

ファール病（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に関する研究

研究代表者： 保住 功（岐阜薬科大学薬物治療学教授）

研究分担者： 犬塚 貴（岐阜大学医学部神経内科教授）

辻 省次（東京大学医学部神経内科教授）

研究要旨

岐阜薬科大学、岐阜大学、東京大学との共同研究にて、ファール病（特発性両側性大脳基底核石灰化症（idiopathic bilateral ganglionic calcification (IBGC)）の患者 69 例について、*SLC20A2* 遺伝子の直接塩基配列決定法による解析を行った。家族例 9 家系中 4 家系で、孤発例 47 例中 3 例で同遺伝子の変異を認めた。これら全て、これまでに報告のない新規変異であった。*SLC20A2* 変異例間では一定のタイプは認めず、臨床症状、石灰化の程度は多様性に富んでいたが、同一遺伝子変異を持つ症例間では臨床症状、画像所見に類似点が多く、類似した phenotype を有する可能性があると考えられた。

SLC20A2 が code するタンパク質である type III sodium-dependent phosphate transporter 2 (PiT-2) の機能解析のため、まず、PiT-2 の polyclonal と monoclonal の抗体を用いて、ラット脳を検索した。PiT-2 の immunopositivity は線状体、小脳を含め遍く脳内に認められ、細胞レベルでは特にニューロン、血管内皮細胞に強く認められることを見出した。さらに患者で認められた *SLC20A2* の遺伝子変異を導入した CHO 細胞を作製し、無機リン(Pi)運搬能を検索している。

A. 研究目的

ファール病は慣例的に、原因が不明で、両側淡蒼球に顕著な石灰化を来す疾患として呼称されてきた[1]。しかし、類似の病態を指す疾患名が多数存在し[2]、最近、国際的には (idiopathic bilateral ganglionic calcification (IBGC) と名称が通用している。孤発例のほか、家族例 (familial IBGC (FIBGC)) の存在が知られている。これまでその原因遺伝子座として、

IBGC1 (14q) [3]

IBGC2 (2q37)2q37 [4]

IBGC3 (8p11.21) 8p11.21 [5]

IBGC4 (5q32) [6]

が報告されてきた。海外における家族例では特に IBGC3 が原因遺伝子として家族性に占める頻度は高いことも報告された [7]。本邦における家族例および孤発例の IBGC 症例における IBGC3 の原因遺伝子 *SLC20A2* の変異の頻度および臨床的特徴について、全国から患者の DNA の収集を行った岐阜薬科大学、岐阜大学、次世代シーケンサーを所有する東京大学との共同研究にて検討した。

さらのこの原因遺伝子である *SLC20A2* が code するタンパク質である type III sodium-dependent phosphate transporter 2 (PiT-2)

の分子病態の解明を行う。

B. 研究方法

全国一次アンケート調査でフェール病が疑われる症例（症例基準：1）頭部 CT にて大脳基底核 and/or 小脳歯状核に石灰化あり、2）両側対象性の脳内石灰化病変を有する、3）脳内石灰化をきたしうる代謝性疾患、外傷の既往、感染症やその他の疾患が除外できる）について情報提供を依頼した。その中で 39 施設 63 例の DNA 検体が提供され、IBGC の診断に適合することを確認できた家族例 8 家系（20 例）、孤発例 41 例につき（合計 37 施設）、*SLC20A2* 遺伝子の直接塩基配列決定法による解析を行った。同時並行して、東京大学神経内科が所有する 8 症例の遺伝子解析が行われ、副甲状腺機能が確認できない 1 症例を除外し、合計 68 症例の臨床情報、遺伝子解析結果について集約し、総合的検討を行った。

今回見出した *SLC20A2* の遺伝子変異を導入した CHO 細胞を作製する。

PiT-2 の polyclonal と monoclonal の抗体を用いて、ラット脳を検索する。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、それぞれ岐阜大学、岐阜薬科大学および東京大学の研究倫理審査委員会の承認のもとに実施した。DNA の採取にあたっては、書面を用いてインフォームド・コンセントを取得した。また、個人情報の取り扱いについて十分に配慮しながら、研究を遂行した。また共同研究についても両施設において倫理委員会の承認を得た。

C. 研究結果

家族例 9 家系中 4 家系で *SLC20A2* 遺伝子変異をみとめ（44.4%）、いずれも新規変異で

あった。

家系 1（9 例；6 例で石灰化あり、3 例は石灰化なし）では、脳内石灰化を有する全例で遺伝子変異を認める一方で、石灰化がみられない例では変異はなかった。変異例の臨床症状は、認知機能低下が主であり、運動機能障害はみられなかった。

家系 2、家系 3 は同一の遺伝子変異を認めた。これら 2 家系の症例はいずれも、約 5 年の経過で進行する認知機能低下、パーキンソニズムを呈し、頭部 CT では両側大脳基底核、小脳歯状核を中心に広範囲に著大な石灰化を認めた。

