

厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患克服研究事業  
神経変性疾患に関する調査研究班 平成 19 年度班会議

平成 18 年度班会議 開催報告

神経変性疾患に関する調査研究班による平成 19 年度班会議は、平成 19 年 12 月 21 日（金曜日）と 22 日（土曜日）の 2 日間にわたり、東京都千代田区平河町の都市センターホテル 5 階会議室にて開催された。

総演題数は 52 で、参加者数は 21 日 128 名（厚生労働省から 1 名）、22 日 114 名、であった。21 日午前 9 時半から始まった班会議は、両日とも活発な討論が行われプログラム通りに進行し、22 日午後 4 時に閉会した。

班員連絡会議事録 (H19.12.21-22)

平成 19 年度班会議の昼食時間を利用して、班員連絡会議を都市センターホテル会議室にて開催した。

討議事項

- ・ JaCALS の進捗状況を説明
  - 1) 少しずつではあるが登録例数が増加している
  - 2) 大学病院の他に開業医の登録施設も追加された
  - 3) 今後の遺伝子解析方法について

事務局 谷口 彰 記

主任研究者 葛原茂樹 国立精神・神経センター武蔵病院

分担研究者 32 名 研究協力者 3 名 班友 2 名

## 研究目的

本研究班は、運動ニューロン疾患である筋萎縮性側索硬化症（ALS）、球脊髄性筋萎縮症（SBMA）、パーキンソン病関連疾患であるパーキンソン病（PD）、進行性核上性麻痺（PSP）と大脳皮質基底核変性症（CBD）、ハンチントン病（HD）、脊髄空洞症に代表される神経変性疾患の基礎的ならびに臨床的研究を進展させ、これらの疾患に係わる科学的根拠を集積・分析し、医療に役立てることを目的とする。

## 研究方法と研究組織

神経変性疾患の大部分は、原因や病態が不明で診断法や治療法が確立されていない。神経変性疾患の中で最も患者数の多いパーキンソン病では、対症的な薬物療法と手術療法は確立され症状の改善に大きく貢献してはいるが、発症機序を目標とした根本的治療は全く確立されておらず、病気の進行を抑えることはできていないのが現状である。

一部の疾患を除いて神経変性疾患は患者数が少なく、また地域により発生頻度が異なる疾患もあるために、原因究明および患者実態の把握と原因の解明、治療法の研究のためには全国多施設の研究者の協力が不可欠である。さらに本研究班が対象とする疾患は、7種類にもおよぶ神経変性疾患を対象としているため、主任研究者1名のほかに、北海道から九州に至る全国の施設からの分担研究者32名を加えた多人数から構成されている。本年度は、運動ニューロン疾患の一種でありながら特定疾患治療研究事業対象疾患に未指定である脊髄性筋萎縮症にもおいて研究対象を広げることを意図して、研究協力者として斉藤加代子を加えた。

研究の円滑な遂行のために、主要対象疾患と共通研究テーマに対応して6つの分科会を組織し、それぞれに研究分担幹事を置き、これらの総括は主任研究者が行った。分科会名と幹事は、PD関連疾患分科会（久野）、ALS関連疾患分科会（中野、祖父江）、HD分科会（長谷川）、遺伝素因と遺伝子多型検討分科会（戸田）である。

研究班発足3年目の本年度は、初年度の重点目標を踏まえ、次の項目を研究目標とした。

### 1. 原因と病態の研究（主として個別研究）

初年度と同様、患者数が多く、医療と介護の点で研究成果が期待されているALS、PD、およびこれらの関連疾患を対象に、臨床病態学、神経生理学、分子遺伝学、神経疫学、神経化学、神経薬理学、神経治療学、神経病理学など多方面からの研究を推進する。

### 2. 疫学的研究

全国規模のデータの集積と研究協力のもとに神経変性疾患研究を推進することにより、診断法と診断基準の確立、重症度に対応した治療指針の確立、そして新しい治療法および予防法の開発を目指す。

### 3. 特定疾患治療研究事業対策への取り組み（研究班全体のプロジェクト）

本研究班の研究対象である ALS、PD、HD は、特定疾患に指定されてから約 30 年が経過している。さらに平成 15 年度からは、変性性パーキンソニズムの中で PD とは疾病学的に異なる PSP、SND、大脳皮質基底核変性症（CBD）が分離されて特定疾患治療研究事業対策疾患に編入された（SND は平成 16 年度から運動失調症研究班の多系統萎縮症に移された）。臨床調査個人票を活用した患者の実態や介護の現状、予後などに関する調査を行う。そ併せて、現行の個人票における問題点を拾い上げ、改善点を提起する。また発症促進因子や予防因子を明らかにし、病気の予防や進行防止策の検討を行う。

## 研究成果

### I. 全体プロジェクト

#はⅢの平成 19 年度班会議発表演題の演題番号

#### （1）臨床調査個人票（個人票）の解析

電子入力化された ALS、PD 関連疾患、HD の多数の個人票を解析した。これにより、本邦における患者実態が明らかになった。都道府県によって電子入力されている患者数の割合の差が大きいことが判明したが、経年的に比較すると少しずつ入力率は改善されていた。今後、本邦全体の疫学調査や症状の評価研究にも活用できる情報が得られる個人表にするため、ワークショップで現行の個人票の問題点を指摘し次のような改善点を提起した。

- ① 経時的な情報が得られないために、予後の評価ができない
- ② PD 関連疾患では、PD 主体になっているので、PSP と CBD の症状項目を強化する必要がある。
- ③ HD の精神症状に含まれる反社会的行動が十分に把握できない
- ④ 記載漏れ、あるいは誤記入の項目がある。できるだけ項目を減らし、チェック方式として記入方式は減らした方がよい。
- ⑤ PD では近年指摘された薬剤の副作用を追加する必要がある

#### （2）未指定疾患を新たな特定疾患に追加するために

神経難病であるにも関わらず、特定疾患治療研究事業の対象となっていない原発性側索硬化症（PLS）、SBMA、SMA、HD 以外の舞踏運動を主徴とする疾患群（chorea-acanthocytosis など）を対象疾患に追加することを目的に、これらについて、患者数および患者状況に関する全国調査を行い、ワークショップにおいて横断的疫学像を明らかにした。

また、ワークショップと研究発表会には研究者だけでなく患者団体と支援団体にも招待状を送付し、全国パーキンソン病友の会、日本 ALS 協会、ハンチントン病支援ネットワークに加えて、全国 SMA 友の会からも出席を得て、患者団体との交流が一層進んだ。

## II. 分科会

### 1) 筋萎縮性側索硬化症（ALS）分科会

- A. 診療情報および遺伝子の収集とその解析による発症因子と進行関連因子の解析を行うために構築した前向き研究（JaCALS）への登録者数は増加し、平成 19 年 12 月時点で約 200 例に達した。
- B. 個人票の解析では、本邦の ALS 患者について、以下のような特徴が明らかになった。人工呼吸器使用や経管栄養を実施している割合が高い、初発症状については、若年発症例では四肢筋力低下から、高齢発症例では球症状から始まることが示された。近年トピックスとなっている ALS 病理における TDP-43 の研究では、古典型以外に前頭側頭葉変性症併発例や紀伊半島の ALS・パーキンソン認知症複合症例にも TDP-43 陽性封入体を認めることが報告された。一方、家族性 ALS（FALS）では、SOD1 変異を有する FALS（後索型）では TDP-43 の異常発現を認めず、非 SOD1 変異 FALS（古典型）では認めることがワークショップにおいて報告され、SOD1 変異 FALS は病因・病態共に孤発性 ALS とは異なる点が多い疾患であることが明らかにされた。
- C. 研究成果発表班会議では、以下の研究成果が報告された。

### (1) 臨床、遺伝子、病理学に関する研究

臨床面では、欧米と日本の診断基準の特異度の違い（佐々木班員#1）、3テスラ MRI 拡散テンソル画像による大脳病変の解析（祖父江班員#3）、QOL 評価（大生研究協力者#4）、多発地住民の血清 Ca 値と Zn 値（近藤班員#5）、細径経鼻内視鏡を用いた経皮内視鏡的胃瘻造設術（direct 法）の安全性（下濱班員#8）が報告された。

神経生理学的研究では、固視による温度眼振の増強反応（林班員#6）、正中神経刺激体性感覚誘発電位（林班員#7）、運動単位数推定（MUNE）（内藤班員#9, #10）などが報告され、surrogate marker としての有用性が示唆された。

