

連遺伝子の同定を目指しており,引き続き情報を蓄積することにより,MSAにおける病因解明へのアプローチに応用が可能であると思われる.

## E. 研究発表

### 1. 学会発表

中原康雄, 百瀬義雄, 高橋祐二, 後藤順, 辻省次, 演題タイトル: 孤発性神経変性疾患の相関解析のための正常日本人集団における全SNP解析, 神経学会総会 5月2006 東京

## F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

分担研究報告書

Spastin 蛋白の機能解析

分担研究者: 瀧山嘉久 自治医科大学内科学講座神経内科学部門

共同研究者: 迫江公己、嶋崎晴雄、滑川道人、本多純子、中野今治

自治医科大学内科学講座神経内科学部門

研究要旨

本研究は、SPG4 の原因蛋白である spastin の蛋白機能を解析することにより、遺伝性痙性対麻痺の病態機序を解明することを目的とした。Spastin の variant form による局在と機能の解析では、long form は分裂期の紡錘体微小管に、short form は細胞質分裂時の細胞間橋に、それぞれ局在して、微小管の切断に関与することを見出した。神経系細胞における spastin は突起の先端部および分岐部に集積し、微小管の切断を行いながら、微小管の伸長と太さや配向を整えることが示唆された。神経突起形成に関与する蛋白において、spastin の減少に伴い減少する蛋白を見出した。この蛋白は突起の先端で spastin と共局在し、野生型 spastin とは共局在するが、変異 spastin とは共局在しないことが判明した。今後、spastin 関連蛋白や微小管との関連を検討することにより、SPG4 の病態解明と軸索再生への手がかりが得られると思われる

A. 研究目的

本研究は、SPG4の原因蛋白であるspastinの蛋白機能を解析することにより、遺伝性痙性対麻痺の病態機序を解明し、治療に向けての方向性を確立することを目的とした。

B. 研究方法

Spastinのlong form及びshort formを認識する抗体を用いてvariant蛋白の局在について解析した。また、knock-down率の異なる合成siRNAを用いて、spastinの発現量が細胞に及ぼす影響について解析した。分裂系の細胞として、HeLa細胞を、神経系の細胞として、NT2およびSHSY5Y細胞を用いた。微小管とモーター蛋白の解析は、免疫染色により行った。細胞周期とapoptosisはFACSを用いて解析した。DNA chipを用いた解析により、spastin遺伝子の減少に伴い減少する遺伝子群から、モーター蛋白と神経突起形成に関与する遺伝子を解析した。spastinとの相互作用は免疫沈降によって検討した。

なお、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針

(平成13年文部科学省・厚生労働省・経済産業省告示第1号)、遺伝子治療臨床研究に関する指針(平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号)および自治医大遺伝子解析倫理規定を遵守した。

C. 研究結果

spastinのvariant formは分裂細胞の分裂後期において異なった局在を示し、long formは微小管と一致した局在を示すが、short formは分裂細胞の中間に存在することが示された。SpastinのsiRNA導入により細胞周期がG0/G1でarrestしている細胞が多く認められ、細胞死が観察された。神経系の細胞においてknock-down効率の低いsiRNAを導入した神経細胞では微小管が束になった太い突起が認められたが、さらにspastin蛋白を減少させると分岐部位から成長円錐様の突起が出現し、突起先端部では、成長円錐の形成が不十分な細胞が観察された。また、太さが一定ではない異常伸長した突起の形成が観察された。

Spastinの減少に伴って減少する関連蛋白は内在spastinと神経突起の先端で共局在したが、spastinのknock-downによって突起先端部への集積は阻害された。また、spastinの過剰発現系では野生型spastinとは共局在したが、変異spastinとは部分的にしか共局在しなかった。しかし、免疫沈降による相互作用は検出されなかった。

#### D. 考察

分裂細胞では、long formのspastin蛋白は主として細胞分裂期の紡錘体微小管の切断による染色体の分配に、short formは細胞質分裂時の細胞間橋における微小管の切断に機能すると考えられた。spastinの減少は、分裂後期の微小管切断異常だけではなく、微小管の損傷を含む微小管の形成に影響を及ぼし、その結果として細胞周期が停止し、細胞死を起こすことが考えられた。また、神経突起形成では先端部位において切断を行うことにより、微小管伸長時に均一の太さの安定した突起形成に関与すると考えられた。Spastin関連蛋白は神経突起形成に関与することが報告されているが、直接の相互作用ではないが、突起の先端でspastinと共局在を示すことから、関連蛋白や微小管を介してspastinと何らかの相互作用をしていることが考えられた。

#### E. 結論

Spastinの細胞質での機能は主として微小管の切断であると考えられた。特に神経系の細胞では、神経突起形成時に突起先端への膜成分等の材料輸送の必要がある。spastinは突起の先端や分岐部分に集積して切断と伸長のバランスをとっているものと考えられた。SPG4の病態を解明する上で、spastinの微小管切断と安定化の機能は重要である。微小管関連物質の探索はSPG4治療にむけて有効であるとともに、微小管関連蛋白spastinとの関係をさらに解析することにより、軸索の変成や再生にも繋がるネットワークの解明が可能と思われる。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし

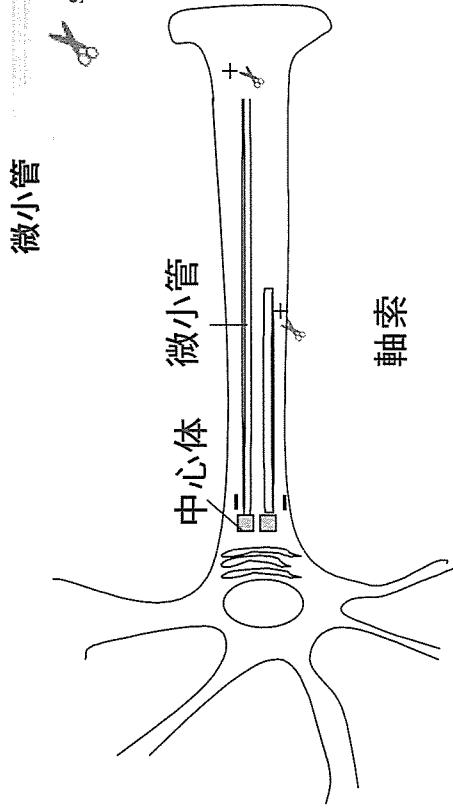
##### 2. 学会発表

1) 迫江公己、瀧山嘉久、嶋崎晴雄、中野今治: spastinの機能解析. 第47回日本神経学会総会、東京、2006年5月11日.

