

図1 AMPA受容体とCa<sup>2+</sup>透過性による興奮性神経細胞死

A) AMPA受容体を構成するGluR1-4の各サブユニットは、細胞外のN末端、膜ドメイン(M1~M4)、細胞内のC末端からなる。各サブユニットのM2にはQ/R部位と呼ばれる部位があり、同部位はGluR2以外ではグルタミン(Q)であるのに対して、GluR2だけはアルギニン(R)である。しかしゲノムレベルでは、GluR2もQをコードしているCAGという配列である。Rとなる理由は、RNAへ転写後、mRNAになる前にアデノシン(A)がイノシン(I)へと塩基置換され、CAG(Q)からCIG(R)へのアミノ酸置換が生じるためである。この現象は、RNA編集と呼ばれる。B) ラット小脳プルキンエ細胞や海馬錐体細胞などでは、他のサブユニットに比べGluR2が多く発現しており、AMPA受容体のCa<sup>2+</sup>透過性は低く、海馬のバスケット細胞、新皮質の非錐体細胞、小脳のBergmannグリア細胞のようにGluR2サブユニットがほとんど発現していないような細胞では、Ca<sup>2+</sup>透過性は高い。つまりAMPA受容体のCa<sup>2+</sup>透過性は、GluR2の有無によって規定されている。GluR2のノックアウトにより小脳培養系では細胞死が生じるが、GluR2ノックアウトマウスではLTP異常のみで細胞死は生じない。RNA編集を阻止した変異マウスでは生後20日以内に痙攣による個体死が認められる。C) Q/R部位がCa<sup>2+</sup>透過性決定に重要な理由はチャネル・ホアに面しており、編集型では陽電荷のRがCa<sup>2+</sup>を弾くのに対して、未編集型では、電気的に中性のQではこの作用が弱いためと考えられている。

## 2 GluR2 Q/R部位と孤発性ALS

### 1) 神経細胞死とGluR2サブユニット

上述したように神経細胞死に関連するCa<sup>2+</sup>透過性を決定する因子は、GluR2である。AMPA受容体を構成する4つのサブユニットのうちGluR1, 3, 4のサブユニットだけで構成された受容体は高いCa<sup>2+</sup>透過性を示

すが、GluR2を1つ以上含む受容体はCa<sup>2+</sup>透過性が低い(図1B)。

次にAMPA受容体の各サブユニットのM2ドメインにあるQ/R部位がCa<sup>2+</sup>透過性を制御している。同部位はGluR2以外のサブユニットGluR1, 3, 4ではグルタミン(Q)であるのに対して、GluR2だけはアルギニン(R)である。しかしゲノムレベルでは、GluR2

も他のサブユニット同様にQをコードしている。どうしてRになるのかという点、後述するRNA編集という現象が起こるためである。未編集型GluR2 (Q)は他のサブユニット同様AMPA受容体のCa<sup>2+</sup>透過性を制御できないので、編集型GluR2 (R)を含んだAMPA受容体の割合が減少する、あるいは未編集型GluR2 (Q)を含んだAMPA受容体の割合が増加すると細胞内へのCa<sup>2+</sup>流入が高まる(図1C)。

## 2) GluR2 Q/R部位編集率低下は孤発性ALSの脊髄ニューロン特異的にみられる

私たちのグループは、孤発性ALSの神経細胞死に関連する分子変化が、GluR2サブユニットの減少(Ca<sup>2+</sup>透過性AMPA受容体の割合の増加)なのか、それともGluR2 Q/R部位の編集率低下(Ca<sup>2+</sup>透過性AMPA受容体の実質的増加)によるものかを検討した。Kwakらはレーザーマイクロダイセクターを用いて凍結剖検脊髄組織から単一運動ニューロンを切り出し、孤発性ALS脊髄運動ニューロンの単一神経細胞レベルの検討において、GluR2 mRNA発現量に有意な減少がないこと<sup>10)</sup>、および脊髄前角組織レベル<sup>11)</sup>で部位選択的・疾患特異的なGluR2 Q/R部位の編集率低下を確認した<sup>11)</sup>。図2Aに示すように、正常対照群の運動ニューロンでは、全例GluR2 Q/R部位は100% RNA編集されていたが、ALS群では検索したすべての症例で0~100%とばらつき、平均値は38~75%と低下していた。一方、ALSでは障害を受けない小脳プルキンエ細胞の編集率は、正常対照群と同様にほぼ100%に保たれていた<sup>11)</sup>。また、小脳を侵す神経変性疾患である歯状核赤核淡蒼球ルイ体萎縮症(dentatorubropallidolusian atrophy, 以下DRPLA)、多系統萎縮症(multiple system atrophy, 以下MSA)の同細胞を検索したが、編集率は正常対照と同様のレベルによく保たれており<sup>12)</sup>、さらに他の脊髄小脳変性症の小脳、ハンチントン病の線条体<sup>13)</sup>やアルツハイマー病の大脳皮質<sup>14)</sup>など、さまざまな神経変性疾患で選択的に障害を受ける部位でも編集率は低下していないこと<sup>11)</sup>も、この分子変化が細胞死に伴う非特異的なものではなく、孤発性ALSに疾患特異的な分子変化であることを支持する。

さらに、原因の違いにかかわらず運動ニューロンが変性する場合に共通して起こる非特異的な分子変化である可能性について検討した。運動ニューロンに変性

を生じるトリフレット病であるSBMA(球脊髄性筋萎縮症)の運動ニューロン(図2B)と運動ニューロンに病変を生じる家族性ALSで最も頻度が高いALS1(図2C)についても同様のメカニズムが生じているのか否か、について調べた。その結果、SBMAおよびSOD1関連性家族性ALS(ALS1)のモデルラット2系統の発症した個体とでは、単一運動ニューロンの編集率は正常コントロールと同様100%に保たれており<sup>15)</sup>、GluR2 Q/R部位のRNA編集異常は運動ニューロンが細胞死に陥る際に生ずる非特異的な変化である可能性は除外された。さらに、運動ニューロン死の分子メカニズムは多様であり、SBMAやALS1の運動ニューロンでは孤発性ALSとは異なる細胞死のメカニズムが働いていると考えられた(図3)<sup>16)</sup>。

この分子異常が神経細胞死と関連するものであることは、GluR2 Q/R部位のRNA編集が起こらないように遺伝子改変したマウスが生後20日以内に痙攣重積によって死に至ること<sup>17)</sup>からも示される。

## 3 RNA編集

### 1) GluR2 Q/R部位とRNA編集

一般に、転写後にmRNAレベルで、塩基の挿入・欠失・置換により遺伝情報が書き換えられることがある。これをRNA editing (RNA編集)と呼ぶ(図4A)<sup>18)</sup>。RNA編集により翻訳領域の塩基置換を伴うとタンパク機能を変える場合があり、生物学的にも重要な反応である。一塩基置換を伴うRNA編集はアデノシン(A)からイノシン(I)(A→I編集)とシトシン(C)からウラシル(U)(C→U編集)とがあるが、哺乳類ではほとんどが前者であり、GluR2 Q/R部位は、DNAからRNAへ転写後、A→I編集が起こることでmRNAの塩基が置換(CAG→CIG)される。そして、リボソームでIはグアノシン(G)と同等であると見なされるため、CIGコドンはCGGと見なされアルギニン(R)として翻訳される(図4B)。これにより遺伝子上のグルタミン(Q)コドンはRにアミノ酸置換される。

GluR2 Q/R部位が、哺乳類で最初に見つかった編集部位であり、この他に、表のように編集部位は受容体やイオンチャンネルに多くみられており、RNA編集の有無によりチャンネル特性が変化すると考えられている。RNA編集はこのように生物界に広く行われている現象

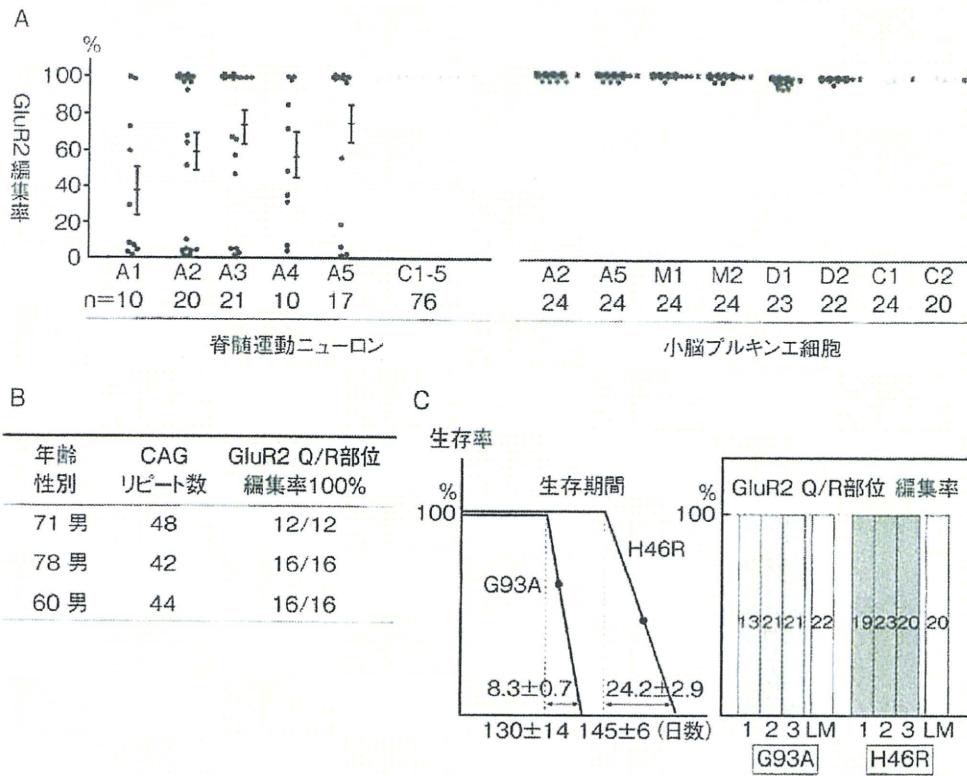


図2 単一神経細胞における GluR2 Q/R 部位 RNA 編集率 (文献1より改変引用)

