

- Nakamura T, Tokunaga S, Okamoto Y, **Takashima H**. X-linked Charcot-Marie-Tooth disease type 1 in Japan: Genetic, clinical and electrophysiological study of 33 cases. 62nd Annual Meeting on American Society of Human Genetics, November 2012, San Francisco.
2. Tokunaga S, Hashiguchi A, Yoshimura A, Maeda K, Suzuki T, Haruki H, Nakamura T, **Takashima H**. Late-onset Charcot-Marie-Tooth disease 4F caused By periaxin gene mutation. 62nd Annual Meeting on American Society of Human Genetics, November 2012, San Francisco.
 3. Hashiguchi A, Yoshimura A, Higuchi Y, Nakamura T, Tokunaga S, Okamoto Y, **Takashima H**. A comprehensive genetic analysis of 421 Japanese patients with Charcot-Marie-Tooth disease using DNA microarray chips. 62nd Annual Meeting on American Society of Human Genetics, November 2012, San Francisco.
 4. Yuan J, Higuchi I, Sakiyama Y, Inamori Y, Matsuura E, Higuchi Y, Yoshimura A, Hashiguchi A, Higashi A, Koreeda Y, Arimura K, **Takashima H**. Novel missence mutations and partial deficiency of collagen VI in Ullrich congenital muscular dystrophy. 62nd Annual Meeting on American Society of Human Genetics, November 2012, San Francisco.
 5. **Takashima H**, Hashiguchi A, Jing Hu, Zhe Zhao, Higuchi Y, Sakiyama Y, Tokunaga S, Okamoto Y, Yoshimura A. Alanyl- t RNA synthetase mutation in dominant distal hereditary motor neuropathy and Charcot-Marie-Tooth disease. 62nd Annual Meeting on American Society of Human Genetics, November 2012, San Francisco.
 6. 大窪隆一、橋口昭大、荒田 仁、徳永章子、**高嶋 博**、平野隆城、西郷隆二、田代雄一 家族性筋萎縮性側索硬化症(SOD1;H46R)の進行期臨床像に関する検討. 第53回日本神経学会総会 2012. 5. 東京都
 7. 稲森由恵、樋口逸郎、井上輝彦、崎山佑介、橋口昭大、白石匡史、東 桂子、大窪隆一、三山吉夫、有村公良、**高嶋博**. 封入体筋炎と肥大型心筋症を合併した一剖検例. 第53回日本神経学会総会 2012. 5. 東京都
 8. 松浦英治、久保田龍二、**高嶋 博**. HTLV-1キャリアーの脊髄にHTLV-I特異的細胞障害性T細胞は浸潤している. 第53回日本神経学会総会 2012. 5. 東京都
 9. 野村美和、橋口昭大、荒田 仁、道園久美子、出口尚寿、**高嶋 博**. 痙性対麻痺を主症状としたNEFL遺伝子異常を伴うCMT2E家系の検討. 第53回日本神経学会総会 2012. 5. 東京都

10. 松崎敏男、久保田龍二、齊藤峰輝、高嶋 博、出雲周二 早期 HAM の診断基準提唱と臨床. 第 53 回日本神経学会総会 2012. 5. 東京都
11. 徳永章子、橋口昭大、中村友紀、高嶋 博 Charcot-Marie-Tooth 病 4 F の成人発症の 3 例. 第 23 回日本末梢神経学会総会 2012. 8. 福岡市
12. 橋口昭大、中村友紀、徳永章子、岡本裕嗣、高嶋 博、有村公良 マイクロアレイ DNA チップを用いた Charcot-Marie-Tooth 病の包括的遺伝子診断. 第 23 回日本末梢神経学会総会 2012. 8. 福岡市
13. 橋口昭大、趙 哲、中村友紀、徳永章子、岡本裕嗣、胡 静、高嶋 博、有村公良 AARS の遺伝子変異は distal Hereditary Motor Neuropathy の原因である. 第 23 回日本末梢神経学会総会 2012. 8. 福岡市
14. 松浦英治、高嶋 博、久保田龍二、出雲周二 HAM/TSP 患者脊髄・大脳および HTLV-1 キャリア脊髄における HTLV-1 ウイルス特異的細胞障害性 T 細胞の検出. 第 17 回日本神経感染症学会総会 2012. 10. 京都市
15. 野妻智嗣、橋口昭大、岡本裕嗣、道園久美子、出口尚寿、樋口逸郎、高嶋 博 L-アルギニンが奏功した mitochondrial myopathy with episodic hyper-creatinine kinase-emia(MIMECK) の 1 例. 第 30 回日本神経治療学会 2012. 11. 北九州市
- 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

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(難病関係研究分野)
分担研究報告書

HTLV-1 キャリア外来の重要性に関する研究

研究分担者 出雲周二¹⁾

研究者協力者 松崎敏男¹⁾ 久保田龍二¹⁾、高嶋 博²⁾

1) 鹿児島大学難治ウイルス病態制御研究分野分子病理病態研究分野

2) 鹿児島大学神経内科・老年病学

研究要旨：1999年より2012年の13年間施行したHTLV-1 キャリア外来を通じて、早期HAM患者を診断できたので、キャリア外来の役割と早期HAMの診断ポイントを提唱した。

