

- 72 Shi M, Zhu J, Wang R *et al.* Latent TGF- β structure and activation. *Nature* 2011; **474**: 343–9.
- 73 Grau S, Baldi A, Bussani R *et al.* Implications of the serine protease HtrA1 in amyloid precursor protein processing. *Proc. Natl Acad. Sci. U. S. A.* 2005; **102**: 6021–6.
- 74 Olson LE, Soriano P. PDGFR β signaling regulates mural cell plasticity and inhibits fat development. *Dev. Cell* 2011; **20**: 815–26.
- 75 Giachelli CM. Regulation of vascular calcification: roles of phosphate and osteopontin. *Circ. Res.* 2005; **96**: 717–22.

Features of Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy

Hiroaki Nozaki, MD, PhD; Masatoyo Nishizawa, MD, PhD; Osamu Onodera, MD, PhD

The cerebral small vessel system plays a fundamental role in maintaining higher brain function.¹ Although lacunar stroke has been recognized as a disease in which small vessels are mainly affected, advances in neuroradiological examination extend our knowledge of small vessel disease to white matter lesions, microbleeds, and cortical microinfarction.² Accumulating evidence indicates that the risk factors and the therapeutic strategies are different for large vessel disease and small vessel disease.³ Moreover, the recent discoveries on monogenic disorders, which mainly affect small vessels, clearly indicate that the human cerebral small vessels have distinct molecular characteristics of cerebral large vessels.⁴ However, little is known about the molecular pathogenesis of small vessel disease and how it is different from that of large vessel disease. The investigation of hereditary small vessel disease is necessary to clarify the molecular pathogenesis of cerebral small vessel disease (CSVD).

Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy is the most common dominant inherited CSVD, whereas cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL) is a rare form of inherited CSVD.^{5,6} Fukutake^{6,7} has proposed the clinical triad for CARASIL, leukoencephalopathy, alopecia, and lumbago and has summarized the clinical findings of CARASIL in these patients. The identification of the causative gene for CARASIL allows a new understanding of the molecular pathogenesis of CSVD.⁵ Although CARASIL has been considered to be restricted to Japan, we now know that CARASIL exists in other populations. In this review, we update the clinical findings of CARASIL confirmed by genetic analysis and molecular pathogenesis of CARASIL.

What Is CARASIL?

In 1976, Maeda et al⁸ reported familial unusual encephalopathy of the Binswanger's type without hypertension in siblings whose parents were consanguineous. They showed early

adult-onset dementia, pseudobulbar palsy, and pyramidal and extrapyramidal symptoms. Postmortem studies revealed diffuse and focal demyelination with sparing of U-fibers, multiple small foci of perivascular softening in the cerebral white matter and the basal ganglia, and severe arteriosclerotic changes in the meningeal small arteries and long arteries in the cerebral white matter. The other characteristic features were severe lumbago and alopecia during the teenage years. In 1995, Fukutake and Hirayama⁶ studied the reported cases, including their own cases of juvenile-onset Binswanger-type encephalopathy accompanied by alopecia and lumbago in an autosomal recessive form and proposed new disease criteria for CARASIL.

In 2009, Hara et al⁵ identified that the mutation in the high-temperature requirement serine peptidase A1 (*HTRA1*) gene codes a protease in patients with CARASIL. To date, 10 mutations in the *HTRA1* gene have been identified in 12 families (Figure 1A; Table).^{5,6,9–19} Most patients with CARASIL have been reported in Japan; however, in families with CARASIL, we cannot find any founder haplotype that explains this regional accumulation. Moreover, 2 Chinese families,^{15,16} 2 white families,^{17,18} and 1 Turkish family¹⁹ have been identified as having CARASIL. As described later in this review, clinical heterogeneity has been recognized in CARASIL. These findings indicate that CARASIL is not unique to the Japanese population and might be underdiagnosed.

Clinical Features of CARASIL

We have obtained and summarized clinical features of patients with genetically proven CARASIL from the literature or medical records (Table).^{5,6,9–19} Patients with CARASIL present with early adult-onset dementia, gait disturbance, alopecia, and low back pain.^{5,6} Motor and mental abnormalities develop at the age of ≈30 years (dementia: mean age of onset, 35.1 years [range, 24–50 years]; gait disturbance: mean age of onset, 30.7 years [range, 23–39 years]). Then, a diffuse symmetrical white matter lesion is noticed on neuroradiological

Received February 4, 2014; final revision received July 2, 2014; accepted July 8, 2014.

From the Department of Medical Technology, School of Health Sciences Faculty of Medicine (H.N.), Department of Neurology, Clinical Neuroscience Branch, Brain Research Institute (M.N.), and Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease, Brain Research Institute (O.O.), Niigata University, Niigata, Japan.

Correspondence to Osamu Onodera, MD, PhD, Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease, Brain Research Institute, Niigata University, Niigata 951-8585, Japan. E-mail onodera@bri.niigata-u.ac.jp (Stroke. 2014;45:3447-3453.)

© 2014 American Heart Association, Inc.

Stroke is available at <http://stroke.ahajournals.org>

DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.004236

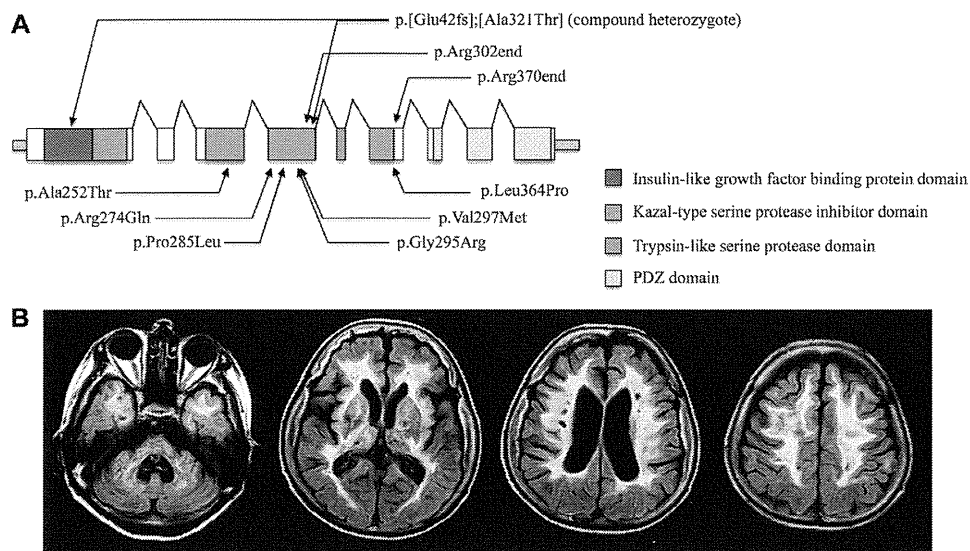


Figure 1. *HTRA1* mutations and brain MRI findings in cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. **A**, Distribution of *HTRA1* mutations. *HTRA1* gene consists of 9 exons (squares): those encoding the insulin-like growth factor-binding protein domain (red; 35–111 aa); the Kazal-type serine protease inhibitor domain (blue; 114–155 aa); the trypsin-like serine protease domain (orange; 204–364 aa); and the PDZ domain (green; 382–473 aa). All individuals are homozygotes for missense or nonsense mutations, except for the patient with p.[Glu42fs];[Ala321Thr].^{5,6,9–19} **B**, Brain images of fluid-attenuated inversion recovery of the patient with p.Arg370end. Extensive white matter lesions involving the anterior temporal lobe are seen. These findings are accompanied by multiple lacunes in the periventricular regions and the thalami. The hyperintensities in the external and internal capsules are also observed.

examination, suggesting CARASIL. The patients do not have hypertension or diabetes mellitus, which are the major risk factors for sporadic CSVD. Diffuse thinning of hair without hairline recession beginning during the teenage years or when patients are in their 20s has been recognized in 9 of 12 families (mean age, 16.7 years; range, 0–27 years). Pubic hair loss and body hair loss have not been reported. Acute mid- to lower-back pain has been noticed at a mean age of 24.9 years (range, 14–39 years). Mood changes (apathy and irritability), pseudobulbar palsy, hyper-reflexia, Babinski sign, and urinary incontinence are frequently observed. Motor and cognitive functions slowly decline, and 7 of 13 patients needed wheelchairs by 30 to 40 years of age. An acute ischemic stroke event has been reported in 23.1%, and no hemorrhagic stroke events have been reported. Five of 13 patients (38.5%) have experienced horizontal nystagmus. Two of 13 patients (15.4%) have experienced advanced-stage seizures. Obvious migraines have not been reported in these patients, and there has been no skin color change in the extremities. Retina and kidney involvement have not been reported; however, in other small vessel diseases, involvement of retinal vessels or involvement of renal dysfunction has been reported.

Neuroradiological Findings in CARASIL

We have directly reviewed brain MRI results from 7 patients with CARASIL (Table).^{5,6,9,11–14} White matter hyperintensity on T2-weighted or fluid-attenuation inversion recovery images is symmetrically distributed and located periventricular to subcortical white matter (Figure 1B). Abnormalities are observed in the white matter of the anterior temporal lobe, cerebellum, brain stem, and external capsule. Although these findings resemble those of cerebral autosomal dominant

arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, it is not clear whether the white matter changes in the anterior temporal poles and external capsule, which are characteristic early signs in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy,²⁰ are also observed in early stages of CARASIL. The magnetic resonance spectroscopy finding of a patient with dementia and pyramidal signs has shown a normal N-acetyl aspartate peak in the white matter lesion, indicating the absence of neuroaxonal degeneration.²¹ In contrast, the choline peak was elevated, which is a finding consistent with ischemia-induced demyelination. Lacunar infarctions are detected in the thalamus; basal ganglia, and deep white matter. At the progressive stage, diffuse brain atrophy and both lobar and nonlobar microbleeds in cerebral cortex, thalamus, and cerebellum are observed. U-fibers are relatively preserved even during the late stage. Brain magnetic resonance angiography and conventional angiography do not show any pathological changes. Single-photon emission computed tomography shows hypoperfusion in the frontal lobe. On spinal MRI, spondylosis deformans and disk degeneration are observed in cervical and lumbar spine at the age of \approx 30 years. Interestingly, these findings have not been identified during their early stages. Therefore, it is still unknown why lumbago symptoms occur during the teenage years.

