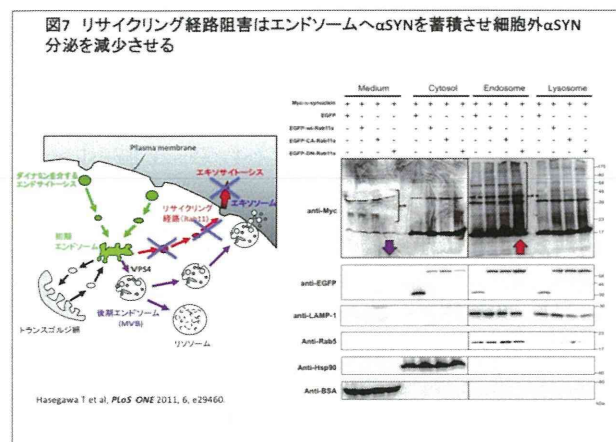


形成障害は $\alpha$ S分泌を減少させないばかりか寧ろ増大させた。エンドソーム・リソソーム中の $\alpha$ Sは細胞質中の $\alpha$ Sに比べ強い凝集傾向を示し、同小胞輸送系の制御因子であるVPS4に対する抗体によりLewy小体のcore部分が濃染することが確認された(図6)。一方、細胞外 $\alpha$ S分泌はリサイクリング経路に関与するRab11Aの機能抑制により有意に減少した(図7)。



#### D. 考察

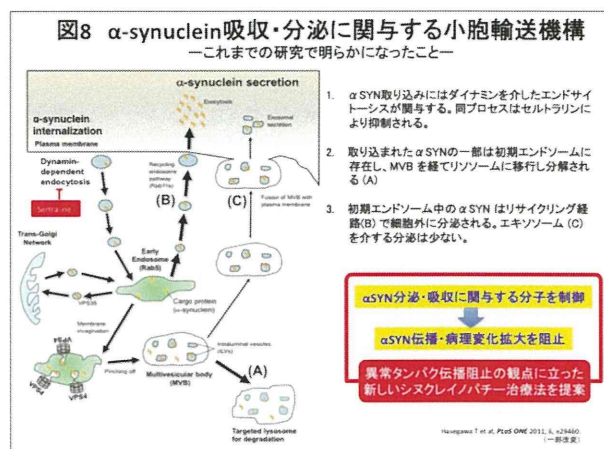
細胞外 $\alpha$ Sは数分間という短時間で神経・ODG細胞内へ移行し、凝集化することが確認された。内在性 $\alpha$ Sを有さないODGにおいてもSDS不溶性の $\alpha$ S蓄積がみられたことから、 $\alpha$ S凝集・蓄積には内在性 $\alpha$ Sの存在が必須ではないことが予想され、ODGでは神経細胞とは別に取り込まれた $\alpha$ Sがより凝集しやすい細胞内環境が存在する可能性も推定された(文献3)。 $\alpha$ SはN末端に両親媒性の配列を有し脂質膜と親和性をもつと考えられているが、今回の実験においてもN末配列の存在が $\alpha$ S細胞内移行において重要であることが確認された。さらに神経・ODG細胞両者において $\alpha$ Sの取り込みはダイナミン発現抑制および機能阻害により顕著に減少することから、ダイナミン分子が関与するエンドサイトーシスが同過程において重要であることが推察された。

一方、 $\alpha$ Sの分泌に関しては、プリオンタンパクでみられる様なエキソソームを介した分泌で

はなく、初期エンドソームから細胞膜へと積荷タンパクを輸送するリサイクリング経路の関与がより大きいことが示唆された。

#### E. 結論

$\alpha$ S取り込みにはダイナミンが関与するエンドサイトーシス機構が重要であり、 $\alpha$ Sの細胞外分泌・リソソーム移行はMVBを中心とした小胞輸送により規定されることが示唆された(図8、文献4)。細胞間における異常タンパク伝播は各種神経変性疾患に普遍的にみられる現象である可能性がある一方、個々の疾患毎に異常タンパク伝播に関与する分子機構が異なる可能性がある。今後は異常タンパク伝播阻止に着目した、新しいシヌクレイノパチーへの治療介入を提案したいと考えている。



#### F. 文献

- Baba T. et al., *Brain*, 135, 161-169, 2012.
- Kikuchi A. et al., *Brain*, 133, 1772-1778, 2010.
- Hasegawa T., et al., *Neurochem Int*, 57, 857-866, 2010.
- Hasegawa T. et al., *PLoS ONE*, 6, e29460, 2011.

## ALS の臨床的進展様式

木村文治<sup>1)</sup>

1) 大阪医科大学 内科学講座(I) 神経内科

### 研究要旨

神経変性疾患において異常タンパク質がプリオン病のごとく近隣神経細胞へ伝播して行く『神経回路網伝搬仮説』が提唱されている。ALS における下位運動ニューロン障害 (LMN) の進展形式として、上肢 (U=頸髄)、下肢 (L=腰髄)、球 (B=橋延髄) 3 部位が隣接した部位へ進展し呼吸症状 (R) に至るか検証した。対象は呼吸症状発現まで追跡しえた ALS150 例、症状発現時期を ALS 評価スケール (ALSFRS-R) U、L、B、R 各部位 12 点から減点が開始された時点とした。下肢初発 52 例では第 2 病変として上肢への進展は 42 例 (81%)、呼吸は 2 例 (4%)、L から下肢症状を発現せず球へスキップし遠隔進展したのは 8 例 (15%) のみであった。球初発 32 例では上肢への進展 20 例 (63%)、呼吸はなく、上肢症状を発現せず下肢へ遠隔進展したのは 12 例 (38%) であった。上肢初発 50 例では下肢への進展 35 例 (70%)、呼吸へ 3 例 (6%) と下方への進展例が多く認められたが、球への進展 12 例 (24%) と有意差はなかった。混合型 (2カ所が同時に発症) 16 例は、球/上肢 9 例および上肢/下肢 7 例であり、球/下肢はなかった。第 2 病変が遠隔進展した 20 例 (球→下肢: 12 例、下肢→球: 8 例) の約半数はほぼ同時期に近接部位への進展を示した。初発別 LMN 発症時期累積度数分布では、球→上肢→下肢、下肢→上肢→球への連続的進展性を示した。下肢初発型と上肢初発型における球症状発現までの期間を比較すると、上肢から球への進展スピードが有意に速かった。ALS は発症部位を起点として有意に連続性進展様式を示した。

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis, ALS) の球・上肢・下肢症状は、各々橋延髄・頸髄・腰髄の障害に起因すると考えられ、その進展様式は様々である<sup>1) 2)</sup>。呼吸症状出現には、胸髄運動神経細胞のみならず、頸髄の横隔膜神経、延髄の副呼吸筋、腹筋など多くの脊髄分節の神経細胞脱落が関与する。ALS を支える医療環境は大きく変化し、リルゾール投与、経皮的胃ろう増設術 (PEG)、非侵襲的陽圧換気 (NIPPV)、介護制度の普及などが上げられるが、人工呼吸器装着までの延命効果は限定的で、5 年生存率を改善するまでには至っていない<sup>3)</sup>。近年、神経細胞の変性過程は隣接する神経細胞

に伝播する『神経回路網伝播仮説』が提唱されている<sup>4) 5)</sup>。“Prion-like propagation” と呼ばれる異常蛋白進展は、中枢神経組織の代謝回転が遅いため蓄積し起こりうる現象として理解される。弧発性 ALS では、TDP-43 蛋白の凝集が神経細胞内ユビキチン化封入体の主たるコンポーネントであることが見いだされ、家族性 ALS と同様に神経細胞死に異常蛋白出現および伝播が関与することが示唆されている。ALS 下位運動神経症状は、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病に比べ、臨床的に捉えやすく進展様式を検討するには適している。本研究は ALS functional rating scale revised version (ALSFRS-R)<sup>6)</sup> を用い、下位運動ニューロン症状の



進展様式から解剖学的連続性の有無と予後について自験例を中心に概説する<sup>7)</sup>。

## B. 研究方法

呼吸症状が出現するまでの期間追跡可能であった弧発性 ALS 150 症例を対象に、ALSFRS-R における球、上肢、下肢、呼吸の各項目の点数をもとに、経時的に観察し症状出現時期および症状出現順位を前方視的に検討した。Primary endpoint は死亡時点もしくは、人工呼吸器の補助がなければ生存できない時点とした。事前に除外した症例は、呼吸症状が初発であった ALS 3 例、家族性 ALS 3 例、自殺例 2 例、癌併発例 3 例、認知症を伴った症例 7 例、頸椎症を併発し症状初発時期が明確でない症例 4 例、診断後の進展情報が不明確な症例 17 例であった。上肢、下肢および球機能が正常に保持された状態とは ALSFRS-R それぞれの症状項目が 12 点満点であることと定義した。それぞれの症状発現時期は ALSFRS-R 12 点から減点が開始された時点を超えて初発症状からの期間（月）で表した。生存期間分析と累積度数分析は Kaplan Meier 曲線を用いておこなった。本研究の施行にあたり、当院倫理委員会の承認を受けた。

