

HDLS.⁴ Mutations previously described in patients with HDLS are located within the kinase domain of *CSF-1R*.^{4–7} A previous study has shown that cells expressing mutant CSF-1R are defective in autophosphorylation of CSF-1R owing to CSF-1 stimulation.⁴ This finding suggests that abnormality in CSF-1R signaling is relevant to the pathogenesis of HDLS; however, the precise pathologic mechanism by which perturbation of CSF-1R signaling leads to HDLS has remained elusive.

Gross neuropathologic features of HDLS are characterized by prominent degenerative changes of the cerebral white matter with frontal prominence and the corpus callosum.¹ Microscopic examination revealed loss of myelin sheaths and axons and the presence of abundant neuroaxonal spheroids.^{1,8–11} Another distinctive neuropathologic feature is the presence of pigmented macrophages in a background of white matter destruction. These pathologic features have been commonly described in patients with pigmented orthochromatic leukodystrophy (POLD).^{12,13} Patients with POLD have recently been shown to carry *CSF-1R* mutations.¹⁴

In this study, we identified 7 index patients from unrelated pedigrees with or without a family history who were found to carry various types of *CSF-1R* mutation. We attempted to characterize the molecular genetic, clinical, neuroimaging, and neuropathologic findings of these patients.

METHODS Standard protocol approvals, registrations, and patient consents. We enrolled 7 probands from 7 unrelated Japanese families. Genomic DNA was isolated from peripheral leukocytes from the patients. This study was approved by the institutional review board of Niigata University, and written informed consent was obtained from all the patients or their caregivers. Patients clinically suspected of having HDLS were referred to our laboratory for genetic testing for *CSF-1R*. Clinical presentations and neuroimaging findings of the patients were retrospectively evaluated by board-certified neurologists.

Genetic analyses. Mutational analysis of *CSF-1R* was performed using sequences of both strands of all PCR-amplified coding exons and flanking intronic sequences as previously described.⁴ When the mutations were identified, we confirmed that the mutations were not found in known single nucleotide polymorphisms (SNPs) based on dbSNPs, and determined the absence of the mutations in normal controls by custom TaqMan SNP genotyping assay (Applied Biosystems, Foster City, CA). To predict the pathogenicity of amino acid substitutions caused by missense mutations, we conducted in silico analysis using the PolyPhen-2 and SIFT algorithms.^{15,16}

Total RNA was extracted from autopsied brain tissues from the 2 patients with *CSF-1R* mutations (c.2442+1G>C and p.S688EfsX13) and from peripheral leukocytes from the patient with p.I794T mutation. Complementary DNA was synthesized using a high-capacity cDNA reverse transcription kit (Applied Biosystems).

Western blot analysis. Proteins from the frontal cortex of the autopsied cases (c.2442+1G>C and p.S688EfsX13) and control subjects without neurologic disorders were extracted and fractionated as previously described.¹⁷ Detergent-extracted lysates were subjected to sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis followed by immunoblotting. A polyclonal anti-CSF-1R antibody that recognized the C-terminus of CSF-1R (C-20, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX) and a monoclonal antibody that recognized the N-terminus of CSF-1R (B8, Santa Cruz Biotechnology) were used for detection of total CSF-1R. CSF-1R phosphorylated at Tyr546, Tyr723, and Tyr809 was detected using specific antiphosphorylated CSF-1R antibodies (Cell Signaling Technology, Beverly, MA). Methods for cell culture experiments are described in the e-Methods on the *Neurology*[®] Web site at www.neurology.org.

Analysis of MRI and CT. We examined a total of 23 MRIs of 7 patients with HDLS with a *CSF-1R* mutation. MRI was conducted for diagnostic purposes using a 1.5T MRI system. Axial T1- and T2-weighted and fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images were obtained from all the patients. Longitudinal MRI studies of the 7 patients with HDLS were carried out using a previously reported semiquantitative rating scale.¹⁸ The semiquantitative rating was carried out by 2 expert examiners. The scores between the 2 examiners were highly in agreement with a significant correlation (intraclass correlation coefficient = 0.98, 95% confidence interval 97–99). Six out of the 7 patients were evaluated by brain CT.

Neuropathologic techniques and immunohistochemistry. Neuropathologic examination was performed on a biopsied specimen taken from the frontal white matter of patient III, and 4 autopsied brains of patient I,¹⁹ patient VI, a grandfather of patient II (patient IHC1 in table e-1),²⁰ and a patient who is not included in table 1 (patient IHC2 in table e-1). The clinicopathologic findings of patient IHC2 who was found to carry the *CSF-1R* mutation of p.I794T were reported in detail elsewhere.⁹ Formalin-fixed, paraffin-embedded sections were prepared, and stained with hematoxylin & eosin and by the Klüver-Barrera method. Serial sections of the biopsied specimen and the frontal and occipital lobes of the autopsied brains were also immunostained with polyclonal antibodies against Iba1 (Wako, Richmond, VA; 1:2,000), CSF-1R (C-20) (1:100), and glucose transporter-5 (GLUT-5) (IBL, Minneapolis, MN; 1:50), and monoclonal antibodies against CD68 (Dako, Carpinteria, CA; 1:200). As autopsy controls, sections from the frontal lobe of 3 patients without any neurologic diseases and 2 patients with either Alzheimer disease or adrenoleukodystrophy were immunostained. Detailed information on the control cases is available in table e-1.

RESULTS Identification of *CSF-1R* mutations. We identified 6 different mutations of *CSF-1R* in 7 probands with HDLS of Japanese origin (figure 1A). These mutations included 3 novel missense mutations (c.2294G>A/p.G765D, c.2342C>A/p.A781E, and c.2470C>T/p.P824S), one novel splice-site mutation (c.2442+1G>T), and one novel single nucleotide

Table 1 Clinical characteristics of HDLS patients with *CSF-1R* mutation

Patient	Sex	Mutations	Family history	Age at onset, y	Age at death, y	Duration, y	Initial symptoms	Present status	Dementia	Personality and behavior change	Depression	Parkinsonism	Pyramidal signs	Seizure
I	F	p.S688EfsX13	-	41	54	13	Cognitive impairment/personality and behavior change	Deceased	+	+	-	-	+	-
II	F	p.G765D	+	37	Alive	5	Cognitive impairment	Nonambulatory	+	+	-	+	+	-
III	F	p.A781E	+	36	Alive	3	Cognitive impairment/personality and behavior change	Akinetic mutism, gastrostomy	+	+	-	-	+	-
IV	M	p.I794T	-	40	Alive	6	Cognitive impairment	Akinetic mutism, gastrostomy	+	+	-	-	+	+
V	F	p.I794T	+	55	Alive	14	Cognitive impairment	Akinetic mutism, gastrostomy, tracheotomy	+	+	-	+	+	+
VI	M	c.2442+1G>T	-	53	57	4	Cognitive impairment	Deceased	+	+	-	+	+	-
VII	F	p.P824S	-	45	Alive	1	Cognitive impairment/depression	Ambulatory	+	+	+	+	+	-

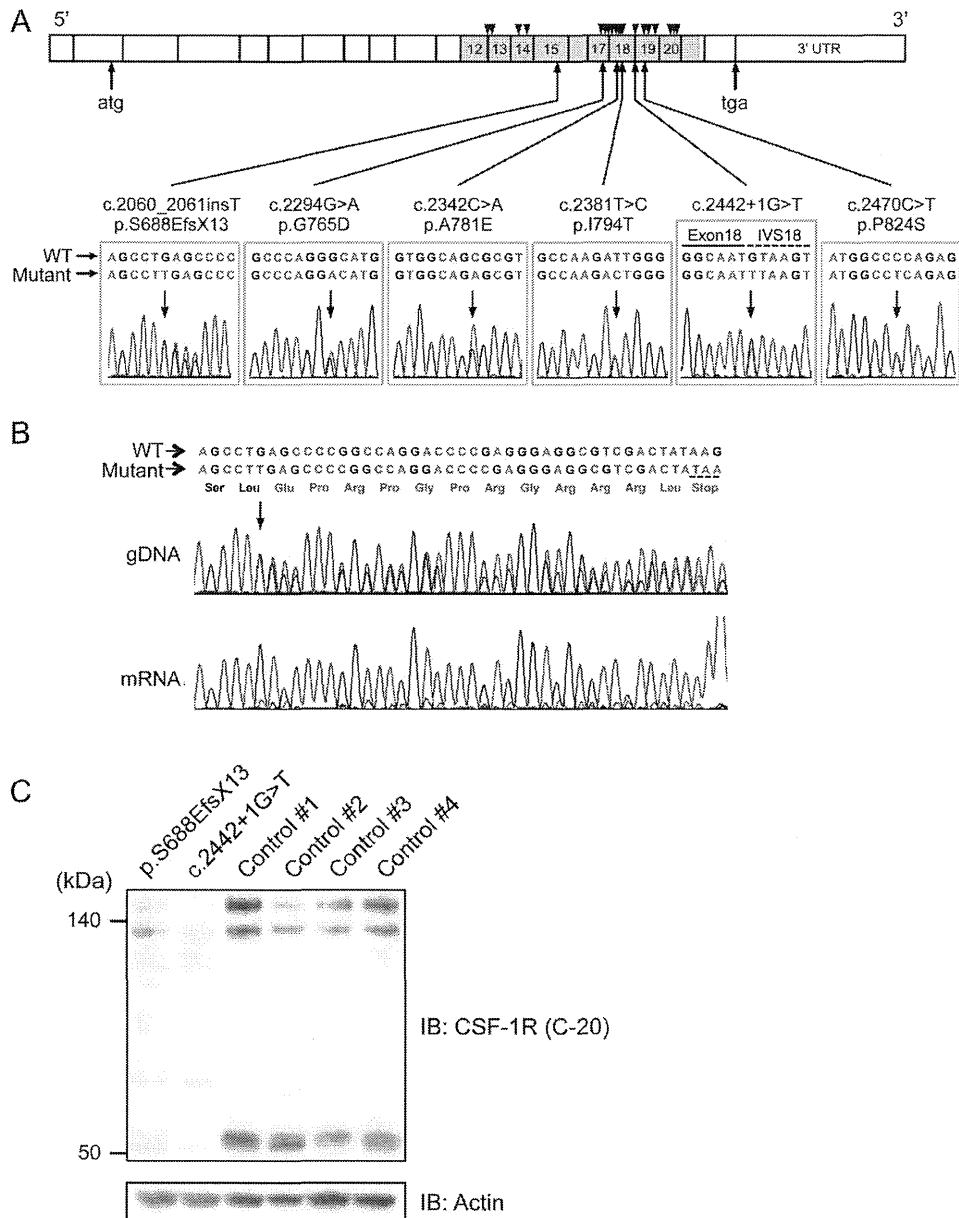
Abbreviation: HDLS = hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids.

insertion generating a premature stop codon (c.2060_2061insT/p.S688EfsX13). We detected one known missense mutation (c.2381T>C/p.I794T)^{4,6,7} in 2 patients from apparently unrelated pedigrees. All missense mutations were located in the tyrosine kinase domain of *CSF-1R*. These mutations were not described in the dbSNP database and not present in 124 healthy controls. The amino acids substituted by the missense mutations were highly conserved across species (figure e-1A). In silico analysis of the missense mutations using the PolyPhen-2 and SIFT programs revealed that these mutations are predicted to be pathogenic with high probability.