Cerebral Small Vessel Pathology in CARASIL

The autopsy findings of CARASIL have been reported in 3 instances: in a patient with p.Arg302end, a mutation in the *HTRA1* gene; in a sibling with p.Ala252Thr; and in the original patient.^{8,12,22,23} In the cerebral small arteries, smooth muscle cells were extensively lost, even in arteries without

Table. Summary of Clinical Features in Patients With Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy and *HTRA1* Mutations

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Mean Ages at Onset, y (Range)
Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	...
Reference	5, 12	13, 14	14	16	17	5, 10	5, 11	5, 6	5, 9	15	5	19	18	...
Family	I	II	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	...
Consanguinity of family	Yes	Yes	Yes	Yes	No	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	No	...
Mutation (nucleotide and amino acids)	c.754G>A p.A252T	c.821G>A p.R274Q	c.821G>A p.R274Q	c.854C>T p.P285L	c.883G>A p.G295R	c.889G>A p.V297M	c.889G>A p.V297M	c.904C>T p.R302end	c.904C>T p.R302end	c.1091T>C p.L364P	c.1108C>T p.R370end	c.1108C>T p.R370end	c.[126delG];[961G>A] p.[E42fs];[A321T]	...
Age at time of study, y	48	41	44	26	43	33	50	44	46	27	44	27	29	...
Sex	F	M	F	F	M	M	F	M	F	F	F	F	F	...
Brain MRIs were directly reviewed by author	Yes	Yes	Yes	No	No	No	Yes	Yes	Yes	No	Yes	No	No	...
Symptoms, y														
Migraine	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	...
Alopecia	-	-	-	0	18	14	16	16	14	27	18	27	-	16.7 (0-27)
Spinal spondylosis	Teens	39	37	26	34	33	39	22	32	26	21	27	29	30.4 (21-39)
Gait disturbance	39	38	37	23	34	29	31	26	29	27	35	27	24	30.7 (23-39)
Acute stroke event	38	-	-	-	-	-	-	31	-	-	-	-	24	31.0 (24-38)
Mood change	-	-	43	24	34	-	-	-	29	-	35	-	-	33.0 (24-43)
Urinary incontinence	-	-	-	24	34	29	50	38	31	-	-	-	-	34.3 (24-50)
Dementia	-	38	43	24	-	33	50	37	29	27	35	-	-	35.1 (24-50)
Seizure	-	-	-	-	-	-	-	42	31	-	-	-	-	36.5 (31-42)
Wheel chair bound	48	41	42	-	43	-	-	37	32	-	39	-	-	40.3 (32-48)
Neurological findings														
Horizontal nystagmus	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	...
Pseudobulbar palsy	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	...
Hyper-reflexia of limbs	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	...
Babinski sign	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	...
Rigidity	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	...
Optic fundi	Slight arteriolosclerosis	Not done	Normal	Not done	Not done	Not done	Normal	Not done	Normal	Not done	Not done	Not done	Not done	...
Risk factors														
Hypertension	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	...
Diabetes mellitus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	...
Dyslipidemia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	...
Alcohol	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	...
Smoking	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	...

Information from the patients whose clinical features are available.^{5,6,9-19} + indicates present; and -, not available.

sclerotic changes. Sclerotic changes were mild and infrequent; most of the arteries were enlarged rather than exhibiting luminal stenosis. Tunica media of the cerebral small arteries exhibited hyalinosis and were immunopositive for fibrinogen. These pathological findings resemble those observed in nonhereditary ischemic CSVD.²⁴ In the patients with nonhereditary ischemic CSVD, marked degeneration of vascular smooth muscle cells with collapse and dilatation in the cerebral small arteries, the so-called earthen pipe phenomenon, were observed.²⁴ These changes might disturb autoregulatory mechanisms for cerebral blood flow, resulting in ischemic changes in the deep white matter.²⁵

The internal elastic membrane, which is composed of elastin, is split into multiple layers and fragmented. Some intima is thickened with fibrosis and involves myointimal cells, which were sparsely stained by α -smooth muscle actin antibody. Arterial adventitia was thin and decreased immunoreactivity for type I, type III, and type VI collagens.²³ These changes were relatively limited in cerebral small arteries and were not detected in intracranial large arteries and extracranial arteries. Lysosome-like bodies were found in the cytoplasm of smooth muscle cells in small arteries.¹² No obvious deposit or inclusion, including granular osmiophilic material or amyloid, was observed. Diffuse myelin pallor in the cerebral white matter with sparing U-fibers and multiple small foci of perivascular softening in the cerebral white matter, basal ganglia, and brain stem were observed.

Loss of HTRA1 Protease Function Causes CARASIL

The *HTRA1* gene consists of 9 exons producing HTRA1, a serine protease belonging to the HTRA protein family whose members have dual activities as chaperones and serine proteases (Figure 1A).²⁶ HTRA1 has an N-terminal insulin-like growth factor-binding protein domain, a Kazal-type serine protease inhibitor domain, a trypsin-like serine protease domain, and a C-terminal PDZ domain.²⁷ HTRA1 proteases exist as trimers, thus allowing communication between adjacent subunits to regulate protease. The activation cascade is initiated by the ligand-dependent interaction of neighboring HTRA1s in a trimer, thereby inducing the proper adjustment of the activation domain His220, Asp250, and Ser328 in the trypsin-like serine protease domain.^{28,29}

To date, 10 mutations in the *HTRA1* gene have been identified in 13 patients from 12 families (Figure 1A).^{5,6,9–19} They include 7 missense mutations, 2 nonsense mutations, and 1 deletion mutation. The premature termination codons, which are caused by the nonsense or deletion mutations, fulfill the criteria of the nonsense-mediated mRNA decay, indicating the marked reduction of the amounts of mRNA from these alleles.^{5,30} All of the missense mutations were located in or around the protease domain of HTRA1, suggesting the reduction in the protease activity. The disease-associated mutant HTRA1s (p.Ala252Thr, p.Arg274Gln, and p.Val297Met) decrease their protease activity.^{5,14} These findings indicate that CARASIL is caused by the loss of HTRA1 or its protease activity. Among the mutations with HTRA1, the residual HTRA1 activity of p.Arg302end, which completely loses its

protease domain, should be the lowest. Therefore, we can speculate that patients with p.Arg302end show the most severe phenotype with CARASIL; however, the onset and the clinical severities are similar for the patients with p.Arg302end and other patients (Table).

Dysregulation of Transforming Growth Factor- β Signaling Underlies Molecular Pathogenesis in CARASIL

Studies have shown that HTRA protein decreases transforming growth factor- β (TGF- β) family signaling.³¹ TGF- β is a cytokine that promotes cell differentiation and fibrous proliferation in response to tissue damage and has an important role in vascular integrity.³² Loss of HTRA1 activity leads to an increase in TGF- β signaling. CARASIL-associated mutant HTRA1s fail to decrease TGF- β family signaling.⁵ Moreover, the extra domain A of fibronectin and versican, which are induced by increased TGF- β signaling, accumulate in the hypertrophic intima of cerebral small arteries.⁵ In addition, hyaluronan, an extracellular matrix protein that is induced by TGF- β 1 signaling, also accumulates in the small cerebral arterial walls.³⁰ In endothelial cells of small cerebral arteries, the expression of phosphorylated Smad2, which is induced by TGF- β 1 signaling, increased. Finally, TGF- β 1 and latency-associated peptide, which forms a complex with TGF- β 1, increase in the cerebral small arteries of patients with CARASIL.^{5,30} No expression of extra domain A of fibronectin was detected in arterial walls of coronal tissue, renal arteries, or the aorta from a patient with CARASIL. These findings indicate that the increased TGF- β signaling plays a pivotal role in the pathogenesis of CSVD in CARASIL. Acceleration of TGF- β signaling might cause the degeneration of vascular smooth muscle cells because TGF- β signaling has an important role in the differentiation of vascular smooth muscle cells. In extracranial nervous system symptoms of CARASIL, upregulation of TGF- β family signaling might cause alopecia or spondylosis deformans.^{33,34}

How the HTRA1 Inhibits TGF- β Signaling

TGF- β signaling is temporally and spatially regulated by balance among maturation, sequestration, and presentation (Figure 2).^{32,35} TGF- β is synthesized as a homodimeric proprotein (proTGF- β) and is subsequently cleaved into an N-terminal latency-associated peptide and a C-terminal mature TGF- β by a proprotein convertase, such as furin, in the trans-Golgi network. Latency-associated peptide forms a noncovalent complex with a dimer of mature TGF- β . This complex binds to a latent TGF- β -binding protein, and the bound complex is then secreted and anchored to the extracellular matrix, resulting in the sequestration of the mature TGF- β in the extracellular space. The sequestered mature TGF- β is activated by serine protease, matrix metalloproteinase, or acidic microenvironments in the extracellular space. The extracellular matrix, which stores TGF- β in a complex with latency-associated peptide and latent TGF- β -binding protein, also regulates the bioavailability of TGF- β . The activation of mature TGF- β is the rate-limiting step for TGF- β signaling.

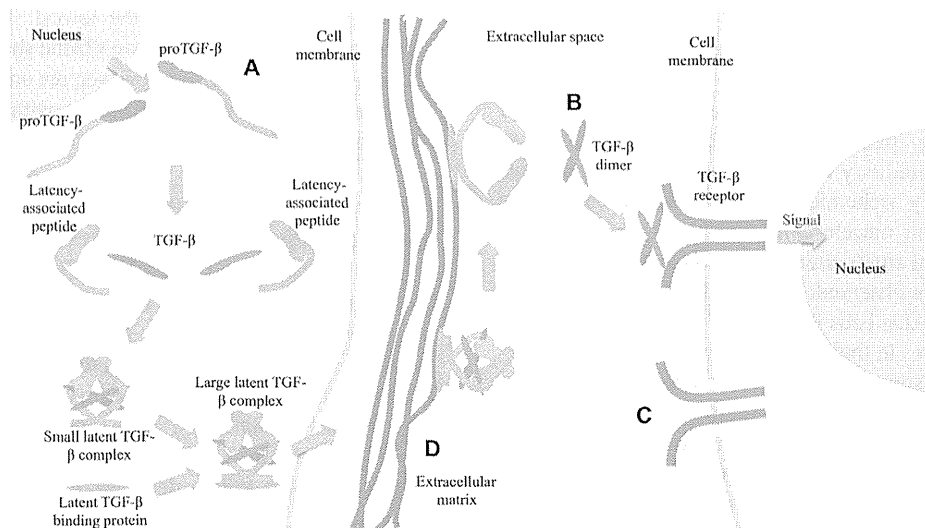


Figure 2. The schema of transforming growth factor- β (TGF- β) processing and possible interactions between TGF- β and HTRA1. **A**, TGF- β is synthesized as a proprotein (proTGF- β), which undergoes proteolytic processing.^{32,35} The proTGF- β is then cleaved by furin convertase. The cleaved products yield a small latent TGF- β complex, in which the latency-associated peptides and the TGF- β dimer are connected. The small latent TGF- β complex binds with latent TGF- β binding protein and is secreted into the extracellular space and anchored in the extracellular matrix. Chemical stress or proteases can open small latent TGF- β complex to release the TGF- β dimer. The TGF- β dimer binds to TGF- β receptor. HTRA1 might cleave **(A)** proTGF- β ,³⁰ **(B)** TGF- β dimer,^{31,36} **(C)** TGF- β receptor,³⁷ or **(D)** extracellular matrix proteins.²⁶ The cleaved products are degraded, resulting in the reduction of TGF- β signaling.

Tighter regulation of bioavailability of TGF- β in intracellular and extracellular spaces is important for regulating its signaling.

For the downregulation mechanism of TGF- β signaling by HTRA1, we have proposed that HTRA1 cleaves the prodomain of proTGF- β 1 in the endoplasmic reticulum before furin processes proTGF- β 1 in the trans-Golgi network.³⁰ The aberrant cleaved products of proTGF- β 1 are degraded by the endoplasmic reticulum-associated degradation system, leading to a reduced amount of mature TGF- β 1. In contrast, it has been reported that HTRA1 cleaves mature TGF- β 1 or TGF- β 1 receptors in extracellular space.^{31,36,37} However, all results in regard to the downregulation of TGF- β signaling by HTRA1 were obtained by the overexpression conditions; thus, the downregulation mechanism under physiological conditions is still unclear.

Why Vascular Pathology Is Predominant in Cerebral Small Vessels

The selectivity of cerebral small vessels in CARASIL is not explained by the expression of HTRA1. Although the specificity of the antibodies has not been evaluated fully, HTRA1 is ubiquitously expressed in various human tissues.³⁸ Therefore, we have to consider a unique role of HTRA1 or TGF- β family signaling in maintaining the integrity of cerebral small vessels. TGF- β 1 is secreted from astrocytes, microglia, smooth muscle cells, and endothelial cells in neurovascular units and plays an important role in maintaining their function and survival.³⁹ HTRA1 is expressed in endothelial cells and astrocytes in cerebral small vessels.⁴⁰ HTRA1 cleaves proTGF- β 1 and downregulates TGF- β 1 synthesis in these cells.³⁰ The intracellular cleavage of proTGF- β 1 is a unique mechanism for regulating the amount of TGF- β family protein, indicating

that this mechanism has some specific role for circumstance-dependent regulation of TGF- β signaling in cerebral small vessels.

