

## 成人型脊髄性筋萎縮症の診療提供体制の構築に関する研究

小野寺 理<sup>1)</sup>，

石原 智彦<sup>2)</sup>，他田 真理<sup>3)</sup>，柿田 明美<sup>3)</sup>，熱田 直樹<sup>4)5)</sup>，祖父江 元<sup>4)5)</sup>

1) 新潟大学脳研究所神経内科，2) 同分子神経疾患資源解析学科，3) 同 病理学分野，4) 名古屋大学 5) JaCALS 事務局

### 研究要旨

脊髄性筋萎縮症（Spinal muscular atrophy：SMA）は小児発症の下位運動神経変性疾患である。出生直後から数年以内に発症し、歩行の獲得も困難な例が多い。まれに小学生以降で発症し、成人期に至るまで診断確定されない症例が存在する。SMAの確定診断は、原因遺伝子 *Survival motor neuron: SMN1* の欠損および *SMN2* の copy number status (CNS) 変異の証明による。本研究は成人型脊髄性筋萎縮症の診療提供体制を構築し、本症の早期発見、早期介入治療を可能とすることを目標とする。

また筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis：ALS）は代表的な成人発症の運動神経疾患であり、上位下位運動神経が障害される。一部のALSは、下位運動神経徴候が先行する進行性筋萎縮症（Progressive muscular atrophy：PMA）の形をとり、成人型脊髄性筋萎縮症との鑑別が問題になる。そこで本邦のALS遺伝子データバンク JaCALS および、当施設保有の遺伝子検体を用いて、PMA群におけるSMN遺伝子CNS解析を行った。

### A. 研究目的

脊髄性筋萎縮症：Spinal muscular atrophy（SMA）は代表的な下位運動神経変性疾患である。SMAは発症年齢から4型に分類される。最重症の型は生後半年以内に発症し、重度の筋力低下を呈し、人工呼吸器管理を要する。型は一歳半までに発症し、座位保持は可能だが、歩行は獲得しない。型は歩行を獲得するが次第に筋力低下が進行する。型は成人期以降の発症で、まれである。

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic lateral sclerosis：ALS）は代表的な成人発症の運動神経疾患であり、上位下位運動神経が障害される。一部のALSは、下位運動神経徴候が先行する進行性筋萎縮症（Progressive muscular atrophy：PMA）の形をとり、成人型脊髄性筋萎縮症との鑑別が問題になる。

SMAの確定診断は遺伝子検査によってな

れ、その臨床像も原因遺伝子 *Survival motor neuron: SMN* の copy 数多型：copy number status (CNS)により規定される。すなわちSMN遺伝子には相同遺伝子、*SMN1*、*SMN2*が存在し、*SMN1*の欠損がSMAの原因となり、*SMN2*のcopy数が発症年齢、重症度を規定する。

本研究は成人型脊髄性筋萎縮症の診療提供体制を構築し、本症の早期発見、早期介入治療を可能とすることを目標とする。

### B. 研究方法

Droplet digital PCR（ddPCR）を用いた、*SMN1,2* 遺伝子のCNS測定方法を確立した。さらに本邦のALSデータバンク JaCALS および当施設保有遺伝子検体からALS 501例、PMA 50例、コントロール 399例の解析を行った。

（倫理面への配慮）

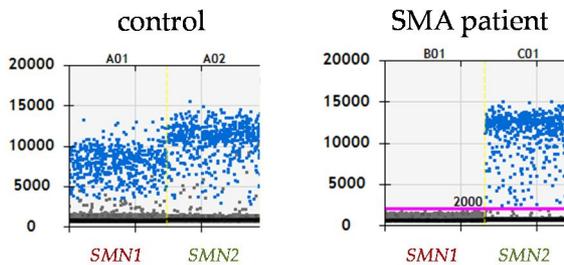
本研究は新潟大学医学部倫理委員会の承認を得

て行った。

### C. 研究結果

1) Droplet digital PCR (ddPCR)を用いた, *SMN1,2* 遺伝子の CNS 測定方法を確立した。Primer と taqman probe は既報を参考にした (Zhong, Q. et al. Lab Chip, 2011)。CNS の基準値 reference gene として *BCKDHA* gene を使用した。SMA 症例由来の線維芽細胞から抽出した遺伝子を用いた検討で, *SMN1,2* 遺伝子を区別することができ, 正確な定量が可能であることを確認した (図 1)。

図 1 : ddPCR 結果



また本法を用いて, 成人 SMA 症例 1 例の確定診断を行った。症例は 6 歳時より筋力低下を自覚し, 40 歳頃から歩行が不能となっていた, 62 歳男性例である。*SMN1* 遺伝子の欠損と *SMN2* 遺伝子 4 コピーを有することが確認され, 臨床像と合致する結果であった。

2) ALS 501 例 (平均  $61.6 \pm 11.1$  歳), PMA 50 例 (平均  $61.0 \pm 10.9$  歳), コントロール 399 例 (平均  $62.2 \pm 11.0$  歳) の解析を行った。

