

の後、MSA-P 群、MSA-C 群、control 群の処理後のデータを、Voxel ごとに群間比較 (ANCOVA (共変量: 年齢、教育年数)) し、Z 値を算出、三次元脳上に投影図として表示した。MSA-P 群と MSA-C 群のデータと各認知機能検査得点を、Voxel ごとに回帰分析 (共変量: 年齢、教育年数、ICARS、UPDRS part III) し、Z 値を算出、三次元脳上に投影図として表示した。

(倫理面への配慮)

正常対照者に対する認知機能検査、SPECT については、名古屋大学倫理委員会で承認されたプロトコールに準拠して施行し、全例から文書による同意を得た。

C. 研究結果・考察

MSA-P 群において、積木模様、語想起、規則変換カード検査で有意な低下を認め、MSA-C 群において、積木模様で有意な低下を認め、MSA-P、MSA-C の両群はともに有意にうつ的であった。また MSA-P 群は MSA-C 群と比較して、規則変換カード検査で低下傾向を認めた。積木模様や語想起における運動機能・構音機能の影響を除外した解析では MSA-P 群で有意に低下しており、MSA-C 群の低下は有意でなかった。

脳血流に関しては、MSA-C 群では有意な低下が小脳に限られるのに対し、MSA-P 群では前頭前野に有意な血流低下を認めた。

認知機能検査と脳血流との相関では、MSA-C 群において、積木模様の得点が前頭前野と小脳と相関を認め、MSA-P 群においては、積木模様、語想起、規則変換カード検査の得点は、それぞれ有意に前頭前野と相関を認めた。

このように MSA-P と MSA-C は類似した認知機能プロフィールを示すが、MSA-P では

MSA-C より広範で高度な認知機能障害を認める可能性が示唆された。MSA-P では小脳だけでなく、前頭前野の血流低下も認め、これは認知機能検査得点と相関を認めた。認知機能における前頭前野の関与が疑われた。MSA-C では小脳でのみ有意な血流低下を認めたが、認知機能検査得点とは小脳だけでなく、前頭前野の血流が有意に相関を示した。認知機能への前頭前野や大脳と小脳のループの関与が疑われた。

D. 結論

MSA では視空間・構成機能、語想起、遂行機能で障害を認め、MSA-P では視空間・構成機能、語想起、遂行機能で障害を、MSA-C では視空間・構成機能で障害を認めた。MSA-P では小脳と前頭前野の血流低下も認め、これは前頭前野の血流が認知機能検査得点と相関を認めた。MSA-C では小脳の血流低下を認め、小脳と前頭前野の血流が認知機能検査得点と相関を認めた。

E. 研究発表

1. 論文発表

Kawai Y, Suenaga M, Takeda A, et al. Cognitive impairments in multiple system atrophy: MSA-C vs. MSA-P. *Neurology* (in press).

2. 学会発表

川合圭成、渡邊宏久、祖父江元他：
多系統萎縮症における認知機能障害
日本神経学会総会 5月 2004 東京
川合圭成、渡邊宏久、祖父江元他：
多系統萎縮症における認知機能障害～画像
との関連～

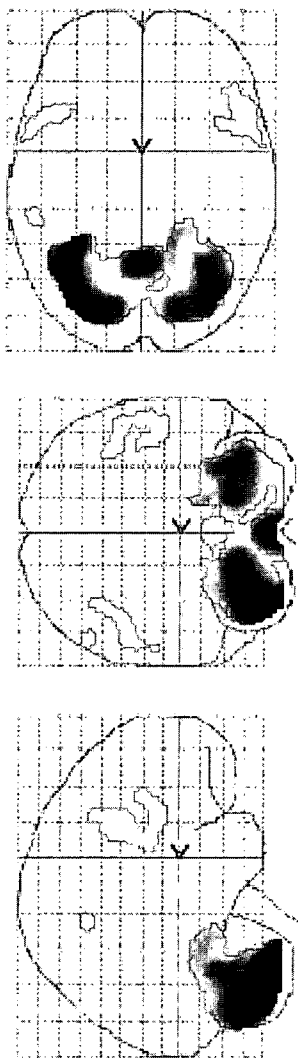
日本神経学会総会 5月 2005 鹿児島

F. 知的財産の出願・登録状況

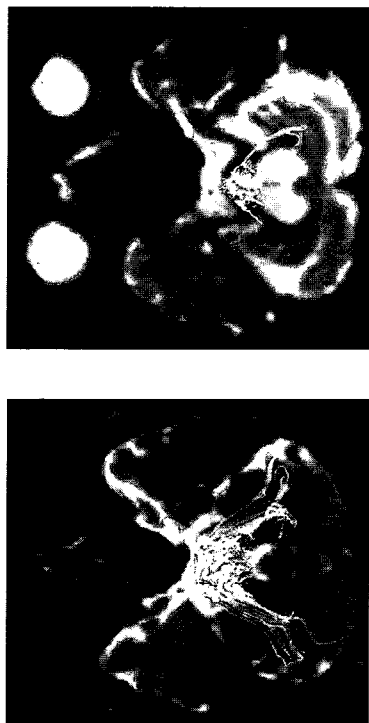
特になし。

多系統萎縮症(MSA)は病期の進行を客観的に捉えにくい

→ 今後の治療などのために客観的指標(バイオマーカー)が必要

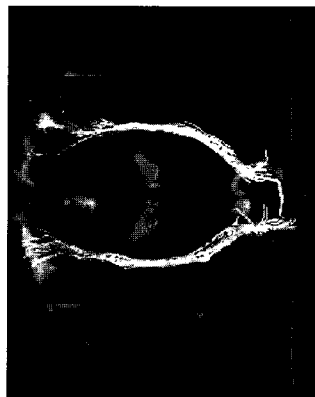


MSA患者では、脳SPECTで、小脳、前頭葉の一部などの血流が低下している。

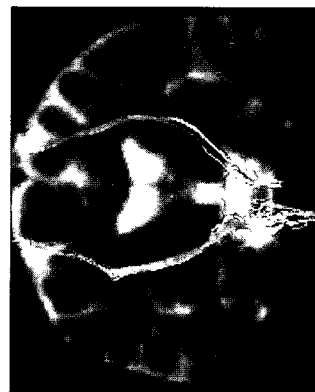


MSA患者では、橋から描出される線維が著明に減少している。

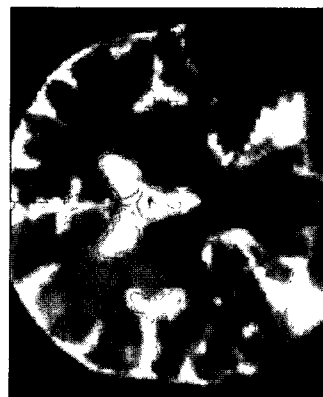
これらの指標を用い経時的に評価することで、病期の進行を客観的に評価できる、バイオマーカーになりうる可能性がある。



正常



発症2年目の人



発症10年目の人

錐体路が病期の進行とともに描出されにくくなる。

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

日本語版 Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA) の
信頼性に関する検討

分担研究者 佐々木秀直 北海道大学医学研究科神経内科学分野

共同研究者 佐藤和則 1)、相馬広幸 1)、矢部一郎 1)、安井建一 2)、
中島健二 2)、伊藤瑞規 3)、祖父江 元 3)、下畑享良 4)、
小野寺 理 4)、西澤正豊 4)