## C. 研究結果

初発症状から呼吸症状出現まで球、上肢、下肢症状がどのような順位で進展したかを検討した（図 1）。呼吸症状が第 2 番目に出現したのは 5 例（3.3%）、第 3 番目は 49 例（32.6%）で、最後（第 4 番目）に呼吸症状が出現したのは 96 例（64.1%）であった。即ち、何らかの正常分節機能を保持し呼吸症状出現に至った症例は 54 例（36%）に及んだ。特に、下肢初発 52 例中 21 例（40.4%）で球症状が出現する事なく呼吸症状が出現した。呼吸症状出現時点で正常に保持された機能は球症状が最も多く 26.7%であり、下肢は 10%で、上肢機能が保持されたのはわずか 2.7%のみであった。この結果から、球症状出現が呼吸症状出現に必須ではない事、上肢機能に関わる頸随病変が横隔膜機能に参与し、呼吸症状出現に参与している事が推測された<sup>2)</sup>。下肢初発では、83%で

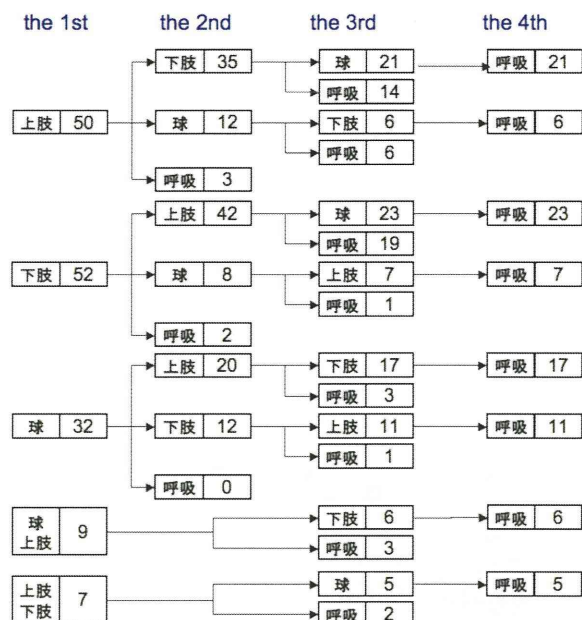


図 1. 初発症状から呼吸症状出現まで進展順位

上肢、3%で呼吸、14%で球症状が出現した。一方、球初発では、71%で続いて上肢、29%で下肢の症状が出現したが、球症状から直接呼吸症状が出現する症例はなかった。また上肢初発では、続いて 64%で下肢、5%で呼吸症状と下行性に進展し、32%で球症状へと上行性に進展した。また、経時的累積度数分布の検討でも、球麻痺初発型は下肢症状（14 ヶ月）より上肢症状（9 ヶ月）が、下肢初発型では球症状（27 ヶ月）より上肢症状（10 ヶ月）が速く出現し、いずれも近接部位への進展が速い事が確認された。上肢初発型では、下肢（14 ヶ月）への進展が球（17 ヶ月）への進展に比べ速い傾向が認められたが有意な差はなく、上行性と下行性ほぼ同じように進展することが示された。非連続性進展を示した症例は 20 例（13%：球→下肢：12 例、下肢→球：8 例）であったが、その中で、9 例は第 2 病変と第 3 病変がほぼ同時であった。ALSFRS-R 総合点から求めた ALS 診断時点の進行度（ $\Delta FRS=48-[診断時 ALSFRS-R/発症から診断までの期間(月)]$ ）が診断後からエンドポイントまでの期間と有意に相関した<sup>8)</sup>。生存期間中央値は、初発病変から第 2 病変出現までの期間が 1 ヶ月以内の群（混合型）で 18 ヶ月、2-3 ヶ月の群で 19 ヶ月と、3 ヶ月以上の群の 36 ヶ月に比べ有意に

短かった。初発病変から第2病変出現までの期間が短いほど生存期間が有意に短かった (図 2)。また、初発病変から第2病変出現までの期間が3ヶ月未満の群では、5年以上生存例はなかった。非連続性進展を示した症例群と連続性進展を示した症例群の予後を比較したが、有意な差は認めなかった。

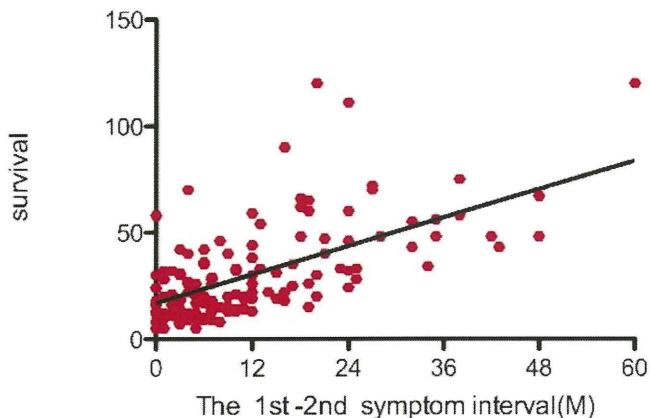


図 2. 初発症状-第2病変の期間 (月) と生存期間 (月) の関連 (P<0.001)

#### D. 考察

ALS 病態の進展様式に関して、ALS は局所から始まり、全身の運動神経に広がる病態である。症状が出現するには、一つの病的プロセスが周囲の神経細胞へ拡大し、一定集団の運動神経細胞障害をきたす必要があり、まさに“cell to cell propagation”の機序が推測される。本研究における進展様式の検討から、球麻痺初発型では『球→上肢→下肢』へ、下肢初発型では、『下肢→上肢→球』への進展が認められた。上肢では『球←上肢→下肢』両方向へ進展した。

ALS の予後に関して、初発病変から第2病変出現までの期間が速いほど予後が不良であったことは、神経回路網における伝播速度が速い病態と考えられる。混合型は第2病変の出現が非常に早い病態であると同時に、病変が単一ではなく、多発 (multi focal lesions) しているとも解釈される。近年、アルツハイマー病、パーキンソン病、プリオン病、ポリグルタミン病など、多くの神経変性疾患において、ミスフォールディング蛋白が凝集塊を形成し神経細胞死

をきたすとの仮説が提唱されている。しかも、これら異常タンパクはまるでプリオン病のごとく近隣の細胞へ、アストロサイトやミクログリアを介して伝播していくことが推測されている<sup>9) 10)</sup>。ALS の運動神経細胞病変が解剖学的に隣接細胞、隣接部位へ伝播しているかを実際の患者で検証することは、単に臨床的進展様式をとらえるばかりでなく、今後 ALS の分子メカニズムを解明するにあたり重要なデータになると考えられる。また治療の観点から、異常蛋白の伝播を阻止し、その拡大を抑制する事が治療戦略の一つとなるかもしれない。

#### E. 結論

ALS の病変は初発部位を起点に隣接した部位に進展し、神経細胞の変性が拡大伝播し、その進展速度は神経回路網における伝播速度を反映し予後に関連する。しかし、一部の症例では非連続性進展を示し、病変がスキップする症例が multi focal lesions を示すかについて、今後は電気生理学的検査を含めた前向き調査による症例集積が必要である。

#### F. 文献

- 1) 木村文治, 他. 臨床神経 43:385-391 2003.
- 2) 木村文治, 他. 臨床神経学 47:140-146 2007.
- 3) Mateen FJ, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 81:1144-1146 2010.
- 4) Goedert M, et al. Trends Neurosci 33:317-325, 2010
- 5) Ravits J, et al. Neurology 68:1571-1575 2007.
- 6) Cedarbaum et al. J Neurol Sci 169:13-21 1999
- 7) Chieko Fujimura-Kiyono, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 82:1244-1249 2011
- 8) Kimura F, et al. Neurology 66:265-267 2006
- 9) Münch C, et al. Proc Natl Acad Sci U S A 108:3548-3553 2011
- 10) Kanouchi T, et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 83:739-745, 2012

