

201128067B

厚生労働科学研究費補助金  
難治性疾患克服研究事業

アレキサンダー病の診断基準および治療・  
ケア指針の作成、病態解明・治療法開発のための研究

平成22－23年度 総合研究報告書

研究代表者 吉田 誠克

平成24 (2012) 年 3月

## 目 次

I. 研究班構成員名簿	・ ・ ・	1
II. 平成22-23年度総括研究報告	・ ・ ・	5
アレキサンダー病の診断基準および治療・ケア指針の作成、病態解明・治療法開発のための研究		
京都府立医科大学大学院 神経内科学	吉田誠克	・ ・ ・ 7
III. 平成22-23年度分担研究報告	・ ・ ・	23
1. 小児型 Alexander 病の多様性		
国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科	佐々木征行、他	・ ・ ・ 25
2. 成人発症アレキサンダー病の臨床病理学的研究		
愛知医科大学加齢医科学研究所 神経病理学	吉田眞理、他	・ ・ ・ 31
3. <i>GFAP</i> 遺伝子の p.R276L 変異を有する Alexander 病		
自治医科大学医学部 神経内科	滑川道人、他	・ ・ ・ 33
4. 変異 <i>GFAP</i> 導入による Alexander 病ショウジョウバエモデル		
京都府立医科大学大学院 神経内科学	中川正法、他	・ ・ ・ 37
IV. アレキサンダー病臨床診断指針(パンフレット)	・ ・ ・	43
V. ホームページ	・ ・ ・	57
VI. 班会議 会議録・抄録集	・ ・ ・	65
VII. 研究成果の刊行に関する一覧表	・ ・ ・	91
VIII. 研究成果の刊行物・別刷	・ ・ ・	95

# I . 研究班構成員名簿

アレキサンダー病の診断基準および治療・ケア指針の作成、病態  
 解明・治療法開発のための研究 研究班構成員名簿

区 分	氏 名	所 属 等	職 名
主任研究者	吉田 誠克	京都府立医科大学大学院・神経内科学	助 教
研究分担者	中川 正法	京都府立医科大学大学院・神経内科学	教 授
	佐々木征行	国立精神・神経医療研究センター病院 小児神経科	部 長
	吉田 眞理	愛知医科大学加齢医科学研究所 神経病理学、神経内科学	教 授
	滑川 道人	自治医科大学医学部・神経内科学	講 師
研究協力者	岡本 裕嗣	鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 神経病学講座 神経内科学	医 師
	辻野 精一	大阪府立急性期・総合医療センター リハビリテーション科	副部長
	水田 依久子	京都府立医科大学大学院・神経内科学	医 師
	笹山 博司	京都府立医科大学大学院・神経内科学	大学院生
事務局		京都府立医科大学 神経内科学教室	

## Ⅱ． 総合研究報告書

厚生労働科学研究費補助金(難治性疾患克服研究事業)  
総合研究報告書

アレキサンダー病の診断基準および治療・ケア指針の作成、  
病態解明・治療法開発のための研究 (H22-難治-一般-106)

研究代表者 吉田 誠克 京都府立医科大学大学院 神経内科 助教

研究要旨

アレキサンダー病は、病理学的に glial fibrillary acidic protein (GFAP)等から構成される Rosenthal fiber を星状膠細胞に認める稀な遺伝性神経変性疾患であり、原因遺伝子として GFAP が注目されている。臨床的には乳児型・若年型・成人型に分類されるが GFAP 変異と発症病態・臨床型との関連は十分に解明されていない。本研究では平成 21 年度に施行した全国調査結果をもとに診断指針を作成、普及することにより医療関係者の関心を高めることで診断率の向上を図った。さらに個々の症例に対する臨床的検討および分子遺伝学的検討、病理学的検討、病態モデル作成により病態解明および治療法開発を図った。臨床診断指針は神経学的所見と MRI 所見に基づいて新しい臨床分類(大脳優位型(1 型)、延髄・脊髄優位型(2 型)、中間型(3 型))を提案した。これらの成果は関連学会の一般演題やシンポジウムでの発表、英文論文発表、さらにはパンフレットの作成・配布、ホームページの開設により普及に努めた。病態解明のための臨床・基礎研究では、GFAP プロモーター遺伝子多型解析にて転写開始部位 250bp 上流の遺伝子多型が臨床病型、重症度に影響を与える可能性を示した。また、新生児期発症例の臨床的検討、乳児期発症例の長期経過を検討して、GFAP 変異との関連、MRI の特徴、経時的変化を示した。病理学的には高齢発症例と乳児期発症例の差異を示し、さらにアストロサイトを主体にタウの発現がみられることを示し、アストロサイトの機能障害を反映する可能性が示された。さらに細胞モデル、ショウジョウバエモデルを確立し、今後の病態解明研究へ一歩前進した。

分担研究者：

国立精神・神経医療研究センター病院  
小児神経科 部長 佐々木征行  
愛知医科大学加齢医科学研究所  
神経病理学・神経内科学  
教授 吉田眞理  
自治医科大学 神経内科  
講師 滑川道人  
京都府立医科大学大学院 神経内科学  
教授 中川正法

研究協力者：

大阪府立急性期・総合医療センター  
リハビリテーション科  
部長 辻野精一  
鹿児島大学大学院医歯学総合研究科  
神経病学講座 神経内科学 岡本裕嗣  
京都府立医科大学大学院 神経内科学  
水田依久子  
京都府立医科大学大学院 神経内科学  
大学院生 笹山博司

## A. 研究目的

アレキサンダー病は、病理学的に glial fibrillary acidic protein (GFAP)等から構成される Rosenthal fiber (RF)をアストロサイトに認める稀な神経変性疾患である。現在、*GFAP* がアレキサンダー病の原因遺伝子として確定診断に用いられているが、発症病態・臨床型と *GFAP* 変異との関連は未だ明らかになっていない。また、多様な臨床症状を呈するため初期診断が難しいという問題もある。さらにアレキサンダー病に対しては有効な治療方法はなく、乳児型（2歳未満の発症）の生命予後は悪く、若年型（2-12歳での発症）、成人型（12歳以上の発症）においても長期にわたる療養生活を必要とする。本研究では、①本邦におけるアレキサンダー病の実態把握を行うこと、②それをもとに臨床診断指針の作成および普及により医療関係者の関心を高めることで診断率の向上を図る、③個々の症例に対する臨床的検討および分子遺伝学的検討、病理学的検討、病態モデル作成により病態を解明し、治療法を開発する、ことを目的とする。

