

示されていること、 $K^+$ コンダクタンスの諸指標がそういった神経変性がある程度以上進行した段階でリスクとなるのに対して持続性 $Na^+$ コンダクタンスはこのような段階ではリスクとなっていないことなどから、今回の持続性 $Na^+$ コンダクタンスの増大は膜電位の脱分極とは異なる分子的イベントに伴って生じていることが考えられた。

今回の研究により運動神経の過剰興奮性がALSの神経変性の進行速度を規定する因子である、という当初の仮説に対する有力な傍証が得られた。このことは逆に神経の過剰興奮性を補正すると神経変性の進行速度が低下するという可能性も示唆するものであり、新規治療の開発という観点から注目すべきと考えられた。上記の通り、当研究からALSでは神経変性があまり進んでいない段階では持続性 $Na^+$ コンダクタンスがより強い影響を持っていることが示唆され、今後の新たな治療介入法の開発の観点から注目すべきと考えられた。

## E. 結論

運動神経軸索興奮特性検査の諸指標のうち、持続性 $Na^+$ 電流と関連する指標と $K^+$ 電流と関連する指標は、ALSにおける独立した予後規定因子であることが明らかとなった。

これらの指標が、持続性 $Na^+$ 電流については増大、 $K^+$ 電流については脱分極方向にシフトすると予後の悪化につながっており、運動神経の過剰興奮性がALSの神経変性の進行速度を規定する1つの有力な因子であるという当初の仮説に対する有力な傍証が得られた。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Noto Y, Shibuya K, Sato Y, Kanai K, Misawa S, Sawai S, Mori M, Uchiyama T, Iose S, Nasu S,

- Sekiguchi Y, Fujimaki Y, Kasai T, Tokuda T, Nakagawa M, Kuwabara S. Elevated CSF TDP-43 levels in amyotrophic lateral sclerosis: Specificity, sensitivity, and a possible prognostic value. *Amyotroph Lateral Scler* 2010 (in press)
  2. Kuwabara S. Excitability testing: From nerve to muscle. *Clin Neurophysiol*. 2010 (in press)
  3. Yamamoto T, Sakakibara R, Uchiyama T, Yamaguchi C, Nomura F, Ito T, Yanagisawa M, Yano M, Awa Y, Yamanishi T, Hattori T, Kuwabara S. Pelvic organ dysfunction is more prevalent and severe in MSA-P compared to parkinson's disease. *Neurourol Urodyn* 2010 (in press)
  4. Kuwabara S. Inward rectifying channels as new targets for treatment. *J Physiol* 2010;588:2523.
  5. Sawai S, Misawa S, Kanai K, Iose S, Shibuya K, Noto Y, Fujimaki Y, Sekiguchi Y, Nasu S, Nomura F, Kuwabara S. Altered axonal excitability properties in juvenile muscular atrophy of distal upper extremity (Hirayama disease). *Clin Neurophysiol*. 2010 (in press).
  6. Hirano S, Shinotoh H, Shimada H, Aotsuka A, Tanaka N, Ota T, Sato K, Ito H, Kuwabara S, Fukushi K, Irie T, Suhara T. Cholinergic imaging in corticobasal syndrome, progressive supranuclear palsy and frontotemporal dementia. *Brain* 2010;133:2058-68.
  7. Kuwabara S. It's not the end: physiologic assessment of E-C coupling of muscle. *Clin Neurophysiol* 2010;121:994-5.
  8. 神経生理学からみたALSの病態と治療展望. *BRAIN and NERVE* 2010;62:885-891
2. 学会発表
- 第52回日本神経学会学術集会にて発表予定

## 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

## 紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合における

### バイオマーカーの検討 脳脊髄液中リン酸化タウの解析

研究分担者 小久保康昌<sup>1)</sup>

研究協力者 中山由衣<sup>1)</sup>，葛原茂樹<sup>2)</sup>

1) 三重大学神経内科，2) 鈴鹿医療科学大学

#### 研究要旨

〔目的〕筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合（ALS/PDC）はグアム島と紀伊半島に多発する、地域特異性のあるまれな神経変性疾患である。ALS/PDCでは、中枢神経系に大量の神経原線維変化が出現することから、タウオパチーとして分類されている。これまでALS/PDCにおいて脳脊髄液（CSF）中のバイオマーカーに関して検討した報告はない。紀伊ALS/PDCの新しいバイオマーカーとしてCSF中におけるリン酸化タウ（p-tau）濃度を測定した。

〔方法〕紀伊ALS/PDC（n=12）、アルツハイマー病（AD；n=10）、パーキンソン病（PD；n=10）、ALS（n=12）、コントロール（n=5）について、INNOTEST® PHOSPHO-TAU<sub>(181P)</sub> kitを用いたELISA法によってCSF中のp-tau値を測定した。

〔結果および考察〕各疾患群におけるp-tauの平均値は、AD:44.6（10.5-113.8）、紀伊ALS/PDC:18.7（0-45.0）、PD:14.5（0-27.2）、ALS:20.2（1.1-43.0）、Controls:14.3（0-44.6）（単位はpg/ml、括弧内は測定値）。ADのp-tau平均値は他の疾患群の平均値と比較して有意に高値であったが、紀伊ALS/PDCを含むその他の疾患群間では、有意差がなかった。CSF中のp-tau値は紀伊ALS/PDCのバイオマーカーとは言えないが、ALS/PDCをADから区別することはできる可能性がある。PDCにはlate-life dementia formがあることが指摘されているが、これをADから区別できるかどうかについては、今後の検討を要する。

#### A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合（ALS/PDC）はグアム島と紀伊半島に多発する、地域特異性のあるまれな神経変性疾患である。ALS/PDCでは、中枢神経系に大量の神経原線維変化が出現することから、タウオパチーとして分類されている。これまでALS/PDCにおいて脳脊髄液（CSF）中のバイオマーカーに関して検討した報告はない。紀伊ALS/PDCの新しいバイオマーカーとしてCSF中におけるリン酸化タウ（p-tau）濃度を測定した。

#### B.研究方法

Kii ALS/PDC患者12例（ALS 3例、PDC 9例、男性6例、女性6例。平均年齢67.9歳）、AD患者10例（男性2例、女性8例。平均年齢55.4歳）、ALS患者12例（男性9例、女性3例。平均年齢61.7歳）、PD10例（男性8例、女性2例。平均年齢69.2歳）、Controls 5例（男性4例、女性1例。平均年齢36.2歳）の脳脊髄液を用いた。Kii ALS/PDC患者の臨床病型の内訳は、ALSが3例、PDCが9例であった。

#### 方法

##### ELISA法

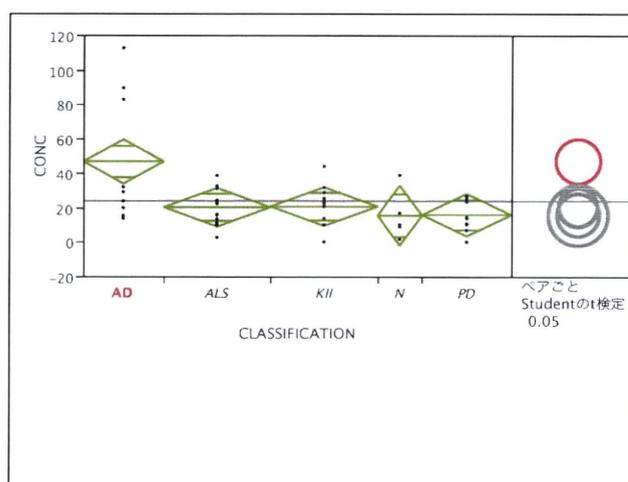
INNOGENETICS社のINNOTEST PHOSPHO-TAU ELISA kitを用いた固相免疫測定法によってCSF中のp-tau値を測定した。

(倫理面への配慮)

本研究は、三重大学倫理委員会の承認に基づき行った。

### C.研究結果

各疾患群における p-tau の平均値は、AD:44.6 (10.5-113.8, 紀伊 ALS/PDC:18.7 (0-45.0), PD:14.5 (0-27.2), ALS:20.2 (1.1-43.0), Controls:14.3 (0-44.6) (単位は pg/ml、括弧内は測定値)。AD の p-tau 平均値は他の疾患群の平均値と比較して有意に高値であったが、紀伊 ALS/PDC を含むその他の疾患群間では、有意差がなかった。



図の説明：グループ別髄液中リン酸化タウ蛋白濃度。紀伊 ALS/PDC では、AD を除く他のグループと比較して有意差がなかった。

### D.考察

アルツハイマー病の老人斑 ( $A\beta$ ) や神経原線維変化 (NFTs)、パーキンソン病の Lewy 小体 ( $\alpha$ -シヌクレイン) に代表されるように、神経変性疾患では異常蛋白の蓄積が確認され、蓄積そのものが病因に関わっていると考えられている。Kii ALS/PDC 患者の脳ではタウ蛋白と同様に TDP-43、 $\alpha$ -シヌクレインの蓄積が見られるが、分布量や範囲から、タウ蛋白の異常が中心的な役割をはたしているものと考えられている。

これまでの報告では、AD では、髄液中のタウとリン酸化タウは上昇し、 $A\beta$  は低下することが

明らかとなっている。ALS では髄液中タウがバイオマーカーとなるかについては様々な意見があり、明確ではなかったが、最近の報告では上昇しないとされている。PD では、認知症の有無によって差があるが、基本的には、上昇しない。またタウオパチーである PSP と CBD に関しては、髄液中 p-tau は上昇せず、Controls と差異がないとの報告がある。

