

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  $\geq 2$  of the parents. Four individuals with p.Pro285Leu, p.Gly295Arg, p.Glu42fs, or p.Ala321Thr heterozygotes exhibited white matter lesions.<sup>16–18</sup> 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- $\beta$  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*.<sup>30</sup> The product of p.Arg370end retains normal protease activity, and it has been revealed that the C-terminal PDZ domain is dispensable in *HTRA1*.<sup>5</sup> Thus, the inhibitor of nonsense-mediated mRNA decay should increase the amounts of active *HTRA1*.<sup>30,42</sup> The denatured citrate synthase, which increases activity of *HTRA1* by promoting *HTRA1* multimerization, could also be useful.<sup>29</sup>

Inhibition of accelerated TGF- $\beta$  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- $\beta$  signaling.<sup>32</sup> 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- $\beta$  signaling, prevents the dilatation of aorta in mice models and in human patients.<sup>43,44</sup> Moreover, several lines of drugs for blocking TGF- $\beta$  signaling in other diseases might be therapeutic candidates for CARASIL.<sup>45</sup>

### 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.<sup>1</sup> 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;41:1445–1455.
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. Bayraktli 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- $\beta$ 1 via cleavage of proTGF- $\beta$ 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- $\beta$  structure and activation. *Nature*. 2011;474:343–349.
36. Launay S, Maubert E, Lebeurrier 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- $\beta$  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- $\beta$ . *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  $\beta$  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 $\beta$  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- $\beta$

# 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<sup>1,2</sup> 野崎洋明<sup>3</sup> 西澤正豊<sup>1</sup> 小野寺理<sup>4</sup>

**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<sup>1)</sup>。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<sup>2,3)</sup>。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

<sup>1</sup>Masahiro Uemura, <sup>2</sup>Hiroaki Nozaki, <sup>3</sup>Masatoyo Nishizawa, <sup>4</sup>Osamu Onodera: <sup>1</sup>Department 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 <sup>2</sup>Department of Advanced Disaster Medical and Emergency Critical Care Center, Niigata University Medical and Dental Hospital 新潟大学医歯学総合病院 高次救命災害治療センター <sup>3</sup>Department 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 <sup>4</sup>Department 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

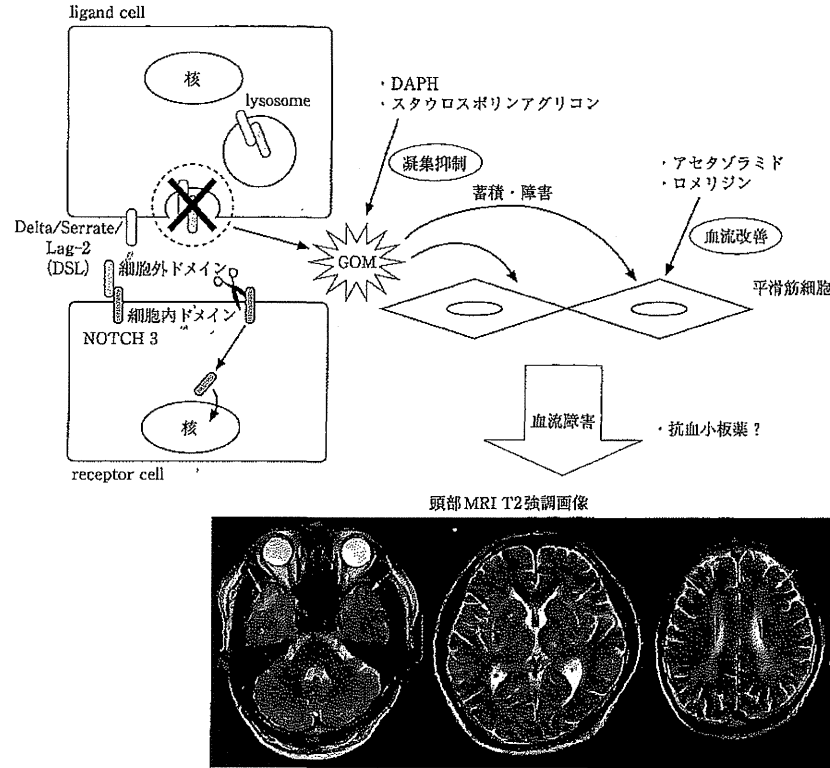


図1 CADASILの病態と治療候補薬

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)やスタウロスボリンアグリコンが、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なり、血管平滑筋細胞が強く変性する