A) 各点 (大きな点は5細胞, 小さな点は1細胞) は, ALS群5例 (A1-A5), コントロール群5例 (C1-C5) の単一脊髄運動ニューロンにおける GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率と, ALS群2例 (A2, A5), 多系統萎縮症 (MSA) 群2例 (M1, M2), 歯状核赤核淡蒼球イ体萎縮症 (DRPLA) 群2例 (D1, D2), コントロール群2例 (C1, C2) の単一小脳プルキンエ細胞の編集率を表している。平均値±標準誤差と解析した細胞数 (n) も示した。運動ニューロンにおける正常コントロール76個の内訳は, C1:28, C2:12, C3:13, C4:12, C5:11である。運動ニューロンでは, 正常コントロール群のすべての細胞において, 例外なく編集率は100%であった。これに対して, ALS群では, 解析した5ケースすべてにおいて編集率は0%から100%まで大きくばらつき, 正常コントロール群と比較し有意に低下していた (Mann-Whitney U test,  $p < 0.001$ )。一方, 小脳プルキンエ細胞における編集率については, ALS群, MSA群, DRPLA群とコントロール群の間には有意差はない (Mann-Whitney U test,  $p > 0.05$ )。B) 他の運動ニューロン病 (SBMA) では, 編集率の低下は認めない。表では検討した3例の年齢, 性別, CAGリピート数, 検討した運動ニューロン数を示した。一番上の行は71歳男性のSBMA患者でCAGリピート数は48, 調べた運動ニューロン12個中12個すべてがGluR2 Q/R部位の編集率は100%である。検索した全例の運動ニューロンの編集率は完全に保たれていた。このような選択特異性を生む機序としては, 脊髄運動ニューロンのAMPA受容体総mRNA発現量およびGluR2サブユニット比率が他のニューロンに比べて低く, もともとCa<sup>2+</sup>透過性AMPA受容体の割合が多いことからRNA編集低下の影響を受けやすいことが挙げられる。C) 家族性ALSで最も多いALS1のモデルラットの2系統 (G93A, H46R) の運動ニューロンを調べた。左のグラフがそれぞれのラットの生存曲線であり, それぞれ発症後の・で示した時点での運動ニューロンの編集率を各3匹ずつ, 対照としてLM (littermate: 同胞) を調べた。棒グラフ内の数字がそれぞれの個体において検索した運動ニューロン数で, 検索したすべての個体の運動ニューロンは100%に完全に編集されていた。

であり, その異常は個体にとり不利になる場合もありうるため, 神経変性疾患のほか, 脳腫瘍, てんかん, 精神疾患 (統合失調症, うつ病, 自殺), 遺伝性対側性色素異常症, ループスなどの膠原病で検討が行われているが, ヒト疾患との直接の関連が明らかにされたものは孤発性ALSのみである (表)。

## 2) ADAR2はどのようにしてRNA編集を制御しているのか?

GluR2 Q/R部位のRNA編集を特異的に制御しているのがRNA編集酵素adenosine deaminase acting on RNA type 2 (以下ADAR2) である。ADAR2のほか, RNA編集活性を持つADARとしてはADAR1が

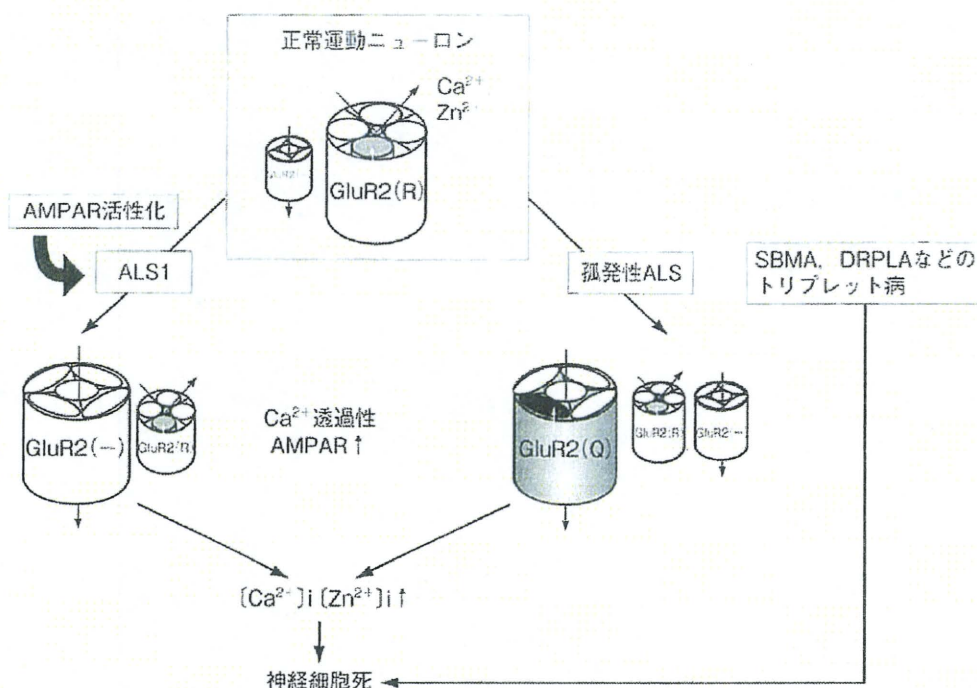


図3 AMPA受容体と神経細胞死

本文中で述べたように、運動ニューロン疾患の神経細胞死には異なる複数の分子メカニズムが独立に働き、ALSにはAMPA受容体を介する運動ニューロン死が働いているものの単一の分子メカニズムではないことが推測される。この結果は、変性疾患の細胞死のメカニズム、そして疾患分類を考える上で重要である。この異なる細胞死についてであるが、変異SOD1トランスジェニックマウスではAMPA受容体を介した神経細胞死が働いていることが、GluR2欠損マウスとの交配による興奮毒性の増強やCa<sup>2+</sup>を透過するQ/R部位を人工的なGluR2〔GluR-B (N), N (アスパラギン)〕を導入した変異マウスと変異SOD1遺伝子のdouble transgenicマウスにおける神経細胞死の促進から示されている。ALS1でGluR2のRNA編集が正常だとすると、GluR2の欠乏によるAMPA受容体のCa<sup>2+</sup>透過性亢進が予想されるが、GluR2の過剰発現により生存期間が延長することを示した報告、GluR3の発現量が増加しているとする報告は、この予測を支持する。特にGluR3の発現量増加は、私たちのグループのSumらがカイン酸を長期髄注することにより作製したALSのモデルラットにもみられる分子変化であり、変異SOD1トランスジェニックマウス、家族性ALS1ではAMPA受容体の持続的刺激により運動ニューロンの興奮性が高まった結果、相対的にGluR2の割合が下がることでAMPA受容体のCa<sup>2+</sup>透過性が亢進し、細胞死に至るカスケードにつながることを予想される。他方、アンドロゲン受容体のCAGリピートが伸長しているSBMAでは、同じポリグルタミン病であるハンチントン病モデルマウスでの検討からAMPA受容体を介した神経細胞死は働いていないと考えられる

知られているが、GluR2 Q/R部位のRNA編集がADAR2によって触媒されることは、ADAR2ノックアウトマウスではGluR2 Q/R部位編集が10%に低下すること<sup>19)</sup>、ADAR1ノックアウトマウスではこの部位の編集効率が100%に保たれること<sup>19)</sup>から示される。また、GluR2 Q/R部位に編集活性を持つのは*in vitro*でもADAR2だけである<sup>20)</sup>。

ADAR2は二重鎖RNAに働く。GluR2 Q/R部位はエクソン11に位置するが、イントロン11内に、Q/R部位を含むエクソン11に相補的なexon complementary sequence (ECS) と呼ばれる配列がある。GluR2

pre-mRNAが二重鎖構造をとるためにはECS配列が必須であり、このECSを欠いた改変GluR2遺伝子を持つ遺伝子改変マウスは、GluR2 Q/R部位のRNA編集を欠く<sup>17)</sup>。また、AMPA受容体の4種のサブユニットでは、Q/R部位周辺の配列の相溶性が高いにもかかわらずGluR2でのみQ/R部位のRNA編集が起こる理由は、イントロン11のECS配列がGluR2のみにみられることによる。

ADAR2のmRNA発現は、発達段階ごとに細胞ごとに調節されていることが知られている。ラットの検討で胎生19日に視床の細胞核にまず発現が観察されるこ

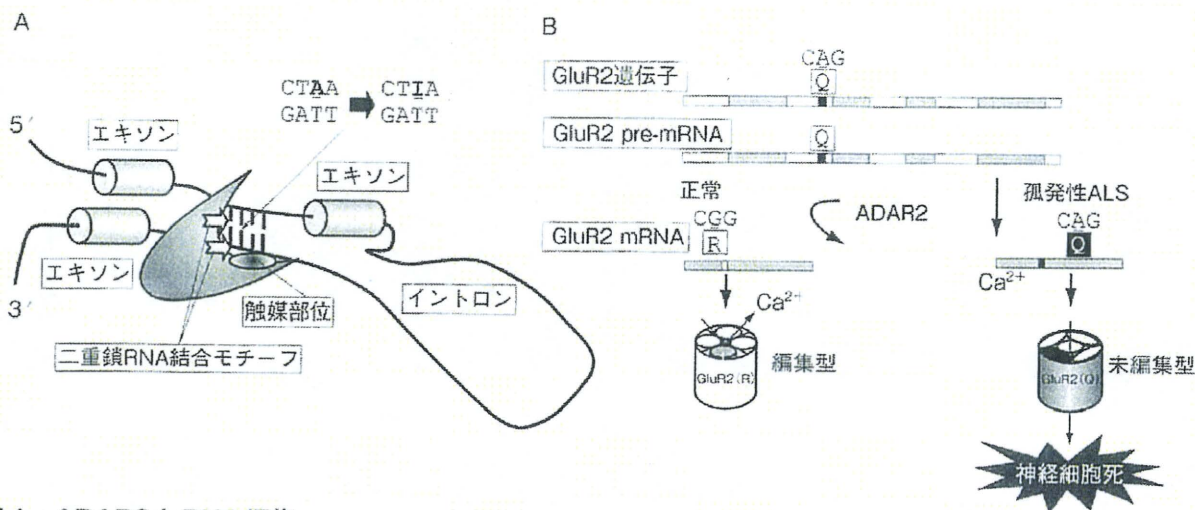


図4 ADAR2とRNA編集

A) GluR2 Q/R部位は、DNAからRNAへ転写後、mRNAになる前に、ADAR2によりアデノシン (A) からイノシン (I) へとRNA編集 (A→I編集) が起こることで塩基置換される。そして、リボソームでIはグアノシン (G) と同等であると見なされるため、CIGというコドンはCGGと見なされRとして翻訳される。B) ADAR2が働くとRNA編集が起こり、Ca<sup>2+</sup>を透過しないAMPA受容体ができるが、RNA編集が起こらないと孤発性ALSでみられるCa<sup>2+</sup>透過性のAMPA受容体になる