今回の検討から Kii ALS/PDC について、患者脳脊髄液 (CSF) にはタウ蛋白の上昇が認められなかった。髄液中のタウ上昇には、脳内への  $A\beta$  蓄積の影響、タウ アイソフォームの影響などが考えられており、今回の結果は、PSP や CBD の結果と一致する。今回の検討から、CSF 中タウ蛋白は Kii ALS/PDC のバイオマーカーにはならないことがわかったが、今回の検討からも明らかのようにアルツハイマー病 (AD) では CSF 中タウ蛋白値は上昇するため、Kii ALS/PDC を AD から区別することはできる可能性があると考えられた。また、近年、グアム島や紀伊半島で認められる認知症のみを呈し、パーキンソニズムや ALS 症状を伴わない PDC の亜型 - late-life dementia form - と AD との鑑別にも、髄液中のリン酸化タウ測定が有用である可能性がある。

Kii ALS/PDC の発症機序を明らかにする上で、タウ蛋白という key protein の蓄積の原因とメカニズムを解明することが、今後の検討課題である。

### E.結論

CSF 中の p-tau 値は紀伊 ALS/PDC のバイオマーカーとは言えないが、ALS/PDC を AD から区別することはできる可能性がある。PDC には late-life dementia form があることが指摘されているが、これを AD から区別できるかどうかについては、今後の検討を要する。

### F.健康危険情報

なし

### G.研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

## 1. 論文発表

Kenju Hara, Yasumasa Kokubo, Hiroyuki Ishiura, Yuko Fukuda, Akinori Miyashita, Ryozo Kuwano, Ryogen Sasaki, Jun Goto, Masatoyo Nishizawa, Shigeki Kuzuhara, and Shoji Tsuji. TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. Am J Med Genet Part B. 479:245-248, 2010

## 2. 学会発表

Y, Kokubo, S. Kuzuhara. A Biological Marker of Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism-Dementia Complex of The Kii Peninsula Of Japan.-Analysis of Cerebrospinal Fluid Phosphorylated Tau-. 7th International Conference on Frontotemporal Dementias. Indianapolis,USA, 6-8 October.

## 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

## 紀伊半島 ALS 症例のアルツハイマー神経原線維変化(NFT)の分布

研究協力者 葛原茂樹<sup>1)</sup>  
小久保康昌<sup>2)</sup>、三室マヤ<sup>3)</sup>

- 1) 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部
- 2) 三重大学神経内科
- 3) 愛知医科大学加齢医学研究所

### 研究要旨

紀伊半島 ALS 集積地の ALS（紀伊 ALS）に出現するアルツハイマー神経原線維変化（NFT）が疾患特有の所見であるかどうかを検討するために、pure ALS の 4 例の NFT を Gallyas 染色とタウ免疫組織化学で検討した。その結果、NFT の出現量は症例ごとに異なったが、その解剖学的分布は脳幹、辺縁系、側頭葉、基底核と広範であり、非神経疾患例や他地域の ALS には認められない所見であった。これは、NFT 形成が背景所見ではなく、紀伊 ALS の原因や病態に深く関与している異常な所見であることを示唆する。

### A. 研究目的

西太平洋地域のグアム島と紀伊半島南部の牟婁地方には、筋萎縮性側索硬化症（ALS）とパーキンソン認知症複合（PDC）高集積地が存在する<sup>1)</sup>。PDC は病理学的には肉眼的脳萎縮と脳幹から大脳に及ぶ広範かつ大量の NFT 出現を特徴とするが<sup>2)</sup>、これら高集積地 ALS においても、典型的 ALS 病変に加えて NFT が広範に出現することが特徴で、両者の近似性から ALS/PDC と総称されている<sup>3)</sup>。

ところがグアムのチャモロ人では、非神経疾患剖検例においても若年期から NFT が様々な程度に広範に出現することから<sup>4)</sup>、NFT 出現は人種特異的な背景所見である可能性が指摘されている。更に、グアム ALS に見られる NFT は、質的量的に非神経疾患チャモロ人例の NFT と有意差がないことから、グアム ALS はチャモロ人に発生した古典的 ALS であって、グアム ALS という特別の疾患は存在しないという概念も提唱されている<sup>5)</sup>。

本研究では、紀伊 ALS に見られる NFT が、グアムと同じようにこの地域住民の病理学的拝見因子であるのか、それとも疾患特異的な異常所見であるのかを、臨床的には古典的 ALS と同じ選択的運動ニューロン症状のみを呈する pure ALS 例の NFT に焦点を当てて検討する。

### B. 研究方法

ALS 高集積 H 地区の ALS/PDC 剖検例の中で、臨床的に生前に選択的運動ニューロン症状のみを呈し、パーキンソニズムや認知症を生じなかった pure ALS 4 例の大脳、脳幹、小脳、脊髄のパラフィンブロック切片において、ルチーンの染色のほかに Gallyas 染色と AT-8 を抗体とするタウ免疫組織染色により NFT を染色し、その分布と出現量を検討した。対象 4 例の臨床的背景を Table 1 に、ALS 病変を Fig 1 と Table 2 に示す。

NFT 検討の比較には、既に報告した PDC と ALS をオーバーラップした例（PDC・ALS）<sup>6)</sup>、非 ALS/PDC 対照（Non-Neuro）には、H 地区の非神経疾患剖検 5 例（26-73 歳）<sup>7)</sup>を用いた。

### （倫理面への配慮）

本研究は既に三重大学医学部倫理委員会で承認された研究対象の一環である。

### C. 研究結果

Pure ALS の 4 例、Non-Neuro 4 例、PDC の 3 例と PDC-ALS の 2 例の所見のまとめを Table 3 に示す。非神経疾患の症例数は少なかったが、NFT は認められなかった。Pure ALS と PDC、PDC-ALS 例の NFT を比較すると、分布については両者において大差なく広範囲で、出現量は海馬、

海馬支脚、海馬傍回(Fig 2a) と脳幹灰白質の中脳水道周囲灰白質(Fig 2b)、黒質、青斑核、縫線核などに最も多く、次いで基底核、側頭葉、前頭葉の順であった。出現量は pure ALS 例において遥かに少なかったが、ALS 症例間のばらつきが大きく、少数のものから PDC に近いものまでがあった。

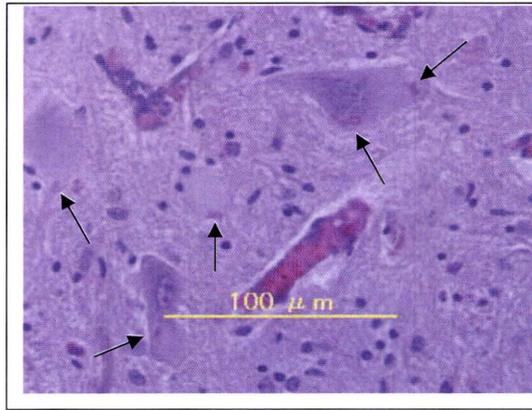


Fig 1 Anterior horn cells of the lumbar cord of case 4. There are many Bunina bodies (arrows) and some of the neurons show central chromatolysis. (hematoxylin-eosin staining)

Table 1 clinical background of 4 cases of pure ALS

All of them survived without tube feeding or respirator.

|   | 性 | 家族歴 | 生年   | 発症年齢 | 死亡年齢 | 罹病期間(年) | 初発部位    | 錐体路 | 球麻痺 | 上肢筋萎縮 | 下肢筋萎縮 | MRI      | SPECT |
|---|---|-----|------|------|------|---------|---------|-----|-----|-------|-------|----------|-------|
| 1 | F | +   | 1930 | 63   | 66   | 3       | 球麻痺     | +   | +   | +     | +     | NRL      | NRL   |
| 2 | F | +   | 1940 | 59   | 64   | 5       | 体幹cramp | +   | +   | +     | +     | F + mild | FTP + |
| 3 | F | -   | 1935 | 57   | 70   | 13      | 球麻痺     | +   | +   | +     | +     | F + mild | FT +  |
| 4 | F | 村外  | 1936 | 60   | 73   | 13      | 手萎縮     | +   | +   | +     | +     | NRL      | FTP + |

Table 2 Neuropathological findings consistent with ALS

| 症例 No | 性 | 脳重 g | 脳萎縮   | 錐体路変性 | 舌下神経変性 | 頸髄前角細胞変性 | 腰髄前角細胞変性 | Bunina 小体 |
|-------|---|------|-------|-------|--------|----------|----------|-----------|
| 1     | F | 1140 | -     | +     | 3+     | 3+       | 1+       | 1+        |
| 2     | F | 1275 | -     | +     | 2+     | 3+       | 1+       | 1+        |
| 3     | F | 1190 | 中心前回+ | +     | 3+     | 3+       | 1+       | -         |
| 4     | F | 1175 | F +   | +     | 3+     | 3+       | 2+       | 3+        |

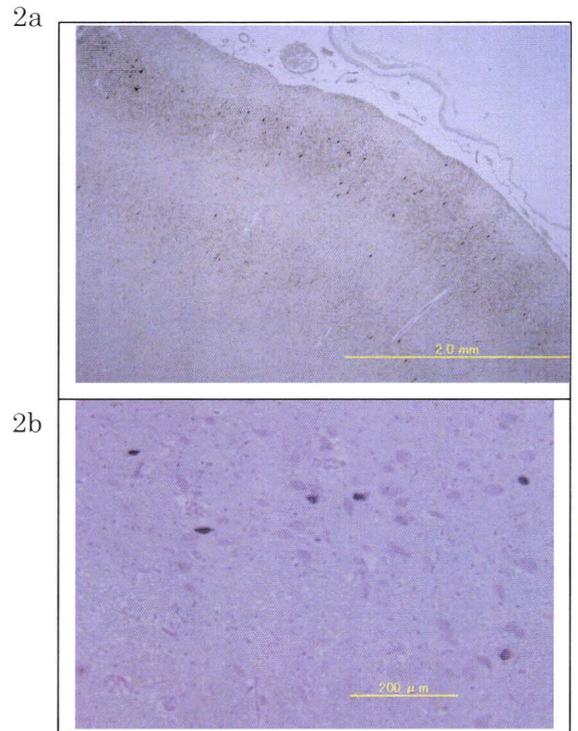


Fig 2 NFTs in the parahippocampal gyrus (2a, Tau immunohistochemistry with AT8) and periaqueductal gray matter (2b, Gallyas staining).