The other factors that regulate TGF- β signaling are an activation system and receptors for TGF- β . Fibrinogen-bound latent TGF- β interacts with astrocytes, leading to active TGF- β formation.³⁹ In CARASIL patients, fibrinogen deposited in tunica media of cerebral small arteries might accelerate the TGF- β signaling in cerebral small vessels. TGF- β 1 binds type I and type II receptors on the plasma membrane, and each type involves several different receptors. On ligand-induced heteromeric complex formation, the type I receptor is phosphorylated by the type II receptor. TGF- β signaling is temporally and spatially regulated by the diversity of these receptors and coreceptors in each cell type.⁴¹ Different expressions of the receptors in each type of cell in cerebral small arteries might be associated with the vascular pathology of CARASIL. The profiles of the receptors and coreceptors in the cerebral small arteries should be elucidated.

Clinical Heterogeneity of CARASIL

Although leukoencephalopathy, lumbago, and alopecia are the clinical triad of CARASIL, we have realized that some patients with mutations in the *HTRA1* gene do not show signs of alopecia (Table). The frequency of alopecia in families with genetically proven CARASIL is 72.7%. Moreover, when low back pain begins, sometimes there is no apparent neuroradiological finding in the lumbar spine.

We have to be cautious because most of the reported cases of CARASIL are suspected because of the existence of early-onset leukoencephalopathy. However, there is a possibility that residual protease activity could affect the severity of the disease. Thus, we imagine that some patients show later-onset

and milder phenotypes. In elderly individuals, it is more difficult to suspect the mutation in *HTRA1* gene because these individuals frequently lose hair and have spondylotic deformities. Therefore, investigation of *HTRA1* gene is of interest in these populations.

Does heterozygosity for *HTRA1* mutation cause development of CSVD? Heterozygote individuals with p.Arg302end did not exhibit early adult-onset dementia or gait disturbance. Their *HTRA1* activity is speculated as being half that of normal individuals, suggesting that 50% activity of *HTRA1* is enough to prevent the progression of CARASIL. There have been no reports of patients with early-onset leukoencephalopathy, alopecia, and lumbago with heterozygote mutations in *HTRA1* gene. In 7 of 10 families with *HTRA1* mutations indicated in the neurological information of the parents, there is a history of cerebral infarction in ≥ 2 of the parents. Four individuals with p.Pro285Leu, p.Gly295Arg, p.Glu42fs, or p.Ala321Thr heterozygotes exhibited white matter lesions.^{16–18} However, CSVD is frequently observed in the elderly. Therefore, further evaluation of individuals with *HTRA1* mutations is needed to elucidate this issue.

Therapeutic Strategy for CARASIL

Increasing the activity of *HTRA1* or decreasing the TGF- β activity is a therapeutic strategy for CARASIL. For patients with p.Arg370end mutation, the drugs that read through the premature termination codon might be effective in increasing the active *HTRA1*.³⁰ The product of p.Arg370end retains normal protease activity, and it has been revealed that the C-terminal PDZ domain is dispensable in *HTRA1*.⁵ Thus, the inhibitor of nonsense-mediated mRNA decay should increase the amounts of active *HTRA1*.^{30,42} The denatured citrate synthase, which increases activity of *HTRA1* by promoting *HTRA1* multimerization, could also be useful.²⁹

Inhibition of accelerated TGF- β signaling is another therapeutic strategy for CARASIL, and it is also used to prevent the progression of aortic aneurysm in Marfan syndrome. Marfan syndrome is caused by the mutation in *fibrillin-1* gene, resulting in the increase in TGF- β signaling.³² Interestingly, in the aortic artery, degeneration of smooth muscle cells and fragmentation of elastic membrane are observed. These histological findings partially resemble those of CARASIL. In Marfan syndrome, angiotensin II type 1 receptor antagonist, which inhibits TGF- β signaling, prevents the dilatation of aorta in mice models and in human patients.^{43,44} Moreover, several lines of drugs for blocking TGF- β signaling in other diseases might be therapeutic candidates for CARASIL.⁴⁵

Perspectives

The cerebral small vessel is not a single structure and has marked diversity, not only in size but also in histology, function, and regulation of the nervous system.¹ Moreover, the pericyte and astrocyte are also diverse, depending on the locus in the brain. These marked diversities of the small arteries have been given little attention, making it difficult to understand the molecular mechanism and pathogenesis of these structures. Although most of the pathological studies have focused on the arteries having internal elastic membrane and smooth muscle

cells, the most important and unique structure in small vessels is the capillary, which loses the internal elastic membrane and smooth muscle cells. Instead of these structures, the capillary is surrounded by the pericyte and astrocyte. The investigation of whether the dysfunction of capillary, pericyte, or astrocyte contributes to the hyperintensity on MRI and the mental or motor deterioration in humans might be of interest. To address this issue, the elucidation of the molecular mechanisms for CARASIL will provide new insights on significance of cerebral small arteries in humans and will allow new opportunities for therapeutic strategies, not only for CARASIL but also for nonhereditary CSVD.

Acknowledgments

We thank Dr Yanagawa (Department of Neurology, Iida Municipal Hospital, Japan), Dr Nishimoto (Department of Neurology, Keio University School of Medicine, Japan), Dr Shimoe (Department of Neurology, Kashima Rosai Hospital, Japan), Dr Shirata (Department of Neurology, Ohta Atami Hospital, Japan), Dr Hirayama (Department of Neurology, Kasugai Municipal Hospital, Japan), and Dr Nakano (Department of Neurology, Jichi Medical University, Japan) for furnishing the MR images of the patients.

Sources of Funding

This work was supported by a grant-in-aid for Medical Research from Takeda Science Foundation, a grant-in-aid for Scientific Research (B) from the Japan Society for the Promotion of Science, a grant-in-aid for the Research Committee for Hereditary Cerebral Small Vessel Disease, a grant-in-aid for Comprehensive Research on Disability from Health and Welfare from the Ministry of Health, Labor, and Welfare, Japan, and a Yujin Memorial Grant from Yujin Society.

Disclosures

None.

References

- Iadecola C. The pathobiology of vascular dementia. *Neuron*. 2013;80:844–866.
- Pantoni L. Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol*. 2010;9:689–701.
- Hankey GJ. Secondary stroke prevention. *Lancet Neurol*. 2014;13:178–194.
- Falcone GJ, Malik R, Dichgans M, Rosand J. Current concepts and clinical applications of stroke genetics. *Lancet Neurol*. 2014;13:405–418.
- Hara K, Shiga A, Fukutake T, Nozaki H, Miyashita A, Yokoseki A, et al. Association of *HTRA1* mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N Engl J Med*. 2009;360:1729–1739.
- Fukutake T, Hirayama K. Familial young-adult-onset arteriosclerotic leukoencephalopathy with alopecia and lumbago without arterial hypertension. *Eur Neurol*. 1995;35:69–79.
- Fukutake T. Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL): from discovery to gene identification. *J Stroke Cerebrovasc Dis*. 2011;20:85–93.
- Maeda S, Nakayama H, Isaka K, Aihara Y, Nemoto S. Familial unusual encephalopathy of Binswanger's type without hypertension. *Folia Psychiatr Neurol Jpn*. 1976;30:165–177.
- Shizuma N, Ikeguchi K, Hiranouchi N, Nishizawa M, Yoshida M. A female case of young-adult-onset subcortical encephalopathy with diffuse baldness and spondylosis (Japanese). *Neurol Med*. 1993;39:406–410.
- Arisato T, Hokezu Y, Suehara M, Kiwaki S, Kuriyama M, Osame M. [Juvenile Binswanger-type encephalopathy with alopecia and spondylosis deformans—a case report]. *Rinsho Shinkeigaku*. 1993;33:400–404.
- Iwasaki Y, Kato T, Sone M, Yoshida E, Indo T. Young adult onset Binswanger-type leukoencephalopathy with alopecia and spondylosis deformans. Report of a female case (Japanese). *Neurol Med*. 1997;47:593–600.