所 属 1)北海道大学医学研究科神経内科学分野
2)鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科部門
3)名古屋大学医学研究科神経内科学分野
4)新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野

研究要旨：小脳性運動失調評価スケールとして、従来 International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)が広く用いられてきた。我々は昨年度、新しい評価指標である Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)は、ICARS や Barthel Index とも相関し、簡便に使用できる上に信頼性が高いことを報告した。今年度は、本研究班により SARA 日本語訳が固定されたことを踏まえ、日本語版 SARA の評価者内および評価者間での信頼性を、脊髄小脳変性症患者 60 名を対象に検討した。その結果、信頼性の指標である級内相関係数 (ICC) は、評価者間における「指追い試験」、「手の回内回外運動」にてわずかに 0.8 を下回った以外は 0.8 を超えていた。これらの結果より日本語版 SARA は信頼性が高く、その簡便性の点からも日常診療上有用であると考えられた。

A. 研究目的と背景

背景：小脳性運動失調の重症度や治療効果を評価する指標として、これまで International Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)が広く用いられてきた。しかし、ICARS は評価項目が多く、忙しい日常診察の中で使用するには困難であることが多かった。2006 年に新しい評価方法として Schmitz-Hübisch らにより Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)が提唱された。SARA は全 8 項目と ICARS に比べて評価項目が少ない。我々は昨年度、SARA は施行時間が短く簡便であり、また同時に高い信頼性が存在することを報告した。今年度、本邦における SARA 使用にあたり、運動失調班事務局において日本語訳が固定された。

目的：日本語版 SARA の信頼性について検討することを本研究の目的とした。

B. 研究方法および対象

国内 3 施設からの脊髄小脳変性症患者 60 名 (SCA1 3 名, MJD 4 名, SCA6 15 名, SCA14 1 名, CCA 9 名, MSA-C 10 名, その他、病型未定で運動失調が前景となっている遺伝性運動失調症の成人例 16 名)を対象とした。まず、同日に二人の神経内科医 (評価者 1 および 2) が SARA を評価し、その後 4 週間以内に評価者 1 が同じ患者について SARA を再評価した。評価者内、評価者間での SARA の信頼性および内的整合性に関し、二元配置混合モデルを用い、統計ソフト SPSS により算出した級内相関係数 (ICC), Cronbach α 係数を指標として検討した。ICC>0.8

	総合点	歩行	立位	坐位	言語障害	指追い 試験	鼻指試験	手の回内 回外運動	踵すね 試験
評価者内 ICC	0.987	0.971	0.943	0.953	0.932	0.892	0.917	0.942	0.923
評価者内 Cronbach α	0.993	0.985	0.971	0.976	0.965	0.943	0.957	0.970	0.960
評価者間 ICC	0.977	0.947	0.937	0.822	0.869	0.784	0.826	0.789	0.818
評価者間 Cronbach α	0.988	0.965	0.967	0.903	0.930	0.879	0.905	0.882	0.900

表：SARA 各項目における評価者内および評価者間の信頼度

Cronbach の α 係数 >0.8 をそれぞれ信頼性、内的整合性の基準値とした。

倫理面での配慮：本研究は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、文書にて同意を得た。

C. 研究結果および考察 表)

評価者内では、全項目にて ICC は 0.8 を上回った。一方、評価者間での ICC は、指追い試験 (0.784)、手の回内回外試験 (0.789) を除き、 0.8 を上回った。また、Cronbach の α 係数は、評価者内、評価者間とも全項目にて 0.8 を上回った。これらの結果は、日本語版 SARA の評価者内、評価者間ともに高い信頼性と内的整合性を示すものと考えられた。

SARA の 8 項目のうち、「指追い試験」、「手の回内回外運動」の 2 項目にて ICC が 0.8 を下回ったが、過去の報告との比較では、「鼻指試験」、「踵すね試験」にて評価者間の信頼性が低かったとする Schmitz-Hübsch らの報告や、昨年度我々が「指追い試験」、「手の回内回外運動」での信頼性が低い傾向にあると報告した結果と同傾向であり、総じて四肢運動失調の評価に分散が生じやすい傾向を示している。その中でも今回の検討においては、上肢の運動失調評価項目が評価者間で相違が目立つ傾向にあった。この要因として、サンプル数や疾患背景の相違、また各評価項目における判定基準の問題などがあげられるが、ICC 0.8 をわずかに下回るのみであり、現状においても運動失調の評価スケールとして、日本語版 SARA には十分な信頼性があると考えられた。

D. 結論

日本語版 SARA には高い信頼性が認められた。その簡便性からも日常診療において有用であると考えられた。

E. 研究発表

論文発表

- 1) Yabe I, Matsushima M, Soma H, Basri R, Sasaki H: Usefulness of the Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA). J Neurol Sci 2007 (in press)
- 2) Basri R, Yabe I, Soma H, Sasaki H: Spectrum and prevalence of autosomal dominant spino-cerebellar ataxia in Hokkaido, the northern island of Japan: a study of 113 Japanese families. J Hum Genet 2007; 52(10): 848-855

学会発表

- 1) Soma H, Yabe I, Takei A, et al: Associations between Multiple System Atrophy and Polymorphisms of *SLC1A4*, *SQSTM1*, and *EIF4EBP1* Genes, 17th WFN World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Amsterdam RAI, Amsterdam, The Netherlands, 12/10 2007
- 2) Yabe I, Matsushima M, Soma H, Sasaki H: Usefulness of the scale for assessment and rating of ataxia (SARA), 11th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Istanbul Convention and Exhibition Centre, Istanbul, Turkey, 6/5 2007

F. 知的所有権の取得状況

該当なし

日本語版 Scale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)の信頼性の検討

分担研究者 佐々木秀直 北海道大学医学研究科神経内科学分野

共同研究者 佐藤和則¹⁾、相馬広幸¹⁾、矢部一郎¹⁾、安井建一²⁾、中島健二²⁾、伊藤瑞規³⁾、祖父江 元³⁾
下畑享良⁴⁾、小野寺 理⁴⁾、西澤正豊⁴⁾

所属 1)北海道大学医学研究科神経内科学分野、2)鳥取大学医学部附属脳幹性疾患研究施設脳神経内科部門
3)名古屋大学医学研究科神経内科学分野、4)新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野

小脳性運動失調評価スケールであるInternational Cooperative Ataxia Rating Scale (ICARS)は項目数が多く時間がかかる

新しい評価スケールであるScale for the Assessment and Rating of Ataxia (SARA)は、ICARSやBarthel Indexとも相関し、簡便に使用できる上に信頼性が高い

本研究事務局によりSARA日本語訳 が固定された

日本語版SARAの信頼性を検討した

日本語版SARAは評価者内、評価者間とも高い信頼性が認められた

日本語版SARAは本邦における小脳性運動失調評価に有用である

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

平成19年度分担研究報告書

運動失調症に関する調査研究

小脳失調症に対する短期集中リハビリテーションの効果に関する無作為比較研究

Trial for Cerebellar Ataxia Rehabilitation (CAR trial) 試験 ID/公開日 UMIN000000824 2007/09/12