Table 3 Anatomical distribution and amounts of NFTs in pure ALS, PDC and PDC-ALS, and non-neurological conditions

|                    | Case 1 | Case 2 | Case 3 | Case 4 | PDC, PDC-ALS* | Non-Neuro** |
|--------------------|--------|--------|--------|--------|---------------|-------------|
| CA4                | 0      | 2+     | 0      | 1+     | 3+            | 0           |
| CA1                | 1+     | 3+     | 1+     | 2+     | 3+            | 0           |
| Subiculum          | 1+     | 3+     | 1+     | 3+     | 3+            | 0           |
| Presubiculum       | 1+     | 3+     | 1+     | 3+     | 3+            | 0           |
| Parahippocampal    | 1+     | 3+     | 1+     | 3+     | 3+            | 0           |
| Temporal isocortex | i      | 2+     | 0      | 3+     | 3+            | 0           |
| Temporal inferior  | i      | 1+     | 0      | 3+     | 3+            | 0           |
| Temporal middle    | i      | i      | 0      | 2+     | 3+            | 0           |
| Temporal superior  | i      | i      | 0      | 1+     | 3+            | 0           |
| Frontal            | 0      | 1+     | 0      | 1+     | 1+/2+         |             |
| Parietal           | 0      | 0      | 0      | i      | 13+           |             |
| Occipital          | 0      | 0      | 0      | i      | i/1+          |             |
| Amygdala           | i      | 3+     | 0      | 3+     | 3+            |             |
| Insular            | i      | 2+     | 0      | 1+     | 3+            |             |
| Striatum           | 0      | i      | 0      | i      | 1+            |             |
| Periaqueduct       | 2+     | 2+     | 1+     | 2+     | 3+            |             |
| Substantia nigra   | 1+     | 1+     | i      | 1+     |               |             |
| Locus ceruleus     | 1+     | 2+     | 1+     | 3+     | 3+            |             |
| Raphe              | 1+     | 2+     | 1+     | 3+     | 3+            |             |
| Dorsal bagal       | i      | 1+     | 0      |        | 1+            |             |
| Cerebellar dentate | 0      | 1+     | 0      | 0      | i/1+          |             |

\* Mimuro et al: Acta Neuropatholo 2007.

\*\* Kokubo et al: Neurology 2004

NFT amounts: (0) zero, (i) a few isolated, (1+) small, (2+) moderate, and (3) large number of NFT

#### D. 考察

紀伊半島 ALS 集積地の pure ALS 4 例の NFT の解剖学的分布と密度を、Gallyas 染色とタウ免疫組織化学を用いて検討した。Pure ALS の NFT の分布は、海馬、海馬傍回、側頭葉、脳幹部（特に中脳水道周囲灰白質）が好発部位で、中枢神経系全体に広がり、その分布は PDC や PDC-ALS とほぼ同じであった。このような広範な広がり、過去の我々の検討<sup>8)</sup>において、非神経疾患例は勿論のこと、三重県内でも牟婁地区から志摩にかけての熊野灘に面した南部の ALS のみに見られ、中部と北部の伊勢地域の ALS には認められなかった。なお、ALS での出現量は症例ごとに多少があったが、PDC や PDC-ALS 例よりは量的には少なかった。

グアムと最も異なる点として、ALS 集積地の非脳疾患の脳に、NFT は認められなかったことである。かつて検討した近隣地の非神経疾患例では、36 例中には 41 歳女性の 1 例に広範な分布の NFT が見られたのみで、35 例では海馬と海馬傍回にはほぼ限局していた<sup>7)</sup>。従って、紀伊 ALS の中枢神経系に広範囲に出現する NFT は、この地域の非神経疾患対照例や、三重県でもこの地域よりも北部の ALS には認められなかったことから、紀伊 ALS に特異な異常所見とみなすことができ、疾患の原因や病態との密接な関連が示唆される。

#### E. 結論

紀伊半島 ALS 高集積地の ALS（紀伊 ALS）の中枢神経系に、解剖学的に広範に分布して出現する NFT は、この地区の非神経疾患対照や他地域の ALS には認められない紀伊 ALS を特徴づける特異な神経病理学的所見であり、本症の原因や病態と密接な関連がある所見と考えられる。

#### 文献

- 1) Mulder DW, Kurland LT, Iriarte LL. Neurologic diseases on the island of Guam. *US Armed Forces Med J.* 1954;5:1724-39.
- 2) Hirano A, Malamud N, Kurland LT. Parkinsonism-dementia complex, an endemic disease on the island of Guam. II. Pathological features. *Brain.* 1961;84:662-79.
- 3) Hirano A, Malamud N, Elizan TS, et al. Amyotrophic lateral sclerosis and Parkinsonism-dementia complex on Guam. Further pathologic studies. *Arch Neurol.* 1966;15:35-51.
- 4) Anderson FH, Richardson EP, Okazaki H, et al. Neurofibrillary degeneration on Guam - Frequency in Chamorros and non Chamorros with no known neurological disease. *Brain.*

1979; 102:65-77.

- 5) Oyanagi K, Makifuchi T, Ohtoh T, et al. Amyotrophic lateral sclerosis of Guam: the nature of the neuropathological findings. *Acta Neuropathol.* 1994; 88:405-12.
- 6) Mimuro M, Kokubo Y, Kuzuhara S. Similar topographical distribution of neurofibrillary tangles in amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex in people living in the Kii peninsula of Japan suggests a single tauopathy. *Acta Neuropathol.* 2007;113: 653-658.
- 7) Kokubo Y, Kuzuhara S, Narita Y. Geographical distribution of amyotrophic lateral sclerosis with neurofibrillary tangles in the Kii peninsula of Japan. *J Neurol.* 2000; 415: 850-2.
- 8) Kokubo Y, Kuzuhara S. Neurofibrillary tangles of residents in ALS and parkinsonism-dementia complex focus in Kii, Japan. *Neurology* 2004;63:2399-401.

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

（発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入）

##### 1. 論文発表

- 1) Lin Li, Funayama M, Tomiyama H, et al. No evidence for pathogenic role of GIGYF2 mutation in Parkinson disease in Japanese patients. *Neurosci Let.* 2010;479 : 245-248.
- 2) Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, et al. Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan. *Brain* 2010;133: 3043-3057
- 3) 葛原茂樹. アルツハイマー病の治療戦略ーワクチン治療の限界と次のステップ. *Brain Nerve* 2010;62:659-666.
- 4) 葛原茂樹. 紀伊半島の ALS/パーキンソン認知症複合. *医学のあゆみ* 2010;235 : 731-736.

##### 2. 学会発表

共同演者のみ

#### 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

## 筋萎縮性側索硬化症における残存筋肉量の指標としての 血清クレアチニン/血清シスタチン C 比

研究分担者 中野今治<sup>1)</sup>

研究協力者 手塚修一<sup>1)</sup>，秋本千鶴<sup>1)</sup>，森田光哉<sup>1)</sup>，川上忠孝<sup>1)</sup>，池口邦彦<sup>1)</sup>

1) 自治医科大学 内科学講座神経内科部門

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の残存筋肉量の指標としての CysC/Cr について検討した。ALS 症例 62 例(男 39 例,女 23 例), 及び対照群 50 例(男 20 例,女 30 例)において, 血清クレアチニン(Cr)及び血清シスタチン C(CysC)を測定した。両者の比をとることにより腎機能の影響を除外すると, この比は残存筋肉量の指標になると考えられる。Cr と CysC の比と ALS 患者の病状重症度との相関について検討した。Cr と CysC の比は, 健常群と比べ, ALS 群において有意に低値を示した。また ALS の重症度が上がるにつれて, その値が低下していた。以上から, Cr と CysC の比は, ALS の重症度およびその経過を観察するうえで, 有用かつ定量的な指標となりうることを示された。

### A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)では全身の筋肉量が減少し, 筋肉量に依存する血清クレアチニン(Cr)は, 病気の進展とともに減少する。しかしクレアチニンは腎機能等の影響を受けることが知られているため, 全身の有核細胞から定常的に産生され, 性別・年齢の影響も少ないとされる血清シスタチン C(CysC)を用いて腎機能の影響を除くことができれば, より正確に病状の進行の評価に用いることができると思われる。

### B.研究方法(倫理面への配慮を含む)

ALS 症例は 62 例(男 39 例,女 23 例)で, 平均年齢は 62.9(±9.6)歳であった。その発症型は, 上肢型が 29 例, 下肢型が 16 例, 上下肢型が 7 例, 球型が 10 例。重症度についての内訳は, 厚生労働省の調査研究班の重症度分類(表 1 参照)を用いて, 1 度 5 例, 2 度 9 例, 3 度 13 例, 4 度 13 例, 5 度 22 例であった。また, 対照については, 筋萎縮を伴っていない疾患(脳梗塞・重症筋無力症等)の 50 例(男 20,女 30)で, 平均年齢は 62.8(±12.8)であった。