12. Yanagawa S, Ito N, Arima K, Ikeda S. Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Neurology*. 2002;58:817–820.
13. Shirata A, Yamane K. A case of cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (Japanese). *J Mov Disord Disabil*. 2004;14:71–76.
14. Nishimoto Y, Shibata M, Nihonmatsu M, Nozaki H, Shiga A, Shirata A, et al. A novel mutation in the HTRA1 gene causes CARASIL without alopecia. *Neurology*. 2011;76:1353–1355.
15. Wang XL, Li CF, Guo HW, Cao BZ. A novel mutation in the HTRA1 gene identified in Chinese CARASIL pedigree. *CNS Neurosci Ther*. 2012;18:867–869.
16. Chen Y, He Z, Meng S, Li L, Yang H, Zhang X. A novel mutation of the high-temperature requirement A serine peptidase 1 (HTRA1) gene in a Chinese family with cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *J Int Med Res*. 2013;41:1443–1455.
17. Mendioroz M, Fernández-Cadenas I, Del Río-Espinola A, Rovira A, Solé E, Fernández-Figueras MT, et al. A missense HTRA1 mutation expands CARASIL syndrome to the Caucasian population. *Neurology*. 2010;75:2033–2035.
18. Bianchi S, Di Palma C, Gallus GN, Taglia I, Poggiani A, Rosini F, et al. Two novel HTRA1 mutations in a European CARASIL patient. *Neurology*. 2014;82:898–900.
19. Bayrakli F, Balaban H, Gurelik M, Hizmetli S, Topaktas S. Mutation in the HTRA1 gene in a patient with degenerated spine as a component of CARASIL syndrome. *Turk Neurosurg*. 2014;24:67–69.
20. Singhal S, Rich P, Markus HS. The spatial distribution of MR imaging abnormalities in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy and their relationship to age and clinical features. *Am J Neuroradiol*. 2005;26:2481–2487.
21. Nishimoto Y, Shibata M, Onodera O, Suzuki N. Neurological picture. Neuroaxonal integrity evaluated by MR spectroscopy in a case of CARASIL. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2011;82:860–861.
22. Arima K, Yanagawa S, Ito N, Ikeda S. Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome). *Neuropathology*. 2003;23:327–334.
23. Oide T, Nakayama H, Yanagawa S, Ito N, Ikeda S, Arima K. Extensive loss of arterial medial smooth muscle cells and mural extracellular matrix in cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *Neuropathology*. 2008;28:132–142.
24. Okeda R, Murayama S, Sawabe M, Kuroiwa T. Pathology of the cerebral artery in Binswanger's disease in the aged: observation by serial sections and morphometry of the cerebral arteries. *Neuropathology*. 2004;24:21–29.
25. Caplan LR, Gomes JA. Binswanger disease—an update. *J Neurol Sci*. 2010;299:9–10.
26. Clausen T, Southan C, Ehrmann M. The HtrA family of proteases: implications for protein composition and cell fate. *Mol Cell*. 2002;10:443–455.
27. Eigenbrot C, Ultsch M, Lipari MT, Moran P, Lin SJ, Ganesan R, et al. Structural and functional analysis of HtrA1 and its subdomains. *Structure*. 2012;20:1040–1050.
28. Clausen T, Kaiser M, Huber R, Ehrmann M. HTRA proteases: regulated proteolysis in protein quality control. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2011;12:152–162.
29. Truebestein L, Tennstaedt A, Mönig T, Krojer T, Canellas F, Kaiser M, et al. Substrate-induced remodeling of the active site regulates human HTRA1 activity. *Nat Struct Mol Biol*. 2011;18:386–388.
30. Shiga A, Nozaki H, Yokoseki A, Nihonmatsu M, Kawata H, Kato T, et al. Cerebral small-vessel disease protein HTRA1 controls the amount of TGF- β 1 via cleavage of proTGF- β 1. *Hum Mol Genet*. 2011;20:1800–1810.
31. Oka C, Tsujimoto R, Kajikawa M, Koshiba-Takeuchi K, Ina J, Yano M, et al. HtrA1 serine protease inhibits signaling mediated by Tgfbeta family proteins. *Development*. 2004;131:1041–1053.
32. ten Dijke P, Arthur HM. Extracellular control of TGFbeta signalling in vascular development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8:857–869.
33. Liu X, Alexander V, Vijayachandra K, Bhogte E, Diamond I, Glick A. Conditional epidermal expression of TGFbeta 1 blocks neonatal lethality but causes a reversible hyperplasia and alopecia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:9139–9144.
34. Tiaden AN, Richards PJ. The emerging roles of HTRA1 in musculoskeletal disease. *Am J Pathol*. 2013;182:1482–1488.
35. Shi M, Zhu J, Wang R, Chen X, Mi L, Walz T, et al. Latent TGF- β structure and activation. *Nature*. 2011;474:343–349.
36. Launay S, Maubert E, Lebeurier N, Tennstaedt A, Campioni M, Docagne F, et al. HtrA1-dependent proteolysis of TGF-beta controls both neuronal maturation and developmental survival. *Cell Death Differ*. 2008;15:1408–1416.
37. Graham JR, Chamberland A, Lin Q, Li XJ, Dai D, Zeng W, et al. Serine protease HTRA1 antagonizes transforming growth factor- β signaling by cleaving its receptors and loss of HTRA1 in vivo enhances bone formation. *PLoS One*. 2013;8:e74094.
38. De Luca A, De Falco M, De Luca L, Penta R, Shridhar V, Baldi F, et al. Pattern of expression of HtrA1 during mouse development. *J Histochem Cytochem*. 2004;52:1609–1617.
39. Beck K, Schachtrup C. Vascular damage in the central nervous system: a multifaceted role for vascular-derived TGF- β . *Cell Tissue Res*. 2012;347:187–201.
40. Grau S, Baldi A, Bussani R, Tian X, Stefanescu R, Przybylski M, et al. Implications of the serine protease HtrA1 in amyloid precursor protein processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102:6021–6026.
41. Jakobsson L, van Meeteren LA. Transforming growth factor β family members in regulation of vascular function: in the light of vascular conditional knockouts. *Exp Cell Res*. 2013;319:1264–1270.
42. Usuki F, Yamashita A, Shiraishi T, Shiga A, Onodera O, Higuchi I, et al. Inhibition of SMG-8, a subunit of SMG-1 kinase, ameliorates nonsense-mediated mRNA decay-exacerbated mutant phenotypes without cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:15037–15042.
43. Brooke BS, Habashi JP, Judge DP, Patel N, Loeys B, Dietz HC III. Angiotensin II blockade and aortic-root dilation in Marfan's syndrome. *N Engl J Med*. 2008;358:2787–2795.
44. Holm TM, Habashi JP, Doyle JJ, Bedja D, Chen Y, van Erp C, et al. Noncanonical TGF β signaling contributes to aortic aneurysm progression in Marfan syndrome mice. *Science*. 2011;332:358–361.
45. Antic M, Distler JH, Distler O. Treating skin and lung fibrosis in systemic sclerosis: a future filled with promise? *Curr Opin Pharmacol*. 2013;13:455–462.

KEY WORDS: cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy ■ cerebral small vessel diseases ■ HtrA1 protein, human ■ myocytes, smooth muscle ■ TGF- β

Stroke

JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION



Features of Cerebral Autosomal Recessive Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy

Hiroaki Nozaki, Masatoyo Nishizawa and Osamu Onodera

Stroke. 2014;45:3447-3453; originally published online August 12, 2014;

doi: 10.1161/STROKEAHA.114.004236

Stroke is published by the American Heart Association, 7272 Greenville Avenue, Dallas, TX 75231

Copyright © 2014 American Heart Association, Inc. All rights reserved.

Print ISSN: 0039-2499. Online ISSN: 1524-4628

The online version of this article, along with updated information and services, is located on the World Wide Web at:

<http://stroke.ahajournals.org/content/45/11/3447>

Permissions: Requests for permissions to reproduce figures, tables, or portions of articles originally published in *Stroke* can be obtained via RightsLink, a service of the Copyright Clearance Center, not the Editorial Office. Once the online version of the published article for which permission is being requested is located, click Request Permissions in the middle column of the Web page under Services. Further information about this process is available in the Permissions and Rights Question and Answer document.

Reprints: Information about reprints can be found online at:
<http://www.lww.com/reprints>

Subscriptions: Information about subscribing to *Stroke* is online at:
<http://stroke.ahajournals.org/subscriptions/>

- 6) Kerrouche N, et al: 18FDG PET in vascular dementia: differentiation from Alzheimer's disease using voxel-based multivariate analysis. *J Cereb Blood Flow Metab* 26: 1213-1221, 2006.
- 7) Seo SW, et al: Subcortical vascular versus amnesic mild cognitive impairment: comparison of cerebral glucose metabolism. *J Neuroimaging* 19: 213-219, 2009.
- 8) Tomimoto H: Subcortical vascular dementia. *Neurosci Res* 71: 193-199, 2011.
- 9) Arima H, et al: Lower target blood pressures are safe and effective for the prevention of recurrent stroke: the PROGRESS trial. *J Hypertens* 24: 1201-1208, 2006.
- 10) Ovbiagele B, et al: Level of systolic blood pressure within the normal range and risk of recurrent stroke. *JAMA* 306: 2137-2144, 2011.

XX 血管性認知症

遺伝性血管性認知症の診断と治療；
CADASIL と CARASIL について

Diagnosis and treatment for hereditary vascular dementia,
CADASIL and CARASIL

上村昌寛^{1,2} 野崎洋明³ 西澤正豊¹ 小野寺理⁴

Key words : 小血管病, 白質病変, ラクナ梗塞, NOTCH3, HTRA1

はじめに

急速な高齢化に従って、認知症患者の増加が重要な社会問題となっている。認知症の主要な原因として、アルツハイマー病、レビー小体型認知症などの変性疾患に加えて、血管性認知症が知られている。血管性認知症は脳血管障害の結果として生じる認知症の総称で、全認知症の少なくとも 20% を占めており、アルツハイマー病について頻度が高い¹⁾。そのため、血管性認知症の病態と治療方法を明らかにすることは、認知症診療において重要である。

脳血管障害は、内頸動脈などの主幹動脈の病変に由来する大血管病と、細動脈や毛細血管といった小血管の病変に由来する小血管病に分類される。このうち、アテローム硬化に代表される大血管病の病態はその詳細が明らかになってきたが、小血管病の病態については、病理学的な解析の難しさから研究がなかなか進まなかった。しかし、近年、遺伝性的小血管病における

原因遺伝子が同定され、分子生物学的な解析が進むにつれて、小血管病の病態も徐々に明らかになってきた。

本稿では、遺伝性的小血管病による血管性認知症の中でも、高度の白質病変と皮質下ラクナ梗塞を呈する CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) と CARASIL (cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) に焦点をあて、その診断方法と治療戦略について述べる。

1 CADASIL

1) CADASIL の表現型

CADASIL は NOTCH3 遺伝子の変異によって起こる、常染色体優性遺伝性的小血管病による血管性認知症である^{2,3)}。約 1/3 の患者が 30 歳代で前兆を伴う片頭痛を発症する。典型的には 40-

XX

血管性認知症

^{1,2}Masahiro Uemura, ³Hiroaki Nozaki, ¹Masatoyo Nishizawa, ⁴Osamu Onodera: ¹Department of Neurology, Clinical Neuroscience Branch, Brain Research Institute, Niigata University 新潟大学脳研究所 臨床神経科学部門 神経内科学分野 ²Department of Advanced Disaster Medical and Emergency Critical Care Center, Niigata University Medical and Dental Hospital 新潟大学歯学部総合病院 高次救命災害治療センター ³Department of Medical Technology, Health Sciences Faculty of Medicine, Niigata University 新潟大学医学部 保健学科 臨床生体情報検査科学 ⁴Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease Research, Brain Research Institute, Niigata University 新潟大学脳研究所 生命科学リソース研究部門 分子神経疾患資源解析学分野

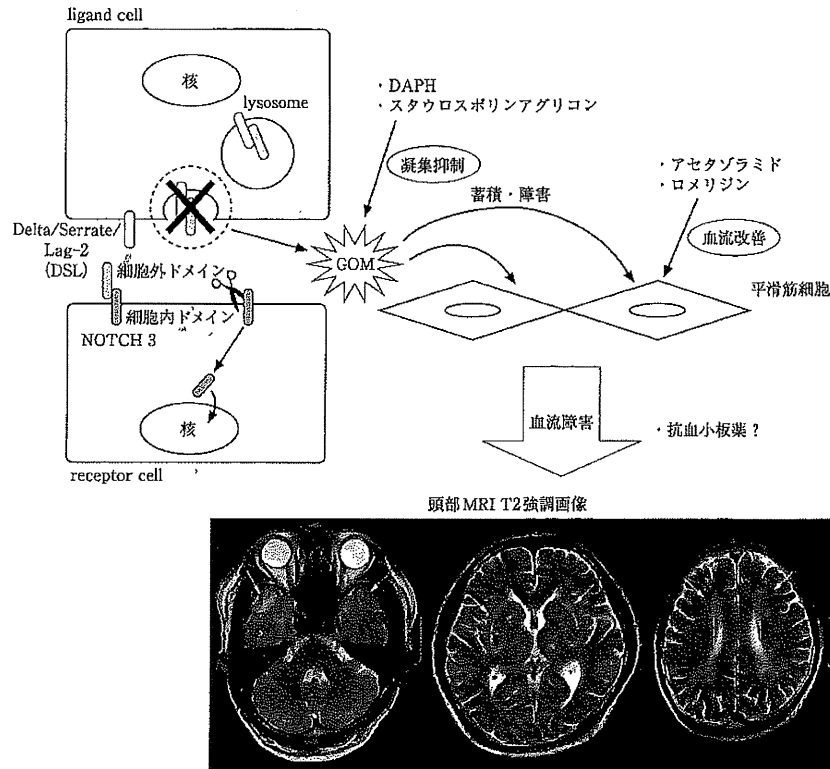


図1 CADASILの病態と治療候補薬

CADASILはNOTCH3の異常により引き起こされる。通常、NOTCH3受容体はリガンド細胞より提示されるリガンド(DSL)と結合することでNOTCH3受容体の細胞外ドメインがリガンド細胞内にエンドサイトーシスされる。CADASILでは、この細胞外ドメインがGOMとして細胞外に沈着し、平滑筋細胞を障害すると考えられている。治療戦略としては、このGOMの凝集を抑制する薬剤として4,5-ジアニリノフタルイミド(dianilinothalimide: DAPH)やスタウロスポリンアグリコンが、血流改善薬としてアセタゾラミドやロメリジンが研究されている。抗血小板薬については有効性や安全性はまだわかっていない。