【対象と方法】1999年から2012年まで当神経内科のHTLV-1 キャリア外来を初回受診した362例について神経学的診察、HTLV-1 プロウイルス量、HTLV-1 抗体価、リンパ球サブセット、インターロイキン2受容体を検査した。早期発症HAMと診断された6例の臨床と早期に治療介入した3例について経過をまとめた。【結果】6例中、4例は家族内発症HAMであった。2例はブドウ膜炎合併、1例はIgA腎症を合併していた。6例とも髄液抗HTLV-1抗体陽性で運動機能は0-1/13段階でいずれも発汗障害、病的反射陽性、下肢反射亢進、軽度の下肢痙性があり、測定した6例のHTLV-1 ウイルス量は386-2181コピー/104PBMCと高値であった。治療を行なった2例につき経過を観察し、症例1はプレドニゾロン2週間内服、症例2はデキサメサゾン注射後ミノマシン200mg内服1ヶ月で自覚症状改善とウイルス量低下を認めた。今後5年以上の長期フォローが必要であった。早期HAMの診断を診断する際の重要ポイントとして発汗障害・下肢病的反射陽性・髄液HTLV-1抗体陽性に軽度の下肢痙性、排尿障害が加わり、再発・寛解は繰り返さない事をあげた。早期HAMを診断しうるので、キャリア外来での定期検診は重要である。

A. 研究目的

鹿児島大学病院神経内科ではHTLV-1抗体陽性者に対するHTLV-1 キャリア外来を1999年より開始した。キャリア外来を通じてHTLV-1感染者を長期追跡し、HAMの発生を早期にとらえる体制を構築し、その効果を検証する。

B. 研究方法

1999年より2012年まで鹿児島大学病院神経内科のHTLV-1 キャリア外来を受診した延べ697人を対象に、リンパ節腫脹や皮膚病変の有無や神経学的診察、HTLV-1 プロウイルス量、HTLV-1 抗体価、リンパ球サブセット、インターロイキン2受容体を検査した。初回受診した362名より早期HAMと診断された6名について、運動機能、排尿機能等の臨床所見を評価するとと

もに、診断時より 6 年以上受診がない 4 症例はアンケート調査を行い、経時的な症状の推移を検証した。

(倫理面への配慮)

臨床検体の採取にあたっては、書面によるインフォームドコンセントを得た。また、本研究は鹿児島大学倫理委員会の承諾を得て行った。

C. 研究結果

鹿児島大学病院神経内科の HTLV-1 キャリア外来を受診したのは延べ 697 名で非感染が 36 名であった。初診の HTLV-1 感染者数は 362 人で平均年齢 46.8 ± 13.0 歳、キャリアの HTLV-1 プロウイルス量 279 ± 428 コピー/ 10^4 PBMC(中央値 105)、HTLV-1 抗体価(PA)の中央値 1024 倍 (32-65536 倍) であった。その中に早期 HAM 6 名が含まれていた。その他の疾患として、くすぶり型 ATL 8 名、慢性型 ATL 2 名、ブドウ膜炎 9 名、橋本病 6 名、IgA 腎症 3 名、シェーグレン症候群 2 名、潰瘍性大腸炎 2 名、多発性硬化症 1 名、帯状疱疹脊髄炎 1 名、脊髄小脳変性症 1 名が見られた。早期 HAM と診断した 6 例中、4 例は家族内発症 HAM であった。観察期間は 2 年から 9 年で、年齢は 26 歳から 64 歳、発症年齢が 19 歳から 52 歳であった。2 例はブドウ膜炎合併、1 例は IgA 腎症を合併していた。排尿障害初発が 3 例、歩行障害 1 例、腰下肢痛 1 例、下肢しびれ 1 例です。6 例すべては発汗障害、病的反射陽性、下肢反射亢進があり、Osame の運動機能障害度(13 段階)は 1 例で 1、他の 5 例は 0 段階であった。6 例の HTLV-1 ウイルス量は $386-2181$ コピー/ 10^4 PBMC と、いずれも高値であった。早期に治療介入し、診察を含め経過を追えた

3 例について症例提示する。

症例 1.

39 歳女性。家族歴として、父は脊髄小脳変性症を伴うキャリアで母は HAM である。輸血歴なし。既往歴に帯状疱疹。34 歳不妊治療中、抗 HTLV-1 抗体陽性といわれ、37 歳時不妊治療再開前にキャリアの健診のつもりで外来受診した。34 歳より夜間頻尿があった。運動機能障害 0 で、下肢痙性はなかったが、下肢深部腱反射亢進、バビンスキー・チャドック陽性、Th7 以下発汗低下、内反尖足 3 度、夜間頻尿 3 回、1 日尿 10 回、便秘があり、脊髄 MRI で胸髄萎縮、血清抗 HTLV-1 抗体 65536 倍、リウマチ因子陽性、可溶性 IL2 レセプター 508 U/ml(145-519)、髄液抗 HTLV-1 抗体 512 倍、髄液細胞数 $17/\mu\text{l}$ 、髄液ネオプテリン 112.13 (正常 30pmol/ml 以下)、ウイルス量 1076 コピーと高値であった。髄液検査後、デキサメサゾン 2mg 注射しプレドニン 10mg 1 週、5mg 週投与とエリスロマイシン 600mg を 2 週併用投与した。2 年後出産したが、ウイルス量が 669 コピーに減少し、痙性が軽度見られるものの、発汗障害が Th12 以下に改善し、頻尿・便秘が消失した。

症例 2. 46 歳女性。家族歴として姉がシェーグレン症候群を伴う HAM である。輸血歴なし。既往歴は 20 歳時に急性糸球体腎炎、29 歳妊娠中毒症、30 歳で IgA 腎症、慢性腎不全と診断された。42 歳時に痛風に罹患。29 歳時に妊婦検診で血清抗 HTLV-1 抗体陽性が判明。立ち仕事で腰下肢痛以外自覚症状なく、HAM である姉の勧めで 46 歳時にキャリア外来を受診した。現症：肥満、運動機能障害 0、両下肢痙性、四肢反射亢進、上肢病的反射陽性、バビンスキー・

チャドック両側陽性、Th12 以下発汗低下、内反尖足 1 度で排尿・排便障害なしであった。検査所見異型リンパ球 2.5%、可溶性 IL2 受容体 1587U/ml(145-519)、血清抗 HTLV-1 抗体 8192 倍、髄液抗 HTLV-1 抗体 16 倍、髄液ネオプテリン 26.83pmol/ml。デキサメサゾン注射後ミノマシ 200mg を 1 ヶ月投与し腰痛消失し、歩行しやすくなり、ウイルス量は 2181/10⁴PBMC から 2 年後 1992 コピー/10⁴PBMC に低下した。

症例 3.