G. 知的財産権の出願／登録状況

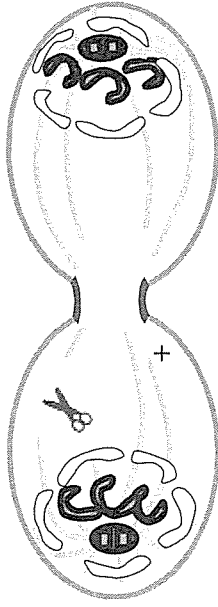
なし

神経細胞



微小管

分裂細胞



軸索

紡錘体微小管の切断



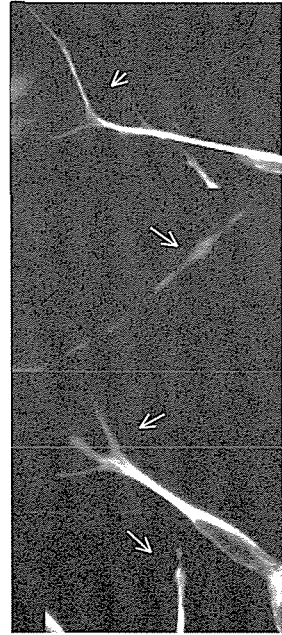
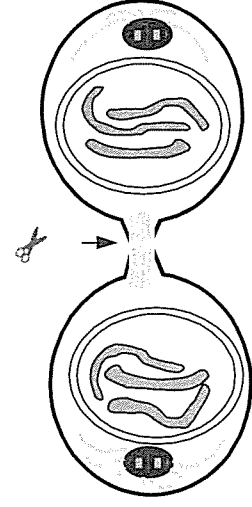
↓  
微小管の切断  
↓  
神経突起の伸長、安定

← Spastinの機能 →



↓  
微小管の切断

↓  
娘細胞間微小管の切断



Spastin蛋白をknock-downした  
神経細胞 (SHSY5Y)

↓  
突起先端部の形態異常、突起の異常伸長が見られる

家族性痙性対麻痺の分子疫学とその臨床像

分担研究者	辻 省次	東京大学医学部神経内科
研究協力者	後藤 順	東京大学医学部神経内科
	高橋 祐二	東京大学医学部神経内科
	石浦 浩之	東京大学医学部神経内科

研究要旨

DNA マイクロアレイによるリシークエンシングを応用して、家族性痙性対麻痺(FSP)の原因遺伝子を網羅的に解析可能なシステムを構築した。FSP 65例(家族性36例, 孤発性29例)に対し9遺伝子の解析を行い、11例(家族性9例, 孤発性2例)において原因遺伝子変異(SPG4 10変異, SPG3A 1変異)を同定した。純粋型の常染色体優性遺伝性のFSPの約40%がSPG4変異を有していた。SPG4変異はハプロ不全を来す変異が多い傾向があった。変異の種類と発症年齢との間に明らかな相関は認められなかった。遺伝子表現型連関の解析にはさらなる症例の蓄積が必要である。

A. 研究目的

【背景】家族性痙性対麻痺(FSP)は遺伝的に異質性を有する疾患であり、現在までに12の原因遺伝子が同定されている。我々はDNA マイクロアレイを応用したハイスループット遺伝子診断システムを構築し、FSPの網羅的原因遺伝子解析を行っている。

【目的】FSPにおける網羅的原因遺伝子解析により、FSPの分子疫学を明らかにするとともに、変異が同定された症例における臨床像を分析する。

SPG20, SPG31の網羅的解析を行った。孤発例についてはSPG3A, SPG4, SPG31(いずれも常染色体優性遺伝形式をとる)を中心に解析を行った。特異的プライマーを用いたゲノムPCRを行い、DNA マイクロアレイを用いて全エクソン及び周辺のイントロンの配列の解析を行った。同定した変異については直接塩基配列決定法で確認した。変異が同定された症例については、臨床像を分析し、変異との関連を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は東京大学医学部における倫理委員会において承認された形で行った。ゲノムサンプルに関しては、文書で同意を得た形で研究に使用し、サンプルの匿名化を行いプライバシーに配慮した。

B. 研究方法

FSP 65例(家族性36例, 孤発性29例)に対し、各症例の遺伝形式に応じて原因遺伝子 SPG1, SPG2, SPG3A, SPG4, SPG6, SPG7, SPG10,

### C. 研究結果

FSP65 例中 11 例(家族性 9 例, 孤発性 2 例)において原因遺伝子変異を同定した. 常染色体優性遺伝形式(AD-FSP)の 19 家系中 7 家系に SPG4, 1 家系に SPG3A が認められ, 孤発例 2 例に SPG4 の変異が認められた. AD-FSP における SPG4 変異の頻度は 38%であり, 欧米の既報告と一致していた. SPG4 変異の種類は, ミスセンス 2 例, ナンセンス 4 例, フレームシフト変異 1 例, スプライシング変異 2 例であり, ハプロ不全を引き起こしうる変異の種類が多かった. SPG3A および SPG4 陽性例はいずれも純粋型の痙性対麻痺の臨床像を呈していた. SPG4 における変異の種類と発症年齢との相関を検討したが, 一定の傾向は認められなかった.

### D. 考察

マイクロアレイを用いた遺伝子解析システムは, 網羅的な原因遺伝子解析に適しており, 痙性対麻痺のような遺伝的異質性を有する疾患に対しては非常に有効である. 本システムを用いることにより, これまでアプローチが困難であった孤発例に対しても 病因を決定できることが示された. 一方, 複合型の痙性対麻痺においては原因遺伝子同定に至らず, 今回スクリーニングした遺伝子以外に原因遺伝子があることが示唆された. 今後さらなる原因遺伝子同定により, 痙性対麻痺のかなりの部分が説明できるようになることが期待される.

### E. 結論

純粋型の AD-FSP における SPG4 の遺伝子頻度は高く, また孤発例においても変異が認められる. SPG4 の変異の種類は多様であるが, ハプロ不全を起こしうる変異が多い. 変異と表現型の連関に

ついてはさらに多数例での検討が必要であると考えられる.

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

#### 2. 学会発表

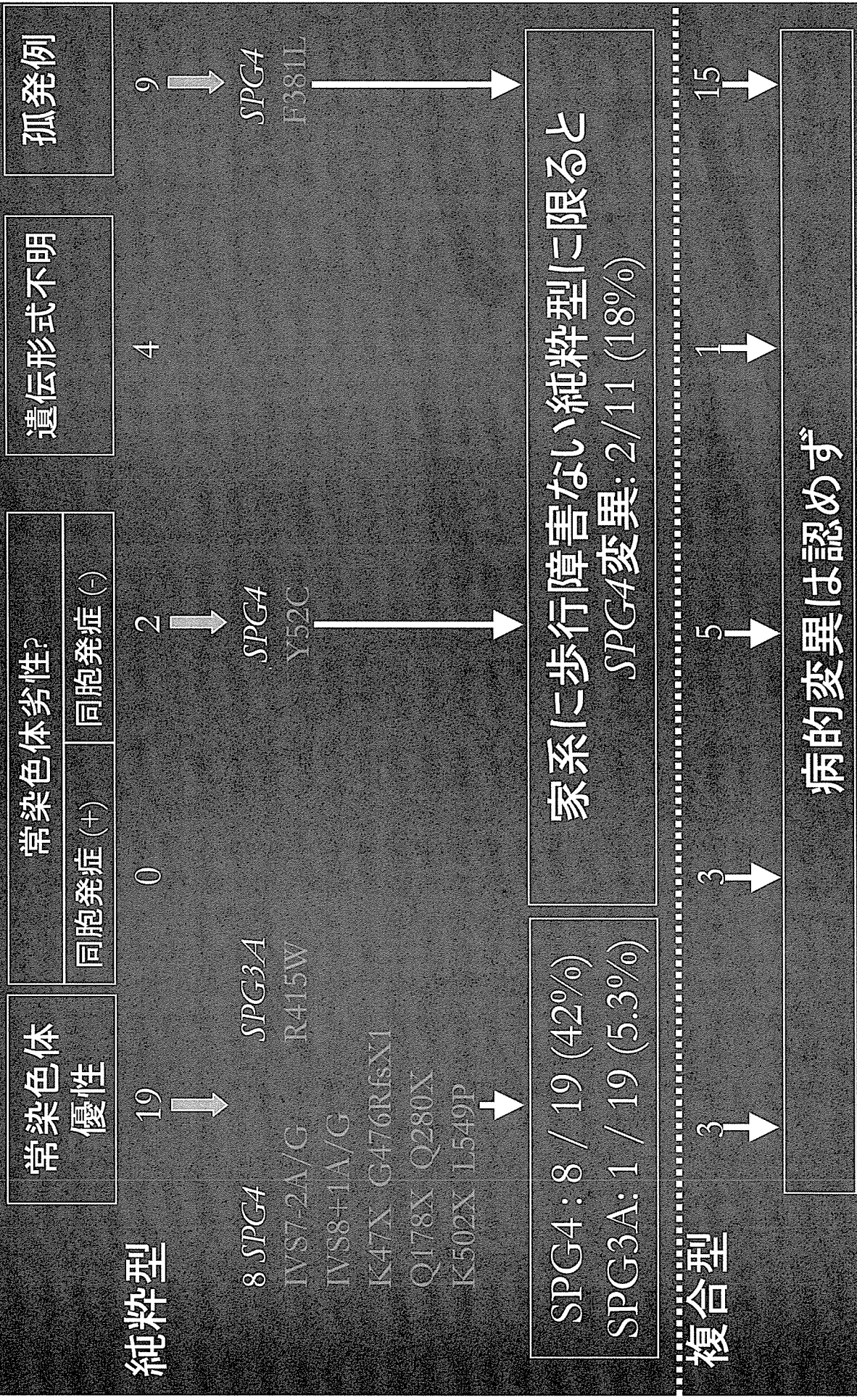
Hiroyuki Ishiura, Yuji Takahashi, Yu Nagashima, Jun Goto, and Shoji Tsuji. Molecular epidemiology of hereditary and sporadic spastic paraplegia in the Japanese population analyzed with a high-throughput DNA microarray-based resequencing system. 58th Annual Meeting of the American Academy of Neurology. April, 2006. San Diego, USA.

