

細胞脱落がみられたのは黒質のみであったと報告されており、病理所見のアクセントが、黒質に限局していたことが、臨床像と関連していたと推察される¹⁰⁾。

(3) CBDにおける画像所見

病理で確定診断された CBD における画像の報告は少ない。CBD に特異的な MRI 所見があるかどうかを CBS17 例(病理 CBD6 例と non-CBD11 例)で MRI を比較した検討では、大脳萎縮、脳梁の萎縮部位、皮質下白質・脳室周囲白質の T2WI 高信号いずれも、CBD に特異的な所見はなかったとされている¹¹⁾。一方、MRI 上の萎縮のスピードを検討した報告では、CBD は正常対照者、DLB(Dementia with Lewy bodies), AD, FTLD-U, PSP に比べて大脳萎縮および脳室拡大のスピードが速いと報告されている¹²⁾。

(4) CBD 臨床診断基準

CBD の臨床診断率が低いため、最近では臨床診断名の場合は、CBS(Corticobasal syndrome)という使い方をする場合が多い。しかし CBS の病理学的背景は様々で、CBS の中で病理診断が CBD だったのはわずか 23.8%と報告されている²⁾。すなわち CBS とは、CBD を含む heterogenous な疾患群である。

CBD の臨床診断基準は、1990 年よりいくつか提案されている。少しずつ違いはあるものの、‘左右差’、‘大脳皮質徴候’、‘錐体外路徴候’が inclusion criterion となっている点は共通である。一方、眼球運動障害および認知症は、診断基準によって inclusion criterion であったり、exclusion criterion とされたり、変化していた。最も新しい臨床診断基準¹³⁾(表 2)の特記すべき点は、‘cognitive symptom’が独立した主要項目とされ、認知機能障害の重要性が強調された点である。

‘cognitive symptom’として前頭葉性の遂行機能障害 (Frontal release signs, Reduced verbal fluency, Abnormal tests of frontal function) が

必須項目とされたことも、特筆すべきであろう。
表 2 Proposed diagnostic criteria of CBD¹³⁾

<p>History and presentation:</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Asymmetrical presentation</u>2. Insidious onset and gradual progression3. No sustained response to dopaminergic treatment <p>Motor symptoms:</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Akinetic-rigid syndrome</u>2. Myoclonus3. Dystonia <p>Sensory-motor symptoms:</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Apraxia</u>2. Alien limb syndrome3. Cortical sensory loss <p>Cognitive symptoms:</p> <ol style="list-style-type: none">1. <u>Signs of frontal-executive dysfunction</u>2. Visuospatial and number-processing deficits3. Language impairment, non-fluent progressive aphasia <p>診断:</p> <p>必須項目(各主要項目の 1 番目) 3 項目以上 および 支持項目(各主要項目の 2,3 番目) 4 項目以上</p>
--

D. 考察

CBD の剖検例の報告はきわめて少ない。様々な Brain Bank からの報告をみても、10 年以上の期間においても 10 数例という報告が多い²⁾⁴⁾⁵⁾。それゆえ、CBD の臨床像のスペクトラムが明らかにされるのに、時間を要したともいえる。

CBD の臨床症候は多様で、病理診断例からみると非典型例の方が多い。特に、認知症や、緩徐進行性失語症、PSP と臨床診断している症例の中に、CBD が存在している可能性を銘記すべきである。

CBD を臨床診断するためには、感度および陽性的中率が高い診断基準の作成が望まれるが、そのためには剖検例における臨床症候の詳細な検討が不可欠である。また今後は、既存の臨床診断基準には含まれていない臨床症候や、萎縮のスピードや画像上の左右差といった画像所見にも注目していく必要があるかもしれない。

E. 結論

CBD の臨床症候はきわめて多彩で、生前の臨床診断率は低い。非典型例としては、認知症が前景に立つ例、失語症が前景にたつ例、PSP の臨床像を示す例、PD の臨床像を呈する例などが報告されており、これらの疾患の中に、CBD が存在する可能性を念頭に置く必要がある。今後感度および陽性的中率の高い CBD 臨床診断基準の作成が望まれる。

F 文献

- 1) Rebeiz JJ et al.:Arch Neurol, 20-33, 1968
- 2) Ling H et al. :Brain, 2045-2057, 2010
- 3) 森松光紀ら：臨床神経, 1150-1153, 2002
- 4) Grimes DA et al.:Neurology, 1969-1974, 1999
- 5) Murray R et al.:Neurology, 1274-1283, 2007
- 6) Lang AE et al.:Neurodegenerative Diseases. 877-894, 1994
- 7) Boeve BF et al.:Ann Neurol, S15-19, 2003
- 8) Graham NL et al.:Mov Disord, 1224-1232, 2003
- 9) Takao M et al.:Neuropatholgy, 569-578, 2006
- 10) 鏡原康裕ら：BRAIN and NERVE, 637-645, 2007
- 11) Josephs KA et al.:Arch Neurol, 1881-1884, 2004
- 12) Whitwell JL et al.:Brain, 1148-1158, 2007
- 13) Bak T et al.:Handbook of Clin Neurol, 509-521, 2008

非典型的臨床像を呈する CBD

CBD の病理学的スペクトラム 非典型例の位置づけ

吉田眞理¹⁾，三室マヤ¹⁾，橋詰良夫²⁾

1) 愛知医科大学加齢医科学研究所 2) 福祉村病院神経病理研究所

研究要旨

病理学的に CBD と診断された 23 例を再検討した。臨床診断が CBD 例は 6 例 26%のみで、PSP が 9 例 36%と最も多く、その他はパーキンソン症候群、DLB、ALS-D、FTD、SND、PNLA、脳性麻痺などと診断されていた。典型的 CBD では左右差を伴う皮質の局在性変化が明瞭であるが、非典型例では皮質変性の左右差が不明瞭であったり、前頭葉前方に強い病変分布を示す例や、皮質の変性が軽微である例などがみられた。CBD の病理学的スペクトラムは広く、非典型例を包含する疾患概念の理解と再構築が望まれる。

A. 研究目的

大脳皮質基底核変性症（以下 CBD）は左右差を伴う大脳皮質の単症状とパーキンソン症候群を臨床的特徴とし、病理学的にはタウ陽性の細胞骨格異常が神経細胞のみならずグリアにも多数出現してくるタウオパチーである。Dicksonらによって提唱された CBD の病理診断基準では、CBD の大脳皮質にはアルツハイマー神経原線維変化のような線維形成に乏しい pretangle が多く、threads や coiled body が大脳白質、皮質に多数出現し、さらに astrocyte の突起遠位部のタウ陽性構造である astrocytic plaque を形態学的の指標としている（図1）。一方、CBD の大脳皮質病変の分布に関しては、局所的な皮質の萎縮は CBD を疑う特徴ではあるが、必須条件ではないとしている。これは CBD の特に大脳皮質病変が原著以来強調さ

れてきた laterality、focality という観点だけからでは、十分に捉えきれない側面を抱えていることを暗に示唆している。

CBD の典型的な臨床像を示す例では診断に問題がないとしても、臨床診断が困難な例が少なからず存在しており、現在の臨床診断基準のみでは包含できない症例も存在している。CBD では臨床診断と病理診断の解離例が多く、病理解剖によらないと正確な診断に到達できないという問題点は従来から指摘されていた。このような症例がきわめて例外的であるのか、あるいは CBD の臨床病理学的スペクトラム自体を再考する必要があるのかという問題が提起される。そこで病理学的に CBD と確定診断された症例から後方視的に疾患のスペクトラムを描出することを試みた。

B.研究方法

愛知医科大学加齢医科学研究所の剖検例4251例中、病理学的にDicksonらのCBDの病理診断基準に合致する23例（1985年ー2010年6月）を再評価した。病理学的な検索に関して家族の同意を得ている。20%中性ホルマリン固定、パラフィン包埋した大脳皮質、基底核、脳幹部、小脳、脊髄の各部位をHE、KB、Bodian、Holzer、Gallyas-Braak染色、リン酸化タウ（AT-8）、リン酸化ニューロフィラメント、GFAP、 β -protein、リン酸化 α -synuclein免疫染色などで病変分布と程度について検討した。