52 歳女性。家族歴・母 HAM。生活歴に特記すべきことなし。輸血歴なし。既往歴として 36 歳にバイクで転倒し、左鎖骨骨折。自覚症状ないが、母が HAM と診断され、自分もキャリアと言われていたため、キャリア外来を受診した。運動機能障害 0、両下肢軽度痙性、四肢反射亢進、両下肢偽クローヌス、バビンスキー両側陽性、Th12 以下発汗低下、両足背異常知覚、便秘なし、夜間尿 1 回、1 日尿 4 回。検査所見血清抗 HTV-1 抗体 32768 倍、異型リンパ球 5%、髄液抗 HTV-1 抗体 128 倍、ウイルス量は 578/10⁴PBMC コピー。ステロイド 5mg/日の内服 1 ヶ月で排尿障害の自覚なく、6 年経過で運動機能は 0/13 のままであった。治療しなかった他の 3 例はいずれも運動機能・排尿障害は進行していた。

D. 考察

HAM の早期診断ポイントとして発汗障害・下肢病的反射陽性・運動機能障害 0/13・髄液 HTLV-1 抗体陽性必発に軽度の下肢痙性、排尿障害が加わると確実とし、再発・寛解は繰り返さない事をあげた。当科に登録された HAM638 人のうちで排尿障害のみで初発した例が 15.6%、腰下肢痛初発が

8.1%あり、初期の診断がみのがされている可能性があると考えられる。Olindo らは French Indians HAM 123 例の natural history を調べ片手つかまり移動になるまでの期間が中央値 6 年であると報告している (Arch Neurol 2006;63:1560-1566)。HAM の自然経過についての鹿児島大学での解析では、成人発症例では発症後平均 2 年で歩行時のつまづきが生じ、8 年で走行不能、12 年で階段昇降に手すりが必要となっている。ステロイド等の治療開始までの期間が平均 7.7 年 (1-26 年) で、多くの例で治療の開始は症状が悪化してからであった。

治療介入後の経過は長期フォローが必要だが、今回解析した早期 HAM3 例は非治療例と比較し症状の進行が抑制されていることがうかがわれる。HTLV-1 キャリア外来の存在により初期の段階で HAM の診断と治療介入することが可能となり、キャリア外来での定期検診は重要であると思われる。

E. 結論

HTLV-1 キャリア外来は HAM の早期診断に有用で、HTLV-1 感染者に対する確なアドバイス、及び情報を提示できる場としても重要な役割を担っている。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[1]Hasui K, Wang J, Tanaka Y, Izumo S, Eizuru Y, Matsuyama T. Development of ultra-super sensitive immune-histochemistry and its application to the etiological study of adult T-cell

leukemia/lymphoma. *Acta Histochem Cytochem.* 45(2):83-106, 2012.

- [2] Kawabata T, Higashimoto I, Takashima H, Izumo S, Kubota R. Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ cells accumulate in the lungs of patients infected with HTLV-I with pulmonary involvement. *J Med Virol.* 84(7): 1120-1127, 2012.
- [3] 出雲周二. HTLV-1 感染症で起こる疾患 - 白血病・HAM など. HTLV-1 母児感染予防のための基礎知識. 特集 クローズアップ感染症. *小児内科* 44: 973-977 (2012).
- [4] 出雲周二. HAM の最新の話. *Neuroinfection.* 17: 6-10 (2012)

2. 学会発表

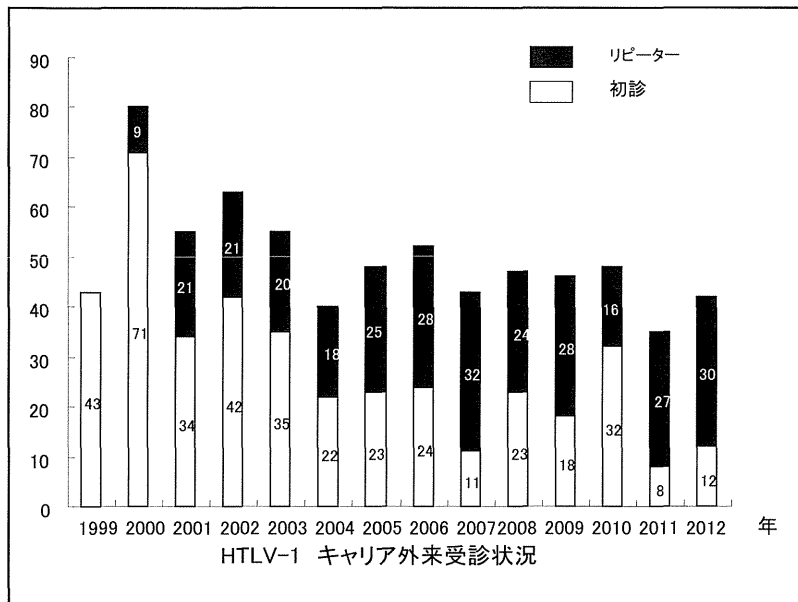
Kodama D, Kubota R, Izumo S. Pathway analysis of HAM/TSP. 25th Symposium of the International Association for Comparative Research on Leukemia and Related Diseases, August 2011, Tokyo, Japan.