分担研究者 宮井一郎 特定医療法人大道会森之宮病院院長代理
神経リハビリテーション研究部長

祖父江元 名古屋大学神経内科

研究協力者 服部憲明、矢倉一、畠中めぐみ、田中尚（森之宮病院神経リハ研）
伊藤瑞規 名古屋大学神経内科

研究要旨 変性疾患により小脳失調を呈する患者に対する短期集中型の入院リハビリテーション(リハ)が、小脳失調や日常生活動作(ADL)能力に改善に有効であることを検証するために多施設無作為比較研究を計画し、患者登録を開始した。対象は小脳失調を徴候とする脊髄小脳変性症患者(SCA6,16qADCA および LCCA)。介入として一日に60分の理学療法および60分の作業療法による基本動作、ADL練習を4週間行い、リハの短期効果はクロスオーバーデザインのRCT。その後は両群で介入終了後6カ月までのキャリーオーバーを検証する観察研究とした。主要アウトカムとしてSARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia), FIM (Functional Independence Measure)、副次項目として歩行速度(10m)ケータンス(1分間の歩数), Functional Ambulation Category (FAC)、過去4週間の転倒回数を評価する。本研究に対し近畿地区の神経学会認定施設5中心に17施設の協力を得た。今後、患者登録を順次行っていく予定である。

A. 研究目的

近年、課題指向型練習の繰り返しが運動機能回復や運動学習成立に寄与すること、脳卒中などの単相性の脳損傷後の機能回復がリハビリテーション(リハ)介入量に依存することが明らかになってきた。一方、小脳変性症に対するリハでは、運動学習の首座の一つである小脳が障害された状態でこのような原則が成立するかは不明であること、介入による機能改善と病変の拡大や病状の進行による機能低下とのトレードの上に成立することに留意する必要がある。しかし、現状では小脳変性症に対して、少なくとも脳卒中のような練習量依存型の効果があるかどうか検討されていない。そこで、小脳変性症患者に対する短期集中型の入院リ

ハが、小脳失調や日常生活動作(ADL)能力の改善に有効であることを検証するために多施設無作為比較研究を計画し、患者登録を開始した。

B. 研究方法

対象は小脳失調を主徴候とする脊髄小脳変性症(SCA6,16qADCA および LCCA)のうち、介助者が1人以下で歩行可能で、認知機能障害がない患者を対象とした。リハ介入として一日に60分の理学療法および60分の作業療法による基本動作、ADL練習を4週間入院しておこなうものとした。介入のまったくない対照群をおくことが事実上、困難であるため、①4週間の経過観察後、4週間のリハを行う群と4週間のリハ後、経過観察をおこなう群に無作為に割り付けをして短期効果を検証し、②その後は両

群で介入終了後6カ月までのキャリアオーバー（効果の持続）を検証するデザインとした。

基礎データは特定疾患申請書(脊髄小脳変性症臨床調査個人票)の内容、アウトカムとして主要項目は SARA (Scale for the Assessment and Rating of Ataxia)、FIM (Functional Independence Measure)、副次項目は歩行速度(10m)、ケーデンス(1分間の歩数)、Functional Ambulation Category (FAC)、過去4週間の転倒回数を設定した。患者紹介は近畿地区の神経学会認定施設を中心に協力依頼した。評価は割り付け結果を知らない協力病院の担当者で行い、入院リハは森之宮病院で行うものとした。目標症例50例、最終登録2009年8月末、最終対象者観察完了2010年2月末を予定している。

(倫理面への配慮)

研究協力がえられた各施設の倫理委員会で承認後、被検者に介入・評価方法や安全性について説明し、書面で Informed consent を得た。

C. 研究結果

本研究に対し、近畿地区の神経学会認定施設51施設を中心に協力依頼し、17施設（名古屋大学医学部付属病院、京都大学医学部付属病院、京都府立医科大学付属病院、京都民医連中央病院、洛和会音羽病院、医療法人春秋会城山病院、田附興風会北野病院、近畿大学医学部付属病院、近畿大学医学部堺病院、関西医科大学付属病院、国立病院機構兵庫中央病院、兵庫医科大学病院、天理よろづ相談所病院、奈良県立医科大学病院、和歌山県立医科大学病院、岡山大学医学部付属病院、国立病院機構南岡山医療センター）の協力を得た。今後、患者登録を順次行っていく予定である。

D. 研究発表

1. 論文発表

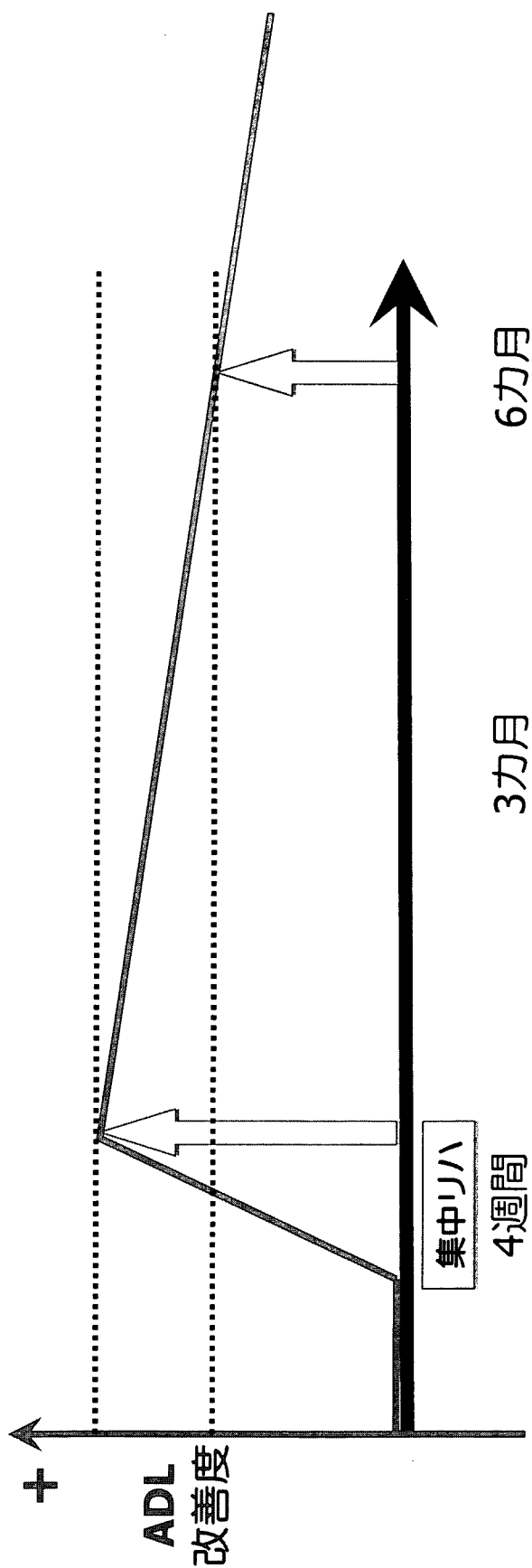
1. Hatakenaka M, Miyai I, Mihara M, Sakoda S, Kubota K. Frontal regions involved in learning of motor skill -A functional NIRS study-. NeuroImage 2007;34(1):109-116.

