

「有棘赤血球舞踏病の疫学調査と診断法の確立および分子病態の解明」班  
「ハンチントン病のバイオリソース構築に関する研究」班  
「ビオプテリン代謝異常を伴う難病の実態および病態把握のための横断的研究」班  
平成 21 年度 合同班会議

平成 21 年 12 月 20 日 (日) 10 時 00 分～15 時 00 分

於：学士会館

〒101-8459 東京都千代田区神田錦町 3-28

電話:03-3292-5936

10 時 00 分 開会の辞

相模原病院 長谷川一子

10 時 05 分～ 「有棘赤血球舞踏病の疫学調査と診断法の確立および分子病態の解明」班

座長：佐野 輝 (鹿児島大学大学院)

1. 有棘赤血球舞踏病病因遺伝子 *VPS13A* の総合的解析

鹿児島大学 中村雅之

(発表 30 分、討論 15 分)

10 時 50 分～ 「ハンチントン病のバイオリソース構築に関する研究」班

座長：長谷川一子 (相模原病院)

2. UHDRS 日本語版における「行動評価」の信頼性・妥当性

さがみはらカウンセリングルーム 猿渡めぐみ

3. ハンチントン病患者における漢方薬治療の試み

東北大学病院 菊池昭夫

4. ハンチントン病家系内における精神症状のみを呈する患者の位置づけ

国立精神・神経センター病院 村田美穂

5. ハンチントン病の神経機能障害・変性に関与する転写因子の検索

理化学研究所 貫名信行

(各 15 分・討論の時間を含む)

12 時 00 分～ 昼食

12時50分～「ピオプテリン代謝異常を伴う難病の実態および病態把握のための横断的研究」班

座長：一瀬 宏(東京工業大学大学院)

5. Aicardi-Goutières Syndrome の発症機構

北里大学 小幡文弥  
(発表 20 分、討論 3 分)

6. アイカルディ - ゴーティエ症候群の臨床的特徴について

秋田大学 豊島 至  
(発表 10 分、討論 3 分)

7. アイカルディ - ゴーティエ症候群についてのアンケート調査について

相模原病院 長谷川一子  
(発表 7 分、討論 3 分)

8. 皮質-基底核ループと基底核疾患

生理学研究所 南部 篤  
(発表 20 分、討論 3 分)

9. ビオプテリン欠乏マウス(DPS マウス)の運動異常について

藤田保健衛生大学 一瀬千穂  
(発表 10 分、討論 3 分)

10. セピアプテリン還元酵素 KO マウスの運動異常について

東京工業大学大学院 一瀬 宏  
(発表 10 分、討論 3 分)

11. ウイルスベクターを用いたサル脳への遺伝子導入：

パーキンソン病のモデル動物の作出と遺伝子治療の試み

京都大学霊長類研究所 高田昌彦  
(発表 20 分、討論 3 分)

14時50分 閉会の辞

相模原病院 長谷川一子

合同班会議抄録

[演題名] 有棘赤血球舞踏病病因遺伝子 *VPS13A* の総合的解析

[班員] 氏名：佐野 輝

所属：鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 精神機能病学分野

[共同研究者]

氏名：上野修一 所属：愛媛大学大学院医学研究科 脳とこころの医学分野

氏名：中村雅之 所属：鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 神経科精神科

[目的] 有棘赤血球舞踏病 (chorea-acanthocytosis; ChAc) は主に常染色体劣性の遺伝型式をとる稀な遺伝性神経変性疾患である。その臨床表現型は Huntington 病類似の不随意運動と末梢血の有棘赤血球症を呈し、病理学的には脳の線条体の神経変性を特徴とする。疾患遺伝子(*VPS13A*)変異は遺伝子全体に分布しており、ヘテロ接合性にしか変異が見つからない ChAc 症例も存在する。ChAc は国際的に本邦からの症例報告が多く日本人に多いと言われているがその頻度は明らかでなく、遺伝子診断のついた症例の病理の報告は殆どない。今回我々は 1) *VPS13A* の CNV 解析を含めた遺伝子変異解析の結果、2) 遺伝子診断のついた ChAc 症例の脳病理所見、3) 有棘赤血球舞踏病疫学調査についての進捗状況を報告する。

[方法] 1) 臨床的に ChAc が疑われる 34 症例に対し *VPS13A* の CNV 解析を含めた遺伝子変異解析とウエスタンブロット法による chorein の検出解析を行った。

2) 新規 *VPS13A* 遺伝子変異を有し、上位運動ニューロン障害を伴う ChAc 症例の死後脳に対し HE もしくは K-B 染色、GFAP、TDP-43、ユビキチンの免疫染色を行った。

3) 全国の大学病院、日本精神神経学会認定専門医研修病院、自治体立精神科病院日本神経学会専門医認定施設の計 1376 施設に対し、ChAc 疫学一次調査用紙を配布した。

[結果および考察] 1) 3 種類の CNV を含め、24 種類の ChAc の新規遺伝子変異を見出した。常染色体優性遺伝形式とされた ChAc 報告例では今回のような病因 CNV が見逃されていた可能性がある。

2) 剖検脳病理では線条体、特に尾状核に著明な萎縮を認め、TDP-43 陰性右側優位に両側皮質脊髄路に神経細胞脱落を認めた。本症例は ChAc 症例の中でも上位運動神経障害をもつ稀な症例であると考えられる。

