

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)

平成 22 年度総括研究報告書

フェール病 (特発性両側性大脳基底核・小脳歯状核石灰化症) の分子病態の解明の研究

研究代表者 保住 功

岐阜大学大学院医学系研究科神経内科・老年学分野 准教授

研究要旨

原因不明の両側性の大脳基底核と小脳歯状核に石灰化を認める疾患は、従来‘フェール病’と通称されてきたが、頭部 CT 画像所見から、原因不明の(特発性)、両側性に脳内に石灰化を来す症例 (Idiopathic Bilateral Calcification (IBiC)) という診断基準で、神経内科医、小児神経内科を対象としたアンケート調査を行った。アンケート途中にも関わらず、100 症例を超える症例の登録があった。小児の症例では背景に何らかの先天代謝異常症が存在すること、初老期以降の症例には Kosaka-Shibayama disease (= Diffuse Neurofibrillary Tangles with Calcification (DNFC)) が存在することが推測され、IBiC の多様性が明らかとなった。DNFC に認められる神経原線維変化 (Neurofibrillary Tangles: NFT)、小血管周囲の石灰化を画像検査で検出することは、現在困難で、重金属を含め、髄液マーカーの確立が必要である。また、疾患の遺伝学的な背景を調べる必要があると、金属結合タンパクであるメタロチオネイン (MT) 遺伝子の解析を開始した。淡蒼球、小脳歯状核といった脳内の特定の部位にカルシウム (Ca) 他重金属の蓄積を認めることは、なんらかの金属結合蛋白の異常が想定され、そのメカニズムを明らかにすることは、病気の治療法、進展の抑制につながるものと考えられた。

研究分担者

林 祐一 岐阜大学大学院医学系研究科 神経内科・老年学分野 助教

香村彰宏 岐阜大学医学部附属病院 神経内科・老年科 医員

犬塚 貴 岐阜大学大学院医学系研究科 神経内科・老年学分野 教授

A. 研究目的

原因不明の両側性の大脳基底核と小脳歯状核に石灰化を認める疾患は、従来‘フェール病’と通称されてきたが、症候群として、海外では idiopathic bilateral striatopallidodentate calcinosis (IBSPDC) という名称も提唱されている。これまで臨床症状、頭部 CT 所見の多様性から、全国患者数やその病態は明らかでなく、また原因、

治療法に関して全く解明の糸口すらつかめず、疾患に対する十分な研究はほとんどなされてこなかった。このような現状の中、我々は 22~76 歳のいわゆるフェール病 3 症例の髄液中の重金属を高感度の誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を使って検索し、3 症例とも Ca 代謝は正常であったが、銅 (Cu)、亜鉛 (Zn)、鉄 (Fe)、マグネシウム (Mg) の上昇が著明であることを見出した。そして、共通した重金属代謝異常の存在を推測し、本疾患の病態解明、治療法へ方向性を提示した。本研究の目的は、全国フェール病患者数を明らかにし、臨床データおよび検体を収集し、その病態解明に迫ることによって、明確な診断基準を作ることにある。フェール病はいくつかの感受性遺伝子が関与する多因子疾患と考えられる。本研究では、全国一次調査、二次調査また論文、学会報告を通して

患者数やその実態を把握する。その後、患者の同意書を得て、血液、髄液、毛髪を収集し、Cu, Zn, Mg, Mn, Fe, Ni, Cd, Cr, Li, V, Co, Pb の12種類の重金属、金属結合蛋白であるメタロチオネイン(MT)等を測定する。また、MT-IIA等の候補遺伝子から疾患感受性遺伝子を明らかにする。収集する検体は今後の更なる検索と治療法の開発のため、二次利用できるよう同意書に明文化し、予め、同意を得ておく(分析に半年を計画)。わが国における実態、病態、疾患感受性遺伝子を明らかにし、欧米と比較検討する。ファール病の名称にはその多様性から議論があり、より明確な病態を解明することによって、疾患の診断基準の作成し、細分類し、個別の病態を明らかにする。