遺伝子の観点からは、新規 SOD1 遺伝子変異のスクリーニング法である High-Resolution DNA Melting 法の有用性（中野班員#16）、SMA における臨床症状と原因遺伝子との関連（斉藤研究協力者#2）が報告された。

病理研究では、TDP-43 に異常を来している前角細胞で蛋白合成系の障害を示唆するゴルジ装置の微細化（岡本班員#11）、孤発性 ALS における運動系を越えた TDP43 封入体の存在（橋詰班員#12）、長期生存例における TDP-43 陽性封入体の分布（高橋班員#13）、頸椎症性脊髄症の障害髄節でのアストロサイトおよび神経細胞内への異常リン酸化タウ蓄積（高橋班員#14）が報告された。また、筋萎縮性側索硬化症 2 型原因遺伝子産物（ALS2）は細胞質に局在し、低分子量 G 蛋白質 Rac 1 と直接結合するエフェクターであり、かつマクロピノサイトーシスに関与する分子であることが判明した（池田研究協力者#15）。

### (2) 培養細胞、動物モデルを用いた研究

SOD1 変異ラットにおいて、病初期の電位依存性 Na<sup>+</sup>チャンネルの機能亢進（梶班員#22）、前角とその周囲白質でコンドロイチン硫酸プロテオグリカンの発現亢進（青木班員#23）、SOD1 変異マウスでは、発症後の運動ニューロンにおけるオートファジーの亢進（阿部班員#17）が報告された。単量体 SOD1 が広範囲の蛋白と相互作用し本来の機能を障害することで ALS を発症する可能性（中島班員#20）、選択的な dynactin1 遺伝子発現の低下による神経細胞突起の退縮化や細胞死（祖父江班員#21）、AMPA 受容体の GluR2 サブユニット特異的に編集する RNA 編集酵素 ADAR2 の活性低下による緩徐進行性の運動ニューロン死（郭班員#26）は、孤発性 ALS における運動ニューロン死の原因究明に結びつく可能性がある。

### (3) ALS の治療へのアプローチ

G-CSF 皮下注による bcl-2 蛋白を介した運動ニューロン死の抑制や舌下神経切断後の神経細胞死の抑制（吉良班員#24, #25）、siRNA 抵抗性 cDNA を用いた内因性の野生型遺伝子発現の補填（水澤班員#27）、wobbler マウスの脊髄運動神経細胞の変性に対する atorvastatin の有用性（岩崎班員#18）、小胞体シャペロンが変異 SOD1 の小胞体内蓄積を軽減し、家族性 ALS の遺伝子治療に対して候補遺伝子となりうること（内野班員#19）などの研究成果が報告された。

## 2) パーキンソン病 (PD) 分科会

### A. 治療と薬物の副作用についての研究成果

我が国においても多数例の検討の結果、麦角系アゴニストにより心臓弁の逆流が増加することが判明したため、日本神経学会とともにドパミンアゴニストの使用上の留意点を提起し、変性班ホームページに掲載した。一方、まったく新しい translational medicine の試みとして、芳香族 L-アミノ酸脱炭酸酵素を搭載したアデノ随伴ウイルスベクターを進行期 PD 患者の被殻に定位脳手術的に注入する遺伝子治療する国内で初めての試みが安全に開始された（中野班員）。

### B. 研究成果発表班会議

#### (1) 病態と検査、診断に関する研究

PD の腰痛がりには背筋の固縮により誘発された傍脊柱筋の虚血が関与し、そのスクリーニングにおける MRI や近赤外線スペクトログラフィーの有用性（近藤班員#42）、アキネジアの定量的な評価における腕時計型加速度計の有用性（郭班員#43）が報告された。構造化面接ハミルトンスケールおよび自己記入式ベックのうつ病調査表を用いたうつ症状の評価（湯浅班員#44）と、BADs を用いた遂行機能の評価（水谷班員#45）で精神症状を検討した。さらに診断における、<sup>11</sup>C-フルマゼニルおよび <sup>6</sup>-[<sup>18</sup>F]

fluoro-*m*-tyrosineを使用したPETの有用性（佐々木班員#47、中野班員#48）が報告された。

## （2）治療に関する研究

高齢患者はレボドパの吸収パターンに個人差が大きく、そのため効果不十分例では積極的に増量あるいは食前投与する必要がある（久野班員#49）、胃排出能が低下し、domperidoneによりレボドパの吸収が改善される（野元班員#50）、麦角ドパミンアゴニスト関連心臓弁膜症による心不全の年間発生頻度はPD患者1,900人につき約1人の割合と推測（野元班員#46）される、などの、治療に即座に結びつく実践的な研究成果が報告された。

## （3）遺伝子

アメリカ人集団で指摘されていたPD発症とFibroblast growth factor 20 (FGF20)との関連が日本人集団でも確認された。また新規に *calbindin1* を感受性遺伝子として同定した（戸田班員#30、#31）。遺伝性PD (PARK8)の原因遺伝子であるLRRK2に対して特異性の高い抗体を作成中であり、これによりLRRK2の生理機能を解明することが期待できる（長谷川班員#35）、本邦の若年性パーキンソニズムにおいてKufor-Rakeb病 (PARK9)の原因遺伝子であるATP13A2の変異解析および臨床的特徴が明らかとなった（服部班員#36）。

## （4）病理研究

高齢者連続剖検320例で嗅球はLewy小体が最初に出現する部位のひとつであること（村山班員#51）、紀伊半島のパーキンソン認知症複合において心臓交感神経終末に抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体陽性構造物が確認され、MIBG心筋シンチの低下と関連すること（葛原主任研究者#52）が示唆された。

## （5）培養細胞、動物モデルを用いた研究

プレセニン1遺伝子変異によるリン酸化 $\alpha$ シヌクレインの蓄積（高野班員#32）、neurosinによる $\alpha$ シヌクレインの凝集促進（中川班員#33）、ミトコンドリア転写を促進する新規パーキン結合蛋白の同定（梶班員#37）、ホモシステイン毒性に対するドパミン神経細胞の脆弱性（中島班員#41）、そしてPDの新しい動物モデルとして、ロテノンを負荷したセルロプラスミン欠損マウスの開発（池田班員#39）が報告された。治療に結びつくものとしては、MPTP神経毒に対するG-CSFのドパミン神経細胞保護作用（服部班員#34）、lactacystinによるプロテアソーム阻害を介した細胞保護作用（澤田班員#38）、ニコチンによる中脳ドパミンニューロン保護におけるニコチン性アセチルコリン受容体を介した細胞生存シグナル伝達経路の活性化（下濱班員#40）が指摘された。

### 3）ハンチントン病（HD）分科会

個人票の解析から、日常生活の身体的自立度と就労率は極めて低いことが判明した。また、介護保険や身体障害法などの社会保障制度を受給する機会もなく、生活をしている実態が推定された。この現状を踏まえ、次年度にはHDに対する啓蒙のために、「ハンチントン病の療養の手引き」を作成し、公表することが計画された。また従来注目されていなかった小児期発症のHDでは、成人期発症のHDと異なり、症状の進行が早く痙攣発作も多い、小児が発症後に両親のいずれかが発症することもある、など実態が明らかになった（長谷川班員#28）。基礎的研究では、伸長ポリグルタミンによる $\beta 4$ の発現抑制をin vivoで解析しうるトランスジェニックマウスが確立された（貫名班員#29）ことで、HD治療薬の評価に貢献できることが報告された。

### 4）遺伝子研究分科会

HD診療の現場では、本人あるいは家族に対する十分な遺伝カウンセリングがなされていない例が存在することが明らかとなった。このことを踏まえ、個々の施設において神経内科医を中心に遺伝カウンセリング・チームを作り、当該疾患のガイドラインを踏襲しながらも、より身近で実用的な遺伝カウンセリング・マニュアルを作成する必要があることが提言された。

なお、この提言を受けて、日本神経学会（葛原理事長）において、「神経疾患における遺伝子診療ガイドライン」を作成することが決定された。

## 4. 研究成果の達成度と評価

研究班全体プロジェクトと分科会単位でもプロジェクトにおいて、当初計画をほぼ達成できた。特に、臨床個人調査票の解析では、平成17年度に引き続いての分析であったが、登録症例数は大幅に

増加し、我が国のALS, PD, HDを中心とする神経変性疾患の実態が、調査票に基づくことによる一定の限界はあるものの、数千例以上という多数例によって明らかになった成果は大きい。これらを神経難病行政に生かすと共に、より正確な医学的疫学的データが得られるような簡潔で記入しやすい調査票作成も検討され、次年度研究班に引き継ぐことができた。