ため、内腔が土管様に拡張する<sup>12)</sup>。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<sup>9)</sup>。

### 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<sup>9)</sup>。

### 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<sup>6)</sup>。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<sup>7)</sup>。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が、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<sup>9)</sup>。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)やスタウロスボ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<sup>8)</sup>や、高血圧と喫煙が脳卒中の発症リスクになること<sup>9)</sup>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<sup>10,11)</sup>。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<sup>12)</sup>。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、血管内腔は線維化により肥厚し、内弾性板は断裂や多層化を示す<sup>9)</sup>。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<sup>13)</sup>。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

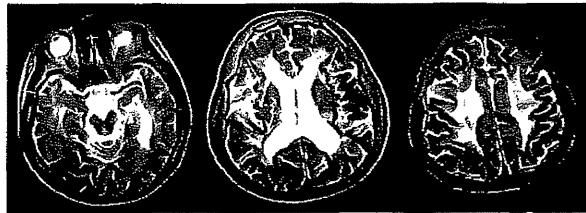
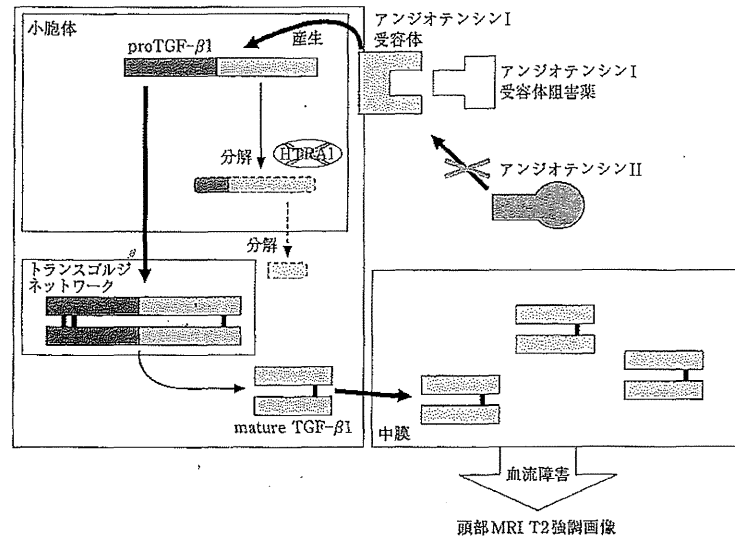


図2 CARASILの病態と治療候補薬

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)<sup>14)</sup>。

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<sup>15)</sup>。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.

## CARASIL の新しいトピックス

野崎洋明<sup>1)</sup>, 西澤正豊<sup>2)</sup>, 小野寺理<sup>3)</sup>

NOZAKI Hiroaki, NISHIZAWA Masatoyo, ONODERA Osamu

<sup>1)</sup> 新潟大学医学部保健学科, <sup>2)</sup> 新潟大学脳研究所臨床神経科学部門神経内科学分野,<sup>3)</sup> 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<sup>1)</sup>, Hara ら<sup>2)</sup>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<sup>3)</sup>. 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<sup>2)</sup>. 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)<sup>1)2)4)~9)</sup>. 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)

