

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・脱落をきたす神経変性疾患であり、国内外で増加中ながら根本的治療が未確立ゆえに、その調査研究は厚生労働行政において重要である。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 134 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であるタウオパチーの生体脳内病変を ^{18}F -THK5351 PET を用いて可視化し、タウ関連病理に一致した高集積パターンから大脳皮質基底核症候群と進行性核上性麻痺の鑑別を試みた。

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%は家族性に発症し家族性 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：ALS と同様の難治性神経変性疾患であるタウオパチーには、大脳皮質基底核症候群（CBS）、進行性核上性麻痺（PSP）、Alzheimer 病（AD）といった疾患群が含まれ、タウオパチー内で鑑別が難しいことがある。今回、タウ PET トレーサーとして開発され、その後 MAO-B にも結合性を示した ^{18}F -THK5351 PET を用いて、タウオパチーの鑑別診断の有用性について検討した。

B. 研究方法

研究 1：これまで集積した日本人家族性 ALS 家系に新たな 23 家系を加えた 134 家系を対象とした。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、新規 23 家系では 63 遺伝子へと拡大し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 9 名、PSP 10 名、AD 10 名、健常者 8 名に対し、神経心理学検査、頭部 MRI、 ^{18}F -THK5351 PET を施行した。PMOD を使用し、各個人の脳 MRI 画像を使用して関心領域を設定し、各領域と小脳皮質の比（SUVR）を用いて ^{18}F -THK5351 集積を評価した。各疾患の鑑別に receiver Operating Characteristic（ROC）曲線を用いて、area under the curve（AUC）値を算出した。また、神経心理学検査の臨床スコアと ^{18}F -THK5351 集積との相関を Spearman の順位相関係数を用いて検討した。

（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：分担研究者らの施設で集積してきた日本人家族性 ALS 134 家系の臨床像と遺伝学的背景を解明した。111 家系において全 35 遺伝子を解析対象としたターゲットリシークエンス解析を行った（論文発表済、Nisiyama A, *et al. Neurobiol Aging* 2017）後、新たに集積した 23 家系においては全 63 遺伝子を対象として得られた遺伝子型と臨床型を比較解析した。25 の *SOD1* 変異を 41 家系（31%）

に同定した。SOD1 変異例は平均発症年齢 48.4 歳、平均罹病期間は 4.9 年で孤発例に比べやや若年、下肢発症、長期経過例が多くみられた。8 家系に同定した H46R 変異が最多であり、下位運動ニューロン障害主体、下肢発症型という特徴を認めた。続いて、ホモ接合性は急速進行、ヘテロ接合性は比較的長期経過を示すという特徴を有する L126S 変異を 5 家系に認めた。家系内でも表現型が多様で低浸透率を呈する N86S 変異を 4 家系に認めた。変異によって地域的集積を認めた。

12 家系 (9%) に同定した FUS 変異は、若年発症・上肢近位筋もしくは頸筋発症で進行が速いという特徴があった。さらに、3 家系 (2%) に TARDBP 変異 (p.G376D 変異等) 1 家系に OPTN の p.E478G 変異を同定した。総じて約半数の日本人家族性 ALS 家系において既知の遺伝子変異を同定しており、続くエクソーム解析で新規候補バリエーションの抽出を行っている。

研究 2: 健常者群と比較して CBS 群では中心前回、中心後回、淡蒼球、中脳で ¹⁸F-THK5351 高集積を示し、一方 PSP 群では淡蒼球、中脳、AD 群では下側頭回、紡錘状回で高集積を示した。いずれの疾患群もタウ関連病理に一致して、¹⁸F-THK5351 の高集積を認めていた。CBS と PSP の鑑別では中心前回 (AUC = 0.900)、CBS と AD、PSP と AD の鑑別には下側頭回が有用であった (AUC = 1.000)。臨床スコアと ¹⁸F-THK5351 集積には相関はなかった。

D. 考察

日本人家族性 ALS 新規家系を加えた自験 134 家系の臨床像 (表現型) とその約半数の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、遺伝子変異の頻度における人種差と、分子病態の多様性が示唆された。

一方、CBS、PSP、AD 患者群では ¹⁸F-THK5351 の集積パターンが異なり、¹⁸F-THK5351 PET が鑑別に有用であることを確認できたことから、順調に研究を遂行できている。さらに症例数を増やし、¹⁸F-THK5351 の集積増加と臨床症状との関係を検討する予定である。

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さらに進んだ。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タウオパチーにおいて、CBS と PSP の鑑別に ¹⁸F-THK5351 が有用である可能性を示した。これらの研究成果は ALS や CBS、PSP に限らず、広く難治性希少疾患を対象とした厚生労働行政・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

Eura N, Sugie K, Suzuki N, Kiriyama T, Izumi T, Shimakura N, Kato M, [Aoki M](#). A juvenile sporadic amyotrophic lateral sclerosis case with P525L mutation in the FUS gene: A rare co-occurrence of autism spectrum disorder and tremor. *J Neurol Sci* 2019; 398: 67-68.

Miyabayashi T, Ochiai T, Suzuki N, [Aoki M](#), Inui T, Okubo Y, Sato R, Togashi N, Takashima H, Ishiura H, Tsuji S, Koh K, Takiyama Y, Haginoya K. A novel homozygous mutation of the TFG gene in a patient with early onset spastic paraplegia and later onset sensorimotor polyneuropathy. *J Hum Genet* 2019 Feb;64(2):171-176.

Fujimori K, Ishikawa M, Otomo A, Atsuta N, Nakamura R, Akiyama T, Hadano S, [Aoki M](#), Saya H, Sobue G, Okano H. Modeling sporadic ALS in iPSC-derived motor neurons identifies a potential therapeutic agent. *Nat Med* 2018; 24(10): 1579-1589.

