

新たに変異確定された SENDA と atypical neuroferritinopathy  
陽電子放出断層撮影による進行性核上性麻痺の客観的重症度指標の確立  
筋萎縮性側索硬化症の呼吸機能評価における横隔膜超音波検査の有用性

[班員] 氏名： 戸田 達史<sup>1</sup>

[共同研究者]

氏名：遠藤 浩信<sup>1</sup>，野田佳克<sup>1</sup>，島田 齊<sup>3</sup>，西田 勝也<sup>2</sup>，関口兼司<sup>1</sup>

所属：<sup>1</sup>神戸大学大学院 医学研究科 神経内科学/分子脳科学，<sup>2</sup>兵庫中央病院 神経内科，<sup>3</sup>放射線医学総合研究所 分子イメージング研究センター

### 研究要旨

NBIA 患者で、新たに変異を確定した Static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA) と neuroferritinopathy (NF) の 2 症例につき報告する。症例 1、2 共に MRI で基底核の鉄沈着が疑われ、運動障害疾患を認めた。症例 1 は 40 歳の女性で頭部 MRI T1WI で黒質内部に低信号域を伴う高信号域 (Halo) が特徴的であった。エクソーム解析で本邦初の WDR45 遺伝子 exon 9 の c.700 C>T (p.Arg234\*) 変異を認め、SENDA と診断した。症例 2 は 44 歳の女性で脳脊髄液 ferritin (fer) が著明に低下していた。FTL 遺伝子 exon 4 c.468\_483dup 変異を認め新規変異の NF と診断した。NBIA は希少疾患であり、非典型例も多いため正確な診断が必要である。進行性錐体外路所見、MRI で基底核の鉄沈着所見に加え、中脳黒質の T1WI Halo (SENDA)、髄液 fer 低下 (NF) など NBIA の積極的な鑑別のため、遺伝子検査を行うことが重要である。

進行性核上性麻痺 (PSP) の背景病理の生前評価と客観的重症度指標の確立を目的として、ヒト生体における脳内タウ蓄積を定量的に評価可能な、<sup>11</sup>C]PBB3 リガンドを用いて陽電子放射断層撮影 (PET) を実施した。対象は NINDS-SPSP 基準で診断した 14 名の PSP 患者と年齢調節した健常者 13 名で、全例アミロイド

タンパクが大脳皮質へ集積していないことを視覚的に確認した。タウ PET で PSP の病理学的なタウ蓄積の分布に特徴的な淡蒼球、視床下核、小脳歯状核、前頭葉、頭頂葉などにタウ蓄積の分布を示し、前頭葉、頭頂葉の白質のタウ蓄積は運動症状悪化と相関を認めた。さらに運動野の灰白質、白質において PBB3、Gallyas silver、AT8 染色を含む同一切片の 3 重染色を他施設提供脳で行い、PBB3 染色がその他の染色とほぼ一致しており、タウ凝集体を標識できていることを再確認した。これらの結果よりタウ PET はタウ蓄積の病態生理の解明の一助となり、病期や治療効果の客観的指標となる成果が期待された。

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の呼吸筋評価にはスパイロメトリーによる評価が一般的であるが、顔面筋力低下や認知症のある患者には正確に評価することが困難であった。ALS の呼吸筋力の客観的な評価のため、横隔膜超音波検査の有用性を検討する。方法は、当院通院中の ALS 患者 31 例 (Spinal onset 25 例、Bulbar onset 6 例) を対象とした。横隔膜超音波検査はリニアプローブを使用し、臥位にて前腋窩線正中部の安静呼吸時の横隔膜の厚み (Diaphragm thickness) を測定した。また、横隔神経伝導検査、呼吸機能検査、動脈血液ガスも測定した。結果は ALS 患者は平均年齢 61.5 ± 13.0 歳、発症から 24.0 ± 20.6 カ月で、Diaphragm thickness は %FVC ( $r = 0.62, p < 0.001$ )、横隔膜 CMAP 振幅 ( $r = 0.69, p < 0.001$ ) といずれも相関した。結論として、ALS 患者において、Diaphragm thickness は FVC、横隔膜 CMAP 振幅と相関した。横隔膜超音波検査は非侵襲的で患者の協力を必要としないため、ベッドサイドで簡便に施行することが可能で、ALS の呼吸機能を把握する上で有用であるという成果が期待された。