## B. 研究方法

### 1.アレキサンダー病の実態把握のための全国調査(平成21年度フィジビリティースタディ)

これまでに報告された乳児型、若年型、成人型アレキサンダー病の臨床症状、神経画像所見等をもとにアレキサンダー病の診断基準案を作成し、「特定疾患の疫学に関する研究班」と連携を図りながら、

アレキサンダー病の全国有病者数調査を日本神経学会、日本小児科学会、日本小児神経学会の関連施設を中心に行い、各病型別の確定診断例および疑い例の患者実数を把握した。続いて、症例をもつ施設を対象に臨床的（臨床症状、神経画像所見、電気生理学的所見等）、神経病理学的特徴、治療・ケアの実態に対する二次調査を施行した(吉田誠克、佐々木、吉田眞理、中川、滑川、辻野、岡本、笹山)。

### 2. 臨床診断指針の確立

全国有病者数調査ならびに二次調査で得られたアレキサンダー病の臨床的特徴、遺伝学的特徴、神経病理学的特徴をまとめ、平成22年度班会議にて最終的な臨床診断指針を作成した。確立した診断指針については、日本神経学会、日本小児神経学会等の関連学会における一般演題、シンポジウムでの発表および論文発表することにより医療関係者への普及に努めた。また、ホームページの開設およびパンフレットの配布による普及も行った。(吉田誠克、佐々木、吉田眞理、中川、滑川、辻野、岡本、水田、笹山)。

### 3. GFAPプロモーター遺伝子多型解析

アレキサンダー病においては *GFAP* 変異だけでは説明できない多彩な臨床表現型がみられる。そのため修飾遺伝子の存在が想定されてきた。その候補の一つとして、*GFAP*プロモーター遺伝子多型が報告されている。これは転写開始部位より250塩基上流に存在し、日本人ではCアレルが約60%、Aアレルが約40%の頻度で認められる。Aアレルでは activator

protein 1 に対する新たな結合部位が現れ、GFAP 発現量が低下することが示されている。滑川は *GFAP* 変異が確認された成人型アレキサンダー病 11 例と臨床的にはアレキサンダー病に矛盾しない *GFAP* 変異陰性症例 10 例を、吉田・水田はアレキサンダー病 9 例において *GFAP* プロモーター遺伝子多型を直接シーケンス法およびサブクロニング法を用いて解析し、臨床症状との検討を行った。

#### 4. 小児型アレキサンダー病の多様性

乳児型アレキサンダー病は予後不良であるが、長期生存例も存在する。一方で、急速に進行し、乳児期発症よりもさらに予後不良の新生児期発症例の報告が散見される。本研究では 2 例の新生児型アレキサンダー病の臨床症状、画像所見の検討および 3 例の乳児型アレキサンダー病の長期臨床経過および画像変化について検討した。(佐々木)。

#### 5. GFAP 遺伝子の R276L 変異を有するアレキサンダー病：臨床像、創始者効果および細胞生物学的検討

R276L 変異が確定した 3 家系 6 例の臨床的および画像的特徴をまとめた。さらに本 6 例と家系内の健常者 2 例を対象に *GFAP* を中心に、それぞれ約 180 万 bp に広がる 8 個の遺伝子多型マーカーを用いて haplotype 解析をした。また V5-tag ベクターに組み込んだ野生型, R239C, R416W, R276L 変異型 *GFAP* を培養細胞に導入し、48 時間後に Western Blot による解析, および細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡で観察した (滑川)。

#### 6. 成人発症アレキサンダー病の臨床病理学的研究

死亡時 73 歳女性例の高齢発症アレキサンダー病と乳児期発症アレキサンダー病の病理像を対比した。病理学的には通常の検索に加えて、*GFAP*、リン酸化ニューロフィラメント免疫染色などを施行し、白質病変およびアストロサイトの形態を検討した。さらにタウの発現の分布と局在、タウアイソフォームの特徴を神経病理学的に検討し、その意味づけとアレキサンダー病の病態との関連性を考察した (吉田眞理)。

#### 7. アレキサンダー病のショウジョウバエモデルの確立と薬物スクリーニング

アレキサンダー病の病態モデルとして GMR-GAL4 driver と野生型、R239C 変異 *GFAP*、R416W 変異 *GFAP* を導入して複眼原基特異的に *GFAP* を発現させるショウジョウバエモデルを作成した。交配させたショウジョウバエの次世代で産まれてきた幼虫に薬物(バルプロ酸 Na、ゾニサミド、抑肝散、セフトリアキソン)を混ぜた食餌を与え、成虫の複眼構造異常の変化を観察した(中川、笹山)。

(倫理面への配慮)

本研究はアレキサンダー病患者を対象とし、疾患個人情報や血液・組織試料を用いて行うものであり、各研究機関の研究倫理委員会での承認を得た上で行った。全国有病者数調査および二次調査については患者数、年齢、診断年月日、臨床症状、神経病理学的特徴、治療の現状など



実態調査や診断基準作成に必要な最低限の情報を調査するにとどめ、個人が特定できるようなカルテ番号や住所、電話番号の記載は求めなかった。なお、遺伝子解析の対象者については本研究について十分な説明により研究への理解を求め、文書による承諾を得て行った。得られた結果の公表に当たっては個人が特定できないよう配慮した。遺伝子解析をはじめ検体保存においてコンピューターにデータを登録際には個人情報記載せず、番号化(暗号化)で行った。また、データ登録用のコンピューターは専用のもとし、インターネットを通じて外部に漏れないようにした。

