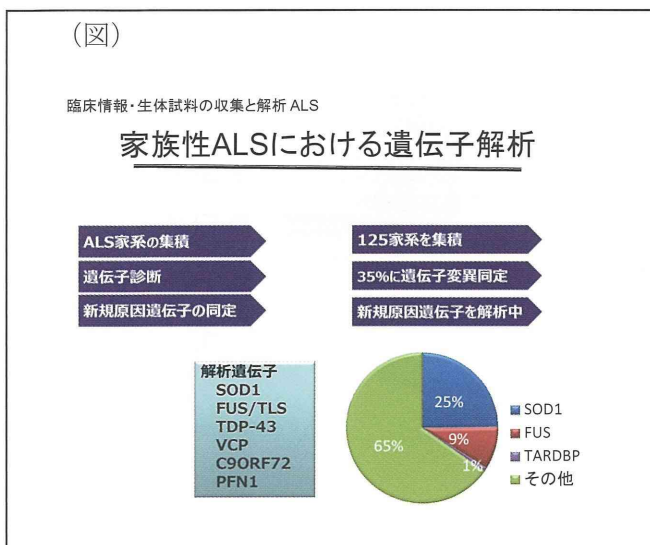


れた。下位運動ニューロン優位、下肢発症が多い H46R、L126S 変異や、家系内でも発症年齢、進行速度が異なり浸透率の低い N86S 変異等が複数家系に認められた。

FUS/TLS 遺伝子変異は 11 家系 9 変異が同定された。平均発症年齢 37 歳、罹病期間 2.7 年と若年発症で進行が速く、上肢や頸部からの発症例が多い特徴が認められた。

TDP-43 遺伝子変異は 1 家系で認められ、p.G357S 変異を認めた。臨床系は 60 代発症、下位運動ニューロン主体であった。



D. 考察

SOD1、FUS 遺伝子変異を持つ家系に関しては、遺伝子変異と臨床系にはある程度の関連が認められた。

今後の研究として、遺伝子変異が同定されていない残りの 65%の家系について、既知の ALS 原因遺伝子についてターゲットリシーケンスのための Haloplex パネルを作成し解析を開始している。

E. 結論

家族性 ALS の遺伝子解析を行った。これまでに集積した 125 家系の解析の結果としては、SOD1 変異が約 25%、FUS 変異が約 10%、TDP43 変異が約 1%程度といった結果であり、従来の報

告と矛盾しない割合であった。残りの約 65%の家系では解析した範囲では遺伝子異常は認められず、その他の遺伝子の関与が考えられた。

今後も継続的な解析と、今後新たな検体の収集、解析手段の確立が重要である。

F. 健康危険情報

特記事項なし

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

なし

2. 学会発表

加藤昌昭、割田仁、井泉瑠美子、西山亜由美、青木正志

FUS/TLS 遺伝子変異型と ALS 表現形の関連について

第 55 回日本神経学会総会 2014 年 5 月 21 日~24 日 福岡

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

家族性ALSにおける遺伝子解析

ALS家系の集積

遺伝子診断

新規原因遺伝子の同定

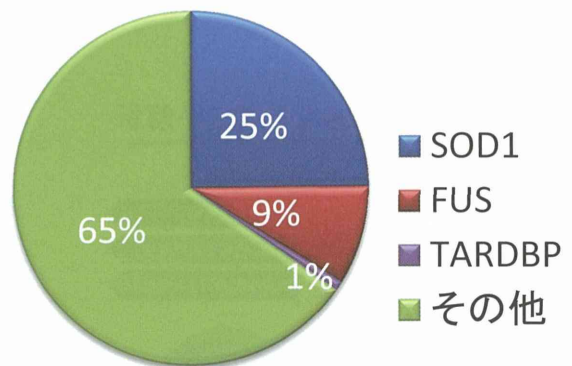
122家系を集積

35%に遺伝子変異同定

新規原因遺伝子を解析中

解析遺伝子

SOD1
FUS/TLS
TDP-43
VCP
C9ORF72
PFN1



ALS 医療ニーズと地域医療資源調査

吉良潤一¹⁾

小早川優子¹⁾, 山崎亮¹⁾, 岩木三保²⁾, 三小田千春¹⁾

¹⁾九州大学大学院医学研究院神経内科学分野, ²⁾福岡難病医療連絡協議会

研究要旨

有効な治療法のない神経変性疾患患者にとって、症状を自覚してから医療機関を受診し診断・告知を受け、療養生活を送る過程で必要な医療資源を適切な時期に受給することが、患者およびその家族の身体的・心理的・経済的負担を軽減する上で重要である。神経変性疾患の自然歴に対応した医療ニーズと地域医療資源のギャップを調査し、地域特性に基づいた解消策を考案することを目標とし、本年度は筋萎縮性側索硬化症患者を対象としたアンケート調査を行い、患者・家族の感じている医療ニーズを明らかにすることを目標とした。次年度の医療関係者を対象とした地域医療資源に関する調査とあわせ、医療ニーズと地域医療資源のギャップを明らかにし、地域特性に基づいた解消策を立案する。

A.研究目的

神経変性疾患の自然歴に対応した医療ニーズと地域医療資源のギャップを調査し、地域特性に基づいた解消策を立案する。その第1段階として、本年度は筋萎縮性側索硬化症(ALS)患者を対象にアンケート調査を行い、ALS患者およびその家族が必要と感じている医療資源を把握する。

B.研究方法

神経変性疾患の代表であるALS患者を対象に、アンケート調査を行った。アンケートは患者がALSと診断されてからの療養状況や、公的支援制度の認識・利用の状況、疾患についての情報源、心理的サポートの有無など、必要な医療資源とその充足度を尋ねる多項肢選択式の設問とした。胃瘻や人工呼吸器に関する設問については、これらについてインフォームドコンセントを得ている患者のみを対象とすることとし、胃瘻や人工呼吸器についての設問を含むアンケート(28問)と、含まないアンケート(24問)を準備した。全国の班員および難病医療専門員に患者へのアンケートの配布を依頼した。

C.研究結果

平成26年10月21日に九州大学病院倫理審査承認を得た。平成26年11月18日に班員および全国の難病医療専門員へアンケート用紙配布を依頼し、平成27年1月5日時点で、10都道府県より41部回収している。現在までの集計では、ALS患者が利

用できる可能性のある社会資源の中で、重度障害者入院時コミュニケーション事業、障害者総合支援法による重度訪問介護についての認知度が低く、利用者が少ないことがわかった。また在宅療養において、胃瘻管理は比較的スムーズに受け入れられているが、痰の吸引や人工呼吸器管理に関しては、介護者の確保が問題となっていることがわかった。

D.考察

本研究は地域ごとの医療ニーズと医療資源のギャップを明らかにすることを目的としているが、現在アンケートを回収できている地域には偏りがあり、より幅広い地域からアンケートを回収できるよう、配布を追加する予定である。

E.結論

本年度中にアンケートの回収を終え、集計を行う。次年度は、医療関係者を対象とした医療資源の現状に関する調査を行い、本年度の結果と対比させ、医療ニーズと地域医療資源のギャップを明らかにし、解消策を立案する。

F.健康危険情報 なし。

G.研究発表 1.論文発表 なし 2.学会発表 神経変性疾患領域における基盤的調査研究班平成26年度班会議

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

ALS 医療ニーズと地域医療資源調査

九州大学大学院医学研究院神経内科学 吉良 潤一
小早川 優子、山崎亮
福岡難病医療連絡協議会 岩木 三保

◆目的◆ 神経変性疾患の自然歴に対応した医療ニーズと地域医療資源のギャップを調査し、地域特性に基づいた解消策を考案する。

◆方法◆

第1段階 (平成26年度)