## ALS における multifocal hit and local propagation 仮説

横田隆徳<sup>1)</sup>

1) 東京医科歯科大学大学院 脳神経病態学分野

### 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）の症状の進展様式において、身体の一部に初発して連続した部位に順々に拡大する可能性が近年指摘されている。そこで、今回 ALS 発症早期例における針筋電図検査の所見から前角細胞障害の進展様式を髄節ごとに検討した。対象は、球症状、呼吸症状ないし上肢の筋力低下で初発した孤発性 ALS 患者 32 名とした。運動ニューロンの脆弱性に影響し得る軸索長や筋線維タイプの組成がほぼ同一で、支配髄節のみ異なる一側 2 筋（内側広筋と大腿二頭筋、T10 と L5 傍脊柱筋）をペアとし、これらペア内の 2 筋間で安静時自発電位（線維自発電位、陽性鋭波、および線維束電位）の有無を比較した。検査を施行した 21 症例延べ 42 ペアのうち 8 症例 9 ペアにおいて、ペア内のより尾側の髄節支配筋にのみ安静時自発電位を認めた。発症早期の ALS 症例において複数の症例で初発髄節から非連続的に下位運動ニューロン障害が広がっており、何らかの機序により中間の髄節をスキップしたまま、尾側の髄節に非連続的に障害が及ぶものと考えられた。一方、尾側の髄節の障害された運動ニューロンプールは近接すえう傾向があり、局所においては運動ニューロンプール間で病変が進展する可能性を考えた。

### B. 研究方法

球症状、呼吸症状ないし上肢症状から初発し、孤発性 ALS を疑われて針筋電図検査を施行し、フォロー中に改訂 El Escorial 診断基準（Brooks *et al*, *Amyotroph Lateral Scler Other Motor Neuron Disord* 2000）にて Clinically Probable ALS Laboratory-supported 以上に至った患者 21 名（Clinically Definite ALS 3 名、Clinically Probable ALS 7 名、Clinically Probable ALS Laboratory-supported 11 名）を対象とした（男性 14 名、女性 7 名；49～77 歳、平均 64.7 歳）。初発部位別では球症状 5 名、呼吸症状 1 名、上肢症状 15 名であった。

まず、球症状・呼吸症状初発例では右側、上肢症状初発例では初発側において第一背側骨間筋（FDI；C8/T1 髄節支配）の安静時針筋電図検査を施行した。さらに、同側の初発部位より尾側において、運動ニューロンの脆弱性に影響する因子として知られている軸索長や筋線維タイプの組成がほぼ同一で、支配髄節のみ異なる 2 筋（内側広筋（VM；L3 髄節支配）と大腿二頭筋（BF；

### A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）の臨床症状の進展様式においては、身体の一部から初発してそこから連続した部位に順々に拡大する可能性が話題になっている（Ravits, *Neurology* 2007 ほか）が、身体を 4～5 部位程度に大まかに分割して検討した報告が主体であり、詳細な臨床的検討はなされていない。分子生物学的には、隣接したニューロン間で異常蛋白が伝播し、神経変性疾患が広がるのではないかという仮説が近年注目されつつあり（Goedert *et al*, *Trends Neurosci* 2010 ほか）、疾患の進行する機序を考える上で重要視されている。ALS の病変が髄節レベルで連続的に進展するの否かは、その進展機序を考察する上で重要な知見と考えられる。そこで今回我々は、ALS 発症早期例における針筋電図検査の所見を用い、前角細胞障害の頭側から尾側への進展様式を髄節ごとに連続的であるか否かを検証した。

S1 髄節支配)、T10 と L5 の傍脊柱筋) をペアとし、これらに加え大腿直筋 (L3 髄節支配)、前脛骨筋 (L4/5 髄節支配)、腓腹筋 (S1 髄節支配) を被検筋とし、安静時針筋電図検査を施行した。各被検筋ごとに 10 か所から記録し、2 か所以上で線維自発電位ないし陽性鋭波を認めたものを脱神経電位陽性とした。うち 1 か所では 60 秒間安静時電位を観察、2 回以上同一波形の運動単位電位が出現した場合に線維束電位陽性とした。

初回検査時における同一ペア内の 2 筋間で安静時自発電位 (線維自発電位、陽性鋭波、および線維束電位) の有無を比較した。

(倫理面への配慮)

本研究については、東京医科歯科大学医学部 (「筋力低下をきたす疾患の障害分布の検索」、1091 番)、千葉大学大学院医学研究科 (「神経筋疾患における電気生理学的検査の有用性に関する多施設共同観察研究」、769 番)、京都府立医科大学 (「筋力低下をきたす疾患の障害分布の検索」、E-367 番) における倫理委員会の承認を得て行った。

### C. 研究結果

21 症例全例において第一背側骨間筋にて安静時自発電位を認めた。21 症例中 4 例において、初回検査時点において既に全ての被検筋に安静時自発電位を認めていた。

下肢ペアにおいて、S1 支配筋である大腿二頭筋のみに異常を認め、L3 支配筋である内側広筋をスキップしている症例は 21 例中 5 例、逆にペアのうち内側広筋のみに異常を認め、連続的な進展に合致する症例は 2 例であった。

傍脊柱筋ペアにおいては、L5 傍脊柱筋のみに異常を認め、T10 傍脊柱筋をスキップしている症例は 21 例中 4 例、逆にペアのうち T10 傍脊柱筋のみに異常を認め、連続的な進展に合致する症例は 1 例であった。

21 例中 1 例においては下肢ペアおよび傍脊柱筋ペアの双方においてより尾側の髄節支配筋の

みに異常を認めるスキップ型のパターンをとっていた。逆に下肢ペアおよび傍脊柱筋の双方において頭側の髄節支配筋のみに異常を認めた例はなかった。

各筋の異常出現率を髄節支配ごとに比較すると、L3 支配の内側広筋や大腿直筋の異常率は同じ、L5 支配の前脛骨筋や傍脊柱筋の異常率もおよそ等しかった。L3 支配筋と L5 支配筋の間で比較すると L5 支配筋の方が統計学的に有意に高い異常率を示した (カイ二乗検定、 $p < 0.05$ )。

### D. 考察

今回の検討では、21 例中 4 例においては初回検査時点で既に全ての被検筋に異常を認め、下位運動ニューロン障害の進展様式は既に評価不能であった。

残る 17 例のうち、初発部位により近い頭側の支配筋をスキップして、尾側の支配筋のみ異常を認めたペアは合計 8 症例 9 ペアに上り、初発部位に近い頭側の支配筋のみに異常を示し、連続的進展を示唆した合計 3 症例 3 ペアを大きく上回った。

頭側に初発した病変がもし連続的に尾側に進展するのであれば、ペアのうち尾側のみに異常を認めることはないはずである。検査上の偽陰性がある程度存在しうるとしても、それだけで頭側のみに異常を認める例よりも多数を占めるという結果を説明しうるとは考えにくく、髄節をスキップして進展する機序の存在を支持するものと考えられる。

また、支配髄節ごとに比較した検討では、L3 支配筋である内側広筋や大腿直筋は障害を受けにくく、L5 支配筋は障害を受けやすいなど、髄節ごとに障害されやすさに差がある可能性が示唆された。

同じ髄節であれば、運動ニューロンの脆弱性に影響すると従来報告されている軸索の長さや生理学的特性のサブタイプ (FF 型、FR 型、S 型) が異なった筋間でも異常率には差が見られなかったことから、こうした脆弱性とは別の要素が関

与している可能性がある。考えうる機序としては、L5 髄節そのものに何らかの脆弱性があり 2nd hit が生じやすいか、脆弱性は従来いわれているように前脛骨筋など特定の筋にあり髄節内での水平方向の進展が極めて早い、といったことが挙げられる。

一方、尾側の髄節の障害された運動ニューロンプールは近接すえう傾向があり、局所においては運動ニューロンプール間で病変が進展する可能性を考えた。

## E. 結論

発症早期の ALS 症例において初発髄節から非連続的に下位運動ニューロン障害が広がっている症例が複数存在しており、何らかの機序により中間の髄節をスキップしたまま、尾側の髄節に非連続的に障害が及ぶものと考えられた。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kuwabara S, Yokota T. Propagation: prion-like mechanisms can explain spreading of motor neuronal death in amyotrophic lateral sclerosis? J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2011 82:1181-1182.
2. Kanouchi T, Ohkubo T, Yokota T. Can regional spreading of ALS motor symptoms be explained by prion-like propagation?. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012;83:739-745.

## 2. 学会発表

1. 関口輝彦, 叶内匡, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症における下位運動ニューロン障害の初発髄節からの連続性の検討. 第 41 回日本臨床神経生理学会学術集会. 静岡. 2011. 11. 11.

2. 叶内匡, 関口輝彦, 水澤英洋, 横田隆徳. ALS 病変は連続性して拡がっていくか. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京. 2012. 5. 24.