Clinical presentations. Familial occurrence was observed in 3 probands, in whom autosomal dominant inheritance was suspected. Four probands had no family history of neurologic diseases; hence, these patients apparently represent sporadic cases, although the possibility remains that incomplete penetrance or other factors may account for the lack of familial history. Details of clinical presentations of the patients with *CSF-1R* mutations are summarized in table 1. The ages at onset of the patients ranged from 36 to 55 years with the mean age at onset of 44 years. Cognitive impairment is an initial symptom in all the patients. Cognitive impairment as well as behavioral and personality changes were the cardinal clinical features in all the patients. Parkinsonian symptoms such as bradykinesia and gait disturbance, pyramidal signs, and seizures were the frequent accompanying clinical manifestations. Six of the 7 patients progressed into being wheelchair-bound and having severe dementia with communication problems within 5 years after onset. One patient at 1 year after onset remains ambulatory and capable of verbal conversation.

mRNA expression of mutant *CSF-1R*. We sought to ascertain whether the mutations found in this study result in alteration of mRNA expression or aberrant splicing. To clarify these issues, we performed reverse transcription (RT)-PCR analysis using mRNA specimens obtained from peripheral leukocytes or frozen brain tissues. Sequence analysis of the amplified *CSF-1R* mRNA from the patient with p.I794T mutation revealed that the mutant *CSF-1R* allele is expressed at a level comparable to the normal allele (figure e-1B). We next investigated mRNA expression in the cerebral cortex of the patient with the single nucleotide insertion that generates a premature stop codon (p.S688EfsX13). This premature stop codon is predicted to cause nonsense-mediated mRNA decay.²¹ To test this prediction, we amplified exon 15 of *CSF-1R* by RT-PCR. This analysis revealed that the expression level of the mutant allele is markedly decreased compared with that of the normal allele (figure 1B). We further attempted to determine the aberrant splice

Figure 1 Identification of *CSF-1R* mutations, and mRNA and protein expressions of mutant *CSF-1R*



(A) Schematic illustration of *CSF-1R* structure. Six different mutations identified in this study are shown below the diagram of electropherograms. The tyrosine kinase domain of *CSF-1R* is shown in gray. Numbers represent exons in which mutations were identified. Positions of previously reported mutations are shown as triangles above the diagram. IVS = intervening sequence. (B) Sequencing electropherogram of amplified genomic DNA and reverse transcription PCR amplicons of patient with frameshift mutation (p.S688EfsX13), which was predicted to undergo nonsense-mediated mRNA decay. The expression of the mutant allele was hardly detectable, suggesting that this frameshift mutation results in nonsense-mediated decay of mutant mRNA. The predicted amino acid sequences followed by a stop codon are shown in red. (C) Immunoblot analysis of *CSF-1R* protein using anti-*CSF-1R* antibody (C-20) in Triton X-100 soluble fraction from frontal cortex of autopsied cases (c.2442+1G>T and p.S688EfsX13) and 4 control subjects (1-4) without neurologic disorder. Note that the full-length *CSF-1R* (150 kDa and 130 kDa, representing mature protein and immature full-length protein, respectively) and proteolytically cleaved C-terminal fragment of *CSF-1R* (55 kDa) showed markedly decreased expression levels. The equivalency of protein loading is shown in the actin blot (bottom).

variants in the patient with splice-site mutation (c.2442+1G>T) involving exon 18. RT-PCR analysis using primers designed to amplify exons 17 to 20 revealed that 2 additional amplified fragments

were detected in the patient's mRNA in addition to the normal fragment (figure e-1C). We subcloned these aberrant splice transcripts and identified 3 aberrant splice variants with skipped exon 18

(figure e-1C). These splice transcripts are translated into in-frame truncated CSF-1R proteins.

Protein expression of CSF-1R in brain of patients with HDLS. Having established that alteration of mRNA expression and aberrant splicing of CSF-1R occur in the brains of the patients, we next examined the protein expression of CSF-1R in the brain. We extracted the protein from the frontal cortex of 2 patients with the frameshift mutation (p.S688EfsX13) and the splice site mutation (c.2442+1G>T) as well as from the controls without neurologic disorder. Western blot analysis using the anti-CSF-1R antibody revealed the full-length CSF-1R migrating at ~150 kDa as a mature form and ~130 kDa as an immature form, and the cleaved C-terminal fragment (CTF) migrating at ~55 kDa (figure 1C). The expression levels of full-length and cleaved CTF of CSF-1R in the patients were markedly lower than those in control subjects (figure 1C).

Defective autophosphorylation of CSF-1R in cells expressing mutant CSF-1R. To address the functional properties of mutant CSF-1R identified in patients with HDLS, we transiently transfected wild-type or mutant CSF-1Rs cDNA into HEK293T cells. Western blot analysis using anti-CSF-1R antibodies revealed comparable expression levels between wild-type and mutant CSF-1Rs (figure e-2A). Under incessant stimulation with CSF-1 in a medium containing serum, wild-type CSF-1R showed constitutive autophosphorylation of CSF-1R at Tyr 546 and 723, whereas none of the 8 mutants found in our patients (S688EfsX13, G765D, A781E, I794T, aberrant splice variant [ASV] 1, ASV2, ASV3, and P824S) and 2 previously reported mutants (M766T and M875T)⁴ revealed detectable autophosphorylation of CSF-1R (figure e-2A). We next examined ligand-induced autophosphorylation of CSF-1R by CSF-1 stimulation (25 ng/mL) after removal of serum from the medium. Upon stimulation with CSF-1, we observed autophosphorylation of wild-type CSF-1R at Tyr 723 and 809 in a time-dependent manner, whereas neither ASV1 nor I794T CSF-1R showed autophosphorylation (figure e-2B). To extend this finding, we transiently transfected 10 mutant CSF-1Rs and examined ligand-induced autophosphorylation of CSF-1R by stimulation with CSF-1 or IL-34. None of the mutant CSF-1Rs underwent autophosphorylation of CSF-1R (figure e-2C).

We then determined whether the missense mutant affects autophosphorylation of wild-type CSF-1R in a dominant-negative manner. HEK293 cells inducibly expressing FLAG-tagged wild-type CSF-1R were further transfected with myc-His-tagged wild-type or mutant CSF-1R. Coexpression of wild-type CSF-1R

increased the level of autophosphorylation of CSF-1R as compared with that observed in mock-transfected cells expressing FLAG-tagged wild-type CSF-1R (figure e-2D). Coexpression of mutant CSF-1Rs did not suppress the level of autophosphorylation occurring in FLAG-tagged wild-type CSF-1R (figure e-2D). These findings suggest that the missense mutants cause a loss of autophosphorylation of own CSF-1R, but do not suppress the autophosphorylation of wild-type CSF-1R by the dominant-negative mechanism.

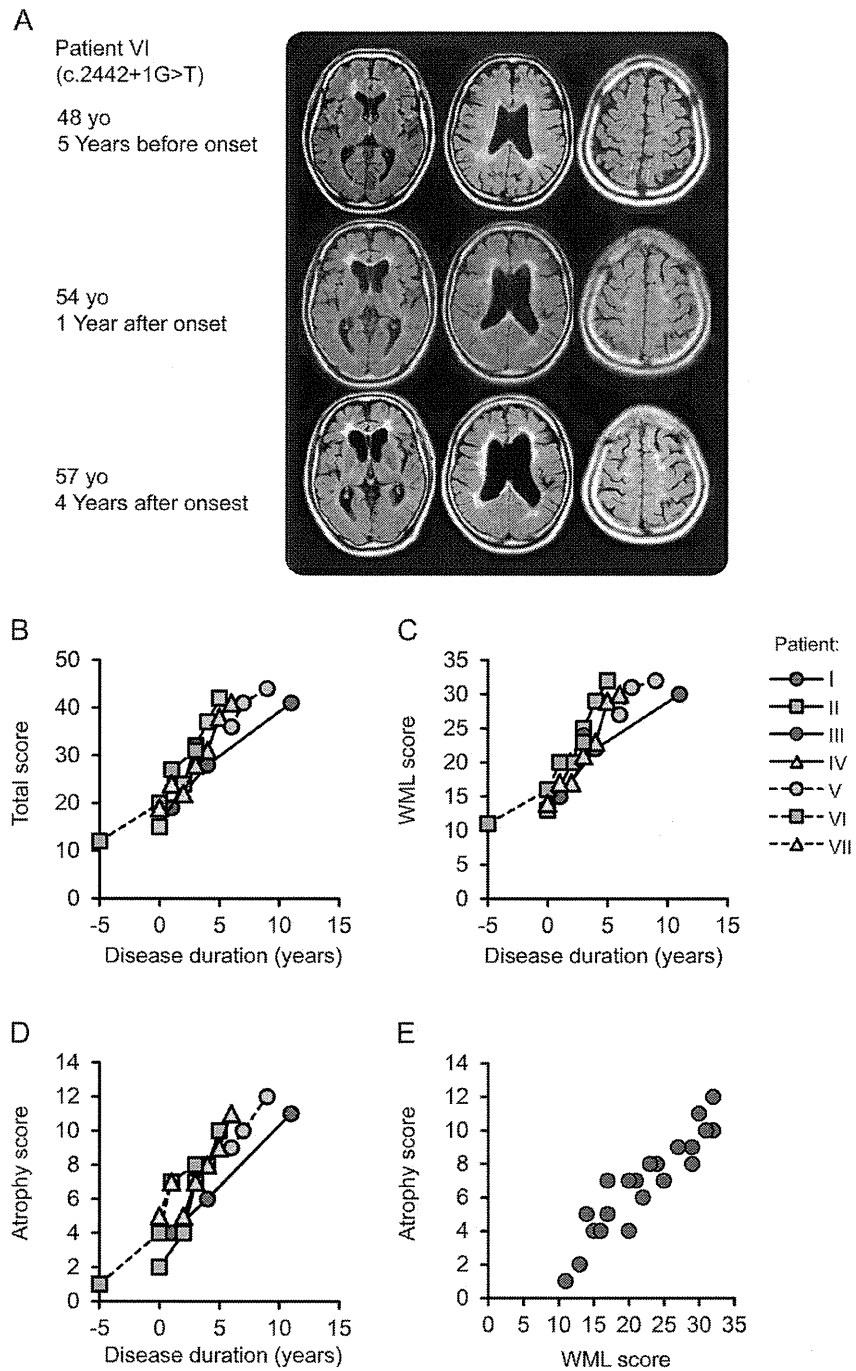
Characteristic MRI findings. MRIs of each patient are shown in figure 2A and figure e-3. All the patients showed bilateral hyperintensities in the white matter with frontal predominance visualized by FLAIR or T2-weighted imaging. Thinning of the corpus callosum with hyperintensity lesions were noted from the early phase of the disease (figure 2A). The changes of the white matter and the corpus callosum were already detectable 5 years prior to the onset in one patient, who underwent MRI for evaluation of his headache at age 48 (figure 2A). This finding suggests that MRI alterations precede the clinical symptoms of HDLS.

Longitudinal MRI changes. Longitudinal MRI changes were determined in 7 patients with HDLS using the MRI rating scale.¹⁸ The total MRI scores ranged from 12 to 44, the white matter lesion (WML) scores ranged from 11 to 32, and atrophy scores ranged from 1 to 12. These MRI scores increased with disease duration, and the average changes in scores per year were 3.7 ± 1.5 for total score, 2.5 ± 1.1 for WML score, and 1.3 ± 0.5 for atrophy score. There were statistically significant correlations of the disease duration with total ($r = 0.94$, $p < 0.01$), WML ($r = 0.94$, $p < 0.01$), and atrophy ($r = 0.92$, $p < 0.01$) scores (figure 2, B–D). We found a statistically significant correlation between WML score and atrophy score ($r = 0.94$, $p < 0.01$) (figure 2E).

Characteristic brain CT findings. Five out of 6 patients who underwent brain CT demonstrated multiple spotty calcifications in the affected white matter (figure 3A and figure e-4A). The calcifications preferentially developed in the frontal white matter adjacent to the anterior horn of the lateral ventricles. Histopathologic analysis by von Kossa staining of the lesions of calcifications in patient IV revealed that the lesions contained calcium deposits (figure 3, B and C, and figure e-4, B–D).