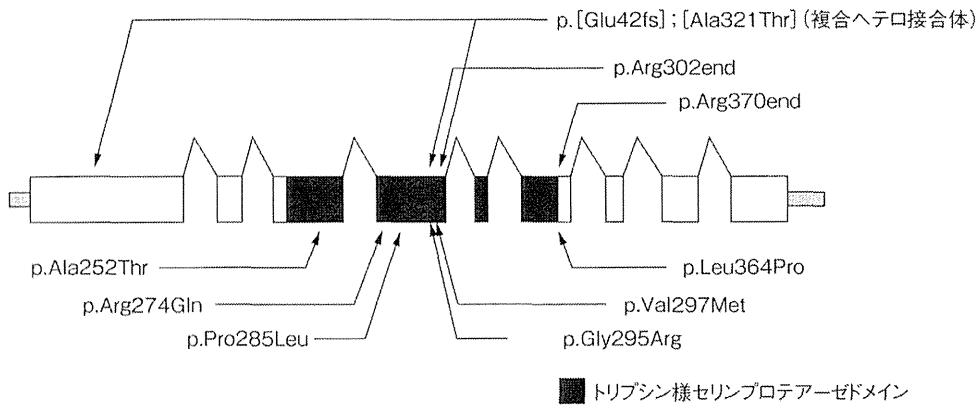


図1 CARASIL 患者で報告されている遺伝子変異

*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<sup>1)</sup>。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<sup>4)</sup>、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

## のぞき・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、新潟大学医歯学総合研究科にて博士（医学）号を取得。2010 年、新潟大学医歯学総合病院助教。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<sup>1</sup> 野崎洋明<sup>1</sup> 西澤正豊<sup>1</sup> 小野寺理<sup>2</sup>

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、血管のトーンスが低下して土管様(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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。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<sup>3)</sup>。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<sup>4)</sup>。

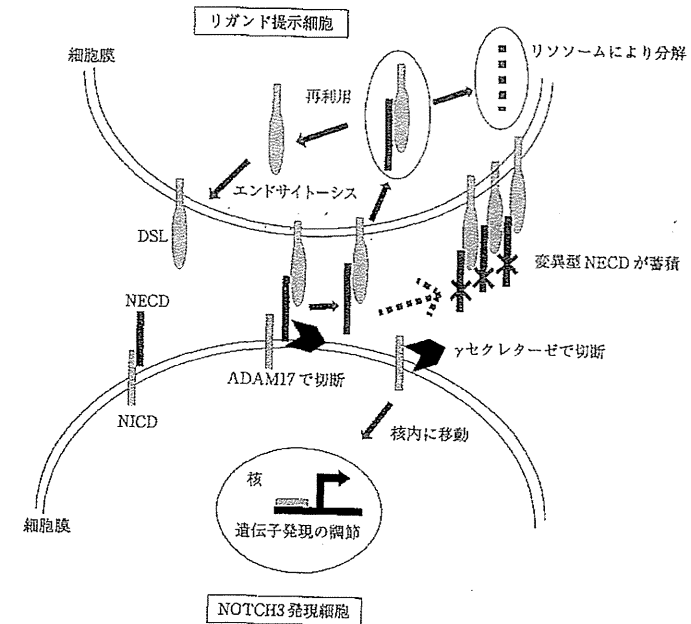


図1 NOTCH3シグナルと変異型NECDのエンドサイトーシス障害(文献<sup>4)</sup>より改変)  
NOTCH3は、リガンドと結合していない状態では、NOTCH3発現細胞膜上でNOTCH3細胞外ドメイン(NECD)とNOTCH3細胞内ドメイン(NICD)は、非共有結合性にヘテロ2量体を形成している。NECD内にあるEGF様リピートの部分と、リガンド提示細胞のDelta-Serrate-Lag2(DSL)が結合すると、NECDが引き延ばされ、ADAM17により切断されて、NECDとNICDが分離する。すると、NECDはリガンド提示細胞側にDSLとともにエンドサイトーシスを受ける。最終的には、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<sup>5)</sup>。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、メタロプロテアーゼ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<sup>6)</sup>。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)<sup>6)</sup>。