それぞれの患者の重症度分類評価と同時に, 血清 Cr 及び血清 CysC を測定し, またそれぞれの推算糸球体濾過量(eGFR)を算出し, 比較し分析した。

$Cr \cdot eGFR(ml/min/1.73m^2)$ は, 日本腎臓学会 CKD 対策委員会の式(下記)を用いた<sup>1)</sup>。

男:  $Cr \cdot eGFR = 194 \times Cr^{1.094} \times Age^{-0.287}$

女:  $Cr \cdot eGFR = 194 \times Cr^{1.094} \times Age^{-0.287} \times 0.739$

CysC  $\cdot eGFR$  は A. Rule(Kidney Int. 2006)の式(下記)を用いた<sup>2)</sup>。

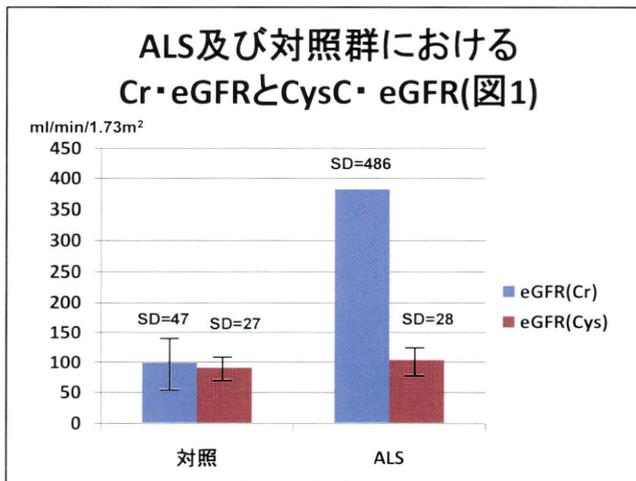
男及び女:  $CysC \cdot eGFR = 66.8 \times CysC^{1.30}$

### 重症度分類(表1)

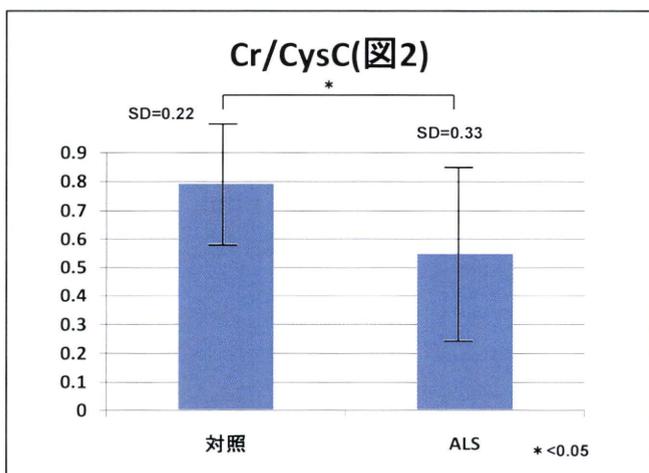
1. 家事、就労はおおむね可能。
2. 家事・就労は困難だが、日常生活は自立。
3. 自力で食事、排泄、移動のいずれか一つ以上ができず、日常生活に介助を要する。
4. 呼吸困難・痰の喀出困難  
あるいは嚥下障害がある。
5. 気管切開、非経口的栄養摂取、人工呼吸。

### C.研究結果

Cr及びCysCの推算糸球体濾過量(eGFR)の平均は、対照群においてCr・eGFR 98.5(±47)ml, CysC・eGFR 90.3(±26.9)ml, ALS群においてCr・eGFR 381.6(±486.9)ml, CysC・eGFR 103.3(±28.4)mlであった(図1参照)。ALS群におけるCr・eGFRが他と比べて非常に高値を呈していた。これは、ALS患者においては、残存筋肉量が少なく血清Crが低値を呈してしまうためと考えられた(図1)。

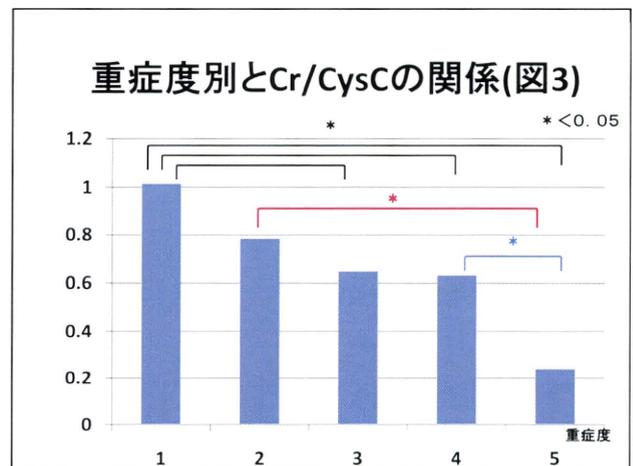


血清Crと血清CysCの比を示す(図2)。対照群の平均は0.79, 一方ALS群では0.54であった。ALS群において有意に低値を示した(t<0.05)。



ALS患者における重症度別(表1)のCrとCysCの比の平均を比較すると、重症度1が1.01, 重症度2が0.78, 重症度3が0.64, 重症度4が0.63, 重

症度5が0.23であり、重症度が上がるにつれて、その値が徐々に低下した(図3)。



尚、重症度4には、四肢の筋肉が比較的保たれている球麻痺型が多く含まれ、CrとCysCの比が見かけ上高値になっていると思われたため、球型を除いて同様にCrとCysCの比の平均を比較した。重症度1が1.01, 重症度2が0.78, 重症度3が0.64, 重症度4が0.45, 重症度5が0.16(図4)となり、全体よりも、重症度と伴に比の値が減少していくのが、明瞭に示された。

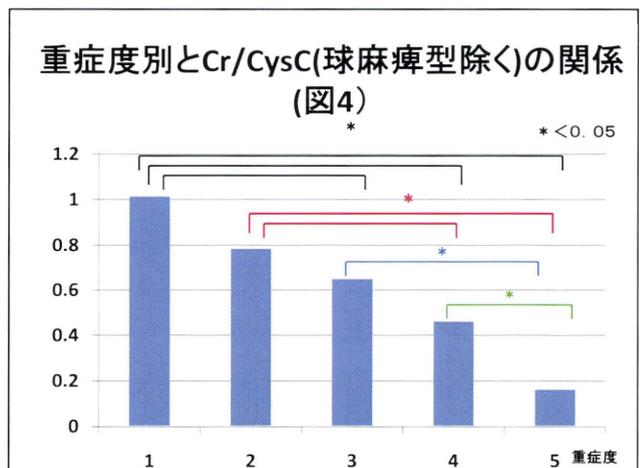
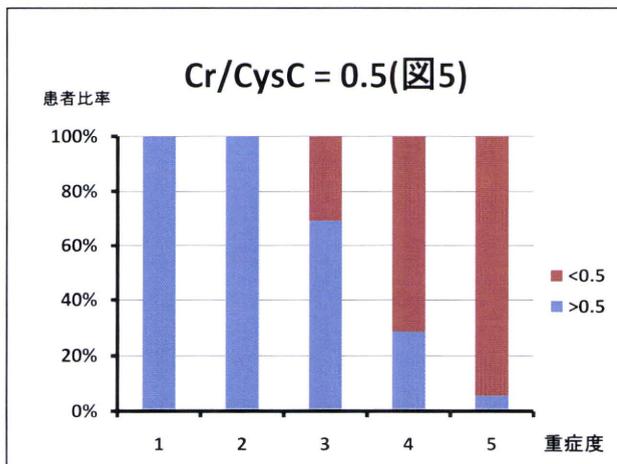
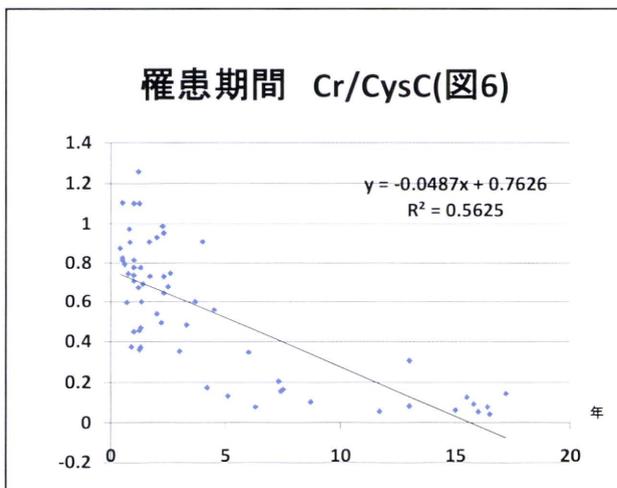


図5に、CrとCysCの比が0.5以上または、0.5以下の割合を重症度別に示す。0.5以下の割合が、重症度4で71%, 重症度5では94%と非常に高くなっていった。



Cr と CysC の比と、ALS の罹患期間との関係について、散布図を示す(図 6)。罹患期間が長くなるにつれて、Cr と CysC の比が相関して減少していくことが示された(相関係数=0.75)。



#### D. 考察

血清 CysC は、腎機能以外（筋肉量・年齢・性別等）の影響はほとんどないとされている。これと全身の筋肉量に依存する Cr との比をもとめ、腎機能の影響を除外し残存全身筋肉量の指標として用い分析した。Cr と CysC の比は、残存筋肉量が少ない ALS 群では有意に低値を示した。また、重症度が上がるにつれて、その値が低下していた。これは、重症度が増し全身の筋肉量が減少するにつれて、Cr と CysC の比が筋肉量を反映し減少すると考えられる。今回の重症度分類においては、球麻痺型の ALS 患者では全身の筋肉量が比較的多くても、重症度が高く分類されてしまうため、この型を除外しての分析も行った。その結

果、低下の割合が明瞭となって示され、Cr と CysC の比が全身の残存筋肉量を反映していることが明瞭に示された。

また、ALS の罹患期間と、Cr と CysC の比が負の相関として示すことも、同様に筋肉量の減少を反映しているものと考えられる。

Cr/CysC が 0.5 以下となると、ALS 患者の ADL が著しく低下しており、この値は臨床経過のひとつの critical point を示していると思われる。Cr と CysC の比は、ALS の病状の進行度を定量的に評価し、治療の評価・予後の判定に応用することが可能であると考えられた。

また、血清クレアチニンは、全身の筋肉量の影響を受けてしまうため ALS のような筋肉量が低下する疾患の場合は、過小評価されて正確に腎機能の評価することは難しい。このことは、図 1 で示しているように、ALS 患者における Cr・eGFR が、より正確な指標と考えられるシスタチン C を用いた eGFR と比べ突出して高値を示していることより証明することができた。そのため、ALS 患者の腎機能の評価するためには、筋肉量の影響を受けない血清 CysC を用いるべきであると考えられた。