### A. 研究目的

NBIA (neurodegeneration with brain iron accumulation) は、顕著な錐体外路症状、認知機能障害、大脳基底核の鉄沈着を特徴とする神経変性疾患の一型である。今回、兵庫県における NBIA 患者で、新たに変異を確定した Static encephalopathy of childhood with neurodegeneration in adulthood (SENDA) と neuroferritinopathy (NF) の 2 症例につきまとめて報告する。

進行性核上性麻痺 (PSP) の背景病理の生前評価と客観的重症度指標の確立は、診断精度の向上や疾患修飾

薬の開発を促進する上で、極めて重要である。最近我々はヒト生体における脳内タウ蓄積を定量的に評価可能な、陽電子放射断層撮影 (PET) 用の新規薬剤である <sup>11</sup>C]PBB3 を開発し、本リガンドが PSP におけるタウタンパク病変にも結合することを報告した (Neuron 2013)。本研究では、<sup>11</sup>C]PBB3-PET を用いて、PSP 群における臨床症状とタウ蓄積の関係を評価し、客観的な重症度の評価法について検討した。

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の呼吸筋評価にはスパイロメトリーによる評価が一般的であるが、顔面筋力低下や認知症のある患者には正確に評価することが

困難であった。ALSの呼吸筋力の客観的な評価のため、横隔膜超音波検査の有用性を検討する。

## B. 研究方法 (倫理面への配慮)

頭部MRI、血液検査、遺伝子検査をそれぞれ行った。NF症例は脳脊髄液フェリチン(Fer)を測定した。

NINDS-SPSP(National Institutes of Neurological Disorders and Stroke society for PSP)臨床診断基準を用いてPSPと診断した14例と、年齢調整をし、心理学的検査などで問題のなかった健常者13例を対象として、アミロイドタンパク用リガンド $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ およびタウタンパク用リガンド $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ を用いたPET検査を全例に施行した。 $[^{11}\text{C}]\text{PiB}$ -PETによって、アミロイドタンパクが大脳皮質へ集積していないことを全例で視覚的に確認した。数学的に算出した領域を参照領域として全脳の各領域における $[^{11}\text{C}]\text{PBB3}$ の集積の程度(Binding potential:  $BP^*_{\text{ND}}$ )を求めた。これを局所におけるタウ蓄積の指標として、PSP群と健常群との差、およびPSPの臨床症状との関係を検討した。他施設より提供されたPSP患者脳の運動野同一切片においてPBB3、Gallyas silver、AT8染色を行った。本研究は放射線医学総合研究所の倫理委員会より承認を得て行った。インフォームドコンセントを全被験者もしくは患者に認知機能障害がある場合はその近親者へ行い承諾を得た。

当院通院中のALS患者31例(Spinal onset 25例、Bulbar onset 6例)を対象とした。横隔膜超音波検査は12MHzのリニアプローブを使用し、臥位にて前腋窩線正中部の第7-8、8-9肋間の高さで安静呼吸時の横隔膜の厚み(Diaphragm thickness)を測定した。横隔神経伝導検査は、胸鎖乳突筋後縁で最大上電気刺激を行い、剣状突起から5cm上に陰極(G1)、G1から肋骨縁に沿って16cmに陽極(G2)において、横隔膜CMAP振幅を陰性、陽性頂点間で測定した。また、呼吸機能検査にてFVC、FEV1%も測定した。インフォームドコンセントを全被験者へ行い承諾を得た。