患者・家族の感じている医療ニーズを明らかにする

第2段階 (平成27年度)

地域ごとの医療資源の現状を把握する
(医療関係者を対象としたアンケート調査)

ギャップを明らかにし、地域ごとの解消策を考案する

<方法> ALS患者を対象としたアンケート調査

<調査内容> 診断されてからの療養状況、必要な医療資源とその充足度について

<配布方法> 班員の先生方、難病医療専門員の方に配布を依頼

<目標配布数> 1000部 (1都道府県あたり約20部)

<スケジュール> アンケート用紙の発送 平成26年11月18日
アンケート回収期限 平成27年3月27日

臨床情報・生体試料の収集と解析 ALS

横田隆徳¹⁾，叶内 匡²⁾，大久保卓哉¹⁾

¹⁾ 東京医科歯科大学大学院 脳神経病態学分野

²⁾ 東京医科歯科大学医学部附属病院 検査部

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の進行を局所症状の重症化（local progression）と局所から他身体領域への症状進展（regional spread）に分け、両者の進行速度の関係に基づき、進行機序を背景とするであろう ALS の新たな病型分類が可能か探索した。対象は上肢（下肢）に初発し次に下肢（上肢）へ進展した孤発性 ALS 患者各 17～21 名。Local progression speed の指標に初発部位の改訂 ALS 機能評価尺度の低下速度と CMAP 振幅減少率を、regional spread speed の指標に初発から次の領域に症状が出るまでの時間を診療録から後方視的に収集し、散布図と回帰分析により両者の関係を調べた。その結果、ALS は ①両者が一次相関する相関型、②局所症状の重症化が優位な局所進行優位型、③他身体領域への進展が優位な領域進展型の少なくとも 3 型に分類しうる可能性が考えられた。

A.研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、運動症状が体の一部に初発しその後他の身体領域に広がることが多く、症状の広がる速度が速い症例ほど予後が不良であるとの報告がある（Turner MR *et al.* Amyotroph Lateral Scler 2010）。

近年、神経変性疾患の病態機序の一つとして、異常タンパクが隣接するニューロン間を伝播することで疾患が進行するという prion-like propagation 仮説が提唱されており（Goedert M *et al.* Trends Neurosci 2010）、治療の新たな標的となりうるのではないかと注目されている。我々は ALS の進行を ①筋力低下や筋萎縮といった局所症状の重症化（local progression）と ②局所から他身体領域への症状進展（regional spread）の 2 つに分けて考えることを提唱しているが（Kanouchi T *et al.* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012）、細胞レベルでいうと、local progression は当該筋の運動ニューロンプール内で変性した運動ニューロンの数が増えること、regional spread は異なる運動ニューロンプールにそれが広がることにそれぞれ相当する。ALS に

prion-like propagation という病態機序を想定するならば、regional spread だけでなく、local progression も同じ運動ニューロンプール内における cell-to-cell propagation の結果と考えることができる。もし病因因子が初発運動ニューロンから周囲の正常な運動ニューロンへとドミノ倒しに伝播して ALS が進行するのであれば、病変は連続的に進展し、初発運動ニューロンプールでの障害進行速度（local progression speed）と他の身体領域に障害の広がる速度（regional spread speed）には何らかの正相関があるはずである。しかし、2011 年度の厚生労働科学研究費補助金（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（分担）研究報告書で報告したように、針筋電図による我々の研究では ALS の病変進展は必ずしも連続的とは限らない（Sekiguchi T *et al.* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2014）。臨床的な観察からも症状の進行パターンは、一側の手（足）に初発し対側同肢、同側下肢（上肢）へと進展する典型的なものから、flail arm（leg）のような一部の症状が際立ち他身体領域になかなか進展しないものまで多様であり、疾患の進行

には複数の機序が関与している可能性がある。

そこで本調査研究は、local progression speed と regional spread speed との関係に基づき、背景にあるであろう疾患の進行機序の違いによる ALS の新たな病型分類が可能かどうか探索することを目的とする。

B.研究方法

パイロット研究として当院における孤発性 ALS 患者を対象に以下の 2 群について診療録に基づく後方視的データ収集を行った。1 群は上肢に初発し次に下肢へと症状の広がった患者群（上肢初発群）、もう 1 群は下肢に初発し次に上肢へと症状の広がった患者群（下肢初発群）である。各群の患者プロフィールを表 1 に示す。

Local progression speed の指標には改訂 ALS 機能評価尺度 (ALSFRS-R) の以下の項目、すなわち上肢では「着衣と身の周りの動作」、下肢では「歩行」のスコアが 3 点から 2 点に低下するまでの時間 (local progression time) を用いた。また、もう 1 つ別な local progression speed の指標として、上肢では短母指外転筋 (APB) の、下肢では母趾外転筋 (AH) の複合筋活動電位 (CMAP) の振幅が正常平均値から標準偏差換算でどの程度低下しているかを発症から初回検査日までの時間で除した値 (CMAP 振幅減少率) も用いた。計算式を以下に示す。

● CMAP 振幅減少率 = 標準化振幅減少量 ÷ 発症から初回検査までの時間 (月)。

● 標準化振幅減少量 = (初回検査時の遠位 CMAP 振幅 - 正常平均値) ÷ 正常標準偏差。

Regional spread speed の指標には、初発部位の上肢 (下肢) から下肢 (上肢) に症状が広がるまでの時間 (1st-2nd symptom interval) を用いた。これらを指標に local progression speed vs regional spread speed で線形回帰分析を行った。

なお本研究は、東京医科歯科大学医学部倫理委員会で承認された「筋力低下をきたす疾患の障害分布の検索」(1091 番) に基づいて行った。

Local progression speed	患者数	上肢初発群		下肢初発群	
		ALSFRS-R	CMAP 振幅減少率	ALSFRS-R	CMAP 振幅減少率
総数		17	21	18	17
男性		8	8	11	10
女性		9	13	7	7
診断	Definite	3	4	2	3
	Probable	7	9	9	8
	Probable Lab. Supp.	0	0	2	1
	Possible	7	8	5	5
	年齢 (平均)	40~75 (59.2)	40~75 (60.8)	46~78 (64.4)	50~78 (64.9)

表 1 対象患者群プロフィール

診断は改訂 El Escorial 診断基準による。Probable Lab. Supp. Clinically Probable-Laboratory Supported

C.研究結果

1. ALSFRS-R を用いた解析

上肢初発群の local progression time は 2~24 ヶ月 (平均 8.8 ヶ月)、1st-2nd symptom interval は 0~24 ヶ月 (平均 7.0 ヶ月) で、下肢初発群はそれぞれ 2~72 ヶ月 (平均 16.7 ヶ月)、0~74 ヶ月 (平均 14.5 ヶ月) であった (図 1、2)。

上肢初発群において local progression time (local progression speed) と 1st-2nd symptom interval (regional spread speed) との間に有意な一次相関は認めなかった (p=0.62)。一方下肢初発群では、両者の間に相関係数 0.90 の有意な一次相関がみられた (p=3.85×10⁻⁷)。