典型例と非典型例の区分けに関しては、CBDの臨床診断基準に照らして分類することが原則であるが、臨床診断の実態に即した解析がより疾患の全体像を把握する上で有用と考え、臨床的にCBDと診断されている症例を暫定的に典型例とした。

C.研究結果

(1) 症例の臨床像

23例の平均発症年齢は 62.7 ± 7.3 歳（51-79）、平均罹病期間は 5.8 ± 2.7 年（3-10）、平均死亡時年齢は 68.1 ± 8.0 歳（54-86）、男女比は9:14であった。

図2は23例の臨床診断を示す。臨床的にCBDと診断されていたのは6例26%のみで、進行性核上性麻痺（PSP）と診断されていた症例が9例36%と最も多く、その他は、パーキンソン症候群、Lewy小体型認知症（DLB）、認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症（ALS-D）、前頭側頭型認知症（FTD）、線条体黒質変性症（SND）、脳性麻痺などと臨床診断されていた。

(2) 典型的CBD

臨床的にCBDと診断されていた典型例の特徴として、病初期から左右差を伴う神経

症状が認められたことである。明瞭な左右差を示す場合は、臨床診断されやすい傾向にあった。

病理学的には、半側大脳半球萎縮を示し、萎縮のアクセントが中心溝付近から頭頂葉にある例、弁蓋部を含む前頭側頭葉にある例、前頭葉萎縮を示す例などが含まれていた。皮質変性の左右差、中心溝付近から頭頂葉あるいは弁蓋部の皮質変性が典型例の特徴といえる。

典型例では細胞脱落やグリオーシス、タウの病理像は萎縮の強い側に強調される。経過が長い例は細胞脱落や有髄線維の脱落が高度となり、タウの沈着自体も減弱する傾向を示す。

(3) PSPと臨床診断されているCBD

PSPと臨床診断されていた症例が9例36%と最も多く、これらの症例では皮質の左右差や前頭頭頂葉の局所変性が乏しい。また皮質の変性自体が軽度で淡蒼球、視床下核、黒質の変性が強く、パーキンソンニズムが前景となっている例が存在した。大脳皮質基底核変性症という疾患名であるが基底核変性症といえるような病変分布をとる場合があることを示している。またCBDではPSPに比して脳幹部被蓋や小脳歯状核などの変性が軽いとされているが、症例毎の差異が大きく、PSPと臨床診断されている例の中には脳幹部被蓋の変性が強い例も含まれていた。

CBDとPSPは病理学的に4リピートタウオパチーとして、タウ陽性の神経細胞とグリア細胞の細胞骨格異常を示す近縁疾患であるが、病理学的にはCBDはastrocytic plaque、PSPはtuft-shaped astrocyteという異なるアストロサイトの封入体を指標とし、この封入体は共存しない。PSPと臨床診断されている例のタウの細胞病理像は典

型例の CBD と同質であり、病理学的には明確に区別される。

(3) 前頭葉萎縮の強い CBD

前頭葉前方に強い変性分布を示す CBD では、前頭側頭型認知症の臨床像を示す場合があり、非典型的な CBD として分類されることになる。病理学的には前頭葉前方の皮質、白質の萎縮、側脳室前角の拡大がみられ (図 3)、中心溝付近の変性は軽度であるがタウの細胞病理像は典型例と同質である。

(4) 剖検例の経時的画像所見

剖検例の経時的画像所見を検討すると、CBD では皮質の左右差や病変分布とは別に、発症後 3、4 年経過すると比較的短期間に急速に皮質・白質の萎縮が進行し、MRI での白質の信号異常が強くなる例が多くみられた (図 4)。CBD の大脳白質は有髄線維の脱落が強く、タウ陽性封入体を多数含む病理像を合致する変化である。

D. 考察

23 例を典型例と非典型例に分類すると、大脳皮質病変の分布と強さが臨床像を規定している大きな要素であることがわかる。左右差を伴う皮質の巣症状は CBD という疾患概念の原著以来強調されてきた重要な要素であるが、病理診断例の後方視的検討では、必ずしも多くの CBD に認められるとは限らない。

一方非典型例とされる症例においても、皮質病変の分布やアクセントを除くと、タウの細胞病理像に違いは存在しない。左右差のある皮質の巣症状を絶対不可欠な要素として臨床診断基準を設定すると半分以上の症例が脱落してしまう危険性がある。

Ling らは Queen Square Brain Bank 1440 例(1989-2009)から病理学的に CBD

と診断された 19 例を検討し臨床的に CBD と診断されていた症例は 5 例 26%であり、14 例 76%は他の臨床診断であったとしている。今回の我々の検討と同様の結果であり、本邦でも欧米でも約 4 分の 1 の症例しか CBD と臨床診断されていないという実態が浮かび上がってくる。

今回の 23 例の検討から CBD のタウ細胞病理像は典型例、非典型例に関わらず同質であり、2 群を区別するタウ病理像の質的違いはみられない。病変分布とその強弱に大きな幅がありこれが臨床的には多様性を生み、臨床診断を混乱させている要因の一つだと推測される。

E. 結論

従来の CBD 疾患概念からは 4 分の 1 の症例のみが臨床診断されているにすぎない。剖検例からの後方視的検討では CBD の臨床病理学的スペクトラムは広く、非典型例とされる症例も包含する疾患の理解と診断基準の再考が望まれる。

F. 文献

- 1) Rebeitz JJ et al: Arch Neurol 18:20-33, 1968
- 2) Gibb WRG et al: Brain 112:1171-1192, 1989
- 3) Feany MB et al: Am J Pathol; 146:1388-1396, 1995
- 4) Hattori M et al, Acta Neuropathol (Berl.); 106:143-149. 2003
- 5) Yamada T et al: Neurosci Lett 120:163-166, 1990
- 6) Dickson DW et al: J Neuropathol Exp Neurol. 61:935-946, 2002
- 7) Ling et al. Brain 133; 2045-57, 2010

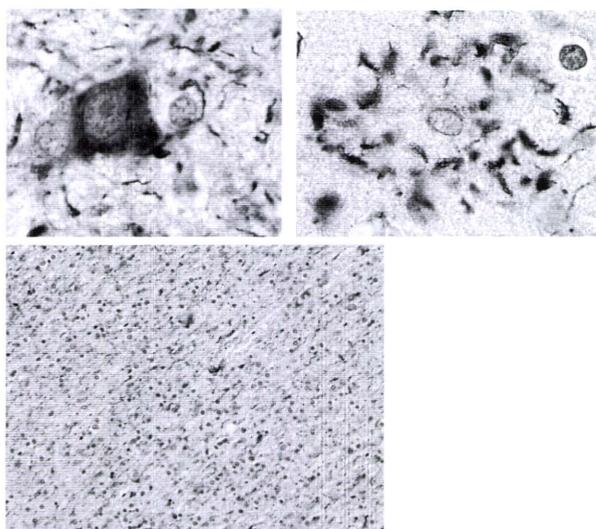
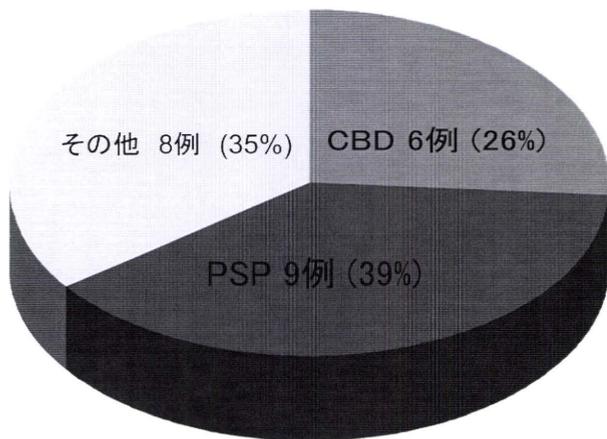


図1 CBD23例の臨床診断

病理学的に CBD と確定診断された症例の中で臨床的に CBD と診断されていたのは 6 例 26%、PSP と臨床診断されていたものは 9 例 39%、その他は 8 例 35% でパーキンソン症群、DLB、ALS-D、FTD、SND、PNLA、脳性麻痺が含まれていた。

