

学研究に関する倫理指針」を遵守して本研究を実施した。本研究への参加者および調査機関に対して文書により研究内容や倫理的配慮について詳細に説明した

#### C&D.研究結果および考察

① PD with clinical RBD は PD 症状が重症で、内服レボドパ換算量が多く、起立性低血圧を有する例が多かった。認知症への進展はカプランマイアー生存曲線にて PD with clinical RBD が PD with normal REM sleep より有位に高かった ( $p=0.013$ )。さらに、コックスハザード回帰分析では RBD の存在が認知症への有意な関連因子となった。

② 3 つの候補蛋白 thymosin  $\beta$  4 (THB4), Retinol binding protein 4 (RBP4), Human Platelet factor4 (HPF4) を SELDI-TOF-MS 解析法で同定した。THB4 の血清濃度は、DLB 群では AD 群、PD 群および対照群と比較して有意に上昇していた。さらに THB4 は MMSE 値と負の相関を認めた。一方、RBP4 の血清濃度は AD 群に比較して DLB 群で有意に上昇していた、血清濃度 19ng/ml をカットオフ値とすると AD 群と DLB 群との鑑別における診断精度は感度 95%, 特異度 66.7%であった。HPF4 は保存血清検体の 2100 倍希釈で測定可能であったが、保存期間により値の変動がみられた。

③ HAC 導入 MSC 移植群とコントロール群の死亡日齢の結果は 60 日移植 :  $144.6 \pm 2.2$  日 vs  $141.6 \pm 3.0$  日, 80 日 :  $147.3 \pm 2.5$  日 vs  $143.7 \pm 2.8$  日, 100 日 :  $147.7 \pm 2.5$  日 vs  $140.8 \pm 1.3$  日, 120 日 :  $148.5 \pm 2.5$  日 vs  $147.7 \pm 2.8$  日であった。今回の移植に使用したマウスは平均 120 日で発症するため、発症 20 日前の移植(100 日齢移植)で最大の効果が得られ、統計的に有意差が見られた(Log-Rank test,  $p < 0.001$ )。

④ 2011 年 10 月時点で鳥取県に住民票を有し FTLD と診断されていた患者は 66 人であり、その内訳は前頭側頭型認知症 (FTD) が 55 人 (男性 23 人・48~98 歳), 運動ニューロン疾患を伴う FTD が 6 人 (男性 1 人・51 歳~79 歳), FTDP-17 が 1 例 (男性 0 人・50 歳), 進行性非流暢性失語症 3 人 (男性 1 人・67~81 歳), その他 1 例 (男性 1 人・66 歳) であった。

#### E.結論

① PD 患者では RBD はパーキンソン症状の増悪因子であると共に PDD への進展のリスクとなっていた。

② THB4 と RBP4 は DLB の診断のバイオマーカーとなる可能性が示された。

③樹立した HAC 導入 MSC を用いた細胞移植は、発症 20 日前の移植で ALS マウスに対する有効であった。ウイルスベクターや人工染色体を用いて移植片細胞を遺伝子改変することで、移植片細胞のホストへの有効性が増すことが示された。ヒト患者への応用のためには、これらの改変技術の安全性の確認が重要である。

④ 得られたデータを基に鳥取県の人口を基本とした粗有病率を算出すると 10 万人あたり男性が 9.2 人, 女性が 12.9 人, 男女あわせて 11.2 人であった。

#### F.健康危険情報

なし

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

Wada-Isoe K, Ito S, Adachi T, Yamawaki M, Nakashita S, Kusumi M, Hiroe Y, Takada T, Watanabe K, Hikasa C, Nakashima K. Epidemiological survey of frontotemporal lobar degeneration in Tottori prefecture, Japan. *Dement Geriatr Cogn Disord Extra* 2012;2:381-386

Wada-Isoe K, Uemura Y, Nakashita S, Yamawaki M, Tanaka K, Yamamoto M, Shimokata H, Nakashima K. Prevalence of dementia and mild cognitive impairment in the rural island town of Ama-cho, Japan. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra*. 2012;2:190-9.

Uemura Y, Wada-Isoe K, Nakashita S, Nakashima K. Mild parkinsonian signs in a community-dwelling elderly population sample in Japan. *J Neurol Sci*. 2011;304(1-2):61-6.

Nomura T, Inoue Y, Kagimura T, Uemura Y, Nakashima K. Utility of the REM sleep

behavior disorder screening questionnaire (RBDSQ) in Parkinson's disease patients. Sleep Med. 2011;12(7):711-3.

## 2. 学会発表

第 28 回日本神経治療学会総会

渡辺保裕ほか, 2 塩基欠失 ALS モデルマウスにおけるペプチド免疫治療.

第 29 回日本神経治療学会総会

渡辺保裕ほか, SOD1 プロテアーゼ耐性領域ペプチドを用いた ALS に対する免疫治療 - G93A 変異 SOD1 高発現マウスでの検討 -

22nd International Symposium on ALS/MND, Sydney.  
Yasuhiro Watanabe, Yasuhiro Kazuki, Shinya Kawase, Kenichi Yasui, Michio Kitayama, Toshiya Nakano, Mitsuo Osimura, and Kenji Nakashima.  
Establishment of the human immortal mesenchymal stem cells secreting multiple trophic factors using a human artificial chromosome.

第 53 回日本神経学会総会

渡辺保裕, 香月康宏, 河瀬真也, 安井建一, 北山通朗, 中野俊也, 押村光雄, 中島健二. 人工染色体技術を利用した GDNF, IGF-1, HGF 分泌ヒト骨髄間葉系幹細胞の樹立.

23rd International Symposium on ALS/MND, Chicago.

Yasuhiro Watanabe, Shinya Kawase, Miho Yamakawa, Mitsutaka Ebiki, Kenichi Yasui, Michio Kitayama, Toshiya Nakano, and Kenji Nakashima.  
Transplantation of mesenchymal stem cells secreting multiple trophic factors in an ALS mouse model.

第 52 回日本神経学会学術大会

中下聡子, 和田健二, 植村佑介, 山脇美香, 中島健二. 地域住民におけるパーキンソンニズムの原因疾患についての検討.

第 52 回日本神経学会学術大会

和田健二, 植村佑介, 中下聡子, 山脇美香, 田中健一郎, 中島健二, 地域住民における主観的もの忘れの検討.

第 30 回日本認知症学会学術集会

中下聡子, 和田健二, 田中健一郎, 植村佑介, 山脇美香, 中島健二. 地域住民における認知症と運動機能の関連性の検討.

第 30 回日本認知症学会学術集会

和田健二, 中下聡子, 山脇美香, 植村佑介, 田中健一郎, 中島健二. 地域住民における健忘型軽度認知障害の検討.

第 53 回日本神経学会学術大会

中下聡子, 和田健二, 中島健二. レビー小体型認知症の血清バイオマーカーの検討.

第 12 回日本再生医療学会総会

渡辺保裕ほか, ヒト人工染色体を利用した GDNF, IGF-1, HGF 分泌間葉系幹細胞の樹立と ALS マウスへの治療応用.

24th international symposium on ALS/MND

Y Watanabe, et al. Chromosomally-modified mesenchymal stem cells secreting GDNF, IGF-1, and HGF attenuate disease progression in an ALS animal model.

## H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

### 1. 特許取得

「家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) 発症するトランスジェニックマウス」中島健二ら (特許第4590638号) .

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

# 鳥取県における前頭側頭葉変性症の患者数調査

難治性疾患克服研究事業 神経変性疾患に関する調査研究班 研究分担者：中島健二 所属機関名：鳥取大学脳神経医学科学講座脳神経内科

- 目的：前頭側頭葉変性症（FTLD）患者数を調査し、有病率を明らかにすること。
- 方法：鳥取県全域および島根県東部地域の精神科・神経内科延べ47施設に対してアンケート調査を実施後、FTLD患者の診療の有りと回答した施設に対して、症状・臨床経過・画像検査等の調査、あるいは神経内科専門医が直接患者を診察して診断を確定した。
- 結果：2011年10月時点でFTLDと診断された患者は66人（表1）であり、3例に家族歴があった（表2）。鳥取県における10万人あたりの粗有病率は11.2/10万人（95%信頼区間=8.8~13.6）（図1）で、我が国の人口を基準とした訂正有病率は、9.5/10万人であった。
- 結語：本調査結果を基にした我が国のFTLD患者数は1万2000人と推計された。

表1. FTLD患者の内訳

	患者数	男性	女性	平均年齢（歳）
FTD	62	23	29	76.5±11.0
FTD-MND	5	1	4	65.8±14.3
FTDP-17	1	0	1	50
PNFA	3	1	2	71.7±8.1
SD	1	0	1	72

FTD：前頭側頭型認知症。MND：運動ニューロン疾患。  
FTDP-17: FTD with Parkinsonism linked to chromosome 17 NFA：進行性非流暢性失語。SD: 意味性認知症