IV

病態生理

<sup>1</sup>Yumi Sekine, <sup>1</sup>Hiroaki Nozaki, <sup>1</sup>Masatoyo Nishizawa, <sup>2</sup>Osamu Onodera: <sup>1</sup>Department 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 <sup>2</sup>Department 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<sup>9)</sup>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<sup>9)</sup>。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<sup>9)</sup>。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、慢性的な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<sup>9)</sup>。

### 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<sup>10)</sup>。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  $\alpha$ -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<sup>10)</sup>。GOM やアミロイド  $\beta$  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<sup>11)</sup>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遡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<sup>12)</sup>。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<sup>13)</sup>。

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.Gly296Arg, 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) が見つかった<sup>10)</sup>。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<sup>14)</sup>。また、p.Arg370end 患者の皮膚線維芽細胞を用いて、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<sup>12)</sup>。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<sup>15)</sup>。

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 $\beta$  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<sup>12)</sup>。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、慢性的な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<sup>end</sup>: 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

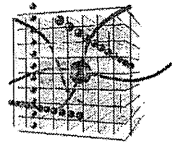
Toshiyuki Teduka ◎ 手塚敏之\* Masatoyo Nishizawa ◎ 西澤正豊\*

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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。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<sup>3)</sup>。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<sup>4)</sup>やシロスタゾール<sup>5)</sup>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<sup>6)</sup>。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<sup>7)</sup>。

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<sup>8)</sup>。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<sup>9)10)</sup>。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<sup>11)</sup>。

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<sup>12)</sup>。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 $\mu$ 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<sup>13)</sup>。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<sup>14</sup>。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と細胞質膜を貫通するC末端断片が非

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-Jκ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<sup>15</sup>。

### 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

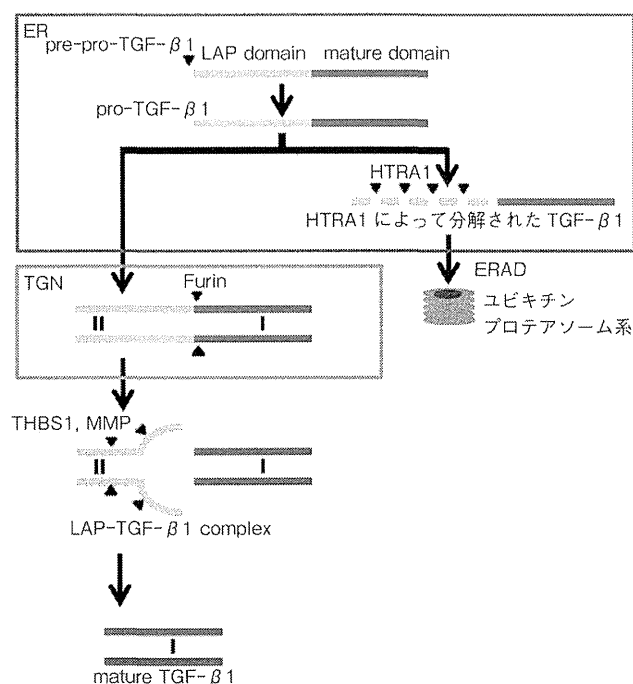


図1 TGF-β1の成熟過程およびそれを抑制するHTRA1  
 左の経路：小胞体(ER)にて、シグナルペプチドが切り離されることでpre-pro-TGF-β1からpro-TGF-β1となる。その後、トランスゴルジネットワーク(TGN)で二量体を形成し、Furinによるプロセッシングを受ける。このとき、C末端側はN末端側を取り囲むような形をつくり、immatureな状態(LAP-TGF-β1 complex)となるが、THBS1、MMPがLAPを切断することでmatureなTGF-β1が放出される。  
 右の経路：ERにて、HTRA1のセリンプロテアーゼ機能によりpro-TGF-β1が分解さ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

であり、エクソン3と4に集積している<sup>8)</sup>。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<sup>15)</sup>、トランスエンドサイトーシスが阻害されること<sup>16)</sup>、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<sup>17)</sup>。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<sup>15)</sup>。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