図2 CBDのタウ病理

左上 pretangle、右上 astrocytic plaque、左下 threads
タウ免疫染色

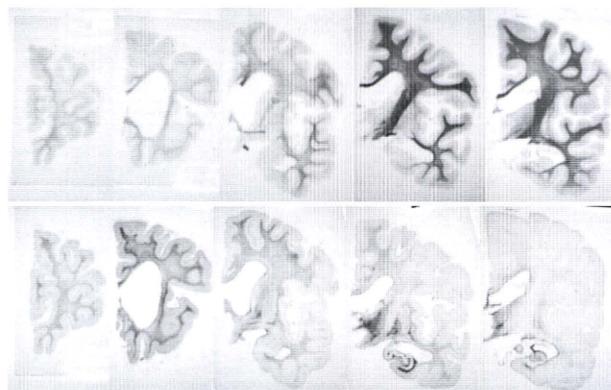


図3 非典型的 CBD の大脳皮質病変
前頭葉前方に強い皮質・白質の萎縮変性を認める。
上段 髄鞘染色、下段 Holzer 染色

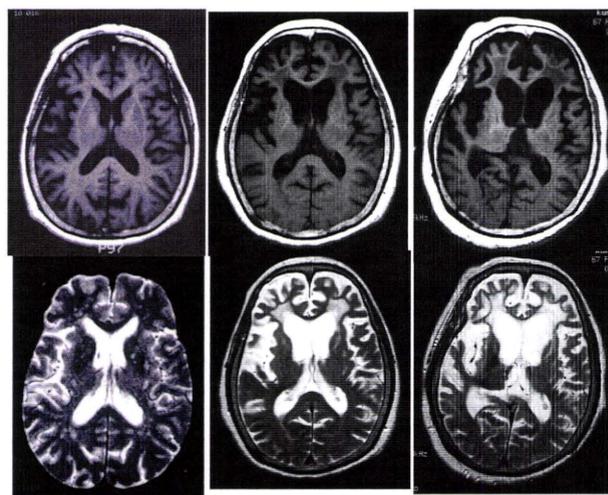


図4 CBDのMRI画像所見

左から発症 10 ヶ月後、3 年後、6 年後の MRI 所見では、進行性の大脳皮質・白質の萎縮と白質の T2WI 高信号が強くなっている。

本邦の *ALS2* 関連運動ニューロン疾患兄弟の臨床・電気生理

白川健太郎¹⁾, 細井泰志²⁾, 宮嶋裕明¹⁾

1) 浜松医科大学第一内科, 2) 聖隷浜松病院神経内科

研究要旨

これまで中東, 地中海沿岸諸国を中心に *ALS2* 関連運動ニューロン疾患の 16 家系が同定され, その表現型は juvenile amyotrophic lateral sclerosis (JALS), juvenile primary lateral sclerosis (JPLS), infantile-onset ascending hereditary spastic paralysis (IAHSP)のいずれかであるが, 本邦で同疾患の存在は確認されていなかった.

今回, 本邦において初めて同定された *ALS2* 関連運動ニューロン疾患兄弟の表現型が JALS であることを報告した.

A. 研究背景と目的

1990 年に Ben Hamida らがチュニジアから常染色体劣性遺伝形式を示す若年発症型筋萎縮性側索硬化症(JALS)の疾患家系を初めて報告した. 1994 年に同家系の連鎖解析から疾患遺伝子座(2q33)が特定され, 2001 年に同家系患者に特異的な一塩基欠失が存在する原因遺伝子“ *ALS2* ”が同定された. 現在までに中東, 地中海沿岸諸国から *ALS2* 変異の同定された 16 家系が報告され, いずれの症例でも上位運動ニューロンの障害が示されているが, 下位運動ニューロン徴候が確認され JALS として報告されている家系はチュニジア家系を含む 2 家系のみである.

われわれは 2009 年に本邦において初めて *ALS2* 関連運動ニューロン疾患患者の存在することを報告した. 今回, それら患者の臨床像と電気生理学的所見から本邦症例の下位運動ニューロン障害について報告することを目的とする.

B. 研究方法

Design: Case study.

Patients: Two manifesting Japanese brothers of *ALS2*-related disorder.

Interventions: Clinical and electrophysiologic examinations along with molecular investigations.

C. 研究結果

症例 1

兄 33 歳は生後 13 ヶ月での初歩時よりつま先歩きであり, 3 歳時に脳性麻痺の診断でアキレス腱延長術を受けた. 11 歳で構音障害, 12 歳で強制笑いを生じ, 14 歳で発話不能となった. 18 歳より上肢の巧緻運動障害を生じた. 痙性対麻痺に偽性球麻痺が加わり, さらに上肢への痙性麻痺の進展が加わった経過であるが, 知能障害はみられない. 現在, 強制笑い, 下肢優位の四肢痙縮, 両側 Babinski 徴候などの上位運動ニューロン徴候とともに下位運動ニューロン徴候である小作りで平坦化した舌萎縮と小手筋の萎縮(図 1)を認める.

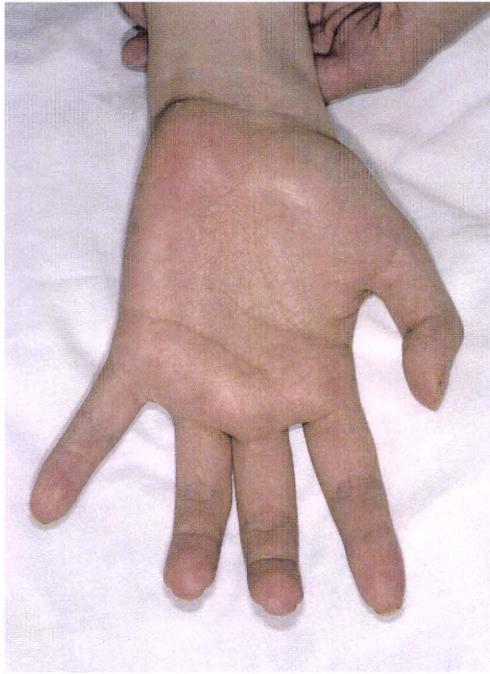


図1 兄の左手掌

母指球は萎縮し、母指が手掌と同一面に並ぶ猿手を呈している。

症例 2

弟 24 歳は兄と同様の進行性経過をたどったが、より軽症である。生後 13 ヶ月での初歩は正常で、2 歳で走ることができた。3 歳でつま先歩行となり、緩徐に痙性歩行は進行したが、現在も独歩可能である。12 歳より構音障害が生じ、発話内容の理解は困難である。兄と同様の下肢優位の痙縮と両側 Babinski 徴候を認める。舌萎縮は兄より明瞭であるが(図 2)、四肢筋の萎縮と筋力低下は軽度である。

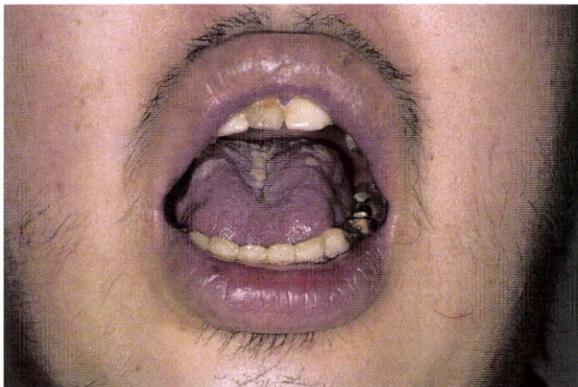


図2 弟の舌

舌表面の凹凸を認める。

兄弟の家系に近親婚はなく、両親に神経学的異常所見はない。

針筋電図

兄 29 歳時の針筋電図では舌(図 3)、四肢筋いずれでも多単性や instability の目立たぬ長持続、高振幅の運動単位電位が容易に単離でき、動員パターンは減少動員であった。線維自発電位や陽性鋭波は認めず、線維束自発電位もみられなかった。