表2. 家族歴を有する3例

FTDP-17 1例	50歳・女性	MAPT遺伝子 IVS10+14C>T
FTD-MND 1例	51歳・女性	
FTD	1例 74歳・男性	

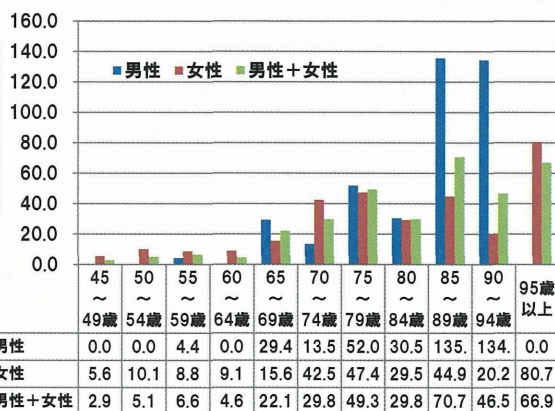


図1. 年代・性別ごとの有病率（10万人あたり）

神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

平成 23 年度の特定疾患申請書を元に、ハンチントン病の療養実態を各項目について調査した。これと平成 16 年度の調査結果との比較もおこなった。調査表に入力が済んでいたのは 687 名（男性 293 名、女性 394 名）であった。このうち平成 23 年度の新規申請は 72 名であった。以前に比較して未入力の都道府県は減少していた。難病センターによる登録患者数は 846 名で、これを元に有病率を求めると人口 10 万人あたり 0.7 人であった。

発症年齢は 30～60 歳代が多くを占め、遺伝子診断の実施実態は未施行：施行が 2:3 であった。生活状況は在宅療養、入院が大多数を占め、自立度は全介助、部分介助が 2/3 をであった。しかし、介護保険の利用は依然として少なく 40%程度利用率であった。介護度は 4, 5 が大多数を占め、自立度が低く、重症であった。身体障害者手帳の取得状況も依然として低く、身体障害者手帳保持者では 1, 2 級が大多数であった。ケアに関しては経鼻チューブ使用者が 31 名、胃瘻増設者が 129 名で、気管切開 19 名、人工呼吸療法 2 名であった。経管栄養では胃瘻増設利用期間が最長 17 年であった。

ハンチントン病の有病率は微増していた。自立度が低く、介護度が高い症例が多く、平成 25 年にテトラペナジンが上市されたが、舞踏運動の改善のみでは不十分であり、さらに有効な治療薬の開発が望まれる。

研究分担者：長谷川一子

所属機関名：独立行政法人国立病院機構

相模原病院 神経内科

A.研究目的

平成 16 年度にハンチントン病の療養状況を報告した。平成 25 年度から難病行政の変更が見込まれること、平成 24 年度にハンチントン病の舞踏運動に関する治療薬が上市されたことにより、これまでの療養状況を鑑みる必要があると考え、厚生労働科学研究、難治性疾患克服研究事業「神経変性疾患に関する研究」班、班長の了承の元、厚生労働省よりハンチントン病受給診断書のデータの供与を受け、平成 23 年度のハンチントン病患者の療養状況を調査した。患者数、有病率については難病センターホームページからデータを取得した。本研究の目的は今後のハンチントン病の療養環境の整備、治療指針の策定に向けての予備調査にある。

B.研究方法

研究目的に記載した如くにハンチントン病患者の特定疾患受給者証診断書の匿名化された原本、および難病センターホームページから都道府県別患者数を得た。それぞれのデータについて統計学的な解析を行い、ハンチントン病患者の有病率、病状、

療養状態について検討した。

（倫理面への配慮）

厚生労働省から供与された個人情報には匿名化されており、個人の同定はし難い。しかし、患者数が少ないことから、患者同定ができない様な工夫を加えた。

C.研究結果

1. 有病率

都道府県疾病対策課の入力によるハンチントン病患者数は 687 名で男性 293 名、女性 394 名であった。平成 23 年度新規申請患者は 72 名であった。一方、難病センターによる患者登録数は 846 名で 150 症例程度が未入力であった。都道府県による入力状況は平成 16 年よりも改善されているといえる。難病センターによる患者登録数からみたハンチントン病の有病率は 0.7 人/10 万人で、平成 16 年度の 0.53 人よりも微増を認めた。県別の有病率を図 1 に示す。



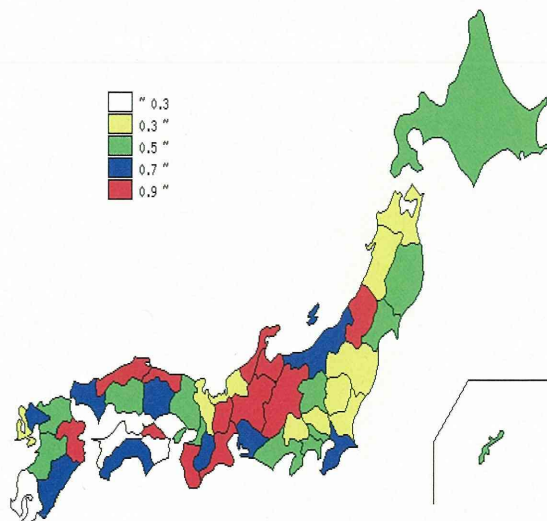


図1. 平成23年度の県別ハンチントン病有病率  
平成16年度に比較して北海道、岩手、宮城、茨城、長野、岐阜、京都、奈良、福井、島根で微増している。一方、岡山、愛媛、鹿児島では減少傾向がみられた。

## 2. 臨床像

初発症状は不随意運動、性格変化、次いでちの障害、パーキンソニズムであった。経過を見る上で不随意運動なしが21名あり、他疾患の混入、もしくは若年型が含まれていることが推定された。不随意運動では舞踏運動が82%をしめ、次いで振戦、アテトーシス、バリスムであった。自咬症は4名有り、neuroacanthocytosisと思われる。

運動障害の他の項目ではパーキンソニズム有りが621名中117例にあり、仮面様顔貌、固縮が有りの症例の2/3にみられ、次いで無動が1/3の症例でみられた。歩行障害は621名中544名にみられ、介助9歩行、車いす、臥床状態がほぼ1/3ずつであった。いずれも平成16年度の臨床像とは著変はなかった。

精神症状では性格変化が677名中476名にみられ、内訳は反社会的行動、脱抑制が多かった。自殺企図の頻度が高く、671名中38症例でみられた。知的障害は677名中541例でみられた。精神症状についても平成16年度の調査とは著変なかった。

## 3. 画像所見

画像所見では尾状核萎縮を390名中346名大脳皮質萎縮は298名に認めた。

## 4. 検査所見

遺伝子診断は本人施行348名、家族施行71名、

未施行348名であった。遺伝子診断の保険収載、神経学会の遺伝子診断指針の制定によるものと思われるが、遺伝子診断施行例の頻度が平成16年度よりも増加した。

## 5. 療養状況

不随意運動、運動持続困難による嚥下障害の頻度が高いため、経鼻チューブ、胃瘻増設症例の頻度が増した。特に胃瘻増設患者数の増加がみられ、胃瘻増設後1~6年の症例が多いが、最長で18年の症例もみられた。気管切開は有りが19症例、人工呼吸器管理下にある症例が1例であった。

身体障害手帳の取得状況は有りが34%、無しが61%であった。身体障害手帳の等級は1級が45%、2級が35%、3級が12%と、障害の程度が高い症例が多かった。介護保険利用状況は図2に示す用に、要介護が232名、要支援が13名でそれぞれ39%、2%であった。介護度はV度が49%を占め、重症度の高い症例が多い事が明らかであった。しかし、平成16年度同様に介護保険利用状況は低い傾向にあった。障害者自立支援法を利用している症例もみこまれ、調査表にはない項目であるため、実態が十分に示されていない可能性もある。

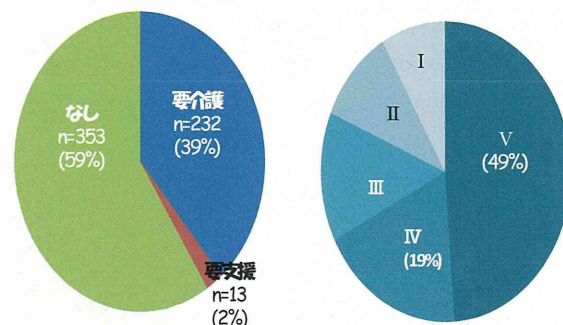


図2. ハンチントン病患者の介護保険利用状況。

生活状況では平成16年に比較して就労、家事労働者の頻度が増したが、依然として在宅療養、入院療法を行っている症例が多かった。また、社会福祉施設の拡充によるものか、施設入所者の頻度が増した。

日常生活状況は平成16年度とほぼ道標で、全介助、部分介助が3/4をしめた。日常生活自立度も平成16年度と23年度はほぼ同様の自立度を示し、何らかの介助が必要な症例が2/3をしめた。認知障害による日常生活自立度も平成16年度と23年度には大きな変化はなく、II以上の患者が2/3をしめた。

