

201027060B

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

ニューロパチーの病態解明に関する研究

平成 20 年度～22 年度 総合研究報告書

研究代表者 高嶋 博

平成 23(2011)年 3 月

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

ニューロパチーの病態解明に関する研究

平成 20 年度～22 年度 総合研究報告書

研究代表者 高嶋 博

平成 23(2011)年 3 月

目 次

I. 総合研究報告	
ニューロパチーの病態解明に関する研究	3
高嶋 博	
II. 分担研究報告	
1. Charcot-Marie-Tooth 病のマイクロアレイ DNA チップによる遺伝子診断	11
高嶋 博	
2. 免疫性・遺伝性ニューロパチーの診断と治療	16
田中 章景	
3. ニューロパチーの病態解明に関する研究	19
滋賀 健介	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	23
IV. 研究成果の刊行物・別刷	29

I . 総合研究報告

総合研究報告書

ニューロパチーの病態解明に関する研究

研究代表者 高嶋 博 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨

本研究の目的は、遺伝性、免疫性、代謝性のニューロパチーの診断および病態を明らかにすることである。遺伝性ニューロパチーの遺伝子診断はこれまでの手法では実現困難であったが、急速な進歩を遂げているマイクロアレイ技術を用いて、高速で網羅的な遺伝子診断のシステムを構築、運用し、検査システムとしてほぼ完成した。我々の開発した DNA チップによる解析により、CMT 症例に多数の既報告および新規の遺伝子異常が同定され、本邦の分子疫学が明らかになってきた。大規模な遺伝子診断においてマイクロアレイ法はシーケンス法に比し、コストと労力において明らかに有利であった。

家族性アミロイドポリニューロパチー(FAP)ATTR Val130Met 例について、従来よりも頻度の高い疾患であり、その特徴を明らかにした。

免疫性ニューロパチーの研究として、慢性炎症性脱髄性根神経炎 (CIDP) のIVIg 療法に対する反応性を規定している要因を探るため、凍結末梢神経標本を用いてマイクロアレイ解析を行なった。この結果、治療に対する responder 群では non-responder 群と比較し、より多くの免疫関連遺伝子の発現変化が認められた。このことより、responder ではより高度の免疫機序が関与している可能性が考えられた。

急性自律性感覚性ニューロパチー(AASN) では免疫性の機序が関与し、小型の神経節細胞から障害され、重症例では大型の神経節細胞の障害に至る。

Fisher 症候群(FS)は、眼筋麻痺・失調・腱反射消失を3主徴とし、抗GQ1b抗体が関与する感染後ニューロパチーであるが、感覚障害を伴うFSの末梢神経障害の電気生理学的な特徴について明らかにした。

薬剤性のニューロパチーとして α -インターフェロンがCIDPを引き起こしうることを示した。

研究分担者

有村公良 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科
准教授 (平成20年度~21年度)
滋賀健介 京都府立医科大学 学内講師
田中章景 名古屋大学大学院医学系研究科
准教授

インフォームド・コンセントを得た。

1. 遺伝性ニューロパチー CMT1、CMT2、DSS (Dejerine-Sottas syndrome)、CHN (congenital hypomyelinating neuropathy)、Giant axonal neuropathy や小脳失調症など特徴的な症状を持つもの(SCAN1, AOA1, AOA2)、FAP
2. 薬剤性ニューロパチー (主にインターフェロン、抗癌剤による)
3. 免疫性ニューロパチー (CIDP, AASN, FS)

方法

DNA Chipによる解析の最適化と実践

ヒトDNAを検体として、PCR増幅し、作成したCMT遺伝子診断チップと反応させ、マイクロアレイシステムで解析する。新規の原因遺伝子同定には、連鎖解析、ゲノムシーケンスや実際の病態解明のためタンパク機能解析を行う。

CIDPのIVIgの反応性の規定因子の同定するためにIVIg responder と non-responder の凍結標本からRNA抽出、標識cDNA合成を行いマイクロアレイにて遺伝子発現を網羅的に解析した。

A. 研究目的

我々が開発した遺伝性ニューロパチー診断DNAマイクロアレイチップを用いて、遺伝性ニューロパチーの診断、分子疫学の調査、解析および新規原因遺伝子の同定を目指す。

関連遺伝子解析、病理学的、生理学的にアプローチし、遺伝性、免疫性、薬剤性、代謝性ニューロパチーの病態を明らかにする。

B. 対象・方法

対象

鹿児島大学神経内科、名古屋大学神経内科、京都府立医大神経内科において収集された。全例において、

また、各病型 (CMT, CIDP, AASN, FS etc) の臨床症状、血清生化学的所見、髄液検査所見、神経伝導検査所見、末梢神経病理所見等を検討した。

(倫理的事項) 本研究は各大学ヒトゲノム、臨床研究に関する倫理委員会で承認された。

C. 研究結果

遺伝性ニューロパチー診断チップによる遺伝子スクリーニング

CMT 診断アレイ実験において、PCR のステップの最適化を行い、586 の PCR 反応を 26 本のチューブで増幅することが可能となり、増幅過程が飛躍的に簡素化された。Multiplex PCR を導入し最適化し、実験的には、2 日で 8 アレイまで施行可能となっている。

現在まで 475 例 (コントロール 50 名含む) のアレイ実験が行われ、CMT 症例では、*PRX*、*MFN2*、*MPZ*、*GJB1*、*DNM2* などに、*AOA2* 例では、*SETX* に病的異常が確認された。新規原因遺伝子にも異常が見つかり、新規原因遺伝子の同定をすべく、変異の確認を行っている。連続症例の検討により、臨床型ごとの頻度が明らかになってきた。

SETX 異常の *AOA2* については、詳しい臨床病態が報告された。

FAP ATTR Val30Met の研究において、感覚障害は 1 例が表在感覚優位であったが、他の 11 例は全知覚低下を呈した。5 例で髄液の蛋白が高値であった。末梢神経伝導検査は全例で伝導速度の遅延または遠位潜時の延長を少なくとも 1 つの神経で認めた。生検時に明らかな自律神経症状を呈した例は 6 例であり、生検前の診断は 6 例が CIDP となっていた。大多数の症例でアミロイドーシスに特徴的といわれている小径線維優位の減少を認めなかった。

マイクロアレイ発現解析を用い、CIDP への治療反応性で fold change > 2 の遺伝子群の機能解析 (gene ontology analysis) を施行したところ、responder 群では統計的有意性 ($p < 0.05$) を示す機能 (抗原提示メカニズム、細胞接着に関連する免疫関連遺伝子群) が示された。一方、non-responder 群では統計的有意性を持つ機能分類は得られなかった。

FS 連続症例を後方視的に検討し、感覚障害のある症例 (H 群) とない症例 (NS 群) の 2 群に分け、神経伝導検査の各パラメーターについて比較した。複合筋活動電位・運動神経伝導検査・遠位潜時・F 波潜時に関しては、両群で差を認めなかった。その一方で、腓腹神経の感覚神経活動電位 (SNAP) は H 群で有意に低下していた。