## C. 研究結果

### 1. アレキサンダー病の実態把握のための全国調査

乳児型の神経学的所見では精神遅滞、けいれんを全例に認め、大頭症、痙性麻痺、構音障害、嚥下障害を75%以上の症例で認めた。眼振や口蓋ミオクローヌスを示す症例は認めなかった。乳児型の頭部MRI所見では大脳白質病変、基底核・視床の異常、periventricular rimを全例で認めたほか、造影効果も少数例の報告ではあるが75%と高率に認めた。脳幹の異常は低頻度であった。成人型の神経学的所見は多彩であったが、四肢筋力低下、腱反射亢進、構音障害、発声障害、嚥下障害といった球脊髄症状を70%以上の症例で認めた。筋力低下については症状の左右差を呈する症例も少なからず認められた。膀胱直腸障害、四肢体幹失調、

眼振といった症状も高率に認めた。国外症例では比較的高率に認めるとされる睡眠時無呼吸症候群などの睡眠異常は33%の症例で認めた。これまで成人型の特徴的所見とされていた口蓋ミオクローヌスは37.5%であった。認知症(25.0%)や筋強剛(29.4%)も少なからず認められた。成人型の頭部MRI所見では延髄・頸髄の異常を全例で認めた。大脳白質病変や基底核・視床の異常については認めない例が半数以上であった(それぞれ37.5%、50.0%)。

今回の調査で報告された若年型では知能障害、精神遅滞、構音障害をほぼ全例で認めた。腱反射亢進、けいれん、大頭症も半数以上の症例で認めた。若年型の頭部MRI所見では大脳白質病変を全例で認めた。基底核・視床の異常、periventricular rim、脳幹の異常、頸髄の異常、小脳の異常はいずれも半数前後であった。検討可能であった8例のうちvan der KnaapらのMRI基準を満たしたものは、4例(50%)であった。

今回報告された若年型は乳児型の特徴を有する症例と乳児型に成人型の特徴を伴った(緩徐進行性の乳児型)と思われる症例が認められた。一方で欧米から報告されている成人型の特徴のみをもつ若年型の報告は認めなかった。

### 2. 臨床診断指針の確立

アレキサンダー病は新生児から高齢者まで多彩な臨床症状を呈することと超稀少疾患であるために未診断症例が少なからず存在すると思われる。そのため今回診断指針を作成するに当たり、初期診断

の段階で臨床医に本病を鑑別診断に挙げていただくことが重要と思われた。すなわち、確定診断である病理学的検査あるいは遺伝子検査に至るための臨床情報が重要と判断した。今回の調査でえられた神経学的所見と MRI 所見を発症年齢にとらわれず再検討すると、けいれん・精神運動発達遅滞・大頭症を高頻度に認め、MRIにて前頭葉優位の大脳白質病変をみとめる型と球脊髄症状を高頻度に認め、MRIにて延髄・頸髄に病変の主座を認める型に大別できる。われわれは前者を大脳優位型(1型)、後者を延髄・脊髄優位型(2型)として新たな臨床分類を提唱した。さらに両者の特徴が併存する症例も少なからず認められ、これを中間型(3型)と定義した(表1)。今回の調査で得られた症例をわれわれが提唱した新分類を用いて検討した結果、乳児型9例と若年型3例が大脳優位型(1型)、成人型16例が延髄・脊髄優位型(2型)、乳児型1例、若年型5例、成人型1例の計7例が中間型(3型)に該当した(表2)。

診断指針においては、大脳優位型(1型)は「主に乳児期から学童期の発症で、神経学的所見としてけいれん、大頭症、精神運動発達遅滞、頭部 MRI 所見として前頭部優位の大脳白質病変を認めることを特徴とする機能予後不良の重症例が多い。」と定義した。神経学的所見としてけいれん、精神運動発達遅滞あるいは精神遅滞、大頭症のうち1項目以上を認め、頭部 MRIにて前頭部優位の大脳白質信号異常を認めれば大脳優位型(1型)アレキサンダー病を疑い、遺伝子検査あるいは病理学的検査を検討することを推奨し

た。また、比較的頻度の高い嚥下障害、発声障害、腱反射亢進、四肢・体幹失調、膀胱直腸障害、脊柱異常および全例には認められるが非特異的所見と考えられる構音障害は参考所見として記載した。頭部 MRI 所見は van der Knaap の診断基準を満たす症例(5項目中4項目以上)は指針としては条件が厳しいため(今回の調査でも造影検査を行っていない症例が多い)、今回の指針の中では全例で認められた前頭部優位の白質信号異常を除いた4項目は参考所見として記載した。

延髄・脊髄優位型(2型)は「学童期あるいは成人期以降の発症で、神経学的所見として筋力低下、痙性麻痺、球症状、MRI 所見として延髄・頸髄の信号異常あるいは萎縮を特徴とする。大脳優位型(1型)に比べると進行は緩徐である場合が多い。家族内発症で無症候の症例も存在する。」と定義した。神経学的所見としては筋力低下、腱反射異常、バビンスキー徴候陽性、構音障害、嚥下障害、発声障害といった本調査で70%以上の症例で認めた症状を高頻度にみられる所見として記載し、これに MRI 検査にて延髄・上位頸髄の信号異常または萎縮を認めた症例については延髄・脊髄優位型(2型)アレキサンダー病を疑い、遺伝子検査あるいは病理学的検査を検討することを推奨した。また、口蓋ミオクロームスは高頻度ではなく、他の延髄病変を伴う疾患でも認められるが、家族性で認められる場合は本病を強く示唆すると考え、特徴的な所見として位置づけた。四肢・体幹失調、眼振、脊柱異常、睡眠異常、パーキンソニズム、認知症・精神症状、膀胱直腸障害は頻度

が高くないか非特異的な症状であり、参考所見として記載した。MRI 所見では小脳の萎縮または信号異常、大脳白質異常、基底核・視床の異常、造影効果は延髄・脊髄病変に随伴しうるものとして記載した。また、今回の調査でも約 2/3 の症例で家族内発症を認めたこと、その中には無症候例も存在することからこの点についても記載をした。