松崎敏男, 久保田龍二, 斎藤峰輝, 吉村 玲, 高嶋 博, 出雲周二. HAM からみた ATL の臨床. 第 5 回 HTLV-I 研究会. 2012 年 8 月 東京

H. 知的所有権の出願・登録状況 (予定を含む.)

特権取得: なし

実用新案登録なし



case	1	2	3	4	5	6
性別	F	F	F	M	F	F
年齢(歳)	39	46	58	64	26	56
発症年齢(歳)	34	45	52	52	19	48
診断時年齢(歳)	37	45	52	55	20	48
家族歴	母HAM/父 キャリア	姉HAM	母HAM	母HAM	無	無
輸血	無	無	無	無	無	無
初発 症状	頻尿	腰・ 下肢痛	下肢 しびれ	頻尿 残尿	尿閉 残尿	痠性 歩行
合併症	帯状疱疹 既往	IgA 腎症	なし	ブドウ膜 炎	甲状腺腫	ブドウ膜 炎

case	1	2	3	4	5	6
血清抗HTLV-1抗体 (PA)x	65536	8192	32768	32768	32768	32768
髄液抗HTLV-1抗体 (PA)x	512	16	128	128	512	未
IL2レプター-(145-519U/ml)	508	1587	未	未	930	未
異常リンパ球(%)	0	2.5	5	4	0	3
HTLV-1プロウイルス量 (コピー/10 ⁴ PBMC)	1076	2181	578	1304	510	386
脊髓MRI	胸髄萎縮	胸髄萎縮	未	腰椎ヘルニア + 圧迫なし	未	未
その他	RA+					抗核体 陽性、RA+
HTLV-1プロウイルス量 (コピー/10 ⁴ PBMC)	HAM 中央値 545 HTLV-1キャリア 中央値 105	(823.6±863.2) (270.2±381.3)				

遺伝性ニューロパチーの臨床的、遺伝学的研究 -第2報-

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

研究要旨

遺伝性ニューロパチーには、Charcot-Marie-Tooth病（CMT）、hereditary motor neuropathy、familial amyloid polyneuropathy など種々の疾患が知られているが、その確定診断には遺伝子診断が不可欠である。本研究では、遺伝性ニューロパチーの診断と病態解明および治療法の開発をめざす。今年度は、遺伝性ニューロパチーが疑われた症例は75例（男41例、女34例）について検討した。平均年齢は47±18歳、発症年齢27±23歳であった。遺伝子解析を施行した73例中、PMP22重複28例、MFN2変異4例、NFL変異3例、MPZ変異3例、EGR2変異2例、PMP22欠失2例、DNMT1変異1例、TTR変異1例、TFG変異1例、BSCL2変異1例など計52例（71%）に遺伝子異常を認めた。未確定例が21（29%）であったが、CMT2型の27例中16例（60%）で遺伝子異常は不明であった。新たな診断法として、末梢神経の神経エコーと神経軸索興奮性の検討を行い、神経生理学的検査所見、遺伝子異常との関連について検討した。また、CMT患者血液からiPS細胞を作成中である。

共同研究者

高嶋 博（鹿児島大神経内科・教授）
橋口昭大（鹿児島大神経内科・医師）
井上治久（京都大学 iPS 研究所・准教授）
滋賀健介（京都府立医大神経内科・助教）
水田依久子（京都府立医大神経内科・医師）
能登裕一（京都府立医大神経内科・院生）
大竹弘哲（CMT友の会・公立七日市病院神経内科・リハビリ科・医師）
山田隆司（CMT友の会副代表・楠メンタルホスピタル・作業療法士）

平均年齢は、47±18歳、発症年齢27±23歳であった。臨床症状、電気生理学的検査所見から脱髄型CMTが疑われた場合はPMP22重複または欠失の有無をFISH法で検討した。FISH法で異常を認めなかった例および軸索型CMTが疑われた例は、CMT遺伝子解析用DNAチップを用いて遺伝子解析を行い、一部の症例はエキソーム解析を行った。73例から本人自身または両親の同意を得て遺伝子解析を行った。

新たな診断法として、末梢神経の神経エコーと神経軸索興奮性の検討を行い、神経生理学的検査所見、遺伝子異常との関連について検討した。神経エコーは、正中神経、腓腹神経、大耳介神経にて神経断面積を測定し、CMTの遺伝子異常別に比較した。症例数の多いPMP22重複（CMT1A）群において、神経断面積とCMTNS、年齢、神経伝導検査の各パラメーターとの相関を検討した。

治療に関しては、アスコルビン酸を20mg/kg/日を1年間投与し、末梢神経軸索興奮性（Qtrac®）を検討した。

京都大学iPS研究所との共同研究として、CMT患者からのiPS細胞の確立体制を整えた。

A. 研究目的

遺伝性ニューロパチーには、Charcot-Marie-Tooth病（CMT）、hereditary motor neuropathy、hereditary sensory neuropathy、familial amyloid neuropathy など種々の疾患が知られているが、その確定診断には遺伝子診断が不可欠である。本研究では、遺伝性ニューロパチーの診断と病態解明および治療法の開発をめざす。

B. 研究方法

対象は、臨床的に遺伝性ニューロパチーが疑われた75例（男41例、女34例）である。

(倫理面への配慮)

本研究計画書が、京都府立医科大学倫理委員会（学外者を含む）にて承認されている（C-818）。

C. 研究結果

臨床症状、遺伝形式、電気生理学的検査所見に基づいて、脱髄型 CMT (CMT 1、4、CMTX) と軸索型 CMT (CMT2) に分類した。CMT1 型 39 例中 CMT1A が 28 例で、男 14 例、女 15 例、平均年齢 52 ± 17 歳、平均発症年齢 31 ± 26 歳であった。CMT1A の 59 歳男性と 70 歳女性が経過中に CIDP を疑われていた。CMT2 型は 28 例で、男 15 例、女 13 例、平均年齢 48 ± 20 歳、平均発症年齢 29 ± 23 歳であった。車いす使用は 3 例で CMT1 型例よりも重症例が多い傾向がみられた。CMT2 型の 70 歳女性が経過中に CIDP を疑われて、IVIg 治療を受けていたが改善はみられていない。CMT1 型と 2 型の発症年齢は両型ともに 20 歳以下の発症が過半数であったが、50 歳以降にもピークがあり発症年齢に二峰性を認めた。

