

分担研究報告書

家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS）に関する遺伝子解析

研究分担者：青木 正志

東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学講座神経内科学分野

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（amyotrophic lateral sclerosis, ALS）は運動ニューロンが選択的変性・脱落をきたす難治性神経変性疾患の代表である。ALS 全体の 5～10%を占める家族性 ALS の本邦における遺伝学的背景を明らかにすべく自験 111 家系を対象に網羅的遺伝子解析を実施し、その 49.5%を解明した。一方、ALS 同様の難治性神経変性疾患のひとつ、大脳皮質基底核症候群（CBS）脳における病理学的特徴はアストロサイト斑などタウ蓄積である。¹⁸F-THK5351 PET を用いることで CBS 患者のタウ凝集体を画像化でき、¹⁸F-THK5351 が生体脳内タウ凝集体に結合する有力なトレーサーたり得ることを示した。

A. 研究目的

研究 1：筋萎縮性側索硬化症（ALS）は運動ニューロンが選択的変性・脱落をきたす成人発症の神経変性疾患であり、その 5～10%には家族性発症がみられる（家族性 ALS）。この家族性 ALS では現在まで 20 以上の関連遺伝子が同定されているが、その頻度や病態は不明である。家族性 ALS としてこれまでに収集された DNA 検体において ALS 関連遺伝子を網羅的に検索し、遺伝学的背景を明らかにするとともに、遺伝子型と表現型の関連を解明する。

研究 2：大脳皮質基底核症候群（CBS）患者の生体脳内タウ凝集体を ¹⁸F-THK5351 PET を用いて明瞭に画像化・可視化する。

B. 研究方法

研究 1：これまで日本人家族性 ALS 111 家系を集積し、サンガーシークエンスにより 36 家系に *SOD1* 遺伝子変異、12 家系に *FUS* 遺伝子変異を同定したが、その他 63 家系において原因遺伝子が不明であった。原因遺伝子未同定のうち、解析可能であった 45 家系（51 例）に対して ALS もしくは運動ニューロン疾患関連 35 遺伝子のターゲットリシークエンス解析を行った。*C9ORF72* 遺伝子リピート伸長は repeat-primed PCR 法で確認した。さらに、得られた臨床情報から遺伝子型と表現型の関連を解析した。

研究 2：CBS 患者 5 名と健常者 8 名に ¹⁸F-THK5351 PET を施行した。PMODソフトを用いて両側中心前回、中心後回、上前頭回、上頭頂回、淡蒼球、被殻、尾状核、黒質、中下側頭回、海馬、扁桃核、小脳皮質などに VOI をおき、各領域の SUV 値

を算出した。各領域と小脳皮質との比（SUVR）を用いて CBS 患者群と健常者群の集積について比較検討した。

（倫理面への配慮）

本研究はヘルシンキ宣言および臨床研究に関する倫理指針（厚生労働省）に従って実施された。また、すべて東北大学医学部・医学系研究科倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

研究 1：*SOD1* 変異においては、下位運動ニューロン障害主体で下肢発症例の多い H46R 変異、L126S 変異を複数認めた。また、末梢神経障害で発症した L8V 変異を有する非典型例を経験し報告した。*FUS* 変異の家系は、若年で上肢や頸部からの発症、急速進行例が多いという特徴があった。原因遺伝子未同定例のうち 6 例に既知の *ANG*、*OPTN*、*SETX*、*TARDBP* 遺伝子変異を同定した。欧米およびアジア人コホートにおける網羅的遺伝子解析研究との比較により、家族性 ALS の原因遺伝子の変異頻度における人種差があり、欧米人で最多の *C9ORF72* 遺伝子リピート伸長はアジア人で極めて稀であり、一方アジア人では *SOD1* 遺伝子変異が最も多く、ついで *FUS* 変異の頻度が高いことが明らかとなった。

研究 2：CBS 患者群は健常者群と比較して、両側中心前回、中心後回、上前頭回、上頭頂回、淡蒼球で有意に ¹⁸F-THK5351 の集積亢進を認めた。これらの集積亢進領域は、CBS におけるタウ蓄積部位と一致していた。

分担研究報告書

D. 考察

本研究により日本人家族性 ALS の自験 111 家系の約半数（49.5%）について、遺伝学的背景を明らかにすることができた。既報との比較からも、家族性 ALS における遺伝子変異の頻度には人種差があり、分子病態の多様性が示唆された。病的変異が同定されなかった 34 家系については引き続きエクソーム解析をおこなっており、さらなる遺伝学的解明が期待される。

一方、¹⁸F-THK5351 PET によって CBS 患者のタウ凝集体を画像化でき、¹⁸F-THK5351 は CBS 患者のタウ凝集体に結合する有力なトレーサーのひとつであることが示唆された。今後さらに症例数を増やして解析を進めるとともに、同一症例の経時的変化についても解明が期待される。

E. 結論

本研究調査により、日本人家族性 ALS の遺伝学的背景の解明が進んだ。ALS 同様の難治性神経変性疾患である CBS 患者の生体脳におけるタウ凝集体画像化は、診断のみならず代替バイオマーカーともなり得る可能性がある。これらの研究成果は ALS や CBS に限らず、広く難治性希少疾患を対象とした行政・難病施策への貢献につながると期待される。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Nisiyama A, Warita H, Takahashi T, Suzuki N, Nishiyama S, Tano O, Akiyama T, Watanabe Y, Takahashi K, Kuroda H, Kato M, Tateyama M, Niihori T, Aoki Y, Aoki M. Prominent sensory involvement in a case of familial amyotrophic lateral sclerosis carrying the L8V *SOD1* mutation. **Clin Neurol Neurosurg** 2016; 150: 194-196.

Nisiyama A, Niihori T, Warita H, Izumi R, Akiyama T, Kato M, Suzuki N, Aoki Y, Aoki M. Comprehensive targeted next-generation sequencing in Japanese familial amyotrophic lateral sclerosis. **Neurobiol Aging** 2017; 53: 194.e1–194.e8.

Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, Harada R, Watanuki S, Funaki Y, Hiraoka K, Baba T, Sugeno N, Oshima R, Yoshida S, Kobayashi J, Ezura M, Kobayashi M, Tano O, Mugikura S, Iwata R, Ishiki A, Furukawa K, Arai H, Furumoto S, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Takeda A, Aoki M. *In vivo* visualization of tau deposits in corticobasal syndrome by ¹⁸F-THK5351 PET. **Neurology** 2016; 87: 2309-2316.

2. 学会発表

西山亜由美, 加藤昌昭, 新堀哲也, 鈴木直輝, 割田 仁, 井泉瑠美子, 青木洋子, 青木正志. Comprehensive targeted resequencing analysis in Japanese ALS patients. 第 56 回日本神経学会学術大会(新潟) 2015 年 5 月 20~23 日.

Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, ..., Aoki M. Assessment of tau pathology in patients with corticobasal syndrome using ¹⁸F-THK5351 PET. 20th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders (Berlin) June 22, 2016.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

該当なし