D. 考察

我々の調査では、全国各大学病院の神経内科の入院患者のうち、難治性ニューロパチーの患者数は約 10% を占め、比較的頻度が高く難治性のもも多い。また、Charcot-Marie-Tooth 病患者会からのいっそうの研究の発展の要望を受けている。これらの疾患の患者、家族、医療の社会的な負担は莫大であり、本研究は、その根本的または重要な原因を同定し、革新的な治療を旨とするもので、国民のニーズにも合致するものと考えられる。

我々のマイクロアレイチップによる遺伝子解析は、遺伝子異常を調べるコストと時間を飛躍的に縮小させ、患者 1 例あたりのスクリーニングの費用は従来の方法では 150 万円かかるものを、約 6.5 万円にまで軽減できた。コントロールも整備し、病的変異の判断も迅速になってきた。また、新規の候補遺伝子についても、コントロールにはないミスセンスおよびナンセンス変異が見つかり、今後、新規の CMT の原因の確立が期待される。

FAP ATTR Val30Met については、非集積地の高齢発症の FAP ATTR Val30Met は、従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため、高齢者の原因不明のニューロパチーでは FAP ATTR Val30Met の可能性を積極的に疑う必要があると考えられた。

CIDP の研究では、今回の実験系では主にシュワン細胞や炎症細胞の遺伝子変動をみており、このなかで responder でより高度の免疫機序が関与していると考えられ、non-responder ではそれ以外の機序が病態に関与している可能性が示唆された。

FS については、感覚神経活動電位は、感覚低下を認める FS で有意に低下しており、感覚神経線維 (A α 線維) 損傷の重症度を反映したものと考えられる。この SNAP の低下は、SNAP の計時的追跡の結果から、A α 線維の部分的な脱同期性すなわち脱髄性病変をある程度反映している可能性が推測された。

E. 結論

1. Charcot-Marie-Tooth 病の診断 DNA Chip チップは、遺伝子診断に有用であった。本邦の遺伝子頻度が明らかになりつつある。
2. CIDP の IVIg responder には高度の免疫機序の関与が想定され、今後、その病態解明が重要である。
3. FS の患者でみられる SNAP の低下の少なくとも一部は、感覚神経の脱髄性変化を反映している可能性があると考えられた。

F. 健康危険情報

薬剤性のニューロパチーのひとつとして α -インターフェロンが CIDP を引き起こしうる。

G. 研究発表

1. 論文発表

平成 22 年度

- 1) Walton C, Interthal H, Hirano R, Salih MA, Takashima H, Boerkoel CF. Spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Adv Exp Med Biol*. 685:75-83, 2010
- 2) Sakiyama Y, Okamoto Y, Higuchi I, Inamori Y, Sangatsuda Y, Michizono K, Watanabe O, Hatakeyama H, Goto Y, Arimura K, Takashima H. A new phenotype of mitochondrial disease characterized by familial late-onset predominant axial myopathy and encephalopathy. *Acta Neuropathol* in press
- 3) 高嶋 博 遺伝疾患としての側面：総論 シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 29-36, 2010
- 4) 高嶋 博 遺伝疾患としての側面：PMP22/CMT1A シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 29-36, 2010
- 5) Kawagashira Y, Koike H, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Nakamura T, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G. Morphological progression of myelin abnormalities in IgM-monoclonal gammopathy of undetermined significance anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 69: 1143-1157, 2010.
- 6) Kawagashira Y, Kondo N, Atsuta N, Iijima M, Koike H, Katsuno M, Tanaka F, Kusunoki S, Sobue G. IgM MGUS anti-MAG neuropathy with predominant muscle weakness and extensive muscle atrophy. *Muscle Nerve* 42: 433-435, 2010.
- 7) Hashizume A, Kawagashira Y, Banno H, Suzuki K, Ito M, Koike H, Katsuno M, Watanabe H, Tanaka F, Naganawa S, Kaneko R, Ishii A, Sobue G Central nervous system involvement in n-hexane polyneuropathy demonstrated by MRI and proton MR spectroscopy. *Clin Neurol Neurosurg*, in press.
- 8) Sone J, Tanaka F, Koike H, Inukai A, Katsuno M, Yoshida M, Watanabe H, Sobue G. Skin biopsy is useful for the antemortem diagnosis of neuronal intranuclear inclusion disease. *Neurology*, in press.
- 9) 中川正法, 滋賀健介 シャルコー・マリー・トゥース病とは シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 1-5, 2010
- 10) 滋賀健介 臨床症状と診断 シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 7-19, 2010
- 11) 滋賀健介 シャルコー・マリー・トゥース病の専門医療機関・リンク集 シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 143-151, 2010
- 12) 滋賀健介, 中川正法. シャルコー・マリー・トゥース病患者診療の現況 - 全国1次アンケート調査結果. *末梢神経* 21:360-361, 2010.
- 13) 辻有希子, 田中章浩, 滋賀健介ら. 右腕神経叢で発症したneurolymphomatosisの1例. *末梢神経* 21:353-354, 2010.

平成21年度

- 1) 高嶋 博 Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 *神経内科* 2009.4 354-365
- 2) 高嶋 博 特集 2 劣性遺伝性脊髄小脳変性症の治療と具体的事例 難病と在宅ケア vol 15, 2009.6 25-28
- 3) Hirano R, Takashima H, Okubo R, Hokezu Y, Arimura K. Clinical and genetic characterization of 16q-linked autosomal dominant spinocerebellar ataxia in South Kyushu, Japan. *J Hum Genet*. 54(7):377-81, 2009
- 4) Hashiguchi T, Tanaka K, Lee LJ, Sasaki K, Natsugoe S, Kawahara K, Arimura K, Maruyama I. Diagnostic value of serum peptidome analyses for protease activated pathological conditions beyond