3) ChAc 疫学一次調査については発表当日までに得られた結果について報告する。

IV. 「有棘赤血球舞踏病」有病者数全国一次調査 関連資料

依頼文書

「有棘赤血球舞踏病」有病者数全国一次調査用紙  
有棘赤血球を伴う舞踏病診断基準

平成 21 年 11 月 吉日

診療科 責任者様

厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）  
有棘赤血球舞踏病の疫学調査と診断法の確立および分子病態の解明研究班

代表研究者 佐野 輝

（鹿児島大学大学院医歯学総合研究科精神機能病学分野）

分担研究者 上野修一

（愛媛大学大学院医学系研究科 脳とこころの医学分野）

分担研究者 中村雅之

（鹿児島大学医学部・歯学部附属病院 神経科精神科）

拝啓

時下、益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

このたび厚生労働省科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）「有棘赤血球舞踏病の疫学調査と診断法の確立および分子病態の解明」において我国における有棘赤血球舞踏病の実態を把握するために全国疫学調査することとなりました。つきましてはご多忙中のところ大変恐縮でございますが、過去 1 年間（2008 年 11 月 1 日～2009 年 10 月 31 日）の貴下診療科において、別紙の「有棘赤血球舞踏病診断基準」をご参照いただき、該当項目について同封の葉書にご回答の上、2009 年 12 月 20 日までにご返送くださいますようお願い申し上げます。なお、同封の個人情報保護シールを貼ってご返送ください。

また、該当する患者がいない場合も、全国患者推計に必要ですので、葉書の「3. 該当なし」に○をつけ、ご返送くださいますようお願い申し上げます。

該当する患者がおられる場合は後日行う予定の 2 次調査について、あわせてご協力くださいますよう重ねてお願い申し上げます。

この件に関してご不明の点がございましたら、下記までお問い合わせください。

何卒ご協力のほど、よろしくお願い申し上げます。

敬具

〒890-8544 鹿児島市桜ヶ丘 8-3 5-1  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
精神機能病学分野  
佐野 輝  
中村雅之  
TEL 099-275-5346  
FAX 099-265-7089  
E:mail nakamu36@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp

〒791-0295 愛媛県東温市志津川  
愛媛大学大学院医学系研究科  
脳とこころの医学分野  
上野修一  
TEL 089-960-5315  
FAX 089-960-5317  
Email ueno@m.ehime-u.ac.jp

## 「有棘赤血球舞踏病」有病者数全国一次調査用紙

記載医師ご所属 \_\_\_\_\_

ご芳名 \_\_\_\_\_

記載年月日 2009年 \_\_\_\_\_ 月 \_\_\_\_\_ 日

別紙、「有棘赤血球を伴う舞踏病の診断基準」中の有棘赤血球舞踏病について、2008年11月1日～2009年10月31日までの間の貴施設における診療において該当する項目番号に○をつけ、人数をご記入ください

1. 「有棘赤血球を伴う舞踏病の診断基準」の臨床所見を有すが確定診断には至っていない患者を診療した ( \_\_\_\_\_ 名)
2. 「有棘赤血球を伴う舞踏病の診断基準」の臨床所見を有し、遺伝子診断などにより確定診断を受けた患者を診療した
  - 1) 有棘赤血球舞踏病 ( \_\_\_\_\_ 名)
  - 2) McLeod 症候群 ( \_\_\_\_\_ 名)
  - 3) その他 [診断名 \_\_\_\_\_ ( \_\_\_\_\_ 名)]
3. 該当なし
4. その他 (ご意見などございましたらご記載ください)

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

1もしくは2にご回答を頂いた場合、後日第2次調査を行いますので何卒ご協力ください。

ご住所、貴施設名、貴診療科名に誤りがありましたらお手数ですが、ご訂正ください。

2009年12月20日までにご返送いただければ幸いです。

## 有棘赤血球を伴う舞蹈病の診断基準

### 1. 有棘赤血球舞蹈病

#### A. 臨床所見

- 1) 好発年齢は若年成人(平均 30 歳代)であるが、発症年齢の分布は思春期から老年期に及び、緩徐に増悪する。
- 2) 常染色体劣性遺伝が基本である。優性遺伝形式に見えることもある。
- 3) 口周囲(口、舌、顔面、頬部など)の不随意運動が目立ち、自傷行為による唇、舌の咬傷を見ることが多い。咬唇や咬舌は初期には目立たないこともある。
- 4) 口舌不随意運動により、構音障害、嚥下障害を来す。
- 5) 体幹四肢にみられる不随意運動は舞蹈運動とジストニアを主体とする。
- 6) てんかんがみられることがある。
- 7) 脱抑制、強迫症状などの神経精神症状や認知障害がしばしば認められる。
- 8) 軸索障害を主体とする末梢神経障害があり、下肢遠位優位の筋萎縮、脱力、腱反射低下・消失をきたす。

#### B. 検査所見

- 1) 末梢血で有棘赤血球の増加をみる。
- 2)  $\beta$ リポタンパクは正常である。
- 3) 血清 CK 値の上昇を認めることが多い。
- 4) 頭部 MRI や CT で尾状核の萎縮、大脳皮質の軽度の萎縮を認める。

C. 確定診断: *VPS13A* 遺伝子の遺伝子変異の検出による。

D. 除外診断, 鑑別診断: 後述参照

### 2. McLeod syndrome

#### A. 臨床所見

- 1) 伴性劣性遺伝様式をとる。
- 2) 30-40 歳代に発症することが多い。
- 3) 舞蹈運動を主とする不随意運動を口周囲, 四肢体幹に認め, 他にチック, ジストニア, パーキンソニズムを見ることがある。咬唇や咬舌はほとんど認めない。
- 4) 軸索型末梢神経障害を大多数の症例で認め, 腱反射は消失する。
- 5) 筋障害(四肢筋)を認める。
- 6) てんかんがみられることがある。
- 7) 統合失調症様精神病症状などの神経精神症状や認知障害をしばしば認める。
- 8) 心筋症や溶血性貧血, 肝脾腫をしばしば認める。