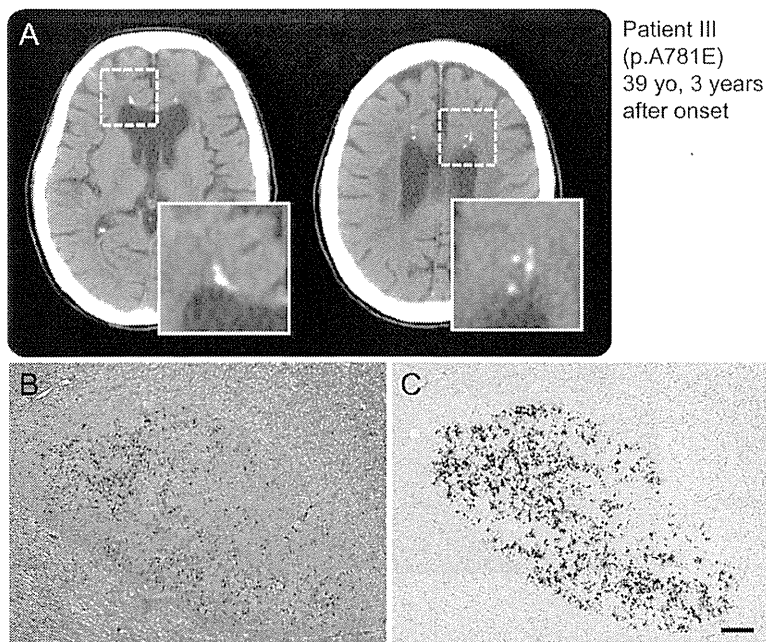
Neuropathologic findings of patients with HDLS. Histopathologically, the brains of all patients with HDLS showed diffuse loss of myelin sheaths and axons in the white matter with severe gliosis prominent in the frontal lobe (figure 4A). Within the white matter lesions, there were scattered axonal spheroids (figure 4B) showing

Figure 2 Longitudinal MRI changes of patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids



(A) Sequential MRI studies of patient VI using fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR) images. At the early stage of the disease, white matter hyperintensities were often found in the periventricular area, surrounding the anterior and posterior horns with a tendency to confluence, and in the fiber tract in the internal capsule. Enlargement of the lateral ventricles was also noticeable. Notably, the corpus callosum showed hyperintensities and thinning at the time of onset. The progression was relatively rapid and cortical atrophy became evident as the disease progressed. The MRI taken 5 years before the onset for the evaluation of headache showed subtle asymmetric white matter hyperintensities surrounding the anterior horns and faint signal changes and mild thinning of the corpus callosum. (B-E) Chronological changes in semiquantitative MRI scores in 7 patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. MRI finding severity was evaluated from the total score (B, scores 0-57), which combines the white matter lesion (WML) score (C, 1-42) and the atrophy score (D, 0-13), and the presence of lesions in the thalamus and basal ganglia. (E) Correlation analysis between WML score and atrophy score.

Figure 3 Spotty calcifications in white matter on CT images



(A) Multiple lesions caused by calcifications in the brain as revealed by CT. The boxed area is enlarged at the right bottom of the panel. Small spotty calcifications were observed in the affected white matter. (B, C) Histopathologic findings of small lesions in frontal white matter close to the corpus callosum of patient VI carrying splice-site mutation. Calcium deposition and fibrillary gliosis were evident. (B) Hematoxylin & eosin, (C) von Kóssa reaction. Bar = 100 μm for B and C.

immunoreactivity for phosphorylated neurofilaments and numerous phagocytic cells with brownish granules (figure 4C). Interestingly, immunohistochemistry using microglia/macrophage markers, including Iba1, CD68, and GLUT-5, revealed microglia with characteristic features. For example, despite diffuse white matter degeneration and astrogliosis, activated microglia were spatially restricted rather than distributed diffusely (figure 4D). The activated microglia (Iba1-, CD68-, and GLUT-5-immunopositive cells) and phagocytic cells (Iba1- and CD68-immunopositive, but GLUT-5-negative cells) appeared to be segregated (data not shown). In human tissue, GLUT-5 immunopositivity is selectively observed in microglia rather than in other mononuclear phagocytic cells.^{22,23} Moreover, individual microglia demonstrated their characteristic morphology with thin processes and many knotlike structures (figure 4, E–H). Furthermore, in the white matter of patients with HDLS, the number of activated microglia immunopositive for CSF-1R (figure 4, I and J) was apparently smaller than those observed in brains affected by Alzheimer disease and adrenoleukodystrophy (figure 4, K and L).

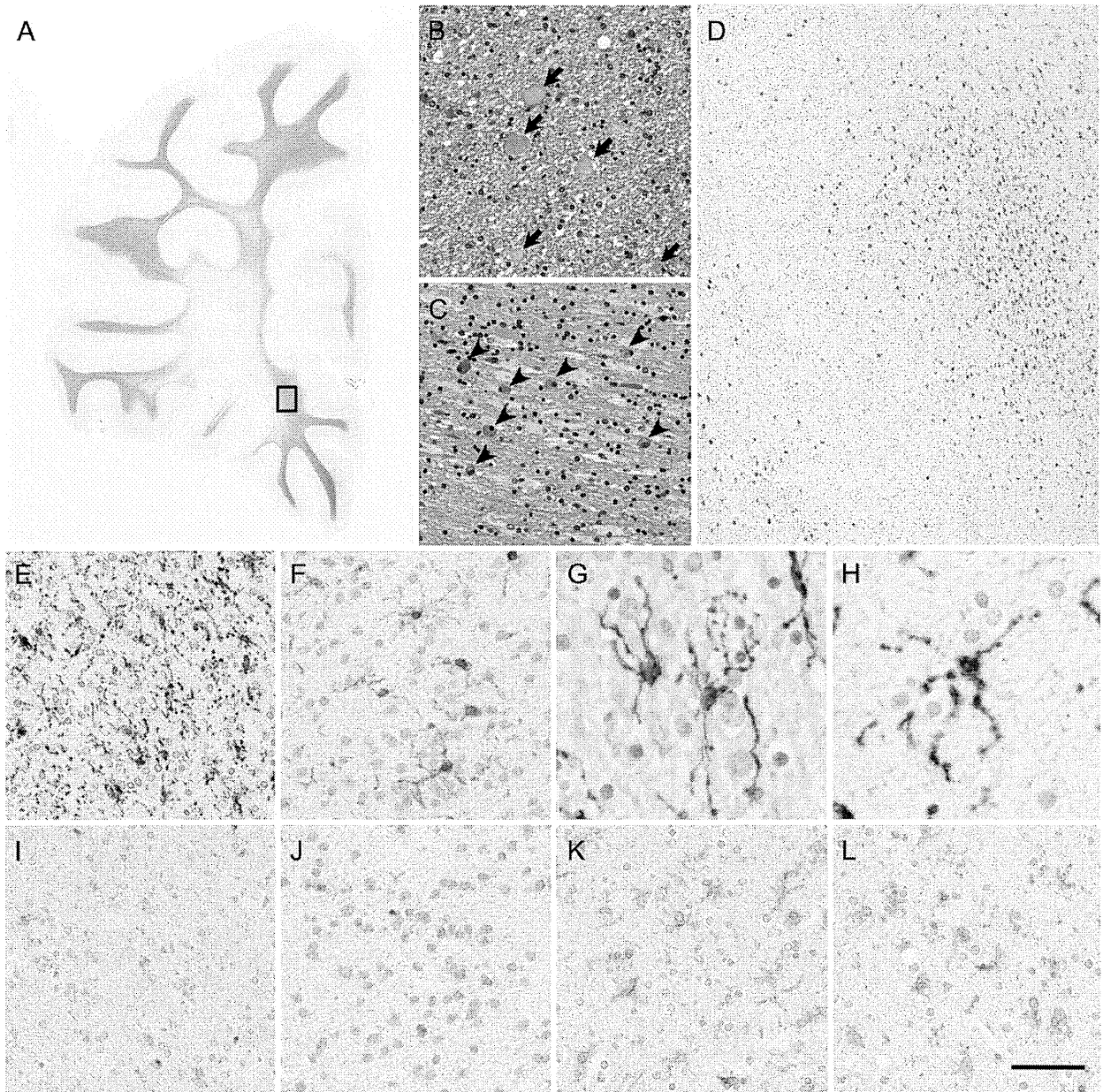
DISCUSSION The clinical presentations of our patients are essentially similar to those reported previously.^{2–4} Taken together with the previous reports,^{5,6} this study

suggests that HDLS is relatively common in the Japanese population. We identified a novel mutation of single nucleotide insertion (c.2060_2061insT) that causes a frameshift generating a premature stop codon (p.S688EfsX13). This premature stop codon fulfills the criterion of nonsense-mediated mRNA decay.²¹ Supporting this notion, mRNA analysis revealed that the mutant allele is poorly expressed in the brain tissue of the patient. This finding indicates that haploinsufficiency of *CSF-1R* is sufficient for developing HDLS. It has not been determined whether missense mutations of *CSF-1R* cause haploinsufficiency or a dominant-negative effect of CSF-1R. Our cell culture experiments revealed that additional expression of mutant CSF-1R in cells inducibly expressing wild-type CSF-1R did not suppress the autophosphorylation of CSF-1R occurring in wild-type CSF-1R. These findings suggest that the dominant-negative effect of the missense mutant CSF-1R is not likely to be the mechanism underlying missense mutations in HDLS.

MRI of the patients in this study revealed relatively uniform findings characterized by frontoparietal white matter changes with corpus callosum involvement. Thinning of the corpus callosum often accompanied by signal intensity changes is exclusively observed from the very early stage. On the basis of our experience, the sagittal views of brain MRI with FLAIR or T2-weighted images are useful for detecting such early characteristic changes of the corpus callosum. Enlargement of lateral ventricles without cortical atrophy is also an early characteristic MRI feature, which may reflect a decrease in white matter volume. We quantified MRI abnormalities using a rating scale as previously reported.¹⁸ The MRI scores increased with increasing disease duration, and there was a significant correlation between MRI score and disease duration. This suggests that the MRI rating scale could be a useful tool for monitoring disease progression.

Calcifications in the frontal white matter were frequently observed by CT in our patients with *CSF-1R* mutations. These calcifications on CT images have not been paid much attention in patients with HDLS except for a single patient pathologically diagnosed with HDLS in whom similar calcification was observed.²⁴ Conventional CT images often fail to detect small calcifications in the white matter; thus, we recommend the use of the thin-slice CT technique that reliably detects such small lesions. The calcifications in the white matter may be a disease-specific feature in patients with HDLS because they are not usually observed in patients with other neurologic diseases or healthy aged individuals. It is of note that CSF-1R signaling plays a role in the regulation of osteoclast cytoskeletal reorganization^{25,26}; hence, the calcifications in patients might be directly related to the pathophysiology of *CSF-1R* mutations.

Figure 4 Histopathologic features of patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids



(A-C) White matter lesions of frontal lobe of patient VI. (A) Marked myelin loss of white matter with U-fibers spared. (B) Axonal spheroids (arrows) in white matter. (C) Abundant macrophages (arrowheads) in white matter. (D-L) Microglia in white matter of patients with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids and control brains. (D-H) Immunohistochemistry of Iba1 in degenerative white matter. (D, E) Patient VI. (F) Patient III. (G) Patient IHC1. (H) Patient IHC2. (D) The boxed area in (A) is enlarged. Spatially restricted appearance of Iba1-immunopositive activated microglia (upper right corner). (E-H) Characteristic features of microglia. (I-L) CSF-1R immunohistochemistry in degenerative white matter. (I) Patient VI. (J) Patient III. (K) Patient with Alzheimer disease. (L) Patient with adrenoleukodystrophy. Images in I and J were taken from serial sections of images in E and F, respectively. Note very faint or no CSF-1R immunopositivity in activated microglia in images I and J. (A) Klüver-Barrera staining, (B, C), hematoxylin & eosin staining, (D-L) immunohistochemistry of Iba1 (D-H) and CSF-1R (I-L). Bar = 7 mm for A, 33 μ m for B and C, 306 μ m for D, 50 μ m for E, F, and I-L, and 25 μ m for G and H.