cancer diagnosis. *Med Hypotheses*. 73(5):760-3, 2009

- 5) Deguchi T, Hashiguchi T, Horinouchi S, Uto T, Oku H, Kimura K, Makisumi K, Arimura K. Serum VEGF increases in diabetic polyneuropathy, particularly in the neurologically active symptomatic stage. *Diabet Med*. 26(3):247-52, 2009
- 6) Koike H, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Nakamura T, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G. The significance of carpal tunnel syndrome in transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid* 2009; 15: 1-7.
- 7) Iijima M, Tomita M, Morozumi S, Kawagashira Y, Nakamura T, Koike H, Katsuno M, Hattori N, Tanaka F, Yamamoto M, Sobue G. Single nucleotide polymorphism of TAG-1 influences IVIg responsiveness of Japanese patients with CIDP. *Neurology* 2009; 73; 1348-1352.
- 8) Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Koike H, Hattori N, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G. Intravenous immunoglobulin treatment for painful sensory neuropathy associated with Sjögren's syndrome. *J Neurol Sci* 2009; 279; 57-61.
- 9) 中川正法、滋賀健介. Charcot-Marie-Tooth病の現状と展望. *神経内科* 70:163-168,2009.
- 10) 能登祐一、滋賀健介、藤並潤ら. 肺扁平上皮癌に対する治療により改善をみた亜急性感覚性ニューロノパチーの1例. *臨床神経* 49:497-500,2009.
- 11) 滋賀健介、諫山玲名、田中瑛次郎ら. ペグインターフェロン α -2b投与後CIDPを発症した1例. *末梢神経* 20:197-198,2009.
- 3) Koike H, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G. Electrophysiological features of late-onset transthyretin Met30 familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci. *J Neurol*. 255: 1526-1533, 2008
- 4) Koike H, Ito S, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Hattori N, Tanaka F, Sobue G. Rapidly developing weakness mimicking Guillain-Barré syndrome in beriberi neuropathy: two case reports. *Nutrition*. 24: 776-780, 2008
- 5) Koike H, Iijima M, Mori K, Yamamoto M, Hattori N, Watanabe H, Tanaka F, Doyu M, Sobue G. Neuropathic pain correlates with myelinated fibre loss and cytokine profile in POEMS syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 79: 1171-1179, 2008
- 6) Iijima M, Koike H, Hattori N, Tamakoshi A, Katsuno M, Tanaka F, Yamamoto M, Arimura K, Sobue G; Refractory Peripheral Neuropathy Study Group of Japan. Prevalence and incidence rates of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in the Japanese population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79: 1040-1043, 2008
- 7) 滋賀健介、中川正法. PMP22遺伝子異常によるCharcot-Marie-Tooth病の分子病態特異的な治療. *末梢神経* 19:1-8,2008.
- 8) 滋賀健介、中川正法. シャルコー・マリー・トゥース病の現状(1)治療とリハビリテーションと在宅生活の工夫. *難病と在宅ケア* 14: 33-36,2008.

2. 学会発表

平成22年度

平成20年度

- 1) 高嶋 博、橋口昭大、平野隆城、中村友紀、有村公良、祖父江元、服部直樹、田中章景、中川正法、滋賀健介 マイクロアレイDNAチップによるCharcot-Marie-Tooth病の遺伝子診断 *Peripheral Nerve* 19(2) 390-392, 2008
- 2) 高嶋 博 シャルコー・マリー・トゥース病の現
- 1) 高嶋 博 Charcot-Marie-Tooth 病の分子遺伝学—治療への展望 第52回日本小児神経学会シンポジウム3 2010年5月 福岡
- 2) 高嶋 博 CMT の臨床症状と診断法 (1) 成人発症の CMT シャルコー・マリー・トゥース

病 市民公開講座 2010年2月 東京

- 3) 徳永章子、橋口昭大、岡本裕嗣、中村友紀、有村公良、高嶋 博 マイクロアレイ DNA チップによる Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 第51回日本神経学会総会、2010年5月 東京
- 4) 滋賀健介、藤井ちひろ、能登祐一、山田丈弘、中川正法. Miller Fisher 症候群における感覚障害の臨床的特徴と感覚神経伝導検査に関する検討. 第51回日本神経学会総会、2010年5月 東京
- 5) 滋賀健介、中川正法. シャルコー・マリー・トゥース病患者診療の現況—全国一次アンケート調査報告. 第21回日本末梢神経学会、2010年9月 仙台
- 6) 滋賀健介、辻有希子、藤井ちひろ、能登祐一、中川正法. Fisher 症候群における感覚神経活動電位に関する検討. 第40回日本臨床神経生理学会、2010年11月 神戸

樹, 服部直樹, 渡辺宏久, 田中章景, 祖父江元. シェーグレン症候群に伴う painful sensory neuropathy に対するIVIgの有効性の検討 第19回日本末梢神経学会、2008年9月名古屋

- 3) 田中瑛次郎、東裕美子、石井亮太郎、藤原康弘、滋賀健介、徳田隆彦、橋口昭大、高嶋博、有村公良、水野敏樹、中川正法. 眼球運動失行を認めず遠位筋の筋力低下が特徴的であったAOA2の1例. 第89回日本神経学会近畿地方会、2008年12月大阪

H.知的財産権の出願・登録状況

特になし

平成21年度

- 1) Kimiyoshi Arimura. Correlation between electrophysiological findings and genotype in hereditary motor sensor neuropathy. International SFEMG course and Xth quantitative EMG conference, 2009. 5, Venice, Italy
- 2) 有村公良 ランチョンセミナー: 難治性ニューロパチーの治療の進歩. 第27回日本神経治療学会総会、2009. 6. 熊本
- 3) 滋賀健介, 諫山玲名, 田中瑛次郎, 水野敏樹, 中川正法. ペグインターフェロン α -2b 投与後 CIDP を発症した1例. 第20回日本末梢神経学会学術集会、2009年9月 さいたま

平成20年度

- 1) 高嶋 博、橋口昭大、平野隆城、中村友紀、有村公良、祖父江 元、服部直樹、田中章景、中川正法、滋賀健介 マイクロアレイ DNA チップによる Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 第19回日本末梢神経学会 2008年9月 名古屋
- 2) 両角佐織, 富田稔, 川頭祐一, 飯島正博, 小池春

II. 分担研究報告

分担研究報告書

Charcot-Marie-Tooth 病のマイクロアレイ DNA チップによる遺伝子診断

研究代表者 高嶋 博 鹿兒島大学大学院医歯学総合研究科 教授

研究要旨

本研究の目的は、原因が多数におよぶ遺伝性ニューロパチーの遺伝子診断はこれまでの手法では実現困難であったが、急速な進歩を遂げているマイクロアレイ技術を用いて、遺伝性ニューロパチー、主に Charcot-Marie-Tooth disease (CMT) および末梢神経障害を伴う小脳失調症(AOA1, AOA2, SCAN1) において、高速で網羅的な遺伝子診断のシステムを構築、運用し、その病態をあきらかにすることである。さらに、CMT の新規遺伝的原因を明らかにする。

我々の開発した DNA チップによる解析により、CMT 症例に多数の既報告および新規の遺伝子異常が同定された。CMT 遺伝子診断チップによる、遺伝子診断は、実験やデータ解析処理、結果判定のプロセスを改善し、検査システムとしてほぼ完成した。大規模な遺伝子診断においてマイクロアレイ法はシーケンス法に比し、コストと労力において明らかに有利であった。425 例を超える解析により、本邦の症例のおおよその頻度が確認できた。一方、遺伝子診断の陰性例も多く、それら症例の原因の追及が課題であり、さらに、検査遺伝子を追加や次世代ゲノムシーケンサーによる包括的な解析も考慮された。