## D. 考察

特定疾患受給者交付件数からみるとハンチントン病の有病率は0.7人/10万人と平成16年に比較して微増を認めた。診断率の向上などが有病率の増加に関与していることが推定される。また、一部にはneuroacanthocytosisと思われる症例も混在しているが少数例に留まる。依然として精神・身体症状ともに重度障害の症例が多く、在宅療養、入院、入所生活を送っている症例が多くみられた。一方、身体障害手帳取得率や介護保険利用率は依然として低く何らかの行政の介入が必要と思われる。身体障害、精神障害、全般を視野に入れた平成24年度に施行された障害者支援法により、包括的な支援がなされていくことが期待される。また、テトラベナジンの使用は可能となったが、テトラベナジンは舞踏運動の治療薬であり、精神、身体機能を改善する様な薬物の開発が望まれる。現在、研究が開始されたiPS細胞による新薬の開発、病態改善のための対象薬の発見などにも期待したい。

## E. 結論

ハンチントン病の有病率、臨床症状の現状について特定疾患受給者証から検討した。有病率は微増していることを示すことができた。また、療養状況は相変わらず障害度が高く、今後の薬物療養の発展に期待したい。

F.健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. ハンチントン病研究グループ：ハンチントン病と生きる～よりよい療養のために～. 神経変性疾患に関する研究班編
2. 長谷川一子：ハンチントン病；疫学，臨床症状，検査，診断，治療・効果判定・リハビリテーション，経過・予後，患者・家族への指導・アドバイス，看護師・コメディカルなどへの指導・アドバイス. 認知症ハンドブック. 中嶋健二，天野直二，下濱俊，富本秀和，三村将編 医学書院 2013

### 2. 学会発表

平成25年度日本神経学会総会で発表予定

## 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

神経変性疾患に関する調査研究

研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（以下 ALS）の自然歴において、身体の一部位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。そこで我々は 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・呼吸症状や上肢に初発し、改訂 El Escorial 基準を満たした孤発性 ALS 患者 36 名で、一側（初発側）の各髄節において針筋電図検査を施行、脱神経電位（線維自発電位・陽性鋭波）および線維束電位の有無を検索した。36 例中 14 例で中間髄節をスキップして筋電図異常が非連続的に分布した。L5 髄節支配筋である L5 傍脊柱筋と前脛骨筋では脱神経電位が線維束電位と同等かそれ以上に多く出現したが、それ以外の腰仙髄支配筋においては脱神経電位の出現率は線維束電位の出現率より低かった。文献的には、ALS の経過中で線維束電位の方が脱神経電位より早期に出現するとされており、L5 髄節とそれ以外では障害を来たす時期に時間差があると考えられた。また中間髄節をスキップして筋電図異常が広がった 14 例中 3 例は下肢に上位運動ニューロン徴候を認めず、その他の 11 例においても膝蓋腱反射（L3/4 レベル）とアキレス腱反射（S1）の程度に明らかな差は認めなかった。上半身発症の ALS においても、上位運動ニューロンとは無関係の何らかの機序によって中間髄節をスキップしたまま、L5 髄節を中心とした非連続的な下位運動ニューロン障害をきたし、そこから周囲の髄節に徐々に障害が広がって可能性が示唆された。

研究分担者：水澤 英洋

所属機関名：東京医科歯科大学大学院医歯学

総合研究科 脳神経病態学

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、身体の一部位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 *et al*, *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。そこで我々は、下位運動ニューロン障害が髄節ごとに連続的に進展するの否かを中心に、その進展形式について ALS 発症早期例の針筋電図検査を用いて検討した。

また、ALS において今なお有効な治療効果がほとんど得られていない原因の一つとして、早期診断の難しさが挙げられている。microRNA (miRNA) は 21～23 塩基程度

からなる短鎖 RNA で、標的となる mRNA に抑制性に働くことで遺伝子発現の制御に重要な役割を果たしている。この miRNA の発現パターンが癌や免疫疾患、神経変性疾患でも変化することが報告されており、この発現の変化を血液などの体液を用いた疾患マーカーとして利用した報告が数多くみられるようになってきている。また、miRNA の機能によっては、髄液を通じて疾患が他の部位が広がっていく機序が明らかになるかもしれない。

しかしながら、他の体液と比較して髄液は RNA 量が少ないことや、髄液中の内因性コントロールとなる既知の miRNA がないことから、髄液中の miRNA の解釈には髄液に特化した標準化法やデータ解析法が必要である。

本研究では髄液中の miRNA を疾患マーカーとして利用できるマイクロ RNA アレイの測定系を確立するとともに、ALS の早期診断を可能とする疾患バイオマーカーとしての髄液 miRNA の探索・同定も試みた。

## B.研究方法

### 1.筋電図検査による検討

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 36 名 (男性 23 名、女性 13 名) を対象とした。針筋電図検査の結果に影響を与え得る腰椎疾患や末梢神経障害の合併例は除外した。年齢は 41~79 歳、平均 63.3 歳であり、初発部位は球症状 10 名、呼吸症状 1 名、上肢症状 25 名であった。

初発側一側において、第一背側骨間筋 (FDI ; C8 髄節支配)、T10/L3/L5 傍脊柱筋 (PS)、大腿直筋 (RF ; L3/4)、内側広筋 (VM ; L3/4)、前脛骨筋 (TA ; L5)、大腿二頭筋 (BF ; S1)、腓腹筋 (GC ; S1) の安静時針筋電図検査を施行し、脱神経電位 (線維自発電位および陽性鋭波) や線維束電位の有無を評価した。

各被検筋ごとに 10 ヶ所から安静時電位を記録、2 ヶ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 ヶ所では 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。

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 (T10/L5PS、VM/BF) 間を中心に、異常の有無を比較した。

### 2.髄液中 miRNA の検討

通常の診断目的で採取したヒト髄液を遠心(500g x 10 分)することで細胞成分を取り除き、RNA 抽出後にマイクロ RNA アレイ (Toray 3D-GENE®)での解析を行った。臨床診断で正常と判明した髄液 (正常対照) 0.45mL, 0.9mL, 1.8mL の容量系列を作成し、定量性が認められた miRNA については、正常対照 9 例、ALS19 例を用いて解析を行った。

(倫理面への配慮)

本研究については、いずれも該当施設 (東京医科歯科大学、千葉大学、京都府立医科大学) における倫理委員会の承認を得て行った。

## C.研究結果

### 1. 筋電図検査による検討

36 例中 19 例においては、初回検査時点で既に全ての被検髄節に筋電図異常 (脱神経電位ないし線維束電位) を認めた。

残る 17 例中 14 例で中間髄節をスキップし、筋電図異常が非連続的に分布した。運動ニューロンの脆弱性に関係し得る軸索長やサブタイプ比率がほぼ等しい T10・L5PS ならびに VM と BF の間で比較しても、8 例で尾側の髄節支配筋のみに筋電図異常を認めた。

各筋の異常出現率を髄節支配ごとに比較すると (図 1)、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、 $p < 0.05$ )。

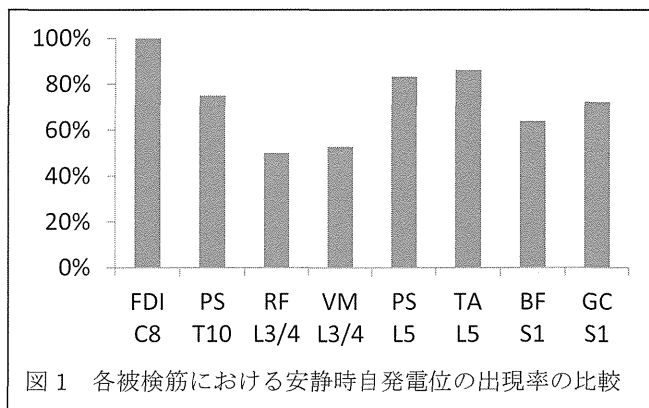


図 1 各被検筋における安静時自発電位の出現率の比較

図 2 に示すように、脱神経電位と線維束電位に分けて検討した結果、FDI においては脱神経電位の方が線維束電位より多く出現した。逆に L3/4 髄節支配の RF・VM および S1 髄節支配の BF・GC においては線維束電位の方が多く出現した。一方で、L5 髄節支配の L5PS および TA においては、脱神経電位が線維束電位と同等かより多く出現した。

中間髄節をスキップして筋電図異常が広がった 14 例中 3 例は検査時点で下肢に上位運動ニューロン徴候、すなわち膝蓋腱反射やアキレス腱反射の亢進や Babinski 反射を認めなかった。その他の 11 例においても膝蓋腱反射 (L3/4 レベル) とアキレス腱反射 (S1) の亢進の程度には明らかな差は認めなかった。