家系 4 74 歳女性、71 歳時、パーキンソニズムで発症した。73 歳時、頭部 CT で淡蒼球に著明な石灰化を認め、また長女にも同様な脳内石灰化が認められた。79 歳時、肺炎で死亡した。興味深いことに、剖検で IBGC に合致する石灰化に、パーキンソン病と合致する病理所見も認められた。

孤発例では 47 例中 3 例（6.4%）で遺伝子変異を認め、症例 1 例は Paroxysmal kinesigenic choreo-athetosis を呈する 24 歳男性例であった。症例 2、3 はそれぞれ 72 歳女性、78 歳男性で、MMSE は両者とも 22 点の軽度認知機能低下が疑われ、PIB-PET でアミロイドの沈着がないことも確認されている。

PiT-2 の immunopositivity は線状体、小脳を含め遍く脳内に認められ、細胞レベルでは特にニューロン、血管内皮細胞に強く、アストロサイトには弱く認められ、オリゴデンドロサイトやミクログリアには認めらなかった。

また *SLC20A2* に認められた変異を導入した CHO 細胞を培養中であり、今後の機能解析に用いる。

D. 考察

本研究で、*SLC20A2* の変異は家族例 9 家

系中4家系の44.4%に、孤発例47例中3例の6.4%に認められた。本邦の家族性フェール病において、頻度の高い原因遺伝子であると考えられた。*SLC20A2* 変異例間では一定のタイプは認めず、臨床症状、石灰化の程度は多様性に富んでいた。一方で、同一遺伝子変異を持つ症例間では臨床症状、画像所見に類似点が多く、phenotypeを有する可能性があると考えられた。

今後、さらなる研究として、IBGC4の原因遺伝子*PDGFRB*の変異の解析を行う。また*SLC20A2*に変異の認められなかった家族例についてはエキソーム解析を行う。

PiT-2、PiT-1の機能解析を行い、IBGC発症のメカニズムを解明し、病態に合致した創薬開発を目指す。

E. 結論

本邦のFIBGCにおいて、*SLC20A2*は頻度の高い原因遺伝子であり、変異例の臨床症状、石灰化の程度は多様性に富むが、同一遺伝子変異を持つ症例間では臨床的に類似したphenotypeを有する可能性がある。

PiT-2のimmunopositivityはニューロン、血管内皮細胞に強く認められた。

[参考文献]

- [1] 葛原茂樹 フェール病と特発性基底核・小脳石灰化症 P.516-517. 神経内科学書 第2版 朝倉書店(豊倉康夫総編集)
- [2] Manyam BV. What is and what is not 'Fahr's disease'. Parkinsonism Relat Disord. 2005;11:73-80.
- [3] Geschwind DH et al. Identification of a Locus on Chromosome 14q for Idiopathic Basal Ganglia Calcification (Fahr Disease). Am. J. Hum. Genet. 1999; 65: 764-772.
- [4] Volpato CB et al. 2q37 as a suscepti-

bility locus for idiopathic basal ganglia calcification (IBGC) in a large South Tyrolean family. J Mol Neurosci. 2009; 39: 346-353.

- [5] Wang C, Li Y, Shi L, Ren J, et al. Mutations in *SLC20A2* link familial idiopathic basal ganglia calcification with phosphate homeostasis. Nat Genet. 2010; 44: 254-256.
- [6] Nicolas G, Pottier C, Maltête D et al. Mutation of the *PDGFRB* gene as a cause of idiopathic basal ganglia calcification. Neurology. 2013;80:181-187.
- [7] Hsu SC, Sears RL, Lemos RR, et al. Mutations in *SLC20A2* are a major cause of familial idiopathic basal ganglia calcification. Neurogenetics. 2013;14:11-22.

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

- * Yamada M, Asano T, Okamoto K, et al. High frequency of calcification in basal ganglia on brain computed tomography images in Japanese older adults. Geriatr Gerontol Int. Epub 2012 Dec 21.
- * Takagi M, Ozawa K, Yasuda H, et al. Decreased bioelements content in the hair of patients with Fahr's disease (Idiopathic bilateral calcification in the brain). Biol Trace Elem Res. 2013;159: 9-13.
- * 堀田みゆき、保住 功 希少神経難病フェール病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 2012. 38(13)1907-1912.
- * 保住 功 進むFahr病の病態解明 医学

のあゆみ 2012. 243(4)323-324.

- * Hozumi I. Roles and Therapeutic Potential of Metallothioneins in Neurodegenerative Diseases. Curr Pharm Biotechnol. in press. 2013.

- * 本邦における SLC20A2 の遺伝子解析 Neurology に投稿準備中

- * PiT-2 の脳内局在の検索について J.Neurol Sci に投稿準備中

2. 学会発表 なし

- * 岐阜健康長寿・創薬推進機構 第5回異分野交流研究会

「神経難病治療への新たな挑戦 ー次世代シーケンサー、iP S細胞を活用してー」

保住 功

日時：平成24年11月22日（木）

場所：岐阜薬科大学

H.知的財産権の出願・登録状況

(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