A. 研究目的

遺伝性ニューロパチー(特に Charcot-Marie-Tooth disease; CMT)は、現在まで少なくとも 30 の遺伝的原因は解明されてきたが、その遺伝子数の多さにより、正確な遺伝子診断を個々の患者に行うことは困難であった。我々は、近年急速な進歩を遂げているマイクロアレイ(リシーケンス)技術により、一度に多数の遺伝子を診断しうるシステムを開発することが可能となってきた。そこで我々は、ほぼすべての CMT の遺伝子異常を診断しうる遺伝子診断チップを開発し、遺伝子検査システムの確立を行う。また、同時に複数の候補遺伝子についても遺伝子チップに搭載し、新しい原因遺伝子の発見をめざす。

B. 対象・方法

対象

鹿兒島大学神経内科、名古屋大学神経内科、京都府立医大神経内科において収集された。全例において、インフォームド・コンセントを得た。

1. 遺伝性ニューロパチー CMT1、CMT2、DSS (Dejerine-Sottas syndrome)、CHN (congenital hypomyelinating neuropathy)、Giant axonal neuropathy や小脳失調症など特徴的な症状を持つもの(SCAN1, AOA1, AOA2)、FAPなど。

2. 薬剤性ニューロパチー（主に抗癌剤による）

方法

インフォームド・コンセントを得た CMT 患者 425 例。コントロール 50 例。CMT1A(PMP22 の重複例)については保険診療の検査である PMP22 の重複同定 FISH 検査を行い、その陰性例においてのみ、遺伝子チップによる検査を行った。特に遺伝子頻度を算出するため連続 200 症例を用い、病型別遺伝子頻度についても明らかにした。

CMT の診断は患者それぞれの神経内科および小児科医によりなされ、臨床型分類は依頼元施設での電気生理検査及び家族歴より想定される遺伝形式をもとに、CMT1、CMT2、CMT4、CMTX、その他に分類した。電気生理学のおよび遺伝学的基準は以下のものであり、正中神経伝導検査において運動神経伝導速度(MCV)38m/秒以下のものを脱髄型、38m/秒より早いものを軸索型、左右や家系内で 38m/秒をまたがる所見を呈するものを中間型とし、脱髄型において常染色体優性のものを CMT1、劣性遺伝形式のものを CMT4、軸索障害型を CMT2、X 染色体性が最も疑われるものを CMTX と分類した。遺伝子検査は、同一家系内の症例は発端者のみを対象に

検査を行った。対象患者全例において、遺伝子解析に関する承諾書に患者本人または代理同意人より、未成年患者に関しては保護者より署名で同意を得た。脱髄型 CMT に関しては FISH 法で *PMP22* 遺伝子の重複又は欠失が無い事を確認し、軸索型・中間型・その他分類に関しては連続 200 症例に CMT 遺伝子診断マイクロアレイ DNA チップ解析を施行した。2006 年時点で同定されていた 27 遺伝子として *PMP22*、*myelin protein zero (MPZ)*、*gap junction protein beta 1 (GJB1)*、*early growth response 2 (EGR2)*、*periaxin (PRX)*、*lipopolysaccharide-induced TNF factor (LITAF)*、*neurofilament light polypeptide (NEFL)*、*ganglioside-induced differentiation associated protein 1 (GDAP1)*、*myotubularin related protein 2 (MTMR2)*、*SH3 domain and tetratricopeptide (SH3TC2)*、*SET binding factor 2 (SBF2)*、*N-myc downstream regulated 1 (NDRG1)*、*mitofusin 2 (MFN2)*、*rab-protein 7 (RAB7)*、*glycyl-tRNA synthetase (GARS)*、*heat shock 27kDa protein 1 (HSPB1)*、*heat shock 22kDa protein 8 (HSPB8)*、*lamin A/C (LMNA)*、*dynammin 2 (DNM2)*、*tyrosyl-tRNA synthetase (YARS)*、*aprataxin (APTX)*、*senataxin (SETX)*、*tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 (TDPI)*、*desert hedgehog (DHH)*、*gigaxonin 1 (GAN1)*、*K-Cl cotransporter family 3 (KCC3)* と新規原因遺伝子候補と考えられる 10 遺伝子を搭載した CMT-マイクロアレイ DNA チップをデザインした。全ての DNA 配列は NCBI GenBank より引用した。マイクロアレイ DNA チップは Affymetrix 社製 GeneChip® (100K array) を使用した。患者血液より抽出した DNA は、チップに搭載した 37 遺伝子の全エクソン 586 本の PCR で増幅した。586 本の PCR は 32 分割し QIAGEN® Multiplex PCR Kit で増幅した。増幅された DNA は専用カラムで不要物を除去した後、DNase I で断片化した。チップにデザインした配列プローブと結合する断片化 DNA のシグナルを増強するためにビオチン化抗ストレプトアビジン抗体でラベルを付け、専用オープンで hybridization した。hybridization 後、プローブと結合した DNA を染色し洗浄した後、チップ専用スキャナでシグナルを読み込みこんだ。スキャニングしたシグナル情報は専用情報処理ソフト GCOS

(GeneChip® Operating Software)で処理し、専用解析ソフト GSEQ (GeneChip® Sequence Analysis Software)で解析した。DNA チップ解析により検出された遺伝子異常は、更に Sanger 法シーケンス解析によりその存在を確認した。確認された遺伝子異常は可能な限り血縁者の同意を得た上で segregation を施行して確定した。

(倫理的事項) 本研究は各大学ヒトゲノム使用研究に関する倫理委員会で承認された。

C. 研究結果

遺伝性ニューロパチー診断チップによる遺伝子スクリーニング

CMT 診断アレイ実験において、PCR のステップの最適化を行い、586 の PCR 反応を 26 本のチューブで増幅することが可能となり、増幅過程が飛躍的に簡素化された。Multiplex PCR を導入し最適化し、実験的には、2 日で 8 アレイまで施行可能となっている。

現在まで 475 例 (コントロール 50 名含む) のアレイ実験が行われ、CMT 症例では、*PRX*、*MFN2*、*MPZ*、*GJB1*、*DNM2* などに、*AOA2* 例では、*SETX* に病的異常が確認された。新規原因遺伝子にも異常が見つかり、新規原因遺伝子の同定をすべく、変異の確認を行っている。遺伝子頻度を算出するため連続 200 症例を用い、病型別遺伝子頻度についても明らかにした。

遺伝子検査の依頼のあった 200 例の病型は、CMT1 が 47 例(23.5%)、CMT2 が 71 例(35.5%)、CMTX が 17 例(8.5%)、CMT4 が 11 例(5.5%)、その他症例 54 例(27%)であった。その他症例は、電気生理学的もしくは臨床的に CMT が否定できない症例が含まれ、脊髄小脳変性症(SCD)に CMT を合併した症例 7 例、遺伝性圧脆弱性ニューロパチー(HNPP)症例 5 例、筋萎縮性側索硬化症(ALS)疑い症例 4 例、治療抵抗性慢性炎症性脱髄性多発根神経炎(CIDP)症例 4 例、遺伝性感覚性ニューロパチー(HSN)症例 2 例、遺伝性運動性感覚性ニューロパチー-V 型(HMSN-V)症例 2 例、Dejerine-Sottas 症候群(DSS)症例 2 例、congenital hypomyelinating neuropathy (CHN) 症例 1 例、パラミオトニア合併症例 1 例、分類不能 26 例であった。ALS 疑い 4 例は、上位運動ニューロン症状が無い点や進行が非常に緩徐な点など、臨床的に非典型的 ALS 疑いであり、遺伝性ニューロパチーの可能性が