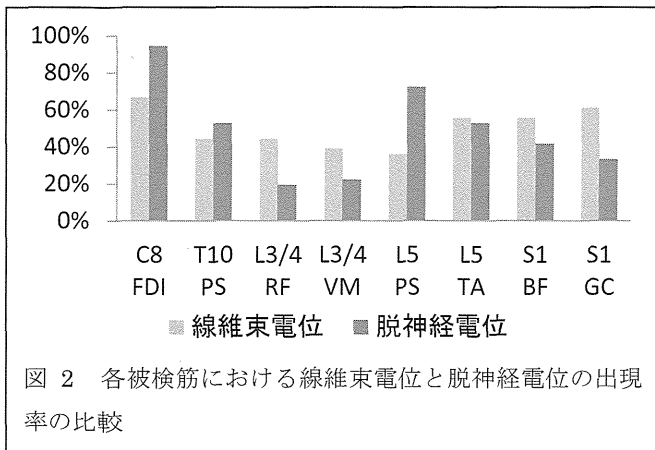


図2 各被検筋における線維束電位と脱神経電位の出現率の比較

## 2. 髄液 miRNA の検討

マイクロ RNA アレイでの解析を行うことで、複数の正常対照髄液 0.9ml で定常的に発現している 337 個の miRNA が確認でき、そのうちシグナル強度の高い 41 個の miRNA については定量性を確認しえた。

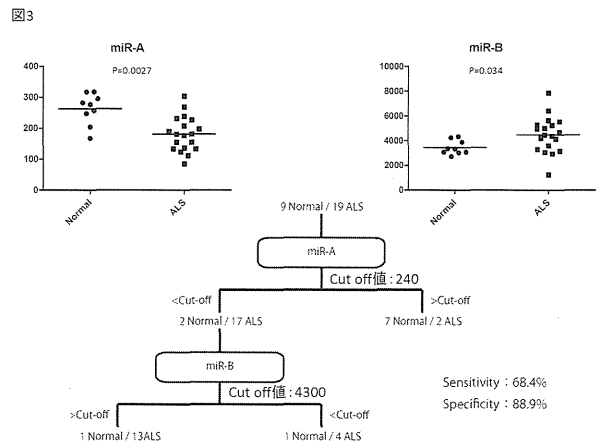
miRNA の発現の比較に際しては、RNA 抽出効率などの実験手技によるバラつきが生じるため、評価に際しては標準化が必須となる。従来まで数多く用いられてきた Global Normalization 法 (シグナル強度を順に並べた際の中央値が 25 になるようにした補正法) で髄液中の miRNA を補正すると、中央値として選択した miRNA が正常の個体間であってもそのシグナル強度がかなり変動するものを選択してしまう可能性がありうる。そのため我々は定量性を確認しえた、個体間のバラつきの少ない 41 個の miRNA の中央値である上位 20 番目の miRNA での補正 (Top20th Normalization 法) を行った。従来の Global Normalization 法と我々が考案した Top20th Normalization 法を比較したところ、後者で補正したマイクロ RNA アレイのシグナル値の個体間の近似曲線の傾きがより  $y=x$  に近づくことが示され、髄液中 miRNA のアレイシグナルの評価に際しては Top20th Normalization がより理想的であることが示された。

Top20th Normalization 法で標準化を行い、正常髄液対照 9 例、ALS19 例の解析を行った。(ALS の診断基準は改訂版 El Escorial 基準を用い、血液の混入があった髄液は除外した)。

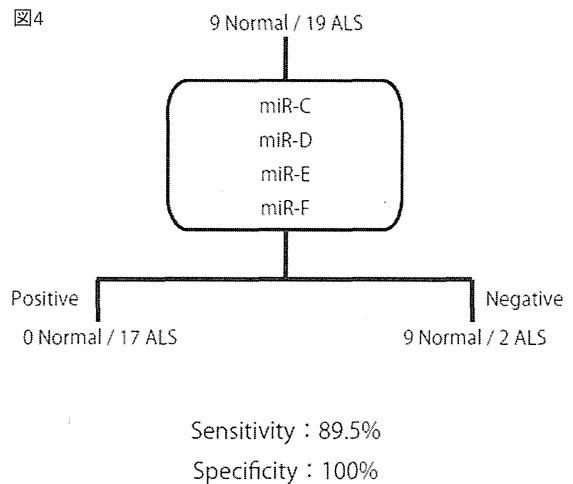
正常対照髄液と比較し、25 個の miRNA が ALS で高シグナルであり (うち 11 個については ALS でのみシグナルを検出)、4 個の miRNA が ALS で低シグナルであった ( $p<0.05$ )。

シグナル変化があった 29 個の miRNA のうち、マイクロ RNA アレイ上で高シグナルかつ、定量性が確認されてい

る miRNA が 4 個存在し、そのうち miR-A と miR-B の 2 つに至適な Cut off 値を設けることにより、正常髄液と ALS 髄液を感度 68.4%、特異度 88.9% で判別することが可能であった (図 3)。



また、ALS 髄液でのみシグナルが検出された miRNA のうち、miR-C, miR-D, miR-E, miR-F のいずれかが陽性である髄液を選択することで、感度 89.5%、特異度 100% で正常髄液との鑑別が可能であった (図 4)。



## D. 考察

今回の針筋電図検査による検討では、およそ半数の例においては検査時点で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形式は既に不可能であった。残る 17 例のうち、14 例においては中間髄節をスキップした筋電図異常の分布を呈し、そのうち 8 例においては、筋の脆弱性を揃えた 2 筋間で比較しても尾側の支配筋にのみ異常を認めた。

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、脆弱性を揃えた 2 筋のうち尾側の支配筋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通り前脛骨筋など特定の筋にあるものの髄節内での水平方向の進展が極めて早い、といった可能性が挙げられる。

脱神経電位と線維束電位では、出現する時期に時間差があり、障害のより早期には線維束電位の方が出現しやすいことが知られている (Okita *et al*, *J Neurol Sci* 2011 ほか)。L5 髄節では脱神経電位が多く、その周囲の L3/4 や S1 髄節においては線維束電位が主体であることから、腰仙髄のうち、L5 髄節だけがより早期に障害を来していると考えられる。従って、非連続的な下位運動ニューロン障害はまず L5 髄節に及び、そこから連続的に周囲の髄節へと拡がっていくものと推定される。

一方で、ALS の病態においては上位運動ニューロン障害が下位よりも先行する、とする仮説もある。仮に L5 や S1 髄節に投射する上位運動ニューロンだけがたまたま先に障害されて同髄節の下位運動ニューロンを障害しやすければ、L3/4 髄節をスキップした非連続的な筋電図異常パターンの原因となり得る。そうだとすれば、単に脳レベルにおける連続性と上位から下位運動ニューロンへの経シナプス的進展だけで非連続的な筋電図異常パターンは説明可能であり、脊髄レベルで下位運動ニューロン障害が多発する機序は理論上不要となる。

今回の安静時針筋電図検査による検討のみでは上位運動ニューロンの関与を評価できていないが、少なくとも検査時点では、臨床的な上位運動ニューロン徴候を伴わずに非連続的な筋電図異常の分布をとる症例が複数存在した。また、L3/4 レベルに反射中枢が存在する膝蓋腱反射と S1 レベルのアキレス腱反射の程度に明確な差がないことから、S1 髄節に投射する上位運動ニューロンだけが障害さ

れて非連続的な筋電図異常の原因となる、という仮説は否定的と考えられた。

以上の検討から、我々の示した非連続的な下位運動ニューロン障害の分布を、上位運動ニューロンの関与で説明することはできないと考えた。

患者髄液を用いた研究においては、髄液中の miRNA を疾患マーカーとして利用できるマイクロ RNA アレイの髄液に特化した標準化法を確立するとともに、ALS 患者の髄液で有意に変化する miRNA の検索・同定を行うことで、感度・特異度とも高く正常髄液との鑑別を行うことができた。

近年、ALS と miRNA の関与を示唆する報告が複数発表されて注目されてきており (*Science*. 2009;326(5959):1549-54. および *Gene*. 2012;508(1):35-40.)、今回有意差を持って発現していた miRNA の ALS の病態生理、特に病変の進展機序との関わりについて、今後の更なる知見の蓄積が待たれる。

## E. 結論

ALS 病変の腰仙髄への進展においては、上位運動ニューロンとは無関係に中間髄節をスキップしたまま、まず L5 髄節中心の異常をきたし、そこから周囲の髄節に徐々に異常が広がっていく可能性が示唆された。

髄液中の miRNA を疾患マーカーとして利用できるマイクロ RNA アレイの測定系を確立した。正常髄液との比較において、ALS で有意に発現に差を認める 29 個 (ALS で上昇: 14 個、低下: 4 個、ALS でのみ検出: 1 個) の miRNA を確認した。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kuwahara H, Nishina K, Yoshida K, Nishina T, Yamamoto M, Saito Y, Piao W, Yoshida M, Mizusawa H, Yokota T. Efficient in vivo delivery of siRNA into brain capillary endothelial cells along with endogenous lipoprotein. *Mol Ther* 2011; 19(12): 2213-21.
2. Kubodera T, Yamada H, Anzai M, Ohira S, Yokota S, Hirai Y, Mochizuki H, Shimada T, Mitani T, Mizusawa H, Yokota T. In vivo application of an RNAi strategy for the selective suppression of a mutant allele. *Hum Gene Ther* 2011; 22(1): 27-34.