60歳代で脳卒中や抑うつなどの気分障害を発症し、50-60歳代で認知症や歩行障害を発症し、多くは60-70歳代で死亡する。頭部MRIの変化は、臨床症状より10-15年先行して出現する。T2強調画像で、脳室周囲の白質に斑状の高信号病変が出現し、次第に拡大して癒合する。外包や側頭葉前部のT2高信号病変が特徴的である(図1)。病理学的には、主に軟膜血管や穿通枝の変化が強く、血管平滑筋細胞が強変化する

ため、内腔が土管様に拡張する⁴²⁾。電子顕微鏡による観察では、特徴的なgranular osmiophilic material(GOM)が血管平滑筋細胞および周皮細胞の基底膜周囲に高電子密度の凝集物として沈着する。GOMの主な構成成分は、NOTCH3細胞外ドメインと考えられている。GOMは脳以外の臓器の細小血管にもみられる⁴³⁾。

2) CADASILの診断

CADASILの診断には、家族歴や病歴の聴取

が重要である。優性遺伝形式を疑う家族歴を有し、ラクナ梗塞や脳出血を繰り返す病歴があればCADASILを疑う。頭部MRI画像の病変分布がCADASILに矛盾しなければ、本人の価値観や家族の意向を考慮したうえで、確定診断を検討する。確定診断の方法は2とおりあり、1つは皮膚生検を行い、電子顕微鏡でGOMを証明するか、免疫染色でNOTCH3細胞外ドメインの蓄積を証明する病理学的な方法であり、もう一つはNOTCH3遺伝子の塩基配列を決定する方法である⁴⁴⁾。

3) CADASILの治療候補薬

CADASILの特徴として、小血管ではGOMの蓄積と血管平滑筋細胞の変性が起こること、脳実質では広範な白質病変を呈することが挙げられる。近年、GOMの蓄積そのものが血管平滑筋細胞に対して毒性を示す可能性が報告された⁴⁵⁾。また、血管反応性の低下と白質病変の進展との関連も報告されている⁴⁶⁾。これらの知見から、まずGOMの蓄積によって血管平滑筋細胞が変性し、脳血流の調整が困難となることから、脳実質病変の形成につながると推察される(図1)。

CADASILの治療方法として、GOMの沈着を阻害する方法、脳血流を改善する方法、脳機能を改善する方法が挙げられる⁴⁷⁾。GOMの沈着阻害としては、アミロイドβタンパク凝集を抑制する4,5-ジアニリノフタルイミド(dianilinothalimide: DAPH)やスタウロスポリンアグリコンが変異NOTCH3凝集を阻害することが報告されており、根治療法につながる可能性がある。脳血流量については、脳血管拡張作用のあるアセタゾラミド投与や片頭痛予防薬として使用されているカルシウム拮抗薬のロメリジンにより改善する可能性がある。また、ドネペジルが前頭葉機能を改善する可能性が指摘されている。その他の間接的な治療方法として、CADASILでは喫煙が脳卒中の発症年齢を早めること⁴⁸⁾や、高血圧と喫煙が脳卒中の発症リスクになること⁴⁹⁾が報告されており、禁煙指導や血圧管理が重要である。CADASILでは血小板作用の有効性は証明されていない。

2) CARASIL

1) CARASILの表現型

CARASILはHTRA1遺伝子の変異によって起こる、常染色体劣性遺伝性の小血管病による血管性認知症である¹⁰⁾。通常、脳血管障害の危険因子は伴わない。典型例では20-40歳代で認知症や歩行障害を発症し、約半数に性格変化や尿失禁を伴う。約1/4に30歳代で脳卒中がみられるが、脳出血の報告はない。中枢神経以外の症候として、10-30歳代で強い背部痛を伴う変形性脊椎症、20-30歳代で禿頭を発症するが、禿頭を欠く症例もある¹¹⁾。頭部MRIのT2強調画像で、脳室周囲白質に対称性に広範な高信号病変を呈し、外包や側頭葉前部にも病変が認められる(図2)。深部白質や大脳基底核にラクナ梗塞が多発しており、進行例では大脳基底核や大脳皮質に微小出血を認める。これらは、CADASIL患者の画像所見と類似している。病理学的には、軟膜血管や髄質動脈の変化が強く、血管内膜は線維化により肥厚し、内弾性板は断裂や多層化を示す⁴⁾。中膜では、高度の平滑筋細胞の変性を呈し、血管内腔が土管様に拡張する¹²⁾。GOMやアミロイドβタンパクの沈着はみられない。

2) CARASILの診断

CARASILの診断も、CADASILと同様に家族歴や病歴の聴取が重要である。両親が従兄弟婚であれば、積極的に疑うことができるが、孤発性も存在することに注意が必要である。10-30歳代で強い背部痛を伴う変形性脊椎症を発症し、頭部MRIの病変分布がCARASILに矛盾しなければ、確定診断を検討する。なお、禿頭については必須ではないが、10-20歳代で発症している場合は、CARASILを支持する所見と考えてよい。特徴的な沈着物を認めないため、皮膚生検は診断に有用ではなく、確定診断はHTRA1遺伝子の塩基配列解析によって行う。

3) CARASILの治療候補薬

HTRA1はプロテアーゼ活性をもち、transforming growth factor-β1(TGF-β1)前駆体をはじめとする様々なシグナル関連分子の切断を

XX

血管性認知症

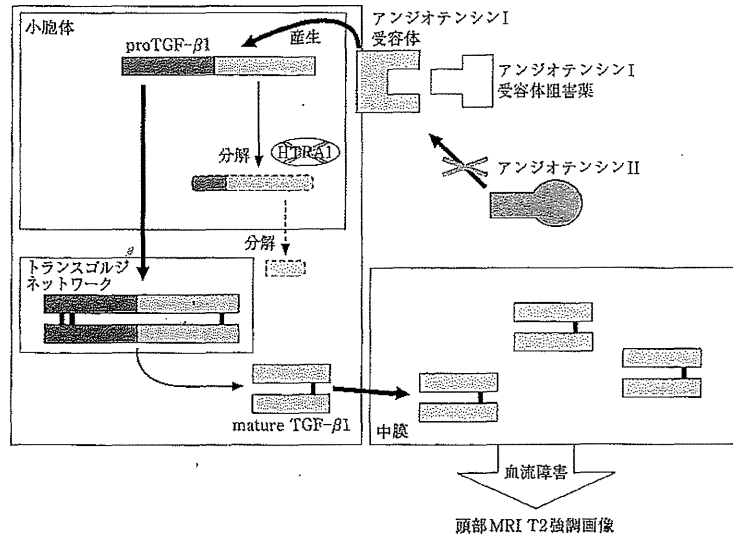


図2 CARASILの病態と治療候補薬

TGF-β1は小胞体で前駆体タンパク (proTGF-β1) となり、トランスゴルジネットワークを経て成熟型 TGF-β1 となる。HTRA1は小胞体内で TGF-β1 を切断することで、成熟型 TGF-β1 の量を抑制的に調整している。CARASILでは HTRA1の機能が低下するために、分泌される成熟型 TGF-β1の量が増加し、その結果、血管変性を引き起こすと考えられる。TGF-β1はアンジオテンシン系の刺激により産生が促進されるため、アンジオテンシンI型受容体の阻害薬で TGF-β1の産生を抑制できる可能性がある。

行う。CARASILでは HTRA1のプロテアーゼ活性が低下するため、TGF-β1前駆体を切断、分解することができなくなる。その結果として起こる慢性的な TGF-β1過剰によるシグナル伝達の亢進が病態に関与していると考えられている (図2)¹⁴⁾。

したがって、TGF-β1シグナル伝達の抑制が CARASILの治療方法として期待できる。CARASILと同様に TGF-β1が亢進している疾患として、Marfan症候群が知られている。Mar-

fan症候群では TGF-β1を細胞外基質にとどめておく fibrillin-1の異常が起こり、TGF-β1シグナルが亢進する結果、大動脈瘤が形成される。アンジオテンシンI型受容体の阻害薬は TGF-β1の産生を抑制することによって、大動脈瘤の形成を抑制する¹⁵⁾。このため、CARASILでもアンジオテンシンI型受容体の阻害薬が有力な治療薬になる可能性がある。

おわりに

本稿では、小血管病に分類される遺伝性血管性認知症である CADASIL と CARASIL を取り上

げ、その診断から今後の治療に関する展望について述べた。両疾患の病態の解明や治療法開発は、より複合的な病態と考えられている孤発性の血管性認知症の治療につながる可能性がある。

参考文献

- 1) Iadecola C: The pathobiology of vascular dementia. *Neuron* 80: 844-866, 2013.
- 2) Joutel A, et al: Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 383: 707-710, 1996.
- 3) Chabriat H, et al: Cadasil. *Lancet Neurol* 8: 643-653, 2009.
- 4) Arima K, et al: Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome). *Neuropathology* 23: 327-334, 2003.
- 5) Okeda R, et al: Arterial changes in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) in relation to pathogenesis of diffuse myelin loss of cerebral white matter: examination of cerebral medullary arteries by reconstruction of serial sections of an autopsy case. *Stroke* 33: 2565-2569, 2002.
- 6) Monet-Lepretre M, et al: Abnormal recruitment of extracellular matrix proteins by excess Notch3 ECD: a new pathomechanism in CADASIL. *Brain* 136: 1830-1845, 2013.
- 7) van den Boom R, et al: Cerebral hemodynamics and white matter hyperintensities in CADASIL. *J Cereb Blood Flow Metab* 23: 599-604, 2003.
- 8) Mizuno T: [Pathomechanisms and treatment of CADASIL]. *Brain Nerve* 65: 811-823, 2013.
- 9) Adib-Samii P, et al: Clinical spectrum of CADASIL and the effect of cardiovascular risk factors on phenotype: study in 200 consecutively recruited individuals. *Stroke* 41: 630-634, 2010.
- 10) Hara K, et al: Association of HTRA1 mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N Engl J Med* 360: 1729-1739, 2009.
- 11) Fukutake T, Hirayama K: Familial young-adult-onset arteriosclerotic leukoencephalopathy with alopecia and lumbago without arterial hypertension. *Eur Neurol* 35: 69-79, 1995.
- 12) Nozaki H, et al: [Dementia: progress in diagnosis and treatment; Topics, V. Recent topics: 4. Detection of novel dementia-related genes; 2) Dysregulation of TGF-beta family signaling and hereditary cerebral small vessel disease: insight into molecular pathogenesis of CARASIL]. *Nihon Naika Gakkaï Zasshi* 100: 2207-2213, 2011.
- 13) Oide T, et al: Extensive loss of arterial medial smooth muscle cells and mural extracellular matrix in cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *Neuropathology* 28: 132-142, 2008.
- 14) Shiga A, et al: Cerebral small-vessel disease protein HTRA1 controls the amount of TGF-beta1 via cleavage of proTGF-beta1. *Hum Mol Genet* 20: 1800-1810, 2011.
- 15) Brooke BS, et al: Angiotensin II blockade and aortic-root dilation in Marfan's syndrome. *N Engl J Med* 358: 2787-2795, 2008.

XX
血管性認知症

CARASIL の新しいトピックス

野崎洋明¹⁾, 西澤正豊²⁾, 小野寺理³⁾

NOZAKI Hiroaki, NISHIZAWA Masatoyo, ONODERA Osamu

¹⁾ 新潟大学医学部保健学科, ²⁾ 新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野,³⁾ 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究部門分子神経疾患資源解析学分野

CARASIL はアジアに特異的な稀少疾患と考えられてきたが, 遺伝子検査による確定診断によって, アジア以外の地域からも報告され, 症候性キャリアが存在する可能性も指摘されるようになった. 本稿では, これら CARASIL の新しいトピックスについて概説する.