#### E. 結論

Cr/CysC は、腎機能に影響されにくく、ALS 患者の全身筋肉残存量の指標として価値があり、ALS の治療の評価・予後の判定に応用できると考えられた。

ALS 患者の腎機能評価には、Cr は適応できず、CysC を用いるべきと考えられた。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

未定。

#### H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

特になし。

## ALS 患者の縦断像 (JaCALS からの解析)

研究分担者 祖父江元  
研究協力者 JaCALS 事務局  
熱田直樹，中村亮一，渡辺宏久伊藤瑞規，千田譲，加藤重典，田中章景  
名古屋大学神経内科

**研究要旨** 多施設共同 ALS 患者コホートである JaCALS に登録された 279 例の孤発性 ALS 患者前向き臨床情報を用いて、臨床経過に影響を与える因子や予後予測指標の探索を行った。発症から発語不能、嚥下不能、上肢機能廃絶、呼吸器導入、死亡に至る期間は発症年齢の影響を強く受けることが示された。また、ある時点から近い将来に深刻なイベントが出現するリスクを、進行度を反映する指標（%VC、ALSFRS-R）と進行速度を反映する指標（ $\Delta$ ALSFRS-R）の組み合わせで適切に評価できることが示された。

### <JaCALS 参加施設（21 施設）>

東北大学 青木正志  
新潟大学 西澤正豊  
自治医科大学 森田光哉 中野今治  
東京都立神経病院 川田明広 林秀明  
相模原病院 長谷川一子  
静岡てんかん神経医療センター 溝口功一  
東名古屋病院 饗場郁子  
名古屋大学 祖父江元（事務局）  
三重大学 谷口彰  
徳島大学 和泉唯信 梶龍兒  
鈴鹿病院 酒井素子 小長谷正明  
拓海会神経内科クリニック 藤田拓司  
群馬大学 池田将樹 岡本幸市  
北海道大学 加納崇裕 佐々木秀直  
宮城病院 今井尚志  
ピハーク花の里病院 日地正典、織田雅也、和泉唯信  
岡山大学 森本展年、阿部康二  
国立精神神経センター 中村治雄、村田美穂  
京都府立医科大学 滋賀健介、中川正法  
東京大学 高橋祐二、辻省次

順天堂大学 富山弘幸、大垣光太郎、服部信孝

### A.研究目的

Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis Research (JaCALS)は以下の4点を目的とする。

- ①筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者の多施設共同コホートを構築し、前向き縦断的自然歴を把握する。
- ②ALS 患者の臨床像、進行、予後の多様性に関する臨床的因子を探索する。
- ③前向き自然歴情報とリンクした ALS 患者大規模遺伝子リソースを構築する。
- ④ALS 患者の発症、臨床像、進行、予後の多様性に関する遺伝的因子を探索する。

JaCALS は 2003 年 7 月、神経変性疾患に関する調査研究班（研究代表者、葛原茂樹）幹事会で発案され、プロトコールの検討を経て 2006 年 2 月に症例登録が開始された。2008 年度からの中野班にも引き継がれ、症例登録は継続中である。今回、この JaCALS に登録されたデータから、ALS 患者縦断像の解析を実施し、臨床経過に影響

を与える因子や予後予測指標の探索を行った。

## B.研究方法

臨床調査票はすべて JaCALS 参加各施設内で連結可能匿名化を行い、名古屋大学内に設置した臨床データベースに入力する体制とした。医師による臨床評価は、病型、初発症状、肺活量、各種神経所見、重症度、各処置の導入時期などにつき行い、日常生活活動度 (ADL) の評価は日本版 ALSFRS-R を用いた。プライマリーエンドポイントを死亡または気管切開+人工呼吸器導入と定義した。セカンダリーエンドポイントも複数定義し、「発語不能」を ALSFRS-R の言語項目が 1 以下になったとき、すなわち声以外の伝達手段を会話と併用するようになった時、「嚥下不能」を ALSFRS-R の嚥下項目が 0 になったとき、すなわち全面的に非経口性栄養になった時、「上肢機能廃絶」を ALSFRS-R の書字、摂食動作項目がいずれも 0 になった時、すなわちペンを握れず、かつ栄養摂取のための動作が全面介助になった時とした。3ヶ月に一度、臨床研究コーディネーター (CRC) からの電話調査または医師の評価により、ALSFRS-R および各エンドポイントを確認した。

2009年9月までに JaCALS に登録された 353 例のうち、改訂 El Escorial 診断基準において、definite、probable、probable laboratory supported を満たし、孤発性の例は 302 例であった。そのうち follow up されていない 22 例と発症日不明の 1 例を除いた 279 例を解析対象とした。

臨床調査票で得られる各種情報とエンドポイント到達時期との関係を Kaplan-Meier 法、Cox 比例ハザードモデルを用いて解析した。

(倫理面への配慮)

すべての参加施設で倫理委員会の承認を得て、関連倫理指針を遵守して実施した。すべての研究参加者から、文書での同意を取得し、臨床情報は連結可能匿名化された状態で収集した。

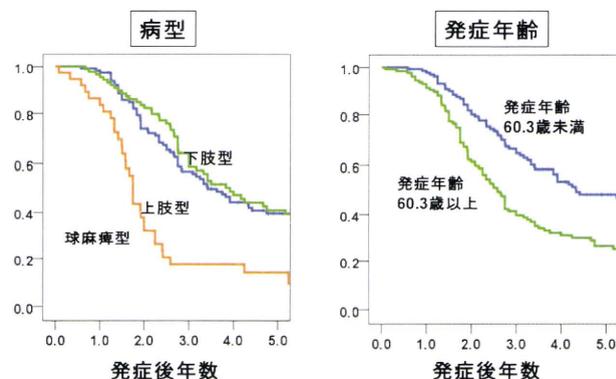
## C.研究結果

### <発症～エンドポイント>

発症から各エンドポイントまでの期間について、影響しうる因子を Kaplan-Meier 法による単変量解析でスクリーニングし、発症年齢、性別、病型を候補として抽出し、Cox 比例ハザードモデルの解析を行った。発症年齢はメディアン値である 60.3 歳で高齢発症群と若年発症群を分けた。発症からプライマリーエンドポイントまでの期間は、発症年齢が有意な ( $p<0.001$ ) 影響因子であり、高齢発症群では早くプライマリーエンドポイントに到達することが示された。

発症から発語不能に至るまでの期間について、発語不能に至った時期を特定しえた 253 例での同様の解析から、高齢発症であること ( $p<0.001$ ) および球麻痺型である ( $p<0.001$ ) ことが独立したリスク因子であることが示された。

図 1. 発症～発語不能 (Kaplan-Meier curve)



発症から嚥下不能に至るまでの期間について、嚥下不能に至った時期を特定しえた 273 例の解析から高齢発症であること ( $p<0.001$ ) が有意なリスク因子であることが示された。また発症から上肢機能廃絶までの期間について、上肢機能廃絶に至った時期を特定しえた 263 例の解析から高齢発症であること ( $p=0.019$ ) が有意なリスク因子であることが示された。

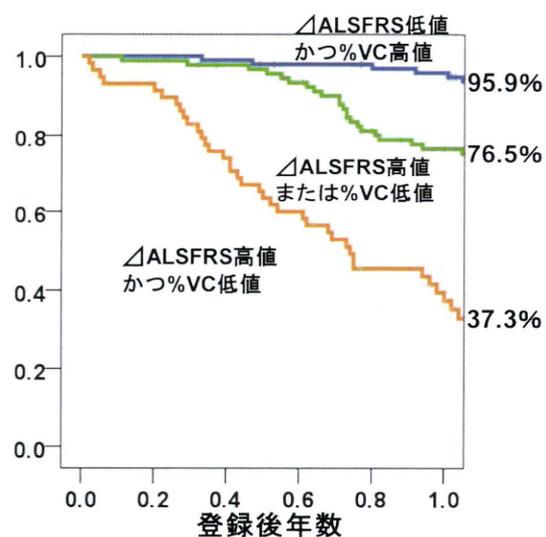
### <登録～エンドポイント>

JaCALS 登録時から 1 年後の予後予測因子を探索した。発症年齢、性別、病型に加え、登録時点

の情報として ALSFRS-R スコア、%予測肺活量 (%VC)、 $\Delta$ ALSFRS-R を予測因子候補とした。 $\Delta$ ALSFRS-R は登録時までに年あたりどの程度 ALSFRS-R が低下したかを示す指標として (48 - 登録時 ALSFRS-R) / (発症～登録までの年数) と定義した。なお、ALSFRS-R の満点が 48 である。

登録から一年以内にプライマリーエンドポイントに到達するリスク因子として Cox 比例ハザードモデルを用いた解析から %VC 80%未満 (リスク比 4.67)、 $\Delta$ ALSFRS-R 5.4 以上 (リスク比 3.63) が有意であり、この両方のリスクが揃った場合には 62.3%の例が一年以内にプライマリーエンドポイントに到達し、両方とも無い例では 4.1%しか到達しないことが示された。

図 2. 登録後 1 年以内のプライマリーエンドポイント (Kaplan-Meier curve)



登録から一年以内に発語不能になるリスク因子は、 $\Delta$ ALSFRS-R 5.4 以上 (リスク比 3.82)、%VC 80%未満 (リスク比 2.38)、発症年齢 60.3 歳以上 (リスク比 1.95) が有意であり、リスク比上位 2 つが共にある場合には一年以内に 81.6%が発語不能となり、共に無い場合には発語不能となるのは 15.0%であることが示された。

登録から一年以内に嚥下不能となるリスク因子は、 $\Delta$ ALSFRS-R 5.4 以上 (リスク比 4.42) および%VC 80%未満 (リスク比 3.34) が有意であ