3. Mayra A, Tomimitsu H, Kubodera T, Kobayashi M, Piao W, Sunaga F, Hirai Y, Shimada T, Mizusawa H, Yokota T. Intraperitoneal AAV9-shRNA inhibits target expression in neonatal skeletal and cardiac muscles. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 405(2): 204-9.

4. Uchida A, Sasaguri H, Kimura N, Tajiri M, Ohkubo T, Ono F, Sakaue F, Kanai K, Hirai T, Sano T, Shibuya K, Kobayashi M, Ueno T, Yamamoto M, Sunaga F, Kubodera T, Tomori M, Sakaki K, Enomoto M, Hirai Y, Kumagai J, Yasutomi Y, Mochizuki H, Uchihara T, Kuwabara S, Mizusawa H and Yokota T. Non-human primate model of amyotrophic lateral sclerosis with cytoplasmic mislocalization of TDP-43. *Brain* 2012; 135(3): 833-846.

5. Sekiguchi T, Kanouchi T, Shibuya K, Noto YI, Yagi Y, Inaba A, Abe K, Misawa S, Orimo S, Kobayashi T, Kamata T, Nakagawa M, Kuwabara S, Mizusawa H, Yokota T. Spreading of amyotrophic lateral sclerosis lesions—multifocal hits and local propagation? *J Neurol Neurosurg Psychiatry* published online September 11, 2013 doi:10.1136/jnnp-2013-305617

## 2.学会発表

1. Mizusawa H. Movement disorders in Asia-Oceania. 17th International Congress of Parkinson's disease and Movement disorders. Sydney. Jun 17, 2013.

2. Nishina K, Wenyng Piao, Yoshida-Tanaka K, Nishina T, Kuwahara H, Mizusawa H, Yokota T. Efficient in vivo delivery of antisense oligonucleotide to choroid plexus. 10th International Conference on Cerebral Vascular Biology. Montreal. Jun 19-20, 2013.

3. Machida A, Ohkubo T, Mizusawa H, Yokota T. Normalization of microRNA expression levels in cerebrospinal fluid. The International Society for Extracellular Vesicles 2012 meeting. Gothenberg. Apr 19, 2012.

4. Yokota T, Sasaguri H, Ohkubo T, Mizusawa H. Regional Cytoplasmic TDP-43 Mislocalization Is Recapitulated in Non-Human Primate mimicking ALS. The 64th AAN Annual Meeting. New Orleans. Apr 26, 2012.

5. Ohkubo T, Tajiri M, Uchida A, Kimura H, Sasaguri N, Uchihara T, Mizusawa H, Yokota T. WIP1401

Non-human primate model of amyotrophic lateral sclerosis with cytoplasmic mislocalization of TDP-43. 2012 Annual Meeting of the American Neurological Association (ANA2012), Boston. Oct 8, 2012.

6. Sekiguchi T, Kanouchi T, Shibuya K, Noto Y, Nakagawa M, Kuwabara S, Mizusawa H, Yokota T. Regional spread of ALS lesion – multifocal hits and local propagation? 2012 Annual Meeting of the American Neurological Association (ANA2012), Boston. Oct 8, 2012.

7. Tajiri M, Ohkubo T, Kimura N, Kawakami C, Teraoka S, Uchihara T, Mizusawa H, Yokota T. Presentation Title: Propagation of TDP-43 in non-human primate model of ALS. Society for Neuroscience 2012 (SFN2012), New Orleans, Oct 15, 2012.

8. Ohkubo T, Sasaguri H, Tajiri M, Kimura N, Ono F, Hirai T, Enomoto M, Uchihara T, Mizusawa H, Yokota T. Non-human primate model of ALS with cytoplasmic mislocalization of TDP-43. Society for Neuroscience 2012(SFN2012), New Orleans. Oct 15, 2012.

9. Nishina K, Uno Y, Piao W, Tanaka-Yoshida K, Mizusawa H, Yokota T. Efficient in vivo delivery of alpha-tocopherol-conjugated siRNA with HDL to the brain. Oligonucleotide Therapeutics Society (OTS) Annual meeting 2012, Boston. Oct 30, 2012.

10. Kubodera T, Ohira S, Katakai Y, Mizukami H, Hirai Y, Imamura M, Chayama K, Shimada T, Ozawa K, Mizusawa H, Yokota T. ShRNA-Mediated Gene Silencing in Primates with AAV8. American Society of Gene & Cell Therapy 14th Annual Meeting. Seattle. 2011.5.18-20

11. Banno H, Katsuno M, Suzuki K, Takeuchi Y, Kawashima M, Yabe I, Sasaki H, Aoki M, Morita M, Nakano I, Kanai K, Ito S, Ishikawa K, Mizusawa H, Yamamoto T, Tsuji S, Hasegawa K, Shimohata T, Nishizawa M, Miyajima H, Kanda F, Watanabe Y, Nakashima K, Tsujino A, Yamashita T, Uchino M, Fujimoto Y, Tanaka F, Sobue G. Effect of leuprorelin in patients with spinal and bulbar muscular atrophy (SBMA): A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The 63rd American Academy of Neurology Annual Meeting. Honolulu. April. 14, 2011.

12. Ota K, Ishikawa K, Sobue G, Mizusawa H, Katsuno M, Bannno H, Suzuki K. Long-term effects of the luteinizing hormone-releasing hormone analogues for spinal and bulbar muscular atrophy. The 63rd American Academy of Neurology Annual Meeting. Honolulu. April. 14, 2011.

13. Nishina K, Murakami M, Yoshida K, Kuwahara H, Mizusawa H, Yokota T. Efficient in vivo delivery of vitamin E-conjugated siRNA from colorectum to liver. The 14th Annual Meeting of the American Society of Gene and Cell Therapy. Seattle. May. 19, 2011.

14. 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.

15. 関口輝彦, 叶内匡, 澁谷和幹, 金井数明, 能登祐一, 稲葉彰, 阿部圭輔, 融衆太, 織茂智之, 小林高義, 中川正法, 桑原聡, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症における進展の初発部位からの連続性に関する電気生理学的検討. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京. 2012.5.23.

16. 大久保卓哉, 田尻美緒, 関口輝彦, 笹栗弘貴, 木村展之, 内原俊記, 水澤英洋, 横田隆徳. TDP-43 過剰発現霊長類モデルにおける TDP-43 の拡がり. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京. 2012.5.23.

17. 叶内匡, 関口輝彦, 水澤英洋, 横田隆徳. ALS 病変は連続して広がっていくか. 第 53 回日本神経学会学術大会. 東京. 2012.5.24.

18. 関口輝彦, 叶内匡, 澁谷和幹, 能登祐一, 八木洋輔, 稲葉彰, 阿部圭輔, 三澤園子, 織茂智之, 小林高義, 鎌田智幸, 中川正法, 桑原聡, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症の下位運動ニューロン障害の腰仙髄における進展形式の検討. 第 54 回日本神経学会学術大会. 東京. 2013.5.29.

19. 大久保卓哉, 田尻美緒, 関口輝彦, 寺岡静香, 木村展之, 内原俊記, 水澤英洋, 横田隆徳. 霊長類 ALS モデルにおける TDP-43 の拡がりについて. 第 54 回日本神経学会学術大会. 東京. 2013.5.31.

20. 叶内匡, 関口輝彦, 水澤英洋, 横田隆徳. 筋萎縮性側索硬化症の初発部位における障害進行と他部位への障害進展の関係. 第 43 回日本臨床神経生理学会学術大会. 高知. 2013.11.8.

1.特許取得

特許出願日 2013 年 5 月 30 日 (特許出願番号 2013-113912) : 横田隆徳, 町田明, 大久保卓哉, 水澤英洋. 運動神経の障害を呈する疾患の鑑別に用いるマイクロ RNA の検出方法. 東京医科歯科大学

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

進行性核上性麻痺(Progressive supranuclear palsy;PSP)と大脳皮質基底核変性症(Corticobasal degeneration;CBD)剖検例における臨床像・画像所見を後方視的に検討し共通点と相違点について検討した。PSPはCBDより高齢発症であったが、機能予後・生命予後には差はなかった。PSP主要徴候とされている所見はPSP・CBD共通の所見で、PSPでは顔に触る、嘔声、slurred speech、CBDでは性格変化・自動車の運転障害で発症、異常言動の特異度が高く、両疾患の鑑別に役立つ可能性が示唆された。MRI所見としては、PSPでは脳幹・小脳の萎縮、CBDでは側脳室拡大の左右差、頭頂葉萎縮、中心溝拡大およびSPECTにおける頭頂葉を含む大脳広範の高度集積低下が各々の疾患に特異的な所見であり、鑑別診断に寄与すると考えられた。PSP典型的臨床像(以下PSPSとする)を呈する例の背景病理はPSP65%、CBD10%、Atypical 4R tauopathy 10%、AD5%、SD-NFT5%、Alexander病 5%と多彩であったが、4R tauopathyが85%と多かった。PSPSから背景疾患を診断していくには、PSP主要徴候以外の症候や画像所見に注目していく必要があるが、病初期には鑑別は困難であった。