Key Words

脳小血管病, *HTRA1*, ヘテロ接合体, 症候性キャリア

はじめに

Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL) は, 若年発症の白質脳症, 変形性脊椎症, 禿頭を 3 徴とする常染色体劣性遺伝形式の疾患である. 1985 年に Fukutake らが「家族性・若年発症の“Binswanger 病様脳症”に頭部びまん性脱毛と腰痛を伴う一症候群」として提唱し¹⁾, Hara ら²⁾が 2009 年に *High temperature requirement serine peptidase A1* (*HTRA1*) を原因遺伝子として単離した. CARASIL 患者の剖検脳では, 孤発性の血管性認知症である Binswanger 型脳梗塞と類似した, 大脳白質における髄鞘の粗鬆化と脳小動脈における血管平滑筋の変性を認める³⁾. CARASIL はわが国や中国を中心に報告されている稀少疾患であるが, 見出された遺伝子変異に人種特異性を説明しうる創始者効果は認めず, アジア以外にも患

者が存在する可能性が指摘されていた²⁾. 本稿では, これまでに遺伝子検査で確定診断された症例を総括し, 本症候群の臨床的な拡がりについて述べる.

1 | CARASIL における臨床像の多様性

2014 年 3 月時点で, 12 家系 13 例の確定診断例が存在する (図 1)^{1)2)4)–9)}. 8 例が日本から, 2 例が中国からの報告だが, スペインから 1 例, イタリアから 1 例, トルコから 1 例とアジア以外の国からも報告されている. 遺伝子変異はすべて点変異であり, c.754G>A (p.Ala252Thr), c.821G>A (p.Arg274Gln), c.854C>T (p.Pro285Leu), c.883G>A (p.Gly295Arg), c.889G>A (p.Val297Met), c.904C>T (p.Arg302end), c.1091T>C (p.Leu364Pro), c.1108C>T (p.Arg370end) のホモ接合体に加えて, c.126delG (p.Glu42fs) と c.961G>A (p.Ala321Thr)

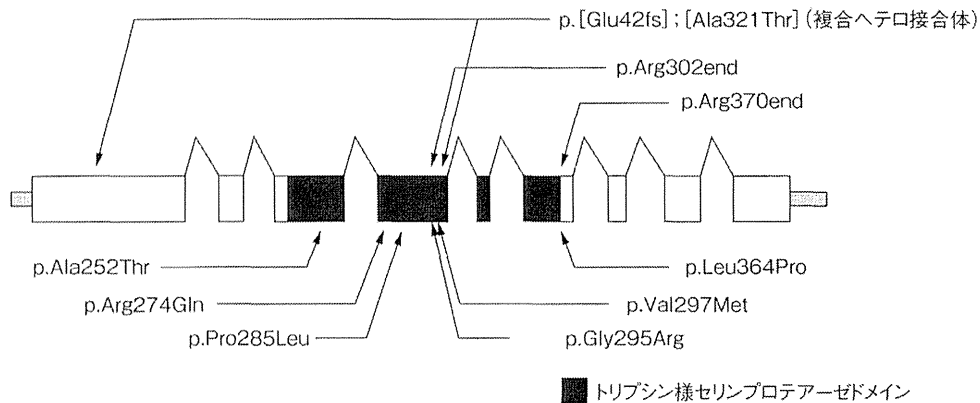


図1 CARASIL 患者で報告されている遺伝子変異

High temperature requirement serine peptidase A1 (HTRA1) 遺伝子は9つのエクソンからなる。黒はエクソン3からエクソン6にわたって存在するトリプシン様セリンプロテアーゼドメインを示す。これまでに報告されたミスセンス変異はすべてこのトリプシン様セリンプロテアーゼドメインに存在する (p.Ala252Thr, p.Arg274Gln, p.Pro285Leu, p.Gly295Arg, p.Val297Met, p.Leu364Pro)。ミスセンス変異のほかに、ナンセンス変異 (p.Arg302end, p.Arg370end) と、フレームシフト変異 (p.Glu42fs) とミスセンス変異 (p.Ala321Thr) の複合ヘテロ接合体例も報告されている。

の複合ヘテロ接合体がある。12家系のうち10家系で、患者の両親にいとこ婚を認めるが、c.883G>Aの家系と複合ヘテロ接合体の家系では、血族婚を認めない。

以上のことから、アジア以外の国にも患者が存在すること、CARASILを疑う際に両親の血族婚は必須ではないことが明らかになった。

これら13例の臨床像をまとめると、認知症は平均35.1歳(24~50歳)、歩行障害は平均30.7歳(23~39歳)、尿失禁は平均34.3歳(24~50歳)、変形性脊椎症は30.4歳(21~39歳)、禿頭は16.7歳(0~27歳)で発症する。認知症は、初期に発動性低下や易怒性を伴うことが多い。歩容は、痙縮性、失調性、麻痺性などさまざまである。変形性脊椎症は全例で認めるが、禿頭を認めるのは9例(69.2%)であり、全例でないことに注意が必要である。片頭痛を合併した報告例はない。3例(23.1%)で脳卒中の既往を認めるが、すべて脳梗塞であり、脳出血の報告はない。

頭部MRI検査では、深部から皮質下におよぶ広汎な大脳白質病変があり、両側外包と側頭葉前部の病変を伴う¹⁾。この白質病変の分布は、常染色体優性遺伝性の脳血管病である cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) と非常によく似ている。以上の所見から、50歳までに白質脳症を発症した症例で、変形性脊椎症の既往があり、頭部MRI検査で前述した特徴的な白質病変の分布

を認めた場合は、積極的にCARASILを疑うべきである。若年発症の禿頭が合併していれば、さらに可能性が高くなるが、必須ではない。

2 CARASIL キャリアは発症するか？

CARASILは劣性遺伝性疾患である。よって、キャリア、つまりHTRA1遺伝子変異のヘテロ接合体での報告はない。しかし、p.Pro285Leuを有する中国家系では発端者の65歳の父親が白質病変と禿頭、p.Gly295Argを有するスペイン家系では発端者の母親が白質病変、p.Glu42fsとp.Ala321Thrの複合ヘテロ接合体を有するイタリア家系ではp.Ala321Thrのヘテロ接合体である61歳の父親とp.Glu42fsのヘテロ接合体である60歳の母親がともに軽い白質病変を呈することが報告されており⁴⁾、症候性キャリアが存在する可能性について論じられている。

HTRA1遺伝子変異がヘテロ接合体でも脳小血管病を引き起こすという仮説は興味深い。CARASILはセリンプロテアーゼであるHTRA1蛋白の機能不全によって発症するため、その残存活性によって症状が影響を受ける可能性がある。わが国の検討では変異アレル由来のHTRA1蛋白が消失しているp.Arg302endのヘテロ接合体での発症事例はなく、残存活性が50%存在すれば症状はきたさないと推定される。一方、イタリア家系では、p.Glu42fsを有する母親が白質病変を呈すると報告され

た。同変異も残存活性が約 50%であることが想定され、これらの変異が発症の危険因子となる可能性がある。しかし、最も問題なのは、白質病変が高齢者に高頻度に伴う所見であることである。このため、この変化が *HTRA1* 遺伝子変異に関連することが断定できない。また、いずれの報告例でも、若年で白質障害をきたした症例はない。症候性キャリアの存在を示すためには、今後、これらの変異の意義について、疫学的、かつ病態機序に沿った慎重な解析が必要である。

おわりに

遺伝子検査による確定診断がおこなわれるようになり、アジア以外の国にも CARASIL 患者が存在することが明らかになった。また、症例の蓄積によって、臨床的な拡がりも徐々に明らかになってきた。とくに症候性キャリアが存在することが明らかになれば、従来、劣性遺伝形式による稀少疾患と思われてきた患者が、さらに多く潜在していることになる。今後、この点を明らかにし、症候性キャリアを含めた患者数の実態を把握することが必要である。

●文 献●

- 1) Fukutake T : Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL) : from discovery to gene identification. *J Stroke Cerebrovasc Dis* **20** : 85-93, 2011
- 2) Hara K *et al* : Association of *HTRA1* mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N Engl J Med*

360 : 1729-1739, 2009

- 3) Oide T *et al* : Extensive loss of arterial medial smooth muscle cells and mural extracellular matrix in cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *Neuropathology* **28** : 132-142, 2008
- 4) Bianchi S *et al* : Two novel *HTRA1* mutations in a European CARASIL patient. *Neurology* **82** : 898-900, 2014
- 5) Bayrakli F *et al* : Mutation in the *HTRA1* gene in a patient with degenerated spine as a component of CARASIL syndrome. *Turk Neurosurg* **24** : 67-69, 2014
- 6) Chen Y *et al* : A novel mutation of the high-temperature requirement A serine peptidase 1 (*HTRA1*) gene in a Chinese family with cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL). *J Int Med Res* **41** : 1445-1455, 2013
- 7) Wang XL *et al* : A novel mutation in the *HTRA1* gene identified in Chinese CARASIL pedigree. *CNS Neurosci Ther* **18** : 867-869, 2012
- 8) Nishimoto Y *et al* : A novel mutation in the *HTRA1* gene causes CARASIL without alopecia. *Neurology* **76** : 1353-1355, 2011
- 9) Mendioroz M *et al* : A missense *HTRA1* mutation expands CARASIL syndrome to the Caucasian population. *Neurology* **75** : 2033-2035, 2010

のざき・ひろあき

野崎洋明 新潟大学医学部保健学科

1973 年、京都生まれ。2000 年、新潟大学医学部医学科卒業。2009 年、新潟大学歯学総合研究科にて博士(医学)号を取得。2010 年、新潟大学歯学総合病院助教。2012 年、新潟大学医学部保健学科助教。

専門は、臨床神経学。研究テーマは、血管性認知症。

IV 病態生理

CADASIL, CARASILの分子病態機序

The molecular pathogenesis of CADASIL and CARASIL

関根有美¹ 野崎洋明¹ 西澤正豊¹ 小野寺理²

Key words: Binswanger型脳梗塞, 脳小血管病, 土管化, NOTCH3, HTRA1

はじめに

Binswanger型脳梗塞は血管性認知症の主要な原因の一つである。Binswanger型脳梗塞では脳小血管を首座とする病理学的変化がみられ、重度の血管平滑筋変性と細動脈硬化を呈する。これらの血管病理所見は白質を栄養する穿通枝に最も強く、血管のトーンが低下して土管様(earthen pipe state)に拡張する。これにより血管反応性および血流調節能が低下し、白質病変が形成されると考えられる¹⁾。しかし、Binswanger型脳梗塞の分子病態はほとんどわかっておらず、有効な治療もまだない。

多因子病であるBinswanger型脳梗塞の分子病態を解明するためには、類似する表現型を呈する単一遺伝子疾患の解析が有用である。cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)とcerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL)は単一遺伝子異常による脳小血管病であり、臨床・病理所見ともに、Binswanger型脳梗塞と似ている。そのため、これらの疾患とBinswanger型脳梗塞には、共通の病態機序が存在する可能性がある。

本稿では、CADASILとCARASILの表現型と病態機序について概説する。

1 CADASILの表現型

CADASILは遺伝性では最も頻度の高い、常染色体優性遺伝形式の脳小血管病である。病理学的には、主に軟膜血管や穿通枝の変化が強く、血管内膜は細胞外基質の沈着を伴い線維性に肥厚するが、内腔の閉塞はまれで、血管平滑筋細胞の変性が強いために土管様に拡張する²⁾。電子顕微鏡による観察では、毛細血管の周皮細胞が変性して数が減少する³⁾。特徴的なgranular osmiophilic material(GOM)が、血管平滑筋細胞および周皮細胞の基底膜周囲に高電子密度の凝集物として蓄積する。GOMの主な構成成分は、NOTCH3細胞外ドメイン(the extracellular domain of NOTCH: NECD)と考えられている。GOMは脳以外の臓器の細小血管にも蓄積するため、皮膚生検や筋生検を行い、電子顕微鏡でGOMを認めるか、免疫染色でNECDの蓄積を認めれば診断できる⁴⁾。