表 既知の哺乳類におけるA→I編集部位および神経・精神疾患

	基質名	編集部位	編集により変化する性質	マウス全脳由来 mRNA 編集効率	担当酵素	疾患との関連
AMPA型 グルタミン酸受容体	GluR2	Q/R 部位	受容体チャネルのCa <sup>2+</sup> 透過性	100%	ADAR2	ALS(編集率低下) 悪性膠芽腫 (編集率低下*)
	GluR2, GluR3, GluR4	R/G 部位	受容体チャネルの脱感作時間	GluR2: 75%, GluR3: 90%, GluR4: 45%	ADAR1, ADAR2	てんかんで GluR2 R/G 部位 編集率上昇
	GluR5	Q/R 部位	受容体チャネルのCa <sup>2+</sup> 透過性	64%	ADAR1, ADAR2	側頭葉てんかん (GluR5 Q/R 部位 編集率上昇)
カイニン酸型 グルタミン酸受容体	GluR6	Q/R 部位, I/V 部位, Y/C 部位	受容体チャネルのCa <sup>2+</sup> 透過性	Q/R 部位: 86%, I/V 部位: 87%, Y/C 部位: 90%	ADAR1, ADAR2	側頭葉てんかん (GluR6 Q/R 部位 編集率上昇)
	5-HT <sub>2c</sub> R	A~E 部位	Gタンパク結合効率	A 部位: 75%, B 部位: 80%, C 部位: 15%, D 部位: 70%, E (C') 部位	A, B 部位: ADAR1 C, D 部位: ADAR2	うつ病 (5-HT <sub>2c</sub> 受容体 D, E 部位編集効率 上昇)
GABA <sub>A</sub> 受容体	Gabra3	I/M 部位	受容体チャネルのCl <sup>-</sup> 透過性	90%	ADAR1, ADAR2	
膜電位依存型 カリウムチャネル	Kv1.1	S6ドメイン内	チャネルの不活化	48%	ADAR2	Episodic ataxia type 1 (編集異常は不明)**
RNA編集酵素	ADAR2	自己編集部位	酵素活性	15%	ADAR2	

\* 正常の白質組織と比較すると低下していない。 \*\* 本体は点突然変異であり、RNA編集異常の関与が考えられている。  
表をみるとわかるように、現在知られている編集部位は受容体やイオンチャネルに多くみられる。バイオインフォマティクスによる網羅的解析により、A1編集部位を全ゲノムで検索することが可能になり、非常に多くのRNA編集部位が発見された(約3000の異なる遺伝子上に計3万カ所あまり)。その多くが非翻訳領域であるAlu配列やLINEのようなレトロトランスポゾン由来の反復配列に存在する。非翻訳領域の反復配列からなる二重鎖RNA構造はRNA編集により安定性が減少すると考えられ、進化による誘導やmRNAの安定性や翻訳効率への影響、スプライシング効率の調整、RNAiへの関与などが推測されている

とが *in situ* hybridization 法によって確認された。その後発現分布は生後 3 週目まで増加し、より広範になっていくが最も発現が強いのが視床であり、一方で白質の発現は非常に少ないことが示されている<sup>21)</sup>。ヒト脳における検討でも、灰白質に豊富に発現しており、白質では少ない<sup>10)</sup>。RNA 編集部位は多数知られており、特に中枢神経系に発現する mRNA に多い。編集部位の多くは非翻訳領域に位置し、GluR2 Q/R 部位のような翻訳領域のものは 1% 以下である。その中で、特異的に ADAR1 ないし ADAR2 が触媒されていることが明らかにされている部位は必ずしも多くない<sup>22)</sup>。ADAR1 のノックアウトマウスが胎生致死であることから<sup>19)</sup>、ADAR1 の触媒する RNA 編集部位は発生の段階で生存に不可欠な役割を持つことが示されている。ADAR2 のノックアウトマウスは出生するものの、生後 20 日以内に痙攣重積によって死に至るが、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すると表現型は正常化することから<sup>9)</sup>、GluR2Q/R 部位以外の RNA 編集は個体の生存にとり必ずしも不可欠なものではない。

### 3) ADAR2 活性と孤発性 ALS

GluR2 mRNA は、ヒト中枢神経系において、部位や細胞を問わず、AMPA 受容体サブユニット mRNA の中で最も多く発現している。AMPA 受容体の Ca<sup>2+</sup> 透過性は、GluR2 サブユニットを含んでいるか、その GluR2 サブユニットの Q/R 部位が編集されているかどうかによって決まるが、ラット脳では胎生 14 日以降は GluR2 Q/R 部位は完全に編集されており、成長に伴って編集された GluR2 サブユニットの発現量が増えることによって、Ca<sup>2+</sup> 透過性が低くなっていくと考えられる。GluR2 サブユニットは、動物脳において成長時期や部位にかかわらず完全に編集され、正常の脊髄前角ニューロンにおいてもすべて編集されている。ADAR2 コンディショナルノックアウトマウスの検討でも、ADAR2 活性の低下により未編集型の GluR2 サブユニットが増えることは、神経細胞死の直接原因であることが明らかになっている<sup>23)</sup>。このように、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は直接生命維持に関わることから ADAR2 による編集が厳密に行われていることが示唆される。ヒト正常脳での検討では、ADAR2 は灰白質に豊富に発現しており、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集

率は 100% であるが、白質での発現量は少なく、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率は必ずしも 100% ではない<sup>24)</sup>。したがって、ADAR2 mRNA 発現レベルは GluR2 Q/R 部位における編集活性を反映するが、孤発性 ALS の脊髄では ADAR2 mRNA の発現レベルが低下しており<sup>7)</sup>、ADAR2 活性低下が GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常を引き起こしていると考えられる。

このように、孤発性 ALS では ADAR2 活性低下が GluR2 Q/R 部位の RNA 編集異常を通じて運動ニューロン死を引き起こしている可能性が高いことから、ADAR2 活性の正常化が特異的治療につながると考えられる。今後、ADAR2 の活性回復を治療方法として検討するためには、スクリーニングとして ADAR2 活性測定系が必要である。*in vitro* スクリーニングシステムとしては、ADAR2 活性を RNA 編集率に反映させる培養細胞系が有用であるが、既存の培養細胞系は GluR2 mRNA の発現量が低かったり、Q/R 部位の RNA 編集率が 100% であるため、ADAR2 活性のスクリーニングには適していない。そのため、Q/R 部位を含むヒト GluR2 遺伝子の一部を HeLa 細胞に組み込み、この GluR2 遺伝子の Q/R 部位の編集率が定常的に 50% 前後である細胞株 (TetHeLaG2m 細胞) を作製した<sup>25)</sup>。さらにその系を用いて 40 種類以上の薬物の検討から、複数の薬物に ADAR2 活性賦活作用があることが明らかになり、その分子メカニズムが、ADAR2 mRNA 対 GluR2 ミニ遺伝子転写物比 (酵素対基質量比) 依存的であることを報告した<sup>25)</sup>。治療薬としての有用性は動物に投与しての *in vivo* での効果を検討する必要があるが、前述のように GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率は 100% に保たれているため、ADAR2 活性の賦活効果を検討するには不適當である。われわれは、ADAR2 活性を *in vivo* で測定するための基質の検索を行い、中枢神経系に豊富に発現する CYFIP2 (cytoplasmic fragile X mental retardation protein interacting protein) mRNA の K/E 部位が ADAR2 の特異的基質であることを明らかにし、ADAR2 活性を *in vivo* で測定するツールを開発した<sup>23)</sup> <sup>26)</sup>。今後これらの実験系を用い ADAR2 活性賦活作用があった薬剤について *in vivo* での効果を確認し、孤発性 ALS 治療法の開発につなげたい。

この研究は、文部科学省科学研究費、厚生労働省科学研究費によって行った。

## 文献

- 1) Kawahara, Y. et al. : Nature, 427 : 801, 2004
- 2) Sun, H. et al. : J. Neurochem., 98 : 782-791, 2006
- 3) Rothstein, J. D. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90 : 6591-6595, 1993
- 4) Couratier, P. et al. : Lancet, 341 : 265-268, 1993
- 5) Brorson, J. R. et al. : J. Neurosci., 14 : 187-197, 1994
- 6) Iihara, K. et al. : J. Neurosci., 21 : 2224-2239, 2001
- 7) Kawahara, Y. & Kwak, S. : Amyotroph. Lateral Scler. Other Motor Neuron Disord., 6 : 131-144, 2005
- 8) Kwak, S. & Kawahara, Y. : J. Mol. Med., 83 : 110-120, 2005
- 9) Higuchi, M. et al. : Nature, 406 : 78-81, 2000
- 10) Kawahara, Y. et al. : J. Neurochem., 85 : 680-689, 2003
- 11) Takuma, H. et al. : Ann. Neurol., 46 : 806-815, 1999
- 12) Paschen, W. et al. : J. Neurochem., 63 : 1596-1602, 1994
- 13) Akbarian, S. et al. : Brain Res., 699 : 297-304, 1995
- 14) Suzuki, T. et al. : Folia Pharmacol. Jpn., 122 : 515-526, 2003
- 15) Kawahara, Y. et al. : Neurosci. Res., 54 : 11-14, 2006
- 16) Kwak, S. & Weiss, J. H. : Curr. Opin. Neurobiol., 16 : 281-287, 2006
- 17) Brusa, R. et al. : Science, 270 : 1677-1680, 1995
- 18) Levanon, E. Y. et al. : Nature Biotechnol., 22 : 1001-1005, 2004
- 19) Wang, Q. et al. : Science, 290 : 1765-1768, 2000
- 20) Rueter, S. M. et al. : Nature, 399 : 75-80, 1999
- 21) Paupard, M. C. et al. : Neuroscience, 95 : 869-879, 2000
- 22) Nishimoto, Y. et al. : Neurosci. Res., 61 : 201-206, 2008
- 23) Hideyama, T. et al. : Abstr. Neurosci. 2008, 745 : 17, 2008
- 24) Kawahara, Y. et al. : Eur. J. Neurosci., 18 : 23-33, 2003
- 25) Sawada, J. et al. : Neurosci. Res., 64 : 251-258, 2009
- 26) Kwak, S. et al. : RNA Biol., 5 : 193-197, 2008

### <筆頭著者プロフィール>

日出山拓人：国立国際医療センター、日本赤十字社医療センター、虎の門病院を経て総合内科専門医、神経内科専門医を取得後、東京大学大学院医学系研究科を修了、東京大学医学部附属病院勤務を経て、現在、東京大学保健・健康推進本部に勤務し、本郷・駒場・柏キャンパスで職員・学生の健康を守っています。大学院入学後から現在も、郭伸准教授のもとで孤発性ALSの治療を見つけるため、研究を続けております。