研究分担者：饗場 郁子

所属機関名：独立行政法人国立病院機構

東名古屋病院 神経内科

A.研究目的

PSPとCBDはともに4R tauopathyで、病変部位も臨床症候も共通点が多く、臨床上鑑別に苦慮することをしばしば経験する。PSPおよびCBDを生前に正しく診断するために有用な所見について、病理診断例で後方視的に検討を行った。

- 1) PSP・CBDにおけるMRI・SPECT所見の検討(平成23年度)
- 2) PSP・CBDにおける臨床所見の検討(平成24年度)
- 3) PSP典型的臨床像(以下PSPSとする)を呈する例の背景病理の検討(平成25年度)

B.研究方法

1) 対象は病理診断されたPSP12例およびCBD6例。生前のMRIおよびIMP-SPECT所見について、MRIは形態診断の専門医2名が、SPECTは核医学の専門医2名が年齢・性別のみの情報をもとに読影を行い、疾患毎の感度と特異度を算出した。

2) 対象は病理診断されたPSP14例およびCBD6例。発症・死亡時年齢、発症時の症候・全経過を

通じた症候、経過などについて検討した。発症・死亡時年齢は平均値の差の検定(Mann-Whitney検定)、症候は疾患毎の感度・特異度を算出し、臥床状態までの期間・生存期間はKaplan-Meier法でLogRank検定を用いて解析した。

3) 対象は生前のいずれかの時期にNINDS-SPSPのpossibleあるいはprobable PSPのcriteriaを満たし、病理診断が確定診断している20例。背景病理からPSPとnon-PSP、4R tauopathy(PSP、CBD、atypical 4R tauopathy)とnon-4R tauopathyに分け、性、発症2年以内および全経過における臨床症候について、カイ二乗検定/Fisher検定を行い、有意な所見について感度と陽性的中率(PPV)を算出した。また発症年齢、罹病期間について、Mann-Whitney検定を行った。

(倫理面への配慮)

剖検時に研究利用についての説明を行い、国立病院機構東名古屋病院倫理委員会にて承認された文書にて同意を得た上で、研究を行った。



### C.研究結果

1)MRI では、PSP では中脳被蓋、橋被蓋、橋底部の萎縮、Hummingbird sign、小脳半球の萎縮、小脳虫部萎縮、第4脳室拡大「あり」、Morning glory sign、小脳萎縮の左右差「あり」「おそらくあり」の特異度が高かった(90%以上)。CBD では側脳室拡大の左右差、頭頂葉萎縮、中心溝拡大「あり」所見の特異度が高かった(90%以上)。

SPECT では、PSP に特異度の高い所見はみられず、CBD では頭頂葉、前頭葉・頭頂葉、前頭葉・側頭葉・頭頂葉の高度集積低下の特異度が89%と高かった。

2)発症年齢は PSP  $68.9 \pm 6.3$  歳、CBD  $56.8 \pm 6.0$  歳 ( $P < 0.01$ )、死亡時年齢は PSP  $75.4 \pm 4.6$  歳、CBD  $62.1 \pm 5.9$  歳 ( $P < 0.01$ )と、いずれも PSP の方が有意に高齢であった。臥床状態までの期間(中央値)は、PSP 4年、CBD 3年で有意差はなかった ( $P > 0.05$ )。50%生存期間は PSP 5.7年、CBD 5.0年で差はなかった ( $P > 0.05$ )。

PSP の主要症候とされている所見すなわち垂直性核上性注視麻痺、体軸性固縮、姿勢反射障害、前頭葉徴候および錐体路徴候、肩以下の垂直姿勢は PSP・CBD とともに感度が高く、両疾患に共通の所見と考えられた。また、CBS の主要症候とされている観念性運動失行や、皮質性感覚障害、他人の手徴候、半側空間無視は、PSP・CBD 全例で認めなかった。

PSP に特異度の高い(80%以上)所見は、振戦で発症、小脳失調、口蓋ミオクローヌス、顔に触る、足を組む、slurred speech、嘔声、大声でこの中で感度50%以上の所見は顔に触る、slurred speech、嘔声であった。CBD で特異度80%以上の所見は、性格変化・異常行動・自動車の運転障害で発症、異常言動、突進歩行で、性格変化・自動車の運転障害で発症、異常言動は各々感度50%以上であった。

3)PSPS20例の病理診断はPSP13例、Non-PSPが7例で内訳はCBD2例、Atypical 4R tauopathy 2例、アルツハイマー病(AD)1例、Senile dementia with NFT predominant type(SD-NFT) 1例、Alexander病 1例。4R tauopathy (PSP、CBD、Atypical 4R tauopathy)は最終臨床診断もPSPであった。

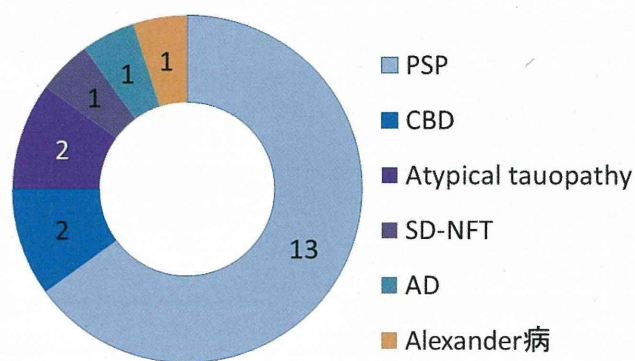


図1 : PSPS20例の背景疾患

PSP と non-PSP の間で、性、発症年齢、罹病期間、発症2年以内の症候ではPSPとnon-PSPの間で有意差はみられなかった。全経過を通じた症候では、Slurred speech ( $p=0.034$ 、感度60%、PPV100%)、言語障害 ( $p=0.021$ 、感度100%、PPV81.2%)、face-touching sign ( $p=0.029$ 、感度66.7%、PPV100%)、異常言動がないこと ( $P=0.046$ 、感度84.6%、PPV84.6%)はPSPを示唆する所見であった。

4R tauopathy と non-4R tauopathy の間で、性、発症年齢、罹病期間、発症2年以内の症候に有意差はなかった。全経過を通じた症候では、言語障害 ( $P=0.018$ 、感度94.1%、PPV100%)、自発的な眼球運動の障害 ( $P=0.018$ 、感度94.1%、PPV100%)は4R tauopathy で有意に認められた。

AD では海馬を含めた高度の大脳萎縮を認めた。またADとSD-NFTでは、NPH様のMRI所見がみられた。Alexander病では中脳被蓋の萎縮に加え、延髄の萎縮を認めた。

### D.考察

1) PSP では脳幹・小脳の萎縮、CBD では側脳室拡大の左右差、頭頂葉萎縮、中心溝拡大およびSPECTにおける頭頂葉を含む大脳広範の高度集積低下が各々の疾患に特異的な所見であることが明らかになり、両者の鑑別診断に寄与する所見と思われたが、感度は高くなかった。

剖検例での検討はきわめて重要であるが、今回は少数例の検討であり、今後多数例での検討や臨床像(RS,CBSなど)からみた画像の検討、初期の所見や経時的な変化の検討などが課題である。前向きコホートとして観察し、最終的に病理を確認するのが

望ましい。

2) PSP の主要症候は PSP・CBD 共通の所見と考えられ、4R tauopathy の指標となり得るかどうか、他疾患を含めて検討する必要がある。PSP では、顔に触る、嗄声、slurred speech、CBD では性格変化・自動車の運転障害で発症、異常言動の存在は感度 50%以上、特異度 80%以上で、PSP・CBD の鑑別に役立つ可能性がある。今後は多数例での検討、パーキンソニズムを呈する疾患全体で検討することが必要である。

3) 最終臨床診断が PSP であった 17 例中病理診断 PSP は 13 例 (76.5%) であり、欧米の報告 (75~80%) と同等であった。

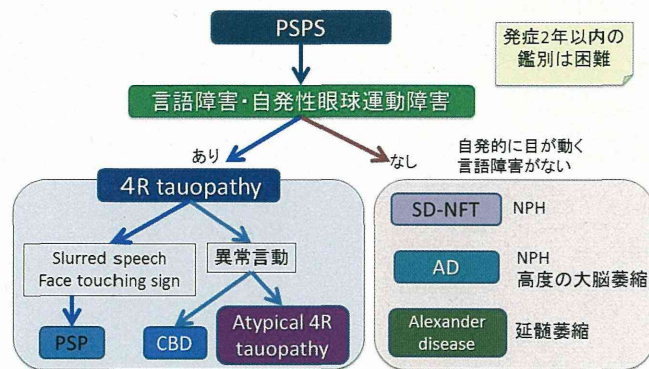


図 2 : PSPS から背景疾患へ

PSPS を呈する場合、言語障害・自発性眼球運動障害があれば 4R tauopathy を考え、slurred speech、face touching sign があれば PSP 異常言動があれば CBD あるいは Atypical 4R tauopathy を考慮する。言語障害・自発性眼球運動障害がなければ、4R tauopathy 以外の疾患が示唆され、NPH の合併は SD-NFT、AD を、海馬を含めた高度の大脳萎縮は AD を、延髄の萎縮は Alexander 病を考慮する。

