

## 家族性 ALS の臨床像と遺伝学的背景の解析

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り、その調査研究は厚生労働行政において重要といえる。ALS 全体の 5～10% を占める家族性 ALS は人種差が知られ、本邦における頻度、臨床像、遺伝学的背景を明らかにする必要がある。自験 122 家系を対象に臨床像と病原遺伝子変異の同定をおこない、約半数を解明した。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）の生体脳内病変の経時的変化を  $^{18}\text{F}$ -THK5351 PET を用いて可視化し、タウ関連皮質病変の進行をモニターできる有効な代替バイオマーカーとなる可能性を示した。

### 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% は家族性発症を示し家族性 ALS とよばれる。家族性 ALS では現在まで 30 近くの関連遺伝子が同定されているが、本邦における頻度、臨床像、遺伝子学的背景は十分解明されていない。本研究では日本人家族性 ALS の遺伝学的背景を解明し、その臨床像を明らかにして両者の関連を探索する。

研究 2：大脳皮質基底核症候群(CBS)の進行を客観的に非侵襲的に評価できるバイオマーカーは必要である。CBS における病理学的特徴はアストロサイト斑などにみられるタウ凝集体の蓄積とモノアミン酸化酵素 B(MAO-B)増加を伴うグリオーシスである。我々は CBS 患者の生体脳内のタウ凝集体と MAO-B の経時的変化を  $^{18}\text{F}$ -THK5351 PET により可視化する。

### B. 研究方法

研究 1：これまで集積した日本人家族性 ALS 111 家系に加え、新たに 11 家系(14 例)を対象とした。まず臨床情報から臨床像(表現型)の抽出をおこなった後、解析対象遺伝子を従来の 35 遺伝子から 63 遺伝子へと拡大したターゲットリシークエンス解析を実施した。同定された変異はサンガー法で再現性を確認した。続いて病的変異が同定されていない試料はエクソーム解析の対象とした。なお、欧米で頻度の高い *C9ORF72* リピート異常伸長の有無は repeat-primed PCR 法で確認した。

研究 2：CBS 患者 5 名(年齢  $69.2 \pm 7.05$  歳)と年齢を一致させた健常者 4 名( $71.3 \pm 6.65$  歳)に約 1 年の間隔をおいて、 $^{18}\text{F}$ -THK5351 PET を 2 回施行した。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、小脳皮質に 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の経時的変化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、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針、およびヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針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: ターゲットリシーケンスにおいてパネルを刷新し解析対象遺伝子を 63 遺伝子へと拡大した。新規 11 家系 (14 例) を解析した結果、その 3 家系に *SOD1* 変異、1 家系に *TARDBP* 変異を同定した。*SOD1* 変異を伴う 39 家系 (24 変異) の臨床情報を集積したため、現在その表現型解析と遺伝子型との関連解析を実施中である。さらに、合計 41 家系のエクソーム解析により、既報告変異の同定と新規候補バリエーションを抽出した。

研究 2: CBS 患者群において、約 1 年後に中心前回、上頭頂回で有意に  $^{18}\text{F}$ -THK5351 の集積増加を認めた (paired *t*-test,  $p < 0.05$ )。CBS 患者群における  $^{18}\text{F}$ -THK5351 の年間増加率は約 5%であった。一方、健常者群では  $^{18}\text{F}$ -THK5351 の有意な集積増加領域はなかった (paired *t*-test,  $p > 0.05$ )。

### D. 考察

日本人家族性 ALS の自験 122 家系の約半数の臨床像 (表現型) と遺伝学的背景を明らかにすることができた。残る未同定家系のエクソーム解析の進展が期待される中、あらためて本邦家族性 ALS の遺伝学的背景は欧米のそれと異なることが明らかとなり、分子病態の多様性が示唆された。

一方、CBS における  $^{18}\text{F}$ -THK5351 の増加率は Alzheimer 病の増加率とほぼ一致して

いた。経時的に集積亢進を示した領域は、CBS の病理でタウ凝集体の蓄積が多えられる領域と一致していた。CBS の生体脳内病変の経時的变化を可視化できたと考えられる。

### E. 結論

本研究調査により、日本人家族性 ALS の臨床症状 (表現型) と遺伝学的背景の解明が進んだ。臨床像の多様性が解明されることで、ALS 診断基準の改訂にもつながると期待される。ALS 同様の難治性神経変性疾患である CBS 患者におけるタウに関連した皮質病変の進行をモニターするための有効な代替バイオマーカーとなる可能性がある。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, 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.

Shijo T, Warita H, Suzuki N, Kitajima Y, Ikeda K, Akiyama T, Ono H, Mitsuzawa S, Nishiyama A, Izumi R, **Aoki M**. Aberrant astrocytic expression of chondroitin sulfate proteoglycan receptors in a rat model of amyotrophic lateral sclerosis. *J Neurosci Res* 2017; 96(2): 222–233.

Baba T, Hosokai Y, Nishio Y, Kikuchi A, Hirayama K, Suzuki K, Hasegawa T, **Aoki M**.

Takeda A, Mori E. Longitudinal study of cognitive and cerebral metabolic changes in Parkinson's disease. **J Neurol Sci** 2017; 372: 288-293.

該当なし

Hasegawa T, Sugeno N, Kikuchi A, Baba T, **Aoki M**. Membrane trafficking illuminates a path to Parkinson's disease. **Tohoku J Exp Med** 2017; 242: 63-76.

Yoshida S, Hasegawa T, Suzuki M, Sugeno N, Kobayashi J, Ueyama M, Fukuda M, Ido-Fujibayashi A, Sekiguchi K, Ezura M, Kikuchi A, Baba T, Takeda A, Mochizuki H, Nagai Y, **Aoki M**. Parkinson's disease-linked DNAJC13 mutation aggravates alpha-synuclein-induced neurotoxicity through perturbation of endosomal trafficking. **Hum Mol Genet** 2018; 27: 823-836.

## 2. 学会発表

Nishiyama A, Niihori T, Warita H, Izumi R, Akiyama T, Kato M, Suzuki N, Aoki Y, **Aoki M**. Targeted next-generation sequencing in Japanese familial amyotrophic lateral sclerosis reveals differences in the genetic variations across populations. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 16-21, 2017

Shijo T, Warita H, Suzuki N, Ikeda K, Akiyama T, Ono H, Mitsuzawa S, Nishiyama A, Izumi R, **Aoki M**. Bone morphogenetic protein 4 is up-regulated in a rat model of amyotrophic lateral sclerosis. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 16-21, 2017.

Kikuchi A, Okamura N, Hasegawa T, Ezura M, Baba T, Sugeno N, Yoshida S, Kobayashi J, Arai H, Furumoto S, Tashiro M, Yanai K, Kudo Y, Takeda A, **Aoki M**. <sup>18</sup>F-THK5351 PET in corticobasal syndrome. XXIII World Congress of Neurology, Kyoto, September 16-21, 2017.

## H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