否定できなかったためその他症例に含めた。

総症例 200 例中 34 例 17% で原因遺伝子を同定できた。CMT 以外の臨床症状を呈する 54 例をのぞいた 146 例においては、28 例 (19%) の症例に遺伝子変異を確認した。CMT1 では 47 例中 9 例 (19%) で変異を認めた。MPZ 変異が 6 例と最も多く、GJB1、NEFL、SETX の変異をそれぞれ 1 例ずつ認めた。CMT4 では 11 例中 3 例 (27%) で変異を認めた。PRX 変異 2 例と SBF2 変異 1 例であった。

CMT2 では 71 例中 10 例 (14%) に変異を認め、MFN2 変異が 8 例と最も多かった。その他、SETX 変異 1 例、GJB1 変異 1 例が認められた。CMTX は 17 例中 6 例 (35%) に GJB1 遺伝子の点変異及び欠失の異常を認めた。その他症例では脊髄小脳変性症を合併した CMT 症例に SETX 変異を 2 例認めた。HMSN-V 症例で MFN2 変異を 1 例認めた。分類不能症例の中に SETX 変異を 1 例認めた。様々な先天性の合併症を有する小児例、ALS 症例、治療抵抗性 CIDP 症例、電気生理学的に異常がなく臨床的に凹足や逆シャンペンボトル様下肢のため臨床的に CMT が疑われた症例などでは変異を同定できなかった。

D. 考 察

脱髄型 CMT の対象を脱髄型 CMT 原因遺伝子として最も多い PMP22 の重複のない症例に限定したため、依頼は軸索型 (CMT2) が 71 例 (35.5%) と最も多かった。Szigeti らによると軸索型 CMT の原因として MFN2 変異が最も多いとされており、本邦でも MFN2 変異が最も多い事が確認された。MFN2 遺伝子異常は HMSN-V と考えられた症例においても認められており、また、CMT2 においては MFN2 変異を認めた症例の発症年齢は 1 歳から 50 歳代と幅広い。脱髄型 CMT は PMP22 の重複による CMT1A が脱髄型 CMT の約 70% で、GJB1 変異が約 10%、MPZ 変異が約 5% と報告されている。しかし、今回の我々の解析では MPZ 変異が 6 例で GJB1 変異が 1 例と明らかに MPZ 変異が多く、PMP22 重複以外の脱髄型 CMT の原因遺伝子の頻度は本邦と欧米とでは異なっていた。PRX は劣性遺伝形式の CMT4 において、全く異なる家系の 2 症例に同一の変異を認め、本邦で、このヘテロ接合体変異が広がっている可能性が

ある。中間型 CMT では既報告とおり GJB1 変異が最も多く、その他の遺伝子異常を検出できなかった。また、GJB1 変異は電気生理学的及び遺伝形式で CMT1 や CMT2 と分類された患者にもそれぞれ 1 例ずつ含まれていたが、家系調査の問題も大きいと思われる。いずれにしても、臨床的および電気生理学的に CMT1 あるいは CMT2 で原因不明と診断される症例の中に少なからず GJB1 変異による症例が含まれる。SETX は遺伝性ニューロパチーに小脳失調を合併する ataxia-ocular apraxia-2 (AOA2) や autosomal dominant form of juvenile amyotrophic lateral sclerosis (ALS4) の原因遺伝子として知られているが、末梢神経障害を合併するために、我々の DNA チップに搭載した。SETX 変異は、電気生理学的及び遺伝形式で CMT1 や CMT2 と分類された患者に 1 例ずつ、分類不能患者に 1 例認めており、これまで原因不明とされていた CMT 症例の中に含まれている可能性が高い。

我々のデザインした CMT 遺伝子診断マイクロアレイ DNA チップを使用する事で、とりあえず既知の CMT 網羅的スクリーニングが可能となったと考える。1 症例のスクリーニングに要する時間は最短で 2 日となる。加えて、コスト面では搭載した DNA 全てを Sanger 法でシークエンスした場合と比較して約 25 分の 1 であり、現実的に実施可能なコストとなった。multiple PCR システムの導入により 586 本のプライマーセットに対する PCR の作業に要する労力も軽減でき、時間、コスト、労力の全てにおいてメリットは大きい。一方、検出された変異の病的意義については追加の検討が必要であり、新規の変異の場合、家族の segregation は常に必要である。

一方では、今回のマイクロアレイ DNA チップは、理論上、挿入変異、欠失変異、リピート配列、重複変異に関しては検出が困難である。しかし比較的大きな欠失に関しては、ホモ接合体であれば欠失部分のシグナルが消失するため、検出可能である。実際に今回、1 例において X 染色体性であるが男性症例で GJB1 遺伝子の欠失を認めた。また、搭載した遺伝子以外でもあたらしい原因遺伝子が発見され続けているが、DNA チップは一度制作すると容易にはデザイン変更ができないため、新たに原因遺伝子を搭

載する場合にはチップデザインそのものを変更し、新たにはじめからチップを制作しなければならない。また、遺伝子診断の陽性率は十分でなく、新しい試みが必要である。我々のデザイン以降にも新規遺伝子が発見されており、今回の我々の DNA チップで陰性例に関しては、新規遺伝子またはその候補を搭載した新 DNA チップのデザインや、次世代ゲノムシーケンス機器の導入などの検査への導入も将来は必要であろう。

いずれにしても、本検査システムにより蓄積された症例の検討を進めることで、本邦の CMT のおおよその分子疫学を明らかにしていかなければならない。おのおのの患者の遺伝子診断は、遺伝性疾患解明の第一歩であり、今回の結果は、今後の遺伝子診断の方向性や、治療対策などを検討する基礎データになるであろう。

我々の調査では、全国各大学病院の神経内科の入院患者のうち、難治性ニューロパチーの患者数は約 10%を占め、比較的頻度が高く難治性のものも多い。また、Charcot-Marie-Tooth 病患者会からのいっそうの研究の発展の要望を受けている。これらの疾患の患者、家族、医療の社会的な負担は莫大であり、本研究は、その根本的または重要な原因を同定し、革新的な治療を旨とするもので、国民のニーズにも合致するものと考えられる。

E. 結論

本マイクロアレイ DNA チップで既知の CMT 網羅的スクリーニングが可能となり、本邦の CMT の分子疫学がおおよそ確認できた。今回の研究により、CMT の遺伝子診断に要する時間とコストを飛躍的に軽減できた。一つの全国的な遺伝子診断のシステムを構築することに成功した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Walton C, Interthal H, Hirano R, Salih MA, Takashima H, Boerkoel CF. Spinocerebellar ataxia with axonal neuropathy. *Adv Exp Med Biol*. 685:75-83, 2010
- 2) Sakiyama Y, Okamoto Y, Higuchi I, Inamori Y,

