

II. 分担研究報告

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策 研究事業）

（分担）研究報告書

成人発症白質脳症の実際と有効な医療施策に関する研究班

CARASIL、類縁疾患の調査

研究代表者 小野寺理 新潟大学脳研究所・神経内科

研究要旨

成人発症の白質脳症の、現在の診断基準の妥当性の評価、さらに、遺伝子診断陰性群の疾患群としての特徴の抽出と診断基準の作成を目標とする。本年度は、新たに優性遺伝性 CARASIL の確診例を 1 例見出した。また優性遺伝性 CARASIL が疑われる症例を 2 例見いだし、それらの変異遺伝子に関する機能解析を継続している。また、非 CARASIL かつ非 CADASIL である症例のうち、遺伝性疾患が強く疑われる 72 症例について、エクソーム解析を追加した。エクソーム解析の結果、仮性弾性黄色腫症 2 例を同定した。更に、1 例に血管基底膜の主要構成成分である Collagen type IV alpha 1 を code している *COL4A1* の 3'非翻訳領域に新規変異を同定した。また伴性劣性副腎白質ジストロフィーを 1 例、白質消失病を 3 例同定した。以上をまとめると、非 CARASIL かつ非 CADASIL である症例の約 10%は何らかの遺伝性疾患が関連していることが明らかとなった。

A. 研究目的

成人発症の白質脳症には、禿頭と変形性脊椎症を伴う常染色体劣性白質脳症（CARASIL）、皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体優性脳動脈症（CADASIL）、神経軸索スフェロイド形成を伴う遺伝性びまん性白質脳症（HDLS）、那須・ハコラ病等が含まれる。本疾患群は、一般に進行性の運動機能障害と認知症を来し、その療養も長期に亘るために、本人及び家族の負担も大きい。その為に、これらの疾患群の現状

の把握と共に、そのニーズ、情報提供の必要性がある。

成人発症の白質脳症は、近年、遺伝子の単離が進み、疾患の同定が可能となってきた。しかし、その診断には諸症状がそろふことが必要とされ、早期診断には適切では無い。また臨床症状も多彩で有り、遺伝子診断無しでは生前診断が困難なことも多い。また、遺伝子診断陰性の症例も、まだ数多く存在する。それらの患者さんに対し、十分な医療体制が提供できていない現状がある。本

研究申請では、これらの成人発症の白質脳症の早期診断を可能とし、適切な医療提供が行われるようにする事を目的とする。

申請者らは、本疾患の一つ、禿頭と変形性脊椎症を伴う常染色体劣性白質脳症の遺伝子を同定し、その臨床像、病態機序について明らかとしてきた。また、各々の疾患について、診断基準を策定し、その分子遺伝学的機序についても明らかとしてきた。その過程で、今まで劣性遺伝性として捉えられてきた禿頭と変形性脊椎症を伴う常染色体劣性白質脳症が、その原因遺伝子の変異型によって、一部は優性遺伝を示すことを明らかとし本症診断基準を改訂する必要性について明らかとしている。また全国調査によって検索した結果、まだ原因が明らかとなっていない症例も多数存在することが示されている。

昨年度は、HDLSにて、特徴的な石灰化パターンは、診断に有効であることを明らかとした。またその表現型は、性別によって影響を受ける事を明らかとした。

今年度は、遺伝子診断によって既存の変異が否定された群の疾患群としての特徴の抽出を行い、これらの群の診断基準を作成することを目標とした。

B. 研究方法

CARASIL と那須・ハコラ病は主任研究者である小野寺が、CADASIL を分担研究者である水野が、HDLS は分担研究者である池内が担当した。各研究者は、当該疾患の遺伝子診断について全国規模で行ってきた実績