## 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



## *C9ORF72* : わが国の孤発性 ALS での状況と臨床的特徴

### — JaCALS における解析から —

富山弘幸<sup>1) 2)</sup>, 大垣光太郎<sup>1)</sup>, 熱田直樹<sup>3)</sup>,  
李元哲<sup>4)</sup>, 船山学<sup>1) 4)</sup>, 渡辺はづき<sup>3)</sup>, 中村亮一<sup>3)</sup>,  
吉野英夫<sup>5)</sup>, 谷藤誠司<sup>6)</sup>, 田村麻子<sup>7)</sup>, 内藤寛<sup>8)</sup>, 谷口彰<sup>7)</sup>,  
藤田浩司<sup>9)</sup>, 和泉唯信<sup>9)</sup>, 梶龍兒<sup>9)</sup>,  
服部信孝<sup>1) 2) 4)</sup>, 祖父江元<sup>3)</sup>,

Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS)

- 1) 順天堂大学脳神経内科, 2) 順天堂大学神経変性疾患病態治療探索講座,  
3) 名古屋大学神経内科, 4) 順天堂大学老人性疾患・病態治療研究センター,  
5) 世田谷神経内科病院, 6) 狭山神経内科病院, 7) 三重大学神経内科,  
8) 伊勢赤十字病院神経内科, 9) 徳島大学神経内科

#### 研究要旨

最近、白人において *C9orf72* 遺伝子のイントロン 1 内の 6 塩基繰り返し配列が、孤発性および家族性筋萎縮性側索硬化症 (ALS) そして前頭側頭型認知症 (FTD) の最も頻度の高い原因であると報告された。そこで Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS) では、563 人の日本人 ALS (孤発性 552、家族性 11) において、repeat-primed PCR 法、フラグメント長解析を用いた *C9orf72* 遺伝子の変異解析を行った。変異陽性例は 42 個の SNPs を用いてハプロタイプを解析した。2 人の孤発性 ALS で、*C9orf72* 繰り返し配列の伸長変異を認め (2/552=0.4%)、家族性 ALS では認めなかった (0/11=0%)。 そのうち一人の発端者について、同胞に一人の原発性進行性失語 (PPA) 患者が存在することがわかり、遺伝子解析を行ったところ同変異を認めた。すなわちこの家系内には ALS/FTD と PPA の異なる臨床型の患者が共に存在し、それぞれ同一の *C9orf72* 変異を原因としていることが後に判明した。また、もう 1 家系においては、76 歳の非発症キャリアを認めた。全ての変異陽性患者は 20 SNP の共通リスクハプロタイプをもっていた。日本人における *C9orf72* 変異の頻度は白人よりも低かった。これまで白人において浸透率は高いことが報告されている一方、76 歳の非発症キャリアの存在は不完全浸透率を示唆する可能性がある。本研究結果から *C9orf72* 変異は、孤発性および家族性 ALS において、認知症特に FTD のみならず PPA についても家族歴を詳細に確認の上、解析されるべきであると考えられた。



## A. 研究目的

最近、白人において *C9orf72* 遺伝子のイントロン 1 内の 6 塩基繰り返し配列が、孤発性および家族性筋萎縮性側索硬化症/前頭側頭型認知症 (ALS/FTD) の最も頻度の高い原因であると報告された。その頻度は、実に家族性 ALS の 21%–57%、孤発性 ALS の 3%–21% を占めると報告されてきている。本研究では、*C9orf72* の日本人 ALS 患者における変異頻度、変異陽性患者の臨床像を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS) に登録された日本人 ALS 563 例 (孤発性 552 例、家族性 11 例) の DNA 検体を対象として、repeat-primed PCR 法からフラグメント長解析を行い repeat の伸長を解析した。変異陽性例は、共通祖先が想定されているフィンランド人と同じ共通リスクハプロタイプをもっているかどうかを調べるため、フィンランド人で認めた変異周囲の 42 個の SNPs を用いてハプロタイプを解析した。

(倫理面への配慮)

患者、家族への説明と同意を得た上で、名古屋大学をはじめとする JaCALS 参加施設の倫理委員会の承認のもとに本研究を遂行した。

## C. 研究結果

2 人の孤発性 ALS で、*C9orf72* 繰り返し配列の伸長変異を認め ( $2/552=0.4\%$ )、家族性 ALS では認めなかった ( $0/11=0\%$ )。そのうち 1 人の発端者について、1 人の原発性進行性失語 (PPA) 患者が家系内に存在することが判明し、遺伝子検査を行ったところ同変異を認めた。また、もう 1 人の発端者の同胞においては、76 歳の非発症キャリアを認めた。全ての変異陽性患者は、変異部位周囲の 42 個中の SNP 中連続する 24 ないし 25 か所でフィンランド型リスクハプロタイプと一致し

ていた。すなわち想定されている共通祖先と同じリスクハプロタイプを本邦の患者も持っており、その領域はフィンランド人、白人の共通ハプロタイプよりやや狭い領域であった。

## D. 考察

日本人における *C9orf72* 変異の頻度は白人よりも低く、また日本人がフィンランド人よりもやや狭い領域で共通リスクハプロタイプをもっていた結果からは、人類遺伝学的にはヨーロッパからアジアへの人類の移動の歴史の中で遺伝的多様性が増していった可能性が考えられる。これまでに白人において浸透率は高いことが報告されている一方、76 歳の非発症キャリアの存在は不完全浸透率を示唆する可能性がある。今回の JaCALS での研究により、白人ほど頻度は高くないものの、*C9orf72* 変異患者は本邦の孤発性および家族性 ALS/FTD に存在することが示された。

今回、孤発性 ALS と診断されていた患者の遺伝子診断により *C9orf72* 変異が同定された後、より詳細な家族歴聴取から認知症、PPA の家族歴が確認され、PPA 患者も同じ *C9orf72* 変異をもっていることが確認できたことは、診療上大変示唆的であった。本家系において、ALS 患者は全く認知症の合併はなく、PPA 患者は臨床所見、検査所見とも運動ニューロン徴候を全く有していなかった。ALS と PPA という異なる臨床表現型の原因が同じ遺伝子変異により起こっていたという事実は、今後神経疾患の診療を行う上での詳細な家族歴の聴取の後、遺伝子解析を検討していくことの重要性を示唆すると考えられた。さらには、孤発性 ALS にも *C9orf72* 変異が見つかってきていることから、明らかな家族歴がなく孤発性と考えられた症例においても、積極的に遺伝子解析を行っていくことも重要と考えられた。

今後 *C9orf72* 解析による患者の蓄積・縦断的評価から、診断・診療の向上が期待でき、浸透率の確認からより望ましい遺伝カウンセリングにも繋げていけるものと期待される。また、*C9orf72*

の研究は ALS/FTD の病態治療探索の大きな手がかりと言え、「イントロン1の繰り返し配列がどのように神経変性に関わっているのか」、「ALS と FTD の病態を分けるものは何か」など、今後の分子遺伝学的解析、機能解析の成果が大いに期待される。

## E. 結論

*C9orf72* 変異は、白人ほど頻度は高くないものの、本邦の孤発性および家族性 ALS/FTD 患者に存在する。*C9orf72* 変異は、孤発性および家族性 ALS において、認知症特に FTD のみならず PPA についても家族歴を詳細に確認の上、解析されるべきであると考えられた。今後 *C9orf72* のさらなる解析により、症例の蓄積とともに孤発性 ALS の病態解明から治療に繋がっていくことが期待される。

## F. 文献

Ogaki K, et al. *Neurobiol Aging* 2527.e11–e16 2012.

## C9orf72 遺伝子異常を有し phenotype が異なった ALS/FTD の同胞例

内藤 寛<sup>1)2)</sup>, 山崎正禎<sup>1)2)</sup>, 田村麻子<sup>2)</sup>, 谷口 彰<sup>2)</sup>, 富本秀和<sup>2)</sup>  
1)伊勢赤十字病院 神経内科, 2)三重大学 神経内科

### 研究要旨

9p21 linked ALS/FTD の原因遺伝子として注目されている C9orf72 遺伝子異常では、同一家系内に ALS と FTD の 2 つの phenotype が混在することがある。本研究では、兄が ALS で、弟が FTD で発症し、C9orf72 遺伝子変異が確認された本邦初の同胞例を報告した。兄は下肢遠位筋から発症した ALS 例で、筋萎縮は上肢、呼吸筋、球部筋に進展したが、臨床的な上位運動ニューロン徴候は明らかではなく、失語症状は頭在化していなかった。しかし 2 年間の観察期間内に MMSE と FAB の低下がみられた。弟は失語症と認知症で発症した FTD 例で、筋萎縮や脱力などの運動ニューロン徴候はなく、認知機能低下と、多幸症、退化化、模倣行動、保続、反響言語などの前頭葉症状が著明だった。失語症状は主に logopenic aphasia の特徴を有していると考えられた。<sup>123</sup>I-IMP SPECT の 3D-SSP 画像解析では、両者に共通して上・中・下前頭回、内側前頭回、中心前回、上・中・下側頭回、前方帯状回に有意な血低下がみられた。頭部 MRI 画像の VSRAD による脳萎縮解析では、両者ともに前頭・側頭葉に限局した脳萎縮を認め、FTD 例より強い傾向があった。針筋電図では ALS 例にのみ脱神経所見と神経原性変化が見られた。本家系では、認知症を呈する患者が約半数にみられ、常染色体性優性遺伝が考えられた。