中間型(3 型)は本調査では大脳優位型(1 型)の緩徐進行例のみの報告であったが、海外の文献では若年型の一部、10 代後半から 20 代発症の成人型でも両者の特徴が併存する症例が報告されており、大脳優位型(1 型)と延髄・脊髄優位型(2 型)の特徴を併せもつ症例全体を包括した型として定義した。

確定診断は現在の流れでは病理学的検査あるいは遺伝子検査により行われるが、病理学的にアレキサンダー病と診断された症例で *GFAP* 異常を認めない症例が約 10%存在するとされている。すなわち、*GFAP* 異常が認められなくてもアレキサンダー病を完全に否定するものではなく、このような症例は今後の検討を要するが現時点では他の疾患を除外できれば「臨床的アレキサンダー病」と診断するのが妥当とした。

病理検査については今回の調査では少数の報告にとどまっており、いずれの方についてもこれまでの文献報告を参考に記載した。*GFAP* 異常については現時点では本遺伝子のエクソンでの点変異、数塩基の欠失あるいは挿入の報告に従って記載した。

電気生理学的検査については十分な症

例数が得られなかったことから今回の指針には含めなかった。

以上の結果に基づいて新分類に基づいた臨床診断指針(表 1)および診断フローチャートを作成した。

ホームページ(V.項)は①臨床診断指針、②診断フローチャート、③各病型の詳細、④病理の詳細、⑤遺伝子検査の詳細、⑥研究メンバー、⑦研究業績、⑧リンクからなり、臨床診断指針のみならず各病型の詳細や遺伝子検査可能施設を掲載することで本病を診断するうえで医療従事者が十分活用できるよう工夫した。

パンフレット(IV.項)は利便性を考慮し、臨床診断指針、診断フローチャートおよび診療可能施設、遺伝子検査可能施設の掲載にとどめ、詳細はホームページを参照できるようにした。

### 3. *GFAP* プロモーター遺伝子多型解析

・滑川の検討：アレキサンダー病においては全例 A/A (4 例)もしくは A/C (7 例)であり、C/C は 1 例もなかった。臨床的にはアレキサンダー病に矛盾しない *GFAP* 変異陰性症例では、1 例において新規の SNPs を 2 個同定した。in silico analysis にていずれも転写因子結合に変化を与えると予想される変異であった。

・吉田・水田の検討：4 例が C/C、1 例が A/A のホモ接合体、5 例が C/A のヘテロ接合体であった。ヘテロ接合体症例においてはいずれのアレルが *GFAP* 変異と同一遺伝子上に存在するかにより臨床表現型の差は認めなかった。また、歩行不能例において C アレルをホモ接合体でもつ症例が多い傾向にあった。

#### 4. 小児型アレキサンダー病の多様性

症例 1 (R239H) : 先天性水頭症として日齢 15 で VP シャント手術が施行された。生後 3 か月に、けいれん発作を発症。以後けいれん発作のコントロールが困難となり、経管栄養を要した。生後 9 か月でけいれん重積のため死亡。

症例 2 (L352R) : 出生後より哺乳障害が続くため生後 3 週間で入院。嚥下障害のため経管栄養となった。発達は全く認めず、生後 45 日で人工呼吸管理、生後 6 か月で敗血症のため死亡した。

2 例の頭部 MRI 画像所見では、

①periventricular rim、②小脳（白質・歯状核）、脳幹の T2 高信号、③尾状核・被殻の T2 高信号、④側脳室拡大、⑤大脳白質の容積増加と T1 低信号・T2 高信号、が特徴であった。

症例 3 (R239C) : 熱性けいれん、運動退行、大頭症のため 1 歳 4 か月で初診。痙性、知的退行が強く、常時臥床となった。全般性間代けいれん重積が頻回。5 歳より経管栄養、10 歳で喉頭気管分離術施行。現在 12 歳であるが在宅で外来フォロー中。8 歳ごろから出現した口蓋ミオクロームスが続いている。

症例 4 (R239C) : 難治性無熱性けいれんのため 1 歳 8 か月で初診。大頭症、深部腱反射亢進あり。けいれんコントロールは良好であり、知的にはゆっくり改善。現在 8 歳。精神遅滞はあるが、精神運動退行はない。

症例 5 (R88C) : 熱性けいれんのため 3 歳 8 か月で初診。大頭症あり。発達は正常。普通小学校入学。8 歳で勉強の遅れ

あり。9 歳発音不明瞭、食事摂取少量。現在 10 歳であるが体重 14kg 台。歩行は可能。【頭部画像所見】初診時の頭部 MRI 画像所見は 3 例とも前頭部優位の白質信号異常と白質量の増大、脳室周囲の縁取り、基底核と視床の T2 高信号、歯状核に T2 高信号を認めた。その後、症例 1 では大脳白質は嚢胞化。延髄から橋および中小脳脚が萎縮し異常信号を呈した。症例 2 はほとんど変化なし。症例 3 では延髄が萎縮し T2 高信号を呈した。

#### 5. GFAP 遺伝子の R276L 変異を有するアレキサンダー病：臨床像、創始者効果および細胞生物学的検討

1)臨床情報：症例は 3 家系 6 例。症候性は 3 例とも男性で発症年齢は 30~40 歳台。痙性麻痺、球症状および眼振がみられた。痙性麻痺は対麻痺ではなく、片麻痺で発症し、四肢麻痺へと拡大した。2 例で発症前に頭部外傷歴が確認された。無症候性キャリアは女性 3 例のうち 2 例は四肢腱反射亢進を認めた。頭部 MRI では、信号変化を伴わない延髄～頸髄の著明萎縮と、小脳歯状核の信号変化がみられた。

2)ハプロタイプ解析：GFAP を挟む形での 1.03cM にわたる領域において、3 家系とも同一アレルを有していた。

3)細胞生物学的検討：Western Blot 解析では、p.R416W は NP-40 可溶性分画が際立って少なかったが、野生型と p.R239C、p.R276L は同傾向だった。細胞内局在の検討では、野生型は、内在性 GFAP の有無にかかわらず強制発現させた GFAP は多くが filamentous 構造を呈した。