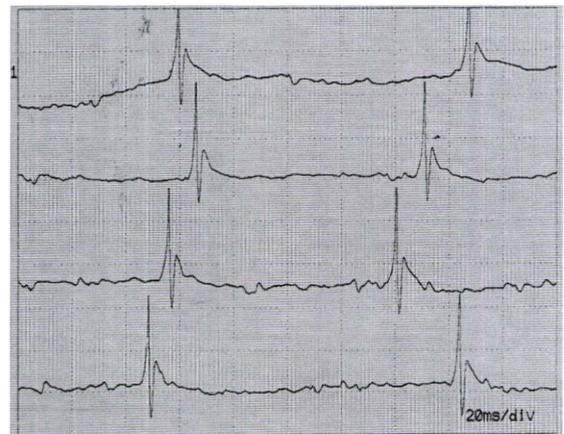


図3 兄、舌の針筋電図

持続 20 ms 程度、振幅 1.5-2.0 mV 程度で多単性や instability の目立たぬ運動単位電位が容易に分離同定された。(500 μ V/div, 20 ms/div)

弟 21 歳時の針筋電図も同様の所見であり、兄弟ともに安静時活動に乏しい、比較的再支配側枝が成熟していると考えられる非活動性神経原性変化の所見が主体であった。

遺伝子解析

兄弟の末梢血白血球からゲノム DNA と RNA を抽出し、ALS2 の全 34 エクソンと隣接イントロンを直接塩基配列決定し、c.3565delG と IVS22 +5 G>C の新規複合ヘテロ変異を同定した。いずれもフレームシフトによる異常な早期終始コドンを生じる変異であった。イントロン変異の効果は mRNA レベルでエクソン 22 のスキップを確認した。

D. 考察

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は上位・下位運動ニューロンの選択的、進行性脱落を来す難治性神経疾患である。多くは弧発性であるが、およそ1割の症例で家系内集積を認める。家族性ALSの多くは優性遺伝を示すが、Ben Hamidaらによって報告されたチュニジア家系に代表される劣性遺伝性ALSも存在する。

ALS2は劣性遺伝性の若年発症型ALSである。Ben Hamidaらの chronic juvenile amyotrophic lateral sclerosis (Group3: spastic pseudobulbar syndrome with spastic paraplegia)のチュニジア大家系をプロトタイプとし、初めてのALS2変異は同家系から同定された。しかし、その後ALS2変異の報告された疾患家系のほとんどは劣性遺伝性で若年発症ではあるものの上位運動ニューロン徴候のみで下位運動ニューロンの障害を欠くJPLSもしくはIAHSPの臨床型をとっており、ALS2変異を持つ運動ニューロン疾患を等しくALS2と呼ぶには問題がある。そのためALS2変異を持つ運動ニューロン疾患群はALS2-related disordersと総称されている。

本邦兄弟症例は舌や四肢の筋萎縮があり、針筋電図でも神経原性変化が裏付けられたため、その表現型をJALSとした。これまでALS2変異の同定されたJALS家系はBen Hamidaら、Kressらによる2家系の報告しかなかったが、本邦の症例においても緩徐進行性の下位運動ニューロン障害が存在することが確認された。

ALS2変異による臨床型にJALSとJPLS/IAHSPの差異が生じる原因は不明である。また、いまだALS2関連運動ニューロン疾患の剖検はなく、上位運動ニューロン、下位運動ニューロン障害の病理学的確認もされていない。本邦症例では下位運動ニューロン徴候の存在が確認されたが、ALS2関連運動ニューロン疾患の臨床像は上位運動ニューロン徴候が前景となるため、軽度の下位運動ニューロン障害は見過ごされる可能性もあると考えられる。ALS2関連運動ニューロン疾患においては、詳細な臨床観察また電気生

理的検査により下位運動ニューロン障害の有無を検討する必要がある。

E. 結論

- ・本邦にもALS2関連運動ニューロン疾患が存在する。
- ・本邦初の兄弟例はJALSの表現型を示した。
- ・ALS2関連運動ニューロン疾患ではJALSであつても下位運動ニューロン徴候が軽度である。したがってALS2変異を持つ症例における下位運動ニューロン障害の検討は詳細に行なう必要がある。
- ・本邦症例に近親婚はなく、複合ヘテロ変異での発症であり、弧発例と思われる症例でも幼小児期発症の上行性痙性対麻痺に高度の偽性球麻痺を伴う症例では本疾患の可能性を検討する必要がある。特に脳性麻痺、複合型痙性対麻痺と診断されている小児例のなかにALS2関連運動ニューロン疾患が存在する可能性があると推測される。

F. 文献

- Ben Hamida M et al. : Brain, 113:347-363, 1990.
Hentati A et al. : Nat Genet, 7:425-8, 1994.
Yang Y et al. : Nat Genet, 29:160-5, 2001.
Hadano S et al. : Nat Genet, 29:166-173, 2001.
Kress JA et al. : Ann Neurol, 58:800-3, 2005.
Shirakawa K et al. : Neurology, 73:2124-6, 2009.

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 22 年度 ワークショップ報告書

ALS でみられる封入体：何がわかって何がわからないか

岡本幸市

群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学

ALS でみられる封入体，とくに Bunina 小体，skein-like inclusions (SLIs), round inclusions (RIs), basophilic inclusions (BIs)について，我々が見た所見を中心にレビューを行った．Bunina 小体は ALS に特異的な封入体であり，免疫染色では cystatin C と transferrin が陽性であるが，その由来や構成蛋白はなお不明である．SLIs と RIs はリン酸化 TDP-43 (pTDP-43)陽性であり，pTDP-43 陽性構造物は乏突起膠細胞と思われるグリア内にも高頻度にみられた．BIs は抗 FUS 抗体で陽性であり，ER 関連抗体でもよく染まるが，SLIs と RIs は陰性であった．Bunina 小体，pTDP-43 陽性構造物および BIs を有する前角細胞では Golgi 装置の微細化が高頻度にみられた．抗 optineurin 抗体を用いた検討では，ALS でみられる封入体は陽性であり，さらに神経原線維変化，Lewy 小体，ballooned neurons など陽性であった．ALS の変性過程における封入体形成の病的意義，形成過程，他の細胞内小器官との関係など，解明されなければならない課題は多い．

A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の脊髄前角の神経細胞内には，Bunina 小体，skein-like inclusions (SLIs), round inclusions (RIs), conglomerate inclusions さらに軸索近位部の腫大した spheroid などがみられる．SLIs と RIs の主な構成成分はリン酸化 TDP-43 (pTDP-43)からなることが 2006 年に明らかにされたが(1)，Bunina 小体の構成成分はまだ不明である．また，神経細胞内以外にグリア内にも同様の封入体が見られている．ALS でみられる封入体について，分かっている点と分かっている点とを，我々が見た所見を中心にレビューする．

B.研究方法

多数の ALS 剖検例の脊髄を用いて，光顕的，電顕的に検索した．さらに種々の抗体を用いて免疫染色を行い，cystatin C については免疫電顕も行った．

(倫理面への配慮)

ALS の剖検は，遺族から文書による同意を得て行い，その材料の取り扱いには細心の注意を払っている．

C.研究結果と考察

1) Bunina 小体

弧発性 ALS の運動神経細胞内にみられる最も特徴的な数ミクロン大の封入体であり，胞体内と樹状突起内にみられるが，軸索内にはみられない(1, 2, 3)．PTAH 染色で陽性であることより，蛋白からなると考えられている．各種の抗体を用いた免疫染色では，現時点では抗 cystatin C 抗体と抗 transferrin 抗体で陽性である(2, 3)．電顕的には電子密度の高い無構造物質の集積からなっており，その辺縁には管状や小胞様構造がみられる．多数の観察からは，管状や小胞様構造の周囲に無構造物質が沈着するのが初期

像のように思われた。さらに Golgi 装置の近傍にも少量の無構造物質が沈着していた。免疫染色では Bunina 小体は pTDP-43, FUS, SOD1 は陰性である。この無構造物質の構成蛋白は不明であり、今後解明されるべき大きな課題である。

