

# 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 23 年度総括研究報告書

### フェアル病（特発性両側性大脳基底核・小脳歯状核石灰化症）の診断方法の確立と治療法の開発

研究代表者 保住 功

岐阜薬科大学薬物治療学 教授

#### 研究要旨

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、収集した患者登録総数は 151 例である (平成 24 年 5 月 5 日現在)。頭部 CT 画像を、岐阜大学と新潟大学で行った全例調査では、淡蒼球に約 20%と高頻度に点状の石灰化が認められ、斑状でも 2%に、かつ加齢とともにその頻度は増加した。また毛髪中の金属測定では患者群においてコントロール群と比較して、リン (P)、銅 (Cu) 等の低下が認められ、何らかの金属におけるホメオスターシスの異常があることが示唆された。髄液中の診断マーカーをプロテオーム解析により検索を行ったが、これまで有意なものは見出されていない。遺伝子解析ではこれまで報告のあった *BGCI* についてはその変異は認められなかった。ごく最近、平成 24 年 2 月の *Nature Genetics* に報告のあったリン酸トランスポーター *PiT2* の遺伝子 *SLC20A2* の変異に関して全エクソンのシーケンスを進めている。一方、外来受診患者の不要となった歯牙組織から iPS 細胞を作製した。分子、遺伝子を切り口とした新たな診断基準、分類を目指している。

#### 研究分担者

下澤伸行 岐阜大学生命科学総合研究支援センター ゲノム研究分野 教授

柴田敏之 岐阜大学大学院医学系研究科 口腔病態学分野 教授

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‘フェアル病’と通称されてきた。これまで、その臨床症状、頭部 CT 所見の多様性から、全国の患者数やその実態は明らかでなく、また頭部 CT 以外の診断法、また治療法に関して、全く解明の糸口すらつかめていなかった。我々は脳内に石灰化を来した 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、Ca 代謝は正常であったが、3 症例とも銅 (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、本疾患の病態解明への方向性を示した。本研究の目的は、まず、日本における患者の実態について明らかにする。そして、登録された症例患者の毛髪、髄液中の重金属を測定し、より病態を明らかにする。また、髄液中のタンパク質の網羅的プロテオーム解析を行うことで、疾患に特異的なマーカーを見出す。さらに、家族例も含めた患者の DNA の解析から、原因遺伝子、疾患感受性遺伝子を見出す。また一方で、患者のいらなくなった歯牙組織から iPS 細胞を作製し、病態の解明、将来的な治療法に役立てたいと考えた。以上の総括的検索結果ら、脳内石灰化の原因、機序を解明し、疾患の治療や進展を抑制する薬物治療薬を開発することを本研究班の最終目的とする。

#### B. 研究方法

##### (1) 実態調査

我々は、日本神経学会教育施設、さらに日本小

児神経学会専門医を対象に、原因不明の、両側性の脳内石灰化症をきたす症例に関する一次アンケート調査を行う。回答がえられた症例に対して、2次調査として、画像、血液検査データ等の収集調査を行い、さらに毛髪、血清、DNA 採取のための血液、髄液の検体提供を3次調査と共に依頼する。全国疫学調査を行うため、「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）との合同調査研究を開始する。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、アンケート調査を行う。また、地域重点的に岐阜大学附属病院と新潟大学附属病院における1年間に撮影した頭部CT画像全例について脳内石灰化の有無を調査する。

## （2）検体解析

得られた毛髪重金属の測定を行う。また髄液は網羅的プロテオーム解析を行い、診断マーカーの検索を行う。遺伝子はこれまで報告ある *IBGC1*、*SLC20A2* の解析、また特に家族例を主に、原因遺伝子、疾患感受性遺伝子の検索を行う。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。外来受診患者の同意を得て、不要となった歯牙組織から iPS 細胞を作製する。

## （3）まとめ

実態、病態が明らかになった時点で、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。治療法について検討する。またこれらの研究事業と並行して、岐阜大学附属病院を受診した患者については面談を行い、カウンセリングとその後もインターネットを活用した心のケア通信を行っていく。

## （倫理面への配慮）

全国疫学調査は、岐阜大学の倫理委員会の承認を得て、施行した。岐阜大学と新潟大学の附属病院を拠点とした頭部CT画像調査は両大学の倫理委

員会の承認をそれぞれ得て、実施した。収集された患者の毛髪・血液・髄液等の検体を使用した検査は、岐阜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った。個人情報保護の観点から、連結可能匿名化を行った。遺伝子検査は、岐阜大学の倫理委員会（ヒトゲノム・遺伝子解析研究）の承認を得て、患者の同意を文書で得た上で行なった。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た。患者や家族との面談、IT機器を活用した心のケアは、それぞれ岐阜大学の倫理委員会の承認を得て、同意を文書で得た上で行った。

## C. 研究結果

### （1）実態調査

全国の日本神経学会教育施設を対象に行ったアンケート調査の回収率は39.7%、小児神経専門医を対象に行ったアンケート調査の回収率は49.7%であった。岐阜大学附属病院への直接の外来受診者も含めて、患者登録総数として151例の登録が得られた（平成24年5月5日現在）。その中には年齢、性別も明らかでない症例が23例、経過から副甲状腺機能亢進症が明らかとなった症例、Cockayne 症候群、Aicardi-Goutières 症候群がより強く疑われた症例も含まれた。