Histopathologic examinations of the brains of patients with HDLS showed the abnormal appearance of activated microglia in a spatially restricted manner and morphologic alteration of microglia, despite diffuse white matter degeneration and astrogliosis. Moreover, CSF-1R immunopositivity on remaining activated microglia was clearly weaker than that in brains with

other diseases. In mice homozygous for a null mutation in *Csf1r* and in the CSF-1 ligand gene (*Csf1^{tg/tg}*), a reduced number and morphologic alteration of microglia have been reported.²⁷⁻³¹ The histopathologic features of microglia in the present patients appear to be similar to those of the mutant mice, even though the degree of abnormality is different between the 2 species. Moreover,

macroscopic findings in brains of *Csf1r*-deficient mice such as reduced brain size, ventricular enlargement, and defects in the corpus callosum are also commonly observed in patients with HDLS.³¹ Impairment of the CSF-1R-mediated microglial repair of axonal degeneration may contribute to the development of HDLS, because mice showing defective microglia/macrophages in the brain appeared to show impaired remyelination.³² In contrast, a recent study has shown that CSF-1R is expressed in neurons and CSF-1 administration improves neuronal cell survival without significant microglial activation in a mouse model of neurodegeneration.³³ Moreover, it was shown that CSF-1R is expressed in neuronal stem cells and the CSF-1R ligands directly stimulate neuronal differentiation and neuronal precursor cell survival.³¹ Further investigations are warranted to clarify whether microglia or neurons play a predominant role in the pathogenesis of HDLS.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Dr. Konno performed drafting the manuscript, study concept, acquisition of data, and analysis of data. Dr. Masayoshi Tada performed drafting the manuscript, study concept, acquisition of data, and analysis of data. Dr. Mari Tada performed study concept, acquisition of data, and analysis of data. Dr. Koyama performed acquisition of data and analysis of data. Dr. Nozaki performed acquisition of data and analysis of data. Dr. Harigaya performed acquisition of data. Dr. Nishimiya performed acquisition of data. Dr. Matsunaga performed acquisition of data. Dr. Yoshikura performed acquisition of data. Dr. Ishihara provided vital reagents and performed acquisition of data. Dr. Arakawa performed acquisition of data. A. Isami performed acquisition of data. Dr. Okazaki performed acquisition of data. Dr. Yokoo provided vital reagents and performed acquisition of data. Dr. Itoh provided vital reagents and performed acquisition of data. Dr. Yoneda performed acquisition of data. Dr. Kawamura performed acquisition of data. Dr. Inuzuka performed acquisition of data. Dr. Takahashi performed acquisition of data and study supervision. Dr. Nishizawa performed acquisition of data and study supervision. Dr. Onodera performed acquisition of data and study supervision. Dr. Kakita performed acquisition of data, interpretation of data, and study supervision. Dr. Ikeuchi performed drafting the manuscript, study concept, interpretation of data, and obtaining funding.

ACKNOWLEDGMENT

The authors thank the patients and their relatives for participating in this study and Drs. Tokunaga, Kawachi, Sugai, and Toyoshima for assistance with data collection.

STUDY FUNDING

Supported in part by Grants-in-aid for Scientific Research (21200041 to T.I.) from the Japan Society of Promotion of Science, a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan, and a grant from the Tsubaki Memorial Foundation (to T.K.).

DISCLOSURE

T. Konno received research support from the Tsubaki Memorial Foundation. M. Tada is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science. A. Koyama reports no disclosures. H. Nozaki is funded by a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Y. Harigaya, J. Nishimiya, A. Matsunaga, N. Yoshikura, K. Ishihara, A. Isami, K. Okazaki, H. Yokoo, K. Itoh, M. Yoneda, and M. Kawamura report no disclosures. T. Inuzuka is funded by Grants-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. H. Takahashi is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science and a Grant-in-aid from the

Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. M. Nishizawa is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science and a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. O. Onodera is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science and a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. A. Kakita is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science and a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. T. Ikeuchi is funded by Grants-in-aid for Scientific Research from the Japan Society of Promotion of Science and a Grant-in-aid from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan. Go to Neurology.org for full disclosures.

Received May 28, 2013. Accepted in final form November 16, 2013.

REFERENCES

1. Axelsson R, Røyttä M, Sourander P, Akesson HO, Andersen O. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. *Acta Psychiatr Scand Suppl* 1984;314:1–65.
2. Wider C, Van Gerpen JA, DeArmond S, Shuster EA, Dickson DW, Wszolek ZK. Leukoencephalopathy with spheroids (HDLS) and pigmentary leukodystrophy (POLD): a single entity? *Neurology* 2009;72:1953–1959.
3. Wong JC, Chow TW, Hazrati LN. Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia can present as frontotemporal dementia syndrome. *Dement Geriatr Cogn Disord* 2011;32:150–158.
4. Rademakers R, Baker M, Nicholson AM, et al. Mutations in the colony stimulating factor 1 receptor (CSF1R) gene cause hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. *Nat Genet* 2012;44:200–205.
5. Kinoshita M, Yoshida K, Oyanagi K, Hashimoto T, Ikeda S. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids caused by R782H mutation in CSF1R: case report. *J Neurol Sci* 2012;318:115–118.
6. Mitsui J, Matsukawa T, Ishiura H, et al. CSF1R mutations identified in three families with autosomal dominantly inherited leukoencephalopathy. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2012;159B:951–957.
7. Kleinfeld K, Mobley B, Hedera P, Wegner A, Sriram S, Pawate S. Adult-onset leukoencephalopathy with neuroaxonal spheroids and pigmented glia: report of five cases and a new mutation. *J Neurol* 2013;260:558–571.
8. Freeman SH, Hyman BT, Sims KB, et al. Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids: clinical, neuroimaging and neuropathologic observations. *Brain Pathol* 2009;19:39–47.
9. Itoh K, Shiga K, Shimizu K, Muranishi M, Nakagawa M, Fushiki S. Autosomal dominant leukodystrophy with axonal spheroids and pigmented glia: clinical and neuropathological characteristics. *Acta Neuropathol* 2006;111:39–45.
10. Van Gerpen JA, Wider C, Broderick DF, Dickson DW, Brown LA, Wszolek ZK. Insights into the dynamics of hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids. *Neurology* 2008;71:925–929.
11. Baba Y, Ghetti B, Baker MC, et al. Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids: clinical, pathological and genetic studies of a new kindred. *Acta Neuropathol* 2006;111:300–311.
12. Gray F, Destee A, Bourre JM, et al. Pigmentary type of orthochromatic leukodystrophy (OLD): a new case with ultrastructural and biochemical study. *J Neuropathol Exp Neurol* 1987;46:585–596.
13. Tuñón T, Ferrer I, Gállego J, Delgado G, Villanueva JA, Martínez-Peñuela JM. Leucodystrophy with pigmented

- glial and scavenger cells (pigmentary type of orthochromatic leucodystrophy). *Neuropathol Appl Neurobiol* 1988;14:337–344.
14. Nicholson AM, Baker MC, Finch NA, et al. CSF1R mutations link POLD and HDLS as a single disease entity. *Neurology* 2013;80:1033–1040.
 15. Adzhubei IA, Schmidt S, Peshkin L, et al. A method and server for predicting damaging missense mutations. *Nat Methods* 2010;7:248–249.
 16. Kumar P, Henikoff S, Ng PC. Predicting the effects of coding non-synonymous variants on protein function using the SIFT algorithm. *Nat Protoc* 2009;4:1073–1081.
 17. Kaneko H, Kakita A, Kasuga K, et al. Enhanced accumulation of phosphorylated α -synuclein and elevated β -amyloid 42/40 ratio caused by expression of the presenilin-1 Δ T440 mutant associated with familial Lewy body disease and variant Alzheimer's disease. *J Neurosci* 2007;27:13092–13097.
 18. Sundal C, Van Gerpen JA, Nicholson AM, et al. MRI characteristics and scoring in HDLS due to CSF1R gene mutations. *Neurology* 2012;79:566–574.
 19. Ishihara K, Horibe Y, Ohno H, et al. A clinicopathological study of young-onset dementia: report of 2 autopsied cases [in Japanese]. *Brain Nerve* 2011;63:1117–1123.
 20. Ishida Y, Narita T, Kawarai M. An autopsy case of late-life nonmetachromatic leukodystrophy [In Japanese]. *Brain Nerve* 1967;19:835–842.
 21. Kuzmiak HA, Maquat LE. Applying nonsense-mediated mRNA decay research to the clinic: progress and challenges. *Trends Mol Med* 2006;12:306–316.
 22. Sasaki A, Horikoshi Y, Yokoo H, Nakazato Y, Yamaguchi H. Antiserum against human glucose transporter 5 is highly specific for microglia among cells of the mononuclear phagocyte system. *Neurosci Lett* 2003;338:17–20.
 23. Horikoshi Y, Sasaki A, Taguchi N, et al. Human GLUT5 immunolabeling is useful for evaluating microglial status in neuropathological study using paraffin sections. *Acta Neuropathol* 2003;105:157–162.
 24. Martinez-Saez E, Shah S, Costa C, Fleminger S, Connor S, Bodi I. Adult onset leukodystrophy with neuroaxonal spheroids and demyelinating plaque-like lesions. *Neuropathology* 2012;32:285–292.
 25. Insogna KL, Sahni M, Grey AB, et al. Colony-stimulating factor-1 induces cytoskeletal reorganization and c-src-dependent tyrosine phosphorylation of selected cellular proteins in rodent osteoclasts. *J Clin Invest* 1997;100:2476–2485.
 26. Dai XM, Ryan GR, Hapel AJ, et al. Targeted disruption of the mouse colony-stimulating factor 1 receptor gene results in osteopetrosis, mononuclear phagocyte deficiency, increased primitive progenitor cell frequencies, and reproductive defects. *Blood* 2002;99:111–120.
 27. Wegiel J, Wiśniewski HM, Dziewiatkowski J, et al. Reduced number and altered morphology of microglial cells in colony stimulating factor-1-deficient osteopetrotic op/op mice. *Brain Res* 1998;804:135–139.
 28. Sasaki A, Yokoo H, Naito M, Kaizu C, Shultz LD, Nakazato Y. Effects of macrophage-colony-stimulating factor deficiency on the maturation of microglia and brain macrophages and on their expression of scavenger receptor. *Neuropathology* 2000;20:134–142.
 29. Erbllich B, Zhu L, Ergen AM, Dobrenis K, Pollard JW. Absence of colony stimulation factor-1 receptor results in loss of microglia, disrupted brain development and olfactory deficits. *PLoS One* 2011;6:e26317.
 30. Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, et al. Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages. *Science* 2010;330:841–845.
 31. Nandi S, Gokhan S, Dai XM, et al. The CSF-1 receptor ligands IL-34 and CSF-1 exhibit distinct developmental brain expression patterns and regulate neural progenitor cell maintenance and maturation. *Dev Biol* 2012;367:100–113.
 32. Kondo Y, Adams JM, Vanier MT, Duncan ID. Macrophages counteract demyelination in a mouse model of globoid cell leukodystrophy. *J Neurosci* 2011;31:3610–3624.
 33. Luo J, Elwood F, Britschgi M, et al. Colony-stimulating factor 1 receptor (CSF1R) signaling in injured neurons facilitates protection and survival. *J Exp Med* 2013;210:157–172.

Save These Dates for AAN CME Opportunities!

Mark these dates on your calendar for exciting continuing education opportunities, where you can catch up on the latest neurology information.