U251MG では、内在性 GFAP と強制発現させた野生型 GFAP は共局在を示した。一方 B2-17 では、各変異型は野生型と同様の filamentous 構造を呈したものの他に、一部では核周囲への蓄積がみられ、凝集体形成像もみられた。また、tag の有無にかかわらず aggregation を有する細胞の割合は乳児型と若年型で多く、成人型では比較的少ない傾向があった。さらにこのシステムでは、成人型において短い特徴的な filament を形成することが確認され、変異型間においては隣接する 3 つの変異 p.D78N (成人型)・p.R79C (乳児型/若年型)・p.F80S(新生児型)をも含め、GFAP の細胞内局在と臨床像との相関がみられた。

#### 6. 成人発症アレキサンダー病の臨床病理学的研究

1) 白質変性：大脳白質の髄鞘淡明化は小児例では高度で、前頭葉から後頭葉まで、脳幹部、小脳を含めて髄鞘の淡明化を認めたが、高齢発症例はより軽度であった。RF は小児例では皮質軟膜直下、脳室上衣下、脳実質内の血管周囲に無数形成されていたが、高齢発症例では大脳皮質軟膜直下や皮質・白質の血管周囲には乏しく、脳室上衣下、脳幹部では黒質、延髄被蓋の網様体、小脳歯状核門に認められた。

2) アストロサイト：大脳白質のアストロサイトは小児例では突起をのびした reactive な形態を認めるが、高齢発症例ではアストロサイトの密度が減少し、個々のアストロサイトの突起の伸長も貧弱で、血管周囲の終足も強く減少していた。こ

のアストロサイトの細胞数減少と線維性突起の消失は高齢発症例の白質で特に顕著であり、大脳皮質や基底核、脳幹部でもその程度は軽いが同様の傾向を認めた。

3) 前頭葉の脳室周囲白質、小脳の第 IV 脳室周囲、脳幹部、脊髄に AT8 陽性像を認める。AT8 陽性像は神経細胞にはみられず、主として軟膜下、脳室上衣下、血管周囲のアストロサイトの足突起に一致して認める。変性の強い脳幹部や脊髄では多巢性に散在する。大脳の辺縁系は Braak NFT stage I に相当し、PSP や CBD、AGD など他のタウオパチーの所見はみられない。

#### 7. アレキサンダー病のショウジョウバエモデルの確立と薬物スクリーニング

野生型 3 系統、R239C 変異 GFAP 5 系統、R416W 変異 GFAP 6 系統を樹立した。100nM のバルプロ酸 Na, ゴニサミド, セフトリアキソンと 100ug/ml の抑肝酸にて薬物スクリーニングを試みたが、複眼構造異常に変化はみとめられなかった。

#### D. 考察

##### 1. 臨床診断指針の確立と普及活動

超稀少疾患であるアレキサンダー病の診断は初期診断の段階でまず本病を疑うことが重要であり、そのためには確定診断である病理学的検査あるいは遺伝子検査に至るための“指針”を作成することが重要と考えられた。経緯については後述するが、従来の乳児型、若年型、成人型といった発症年齢に基づいた分類ではなく、大脳優位型(1型)と延髄・脊髄優位型

(2型)、中間型(3型)という新たな臨床分類に基づいた臨床診断指針により、発症年齢に関係なく神経学的所見とMRI所見から本病を疑い病理学的検査あるいは遺伝子検査といった確定診断法を円滑に行えるものとする。

アレキサンダー病のMRI所見についてはvan der KnaapらのMRI診断基準(van der Knaap MS, et al. AJNR 2001)が有名で乳児型には非常に有用であるが、2001年に*GFAP*変異が報告(Brenner M, et al. Nat Genet 2001)されて以降、この基準には当てはまらない症例が少なからず報告されてきている。特に成人型アレキサンダー病の臨床症状は乳児型とは大きく異なり、病変の主座は延髄および頸髄上部である。この特徴については近年相次いで報告されているため(Farina L, et al. AJNR 2008, Pareyson D, et al. Brain 2008, Namekawa M, et al. BMC Neurol 2010, Yoshida T, et al. Acta Neurol Scand 2010)、本病について知識のある神経内科医であれば本病を鑑別診断に挙げることは比較的容易であるが、残念ながら教科書には乳児型の記載が主であり成人型の記載はごくわずかということと超稀少疾患であることからアレキサンダー病＝大脳白質異常という印象があり、見逃されている症例も多いと推測する。このことは、成人発症例で延髄・頸髄の異常を伴わず、白質異常のみで成人型アレキサンダー病を強く疑われて遺伝子検査を依頼されるケースが比較的多いことから示唆される(Yoshida, et al. Acta Neurol Scand 2010)(このような症例に対してアレキサンダー病は否定的であるとはいえないが、現時点でこのような

成人発症例で*GFAP*異常を認めた症例はない)。また、全国有病者数調査では10歳代で発症したと思われる症例の報告がない。この年代での発症例は若年型に相当するが、海外の報告をみるとこの型は大脳白質を病変の主座とする乳児型の臨床像を呈するもの、延髄・頸髄を病変の主座とする成人型の臨床像を呈するもの、両者の臨床像を呈するもの、さらには延髄・頸髄病変ではあるが結節状の画像所見を呈するものなど非常に多様である。また、特に10代前半の患者は本邦では小児科(小児神経科)を受診する傾向にあり、アレキサンダー病＝大脳白質病変という図式をイメージして診察すれば見過ごしてしまうことも多いと推測する。このことは今回の調査で報告された若年型で成人型の臨床像を呈した症例がないことから推定される。一方、10代後半から20代前半の症例は通常神経内科を受診するが特に延髄に結節性病変を呈する症例は多発性硬化症や腫瘍など他疾患と診断されている場合が少なからず存在すると推測される。以上から、本邦でより正確にアレキサンダー病を診断するためには確定診断である*GFAP*遺伝子検査に至るために臨床症状、MRI所見の段階でアレキサンダー病を疑えるかどうか、そのなかでも最も複雑な症状を呈し、小児科(小児神経科)と神経内科の境界年齢の症例をいかに把握するかが重要と考えた。そのためには従来の乳児型、若年型、成人型といった年齢別の分類よりも神経学的所見とMRI所見をもとにした分類がより臨床の現場では有用と判断した。また、本疾患を臨床像から疑うことを重視する