併せて、神経難病でありながら、今なお特定疾患の対象となっていないSBMA, PLS, SMAの広義の運動ニューロン病、HD以外の舞蹈病については、これらを特定疾患対象にすることを目的に、診断基準の作成、それに基づいた患者数と現状についての疫学的調査を行い、関係機関への申請も行った。PLSについては審議の対象として取り上げられたが、追加指定にはならなかった。これら疾患は患者数は少ないが、運動ニューロン病、舞蹈病症候群を構成する重要な疾患であるので、今後も引き続き難病指定への努力を継続したい。

患者団体との交流も前進し、夏のワークショップと冬の班会議への出席は定着した。また、ALSの遺伝子研究、パーキンソン病の定位脳手術後の改善度やQOL研究では、患者団体の全面的協力を得て研究が遂行された。また、研究の現状、治療薬の効果や副作用情報は、研究班と厚労省のホームページからアクセスできるようにして、成果と情報の患者さんへの還元を図った。

### III. 平成19年度班会議発表演題

<疾患・課題別分類> #は演題番号

#### 1. ALS関連

1) 臨床・生理・治療、遺伝子・病理: #1-16

2) 疾患モデル動物: #17-27

#### 2. パーキンソン病

1) 臨床・生理・治療、遺伝子・病理: #30, 31, 35, 36, 42-52

2) 疾患モデル動物: #32-34, 37-41

#### 3. ハンチントン病

1) 臨床・生理・治療、遺伝子・病理: #28

2) 疾患モデル動物: #29

#### <個別研究課題>

内容は本報告書の「研究発表」の項目に掲載

1. 佐々木秀直: 筋萎縮性側索硬化症(ALS)の臨床診断における問題点

2. 葛原 茂樹: 脊髄性筋萎縮症(spinal muscular atrophy:SMA)の臨床の分析

3. 祖父江 元: 筋萎縮性側索硬化症の脳病変-3テスラMRI拡散テンソル画像による解析-

4. 葛原 茂樹: ALSデータベース研究総括と提言: 神経難病のQOL測定-米国PROガイドライン導入の動きの中で-

5. 近藤 智善: ALS多発地における疾患関連要因の検討-血中元素について-

6. 林 秀明: ALS患者の固視による温度眼振の増強反応について

7. 林 秀明: 筋萎縮性側索硬化症における正中神経刺激体性感覚誘発電位とsensory gating

8. 下濱 俊: 筋萎縮性側索硬化症における細径経鼻内視鏡を用いた経皮内視鏡的胃瘻造設術

9. 内藤 寛: ALS surrogate markerとしてのMUNEとNeurophysiological Indexの比較  
(1) 相互の相関, 握力との相関について

10. 内藤 寛: ALS surrogate markerとしてのMUNEとNeurophysiological Indexの比較  
(2) 臨床指標との相関

11. 岡本 幸市: ALS 脊髄前角細胞におけるTDP-43の免疫染色性とGolgi装置との関係

12. 橋詰 良夫: ALSと認知症を伴うALSにおけるTDP-43の発現

13. 高橋 均: 長期の臨床経過を示した筋萎縮性側索硬化症における神経細胞内TDP-43異常発現とその分布に関する免疫組織化学的検討

14. 高橋 均: 頸椎症性脊髄症におけるグリア及び神経細胞内タウ陽性構造物

15. 葛原 茂樹：筋萎縮性側索硬化症 2 型原因遺伝子産物 ALS2 の機能解析
16. 中野 今治：High-Resolution DNA Melting 解析により検出された新規 SOD1 遺伝子変異
17. 阿部 康二：ALS モデルマウスにおけるオートファジーについて
18. 岩崎 泰雄：Wobbler マウスに対する atorvastatin の運動神経保護効果
19. 内野 誠：変異 SOD1 の小胞体内蓄積をターゲットとした家族性筋萎縮性側索硬化症の遺伝子治療の開発
20. 中島 健二：変異 SOD1 結合蛋白の網羅的検索
21. 祖父江 元：孤発性 ALS の運動ニューロン変性における Dynactin1 の役割
22. 梶 龍児：ALS モデルラットにおける軸索機能評価
23. 青木 正志：ALS ラットモデル脊髄における軸索再生阻害因子の発現変動
24. 吉良 潤一：ALS における G-CSF の発現と治療へのアプローチ
25. 吉良 潤一：G-CSF による変異 SOD1-Tg マウス単球系細胞機能回復と神経細胞死の関与
26. 郭 伸：RNA 編集異常と孤発性 ALS モデルマウスの開発
27. 水澤 英洋：変異遺伝子特異的な RNA 干渉法の *in vivo* への応用
28. 長谷川一子：小児発症ハンチントン病の問題点
29. 貫名 信行：ナトリウムチャンネル  $\beta 4$  サブユニットプロモーター制御下で蛍光タンパク質を発現するトランスジェニックマウスの作製とその解析
30. 戸田 達史：パーキンソン病の感受性遺伝子探索 – *FGF20* とゲノムワイド関連解析–
31. 戸田 達史：多数の候補遺伝子上の SNP を用いた関連解析によるパーキンソン病感受性遺伝子 *calbindin1* の同定および  $\alpha$ -synuclein, *FGF20* との統計学的相互作用解析
32. 高野 弘基：プレセニリン 1 遺伝子変異による難溶性  $\alpha$  シヌクレイン蓄積の分子機序の検討
33. 中川 正法： $\alpha$ -synuclein 分解酵素 neurosin 及び髄液中  $\alpha$ -synuclein oligomer の検討
34. 服部 信孝：「MPTP 誘発パーキンソン病モデルマウスにおける rhG-CSF の神経保護作用」に関する研究
35. 長谷川一子：抗 LRRK2 抗体作製の試み– (2)
36. 服部 信孝：PARK9 の臨床的特徴とその遺伝子産物の機能解析
37. 梶 龍児：新規パーキンソン結合蛋白におけるミトコンドリア関連機能の検討
38. 澤田 秀幸：神経変性とプロテアソーム阻害
39. 池田 修一：ロテノン負荷セルロプラスミン欠損マウスにおける運動障害と脳病理・生化学的変化に関する検討
40. 下濱 俊：ドーパミンニューロンに対するニコチンの神経保護作用：  
ロテノンによるパーキンソン病モデルマウスでの解析
41. 中島 健二：ホモシステイン毒性に対するドーパミン神経細胞の脆弱性
42. 近藤 智善：パーキンソン病患者における腰曲がり現象の検討
43. 郭 伸：べき型自己相関関数によるアキネジアの定量的解析
44. 湯浅 龍彦：パーキンソン病の非運動症状に関する研究：  
(1)うつ症状の評価スケールの検討、(2)痛みに関する実態調査
45. 水谷 智彦：認知症を伴わないパーキンソン病(Non demented Parkinson's disease: ND-PD)における Behavioural Assessment of the Dysexecutive Syndrome (BADS)による遂行機能障害(Executive dysfunction:ExD)の各要素別の解析
46. 野元 正弘：麦角ドーパミンアゴニスト関連心臓弁膜症についての全国アンケート調査結果
47. 佐々木秀直：大脳皮質変性を伴う神経疾患の臨床像と  $^{11}\text{C}$ -フルマゼニル(FMZ)-PET 所見
48. 中野 今治：FMT-PET によるパーキンソン病の画像診断
49. 久野 貞子：高齢パーキンソン病患者の L-dopa 血中濃度パターン
50. 野元 正弘：パーキンソン病の上部消化管機能の検討
51. 村山 繁雄：嗅球はレビー小体が最初に出現する場所のひとつである
52. 葛原 茂樹：紀伊 ALS/PDC の MIBG 心筋シンチグラフィと心臓交感神経の病理学的検討

# JaCALS Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research

## 経過報告

JaCALS 事務局

名古屋大学大学院医学系研究科 祖父江 元

### <JaCALS の目的、必要性>

筋萎縮性側索硬化症(ALS)について、近年の診療、ケアおよび福祉行政などにおける進歩、取り巻く環境の変化は著しいが、病因の根本は未解明であり、根本的治療法は開発できていない。

近年、神経栄養因子、フリーラジカルスカベンジャーをはじめとして、各種治療介入研究が行われつつある。今後、治験を効率的に推進するために、本邦の ALS の自然歴および進行速度、予後に影響する因子が基礎情報として極めて重要である。これまで我が国では、ALS の自然歴に関する調査は後ろ向きの検討しか行われておらず、ALSFRS-R など治療研究の指標として用いられることの多い重症度スケールの推移について大規模に前向きで調査した報告は無い。