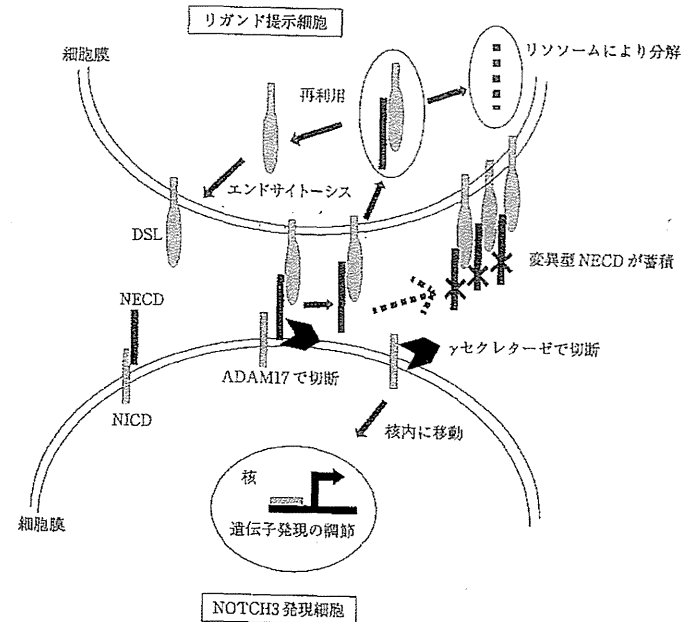


図1 NOTCH3シグナルと変異型NECDのエンドサイトーシス障害(文献⁵⁾より改変)
NOTCH3は、リガンドと結合していない状態では、NOTCH3発現細胞膜上でNOTCH3細胞外ドメイン(NECD)とNOTCH3細胞内ドメイン(NICD)は、非共有結合性にヘテロ2量体を形成している。NECD内にあるEGF様リピートの部分と、リガンド提示細胞のDelta-Serrate-Lag2(DSL)が結合すると、NECDが引き延ばされ、ADAM17により切断されて、NECDとNICDが分離する。すると、NECDはリガンド提示細胞側にDSLとともにエンドサイトーシスを受ける。最終的には、NECDはリソソーム内で分解され、DSLは再利用される。NICDは、細胞膜上でγセクレターゼにより更に分解され、核内へ移行し、標的遺伝子発現の調節を行う。変異型NECDは、エンドサイトーシスの障害により、細胞表面で分解されずに蓄積すると考えられている。

2 CADASILの分子病態

CADASILの原因遺伝子はNOTCH3である。NOTCH3は一回膜貫通型の受容体である。NOTCH3は小血管の血管平滑筋や周皮細胞に発現し、平滑筋細胞の分化と成熟に関わる⁶⁾。NOTCH3はN末側から、上皮増殖因子様(epidermal growth factor: EGF)リピートを含むNECD、膜貫通ドメイン、ankyrinリピートを含む細胞内ドメインからなる。NOTCH3は前駆体タンパクとして合成された後、プロセッシングを受けて、NECDを含むN末断片と、膜貫

通ドメインと細胞内ドメインを含むC末断片がヘテロ2量体を形成して、細胞膜に局在する。リガンド提示細胞に発現したDelta-Serrate-Lag2がEGFリピートに結合すると、NECDがリガンド提示細胞によるトランスエンドサイトーシスを受けることにより引き延ばされ、 metalloprotease ADAM17により切断される。細胞内ドメインは、更にγセクレターゼにより切り出され、核内へ移動し、遺伝子発現を調節する⁷⁾。一方、トランスエンドサイトーシスを受けたNECDは、リガンド提示細胞内のリソソームで分解される(図1)⁸⁾。

IV 病態生理

¹Yumi Sekine, ¹Hiroaki Nozaki, ¹Masatoyo Nishizawa, ²Osamu Onodera: ¹Department of Neurology, Clinical Neuroscience Branch, Brain Research Institute, Niigata University 新潟大学脳研究所 臨床神経科学部門 神経内科学分野 ²Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease Research 同 生命科学リソース研究部門 分子神経疾患資源解析学分野

CADASIL患者で見いだされた NOTCH3 変異は、NECD の EGF リピートをコードする exon 2-24 に存在し、95% 以上はミスセンス変異である。そのうち exon 3-4 は変異の好発部位であり、変異の 70% がこれらの exon に存在する。これらの変異により、各 EGF リピート内にある 6 つのシステイン残基の数が減少または増加して偶数から奇数になると、システイン残基相互の S-S 結合に変化が生じて EGF リピートの高次構造が変化することが想定される。これにより、リガンドと受容体の結合が変化し、シグナル伝達異常を生じる可能性があるが、EGF リピートの変異、特に好発部位の exon 3-4 の変異では、シグナル異常を生じないという報告⁹⁾もあり、病態機序のすべてを NOTCH3 シグナル異常のみで説明することは難しい。

GOM については、NECD のトランスエンドサイトーシスが障害されることにより形成されると想定される。変異により高次構造が変化した NECD はリガンド提示細胞によるトランスエンドサイトーシスに抵抗性を示して蓄積する⁹⁾。更に、変異型 NECD は tissue inhibitor of metalloproteinases 3 (TIMP3) や vitronectin (VTN) と複合体を形成する性質をもち、蓄積した NECD が次々とこの複合体を形成する結果、凝集物を形成する。また、この変異型 NECD の凝集が誘因となって TIMP3 の活性が亢進することが示されている。この結果、メタロプロテアーゼの調節異常が生じ、細胞外基質の代謝が障害され、GOM そのものが毒性を示すという gain of toxic function 仮説が提唱されている⁹⁾。障害された平滑筋細胞と周皮細胞は、血圧の変化に対して局所の血流を保つ本来の機能を失い、慢性的虚血が引き起こされて、白質病変が形成されると考えられる⁹⁾。

3 CARASIL の表現型

CARASIL は常染色体劣性遺伝性の脳小血管病である。これまでに、遺伝子検査で診断が確定された 12 家系 13 例の報告がある。我が国からの報告が多いが、中国人、コーカサス人種、

トルコ人からも報告されている¹⁰⁾。病理学的には、軟膜血管や髄質動脈の動脈硬化性変化が強い。血管内膜は線維性に肥厚し、まばらに α -smooth muscle actin 抗体で染色される myointimal cells がしばしば出現する。内弾性板は断裂や多層化を示す。中膜では、平滑筋細胞が高度の変性を呈し、外膜はコラーゲン線維の染色性が弱く薄くなり、土管様変化をきたす¹⁰⁾。GOM やアミロイド β の沈着はみられない。電子顕微鏡では、脳小血管の平滑筋細胞の細胞質にリソソーム様の高電子密度の小体が認められる¹¹⁾が、周皮細胞の変性についてはまだ検討がなされていない。血管壁の変性が全層に及ぶところが CARASIL の特徴である。これらの変化のうち、平滑筋細胞の変性は中枢神経を還流する小血管でのみ認める変化である。

4 CARASIL の分子病態

CARASIL の原因遺伝子は *high temperature requirement serine peptidase A1 (HTRA1)* である¹²⁾。HTRA1 はセリンプロテアーゼであり、様々な細胞外基質やサイトカインのコントロールに関わっている。HTRA1 の発現は、脳を含め全身の様々な臓器で認められ、心臓の流出路にも発現しているという報告はあるが、脳小血管での発現部位については解明されていない。HTRA1 は最小機能単位として 3 量体を形成している。この 3 量体により基質が認識されると、プロテアーゼドメインの構造変化が起こり、活性中心である His220, Asp250, Ser328 が適切に配列されることにより、プロテアーゼとして活性化される¹³⁾。

CARASIL 患者では、これまでにミスセンス変異 6 種 (p.Ala252Thr, p.Arg274Gln, p.Pro285Leu, p.Gly295Arg, p.Val297Met, p.Leu364Pro)、ナンセンス変異 2 種 (p.Arg302end, p.Arg370end)、1 塩基欠失とミスセンス変異の複合ヘテロ接合体例 (c.126delG+p.Ala321Thr) が見つかっている¹⁰⁾。このうち、ミスセンス変異はすべてプロテアーゼドメインに位置しており、プロテアーゼ活性が低下すると想定される。ナンセ

ンス変異では、ナンセンス変異依存性 mRNA 分解機構により、HTRA1 タンパクの産生量が減少すると想定される。また、複合ヘテロ接合体例では、1 塩基欠失によるフレームシフトにより新たに停止コドンができるため、やはりナンセンス変異依存性 mRNA 分解機構により HTRA1 タンパクの産生量が減少し、更に対側アレル由来のミスセンス変異はプロテアーゼ活性を低下させると想定される。実際に、Ala252Thr, Arg274Gln, Val297Met タンパクのプロテアーゼ活性は低下すると報告されている¹⁴⁾。また、p.Arg370end 患者の皮膚緑線芽細胞を用いて、ナンセンス変異依存性 mRNA 分解機構による顕著なタンパク量の減少が証明されている¹²⁾。これらの結果から、CARASIL は HTRA1 のプロテアーゼ機能を喪失することにより発症すると考えられる。

CARASIL の血管病変形成には、transforming growth factor $\beta 1$ (TGF $\beta 1$) の調節障害が関与すると想定されている。分泌された TGF $\beta 1$ は、細胞膜表面に存在する受容体に結合してシグナルを伝達することにより、血管平滑筋細胞と周皮細胞の分化を誘導し、細胞外基質の産生を促進する。HTRA1 は小胞体内で TGF $\beta 1$ 前駆体を切断して、TGF $\beta 1$ の分泌量を減少させる¹⁵⁾。

CARASIL では、HTRA1 のプロテアーゼ機能が低下する結果、分泌される TGF $\beta 1$ の量が増加し、TGF β シグナルの慢性的な亢進が起こると考えられる。実際に CARASIL 患者の剖検組織では、脳小血管の中膜に TGF $\beta 1$ が蓄積しており、この変化は他臓器の小血管には認めない。また、脳小血管の肥厚した内膜には TGF $\beta 1$ により発現が誘導される細胞外マトリックスタンパクが蓄積しており、この場で TGF $\beta 1$ シグナルが亢進していることを示す¹²⁾。これらの結果は、TGF $\beta 1$ シグナルの調節障害が CARASIL の血管病変形成に関与することを示唆する。CARASIL においても、血管の土管化が起こるため、慢性的虚血が引き起こされて、白質病変が形成されると考えられる。

おわりに

Binswanger 型脳梗塞の病態機序には、まだ不明な点が多く残されている。近年、遺伝性脳小血管病研究の進歩により、脳小血管の病態が分子レベルで明らかになってきている。今後、更に詳細に遺伝性脳小血管病の病態が解明され、遺伝性脳小血管病のみならず、Binswanger 型脳梗塞の新たな治療方法が開発されることを期待する。

文献

- Okeda R, et al: Pathology of the cerebral artery in the aged: Observation by serial sections and morphometry of the cerebral arteries. *Neuropathology* 24: 21-29, 2004.
- Arima K, et al: Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome). *Neuropathology* 23: 327-334, 2003.
- Dziewulska D, Lewandowska E: Pericytes as a new target for pathological processes in CADASIL. *Neuropathology* 32: 515-521, 2012.
- Chabriat H, et al: CADASIL. *Lancet Neurol* 8: 643-653, 2009.
- Mizuno T: Pathomechanisms and treatment of CADASIL. *Brain Nerve* 65: 811-823, 2013.
- Watanabe-Hosomi A, et al: Transendocytosis is impaired in CADASIL-mutant NOTCH3. *Exp Neurol* 233: 303-311, 2012.
- Karlström H, et al: A CADASIL-mutated Notch 3 receptor exhibits impaired intracellular trafficking and maturation but normal ligand-induced signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 99: 17119-17124, 2002.
- Monet-Lepretre M, et al: Abnormal recruitment of extracellular matrix proteins by excess Notch3^{ECB}: a new pathomechanism in CADASIL. *Brain* 136: 1830-1845, 2013.
- Joutel A: Pathogenesis of CADASIL: transgenic and knock-out mice to probe function and dysfunction of the mutated gene, Notch3, in the cerebrovasculature. *Bioessays* 33: 73-80, 2010.