### A. 研究目的

近年、C9orf72 遺伝子は 9p21 linked ALS/FTD の原因遺伝子として注目されている。フィンランドにおいて家族性 ALS の 46%、孤発性 ALS の 21% に C9orf72 遺伝子変異がみられる<sup>1)</sup>。本遺伝子異常では、同一家系内に ALS と FTD の 2 つの phenotype が存在することが稀ではないとされている。本研究では、兄が ALS で、弟が FTD で発症し、C9orf72 遺伝子変異が確認された本邦初の同胞例を報告する。

### B. 研究方法

Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis research (JaCALS) に登録された DNA 検体から見出された C9orf72 遺伝子異常を有する ALS 例と、その弟の FTD 例について、臨床症状ならびに高次機能検査、神経画像解析を行った。

(倫理面への配慮)

患者、家族への説明と同意を得た上で本研究を遂行した。

### C. 研究結果

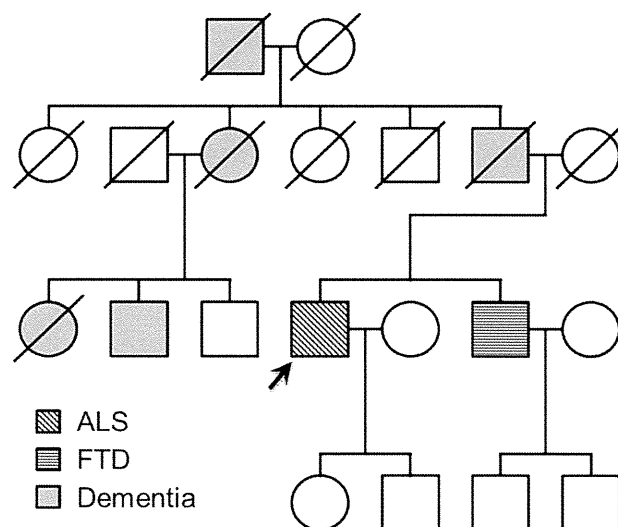
本例の家系図を図1に示す。発端者(矢印:症例1)

は ALS で発症しているが、家系内に男女を問わず認知症を有する例が各世代にみられる。症例1とその弟(症例2)について遺伝子解析を行った結果、両者に C9orf72 遺伝子異常が確認された。

症例1:兄 ALS 68歳

[主 訴] 左足の脱力, 歩きにくい

図1:家系図



[既往歴]特記すべきことなし

[家族歴]父, 叔母, 従兄, 弟に認知症

[現病歴]65 歳で建材業を退職するまで身体に問題なかった。66 歳ころから歩行時に左爪先が上がりにくく, つまずくようになり, 近医整形外科を受診した。感覚障害なく腰椎病変もないことから, 精査のため三重大学神経内科に入院した。

[66 歳時 神経所見] 高次機能:MMSE 23/30, FAB 13/18, 強制泣き・笑いなし。脳神経:眼球運動正常, 顔面筋力正常, 軟口蓋麻痺なし, 舌萎縮・線維束性収縮なし, 構音・嚥下障害なし, 胸鎖乳突筋・僧帽筋に萎縮なし。運動系:筋トーン正常, 左上・下肢に筋萎縮と筋力低下, 線維束性収縮あり, 左下垂足, 不随意運動なし。四肢腱反射低下, Babinski 陰性。小脳・協調運動:異常なし。感覚系:異常なし。自律神経系:異常なし。

[針筋電図] 上・下肢筋, Th7 および僧帽筋の身体 4 部位にて fibrillation potential と神経原性 MUP, 干渉不良の神経原性変化を認めた。

身体診察では上位運動ニューロン徴候は明らかでなかったが, El Escorial 改訂 Airlie House 診断基準にて clinically suspected ALS と考えられた。

[68 歳時 発症から 2 年目の所見]

MMSE 20/30, FAB 5/18。大きな声は出ないが会話は可能で, 失語症状は目立たない。舌萎縮と球麻痺性構音障害があり, 嚥下障害のため胃瘻造設。四肢の筋萎縮と筋力低下が進行し, 線維束性収縮, 四肢腱反射低下, Babinski 陰性。呼吸筋力低下(%VC 54%)のため, 夜間は NIPPV 装着で寝たきり状態。Airlie House 診断基準にて definite familial ALS, laboratory supported。

## 症例 2: 弟 FTD 63 歳

[主 訴] 言葉がわからない

[既往歴] 特記すべきことなし

[家族歴] 父, 叔母, 従兄に認知症, 兄が ALS

[現病歴] バス運転手で勤務態度に問題はなかった。57 歳時に死亡事故をおこして交通刑務所に 2 年間服役。出所後から物忘れが目立つようになった。言葉の意味が理解できず, 耳が遠くなったような振る舞いをする。話し方にもったような同語反復がある。ALS の兄に C9orf72 異常があったため, 精査のため伊勢赤十字病院に入院した。

[入院時神経所見] 多幸的。MMSE 8/30, FAB 4/18。強制泣き・笑いなし。脳神経:眼球運動正常, 顔面筋萎縮なし, 舌・軟口蓋麻痺なし, 構音・嚥下障害なし, 胸鎖乳突筋萎縮なし。運動系:四肢に筋萎縮や筋脱力,

線維束性収縮なし, 腱反射正常, Babinski 陰性, 痙縮なし, パーキンソニズムなし, 不随意運動なし。小脳・協調運動:異常なし。感覚系:異常なし。自律神経系:異常なし。

[針筋電図] 上・下肢筋, Th7 および僧帽筋の身体 4 部位にて fibrillation potential を認めず, MUP は正常で干渉も良好, 神経原性変化はない。

[脳波] 基礎律動 9~10Hz の  $\alpha$  波, 後頭部優位, 左右差なし。発作性律動異常なし。

[高次脳機能検査] TMT-A:12 分 20 秒, TMT-B:実施不能。立方体模写:不良。時計描画:異常。KOHS 立方体:実施不能。認知機能低下と, 多幸症, 退行化, 模倣行動, 保続, 反響言語などの前頭葉症状が著明。

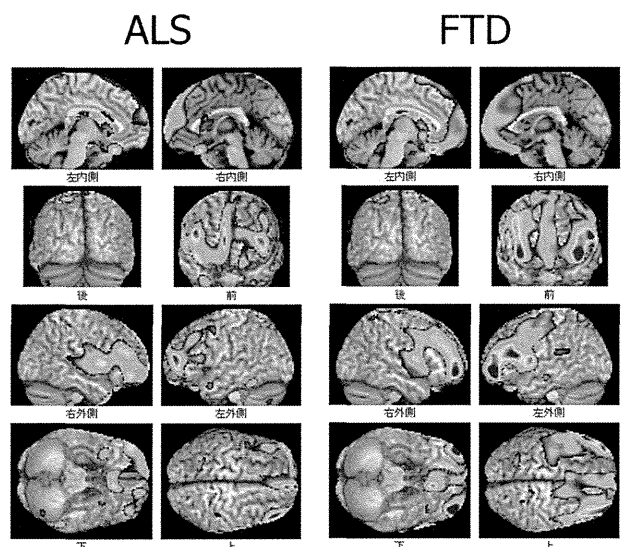
[標準失語症検査 SLTA] 聴理解, 読解:指さし動作をするという指示が入らず実施不能。発話:呼称は良好だが, word fluency は不良。復唱, 音読:単語レベルは良好だが文章は不良。書字:仮名書き取りのみ可能。理解力の低下と同語反復があり, 復唱は保たれる。発語失行はない。

[失語症のまとめ] 自発語と発話量の減少があり, 語に乏しく喚語困難, 同語反復, word-finding pauses と発話速度の低下がある。言語性把持力の低下と聴理解の低下が顕著。音韻性錯語はなく, 失構音や発語失行がないことから, 主に logopenic aphasia の特徴を有していると考えられた。

## 脳機能画像検査

[脳血流シンチ] 同時期に撮像された  $^{123}\text{I}$ -IMP SPECT の 3D-SSP 画像解析では, 症例 1, 2 に共通して上・中・