AAN Annual Meeting

- April 26-May 3, 2014, Philadelphia, Pennsylvania, Pennsylvania Convention Center

1 血管障害

その他
遺伝性脳小血管病

COL4A1-related disorder

Key words : COL4A1, 基底膜, 遺伝性脳小血管病, 脳出血, 孔脳症

関根有美¹
野崎洋明¹
西澤正豊¹
小野寺理²

1. 概念・定義

COL4A1 関連疾患 (COL4A1-related disorder)¹⁾ は, collagen type IV $\alpha 1$ 遺伝子 (COL4A1) の変異によって発症する常染色体優性遺伝性疾患である。COL4A1 は基底膜の主要構成成分である IV 型コラーゲンの $\alpha 1$ 鎖をコードしている。本疾患では, COL4A1 の変異により IV 型コラーゲンが障害されて基底膜の脆弱化が起こり, 脳, 網膜, 腎臓, 皮膚など様々な臓器の小血管で基底膜の肥厚や断裂を呈する。その結果, 易出血性が前景に立つ脳小血管病²⁾ や孔脳症³⁾ を発症し, 様々な重症度で多彩な全身症状を合併する。孔脳症とは, 大脳半球に脳室と交通する嚢胞あるいは空洞の形成がみられる先天異常である⁴⁾。特に脳出血を繰り返す小児や若年成人例では, 鑑別に挙げるべき疾患である。

2. 疫学

正確な有病率は不明であるが, これまでにコーカサス人を中心に 50 家系以上が報告されている^{5,6)}。我が国でも, COL4A1 に異なる変異をもつ孔脳症や脳出血の患者が 15 家系 15 例 (ミスセンス変異 10 例, ナンセンス変異 1 例, フレームシフト 1 例, スプライスサイト変異 3 例) 報告されている³⁾。小児例だけでなく, 成人例の報告もある。同一家系でも重症度は様々で, 孤

発例⁷⁾ や *de novo* 変異例⁸⁾ も報告されており, 軽症例や家族歴がとらえられない症例は見逃されている可能性がある。また, 2012 年に COL4A1 変異が成人の孤発性脳出血に関与することが新たに報告され⁹⁾, 従来考えられていたよりもその有病率は高いことが想定される。

3. 病 因

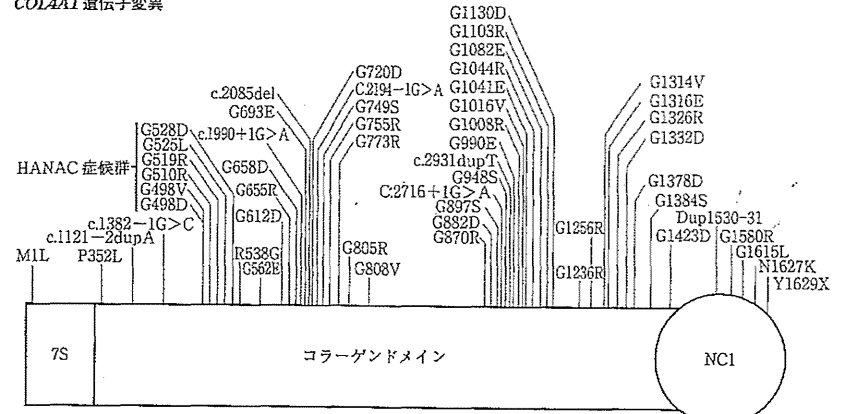
IV 型コラーゲンの α 鎖は基底膜の主要構成成分である¹⁰⁾。 α 鎖には $\alpha 1$ - $\alpha 6$ まで 6 つのアイソフォームがあり, いずれも N 末端側から 7S ドメイン, コラーゲンドメイン, NCI ドメインを有している。コラーゲンドメインはグリシン-X-Y の繰り返し配列を含んでおり, この配列は α 鎖がヘリックス構造を形成する際に重要である。また, NCI ドメインは α 鎖の 3 量体形成に重要な役割を担っている。 α 鎖は $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$, $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$, $\alpha 5\alpha 5\alpha 6$ の 3 種類の 3 量体を形成し, 細胞外に分泌されて機能する。 $\alpha 3\alpha 4\alpha 5$ や $\alpha 5\alpha 5\alpha 6$ の発現が組織特異性を示すのに対して, $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ は広く全身の基底膜に発現している。

COL4A1 は 52 のエクソンから構成され, α 鎖のアイソフォームのうち, $\alpha 1$ 鎖をコードしている。COL4A1 関連疾患で報告された大部分の変異は, エクソン 24-49 にまたがるコラーゲンドメインに位置し, 主にグリシン残基が置換される (図 1)。また, NCI ドメインの変異も報

¹⁾Yumi Sekine, ¹⁾Hiroaki Nozaki, ¹⁾Masatoyo Nishizawa, ²⁾Osamu Onodera: ¹⁾Department of Neurology, Clinical Neuroscience Branch, Brain Institute, Niigata University 新潟大学 脳研究所 神経内科 ²⁾Department of Molecular Neuroscience, Resource Branch for Brain Disease Research, Centre for Bioresource-based Research, Brain Research Institute 同 脳研究所 分子神経疾患資源解析学分野

神経症候群 (第 2 版) I

COL4A1 遺伝子変異



COL4A2 遺伝子変異

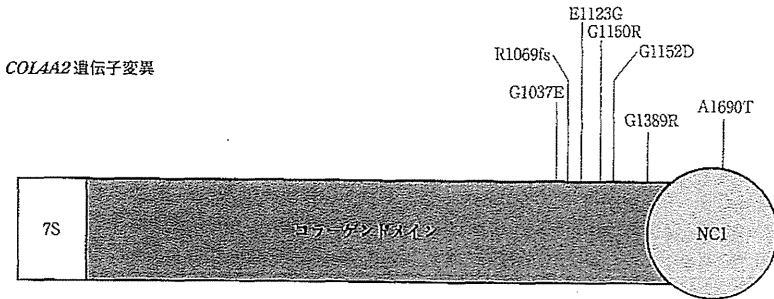


図 1 COL4A1 遺伝子変異と COL4A2 遺伝子変異

告されている⁴⁾。これらの変異により, $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ の形成と分泌が障害されて小胞体に滞留し, 基底膜構造に異常を起こすと考えられている。近年, $\alpha 2$ 鎖をコードする COL4A2 の変異により孔脳症や脳出血を発症する症例が報告された¹¹⁾ ことは, 'COL4A1 関連疾患は $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ の異常によって発症する' という仮説を支持している。これまで, COL4A1 関連疾患の発症機序として, 変異型 COL4A1 タンパクによる dominant negative 効果が想定されていたが, ナンセンス変異や premature stop codon になる 1塩基欠失やスプライスサイト変異が報告されたことから, ハプロ不全でも発症すると思われるようになった⁹⁾。本疾患では, スタートコドンの変異も報

告されているが, その発症機序についてはまだ結論が出ていない⁹⁾。

4. 病 態

COL4A1 がコードする $\alpha 1$ 鎖は全身の基底膜に発現しているため, COL4A1 関連疾患では, 脳だけでなく, 全身の小血管が障害される。光学顕微鏡では異常所見を検出することはできないが, 電子顕微鏡での観察によると, 基底膜は不均一, 不連続で, 肥厚や断裂が認められる¹²⁾。網膜や腎臓の血管基底膜にも病理変化が認められる。中枢神経症状として, 幼児期の片麻痺, 片頭痛, 痙攣, 知能障害などを呈し, 脳出血や脳梗塞を繰り返す。孔脳症は胎児期の胚芽層出

表1 COL4A1 関連疾患の4臨床病型

症候	1型	2型	3型	4型
	常染色体優性 遺伝性I型孔脳症 周産期~新生児期	出血を伴う 脳小血管病 新生児期~成人期	Axenfeld-Rieger 奇形を伴う脳小血管病 新生児期~成人期	HANAC 症候群 成人期(50歳以下)
発症年齢				
認知機能低下	±	+	+	-
精神遅滞	±	+	±	-
神経徴候				
片麻痺	+	+	+	+
片頭痛	-	+	-	-
痙攣	+	+	-	-
先天性白内障	-	+	+	+
緑内障	-	-	+	-
眼病変				
網膜血管蛇行	-	+	-	+
眼底出血	-	+	+	+
網膜剥離	-	-	+	-
腎病変				
血尿	-	±	-	+
腎嚢胞	-	-	-	+
腎機能低下	-	-	-	+
レイノー現象	-	-	-	+
その他				
不整脈(上室性頻脈)	-	-	-	+
有痛性筋痙攣	-	-	-	+
石灰化	+	?	?	+
白質病変	+	+	+	+
ラクナ梗塞	+	+	+	+
頭部画像				
孔脳症	+	-	+	-
脳出血	+	+	-	-
微小脳出血	+	+	+	±
脳動脈瘤	-	-	-	+

HANAC: hereditary angiopathy with nephropathy, aneurysms and muscle cramps.

血によって起こると考えられている⁴⁾。全身症候としては、網膜出血、視力障害、白内障、緑内障、microcornia、血尿、腎嚢胞、レイノー現象、上室性頻拍、筋痙攣などがみられる。実際に患者が呈する症状は、これらを様々な程度で組み合わせたものであり、大きく4つの型に分類されている⁴⁾が、相互に重複する点も多い(表1)。

(1) 常染色体優性遺伝性I型孔脳症^{3,10)}: 嚢胞性で脳室と交通する脳の空洞病変を成すI型孔脳症が特徴である。幼児期の片麻痺、水頭症、痙攣、言語発達障害、精神遅滞、脳性麻痺と関連する。周産期のストレスにより脳出血をきたしやすく、大出血を起こすと死亡する危険性もある。

(2) 出血を伴う脳小血管病^{2,11)}: 幼児期から

高齢成人まで幅広い年代で脳出血を繰り返し、深部白質のびまん性白質病変を合併する。

(3) Axenfeld-Rieger 奇形を伴う脳小血管病^{5,12)}: 隅角組織の形成不全で発症する緑内障と、虹彩の發育不全、瞳孔偏位、歯牙の形成不全を伴うものをいう。中枢神経では、びまん性白質病変や微小出血、脳梗塞を認める。

(4) HANAC 症候群^{13,14)}: 腎症と動脈瘤、有痛性筋痙攣を伴う遺伝性血管症候群。COL4A1 のエクソン24と25に変異が集積する。血尿、両側性多発腎嚢胞、不整脈、頭蓋内の脳動脈瘤、網膜動脈の蛇行、筋痙攣など症状は全身に及ぶ。筋痙攣がなくても、血清CKが高値の場合がある。

5. 診断と鑑別診断

周産期から高齢者まで、繰り返す脳出血が特徴である。孤発例も報告されているため、家族歴は必須ではない。加えて、孔脳症、前眼房の奇形、腎嚢胞のいずれかを合併していれば、COL4A1 関連疾患を積極的に疑う。有痛性筋痙攣やレイノー現象の確認や眼底検査、尿検査、血清CK、GFR、心電図をチェックすることも重要である。頭部MRIでは孔脳症、微小出血、多発脳出血、白質病変を認める場合がある。また、頭部CTで上皮下や孔脳症の嚢胞周囲にみられる石灰化が特異的所見として報告されている¹⁵⁾。皮膚生検や腎生検により基底膜の病理学的変化を検索することが可能である。しかし、電子顕微鏡での観察が必要となるため、検査が可能な施設は限られている。確定診断のためには、COL4A1 の遺伝子変異が必要である。臨床的に可能性が高い場合では、COL4A1 に変異がなければCOL4A2 遺伝子変異の検索も行う必要がある⁸⁾。

鑑別疾患としては、遺伝性脳小血管病¹⁶⁾やほかの原因による孔脳症が挙げられる。遺伝性脳小血管病ではcerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical leukodystrophy (CADASIL)、cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical leukodystrophy

(CARASIL)、autosomal dominant retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy (RVCL)、脳アミロイドアンギオパシー(cerebral amyloid angiopathy)、ファブリー病(Fabry's disease)について検討を要する。しかし、発端者、または血縁者にCOL4A1 関連疾患に特徴的な孔脳症、前眼房の奇形、腎嚢胞を合併していれば本症の疑いがあり、詳細な家族歴、病歴の聴取が必要である。