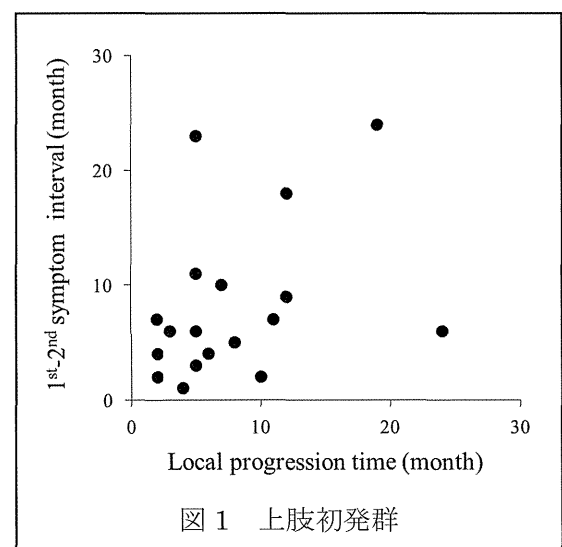


図 1 上肢初発群

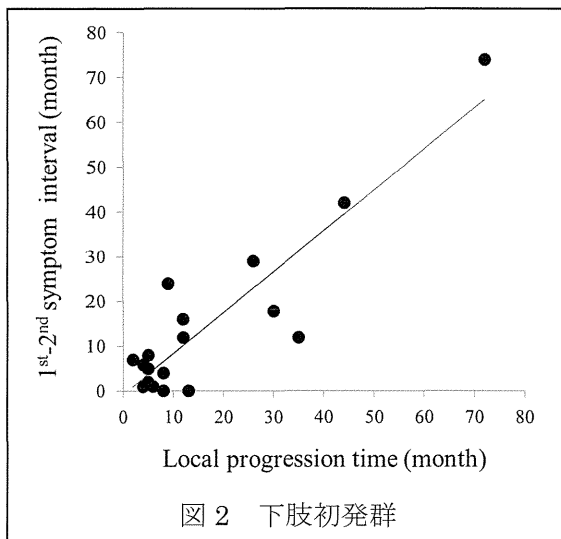


図2 下肢初発群

2. CMAP 振幅減少率を用いた解析

上肢初発群の CMAP 振幅減少率は $-4.39 \sim -0.15$ SD/月（平均 -1.11 SD/月）、1st-2nd symptom interval は0~24 ヶ月（平均 6.0 ヶ月）で、下肢初発群はそれぞれ $-3.18 \sim -0.01$ SD/月（平均 -0.64 /月）、0~48 ヶ月（平均 14.4 ヶ月）だった（図 3、4）。

上肢初発群において CMAP 振幅減少率（local progression speed）と 1st-2nd symptom interval（regional spread speed）との間に有意な一次相関は認めなかった（ $p=0.46$ ）。下肢初発群でも全例解析では両者に有意な一次相関はなかったが（ $p=0.18$ ）、散布図上はずれ値といえる 1 例（図 4 の■、CMAP 振幅減少率 -3.18 SD/月、1st-2nd symptom interval 48 ヶ月の症例）があったため、これを除いて解析したところ、相関係数 0.61 の有意な一次相関を認めた（ $P=0.01$ ）。

D. 考察

上肢初発群において、ALSFRS-R、CMAP 振幅減少率のいずれを指標に用いても local progression speed と regional spread speed との間に有意な相関を認めなかったことは、発症部位の単一病変から隣接する周囲にドミノ倒しのようにつながって病変が広がるといった単純な機序（single seed and simple spread）だけでは ALS の進行が説明できないことをおそらく示唆する

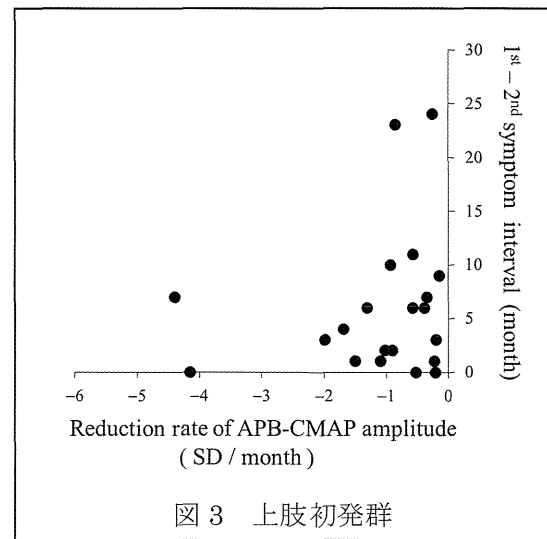


図3 上肢初発群

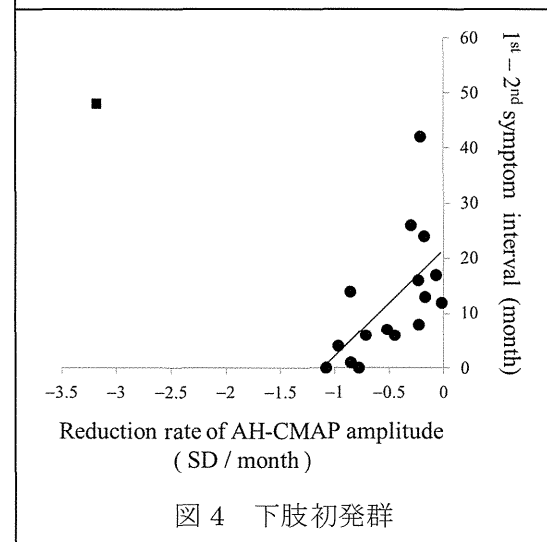


図4 下肢初発群

もので、ALS の進行には複数の病態機序が関与しているものと推察される。

一方で ALSFRS-R を指標とした下肢初発群において local progression speed と regional spread speed との間に有意な一次相関を認めたことは、この群の疾患進行の背景に何らかの共通する病態機序（それが prion-like propagation による single seed and simple spread かどうかはわからない）があることを思わせる。Local progression speed と regional spread speed が相関するこうした進行パターンを相関型と呼ぶこととすると、CMAP 振幅減少率を指標とした下肢初発群には、散布図上相関型の患者群からはずれた、すなわち別な進行パターンの患者が少なくとも一人いる可能性が考えられる。相関型と比べ local progression speed が速く regional spread

speed の遅いこの進行パターンを局所進行優位型と名付ける。また、図 5 は CMAP 振幅減少率を指標とした下肢初発群と上肢初発群を重ね描きした散布図だが、上肢初発群の中にも下肢初発群の相関型（図中 A）と分布の重なる一群が見られるほか、それとは別に、local progression speed の割に regional spread speed の速い（局所進行優位型（図中 B）とは逆の）いわば領域進展優位型と呼ぶる進行パターンの数例がある（図中 C）と見ることも可能なように思われる。

このように、local progression speed と regional spread speed の関係に基づく進行パターンから、ALS は相関型、局所進行優位型、領域進展優位型の少なくとも 3 型に分類しうる可能性が考えられるが、ごく少数例でのパイロット研究である現段階においてはまだ仮説に過ぎず、今後多数例を集積して検証する必要がある。