遺伝子解析では 73 例中、PMP22 重複が 28 例 (38%) と最も多く、NFL 変異 3 例、MFN2 変異 4 例、MPZ 変異 3 例、EGR2 変異 2 例、PMP22 欠失 2 例、DNMT1 変異 1 例、TTR 変異 1 例、TFG 変異 1 例、BSCL2 変異 1 例など計 52 例 (71%) に遺伝子異常を認めた。未確定例が 21 (29%) であったが、CMT2 型の 27 例中 16 例 (60%) で遺伝子異常は不明であった。

末梢神経の神経エコーは、2011 年 4 月から 2012 年 10 月までに当施設を受診した CMT 患者連続 40 名 (男性 24 名、女性 16 名、平均年齢 47 歳 (10-80 歳)) と正常コントロール群は 27 名 (男性 18 名、女性 9 名、平均年齢 42 歳 (24-79 歳)) に施行した。PMP22 重複群 (20 名) は正常群に比し、有意に、施行した全神経で断面積が増大していた ($p < 0.01$)。NEFL 変異群 (3 名) では、神経伝導検査上、脱髄型も含まれたが、神経断面積の増大は認めなかった。PMP22 重複群で正中神経断面積と年齢との相関はみられなかったが、上腕部での正中神経断面積と CMTNS の間に正の相関が認められた。また、前腕部の正中神経断面積と前腕部の運動神経伝導速度の間に負の相関が認められた。

CMT1A 5 例にアスコルビン酸 20mg/kg/日を 1 年間以上投与し、末梢神経軸索興奮性

を検討した。年齢が比較的若い CMT1A 2 例では軸索興奮性が改善する傾向が見られた。

5 例 (CMT1A、MTF2) の CMT 患者から iPS 細胞を確立中である。

D. 考察

これまで CMT 疑い例の半数以上で遺伝子異常が未確定であると報告されているが、今回の自験例の検討では CMT1 の約 9 割、CMT2 の約 4 割の症例で遺伝子異常が明らかとなった。これは、新たな原因遺伝子の発見と解析技術の向上によるものと考えられる。原因遺伝子未確定例が約 3 割であり、今後、エキソーム解析を含めた詳細な検討を計画している。

神経エコーは、リアルタイムで末梢神経の変化を観察することが出来、他の検査法と組み合わせることでより有用性が高まると考えられた。

これまでの臨床研究では、CMT に対するアスコルビン酸の有効性は認められていない。しかし、今回の検討でアスコルビン酸 20mg/kg/日を 1 年間投与した場合、比較的若い年齢の CMT1A では末梢神経軸索興奮性は改善傾向を示しており、有効である可能性が示唆された。今後、さらに症例数を増やして検討する必要がある。

今年度は、CMT の iPS 細胞の確立体制を整えた。今後、iPS 細胞の神経細胞、シュワン細胞への分化誘導をすすめ、病態解明へと発展させることが重要である。

E. 結論

今年度は、75 例の遺伝性ニューロパチーの臨床診断と遺伝子診断を行い、いくつかの新たな遺伝子変異を明らかにした。今後、エキソーム解析を含めた遺伝学的検討、末梢神経の神経エコー、末梢神経軸索興奮性、アスコルビン酸の有用性などの検討を継続した。さらに、CMT 患者からの iPS 細胞作成をすすめ、CMT の病態解明と治療法の開発に結びつけたいと考える。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

Ishiura H, Sako W, Yoshida M, Nakagawa M, Kaji R, Tsuji S, et al. The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and

sensory neuropathy with proximal dominant involvement. *Am J Hum Genet* 91:320-329, 2012.

中川正法。Charcot-Marie-Tooth 病 1. 病態・治療。最新医学 別冊 新しい診断と治療の ABC75 末梢神経障害。152-160、2012

中川正法。「Charcot-Marie-Tooth 病に対する治療の進歩」。Annual review 神経。211-222, 2013。

Shiga K, Noto Y, Mizuta I, Hashiguchi A, Takashima H, Nakagawa M. A novel EGR2 mutation within a family with a mild demyelinating form of Charcot-Marie-Tooth disease. *J Periph Nerv Syst* 17:206-209; 2012.

Shiga K, Tsuji Y, Fujii C, Noto Y, Nakagawa M. Demyelinating features in sensory nerve conduction in Fisher syndrome. *Intern Med* 51: 2307-2312; 2012.

Shiga K, Tanaka E, Isayama R, Mizuno T, Itoh K, Nakagawa M. Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy due to administration of pegylated interferon- α 2b: a neuropathological case report. *Intern Med* 51:217-221; 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）
分担研究報告書

次世代遺伝子解析技術を用いた希少難治性疾患の原因究明及び病態解明に関する研究

研究分担者 野元 正弘 愛媛大学大学院病態治療内科

研究要旨

遺伝性疾患の臨床症状の多様性を検討した。痙性麻痺として長年加療していた症例において、母親を診察する機会が得られ遺伝子検査により SCA31 の家系であることが確認できた。発症後、6年以上経過しているが、痙性麻痺のみを呈しており、母親も同様の症状を呈しており痙性麻痺の原因遺伝子として、SCA31 が関与する可能性を検討すべきことを指摘した。

A. 研究目的

遺伝性疾患における臨床症状の多様性を検討する。神経変性疾患において、小脳失調症、痙性麻痺の症例を中心に遺伝子を検査し、臨床症状の多様性を検討する。前年までの検討では SCA2 の家系において、パーキンソン病の症状を呈する症例とともに、慢性の経過で四肢の筋萎縮と脱力を呈し、感覚障害を示さない motor neuronopathy の症例を確認した。今年度は痙性麻痺の症例について検討し、遺伝子疾患における臨床症状の多様性を検討した。