がある。本年度は、その実績に伴い、早期診断を目標とした、診断基準の作成を行った。すでに遺伝子診断での確定例を多数保有しているため、それらの症例の医療記録を後方視的に検討することにより診断基準を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究は遺伝子解析を必要とするため、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に沿って、倫理的配慮のもとに実施する。すなわち、十分なインフォームドコンセントを行い文書で同意を得、末梢血から DNA を抽出し、保存する。これらのヒト由来試料や臨床データに関する個人識別情報は、連結可能匿名化を行い、大学内で定められた個人識別情報管理者が厳重に管理する。本研究の一部に関しては新潟大学遺伝子研究倫理委員会審査を受け、承認を得ている。今後全国共同研究推進に当たっては、共同研究機関、対象の拡大について承認を得て行う。遺伝子以外の臨床情報、血液、画像所見などの使用に関しても、十分な倫理的配慮が必要となる。特に、人を対象とする医学研究に関する倫理方針の各指針に則り、本研究を進める。この点に関して上記の遺伝子研究とは別に新潟大学倫理審査委員会に臨床試料の研究的使用の申請を行い、承認を得て行う。遺伝子解析とは別個にこの点に関しても文書で同意を得る。本研究で対象とするヒト由来資料については、資料、DNA の保存・管理、その後の解析について患者および患者の親族に説明し、研究目的

に使用することへの同意を得ている。また個人のプライバシーに関しては十分に保護する。研究を通じて協力者の人権は守られ、現時点で予想される不利益はない。

C. 研究結果 及び D. 考察

CARASIL については、182 例の白質脳症患者の臨床情報と DNA を収集し、HTRA1 遺伝子解析を行った。その結果、CARASIL の確定例を 2 例、優性遺伝性 CARASIL の確定例を 6 例見いだした。更に優性遺伝性 CARASIL が疑われる 2 例見だし、変異 HTRA1 の機能解析を行うこととした。これら合計 10 例について詳細な臨床情報を追加収集した。182 例の白質脳症患者の臨床情報と DNA を収集し、HTRA1 遺伝子解析と NOTCH3 遺伝子解析を行った。その結果、非 CARASIL かつ非 CADASIL である症例は 138 例であった。このうち 55 歳以下で神経症状を認める、または第 2 親等以内の類症が明らかな 72 症例については遺伝性疾患が強く疑われたためにエクソーム解析を追加した。結果、仮性弾性黄色腫症 2 例見出した。更に、1 例に血管基底膜の主要構成成分である Collagen type IV alpha 1 を code している *COL4A1* の 3'非翻訳領域に新規変異を同定した。また脳小血管病とは異なる白質ジストロフィーに分類される疾患として、伴性劣性副腎白質ジストロフィーを 1 例、白質消失病を 3 例同定した。これらの結果から、非 CARASIL かつ非 CADASIL である症例の中で、特に遺伝性が示唆される症例の約 10%は実際に何らかの病的な遺伝

子変異を有することが示唆された。

那須・ハコラ病に関しては新規患者を同定できなかった。

E. 結論

CARASIL の確定例を 2 例、優性遺伝性 CARASIL の確定例を 6 例見いだした。これら 8 例について詳細な臨床情報を追加収集し、既報の 16 例を加えてデータベース作成を完了した。軽症例の診断を可能とするフローチャートを作成できる情報を得た。更に優性遺伝性 CARASIL が疑われる 2 症例を見出した。また、非 CARASIL かつ非 CADASIL である症例のうち若年発症または第 2 親等以内の類症が明らかな、遺伝性疾患が強く疑われる 72 症例について、エクソーム解析を追加した。結果、遺伝性疾患が強く疑われる症例の約 10%が何らかの遺伝子変異を認めることが確認された。この解析結果を踏まえて遺伝子診断陰性例を絞り込み、データベース作成を完了し、遺伝子診断陰性群の臨床的な特徴を明らかにする予定である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito J, Nozaki H, Toyoshima Y, Abe T, Sato A, Hashidate H, Igarashi S, Onodera O, Takahashi H, Kakita A. Histopathologic features of an autopsied patient with