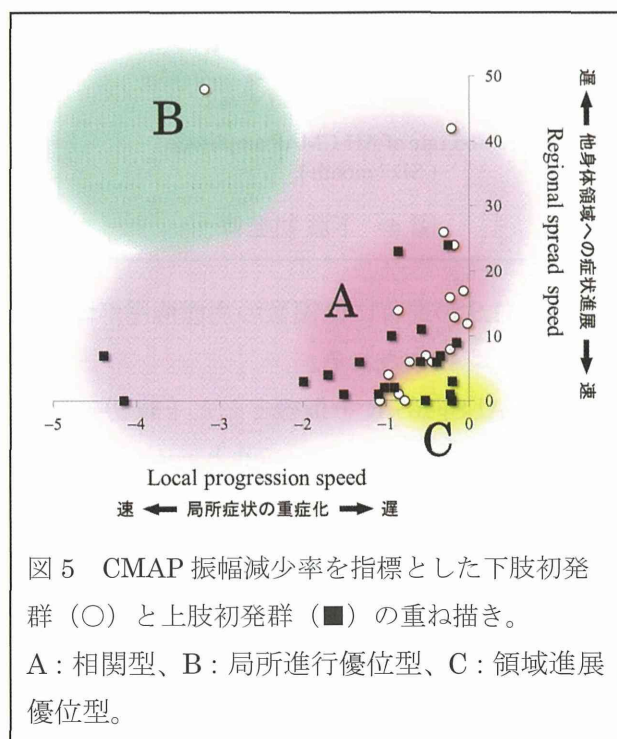


図 5 CMAP 振幅減少率を指標とした下肢初発群（○）と上肢初発群（■）の重ね描き。
A：相関型、B：局所進行優位型、C：領域進展優位型。

E. 結論

Local progression speed と regional spread speed の関係に基づく進行パターンから ALS は少なくとも相関型、局所進行優位型、領域進展優位型の 3 型に分類しうる可能性が示唆される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

関口輝彦、叶内 匡、横田隆徳. TDP-43 proteinopathy としての ALS：病変は不連続に広がるか. 特集 I 伝播する蛋白質：プリオンイド仮説. 神経内科 2014;81:644-649.

2. 学会発表

1. 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身体領域への症状進展の関係. 第 55 回日本神経学会学術大会. 福岡、2014.5.21.
2. 叶内 匡、関口輝彦、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身体領域への症状進展の関係. 第 44 回日本臨床神経生理学会. 福岡、2014.11.20.

H. 知的所有権の取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

なし

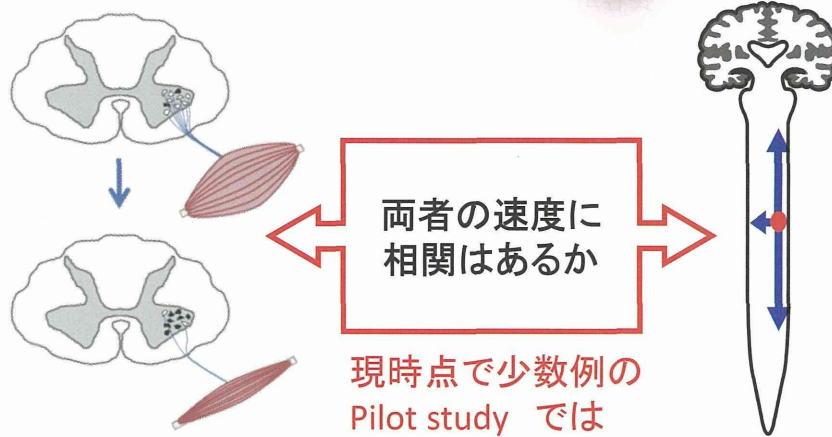
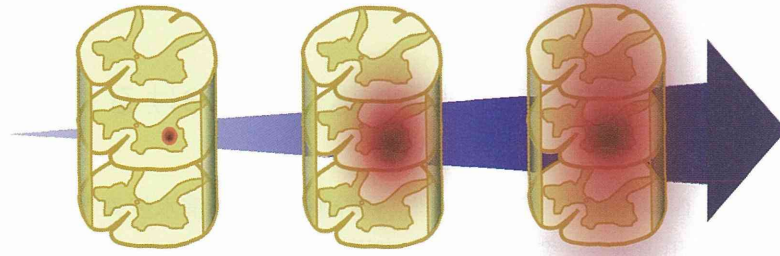
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

プリオン様伝播仮説によるALSの進行



早期の
予後予測



初発部位の局所症状
の重症化
(local progression)



他の身体部位への
症状の拡大
(regional spread)



指標① ALS-FRS-R サブスコアの
低下に要する時間

指標: 初発部位から次の部位に
症状が出るまでの時間

指標② 複合筋活動電位の
振幅低下率

今後

さらに多数例での解析が必要

多施設共同研究
による多数例の集積

JaCALS に
すでにあるデータで
解析可能な内容か

筋萎縮性側索硬化症および前頭側頭型認知症における ALS-FTD-Q 調査研究

○渡辺保裕¹⁾，足立芳樹²⁾，西山和利³⁾，花島律子³⁾，荻野美恵子³⁾，清水俊夫⁴⁾，木村英紀⁴⁾，祖父江元⁵⁾，渡辺宏久⁵⁾，熱田直樹⁵⁾，榊田道人⁵⁾，饗場郁子⁶⁾，市川博雄⁷⁾，吉野英⁸⁾，横田修⁹⁾，池田学¹⁰⁾，和泉唯信¹¹⁾，野元正弘¹²⁾，青木正志¹³⁾，長谷川一子¹⁴⁾，織田雅也¹⁵⁾，中島健二¹⁾

1 鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経内科学分野，2 独立行政法人国立病院機構松江医療センター神経内科，3 北里大学医学部神経内科学，4 東京都立神経病院，5 名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学，6 独立行政法人国立病院機構東名古屋病院神経内科，7 昭和大学藤が丘病院脳神経内科，8 吉野内科・神経内科医院，9 きのこエスポール病院，10 熊本大学神経精神医学分野，11 徳島大学病院神経内科，12 愛媛大学大学院医学系研究科薬物療法・神経内科，13 東北大学大学院医学系研究科神経内科学，14 独立行政法人国立病院機構相模原病院神経内科，15 ビハーラ花の里病院

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）と前頭側頭型認知症（FTD）の行動・性格変化の評価尺度を確立する。ALS と FTD の精神症状の評価尺度 ALS-FTD-Q の日本語版を作成し，戻し翻訳で原文（英語）と整合性の検討を行った。全国 15 施設で，FTD を合併しない ALS 症例（100 例），FTD 例（35 例，ALS の合併の有無は問わず），健常者（35 名）を目標とする調査を実施中である。現在当院では患者と健常者を合わせて約 40 例に ALS-FTD-Q 調査を実施し，共同研究施設の 2 施設で各 4 例，2 例の調査を実施している。現時点で，FTD 症例における本スコアが原著よりも低い傾向にあること，FTD の合併のない ALS と考えていた症例中にも本スコア高値例が存在することが判明した。ALS-FTD-Q 調査の実施を通して，ALS/FTD 例の精神症状の日本人における特徴が明らかになることが期待される。

A.研究目的

筋萎縮側索硬化症（ALS）と前頭側頭型認知症 {特に behavioral variant 型（bvFTD）} の合併や相互への伸展が注目されている。ALS による運動症状と bvFTD の認知障害のため，患者本人からの認知・行動・性格変化の詳細な評価は困難であり家族や介護者からの聴取が重要となる。本研究では，ALS および bvFTD 症例の精神・神経症状の評価法の確立を目的とする。

B.研究方法

ALS および bvFTD 症例の認知・行動・性格変化の評価の目的でオランダから報告された amyotrophic lateral sclerosis-frontotemporal dementia-questionnaire（ALS-FTD-Q，Neurology