B. 研究方法

症例は 49 歳女性で、痙性麻痺として 6 年間加療を行っていた。感覚障害は認めず、両下肢の腱反射亢進と病的反射を認めた。Dysmetria, tremor, dysarthria などの小脳症状は認めなかった。母親が慢性の経過で歩行、会話、嚥下が困難となっており、神経変性疾患が疑われた。この家系

において遺伝子検査を行い臨床症状と遺伝子変異の関係を検討した。また、痙性麻痺を呈することが知られている遺伝子の 16qADCA についても検討した。

（倫理面への配慮）

遺伝子検査は十分な説明の上、本人の同意のもとに行った。結果は本人の希望のある場合に告知した。

C. 研究結果

遺伝子検査で SCA31 の家系であることが確認された。また 16qADCA は認めなかった。本症例は下肢の痙性麻痺で発症し、現在まで他の症状を示さず、母親は診察時には bedridden であり、構音障害、嚥下障害が認められ下肢は拘縮していた。このことから本家系においては SCA31 遺伝子異常は、痙性麻痺を起こす可能性を指摘する。

D. 考察

本家系では発端者は下肢の痙性麻痺で発

症して現在まで他の症状を示さず、母親は診察時には *bedridden* であり、構音障害、嚥下障害が認められ下肢は拘縮していた。このことから本家系においては SCA31 遺伝子異常が痙性麻痺を呈する可能性が示唆される。また痙性麻痺を呈することが知られている 16qADCA 遺伝子異常は認めなかった。SCA31 遺伝子異常の症状として、これまで痙性麻痺が主症状となる症例は報告されておらず、他の遺伝子異常を含めて、家系の調査と症状の経過観察を今後も継続し、臨床症状の多様性を検討していきたい。

E. 結論

痙性麻痺を主症状とする家系において、SCA31 の家系であることを確認した。SCA31 においてこれまで痙性麻痺を主症状とする家系は知られておらず、臨床症状の多様性を示す家系である可能性がある。本家系において今後、他の遺伝子異

常を含めて、遺伝子と臨床症状の関係を検討していきたい。

F. 健康危険情報

認めない。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含）

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (難病関係研究分野))
分担研究報告書

PSP-C の臨床および病態解明の研究

研究分担者 永井将弘 愛媛大学医学部附属病院臨床薬理センター

研究要旨

当科において臨床的に PSP-C 診断した症例の臨床像は、男女比 3:1、平均発症年齢 65.6 歳、全例で左右差のある四肢の運動失調をみとめた。また、頭部 MRI にて中脳被蓋部、小脳の萎縮がみられた。今後、PSP-C における疾患感受性遺伝子の同定を含めた病態解明に関する研究が必要である

A. 研究目的

進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy: PSP) は異常タウ蛋白が脳に蓄積する神経変性疾患である。垂直性眼球運動障害、姿勢反射障害、動作緩慢、皮質下認知症、頸部ジストニアなどを中核症状とするが、非典型例も多くさまざまな亜型が報告されている。Williams らは、PSP は臨床的に PSP の典型例としての Richardson's syndrome (RS)、発症初期に症状が非対称で、振戦、L-ドパの効果が見られるなどパーキンソン病と類似した PSP-parkinsonism (PSP-P)、その他の群に分類できることを報告している。近年、本邦において病理的に PSP と診断された中に、発症時より小脳症状が目立つ症例が報告されおり、この一群は PSP with cerebellar ataxia (PSP-C) と提唱されている。近年、本邦において病理的に PSP と診断された中に、発症時より小脳症状が目立つ症例が報告されおり、この一群は PSP with cerebellar ataxia (PSP-C) と提唱されて

いる。

当院においても臨床的に PSP-C と診断した 4 症例を経験したので臨床像について報告する。

B. 研究方法

当科にて臨床的に PSP-C と診断した 4 症例についてその臨床像を解析した。

(倫理面への配慮)

個人情報および診療情報などのプライバシーに関する情報は万全な管理対策を講じ、プライバシーの保護に努めている。発表の際は個人が特定されないよう配慮する。

C. 研究結果

性別は男性 3 例、女性 1 例、発症平均年齢 65.6 歳で全例とも家系内発症は認められなかった。初発症状は 3 例が歩行時のふらつき、1 例が呂律の回りにくさであった。当科初診時には全例で左右差のある四肢の運動失調をみとめた。また、経過中に全例で垂直性眼球運動、アプローズサインが認められた。四肢筋強剛を

呈した症例はなかった。頭部 MRI にて全例で中脳被蓋部、小脳の萎縮がみられた。

D. 考察

現在まで本邦から報告された PSP-C の臨床像は (1) 男性に多い (2) 小脳症状が前景に立ち、左右差を認めることも多い (3) 前頭葉症状や性格変化が初期にある (4) 垂直性眼球運動障害は経過とともに目立つようになるなどであり、今回の報告はこれら臨床像と矛盾がなかった。剖検では歯状核のグリオースを伴う神経細胞脱落などが報告されているが、本研究では病理像は検討できていない。PSP-C の報告の多くは本邦からであり、欧米からの PSP-C の報告は稀である。Queen Square Bank において病的に PSP と診断された 103 例のうち、後方視的にみて発症 2 年以内に小脳症状を呈した例はなく、全経過を通して 1 例のみであった。NINDS-SPSP の診断基準においても「著明な病初期からの小脳症状」は PSP の除外項目にあげられている。日本人と欧米人間での発症頻度の差異に、遺伝的背景の違いが関与している可能性がある。PSP の疾患感受性遺伝子としてタウ遺伝子, STX6, EIF2AK3, MOBP が報告されているが、今後、PSP-C における疾患感受性遺伝子の同定を含めた病態