抗 cystatin C 抗体を用いた免疫電顕では、陽性所見は無構造物質ではなく、辺縁の管状や小胞様構造物に陽性所見がみられ (図 1), 細胞質内では Golgi 装置の cisternae に陽性所見がみられた。Golgi 装置を認識する抗体 (MG160, TGN46) では Bunina 小体は陰性であるが, Bunina 小体を含有する大半の神経細胞では Golgi 装置の微細化がみられた。ミラー切片で抗 TGN46 と抗 cystatin C 抗体を染色すると, Golgi 装置の微細化を示す神経細胞では cystatin C 陽性顆粒も微細化していた。通常の神経細胞の障害時には cystatin C は増加し, cysteine proteases を抑制することで神経細胞に保護的に作用していると考えられている。Bunina 小体の周囲に cystatin C が集積している意義については不明である。

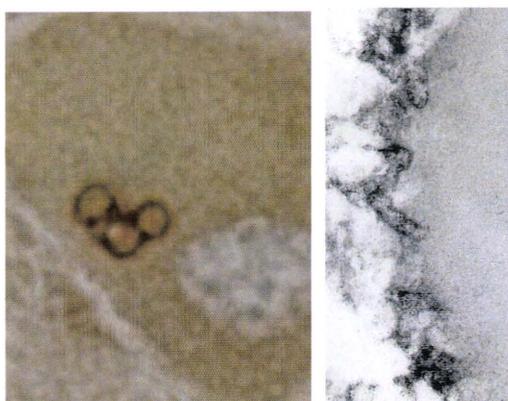


図 1 cystatin C の免疫染色 (左) と免疫電顕 (右) Bunina 小体の辺縁が cystatin C で陽性である。免疫電顕では無構造物質の辺縁の管状や小胞様構造物が陽性で, 無構造物質には陽性所見はみられない。

Transferrin は神経細胞では合成されないが, transferrin receptor を介してか, あるいは神経終末から逆行性に神経細胞に入るとされている。Bunina 小体が transferrin で陽性である意義は不明であり, 免疫電顕による検討はまだなされていない。

2) Skein-like inclusions と round inclusions

SLIs と RIs は弧発性 ALS の脊髄前角細胞内にみられ, 両者は ubiquitin, pTDP-43 が陽性であり, ubiquitin 化封入体, pTDP-43 陽性封入体として記載されることが多い。弧発性 ALS の前角細胞において, HE 染色で確認できる Lewy 小体様封入体 (中央が硝子様にエオジンで染まり周囲に halo を有する。議論はあるが, 本稿ではこれを round inclusions と同義語として扱った) は少ないが, pTDP-43 では多数の SLIs に加えて RIs 様に凝集した構造物も多くみられる。この凝集した構造物と HE 染色でみられる Lewy 小体様封入体は pTDP-43 が陽性であるという点で共通であるが, 微細構造には差異があり, また Lewy 小体様封入体は peripherin で陽性であることなどから, 同一構造物としてよいかどうかについてはまだ疑問が残っていると我々は考えている。

3) Spheroid

軸索近位部の腫大した axonal swelling (spheroid) は軸索輸送障害を反映し, ALS の早期病変としても注目されている。3 型中間径線維である peripherin に対する抗体を用いて検討すると, spheroid は peripherin で陽性であった。ミラー切片での検討では, pTDP-43 陽性構造物を有する神経細胞では peripherin も増加している傾向があったが, pTDP-43 の凝集と peripherin の増加との関係は今後の検討課題である。

4) Basophilic inclusions

R251C の変異を有する ALS6 の家系の剖検例では, BIs がみられ, それらは抗 fused in sarcoma (FUS) 抗体と抗 ubiquitin 抗体で陽性であり, また乏突起膠細胞と思われるグリア内にも FUS 陽性構造物がみられた。75 歳で剖検された MND with BIs の脊髄前角細胞内の BIs は抗 FUS 抗体で強く染色され, 封入体を有する神経細胞の核の中には FUS 陽性のものもみられた。この 75 歳の症例の ubiquitin 染色では, BIs の一部が部分的に陽性に染色された。

5) ERの異常と封入体

最近、家族性 ALS の検討などから、ALS の病態として RNA 代謝異常や ER(小胞体)の異常が注目されている。今回 RNA や ER 関連抗体として、抗 glucose regulated protein 78 (GRP-78) 抗体、抗 phosphorylated pancreatic ER kinase (pPERK) 抗体、抗 S6 ribosomal protein (5G10) 抗体を用いて検討した。ER stress response protein である pPERK と 5G10 は BIs で強く発現していたが、SLIs と RIs では陰性であった。GRP-78 は一部の BIs の周囲に微細な凝集物としてみられた。

6) ALS でみられる封入体と Golgi 装置との関連

Bunina 小体、pTDP-43 陽性構造物、SOD1 陽性封入体および BIs を含有する神経細胞の大半で Golgi 装置の微細化がみられている(5)。ALS の神経細胞での Golgi 装置の微細化の意義はなお不明であるが、蛋白合成過程の異常の一端を反映しているものと考えている。

これに比して、球脊髄性筋萎縮症では、Golgi 装置の微細化は少なく、Golgi 装置の大きさが対照に比して全般的に小型化していた(6)。また IC2 陽性核内封入体を有する前角細胞の Golgi 装置は微細化していなかった(6)。

7) Optineurin

最近 optineurin 遺伝子に異常のある家族性 ALS が報告され注目されている(7)。今回、抗 optineurin 抗体(Protein Tech)を用いて検討したところ、ALS では SLIs と RIs、認知症を伴う ALS 例の海馬歯状回顆粒細胞と大脳皮質の ubiquitin 陽性封入体が陽性であり、非 ALS 例では、神経原線維変化、老人斑内の腫大突起、Pick 球、Lewy 小体と Lewy neurites、CJD 例での ballooned neurons などが陽性であり、optineurin は ALS の封入体に特異的ではなかった。

8) グリア内封入体

神経細胞内でみられるものと同様の免疫染色性を示すグリア内封入体が高頻度にみられ、ALS

の病態解明には、神経細胞以外にグリアの検討がさらに必要である。

D. 結論

SLIs と RIs の主な構成成分は pTDP-43 であり、BIs の主な構成成分は FUS であることが明らかになってきた。しかし、Bunina 小体の構成成分はまだ不明である。ALS の変性過程における封入体形成の病的意義、形成過程、他の細胞内小器官との関係、またこれらの封入体形成が神経細胞死に直接関係しているか否かなど、解明されなければならない課題は多い。

E. 文献

- (1) Arai A, et al. Biochem Biophys Res Commun 2006; 351: 602-11.
- (2) Okamoto K et al. Neurosci Lett 1993;162(1-2):125-8.
- (3) Mizuino Y, et al. Acta Neuropathol 2006;112: 597-603.
- (4) Okamoto K. Neuropathology 2008;28:109-15.
- (5) Fujita Y, et al. J Neurol Sci 269(1-2):30-4.
- (6) Yaguchi M, et al. Amyotroph Lateral Sc 2003; 4: 17-21.
- (7) Murayama H, et al. Nature 2010;465(7295):223-6.

F.健康危険情報 なし

G.研究発表

1. 論文発表

- (1) Fujita Y, et al. Neuropathology, 2010 (on line)
- (2) Yamamoto-Watanabe Y, et al. J Neurol Sci 2010; 296(1-2):59-63.

2. 学会発表

藤田行雄ら. 第51回日本神経病理学会, 2010.