#### B. 検査所見

- 1) 末梢血で有棘赤血球の増加をみる。
- 2)  $\beta$ リポタンパクの欠如がない。
- 3) 血清 CK 値の上昇を認める。

- 4) 針筋電図所見では筋原性、神経原性所見の双方を認めることがある。
- 5) 頭部 MRI や CT 像で尾状核の萎縮、大脳皮質の軽度の萎縮を認める。
- 6) 赤血球膜表面にある Kx 蛋白質の欠損と Kell 抗原の発現が著減している。

C. 確定診断：XK 遺伝子異常の検出による。

D. 除外診断，鑑別診断：後述参照

### 3. その他

Pantothenate kinase associated neurodegeneration (PKAN) (Hallervorden-Spatz 病)，Huntington's disease-like 2 (HDL2) で舞踏運動を主体とし，有棘赤血球を伴う症例がある。さらに，孤発性で高齢発症，Huntingtin 遺伝子異常がなく知能低下や精神症状を認めない群の症例の蓄積がある。これらも広義では有棘赤血球を伴う舞踏病に含められる趨勢にある。

### 4. 除外診断，鑑別診断

以下の疾患を除外

- 1) 脳血管障害（多発性脳梗塞，脳出血，硬膜下血腫，もやもや病，脳動静脈奇形など）に伴う舞踏運動
- 2) 薬物性舞踏運動（抗精神病薬，抗てんかん薬，抗パーキンソン病薬など）
- 3) 脳腫瘍に伴う舞踏運動
- 4) 傍腫瘍性症候群
- 5) 神経変性疾患に伴う舞踏運動
  - (1) DRPLA
  - (2) Huntington 病
  - (3) SCA17
  - (4) その他
- 6) 不随意運動を主症状とする代謝・内分泌性疾患
  - (1) Lesch-Nyhan 症候群
  - (2) ライソゾーム病
  - (3) ポルフィリア
  - (4) その他 (Wilson 病や Fahr 病など)
- 7) 顔面・舌ジスキネジア
- 8) 全身性エリテマトーデス
- 9) 妊娠性舞踏病
- 10) 電解質異常にともなう舞踏病
- 11) 多血症
- 12) 中毒性疾患（一酸化炭素中毒，有機水銀中毒，無酸素脳症，タリウム中毒，有機溶剤中毒など）



V. 研究成果の刊行物

## Chorea-acanthocytosis with upper motor neuron degeneration and 3419\_3420 delCA and 3970\_3973 delAGTC *VPS13A* mutations

Yasuo Miki · Makoto Nishie · Mio Ichiba · Masayuki Nakamura · Fumiaki Mori · Masaya Ogawa · Mitsuomi Kaimori · Akira Sano · Koichi Wakabayashi

Received: 18 October 2009 / Revised: 19 November 2009 / Accepted: 20 November 2009  
© Springer-Verlag 2009

Chorea-acanthocytosis (ChAc) is caused by loss of function mutations of *VPS13A* gene encoding the large disease protein named chorein [8, 10]. However, McLeod syndrome, Huntington's disease-like 2, and pantothenate kinase-associated neurodegeneration also present with choreic movements and acanthocytosis. To our knowledge, only five autopsy cases of genetically proven ChAc have been reported [1, 6, 7, 9, 11]. Here, we report an autopsy case of ChAc with upper motor neuron degeneration and with novel *VPS13A* mutations.

A Japanese man developed generalized tonic-clonic seizure at age of 35. At age of 37, he presented with postural instability due to lapse of knees, self-mutilation, orofacial dyskinesia with tongue-biting, involuntary vocalization, and pill-rolling tremor in the left hand. Blood smear showed that 30% of erythrocytes were acanthocytes after 5 min of incubation in normal saline (normal, less than 1%) [5]. Neurological examination showed that deep tendon reflexes in all limbs were absent. Brain CT and MRI

revealed mild atrophy of the bilateral caudate nuclei. Genetic analysis revealed no expansion of CAG repeats in the genes of Huntington's disease and dentatorubral-pallidoluysian atrophy. Expression of Kell antigen of erythrocytes was normal. At age of 42, he was bound to a wheelchair and gradually unable to move his left upper and lower extremities. At age of 47, congestive heart failure became apparent and he died suddenly.

Postmortem examination revealed severe degeneration of the neostriatum (Fig. 1a, b). Moderate neuronal loss was found in the substantia nigra pars reticulata and mild in the spinal anterior horn. These findings were consistent with histopathological features of ChAc [12]. Furthermore, neuronal loss in the motor cortex with pyramidal tract degeneration, more severe on the right side, was evident (Fig. 1c–i). No Bunina bodies or TDP-43-positive inclusions were noted in the upper and lower motor neurons.

Genetic analysis revealed two novel heterozygous mutations in exon 32 (c.3419\_3420 delCA) and exon 35 (c.3970\_3973 delAGTC) of the *VPS13A* gene (Fig. 2). Both mutations, which lead to premature stop codon further downstream resulting in truncated chorein, are considered to be pathogenic.