2. Hatakenaka M, Miyai I, Sakoda S, Yanagihara T. Proximal paresis of the upper extremity in patients with stroke. Neurology 2007;69:348-355.
3. Yagura H, Miyai I, Hatakenaka M, Yanagihara T. Inferior olivary hypertrophy is associated with lower functional state after pontine hemorrhage. Cerebrovasc Dis 2007;24:369-374.
4. Mihara M, Miyai I, Hatakenaka M, Sakoda S, Kubota K. Sustained prefrontal activation during ataxic gait: A compensatory mechanism for ataxic stroke? Neuroimage 2007;37:1338-45.
5. Kohno S, Miyai I, Seiyama A, Oda I, Ishikawa A, Tsuneishi S, Amita T, Shimizu K. Removal of the skin blood flow artifact in functional near-infrared spectroscopic imaging data through independent component analysis. Biomedical Optics 2007;12:062111-1-9.
6. Suzuki M, Miyai I, Ono T, Kubota K. Activities in the frontal cortex and gait performance are modulated by preparation. An fNIRS study. NeuroImage 2008;39:600-607.
7. Miyai I. Longitudinal optical imaging study for locomotor recovery after ischemic stroke. State-of-the-art-imaging in stroke. The present state and implication on future. Schaller B ed., Nova Science Publisher, New York, 2008, in press.

E. 知的財産権の出願・登録状況
なし

F. 健康危険情報
なし

小脳失調症に対する短期集中リハビリテーションの効果に関する無作為比較研究
 Trial for Cerebellar Ataxia Rehabilitation (CAR trial)
 試験ID/公開日 UMIN00000824 2007/09/12



小脳失調を主徴とする脊髄小脳変性症患者に対する短期集中型の入院リハビリテーションが、小脳失調や日常生活動作(ADL)能力をどの程度改善するか、またその改善がどのくらいの期間持続するかを検証する。その結果から小脳変性症に対するリハビリテーションのあり方について提言する。

厚生科学研究費補助金（特定疾患対策研究事業）
分担研究報告書

MSA 疾患感受性候補遺伝子の関連解析

分担研究者： 佐々木秀直 北海道大医学研究科神経内科学分野

共同研究者： 相馬広幸, 矢部一郎 北海道大学医学研究科神経内科学分野

研究要旨： α -synucleinopathy の発症や進行に酸化ストレスが関与することが推測されている。そのため酸化ストレス反応に関与する遺伝子は、MSA の発症や進行に影響を及ぼす可能性がある。昨年度、酸化ストレス反応との関連が疑われる遺伝子の single nucleotide polymorphism (SNP) を用いて関連解析を行い、SLC1A4 (Solute Carrier Family 1A4) の SNP +28833 に有意な相関を認めたことを報告した。本年度は解析 SNP 数を増やして SLC1A4 遺伝子の linkage disequilibrium (LD) map を作成し haplotype が及ぼす影響を関連解析にて検討した。また、有意な相関を示す傾向にあった SQSTM1 (Sequestosome 1), EIF4EBP1 (Eukaryotic Translation Initiation Factor 4E Binding Protein 1) についても同様の検討を行った。その結果、SLC1A4, SQSTM1, EIF4EBP1 の haplotype は MSA と有意な相関を示した。今後独立した cohort での再現が必要であるが、これらの遺伝子多型は MSA の発症に影響を及ぼしている可能性がある。

A. 研究目的と背景

背景：近年の研究により nitric oxide や super-oxide が α -synucleinopathy の発症や進行に関与することが推測されている。その根拠として、nitric oxide や superoxide により α -synuclein の凝集が惹起されること (in vitro)、更には nitrated α -synuclein が MSA 患者 剖検脳 の glial cytoplasmic inclusion (GCI) や neuronal cytoplasmic inclusion 内に認められることがあげられる。同様の現象は Parkinson 病, Lewy 小体型痴呆や Alzheimer 病の Lewy body variant においても Lewy body や Lewy neurites 内に認められ、 α -synucleinopathy に共通した所見であることが指摘されている。これらの stress に対する反応に関与する遺伝子は MSA の発症や進行に影響を及ぼすことが推測される。我々は昨年度この仮説に基づき、oxidative stress に関与すると推測される遺伝子多型と MSA との関連解析を行い報告した。候補遺伝子は Holtz らの報告を基に選定した (Holtz et al. J Biol Chem. 2003;278:19367-77)。これらの

遺伝子群は oxidative stress に対する反応に関与し、neuron やグリア細胞を保護、もしくは傷害を強める可能性があると推測される。昨年度はその中の 8 遺伝子の SNP を解析し、SLC1A4 の SNP +28833 (V398I, rs759458) に有意な相関を認めたことを報告した。本年度は解析 SNP 数を増やして SLC1A4 遺伝子の LD map を作成し haplotype が及ぼす影響を検討した。加えて昨年度の解析で有意な相関を示す傾向にあった SQSTM1, EIF4EBP1 についても同様の検討を行った。

目的： SLC1A4, SQSTM1, EIF4EBP1 遺伝子の haplotype が MSA の発症に及ぼす影響を患者-対照比較研究により検討する。

B. 研究方法および対象

対象患者群は 119 (男性 59, 女性 60) 名, 平均発症年齢 59.4 ± 8.5 (41- 79) 歳, MSA-C 93 名, MSA-P 26 名。診断基準では 75 名が probable, 44 名が possible に該当した。正常対照群は 123 (男性 61, 女性 62) 名, 平均年齢 58.7 ± 8.9 (41- 83) 歳。昨年と併せ SLC1A4 では 14, SQSTM1 では 12, EIF4EBP1

では 4 SNP を解析した。SNP 解析は SNaPshot (Applied Biosystems) を用いたプライマー 1 塩基伸長法にて行い、LD map の作成や haplotype の推定などの統計処理には SNP Alyze (DYNACOM) を用いた。

$|D'| > 0.9$ 又は $r\text{-square} > 0.5$ を tight linkage とみなした。統計学的検定には Bonferroni 補正 (P_c ; 補正後 p 値) を用いた。

倫理面での配慮：本研究は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、文書にて同意を得た。

C. 研究結果及び考察

SLC1A4 では、ほぼ tight な LD block を SNP -1793 から +14207 及び SNP +26627 から +29591 に認めた。これに基づき SNP -1793, +6992, +26627, +28833 を tag-SNP に選定し haplotype 解析を行い、haplotype “T-C-G-C” 及び “T-C-T-A” に有意な相関を認めた ($P_c=0.0261$, 0.000768)。また、昨年度に報告した SNP +28833 は解析した全 14 SNP であらためて Bonferroni 補正を行った後も有意性を保った (genotype: $P_c=0.0186$, allele: $P_c=0.0303$)。