### E. 結論

1) PSP では脳幹・小脳の萎縮、CBD では側脳室拡大の左右差、頭頂葉萎縮、中心溝拡大および SPECT における頭頂葉を含む大脳広範の高度集積低下が各々の疾患に特異的な所見であり、鑑別診断に寄与すると考えられた。

2) PSP は CBD より高齢発症であったが、機能予後・生命予後には差はなかった。PSP 主要徴候とされている所見は PSP・CBD 共通の所見で、PSP

では顔に触る、嗄声、slurred speech、CBD では性格変化・自動車の運転障害で発症、異常言動の存在が鑑別に役立つ可能性がある。

3) PSPS の背景疾患は PSP65%、CBD10%、Atypical 4R tauopathy 10%、AD5%、SD-NFT5%、Alexander 病 5%と多彩であったが、4R tauopathy が 85%と多かった。PSPS から背景疾患を診断していくには PSP 主要徴候以外の症候や画像所見に注目していく必要があるが、病初期の鑑別は困難であった。

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- ・饗場郁子. Corticobasal syndrome-最近の進歩と今後の課題. Brain Nerve 64: 462-473, 2012
- ・饗場郁子. Corticobasal syndrome 序. Brain Nerve 65:5-8, 2013
- ・饗場郁子, 齋藤由扶子, 犬飼 晃. 進行性核上性麻痺における self touching sign. 神経内科 79(3):422 2013.9

#### 2. 学会発表

- ・饗場郁子, 後藤敦子, 見城昌邦, 片山泰司, 齋藤由扶子, 横川ゆき, 田村拓也, 榊原聡子, 犬飼 晃, 吉田眞理. 大脳皮質基底核変性症剖検例における臨床像の解析. 第 52 回日本神経学会学術大会. 2011.5
- ・後藤敦子, 饗場郁子, 齋藤由扶子, 榊原聡子, 早川恵理, 田村拓也, 片山泰司, 見城昌邦, 横川ゆき, 犬飼 晃, 祖父江 元. 進行性核上性麻痺における脳波所見の推移と認知障害, 前頭葉の血流低下との関連. 第 52 回日本神経学会学術大会. 2011.5
- ・横川ゆき, 榊原聡子, 田村拓也, 片山泰司, 見城昌邦, 後藤敦子, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 犬飼 晃, 吉田眞理, 祖父江 元. レビー小体病の生命予後に関する検討. 第 52 回日本神経学会学術大会. 2011.5
- ・饗場郁子, 齋藤由扶子, 後藤敦子, 横川ゆき, 見城昌邦, 片山泰司, 田村拓也, 榊原聡子, 犬飼 晃, 辰己新水, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理, 長縄慎二, 川井 恒, 二橋尚志, 加藤克彦. 進行性核上性麻痺および大脳皮質基底核変性症剖検例における

MRI・SPECT 所見の検討. 第 53 回日本神経学会  
学術大会. 2012.5

・犬飼 晃, 榊原聡子, 田村拓也, 片山泰司, 見城昌  
邦, 横川ゆき, 後藤敦子, 饗場郁子, 齋藤由扶子.  
Parkinson 病患者の症状進行と治療に関する検討.  
第 53 回日本神経学会学術大会. 2012.5

・饗場郁子, 齋藤由扶子, 後藤敦子, 横川ゆき, 見城  
昌邦, 片山泰司, 田村拓也, 榊原聡子, 犬飼 晃,  
辰己新水, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理. 前頭葉  
性の行動異常が先行し、進行性核上性麻痺の臨床  
像を呈した大脳皮質基底核変性症の 1 剖検例. 第  
53 回日本神経病理学会総会. 2012.6

・齋藤由扶子, 榊原聡子, 田村拓也, 片山泰司, 見城  
昌邦, 横川ゆき, 後藤敦子, 饗場郁子, 榊原聡子,  
犬飼 晃, 吉田眞理. 高度な錐体路変性を認め分  
類不能のタウオパチーと考えられた 1 例. 第 53 回  
日本神経病理学会総会. 2012.6

・田村拓也, 榊原聡子, 片山泰司, 見城昌邦, 横川ゆ  
き, 後藤敦子, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 犬飼 晃,  
辰己新水, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理. 明かな家  
族歴を否定できない SOD1 遺伝子 Gly93Ser 変異が  
同定された筋萎縮性側索硬化症の 1 剖検例. 第 53  
回日本神経病理学会総会. 2012.6

・横川ゆき, 饗場郁子, 齋藤由扶子, 後藤敦子, 見  
城昌邦, 片山泰司, 田村拓也, 榊原聡子, 犬飼 晃,  
玉腰暁子. Lewy 小体病における生命予後と機能予後.  
第 54 回日本神経学会学術大会 2013.5.29

・饗場郁子, 齋藤由扶子, 後藤敦子, 横川ゆき, 見  
城昌邦, 片山泰司, 田村拓也, 榊原聡子, 犬飼 晃,  
辰己新水, 三室マヤ, 岩崎 靖, 吉田眞理. 進行性  
核上性麻痺および大脳皮質基底核変性症剖検例の臨  
床像—共通点と相違点—. 第 54 回日本神経学会学  
術大会 2013.6.1

・饗場郁子, 吉田眞理. リレーレクチャー PART  
II 神経変性疾患と自律神経障害 進行性核上性麻  
痺. 第 66 回日本自律神経学会総会 2013.10.24

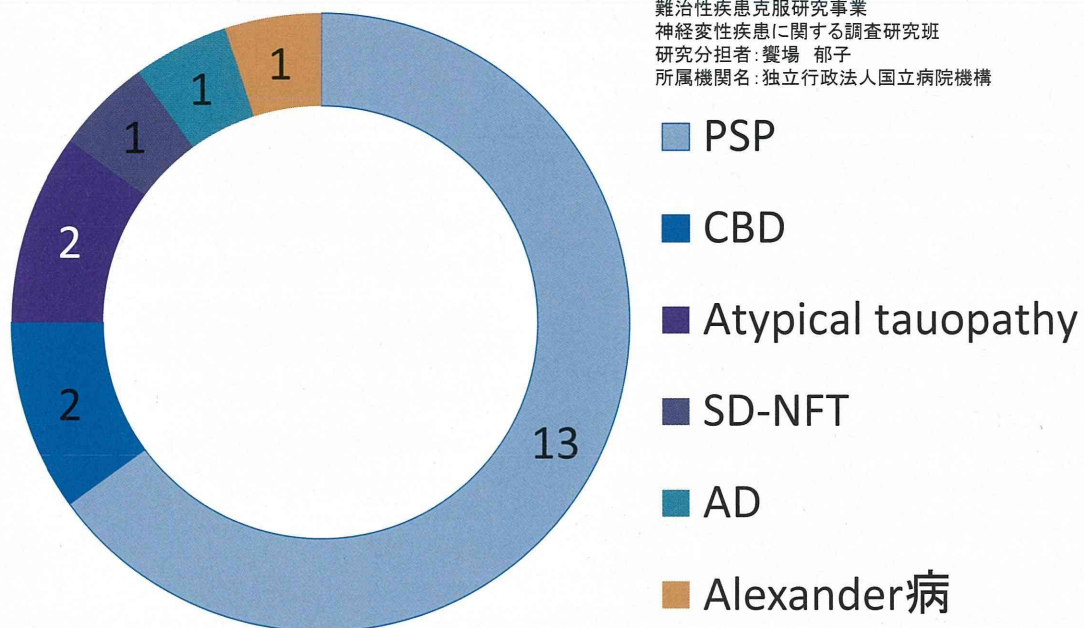
#### H.知的所有権の取得状況 (予定を含む)

- 1.特許取得 なし
- 2.実用新案登録 なし
- 3.その他 なし



## PSPS20例の背景疾患

難治性疾患克服研究事業  
神経変性疾患に関する調査研究班  
研究分担者: 饗場 郁子  
所属機関名: 独立行政法人国立病院機構



PSPSの背景疾患はPSPが13例(65%)、CBD2例、Atypical 4R tauopathy 2例、AD1例、SD-NFT1例、Alexander病 1例と多彩であったが、4R tauopathyが85%であった。

神経変性疾患に関する調査研究  
研究代表者 中野 今治 東京都立神経病院

研究要旨

〔目的〕筋萎縮性側索硬化症(ALS)は上位および下位運動ニューロンを侵す神経変性疾患であり、その一部の原因として遺伝子異常が報告されている。これまで当科では家族性 ALS 患者の遺伝子検査を行ってきた。Superoxide dismutase 1 (SOD1), Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)における遺伝子変異とその家系、臨床症状について検討する。