## C. 研究結果

症例1は40歳の女性。祖父母がはとこ婚だが家族歴はなし。小児期のでんかん、精神発達遅滞で発症し、成人期より進行するパーキンソンズムを認めた。頭部MRIではT2WI/T2\*WI/SWIで淡蒼球・黒質に低信号域があり、T1WIでは黒質内部に低信号域を伴う高信号域(Halo)を認めた。小脳・大脳にびまん性の脳萎縮を認めた。血清Ferritin(Fer)は低下を認め、小球性鉄欠乏貧血を認めた。脳脊髄液検査は施行できなかった。日本人で既報告のWDR45遺伝子変異の有無をサンガー法で検証したが、変異を検出できなかった(Saito H, et al. Nat Genet 2013)。さらなる遺伝子検査として、エクソーム解析を行いWDR45遺伝子に病原となりうる変異がないかを確認したところ、exon 9のc.700 C>T (p.Arg234\*)変異を認め、SENDAと診断した。この部分はAが34リード、Gが17リードで、全体としては51リードであり、十分な精度でヘテロ判定した。同部位のサンガー法で患者はヘテロ変異を認め、その両親は変異をもたなかったことから、de novo変異と判断した。

症例2は44歳の女性。近親婚はなく、特記すべき家族歴はなかった。42歳から慢性頭痛があり受診した。頭部MRIではT2WIで後方の淡蒼球・被殻に対称性の高信号があり、その辺縁が低信号となっていた。43歳時に構音障害、情緒不安定など精神障害が出現。44歳時には軽度認知機能低下、四肢トーンス低下、左小脳失調および錐体路徴候、起立性低血圧を認めた。初診時は錐体外路徴候を認めなかったが、数ヵ月後よりジストニアなどの症状が出現した。頭部MRIでは小脳・大脳の萎縮があり、上述に加えT2\*WI、SWIでは淡蒼球、被殻、視床、赤核、歯状核、大脳皮質に低信号域を認めた。血清Ferは基準内であったが、脳脊髄液Ferは著明に低下していた。FTL遺伝子exon 4にc.468\_483dupTGGCCCGAGGCTGGG変異をサンガー法で認め、NFと診断した。

頭部MRI所見はT1WIで黒質HaloはSENDAに特徴的であった。SENDAの大脳萎縮はより顕著であった。T2WIではNFで淡蒼球に両側高信号で後方に低信号域を認め、SENDAは基底核が全体低信号を示した。

健常群に比べてPSP群では淡蒼球や視床下核、小脳歯状核など特徴的なタウ蓄積の分布が示された。また頭頂葉灰白質や前頭葉、頭頂葉などの白質においてもタウ蓄積が示唆された。PSP群においては、前頭葉、頭頂葉白質の $BP^*_{\text{ND}}$ と運動症状(UPDRS part 1)に正の相関があり、非言語性知能(RCPM)に負の相関を認めた。PBB3蛍光染色では運動野の灰白質、白質においてGallyas silver染色、AT8染色とほぼ一致してタウ凝集体を認めた。

ALS患者は平均年齢 $61.5 \pm 13.0$ 歳、発症から $24.0 \pm 20.6$ ヵ月で、Diaphragm thicknessはFVC( $r = 0.62$ ,  $p < 0.001$ )、横隔膜CMAP振幅( $r = 0.69$ ,  $p < 0.001$ )といずれも相関した。また、Spinal onsetとBulbar onsetとの比較では、Diaphragm thicknessとFVC、横隔膜CMAP振幅の相関係数はいずれもSpinal onsetで高かった。

## D. 考察

NBIAの診断には進行性の錐体外路所見に加え、頭部MRIで基底核のT2WI異常低信号域を認め、さらにT2\*WIやSWIで鉄沈着を確認することが有用である。自験例では共に鉄沈着が示唆され、遺伝子変異の確定に至った。

症例1はヨーロッパ系白人の一例が報告されていたが(Haack TB, et al. Am J Hum Genet 2012)、本邦での報告はない初のナンセンス変異であった。

我々の症例と既報告を含めて29例をまとめると、平均年齢が34歳、神経症状悪化時の年齢は平均25歳で女性の割合が89.7%であった。

症状は言語表現の障害、精神運動発達遅滞、ジストニア、成人期認知機能障害が全例に認められ、パーキンソンズムが9割、けいれん発作が6割、レット症候群様のしづさが3割(23人中)に認められた。L-DOPA反応性はデータが利用できた12人に限ると100%であった。画像所見では淡蒼球、黒質のT2WI低信号が全例に認め

