

であり、エクソン3と4に集積している¹⁸⁾。ミスセンス変異以外では、スプライスサイトの変異やフレームシフトを起こさない小欠失の報告もみられる。基本的には、病的意義のある変異はEGFR内のシステイン残基が偶数から奇数に変化するものであり、システイン残基に影響しない変異については、その病的意義について議論の余地がある。CADASIL患者では、これらの変異によってEGFR内のS-S結合が変化し、NECDの高次構造に異常を生じると考えられている。

NECDの高次構造変化が、CADASILに特徴的なGOM形成、血管平滑筋細胞と周皮細胞の変性、細胞外マトリックスの蓄積に寄与している。GOMはNECDの高次構造の変化によって凝集性が強くなること¹⁵⁾、トランスエンドサイトーシスが阻害されること¹⁶⁾、などにより、分解されなかったNECDがNOTCH3発現細胞である血管平滑筋細胞や周皮細胞の近傍に蓄積すると考えられる。血管平滑筋細胞と周皮細胞の変性については、NOTCH3シグナルが、これらの細胞の維持に必須である可能性があるが、疾患関連変異がNOTCH3シグナル伝達に与える影響に関しては、一定の見解を得られていない¹⁷⁾。現在は、NOTCH3シグナル異常だけではCADASILの病態の説明は困難との考え方が大勢を占めており、NOTCH3シグナル以外の機序が関与している可能性もある。2013年にフランスのグループが、CADASIL患者の剖検脳と変異型NOTCH3を過剰発現したモデルマウスを用いて、変異型NOTCH3のNECDが不溶性分画に蓄積しており、NECDの凝集体にtissue inhibitor of metalloproteinases 3 (TIMP3)とvitronectin (VTN)が存在することを示した¹⁵⁾。また、増加・凝集したNECDがTIMP3と複合体を形成し、TIMP3がNOTCH3とVTNの複合体形成を促進することを明らかにした。さらに、CADASIL患者とモデルマウスの脳血管では、TIMP3活性が上昇していることを明らかにした。これらの結果から、CADASILではまずNECDの異常凝集が起こり、それによって、TIMP3活性の調節異常が生じて、ECM蛋白の異常

なリクルートメントが促進されるという仮説を提唱した。この現象を形態的变化として捉えたものがGOMであり、結果として生じたECMホメオスタシスの障害が細胞毒性を持つと推察している。

CARASILについて

1. 臨床像と血管病理

CARASILはhigh temperature requirement serine peptidase A1 (*HTRA1*)遺伝子の異常による常染色体劣性遺伝形式の脳小血管病である。本邦で疾患概念が確立され¹⁸⁾、原因遺伝子が同定された¹⁹⁾。遺伝子変異が同定された症例は限られているが、これまでに見出された変異に創始者効果を認めないこと、診断確実例が本邦以外にスペイン²⁰⁾や中国²¹⁾²²⁾でも報告されたことから、さらに多数の患者が潜在している可能性がある。臨床症状の特徴としては、若年成人発症の進行性中枢神経症状に加え、禿頭と急性腰痛あるいは変形性脊椎症が挙げられる。脳小血管病の危険因子である高血圧は認めない。典型的には、20~40代に、歩行障害あるいは認知機能障害で中枢神経症状を発症する。初発症状として、性格変化を呈することがあり、無気力や無遠慮に振舞う例がある。全経過を通じて、約4割に虚血性脳卒中発作がみられる。禿頭、変形性脊椎症は20代で発症することが多いが、遺伝子診断による確定例でも禿頭を呈さない例があることには注意が必要である。頭部MRI所見はCADASILと酷似しており、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広汎な大脳白質病変と多発性ラクナ梗塞を認める。進行期に、皮質や視床に微小出血を認める例が報告されている。進行期に認める橋の横走線維の信号異常はCADASILと異なり本症に特徴的である。

病理学的には、脳軟膜動脈や細動脈において、Binswanger病やCADASILと同様に血管平滑筋細胞の変性と血管の土管様変化がみられる。また、線維性の内膜肥厚、内弾性板の波打ち像や断裂、外膜の菲薄