全国疫学調査として、全国の放射線科のある病院の放射線科を対象に行ったアンケート調査では解析に十分な回答数が収集できなかった。

岐阜大学附属病院で1年間に撮影した頭部CTにおいて、淡蒼球に点状の石灰化を認める症例は全体の17.2%、新潟大学附属病院で20.6%であった。さらに斑状のものは各1.3%、1.9%であったが、65歳以上となると2.1%、3.1%と増加した。小脳歯状核となると0.28%、0.16%とその頻度は低かった。

### （2）解析

収集され解析された毛髪検体数は、53検体であ

った（平成 24 年 5 月 5 日現在）。その中で、28 検体に関して、24 種の金属種について、ICP-MS を用いて測定した。各症例の年齢・性に対応させたコントロール群 3 例を対照に SPSS を用いて、解析した結果では、患者群の毛髪で、リン (P)、銅 (Cu)、ゲルマニウム (Ge)、セレンウム (Se) 含量が有意に低下していた。

収集した DNA は総数 72（平成 24 年 5 月 5 日現在）。遺伝子検索ではまず、BGC1 で高率にみられる MGEA6 遺伝子 p.P521A 変異を、家族歴のある 2 家系の患者 7 名および孤発性 21 例で検索したが、1 例も認められなかった。平成 24 年 2 月 Nature Genetics に報告のあった *SLC20A2* 遺伝子変異に関しては *SLC20A2* の全エクソンのシーケンス解析を進めている (Nature Genetics 44, 254–256 (2012))。岐阜大学附属病院の外来を直接受診された患者の不要となった歯牙組織から iPS 細胞を作製したが、細胞初期化抵抗性である可能性が示唆された。患者と家族に対して、同意を得て、インタビューや IT 機器を活用した心のケアに関するメール通信を行った。3 症例のインタビューについて分析を行い、その成果を心理的支援に活用した。

### (3) まとめ

収集した検体は分析中であり、分子、遺伝子を切り口とした分類を行う。臨床データと多変量解析等の統計学的解析を専門家と共に行う。それらをもとに新たな診断基準、分類の作成に活用する。

## 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、通常の検索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。これまで病気に対する一般情報が少なく、正面から病気に取り組む体制もできておらず、見放されてしまうことも少なくなかった。そのため、病気の進行に対する今後の予測がつかず、その不安が極めて大きい方もあった。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も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 で検出する方法は見出されていない。髄液における診断マーカーの検索が必要と考えられ、プロテオーム解析を行ったが、現在まで、有意なマーカーは見出されていない。

前述のごとく、家族性特発性基底核石灰化症 (IBGC) に罹患した多くの家系において、III 型ナトリウム依存性リン酸トランスポーター 2 (PiT2) をコードする *SLC20A2* の変異が同定された。アフリカツメガエルの卵母細胞を用いて調べたすべての PiT2 変異体のアッセイにおいて、リン酸輸送活性が大きく障害されていることが報告された。これは病因にリン酸ホメオスタシスの変化が関与していることを示唆している。我々もこの *SLC20A2* の変異を全例で解析する。この遺伝子以外の変異についても、東京大学との共同研究において、次世代シーケンサーを駆使した全ゲノム解析を行う計画である。

分子、遺伝子を切り口とした新たなファール病

の病態解明、分類を行う予定である。

## 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、100症例を超える症例が集積され、現在も症例の登録が進行している。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DNTCが存在することが推測される。IBGCに関する新たな遺伝子*SLC20A2*の変異が報告されたことで、ファール病の病態解明に関して新たな展開が予想される。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- \* I. Hozumi. Roles and Therapeutic Potential of Metallothioneins in Neurodegenerative Diseases. Current Pharmaceutical Biotechnology. submitted.
- \* Yamada M, Asano T, Okamoto K, Hayashi Y, Kanematsu M, Hoshi H, Akaiwa Y, Shimohata K, Nishizawa M, Inuzuka T, Hozumi I. High frequency of calcification in basal ganglia on brain CT images in Japanese elderly people. Geriatr Gerontol Int. submitted.
- \* Takagi M, Ozawa K, Douke M, Hashimoto K, Hayashi Y, Inuzuka T, Yasuda H, Hozumi I. Bioelements content of hair in Fahr's disease. J Trace Elements Med Biol. Submitted.
- \* 堀田 みゆき、保住 功. 「希少神経難病ファ

ール病3例の患者と家族のインタビューから得られたもの」臨床看護 投稿中

## 2. 学会発表

- \* 第52回日本神経学会学術大会  
頭部CTによる脳内石灰化の臨床的検討  
山田 恵、浅野隆彦、林 祐一、星 博昭、  
犬塚 貴、保住 功  
日時：平成23年5月18日  
場所：名古屋国際会議場
- \* 第57回日本薬学会東海支部総会・大会  
特発性両側性脳内石灰化症における毛髪中ミネラル量の解析  
高木麻里、橋本和宜、道家光子、林 祐一、  
保住 功  
日時：平成23年7月9日  
場所：金城大学薬学部
- \* 第22回日本微量元素学会  
神経変性疾患におけるメタルの役割と代謝  
保住 功  
日時：平成23年7月2日  
場所：京都テレサ
- \* 第38回富山県臨床神経研究会（特別講演）  
特発性脳内石灰化症（IBiC）の現状と課題  
ーファール病～小阪・柴山病（DNTC、非アル  
ツハイマー型認知症）  
日時：平成23年10月28日  
場所：富山電気ビルディング

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 特記事項なし