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

- 1.特許取得 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他 なし

ADAR2 活性と TDP-43：統一理論は可能か？

郭 伸

東京大学大学院 医学系研究科 神経内科学

研究要旨

RNA 編集酵素 ADAR2 の活性低下による AMPA 受容体サブユニット GluR2 Q/R 部位の RNA 編集低下、および TDP-43 陽性の細胞質封入体形成は孤発性 ALS 運動ニューロンに見られる疾患特異的分子変化である。本研究では、ADAR2 活性低下が運動ニューロン死の直接原因であることをモデルマウスの開発・解析により証明し、さらに ADAR2 活性低下と TDP-43 病理との分子連関の有無を患者脊髄の免疫組織化学により検討し、孤発性 ALS の病因に働く分子メカニズムを解析することを目的とした。ADAR2 活性低下が専ら GluR2 Q/R 部位の編集不全により運動ニューロン死を引き起こすことを明らかにした。また、ADAR2 活性低下と TDP-43 陽性封入体の出現・核からの TDP-43 喪失との間には密接な連関があり、前者が後者の上流の変化であることを示唆する結果を得た。これらの、孤発性 ALS に特異的且つ病因に関連する分子異常をさらに解析することにより、病因解明・特異治療法の開発に繋がると期待される。

A. 研究目的

グルタミン酸受容体サブタイプである AMPA 受容体サブユニット GluR2 (GluA2) は、転写後にその Q/R 部位にアデノシン→イノシン (A-to-I) 置換 (RNA editing) が起こる。これにより、Q/R 部位に一塩基置換が起こり (CAG=グルタミン Q → CIG=CGG=アルギニン R)、Q/R 部位が R に置換された編集型 GluR2 をサブユニットに含む AMPA 受容体は Ca²⁺透過性が低下する。A-to-I 置換が行われないと AMPA 受容体の Ca²⁺透過性が増加するのみならず、ニューロンの過興奮によるけいれん重積(1)、運動ニューロン死(2)をマウスに引き起こす。したがって、GluR2 Q/R 部位の A-to-I 置換は、個体・運動ニューロンの生存にとり必須の生物反応である。生理的条件下でニューロンに発現する GluR2 mRNA は全て編集型であり、未編集型は全く発現していない。編集型 GluR2 のみを発現するのは、正常ニューロンのみならず、病的脳における死に行くニューロン、実験系における細胞死に陥っているニューロンにも共通するもので、この部位の A-to-I 置換は極めて高度に保存されていることは、この反応が生物学的に如何に重要であるかの証左でもある。

この部位の A-to-I 置換は、adenosine deaminase acting on RNA 2 (ADAR2)により特異的に触媒される。孤発性 ALS 運動ニューロンでは、未編集型 GluR2 の発現のみならず ADAR2 発現レベル・活性が低下している(3-5)。ADAR2 を運動ニューロン選択的にノックアウトしたコンディショナルノックアウトマウスでは、数ヶ月の時間経過で運動ニューロンの変性が生ずることから(2)、この分子変化が運動ニューロン死の一次原因であり、孤発性 ALS の病因と密接に関連する分子異常であると考えられる。

他方、孤発性 ALS の運動ニューロンには TDP-43 陽性の細胞質封入体が形成され、封入体を持つ運動ニューロンでは TDP-43 が核から喪失することも疾患特異性が高い病理学的変化であることが明らかにされている(6, 7)。さらに、TDP-43 遺伝子変異が ALS 発症の責任遺伝子異常の一つであること(8, 9)、が明らかにされていることから、TDP-43 のプロセシング異常が ALS に病因的意義を持つものと想定されている。また、TDP-43 のノックアウト動物は胎生致死であること、培養細胞系におけるノックダウンで細胞死が引き起こされることから(10, 11)、TDP-43 が生理的に重要な役割を持つ分子であること、その喪失が神経細胞死を引き起こしうるものであることが

示されている。

このように、GluR2 の RNA 編集異常、TDP-43 蛋白のプロセッシング異常は、ともにこれまでに孤発性 ALS に見出された分子変化の中でも最も疾患特異性が高い分子変化であり、しかも神経細胞死と直結する分子異常である。興味深いことに、いずれも SOD1 関連家族性 ALS の運動ニューロンには見出されていない(12-14)。従って、これらの疾患特異的分子異常が独立して生じているのか、互いに関連を持つ分子変化であるのかを明らかにすることは、ALS の病因を解明する上で避けて通ることのできない課題である。

本研究では、孤発性 ALS 運動ニューロンに見出された Q/R 部位未編集型 GluR2 の発現が運動ニューロン死の直接原因であることを、変異マウスの開発により証明し、孤発性 ALS の病因との関連性を検討すること、および、この分子変化が、もう一つの ALS 特異的病理変化である TDP-43 病理と分子連関を有するかどうかを検討することを目的とする。

B. 研究方法

1-1) マウス *ADAR2* 遺伝子の活性基ドメインをコードするエクソン 6-8 を 2 個の *LoxP* ではさんだ変異マウス *ADAR2^{flox/flox}* マウスを作製した。このマウスを、アセチルコリントランスポーターのプロモーターにより *Cre recombinase* を発現する *VACHT-Cre. Fast* マウスと掛け合わせ、*ADAR2^{flox/flox}/VACHT-Cre. Fast* (*ALS mouse by Knockout of ADAR2 in Motor Neurons: AKAMON or AR2*) マウスを作製した。このマウスは、約半数の運動ニューロンに *ADAR2* 遺伝子の活性を落とす変異マウスである。このマウスの行動、病理、生化学的変化を経時的に観察した。

1-2) さらに、*GluR2* 遺伝子を、Q/R 部位が R (CGG) 配列をとる人工遺伝子 *GluR-B^R* と入れ替えた変異マウス *GluR-B^{R/R}* と AKAMON マウスとを掛け合わせ、*ADAR2^{flox/flox}/VACHT-Cre. Fast/GluR-B^{R/R}* (*AR2res*) マウスを作製した。*AR2res* マウスは、*ADAR2* 活性を欠く運動ニューロンでも編集型 *GluR2* のみを発現する変異マウスである。AKAMON マウス、*AR2res* マウスを野生型マウスと比較し、行動、病理変化を経時的に観察した(2)。

2) *SOD1* 遺伝子変異のない孤発性 ALS 7 例 (59-75

歳)、神経疾患を有さない対照例 6 例 (58-78 歳) の剖検脊髄のパラフィン包埋ブロックより連続切片を作成し、抗 TDP-43 抗体 (Protein-Tech Group, Inc.)、抗リン酸化 TDP-43 抗体 (pS409/410 ; Cosmo Bio Co, Ltd)、抗 ADAR2 抗体 (RED1, Exalpa Biologicals) を用いて、免疫組織化学を行った。同一運動ニューロンにおける抗リン酸化 TDP-43 抗体陽性封入体の出現と ADAR2 の免疫活性を比較検討し、それぞれの免疫活性の有無により前角細胞を分類して算定した。ADAR2 免疫活性の特異性及び局在についてはヒト凍結脳脊髄、ラット脊髄を用いて Western blotting および免疫組織化学により確認した(15)。

3) TDP-43 の siRNA を培養細胞に導入した。また、野生型及び ALS 関連変異を挿入した変異 TDP-43 の全長及び断片を、培養細胞に遺伝子導入した。以上の操作を加えた培養細胞を 72 時間培養した後に総 RNA を回収し、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率の測定および ADAR2 mRNA 定量により ADAR2 活性の変化を検索した。

(倫理面への配慮)

研究の方法について、研究倫理委員会、動物実験委員会の承認を得、東京大学動物実験指針に基づいて研究を行った。

C. 研究結果

1-1) AKAMON マウスでは約 40% の運動ニューロンにおいて *ADAR2^{flox}* 遺伝子に *Cre* 発現依存性に組み換えが起こり、不完全長 *ADAR2* mRNA を発現していることを ISH, PCR 法にて確認した。これらの運動ニューロンでは *ADAR2* タンパクが発現していないことを免疫組織化学で確認し、更に GluR2 Q/R 部位の RNA 編集が全く起こらず、未編集型の *GluR2* mRNA のみが発現していることを単一ニューロンレベルで確認し、*ADAR2* 活性も消失していることを確認した(2)。

AKAMON マウスは、5 週齢以降 6 ヶ月齢にかけて緩徐進行性に運動機能の低下が認められ、有意な生存期間の短縮がみられた。さらに、運動ニューロンの変性像及びニューロン数の減少、脊髄前根においては有髄神経の変性と脱落が *Cre* の発現時期及び発現頻度に一致して緩徐進行性に認められた。運動ニューロンの脱落は *ADAR2* を欠損した運動ニューロンにのみ生じており、*ADAR2* 陽性運動ニューロン数には