*SMN1* が 0 copy の症例は 3 群ともに 0 例であった。すなわち ALS 群, PMA 群ともに SMA 症例は見出されなかった。*SMN1* を 1 copy のみ持つ割合は, コントロール群では 1.3% で, ALS 群でも 1.2% と同等であった。このことから SMA キャリアが人口の 1% 程度存在することが示唆される。SMA I 型の罹患率は出生 2 万人に対して 1 人前後, II 型の罹患率は 10 万人あたり 1~2 人とされている (難病情報センター HP)。本研究でのキャリアの割合はこの発症頻度と矛盾しない結果であった (表 1)。

表 1 : *SMN1* copy 数

SMN1 copies	Control %	ALS %	ALS Odds Ratio	PMA %	PMA Odds Ratio
1	1.3	1.2	0.96 (0.29-3.15)	0	
2	91.2	93.4	1.35 (0.83-2.23)	92.0	1.11 (0.38-3.25)
3	7.0	4.8	0.67 (0.38-1.17)	6.0	0.96 (0.24-2.89)
4	0.5	0.6	0.96 (0.20-7.19)	2.0	4.05 (0.36-45.50)
Total	399		501		50

2) 一方で *SMN2* CNS の検討では, ALS・PMA 群とコントロール群に統計学的に有意な差異を認められた。*SMN2* 遺伝子を 1 copy のみ有する例は, ALS 診断群で 191/501 例 (38.1%), PMA 診断群で 24/50 例 (48.0%), コントロール群では 123/399 例 (30.8%) であり, ALS・PMA 両群で有意に多く認められた (オッズ比 ALS 1.38 : 1.04-1.81,  $p < 0.05$ , PMA 2.07 : 1.14-3.75,  $p < 0.03$ ) (表 2)。

表 2 : *SMN2* copy 数 (\*  $p < 0.05$ )

SMN2 copies	Control %	ALS %	ALS Odds Ratio	PMA %	PMA Odds Ratio
0	4.8	7.0	1.50 (0.85-2.67)	4.0	0.83 (0.18-3.69)
1	30.8	38.1	1.38 (1.04-1.82)*	48.0	2.07 (1.14-3.75)*
2	62.9	53.1	0.67 (0.51-0.87)*	48.0	0.54 (0.30-0.98)
3	1.5	1.8	1.20 (0.42-3.40)	0	
Total	399		501		50

### D. 考察

今回の検討で ddPCR 法による本症の簡便な診断方法を確立した。実際に遺伝子解析を実施し, 成人例の脊髄性筋萎縮症患者を診断しえた。

運動神経疾患の治療はこの数年で大きな進歩がみられる。特に SMA については, 画期的な核酸治療薬 Nusinersen が 2017 年より使用可能となっている。これは *SMN2* mRNA の特定部位に結合し, そのスプライシングを調整することにより, *SMN* 蛋白質の発現を増加させる。小児での検討では, きわめて有効な治療効果が示されている (Richard S. et al. NEJM, 2017)。また ALS についてもエダラボンによる進行抑制効果が確認され, 2015 年より適応が認可されている。

る。さらには ALS の新規治験が本邦において進行中である。SMA と ALS の治療薬はそれぞれ異なるため、両者の正確な鑑別が必要である。また SMA, ALS はいずれも進行性の神経変性疾患であり、機能予後を維持するためにも、可能な限り早期からの確定診断が重要となる。

本研究で見出された、成人例の脊髄性筋萎縮症患者については診断が確定したことにより、Nusinersen の投与が開始されている。今後は早期診断に加えて、治療効果判定方法についても確立が必要となる。

今回の検討では ALS・PMA 診断群には、*SMN1* 欠損例、すなわち SMA 症例は存在しなかった。SMA 成人例は ALS・PMA と比較して、稀な疾患と考えられる。診断の確定は遺伝子検査にてなされるが、効率的な検査のために SMA 成人例の臨床的な特徴を解析する必要がある。

一方で ALS・PMA 群では対照群と比して、*SMN2* 遺伝子コピー数の減少が有意に多く認められ、発症のリスクファクターであることが示唆された。*SMN* CNS と ALS 発症については、海外からも複数の報告があるが相反する結果となっている (Wang, J Neurol Sci, 2015)。これは、*SMN* CNS の地域差が存在することや (Sangare, Ann Neurol, 2014), *SMN* 以外の ALS の原因遺伝子の頻度が地域によって異なるため (Majounie E. Lancet Neurol 2012) と考えられる。

## E. 結論

ddPCR 法による本法の簡便な診断方法を確立した。今後は、成人型 SMA の早期診断に向けての診療体制を構築していく必要がある。

## F. 健康危険情報

特になし。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

## 2. 学会発表

28th international symposium on ALS/MND

Ishihara T, Toyoda S, Koyama A, et al.

The *SMN2* gene copy number states can affect the onset risk and survival time in Japanese ALS.

## H. 知的所有権の取得状況 (予定を含む)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

特になし。