## 孤発性ALS患者運動ニューロンに見出された分子病態RNA editing異常に基づいたモデルマウスの開発

Development of a mouse model of sporadic ALS by targeting RNA editing, the disease-specific molecular abnormalities demonstrated in patients' motor neurons



日出山拓人(写真) 郭 伸

Takuto HIDEYAMA<sup>1,2</sup> and Shin KWAK<sup>2</sup>

東京大学保健・健康推進本部<sup>1</sup>, 同大学院医学系研究科神経内科<sup>2</sup>

◎筋萎縮性側索硬化症(ALS)は9割以上が孤発性である。著者らは、孤発性ALSの運動ニューロンではAMPA受容体のサブユニットであるGluR2の本来RNA編集されるべきQ/R部位の未編集のものが発現している分子異常が疾患特異的に生じていることを、患者剖検脊髄の解析から明らかにした。このGluR2 Q/R部位のRNA編集は、adenosine deaminase acting on RNA type 2(ADAR2)により特異的に触媒される。そのため著者らは、孤発性ALSはADAR2活性低下によるGluR2 Q/R部位のRNA編集低下が神経細胞死を引き起こす、という仮説を立て、あらたに開発したADAR2コンディショナルノックアウトマウスの解析から検証した。このことは、GluR2のRNA編集異常が孤発性ALSの病因と密接に関連する分子異常であることを示している。

**Key word** : 筋萎縮性側索硬化症(ALS), AMPA受容体, GluR2(GluR-B, GluA2), RNA編集, ADAR2, ノックアウトマウス

### AMPA受容体を介した神経細胞死

AMPA受容体を介する神経細胞死は、チャネルからの過剰なCa<sup>2+</sup>流入に引き続いて起こる。また、AMPA受容体はGluR1-4(GluA1-4)の4種のサブユニットからなる四量体で、Ca<sup>2+</sup>透過性はGluR2サブユニットが含まれるかどうかにより決まる。GluR2を1個以上含むAMPA受容体はCa<sup>2+</sup>非透過性で、1個も含まないものはCa<sup>2+</sup>透過性である。ただし、GluR2は転写後にQ/R部位のRNA編集を受けてはじめてCa<sup>2+</sup>非透過性を獲得するので、未編集型GluR2を含むAMPA受容体もCa<sup>2+</sup>透過性である。

著者らのグループはlaser microdissectorを用いて凍結剖検脊髄組織から単一運動ニューロンを切り出し、孤発性ALS脊髄運動ニューロンの単一神経細胞レベル<sup>1)</sup>および脊髄前角組織レベル<sup>2)</sup>の検討において、部位選択的・疾患特異的にGluR2 Q

R(グルタミン・アルギニン)部位の編集率が低下していること、しかしGluR2 mRNA発現量には有意な変化がないこと<sup>3)</sup>を確認した。この分子変化の疾患特異性、部位選択性を検討した結果、孤発性ALSで変性しない小脳Purkinje細胞のほか、さまざまな神経変性疾患における変性部位、すなわち小脳を侵す神経変性疾患である脊髄小脳変性症のPurkinje細胞<sup>1)</sup>、Huntington病の線条体、Alzheimer病の大脳皮質などにおいて、この部位のRNA編集が保たれていることを明らかにした<sup>4)</sup>。さらに、運動ニューロンに変性を生じるトリプレットリピート病である球脊髄性筋萎縮症の運動ニューロンと家族性ALSでもっとも頻度が高いSOD1関連性家族性ALS(ALS1)の運動ニューロンでも、GluR2 Q/R部位のRNA編集には変化がないことを明らかにし<sup>5)</sup>、この分子変化が運動ニューロン死に伴う非特異的な変化である可能性

を除外した。

### ADAR2とGluR2 Q/R部位

GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は、mRNA のアデノシン・イノシン置換(A-to-I conversion)により CAG コドン(Q)が CIG=CGG コドン(R)に変わることに伴うアミノ酸置換を伴う。A-to-I 置換は adenosine deaminase acting on RNA(ADAR)により触媒される。ADAR は 3 種(ADAR1, 2, 3)が知られているが、GluR2 Q/R 部位の RNA 編集は ADAR2 によって触媒されることがノックアウトマウスの検討から明らかにされている<sup>6)</sup>。孤発性 ALS 剖検脊髄の検討では、半数以上の運動ニューロンにおける ADAR2 免疫染色性の低下<sup>7)</sup>、ADAR2 活性を規定する因子のひとつである ADAR2 mRNA 発現量の減少が認められている<sup>8)</sup>。ラットの一過性脳虚血実験では海馬 CA1 錐体細胞で ADAR2 mRNA 発現が低下し、GluR2 Q/R 部位 RNA 編集低下が起こり、遅発性神経細胞死が生じ、同部位の RNA 編集を回復することで細胞死が

回避されることが報告されている<sup>9)</sup>。また、全身的 ADAR2 ノックアウトマウスは脳の GluR2 Q/R 部位の RNA 編集率が著減し、痙攣重積で死亡するが、GluR2 遺伝子を編集型 GluR2 をコードする遺伝子 GluR-B(R)に置換することにより正常化する<sup>6)</sup>。

以上より、孤発性 ALS は ADAR2 活性低下により GluR2 Q/R 部位の RNA 編集が低下することで神経細胞死が生じる、という仮説を立てた。

### コンディショナルノックアウトマウスの作製

上述した Higuchi らの全身的 ADAR2 ノックアウトマウスは、編集型 GluR2 pre-mRNA が 10% に低下し、生後 20 日以内に痙攣重積で死に至る<sup>6)</sup>が、この時間経過・表現型は ALS とは異なり、神経の過剰興奮に伴う痙攣に伴う死と考えられ、ADAR2 活性低下が直接に神経細胞死を引き起こすかどうかは明らかではなかった。そこで非特異的痙攣死を避けるために、運動ニューロン特異的に ADAR2 をノックアウトすることによりニュー

サイド  
メモ

### RNA 編集 (RNA editing)

一般に、pre-mRNA は遺伝子から転写された後、スプライシングを受け、イントロン部分が切りだされて mRNA が形成される。遺伝情報は正確に転写されなければ生死にかかわるような重大な障害をきたす可能性があるが、遺伝子から mRNA が形成される過程で、遺伝情報が書き換えられることがある。これを RNA 編集(RNA editing)とよぶ。蛋白質の一次構造はすべて DNA が決定すると信じられており、DNA 情報を転写し、蛋白質を忠実につくるのが RNA の重要な役割と考えられてきた。しかし、このセントラルドグマに反するかのような、後に RNA 編集と命名される現象が Trypanosoma(原鞭毛虫類)の kinetoplastid(ミトコンドリアに相当)DNA の転写過程で発見された。

RNA 編集を受ける部位がエクソンに位置し、転写後のコドン置換を伴う場合には蛋白質の機能を変える場合があり、生物学的にも重要な反応である。アデノシン・イノシン(A→I)置換は中枢神経系でもっとも活発に生じており、孤発性 ALS で異常が認められる AMPA 受容体サブユニット GluR2(GluA2) Q/R 部位の RNA 編集も、A→I 置換により CAG(グルタミン Q コドン)が CIG(CG G : ア

ルギニン R コドン)に置換することでアミノ酸置換が起こる。アミノ酸置換を伴う A→I 置換は GluR2 Q/R 部位以外にも、カイニン酸受容体サブユニットである GluR5(GluK1)、GluR6(GluK2)の Q/R 部位や AMPA 受容体の GluR2(GluA2)、GluR3(GluA3)、GluR4(GluA4)サブユニットの R/G 部位、電位依存性 K チャネル Kv1.1 の I/V 部位、5HT<sub>2A</sub>受容体の A→E 部位に起こり、RNA 編集の有無によりチャネル特性に変化をもたらす。また、ADAR2 の self-editing ではスプライシングサイトの変化によるフレームシフトにより酵素活性が変化するなど、さまざまな RNA の、それも複数の部位で生じている。なかでも、GluR2 の Q/R 部位は胎生期から成熟期に至るまでほぼ 100%編集されている点、この部位の RNA 編集が不十分で未編集型 GluR2 を発現することが運動ニューロン死を引き起こすという点で特異的である。ADAR1 ノックアウトマウスが胎生致死であることから、他の RNA 編集部位(大多数は non-coding 部位に存在する)にも細胞の生死にかかわる部位が存在することは想定されているが、特定されていない。

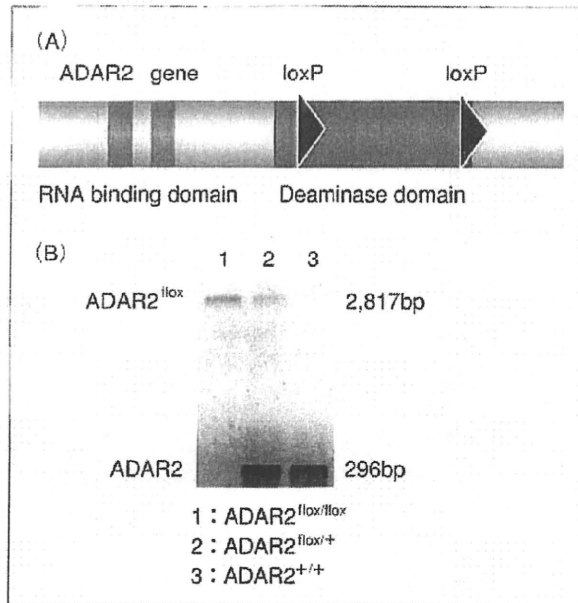


図 1 ADAR2コンディショナルノックアウトマウスの作製

ADAR2 は、2 個の二本鎖 RNA 結合部位(RNA binding domain)と、1 カ所の編集触媒部位(deaminase domain)からなる。ADAR2 遺伝子の deaminase domain をコードするエクソンを LoxP(▶)で挟んだ変異マウス(ADAR2<sup>lox/lox</sup>)を作成し、VAcHT-Cre. Fast マウスとの交配によって、Cre-LoxP 系により ADAR2 をノックアウトする ADAR2<sup>lox/lox</sup>. VAcHT-Cre. Fast (AR2 マウス)を作製した。