SQSTM1 では、ほぼ tight な LD block を SNP +2508 から +16847 に認め、SNP +890 と +12643 はこの block とは独立して LD structure を示した。遺伝子全体や block 内の haplotype は有意な相関を示さなかったため、SNP +890 と +12643 による haplotype 解析を行い、haplotype “C-T” 及び “A-T” に有意な相関を認めた ($P_c=0.0136$, 0.0369)。

EIF4EBP1 では、SNP -606, +14426, +20787, +29758 から構成される haplotype “C-T-G-C” に有意な相関を認めた ($P_c=0.0480$)。

また、追加解析した SNP 単独での関連解析では有意な相関を示すものは認めなかった。

今後更なる検証として、独立した cohort での再現が必要である。

D. 結論

SLC1A4, SQSTM1 及び EIF4EBP1 の遺伝子多型は haplotype に基づく解析により MSA と有意な相関を示した。

論文発表

- 1) Yabe I, Matsushima M, Soma H, Basri R, Sasaki H: Usefulness of the Scale for Assessment and Rating of Ataxia (SARA). J Neurol Sci 2007 (in press)
- 2) Basri R, Yabe I, Soma H, Sasaki H: Spectrum and prevalence of autosomal dominant spinocerebellar ataxia in Hokkaido, the northern island of Japan: a study of 113 Japanese families. J Hum Genet 2007; 52(10): 848-855

学会発表

- 1) Soma H, Yabe I, Takei A, et al: Associations between Multiple System Atrophy and Polymorphisms of *SLC1A4*, *SQSTM1*, and *EIF4EBP1* Genes, 17th WFN World Congress on Parkinson's Disease and Related Disorders, Amsterdam RAI, Amsterdam, The Netherlands, 12/10 2007
- 2) Yabe I, Matsushima M, Soma H, Sasaki H: Usefulness of the scale for assessment and rating of ataxia (SARA), 11th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders, Istanbul Convention and Exhibition Centre, Istanbul, Turkey, 6/5 2007

F. 知的所有権の取得状況

該当なし

厚生科学研究費補助金(特定疾患対策研究事業)

分担研究報告書

MSA疾患感受性候補遺伝子の関連解析

分担研究者 佐々木秀直, 共同研究者: 相馬広幸, 矢部一郎
北海道大学医学研究科神経内科学分野

MSA疾患感受性遺伝子の候補として、酸化ストレス反応に関与する遺伝子を検討

候補遺伝子の関連解析(患者一対照比較研究)

SLC1A4, SQSTM1, EIF4EBP1などのSNP解析

Haplotypeに基づく関連解析

SLC1A4, SQSTM1, EIF4EBP1のhaplotypeはMSAとの有意な相関を示した

これらは疾患感受性遺伝子の候補である
独立したcohortでの検証

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

多系統萎縮症の全ゲノム関連解析

分担研究者 研究協力者	辻	省次	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	中原	康雄	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	百瀬	義雄	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	福田	陽子	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	高橋	祐二	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	後藤	順	東京大学大学院医学系研究科脳神経医学専攻神経内科
	西田	奈央	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
	徳永	勝士	東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学

研究要旨

多系統萎縮症において関連遺伝子の同定を目標に、ゲノム解析を基盤とした全ゲノム関連解析によるアプローチを行ない、locus ごとの χ^2 検定をすべての locus において施行し p 値を算出した。有意差の得られた SNP に関して、家族性 MSA における連鎖解析の結果なども併せ、引き続き解析を行なっていく。

A. 研究目的

多系統萎縮症は成人発症の自律神経症状、パーキンソニズム、小脳症状、錐体路症状を呈する進行性神経変性疾患である。本疾患は従来、孤発性疾患と考えられてきており、家族発症例の検索は充分にはなされてこなかった。しかし、近年病理学的に診断された家族発症例が複数確認され、その発症における遺伝因子が注目されるに至っている。多系統萎縮症の病因解明へのアプローチとしては、1. まれに見られる家族性多系統萎縮症に焦点を絞った連鎖解析に基づくアプローチ、2. 孤発性多系統萎縮症および健常対照者の大規模ゲノム解析 (association study) という2つのアプローチを統合して進めており、本報告では孤発性多系統萎縮症における関連遺伝子の同定を目標に、ゲノム解析を基盤とした全ゲノム関連解析によるアプローチについて述べる。

B. 研究方法

国内 16 施設とともに多系統萎縮症における多施設共同研究体制 (Japan MSA research Consortium; 通称 JAMSAC) を構築し、臨床情報およびゲノムリソースを収集。DNA Analysis Mapping 500K(Affymetrix^R) を利用し、ゲノム解析を施行。MSA 検体 230 例、正常対照者検体 294 例について解析を行なった。

(倫理面への配慮)

本研究は3省指針を遵守し、東京大学医学部研究倫理委員会の承認のもと遂行した。ゲノムサンプル及び臨床情報の収集は、文書による同意を得て行い、解析にあたっては、試料を匿名かし、プライバシーに配慮した。

C. 研究結果および考察

アレイにおける平均 8.5kb ごとにある約 50 万個の SNP にて Locus ごとの call rate が MSA 群、正常対照者群共に 95%以上得られ、

MAF(minor allele frequency) $\geq 5\%$, 正常対照者群にて Hardy-Weinberg 平衡を満たす SNP($p > 0.01$)について関連解析を施行し, χ^2 検定の p 値における有意差の認められる SNP 数は(総数 230,360 中 $p < 0.05$: 12,999, $p < 0.01$: 2,932, $p < 0.00001$: 102, $p < 0.0000001$: 83)であった。

D. 結論

有意差の得られた SNP に関しては, 家族性 MSA における連鎖解析の結果などとも併せ, MSA の原因遺伝子, 疾患関連遺伝子の同定を目指しており, タイピングの精度による結果への影響も踏まえ次世代 chip の導入による解析など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. 論文発表

1. Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, Shimohata M, Terajima K, Onodera O, Kakita A, Yamada M, Takahashi H, Hirasawa M, Mizuno Y, Ogata K, Goto J, Kanazawa I, Nishizawa M, Tsuji S. Multiplex families with multiple system atrophy. *Arch Neurol.* 64:545-551, 2007
2. Tsuji S, Onodera O, Goto J, Nishizawa M; Sporadic ataxias in Japan - a population-based epidemiological study. *Cerebellum.* 2007 Aug 7;:1-9 [Epub ahead of print]

2. 学会発表

1. JAMSAC, Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S: Neuroepidemiology of multiple system atrophy (MSA) from Japan MSA consortium. American Academy of Neurology 59th Annual Meeting, 2007.4, Boston, *Neurology* 68(Suppl.1):A223
2. JAMSAC 事務局, 百瀬義雄, 中原康雄, 後藤順, 辻省次: 多施設共同研究による本邦における多系統萎縮症の疫学的検討. 第 48 回日本神経学会総会, 2007 年 5 月, 名古屋.