一方、予後を変える新規治療法を開発するためには、自然歴を修飾する病態関連遺伝子を見付け、その働きを調べていくアプローチがきわめて重要である。その実施のためには、数百～千例単位の遺伝子と臨床情報が組み合わされたサンプルが必要である。日本全国で ALS の新規発症は 1000～1500 人程度、患者数は 7000 人程度であるため、必然的に全国規模のサンプル収集を行わなくては必要な数を収集できない。収集したサンプルは今後の ALS 研究進展のための、極めて貴重な財産となる。

このような状況を踏まえ、神経変性疾患に関する調査研究班(神経変性班)内に ALS 研究サブワーキンググループ(祖父江元、青木正志、中野今治、高野弘基、辻省次、湯浅龍彦)を設け、以下の 5 点を実現するプロジェクトを計画した。

1. 我が国における横断的な臨床像の特徴を明らかにする。
2. 前向き縦断的臨床像を明らかにし、我が国における病像を捉え直す。
3. 患者の QOL、ケアの状態、自覚的症状などの情報を経時的に収集、蓄積し、診療、福祉、介護、行政の現場に還元できるシステム構築を行う。
4. 遺伝子検体を併せて蓄積し、病態解明研究のための研究リソースを構築する。
5. 発症、進行、予後に関与する臨床的、遺伝子的因子を明らかにする。



#### <研究計画・方法及び倫理面への配慮>

研究の対象は神経内科医が ALS と診断し本人に告知した患者とする。参加施設は神経変性班関連施設および、国立病院機構に属する施設など広く募ることとする。医師による臨床評価は、病型、初発症状、肺活量、筋力低下の分布と程度、上位および下位運動ニューロン障害の分布、眼球運動障害、感覚障害、自律神経障害、褥創の有無、各処置の導入時期などにつき行い、ADL の評価は日本版 ALSFRS-R を用いる。経管栄養導入や呼吸器装着などの病気の進行を示す重要なイベント（エンドポイント）および ALSFRS-R について、3ヶ月に一度、臨床研究コーディネーター（CRC）から患者もしくは主介護者に対して電話インタビューによる調査を行う。CRC には、研究の概要、関連する倫理指針、研究実施手順、既知の ALS 臨床像、患者および介護者に対して行うべき配慮等に関する研修を実施した。電話調査の整合性を 27 例の ALS 患者で検証した。神経内科専門医の直接診察による ALSFRS-R スコアと CRC の電話調査によるスコアは相関係数 0.967 (Pearson) と良好な一致を示した。各実施医療機関において文書による同意の得られた患者から採血を行い、連結可能匿名化を行った後、外部委託施設に送付し、DNA 抽出および B-cell line 化を行う。処理された検体はゲノム DNA 保存センターにて保管する。ALS に罹患しておらず、患者と血縁関係ではなく、文書での同意が得られた人について採血を行い正常対照検体とし、連結不可能匿名化の状態 DNA および B-cell line の形で保存する。将来的には、神経変性班関連施設および東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターにおいて、SNPs 等の遺伝子多型を用いたゲノムワイド ALS 病態関連遺伝子探索を行うこととする。以上のようにして構築した臨床データベースとそれに結びつけられた匿名化された遺伝子検体は、広く我が国の研究者に開かれたものとする。神経変性班および国立病院機構に属する施設の中から研究委員会を組織し、委員会の管理の下で研究プロジェクトを審査し、広く活用できるようにする。

研究の実施にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針を遵守する。研究参加者には十分な説明を行い文書での同意を取り、臨床情報、遺伝子検体について、参加施設での匿名化および中央事務局での匿名化を行い、二重に匿名化された形で解析に供する形とする。研究計画はすべての研究実施施設で倫理委員会申請を行い、承認を得て実施するものとする。

#### <JaCALS の経緯と進捗状況>

平成 14 年度神経変性班幹事会において、ALS について全国調査を行う方針が、平成 15 年 7 月の幹事会において、ALS について遺伝子収集を含む前向き研究を進める方針がそれぞれ決定され、ALS 研究についてのサブワーキンググループが結成された。その後数回の会合と研究班会議、ワークショップ等における推進状況の報告と承認を重ね、JaCALS が立ち上げられた。平成 16 年 11 月には厚生労働省精神・神経疾患研究委託費による研究班（班長湯浅龍彦）班会議において説明を行い、国立療養所関連施設においても協力する旨の意思表示がなされた。プロトコルや研究推進体制の構築を行い、平成 18 年 2 月以降、症例登

録を開始した。

CRC について、自施設で対応不可能な場合、全国規模で対応可能な CRC 派遣会社からの派遣を行うこととし、JaCALS に従事する CRC に対して、JaCALS の背景、目的、方法と予想される結果、本研究に関する倫理指針、匿名化とプライバシーの確保、研究実施にあたっての具体的な手順、ALS について、既知の臨床像、疫学、病態、治療、ALS 患者および介護者に対して、行うべき配慮、電話調査の実際について教育講習を行った。

JaCALS ホームページ (<http://www.jacals.jp/>) を開設し、広く情報を提供できるようにした。また神経変性班ホームページとの相互リンクをはった。

平成 18 年 3 月に ALS に関する全国的な患者団体である日本 ALS 協会の事務局に対して、JaCALS の概要を説明した。日本 ALS 協会機関紙 JALSA 68 号（平成 18 年 5 月 12 日発行）にその内容を掲載していただき、広く会員の方々に情報提供を行った。

現在、ALS に対する治験として、エダラボンおよびメチルコバラミンに関するものが全国規模で進行中である。これら治験と JaCALS への参加は重複しても問題ないものとし、同意を得ている患者の場合には、治験のキーオープン後に実薬・偽薬投与期間、アウトカム、有害事象の有無などの治験に関する情報を匿名化して、JaCALS のデータベースに組み入れる契約がそれぞれの治験実施企業との間で締結された。

平成 20 年 1 月の段階で、東北大学、新潟大学、自治医科大学、東京都立神経病院、国立病院機構相模原病院、静岡てんかん神経医療センター、国立病院機構東名古屋病院、名古屋大学、三重大学、長崎神経医療センター、徳島大学、国立病院機構米沢病院、国立病院機構鈴鹿病院、大阪北ホームケアクリニックの 14 施設で施設倫理委員会の承認がなされ、JaCALS の研究体制が構築されている。さらに参加を予定している施設が 10 施設程度ある。現在すでに、ALS 患者を 207 名登録し、全例のゲノム DNA および株化細胞を蓄積している。また、コントロール検体を 92 名分蓄積している。

初回調査票などのデータ処理が終了している 173 名について、男性 65.7%、女性 34.3%、登録時平均年齢  $62.8 \pm 10.8$  歳、観察期間は平均  $0.7 \pm 0.5$  年（0~1.76 年）、95%で経過を把握しており、既に 31 名の患者が亡くなられた。

ALSFRS-R の経時変化を平均すると、直線的な低下を示す。しかしながら、個々の例をみると 1 年以上ほとんど低下しない例、登録後早期に急速に低下する例など極めて多様であることが示される。ALSFRS-R のサブスケールをみると、登録時に最も悪い部位が経過を通して最も症状が強い傾向が明確に示される。

今後、さらに参加施設、登録症例数を増やし、臨床および遺伝学的解析に供していく予定である。

## 筋萎縮性側索硬化症(ALS)の臨床診断における問題点

班 員 佐々木秀直<sup>1)</sup>

共同演者 辻 幸子<sup>1)</sup>, 保前英希<sup>2)</sup>, 新野正明<sup>1)</sup>, 矢部一郎<sup>1)</sup>, 武井麻子<sup>3)</sup>

所属施設<sup>1)</sup>北海道大学大学院医学研究科神経内科分野

<sup>2)</sup>帯広厚生病院神経内科

<sup>3)</sup>北祐会神経内科病院

### 研究要旨

【目的】筋萎縮性側索硬化症（ALS）の臨床診断は、国内で日常用いられる旧）厚生省診断基準と、臨床研究において国際的に用いられる Airlie House Criteria（AHC）がある。AHC に準拠して臨床診断する際の問題点を検討した。【方法】北海道大学病院と帯広厚生病院で過去5年間に診断した ALS の連続症例 43 例を対象に診断分類などを検討した。【結果】43 例中 “clinically probable-laboratory-supported” (“labo-prob”) 以上は 26% であり、従来の報告より低率であった。その原因として、胸髄領域の症候学的評価が少ないこと、“labo-prob” と診断された患者が少ないことが挙げられた。針筋電図基準を満たした患者群の被検筋数は平均 7.8 筋だったが、満たさない群では 6.0 筋であった。胸髄領域の傍脊柱筋では被検者数は少ないが感度が 50% と高かった。【結論】胸髄領域の症候学的評価を強化する、針筋電図の被検筋数は 8 筋を目安とする、胸髄領域を積極的に検査することは AHC による診断率を向上させるために重要であると考えられた。