石浦 浩之、高橋 祐二、長島 優、後藤 順、辻省次. DNA アレイを用いた家族性及び孤発性痙性対麻痺の原因遺伝子の網羅的解析. 日本神経学会総会 5月 2006年, 東京

### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 痲痺性対麻痺症例の遺伝子変異



## 厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

### 運動失調症に関する調査研究班

本邦における遺伝性痙性対麻痺の検討 —JASPAC 一次アンケート調査より—

分担研究者 瀧山嘉久 自治医科大学内科学講座神経内科学部門  
研究協力者 嶋崎晴雄, 迫江公己, 欧陽 嶷, 滑川道人, 中野今治  
自治医科大学内科学講座神経内科学部門

#### 研究要旨

本邦における遺伝性痙性対麻痺に関して、我が国における有病率など疫学的事実を明らかにすることを目的として全国の施設に対してアンケート調査を行った。全国 1231 施設のうち、565 施設から回答があり、遺伝歴の明らかな痙性対麻痺は 209 家系あった (204 施設)。そのうち常染色体優性は 141 家系、常染色体劣性は 63 家系、X連鎖性劣性は 3 家系であった。遺伝子解析は 30 家系に行われており、そのうち SPG4 が 22 家系と最多であり、次いで ARSACS の 5 家系であった。しかし、まだ遺伝子解析が行われていない家系が大部分であり、117 施設から遺伝子解析の希望があった。遺伝子解析の需要の多さが判明し、JASPAC としての活動の重要性を認識した。

#### A. 研究目的

近年、これまで原因不明であった遺伝性痙性対麻痺 (HSP) の遺伝子座あるいは原因遺伝子が解明されてきている。HSPは皮質脊髄系の運動神経軸索遠位部の変性による進行性の両下肢麻痺を特徴とし、常染色体優性 (AD)・常染色体劣性 (AR)・X連鎖性劣性 (XR) の3種類の遺伝形式が知られている。現時点で、遺伝子座はSPG1からSPG33までマッピングされている。そのうち遺伝子異常の判明したものは15種類で、ADでは Spastin, Atlastin, NIPA1, KIF5A, HSPD1(HSP60), BSCL2 (Seipin), REEP1, ZFYVE27, ARでは Paraplegin, Spartin, Maspardin, Alsin, Saccin, XRでは L1CAM, Proteolipid protein (PLP) がある。しかし、これまで遺伝性痙性対麻痺に関して、発症頻度や有病率などの日本全国規模の詳細な疫学調査はなされていない。

そこで、我々は JASPAC の活動開始に先駆けて、全国の神経内科並びに小児神経科の施設に対して一次アンケート調査を行い、遺伝性痙性対麻痺症例を集積し、我が国における遺伝性痙性対麻痺の有病率など疫学的事実を明らかにすることを目的とした。

#### B. 研究対象と方法

全国の神経内科医が常勤している日本神経学会教育施設、教育関連施設と、日本小児神経学会評議員の常勤している施設の計 1231 力所を対象に、遺伝性痙性対麻痺患者の数、遺伝形式、遺伝子解析の希望の有無などについてアンケートを行った。その結果を元に、各遺伝形式別の有病率、発症頻度を算出し、日本における遺伝性痙性対麻痺の疫学的事実を明らかにした。

#### C. 研究結果

2007 年 1 月 11 日現在、565 施設よりの返事があり(回収率 45.9%)、症例を持つ 204 施設の症例を集計した。遺伝歴が明らかな家系は 209 家系であり、常染色体優性 (AD) が最多で 141 家系、常染色体劣性 (AR) が 63 家系、X 連鎖性劣性 (XR) が 3 家系、不明が 1 家系であった。痙性対麻痺症例数は合計 691 例であったが、AD は 220 例、AR は 94 例、XR は 4 例、不明が 3 例、孤発性が 370 例であった。遺伝子解析は、遺伝性で 30 家系、孤発性で 3 例に行われていた。遺伝子解析済みの例は、30 家系 + 孤発 3 症例あり、SPG4 が最も多く、22 家系 + 孤発 3 例であった。次いで ARSACS 5 例、SPG1 と SPG2 がそれぞれ 1 例と 2 例であった。AD の 141 家系については、



SPG4 が 22 家系, 不明が 119 家系であった. 症例のある 204 施設のうち, 117 施設が遺伝子解析を希望し, 39 施設が現時点での希望は不明であった.

#### D. 考察 E. 結論

1. 常染色体優性遺伝性で最も多いのは, SPG4 であった. SPG4 が占める割合は 15.6%と欧米の約 40%より少ないが, まだ遺伝子解析未施行例が多いことによるものと推測された. また, SPG3A は欧米の若年者で最も多い型とされているので, 今後の解析で増える可能性があると思われる.
2. 常染色体劣性遺伝性で遺伝子異常が確定した例は ARSACS 以外なかったが, 今後の遺伝子解析により, 新たな病型の存在が判明する可能性があると考えられた.
3. 孤発例のうち 3 例に SPG4 が含まれており, 孤発例であっても SPG4 の遺伝子解析が必要であると思われる.
4. HSP 209 家系中, 遺伝子解析済みは 30 家系 (14.4%) と少数であったが, 遺伝子解析希望が 117 施設よりあり, その需要の多いことを認識した.