Sangatsuda Y, Michizono K, Watanabe O, Hatakeyama H, Goto Y, Arimura K, Takashima H. A new phenotype of mitochondrial disease characterized by familial late-onset predominant axial myopathy and encephalopathy. *Acta Neuropathol* in press

- 3) 高嶋 博 遺伝疾患としての側面：総論 シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 29-36, 2010
- 4) 高嶋 博 遺伝疾患としての側面：PMP22/CMT1A シャルコー・マリー・トゥース病診療マニュアル CMT 診療マニュアル編集委員会 金芳堂 29-36, 2010
- 5) 高嶋 博 Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 神経内科 2009.4 354-365
- 6) 高嶋 博 特集 2 劣性遺伝性脊髄小脳変性症の治療と具体的事例 難病と在宅ケア vol 15, 2009.6 25-28
- 7) Hirano R, Takashima H, Okubo R, Hokezu Y, Arimura K. Clinical and genetic characterization of 16q-linked autosomal dominant spinocerebellar ataxia in South Kyushu, Japan. *J Hum Genet*. 54(7):377-81, 2009
- 8) Hashiguchi T, Tanaka K, Lee LJ, Sasaki K, Natsugoe S, Kawahara K, Arimura K, Maruyama I. Diagnostic value of serum peptidome analyses for protease activated pathological conditions beyond cancer diagnosis. *Med Hypotheses*. 73(5):760-3, 2009
- 9) Deguchi T, Hashiguchi T, Horinouchi S, Uto T, Oku H, Kimura K, Makisumi K, Arimura K. Serum VEGF increases in diabetic polyneuropathy, particularly in the neurologically active symptomatic stage. *Diabet Med*. 26(3):247-52, 2009
- 10) 高嶋 博、橋口昭大、平野隆城、中村友紀、有村公良、祖父江元、服部直樹、田中章景、中川正法、滋賀健介 マイクロアレイ DNA チップによる Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 *Peripheral Nerve* 19(2) 390-392, 2008
- 11) 高嶋 博 シャルコー・マリー・トゥース病の現状と展望 Charcot-Marie-Tooth 病の病態と治療 基礎医学的に見た 難病と在宅ケア 14 巻 6 号 40-44, 2008

2. 学会発表

- 1) 高嶋 博 Charcot-Marie-Tooth 病の分子遺伝学—治療への展望 第 52 回日本小児神経学会シンポジウム 3 2010 年 5 月 福岡
- 2) 高嶋 博 CMT の臨床症状と診断法 (1) 成人発症の CMT シャルコー・マリー・トゥース病 市民公開講座 2010 年 2 月 東京
- 3) 徳永章子、橋口昭大、岡本裕嗣、中村友紀、有村公良、高嶋 博 マイクロアレイ DNA チップによる Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 第 51 回日本神経学会総会、2010 年 5 月 東京
- 4) Kimiyoshi Arimura Correlation between electrophysiological findings and genotype in hereditary motor sensor neuropathy. International SFEMG course and Xth quantitative EMG conference, 2009. 5, Venice, Italy
- 5) 有村公良 ランチョンセミナー: 難治性ニューロパチーの治療の進歩。 第 27 回日本神経治療学会総会、 2009. 6. 熊本
- 6) 高嶋 博、橋口昭大、平野隆城、中村友紀、有村公良、祖父江 元、服部直樹、田中章景、中川正法、滋賀健介 マイクロアレイ DNA チップによる Charcot-Marie-Tooth 病の遺伝子診断 第 19 回日本末梢神経学会 2008 年 9 月 名古屋

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし

免疫性・遺伝性ニューロパチーの診断と治療

研究分担者 田中 章景 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学 准教授

近年、遺伝子診断の技術の進歩とともに、遺伝性ニューロパチーは従来考えられていたほど稀な疾患ではないと考えられるようになってきているが、病像の把握は未だ十分になされていない。免疫性ニューロパチーに関しても、慢性炎症性脱髄性根神経炎（CIDP）のように、比較的 common な疾患もあるが、急性自律性感覚性ニューロパチー（AASN）のようにまれな疾患もある。今回の研究では；1. CIDP では治療非反応群で免疫機序以外の因子が病態に関与している可能性。2. FAP ATTR Val30Met では非集積地の高齢発症例は、従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため、高齢者の原因不明のニューロパチーでは FAP ATTR Val30Met の可能性を積極的に疑う必要があること。3. AASN では免疫性の機序が関与し、小型の神経節細胞から障害され、重症例では大型の神経節細胞の障害に至ること。が示唆された。

A. 研究目的

近年、遺伝子診断の技術の進歩とともに、遺伝性ニューロパチーは従来考えられていたほど稀な疾患ではないと考えられるようになってきている。しかし、病像の把握は未だ十分になされておらず、初期に慢性炎症性脱髄性根神経炎（CIDP）と診断される例が多いなど、今後、啓蒙が必要な疾患である。免疫性ニューロパチーについては、様々な疾患が含まれており、CIDPのように、比較的 common な疾患もあるが、急性自律性感覚性ニューロパチー（AASN）のように症例報告は散見されるが、多数例での検討はされていない比較的まれな疾患もある。これらの遺伝性および免疫性ニューロパチーの臨床病理像を検討するとともに、病態を明らかにし治療法の開発を目指す。

B. 研究方法

CIDP: IVIg 前後の運動機能の変化により治療反応性を規定した IVIg responder (R) 4 例と non-responder (NR) 3 例が対象。グルタルアルデヒド固定エポソ包埋トルイジンブルー染色標本、ときほぐし標本で顕著な有髄線維密度低下や軸索変性所見のないことを確認した例について、凍結標本から RNA 抽出、クオリティチェックの後、標識 cDNA

合成を行いマイクロアレイ (Human Genome U133 Plus 2.0 Array, Affymetrix®) へハイブリダイゼーション、発現をスキャンし GeneSpring GX® で解析した。

家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP ATTR Val30Met) : 神経生検を通じて診断した非集積地例のうち、家族歴を認めなかった 12 例 (66.6±9.2 歳、男性 10 例、女性 2 例) の臨床症状、髄液所見、末梢神経伝導検査所見、腓腹神経病理所見等を検討した。

AASN : 急性の経過で重度の自律神経障害と感覚障害障害が完成し、筋力は保たれていた AASN 21 症例 (29.0±14.9 歳、男性 6 例、女性 15 例) の臨床症状、血清生化学的所見、髄液検査所見、神経伝導検査所見、末梢神経病理所見等を検討した。

(倫理面での配慮)

遺伝子診断および病理学的検索は、患者へのインフォームド・コンセントの下に施行した。

C. 研究結果

CIDP : 治療反応性で fold change > 2 の遺伝子群の機能解析 (gene ontology analysis) を施行したところ、responder 群では統計的有意性 (p < 0.05) を示す機能 (抗原提示メカニズム、細胞接着に関連す