Cre の発現がプラトーに達する 2 ヶ月齢以降有意な変化がなかった。ADAR2 陰性運動ニューロンの脱落は 1-2 ヶ月齢の間で最も顕著であり、その後徐々に進行し、12 ヶ月齢でも ADAR2 を欠損した運動ニューロンが少数残存していた。骨格筋の神経原性変化が電気生理学的、形態学的に確かめられ、神経細胞の脱落に伴う reactive microglia、reactive astrocyte の増加が認められた。また、運動性脳神経核では、いずれにおいても GluR2 Q/R 部位の編集率低下を認め、顔面神経核、舌下神経核のニューロンは神経細胞の脱落を脊髄運動ニューロン同様に認めたが、動眼神経核においては、編集率は低下しているにもかかわらず、神経細胞死は認めなかった(2)。

1-2) AKAMON マウス運動ニューロンの神経細胞死が未編集型 GluR2 のみによるかどうかを検討するために、ゲノムレベルで GluR2 Q/R 部位に R を発現するように操作した人工的な遺伝子を導入した GluR-B^{R/R} マウス(16)と AKAMON マウスを交配し、ADAR2 活性のないニューロンにおいても編集型 GluR2 を発現する変異マウス(AR2res)を作成した。その結果、AR2res マウスの運動機能の低下はみられず、ADAR2 を発現しない運動ニューロンにも変性が生じなかった(2)。

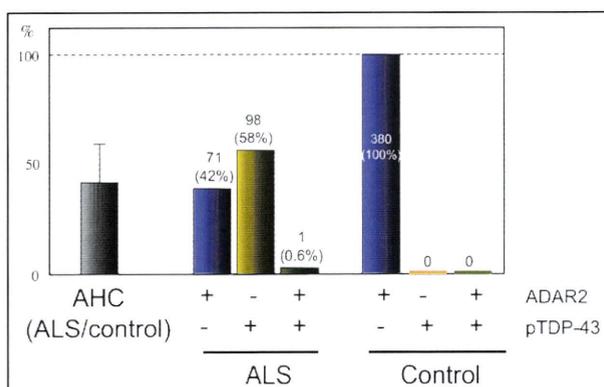


図 1 : 運動ニューロンの ADAR2 免疫活性低下とリン酸化 TDP-43 陽性封入体の相関 : 孤発性 ALS の運動ニューロンには正常対照には見られない ADAR2 陰性運動ニューロンが多数存在し(黄色)、全てにリン酸化 TDP-43 (pTDP-43) 陽性封入体が認められる(15)。

2) 検索した対照例の脊髄前角細胞の全て (n=360) が ADAR2 の免疫反応性を示した。ALS 例では、検索した 170 個の運動ニューロンのうち半数以上(58%)

が ADAR2 免疫活性を欠いていた。また、全ての ALS 例で ADAR2 活性のない運動ニューロンが存在した。全ての ADAR2 陽性細胞は核の TDP-43 免疫活性を有していたが、ADAR2 活性を欠く前角細胞の全ては核の TDP-43 免疫活性を欠き、且つ抗リン酸化 TDP-43 抗体陽性の封入体を細胞質内に有していた。ADAR2 活性と TDP-43 陽性封入体を共に有する運動ニューロンが 1 個 (0.2%) 存在したが、ADAR2 活性がなく TDP-43 陽性封入体もない運動ニューロンは観察されなかった(図 1) (15)。

3) TDP-43 のノックダウン、野生型・変異 TDP-43 全長、C 端断片、核局在シグナル (NLS)、核外以降シグナル (NES) を欠如した断片の遺伝子導入は、何れも ADAR2 活性に有意な影響を及ぼさなかった。

D. 考察

1) AKAMON マウスの解析により、ADAR2 活性のない運動ニューロンは緩徐進行性のニューロン死に陥ること、この神経細胞死は数ある ADAR2 基質の中でも GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常のみによっていることを明らかにした(2)。このことは、ADAR2 活性低下による運動ニューロン死は、未編集型 GluR2 の発現による AMPA 受容体の Ca²⁺透過性亢進を通じてのものであり、GluR2 Q/R 部位以外の ADAR2 編集部位は細胞死に関与しないことを示している。この結果は、孤発性 ALS では ADAR2 活性低下による GluR2 Q/R 部位の編集率低下が運動ニューロン死の直接原因であるという仮説を支持する(図 2)。ALS における病変の選択性はカルシウム結合タンパク発現レベルなど、カルシウム毒性への抵抗性の差によると考えられる。

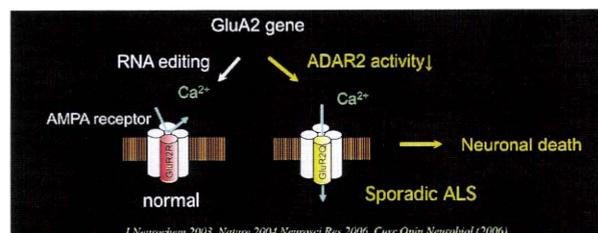


図 2 : 孤発性 ALS における ADAR2 活性低下仮説 : ADAR 活性低下により Q/R 部位が未編集の GluR2 を含む Ca²⁺透過型 AMPA 受容体が増加し、細胞内 Ca²⁺濃度の上昇による緩徐な神経細胞死を引き起こす。

2) 患者組織を用いた免疫組織化学の結果は、正常運動ニューロンは ADAR2 の発現量が高いが、ALS 運動ニューロンでは低下していることを反映すると考えられる。これは、正常の運動ニューロンは、編集型 GluR2 のみを発現するが、孤発性 ALS は相当数の運動ニューロンが編集型と共に未編集型 GluR2 を発現しているという結果(3)と符号する。

全ての ADAR2 陰性運動ニューロンには TDP-43 陽性封入体が検出でき、逆に 1 例を除き全ての ADAR2 陽性運動ニューロンには TDP-43 陽性封入体が観察されなかったことは、孤発性 ALS 運動ニューロンにおける ADAR2 活性低下、TDP-43 陽性封入体形成は独立に生じているのではなく、両者の間には密接な分子連関が存在することを示している。とくに、封入体には ADAR2 免疫活性がなかったことは、ADAR2 蛋白が非特異的に封入体に巻き込まれる変化は生じていないことを意味する(15)。ADAR2 も TDP-43 も核タンパクであることからタンパクレベルでの相互作用が想定されたが、少なくとも結合による相互作用の可能性は低いことを意味する。

3) ADAR2 活性低下と TDP-43 蛋白のプロセッシング異常との分子連関において、TDP-43 病理が ADAR2 活性低下をもたらしている可能性が低いことが、培養細胞におけるノックダウン、過剰発現実験により明らかになった。

E. 結論

孤発性 ALS 運動ニューロンに見出された Q/R 部位未編集型 GluR2 の発現は ADAR2 活性低下によること、この一連の分子変化は運動ニューロン死の直接原因となることが明らかになった。孤発性 ALS 運動ニューロンに疾患特異的にみられる TDP-43 病理は、ADAR2 活性低下と共存する分子変化であることが明らかになり、両者の間には分子連関があること、後者が前者を引き起こしている

可能性が高いことを示唆する結果を得た。今後は、ADAR2 活性低下がどの様にして TDP-43 陽性封入体を形成するのか、の分子メカニズムの解明が必要である。

文献

1. Higuchi M, *et al*, *Nature* 406: 78-81, 2000.
2. Hideyama T, *et al*, *J Neurosci* in press, DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2021-10.2010.
3. Kawahara Y, *et al*, *Nature* 427: 801, 2004.
4. Kwak S, *et al*, *J Mol Med* 83: 110-120, 2005.
5. Kwak S, *et al*, *Neuropathology* 30: 182-188, 2010.
6. Arai T, *et al*, *Biochemical and biophysical research communications* 351: 602-611, 2006.
7. Neumann M, *et al*, *Science* 314: 130-133, 2006.
8. Sreedharan J, *et al*, *Science* 319: 1668-1672, 2008.
9. Yokoseki A, *et al*, *Ann Neurol* 63: 538-542, 2008.
10. Wu LS, *et al*, *Genesis* 48: 56-62, 2010.
11. Iguchi Y, *et al*, *J Biol Chem* 284: 22059-22066, 2009.
12. Kawahara Y, *et al*, *Neurosci Res* 54: 11-14, 2006.
13. Mackenzie IR, *et al*, *Ann Neurol* 61: 427-434, 2007.
14. Tan CF, *et al*, *Acta Neuropathol (Berl)* 113: 535-542, 2007.
15. Aizawa H, *et al*, *Acta Neuropathol* 120: 75-84, 2010.
16. Kuner R, *et al*, *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 5826-5831, 2005.