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Ouyang Y, Takiyama Y, Sakoe K, Shimazaki H, Ogawa T, Nagano S, Yamamoto Y and Nakano I. Sacsin-related ataxia (ARSACS): Expanding the genotype upstream from the gigantic exon. *Neurology* 66: 1103-1104, 2006.
- 2) Yamamoto Y, Nakamori M, Konaka K, Nagano S, Shimazaki H, Takiyama Y and Sakoda S. Sacsin-related ataxia caused by the novel nonsense mutation Arg4325X. *J Neurol* 253:1372-1373, 2006.
- 3) Takiyama Y. Sacsin-related ataxia: the SACS gene mutations. In: R.M. Mohan, ed. *Research Advances in Neurology* 3. Kerala, Global Research Network, 2006: 1-6.

- 4) Takiyama Y. Autosomal recessive spastic ataxia of Charlevoix-Saguenay (ARSACS). *Neuropathology* 26: 368-375, 2006.
- 5) Takiyama Y. Sacsinopathies: saccin-related ataxia. *Cerebellum* (in press)
- 6) 瀧山嘉久. 脊髄小脳変性症研究の最近の進歩: シャルルヴォア・サグネ型痙性失調症. *神経研究の進歩* 50: 387-395, 2006.
- 7) Ouyang Y and Takiyama Y. 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia in Japan. In: R.M. Mohan, ed. *Research Advances in Neurology* 4. Kerala, Global Research Network, 2007: 1-7.
- 8) Ouyang Y, Sakoe K, Shimazaki H, Namekawa M, Ogawa T, Ando Y, Kawakami T, Kaneko J, Hasagawa Y, Yoshizawa K, Amino T, Ishikawa K, Mizusawa H, Nakano I and Takiyama Y. 16q-linked autosomal dominant cerebellar ataxia: a clinical and genetic study. *J Neurol Sci* 247: 180-186, 2006.

##### 2. 学会発表

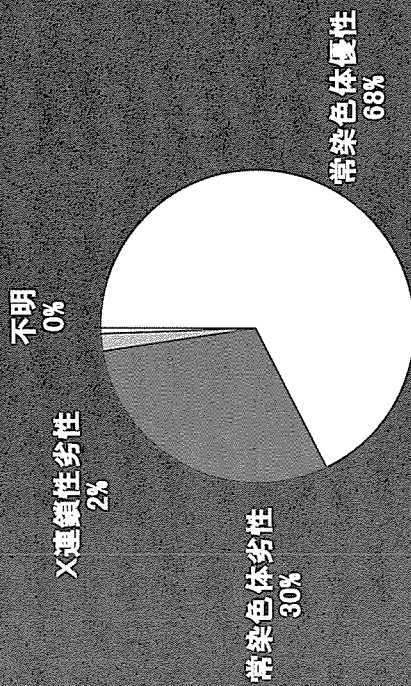
- 1) 嶋崎晴雄, 瀧山嘉久, 迫江公己, 欧陽巖, 小川朋子, 中野今治, 平岡宏太良, 長野清一, 山本洋一. 本邦 ARSACS7 家系 10 症例の臨床・遺伝学的検討. 第 47 回日本神経学会総会, 2006 年 5 月 11 日, 東京.
- 2) Martins S, Horstink MW, Van Maldergem L, Mukerji M, Wang GX, Takiyama Y, Coutinho P, Amorim A and Sequeiros J: Insight on the mutational process underlying Machado-Joseph disease (MJD/SCA3), through a haplotype study of normal, intermediate and expanded alleles. *European Human Genetics Conference 2006*, Amsterdam, The Netherlands, May 6-9, 2006.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

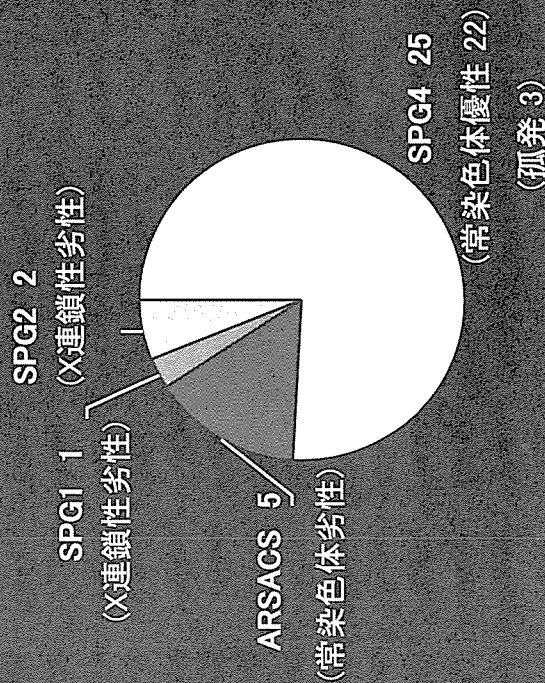
なし

# 全国アンケートによる遺伝性痙性対麻痺症例

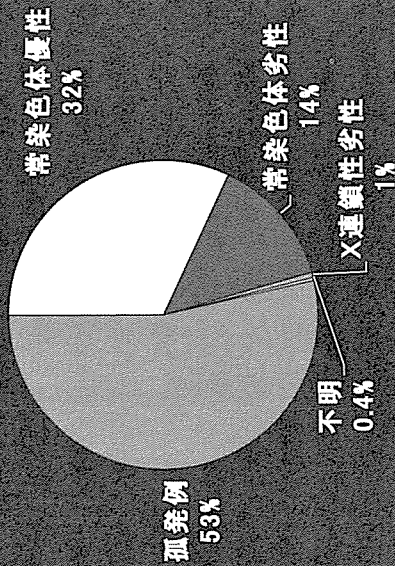
家系数  
合計209家系



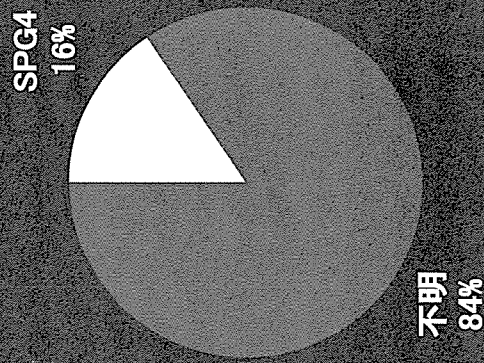
遺伝子解析済みの家系  
30家系 + 3症例



症例数  
合計691例



常染色体優性家系  
合計141家系



## 脊髄小脳失調症 6 型(SCA6)に付随するパーキンソニズム

分担研究者 小牟禮修 国立病院機構宇多野病院神経内科  
共同研究者 川上秀史 広島大学原爆放射線医科学研究所放射線分子疫学研究分野  
齊田孝彦 国立病院機構宇多野病院長

### 研究要旨

小脳性運動失調および L-dopa 非反応性のパーキンソニズムを呈した血縁関係にない脊髄小脳失調症 6 型(SCA6)の 2 家系を報告した。SCA6 においても SCA2 や SCA3 と同様に、黒質のドパミン作動性ニューロンの減少およびドパミン機能不全に起因するパーキンソニズムが付随する可能性があり、確定診断には遺伝子検査が有用である。

### A. 研究目的

脊髄小脳失調症 6 型(SCA6)は常染色体優性遺伝性の小脳失調症で、電位依存性 Ca チャンネルの  $\alpha_{1A}$  サブユニット(*CACNA1A*)遺伝子における CAG リピートの伸長が原因である。SCA6 は比較的高齢で発症し、緩徐進行性のほぼ純粋な小脳症状を呈するとされている。