る免疫関連遺伝子群)が示された。一方、non-responder 群では統計的有意性を持つ機能分類は得られなかった。また遺伝子間作用をもとにした解析 (pathway analysis) では、治療反応性で fold change>2 の遺伝子群について、responder 344 gene のうち 160 gene に相互関連性が示されたのに対し、non-responder では 160 gene のうちわずかに 5 gene に関連性が示されるのみであった。

FAP ATTR Val30Met : 感覚障害は 1 例が表在感覚優位であったが、他の 11 例は全知覚低下を呈した。5 例で髄液の蛋白が高値であった。末梢神経伝導検査は全例で伝導速度の遅延または遠位潜時の延長を少なくとも 1 つの神経で認めた。生検時に明らかな自律神経症状を呈した例は 6 例であり、生検前の診断は 6 例が CIDP となっていた。大多数の症例でアミロイドーシスに特徴的といわれている小径線維優位の減少を認めなかった。

AASN : 発症に先行して上気道炎などの先行感染症状を 21 例中 13 例に認めた。消化管症状で発症する例が多く、病初期に消化器科に受診したために診断が遅れた例が多かった。生検腓腹神経では小径線維優位の軸索障害を認めたが、深部感覚障害を認めた例では大径有髄線維も高度な脱落を呈した。剖検例では脊髄の後根および後索の神経線維と、交感神経節および後根神経節の神経細胞がほぼ消失していた。

D. 考察

CIDP : 今回の実験系では主にシュワン細胞や炎症細胞の遺伝子変動をみており、このなかで responder でより高度の免疫機序が関与していると考えられ、non-responder ではそれ以外の機序が病態に関与している可能性が示唆された。

FAP ATTR Val30Met : 非集積地の高齢発症の FAP ATTR Val30Met は、従来からの集積地の症例とは異なる臨床病理像を呈するため、高齢者の原因不明のニューロパチーでは FAP ATTR Val30Met の可能性を積極的に疑う必要があると考えられた。

AASN : 多くの症例に先行感染を認め、何らかの免疫性の機序が示唆された。消化管症状をきたす症例では AASN の可能性を考慮する必要があると考えら

れた。また、小型の神経節細胞から障害され、重症例では大型の神経節細胞の障害に至ると考えられた。

E. 結論

今後も遺伝性および免疫性ニューロパチーの臨床病理像の把握、啓蒙、病態解明が必要であると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawagashira Y, Koike H, Tomita M, Morozumi S, Iijima M, Nakamura T, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G. Morphological progression of myelin abnormalities in IgM-monoclonal gammopathy of undetermined significance anti-myelin-associated glycoprotein neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 69: 1143-1157, 2010.
- 2) Kawagashira Y, Kondo N, Atsuta N, Iijima M, Koike H, Katsuno M, Tanaka F, Kusunoki S, Sobue G. IgM MGUS anti-MAG neuropathy with predominant muscle weakness and extensive muscle atrophy. *Muscle Nerve* 42: 433-435, 2010.
- 3) Hashizume A, Kawagashira Y, Banno H, Suzuki K, Ito M, Koike H, Katsuno M, Watanabe H, Tanaka F, Naganawa S, Kaneko R, Ishii A, Sobue G. Central nervous system involvement in n-hexane polyneuropathy demonstrated by MRI and proton MR spectroscopy. *Clin Neurol Neurosurg*, in press.
- 4) Sone J, Tanaka F, Koike H, Inukai A, Katsuno M, Yoshida M, Watanabe H, Sobue G. Skin biopsy is useful for the antemortem diagnosis of neuronal intranuclear inclusion disease. *Neurology*, in press.

- 5) Koike H, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Nakamura T, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G. The significance of carpal tunnel syndrome in transthyretin Val30Met familial amyloid polyneuropathy. *Amyloid* 2009; 15: 1-7.
- 6) Iijima M, Tomita M, Morozumi S, Kawagashira Y, Nakamura T, Koike H, Katsuno M, Hattori N, Tanaka F, Yamamoto M, Sobue G. Single nucleotide polymorphism of TAG-1 influences IVIg responsiveness of Japanese patients with CIDP. *Neurology* 2009; 73; 1348-1352.
- 7) Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Koike H, Hattori N, Katsuno M, Tanaka F, Sobue G. Intravenous immunoglobulin treatment for painful sensory neuropathy associated with Sjögren's syndrome. *J Neurol Sci* 2009; 279; 57-61.
- 8) Koike H, Kawagashira Y, Iijima M, Yamamoto M, Hattori N, Tanaka F, Hirayama M, Ando Y, Ikeda SI, Sobue G. Electrophysiological features of late-onset transthyretin Met30 familial amyloid polyneuropathy unrelated to endemic foci. *J Neurol*. 255: 1526-1533, 2008
- 9) Koike H, Ito S, Morozumi S, Kawagashira Y, Iijima M, Hattori N, Tanaka F, Sobue G. Rapidly developing weakness mimicking Guillain-Barré syndrome in beriberi neuropathy: two case reports. *Nutrition*. 24: 776-780, 2008
- 10) Koike H, Iijima M, Mori K, Yamamoto M, Hattori N, Watanabe H, Tanaka F, Doyu M, Sobue G. Neuropathic pain correlates with myelinated fibre loss and cytokine profile in POEMS syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 79: 1171-1179, 2008
- 11) Iijima M, Koike H, Hattori N, Tamakoshi A, Katsuno M, Tanaka F, Yamamoto M, Arimura K, Sobue G; Refractory Peripheral Neuropathy Study Group of Japan. Prevalence and incidence rates of chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy in the Japanese population. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 79: 1040-1043, 2008
- G. 知的財産権の出願・登録状況
なし
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（障害者対策総合研究事業）
総合研究報告書

ニューロパチーの病態解明に関する研究

研究分担者 滋賀 健介 京都府立医科大学神経内科学 助教

研究要旨

本研究期間の各年度に、それぞれ3つの異なるニューロパチーについての研究を行った。平成20年度は、運動感覚ニューロパチーが前景にたつ常染色体劣性遺伝性脊髄小脳変性症1家系について、CMT遺伝子チップを用いた解析を行った。スクリーニングの結果、*SETX*の新たな変異c. 2486delAのホモ結合変異を見出し、ニューロパチーを伴う脊髄小脳変性症での変異スクリーニングに、遺伝性ニューロパチー診断DNAチップが有用であることを示した。平成21年度は、インターフェロン α 2bにより惹起された慢性炎症性脱髄性ポリニューロパチー (CIDP) について、電気生理学的評価と治療経過について報告した。本症例における末梢神経障害は、インターフェロン中止のみでは回復せず、計3回の免疫グロブリン大量静注療法を要したが、古典的CIDPと同様免疫グロブリン大量静注療法が有効であることが示された。平成22年度は、感染後ニューロパチーであるFisher症候群における感覚障害と電気生理学的パラメーターについて検討した。ニューロパチーの評価マーカーとして感覚神経活動電位 (SNAP) が有用であることを示し、少なくとも部分的には、感覚神経の脱髄性変化を反映している可能性があることを示した。