- cerebral small vessel disease and a heterozygous HTRA1 mutation. *Neuropathology*. 2018 May 25. doi: 10.1111/neup.12473.
2. Konno T, Yoshida K, Mizuno T, Kawarai T, Tada M, Nozaki H, Ikeda S, Nishizawa M, Onodera O, Wszolek ZK, Ikeuchi T. Diagnostic criteria for adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP). *European Journal of Neurology* 25: 142-147, 2018 / doi: 10.1111/ene.13464
 3. Miura T, Mezaki N, Konno T, Iwasaki A, Hara N, Miura M, Funayama M, Unai Y, Tashiro Y, Ohkita K, Kihara T, Ito N, Kanatsuka Y, Jones DT, Ishiguro T, Tokutake T, Kasuga K, Nozaki H, Dickson DW, Onodera O, Wszolek ZK, Ikeuchi T. Identification and functional characterization of novel mutations including frameshift mutation in exon 4 of CSF1R in patients with ALSP. *Journal of Neurology* 265: 2415-2424, 2018 / doi: 10.1007/s00415-018-9017-2
2. 学会発表
 1. Miura T, Mezaki N, Ishiguro T, Tokutake T, Kasuga K, Konno T, Nozaki H, Onodera O, Ikeuchi T. Identification and Functional Assay of Novel CSF1R Mutations in Patients with Adult-onset Leukoencephalopathy with Axonal Spheroids and Pigmented Glia. *American Academy of Neurology*, April 23, 2018, Los Angeles, USA
 2. 三浦 健, 目崎直実, 今野卓哉, 石黒敬信, 徳武孝允, 春日健作, 野崎洋明, 小野寺理, 池内 健. Identification and functional characterization of novel CSF1R mutations in patients with ASLP. 第59回 日本神経学会学術大会 ポスター発表. 2018.5.26. ロイトン札幌 (札幌市)
 3. 今野卓哉, 三浦 健, Daniel Broderick, 目崎 直実, 小野寺理, Rosa Rademakers, 池内 健, Zbigniew Wszolek. Brain Calcifications in adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia. 第59回 日本神経学会学術大会 口演発表. 2018.5.26. ロイトン札幌 (札幌市)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策 研究事業）

（分担）研究報告書

成人発症白質脳症の実際と有効な医療施策に関する研究班

CADASIL、類縁疾患の調査

研究分担者 水野 敏樹 京都府立医科大学大学院医学研究科神経内科学

研究要旨 遺伝子検査依頼があった 195 症例に NOTCH3 遺伝子の病的変異を認めた。変異を認めなかった 345 例中 50 歳以下発症で、常染色体優性または劣性の症例に絞りこみ画像解析を行った。その結果 50 例が虚血性変化による白質脳症と診断し、さらに脳小血管病と考えられた 15 例を抽出した。今後これらの症例のエクソーム解析を予定している

A. 研究目的

CADASIL, CARASIL、HDLS、那須ハコ
ら病と臨床症状、画像所見が類似していて
診断されない患者群の本邦での疫学、頻
度、原因を明らかにし、遺伝子未同定の遺
伝性成人白質脳症の特徴を抽出する。

B. 研究方法

2018 年までに成人白質脳症に関して全国
から遺伝子検査依頼があった 545 例につい
て遺伝子診断、臨床症状、画像所見につい
て検討する。

（倫理面への配慮）

各施設で患者から同意を得た後、匿名化
された血液、臨床症状、画像 CD を全国か
ら収集する。

C. 研究結果

2018 年までに全国から遺伝子検査依頼が
あった検体につき、NOTCH3 遺伝子の病的
変異の有無を検索し、195 症例に異常を認
め、CADASIL と診断した。病的変異を認
めなかった 350 例のうち、1 例でミトコン
ドリア病、4 例で HTRA1 遺伝子の異常を

認めた。残り 345 例の内 217 例に家族歴を
認めた。さらに 50 歳以下発症で、家族歴
が常染色体優性または劣性発症した症例に
絞りこみ画像解析を行った。その結果 50
例が虚血性変化による白質脳症と診断し、
さらに脳小血管病と考えられた 15 例を抽
出した。

D. 考察

全国から遺伝子依頼があった多数の症例
で未診断例が多数存在することが明らかにな
った。一方これらは単独の症例が多く、
家系調査まで至った例は少ない。このため
今後新潟大学と共同して多数例におけるエ
クソーム解析により、共通した遺伝子異常
を認める症例の同定が必要である

E. 結論

全国から遺伝子検査依頼があった症例で
NOTCH3 遺伝子の病的変異を認めず、遺伝
性脳小血管病が疑われる 15 例を抽出し
た。今後これらの症例のエクソーム解析を
予定している。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