図 2 : MRI VSRAD





下前頭回, 内側前頭回, 中心前回, 上・中・下側頭回, 前方帯状回に有意な血低下がみられた。

[頭部 MRI]同時期に撮像された頭部 MRI 画像の VSRAD による脳萎縮解析(図2)では, 症例 1, 2 ともに前頭・側頭葉に限局した脳萎縮を認め, FTD 例でより強い傾向がみられた。

#### D. 考察

*C9orf72* 変異による ALS/FTD は, 常染色体性優性遺伝形式をとり, 基本的な phenotype としては behavioral variant (bv) FTD や progressive non-fluent aphasia (PNFA), ALS などがある。同一家系内でこれらの病型が混在することがあり, また進行とともに別の症状が加わることもある<sup>2)</sup>。Pure FTD 例を除いて, TDP 病理を伴う下位運動ニューロン障害がみられる<sup>2)</sup>。MRI 画像検査からみると, 本症は motor cortex を含む frontal lobe が primary target の疾患で, non-motor area が先か, 同時に侵されるかが phenotype の違いとなって表れるのであろうとされている<sup>3)</sup>。アイルランドの調査では, *C9orf72* 変異による ALS は, 家族歴を有する他に発症が若く, 生存期間も短く, MRI で脳萎縮が目立ち, 認知機能低下や行動異常が高率にみられることが指摘されている<sup>4)</sup>。カナダの調査からは, ALS 病型では上位・下位運動ニューロン症状いずれもみられるが, 球麻痺発症が多く認知症の合併が多いこと, 家系内に若年発症 FTD が多いこと, 家系内の phenotype の多様性を指摘している<sup>5)</sup>。フィンランドの調査では, FTD 病型では bv FTD が 64%, PNFA が 26.7%, SD が 9.3%であった<sup>1)</sup>。ALS は球麻痺発症が 27.8%, 四肢発症が 72.2%であった<sup>1)</sup>。Mayo からは MRI 画像の報告があり, 両側対称性の前頭・側頭葉, 島回, 帯状回の萎縮が本症の特徴とされている<sup>6)</sup>。フランスの調査からは家族性 ALS の 46%, 孤発性 ALS の 8%に *C9orf72* 遺伝子伸長があり, 球麻痺発症が多いこと, FTD の合併が多いこと, SOD や FUS よりは高齢発症で, 進行が速いことを挙げている<sup>7)</sup>。

本報告の症例 2 は, *C9orf72* 変異 ALS 家系に見られた本邦初の FTD 例であるとともに, 本家系内に認知症患者が多くみられることも, 既報告と矛盾しない。

#### E. 結論

*C9orf72* 変異による本邦初の ALS/FTD 同胞例を報告した。ALS 例は下肢発症から 2 年間で呼吸筋麻痺に至り, 経過中に FAB 検査で前頭葉機能低下が進行したが, 目立った認知症や失語症状は見られていない。FTD 例は原発性進行性失語症で発症, 前頭葉徴候を伴う認知症が主体であるが, ALS 徴候はない。この他に

も家系内に認知症発症者が多い。SPECT の画像解析では, 2 例に共通して上・中・下前頭回, 内側前頭回, 中心前回, 上・中・下側頭回, 前方帯状回の有意な血流低下がみられた。頭部 MRI の VSRAD 解析では, 両者に共通して前頭・側頭葉に限局した脳萎縮を認め, FTD 例で強い傾向があった。

#### F. 文献

1. Renton AE, et al : Neuron 72(2): 257-68, 2011.
2. Hsiung GY, et al: Brain 135(Pt 3): 709-22, 2012.
3. Andersen PM: Lancet Neurol 11(3): 205-7, 2012.
4. Byrne S, et al: Lancet Neurol 11(3): 232-40, 2012.
5. Stewart H, et al: Acta Neuropathol 123(3): 409-17, 2012.
6. Savica R, et al: Arch Neurol Jun 4:1-6, 2012.
7. Millecamps S, et al: J Med Genet 49(4): 258-63, 2012.

## 本邦における *C9ORF72* 変異の創始者効果と紀伊半島における集積について

石浦浩之<sup>1)</sup>, 高橋祐二<sup>1)</sup>, 三井純<sup>1)</sup>, 市川弥生子<sup>1)</sup>, 伊達英俊<sup>1)</sup>, 後藤順<sup>1)</sup>, 辻省次<sup>1)</sup>  
小野寺理<sup>2)</sup>, 今野卓哉<sup>2)</sup>, 西澤正豊<sup>2)</sup>  
吉田宗平<sup>3)</sup>, 紀平為子<sup>3)</sup>  
小久保康昌<sup>4)</sup>, 内藤實<sup>4) 5)</sup>  
葛原茂樹<sup>6)</sup>  
玉置知子<sup>7)</sup>  
富山弘幸<sup>8)</sup>, 大垣光太郎<sup>8)</sup>, 服部信孝<sup>8)</sup>  
和泉唯信<sup>9)</sup>, 梶龍兒<sup>9)</sup>  
熱田直樹<sup>10)</sup>, 祖父江元<sup>10)</sup>  
JaCALS<sup>11)</sup>

- 1) 東京大学, 2) 新潟大学, 3) 関西医療大学, 4) 三重大学, 5) 伊勢赤十字病院  
6) 鈴鹿医療科学大学, 7) 兵庫医大, 8) 順天堂大学, 9) 徳島大学, 10) 名古屋大学  
11) Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis Research

### 研究要旨

前頭側頭型認知症・筋萎縮性側索硬化症 (FTD/ALS) の原因として同定された *C9ORF72* 内の 6 塩基リピート伸長変異を東大の ALS リソース、紀伊 ALS/PDC 症例で検討した。東大の ALS リソースにおいてはリピート伸長変異は稀であったが、紀南 (串本、古座川) にリピート伸長変異症例が集積していることが明らかとなった。本邦の他のリピート伸長症例と合わせて合計 8 家系 10 名についてハプロタイプ解析を行ったところ、紀南症例については強い創始者効果を認め、1 名を除くと 320kb の共通ハプロタイプを全例で認めた。1 例に関しては 180kb の領域についてハプロタイプは共通であった。以上の結果は、本邦の *C9ORF72* 変異症例に関しては創始者効果が示唆するが、共通部分は短く、創始者は存在していたとしても古いことが推定された。

### A. 研究目的

2011 年、*C9ORF72* 内の 6 塩基 (GGGGCC) の異常伸長が前頭側頭型認知症・筋萎縮性側索硬化症 (FTD/ALS) の原因として同定された。これまでの本研究班の研究で、*C9ORF72* 変異症例は欧米に比較すると頻度は低い、変異症例が見いだされてきている。その中では紀伊半島において 3 例が見いだされており、紀伊半島における ALS

の集積性の背景のとなることが見いだされている。本研究では、紀伊半島における ALS, ALS/PDC (amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex) 症例について、その頻度や地域分布、ハプロタイプ解析による創始者効果についての検討を行うとともに、本研究班で見いだされている *C9ORF72* 変異症例についてハプロタイプ解析を行い、その創

始者効果について検討した。

## B. 研究方法

東大で収集された ALS リソース(家族性 40 例、孤発性 217 名)、紀伊 ALS/PDC として収集された 45 名について、*C9ORF72* 変異についての検討を行った。本邦における *C9ORF72* 変異症例の創始者効果の解析は、紀伊半島で見いだされた 3 例、紀伊半島以外の地域で見いだされた 5 家系 7 例の合計 8 家系について詳細なハプロタイプ解析を行った。

*C9ORF72* 変異のスクリーニングとして repeat-primed PCR 法を用い、十分 DNA がある 9 症例に関してはサザンブロット解析によりリピート長の決定を試みた。Repeat-primed-PCR 法、サザンブロット解析に関しては

DeJesus-Hernandez M et al. *Neuron* 2011;72:245-56 らの方法を用いて行った。

本邦で見いだされた 6 家系 8 症例のハプロタイプ解析にあたっては Genome-wide human SNP array 6.0 (Affymetrix)を用いて一塩基多型

(single nucleotide polymorphism, SNP) のタイピングを行い、homozygosity haplotype 法

(Miyazawa et al. *Am J Hum Genet* 2007;80:1090-102) を応用してハプロタイプの推定を行った。

(倫理面への配慮)

文書を用いて同意を得た検体について解析を行った。また倫理委員会において承認された研究である。

## C. 研究結果

*C9ORF72* 内の 6 塩基リピート伸長を東大リソースの家族性 ALS で 1 名 (2.5%) 見出した。孤発性 217 名にはリピート伸長症例は認めなかった。

紀伊 ALS/PDC 症例についての解析では、穂原地区症例 30 名については、本リピート伸長は認めなかった。一方で紀南 (串本・古座川地区) 症例 15 名 (家族例 1 名、孤発例 14 名) については、3 名で本変異を認めた。このうち、1 例のみで家系内の類症の発症者を認めた。