B. 研究方法

(1) 実態調査

1) 全国一次調査：全国の神経内科専門医、放射線科専門医にアンケートを行う(あらかじめ、臨床研究倫理指針を遵守し、倫理委員会の承認を得た上で郵送する)。これまで遭遇したいわゆるファール病すなわち、原因不明の家族性を含めた、両側脳内石灰症(Idiopathic Bilateral Calcification (IBiC))についてアンケートを行なう。性別、年齢、臨床症状・徴候(認知症、錐体外路症状、小脳症状、副甲状腺機能、頭部CT所見)の調査を行なう(無記名)。

2) 二次、三次調査：上記の全国一次調査で協力の得られた症例、文献、学会における発表症例を調査し、当大学の倫理委員会の承認の下、あらかじめ研究の内容、無費用であること、ほとんど身体的侵襲のない検査であることを文書にて説明し、患者の同意書を得て、血液、髄液、頭髪を収集する。収集した血液、髄液のCu, Zn, Mg, Mn, Fe, Ni, Cd, Cr, Li, V, Co, Pbの12種類の重金属およびMT(MT-I/II, MT-III)の濃度を測定する。毛髪の重金属濃度も測定する。測定法は重金属はICP-MSや高分解能ICP-MS(HR-ICP-MS)を用いて測定し、MT-I/IIの測定は測定キットを使用し、MT-IIIの測定は新たに開発したtwo-sandwich ELISA法、毛髪の重金属測定については外注する。

3) 候補疾患感受性遺伝子の検索：重金属代謝に重要なMTのアイソフォームのMT-IIA、MT-III遺伝子のSNPを調べる。その他、候補遺伝子として、これまで欠損の報告があったbiotinidase、carbonic anhydrase IIとまた我々がDNLC-MS/MSを用いたプロテオミクス解析から初めて見つけたMT-IIIの結合蛋白(P, F, N(未公開))のSNP検索を行なう。

(2) 検体解析

上記のアンケートで得た臨床データ、血液・髄液・毛髪の測定結果、候補疾患感受性遺伝子のSNP検索結果を集計し、多変量解析等の統計学的解析を行ない、IBiCの病態を明らかにするとともに、疾患感受性遺伝子を明らかにする。尚、データの管理、マネージメント、倫理的妥当性に関しては当大学の倫理審査委員会の定期的な監査を受ける。

(3) まとめ

明確な診断基準の作成、細分類、検査項目を明らかにし、今後、効率的・効果的に研究を行なう上での研究、治療法の方向性を提示する。わが国におけるIBiCの実態を明らかにし、その後、人種差、疾患感受性遺伝子など欧米等との比較検討を行なう。

(倫理面への配慮)

すべての全国疫学調査は当大学の倫理委員会の承認を得た上で郵送(患者名は無記名)・実施する。収集された患者の血液、髄液、毛髪は、個人情報保護の観点から、連結可能匿名化を行う。髄液は患者の同意を文書で得た上で、原則として入院検査に際して行なわれた検査検体の一部を使用する。重金属、MT等の測定も、当大学の倫理委員会の承認を得て、患者の同意を文書で得た上で行なう。また患者の遺伝子における疾患感受性遺伝子のSNP解析は、改めて当大学の倫理委員会(ヒトゲノム・遺伝子解析研究)の承認を得てから、患者の同意を文書で得た上で行なう。収集された貴重な検体は、今後の更なる検索のため、二次利用ができるよう説明書と同意書内に明確に文章化し、患者の署名による同意を得ておく。

C. 研究結果

(1) 実態調査

頭部 CT にて原因不明の両側性脳内石灰化を認めた症例 (IBiC) のアンケート調査を行った。まず、全国の日本神経学会認定施設に、岐阜大学倫理審査委員会の承認を得て、平成 22 年 9 月 3 日、756 通の往復葉書によるアンケートを発送した。平成 22 年 12 月 17 日までに、299 件の返信を得た (返却 3 件、返信率 40.0%)。信頼性のある登録総数として 69 症例 (40 歳以下が 12 症例、41 歳以上が 57 症例) あった。