3. 中原康雄, 百瀬義雄, 高橋祐二, 西田奈央, 徳永勝士, 後藤順, 辻省次: ゲノム解析を基盤とした多系統萎縮症の病因解明へのアプローチ. 第 52 回日本人類遺伝学会, 2007 年 9 月, 東京.
4. JAMSAC 事務局, 百瀬義雄, 中原康雄, 後藤順, 辻省次: 多施設共同研究による本邦における多系統萎縮症の疫学的検討. 第 1 回 Movement Disorder Society, Japan 学術集会, 2007 年 10 月, 東京.
5. Nakahara Y, Momose Y, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S: Genome-wide association studies on multiple system atrophy (MSA). The American Society of Human Genetics 57th Annual Meeting, 2007.10, San Diego, California
6. Fukuda Y, Nakahara Y, Momose Y, Date H, Takahashi Y, Goto J, Hara K, Nishizawa M, Nakamura E, Adachi H, Tsuji S: Development of a high-throughput linkage analysis system employing 100K/500K SNP data. The American Society of Human Genetics 57th Annual Meeting, 2007.10, San Diego, California

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

多系統萎縮症の臨床および分子遺伝学的研究

東京大学医学部附属病院神経内科 教授 辻 省次

- ・分子遺伝疫学
- ・分子病態の解明・治療法開発研究
- DRPLAタンパクの核移行機序の解明

疾患のゲノム要因の同定

ゲノム解析
・大規模 ・ハイスループット ・網羅性

- ・全ゲノム関連解析(GWAS)
- MSA関連解析
- ・ハイスループット連鎖解析システム
- 家族性MSAの連鎖解析
- ・ハイスループット・シークエンシング
- DNAマイクロアレイ etc.
- ALD診断システム
- HSP網羅的遺伝子診断システム

コンソーシアムを基盤とする高品質臨床情報・ゲノムリソース収集
・大規模化 ・共有 ・集約化

- ・Japan Multiple System Atrophy Research Consortium; JAMSAC
- ・Japan Spastic Paraplegia Research Consortium; JASPAC

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究年度終了報告書
運動失調症に関する調査研究

多系統萎縮症の姉弟例：臨床病理学的検討

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 豊島 靖子 新潟大学脳研究所病理学分野
成瀬 聡 長岡赤十字病院 神経内科
藤田 信也 長岡赤十字病院 神経内科
江村 巖 長岡赤十字病院 病理部
高橋 均 新潟大学脳研究所病理学分野

研究要旨

常染色体劣性遺伝が示唆される家族性多系統萎縮症(MSA)の姉弟例の剖検を経験した。2名とも臨床的にはパーキンソン病様の振戦で発症したMSA-Pであり、病理組織学的な病変分布やglial cytoplasmic inclusions (GCI)の存在は孤発性MSAと区別できないものと思われた。しかし、黒質の変性が線条体の変性に先行する所見を呈し、神経細胞内に α -synucleinの蓄積する傾向が強い点が本家系の特徴と思われた。これらの臨床病理学的所見は家族性MSAの中に比較的均一な一群が存在することを示唆するものであった。

A. はじめに

多系統萎縮症(MSA)はそのほとんどが孤発性であり、家族性に発症をみる家系の報告は少ない。我々は常染色体劣性遺伝が示唆されるMSAの姉弟例の剖検を経験した。これまでに家族性が疑われるMSAの1家系から複数例が剖検された報告はなく、臨床病理学的に孤発性MSAとの異同を論じる上で貴重な2症例と考え、その臨床病理所見を提示した。

B. 症例

両親はいとこ婚。姉(症例1)：30歳台に網膜色素変性症を指摘される。X年(68歳)に手のパーキンソン病様振戦出現。X+1年、パーキンソニズムの進行にてA病院に入院。X+2年、幻覚・妄想あり。X+3年、嚥下障害、排尿障害出現。X+4年B病院に入院。寝たきりの状態で、視力は指数弁、不規則な眼振と小脳症状(dysmetria, decomposition)あり。四肢の固縮は高度で左手に振戦あり。見当識正常。呼吸器感染症を繰り返しX+5年(73歳)死亡。本例はHaraら¹⁾が報告した家族性MSA例のcasell-Aに該当する。
弟(症例2)：50歳時網膜色素変性症を指摘される。Y年(62歳)呂律不良、動作緩慢、易転倒性、振戦が出現。同年B病院受診。抗パーキンソン剤は無効で緩徐進行性。Y+1年より排尿障害、Y+2年より立ちくらみが出現し、Y+3年(65歳)には寝たきりになった。Y+4年、C病院入院、脳MRI(図

1)で被殻外側後部のT2高信号からMSA-Pと診断された。以後、胃瘻形成術、気管切開術を施行し、近医で経過を見ていた。Y+11年、上肢に振戦あり、四肢の拘縮が高度。指示は入らない状態であった。Y+12年(74歳)死亡。

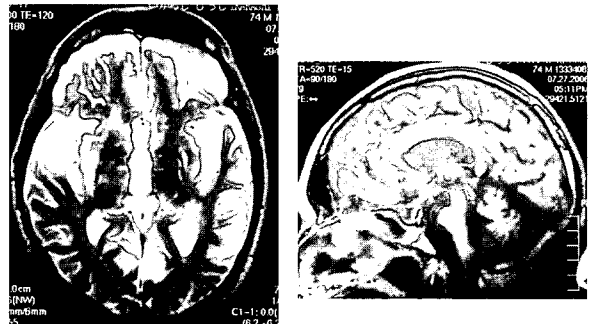


図1. 症例2 頭部MRI. 左: T2強調画像水平断。右: T1強調画像矢状断

C. 病理組織学的所見

症例1：脳重1,030g。肉眼的に中脳黒質で中等度の色調低下を認めた。線条体には萎縮や色調の変化など明らかな所見を認めなかった。小脳は軽度萎縮。組織学的には黒質に中等度の神経細胞脱落とグリオーシスを認めた。小脳プルキンエ細胞および下オリブ核の神経細胞に軽度の脱落を認めた。橋では横走線維の脱落、橋核の神経細胞脱落が中等度認められた。障害部位には α -synuclein陽性のオリゴデンドロサイト胞

体内封入体 (GCI) および神経細胞内封入体 (NCI) が多数認められた。

症例 2 : 脳重 1,100g。肉眼所見では、中脳黒質の色調低下が高度に認められ、被殻の萎縮も高度であった。小脳・橋底部の萎縮は中等度。組織学的に、黒質と被殻、および橋核に高度の神経細胞脱落とグリオーシスを認めた。小脳皮質、下オリブ核は中等度の変性。迷走神経背側核、弓状核、脊髄側核でも高度の神経細胞脱落が認められた。病変部位には GCI が多数認められた。

症例 1、症例 2 とも中脳黒質、マイネルト基底核、橋核の神経細胞には NCI が目立った。これらは α -synuclein 陽性であった。症例 1 では、ほとんど変性の認められない被殻の神経細胞の胞体に α -synuclein の蓄積を認めた。また、これらの部位には α -synuclein 陽性の threads や腫大した neurite が多数認められた。