Shijo T, Warita H, Suzuki N, Ikeda K, Mitsuzawa S, Akiyama T, Ono H, Nishiyama A, Izumi R, Kitajima Y, [Aoki M](#). Antagonizing bone morphogenetic protein 4 attenuates disease progression in a rat model of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol* 2018; 307: 164-179.

Mitsuzawa S, Akiyama T, Nishiyama A, Suzuki N, Kato M, Warita H, Izumi R, Osana S, Koyama S, Kato T, Suzuki Y, [Aoki M](#). TARDBP p.G376D mutation, found in rapid progressive familial ALS, induces mislocalization of TDP-43. *eNeurologicalSci* 2018; 11: 20-22.

Mitsui S, Otomo A, Nozaki M, Ono S, Sato K, Shirakawa R, Adachi H, [Aoki M](#), Sobue G, Shang

HF, Hadano S. Systemic overexpression of SQSTM1/p62 accelerates disease onset in a *SOD1*^{H46R}-expressing ALS mouse model. **Mol Brain** 2018; 11(1): 30.

Imaizumi K, Fujimori K, Ishii S, Otomo A, Hosoi Y, Miyajima H, Warita H, **Aoki M**, Hadano S, Akamatsu W, Okano H. Rostrocaudal Areal Patterning of Human PSC-Derived Cortical Neurons by FGF8 Signaling. **eNeuro** 2018; 5(2).

Tohrai G, Nakamura R, Sone J, Nakatochi M, Yokoi D, Katsuno M, Watanabe H, Watanabe H, Ito M, Li Y, Izumi Y, Morita M, Taniguchi A, Kano O, Oda M, Kuwabara S, Abe K, Aiba I, Okamoto K, Mizoguchi K, Hasegawa K, **Aoki M**, Hattori N, Onodera O, Naruse H, Mitsui J, Takahashi Y, Goto J, Ishiura H, Morishita S, Yoshimura J, Doi K, Tsuji S, Nakashima K, Kaji R, Atsuta N, Sobue G; Japanese Consortium for Amyotrophic Lateral Sclerosis Research (JaCALS). Frequency and characteristics of the TBK1 gene variants in Japanese patients with sporadic amyotrophic lateral sclerosis. **Neurobiol Aging** 2018; 64: 158.e15-158.e19.

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(5): 823-836.

2. 学会発表

渡辺靖章, 中川 直, 鈴木直輝, 割田 仁, 中山啓子, **青木正志**. ALS-associated *C21ORF2* mutation enhances the autoregulation mechanism of NEK1. 第59回日本神経学会学術大会(札幌)2018年5月23~26日.

西山亜由美, 鈴木直輝, 割田 仁, 井泉瑠美子, 島倉奈緒子, 秋山徹也, 長名シオン, 加藤昌昭, 新堀哲也, 青木洋子, **青木正志**. Genotype-phenotype analysis of Japanese familial ALS pedigrees with *SOD1* mutations. 同上.

鈴木直輝, 秋山徹也, 川田治良, Feng Tian, 石川充, 曾根岳史, 藤盛康希, 光澤志緒, 小野洋也, 長

名シオン, 池田謙輔, 四條友望, 西山亜由美, 井泉瑠美子, 加藤昌昭, 割田 仁, 岡野栄之, 藤井輝夫, Kevin Eggan, **青木正志**. Substantial axonal degeneration has occurred before motor neuron loss in ALS models. 同上.

割田 仁, 四條友望, 池田謙輔, 秋山徹也, 小野洋也, 光澤志緒, 西山亜由美, 井泉瑠美子, 鈴木直輝, **青木正志**. Cytoplasmic aggregation involving RNA-binding proteins in spinal cord of ALS model rats. 同上.

澁井 彩, 加藤昌昭, 鈴木直輝, 井泉瑠美子, 川内裕子, 割田 仁, **青木正志**. リルゾール投与中止に至った筋萎縮性側索硬化症(ALS)複数例の検討. 同上.

江面道典, 菊池昭夫, 岡村信行, 吉田 隼, 小林潤平, 菅野直人, 長谷川隆文, 石木愛子, 原田龍一, 荒井啓行, 谷内一彦, 古本祥三, 田代 学, 工藤幸司, 武田 篤, **青木正志**. ¹⁸F-THK5351 PET によるタウオパチーにおける鑑別診断の検討. 同上.

菊池昭夫, 江面道典, 岡村信行, 長谷川隆文, 石木愛子, 原田龍一, 菅野直人, 吉田 隼, 小林潤平, 荒井啓行, 谷内一彦, 古本祥三, 田代 学, 工藤幸司, 武田 篤, **青木正志**. 大脳皮質基底核症候群における ¹⁸F-THK5351 PET の経時的変化. 同上.

小林潤平, 長谷川隆文, 菅野直人, 吉田 隼, 江面道典, 菊池昭夫, 武田 篤, **青木正志**. Role of flotillin-1 in alpha-synuclein endocytosis: relevance to dopamine transporter regulation. 同上.

菅野直人, 長谷川隆文, 小林潤平, 吉田 隼, 江面道典, 菊池昭夫, 武田 篤, **青木正志**. Alpha-synuclein interacting proteins in nucleus. 同上.

吉田 隼, 長谷川隆文, 鈴木マリ, 菅野直人, 小林潤平, 江面道典, 菊池昭夫, 武田 篤, 望月秀樹, 永井義隆, **青木正志**. *DNAJC13* mutation aggravates alpha-synuclein-induced toxicity through perturbation of trafficking. 同上.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)
該当なし