小児症例が少ないことを懸念し、日本小児神経学会に協力を依頼し、小児神経専門医に、岐阜大学倫理審査委員会の承認を得て、平成 22 年 9 月 3 日、1063 通の往復葉書によるアンケートを発送した。平成 22 年 12 月 17 日までに、455 件の返信を得た (返却 13 件、返信率 43.3%)。登録総数として 35 症例の登録が得られた (現在も登録症例数は増加中)。

さらに、全国疫学調査として、正確なフェール病の患者数、臨床疫学像の把握のため、「特定疾患の疫学に関する研究班」(自治医科大学上原里程准教授、中村好一教授) との合同研究を開始した。全国の放射線科のある病院の放射線科を対象に、班会議で確立された全国疫学調査マニュアル法に基づき、調査対象機関を階層化し、無作為抽出し、平成 22 年 12 月 9 日に一次アンケートが発送され、その回収待ちである。

登録症例は現在も日々増えている現状であるが、平成 22 年 12 月 17 日までの年齢別 (図 1)、県別 (図 2) の症例数を棒グラフに示す。

登録された症例で、二次調査を行い、各症例において、臨床現場にコンサルトも行った。それにより 1 例、副甲状腺機能低下症が判明した。また登録された小児の症例には Aicardi-Goutières 症候群といった大脳基底核石灰化症を伴う先天代謝異常症と考えられる症例もあった。また初老期の症例では、緩徐進行性の認知症を呈し、剖検で著明な神経原線維変化 (NFT) と小血管周囲の石灰化が認められる Kosaka-Shibayama Disease (= Diffuse Neurofibrillary Tangles with Calcification (DNFC)) と考えられる症例も含ま

れた。病態の多様性から、個々の症例における詳細な検討が重要であると考えられた。

三次調査においては登録症例で、可能な検体 (血清、DNA、髄液、毛髪) の提供を依頼し、現在まで DNA 13 症例、血清 10 症例、髄液 8 症例、毛髪 10 症例の収集が済み (検体数は増加中)、下記の解析が進行中である。

(2) 解析

遺伝子検索ではまず、メタロチオネイン (MT) 遺伝子の SNP の検索を行った。正常コントロール 206 例において、ヒト MT で最も発現量の多い MT-IIA の (-5) に A/A が A/G, G/G の既報告にほぼ同じ 16% の SNP を認めたが、現在までの検索では上記の IBiC 症例で SNPs は認めていない。また、MT-III 遺伝子では、JSNP でプロモーター上流 3 か所に SNP が報告されているが、正常コントロール 34 例において、その SNP を確認するとともに、その近傍に NCBI の Data Base で Sahara-African にのみ報告されていた SNP を日本人でも確認できた (SNP 頻度 4.4%)。正常症例数を増やすとともに、上記患者において検索する予定である。ほか順次、関連遺伝子、SNP については検索してゆく。上記の髄液については、湿式灰化を行い、重金属を分析中である。毛髪については 10 例重金属の分析が終了したが、特記すべき異常は認めていない。

(3) まとめ

収集した検体は分析し、臨床データと多変量解析等の統計処理を専門家と共に行う。それらを診断基準の検査項目に活用する。

D. 考察

原因不明の、病的な脳内石灰をきたす症例の登録は、アンケート調査は途中ではあるが、100 症例を超える予想以上の症例数であった。脳内石灰化は、副甲状腺機能低下症、ミトコンドリア脳筋症、SLE などの膠原病、白質脳症、先天代謝異常症に伴って原因の明らかな場合もあるが、通常の見出しでは何ら異常を認めない症例も多い。また、全くの無症状で、たまたま頭部外傷などで頭部 CT を撮った際に脳内の異常な石灰を指摘され発見された症例、軽い頭痛があり、頭部 CT を撮った際に