化を伴っており、血管壁全体にわたって異常が指摘されている²³⁾。CADASILでみられるGOMやアミロイドアンギオパチーでみられるAβの沈着は認めない。内膜ではα-smooth muscle actin陽性の平滑筋由来と考えられる細胞myointimal cellが出現している。電子顕微鏡の観察では血管平滑筋細胞の細胞質にライソゾーム様小体が指摘されている²⁴⁾。周皮細胞を解析した報告はまだない。これらの所見は、CARASILでも血管平滑筋細胞が主な標的部位であることを示しているが、CADASILと比して、血管壁の変化がより広い範囲に及ぶことが特徴である¹²⁾。

2. HTRA1の機能

HTRA1はHTRA familyに属する480アミノ酸から成るセリンプロテアーゼの一種である。HTRA1は多様な組織や臓器に広く発現しており、血管にも高い発現を示すことが報告されているが、どの血管構成細

胞に発現しているかといった、より詳細な検討はまだなされていない。HTRA1はstacking siteと呼ばれる169, 171, 278番目のアミノ酸によって三量体を形成しており、基質との結合に引き続いて起こるセリンプロテアーゼドメインの立体構造の変化がプロテアーゼの活性化に重要である²⁵⁾²⁶⁾。HTRA1はtransforming growth factor-β1(TGF-β1)前駆体を始め、さまざまなシグナル関連分子や細胞外マトリックス蛋白の切断を行っている。

HTRA1はTGF-β1の量的調節に関与する。TGF-β1は組織障害などの刺激に反応して細胞の分化や線維性増殖を促進するサイトカインであり、血管の恒常性維持に重要な役割を持つ²⁷⁾。前駆型であるpre-pro-TGF-β1として合成され、小胞体でpro-TGF-β1となって二量体を形成する(図2)。さらに、trans-Golgi networkでfurinによる切断を受けて、N末断片とC末断片に分離する。C末断片の二量体が成熟

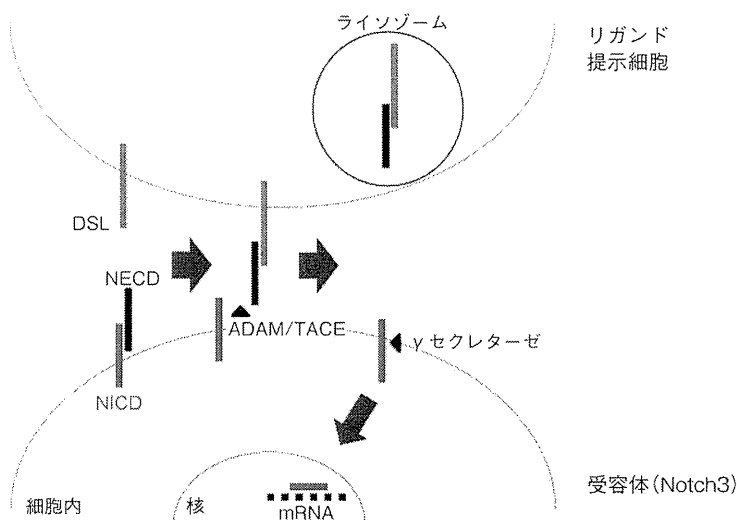


図2 NOTCH3シグナルに関わる代謝経路

NOTCH3は、膜上でNECD + NECDヘテロダイマーを形成する。NECDにあるEGF様リピートの部分と、リガンド提示細胞のDSLが結合し、さらにADAM/TACEの働きでNECD/NICDが分離される。すると、NECDはリガンド提示細胞側にDSLと一緒に引き込まれ、ライソゾームで分解されてその役割を終える。NICDは、膜上でさらにγセクレターゼによる分解を受け、核内へ移行し、転写に関わる。

(文献17より一部改変)

型の TGF- β 1 となり, これに覆いかぶさるように N 末断片が結合して不活性型の複合体を形成し, 細胞外に分泌される²⁷⁾. この複合体は, 細胞外ではフィブリリン 1 やフィブロネクチンに結合し, 刺激に応じて成熟型 TGF- β 1 が遊離して形質膜上の受容体に認識されることによって, さらなるシグナル伝達を起こす. この過程において, HTRA1 は小胞体内で pro-TGF- β 1 を分解することによって, TGN へ移送される量を減少させる. いわば TGF- β 1 シグナルのブレーキとして働いている.