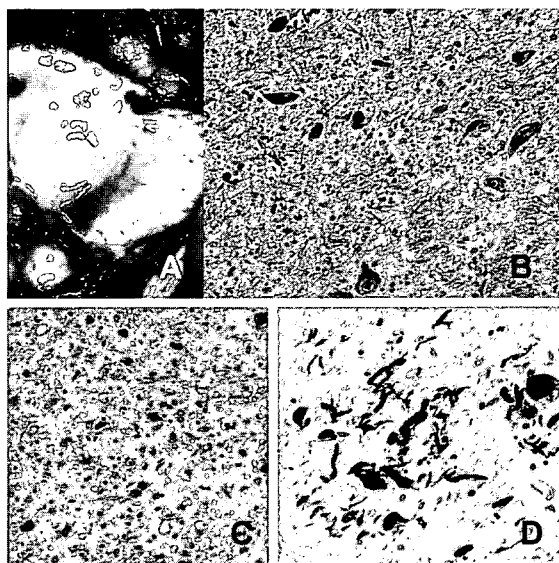


図 3. 症例 1 の組織所見。A : 中脳肉眼所見。B : 黒質中等度神経細胞脱落。C : 橋核の高度神経細胞脱落。D : 橋核。GCI と NCI、および threads。B, C : H&E, D : P-NACP

D. 考察

提示した 2 症例の特徴は 1) 臨床的に網膜色素変性症を伴う MSA-P であること、2) 中枢神経の病理組織学的な障害部位は孤発性 MSA と区別できないこと、3) α シヌクレイン陽性の GCI や NCI が認められること、が挙げられる。症例 1 は発症 4 年で、症例 2 では発症 3 年で寝たきりの状態になっており、臨床的な経過は比較的速く、孤発性 MSA と比べて大きな違いはないと思われた。

5 年経過で死亡した症例 1 では黒質に中等度の変性を認めたが、被殻では神経細胞の脱落やグリオーシスは明らかでなかった。12 年経過の症例 2 の病理組織学的所見では被殻に強い変性を認めたことから、この 2 例が同一遺伝子の異常によって発症し、単純に剖検までの時間的要素が所見の違いに反映されていると仮定すると、被殻の変性は臨床症状が固定した後で急速に進行する可能性が考えられた。原ら¹⁾は本家系を含む家族性 MSA の 4 家系をまとめて報告しているが、その中で常染色体劣性遺伝が疑われる例では臨床的に MSA-P が多いことを指摘している。また、MSA 症例の家系内にパーキンソン病と診断されている人が存在することを論じているが、そのような例では本家系の 2 例のように黒質優位の変性が早期から進行していることが考えられる。

提示した 2 症例では通常の MSA と比較して病理組織学的に明らかな差異は認められないものの、 α -synuclein 陽性の NCI や、threads、dystrophic neurite がやや多く認められる傾向にあった。このことは、病理組織学的に神経細胞に α -synuclein の蓄積をみるパーキンソン病などの疾患とのつながりを示唆しており、本家系の病因遺伝子が孤発性 MSA の病態のみではなく、ひろく synucleinopathy の発症病態に関与している可能性があり興味深い。

E. 研究発表

1. 論文発表

Hara K, Momose Y, Tokiguchi S, et al. Multiplex families with multiple system atrophy. Arch Neurol 64: 545-551, 2007

山田光則. DRPLA. Clinical Neuroscience, 25: 850-851, 2007

Yamada M, Sato T, Tsuji S, et al. CAG repeat disorder models and human neuropathology: similarities and differences. Acta Neuropathol 115: 71-86, 2008

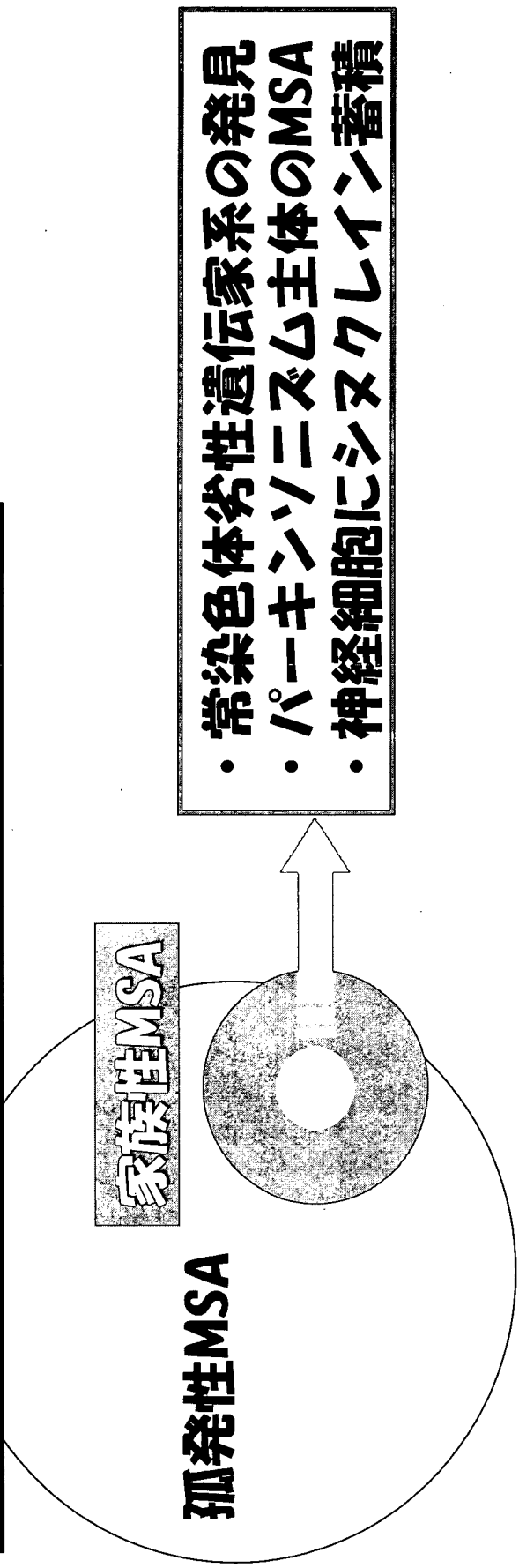
2. 学会発表

山田光則, 柿田明美, 江口郁代, ほか. Machado-Joseph 病 : CAG リピート短伸長例の脳病変. 神経病理学会総会 5 月 2007 東京

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

多系統萎縮症 (MSA) : 病因が未説明



家族性MSAには比較的均一な一群が存在



遺伝子の変異を同定すれば孤発性MSAの病因にもせまることができる！

脊髄小脳失調症 15 型 Spinocerebellar Ataxia Type 15 (SCA15) の原因遺伝子の同定

分担研究者 西澤正豊 新潟大学 脳研究所 神経内科

研究協力者 志賀篤, 原賢寿, 野崎洋明 (新潟大学大学院医歯学総合研究科 神経内科学分野) 石黒英明 (秋田赤十字病院神経内科), 栗崎博司, 四茂野はるみ (東京病院神経内科) 高橋祐二, 三井純, 後藤順, 辻省次 (東京大学大学院医学系研究科 神経内科学分野), 池内健, 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)

研究要旨

SCA15 の 1 家系において ITPR1 遺伝子の全領域およびその近傍遺伝子 SUMF1 遺伝子の exon1 の欠失を見いだした。本症は ITPR1 のハプロ不全により引き起こされる疾患であると考えられる。また、もう 1 家系において ITPR1 のミスセンス変異を認めた。この意義については更なる検討が必要であるが、ITPR1 のミスセンス変異がヒトで失調を示す可能性を示唆した。本例のような micro-deletion は、通常の解析では同定することが困難である。今回の発見は、高密度多型マーカーによる詳細なハプロタイプ解析が遺伝子同定において重要であることをあらためて示した。