### A. 研究目的

ALS の診断基準には、国内で広く使われている旧）厚生省班会議診断基準と、国際的に用いられている Airlie House Criteria（以下 AHC）がある。この二つの診断基準は成立した目的が異なり、旧）厚生省基準は日常診療での活用を目的としているのに対し、AHC は臨床研究において基盤となるべき基準である。本報告では AHC に準拠して診断する際の問題点を明らかにすることを目的とした。

### B. 研究方法

2002 年 4 月～2007 年 3 月に北海道大学病院神経内科または帯広厚生病院神経内科で、ALS と診断された連続症例 43 名について、診療録等をもとに retrospective に検討した。胸髄の神

経学的診察・針筋電図検査に関しては 2007 年 11 月までの 6 症例を追加して検討した。

### C. 研究結果

表 1 に患者背景を示す。頸椎症の合併が多くみられた。臨床的に ALS と診断した 43 例中 38 例（88%）は旧）厚生省基準を満たした。残り 5 例（12%）は進行性球麻痺型 3 例と下位運動ニューロン徴候のみで経過した進行性筋萎縮症型 2 例であった。臨床経過や筋電図所見、除外診断の結果から、総合して臨床的には ALS のサブタイプと診断し、今回は ALS に含めて検討した。臨床的に ALS と診断した時期に AHC で “clinically probable-laboratory-supported”（以下 “labo-prob”）以上にあたる症例は 26% と低率であった（表 2）。また、認

表1 患者背景

症例数 (n)	43
発症年齢(歳)	63±9
性別比(男:女)	24:19
発症から初診までの期間(月)	10.5 (2-36)
発症から診断までの期間(月)	12.6 (2-36)
合併症	
頸椎症	10
甲状腺機能亢進症	1
尺骨神経麻痺	1
糖尿病	2
乳癌術後	1
抗核抗体強陽性	1
脳血管障害後遺症	1
脳腫瘍術後後遺症	2
夜間頻尿	2

知症を伴う ALS plus が 5 例 (12%) 存在した。各領域における神経症候の分布を検討すると、他の領域は 77-81% に対し、胸髄領域は 10% にとどまった (表 3)。

“Labo-prob” は全体の 5% であった。AHC の針筋電図による基準を満たした症例は平均 7.8 筋で検査が施行されていたが、基準を満たさなかった群では平均 6.0 筋であった。急性+慢性脱神経所見の認められた筋の割合を領域別に検討すると、検査数は少ないものの胸髄領域における検出感度は 50% と高かった (表 4)。

#### D. 考察

自験例での AHC による診断率が予想より低かったことから、過去の報告と比較検討した。

Traynor らによるアイルランドの全国調査<sup>2)</sup>では labo-prob 以上が 58%, イタリアの市中病院<sup>3)</sup>では 76.9%, Chio らによる合衆国のセンター病院では 89.6% と高率であった。一方で, Brooks による, 剖検で確定した ALS 患者 32 例が臨床診断を受けた際, El Escorial criteria でどのカテゴリーに分類されたか検討した報告では, probable 以上の症例は約 30% に過ぎず, 自験例と大差がない。各報告者間で診断率に差が目立つのは, possible, suspect の患者を, 臨床研究の中でどこまで ALS に含めるかという判断が報告者により大きく異なっていることが一因と考えられる。今回の検討では, 日常診療において ALS と診断した症例を対象とし, 進行性球麻痺型や, 下位運動ニューロン徴候が優位なタイプも ALS に含めて検討した。そのため, AHC による “labo-prob” 以上の診断率は従来の報告に比べ低く見えるが, Brooks の剖検症例での検討と近い数字であることから, 実態に近い数字であると考えられる。

診断時の神経所見を他の報告と比較すると, 胸髄領域の所見評価において報告者間でばらつきが大きい。表 3 の如く, Traynor らは有症候率 59% と高率だが, Zoccolella らの報告では胸髄病変は 15% に過ぎず<sup>5)</sup>, 先出の Brooks の報告でも 10% 前後であった<sup>6)</sup>。胸髄領域, 特に腹部の上位運動ニューロン徴候は評価の難しい領域である。AHC では胸髄領域の上位運動ニューロン徴候として, 腹壁反射消失, 腹筋反射亢進, 痙縮を挙げている。しかし, 腹壁反射は健

表2 臨床診断時のAirlie House Criteria分類の比較

報告者	Traynor	Zoccolella	Chio	自験例
国名, 年	Irland, 2000	Italy, 2007	U.S., 2002	Japan, 2007
患者総数 (n)	383	126	221	43
診断までの期間(月)	8	9.3	11.1	12.6
Definite	131 (34%)	28 (21.5 %)	112 (50.1%)	2 (5%)
Probable	87 (23%)	43 (33.1 %)	85 (38.5%)	7 (17%)
Labo-probable	3* (1%以下)	29 (22.3 %)	-	2 (5%)
Possible	136 (36%)	15 (11.5 %)	18 (8.1%)	23 (54%)
Suspect	29 (8%)	11 (8.5 %)	6 (2.7%)	8 (19%)

常者でも誘発されないことが稀でなく、腹筋反射の亢進も個人差があることから、単一の症候のみで腹部上位運動ニューロン徴候陽性と判断するのは避けるべきである。確実に陽性と判断するには、腹壁反射消失と腹筋反射亢進が同時に起こる“反射の解離”が重要とされている<sup>7)</sup>。改めて最近の自験例について胸髄領域の診察を強化したところ、1年間に8例中2例(25%)で診断時に胸髄領域の上位運動ニューロン徴候陽性と判断された。このことから、胸髄領域の症候学的評価は、ALS診断率の向上に寄与する可能性がある。

自験例では“labo-prob”は5%、Traynorらの報告では1%前後であるが、Zoccolellaらによると labo-prob は22.3%と高率である。

Traynorらの報告はretrospectiveにAHC基準を満たすか否か評価しているが、Zoccolellaらは1998-99年に診断された症例を中心に検討しており、AHCの筋電図基準が公表された後にprospectiveに検査された症例を多く含んでいることが、Traynorらより高率となった要因のひとつと考えられる。自験例でもAHC基準を満たす例では平均施行筋数が7.8筋で、満たさなかった症例の6.0筋に比べ被検筋数が多い。これは、筋電図を徹底することで、診断率は向上しうることを示している。中でも、胸髄領域

表3 臨床診断時の神経症候分布

	Traynor	Zoccolella	自験例
患者数	383	130	43
罹病期間(月)	8	14.4	12
脳幹	213 (56%)	101 (78%)	35 (81%)
頸髄	264 (69%)	121 (93%)	34 (77%)
胸髄	227 (59%)	20 (15%)	4 (10%)
腰仙髄	284 (74%)	120 (93%)	35 (79%)

表4 急性+慢性脱神経所見の見られた筋の分布

	総施行筋数	所見あり筋数	陽性率
脳幹	47	10	21%
頸髄	71	21	30%
胸髄	4	2	50%
腰仙髄	49	9	18%

の針筋電図は文献的にも感度0.74、特異度0.92と有用性が高く<sup>8)</sup>、今後、積極的に施行すべきだと考えられた。

## E. 結論

AHC有効に活用するために以下の項目を積極的に取り入れることが勧められる。

- (1) 胸髄領域の症候学的評価
- (2) 筋電図の施行目安は8筋以上
- (3) 胸髄領域の筋電図

## F. 文献

- 1) Broks BR: ALS, 293-299, 2000
- 2) Traynor BJ, et al: Arch Neurol, 1171-1176, 2000
- 3) Zoccolella, et al: JNNP, 33-37, 2008
- 4) Chio A, et al: Neurology, 99-103, 2002
- 5) Zoccolella S, et al: Eur J Neurol, 689-792, 2006
- 6) Brooks BR: Neurol Sci, S1-9, 1999
- 7) 亀山隆ほか: 神経内科, 28-30, 2001
- 8) Achraf A, et al: Muscle Nerve, 614-619, 2007

## G. 健康危険情報

なし

## H. 研究発表

1. 論文発表 該当なし
2. 学会発表 該当なし

## I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

## 脊髄性筋萎縮症(spinal muscular atrophy;SMA)の臨床の分析

報告者氏名 齋藤加代子<sup>1) 2)</sup> ○伊藤万由里<sup>1) 2)</sup> 相楽有規子<sup>1)</sup>  
浦野真理<sup>1)</sup> 三谷昌平<sup>3)</sup> 大澤真木子<sup>2)</sup>

- 1) 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター
- 2) 東京女子医科大学小児科
- 3) 東京女子医科大学第二生理学

### 研究要旨

SMAの原因遺伝子 survival motor neuron 遺伝子(SMN1)とそのコピー遺伝子(SMN2), 及び近傍の修飾遺伝子について, その構築と臨床症状との関係を検討した. 遺伝子欠失範囲が広いと, 臨床的に重症となる傾向を認めた. また, 軽症型では, SMN1 から SMN2, または SMN2 から SMN1 への遺伝子変換の疑われる例が存在した. これより, SMN 遺伝子における遺伝子変換は, 臨床症状の軽減化と関係すると考えられた. このような軽症例についての検討が, 今後の治療に結びつくと思われる.