Although epilepsy has been well recognized in patients with ChAc [2], the cortical degeneration in our case is not due to epilepsy, because of the absence of neuronal loss or gliosis in the medial temporal lobe. Moreover, no Bunina bodies or TDP-43-immunoreactive inclusions were noted in our case. Therefore, complication of neurodegenerative diseases causing bilateral pyramidal tract degeneration, such as amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration with motor neuron disease, appeared to be excluded.

Although the inheritance of ChAc is widely known as autosomal recessive, single heterozygous *VPS13A*

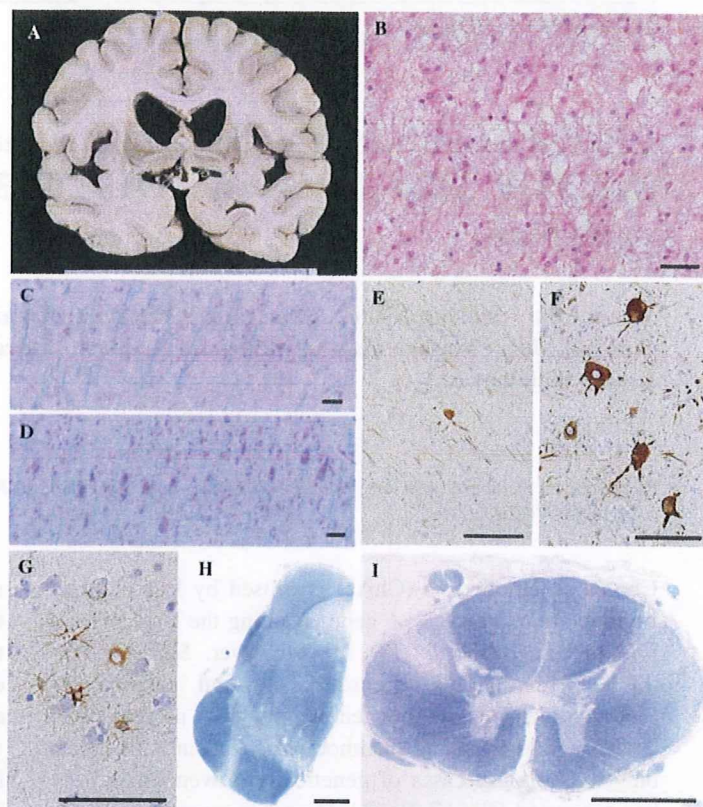
Y. Miki (✉) · F. Mori · K. Wakabayashi  
Department of Neuropathology, Institute of Brain Science,  
Hirosaki University Graduate School of Medicine, 5 Zaifu-cho,  
Hirosaki 036-8562, Japan  
e-mail: yasuomiki@hotmail.com

M. Nishie · M. Ogawa  
Department of Neurology, Aomori Prefectural Central Hospital,  
Aomori, Japan

M. Ichiba · M. Nakamura · A. Sano  
Department of Psychiatry, Kagoshima University Graduate  
School of Medical and Dental Sciences, Kagoshima, Japan

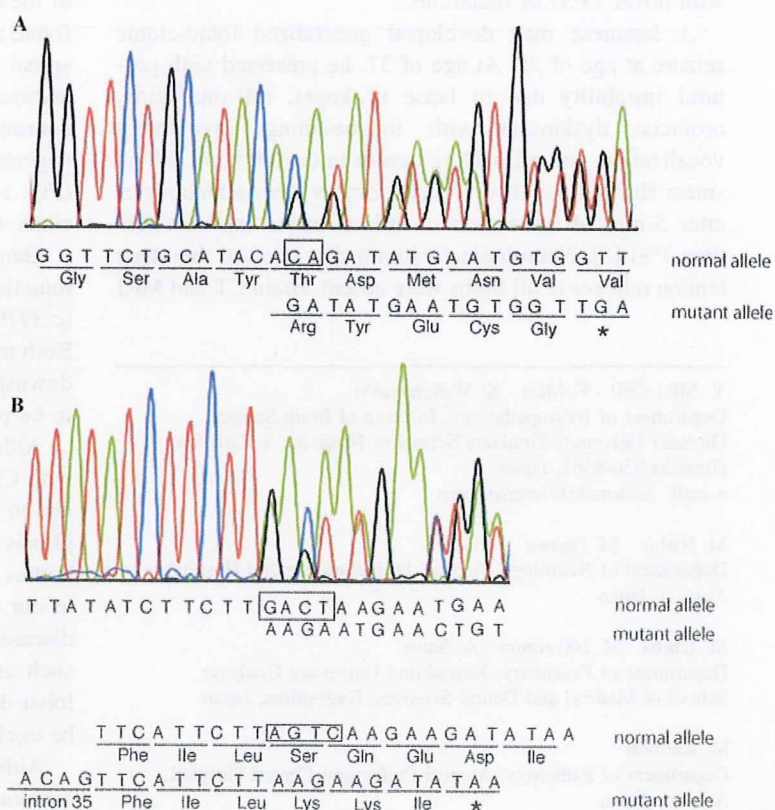
M. Kaimori  
Department of Pathology, Aomori Prefectural Central Hospital,  
Aomori, Japan

**Fig. 1** **a** Severe atrophy of the striatum. **b** Tissue rarefaction in the caudate nucleus. **c–f** Marked neuronal loss in the right motor cortex in the present case (**c, e**) compared to a 53-year-old control patient (**d, f**). **g** Gliosis in the motor cortex. **h, i** Severe degeneration of the pyramidal tract at the level of the midbrain (**h**) and thoracic spinal cord (**i**). Sections stained with H&E (**b**) or Klüver-Barrera (**c, d, h, i**) or immunostained for neurofilament (**e, f**) or GFAP (**g**). Bars 50  $\mu$ m (**b–g**) and 2.5 mm (**h, i**)