2012;79:1377-1383）の日本語化と原文との整合性の検討を行う。全国 15 施設にて，bvFTD を合併しない ALS 症例（100 例），bvFTD 例（35 例，ALS の合併の有無は問わない），健常者（35 名）を目標として他施設共同調査を行う。匿名化の上，遺伝情報を含めた臨床情報を得る。ALS 症状を有する例には ALS-FTD-Q 調査に加え frontal behavioral inventory（FBI），ALS functional rating scale（ALSFRS），frontal assessment battery（FAB），Montreal cognitive assessment（MOCA），hospital anxiety and depression scale（HAD），単語想起課題を実施する。日本版 ALS-FTD-Q の妥当性の検討とオランダと日本での ALS，FTD/ALS-FTD 症例の国際比較を行う。

今回は鳥取大学の46例と徳島大学の4例の解析を行った。内訳はALS 26例, bv-FTD (ALSの合併の有無を問わない) 2例, 進行性非流暢性失語 (PNFA) または意味性認知症 (SD) の4例, 正常対照例の解析を行った。

(倫理面への配慮)

主研究施設である鳥取大学で倫理審査申請を行う。研究協力施設それぞれでも倫理申請し, 倫理委員会を有さない施設は主研究施設で一括して倫理申請を行う。

C. 研究結果および考察

ALS-FTD-Q は翻訳と (英語への) 逆翻訳を完了し日本版 ALS-FTD-Q を作成した。当施設を含めた全国14施設の共同研究チームを立ち上げ平成26年7月25日にキックオフミーティングを実施した。現在当院では患者と健常者を合わせて約40例にALS-FTD-Q調査を施行した。他施設ではそれぞれ倫理委員会の申請準備, 申請終了, 調査に着手している状況にある。

ALS-FTD-QスコアはALS症例に比べbvFTD症例で高い傾向にあり, ALS症例もcontrolに比して高値を呈する例が見られた (図1)。ALS-FTD-Qと他の項目 (ALSFRS, FAB, MoCA, FBI) との相関の検討ではALS-FTD-QはFBIと相関する傾向を認めた (図2)。今後症例数の追加により, 更に詳細な検討を行う。

D. 結論

今後ALS-FTD-Q調査の実施を通して, 日本人においてALSおよびbvFTD症例の認知・行動・性格変化の特徴が明らかになることが期待される。

E. 健康危険情報

なし

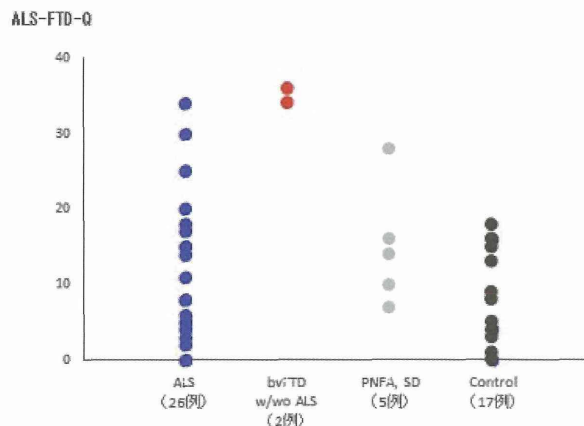


図1 ALS-FTD-Qのスコア分布

左よりALS (26例), bvFTD with or without (w/wo) ALS (2例), PNFA およびSD (5例), control (17例)。

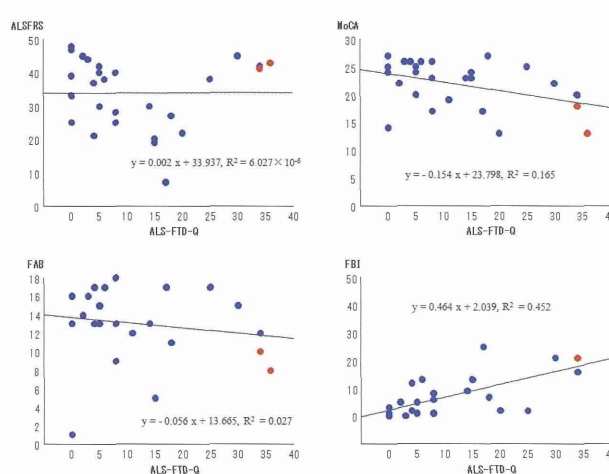


図2 ALS-FTD-QとALSFRS, FAB, MoCA, FBIとの相関

ALS-FTD-QはFBIと相関する傾向を認めた。

F. 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

なし

2. 学会発表

なし

G.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

筋萎縮性側索硬化症および前頭側頭型認知症におけるALS-FTD-Q調査研究

ALSおよびbvFTD症例の精神・神経症状の評価法の確立を目的とする多施設共同研究

介護者調査と患者調査よりなる

同一の規準での国際比較

日本でのALSおよびbvFTDの特徴を明らかにすることにより、治療や介護の領域に有用な情報をもたらす

研究実施施設(登録順)
鳥取大学医学部脳神経内科
独立行政法人国立病院機構松江医療センター 神経内科
北里大学医学部神経内科学
東京都立神経病院 神経内科
名古屋大学大学院医学系研究科神経内科学
独立行政法人国立病院機構東名古屋病院 神経内科
昭和大学藤が丘病院脳神経内科
吉野内科・神経内科医院
きのこエスポール病院
熊本大学神経精神医学分野
愛媛大学大学院医学系研究科 薬物療法・神経内科
東北大学大学院医学系研究科 神経内科学
独立行政法人国立病院機構 相模原病院 神経内科

	ALS	ALS-bvFTD	bvFTD	Control
介護者	ALS-FTD-Q FBI	ALS-FTD-Q FBI	ALS-FTD-Q	ALS-FTD-Q
患者	臨床情報, ALSFRS-R, FAB,MoCA,HAD, 単語想起課題	臨床情報, ALSFRS-R, FAB,MoCA,HAD, 単語想起課題	臨床情報	
目標症例数	100例	35例		35例

臨床情報・生体試料の収集と解析：脊髄性筋萎縮症（SMA）

報告者 齋藤加代子^{1),2)}

報告者 久保祐二^{1),2)}、荒川玲子¹⁾、金子芳^{1),2)}、梅野愛子¹⁾、青木亮子¹⁾

¹⁾ 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター

²⁾ 東京女子医科大学先端生命医科学専攻遺伝子医学分野

研究要旨

脊髄性筋萎縮症（SMA）は脊髄前角細胞の変性による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患である。患者自身が主体性を有する SMA 患者登録を 2012 年 10 月より開始している。2014 年 10 月現在、登録者総数 145 名、内訳は I 型 56 名、II 型 62 名、III 型 20 名、IV 型 6 名、SMA 疑い 1 名である。2014 年には SMA に対してバルプロ酸ナトリウムを用いた医師主導治験を開始した。また、SMA における正確で簡便な遺伝子診断法を確立することを目的とした研究を行った。SMA の原因遺伝子は survival motor neuron 1 (*SMN1*) 遺伝子であり、*SMN1* 遺伝子と 5 塩基のみの違いの *SMN2* 遺伝子も存在する。Long-Range PCR を利用することで *SMN1* 遺伝子のみをシーケンスすることを可能にし、SMA III 型 3 症例において複合ヘテロ変異、SMA III 型 8 症例において hybrid *SMN* 遺伝子を示す遺伝子変異を同定した。本解析法により、これまでの検査方法では検出することが出来なかった遺伝子変異や hybrid *SMN* 遺伝子を検出することが可能になった。