3. CARASIL の分子病態

これまでに, CARASIL 患者において, ミスセンス変異 6 種 7 家系 (p.Ala252Thr, p.Arg274Gln, p.Pro285Leu, p.Gly295Arg, p.Val297Met, p.Leu364Pro), ナンセンス変異 2 種 3 家系 (p.Arg302end, p.Arg370end) が報告されている¹⁹⁾⁻²²⁾²⁸⁾. ミスセンス変異はすべてセリンプロテアーゼドメインに位置しており, 変異型 HTRA1 のプロテアーゼ活性は低下している. また, ナンセンス変異はナンセンス依存性 mRNA 分解機構によって mRNA 量が著しく減少し, 結果として HTRA1 蛋白量の減少を来す. このことから, CARASIL は HTRA1 のプロテアーゼ機能喪失によって発症すると考えられる.

CARASIL では, HTRA1 のプロテアーゼ機能喪失を起点として, 特徴的な血管平滑筋細胞の変性, 細胞外マトリックスの蓄積, 内弾性板の断裂が生じる. 血管平滑筋細胞の変性と細胞外マトリックスの蓄積を説明し得る機序として, TGF- β 1 シグナルの異常が想定されている²⁹⁾. HTRA1 のプロテアーゼ機能がなくなると, TGF- β 1 シグナルのブレーキが利かなくなり, シグナルが慢性的に亢進する. 実際に, CARASIL 患者の脳小血管では, 中膜に TGF- β 1 が蓄積しており, さらに TGF- β 1 シグナルによって発現が促進する細胞外マトリックスである EDA-fibronectin や versican の増加を認める. このことから, CARASIL では TGF- β 1 シグナルの局所的な調節障害が病態の

一端を担っていると考えられる. また, TGF- β 1 シグナルは血管平滑筋細胞の分化を制御することが報告されており, CARASIL ではこの制御機構に異常を生じることによって血管平滑筋細胞の変性が起こる可能性がある. 内弾性板の断裂については, 詳細な検討はなされていないが, HTRA1 が内弾性板を構成する elastin の凝集と成熟に関与するフィブリン 5 を基質とすることが報告されており³⁰⁾, フィブリン 5 の調節障害を介した elastogenesis の異常が起こっている可能性がある.

おわりに

CADASIL と CARASIL の原因遺伝子が同定され, 脳小血管病の研究は飛躍的な進展をみせている. これまでの研究から, 脳小血管を構成する細胞の中でも, 血管平滑筋細胞や周皮細胞の重要性が強調されるようになり, そこで起こっている分子レベルでの異常が急速に明らかになってきている. これらの治験により, CADASIL では NOTCH3 凝集を抑制する 4, 5-di-anilinophthalimide やスタウロスポリンアグリコン, CARASIL では TGF- β 1 シグナルを抑制する ATI 受容体拮抗薬などが治療薬として候補に挙がるようになった. 今後は, 両疾患の治療法が確立されるとともに, Binswanger 病をはじめとする血管性認知症の key molecule が発見され, 孤発性血管性認知症の新しい治療への道が開かれることを期待する.

References

- 1) The Lancet Neurology : G8 dementia summit : a chance for united action. *Lancet Neurol* 13 : 1, 2014
- 2) White L : Brain lesions at autopsy in older Japanese-American men as related to cognitive impairment and dementia in the final years of life : a summary report from the Honolulu-Asia aging study. *J Alzheimers Dis* 18 : 713-725, 2009
- 3) Provenzano FA, Muraskin J, Tosto G, et al : White matter hyperintensities and cerebral amyloidosis : necessary and sufficient for clinical expression of