解明に関する研究が必要である。そのためにも、更なる症例の蓄積が必要である。

E. 結論

当科にて臨床的に PSP-C と診断した 4 症例の臨床像は、男女比 3:1、平均発症年齢 65.6 歳、全例で左右差のある四肢の運動失調をみとめた。また、頭部 MRI にて中脳被蓋部、小脳の萎縮がみられた。

F. 健康危険情報

特記すべき事項無し

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定含)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）
分担研究報告書

神経系疾患の集中的な遺伝子解析及び原因研究に関する拠点研究

分担研究者 高橋 祐二 東京大学医学部附属病院神経内科

A. 研究目的

神経系疾患の集中的な遺伝子解析及び原因研究に関する拠点を整備し、一般研究班との連携のもとに神経系の希少難治性疾患の大規模解析を行い、あわせてデータベースを構築し、研究の進展に寄与する。

B. 研究方法

ライブラリー調製の自動化、情報解析設備の拡充等により、当施設としては年間でエクソーム解析を1,600件実施可能となった。

(倫理面への配慮)

本研究については、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」に従い、東京大学医学系研究科・医学部ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会からの承認を受けて実施する。

C. 研究結果および考察

今年度、本研究班において、シャルコー・マリー・トゥース病、HTLV-1関連脊髄症などを中心に合計391例のエクソーム解析を実施した。全例の平均被覆度は134xと良好であった。平均被覆度、リードのduplication率、変異の個数、データベースとの一致率など、データのquality checkを行った。

D. 結論

拠点として大規模エクソーム解析が可能な体制を整備できた。今後は、情報解析の改善、データベースの拡充など、研究の進展に寄与できる体制を整備していきたい。

E. 健康危険情報

特記すべき事項なし。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

G. 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 なし

厚生労働省科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）
分担研究報告書

鹿児島県の HAM 検体を用いた GWAS 解析の中間報告

研究分担者 久保田龍二 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科准教授

研究要旨：HAM は HTLV-1 感染に伴う神経感染症であり、高ウイルス量が発症に関与していることが指摘されてきた。一方、HAM は感染者の約 0.3%にしか発症しない希少疾患であり、また家族性発症率が高いことから、多因子による遺伝的関与が推定されてきた。宿主の疾患感受性遺伝子の検索が行われ、いくつかの遺伝子変異が報告されてきた。しかし、現在まで単遺伝子の解析のみで、網羅的な疾患感受性遺伝子の探索は行われていない。今回、HAM の病態解明とそれにもとづく治療法を開発するため、京都大学ゲノム医学センターとの共同研究により、HAM のマイクロアレイを用いた網羅的 SNP 解析（GWAS）を行った。鹿児島大学で診療を行っている、HAM319 例、無症候性 HTLV-1 キャリア 227 例の DNA を用い、マイクロアレイにより GWAS 解析を行った。結果は HAM とキャリアの両群間で有意な SNP は検出されなかった。今後症例を増やして再検討する必要がある。また、エクソーム解析で HAM の疾患感受性遺伝子を検索する必要があると考えられた。

A. 研究目的

HAM は HTLV-1 感染に伴う神経感染症である。発症に関して、ウイルス側の要因としての高ウイルス量が指摘されてきた。一方、HAM は感染者の約 0.3%にしか発症しない希少疾患であり、また家族性発症率が高い。これらことから、多因子による遺伝的関与が推定され、宿主の疾患感受性遺伝子の検索が行われてきた。HAM は炎症性疾患であり、主に免疫反応に関与すると考えられる遺伝子、すなわち特定のヒト白血球抗原（HLA）遺

伝子の集積や、サイトカインやマトリックスメタロプロテアーゼなどの遺伝子の SNP が報告されてきた。しかし、現在までに網羅的な疾患感受性遺伝子の探索は行われていない。近年、マイクロアレイの開発などによる遺伝子解析技術の進歩により、ヒト遺伝子の網羅的解析が可能となってきた。今回、HAM の病態解明とそれにもとづく治療法を開発するため、京都大学ゲノム医学センターとの共同研究により、HAM のマイクロアレイを用いた網羅的 SNP 解析（GWAS）を行った。

B. 研究方法

鹿児島大学で診療を行っている、HAM319例、無症候性 HTLV-1 キャリア 227例を対象とした。患者より承諾を得た後採血を行い、末梢血リンパ球を分離した。これらのリンパ球より、常法によりゲノミック DNA を抽出し、濃度調整を行った。京都大学ゲノム医学センターの松田教授に DNA 検体を送付し、マイクロアレイにより GWAS 解析を行った。HAM とキャリアの SNP 頻度を比較した。

(倫理面への配慮)

臨床検体採取にあたっては、インフォームドコンセントのもとに採血を行った。サンプルは匿名化して用いた。本研究は鹿児島大学倫理委員会の承認を得て行った。

C. 研究結果

HAM とキャリアの両群間で有意な SNP は検出されなかった。しかしながら、P 値が 10^{-7} 程度であるが 12 番染色体の LOC644908 (蛋白機能未同定) 周辺の多型に、多くの関連が認められた。

D. 考察

本研究では HAM 319 検体およびキャリア 227 検体で解析を行ったが、P 値が低く、有意な SNP を探すためには今後検体数を増やす必要がある。また、GWAS 解析を進めるために、セカンドセットの HAM 患者およびキャリアの検体を収集する必要がある。これと並行して家族性 HAM のエクソーム解析を進め、非家族性 HAM やキャリアの解析結果を比較検討

することにより、より効率的に疾患感受性遺伝子の検索を進める必要があると考えられた。

E. 結論

鹿児島の HAM および無症候性 HTLV-1 キャリア検体を用いた GWAS 解析では、HAM に有意な関連を示す SNP は検出されなかった。今後症例を増やして検討する必要がある。また、エクソーム解析で HAM の疾患感受性遺伝子を検索する必要がある。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kawabata T, Higashimoto I, Takashima H, Izumo S, Kubota R: Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I)-specific CD8+ cells accumulate in the lungs of patients infected with HTLV-I with pulmonary involvement. *J Med Virol.* 84(7): 1120-7, 2012