我々は SCA6 遺伝子変異を認め、L-dopa 非反応性のパーキンソニズムを伴った血縁関係にない 2 家系を経験したのでその詳細を報告する。

### B. 症例

症例 1 は 33 歳、男性、広島県出身。主訴は歩行障害、構音障害、書字障害。既往歴では特記すべきこと無く、家族歴にて父親に 30 歳頃より歩行障害を認めた。現病歴では 27 歳より歩みにくさを自覚し、同時期より喋りにくさも出現した。31 歳より右下肢の動きが悪くなり、字も書きにくくなった。32 歳より左下肢の動きも悪くなったため入院となった。

入院時神経学的には構音障害を認めたが、嚥下障害、認知症は無く、脳神経では水平性眼振、複視を認めるのみであった。運動系では右側優位に上肢で動作性ミオクローヌスを、下肢ですくみ、動作緩慢を認めたが、筋

固縮、安静時振戦、筋力低下は認めなかった。体幹優位の小脳性運動失調を認め、歩行は不安定かつ緩慢であり、右側優位の引きずりを認めた。

検査所見では検尿、検血、生化学、血清、免疫、内分泌検査では異常なく、乳酸・ピルビン酸、銅・セルロプラスミン、ビタミン E も正常であった。髄液検査では細胞数、蛋白、糖は正常であったが、HVA 8.8 ng/ml、5-HIAA 7.5 ng/ml と低下を認めた。脳波、聴性脳幹反応、末梢神経伝導検査は正常であり、体性感覚誘発電位でも巨大 SEP 等の異常は認めなかった。

頭部 MRI では虫部優位の小脳萎縮を認めたが、脳幹萎縮は認めなかった。線条体、大脳皮質等についても異常を認めなかった。脳血流シンチでは虫部優位に小脳での血流低下を認めた。さらに、両側前頭葉、左側優位に基底核においても血流低下を認めた。MIBG 心筋シンチでは初期像の H/M 比 2.47、後期像の H/M 比 2.88 と正常であった。遺伝子検査での *CACNA1A* 遺伝子の CAG リピート数は 27 と伸長しており、SCA6 と確定診断された。

上肢の動作性ミオクローヌスに対してクロナゼパムを投与したところ、明らかな改善を認

めた。一方、下肢のすくみ、無動に対して L-dopa 製剤をはじめとする抗パ剤を投与したが、症状は不変であった。小脳性運動失調に対して酒石酸プロチレリン (TRH)、タルチレリンを投与したが、明らかな改善は得られなかった。

症例 2 は 61 歳、男性、大阪府出身。主訴は歩行障害、構音障害。胃全摘術の既往があり、家族歴にて父親に 70 歳頃より歩行障害を認め、姉にも同様の症状を認めた。現病歴では 57 歳より歩きにくさを自覚し、同時期より喋りにくさも出現した。58 歳より左下肢の動きが悪くなった。60 歳より右下肢の動きも悪くなったため入院となった。

入院時神経学的には構音障害を認めたが、嚥下障害、認知症は無く、脳神経も正常であった。運動系では下肢で左側優位のすくみ、動作緩慢を認めたが、筋固縮、振戦、筋力低下は認めなかった。体幹優位の小脳性運動失調を認め、歩行は不安定かつ緩慢であり、左側優位の引きずりを認めた。

検尿、検血、生化学、血清、免疫、内分泌検査では貧血を認めた以外は異常なく、乳酸・ピルビン酸、銅・セロプラスミン、ビタミン E も正常であった。髄液検査では HVA 15.1 ng/ml、5-HIAA 19.2 ng/ml と低下を認めた。脳波、聴性脳幹反応、末梢神経伝導検査は正常であった。

頭部 MRI では虫部優位の小脳萎縮を認めたが、脳幹萎縮は認めなかった。T2 強調画像にて両側被殻の低信号化を認めた。脳血流シンチでは虫部優位に小脳で血流低下を認めた。さらに、右前頭葉、両側頭頂葉においても血流低下を認めた。MIBG 心筋シンチでは初期像の H/M 比 3.02、後期像の H/M 比 2.88 と正常であった。遺伝子検査での *CACNA1A* 遺伝子の CAG リピート数は 22 と伸長しており、SCA6 と確定診断された。

下肢のすくみ、無動に対して L-dopa 製剤をはじめとする抗パ剤を投与したが、症状は不

変であった。小脳性運動失調に対して TRH、タルチレリンを投与したが、明らかな改善は得られなかった。

### C. 考察

SCA6 は緩徐進行性のほぼ純粋な小脳症状を呈するとされており、パーキンソニズムを伴うことは稀である。しかし、Schols らによれば SCA6 の 6% にパーキンソニズムを認めたとしており、甲平らの報告 (L-dopa 非反応性のパーキンソニズムを伴った SCA6 の 1 例) も見られる。

最近、Khan らによりパーキンソニズムと黒質線条体機能不全を伴った SCA6 の 2 家系が報告された。我々の 2 症例についても髄液 HVA 濃度の低下を認めており、黒質線条体ドパミン作動性ニューロンの機能不全がパーキンソニズムの原因と考えられた。

SCA6 においても SCA2 や SCA3 と同様に、黒質のドパミン作動性ニューロンの減少およびドパミン機能不全に起因するパーキンソニズムが付随する可能性が示唆された。

### D. 結論

L-dopa 非反応性のパーキンソニズムを伴った脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) の 2 家系を報告した。SCA6 においてもこのような多彩な臨床症状を呈する症例があり、確定診断には遺伝子検査が有用である。

### E. 研究発表

#### 1. 論文発表

なし

#### 2. 学会発表

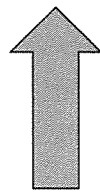
小牟禮修, 村瀬永子, 齊田孝彦, 中村雅之, 佐野輝, 真田充, 小澤恭子: 複合ヘテロ変異を認めた ARSACS の 1 家系. 第 47 回日本神経学会総会, 2006 年 5 月, 東京

### F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

# 脊髄小脳失調症6型(SCA6)に付随するパーキンソニズム

脊髄小脳失調症6型(SCA6)は常染色体優性遺伝性の小脳失調症で、比較的高齢で発症し、緩徐進行性のほぼ純粋な小脳症状を呈するとされている。



24家系のSCA6の中に、L-dopa非反応性のパーキンソニズムを伴った血縁関係のない2家系が存在した。SCA6においても、黒質ドパミン作動性ニューロンの減少およびドパミン機能不全に起因するパーキンソニズムが付随する可能性がある。

## パーキンソン病か、Machado-Joseph 病 (IV 型) か: MJD の初期病変について

分担研究者	山田 光則	新潟大学脳研究所病理学分野
研究協力者	柿田 明美	新潟大学脳研究所脳疾患標本資源解析学分野
	江口 郁代	信楽園病院神経内科、(現)総合リハビリテーションセンターみどり病院
	渡部裕美子	信楽園病院リハビリテーション科
	堀川 楊	信楽園病院神経内科、(現)堀川内科・神経内科医院
	田中 一	信楽園病院神経内科
	野田 恒彦	信楽園病院神経内科
	森田 俊	信楽園病院病理
	高橋 均	新潟大学脳研究所病理学分野

### 研究要旨

びまん性レビー小体病(経過 17 年)と Machado-Joseph 病(CAG リピート数 56、経過 8 年?)を合併した症例(死亡時 75 歳)の剖検脳を病理解析した。脳にはびまん性レビー小体病に関連した領域にレビー小体の出現と神経細胞脱落を認めたが、Machado-Joseph 病を示す神経細胞脱落はみられなかった。しかしながら免疫組織化学的検索から、橋核を含む複数の領域の神経細胞に微細な核内封入体の存在を確認した。本研究から、CAG リピート短伸長の Machado-Joseph 病では、少なくとも病初期に、症状の発現が神経細胞の機能異常に関連していることが示唆された。本成果は、同病の治療法今後開発していくうえで基盤となるヒト脳の病初期分子病理の一端を確立した。