と複雑な分類は避けるほうが望ましく、その結果が大脳優位型(1型)、延髄・脊髓型(2型)、中間型(3型)という神経学的所見とMRI所見による分類である。

確定診断については病理学的所見あるいは遺伝子検査で行われるが、近年ではGFAP変異の解析をもって生前に本病の確定診断を施行する傾向が強い。しかし、文献からは病理学的にアレキサンダー病と診断された症例でGFAP異常を認めない症例が約10%存在するとされている。すなわち、GFAP異常が認められなくてもアレキサンダー病を完全に否定するものではなく、このような症例は今後の検討を要する。一方で特に臨床的に2型に該当しGFAP遺伝子検査で遺伝子変異が証明されなかった症例においてはアレキサンダー病として報告している文献も散見されるが、病理学的検討を行った報告がないため慎重な判断を要する。マウスモデルの検討からGFAPの過剰発現のみでもアレキサンダー病を発症するとされ、GFAPの重複やプロモーターの異常、SNPの存在などの可能性があるが、われわれの検討も含め現時点では証明されていない。したがって、現時点では先述のとおり、他疾患がしっかり除外できれば「臨床的アレキサンダー病」と診断するのが妥当と判断した。

確立した臨床診断指針および診断フローチャート、診療可能施設、遺伝子検査可能施設をパンフレットおよびホームページの形でより広く医療従事者に普及した。ホームページはさらに各病型の臨床症状、遺伝子検査、病理の詳細を加えることでアレキサンダー病をより深く理解

しやすいように工夫した。

### 3. GFAPプロモーター遺伝子多型解析

滑川らの検討では、乳児型より軽症である成人型にはC/C型が1例も存在せず、吉田・水田の検討ではC/C型では歩行不能例が多いことからGFAPプロモーター遺伝子多型がアレキサンダー病の臨床表現型を修飾する可能性はある。しかしその影響はGFAP遺伝子変異と比較すると非常に小さいものと推測される。

### 4. 小児型アレキサンダー病の多様性

今回報告した新生児期発症の2例は、いずれも哺乳力障害と呼吸障害を呈し、乳児期に死亡した。新生児期発症例は、非常に予後が悪いと考えられる。大頭は1例で認めたが、他例では認めず診断的価値は高くない。いずれも早期診断には頭部MRIが有用であった。特にperiventricular rimが、初期より2例で共通して認められた異常所見であった。この他に小脳歯状核と尾状核のT2強調画像による高信号、大脳白質容積の増大などの異常所見も共通して認められた。

一方で乳児期前半においては、大脳白質の髄鞘化の異常をMRIで的確に捕らえることは困難であり、「大脳白質異常症」としての診断は早期には難しいと言える。これまでのところ、新生児期発症例に特有の遺伝子変異は知られていない。乳児型の長期経過例については頭部MRIでの脳幹異常信号は3例とも病初期よりわずかに認めていた。しかしその後の症状および頭部MRIでの進行経過は3例でかなり異なっている。臨床的に症例1は

典型的な乳児型の経過であり、症例 2 では明らかな進行を認めていない。頭部 MRI の変化と臨床症状の変化が一致していた。症例 1 と 2 は同じ遺伝子変異であるが、臨床症状の進行程度はかなり異なっていた。症例 3 は、知的退行や運動退行はほとんどないものの脳幹症状の進行が顕著であった。

#### 5. GFAP 遺伝子の R276L 変異を有するアレキサンダー病における臨床像，創始者効果および細胞生物学的検討

p.R276L 変異は、女性の方が軽症の可能性がある。また 3 家系には創始者効果が確認された。細胞生物学的検討では、内在性 GFAP が存在しなくとも、強制発現させた GFAP のみで filamentous 構造をとりうることから、vimentin をはじめとした GFAP 以外の中間径フィラメントの関与が考えられ、内在 vimentin のない SW13 細胞を用いた実験系が有用であると考えられる。

#### 6. 成人発症アレキサンダー病の臨床病理学的研究

高齢発症例でも大脳白質の変性がみられるが、その出現時期は遅く程度も軽い傾向がある。アストロサイトの形態に注目すると RF の形成は小児例に顕著で、高齢発症例ではより軽度であり、RF の形成自体は変性の分布や程度とは必ずしも一致しない。高齢発症例では RF の形成より白質のアストロサイトの密度自体の減少、突起の減少がみられることからアストロサイトの機能障害と細胞死が長い時間をかけておきている可能性が示唆さ

れる。血管周囲の終足の機能障害を介した物質の透過性の問題なのか、あるいは軸索やシナプスのラッピング機能の障害も加わる複合的機序なのかは不明である。

二次性のタウの発現は慢性の感染症、外傷、血管障害などで観察されるが、本例のタウの発現はアストロサイト主体にみられ、アレキサンダー病におけるアストロサイトの機能障害を二次的に反映している可能性がある。

#### 7. アレキサンダー病のショウジョウバエモデルの確立と薬物スクリーニング

薬剤濃度の調整および組織切片での検討が必要である。

#### E. 結論

全国調査をもとに、神経学的所見と MRI 所見に基づく新たなアレキサンダー病の臨床診断指針を確立した。この指針により今後、本病の診断率の向上が見込まれる。この臨床診断指針については国内外の関連学会にて発表した。さらには英文論文として世界に発信した。さらにはホームページおよびパンフレットにより更に広く医療従事者に普及を行った。

GFAP プロモーター遺伝子多型は臨床表現型に影響を与える可能性がある。

アレキサンダー病は新生児期からでも発症し、予後は一般的な乳児型よりも不良である可能性が高い。診断には頭部 MRI 所見が有用である。また、乳児期発症例の長期経過では同一変異でも経過が異なり、それは頭部 MRI 所見にも反映されている。