A. 研究背景・目的

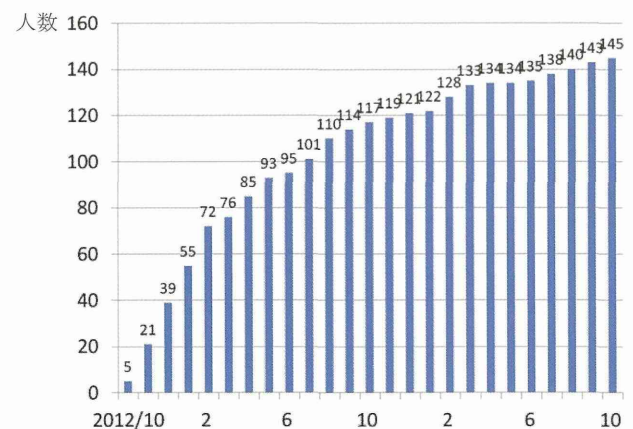
脊髄性筋萎縮症（SMA）は脊髄前角細胞の変性による筋萎縮と進行性筋力低下を特徴とする常染色体劣性遺伝性疾患である。現在、SMA の根本治療法はないが、治療に向けた取り組みが始まっている。

当施設では、SMA の治療において SMN 蛋白質を増やす機序を持つヒストン脱アセチル化酵素

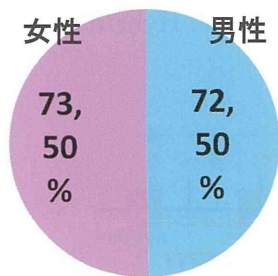
（HDAC）阻害効果を有するバルプロ酸ナトリウム（VPA）投与による有効性（病態改善効果）と安全性を調べる目的で、厚労科研補助金難治性疾患等実用化研究事業「小児期発症脊髄性筋萎縮症に対するバルプロ酸ナトリウム多施設共同医師主導治験準備研究」（研究代表者：齋藤加代子）がスタートし、医師主導治験を開始している。さらに、米国企業発信にて、*SMN2*mRNA におけるエクソン 7 のスプライシングを抑えるアンチセンスオリゴヌクレオチド製剤の髄腔内投与のグロ

ーバル多施設共同治験が PMDA 対面助言を終え、2015 年よりスタートする。このような SMA の臨床試験の進歩の中で、患者自身が主体性を有する患者登録を 2012 年 10 月より開始した。2014 年 10 月現在、登録者総数 145 名、内訳は I 型 56 名、II 型 62 名、III 型 20 名、IV 型 6 名、SMA 疑い 1 名である（図 1）。

a. 登録人数



b. 性別



臨床型

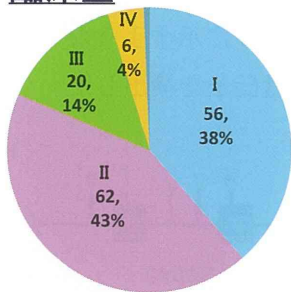


図1 SMA患者登録状況

我々は、SMAの診断において、正確で簡便な遺伝子診断法を確立することを目的とした研究を行った。SMAの原因遺伝子は survival motor neuron 1 (*SMN1*) 遺伝子であり、第5染色体長腕 5q13 に存在し、同領域に向反性に重複した配列の *SMN2* 遺伝子も存在する。*SMN1* 遺伝子と *SMN2* 遺伝子には5塩基の違いしかいないため *SMN1* 遺伝子のみを解析することは難しい。従来、実施してきた *SMN1* 遺伝子を単離し、シーケンスする方法の問題点を克服する診断法を確立した。主に昨年度の報告からアップデートした内容についてここでは報告する。

B.研究方法

対象：患者,互いに血縁関係のない SMA 患者 20 例 (I 型 1 例、III 型 18 例、IV 型 1 例) を対象とした。SMA I 型 1 例は先行研究で 1 コピーの *SMN1* 遺伝子を示し、その *SMN1* 遺伝子上に点変異 (c. 275G>C、p.W92S) が同定された症例であり (Nishio et al. 2007)、本研究で開発した方法を評価するためのサンプルとした。コントロール,血縁関係のない 10 例。

MLPA 法を用いたコピー数解析 : MLPA 法を用いて *SMN* 遺伝子と近傍の遺伝子のコピー数を測定した。

MLPA : MRC-Holland 社製造の Salsa® MLPA® kit を使用。

New Long-Range PCR (nLR-PCR)を用いた *SMN1* 遺伝子解析 : *SMN1* 遺伝子の単離は、

SMN2 遺伝子と異なるエクソン 8 上の 1 塩基の違いを利用し、エクソン 1 の 654 bp 上流領域からの LR-PCR 法により *SMN1* 遺伝子領域 (28.2 kb) を特異的に増幅し、*SMN1* 遺伝子の全エクソン領域のシーケンスを行った。

(倫理面への配慮)

本研究の「脊髄性筋萎縮症の患者登録」および「脊髄性筋萎縮症の遺伝子解析」は、東京女子医科大学の倫理委員会の承認を得ている。

C.研究結果

1. New Long-Range PCR (nLR-PCR)を用いた *SMN1* 遺伝子解析法の評価

1-1. コントロールと *SMN1* 遺伝子エクソン 7,8 の欠失を示す患者 DNA の解析

コントロールは *SMN1* 遺伝子領域を特異的に増幅できるかの確認のために、患者 DNA は非特異的な増幅が起こらないことを確認するために用いた。コントロールは全例 (8 例) 28.2 kb の PCR 産物を確認した。患者 DNA (8 例) ではほとんど PCR 産物は確認できなかった (PCR 産物はコントロールと比較して有意に少なかった, P<0.05) (図 2)。

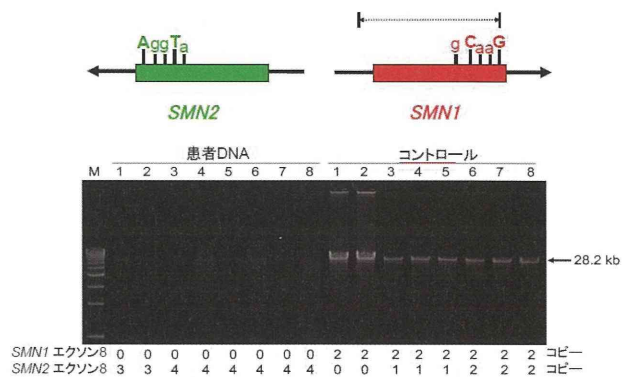


図2 コントロールと患者 DNA の nLR-PCR による *SMN1* 遺伝子増幅

得られたコントロールの PCR 産物をシーケンスしたところ、全例において *SMN1* 遺伝子固有の配列を示した (図 3)。

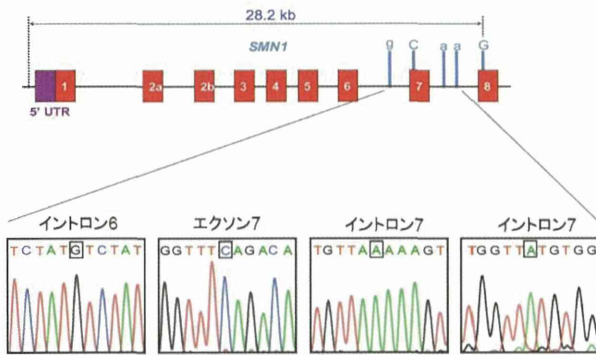


図3 コントロールのPCR産物のシーケンス

1-2. *SMN1* 遺伝子上に点変異 (c. 275G>C) を示す患者 DNA の解析

SMN 遺伝子 (*SMN1*, *SMN2* 遺伝子) の全エクソン領域のシーケンスを行ったところ、エクソン 3 に G と C を示す 2 つのシグナルを検出した (図 4a)。メイン (強度の高い) シグナルは G を示すシグナルであった。nLR-PCR により *SMN1* 遺伝子を単離しシーケンスを行ったところ、C を示すシグナルのみを検出した (図 4b)。