### A. 研究目的

神経変性疾患の原因遺伝子同定が進み、症例の遺伝子診断が可能となってきている。ポリグルタミン病も同様の状況にあり、近年の分子病態解明の伸展から、同病の治療法開発がモデル動物等の研究を介して進められている。しかしながら、こうした研究の基盤となるポリグルタミン病各疾患のヒト脳の病理所見は、神経細胞脱落に基づいた従来の解析結果が主体となっており、分子病態に基づく新規の病理変化は十分に解明されていない。さらに、治療の主要な対象の一つと推測される病初期例あるいは軽症例の脳変化については、解析の機会が乏しいことからほとんど未解明の状況にある。今年度は、遺伝子異常が軽く、加えて比較的病初期に死亡された Machado-Joseph 病(MJD)症例の剖検脳を解析し、同病におけるヒト脳の初期病変を明らかにすることを目的とした。

### B. 症例

家族歴:両親、兄弟、子供に同病なし。症例(女性)は 58 歳時に動作緩慢を自覚した。59 歳、左上肢に振戦が出現。60 歳(初診)、両上肢振戦、寡動、固縮、前傾歩行、歩行時の下肢つっぱり感あり。抗パーキンソン病薬で軽快。その後パーキンソニズムは進行したが、同薬増量により、日常生活は良好、畑仕事も可能であった。67 歳、外来診察で頭部の挙上不能に気付かれた。頸部に軽度筋萎縮あり。頸部以外の筋力は 4-5。眼振、失調、深部健反射異常、病的反射、自律神経症状なし。頭部 MRI、神経伝導速度、筋電図に異常な

し。MJD IV 型も疑い遺伝子検索を施行した結果、*MJD1* 遺伝子の CAG リピート数が 56/22 と判明した。筋力低下、筋萎縮は軽度ながら進行性。70 歳、易疲労感の訴え強く、物忘れのため家事が不能となった。記憶の一時途絶、入浴中の栓抜きなどの異常行動や人影がみえるなどの幻覚出現。座位時に体を揺らす不随意運動あり。パーキンソニズムの大きな悪化なし。活動性は次第に低下したが、調子の良い日は畑仕事をした。抗パーキンソン病薬はある程度効果あり。びっくりまなこ、眼球運動制限が認められた。72 歳、幻覚高度。嚥下障害強く、誤嚥性肺炎を繰り返し入院となった。手を引かれて短距離歩行可能。疲労感強く、うつ傾向が増強。73 歳、胃瘻造設。ほぼ寝たきりで全介助となった。自発語なく、呼名に反応なし。全身固縮。75 歳、死亡。

子供の *MJD1* 遺伝子に CAG リピート伸長(Q56)あり。

### C. 研究結果

脳のみをの病理解剖が承諾された。脳重は 1,140 g。大脳では前頭葉の脳溝が軽度開大。大脳に比して、小脳が全体に小振りであった。大脳断面では、脳室が軽度に拡大していたが、大脳皮質、基底核、視床、海馬等に明らかな萎縮はなかった。脳幹では、中脳黒質と青斑核の黒色が減じ、橋底部が軽度萎縮性にみえた。小脳歯状核に異常なし。

組織病理学的に黒質、青斑核、迷走神経背側核に高度の神経細胞脱落がみられ、扁桃核とマイネルト基底核にはそれぞれ中等度と軽度の神

神経細胞脱落が観察された。これらの領域の残存神経細胞や脳幹網様体の神経細胞にはレビー小体が多数認められた。さらに皮質型のレビー小体が大脳辺縁系、大脳皮質に多く観察された。老人斑は大脳皮質に広範に認められたが、神経原線維変化の出現は海馬や海馬傍回に限局し少数であった。淡蒼球、視床下核、脳幹運動神経核、橋核、小脳歯状核などのMJDの変性領域には神経細胞脱落が認められず、明らかなユビキチン陽性核内封入体の存在も指摘しえなかった。以上から、本例はびまん性Lewy小体病と病理診断された。

他方、伸長ポリグルタミン病鎖を認識する1C2抗体を用いた免疫組織化学により脳標本を詳細に検討した結果、神経細胞における微細な核内封入体の存在が確認された。その分布は、視床下核、赤核、橋核、脳幹網様体、副楔状束核などにおよび、いずれもMJDの頭頂的病変分布の範疇に含まれるものであった。しかしながら出現頻度は低く、最高でも橋核の2~4%であった。神経細胞胞体内の顆粒状陽性所見は、動眼神経核や舌下神経核などに観察された。こうした結果を踏まえ、ユビキチン免疫染色標本を再検討したが、封入体が微細なためもあって、種々の陽性染色像からポリグルタミン病の核内封入体を明確に認識することはやはり困難であった。

#### D. 考察

病理組織学的所見も考慮すると、本例の臨床症状の主体はびまん性レビー小体病に起因していたものと思われる。他方、MJD発症の有無が問題である。本例のパーキンソニズムにMJD IV型の症状が関与していたか否かは解析が困難であるが、頸部の筋力低下、筋萎縮などの出現からMJDが発病していた可能性が高い。MJD病変としての神経細胞脱落は認められなかったが、核内封入体の出現とその分布はMJDの病態発現を強く示唆している。本例におけるMJDの臨床症状は神経細胞脱落ではなく、伸長ポリグルタミン鎖を含む異常蛋白質の神経細胞内蓄積に起因していた可能性がある。

MJDの進行例では多系統に神経細胞の脱落が生じるが、脳における異常蛋白質蓄積の経時的空間的進行動態はヒトではまったく未解明である。本研究結果から、ヒトMJD脳では病態が橋核から始まる可能性が強く示唆された。また、ポリグルタミン病における変異蛋白質の蓄積は神経細胞の核内にびまん性に生じることがヒト脳やモデル動物の解析で報告されているが、CAGリピート伸長の短いMJDでは、核内封入体の形成が病初期から優位に進行している可能性が示された。

MJD IV型は把握されている症例が少なく、病理所見も未解明な点が多い。恐らくリピート伸長数が短いことにも影響されて、臨床的特徴が必

ずしも明確にはならないことが一因かもしれない。本例ではパーキンソニズムが主症状であったが、頸部の筋力低下が把握されたことからMJDが鑑別され、遺伝子異常が発見されるという経緯をとった。剖検でも通常の検索ではMJDの病態検出は困難であり、類似剖検例が過去に存在してもMJD病変が見逃されてきた可能性が高い。こうした軽症例あるいは病初期例の解析が遅れている状況は他のポリグルタミン病でも同様であろう。神経細胞の機能不全段階にある症例はポリグルタミン病の治療対象としても重要な一群であり、こうした症例の早期把握と病態解析を進めるため、SCDの臨床ならびに病理診断の知見・技術の普及がいっそう望まれる。

#### E. 研究発表

##### 1. 論文発表

山田光則、高橋 均. ポリグルタミン病の分子病態機序. 神経進歩 50: 439-448, 2006

Yamada M, Shimohata M, Sato T, Tsuji S, Takahashi H. Polyglutamine disease: Recent advances in the neuropathology of dentatorubral-pallidolusian atrophy. Neuropathology 26: 346-351, 2006