1. Ebihara Y, Mochizuki H, Ishii N, Mizuta I, Shiomi K, Mizuno T, Nakazato M. A Japanese case of CADASIL with a rare mutation in exon 24 of the NOTCH3 gene. Intern Med. 2018 Oct 15;57(20):3011-3014.
2. Yeung WTE, Mizuta I, Watanabe-Hosomi A, Yokote A, Koizumi T, Mukai M, Kinoshita M, Ohara T, Mizuno T. RNF213-related susceptibility of Japanese CADASIL patients to intracranial arterial stenosis. J Hum Genet. 2018;63:687-690.
3. Mukai M, Mizuta I, Ueda A, Nakashima D, Kushimura Y, Noto YI, Ohara T, Itoh K, Ando Y, Mizuno T. A Japanese CADASIL patient with homozygous NOTCH3 p.Arg544Cys mutation confirmed pathologically. J Neurol Sci. 2018;394:38-40

2. 学会発表

Inherited Cause of Stroke. Mizuno, T. 16th Asian and Oceanian Congress of Neurology (AOCN) November 8-11, 2018, Seoul, South Korea
Potential Mechanisms of stroke in CADASIL
Mizuno, T. VAS-COG November 15, 2018, Hongcong

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患等政策 研究事業）

（分担）研究報告書

成人発症白質脳症の実際と有効な医療施策に関する研究班

HDLS と類縁疾患の調査

研究分担者 池内 健 新潟大学脳研究所・遺伝子機能解析学

研究要旨

神経軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（HDLS: hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids）は、若年性認知症を呈する成人発症大脳白質脳症の一病型である。国内外の論文においてCSF1R変異が同定されたHDLS122例の臨床像の解析を系統的に行い、HDLSを特徴づける臨床症状として若年発症（通常60歳以下）、認知機能障害、性格変化・行動異常、錐体路徴候、パーキンソン症状、けいれん発作を抽出した。HDLSの遺伝子変異はCSF1Rのチロシンキナーゼ領域に多く存在するが、ハプロ不全を呈するフレームシフト変異を非チロシンキナーゼ領域（エクソン4）に同定したことから、全翻訳領域のシーケンスが診断効率の向上に有効と思われた。

A. 研究目的

神経軸索スフェロイドを伴う遺伝性びまん性白質脳症（HDLS: hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids）は、若年性認知症を呈する成人発症大脳白質脳症の一病型である。1984年に北欧の家系において報告され、軸索スフェロイドを伴う広範な大脳白質変性と色素性グリアの浸潤を病理学的な特徴とすることが報告された。確定診断には病理学的な検索を要したことから、HDLSを臨床的に確定診断することは容易ではなかった。2012年にHDLSの原因遺伝子CSF1Rが同定されたことにより遺伝子解析が可能となり、遺伝子検査によって確定診断を行うことが可能となった。平成28年度の特定医療費（指定難病）の受給者証の保持者は25名である。本研究では、HDLSお

よび近縁疾患の臨床診断アプローチと遺伝子解析アプローチを確立することにより、成人発症大脳白質脳症の診療の質を向上させることを目的とする。

B. 研究方法

国内外の論文においてCSF1R変異が同定されたHDLS122例の臨床像の解析を系統的に行った。全国の医療施設と協力し、HDLSが疑われる症例についてCSF1Rの遺伝子解析を行った。本研究を実施するにあたり「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を遵守するとともに、遺伝子解析の実施については本学の遺伝子倫理委員会の承認のもと、インフォームドコンセントを取得して実施した。

C. 研究結果

90家系122症例のCSF1R変異陽性のHDLSについて解析した。性別は男性52例，女性66例であった。発症年齢は43歳±11歳（平均±標準偏差，18～78歳に分布），死亡時年齢は53歳±12歳（23～84歳に分布），死亡までの罹患期間は6.8歳±5.4歳（1から29年に分布）であった。平均発症年齢は女性が男性よりも優位に若い（女性40歳，男性47歳）。症候性キャリアの発症年齢から累積発症率を算出すると，浸透率は60歳までに95%の症例が発症していた（中央値43歳）。初発症状は認知機能障害（59%），精神症状（44%），運動障害（38%），言語症状（19%）の順で多かった。精神症状には不安，うつ，脱抑制，易怒性などの行動・心理症状が含まれていた。運動障害は歩行障害，パーキンソン症状，痙縮などが認められた。言語症状は言葉の発出が不良となる失語がみられた。20歳代に発症する若年女性の場合，初発症状は運動障害が最も多くみられた。頭部MRI所見としては，側脳室開大（100%），大脳白質病変（96%），大脳皮質萎縮（92%），脳梁菲薄化（88%），脳梁の信号異常（88%），錐体路の信号異常（58%），拡散強調画像の高信号病変（38%）であった。ガドリニウム造影効果を認めた症例はなかった。脳CTでは微小石灰化病変が認められ，「stepping stone appearance」が特徴的な所見であった。