**Fig. 2** Sequence analysis of the *VPS13A* gene.

**a** Electropherogram of the patient's sequence in exon 32 shows the 2-bp heterozygous deletion (c.3419\_3420delCA) leading to truncated chorein (p.Thr1140ArgfsX6).  
**b** Electropherogram of 3–5' sequence in exon 35 shows the 4-bp heterozygous deletion mutation. The *bottom* indicating reverse-complement sequence of the electropherogram illustrates the 4-bp deletion (c.3970\_3973delAGTC) leading to truncated chorein (p.Ser1324LysfsX4)



mutations have been occasionally found in patients with ChAc [3, 4]. Mutations in this gene vary and alternative splicing of this gene results in multiple transcript variants [4]. In our case, we found two novel *VPS13A* short deletion mutations, both of which cause premature truncated protein. We conclude that this case is compound heterozygous for each one of the deletion mutations from each of parents, although we cannot formally prove it because parental DNA samples are not available. To our knowledge, this is the first autopsy case of ChAc with distinct upper motor neuron degeneration and with novel *VPS13A* mutations.

**Acknowledgments** This work was supported by a Grant-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology, Japan, a Grant for Hirosaki University Institutional Research (K.W.), and a Grant-in-Aid from the Research Committee of CNS Degenerative Diseases, the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan (A.S.).

## References

- Alonso ME, Teixeira F, Jimenez G, Escobar A (1989) Chorea-acanthocytosis: report of a family and neuropathological study of two cases. *Can J Neurol Sci* 116:426–431
- Andermann F, Jansen A, Al-Asmi A, Andermann E (2005) Epilepsy in neuroacanthocytosis. *Mov Disord* 20:1680
- Bader B, Velayos-Baeza A, Walker RH, Danek A (2009) Dominant transmission of chorea-acanthocytosis with *VPS13A* mutations remains speculative. *Acta Neuropathol* 117:95–96
- Dobson-Stone C, Danek A, Rampoldi L et al (2002) Mutational spectrum of the CHAC gene in patients with chorea-acanthocytosis. *Eur J Hum Genet* 10:773–781
- Feinberg TE, Cianci CD, Morrow JS et al (1991) Diagnostic tests for choreoacanthocytosis. *Neurology* 41:1000–1006
- Hardie RJ, Pullon HW, Harding AE et al (1991) Neuroacanthocytosis. A clinical, haematological and pathological study of 19 cases. *Brain* 114:13–49
- Ishida C, Makifuchi T, Saiki S, Hirose G, Yamada M (2009) A neuropathological study of autosomal-dominant chorea-acanthocytosis with a mutation of *VPS13A*. *Acta Neuropathol* 117:85–94
- Rampoldi L, Dobson-Stone C, Rubio JP et al (2001) A conserved sorting-associated protein is mutant in chorea-acanthocytosis. *Nat Genet* 28:119–120
- Rinne JO, Daniel SE, Scaravilli F, Pires M, Harding AE, Marsden CD (1994) The neuropathological features of neuroacanthocytosis. *Mov Disord* 9:297–304
- Ueno S, Maruki Y, Nakamura M et al (2001) The gene encoding a newly discovered protein, chorein, is mutated in chorea-acanthocytosis. *Nat Genet* 28:121–122
- Vital A, Bouillot S, Burbaud P, Ferrer X, Vital C (2002) Chorea-acanthocytosis: neuropathology of brain and peripheral nerve. *Clin Neuropathol* 21:77–81
- Walker RH, Danek A, Dobson-Stone C et al (2006) Developments in neuroacanthocytosis: expanding the spectrum of choreatic syndromes. *Mov Disord* 21:1794–1805

## 特集2：モデル動物を用いた中枢神経系機能性疾患の病態解析

243-248

## モデル動物を用いた精神神経疾患の病態解析

中村 雅之\*, 佐野 輝\*

**Key words** : chorea-acanthocytosis, chorein, *VPS13A*, multifactorial complex disease, polygenicity, modified gene

## 1. はじめに

多くの精神神経疾患は、病因論的に多因子性の複雑な疾患 (multifactorial complex diseases) と考えられている。生物学的病因論における「多因子性」とは、多くの遺伝子の影響を背景に多種複雑な環境因子の絡み合いによって発生すると考えられるものである。「多因子性」の中でも多くの遺伝子が関与する多遺伝子性 (polygenicity) については、修飾遺伝子やエピスタシス (遺伝子座間の相互作用) の結論を明確にした研究はほとんどなく、また精神神経疾患の環境因に関する研究は端緒についたばかりである。有棘赤血球舞踏病は成人発症の緩徐進行性を示す遺伝性神経変性疾患であるが、同一家系内でも臨床表現型は多様であり、多彩で強い精神症状を伴うことから、症例によっては精神科病院で精神病として初期治療を受けていることも多い。我々はこのような単一遺伝子性精神神経疾患である有棘赤血球舞踏病の病態多様性に注目し、「多因子性」の本態に迫ろうと検討を重ねている。ここでは我々が解析を行っている有棘赤血球舞踏病モデルマウスの表現型について概説し、今後の展望について述べたい。