成人発症例である R276L 変異では重症度に男女差が存在する可能性がある。無症候例でも”tadpole” appearance がみられる。また、創始者効果が確認された。

病理学的には高齢発症例と乳児期発症例の差異を示した。また、タウの発現パターンを検討し、アストロサイトの機能障害を反映する可能性を示した。

細胞モデル、ショウジョウバエモデルを確立し、今後の病態解明研究へ一歩前進した。

本病に対する特異的な治療およびケアについては残念ながらいまだ有効なものがない。しかし、本研究班の活動により臨床情報が集積されることで、さらには iPS 細胞モデルを用いた解析など新たな研究ツールを進展させることで、病態の解明、治療法の発見・開発が進展していくものと期待される。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Yoshida T, Nakagawa M. Clinical aspects and pathology of Alexander disease, and morphological and functional alteration of astrocyte induced by *GFAP* mutation. *Neuropathology* 2011 published online.

2) Yoshida T, Sasaki M, Yoshida M, Namekawa M, Okamoto Y, Tsujino S, Sasayama H, Mizuta I, Nakagawa M. Nationwide survey of Alexander disease in Japan and proposed new guidelines for

diagnosis. *J Neurol* 2011; 258: 1998-2008.

3) Yoshida T, Sasayama H, Mizuta I, Okamoto Y, Yoshida M, Riku Y, Hayashi Y, Yonezu T, Takata Y, Ohnari K, Nakagawa M. Glial fibrillary acidic protein mutations in adult-onset Alexander disease: Clinical features observed in 12 Japanese patients. *Acta Neurol Scand* 2011; 124: 104-108.

4) Shiihara T, Yoneda T, Mizuta I, Yoshida T, Nakagawa M, Shimizu N. Serial MRI changes in a patient with infantile Alexander disease and prolonged survival. *Brain & Development* 2011; 33: 604-607.

5) Suzuki H, Yoshida T, Kitada M, Ichihashi J, Sasayama H, Nishikawa Y, Mitsui Y, Nakagawa M, Kusunoki S. Late-onset Alexander disease with a V87L mutation in glial fibrillary acidic protein (GFAP) and calcifying lesions in the sub-cortex and cortex. *J Neurol* 2011. Published online.

6) Tanaka A, Yoshida T, Yamada T, Isayama R, Fujiwara Y, Shiga K, Yamada K, Tanaka K, Nakagawa M. A case of cerebral aquaporinopathy. *Multiple Sclerosis* 2010;16(10):1252- 1254

7) Saitsu H, Osaka H, Sasaki M, Takanashi J, Hamada K, Yamashita A, Shibayama H, Shiina M, Kondo Y, Nishiyama K, Tsurusaki Y, Miyake N, Doi H, Ogata K, Inoue K, Matsumoto N. Mutations in *POLR3A* and *POLR3B* encoding RNA polymerase III subunits cause an autosomal-recessive hypomyelinating leukoencephalopathy. *Am J Hum Genet* 2011;89:644-651.

- 8) Namekawa, M., Takiyama, Y., Honda, J., Sakoe, K., Naoi, T., Shimazaki, H., Yamagata, T., Momoi, M. Y., Nakano, I.: A novel adult case of juvenile-onset Alexander disease: Complete remission of neurological symptoms for over 12 years, despite insidiously progressive cervicomedullary atrophy. *Neurol. Sci.*, (in press).
- 9) Shimojima K, Inoue T, Hoshino A, Kakiuchi S, Watanabe Y, Sasaki M, Nishimura A, Takeshita-Yanagisawa A, Tajima G, Ozawa H, Kubota M, Tohyama J, Sasaki M, Oka A, Saito K, Osawa M, Yamamoto T. Comprehensive genetic analysis of PLP1 in patients with Pelizaeus-Merzbacher disease applied by array-CGH and fiber-FISH analyses identified new mutations and variable sizes of duplications. *Brain Dev* 2010;32:171-179..
- 10) Namekawa M, Takiyama Y, Honda J, Shimazaki H, Sakoe K, Nakano I. Adult-onset Alexander disease with typical “tadpole” brainstem atrophy and unusual bilateral basal ganglia involvement: a case report and review of the literature. *BMC Neurol*. 2010; 10: 21.
- 11) Ayaki T, Shinohara M, Tatsumi S, Namekawa M, Yamamoto T. A case of sporadic adult Alexander disease presenting with acute onset, remission and relapse. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* 2010; 81: 1292-1293.
- 12) Tokuda T, Qureshi MM, Ardah MT, Varghese S, Shehab SA, Kasai T, Ishigami N, Tamaoka A, Nakagawa M, El-Agnaf OM. Detection of Elevated levels of alpha-Synuclein Oligomers in CSF from Parkinson’s Disease Patients. *Neurology*. 2010; 75(20):1766-1770.
- 13) Tatebe H, Watanabe Y, Kasai T, Mizuno T, Nakagawa M, Tanaka M, Tokuda T. Extracellular neurosin degrades alpha-synuclein in cultured cells. *Neurosci Res*. 2010; 67:341–346.
- 14) Yamada K, Akazawa K, Yuen S, Goto M, Matsushima S, Takahata A, Nakagawa M, Mineura K, Nishimura T. MR imaging of ventral thalamic nuclei. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2010; 31:732-735.
- 15) Fukumoto H, Tokuda T, Kasai T, Ishigami N, Hidaka H, Kondo M, Allsop D, Nakagawa M. High-molecular-weight  $\beta$ -amyloid oligomers are elevated in cerebrospinal fluid of Alzheimer patients. *FASEB J*. 2010; 24: 2716-2726.
2. 学会発表
- 1) 吉田誠克. アレキサンダー病の臨床・病理および GFAP 遺伝子変異がアストロサイトにもたらす形態・機能異常. 第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会. 2011 年 6 月 2 日 ; 京都.
- 2) 笹山博司、吉田誠克、山口政光、永井里佳、中川正法. 変異 GFAP 導入による Alexander 病ショウジョウバエモデル作成. 第 52 回日本神経学会総会. 2011 年 5 月 18 日 ; 名古屋.
- 3) 吉田誠克、佐々木征行、中川正法. アレキサンダー病の全国有病者数調査および二次調査結果—乳児型、若年型を中心