った。これらが共にある場合には一年以内に 70.7%が嚥下不能となり、共に無い場合には嚥下不能となるのは 6.2%にすぎないことが示された。

登録から一年以内に上肢機能廃絶に至るリスク因子は、 $\Delta$ ALSFRS-R 5.4 以上 (リスク比 5.50)、登録時 ALSFRS-R 38 未満 (リスク比 3.12)、%VC 80%未満 (リスク比 2.18) および病型が上肢型 (リスク比 2.16) が有意であり、リスク比上位 2 つが共にある場合には 77.8%が一年以内に上肢機能廃絶に至り、共に無い場合には上肢機能廃絶に至るのは 9.2%であることが示された。

図 3. 登録後一年以内に発語不能 (Kaplan-Meier curve)

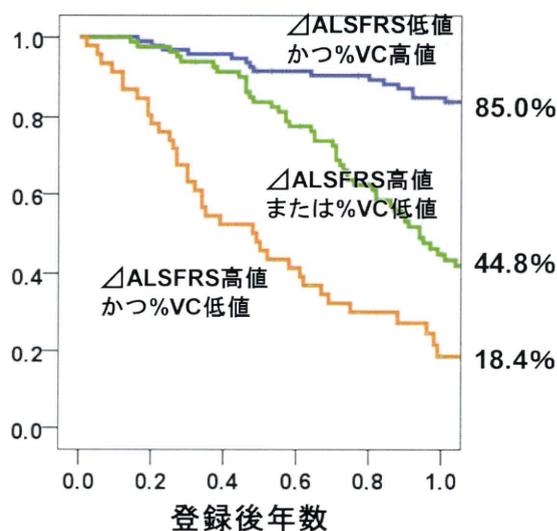


図 4. 登録後一年以内に嚥下不能 (Kaplan-Meier curve)

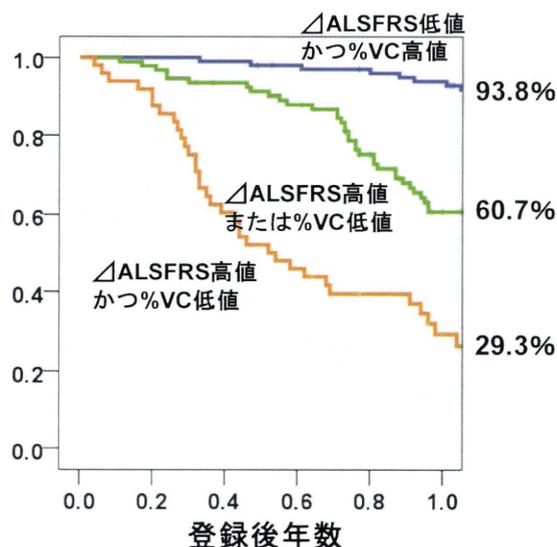
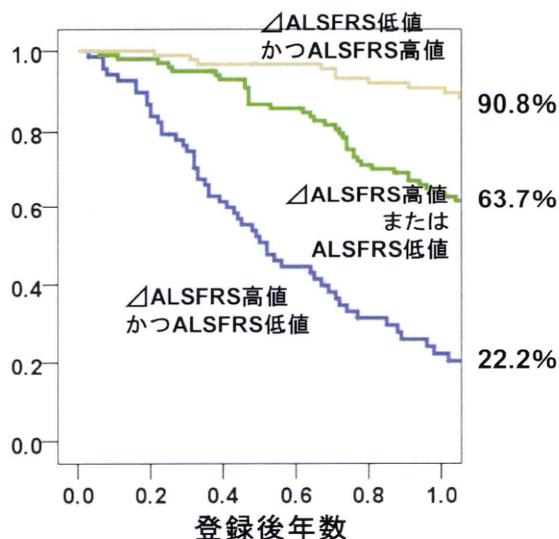


図 5. 登録後一年以内に上肢機能廃絶  
(Kaplan-Meier curve)



#### D. 考察

発症から各エンドポイントまでの期間についての解析から、発症から死亡または気管切開を伴う人工呼吸器導入までの期間は発症年齢の影響を受けることが示された。また、重篤な球麻痺症状出現および上肢機能廃絶までの期間も発症年齢の影響を強く受けることが示された。また、発語不能に至る時期は、病型の影響を強く受けることも示された。

各エンドポイント出現に関する登録時からの一年予後予測解析から、近い将来に深刻なイベントが出現するリスクを、進行程度を反映する指標(%VC、ALSFRS-R)と進行速度を反映する指標( $\Delta$ ALSFRS-R)の組み合わせで、適切に評価できることが示された。これらの効率の良い予後予測因子を明確にすることは、球麻痺、呼吸障害、コミュニケーション障害等の出現を予測し、先回りした診療や介護体制整備を行うことに大きく貢献しうる。また、評価項目、割付因子としての活用など治験デザインへも重要な寄与ができる。

#### E. 結論

・JaCALSにおける、前向き臨床データにより、

健在確認のみでなく、球麻痺の出現や日常生活活動度の深刻な低下時期などを把握することができる。

・JaCALSによって構築できた大規模、前向きの臨床データベースにより、臨床経過に影響を与える因子や効率の良い予後予測指標を明らかにすることが可能である。これらは診療現場の判断や治験計画立案のための、重要な基礎資料となりうる。

#### F. 健康危険情報

特記なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

熱田直樹、渡辺宏久、他：日本版 ALSFRS-R を用いた電話調査による ALS 患者の評価—広域的前向き縦断調査への応用—。BRAIN and NERVE—神経研究の進歩。In press.

##### 2. 学会発表

熱田直樹、祖父江元：JaCALS. 第 51 回日本神経学会総会シンポジウム 2010 年 5 月 東京

#### H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

特記なし。

## FUS/TLS 遺伝子異常に伴う日本人家族性 ALS における 遺伝子変異と臨床型、病理に関する検討

研究分担者 青木正志<sup>1)</sup>

研究協力者 鈴木直輝<sup>1)</sup>，割田 仁<sup>1)</sup>，加藤昌昭<sup>1)</sup>，水野秀紀<sup>1)</sup>，  
島倉奈緒子<sup>1)</sup>，今野秀彦<sup>2)</sup>，加藤信介<sup>3)</sup>，糸山泰人<sup>4)</sup>

- 1) 東北大学神経内科
- 2) 国立西多賀病院神経内科
- 3) 鳥取大学医学部脳神経医科学講座脳病態医科学分野
- 4) 国立精神・神経医療研究センター病院

### 研究要旨

〔目的〕筋萎縮性側索硬化症(ALS)は上位および下位運動ニューロンを侵す神経変性疾患であり、一部は superoxide dismutase 1 (SOD1), TAR DNA-binding protein 43 kDa (TDP43) などの遺伝子変異による家族性 ALS であることが知られている。近年 *Fused in sarcoma/translated in liposarcoma* (FUS/TLS) 遺伝子の変異がアフリカ、ヨーロッパ、アメリカの各人種において家族性 ALS の原因として報告された。日本人における FUS/TLS 遺伝子異常に伴う家族性 ALS の検討を行う。〔方法〕当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる 92 家系について遺伝子解析を行った。自験の大家系について各症例の臨床像を詳細に調査し臨床経過を検討した。本家系での貴重な剖検例について形態学的・免疫組織化学的に検討した。

〔結果および考察〕20 家系に SOD1 異常、9 家系に FUS/TLS 遺伝子異常を認めた。9 家系の内訳は点変異が 8 家系 (p. K510E, p. S513P, p. R514S, p. H517D, p. H517P, p. R521C), 挿入変異が 1 家系 (c. 1420\_1421insGT) であった。5 世代にわたって臨床像の詳細を知ることができた FUS/TLS 遺伝子の R521C 変異に伴う大家系では 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100% と非常に高く見積もられる。35.3 歳で筋力低下を発症し、構音障害、嚥下障害、筋痙縮や筋萎縮を呈する。平均死亡年齢は 37.2 歳であり病期の進行も急速であった。典型例の剖検所見では運動ニューロンの変性のみならず脳幹被蓋部の著明な萎縮を認めた。脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体を認め、FUS/TLS 陽性、ユビキチン陽性、TDP-43 陰性であった。同一家系内の異なる時期(発症後 1 年と 9 年)の剖検例の比較では FUS/TLS 陽性の neuronal cytoplasmic inclusion と glial cytoplasmic inclusion の分布の拡大が観察された。〔結論〕R521C 変異は世界で共通する重要な変異である。病期が進むにつれ運動ニューロン系以外にも広範な神経変性所見が見られた。

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)の10%前後が superoxide dismutase 1 (SOD1) など 10 以上の遺伝子変異による家族性 ALS であることが知られている。最近 *Fused in sarcoma/translated in liposarcoma* (FUS/TLS) 遺伝子の変異がアフリカ、ヨーロッパ、アメリカの

各人種において家族性 ALS の原因として報告された。FUS/TLS は TDP43 と同様 DNA/RNA 代謝に関与する蛋白であり、病態解明の点でブレイクスルーになるものと期待されている。本研究では日本人における FUS 異常に伴う家族性 ALS の検討を行った。

## B. 研究方法

当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる 92 家系について遺伝子解析を行った。この中で *SOD1* 変異が見つかった 14 家系を除き、常染色体優性遺伝の遺伝形式を持つ 54 家系について *FUS/TLS* の全エキソンのスクリーニングを行った。自験の大家系について各症例の臨床像を検査・画像所見を含めて詳細に調査し臨床経過を検討した。本家系での貴重な剖検例について形態学的・免疫組織化学的に検討した。

(倫理面への配慮)