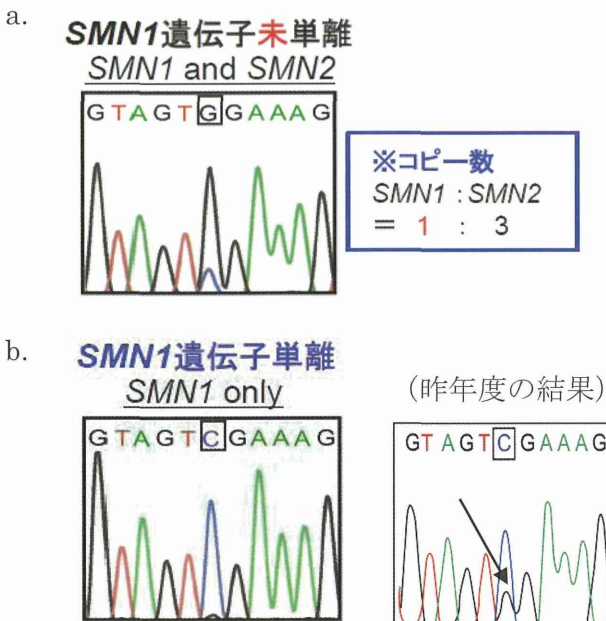


図4 *SMN1* 遺伝子上に点変異 (c. 275G>C) を示す患者 DNA の nLR-PCR 解析

2. nLR-PCR の新しい活用例

SMN1 遺伝子エクソン 7 のみ欠失を示す患者

DNA (9 例) について、nLR-PCR により *SMN1* 遺伝子を単離し、シーケンスを行ったところ、図 5 に示すような 3 つのタイプの Hybrid *SMN* 遺伝子を検出した。

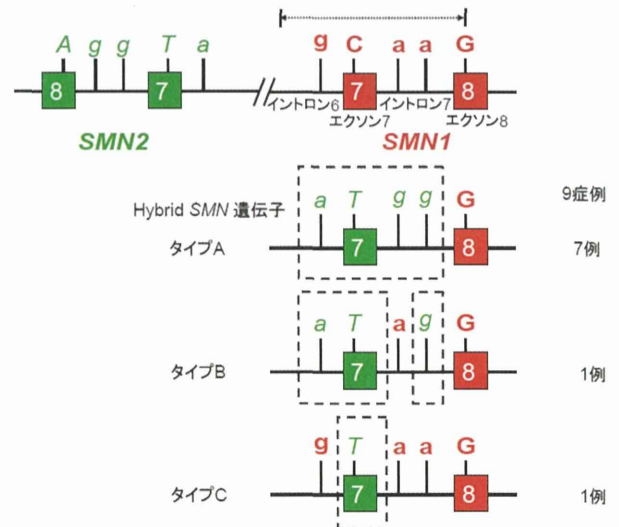


図5 Hybrid *SMN* 遺伝子の検出

D. 考察

1. nLR-PCR を用いた *SMN1* 遺伝子解析法の評価

コントロールと *SMN1* 遺伝子エクソン 7,8 の欠失を示す患者 DNA の解析により、nLR-PCR を用いることで *SMN1* 遺伝子のみを単離することができた (図 2, 3)。図 4 に示すように *SMN1* 遺伝子が 1 コピー、*SMN2* 遺伝子が 3 コピー存在するような *SMN1* 遺伝子コピー数が少ないような症例でもシーケンスでは *SMN1* 遺伝子のみのシグナルを検出することができた。プライマーや PCR 反応条件の最適化をしたことで、昨年度の方法よりもさらに特異性が向上した (図 4b)。

2. nLR-PCR の新しい活用例

SMN1 遺伝子エクソン 7 の欠失を示す患者 DNA でも *SMN1* 遺伝子エクソン 8 を保持していれば、nLR-PCR 解析ができることを示した。このような症例を解析したところ、図 5 に示すような Hybrid *SMN* 遺伝子を検出された。つまり、*SMN1* 遺伝子エクソン 7 は見かけ上欠失してい

るように見えただけで、実際には *SMN1* 遺伝子 - *SMN2* 遺伝子間で遺伝子変換 (gene conversion) が起こっていたことが明らかになった。また、タイプ A のような遺伝子変換が多く検出されたが、まれにタイプ B のような複雑な遺伝子変換やタイプ C のような小規模な遺伝子変換も存在することが示された。

3. nLR-PCR 解析による *SMN1* 遺伝子変異検出

nLR-PCR 解析により、図 6 に示すような *SMN1* 遺伝子変異を検出することができた (図 6 赤字)。

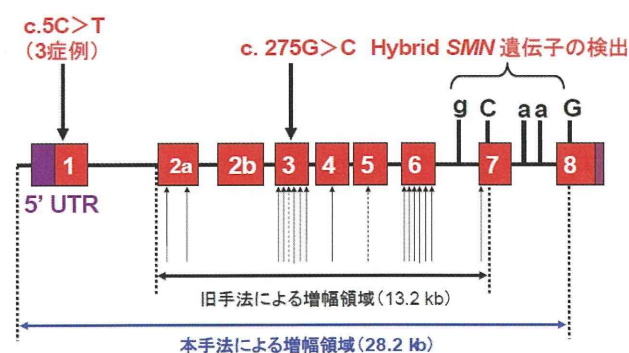


図 6 nLR-PCR 解析により検出された *SMN1* 遺伝子変異

E. 結論

本解析法により、これまでの検査方法では検出することが出来なかった遺伝子変異や hybrid *SMN* 遺伝子を検出することが可能になった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto T, Sato H, Lai PS, Nurputra DK, Harahap NI, Morikawa S, Nishimura N, Kurashige T, Ohshita T, Nakajima H, Yamada H, Nishida Y, Toda S, Takanashi J, Takeuchi A, Tohyama Y, Kubo Y, Saito K, Takeshima Y, Matsuo M, Nishio H.

Intragenic mutations in *SMN1* may contribute more significantly to clinical severity than *SMN2* copy numbers in some spinal muscular atrophy (SMA) patients. *Brain Dev.*2014; 36(10):914-920.