ロン死が生じるかどうかを検討した。この目的のため、ADAR2 遺伝子の活性基をコードするエクソンを LoxP で挟んだ変異マウス(ADAR2<sup>lox/lox</sup>)を作成し(図 1-A, B)、小胞性アセチルコリントランスporter/アセチルコリン転換酵素のプロモーターにより Cre recombinase をおよそ半数の運動ニューロンに発現する変異マウス(VAcHT-Cre. Fast)<sup>10)</sup>との交配により、ADAR2<sup>lox/lox</sup>. VAcHT-Cre. Fast(以下、AR2 マウス)を Cre-LoxP 系を用いて作製した<sup>11)</sup>。

脊髄前角の大径運動ニューロンの一部で正常な ADAR2 mRNA が発現していないことを PCR 法および ISH 法で確認し、これらのニューロンでは ADAR2 蛋白が発現していないことを免疫組織化学で確認した。さらに、ADAR2 が発現していないニューロンでは Cre が発現していることを PCR 法で確認し、これらのニューロンでは GluR2 Q/R 部位の編集率が低下していることを確認し、Cre. LoxP 系によるノックアウトが働いているこ

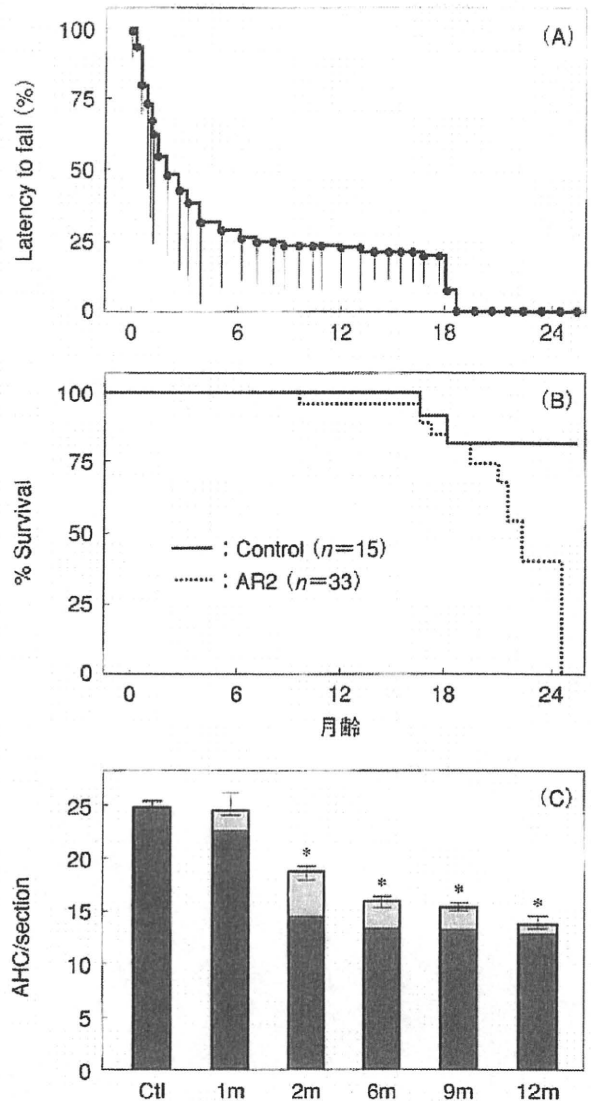


図 2 AR2のロータロッド、生存期間、細胞死の経過

- A: ロータロッドは、正常対照 15 匹, AR2 マウス 33 匹に対して毎週、10 rpm で 180 秒を最大値とし、3 回施行した最大値と比較した。●のプロットは正常対照を 100%とした際の AR2 マウスの落下までの時間である。5 週目から AR2 マウスのロータロッドスコアは著減した。
- B: 生存期間は正常対照が 105.1±13.5 週(mean±SEM)に対して、AR2 マウスは 81.5±16.4 週と短縮していた( $p=0.0262$ , Log-rank analysis)。
- C: 脊髄前角大径運動ニューロンの特異的のマーカである SMI32 と ADAR2 の二重免疫染色を行い、正常対照、1, 2, 6, 9, 12 カ月齢(1, 2, 6, 9, 12m)の AR2 マウスについて SMI32 陽性, ADAR2 陽性の運動ニューロン数(濃いグレーのカラム)、SMI32 陽性, ADAR2 陰性の運動ニューロン数(薄いグレーのカラム)をカウントした。正常対照ではすべての脊髄前角大径運動ニューロンは SMI32 陽性, ADAR2 陽性であったが、AR2 マウスでは 1 カ月齢から Cre の発現に一致し、ADAR2 陰性の運動ニューロンが観察され、経時的にこれらの Cre の発現する約半数の ADAR2 陰性の運動ニューロンが変性脱落した。\*:  $p < 0.01$ , repeated ANOVA.

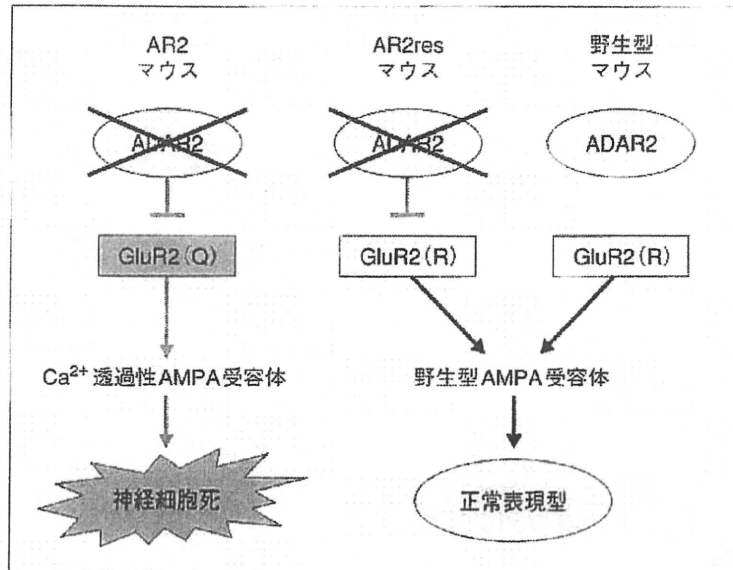


図 3 GluR2 Q/R部位は運動ニューロンの生存に必須である

野生型マウスでは ADAR2 により GluR2 Q/R 部位の RNA 編集が正常に行われ、編集型の GluR2(R) が発現し、野生型の  $\text{Ca}^{2+}$  を透過しない AMPA 受容体が運動ニューロンに発現し、正常の表現型を示す。AR2 マウスは ADAR2 ノックアウトにより GluR2 Q/R 部位の RNA 編集が行われず、未編集型の GluR2(Q) が発現し、 $\text{Ca}^{2+}$  透過性の AMPA 受容体が運動ニューロンに発現し、緩徐進行性の神経細胞死をきたす。AR2res は GluR-B<sup>RK</sup> マウスと AR2 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(R) を発現するようにした変異マウスである(本文参照)。AR2res マウスでは ADAR2 活性はないが、編集型 GluR2(R) が発現し、 $\text{Ca}^{2+}$  非透過性の AMPA 受容体が運動ニューロンに発現し、正常の表現型を示した。以上から ADAR2 活性低下による運動ニューロン死は GluR2 Q/R 部位以外の ADAR2 編集部位は細胞死に関与しない、未編集型 GluR2 の発現による AMPA 受容体の  $\text{Ca}^{2+}$  透過性亢進により生じたと考えられた。

とを確認した<sup>11)</sup>。

AR2 マウスは 5 週齢以降 6 カ月齢にかけて緩徐進行性に運動機能の低下(ロータロッド: 図 2-A)が認められ、有意な生存期間の短縮がみられた(図 2-B)。さらに、運動ニューロンの変性像およ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 の発現時期およ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 カ月齢以降有意な変化がなかった(図 2-C)。ADAR2 陰性運動ニューロンの脱落は 1~2 カ月齢の間でもっとも顕著であり、その後緩徐に進行し、12 カ月齢でも ADAR2 を欠損した運動ニューロンが少数残存していた。電気生理学的にも脱神経を

示す fasciculation および fibrillation が被検筋で認められ、形態的には筋線維の小角化線維が認められた。神経筋接合部(NMJ)の検討では除神経 NMJ、複数の神経による再支配像が認められ、細胞の脱落が活発に認められる 4 カ月齢に比べ、14 カ月齢では後者の像が多く認められた。

グリアの検討では、神経細胞の脱落が活発な時期に一致して Mac2 陽性の reactive microglia が著増し、GFAP 陽性の reactive astrocyte は神経脱落に平行した増加が認められた。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<sup>11)</sup>。

さらに、こ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<sup>R/R</sup> マウス<sup>12)</sup> と AR2 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 (図 3)。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。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 Ca<sup>2+</sup> 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<sup>11)</sup>。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。動眼神経核運動ニューロンが GluR2 Q/R 部位の編集率低下にもかかわらず細胞死を免れていたことは、カルシウム結合蛋白である parvalbumin 含有量が脊髄運動ニューロンに比べ多いためカルシウム毒性への抵抗性が高いことによると考えられる。

### おわりに

著者らは患者組織の解析から GluR2 Q/R 部位の編集率低下という疾患特異的な分子変化を見出し、これが運動ニューロン死の直接原因となることをモデルマウスの開発・解析により明らかにした。このことにより孤発性 ALS の病因が機能分子の活性低下による可能性が高くなり、特異的治療開発の展望が開けたといえる。今後、このマウスのさらなる解析により、孤発性 ALS の病因、治療が開発できるように日々努力していきたい。

### 文献

- 1) Kawahara, Y. et al. : Glutamate receptors : RNA editing and death of motor neurons. *Nature*, **427** : 801, 2004.
- 2) Takuma, H. et al. : Reduction of GluR2 RNA editing, a molecular change that increases calcium influx through AMPA receptors, selective in the spinal ventral gray of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Ann. Neurol.*, **46** : 806-815, 1999.
- 3) Kawahara, Y. et al. : Low editing efficiency of GluR2 mRNA is associated with a low relative abundance of ADAR2 mRNA in white matter of normal human brain. *Eur. J. Neurosci.*, **18** : 23-33, 2003.
- 4) Suzuki, T. et al. : Recent advances in the study of AMPA receptors. *Folia Pharmacol. Jpn.*, **122** : 515-526, 2003.
- 5) Kawahara, Y. et al. : Underediting of GluR2 mRNA, a neuronal death inducing molecular change in sporadic ALS, does not occur in motor neurons in ALS1 or SBMA. *Neurosci. Res.*, **54** : 11-14, 2006.
- 6) Higuchi, M. et al. : Point mutation in an AMPA receptor gene rescues lethality in mice deficient in the RNA-editing enzyme ADAR2. *Nature*, **406** : 78-81, 2000.
- 7) Aizawa, H. et al. : TDP-43 pathology in sporadic ALS occurs in motor neurons lacking the RNA editing enzyme ADAR2. *Acta Neuropathol.*, **120** : 75-84, 2010.
- 8) Kwak, S. and Kawahara, Y. : Deficient RNA editing of GluR2 and neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis. *J. Mol. Med.*, **83** : 110-120, 2005.
- 9) Peng, P.L. et al. : ADAR2-dependent RNA editing of AMPA receptor subunit GluR2 determines vulnerability of neurons in forebrain ischemia. *Neuron*, **49** : 719-733, 2006.
- 10) Misawa, H. et al. : VAcHT-Cre. Fast and VAcHT-Cre. Slow : postnatal expression of Cre recombinase in somatomotor neurons with different onset. *Genesis*, **37** : 44-50, 2003.
- 11) Hideyama, T. et al. : Development of a mouse model of sporadic ALS by deficient RNA editing. *J. Neurosci.*, **30** : 11917-11925, 2010.
- 12) Kuner, R. et al. : Late-onset motoneuron disease caused by a functionally modified AMPA receptor subunit. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102** : 5826-5831, 2005.