られ、特徴的な黒質のT1WI Haloは9割に認められた。SENDAは黒質T1WI Haloが診断に有用と思われるが、全例には認められず、認められなかった症例は男性例や15歳女性と若年例であった。

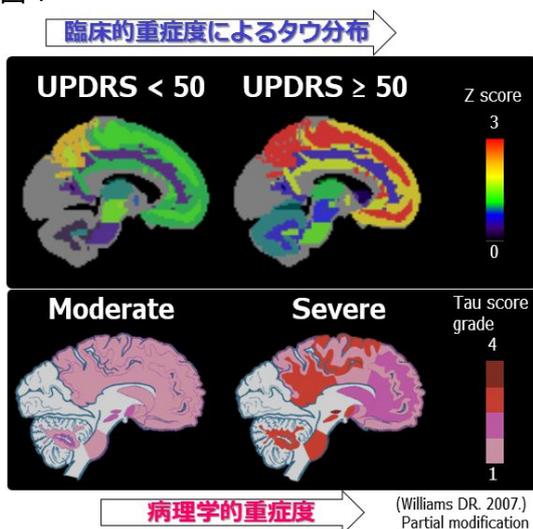
症例2はこれまでに報告のない新規変異であった。42歳で慢性頭痛があり、2年の経過でジストニア、構音障害、精神症状、錘体路徴候、小脳失調が進行した。これまでの報告ではジストニア、構音障害が全例に記載されていたが、数か月の経過で経過した。NFは表現型の多様性を持つため、確定診断にはFTL遺伝子の検査が重要となる(Nishida K et al. 2014)。

血清Ferは最初の報告では低下と報告されたが(Curtis AR, et al. Nat Genet 2001)、全例低下するものではない。脳脊髄液の著明なFer低下を認めたことから、バイオマーカーとなる可能性があり、血清Fer正常例でも脳脊髄液の検討が今後望まれる。NBIAは希少疾患であり、非典型例も多いことから、臨床情報のみで確定診断は困難である。今後エクソーム解析等によるゲノム医療の実用化が見込まれるため、正確な診断の上での、臨床情報収集、バイオマーカー探索は有効と考えられる。

今回、PSPの病理学的なタウの分布に一致してタウ蓄積を生前評価することができた。さらに、前頭葉、頭頂葉白質においては運動症状の重症度と相関を認め、病理でもPBB3はタウ蓄積を標識できていると示唆された。これらの結果からPSPの症状発現にタウの蓄積とそれに伴う神経障害が直接的に関わっている可能性が示唆された。

重症度分類に関しては、運動症状の重症度で患者を群で分け、健常者とのZ scoreを算出して平均の値をみると、これまでの病理学的重症度の分布とほぼ一致しており、PSPにおいて病態生理の解明の一助となり、病期や治療効果の客観的指標となるうことが示唆された(図1)。

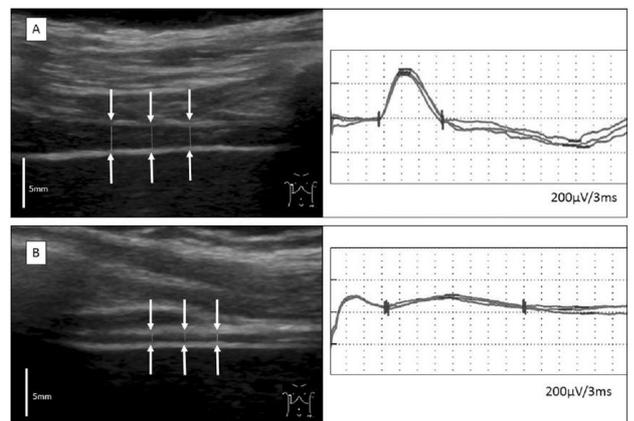
図1



上段は $^{11}\text{C}$ PBB3  $BP^*_{\text{ND}}$ からZ scoreを算出し、今回使用した各ROIにUPDRS < 50 (n = 7)、UPDRS ≥ 50 (n = 7)で群に分けて平均値を示した。下段はタウ蓄積の