- Alzheimer disease? *JAMA Neurol* **70** : 455-461, 2013
- 4) Law MR, Morris JK, Wald NJ : Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease : meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ* **338** : b1665, 2009
 - 5) Shinohara Y, Katayama Y, Uchiyama S, et al : Cilostazol for prevention of secondary stroke (CSPS 2) : an aspirin-controlled, double-blind, randomised non-inferiority trial. *Lancet Neurol* **9** : 959-968, 2010
 - 6) Pantoni L : Cerebral small vessel disease : from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol* **9** : 689-701, 2010
 - 7) Caplan LR, Gomes JA : Binswanger disease--an update. *J Neurol Sci* **299** : 9-10, 2010
 - 8) Chabriat H, Joutel A, Dichgans M, et al : Cadasil. *Lancet Neurol* **8** : 643-653, 2009
 - 9) Peters N, Herzog J, Opherk C, Dichgans M : A two-year clinical follow-up study in 80 CADASIL subjects : progression patterns and implications for clinical trials. *Stroke* **35** : 1603-1608, 2004
 - 10) Chabriat H, Vahedi K, Iba-Zizen MT, et al : Clinical spectrum of CADASIL : a study of 7 families. Cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Lancet* **346** : 934-939, 1995
 - 11) 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, 2011
 - 12) Arima K, Yanagawa S, Ito N, Ikeda S : Cerebral arterial pathology of CADASIL and CARASIL (Maeda syndrome). *Neuropathology* **23** : 327-334, 2003
 - 13) Dziewulska D, Lewandowska E : Pericytes as a new target for pathological processes in CADASIL. *Neuropathology* **32** : 515-521, 2012
 - 14) Nichols JT, Miyamoto A, Olsen SL, et al : DSL ligand endocytosis physically dissociates Notch1 heterodimers before activating proteolysis can occur. *J Cell Biol* **176** : 445-458, 2007
 - 15) Monet-Leprêtre M, Haddad I, Baron-Menguy C, et al : Abnormal recruitment of extracellular matrix proteins by excess Notch3 ECD : a new pathomechanism in CADASIL. *Brain* **136** : 1830-1845, 2013
 - 16) Watanabe-Hosomi A, Watanabe Y, Tanaka M, et al : Transendocytosis is impaired in CADASIL-mutant NOTCH3. *Exp Neurol* **233** : 303-311, 2012
 - 17) Mizuno T : [Pathomechanisms and treatment of CADASIL]. *Brain Nerve* **65** : 811-823, 2013
 - 18) Fukutake T, Hirayama K : Familial young-adult-onset arteriosclerotic leukoencephalopathy with alopecia and lumbago without arterial hypertension. *Eur Neurol* **35** : 69-79, 1995
 - 19) Hara K, Shiga A, Fukutake T, et al : Association of HTRA1 mutations and familial ischemic cerebral small-vessel disease. *N Engl J Med* **360** : 1729-1739, 2009
 - 20) Mendioroz M, Fernández-Cadenas I, Del Río-Espinola A, et al : A missense HTRA1 mutation expands CARASIL syndrome to the Caucasian population. *Neurology* **75** : 2033-2035, 2010
 - 21) Chen Y, He Z, Meng S, 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
 - 22) Wang XL, Li CF, Guo HW, Cao BZ : A novel mutation in the HTRA1 gene identified in Chinese CARASIL pedigree. *CNS Neurosci Ther* **18** : 867-869, 2012
 - 23) Oide T, Nakayama H, Yanagawa S : 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
 - 24) Yanagawa S, Ito N, Arima K, Ikeda S : Cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Neurology* **58** : 817-820, 2002
 - 25) Clausen T, Kaiser M, Huber R, Ehrmann M : HTRA proteases : regulated proteolysis in protein quality control. *Nat Rev Mol Cell Biol* **12** : 152-162, 2011
 - 26) Truebestein L, Tennstaedt A, Mönig T, et al : Substrate-induced remodeling of the active site regulates human HTRA1 activity. *Nat Struct Mol Biol* **18** : 386-388, 2011
 - 27) ten Dijke P, Arthur HM : Extracellular control of TGFbeta signalling in vascular development and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* **8** : 857-869, 2007
 - 28) Nishimoto Y, Shibata M, Nihonmatsu M, et al : A novel mutation in the HTRA1 gene causes CARASIL without alopecia. *Neurology* **76** : 1353-1355, 2011

- 29) Shiga A, Nozaki H, Yokoseki A, et al : Cerebral small-vessel disease protein HTRA1 controls the amount of TGF- β 1 via cleavage of proTGF- β 1. *Hum Mol Genet* **20** : 1800-1810, 2011
- 30) Vierkotten S, Muether PS, Fauser S : Overexpression of HTRA1 leads to ultrastructural changes in the elastic layer of Bruch's membrane via cleavage of extracellular matrix components. *PLoS One* **6** : e22959, 2011