### A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症(SMA)は, 脊髄前角細胞, 脳神経核の変性と脱落により, 進行性の神経原性筋萎縮を示す常染色体劣性遺伝性疾患である. 欧米では, その発症頻度は約 10000 出生に 1 人とされ, 保因者頻度は約 50 人に 1 人とされている. 1891 年に Werdnig により, 最初の臨床例が報告されて以来, 現在に至るまで, 様々な研究が重ねられているが, 根本的な治療法はいまだに確立されていない.

SMA は, ほぼ全身の臓器に存在する蛋白質である SMN(survival motor neuron)蛋白質の欠損あるいは機能障害によって生じる. SMN 蛋白質は SMN 遺伝子によりコードされている. SMN 遺伝子(SMN1)にはコピー遺伝子(SMN2)が存在し, SMA は主に SMN1 の欠失が原因で発症する.

我々は, SMN 遺伝子及び近傍の修飾遺伝子(NAIP と SERF1)を解析し, その遺伝子レベルでの構築の違いと臨床との関係を検討した.

### B. 研究方法

SMA は臨床症状により 3 つ (あるいは 4 つ) の

型に分類されている. 診断基準は, 国際 SMA 協会により, 発症年齢と臨床経過に基づいて, I 型 (Werdnig-Hoffmann 病), II 型, III 型 (Kugelberg-Welander 病)と定められている<sup>1)</sup>. I 型は生下時から 6 ヶ月までの発症で, 坐位保持不可能, 人工呼吸管理をしなければ 2 歳までにほとんどが亡くなる重症型である. II 型は 1 歳 6 ヶ月までに発症し, 起立または歩行が不可能であるが 2 歳以降も生存可能な中間型である. III 型は小児期から成人期に発症し, 歩行が可能な軽症型とされている. 臨床的重症度は, それぞれの型のなかでも多様である. 当班では, 2006 年に日本での臨床により合致するよう, 診断基準を新たに提唱し, 成人発症を IV 型とした. IV 型の進行は緩徐で, 呼吸障害や嚥下障害を殆ど認めない.

今回の研究の対象は, 当センターに遺伝子検査を依頼された SMA 患者で, 2006 年 8 月の当班ワークショップで報告した 319 名のうちの 29 名である. インフォームドコンセントは, 保護者または本人から得た. また, 臨床症状, 検査所見など情報は各主治医からいただいた. 29 名の内訳は, I 型 7 名, II 型 11 名, III 型 11 名である. 発症年齢の平均は, I 型が 0 歳 2 ヶ月, II 型が 0 歳 8 ヶ

月, III 型が 3 歳 11 ヶ月であった.

SMA の遺伝子診断は, SMN1 と SMN2 の exon 7 と exon 8 の領域における塩基配列の 5 塩基の相違を利用して行われる. 我々は, 末梢血リンパ球から DNA 及び mRNA を調製し, 遺伝子診断とそれに続く解析を施行した.

(i) 遺伝子欠失範囲の同定; SMN exon7: PCR + Dra I analysis, SMN exon 8: PCR + Dde I analysis, NAIP exon 5,6: PCR analysis, SERF1: Haplotype analysis 3) 4) 5)

(ii) SMN exon6 から exon8 の半定量; RT-PCR + PCR

(iii) SMN における遺伝子変換の検索; PCR + EcoRV, Dde I analysis 6), クローニング, 塩基配列解析

### C. 研究結果

(i) 遺伝子欠失範囲の同定; 重症型では, SERF1 から NAIP までの広範囲の欠失を認める例が存在した. この結果より, 重症型では遺伝子の欠失範囲が広いことが示唆された. 7) 8)

型	遺伝子欠失		NAIP	SERF1
	SMN exon7	SMN exon8		
I	7	7	4	4/4
II	11	10	0	3/5
III	11	6	0	1/2
合計	29/29	23/29	4/29	8/11

表 1 : 遺伝子欠失範囲の同定

SMN exon 7 は 29 例全例で, exon 8 は 23 例で欠失していた. NAIP は I 型の 4 例のみ, SERF1 は 11 例検索したうちの 8 例で欠失を認めた.

(ii) SMN exon6 から exon8 の半定量; SMN 遺伝子の転写産物を RT-PCR により, 間接的に定量した. SMN1 からは, exon 6 から exon 8 までの完全な産物ができるが, SMN2 から作られる産物の大半は exon 7 のない不完全な短い産物であることが分かっている. SMA では, SMN1 由来の産物が作られず, 結果的に SMN 転写産物全体の量も正常より

減少することを確認した.

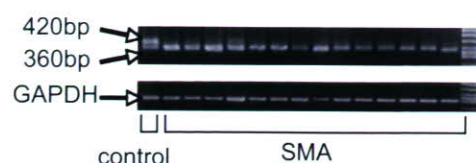


図 1 ; SMN exon6 から exon8 の半定量

420bp のバンドは完全な産物, 360bp のバンドは exon 6, 8 のみの短い産物を示す. SMN の欠失している SMA では, 完全な産物の量が明らかに少ないことが分かる.

(iii) SMN における遺伝子変換の検索 1 ; SMN 遺伝子の周辺は非常に構造が不安定で, 欠失のみならず, 遺伝子変換も頻繁に起こっていると考えられる. その遺伝子変換を間接的に検出するために, SMN1, SMN2 の塩基配列の違いを利用して PCR を行った. SMN1 から SMN2 への遺伝子変換を意味する hybrid gene を 5 例で認めた. この 5 例は, 通常の遺伝子検査では, SMN exon 7 のみの欠失と診断されていることから, 欠失は見かけ上のもので実際は SMN1 から SMN2 への遺伝子変換が起こっている例も存在することが示唆された.

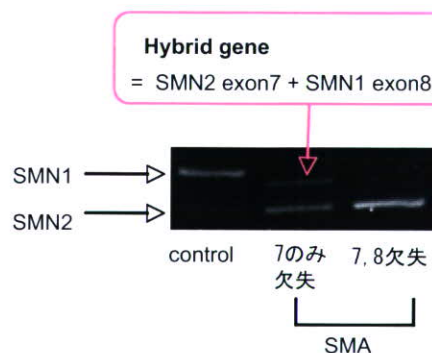


図 2 : SMN における遺伝子変換 1

上図に示す hybrid gene は, SMN2 exon 7 と SMN1 exon 8 が融合したものである. この hybrid gene を II 型 1 例, III 型 4 例の計 5 例で検出した.