Sakai K, Yamada M, Sato T, Yamada M, Tsuji S, Takahashi H. Neuronal atrophy and synaptic alteration in a mouse model of dentatorubral-pallidolusian atrophy. Brain 129: 2353-2362, 2006

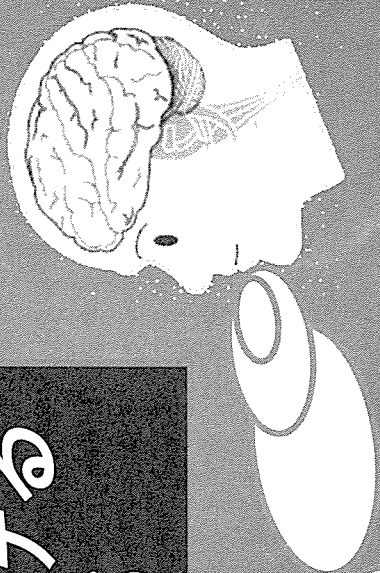
##### 2. 学会発表

坂井健二、山田光則、佐藤俊哉、山田正仁、辻 省次、高橋 均. 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症モデルマウスにおける脳萎縮の病態解析. 神経病理学会総会 5月 2006 岡山

山田 光則、佐藤 俊哉、辻 省次、高橋 均. ポリグルタミン病における選択的細胞死: 歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(DRPLA)モデルマウスの解析. 神経病理学会総会 5月 2006 岡山

#### F. 知的財産権の出願・登録状況 なし

# 遺伝性脊髄小脳変性症における 初期病変を明らかにする

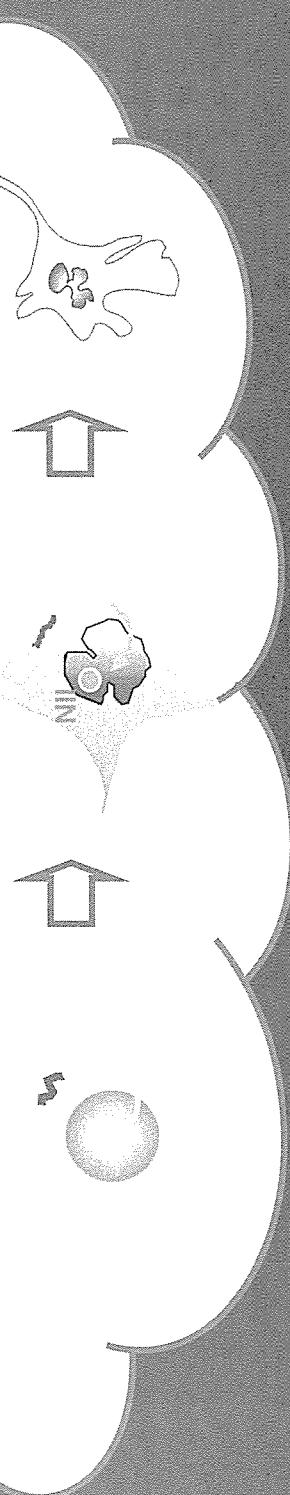


できれば、神経細胞が死ぬ前に治療を始めたいので、病気の初めはどんな変化が生じているのか知りたい。でも、ヒトの脳でそれを知る機会はとても限られている。

正常

機能異常

細胞死



遺伝子異常の軽いJoseph病例の発見  
剖検脳の詳細な検索

- ・ 微細な核内封入体形成
- ・ 橋核から病変が進行



厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症に関する調査研究班

鹿児島県における重要な失調性疾患

—Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群の臨床像と早期診断

分担研究者 高嶋 博 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学、老年病学  
研究協力者 荒田 仁、岡本裕嗣、平野隆城、吉村道由、池田賢一、  
東 桂子、大窪隆一、納 光弘、有村公良

研究要旨

GSS102は、プリオン遺伝子102番のProがLeuに変異しておこり、小脳失調と痴呆症状で特徴づけられる。鹿児島県において11家系14症例を診断したが、遺伝性失調性疾患の中では最も多い疾患であった。全例Pro102Leu陽性。初発年齢は平均60.9歳で、症状は不安定歩行、体幹失調、下肢の深部腱反射消失、下肢の疼痛性しびれ、下肢近位部の筋力低下、構音障害。初診時に痴呆は1例のみ。MRIは、病初期にはほぼ正常、その後拡散強調で大脳皮質に異常を認める。SPECTは、全例初期から異常を呈し、脳血流はモザイク状に低下し、主に後頭葉に血流の低下を認めた。一般的にGSS102は、小脳失調と痴呆が主症状でそれらが診断において重要な特徴であると思われるが、GSS102の早期診断には痴呆や小脳病変の存在は役に立たない。検査ではSPECTがもっとも早期に病変を描出できる。

A. 研究目的

Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群(GSS102)は、進行性の小脳失調と痴呆症状で特徴づけられる。脊髄小脳変性症のひとつとしても認識されるが、早期診断は難しい。鹿児島県においては、本県でもっとも頻度の高い優性遺伝性小脳失調症のSCA6やMachado-Joseph病とほぼ同数のGSS患者が見出されている。

我々は、1997年失調歩行、下肢のしびれ、下肢近位筋筋力低下などを示し、診断に苦慮した患者の診断がGSS102であることを突き止めて以来、GSS患者の症状を解析し、GSS102の早期のサインを検討した。原因不明の小脳失調症として診断されうる疾患であり、初期から確実に診断しうる臨床症状および検査所見をまとめた。さらにGSS102の初期病変の進展について考察する。

B. 研究方法

患者は、11家系14症例。女性9名、男性5名で年齢は38歳-73歳。発症から6ヶ月-4年1ヶ月に解析した。遺伝子検査にて、コドンPro102Leuのヘテロ接合体、コドン129のMet, 219Gluのホモ接合体が全例で確認されている。臨床解析、頭部MRIは、全例に行い、123I-IMP SPECTを7症例にFDG-PETを2例に行い3D-SSP法で解析した。プリオン遺伝子検査は、東北大学の北本先生、堂浦克美先生に依頼し、一部症例は鹿児島大学で行った。

C. 研究結果

初発の年齢は平均60.9歳(38-73歳)で、初発症状は、歩行障害が12例、下肢のしびれが1例、構音障害が1例であった。11例は家族歴があり、3例は孤初例であった。共通する症状として(1)不

なし

安定歩行（通常初発症状）、(2) 体幹失調、(3) 下肢の深部腱反射消失、(4) 下肢の有痛性しびれ（デルマトームに一致せずびまん性）、(5) 下肢近位部の筋力低下、(6) 軽度の構音障害が認められた。臨床症候の発現頻度については表に示した。12例は発症3年以内に診断され、4例は4-7年の経過で無限無動状態となり死亡した。MRI は、病初期には正常例が多く、小脳の萎縮は認めない。進行すると拡散強調で大脳皮質に異常を認め、最終的には大脳、小脳、脳幹など脳全体の著明な萎縮を認める。SPECT は、施行した全例初期から異常を呈し、脳血流はモザイク状に低下し、主に後頭葉に血流の低下を認めた。小脳の血流は保たれる。

#### D. 考察

一般的に GSS は、小脳失調(障害)が診断において重要な特徴であると思われるが、実際には初期には脊髄および大脳に病変が主体である。また GSS の早期診断には痴呆や小脳病変の検出は役に立たず、検査では SPECT がもっとも早期に病変を描出できる。臨床的には、躯幹失調、構音障害を呈する症例で、腱反射の減弱、MRI 上小脳萎縮を認めない症例には、プリオン蛋白遺伝子検査を施行すべきである