サザンブロット解析では、6kb 以上の伸長バンドを呈する症例を見出せたが、おそらく somatic instability の程度が強いために伸長バンドが広範囲に分布するスメア状になってしまい、正確に伸長の長さを決定することは非常に困難であった。

リピート伸長が確認された、紀南の 3 症例、東大リソースの 1 例 (兵庫)、JaCALS 症例 (三重の 1 家系 2 名、徳島の 1 家系 2 名)、新潟大学リソース (千葉 1 名、長崎 1 名) についてハプロタイプ解析を行った。紀南の 3 症例に関しては、3.3Mb~63Mb と非常に長い領域にわたって共通ハプロタイプを認め、創始者効果と考えられた。長崎症例と三重症例に関しては 910kb、徳島症例と兵庫症例に関しては 960kb の共通ハプロタイプの存在が推定され、前者・後者の間にも 840kb の共通部分を認めた。この 840kb の推定ハプロタイプは、紀南症例と比較して 320kb が共通していた。千葉症例に関しては、この 320kb の領域内に 180kb の共通部分を認めるのみであった。いずれの 8 家系も、欧米で指摘されている 130kb の創始者ハプロタイプとの比較では、矛盾は認めなかった。

## D. 考察

本邦における *C9ORF72* 変異の頻度は低いが、紀南地方には集積が見られ、ハプロタイプ解析からは、広大な共通ハプロタイプが観察されることから強い創始者効果の存在が考えられた。

本邦における *C9ORF72* リピート伸長を有する症例の推定ハプロタイプは、紀南の 3 例程近いわけではないものの、創始者の存在が示唆された。

しかしながら共通領域が短く、たまたまハプロタイプが一致して見える可能性も完全には排除できないと考えられた。また創始者がいたとしても非常に古いものと考えられた。より詳細な分析のためには、家系の方々に協力をいただいてハプロタイプを一義的に決定する、あるいは、ハプロイドゲノムの配列決定などによる検討が必要と考えられた。*Mutation rate* の高い *microsatellite* の分析は、創始者の年代推定に有用かもしれない。

## E. 結論

本邦における *C9ORF72* 内の 6 塩基リピート伸長変異は一般には低いが、紀南では集積性が観察され、創始者効果によるものである。本邦における *C9ORF72* 変異を有する 8 症例のハプロタイプは創始者効果の存在が示唆されたが、創始者があったとしても非常に古いものと考えられた。

## F. 文献

Ishiura et al. *C9ORF72* repeat expansion in amyotrophic lateral sclerosis in the Kii peninsula of Japan. *Arch Neurol* 2012 in press. Published online June 4, 2012. doi:10.1001/archneurol.2012.1219

Majounie E et al. Frequency of the *C9orf72* hexanucleotide repeat expansion in patients with amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia: a cross-sectional study. *Lancet Neurol* 2012;11(4):323-330.



## *C9ORF72* 変異を有する ALS の 1 剖検例

高橋 均<sup>1)</sup>

1) 新潟大学脳研究所 病理学分野

### 研究要旨

2011 年、FTD-ALS の新たな原因遺伝子として *C9ORF72* 遺伝子の異常伸長が同定された。我々は、本邦におけるこの *C9ORF72* 遺伝子変異を有する ALS の 1 剖検例について、その病理像を検討した。その結果、上・下位運動ニューロン系を侵す孤発性 ALS の所見に加え、欧米例で本変異に特異的とされている小脳顆粒細胞などに認められる p62 陽性、TDP-43 陰性の胞体内封入体の出現を確認した。

### A.はじめに

2011 年に二つのグループから、第 9 染色体短腕 21 領域内の *C9ORF72* 遺伝子の非翻訳領域にある GGGGCC リピートの異常伸長が家族性 FTD-ALS にて、また孤発性 ALS 患者群でも高率に見いだされ、この *C9ORF72* 遺伝子の非翻訳領域にある GGGGCC リピートの異常伸長による遺伝性疾患は c9FTD/ALS と名付けられた<sup>1,2)</sup>。

我々は、この *C9ORF72* 遺伝子変異を有する 1 家系 1 剖検例を経験したので<sup>3)</sup>、その病理像について報告する。

### B.症例

死亡時 62 歳、男性。61 歳、左手の巧緻運動障害を自覚。その後の 2 ヶ月内に構音障害、嚥下障害が加わり、発症約 4 ヶ月後、初診、神経学的に線維束性収縮をともなう舌の萎縮、線維束性収縮を伴う左上肢の筋力低下を認めた。左上下肢の深部権反射の亢進があり、左 Babinski 陽性。針筋電図・筋生検にて、神経原生変化を認め、ALS と診断。以後の臨床経過は、典型的な ALS のそれであり、発症後 20 ヶ月、呼吸不全にて死亡。な

お、認知症は全く認められていない。

本例の弟に同様の神経疾患がみられているが、両親にはみられていない。また、本例の剖検後の凍結脳組織を用いた遺伝子検査で、SOD1 遺伝子に変異のないことが確認されていた。

（剖検はご遺族の同意の下に、また、遺伝子解析は学内の倫理委員会の承認の下に行なわれた。）

### C.剖検所見

脳重は解剖時 1,340 g で、外表に異常なし。組織学的には、脊髓前側索の淡明化が明らかで、後索に異常なし。脊髓前角と脳幹運動神経核 (XII、VII および V) に中等度から高度の神経細胞脱落とグリオーシスを認めた。これらの下位運動神経核では、数は少ないが、その残存運動ニューロンにブニナ小体およびユビキチン陽性のスケイン様胞体内封入体を認めた。これらの封入体の存在は電頭下にも確認された。大脳皮質運動野では、Bstz 巨細胞を含む錐体細胞の脱落を認めた。非運動ニューロン系では、被殻小型神経細胞にごく少数の、海馬歯状回顆粒細胞にはかなりの数のユビキチン陽性の胞体内封入体が出現していた。

以上の所見は、すでに Tan らにより症例報告と

して記載されている<sup>4)</sup>。

### TDP-43 免疫組織化学

本例の神経系の各部位をリン酸化非依存性の抗 TDP43 抗体で免疫すると、陽性の神経細胞胞体内封入体が脊髄前角を含む下位運動ニューロン、被殻小型神経細胞、脳幹網様体、淡蒼球、視床、大脳皮質運動野神経細胞に認められ (図 1)、加えて、上・下位運動神経灰白質や白質 (内包) には、グリア細胞 (オリゴデンドログリア) の胞体内陽性封入体も観察された<sup>4)</sup>。

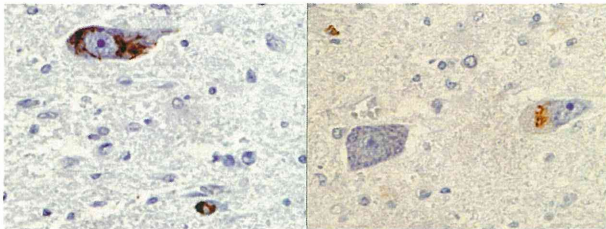


図 1. 上部頸髄の前核細胞およびグリア細胞胞体内の TDP-43 陽性封入体 (左: 抗リン酸化非依存性 TDP-43 抗体; 右: 抗リン酸化依存性 TDP-43 抗体 pS303/304)。

以上、本例の神経病理像は孤発性 ALS のそれと見なしてほぼ間違いないと判断されたが、興味とともに疑問がもたれた所見に「海馬歯状回顆粒細胞にかなりの数のユビキチン陽性の胞体内封入体が出現していたが、それらは TDP-43 免疫では描出できない」というものがあつた (図 2)。これは、TDP-43 封入体の分布様式でみた SALS type II とは明らかに異なるものであつた<sup>5)</sup>。

### P62 免疫組織化学

C9ORF72 変異の発見後、この変異を有する剖検脳においては、p62 陽性 / (リン酸化) TDP-43 陰性の封入体が小脳顆粒細胞、一部プルキンエ細胞の胞体内に出現する (顆粒細胞では核内にも封入体を認める) ことが特徴的との報告がなされた<sup>6-9)</sup>。我々も本例において、p62 に加え、リン酸