6. 治療と予後

根治療法はまだ確立されておらず、治療は脳出血の予防が中心である⁸⁾。高血圧を伴う場合には血圧コントロールが必要である。動脈瘤を合併している症例では、外科的治療あるいは血管内治療について検討を行う。抗凝固剤の使用は控えることが望ましい。COL4A1 遺伝子異常をもつ児は、周産期に脳出血が生じうるので、分娩時には帝王切開を行うことが推奨される。頭部に衝撃が加わるようなスポーツは脳出血を誘発しうるので控えるよう指導する。臨床経過は、始めは無症状であっても、潜行性に脳微小出血または脳出血を繰り返す度に、段階的に神経徴候が悪化すると思われる。予後は、主に脳出血後遺症の重症度や致命的な脳出血の起きた時期により、周産期から成人期まで様々である。

図文 献

- 1) Yamamoto Y, et al: Review: molecular genetics and pathology of hereditary small vessel diseases of the brain. Neuropathol Appl Neurobiol 37: 94-113, 2011.
- 2) Vahedi K, et al: COL4A1 mutation in a patient with sporadic, recurrent intracerebral hemorrhage. Stroke 38: 1461-1464, 2007.
- 3) Yoneda Y, et al: Phenotypic spectrum of COL4A1 mutations: porencephaly to schizencephaly. Ann Neurol 73: 48-57, 2013.
- 4) Kuo DS, et al: COL4A1 and COL4A2 mutations and disease: insights into pathogenic mechanisms and potential therapeutic targets. Hum Mol Genet 21: R97-R110, 2012.
- 5) Rodahl E, et al: Variants of anterior segment dysgenesis and cerebral involvement in a large family with a novel COL4A1 mutation. Am J Ophthalmol 155: 946-953, 2013.
- 6) Lemmens R, et al: Novel COL4A1 mutations cause cerebral small vessel disease by haploinsufficiency. Hum Mol Genet 22: 391-397, 2013.
- 7) Weng YC, et al: COL4A1 mutations in patients with sporadic late-onset intracerebral hemorrhage. Ann Neurol 71: 470-477, 2012.
- 8) Jeanne M, et al: COL4A2 mutations impair COL4A1 and COL4A2 secretion and cause hemorrhagic stroke. Am J Hum Genet 90: 91-101, 2012.

- 9) Lanfranconi S, Markus HS: COL4A1 mutations as a monogenic cause of cerebral small vessel disease: a systematic review. Stroke 41: e513-e518, 2010.
- 10) Gould DB, et al: Mutations in Col4a1 cause perinatal cerebral hemorrhage and porencephaly. Science 308: 1167-1171, 2005.
- 11) Gould DB, et al: Role of COL4A1 in small-vessel disease and hemorrhagic stroke. N Engl J Med 354: 1489-1496, 2006.
- 12) Sibon I, et al: COL4A1 mutation in Axenfeld-Rieger anomaly with leukoencephalopathy and stroke. Ann Neurol 62: 177-184, 2007.
- 13) Plaisier E, et al: COL4A1 mutations and hereditary angiopathy, nephropathy, aneurysms, and muscle cramps. N Engl J Med 357: 2687-2695, 2007.
- 14) Alamowitch S, et al: Cerebrovascular disease related to COL4A1 mutations in HANAC syndrome. Neurology 73: 1873-1882, 2009.
- 15) Livingston J, et al: COL4A1 mutations associated with a characteristic pattern of intracranial calcification. Neuropediatrics 42: 227-233, 2011.

1 血管障害

その他

遺伝性脳小血管病

ファブリー病

Fabry disease

Key words: ファブリー病, 酵素補充療法

矢部 一郎
佐々木秀直

血管障害

1. 疾患概要・定義

α -ガラクトシダーゼの酵素欠損により心臓、腎臓、血管内皮、皮膚、角膜、消化管などの組織を中心にグロボトリオシルセラミド(GL-3)が蓄積することにより、心不全、腎不全、脳梗塞、被角血管腫などをきたす疾患である。遺伝形式はX染色体連鎖性の遺伝形式をとる¹⁾。

2. 疫学

約4万人に1人と推定される。透析患者の0.3-1.0%, 左室肥大患者の3%, 女性左室肥大患者の12%, 男性脳卒中患者の4.9%, 女性患者の2.4%と報告されている²⁾。

3. 病 因

リソソーム酵素である α -ガラクトシダーゼの酵素欠損により全身組織にグロボトリオシルセラミド(GL-3)などの糖脂質が蓄積する。特に血管内皮細胞に蓄積し、心筋、腎臓、リンパ腺、神経節など、全身組織に蓄積する。

4. 病 態

ファブリー病の臨床症状は多彩である。小児期からの四肢の激痛、無痛、低汗などの自律神経症状、タンパク尿、腎不全などの臨床症状、不整脈、弁膜症、心不全などの心症状、頭痛、脳梗塞、知能障害などの神経症状、精神症状、皮膚症状として被角血管腫(図1矢印)、難聴、

めまい、耳鳴り、角膜混濁などの眼科症状、咳などの呼吸器症状などを認める³⁾。ファブリー病の臨床症状の典型的進展様式を図2に記載する。

臨床的には、'古典型'、心型、腎型といわれる'亜型'に分類される。古典型(表1)では皮膚症状(被角血管腫)、自律神経症状(低汗、無痛、四肢痛など)を有する。心型、腎型ではこれらの症状は少ない。X染色体劣性遺伝形式の疾患ではあるが、ヘテロ接合体女性患者が存在する。2本あるX染色体のうち1本のX染色体が不活化するLIONの仮説に基づき女性でも発症するものと推定されている。女性患者では心症状が前景である場合が多いが、痛みなどは男性患者と同様に認められる。

古典型の患者は早期の酵素補充療法をしないと、腎不全、心不全、脳梗塞で40-50歳代で死亡する患者が多い。心型、腎型では60-70歳代で死亡、ヘテロ接合体女性患者は60-70歳代で心不全にて死亡する患者が多い。

5. 診 断

診断は以下の点を考慮して行う。

- (1) ファブリー病に特徴的な臨床症状を有すること。すなわち、小児期からの四肢の激痛、低汗、皮膚の被角血管腫、心不全、タンパク尿、腎不全、脳梗塞など。
- (2) 血清、白血球、尿などで α -ガラクトシダーゼの酵素欠損を証明する。
- (3) 尿中GL-3の蓄積があること。

Ichiro Yabe, Hidenao Sasaki: Department of Neurology, Hokkaido University Graduate School of Medicine 北海道大学大学院医学研究科 神経内科学分野

遺伝性脳小血管病研究の現況と展望

Hereditary cerebral small-vessel disease

野崎洋明¹ 西澤正豊² 小野寺 理³

Abstract

The cerebral small vessel disease (CSVD) refers to a group of pathological condition that affects the intracranial small vessels. CSVD causes lacunar infarction, white matter disease and hemorrhage, and may contribute to development of dementia and motor disability in the elderly. CSVD is a common aging phenomenon, however, little is known about its molecular pathogenesis. To understand the molecular pathogenesis for CSVD, here, we review the clinical spectrum, pathological findings and the molecular pathogenesis of CSVD caused by single gene defect: including cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, COL4A1-related disorders, retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy, Fabry disease, and hereditary cerebral amyloid angiopathy.

Key words: CADASIL, CARASIL, COL4A1-related disorder, RVCL, hereditary cerebral amyloid angiopathy

はじめに

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。一般に本症では、加齢や高血圧が危険因子とされ、ラクナ梗塞、白質病変、脳内出血といった脳実質病変を引き起こす。特に白質病変は高齢者での頻度が高く、60歳以上では8割以上で何らかの変化を認める¹⁾。近年、脳小血管病により認知機能や運動機能の低下をきたすことが明らかになり²⁾、本症を管理し、進行を予防することが、重要な課題となっている。しかし、危険因子である高血圧に対する介入以外

に有効な方法が提案されていない。そのため、分子病態機序に基づいた、新たな治療法の開発が期待されている。

脳小血管病の分子病態機序の解明には、遺伝性脳小血管病からのアプローチが有用であると考えられる。現在までに、単一遺伝子の異常によって起こる遺伝性脳小血管病は cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL), cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CARASIL), COL4A1-related disorder, retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy (RVCL), Fabry disease, hereditary cerebral

¹Hiroaki Nozaki: School of Health Science Faculty of Medicine, Niigata University 新潟大学医学部保健学科
²Masatoyo Nishizawa: 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 ³Osamu Onodera: 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

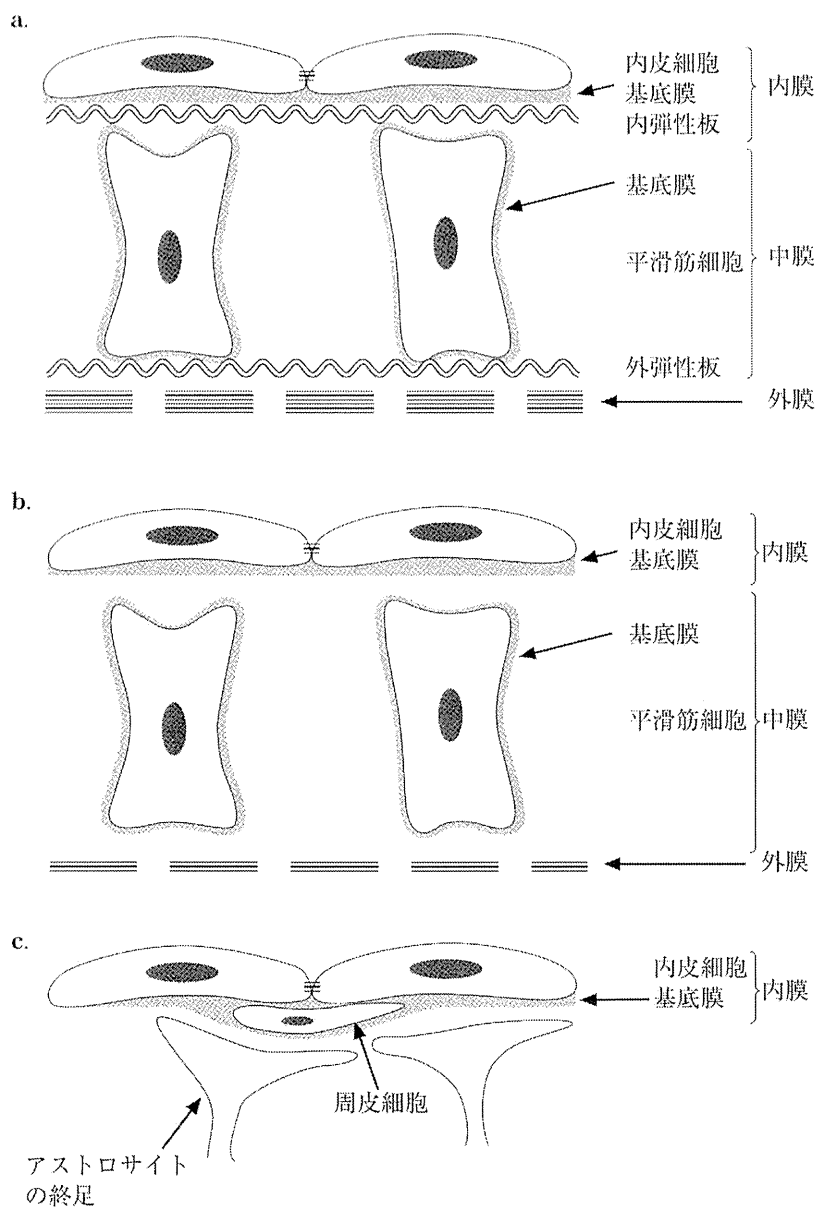


図1 脳小血管の構造

- a. 一般的な動脈の構造：血管は内膜，中膜，外膜の3層で構成される。
- b. 脳内細動脈の構造：弾性板がない。
- c. 脳内毛細血管の構造：弾性板，平滑筋，外膜がない。内皮細胞，基底膜，周皮細胞で構成され，アストロサイトの終足と接する。

amyloid angiopathy(HCAA)などが報告されている。そのほか、いまだ原因遺伝子が同定されていないものに hereditary multi-infarct dementia of the Swedish type, pontine autosomal dominant microangiopathy and leukoencephalopathy (PADMAL), hereditary small vessel disease of the brain(SVDB), hereditary systemic angiopathy(HSA)がある²⁾。

