ* is a member of a family of serine/threonine kinases highly expressed in the Purkinje cell.¹⁰ *PKCγ* knock-out mice and spontaneously arising *agu* rats, which harbor the nonsense mutation in *PKCγ*, both show mild gait ataxia.^{11,12} Chen *et al.* identified three different unconserved missense mutations in the highly conserved residues in the cysteine-rich region of *PKCγ*.⁹ The exon 4, encoding the functionally important domain of *PKCγ*, in