SMN における遺伝子変換の検索 2 ; SMN exon 6, 7, 8

の転写産物を直接塩基配列解析したところ、exon 7においてSMN1とSMN2の両方の配列が同定された例が存在した。その完全長の産物であるバンドを精製、クローニングを行い、各コロニーの塩基配列解析を施行した。その結果、下図のように2例のSMA患者でSMN1の配列を認めた。

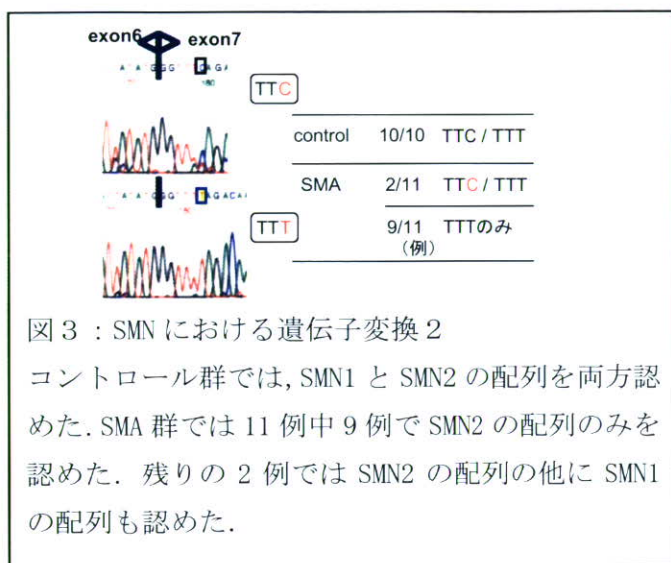


図3：SMNにおける遺伝子変換2

コントロール群では、SMN1とSMN2の配列を両方認めた。SMA群では11例中9例でSMN2の配列のみを認めた。残りの2例ではSMN2の配列の他にSMN1の配列も認めた。

#### D. 考察

SMN遺伝子は1995年、5番染色体長腕に同定された2)。5q13.1の領域には500kbにわたりinverted duplicationが存在し、そこにSMN1、SMN2がある。SMN1は9個のexonを有し(exon 1, 2a, 2b, 3~8)、SMN2との違いはわずか5塩基である。SMN1と高い相同性があるにもかかわらず、SMN2が作るmRNAはexon 7を持たないものが多く、それに由来するSMN蛋白は機能を喪失している。そのため、SMN2は、SMN1欠失により引き起こされるSMN蛋白の機能障害を完全には代償することはできない。すなわち、SMN2由来の蛋白のみではSMAの発症を完全に阻止することはできないことがわかっている。

SMN1からSMN2への遺伝子変換が、II型、III型の臨床的軽症例にのみ認められたことから、この変換が臨床症状の軽減化に関与している可能性はあると考えられる。また、DNAの検査ではSMN1は欠失しているにもかかわらず、転写産物からは

SMN1の配列を認めた例では、転写のどこかの過程で、SMN2からSMN1への遺伝子変換が起こったことが示唆される。この遺伝子変換のメカニズムの解明が、やがては治療に結びつくと思われる。

#### E. 結論

SMAの原因遺伝子の欠失範囲は、重症型では広い傾向にあることを認めた。

軽症のII型、III型の中には、見かけ上は遺伝子の欠失でも遺伝子変換の疑われる例が存在した。SMN1からSMN2への変換でSMN2の量が増えている例と、SMN2からSMN1への変換でSMN1の欠失を代償している例の双方が存在したが、これらは、真の欠失を示す例よりも、臨床的に軽症である傾向を認めた。すなわち、SMN遺伝子における遺伝子変換は、臨床症状の軽減化と関係すると考えられた。

#### F. 文献

- 1) Munsat TL et al. : Neuromuscl Disord 2 (5-6), 423-428, 1992
- 2) Lefebvre S et al. : Cell 80, 155-165, 1995
- 3) Van der Steege G et al. : Lancet 345, 985-986, 1995
- 4) Roy N et al. : Cell 80, 167-178, 1995
- 5) Scharf JM et al. : Nat Genet 20(1), 83-86, 1998
- 6) Van der Steege G et al. : Am J Hum Genet 59, 834-838, 1996
- 7) Saito K et al. : J Tokyo Wom Med Univ 70, 2-9, 2000
- 8) Ito M et al. : J Tokyo Wom Med Univ 74, 167-178, 2004

#### G. 健康危険情報

なし



## H. 研究発表

### 1. 論文発表

Ito M, Saito K, Du J et al. : Phenotype-Genotype Correlation in Japanese Spinal Muscular Atrophy Patients: Analysis of DNA and mRNA of the SMN Gene, J Tokyo Wom Med Univ 74, 167-178, 2004

斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症の分子遺伝学。

Annual Review 神経 60(4), 260-268, 2004

Ito Y, Kumada S, Uchiyama A, Saito K, Osawa M, Yagishita A, Kurata K, Hayashi M. Thalamic lesions in a long-surviving child with spinal muscular atrophy type I: MRI and EEG findings.

Brain Dev. Brain Dev. 26(1) : 53-6, 2004

斎藤加代子. 神経筋疾患の出生前診断. 脳と神経 56(12): 1008-1015, 2004

河村信利、池添浩二、斎藤加代子、古谷博和、吉良潤一. 思春期に発症し著明に緩徐な経過を示した脊髄性筋萎縮症 III 型の 1 例. 神経内科

63(4): 387-393, 2005

斎藤加代子. DNA 診断 -神経・筋疾患. 小児内科 37: 649-655, 2005

伊藤万由里 斎藤加代子 脊髄性筋萎縮症. 小児科診療 69(4): 593-598, 2006

斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症. 小児科診療 69(増刊号): 775-776, 2006

### 2. 学会発表

斎藤加代子. 小児神経筋疾患における遺伝カウンセリング, 第 48 回日本小児神経学会総会. 2006 於: 浦安

斎藤加代子. 遺伝子診療と遺伝カウンセリング, 第 9 回日本母性看護学会学術集会. 2007 於: 東京

伊藤万由里. 脊髄性筋萎縮症における survival motor neuron 遺伝子の構築と臨床的重症度, 第 43 回日本小児神経学会 2001. 6. 7-9 抄録集

p. 157 於: 岡山

伊藤万由里. 脊髄性筋萎縮症における survival motor neuron 遺伝子の構築, 第 46 回日本人類遺

伝学会 2001. 10. 3-5 抄録集 p. 95 於: 埼玉

## I. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

## 筋萎縮性側索硬化症の大脳病変- 3 テスラ MRI 拡散テンソル画像による解析-

分担研究者 祖父江 元<sup>1)</sup>

共同研究者 千田 譲<sup>1)</sup> 渡辺宏久<sup>1)</sup> 熱田直樹<sup>1)</sup> 伊藤瑞規<sup>1)</sup> 加賀友継<sup>1)</sup>  
長縄慎二<sup>2)</sup> 深津 博<sup>2)</sup>

1)名古屋大学大学院医学系研究科神経内科

2)名古屋大学大学院医学系研究科放射線科

### 研究要旨

MRI 拡散テンソル画像を用い ALS の大脳白質と錐体路の FA 値を検討した。対象は ALS 48 例とコントロール 19 例。大脳白質 FA 値は FA map を用い大脳半球白質（前方、後方、側頭葉）、脳梁（膝部・膨大部）、を測定した。錐体路 FA 値は tractography にて定めた左内包後脚を測定した。ALS 群では、錐体路に加え、前方優位で後方、脳梁膝部、脳梁膨大部に及ぶ広範な白質 FA 値の低下を認めた。錐体路 FA 値は、前方白質 FA 値と強い相関 ( $r=0.62$ 、 $p<0.001$ ) を認め、脳梁膝部・後方白質・側頭葉 FA 値とも相関していた。ALS では前頭葉優位で後頭葉にも及ぶ広範な大脳半球白質病変が存在することが示唆された。また錐体路変性の高度な例では大脳病変も広がりやすい可能性が考えられた。

### A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）では、前頭葉中心の認知機能低下や、病理学的に前頭側頭葉変性症と ALS の共通性が指摘され、より広範な大脳病変の出現することが明らかとなった。しかし、早期例における大脳白質病変の検討は十分なされていない。今回、頭部 MRI の新しい指標である Fractional Anisotropy (FA) 値を用い、早期例を含む ALS 多数例を対象として、上位運動ニューロンと大脳白質病変の有無を検討した。

### B.研究方法

対象は診断基準で possible 以上を満たし明らかな認知障害を有さない ALS 患者 48 例（男性 27 例・女性 21 例、年齢  $61.3 \pm 9.6$  歳、Limb-onset 38 例・Bulbar-onset 10 例、罹病期間  $19.0 \pm 9.0$  月）と、コントロール 19 例（男性 7 例・

女性 12 例、年齢  $62.8 \pm 9.2$  歳）であった。全例 3.0T MRI (Trio Siemens, Germany) を用い、拡散強調画像 (EPI, TR/TE : 7700/75、b 値 : 700  $s/mm^2$ 、MPG : 6 方向、GRAPPA 法を用い補正) を撮影した。FA 値の測定には dTV II / Volume One (東京大学放射線科開発フリーウェア) を用いた。