本稿では、まず、脳小血管の構造について述べ、次に単一遺伝子病として原因遺伝子が判明している遺伝性脳小血管病の研究の現況について概説する。

1. 脳小血管の構造

一般に動脈は内膜，中膜，外膜の3層で構成される(図1-a)。内膜は血管の最内側にあり、

1層の内皮細胞, 基底膜, 疎性結合組織, 弾性線維による内弾性板からなる。中膜には, 層状の平滑筋細胞とそれを覆う基底膜, 弾性線維による外弾性板が存在する。平滑筋は自律神経の支配を受け, 収縮や弛緩によって血流の調節機能を担っている。外膜は, 膠原線維を主体とする結合組織よりなる。

脳の血管は, 一般的な動脈とはまず外弾性板をもたない点が異なる⁴⁾(図1-b)。脳表のくも膜下腔に分布する髄軟膜動脈は小血管に分類される。髄軟膜動脈は比較的厚い内弾性板を認めるが, 膠原線維や弾性線維は乏しい。脳軟膜動脈は直角に径900 μ m未満の分枝を出し, 脳実質内に入って穿通枝になり, 走行とともに徐々に径を減じ細動脈となる。細動脈レベルでは血管周囲腔と平滑筋細胞をもつが, 毛細血管レベルではこれらを欠く⁵⁾。通常, 脳実質内動脈は内弾性板をもたないが, 基底核に向かう穿通動脈は内弾性板を有している⁶⁾。

毛細血管は径10 μ m未満で, 内皮細胞が最内層を取り囲み, 基底膜, 周皮細胞から構成されている。血管周囲腔を欠き, 基底膜を介して脳実質側でアストロサイトの終足と接している。内皮細胞間はタイトジャンクションという構造をもち, この構造が血液脳関門の形成に寄与している。基底膜は100nm程度の薄い膜状の構造であり, IV型コラーゲン, ラミニン, パールカンなどの細胞外マトリックスで構成される⁷⁾。基底膜は血管構造を裏打ちし, 内皮細胞とともに血液脳関門や間質液の排液路に関与している⁸⁾。毛細血管には, 平滑筋細胞と同じ中胚葉性の細胞で α -smooth muscle actinを発現する周皮細胞が存在する。周皮細胞は内皮細胞, アストロサイトと基底膜を介して接し, 血管の主軸に沿って伸びる主幹突起と血管を取り囲むように伸びる副突起の2種の突起をもち, 血管構造を安定化させ, 血液脳関門の透過性や血流の調節を行っている⁹⁻¹¹⁾。

2. 遺伝性脳小血管病研究の現状

1) CADASIL

CADASILは, 広汎な大脳白質病変と皮質下

の多発性小梗塞を呈するNotch3遺伝子変異による常染色体優性遺伝性の疾患である。遺伝性脳小血管病では最も頻度の高い疾患で, 65歳未満の白質病変を伴うラクナ梗塞症例の2%を占めるとの報告がある¹²⁾。高血圧や喫煙といった血管病の危険因子により脳卒中発作の発症リスクは増加する¹³⁾。また, 女性よりも男性の機能予後が悪いことが指摘されている¹⁴⁾。50歳までに脳卒中を発症し, しばしば前兆を伴う片頭痛や抑うつなどの気分障害を合併する。60歳までに7割が注意障害や遂行機能障害を主体とする認知機能障害を呈する。経過中に皮質下の脳出血を呈することもある。MRIでは臨床症状を示す前から側脳室周囲の広汎な白質病変と皮質下の小梗塞, 側頭葉前部と外包の信号異常, 微小出血を認める¹²⁾。

血管病理所見では, 髄軟膜動脈や細動脈に平滑筋細胞の脱落を認め土管様(earthen pipe state)に変化する¹⁵⁾。また細胞成分の増加ではなく, 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る内膜の肥厚, 外膜の線維化を伴う¹²⁾。穿通枝領域では血管周囲腔の拡大も認める¹²⁾。中膜の基底膜に近接して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は電子顕微鏡では, 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んでおり, 細胞質に多数の空胞, 小胞構造, 病的に拡大したミトコンドリアを含有している¹⁶⁾。また, 毛細血管周囲にはフィブロネクチンの沈着を認め, 血液脳関門の障害を示唆する¹⁶⁾。これらの所見から, CADASILでは平滑筋細胞や周皮細胞が主な標的部位になっており, 血流の調節障害と血液脳関門の障害が生じると考える。

Notch3は33個のエクソンによってコードされる2,321アミノ酸からなる1回膜貫通型の受容体で, 血管平滑筋細胞や周皮細胞に発現している。34個のepidermal growth factorリピート(EGFRs)とNotch/Lin12リピートからなる細胞

外ドメイン、膜貫通ドメイン、アンカリンリピートを含む細胞内ドメインで構成される。それぞれのEGFRに含まれる6つのシステイン残基が立体構造に重要である。Notch3はフリン様プロテアーゼによって切断され、heterodimerを形成して細胞膜に局在し、細胞外のリガンドと結合する。リガンドとNotch3細胞外ドメインの複合体がエンドサイトーシスを受け、細胞内にシグナルが伝達される。Notch3欠損マウスでは、新生仔の血管平滑筋細胞の分化や成熟が障害されており、平滑筋層の菲薄化を呈する¹⁷⁾。

本症でこれまでに報告されている180種類以上の変異は、すべてEGFRsに位置しており、なかでもエクソン3, 4に集積している。95%はミスセンス変異であるが、小欠失やスプライスサイトの変異も報告されている。これらの変異の大多数はEGFRに含まれる6つのシステイン残基の数を変化させる¹⁸⁾。本変異によるnotchシグナルの変化については認めないとする報告が大勢を占めており、病態機序については議論が続いている¹⁸⁾。モデル動物ではCADASILで見いだされた変異型Notch3の過剰発現マウスで平滑筋の変性とGOMが再現できているが、Notch3欠損マウスではGOMが再現できていない。これらのことからCADASILの血管病変はNotch3の機能喪失ではなく、変異型Notch3が新たな毒性を獲得する機序が想定される。

2) CARASIL

CARASILは広汎な大脳白質病変と皮質下の多発性小梗塞を呈するhigh temperature requirement serine peptidase A1(HTRA1)遺伝子の変異による常染色体劣性遺伝性の脳小血管病である。遺伝子変異が確認された症例は9家系11例である(日本人7家系8例、中国人1家系2例、コーカサス人1家系1例)^{19,20)}。変形性脊椎症と禿頭を合併することが特徴とされているが、禿頭を伴わない症例も報告されている^{21,22)}。

中枢神経病変により、40歳までに、認知機能障害や感情変化、歩行障害などを発症する。MRIでは病初期からCADASILと同様に側脳室

周囲の広汎な白質病変と皮質下の小梗塞、側頭葉前部と外包の信号異常や微小出血を認める。進行期に認める大脳脚や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。

血管病理所見では、髄軟膜動脈や細動脈の中膜平滑筋層の菲薄化と血管内腔の拡張が目立ち、線維性内膜肥厚、内弾性板の波打ち像や重複、外膜の菲薄化を伴う²³⁾。中膜はperiodic acid-Schiff(PAS)陽性になるが、Congo redで染まる構造物は認めない²⁴⁾。頭蓋外の血管変化は軽度であることが多いが、皮膚や筋の動脈で高度の線維性内膜肥厚を呈する症例も報告されている。電子顕微鏡で血管平滑筋細胞の細胞質にリソソーム様小体が指摘されている²⁵⁾。基底膜の異常は指摘されていない。周皮細胞を評価した報告はなく、今後の解析が待たれる。

HTRA1はセリンプロテアーゼの一種で、transforming growth factor- β (TGF- β)をはじめ、様々なシグナル関連分子や細胞外マトリックスタンパクを切断する。HTRA1がプロテアーゼ活性をもつためには、3カ所のstacking siteによって3量体を形成し、更に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重要である^{26,27)}。HTRA1の大腸菌ホモログタンパクではシャペロン活性も有しているが、ヒトHTRA1では確認されていない²⁸⁾。

CARASIL患者でこれまでに見いだされているミスセンス変異は、いずれも204-364のアミノ酸残基に存在するセリンプロテアーゼドメインに位置している²⁹⁾。ミスセンス変異ではc.754 G>A(p. Ala252Thr), c.821 G>A(p. Arg274Gln), c.883 G>A(p. Gly295Arg), c.889 G>A(p. Val297Met), c.1091 T>C(p. Leu364Pro), ナンセンス変異ではc.904 C>T(p. Arg302X), c.1108 C>T(p. Arg370X)の計7種が報告されている^{20-22,29)}。ミスセンス変異ではHTRA1のプロテアーゼ活性が低下し、ナンセンス変異ではnonsense-mediated mRNA decayによってmRNA量が減少することにより発症する。

HTRA1の異常が血管の病理変化を起こす分子病態機序としてTGF- β シグナルの異常が想

定されている²⁸⁾。TGF- β 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もつ³⁰⁾。TGF- β は前駆型であるproTGF- β として合成され、トランスゴルジネットワークでフリンによって切断され、C末断片がhomodimerとなり成熟型のTGF- β となる。これは、非共有結合によってN末断片と結合し不活性型の複合体を形成する³⁰⁾。この複合体は細胞外に分泌されフィブリリン1やフィブロネクチンなどの細胞外マトリックスタンパクと結合し、刺激に応じて分解され活性型に変化する³⁰⁾。

HTRA1は、このTGF- β の成熟機序に作用し、小胞体でproTGF- β をフリンとは異なる部位で切断し分解する。これは、CARASIL患者ではHTRA1のプロテアーゼ活性の低下により、この抑制系が働かずTGF- β シグナルが慢性的に亢進することを示している。実際に、CARASIL患者で見いだされた変異型HTRA1はTGF- β シグナルの抑制効果を示さず、またCARASIL患者の小血管病理では、中膜でのTGF- β の蓄積、更に内膜でTGF- β シグナルによって発現が促進されるEDA-fibronectinやversicanの増加を認める²⁸⁾。このことから、CARASILの血管病理の分子病態として、HTRA1によって制御されているTGF- β シグナルの局所的な調節障害が関与していると想定する。

3) COL4A1-related disorder

COL4A1-related disorderは脳出血や脳動脈瘤、大脳白質病変を呈するCOL4A1遺伝子変異による常染色体優性遺伝性の疾患である。片頭痛や幼児の片麻痺のほか、網膜動脈の蛇行や腎障害を呈し、筋痙攣やレイノー現象、孔脳症などの奇形などを合併する³¹⁾。小児の脳出血で鑑別に拮がるが、成人の孤発性脳出血の発症にも関与する³²⁾。頭部MRIでは、びまん性の深部白質病変と皮質下小梗塞、微小出血を認める³⁾。頭部MRAでは動脈瘤やdolichoectasiaを認めることがある³³⁾。

病理では、腎や皮膚の血管では、基底膜の肥厚、重複、断裂や内皮細胞からの剥離がみられ

る^{33,34)}。脳血管病理の報告はまだない。脳血管も同様の病理変化が起こっているとすれば、血管の脆弱化や血液脳関門の障害が起こることが想定される。

COL4A1は52個のエクソンによってコードされており、IV型コラーゲンの主要構成成分である $\alpha 1$ 鎖を形成する。N末から7S, collagenous domain, NC1の順に3つのドメイン構造が含まれている。 $\alpha 1$ 鎖と $\alpha 2$ 鎖は細胞内で $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ heterotrimerを形成して、細胞外に分泌される。分泌されたheterotrimerはシート様構造を構築し、基底膜を形づくる³¹⁾。