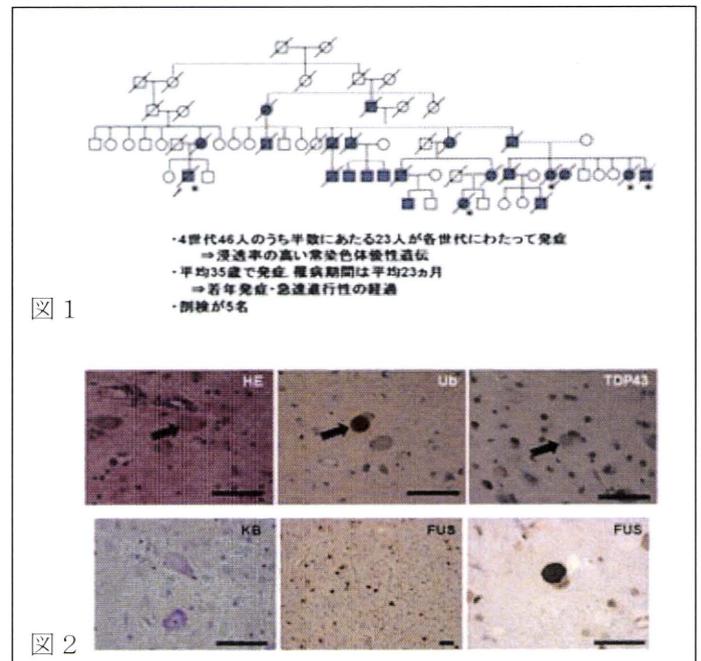
個人を同定できない形で発表し、個人情報は鍵のかかる戸棚に保管、DNA は連結可能匿名化で保存している。東北大学倫理委員会の承認を受けている。

## C. 研究結果

遺伝子解析を行ったところ 20 家系に *SOD1* 異常、9 家系に *FUS/TLS* 遺伝子異常を認めた。9 家系の内訳は点変異が 8 家系 (p. K510E, p. S513P, p. R514S, p. H517D, p. H517P, p. R521C), 挿入変異が 1 家系 (c. 1420\_1421insGT) であった。5 世代にわたって臨床像の詳細を知ることができた *FUS/TLS* 遺伝子の R521C 変異に伴う大家系 (図 1) では 46 人のうち半分にあたる 23 人が家族性 ALS を発症しており浸透率は 100% と非常に高く見積もられる。35.3 歳で筋力低下を発症し、構音障害、嚥下障害、筋痙縮や筋萎縮を呈する。平均死亡年齢は 37.2 歳であり人工呼吸器を必要とするまで平均 23 ヶ月と若年発症・急速進行性の経過を取ることがわかった。

index case: 発症から 1 年 4 ヶ月で人工呼吸器管理となった方。剖検時 40 歳、全経過は 9 年 2 か月。脳重量は 1170g で、肉眼所見では脊髄・錐体路の萎縮は対称性に高度に見られた。中脳被蓋の萎縮も顕著であった。組織学的には、通常の ALS の所見に加え、中脳被蓋の萎縮、黒質、青斑核、視床下核、淡蒼球 (特に内節) にも広範に変性脱落の所見が見られた。脊髄でも運動ニューロンの著明な減少に加え、後索は淡明化し、中でも middle root zone の脱落が高度であった。多系統にわたる神経変性が特徴であると考

えられた。さらに脳幹部の神経細胞内に好塩基性の封入体を認め、ユビキチン陽性、TDP-43 陰性であった。*FUS/TLS* の染色性は細胞質により強く認められた (図 2)。同一家系内の異なる時期 (発症後 1 年と 9 年) の剖検例の比較では *FUS/TLS* 陽性の neuronal cytoplasmic inclusion と glial cytoplasmic inclusion の分布の拡大が観察された。



## D. 考察

*FUS/TLS* 変異を持つ ALS は若年発症でレスピレーターが必要となるまでの disease duration は 2 年弱と病気の進行が非常に早いことが特徴である。変異部位は *FUS/TLS* の C 末端部分に集中しており、R521C は全世界で共通してみられる重要な変異である。一方で p. S513P の家系に関しては 50 代後半の発症と遅く *FUS/TLS* 変異を持つ家族性 ALS の表現型には幅がある。さらに下位運動ニューロン障害が主体である点も臨床上的重要な特徴である。中脳被蓋で見られた basophilic inclusion は TDP43 陰性であり basophilic inclusion body disease (BIBD) という病理学的疾患概念にも含まれる。

家族性 ALS 症例での変異は *FUS/TLS* の C 末端の高度に保存された領域に変異は集中しており、一部が glycine-rich region などに存在する。構造上

*FUS/TLS* と類似しているとされる TDP43 も変異部位は C 末端に集中しており、これらの hotspot の存在からは核内蛋白の分解能の低下が封入体形成に関わり motor neuron death を引き起こすという病態仮説が考えられる。*FUS/TLS* 関連疾患と TDP43 関連疾患との関係性の解明も今後の重要な課題である。

- 1.特許取得
  - 2.実用新案登録
  - 3.その他
- なし

## E. 結論

*FUS/TLS* 遺伝子異常を伴う家族性 ALS では若年発症・急速進行性の経過が特徴で下位運動ニューロン障害が前景に立つ。RNA 代謝異常や蛋白分解異常の視点からの病態解明が課題である。

## F.健康危険情報

特になし

## G.研究発表

### 1. 論文発表

1. Suzuki N, Aoki M, Warita H, et al. FALS with FUS mutation in Japan with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet* 55 (2010) 252-4.
2. Suzuki N, Mizuno H, Warita H, Takeda S, Itoyama Y, Aoki M. Neuronal NOS is dislocated during muscle atrophy in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 294 (2010) 95-101.

### 2.学会発表

1. 第 51 回神経学会総会（東京：2010 年 5 月 21 日）青木正志他；若年発症・急速進行・好塩基性封入体を特徴とし FUS 遺伝子に変異を伴う日本人家族性筋萎縮性側索硬化症の 5 家系
2. 第 1 回 ALS フォーラム（東京：2010 年 8 月 28 日）青木正志；若年発症・急速進行・好塩基性封入体を特徴とし FUS 遺伝子に変異を伴う日本人家族性 ALS

## H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

## 異なる臨床症状を呈し、新規の TDP-43 遺伝子変異を認めた 家族性 ALS の 2 剖検例

研究分担者 岡本幸市<sup>1)</sup>

研究協力者 藤田行雄<sup>1)</sup>，池田将樹<sup>1)</sup>，妹尾陽子<sup>2)</sup>

1) 群馬大学大学院医学系研究科脳神経内科学，2) 伊勢崎福島病院神経内科

### 研究要旨

家族性 ALS 1 家系について TDP-43 遺伝子変異の有無と臨床的および病理学的所見を検討した。本家系内には運動ニューロン徴候のみの例，運動ニューロン徴候に加えてパーキンソニズムを呈する例が存在するのが特徴的であった。TDP-43 遺伝子解析では 2 例に新規の TDP-43 遺伝子変異（A315E）が認められた。病理学的には両者とも前角細胞の脱落，Bunina 小体，およびリン酸化 TDP-43（pTDP-43）陽性封入体を運動ニューロン系を中心に認めたが，運動ニューロン徴候のみの例では KB 染色での後索全体および脊髄小脳路の淡明化を認めた。一方，パーキンソニズムを合併した例では黒質の変性が目立ち，同部位にグリオシス，pTDP-43 陽性封入体を認めた。TDP-43 遺伝子変異を有する家族性 ALS では家系内での発症年齢，症状にばらつきがみられることが知られているが，病理学的にも違いがあることを初めて報告した。

### A. 研究目的

ALS でみられるユビキチン陽性封入体の構成蛋白として TDP-43 が同定された。その後，家族性 ALS で TDP-43 遺伝子変異が見つかるが同遺伝子変異を有する ALS の剖検例は少ない。

今回，我々は家族性 ALS 1 家系について TDP-43 遺伝子変異の有無を検討し，臨床的および神経病理学的所見を明らかにすることを目的とした。

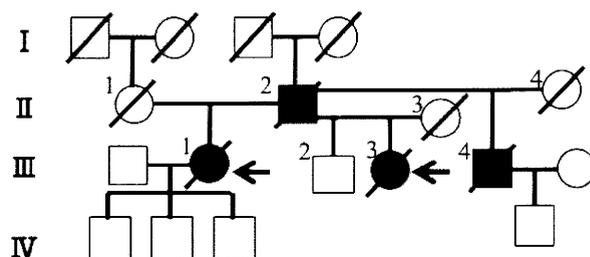
### B. 研究方法

群馬県 I 市出身の家族性 ALS の 1 家系のカルテから臨床所見，神経学的所見を抽出した。剖検された 2 例（下記の症例 2 および 3）について，凍結保存された筋肉，脳を用いて TDP-43 遺伝子変異の有無を検討した。病理学的には 2 例の脳，脳幹，小脳，脊髄のホルマリン固定パラフィン包埋切片を用いて，HE，KB 染色に加え，リン酸化 TDP-43（pTDP-43）抗体を含む各種抗体を用いて免疫組織染色を施行した。（倫理面への配慮）

遺伝子解析と剖検検索に関しては，剖検時に家族より同意を得ている。剖検番号などから患者が特定されることはない。

### C. 研究結果

図 1 家系図



#### 「臨床経過」

II-2（図 1）父：進行性の嚥下障害があったらしいが詳細は不明。（家族からの聴取）

III-1（図 1）長女：63 歳時，右下肢の筋力低下で発症。筋力低下は左下肢，両上肢の順に進行し，当科入院。認知症なし。舌の萎縮と線維束性収縮および軽度の嚥下障害を認めた。四肢腱反射は低下，病的反射陰性。発症 6 年後に呼吸不全で死亡。臨床診断：ALS（2 次運動ニューロン優位）。