〔方法〕常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる家族性 ALS115 家系において SOD1、FUS/TLS、TDP-43、VCP、C9ORF72、PFN1、C9ORF7 について遺伝子解析を行った。その中で SOD1、FUS/TLS 遺伝子に変異を認めた患者についてその変異と家系内の臨床型を検討した。

〔結果および考察〕全 115 家系の遺伝子検査の結果、28 家系に SOD1 遺伝子変異を、9 家系に FUS/TLS 遺伝子変異が認められた。その他の遺伝子の変異は認められなかった。

〔結論〕これまでに東北大学にて遺伝子検査を行った 115 家系について検討した。今後も患者家系を増やしつつ、新規遺伝子検索の蓄積が重要である。

研究分担者：青木 正志

所属機関名：東北大学大学院医学系研究科  
神経内科学

A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は上位および下位運動ニューロンを侵す神経変性疾患であり、その一部の原因として遺伝子異常が報告されている。これまで当科では家族性 ALS 患者の遺伝子検査を行ってきた。Superoxide dismutase 1 (SOD1), Fused in sarcoma/translated in liposarcoma (FUS/TLS)における遺伝子変異とその家系、臨床症状について検討する。

B.研究方法

当科で収集した常染色体優性遺伝の遺伝形式が疑われる家族性 ALS115 家系で遺伝子解析を行った。SOD1、FUS/TLS、TDP-43、VCP、C9ORF72、PFN1 について直接シーケンス (C9ORF72 は repeat-primed PCR) を行い変異の有無を検討した。(倫理面への配慮)

すべての遺伝子操作は東北大学 DNA 組換え実験指針に従い、個人を同定できない形で発表し、個人情報鍵のかかる戸棚に保管、DNA は連結可能匿名化で保存している。東北大学倫理委員会の承認を受けている。

C.研究結果

全 115 家系の遺伝子検査の結果、28 家系に SOD1 遺伝子変異を、9 家系に FUS/TLS 遺伝子変異が認められた。TDP-43、VCP、C9ORF72、PFN1 遺伝子の異常は 115 家系中では認められなかった。(図 1)

当科にて検討を行った患者における平均年齢は SOD1 変異を伴う例 52.0±12.9 歳、FUS/TLS 変異を伴う例 39.6±14.4 歳であった。

その中でも、FUS/TLS 遺伝子変異を伴う家族性 ALS 家系は、①若年発症、②急速な経過、③上肢～球症状からの発症、④下位運動ニューロン障害優位、といった特徴があった。



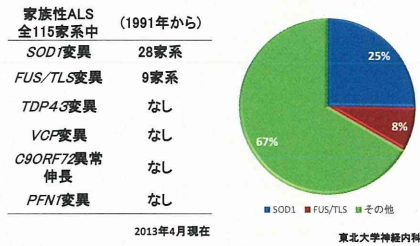


図1. 家族性ALSの遺伝子変異

Index	Age at onset	mutation	Index	Age at onset	mutation
FALS 2	72	H46R	FALS 77	51	L84V
FALS 7		H46R	FALS 78	70	E121G
FALS 15	59	G6P	FALS 80	45	N86S
FALS 21	20	H46R	FALS 83	79	A4D
FALS 37	70	H46R	FALS 88	43	H46R
FALS 39	58	H46R	FALS 89	39	I135F
FALS 44	37	L126S homo	FALS 92	62	H43R
FALS 49	44	I149T	FALS 94	47	L126S
FALS 54	53	I113T	FALS 96	58	L84V
FALS 55	57	H46R	FALS 99	47	H46R
FALS 60	52	L3V	FALS 100	64	G146R
FALS 64	40	N86S	FALS 104	53	N86S
FALS 65	49	G93S	FALS 107	75	S134N
FALS 67	41	G6G	FALS 111	74	K3E

平均発症年齢 52.0歳

表1. SOD1遺伝子変異を伴う28家系16変異

Index	Age at onset	Disease duration	FUS/TLS mutation	Site of Onset	Reflex
FALS 34	26	12m	p.G472VfsX57	Rt. L/E	↓
FALS 59	28	10m	p.K510E	Neck	↓
FALS 42	62	>60m	p.S513P	Bit. L/E	↓
FALS 68	52	156m	p.S513P	Lt. L/E	↓
FALS 56	42	43m	p.R514S	Bulbar	
FALS 79	31	24m	p.H517P	Bulbar	↑
FALS 87	37	15m	p.H517D	Lt. U/E	↓
FALS 1 (n=12)	35.3	23m	p.R521C	U/E, Neck	↑ ↓
FALS 51	20		p.R521C	Neck	↑

平均発症年齢 39.6歳

表2. FUS/TLS遺伝子変異を伴う9家系8変異

#### D. 考察

今回の東北大学における115家系の解析ではTDP43、VCP、C9ORF72、PFN1遺伝子変異を伴う家系は認められなかった。これらの遺伝子異常に伴う家族性ALSは日本人において頻度が低いことが確認された。SOD1、FUS/TLSに関しては他国からの報告とほぼ同様の割合(SOD1遺伝子変異25%、FUS/TLS遺伝子変異8%)であった。

FUS/TLS変異を持つALSは家族性ALSの中でも特に若年発症であることが特徴である。更に、変異部位により臨床型に違いがあることから、今後の病態解明に有用である可能性を考えた。

今後も原因遺伝子のみ見つからない家系の解析や、新規に同定されてくる原因遺伝子の解析を行うことで、ALS病態への関わりも検討することが重要であると考えられる。

#### E. 結論

これまでに東北大学にて遺伝子検査を行った115家系について検討した。今後も患者家系を増やしつづ、新規遺伝子検索の蓄積が重要である。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

##### 1. 論文発表

- Suzuki N, Aoki M, Warita H, et. al. FALS with FUS mutation in Japan with early onset, rapid progress and basophilic inclusion. *J Hum Genet* 55 (2010) 252-4.
- Suzuki N, Mizuno H, Warita H, Takeda S, Itoyama Y, Aoki M. Neuronal NOS is dislocated during muscle atrophy in amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurol Sci* 294 (2010) 95-101.
- Ito H, Fujita K, Nakamura M, Wate R, Kaneko S, Sasaki S, Yamane K, Suzuki N, Aoki M, Shibata N, Togashi S, Kawata A, Mochizuki Y, Mizutani T, Maruyama H, Hirano A, Takahashi R, Kawakami H, Kusaka H. Optineurin is co-localized with FUS in basophilic inclusions of ALS with FUS mutation and in basophilic inclusion body disease. *Acta Neuropathol* 121 (2011) 555-7.
- Suzuki N, Kato S, Kato M, Warita H, Mizuno H, Kato M, Shimakura N, Akiyama H, Kobayashi Z, Konno H, Aoki M. FUS/TLS-immunoreactive neuronal and glial cell inclusions increase with disease duration in familial amyotrophic lateral sclerosis with an R521C FUS/TLS mutation. *J Neuropathol Exp Neurol*, (2012) 71: 779-88.
- Hara M, Minami M, Kamei S, Suzuki N, Kato M, Aoki M. Lower motor neuron disease caused by a novel FUS/TLS gene frameshift mutation, *J Neurol*, (2012) 259: 2237-9
- Aoki M, Warita H, Suzuki N, Kato M. Clinical genetics of amyotrophic lateral sclerosis in Japan: an update. *Rinsho Shinkeigaku*. (2012) 52: 844-7.
- Aoki M. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) with the mutations in the fused in

sarcoma/translocated in liposarcoma gene. Rinsho Shinkeigaku. (2013) 53: 1080-3.

8. Tanaka H, Shimazawa M, Aoki M, et al., ITIH4 and Gpx3 are potential biomarkers for amyotrophic lateral sclerosis, J Neurol, (2013) 260: 1782-97

## 2. 学会発表

青木正志、鈴木直輝、割田 仁、加藤昌昭、水野秀紀、島倉奈緒子、今野秀彦、加藤信介、糸山泰人  
FUS/TLS 遺伝子異常に伴う日本人家族性 ALS における遺伝子変異と臨床型、病理に関する検討  
第 52 回日本神経学会総会 2011 年 5 月 18-20 日 名古屋

島倉奈緒子、鈴木直輝、加藤昌昭、割田 仁、水野秀紀、今野秀彦、加藤信介、糸山泰人、青木正志  
日本人家族性 ALS における遺伝子変異と臨床型、病理に関する検討  
第 56 回人類遺伝学会 2011 年 11 月 10-12 日 千葉県幕張

### 青木正志

#### ALS の遺伝学 Update

第 53 回日本神経学会総会 2011 年 5 月 22-25 日 東京

加藤昌昭、割田 仁、鈴木直輝、島倉奈緒子、青木正志

日本人家族性 ALS における遺伝子変異と臨床型の検討

第 53 回日本神経学会総会 2011 年 5 月 22-25 日 東京

加藤昌昭、割田 仁、鈴木直輝、井泉瑠美子、島倉奈緒子、安藤理沙、青木正志

東北大学における家族性 ALS 遺伝子検査の検討

第 53 回日本神経学会総会 2012 年 5 月 29 日~6 月 1 日 東京

## 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