#### E. 結論

GSS は、失調性疾患の1つとして重要で、臨床的に鑑別可能である。画像的には SPECT が有用である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Arata H, Takashima H, Okubo R, Arimura K et al. Early clinical signs and imaging findings in Gerstmann–Straussler–Scheinker syndrome (Pro102Leu). *Neurology*. 2006 13;66(11):1672–8

##### 2. 学会発表

高嶋 博、荒田 仁ら 神経学会総会 5月 2005  
鹿児島

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

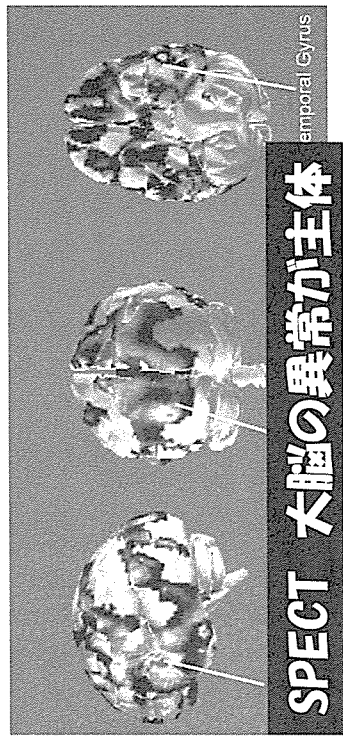
# 鹿児島県における重要な失調性疾患— Gerstmann-Sträussler-Scheinker 症候群(GSS)の臨床像と早期診断

鹿児島大学医学総合研究科 神経病学講座神経内科・老年病学

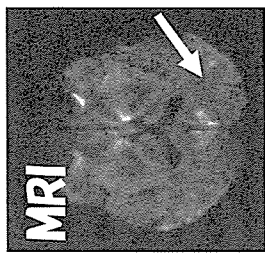
高嶋 博、荒田 仁、岡本裕嗣、平野隆城、吉村道由、池田賢一、東 桂子、大窪隆一、有村公良、納 光弘

**鹿児島県の遺伝性失調症では、GSSが最も多い！  
GSS鑑別のための重要所見は次の5つで 痴呆症状は早期診断には有用ではない！！**

**失調性歩行（通常初発症状）  
下肢の深部腱反射消失  
下肢の痛性しびれ（ネルマトームに一致せず）  
下肢近位部の筋力低下  
構音障害（軽度）**



**SPECT, PETでは異常がやすい、脳血流はモザイク状に低下し  
小脳はほとんど正常である**



**Brain MRI は、病初期には異常は見られず、初期診断に有用とはいえないが、進行とともに  
Diffusion, FLAIR 画像で異常を認める**

**初期臨床症状の責任部位は、脊髄と大脳と考えられ、一般的に考えられているGSSは小脳失調と  
痴呆の疾患という考えは、改める必要がある。**

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)

運動失調症に関する調査研究班

脊髄小脳失調症 16 型の病因遺伝子同定に関する研究

分担研究者 吉良潤一 九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科  
研究協力者 河野祐治<sup>1)</sup>, 松瀬大<sup>1)</sup>, 李魏<sup>1)</sup>, 三浦史郎<sup>1)2)</sup>, 柴田弘紀<sup>2)</sup>, 古谷博和<sup>1)</sup>,  
三好安<sup>1)</sup>, 小副川学<sup>1)</sup>, 松永宏美<sup>2)</sup>, 大八木保政<sup>1)</sup>, 柴田篤志<sup>2)</sup>, 松本直樹<sup>2)</sup>,  
岩城明子<sup>2)</sup>, 谷脇考恭<sup>1)</sup>, 山田猛<sup>1)</sup>, 服巻保幸<sup>2)</sup>  
1) 九州大学大学院医学研究院脳神経病研究施設神経内科  
2) 九州大学生体防御医学研究所遺伝実験情報センターゲノム機能学分野

研究要旨

常染色体優性遺伝で緩徐進行性の純粋小脳失調症である脊髄小脳失調症 16 型(SCA16)の病因遺伝子を同定するための遺伝解析を行い、昨年までに、3p26.2-pter に locus があること、その locus 内の CNTN4 遺伝子の 3'非翻訳領域に家系内罹患者全員がもつ特異な一塩基置換(4,256C→T)を発見した。本年度は他の動物の CNTN4 遺伝子配列との比較検討し、同 allele は、霊長類では C で保存されていたが、ラット、マウスでは罹患者と同じ T であった。また、SCA16 病因遺伝子の連鎖領域に、前回の報告以降に新たに予測された 5 遺伝子の配列についての検討を行い、検討しえた限りではそれらに罹患者特異的変異は同定できなかった。その解析の途中でさらに新たな 3 個の遺伝子が連鎖領域に予測され、その解析を行っている。

A. 研究目的

脊髄小脳失調症 16 型 (SCA16) とは、九州地区に認められる常染色体優性遺伝形式をとる緩徐進行性の純粋小脳失調症である。昨年までに連鎖領域は 3p26.2-pter であることが判明し、CNTN4 遺伝子の 3'非翻訳領域に一塩基置換(4,256C→T)が見つかったが、それが直ちに SCA16 の原因である証明はできてない。そこで、1) CNTN4 4256C→T が真の原因となりうるか? 2) 近傍遺伝子に真の変異が存在しないか? の 2 つについて検討を行った。

B. 研究方法

B-1. 他の動物の CNTN4 遺伝子配列との比較検討: 9 種類の霊長類の CNTN4 遺伝子の 3'非翻訳領域をダイレクトシーケンス法にて決定した。ラット、マウスについては遺伝子データベース上の配列を用いた

B-2. SCA16 病因遺伝子の連鎖領域に、前回の報告以降に新たに予測された遺伝子の配列についての検: インフォームド・コンセントを得た後、末梢血リンパ球より抽出されたゲノム DNA を用いた。NCBI のデータベースに前回の報告以降に新たに予想された遺伝子、LOC642891 (23 アミノ酸)、LOC642930 (49 アミノ酸)、LOC643039 (164 アミノ酸)、LOC643060 (128 アミノ酸)。さらに家系内で未成年であったものがもし発症しなかったと仮定した場合の連鎖領域

(3p26.1-pter)に予測された遺伝子 LOC643120 (113 アミノ酸)のエクソンのコード領域およびエクソン・イントロン境界領域を PCR 法にて増幅し、ダイレクトシーケンス法にて変異の検索を行った。

(倫理面への配慮)

九州大学の倫理委員会の承認を得ている。また、遺伝子解析に対する同意を書面により得ている。サンプルは匿名化され厳重に保管され、データも厳重に管理している。

C. 研究結果

CNTN4 遺伝子の 3'非翻訳領域の一塩基置換 (C→T)のアリルは、検索しえた霊長類では C であった。またラット、マウスでは同アリルは T であった。

LOC642891 の exon には変異を認めなかった。LOC642930 では、第 2 エクソン内において hetero の frameshift 変異がみられたが、家系内罹患者、および非発症者の両方で共通して見られ、病因とは考えられなかった。LOC643039 では、第 2,3 エクソンには変異は同定できなかった。第 1 エクソンに関しては数種の primer を試したが、増幅できなかった。LOC643060 では数種の primer を試したが、増幅できなかった。LOC643120 においても罹患者に特異的な変異は見られなかった。

以上の配列を順次決定、検討していった。最近になり NCBI のデータベースが改定され、以上に挙げ