- に一. 第 53 回日本小児神経学会総会.  
2011 年 5 月 28 日 ; 東京
- 4) 滑川道人、直井為任、迫江公己、本多純子、嶋崎晴雄、瀧山嘉久、中野今治 : GFAP 遺伝子の R276L 変異を有する Alexander 病(1)3 家系 6 例の臨床的検討. 第 52 回日本神経学会総会. 2011 年 5 月 18 日 ; 名古屋.
- 5) 直井為任、滑川道人、迫江公己、本多純子、嶋崎晴雄、瀧山嘉久、中野今治 : GFAP 遺伝子の R276L 変異を有する Alexander 病(2)細胞生物学的検討. 第 52 回日本神経学会総会. 2011 年 5 月 18 日 ; 名古屋.
- 6) 吉田眞理、笠井謙次、木村行宏、鈴木信吉、勝田英介. 自動車事故後臥床状態となり意識障害、肺動脈塞栓症・急性腎不全、痙攣重積状態となった 81 歳男性. 第 52 回日本神経病理学会総会学術研究会. 2011 年 6 月 2 日 ; 京都.
- 7) 吉田誠克、笹山博司、佐々木征行、吉田眞理、滑川道人、岡本祐嗣、辻野精一、中川正法. アレキサンダー病の全国有病者数調査および臨床的特徴に関する二次調査結果の報告. 第 51 回日本神経学会総会. 2010 年 5 月 20 日 ; 東京.
- 8) 佐々木征行、野々田豊、榊原崇文、佐久間啓、須貝研司. 口蓋ミオクローヌスを呈した乳児型 Alexander 病の 1 例. 第 52 回日本小児神経学会総会. 福岡国際会議場. 福岡. 2010 年 5 月 22 日.
- 9) Yoshida T. Alexander disease and glial fibrillary acidic protein. Neuro2010. Sep. 4 2010. Kobe.
- 10) Sasayama H, Yoshida T, Nagai R, Yamaguchi M, Nakagawa M. A *Drosophila* model of Alexander disease constructed using mutant *GFAP*. Neuro2010. Sep. 4 2010. Kobe.
- 11) Yoshida T, Sasaki M, Yoshida M, Namekawa M, Okamoto Y, Tsujino S, Sasayama H, Nakagawa M. Clinical manifestations of Alexander disease in Japan. EFNS 2010. Sep. 27, 2010. Genova.
- 12) 林 祐一、吉田誠克、加藤潤一、田中優司、山田 恵、香村彰宏、木村暁夫、保住 功、犬塚 貴. GFAP 遺伝子 p.R79H(c.250G>A)変異を認めた成人型 Alexander 病の 1 例. 第 128 回日本神経学会東海北陸地方会. 2010 年 10 月 2 日 ; 福井.
- 13) 吉田誠克、笹山博司、水田依久子、佐々木征行、吉田眞理、滑川道人、岡本祐嗣、辻野精一、中川正法. 全国調査により得られたアレキサンダー病の *GFAP* 変異と表現型の関連に対する検討. 第 55 回日本人類遺伝学会. 2010 年 10 月 30 日 ; 大宮.
- 14) Yoshida M. Neuropathology of glia in neurodegenerative diseases. Neuro2010 2010 年 9 月神戸
- 15) 滑川道人、嶋崎 晴雄、本多 純子、中野 今治、迫江 公己、瀧山 嘉久 : 成人型 Alexander 病の特徴的画像所見 : Tadpole appearance. 第 51 回日本神経学会総会. 2010 年 5 月 20-22 日 ; 東京.

表 1

1. Cerebral Alexander disease (type 1)
  - I. Neurological findings
    - a) Core features  
psychomotor developmental delay/ mental retardation, convulsions, macrocephaly
    - b) Supportive features  
dysarthria, dysphagia, dysphonia, hyperreflexia, cerebellar ataxia, sphincter abnormalities, scoliosis
  - II. MRI findings
    - a) Core feature  
cerebral white matter abnormalities with frontal lobe predominance
    - b) Supportive features  
signal abnormalities with swelling or atrophy of basal ganglia and thalami, periventricular rim, brainstem lesions, contrast enhancement.
2. Bulbo-spinal Alexander disease (type 2)
  - I. Neurological findings
    - a) Core features  
muscle weakness, hyperreflexia (sometimes hypo or areflexia), positive Babinski sign, dysarthria, dysphagia, dysphonia
    - b) not frequent but specific features  
palatal myoclonus
    - c) Supportive features  
cerebellar ataxia, nystagmus, scoliosis, sleep disorder (i.e. sleep apnea syndrome, REM behavior disorder), parkinsonism, dementia, psychosis, sphincter abnormalities
  - II. MRI findings:
    - a) Core feature  
signal abnormalities or atrophy of medulla oblongata and/or cervical cord
    - b) Supportive features  
signal abnormalities and/or atrophy of cerebellum, white matter lesion, signal abnormalities of basal ganglia and thalami, contrast enhancement
3. Intermediate form (type 3)
  - I. Neurological findings  
at least one of the core features in type 1 and at least one of the core features in type 2
  - II. MRI findings  
core feature of type 1 and core feature of type 2

A case satisfied with any above mentioned types is recommended the following definite diagnosis

Definite diagnosis

- I. Pathological findings  
existence of numerous Rosenthal fibers in addition to gliosis and loss of myelin
- II. Gene analysis  
*GFAP* mutation

Approximately 10% of Alexander disease seem to show negative *GFAP* mutation in spite of showing typical clinical features of Alexander disease and pathological findings. Therefore, cases satisfied with above clinical features and negative *GFAP* mutation may be Alexander disease ("possible" Alexander disease).