なり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<sup>18)</sup>、原因遺伝子が同定された<sup>19)</sup>。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<sup>20)</sup>や中国<sup>21)22)</sup>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<sup>23)</sup>。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  $A\beta$  の沈着は認めない。内膜では  $\alpha$ -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<sup>24)</sup>。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<sup>12)</sup>。

## 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<sup>25)26)</sup>。HTRA1 は transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) 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- $\beta$ 1 の量的調節に関与する。TGF- $\beta$ 1 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<sup>27)</sup>。前駆型である pre-pro-TGF- $\beta$ 1 として合成され、小胞体で pro-TGF- $\beta$ 1 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

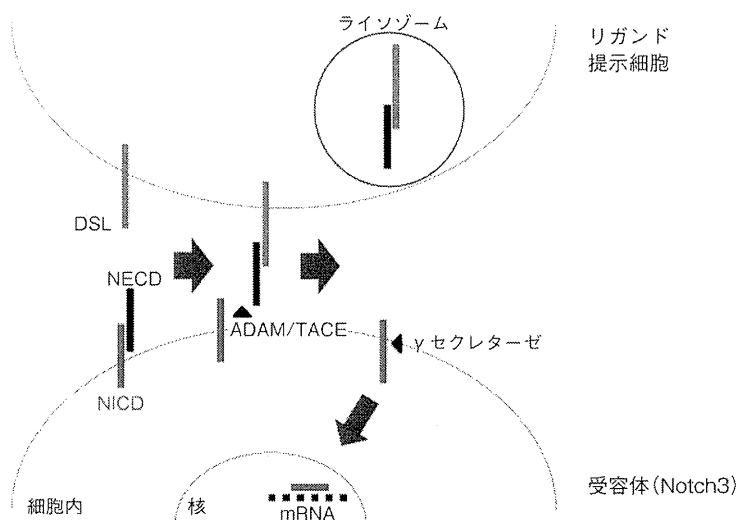


図 2 NOTCH3 シグナルに関わる代謝経路

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  $\gamma$ 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- $\beta$ 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<sup>27)</sup>。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- $\beta$ 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- $\beta$ 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- $\beta$ 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<sup>19)-22)28)</sup>。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- $\beta$ 1 シグナルの異常が想定されている<sup>29)</sup>。HTRA1 のプロテアーゼ機能がなくなると、TGF- $\beta$ 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- $\beta$ 1 が蓄積しており、さらに TGF- $\beta$ 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- $\beta$ 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- $\beta$ 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<sup>30)</sup>、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- $\beta$ 1 シグナルを抑制する AT1 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 I (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- $\beta$ 1 via cleavage of proTGF- $\beta$ 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

## OPEN

# Haploinsufficiency of *CSF-1R* and clinicopathologic characterization in patients with HDLS



Takuya Konno, MD\*  
 Masayoshi Tada, MD,  
 PhD\*  
 Mari Tada, MD, PhD\*  
 Akihide Koyama, Mmed  
 Hiroaki Nozaki, MD, PhD  
 Yasuo Harigaya, MD, PhD  
 Jin Nishimiya, MD, PhD  
 Akiko Matsunaga, MD,  
 PhD  
 Nobuaki Yoshikura, MD  
 Kenji Ishihara, MD  
 Musashi Arakawa, MD  
 Aiko Isami  
 Kenichi Okazaki, MD,  
 PhD  
 Hideaki Yokoo, MD, PhD  
 Kyoko Itoh, MD, PhD  
 Makoto Yoneda, MD, PhD  
 Mitsuru Kawamura, MD,  
 PhD  
 Takashi Inuzuka, MD, PhD  
 Hitoshi Takahashi, MD,  
 PhD  
 Masatoyo Nishizawa,  
 MD, PhD  
 Osamu Onodera, MD,  
 PhD  
 Akiyoshi Kakita, MD, PhD  
 Takeshi Ikeuchi, MD, PhD

Correspondence to  
 Dr. Ikeuchi:  
 ikeuchi@bri.niigata-u.ac.jp

Editorial, page 102

Supplemental data at  
[www.neurology.org](http://www.neurology.org)

## ABSTRACT

**Objective:** To clarify the genetic, clinicopathologic, and neuroimaging characteristics of patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS) with the colony stimulating factor 1 receptor (*CSF-1R*) mutation.