## 2. 有棘赤血球舞踏病

有棘赤血球舞踏病 (chorea-acanthocytosis; ChAc) は稀な遺伝性神経変性疾患で、主に線条体神経変性と末梢血赤血球に有棘赤血球症を来す。頻度に関しては疫学調査が現在進行形であるため詳細は不明であるが、全世界で200例ほどの症例が報告されている中で100例以上は日本国内の症例であり、国際的にも本邦に比較的多くのChAc患者が存在すると考えられている。ChAcは16～50歳頃に発症し、舞踏運動と有棘赤血球症のほか、多彩な精神症状、てんかん、末梢神経障害、ミオパチーなどを呈し、中には心筋症の合併症例も報告されている<sup>1)</sup>。不随意運動は顔、口腔、咽頭や喉頭にも生じることが特徴的であり、自咬症や構音障害を来すことが多く<sup>16)</sup>、嚥下困難となり栄養失調のために体重減少を来すことがしばしばある。てんかんが約半数の症例で認められ、家族性の側頭葉てんかんと診断されていた例も存在する<sup>2)</sup>。ChAcには精神症状の強い例も多く、抑うつ、強迫症状、認知症症状を伴うものや<sup>11)</sup>、統合失調症様と診断されていることもある<sup>19)</sup>。また、ChAcの特徴的な症状の一つである自咬症に

Pathophysiological analysis for multifactorial neuropsychiatric diseases using ChAc-model mouse

\*鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 精神機能病学分野 [〒890-8520 鹿児島市桜ヶ丘8-35-1] Masayuki Nakamura, Akira Sano : Department of Psychiatry, Kagoshima University Graduate School of Medical and Dental Sciences, 8-35-1 Sakuragaoka, Kagoshima 890-8520, Japan

[中村雅之 E-mail : nakamu36@m.kufm.kagoshima-u.ac.jp]

についても精神症状的色彩の関与が考えられている<sup>18)</sup>。我々が臨床経過を追跡した症例では、激しい強迫症状を含めた多彩な精神症状を認めた後に進行性に frontosubcortical dementia の病像を呈し、機能画像上でも大脳基底核から前頭葉へ病変の拡大が認められた<sup>9)</sup>。従来 ChAc の臨床遺伝型に関しては、「メンデル遺伝にのつとる単一遺伝子疾患で常染色体劣性遺伝形式」とされてきたものの、同一家系内でも発症年齢や症状は多彩で、疾患変異をヘテロ接合性に有す保因者に様々な部分症状が認められる家系や、疾患変異がヘテロ接合性にしか見つからないケースの報告もあり<sup>5) 6) 13)</sup>、その遺伝形式は常染色体劣性遺伝だけでは説明がつかない場合もある。

### 3. ChAc の病因遺伝子 *VPS13A* と遺伝子産物 chorein

ChAc の原因遺伝子 *VPS13A* (vacuolar protein, sorting 13A) (当初は *CHAC* 遺伝子と呼ばれていた) は 9 番染色体長腕に存在する<sup>12) 16)</sup>。この遺伝子のゲノム上の全長は約 244kb であり、70 個以上のエクソンから構成され、mRNA 長は約 10kb であり、複数のスプライシングバリエーションが存在する<sup>11) 17)</sup>。*VPS13A* の遺伝子産物である chorein は、分子量が約 360kDa の巨大なタンパク質であり<sup>3) 9)</sup>、ウエスタンブロットでは野生型マウスの精巣、腎臓、脾臓や脳の各部位において他臓器に比して強い免疫反応を認め、脳の細胞下画分ではシナプトソーム、ミクロソーム画分に強い免疫反応を認め、これらの組織や細胞下画分に chorein が豊富に存在することが予想された<sup>9)</sup>。出芽酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) における *VPS13* の無発現変異体 (null 変異体) は、液胞タンパク質の局在異常を認め<sup>1)</sup>、また粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) における *VPS13A* の相同遺伝子である *TipC* 遺伝子の変異体では cell sorting の異常を示した<sup>14)</sup>。これらから chorein が細胞骨格に存在し細胞輸送などに関与することが示唆されるが、機能の詳細はいまだ不明である。

### 4. ChAc モデルマウスの遺伝子構造

我々はマウス *Vps13a* 遺伝子のエクソン-イントロン構造がヒトと同一であることを見出し、ヒト ChAc で発見されたエクソン 60 - 61 欠失変異 (Ehime 欠失変異) と同一変異をきたす遺伝子改変マウスを相同組換え法により作成した<sup>15)</sup>。図 1 A に ChAc モデルマウスにおける *Vps13a* 変異のコンストラクトを示す。エクソン 60 と 61 がネオマイシン耐性遺伝子 (*Neo*) に置換され、この変異によって mRNA はエクソン 60 と 61 が欠失しフレームシフトを来たすことにより下流に終止コドンが生じ、理論的には約 310kDa の短い変異 chorein タンパク質が作られることになる。変異部位より上流アミノ酸配列を抗原として認識する chorein 抗体を用いたウエスタンブロットでは、理論上変異 chorein を認識できるはずであるが、ホモ接合性変異マウスには 360kDa の全長 chorein も 310kDa の変異 chorein に相当するバンドは認めなかった (図 1 B)。全長 chorein のバンドが無いことから変異導入がなされていることは明らかであり、変異 chorein のバンドを認めないことから、タンパク質翻訳前に変異 mRNA が分解 (Nonsense-mediated mRNA decay) を来していることが示唆された。

### 5. ChAc モデルマウスの表現型

主として 129/Sv と C57BL/6J のハイブリッドをバックグランド遺伝子としてもつ F2 世代について表現型解析を行った<sup>15)</sup>。結果として得られた ChAc モデルマウスの表現型について表 1 にまとめた。