\* \* \*

&lt;原 著&gt;

## 小脳梗塞初期診断の問題点

齋藤 司<sup>1)</sup> 相澤 仁志<sup>1)</sup> 澤田 潤<sup>1)</sup> 油川 陽子<sup>3)</sup> 片山 隆行<sup>1)</sup>  
 長谷部直幸<sup>1)</sup> 林 恵充<sup>2)</sup> 安榮 良悟<sup>2)</sup> 佐藤 正夫<sup>2)</sup> 程塚 明<sup>2)</sup>

**要旨：**【背景・目的】小脳梗塞の臨床的特徴を検討し、初期診療上の問題点を明らかにする。

【方法】2006年1月1日から2008年12月31日までの3年間に、旭川医大病院 Stroke team が診療した脳卒中患者514例のうちの小脳梗塞患者22例(4.3%)を対象とした。【結果】典型的な小脳症状を全く呈さない症例、あるいは一つのみ呈する症例が8例(36.4%)見られた。3例が救急車を利用して発症後3時間以内に受診したにもかかわらず、当初小脳梗塞と診断されず神経内科や脳神経外科以外の病棟に入院した。その3例はいずれもめまいを主訴とし、構音障害と歩行障害が見られなかった。その他2例を合わせ全体の22.7%にあたる5例が、Stroke teamによる初期の診察を受けておらず、それが当初小脳梗塞と診断されなかった要因の一つと考えられた。【結論】めまいや嘔吐を主訴とする場合は、常に小脳梗塞である可能性を考慮する必要がある。Stroke teamによる早期の正確な神経学的診察が重要である。

**Key words :** cerebellar infarction, stroke team, stroke

(脳卒中 32 : 133-137, 2010)

## はじめに

小脳梗塞は虚血性脳卒中の2~4%<sup>1)~3)</sup>を占めるとされており、救急の現場ではしばしば遭遇する疾患である。典型的な症状と画像所見を呈する場合には診断は困難ではないが、めまいや嘔吐が前景に立ち、眼振や失調といった典型的な小脳症状を呈さない場合は誤診を招く可能性がある。また仮に眼振や小脳失調を呈していても、神経診察に習熟していない医師の場合、その異常所見を検出できない可能性もある。また画像診断においても限界があり、その性質を充分理解した上で利用しなければならない。以上のように小脳梗塞患者の診療に関しては、注意すべき点が多い。これまでに、小脳梗塞患者の初期診断の問題点について複数症例で検討した報告は少ない。本研究では小脳梗塞の臨床的特徴を検討し、診療上の問題点を明らかにすることを目的とした。

## 対象と方法

2006年1月1日から2008年12月31日までの3年間に、旭川医大病院 Stroke team が診療した脳卒中患者514例のうち、画像上小脳のみ病巣を持ちテント上や脳幹に病巣を持たない小脳梗塞患者22例(4.3%)を対象とし、後方視的に検討した。

## 結 果

症例の平均年齢は75歳で、分布は56歳から89歳までであった。男性が15例、女性が7例であった。来院方法は、救急車を利用して救急外来を受診した症例が72.7%、自力で救急外来を受診した症例が4.5%、自力で通常の外来を受診した症例が22.7%であった。来院までに要した時間で分類すると、発症から3時間以内が27.3%、3時間から6時間以内が9.1%、6時間から24時間が40.9%、24時間以上が22.7%であった。左右で分類した梗塞巣の分布は、13例が右小脳半球のみ、5例が左小脳半球のみで、両側小脳半球は4例であった。小脳を支配する血管で分類した梗塞領域の分布は、上小脳動脈(SCA)が11例、後下小脳動脈(PICA)が14例であり、前下小脳動脈領

<sup>1)</sup>旭川医科大学神経内科

<sup>2)</sup>同 脳神経外科

<sup>3)</sup>国立病院機構道北病院脳神経内科

(2009年10月9日受付、2009年11月21日受理)

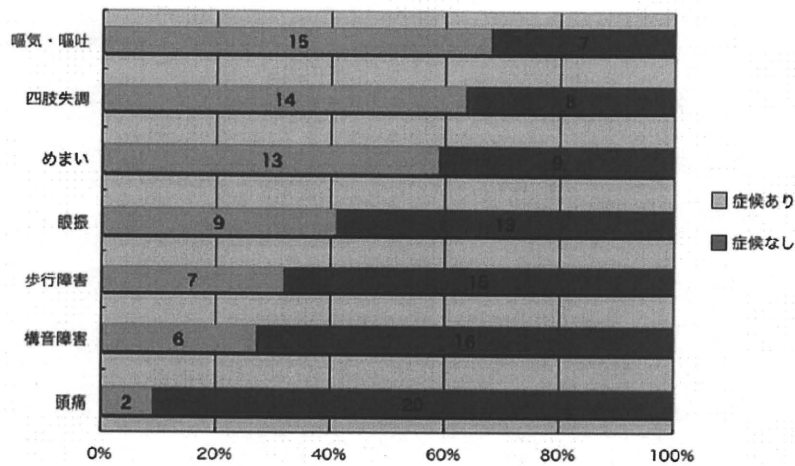


図1 代表的7症候の有無の割合  
嘔気・嘔吐、四肢失調、めまいは半数以上が呈している。頭痛はわずかに2例と少ない。

域の梗塞はなかった。Stroke team 診察時に記載された症状・徴候から、嘔気・嘔吐、失調、めまい、眼振、歩行障害、構音障害、頭痛の7つを抽出し、これらがどの程度の割合で見られたかを図1に示す。嘔気・嘔吐とめまいなどの特異性に乏しい症状は大多数で見られたが、一方で失調という小脳症状として比較的特異性の高いと思われる症状もStroke teamの診察では14例(63.6%)と多くの症例に認められた。なお、めまいを呈した13例のうち、4例が明らかな回転性めまいを訴え、4例が浮動性めまいを訴え、残りの5例は性質がはっきりしない訴えのめまいであった。頭痛はわずかに2例のみに見られた。

次にこれら7つの症候のうち、特異性に乏しいと思われる嘔気・嘔吐とめまいを除いた5つについて、いくつ組み合わせて呈していたかを図2に示す。これによると、嘔気・嘔吐とめまい以外に、小脳梗塞を疑わせる症候を全く呈さない症例が22例中4例(18.2%)、1つしか症候を呈さない症例も4例存在しており、合わせて全体の約1/3にあたる8例(36.4%)が1つ以下の症状しか呈していなかった。

全体の22.7%にあたる5例が、Stroke teamによる初期の診察を受ける機会がなく、当初小脳梗塞と診断されていなかった。この5症例について、経過を簡潔に記載する。

#### 症例1

77歳、男性。メニエール病の既往があった。某日

午前11時頃に回転性のめまいを自覚し救急車を利用して午前11時23分に当院救急外来を受診。拡散強調画像を含むMRIが撮影されるも急性期新鮮梗塞を疑わせる所見が認められず、他科に入院した。翌朝になり右上下肢の失調に気づかれ頭部MRIが再び撮影された。右SCA領域に新鮮梗塞を示唆する所見が認められ、ここではじめてStroke teamに診療を依頼。このとき自覚症状としては嘔気を訴え、神経学的には右向きの眼振と右上下肢の失調を呈していた。MRAでは右SCAの描出を認めなかった。左椎骨動脈には50%程度までの狭窄を認めたが、脳底動脈には異常を認めなかった。オザグレルナトリウムの点滴静注が行われたが、症状に明らかな改善を認めず、リハビリ目的に転院した。その後約2年間、失調に改善は見られていない。

#### 症例2

77歳、女性。高血圧と心房細動のため当院循環器科通院中で、ワーファリンを内服中であった。某日午前0時30分に浮動性のめまいを自覚し、救急車にて午前1時56分に当院救急外来を受診。頭部CTが撮影され異常所見なく、他科に入院した。朝方に撮影されたMRIで右PICA領域に急性期脳梗塞所見が認められたため、Stroke teamに紹介あり。神経学的には右上下肢の失調と体幹失調を呈していた。MRAでは脳底動脈に異常所見を認めなかったが、右椎骨動脈が全く描出されていなかった。エダラボンとグリセオール

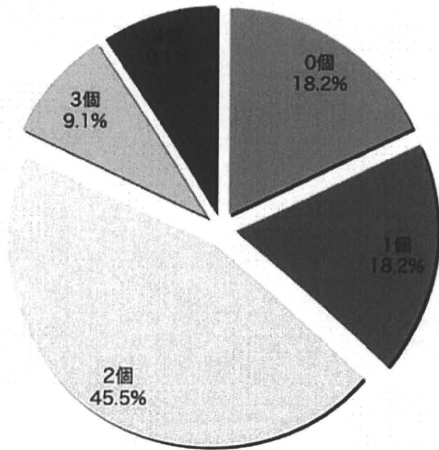


図2 代表的5症候をいくつ呈していたか  
四肢失調、構音障害、歩行障害、眼振、頭痛の5症候をいくつ呈していたかをまとめた。0個と1個が各18.2%存在している。