**Methods:** We performed molecular genetic analysis of *CSF-1R* in patients with HDLS. Detailed clinical and neuroimaging findings were retrospectively investigated. Five patients were examined neuropathologically.

**Results:** We found 6 different *CSF-1R* mutations in 7 index patients from unrelated Japanese families. The *CSF-1R* mutations included 3 novel mutations and 1 known missense mutation at evolutionarily conserved amino acids, and 1 novel splice-site mutation. We identified a novel frameshift mutation. Reverse transcription PCR analysis revealed that the frameshift mutation causes nonsense-mediated mRNA decay by generating a premature stop codon, suggesting that haploinsufficiency of *CSF-1R* is sufficient to cause HDLS. Western blot analysis revealed that the expression level of CSF-1R in the brain from the patients was lower than from control subjects. The characteristic MRI findings were the involvement of the white matter and thinning of the corpus callosum with signal alteration, and sequential analysis revealed that the white matter lesions and cerebral atrophy relentlessly progressed with disease duration. Spotty calcifications in the white matter were frequently observed by CT. Neuropathologic analysis revealed that microglia in the brains of the patients demonstrated distinct morphology and distribution.

**Conclusions:** These findings suggest that patients with HDLS, irrespective of mutation type in *CSF-1R*, show characteristic clinical and neuroimaging features, and that perturbation of CSF-1R signaling by haploinsufficiency may play a role in microglial dysfunction leading to the pathogenesis of HDLS. *Neurology*® 2014;82:139-148

## GLOSSARY

**ASV** = aberrant splice variant; **CSF-1R** = colony stimulating factor 1 receptor; **CTF** = C-terminal fragment; **FLAIR** = fluid-attenuated inversion recovery; **GLUT-5** = glucose transporter-5; **HDLS** = hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids; **POLD** = pigmented orthochromic leukodystrophy; **RT** = reverse transcription; **SNP** = single nucleotide polymorphism; **WML** = white matter lesion.

Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids (HDLS) is a progressive dementing disorder that predominantly affects the cerebral white matter.<sup>1</sup> Patients with HDLS are clinically characterized by a gradual onset of cognitive and behavioral dysfunction, followed by motor impairments such as gait disturbance and bradykinesia.<sup>1-3</sup> Recently, a gene encoding the colony stimulating factor 1 receptor (*CSF-1R*) has been identified as a causative gene in patients with

\*These authors contributed equally to this work.

From the Departments of Neurology (T.K., Masayoshi Tada, A. Koyama, H.N., M.A., A.I., M.N., T. Ikeuchi), Pathology (Mari Tada, K.O., H.T., A. Kakita), Molecular Neuroscience (O.O.), and Molecular Genetics, Brain Research Institute (T. Ikeuchi), Niigata University; Department of Neurology (Y.H.), Maebashi Red Cross Hospital; Department of Neurology (J.N.), Gyotoku General Hospital, Ichikawa; Department of Neurology (A.M., M.Y.), University of Fukui Hospital; Department of Neurology and Geriatrics (N.Y., T. Inuzuka), Gifu University Graduate School of Medicine; Department of Neurology (K. Ishihara, M.K.), Showa University School of Medicine, Tokyo; Department of Human Pathology (H.Y.), Gunma University Graduate School of Medicine, Maebashi; and the Department of Pathology and Applied Neurobiology (K. Itoh), Kyoto Prefectural University of Medicine, Japan.

Go to [Neurology.org](http://Neurology.org) for full disclosures. Funding information and disclosures deemed relevant by the authors, if any, are provided at the end of the article. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Noncommercial No Derivative 3.0 License, which permits downloading and sharing the work provided it is properly cited. The work cannot be changed in any way or used commercially.