COL4A1-related disorderで見いだされた変異のほとんどはcollagenous domainに位置する³¹⁾。COL4A1遺伝子の異常により産生される変異型タンパクはheterotrimer形成と細胞外への分泌が障害されており、その結果、IV型コラーゲンの脆弱性、インテグリンなどの細胞外マトリックスとの結合の減弱をきたすと考えられている³¹⁾。更に、 $\alpha 2$ 鎖をコードするCOL4A2の変異によっても脳出血を発症する例が報告された³⁵⁾。モデル動物でもCOL4A1やCOL4A2変異のノックインマウスにて、小胞体へのheterotrimerの停留や基底膜障害、脳出血を呈する。これらの事実は $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ heterotrimerの形成が脳小血管機能維持に重要であることを支持している。

4) RVCL

RVCLはthree prime repair exonuclease 1 (TREX1)遺伝子の変異による常染色体優性遺伝性の疾患である。40歳代で脳梗塞や認知症を発症する。片頭痛や痙攣を呈し、網膜血管の狭窄や拡張、微小動脈瘤を合併する。腎障害や消化管出血を呈する例もある³⁶⁾。予後は不良で、発症後10年以内に死亡する³⁶⁾。頭部MRIでは、散在する深部白質病変や、造影効果と浮腫を伴う腫瘤様の病変が報告されている³⁶⁾。

病理では、軽度の炎症を伴う虚血性壊死とフィブリンによる小血管の閉塞を呈する³⁷⁾。電子顕微鏡による観察では、基底膜の肥厚や重複を認める³⁷⁾。これらの所見からは、血管の脆弱化や血液脳関門の障害が想定される。

TREX1は314アミノ酸からなる3'→5'エキソヌクレアーゼである。N末側からExo I, II, IIIの3つのエキソヌクレアーゼドメインをもち、C末側には膜貫通ドメインが存在する。homodimerを形成して、一本鎖DNAを分解する。

RVCLで見いだされた変異は、Exo IIIよりもC末側に存在する。変異型タンパクは、野生型では核周囲に局在するのに対して、RVCL関連変異型TREX1は核と細胞質にびまん性に局在する³⁷⁾。この局在変化によって機能喪失が起こり一本鎖DNAの蓄積を生じる結果、免疫反応が引き起こされて血管病変を生じると考えられている³⁸⁾。

5) Fabry disease

Fabry diseaseはgalactosidase α (GLA) 遺伝子の変異によって発症するX連鎖劣性遺伝性の疾患である。女性のヘテロ接合者でも、X染色体の不活化によって発症する場合がある。大血管も障害されるため、必ずしも小血管への選択性が高いわけではない。 α -galactosidase A (α -GAL) 活性の99%以上を喪失する古典型では、繰り返す脳梗塞や重度の脳白質病変を呈し、進行性の心腎機能障害、被角血管腫、肢端疼痛、無汗症、角膜混濁を合併する。頭部MRIでは、白質病変と視床に好発する脳梗塞を認め、MRAでは脳底動脈のdolichoectasiaを呈することがある³⁹⁾。

脳血管病理では、小血管だけでなく大血管も障害されており、スフィンゴ糖脂質の沈着による中膜肥厚と平滑筋細胞の喪失、内膜肥厚による閉塞、内弾性板のうねり、外膜の線維化がみられる^{39,40)}。これらの所見からは、Fabry diseaseでは血管閉塞による虚血や血流の調節障害が起こることが想定される。

α -GALはリソソーム内に局在する糖加水分解酵素である。Fabry diseaseでは、ミスセンス変異やナンセンス変異など300以上のGLA遺伝子変異が報告されている⁴¹⁾。変異型 α -GALは酵素活性を喪失し、その基質であるグロボトリアオシルセラミド(Gb3)などのスフィンゴ糖脂質がリソソームに蓄積することによって組織

障害を起こす⁴²⁾。

6) HCAA

アミロイド β (A β)の蓄積を伴うHCAAは、amyloid β -protein precursor (APP) 遺伝子やpresenilin (PSEN) 遺伝子の変異による常染色体優性遺伝性の疾患である。いずれの遺伝子変異であっても、認知症と脳出血をきたす。APPのE693Q変異の家系では白質病変を伴い、A713T変異の家系では多発性脳梗塞の合併が報告されている⁴³⁾。

病理では、中膜基底膜の近傍を中心にA β の沈着を認める。通常、脳実質にもA β 沈着がみられるが、APP L705V変異の家系では脳実質のA β 沈着を認めない⁴³⁾。A β が沈着した血管では平滑筋細胞が消失し‘double-barrel’と呼ばれる血管壁の重複化やフィブリノイド壊死を認める⁴³⁾。このことから、HCAAでは血管の脆弱化や血流の調節障害が起こることが想定される。

APPは1回膜貫通型受容体様タンパクであり、細胞膜に局在する。APPは β セクレターゼによって細胞外ドメインを切断された後、presenilinを含む複合体である γ セクレターゼによる膜内切断を受けてA β が切り出される。A β は主にニューロンで産生された後、ネプリライシンなどの酵素による分解、トランスサイトosisによる血管内への排泄、血管周囲を介するドレナージ経路のいずれかによって処理される⁴³⁾。

amyloid angiopathyを起こすAPP遺伝子変異としては、692, 693, 694, 705, 713番目のアミノ酸置換と、遺伝子重複が報告されている⁴³⁾。APP遺伝子重複ではAPPの発現量が増加する。A692Q, E693Q, E693K, E693Gでは、変異型APPから生じるA β はネプリライシンによる分解に抵抗性であることが報告されている⁴⁴⁾。また、E693QとE694N由来のA β 40は野生型よりもアミロイドフィブリルの形成が早く、脳血管の内皮細胞と血管平滑筋細胞に対して毒性をもつことが報告されている⁴⁵⁾。更に、A692Q, E693Q, E693K, E694N由来のA β は血管平滑筋細胞に発現するGM3ガングリオシドや内皮細胞に発現するGD3ガングリオシドによって

集合化が促進される⁴³⁾。これらの所見から、APP 遺伝子の変異では、生体の処理システムを上回る A β の産生が起こり、更に A β の線維形成や毒性が高まるために、血管への A β の沈着や障害が起こると考えられる。

3. 遺伝性脳小血管病の展望

遺伝性脳小血管病の存在は、脳の小血管に大血管と異なる分子病態機序があることを明確に示した。更に、これらの疾患は次のような面で、孤発性脳小血管病の表現型と類似しており、孤発性脳小血管病の病態を考えるうえでも有用である。脳実質の病変では、CADASIL, CARASIL, Fabry disease はラクナ梗塞と白質病変を併発し、COL4A1-related disorder, RVCL, HCAA は出血と白質病変を併発する。血管病理では、CADASIL, CARASIL, Fabry disease, HCAA は孤発性でもみられる顕著な平滑筋細胞の障害を起こす。特に CADASIL, CARASIL は内膜の変化に比して平滑筋細胞の障害が高度であり、発症前あるいは発症早期から顕著な白質病変を形成している。平滑筋細胞が血流調節能に関与していることを考えると、白質病変が形成される過程には血流の障害が強関与していると推察される。また、出血を主体とする COL4A1-related disorder, RVCL, HCAA では基底膜障害が強いことから、出血には基底膜障害に由来する血管の脆弱性が関係している可能性を推察する。

分子病態としては、脳の小血管の平滑筋細

胞、周皮細胞や基底膜の恒常性維持に重要な役割をもつ分子の存在が明らかになった(表 1)。Notch3 や HTRA1 によって制御される TGF- β シグナルの異常は小血管優位に平滑筋細胞の変性を引き起こす。IV 型コラーゲンを構成する $\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ heterotrimer の形成異常は基底膜の障害を引き起こす。TRESX1 の低下による、一本鎖 DNA の蓄積も免疫反応を介して基底膜障害を起こす。 α -GAL の異常はリソソーム機能の障害による基質の細胞内蓄積を起こし、平滑筋細胞や内皮細胞を障害する。A β の産生や処理、線維化に影響する分子の異常が基底膜を中心とした血管壁での A β 蓄積を起こす。これらの分子病態機序を手がかりとして、孤発性の脳小血管病の分子病態機序が解明されることが期待される。

今までの遺伝性脳小血管病の研究の多くは細動脈レベルでの検討であった。しかし、更に細い毛細血管レベルでの形態、分子病態、血管機能の評価はまだ不十分である。これらの評価には免疫電子顕微鏡法や、モデル動物を用い近年開発された二光子励起顕微鏡を用いた解析が有用であろう。脳小血管独自の機能の評価に関しては、血流の調節能、血液脳関門、血管周囲ドレナージ機能などが対象になるが、これらの解析方法を確立する必要がある。本症の研究には目覚ましい発展があり、今後更に詳細な微循環の病理や分子病態が明らかにされ、新たな分子標的治療がもたらされることを期待する。

■ 文 献

- 1) Pantoni L: Cerebral small vessel disease: from pathogenesis and clinical characteristics to therapeutic challenges. *Lancet Neurol* **9**: 689-701, 2010.
- 2) de Laat KF, et al: Loss of white matter integrity is associated with gait disorders in cerebral small vessel disease. *Brain* **134**: 73-83, 2011.
- 3) Yamamoto Y, et al: Review: molecular genetics and pathology of hereditary small vessel diseases of the brain. *Neuropathol Appl Neurobiol* **37**: 94-113, 2011.
- 4) 小野寺 理: 脳小血管病とは何か. *臨神経* **51**: 399-405, 2011.
- 5) Thal DR, et al: Vascular dementia: Different forms of vessel disorders contribute to the development of dementia in the elderly brain. *Exp Gerontol* **47**: 816-824, 2012.
- 6) Kentish J-C(ed): *Smooth Muscle and the Cardiovascular and Lymphatic Systems*. 40th ed, Elsevier, Amsterdam, 2008.

表1 単一遺伝子異常による脳小血管病

疾患名	原因遺伝子	分子病態	脳小血管病理			障害が想定される機能	脳実質病変
			内膜	中膜	外膜		
CADASIL	<i>Notch3</i>	Notch3 シグナルの障害?	細胞外マトリックス沈着	基底膜近傍の GOM 沈着 平滑筋細胞・周皮細胞の脱落	線維化	血流調節能 血液脳関門	高度の白質病変 小梗塞
CARASIL	<i>HTRA1</i>	TGF- β シグナルの亢進	内弾性板の断裂 線維性肥厚	平滑筋層の菲薄化	菲薄化	血流調節能	高度の白質病変 小梗塞
COL4A1-related disorder	<i>COL4A1</i>	$\alpha 1\alpha 1\alpha 2$ の heterotrimer の形成障害	?	?	?	血管の強度 血液脳関門	出血 白質病変
RVCL	<i>TREX1</i>	一本鎖 DNA の蓄積	フィブリンによる 内腔閉塞	基底膜の肥厚と重複	—	血管の強度 血液脳関門	小梗塞 白質病変
Fabry disease	<i>GLA</i>	スフィンゴ糖脂質の蓄積	スフィンゴ糖脂質沈着による肥厚 内弾性板のうねり	平滑筋細胞の脱落	線維化	血流調節能	脳梗塞 白質病変
HCAA	<i>APP, PSEN1, PSEN2</i>	A β の増加・線維形成促進	フィブリノイド壊死	平滑筋細胞の脱落	—	血管の強度 血液脳関門	出血 白質病変

CADASIL: cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, CARASIL: cerebral autosomal recessive arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy, RVCL: retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy, HCAA: hereditary cerebral amyloid angiopathy, HTRA1: high temperature requirement serine peptidase A1, TREX1: three prime repair exonuclease 1, GLA: galactosidase α , APP: amyloid β precursor protein, PSEN: presenilin, TGF- β : transforming growth factor β , A β : amyloid β .