の投与を行い、右上下肢の失調はあるかないかという程度まで改善したが、体幹失調が残存し歩行時のふらつきが見られたため、リハビリ目的に転院された。

#### 症例3

81歳、女性。僧帽弁狭窄症と心不全、心房細動のため当院循環器科通院中で、ワーファリンを内服中であった。某日午後11時30分頃浮動性のめまいを自覚。翌日午前0時35分に救急車で当院救急外来を受診。頭部CTが撮影され異常所見が認められないとのことで他科に入院した。翌日夜間に構音障害と意識障害が出現し急速に悪化したため撮影されたMRIで、右SCA領域に新鮮梗塞を示唆する所見が認められ、Stroke teamへ紹介となった。MRAでは脳底動脈に異常を認めなかったが、右SCA描出の途絶が見られた。また右椎骨動脈に50%以上の狭窄を認めた。自覚症状として嘔気を訴え、神経学的には右向き眼振、右上下肢の失調を呈していた。梗塞範囲に脳浮腫が著しく進行し梗塞後出血も合併していたため、即日開頭血腫除去術が施行された。意識障害は術後回復したが、右上下肢の失調が残存したため、リハビリ目的で他院へ転院された。

#### 症例4

70歳、男性。既往に高血圧、高脂血症、耐糖能異常あり。某日午前9時30分農作業中にめまいを自覚し、

発症後30分で救急車で当院救急外来を受診。めまいの性質は問診上ははっきりしなかった。髄膜炎を疑われ腰椎穿刺が実施されていた。当院受診5時間後にStroke teamに診察要請あり。このとき自覚症状として嘔気を訴え、神経学的には眼振、右上下肢の軽度の失調症状を呈していた。MRIで右PICA領域に新鮮梗塞を示唆する所見が認められた。MRAでは椎骨動脈、脳底動脈に異常所見を認めなかった。エグラボン、アルガトロバン、グリセオールの投与を行った。めまいと嘔気、失調症状はわずかに改善したが自宅退院は困難な状態と考えられ、リハビリ目的に転院された。

#### 症例5

58歳、男性。高血圧、糖尿病、高脂血症と急性心筋梗塞の既往あり、アスピリンを内服していた。某日午後9時に回転性めまいを自覚し午後9時30分にかかりつけの近医を受診。頭部CT撮影されるも異常所見なく、経過観察目的で入院した。翌日症状が軽快したとの判断で自宅退院となった。しかしその後症状回復せず持続したため、5日後に自ら当科外来を受診。このとき回転性めまいと嘔気を訴えており、神経学的には左上下肢の失調と左への偏倚歩行を呈していた。MRIでは左PICA領域に梗塞所見を認めた。MRAでは椎骨動脈、脳底動脈に有意な狭窄や閉塞所見を認めなかった。めまいが改善せず持続したが自製内であり、2週間で自宅独歩退院した。

## 考 察

脳卒中は時間との戦いである。患者の予後は、診断・治療をいかに迅速にかつ正しく行うかにかかっている。小脳梗塞患者の初期診断における問題点を主に論じた報告は少ないが、最近の益田ら<sup>4)</sup>の報告によると、めまい・頭痛を主訴として受診した小脳梗塞患者33例中の実に58%にあたる19例が、当初脳梗塞と診断されていなかった。本報告では、残念ながら22例中5例(22.7%)に診断・治療の明らかな遅延が見られた。

他科に入院した症例1から3の3例は、いずれもめまいを主訴とし構音障害と歩行障害が見られなかった。救急車を利用し発症3時間以内に救急外来を受診したにもかかわらず、脳卒中である可能性が考慮されずStroke teamへの連絡が遅れた。神経内科や脳神経外科以外の病棟に入院した後に症状が増悪してから、小脳梗塞と診断された。この3例の画像診断については、症例1と症例2はCT撮影しかなされておらず、症例3は発症後30分で来院し、拡散強調画像を含む

MRI を撮影されていたが、急性期脳虚血の存在を示唆する所見は見られなかった。症例 4 は発症 30 分以内に救急外来を受診するも、救急外来では脳梗塞が疑われず、発症後 6 時間近く経過してから Stroke team へのコンサルトがあった。症例 5 も発症 30 分後にかかりつけの近医を受診するも、CT のみ撮影され、一泊入院のみで退院し 5 日後に当科外来を通常受診し、ようやく小脳梗塞の診断となった。

Savitz ら<sup>5)</sup> は、当初正しく小脳梗塞と診断されなかった 15 症例を詳細に検討し、全例で神経診察とその記載が不十分であり、特に眼球運動、協調運動、歩行の診察についてその傾向が顕著であったことを報告している。そして神経診察を徹底すること、小脳梗塞で出現しうる症状を十分意識した上で診療に当たること、脳画像診断に関する正しい知識を持つことが小脳梗塞を診断する能力を向上させるであろうと結論している。特に神経診察については、めまいの最中の患者ではその苦痛のため失調症状や詳細な眼振の診察が困難なこともしばしばあるが、これらの評価は可能な限り行うべきである。

現在、脳血管障害の診断において画像診断は必須である。CT は普及率が高く、出血性病変の検出にすぐれ、撮影に要する時間が短いという利点があるが、骨によるアーチファクトのため、後頭蓋窩の急性期虚血性病変の評価には適さない<sup>6)</sup>。可能な限り MRI を撮影することが望ましいが、拡散強調画像の撮影が可能でも、超急性期には新鮮梗塞を示唆する所見が出現しない場合がある点に留意すべきである。Oppenheim ら<sup>7)</sup> の報告では、椎骨脳底動脈領域の虚血性脳卒中患者のなかで、発症後 24 時間以内に撮影された MRI 拡散強調画像において異常所見を呈さない症例が、全体の 31% にも上っていた。小脳梗塞に限ったことではないが、発症の仕方を含めた現病歴と神経学的所見が最も重要であり、画像所見が陽性でなくとも脳血管障害の可能性を常に考慮することが肝要と考えられる<sup>8)</sup>。

本研究から、小脳梗塞の患者は必ずしも典型的な小脳症状を呈さず、めまいや嘔気などの非特異的な症状を訴えるにとどまる場合があるということが示唆された。このような場合で、かつ小脳失調やとくに注視方向性の jerky な眼振を異常所見として検出することができなければ、誤診する可能性が高いことが推測される。神経学的に小脳失調をはじめとした異常所見があ

る場合は当然であるが、嘔気やめまいなどの非特異的な症状が前景に立つ場合でもその原因疾患がはっきりしない場合や、経時的に症状を観察しめまいや嘔気などの症状が自然軽快しない場合は特に、入院させるなどして経過を慎重に観察することが望ましい。そして常に小脳梗塞や小脳出血の可能性を考慮するべきである。CT はもちろん特に超急性期に MRI 拡散強調画像で異常所見が見られないことは、必ずしも小脳梗塞であることを否定しないため、注意が必要である。平素脳卒中を診療する立場にある医師が以上の点を意識するのはもちろんのこと、救急外来で診療することのあり得る医師すべてがそのような意識を持つよう、啓発していく必要がある。今後もこのような症例の集積を継続し、小脳梗塞を伴うめまいと伴わないめまいを比較し、小脳梗塞を伴うめまいの臨床的特徴(神経症候以外の特徴も含め)を検討し、その情報を初診医に提供して啓発することが必要だと思われる。

\* 第 34 回日本脳卒中学会総会時 座長推薦論文

## 文 献

- 1) Macdonell RAI, Kalmins RM, Donnan GA: Cerebellar infarction: natural history, prognosis, and pathology. *Stroke* 18: 849-855, 1987
- 2) Bogousslavsky J, Van Melle G, Regli F: The Lausanne stroke registry. *Stroke* 19: 1083-1092, 1988
- 3) Tohgi H, Takahashi S, Chiba K, et al: Cerebellar infarction. Clinical and neuroimaging analysis in 293 patients. *Stroke* 24: 1697-1701, 1993
- 4) 益田陽子, 内山真一郎, 岩田 誠: 小脳梗塞の臨床的検討. *東女医大誌* 78: E163-E168, 2008
- 5) Savitz SI, Caplan LR, Edlow JA: Pitfalls in the Diagnosis of Cerebellar Infarction. *Acad Emerg Med* 14: 63-68, 2007
- 6) Simmons Z, Biller J, Adams HP Jr, et al: Cerebellar infarction: comparison of computed tomography and magnetic resonance imaging. *Ann Neurol* 19: 291-293, 1986
- 7) Oppenheim C, Stanescu R, Dormont D, et al: False-negative diffusion-weighted MR findings in acute ischemic stroke. *Am J Neuroradiol* 21: 1334-1340, 2000
- 8) Edlow JA, Newman-Toker DE, Savitz SI: Diagnosis and initial management of cerebellar infarction. *Lancet Neurol* 7: 951-964, 2008

**Abstract**

**Clinical problems in the initial diagnosis of cerebellar infarction**

Tsukasa Saito, M.D.<sup>1)</sup>, Hitoshi Aizawa, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>, Jun Sawada, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>,  
Yoko Aburakawa, M.D., Ph.D.<sup>3)</sup>, Takayuki Katayama, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>, Naoyuki Hasebe, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>,  
Yoshimitsu Hayashi, M.D.<sup>2)</sup>, Ryogo Anei, M.D.<sup>2)</sup>, Masao Sato, M.D., Ph.D.<sup>2)</sup>  
and Akira Hodotsuka, M.D., Ph.D.<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Neurology, Department of Internal Medicine, Asahikawa Medical College

<sup>2)</sup>Department of Neurosurgery, Asahikawa Medical College

<sup>3)</sup>Department of Neurology, National Hospital Organization Douhoku Hospital

**Background and Purpose:** On occasion, the diagnosis of cerebellar infarction is initially missed. We analyzed the clinical features of cerebellar infarction to clarify factors contributing to the misdiagnosis of cerebellar infarction.

**Methods:** Twenty two (4.3%) of 514 stroke patients were diagnosed with cerebellar infarction at Asahikawa Medical College between 2006 and 2008. We examined the clinical features of these patients retrospectively.

**Results:** Eight patients (36.4%) presented with no more than one typical cerebellar symptom. Although three patients came to the emergency room of our hospital within three hours of onset, they were not initially diagnosed with stroke but were admitted to a non-neurology ward. All three patients complained mainly of vertigo and did not present with either dysarthria or gait disturbance. Five patients were not initially diagnosed with cerebellar infarction due to the absence of any cerebellar sign.

**Conclusion:** We emphasize that clinicians should consider the possibility of cerebellar infarction whenever patients complain of vertigo or vomiting only. We recommend that the stroke team be involved in the diagnosis of patients with vertigo or vomiting.