#### 1. 寿命, 体重, 発症年齢, および生殖能力

ホモ接合性に変異をもつマウス (ChAc モデルマウス) は生存可能であり、野生型と比較しても寿命や体重変化について有意な差異は認めなかった。また、これらのマウスは 70 週齢以上になりようやく表現型として運動機能異常と赤血球形態変化を示した。ChAc モデルマウスにおける遅発

表1 ChAc モデルマウス表現型<sup>8), 15)</sup>

週齢:	<70 週	>70 週
	野生型マウス vs ChAc モデルマウス	
生殖能力		
オス	なし	
メス	あり	
寿命		有意差なし
体重減少	有意差なし	有意差なし
血液学的検査		
赤血球浸透圧脆弱性検査		
50%溶血 (C50)	有意差なし	野生型マウス < ChAc モデルマウス*
運動試験		
フットプリント検査		
歩幅長	有意差なし	野生型マウス > ChAc モデルマウス**
ロータロッド検査		
落下潜時	有意差なし	野生型マウス > ChAc モデルマウス*
行動試験		
オープンフィールド		
総移動量	有意差なし	野生型マウス > ChAc モデルマウス*
社会相互作用		
接触時間	有意差なし	野生型マウス > ChAc モデルマウス*
神経伝達物質解析		
HVA (mid brain)	-	野生型マウス > ChAc モデルマウス*
NE, DA, 5-HT, 5-HIAA, GABA	-	有意差なし
脳病理		
線条体重量比 (線条体/全脳)	-	野生型マウス > ChAc モデルマウス*
TUNEL 陽性細胞数	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス**
GFAP 染色	-	野生型マウス > ChAc モデルマウス
他		
Gephyrin		
ウエスタンブロット		
線条体	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス**
海馬	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス*
免疫組織化学染色	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス
GABA <sub>A</sub> 受容体 $\alpha 1$ サブユニット		
ウエスタンブロット		
線条体	-	有意差なし
海馬	-	有意差なし
免疫組織化学染色	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス
GABA <sub>A</sub> 受容体 $\gamma 2$ サブユニット		
ウエスタンブロット		
線条体	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス*
海馬	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス**
免疫組織化学染色	-	野生型マウス < ChAc モデルマウス

\*P &lt; 0.05, \*\*P &lt; 0.01

#### 4. ChAc モデルマウスの行動障害

一般にマウスは新奇環境下に置かれたとき、周囲を探索行動する。マウスを普段の飼育環境より広い四角形に囲った新奇環境（オープンフィールド）下に置き、そのマウスの移動距離を測定することにより自発運動量を解析した。その結果 ChAc モデルマウスは野生型マウスと比べると総移動距離が有意に低下していた。社会的相互作用を評価するためにオープンフィールド下にあらかじめ1匹の野生型雄マウスを置いておき、引き続き2匹目に ChAc モデルマウスや野生型マウスの雄マウスを入れ、2匹の接触時間を計算した。その結果、野生型マウスに比べて、ChAc モデルマウスは有意に接触時間が短く、フィールド内の縁にいる時間が長かった。

#### 5. 脳での神経伝達物質分析

モノアミンとそれらの代謝物質、および GABA について、海馬、線条体、大脳皮質、小脳、脳幹、およびその他（中脳、視床、および視床下部）の脳6領域のホモジネートを用いて測定したところ、ドーパミン代謝産物（中脳を含む部分の HVA）だけが ChAc-モデルマウスにおいて有意に低い値を示した。

#### 6. 神経病理

脳部位/全脳の重量比は線条体において ChAc モデルマウスは野生型マウスより有意に低く、選択的線条体神経変性の存在が示唆された。アストロサイトを特異的に認識する抗 GFAP (Glial fibrillary acidic protein) 抗体による免疫組織化学染色では、ChAc モデルマウスの線条体と黒質網様部に個体によって異なる軽度から重度の様々なアストログリオシスを認めた。

アポトーシス細胞では核内で遺伝子 DNA の断片化が生じる。この断片化した DNA 断片を標識する TUNEL (TdT-mediated dUTP-biotin Nick End Labeling) 染色を行ったところ、ChAc モデルマウスの線条体の TUNEL 陽性細胞の数は野生型マウスに比し有意に多いことを確認した。ChAc モデルマウスの TUNEL 陽性細胞の数は GFAP 陽性アストロサイト数より多く広い範囲で

染まっており、TUNEL 陽性細胞の大部分が神経細胞であることが示唆された。従って、ChAc モデルマウスでは線条体変性においては、神経細胞のアポトーシスが緩徐に進行しておりアストログリアが増勢していることが示唆された。

#### 7. Gephyrin と GABA<sub>A</sub> 受容体 $\alpha 1$ および $\gamma 2$ サブユニット<sup>6)</sup>

野生型マウスおよび ChAc モデルマウス各々5匹の線条体から抽出した RNA からマイクロアレイ発現解析を行ったところ、ChAc モデルマウスにおいて gephyrin 遺伝子発現が有意に高いことが明らかとなった。gephyrin は GABA<sub>A</sub> 受容体のアンカータンパク質として知られており、gephyrin と GABA<sub>A</sub> 受容体  $\alpha 1$  および  $\gamma 2$  サブユニットについて脳部位におけるタンパク質発現と局在をウエスタンブロットおよび免疫組織化学法によって比較した。ChAc モデルマウスの線条体と海馬の Gephyrin と GABA<sub>A</sub> 受容体  $\gamma 2$  サブユニットの免疫反応性は野生型マウスに比べて有意に高かった。従って、chorein 機能不全が gephyrin の upregulation を導き、gephyrin 関連タンパク質の発現レベル増加に関与していることが示唆された。