大脳白質 FA 値は、FA map を用いて前方・後方白質、脳梁膝部・膨大部、後部帯状回、側頭葉に関心領域を測定し測定した。内包後脚 FA 値は、tractography を用い錐体路を描出し、描出された錐体路に対して左内包後脚に関心領域を設定し FA 値を測定した。錐体路の描出には、大脳脚を始点領域、中心前回を終点領域に設定し、小脳との連絡線維を除いた。

(倫理面への配慮)

名古屋大学医学部倫理委員会での承認の下、ALS 患者・コントロール参加者ともに文書での研究利用の同意を取得した

### C. 研究結果

ALS 群では、内包後脚、大脳白質で FA 値は有意に低下していた (内包後脚 ALS:  $0.643 \pm 0.038$ , control:  $0.710 \pm 0.048$ ,  $p < 0.001$ ; 前方白質 ALS:  $0.431 \pm 0.054$ , control:  $0.476 \pm 0.028$ ,  $p < 0.001$ ; 脳梁膝部 ALS:  $0.720 \pm 0.052$ , control:  $0.811 \pm 0.032$ ,  $p < 0.001$ ; 脳梁膨大部 ALS:  $0.795 \pm 0.047$ , control:  $0.846 \pm 0.026$ ,  $p < 0.001$ ; 後方白質 ALS:  $0.566 \pm 0.052$ , control:  $0.592 \pm 0.022$ ,  $p < 0.05$ ; 側頭葉 ALS:  $0.442 \pm 0.042$ , control:  $0.468 \pm 0.049$ ,  $p < 0.05$ ; 後部帯状回 ALS:  $0.608 \pm 0.029$ , control:  $0.623 \pm 0.026$ ,  $p < 0.05$ ) < 図 1 >。錐体路 FA 値と前方白質・脳梁膝部・後方白質の各 FA 値は正の相関を認めた < 図 2.A~D >。錐体路 FA 値と脳梁膨大部・後部帯状回の各 FA 値とは相関関係は認めなかった。また MRI 撮影時年齢・MRI 撮影時 ALSFRS-R と内包後脚 FA 値・大脳白質各部位 FA 値とは相関関係を認めなかった。罹病期間と内包後脚 FA 値・大脳白質各部位 FA 値とも相関関係は認めず、罹病早期から低下している症例や進行しても保たれている症例が存在した。

### D. 考察

ALS では、長期例生存例において大脳萎縮が進行しうことは知られている。今回、拡散テンソル画像を用いて早期例を含む ALS の多数例を検討した結果、FA 値は早期例においても前頭葉を中心に低下を認めることが明らかとなった。また、FA 値は、前頭葉のみならず、側頭葉や後頭葉においても対照群に比べて有意な低下を認めた。人工呼吸器を装着した ALS 症例では病理学的に大脳全般に病変の出現することが報告されているが、本結果もこうした病理変化が早期より出現していることを反映している可能性が考えられた。

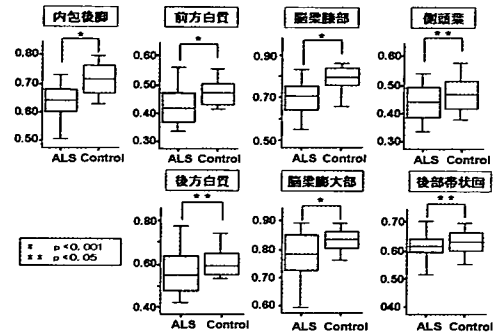


図 1 大脳白質各部位の FA 値 (ALS vs Control)

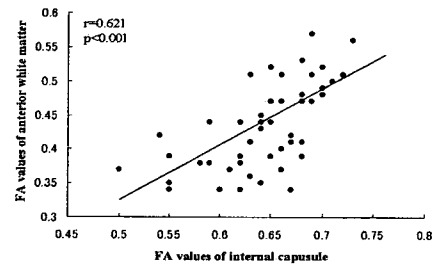


図 2.A 内包後脚 FA 値と前方白質 FA 値の相関

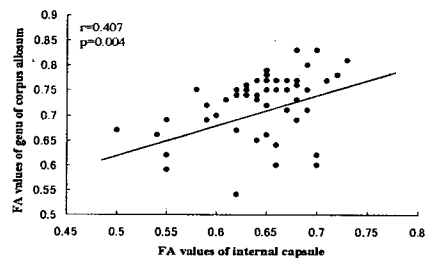


図 2.B 内包後脚 FA 値と脳梁膝部 FA 値の相関

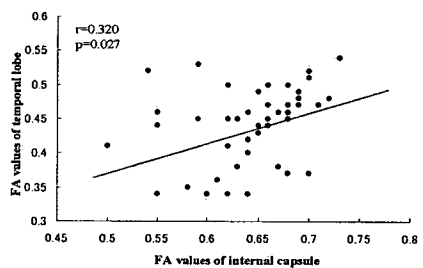


図 2.C 内包後脚 FA 値と側頭葉 FA 値との相関

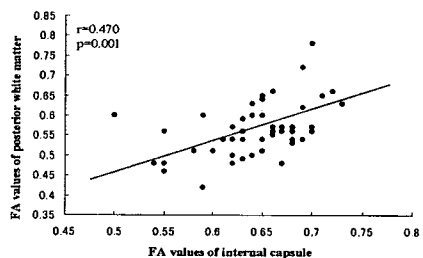


図 2.D 内包後脚 FA 値と後方白質 FA 値の相関

人工呼吸器を装着した長期例の検討でも、装着後早期に大脳萎縮の進行を認め、意思疎通が困難となる症例から、長期に渡り大脳萎縮を認めず、意思疎通も良好に保たれる症例のあることが我が国を中心に明らかにされている。本検討でも、大脳白質各部位における FA 値は何れも罹病期間と相関関係を示さなかった。さらに撮影時年齢とも相関していなかった。一方、錐体路の FA 値とは前頭葉を中心として相関関係を認めた。従来 ALS ではどのような症例で大脳病変を呈するか明確ではなかった。過去に我々は、原発性側索硬化症 (PLS) では SPECT にて大脳に広汎な異常を呈することを報告してきた。PLS は病変が長期間に渡って上位運動ニューロンに局限する ALS との考え方もある。今回の検討でも、上位運動ニューロン障害の強い ALS 症例では大脳白質病変が広範かつ高度である可能性が示唆された。

人工呼吸器装着後にも ALS 症例の認知機能が保たれるか否かを装着前に推定することは、装着を決定する上で重要な情報となりうるが、現時点でその可能性を推定する指標は無い。また、ALS の臨床治験が推進されつつあるが、上位運動ニューロン病変のみならず、大脳半球病変を半定量的に評価しうる surrogate marker は確立していない。今後、ALS 症例における FA 値の測定を前方向的に検討するとともに、病理学的な対比を行い、その臨床的意義を明らかにすることが必要と考えられる。

## E. 結論

ALS では、MRI 白質病変の無い症例や早期例を含めて、前方系優位で後方白質にも及ぶ、広範な大脳白質の FA 値低下を認めることが明らかとなった。また錐体路 FA 値は大脳白質各部位の FA 値と相関を認めた。錐体路変性の強い症例では、前方系を中心とした広範な大脳病変が出現しやすい可能性が示唆された。

## F. 文献

1. Ito M, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 78:722-8, 2007.
2. Mabuchi N, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 75:1768-1771, 2004.
3. Yoshida M. Neuropathology 24:87-102, 2004.

## G. 健康危険情報

該当事項なし。

## H. 研究発表

学会発表

1. 千田 譲, ほか: 筋萎縮性側索硬化症の錐体路 FA 値の診断的有用性. 第 48 回日本神経学会総会. 名古屋, 2007.5.
2. 伊藤瑞規, ほか: FA 値を用いた錐体路評価～多系統萎縮症と筋萎縮性側索硬化症の比較～. 第 48 回日本神経学会総会. 名古屋, 2007.5.
3. 伊藤瑞規, ほか: 拡散テンソル画像を用いた多系統萎縮症とパーキンソン病の錐体路評価. 第 47 回日本神経学会総会. 東京, 2006.5.
4. 熱田直樹, ほか: 臨床調査個人票からみた我が国の ALS. 第 48 回日本神経学会総会. 名古屋, 2007.5.
5. 熱田直樹, ほか: 現行の臨床調査個人票の問題点 筋萎縮性側索硬化症. 平成 19 年度 神経変性疾患に関する調査研究班 ワークショップ講演. 東京. 2007.8.

## I. 知的所有権の取得状況

該当事項なし。