(Jpn J Stroke 32: 133-137, 2010)

## &lt;原 著&gt;

## Telestroke の有用性と課題

相澤 仁志<sup>1)2)</sup> 澤田 潤<sup>1)</sup> 齋藤 司<sup>1)</sup> 遠藤 寿子<sup>1)</sup> 片山 隆行<sup>1)</sup>  
 長谷部直幸<sup>1)</sup> 平沼 初音<sup>3)</sup> 高橋 康二<sup>3)</sup> 羽根田 俊<sup>4)</sup> 守屋 潔<sup>5)</sup>

**要旨：**【目的】脳卒中専門医不在の地域基幹病院において遠隔脳卒中診療(telestroke)を試み、その有用性と課題を検証する。【方法】脳卒中専門医チームを有する医療機関と脳卒中専門医不在の地域基幹病院を TV 会議システムと放射線画像読影システムで結んだ。地域基幹病院に脳卒中を疑われた患者が搬送されたとき、TV 会議システムを用いて得られた神経所見と放射線画像読影システムで転送された画像所見から、臨床診断し、治療方針を決定した。Telestroke による脳卒中診療の有用性および課題を検討した。【結果】Telestroke により患者の意識状態や麻痺の状態などを直接観察することができた。地域基幹病院で撮影した神経画像をリアルタイムで読影できた。脳卒中専門医のいる医療機関に直接搬送されるときより診断までの時間、治療開始までの時間が短縮した。診療点数が算定されないことが課題であった。【結論】Telestroke は脳卒中専門医のいない地域基幹病院での脳卒中診療に有用と考えられた。

**Key words :** telestroke, stroke telemedicine, TV conferencing system  
 (脳卒中 33 : 84-88, 2011)

## はじめに

北海道は一つの医療圏が広く、また脳卒中を専門とする神経内科や脳神経外科医が不在の地域が数多く存在する。したがって、このような地域では脳卒中急性期に専門医による適切な診療を受ける機会を逸することが予測される。一方、stroke unit を利用した脳卒中専門チームによる治療を行うことにより脳卒中患者の死亡率減少、機能予後改善が得られることが知られており<sup>1)~4)</sup>、脳卒中専門医不在の地域の脳卒中診療のレベルを維持し、脳卒中診療の地域差を解消する取り組みはきわめて重要と考えられる。このような観点から、1990 年代の終わりから 2000 年にかけて欧米では脳卒中センターから遠隔地の脳卒中急性期患者に tissue plasminogen activator (t-PA) の使用を主な目

的として stroke telemedicine (telestroke) が発達してきた<sup>5)</sup>。そこで、本邦でも脳卒中専門医不在の地域基幹病院で遠隔脳卒中診療(telestroke)を試み、その有用性と課題を検証することを目的とした。

## 方 法

旭川医科大学では脳卒中診療レベルの向上と標準化のため 2005 年 12 月に神経内科と脳神経外科、循環器内科、救急部、放射線科などがストロークチームを結成した。主に神経内科と脳神経外科の脳卒中専門医が脳卒中の初期対応を行い、毎週合同ファレンスを行っている。旭川医科大学病院ストロークチームと脳卒中専門医不在の地域基幹病院(富良野病院)救急室を TV 会議システム(video-conferencing system)で結んだ。脳卒中患者が富良野病院へ搬送された時に、旭川医科大学の脳卒中専門医が TV 会議システムを用い救急搬送されたベッド上の患者のバイタルサイン、意識状態、神経所見を富良野病院の救急担当医と確認するようにした。TV 会議システムは専用の光回線により結んで、リアルタイムで患者の状態を確認できるようにした(図 1, 2)。

<sup>1)</sup> 旭川医科大学神経内科

<sup>2)</sup> 現独立行政法人国立病院機構東京病院神経内科

<sup>3)</sup> 旭川医科大学放射線科

<sup>4)</sup> 富良野病院

<sup>5)</sup> 旭川医科大学医工連携総研講座

(2010 年 8 月 30 日受付, 2010 年 9 月 28 日受理)

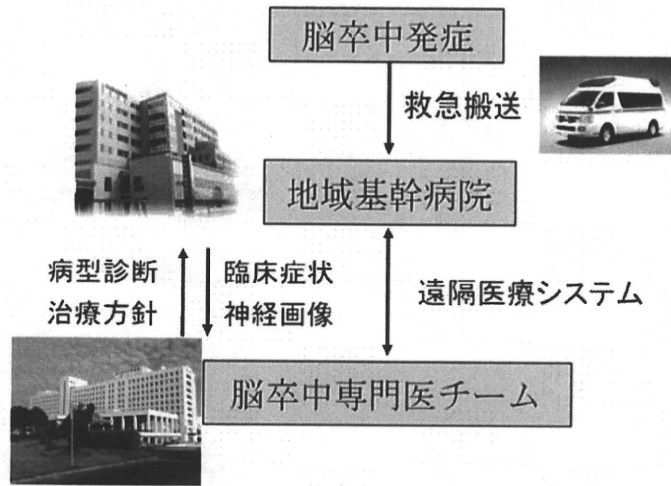
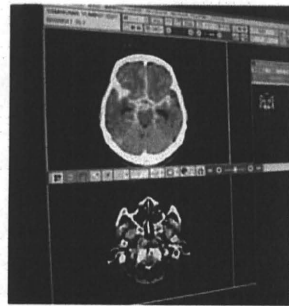


図1 Telectroke(脳卒中遠隔医療)の概念図

放射線読影システム



TV会議システム

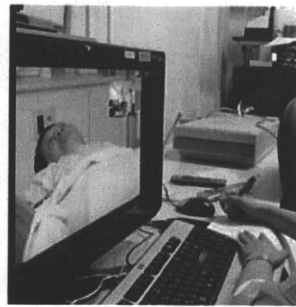


図2 放射線読影システムとTV会議システム

放射線読影システムにより地域基幹病院で撮像された画像を大学病院へ転送する。TV会議システムにより脳卒中患者の状態をリアルタイムで観察でき、地域基幹病院のスタッフあるいは患者自身とも会話ができる。

TV会議システムには Tandberg 880MXP を使い、通信回線には NTT 光回線(B フレッツ)とセキュリティーのためフレッツ VPN を使用した。ビットレートは 1152 kbps で、フレームレートは 30 フレーム/秒、解像度は 4CIF(704x576 ピクセル)、映像圧縮方式は H264、音声符号化方式は G.722、TV モニターは 20 型デジタル液晶 TV(シャープ AQUOS)を用いた。音声は 880MXP の機能で映像と同時に伝送し、マイクは 880MXP 内蔵、スピーカーは TV モニター内蔵を使用した。ビデオカメラはキャスター付台に載せて移動が自由に行えるようにした。放射線画像伝送

システムには TV 会議システムとは別の光回線と VPN を使用した。

富良野病院と旭川医科大学とは既に放射線画像伝送システムを整備し遠隔画像診断が可能な体制にして、富良野病院で撮像された CT や MRI などの画像は旭川医科大学放射線科に転送され、画像診断を行えるようにした。すなわちリアルタイム型の脳卒中診療支援を行えるようにした。

臨床所見と放射線画像読影システムで転送された画像所見を合わせ、脳卒中の臨床診断を行い、治療方針を決定した。今回、初めてのシステム運用のため日中

表 1 Telestroke 症例のまとめ

年齢	性	病名	症状	入院科	発症から 富良野病院まで	富良野受診 から当院まで	治療	転帰	
No. 1	75	M	くも膜下出血	意識障害	当院 脳神経外科	30 min	1h	保存的	当院へ転院, 死亡
No. 2	66	M	横静脈洞血栓症	けいれん	当院 神経内科	30 min	3d	ヘパリン	当院へ転院, 軽快後悪化
No. 3	75	M	心原性脳塞栓	歩行障害	当院 神経内科	18h	5h	エダラボン, ヘパリン	当院へ転院, 軽快
No. 4	81	M	視床出血	半身の異常感覚	近医脳外科 出張病院	2d		降圧	近医転院, 軽快
No. 5	76	M	外傷性くも膜下出血	頭痛	近医脳外科 出張病院	30 min		保存的	近医転院, 軽快
No. 6	62	M	ラクナ梗塞	半身の異常感覚	当院神経内科	2d	1h	エダラボン, オザグレ	当院へ転院, 軽快
No. 7	65	F	くも膜下出血	頭痛	当院 脳神経外科	1d	2.5h	クリッピング	当院へ転院, 治癒
No. 8	81	F	多発性脳塞栓	右不全麻痺, 構音障害	富良野病院	3h		エダラボン, ヘパリン	入院, 軽快

のみに限定して開始した。2009年10月から2010年2月までの5カ月間に富良野病院へ救急搬送された脳卒中を疑われた8症例を対象とした。診断、治療、転帰、ならびに時間経過を検討し、telestrokeの有用性と課題を検討した。

## 結 果

8症例のまとめを表1に示した。Telestrokeを用いることにより、旭川医科大学において富良野病院に搬送された患者のバイタルサイン、意識状態、神経所見を明瞭にかつリアルタイムで確認することができた。ズームによる観察も可能で患者の表情の詳細まで把握できた。また患者と直接会話し、発語異常の有無や口頭指示による反応を確認することができた。同時に富良野病院で撮像されたCTやMRI、MRAを読影することができた。いずれの症例も富良野病院でtelestrokeにより診断を確定し治療方針と治療場所の決定を行った。8例中、5例は最終的に当院へ搬送し、2例は脳神経外科医が出張している富良野の近医へ転院した。1例は富良野病院で加療を継続した。すなわち4割弱が地域の医療機関で加療した。脳梗塞は3例で、発症から富良野病院搬入までの時間が最短で3時間、最長2日であり、t-PAの適応のある症例はいなかった。

二次搬送された5症例のうち症例3と症例6は脳梗塞で治療を開始して搬送したが、静脈洞血栓症の症例2は二次搬送した後に治療を開始した。残りの2例はくも膜下出血で、降圧療法を開始して搬送した。

富良野病院から当院までは救急車を用いると約1時間を要する。したがってtelestrokeを使用することにより診断および治療開始まで約1時間短縮すると考えられた。富良野病院から当院へ搬送された患者のうち2例は救急車を使用し約1時間で到着したが、他の2例はそれぞれ2時間と5時間を要した。その原因としては富良野病院受診時に救急車を使用せず、その後当院へ受診する際にも救急車を使用しなかったためと考えられた。当院へ搬送された患者に関しては受け入れ態勢の整備が前もって可能であった。

## 考 察

今回の検討でTV会議システムと放射線画像伝送システムを用いることにより、少数例ながらリアルタイムのtelestrokeを行うことができた。Telestrokeを用いることにより、これらの症例の診断から治療方針決定までの時間短縮は富良野病院から大学病院までの搬送時間である約1時間と考えられた。

診断後は富良野病院で加療を受けた場合にはその場で治療を開始され、大学病院まで搬送された症例も一