脳内の異常な石灰を指摘され発見された症例もあった。これまで一般医療機関では、原因が不明で、特別な治療法も見出されていないため、数年おきに定期的に頭部 CT を撮るか、そのまま放置されていた。そのため、患者や家族の中はつらい十字架を背負わされた気持ちとなっていた方もおられ、その悲痛と将来に対する不安が多大な方もあった。小児例においては、重度精神発達遅滞、てんかん、発作性片麻痺、思春期早発、痙性四肢麻痺、緻巧運動障害、小頭症、眼振、高アンモニア血症など他にも際立った臨床徴候、症状を呈する症例も登録され、背景に何らかの先天代謝異常症が存在することが推定される症例も少なからず認められた。初老期の症例では、緩徐進行性の認知症を呈し、剖検で著明な NFT、小血管周囲の石灰化を認める Kosaka-Shibayama Disease (DNTC) がむしろ診断として考えられる症例もあった。剖検報告を見ても淡蒼球の石灰化の程度と脳内小血管周囲の石灰化の程度とは必ずしも平行していない。NFT や小血管周囲の石灰化を PET、SPECT で検出する方法はまだ見出されておらず、今後、髄液中の何らかの診断マーカーの確立が必要と考えられた。全国アンケート調査から IBiC の多様性が明らかとなった。

できるだけ臨床的に均質な、いわゆる古典的なファール病の症例で、全ゲノム解析による原因遺伝子、関連遺伝子検索が必要である。また家族例と考えられる症例も少なからず報告され、ホモ接合マッピング法を用いた関連遺伝子解析もその病態解明に役立つ。我々が見出した髄液における多種重金属の増加は、ファール病、DNTC の原因は、Ca の代謝異常ではなく、基底核など脳内の特定の部位における血管の内皮に障害があり、その透過性から重金属が蓄積することによると考えられる。金属結合蛋白の異常などのメカニズムを明らかにすることは病気の治療、進行の抑制につながるものと考えられる。

E. 結論

IBiC は神経内科医、小児神経内科を対象としたアンケート調査で、アンケート途中にも関わらず、

100 症例を超える症例が集積された。小児の症例では背景に何らかの先天代謝異常症が存在することが推測された。NFT や小血管周囲の石灰化を画像検査で検出することは、現在困難で、何らかの髄液マーカーの確立が必要と考えられる。臨床的に均質な古典的ファール病をまとめ、遺伝学的な背景を調べることが必要である。また淡蒼球、小脳歯状核等の脳内の特定の部位に Ca 他の重金属の蓄積を認めることは、なんらかの金属結合蛋白の異常なども想定され、そのメカニズムを明らかにすることは、病気の治療法、進展抑制につながると考えられる。

F. 健康危険情報

本疾患は緩徐進行性であり、すぐに国民の生命や健康に重大な影響を及ぼす研究結果や情報は本研究班において得られていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- * Hozumi I, Kohmura A, Kimura A, Hasegawa T, Honda A, Hayashi Y, Hashimoto K, Yamada M, Sakurai T, Tanaka Y, Satho M, Inuzuka T. High levels of copper, zinc, iron and magnesium but not calcium, in the CSF of patients with 'Fahr's disease'. Case Report in Neurology. 2:46-51,2010.
- * Hozumi I, Hasegawa T, Honda A, Ozawa K, Hayashi Y, Hashimoto K, Yamada M, Koumura A, Sakurai T, Kimura A, Tanaka Y, Satoh M, Inuzuka T. Patterns of levels of heavy metals in CSF differ among neurodegenerative diseases. J Neurol Sci. 303:95-99, 2011.
- * I. Hozumi. Roles and Therapeutic Potential of Metallothioneins in Neurodegenerative Diseases. Current Pharmaceutical Biotechnology. submitted.

2. 学会発表

- * 新潟脳神経研究会特別例会
神経変性疾患におけるメタロチオネインと重金属の役割と創薬への応用