A. 研究目的

脊髄小脳失調症 15 型 (Spinocerebellar Ataxia Type 15, SCA15) は 2001 年に オーストラリアから、常染色体優性遺伝性形式をとり、小脳に局限した萎縮を示し、緩徐な経過を取る純粋小脳失調症の 1 家系として報告された¹⁾。連鎖解析により 2003 年に第 3 染色体短腕(3p24.2-3pter)に連鎖する事が報告された²⁾。2004 年に当研究室の原らにより、本邦の緩徐進行性の純粋小脳失調型の 2 家系が報告され候補領域は D3S1620-D3S1304 間の 7.9cM(3.4Mb)に絞られた³⁾。本邦の家系では小脳失調以外に頭部、上肢、体幹の振戦を認め、オーストラリアの家系と本邦の家系は allelic である可能性も疑われていた。本研究では本家系の原因遺伝子同定を目的とした。

B.C 研究方法と結果

1) 高密度マイクロサテライトマーカーによるハプロタイプ解析

原らにより報告された SCA15 の 2 家系はいずれも秋田県を出身とするため、創始者効果の可能性を疑った。founder haplotype の有無を確認する

ため、上記の重複領域 (D3S1620-D3S1304 間の 7.9cM) 内に、多型の認められる 17 個の高密度マイクロサテライト多型マーカーを作成し (平均 200kb 間隔)、詳細なハプロタイプ解析を行った。しかし、共通する haplotype は認められなかった。興味深いことに A 家系のすべての発症者のみにおいて、M4439-M4919 間の 480kb 領域にヘテロ接合性の消失を見出した。さらに発症者親子間において、この間のアレルの伝達を欠いていることを見いだした。このことから、この領域の片側アレルを欠失していると推察した。

2) ITPR1 及び SUMF1 遺伝子量解析

欠失領域には 2 つの遺伝子、イノシトール 3 燐酸 1 型受容体遺伝子(ITPR1)と SUMF1 (sulfatase modifying factor 1) とが存在した。発症者におけるこの領域の遺伝子量をリアルタイム定量 PCR を用い解析した。家系内いずれの発症者において、ITPR1 遺伝子の全領域、および SUMF1 (sulfatase modifying factor 1) 遺伝子の Exon1 においてヘテロ接合性の遺伝子欠失が示された。さらに break point を決定するため、この領域の 3.8 Mb, CNTN4

から D3S1303 までを平均 200 bp ごとにカバーする custom oligonucleotide array を作成し Array-based Comparative Genomic Hybridization (aCGH) 解析⁴⁾を行い A 家系での欠失の領域 (414kb) を確定した。この領域の欠失は B 家系、及び CAG 繰り返し配列が除外された遺伝子未同定の脊髄小脳失調症 54 家系では認められなかった。この結果から日本における本欠失の頻度は高くないと推定された。得られた情報より、セントロメア側、テロメア側断端にプラーマーを作成し欠失アレール特異的増幅を行い break point を決定した。さらに患者由来線維芽細胞に由来の mRNA を用い定量的 RT-PCR により ITPR1, SUMF1 の発現量を定量した。患者由来 mRNA では、いずれも正常の約 50% に低下していた。

3) B 家系における ITPR1, SUMF1 遺伝子の変異解析

ITPR1 および SUMF1 の全翻訳領域につき変異解析を行った。結果、C8581→T(P1059→L) のミスセンス変異を認めた。この変異は正常の 234 chromosome において認めなかった。また、この部位は種を越えて高度に保存されていた。

D. 考察

1) 原らにより報告された SCA15 の A 家系において ITPR1 遺伝子の全領域およびその近傍遺伝子 SUMF1 遺伝子の exon1 の欠失を見いだした。SUMF1 は常染色体劣性遺伝性の精神発達遅滞、痙攣、leukodystrophy を呈すが⁵⁾、ヘテロ接合体では表現型を示さないことから、SUMF1 のヘテロ欠失が神経症状を引き起こす可能性は低いと考えた。また ITPR1 のホモ接合性のノックアウトマウスは小脳失調と痙攣をきたし、ヘテロ接合性のマウスは軽度の失調を起こすことが既に知られている⁶⁾。このことから SCA15 の原因として ITPR1 遺伝子の関与が強く示唆される。本年、オーストラリア家系においても ITPR1 と SUMF1 のいずれもの部分欠失が報告された⁷⁾。また SCA16 として当初報告された九州の家系でも ITPR1 単独の部分欠失が報告された⁸⁾。これらはいずれも臨床症状が類似しており ITPR1 のハプロ不全により

引き起こされる同一疾患であると考えられる。また、B 家系において ITPR1 のミスセンス変異を認めた。この意義については更なる検討が必要であるが、ITPR1 のミスセンス変異がヒトで失調を示す可能性を示唆する。

2) 本例のような micro-deletion は、通常の sequence や southern blotting などによる解析では同定することが困難である。実際、オーストラリアの家系では、2003 年に上記の方法で ITPR1 の関与を否定していた。今回の発見は、高密度多型マーカーによる詳細なハプロタイプ解析が遺伝子同定において重要であることをあらためて示した。今後このような copy number variation (CNV) を対象とした高密度 SNP 解析、aCGH 解析も遺伝性疾患の解明において積極的に考慮する必要がある。

E. 結論

SCA15 の A 家系において ITPR1 遺伝子の全領域およびその近傍遺伝子 SUMF1 遺伝子の exon1 の欠失を見いだした。本症は ITPR1 のハプロ不全により引き起こされる疾患であると考えられる。また、B 家系において ITPR1 のミスセンス変異を認めた。

1. Storey et al ; Neurology 2001;57(10):1913-5.
2. Night et al ; Neurobiol Dis 2003;13(2):147-57
3. Hara et al ; Neurology 2004;62(4):648-51
4. Barrett et al ; PNAS 2004;101(51):17765-70
5. Dierks et al ; Cell 2003;113(4):435-44
6. Matsumoto et al ; Nature 1996;379(6561):168-71
7. van de Leemput J, et al. PLoS Genet 2007;3:e108
8. Iwaki A, et al., J Med Genet 2007;doi:10.1136.

F. 研究発表

Hara et al. Total-deletion and a missense mutation of ITPR1 gene in Japanese SCA15 families. 132nd Annual Meeting for American Neurological Association. Washington, DC, Oct 7-10, 2007

1. 論文発表

Hara et al. Total deletion and a missense mutation of ITPR1 in Japanese SCA15-families. Neurology 2008 (in press).

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

新しい遺伝性脊髄小脳失調症(脊髄小脳失調症15型)の原因遺伝子を同定しました(新潟大学 西澤)

脊髄小脳失調症15型は2001年にオーストラリアから、常染色体優性遺伝形式をとる純粋小脳失調症として報告されました。当研究室の原らにより、本邦でもその家系があることが報告されていきました。我々は今回、この遺伝子がITPR1であることをつきとめました。これにより新しい治療方法の開発につながると考えます