A. 研究目的

1. 平成20年度

ニューロパチーが前景にたつ遺伝性脊髄小脳変性症における遺伝性ニューロパチー診断DNAチップの有用性について明らかにする。

2. 平成21年度

慢性肝炎の治療薬として用いられているインターフェロン α 製剤による稀な副作用として慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP) について、治療とともに症状経過と電気生理学的指標について報告する。

3. 平成22年度

Fisher症候群 (FS) の感覚低下の有無に注目し、電気生理学的指標に両群で違いがないか、後方視的に検討する。

B. 研究方法：

1. 平成20年度

運動感覚ニューロパチーを伴った常染色体劣性遺伝形式の脊髄小脳変性症の1家系において、遺伝性ニューロパチー診断DNAチップを用いて、患者の原因遺伝子のスクリーニングを行った。次に見いだされた遺伝子変異について、本家系でのsegregationをPCR-直接延期配列決定法を用いて解析を行った。

2. 平成21年度

PEG-interferon α 2b・ribavirin併用療法を施行1ヵ月後に慢性炎症性脱髄性多発ニューロパチー (CIDP) を発症した35歳・男性例に対し、投薬中止し3週間経過観察した。改善が認められなかったため、免疫グロブリン大量静注療法を計3回施行した。治療前後において、神経学的評価、握力、Neuropathy disability score (NDS)、神経伝導検査で評価した。

3. 平成22年度

当施設で診療したFS3徴（失調、眼球運動障害、腱反射低下）を満たす9症例の診療録と神経伝導検査結果を後方視的に検討し、症例の感覚低下のある群とない群に2分し、両群で運動神経伝導検査・F波伝導検査・感覚神経伝導検査の各パラメーターに両群間で差がないか検討した。最近経験した2症例については、計時的に追跡し、SNAPの形状の変化について検討した。

C. 研究結果

1. 平成20年度

発端者は35歳女性。両親はいとこ婚。16歳から歩行障害が出現、20歳で杖歩行、30歳で車椅子生活となった。神経学的には、遠位優位の筋萎縮と感覚低下を認め、構音障害と注視方向性眼振を認めた。遺伝性ニューロパチー診断チップを用いて変異スクリーニングを行ったところ、

SETX c. 2486 delAのホモ接合変異を見出した。父親のSETX遺伝子では、野生型とc. 2486 delAとのヘテロ接合変異体であり、cosegregationを証明した。

2. 平成21年度

患者は35歳・男性。X年6月にC型肝炎に対しPEG-IFN α 2b/ribavirin併用療法が開始されたが、同年7月に四肢遠位部に異常知覚が出現、9月には階段を昇りにくくなった。11月PEG-IFN α 2b投与中止したが脱力は進行した。神経伝導検査では、伝導速度低下を左右正中・左尺骨・左脛骨神経に、伝導ブロックを左腓骨・左脛骨神経に、時間的分散を左右正中神経・左尺骨・左脛骨神経に認めた。左腓腹神経のときほぐし標本では、節性脱髄と再髄鞘化を認めCIDPと診断した。薬剤中止3週間後もNDSや握力などの臨床症状が改善しないため、IVIg0.4g/kg x 5日間投与を行ったところ、臨床症状および伝導ブロックなど電気生理学的な脱髄指標の改善を認めた。その後3度の症状の動揺を認め、計3回のIVIg投与となったが、その後は期維持療法を要せず1年間経過を見ているが再発や悪化を認めていない。

3. 平成22年度

患者は9例（男性6例、女性3例）、平均年齢は44.8歳。7例で先行感染があり、FS発症までの潜伏期は4~11日。感覚症状については、感覚低下を認めたもの(H群)が3例、感覚低下を認めないもの(NS群)が6例であった。運動神経伝導検査およびF波伝導検査の各パラメーターは、H群・NS群の両群間で差を認めなかった。感覚神経伝導速度も両群間で差を認めなかったが、腓腹神経の感覚神経活動電位(SNAP)はH群で有意に低下していた。また、H群では、正中神経SNAPが低く、SNAPの持続時間が長い傾向にあったが、統計学的には両群での有意差を認めなかった。さらに、正中神経SNAPの計時的経過を追跡しえた1例においては、SNAPの後方に小さい陰性波を認め、経過とともに潜時は回復した。

D. 考察

1. 平成20年度

SETX c. 1486delA変異は新奇な変異である。発端者ではホモ接合型で、父親が本変異と野生型のヘテロ接合体であったことから、本家系にお

いて疾患と本変異とのcosegregationを示した。遺伝性ニューロパチー診断DNAチップは、Charcot-Marie-Tooth病の27の疾患遺伝子とともにニューロパチーを伴う脊髄小脳変性症の3つの疾患遺伝子(TDP1、APTX、SETX)を搭載しており、これらの遺伝子はDNA修復に関わる蛋白に関連しており、特に、常染色体劣性遺伝の脊髄小脳変性症にニューロパチーを合併した場合、遺伝性ニューロパチー診断DNAチップは有用であると考えられる。

2. 平成21年度

本症例は、(1)インターフェロン投与後4週間で発症しており、(2)投与後3回のIVIg療法で回復し、維持療法を必要としなかったこと、(3)その後1年間CIDPの再発や悪化が見られなかったことから、PEG-IFN α 2bによって惹起されたCIDPと考えた。近年IFN α 、IFN α 2a投与により発症したと考えられるCIDPは数例報告されている。インターフェロン α は、MHC-1抗原発現の促進やIFN γ やIL-2など炎症性サイトカインの誘導を介した免疫調節作用を有しており、投与後に慢性甲状腺炎を発症したり、自己抗体陽性率が増加することが報告されており、自己免疫疾患を惹起する可能性が唆される。

3. 平成22年度

本研究の結果は以下の3点にまとめられる。(1)感覚症状が重症の場合SNAPが低下傾向にあること、(2)急性期に感覚神経の脱同期化が生じ、(3)回復期に再同期化と平衡してSNAPが回復していること。SNAP変化の原因としては、一部の神経の脱同期化が関与している一方で、混在する軸索変性の寄与している可能性も否定できない。

E. 結論

1. 平成20年度

遺伝性ニューロパチー診断DNAチップは、ニューロパチーを伴う遺伝性脊髄小脳変性症の変異遺伝子スクリーニングにも有用である。

2. 平成21年度

インターフェロン α 製剤は、まれにCIDPを発症する可能性がある。ただし、頻度は不明で、きわめて稀な副作用と考えられる。

3. 平成22年度

SNAPは、感覚低下を認めるFSで有意に低下しており、感覚神経線維(A α 線維)損傷の重症度を反映したものと考えられる。SNAPの計時的追跡の結果から、A α 線維の部分的な脱同期性すなわ