2. 久保田龍二: HAM スペクトラム。神経内科。77: 283-8, 2012

2. 学会発表

1. Matsuura E, Watanabe O, Takashima H, Kubota R, Izumo S: HTLV-1-specific cytotoxic T cell migration in the cerebrum of the patients with HAM/TSP. *13th Asian Oceanian Congress of*

Neurology. Melbourne, Austria,
2012

2. 久保田龍二、有島志保、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HAM とキャリアにおける HTLV-I 特異的 CTL 機能の比較検討。第 53 回日本神経学会総会。2012 年 5 月 東京
3. 松崎敏男、久保田龍二、斎藤峰輝、高嶋 博、出雲周二：早期 HAM の診断基準提唱と臨床。第 53 回日本神経学会総会。2012 年 5 月 東京
4. 松浦英治、久保田龍二、高嶋 博：HTLV-1 キャリアの脊髄に HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞は浸潤している。第 53 回日本神経学会総会。2012 年 5 月 東京
5. 久保田龍二、有島志保、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HAM とキャリアにおける HTLV-I 特異的 CTL 機能の比較。第 5 回 HTLV-I 研究会。2012 年 8 月 東京
6. 松崎敏男、久保田龍二、斎藤峰輝、吉村 玲、高嶋 博、出雲周二：HAM からみた ATL の臨床。第 5 回 HTLV-I 研究会。2012 年 8 月 東京
7. 松浦英治、久保田龍二、高嶋 博：HAM および HTLV-1 キャリアの中樞神経における HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞の分布。第 5 回 HTLV-I 研究会。2012 年 8 月 東京
8. 久保田龍二、竹之内徳博、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HLA-A*24 拘束性 HTLV-I 特異的 CTL は HAM 発症リスクを下げるか？第 21 回日本組織適合性学会大会。2012 年 9 月 東京
9. 久保田龍二、有島志保、松崎敏男、高嶋 博、出雲周二：HTLV-I 特異的 CTL 機能は HAM とキャリアで異なるのか？第 24 回日本神経免疫学会。2012 年 9 月 長野
10. 松浦英治、久保田龍二、高嶋 博：HTLV-1 特異的細胞障害性 T 細胞が関与する病態に関する検討 (HAM 患者の脳・HTLV-1 carrier の脊髄の検討)。第 24 回日本神経免疫学会。2012 年 9 月 長野
11. 久保田龍二、高嶋 博、出雲周二：HAM 患者 HTLV-1 感染細胞における免疫反応低下。第 17 回日本神経感染症学会総会。2012 年 10 月 京都
12. 松浦英治、久保田龍二、出雲周二、高嶋 博：HAM/TSP 患者脊髄・大脳および HTLV-1 キャリア脊髄における HTLV-1 ウイルス特異的細胞障害性 T 細胞の検出。第 17 回日本神経感染症学会総会。2012 年 10 月 京都
13. 児玉大介、久保田龍二、出雲周二：オミクス解析手法を用いた HAM 病

態の検討と治療標的候補遺伝子の探
索。第 17 回日本神経感染症学会総会。
2012 年 10 月 京都

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

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（難病関係研究分野）
分担研究報告書

次世代遺伝子解析技術を用いた希少難治性疾患の原因究明及び病態解明に関する研究

研究分担者 田中 章景 名古屋大学大学院医学系研究科
(現 横浜市立大学大学院医学研究科)

研究要旨

Neuronal intranuclear inclusion disease (NIID) は、エオジン好性に染色される核内封入体が、神経細胞および一般臓器の細胞で広く認められることを病理学的な特徴とする神経変性疾患である。進行性の疾患であり、発症の原因は不明で有効な治療法も確立されていない。我々はNIIDの2大家系についての臨床症状・病理所見、さらには皮膚生検による生前診断が可能であることを報告してきた。NIIDの原因を究明し有効な治療法を確立すべく、家族性NIIDの原因遺伝子探索を進めている。

A. 研究目的

我々は、Neuronal intranuclear inclusion disease (NIID:エオジン好性核内封入体病)の大家系について、臨床・病理所見を報告してきた。これらの家系に対し、すでにマイクロサテライトマーカーを用いた連鎖解析により、染色体A上にLod Score4.96を示す領域を同定している。この領域について、次世代シーケンサーを用い、網羅的に遺伝子配列を解析することで原因遺伝子の同定を目指す。

B. 研究方法

我々は既にNIIDの原因遺伝子が存在する候補領域を、染色体A上に見だし、Lod Score 4.96を得ている。Illumina社製の次世代シーケンサーであるHiseq 2000、およびAgilent社製のSureSelectキットを用いて全ゲノムおよび全エクソン領域の解読を行った。得られた遺伝子配列を、ゲノムインフォマティクスの技術を活用し、比較検討することによって原因遺伝子の同定を試みた。

(倫理面への配慮)

剖検検体からの組織の採取、あるいは、患者DNAおよび正常対照者のDNA採取、および次世代シーケンサーによる原因遺伝子解析については、遺伝子解析を含む医学研究についてのインフォームド・コンセントを患者本人、および家族より文書にて得ている。これらを解析する本研究は、名古屋大学医学部倫理委員会の承認を得ている（課題名：「エオジン好性核内封入体病の原因遺伝子の検索」、「遺伝性神経変性疾患の遺伝子診断」および「ゲノム多型解析による神経変性疾患の遺伝素因の検索」）。また、DNA採取に伴って、遺伝カウンセリングが必要となった場合には、名古屋大学附属病院遺伝カウンセリング室と連携を取りながら、カウンセリングを行うといった体制を取っている。

C. 研究結果

NIID家系のうちインフォームド・コンセントに基づきDNAが得られた合計14名につき、次世