- 2) Arakawa M, Arakawa R, Tatsumi S, Aoki R, Saito K, Nomoto A. A novel evaluation method of survival motor neuron protein as a biomarker of spinal muscular atrophy by imaging flow cytometry. *Biochem Biophys Res Commun.*2014; 453(3):368-374.
- 3) Saito T, Nurputra DK, Harahap NI, Indra S.K.Harahap, Yamamoto H, Muneshige E, Nishizono H, Matsumura T, Fujimura H, Sakoda S, Saito K, Nishio H. A study of valproic acid for patients with spinal muscular atrophy. *Neurology and Clinical Neuroscience.*2014:1-9.
- 4) Kato N, Sa'adah N, Rochmah MA, Harahap NI, Nurputra DK, Sato H, Nishimura N, Sadewa AH, Astuti I, Haryana SM, Saito T, Saito K, Nishio H, Takeuchi A. SMA Screening System Using Dried Blood Spots on Filter Paper : Application of COP-PCR to the *SMN1* Deletion Test. *Kobe J Med Sci.*2014; Epub ahead of print.
- 5) Harahap NI, Takeuchi A, Yusoff S, Tominaga K, Okinaga T, Kitai Y, Takarada T, Kubo Y, Saito K, Sa'adah N, Nurputra DK, Nishimura N, Saito T, Nishio H. Trinucleotide insertion in the *SMN2* promoter may not be related to the clinical phenotype of SMA. *Brain Dev.*2014; Epub ahead of print.
- 6) 斎藤加代子. パーソナルゲノム解析の医療応用と遺伝カウンセリングの実践. *医薬ジャーナル*,2014; 50(3):77-957-961.
- 7) 斎藤加代子. 遺伝子検査施行時の倫理的対応.

周産期医学.2014; 44(2):153-156.

- 8) 浦野真理、斎藤加代子. 出生前診断の遺伝カウンセリング. 小児科臨床. 2014;67(10):1631-1635.
- 9) 久保祐二、伊藤万由理、青木亮子、斎藤加代子. 脊髄性筋萎縮症における *SMN* 遺伝子のコピー数解析と遺伝カウンセリングへの応用. 日本遺伝カウンセリング学会誌.2014; 10;35(3):99-104.

2.学会発表

- 1) 斎藤加代子. 遺伝医療：遺伝学的検査と遺伝カウンセリング. 第33回愛媛県小児神経研究会. 2014.7.5. 愛媛
- 2) 久保祐二、青木亮子、近藤恵理、斎藤加代子. 次世代シーケンサーを用いた *SMN1* 遺伝子欠失を認めない脊髄性筋萎縮症のゲノム解析. 日本人類遺伝学会第59回大会.2014.11.20. 東京

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

- 1.特許取得
- 2.実用新案登録
- 3.その他
特になし

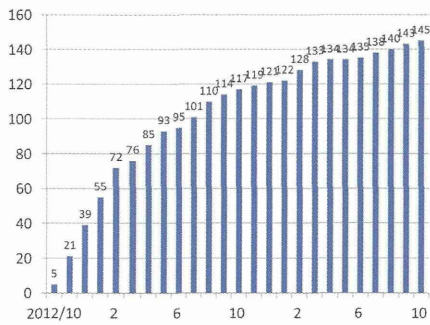
臨床情報・生体試料の収集と解析：脊髄性筋萎縮症(SMA)
 研究分担者 東京女子医科大学附属遺伝子医療センター 斎藤加代子

概要

- 「小児期発症脊髄性筋萎縮症(SMA)に対するバルプロ酸ナトリウム多施設共同医師主導治験準備研究」(研究代表者:斎藤加代子)がスタートした。
- SMAの臨床試験の進歩の中で、患者自身が主体性を有する患者登録を2012年10月より開始した。
- SMAにおける正確で簡便な遺伝子診断法を確立した。
 ⇒SMAⅢ型3症例において、共通の新規missense変異を同定した。
 ⇒SMAⅢ型8症例において、hybrid SMN geneを示す遺伝子変異を同定した。

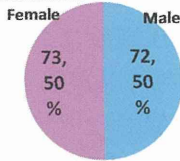
■ 患者登録

Number

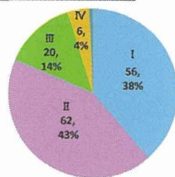


2014/10/20 現在

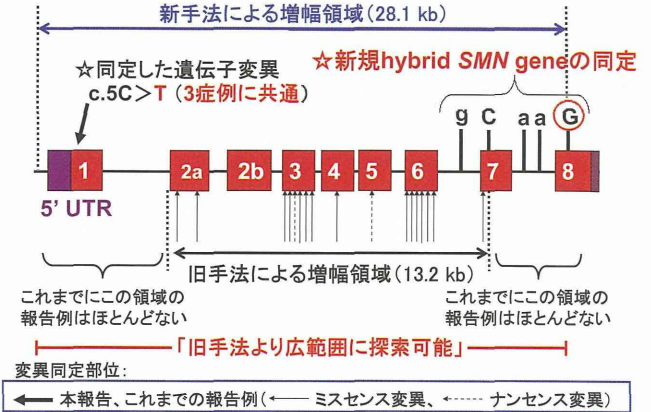
Gender



Clinical type



■ 診断法の確立



原発性側索硬化症 Primary lateral sclerosis (PLS)の疾患独立性と臨床像

秋本 千鶴, 森田 光哉
自治医科大学内科学講座 神経内科部門

原発性側索硬化症 Primary lateral sclerosis (PLS) の実態はいまなお不明なところがあり、本研究においてその疾患独立性を検討するとともに臨床像の解析を行なった。全国の神経内科を標榜する 728 医療機関に行なったアンケートでは、50 施設において計 75 症例の PLS 症例を診療していた。PLS の概念については、約 5 割の神経内科医が筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の一亜系とし、約 3 割が独立疾患とした。臨床像における ALS との相違点は、罹病期間が長く、瘳性対麻痺症状で発症する症例が多い点が挙げられる。今後 PLS 症例の集積および生体試料収集を行い、その臨床像および疾患特異的バイオマーカーについて検討を行なう予定である。

A.研究目的

原発性側索硬化症 Primary lateral sclerosis (PLS) は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の一亜系として分類される事もあり、その疾患独立性についてのコンセンサスは得られていない。また临床上、遺伝性瘳性対麻痺との鑑別が困難である事も知られている。そこで PLS の疾患特異性およびその臨床像を明らかとする目的で調査、研究を行うこととした。

B.研究方法

神経内科医の PLS に対する認識を調査する目的で、全国の神経内科を標榜する 728 医療施設に PLS 症例数の確認と疾患独立性について問うアンケート調査を行なった。また、当院における運動ニューロン疾患 (MND) 患者のデータベースをもとに PLS 該当症例を検索し、その臨床像を調査した。尚、本研究は自治医科大学ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会の承認を得て行なった。

C.研究結果

728 医療機関のうち 358 施設 (49.2%) より回答

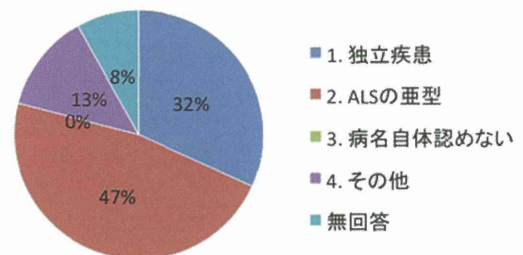
があり、うち 50 施設において計 75 症例を診療しているとの結果であった。疾患独立性については、独立疾患としたものが約 3 割、ALS の一亜型としたものが約 5 割であった。

アンケート調査結果（回答358医療機関）

1, PLSの本邦に於ける頻度

症例数	0	1	2	3	4	5	合計75症例
医療機関数	308	34	11	2	2	1	合計50施設

2, PLSの疾患独立性



当院 MND のデータベースに登録している 386 症例において、初回入院時に PLS を疑う症例は 15 症例 (3.9%) あった。これら 15 症例のうち現在も当院で follow up している 1 症例について調査した。62 歳時に構音障害で発症し、緩徐に構音障害が進行したが舌の萎縮や fasciculation は明らか