#### 6. まとめと展望

ヒト ChAc 変異と同一変異をもつ遺伝子改変マウスを相同組換え法により作成した。この ChAc モデルマウスは選択的線条体変性、運動障害、行動障害、有棘赤血球症などを呈しヒト ChAc と類似性が高いことが示された。神経病理学的には線条体神経変性には神経細胞のアポトーシスが関与することが示唆され、アストログリアの増勢を認めた。また、chorein 機能喪失により GABA<sub>A</sub> 受容体などの gephyrin 関連タンパク質が増加していることが示唆された。しかし、解析の中でもロータロッド試験やオープンフィールド試験でみられた運動・行動障害、アストログリアの増勢を含めた神経変性の程度、さらには神経伝達物質量の神経化学的測定値には大きな個体差が存在した。このように ChAc モデルマウスは病態の多様性を示すことから、「多因子性」を有しているものと考



えられる。解析に用いたマウスはストレイン 129 系と C57Bl 系の雑種を背景遺伝子として作成されたためこれらの遺伝子の組み換えの内容によって ChAc の発症に対してどちらかのストレイン由来の遺伝子が修飾遺伝子 (群) として影響を与えている可能性がある。今後、戻し交配により背景遺伝子を単一化した ChAc モデルマウスを作成し障害発生に関わる環境因子、すなわち食物、ストレス、環境の豊かさ等の影響の解析を行うと同時に、プロテオーム解析や遺伝子連鎖解析およびポジショナルクローニング法を用いて修飾遺伝子 (群) を同定し、「多因子性」の原因に迫りたいと考えている。

#### 文 献

- 1) Brickner JH, Fuller RS (1997) SOI1 encodes a novel, conserved protein that promotes TGN-endosomal cycling of Kex2p and other membrane proteins by modulating the function of two TGN localization signals. *J Cell Biol*, 139 : 23-36.
- 2) Danek A, Walker RH (2005) Neuroacanthocytosis. *Curr Opin Neurol*, 18 : 386-392.
- 3) Dobson-Stone C, Velayos-Baeza A, Filippone LA, et al (2004) Chorein detection for the diagnosis of chorea-acanthocytosis. *Ann Neurol*, 56 : 299-302.
- 4) Hardie RJ, Pullon HW, Harding AE, et al (1991) Neuroacanthocytosis. A clinical, haematological and pathological study of 19 cases. *Brain*, 114 ( Pt 1A) : 13-49.
- 5) Ichiba M, Nakamura M, Kusumoto A, et al (2007) Clinical and molecular genetic assessment of a chorea-acanthocytosis pedigree. *J Neurol Sci*, 263 : 124-132.
- 6) Ishida C, Makifuchi T, Saiki S, et al (2009) A neuropathological study of autosomal-dominant chorea-acanthocytosis with a mutation of VPS13A. *Acta Neuropathol*, 117 : 85-94.
- 7) Kageyama Y, Matsumoto K, Ichikawa K, et al (2007) A new phenotype of chorea-acanthocytosis with dilated cardiomyopathy and myopathy. *Mov Disord*, 22 : 1669-1670.
- 8) Kurano Y, Nakamura M, Ichiba M, et al (2006) Chorein deficiency leads to upregulation of gephyrin and GABA (A) receptor. *Biochem Biophys Res Commun*, 351 : 438-442.
- 9) Kurano Y, Nakamura M, Ichiba M, et al (2007) In vivo distribution and localization of chorein. *Biochem Biophys Res Commun*, 353 : 431-435.
- 10) Lin CH, Tallaksen-Greene S, Chien WM, et al (2001) Neurological abnormalities in a knock-in mouse model of Huntington's disease. *Hum Mol Genet*, 10 : 137-144.
- 11) Mizuno E, Nakamura M, Agemura A, et al (2007) Brain-specific transcript variants of 5' and 3' ends of mouse VPS13A and VPS13C. *Biochem Biophys Res Commun*, 353 : 902-907.
- 12) Rampoldi L, Dobson-Stone C, Rubio JP, et al (2001) A conserved sorting-associated protein is mutant in chorea-acanthocytosis. *Nat Genet*, 28 : 119-120.
- 13) Saiki S, Sakai K, Kitagawa Y, et al (2003) Mutation in the CHAC gene in a family of autosomal dominant chorea-acanthocytosis. *Neurology*, 61 : 1614-1616.
- 14) Stege JT, Laub MT, Loomis WF (1999) tip genes act in parallel pathways of early Dictyostelium development. *Dev Genet*, 25 : 64-77.
- 15) Tomemori Y, Ichiba M, Kusumoto A, et al (2005) A gene-targeted mouse model for chorea-acanthocytosis. *J Neurochem*, 92 : 759-766.
- 16) Ueno S, Maruki Y, Nakamura M, et al (2001) The gene encoding a newly discovered protein, chorein, is mutated in chorea-acanthocytosis. *Nat Genet*, 28 : 121-122.
- 17) Velayos-Baeza A, Vettori A, Copley RR, et al (2004) Analysis of the human VPS13 gene family. *Genomics*, 84 : 536-549.
- 18) Walker RH, Liu Q, Ichiba M, et al (2006) Self-mutilation in chorea-acanthocytosis : Manifestation of movement disorder or psychopathology? *Mov Disord*, 21 : 2268-2269.
- 19) Yamada H, Ohji T, Sakurai S, et al (2009) Chorea-acanthocytosis presenting with schizophrenia symptoms as first symptoms. *Psychiatry Clin Neurosci*, 63 : 253-254.