CADASIL, CARASIL の病態機序

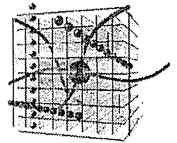
Toshiyuki Tezuka ◎ 手塚敏之* Masatoyo Nishizawa ◎ 西澤正豊*

Hiroaki Nozaki ◎ 野崎洋明† Osamu Onodera ◎ 小野寺理‡

*新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野

†新潟大学医学部保健学科検査技術科学専攻

‡新潟大学脳研究所生命科学リソース研究部門分子神経疾患資源解析学分野



Summary

血管性認知症は頻度の高い疾患であるばかりではなく、早期から陽性症状や運動機能障害を呈するため、本人・介護者の負担が著しい。血管性認知症はその病態が複雑で、アルツハイマー病を併発する患者も多いため、病態研究がなかなか進まなかった。しかし、近年、遺伝子解析の技術が進展し、複数の遺伝性血管病の原因遺伝子が同定されたことを契機に、飛躍的にその分子病態が明らかになってきている。本稿では、血管性認知症のうち、虚血性白質病変と多発性ラクナ梗塞を呈するBinswanger病のモデルとなる遺伝性脳小血管病CADASIL/CARASILの分子病態機序に焦点を当てて、解説する。

Key words

- ◎脳小血管病
- ◎血管性認知症
- ◎血管平滑筋
- ◎CADASIL
- ◎CARASIL

緒言

近年、高齢化に伴い、認知症患者数が加速度的に増加している。2013年12月に、世界の認知症患者数は、約4,400万人に達しており、2050年までには1億3,500万人にまで増加すると推定され、その深刻さがあらためて浮き彫りになった¹⁾。血管性認知症は認知症の一因であるが、その頻度は報告によってばらつきがある。病理学的疫学研究であるHonolulu-Asia Aging Studyによれば、認知機能障害を呈する患者のうち、アルツハイマー病理が目立つものが18.6%、微小梗塞が目立つものが33.8%、そして両者の混合が14.2%とまとめられており、認知症患者における血管性認知症の頻度が高いことを示している²⁾。また、血管病変に引き続いて生じる大脳白質病変の存在がアルツハイマー病発症の予測因子になるとの報告もある³⁾。これらの事実は、血管性認知症の研究が、認知症研究のなかで重要な位置を占めていることを示している。

血管性認知症の病態を論じる場合、内頸動脈、椎骨脳底動脈、大脳動脈といった主幹動脈の病変に由来する病型と、細動脈や毛細血管といった小血管の病変に由来する病型に分けて考える必要がある。その理由は、

脳の大血管と小血管では構造や機能が大きく異なっており、病変が形成される分子病態も異なると考えられるためである。このことは、単一遺伝子の異常によって起こる血管病の中でも、病変の首座が大血管にある疾患と小血管にある疾患が別々に存在するという事実によって明確に示されている。また、実際に両者では発症の危険因子も異なっており、大血管病で有効性が示されてきた多くの治療は小血管病に対する有効性が証明できない。特に小血管病はその分子病態の多くが不明であり、降圧剤⁴⁾やシロスタゾール⁵⁾の有効性は認められるものの、十分な治療効果を示す薬剤は見つかっていない。脳の小血管病変による認知症は、今後の認知症治療戦略を考えるうえで、焦点を当てるべき病型である。

脳小血管病は、脳表の髄軟膜動脈から、脳の穿通動脈、細動脈、毛細血管そして小静脈までを含む小血管を首座とする病態を総称した概念である⁶⁾。細動脈硬化は、加齢や高血圧が危険因子とされ、ラクナ梗塞、白質病変、皮質微小梗塞、微小出血などの脳実質病変を引き起こす。特に広汎な大脳白質病変と多発性ラクナ梗塞を呈する病型はBinswanger病と呼称され、前頭葉機能低下を主体とした重度の認知症と運動障害を呈することが知られている。本病型では、血管平滑筋細胞の変性によって土管様と表現される血管壁の虚脱と拡張が起こり、血流調節能に異常を生じるために白質病変が形成されると考えられている⁷⁾。

脳小血管病のうち、特にBinswanger病の分子病態については、家族性のBinswanger病ともいふべき、cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL)とcerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL)の分子病態の研究が進んでいる。Binswanger病と同様に、CADASILとCARASILは脳小血管領域において、重度の血管平滑筋の変性所見を呈することから、Binswanger病と共通の病態が存在する可能性がある。本稿では、CADASILとCAR-

ASILに焦点を当てて、これまでの知見のreviewを行いたい。

CADASILについて

1. 臨床像と血管病理

CADASILは、*NOTCH3* 遺伝子の異常による常染色体優性遺伝形式の脳小血管病である。遺伝性脳小血管病では最も頻度の高い疾患で、スコットランドや英国では10万人当たり4~15人の患者が存在する⁸⁾。典型例では、30歳頃に片頭痛、50歳頃に再発性脳梗塞と認知機能障害を発症し、60歳頃に歩行不能となり、男性は平均65歳、女性は平均71歳で死亡する⁹⁾¹⁰⁾。MRI画像ではleukoaraiosisと表現される広汎な大脳白質病変と多発性ラクナ梗塞を認める。白質病変は側脳室周囲を主体として、外包や側頭葉前部にまで広がる点特徴的で、病期が進行すると皮質や視床、大脳基底核に微小出血を認める。白質病変は症状が出現する10~15年前から出現するとされており、ラクナ梗塞は白質病変に遅れて出現する¹¹⁾。

病理学的には、髄軟膜動脈や細動脈の平滑筋細胞の変性を認め、土管様に変化する¹²⁾。また、内膜はコラーゲン、ラミニン、フィブロネクチンなどの細胞外マトリックスの沈着によって肥厚する。血管腔の閉塞はまれである。電子顕微鏡では、血管平滑筋細胞に近接して*NOTCH3*の細胞外ドメインを含むgranular osmiophilic materials (GOM)の沈着がみられることが特徴である。GOMは明瞭な1 μ m程度の電子密度が高い顆粒状物質の集積として認識される。毛細血管では周皮細胞の脱落も認め、残存している周皮細胞は縮小している¹³⁾。これらの所見から、CADASIL患者の血管では脳小血管の平滑筋細胞や周皮細胞が主な標的部位になっていると考えられる。

2. *NOTCH3*の機能と代謝

*NOTCH3*はNotch familyに属する2321アミノ酸からなる一回膜貫通型蛋白であり、主に小血管の血管

平滑筋や周皮細胞に発現している。NOTCH3の機能については、ノックアウトマウスを用いた研究によって明らかにされてきた。このマウスは弾性動脈には明確な異常を認めないが、末梢の筋性動脈に異常がみられる。特に脳の小血管では平滑筋細胞の形態異常と小型化が起こり、血管腔が拡張し、その結果、血圧変化に際して脳血流を維持する機能が顕著に障害される¹⁴。このことは、NOTCH3が小血管領域の血管平滑筋細胞の分化と成熟に関与することを示している。

NOTCH3はシグナルを伝達する際に、複雑な代謝を受ける(図1)。NOTCH3は、N末端から epidermal growth factor repeats (EGFRs)を含む細胞外ドメイン(NOTCH3 extracellular domain: NECD)、膜貫通ドメイン、ankyrin repeatsを含む細胞内ドメイン(NOTCH3 intracellular domain: NICD)を持つ。まず、約280kDaの前駆体蛋白として産生されたあとに切断され、NECDと形質膜を貫通するC末断片が非

共有結合によってヘテロ二量体を形成する。次に、リガンドである Delta-Serrate-Lag2 (DSL)を提示した細胞がNECD内のEGFRsに結合すると、ヘテロ二量体がさらにメタロプロテアーゼ ADAM17とγセクレターゼによって切断され、NICDが切り出される。細胞内に遊離したNICDはNOTCH3発現細胞の核内へ移動して、転写因子RBP-Jkと相互作用し、標的遺伝子の発現を調節する。近年、NECDが、Notch発現細胞そのものではなく、リガンド提示細胞内に引き込まれて分解され、そのことにより、さらにヘテロ二量体の切断が促進されるという、トランスエンドサイトーシス仮説が提唱されている¹⁵。

3. CADASILの分子病態

CADASIL患者で見出されたNOTCH3変異はすべてNECD内のEGFRsをコードするエクソン2~24に存在している。変異の95%以上はミスセンス変異

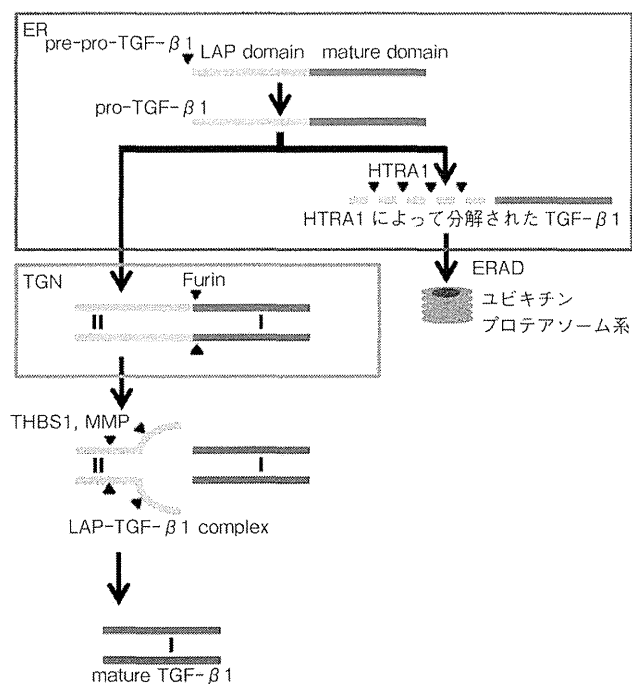


図1 TGF-β1の成熟過程およびそれを抑制するHTRA1
 左の経路：小胞体(ER)にて、シグナルペプチドが切り離されることでpre-pro-TGF-β1からpro-TGF-β1となる。その後、トランスゴルジネットワーク(TGN)で二量体を形成し、Furinによるプロセッシングを受ける。このとき、C末端側はN末端側を取り囲むような形をつくり、immatureな状態(LAP-TGF-β1 complex)となるが、THBS1、MMPがLAPを切断することでmatureなTGF-β1が放出される。右の経路：ERにて、HTRA1のセリンプロテアーゼ機能によりpro-TGF-β1が分解される。分解された残りは、小胞体関連蛋白分解機構(ERAD)で、ユビキチンプロテアソーム系を介して分解される。
 (文献29より一部改変)