病理学的重症度をWilliamsらの報告から一部改変して引用。

近年、超音波検査が装置の解像度の向上もあり、様々な筋や神経を評価する目的で臨床応用され始めている。横隔膜もICUなどで超音波を利用して、筋の構造や機能を評価した報告が散見する。Mモードを用いる方法は、測定誤差が大きく、左側や皮下脂肪の厚い症例などでは観察困難であり、今回、我々は、高周波のリニア型プローブのBモードを用いてZone of appositionでの横隔膜の厚さを観察する方法を使用した。横隔膜の厚さは、最大吸気時の厚さの測定は患者の努力の誤差と、技術的に困難な症例が多いことから、測定誤差の少ない安静呼気時に厚さの測定をした。Boonらは、横隔膜エコー検査は一側の横隔膜機能不全の臨床診断における感度が93%、特異度が100%と報告しており、Pintoらは、ALS患者の横隔膜CMAP振幅と%FVCの間に相関があることを示しているが、これまでに神経筋疾患患者の横隔膜エコー検査とFVCおよび横隔膜CMAP振幅の関係を検討した研究はなく、今回、我々は3者がそれぞれ相関することを初めて示した。



Aは正常コントロールの横隔膜超音波によるDiaphragm thickness (右)とCMAP振幅(左)。BはALS患者の横隔膜超音波所見とCMAP振幅。Muscle and nerve 2016。より引用。

## E. 結論

進行性錐体外路所見、頭部MRIで基底核の鉄沈着所見に加え、中脳黒質のT1WIで内部低信号/周囲高信号のHalo (SENDA)、脳脊髄液Fer低下(NF)などNBIAの積極的な鑑別のため、遺伝子検査を行うことが重要である。

$^{11}\text{C}$ PBB3-PETを用いてPSPの背景病理に一致した領域にタウ蓄積を生体内で評価することができた。さらに前頭頭頂葉の白質におけるタウ蓄積の程度は臨床症状の重症度と有意な相関があり、タウPETは病期や治療効果の客観的指標となり得ることが期待された。

ALS患者において、Diaphragm thicknessはFVC、横隔膜CMAP振幅と相関した。横隔膜超音波検査は非

侵襲的で患者の協力を必要としないため、ベッドサイドで簡便に施行することが可能で、ALSの呼吸機能を把握する上で有用であることが期待された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

Nishida K, Garringer HJ, Futamura N, et al. J Neurol Sci 342; 173-177: 2014.

Y Noda et al: Ultrasonographic diaphragm thickness correlates with compound muscle action potential amplitude and forced vital capacity. Muscle Nerve. 2016 Apr;53(4):522-7.

### 2. 学会発表

O-23-4: Progressive supranuclear palsy 患者における臨床症候と<sup>11</sup>C]PBB3 PET 集積の関係, 第56回日本神経学会学術大会, 2015-05-21

Pe-024-3: Brain metabolic correlates of tau accumulation in progressive supranuclear palsy, 第56回日本神経学会学術大会, 2015-05-21

E-08-6: Diagnostic utility and clinical significance of tau PET imaging with [<sup>11</sup>C]PBB3, 第56回日本神経学会学術大会, 2015-05-22

Clinical significance of tau accumulation assessed by [<sup>11</sup>C]PBB3 PET in diverse tauopathies. 島田 斉, et al. 2015 World Molecular Imaging Congress, World Molecular Imaging Congress, 2015-09-02

O-15-1: 筋萎縮性側索硬化症の呼吸機能評価における横隔膜超音波検査の有用性, 第57回日本神経学会学術大会, 2016-05-19

O2-5-09: 筋萎縮性側索硬化症における横隔膜超音波検査の有用性, 第46回日本臨床神経生理学会学術大会, 2016-10-28

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得 PBB3を含む化合物の特許を島田、樋口、須原が取得済み(PCT/JP2012/083286)。

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