OPTN 変異を伴う ALS の臨床的特徴

梶龍兒¹⁾，和泉唯信¹⁾，鎌田正紀¹⁾

伊東秀文²⁾，丸山博文³⁾，森野豊之³⁾，川上秀史³⁾

1) 徳島大学神経内科，2) 関西医科大学（現 京都大学）神経内科，3) 広島大学原爆研究所

研究要旨

最近、新しい ALS の疾患遺伝子として Optineurin 遺伝子 (*OPTN*) が報告された。Optineurin は従来遺伝性緑内障の疾患遺伝子として知られていたが、緑内障とは異なる ubiquitin-binding domain を中心とする変異 (heterozygous E478 mutation、homogygous Q398X mutation、homozygous exon 5 deletion) がこれら ALS 患者で見られた。臨床症状としては比較的対称性の筋萎縮が特徴で、経過は heterozygous E478 mutation > homogygous Q398X mutation > homozygous exon 5 deletion の順に長く、上位運動ニューロン徴候も対称性に見られた。長期生存例 (homogygous Q398X mutation 1 例、heterozygous E478 mutation 2 例) では前頭側頭型痴呆を伴い、剖検では中心前回を含む著明な前頭葉萎縮が見られた。Optineurin は正常では NF-κB により活性化されこれを抑制する feed-back 機能を有するが、これらの変異は wild type で見られる NF-κB 活性化を抑制する機能が欠落していた。Optineurin の前角細胞への異常な蓄積が heterozygous E478 mutation の剖検例でみられた。同様の蓄積は孤発性 ALS や SOD1 変異を伴う家族性 ALS でも見られ、前者では TDP-43 や後者では SOD1 と共存した。痴呆を伴う症例があることから NF-κB 系が ALS を含むより広い神経変性疾患の final common path となっていることが考えられ、この系が今後治療の target となる可能性が示唆された。

A. 研究目的

常染色体劣性遺伝を示す家族性 ALS の症例から疾患遺伝子を決定し、治療法開発についての知見を得る

B. 研究方法

我々の経験した OPTN 変異を伴う ALS 症例の臨床症状と剖検所見を中心に、この遺伝子変異の持つ意義を検討した。

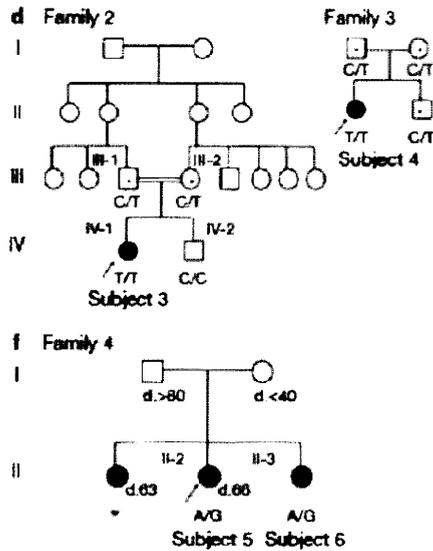
(倫理面への配慮)

遺伝子解析・剖検標本の作製にあたって徳島大学・広島大学の研究に関する倫理指針の答申を得て、個人のプライバシーに配慮し、研究を行った。

C. 研究結果

自験例を図 1 にあげる。d(Family 2,3) は homogygous Q398X mutation の家系で、f(Family 4) は heterozygous E478 mutation の家系である。

図 1



Subject 5 58歳 女性

【主訴】 両手指の巧緻運動障害

【現病歴】 56歳ごろから右手の示指に力が入りにくいことを自覚、次第に財布から小銭を出す、針仕事をするなどの動作が不自由。近医整形外科で頸椎症が疑われ牽引を受けたが無効。感覚症状はなし。両上肢の筋のピクツキを自覚

【既往歴】 10年前から難聴

【家族歴】 3歳年上の姉 1983年に両上肢の筋力低下で発症、現在嚥下障害+、呼吸困難

【徒手筋力テスト】

SCM 5/5 Tz 5/5 biceps 5/5 triceps 5/5 EDC4+/5

FDP 4+/4+ DIO4+/4+ APB 4+/5

Fasciculation 両上肢にみとめる

【反射】

Biceps ++/++ Triceps ++/++ PTR++/++ ATR+/+ jaw

-/- snout- Tromner+/+ Babinski equiv/equiv

Chad-/-

【感覚】 正常

【協調運動】 正常

【髄液】 protein 29 cell 1/3 Cl 121 MBP<0.5
oligocl. band - lymph subset: mono sl.
increased

【頸部 X p】 n. p.

【伝導検査・筋電図】 (1989.11)

上肢 CMAP 振幅低下+ 伝導ブロッカー

R DIO, FDP, biceps, APB fibrillation, psw+,
chronic partial denervation++

R SCM polyphasic long duration units+

SEP: P40 normal

【筋生検】 (R ECR)

Chronic denervation and reinnervation: large
grouped atrophy, pyknotic nuclear clump, fiber
type grouping+

【臨床診断】 SPMA (“familial distal spinal
muscular atrophy of the upper extremities”)

【経過】

その後、数年を経て腱反射の亢進など上位運動微
候と認知症を併発、呼吸不全をきたして死亡。

剖検所見は文献 1 に詳述。

OPTN の heterozygous E478 mutation を伴うことが
判明。

Subject 3 60歳 女性

【主訴】 しゃべりにくい

【既往歴】 高血圧、緑内障

【家族歴】 両親がいとこ婚

【現病歴】 2001年3月頃からしゃべりにくさが出
現し徐々に進行。

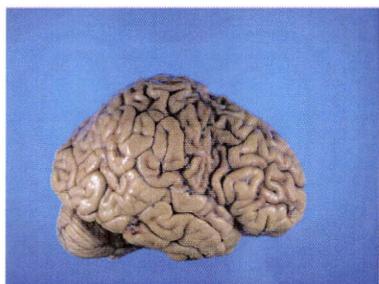
【現症】

発語 : 緩徐
脳神経系 : 舌萎縮あり、fasciculation あり
運動系 : 筋力低下なし、不随意運動なし
反射 : 下顎反射亢進、四肢で亢進、
Babinski 陰性
協調運動 : 指鼻試験、膝踵試験は異常なし
感覚系 : 温痛覚、触覚、振動覚異常なし
歩行 : 正常
自律神経系 : 特記事項なし

【経過】

その後 8 年の経過を経て、認知障害、上位運動ニューロン徴候の顕在化、筋萎縮が極めて対称性に進行。呼吸不全にて死亡。

図 2 Subject 3 の剖検所見



著明な中心前回・前頭葉の萎縮を示す

臨床症状としては比較的対称性の筋萎縮が特徴で、経過は heterozygous E478 mutation > homozygous Q398X mutation > homozygous exon 5 deletion の順に長く、上位運動ニューロン徴候も対称性に見られた。長期生存例 (homozygous Q398X mutation 1 例、heterozygous E478 mutation 2 例) では前頭側頭型痴呆を伴い、剖検では中心前回を含む著明な前頭葉萎縮が見られた。

D. 考察

痴呆を伴う症例があることから NF- κ B 系が ALS を含むより広い神経変性疾患の final common path となっていることが考えられた。

E. 結論

NF- κ B 系を抑制する薬剤が今後治療の target となる可能性が示唆された。

F. 文献

1. Maruyama H, Morino H, Ito H, Izumi Y, Kato H, Watanabe Y, Kinoshita Y, Kamada M, Nodera H, Suzuki H, Komure O, Matsuura S, Kobatake K, Morimoto N, Abe K, Suzuki N, Aoki M, Kawata A, Hirai T, Kato T, Ogasawara K, Hirano A, Takumi T, Kusaka H, Hagiwara K, Kaji R, Kawakami H. Mutations of optineurin in amyotrophic lateral sclerosis. *Nature*;465:223-226.

II. 研 究 報 告