III-3（図 1）母違いの次女：57 歳時，左上肢の安静時振戦で発症。7 ヶ月後，左上肢の筋力低下，嚥下・構音障害が出現し近医入院。認知症なし。両上

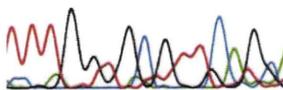
肢の振戦，歯車様固縮，無動，嚥下・構音障害，右優位の上下肢の筋萎縮 (+)．1 年半後には，筋力低下と筋萎縮は著明に進行し，舌の萎縮 (+)．四肢腱反射は亢進し，両側病的反射陽性．3 年半後には寝たきりとなり，振戦発症から 4 年 4 ヶ月後呼吸不全で死亡．臨床診断：ALS+パーキンソン病．

Ⅲ-4 (図 1) 母違いの次男：40 歳時，左上肢の筋力低下で発症．1 年後，筋力低下は両下肢に進行．当科入院時には安静時振戦，固縮，寡動，仮面様顔貌に加えて，構音障害，左優位の四肢腱反射亢進がみられ，口尖らし反射陽性．パーキンソニズムに対して L-dopa と抗コリン薬が開始されるが効果は乏しく，発症 2 年後に自殺．臨床診断：パーキンソン病+ALS の疑い．

### 「TDP-43 遺伝子解析」

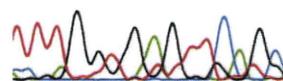
#### Normal allele

Phe Gly Ala Phe Ser  
T T T G C T G C G T T C A G C



#### Mutant allele

Phe Gly Glu Phe Ser  
T T T G C T G A G T T C A G C  
★



Ⅲ-1 およびⅢ-3 の両者で，315 番目のアミノ酸での塩基配列 GCG が GAG に置換し，Alanine (A) が Glutamic acid (E) への変異を認めた TDP-43 A315E 変異

### 「病理所見」

Ⅲ-1 (図 2, 図 3)：脊髓前角細胞の脱落とグリオシス，前角細胞内に少数の Bunina 小体を認めた．KB 染色では後索の全般的な淡明化，脊髓小脳路の軽度の変性がみられた．クラーク柱神経細胞と舌下神経核神経細胞は減少，黒質，小脳，淡蒼球，被殻，視床下核，大脳皮質神経細胞は保たれていた．免疫染色では SOD1 や FUS 陽性構造物はなく，pTDP-43 陽性神経細胞内封入体を前角細胞，顔面神経核，舌下神経核，クラーク柱の神経細胞に認めた．海馬歯状回顆粒細胞，大脳基底核，視床に pTDP-43 陽性所見はみられなかった．リン酸化  $\alpha$ -シヌクレイン陽性構造

物はなく，リン酸化タウに対する抗体では加齢に伴う範囲の異常のみであった．

図 2 (Ⅲ-1)

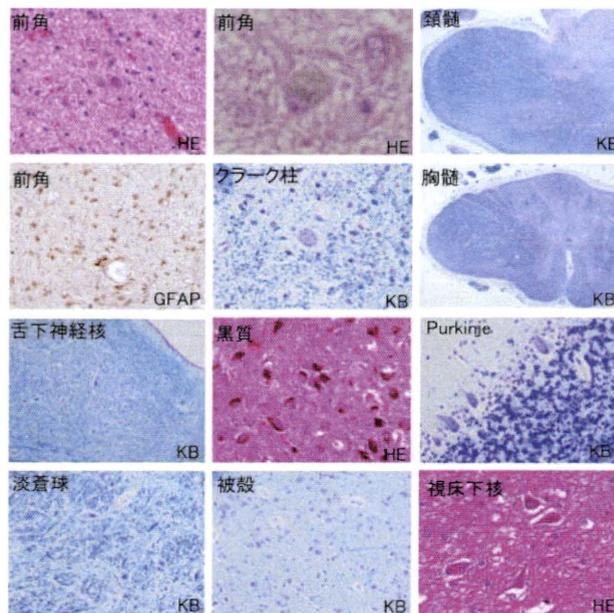
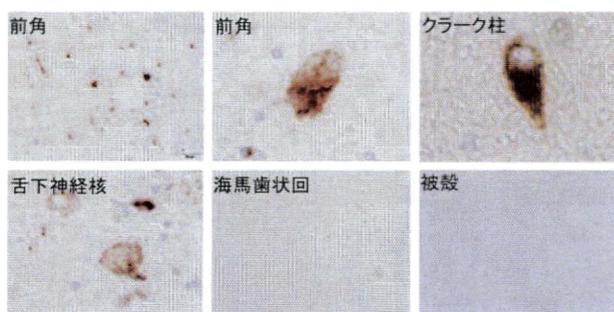


図 3 (Ⅲ-1) pTDP-43 免疫染色



Ⅲ-3 (図 4, 図 5)：脊髓前角細胞および黒質の著明な脱落，視床下核にも軽度の細胞脱落を認めた．同部位にはグリオシスがみられた．前角細胞内にはシスタチン C 陽性の Bunina 小体を認めた．KB 染色では通常の ALS でみられるのと同様に，錐体路の変性があり，後索は保たれていた．SOD1 や FUS 陽性構造物は認めなかった．pTDP-43 陽性神経細胞内封入体は前角細胞，顔面神経核，舌下神経核，および黒質に多数認め，グリア細胞内にも陽性構造物が認められた．海馬歯状回顆粒細胞には pTDP-43 陽性所見はなく，大脳基底核に少数の pTDP-43 陽性グリア細胞内封入体を認めた．リン酸化  $\alpha$ -シヌクレイン陽性構

造物は認めず、リン酸化タウに対する抗体では加齢に伴う範囲の異常のみであった。

図 4 (III-3)

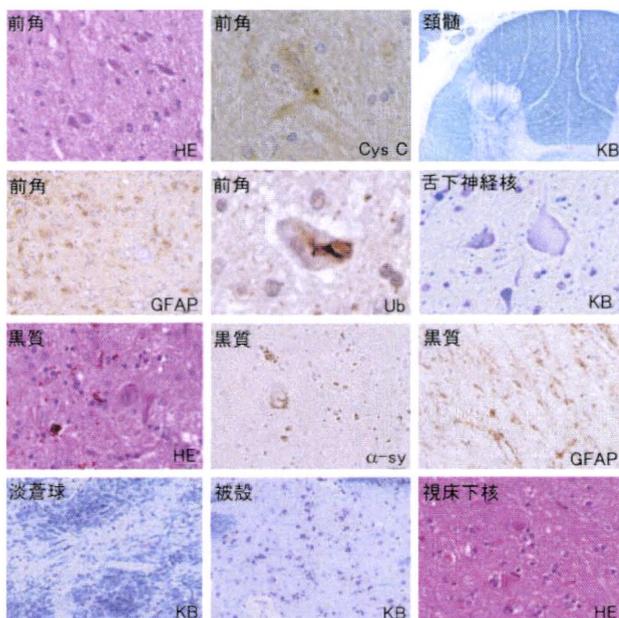
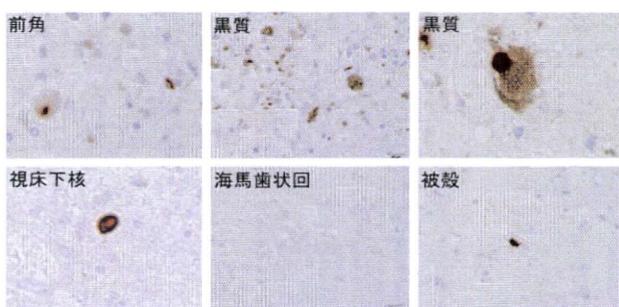


図 5 (III-3) pTDP-43 免疫染色



#### D. 考察

2008 年 Annals of Neurology 誌に TDP-43 A315T 遺伝子変異を有する家族性 ALS の家系が報告されている。この家系では二次運動ニューロン徴候のみを示し、一次運動ニューロン徴候や球麻痺症状は認めなかった。本家系では同じアミノ酸部位に異なる新規の変異 (A315E) を認めたが、その臨床症状は全例で球麻痺症状を認めたが、ALS の臨床徴候のみの例と ALS 徴候に加えてパーキンソニズムを呈する例など症例ごとに異なっていた。病理学的にも後索の淡明化、脊髄小脳路の変性、クラーク柱の細胞脱落が見られる例と黒質の著明な変性を認めた例とがありそ

の差異は著明であった。後索病変については同例で SOD1 抗体陽性封入体は認められず、これまで報告された後索型 ALS とは異なる。TDP-43 との関連については不明であり、症例の蓄積が必要である。一方、ALS+パーキンソニズムを呈した例では  $\alpha$ -シヌクレイン陽性の Lewy 小体や Lewy neurites は認められず ALS とパーキンソン病との合併は考えづらい。また、タウの異常は加齢変化で見られる程度であり、大脳皮質、脳幹には tangle は認めないことから ALS/PDC とも鑑別される。パーキンソニズムと TDP-43 の観点からは Perry 症候群が鑑別に挙げられる。本例では dynactin 1 遺伝子変異の有無は未検査であるが、臨床経過、運動ニューロンへの pTDP-43 の蓄積を認めることから鑑別が可能である。本例のパーキンソニズムの原因としては、黒質に著明な変性を認めたが、線条体・視床下核の病変は軽度であったことから、黒質の病変がパーキンソニズムを引き起こす責任病巣と考えた。

#### E. 結論

- 1) 新規の TDP-43 遺伝子変異 (A315E) を有する家族性 ALS の 1 家系を報告した。
- 2) 同一の遺伝子変異を有するが、臨床的に運動ニューロン症候のみの例とパーキンソニズムを合併する例がみられ、病理所見にも差異がみられた。
- 3) pTDP-43 陽性の神経細胞内およびグリア細胞内封入体が運動ニューロン系を中心にみられた。パーキンソニズムを呈した例では黒質の変性が著明で同部位には pTDP-43 陽性封入体を認めたことから、パーキンソニズムの原因として TDP-43 の異常による黒質の変性が考えられた。

#### F. 健康危険情報 なし

#### G. 研究発表

本研究の一部を第 51 回日本神経病理学会 (東京)、第 17 回世界神経病理学会 (オーストリア) で報告した。

#### 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