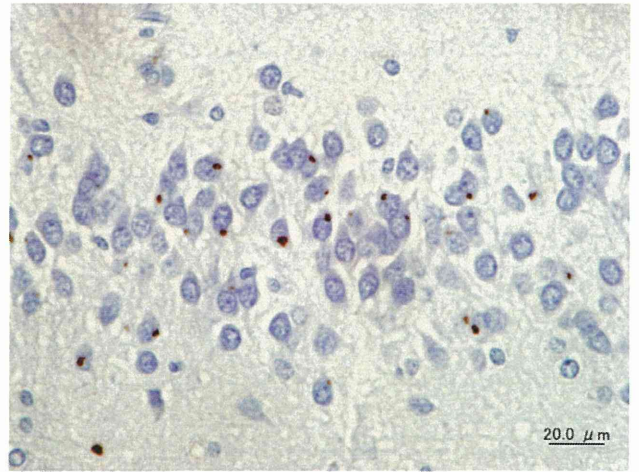


図 2. 海馬歯状回顆粒細胞には比較的多数のユビキチン陽性の胞体内封入体が認められる。これらの封入体は TDP-43 免疫では描出されない。

化 TDP-43 (pS403/404 および pS409/410 抗体)、ubiquilin-2 (UBQLN2) について、免疫組織化学的検討を行なった。検索部位は、脊髄・脳幹下位運動神経核、大脳皮質運動野、前頭葉 (前方部)、海馬 (歯状回を含む)、小脳 (虫部、半球) である。

脊髄・脳幹下位運動神経核、大脳皮質運動野では、リン酸化非依存性 TDP-43 およびリン酸化依存性 TDP-43 陽性 (pS403/404 陽性、pS409/410 陰性) (図 2) の神経細胞およびグリア細胞胞体内封入体が認められた。P62 免疫は TDP-43 免疫と同様のいわゆる孤発性 ALS で認められる封入体を描出した。

一方、前頭葉 (前方部) 皮質では、深部を中心に錐体細胞に、海馬では CA4、CA3 および CA2 の神経細胞 (図 3) に、さらに歯状回顆粒細胞に、小脳では、皮質顆粒細胞に胞体内 p62 陽性封入体が認められた (図 4)。これらの封入体は TDP-43 免疫では描出されず、ユビキチンおよび UBQLN2 免疫では描出された (図 3, 4); CA4-2 の p62 陽性封入体は一般にユビキチン陰性と判断された。この病変は上記の ALS の所見とは異なり、TDP-43 陰性で、かつグリア細胞に陽性所見を認めないのであつた。以上の結果を表 1 に示す。



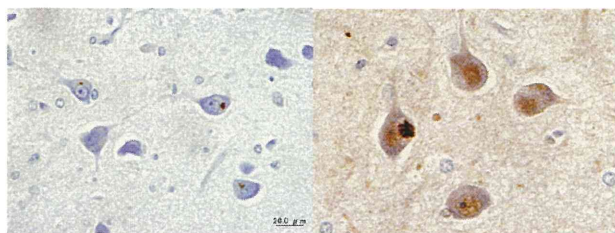


図 3. 海馬 CA4。神経細胞胞体内に p62 陽性 (左) および UBQLN2 陽性封入体 (右) の出現がみられる。

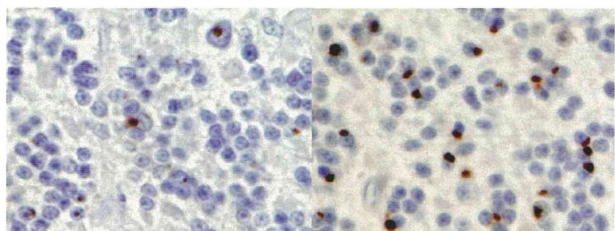


図 4. 小脳皮質顆粒細胞。顆粒細胞胞体内に p62 陽性 (左) および UBQLN2 陽性封入体 (右) の出現がみられる。

	Spinal cord Brainstem	Motor cortex	Frontal cortex	Hippocampus	Cbll cortex
TDP-43	+	+	-	-	-
pTDP-43	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-
p62	+	+	+	+	+
ubiquitin	+	-	+	+	+
UBQLN	(-)	(+)	+	+	+

pTDP-43: pS403/404 / pS409/410

表 1. 封入体の免疫組織化学的検索。赤枠はそれぞれ ALS および FTLD の病理を形成する封入体を示す。UBQLN2 免疫で TDP-43 や p62 陽性の ALS 封入体は描出できなかった<(-): 下位運動ニューロン; (+): 前頭葉等に類似の神経細胞胞体内封入体>。

#### D. 考察

今回、本邦における *C9ORF72* 遺伝子変異を有する 1 剖検例における病理像を提示するとともに、現在、問題とされている非運動ニューロン系に出現する封入体について、免疫組織化学的に検討した。すでに欧米の報告では、大脳皮質、海馬、小脳における p62 陽性、TDP-43 陰性の封入体の出現は c9FTD/ALS に特異的所見とされている。

本例 (家族性) でも同様の所見が確認された。本例では、核内やプルキンエ細胞内封入体、あるいは UBQLN2 陽性の下位運動ニューロン胞体内封入体<sup>10)</sup>は観察されなかったが、本邦における c9FTD/ALS は基本的に欧米のそれと同一の病理像を有するものと考えられた。

本変異は孤発性 ALS とされる症例においても高頻度に認められている<sup>1,2)</sup>。また、このような封入体の出現が疾患特異的となると、剖検例に保存凍結組織がない場合には、表 1 にみるように検索部位を定め、免疫染色にてスクリーニング検査を行い、ALS および FTLD 封入体の共存を確認することで、c9FTD/ALS の診断が可能となるかもしれない。

#### E. 結論

本邦における *C9ORF72* 遺伝子変異を有する 1 剖検例において、欧米例ですでに報告のある本疾患に特異的とされる封入体の出現を確認した。

#### F. 文献

- DeJesus-Hernandez M et al. *Neuron* 72: 245-256, 2011
- Renton AE et al. *Neuron* 72: 257-268, 2011
- Konno T et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* (in press)
- Tan CF et al. *Acta Neuropathol* 113: 535-542, 2007
- Nishihira Y et al. *Acta Neuropathol* 116: 169-182, 2008
- Murray ME et al. *Acta Neuropathol* 122: 673-690, 2011
- Al-Sarraj S et al. *Acta Neuropathol* 122: 691-702, 2011
- Troakes C et al. *Neuropathology* [Epub ahead of Print]
- Stewart H et al. *Acta Neuropathol* 123: 409-417, 2012
- Brettschneider J et al. *Acta Neuropathol* 123: 825-839, 2012

## 本邦の c9FTD/ALS のまとめと展望

小野寺 理<sup>1)</sup>

1) 新潟大学脳研究所 生命科学リソース研究センター 分子神経疾患資源解析学分野

(本研究報告は文献 1-3 のすべての研究者のご協力の上に行われたものである)

### 研究要旨

本邦の c9FTD/ALS の遺伝学的、臨床的特徴を、欧米例と文献的に比較した。C9FTD/ALS の頻度は、FALS 患者中の 3.6% (4/108 例)、SALS の 0.1% (1/878 例)、FTD の 0% (0/93 例) と欧米での頻度、FALS の 27-46%、SALS の 2-8% に比して 1/10 以下の頻度と極めて希であった。しかし、発症者は全員、いわゆる北欧に由来するとされるリスクアレルを持っていると考えると矛盾はしなかった。また日本人正常者内では、このリスクアレルの頻度は低く、欧米の 20% に対して本邦では約 10% であった。しかし、これのみで欧米の 1/10 以下の発症頻度は説明できないと考えた。このリスクアレルを有するものは、正常長さ内で、リピート長が長い傾向があるとされ、これが増大アレルを生み出す中間アレルとする仮説もある。本邦でも、このリスクアレル保有者のリピート数は、リスクアレル非保有者より長い傾向があった。しかし、欧米の正常者で認められるような 13 リピート以上のアレルを持つ者は少なかった。本症のリピート長の増大が中間アレルを起因とするかどうかは、今後より多くの正常者での検討により明らかとされると考える。臨床面では本邦の c9FTD/ALS は ALS の臨床型の頻度が高く、親子例が少なかった。また認知症合併例、球症状での初発例も少なかった。これらの本邦の特徴が、日本人の遺伝学的背景によるものか、リピート長を反映した者か、今後の検討が必要である。

#### A. 研究目的

本邦の c9FTD/ALS の、遺伝学的、かつ臨床的な特徴を明らかにする

#### B. 研究方法

本邦で確認された c9FTD/ALS 症例について<sup>1,3)</sup>、臨床情報を集積し、欧米の報告例と、文献的に比較した。

(倫理面への配慮)

対象は、各施設での倫理委員会での承認を経て行われた文献報告例であり、匿名化の上で解析し、症例が特定されない様にした。

#### C. 研究結果

現在、本邦にて遺伝子診断で判明している c9FTD/ALS 患者は 8 家系 15 人であった<sup>1,3)</sup>。そのうち 10 人が DNA 診断を受けており 1 人が未発症である。出身地は千葉県から長崎県に及び、紀伊半島に 4 家系が集中している。家系内の発症