HDLS患者で認められるCSF1R変異は，ほとんどの症例でチロシンキナーゼ領域（エクソン12～22）に報告されている。CSF1Rの

ハプロ不全がHDLSの原因となることから，非チロシンキナーゼ領域（エクソン2～11）のナンセンス変異/フレームシフト変異でもHDLSが生じる可能性が考えられた。チロシンキナーゼ領域に遺伝子変異が認められなかった症例についてCSF1Rエクソン2～12の遺伝子解析を行ったところ，エクソン4にフレームシフト変異p.Pro104LeufsTer8変異を1例において同定した。末梢血由来RNAにおいてCSF1Rの遺伝子発現を検討したところ，フレームシフト変異が生じているアレルの発現は低下していた。

D. 考察

HDLSの臨床的特徴として若年発症（通常60歳以下），認知機能障害，性格変化・行動異常，錐体路徴候，パーキンソン症状，けいれん発作などが挙げられる。常染色体優性遺伝性を呈するが孤発症例も少なからず存在する。頭部画像ではMRIとCTが有用であり，両側性の大脳白質病変，脳梁の菲薄化，点状の微小石灰化が認められる。臨床的な鑑別診断としては，血管性認知症，多発性硬化症，白質ジストロフィーなどがあげられる。このような特徴を基盤にHDLSの診断基準が策定された。この基準を用いるとCSF1R陽性遺伝子変異陽性例を96%以上の感度で診断が可能である。また，88%の特異度でNOTCH3変異を有するCADASILを除外することが可能である。これらの成果は，成人発症大脳白質脳症におけるHDLSの臨床診断アプローチの一助になるものと思われる。

E. 結論

HDLSの中核となる臨床病型とその多様性を明らかにした。また、HDLSの遺伝子診断の方法論を確立し、適切な臨床診断のもとにCSF1Rの遺伝子解析を行うことが重要と思われた。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Konno T, Yoshida K, Mizuno T, Kawarai T, Tada M, Nozaki H, Ikeda S, Nishizawa M, Onodera O, Wszolek ZK, Ikeuchi T. Diagnostic criteria for adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP). *European Journal of Neurology* 25: 142-147, 2018 / doi: 10.1111/ene.13464
- 2) Konno T, Miura T, Harriott A, Mezaki N, Edwards ES, Ross OA, Meschia JF, Ikeuchi T, Wszolek ZK. Partial loss of function of CSF1R in a patient with white matter abnormalities. *European Journal of Neurology* 25:875-881, 2018 / doi: 10.1111/ene.13611
- 3) Ikeuchi T, Mezaki N, Miura T. Cognitive dysfunction and symptoms of movement disorders in adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia. *Parkinsonism & Related Disorders* 46: S39-S41, 2018 / doi: 10.1016/j.parkreldis.2017.08.018
- 4) Miura T, Mezaki N, Konno T, Iwasaki A, Hara N, Miura M, Funayama M, Unai

Y, Tashiro Y, Ohkita K, Kihara T, Ito N, Kanatsuka Y, Jones DT, Ishiguro T, Tokutake T, Kasuga K, Nozaki H, Dickson DW, Onodera O, Wszolek ZK, Ikeuchi T. Identification and functional characterization of novel mutations including frameshift mutation in exon 4 of CSF1R in patients with ALSP. *Journal of Neurology* 265: 2415-2424, 2018 / doi: 10.1007/s00415-018-9017-2

5) Konno T, Kasanuki K, Ikeuchi T, Dickson DW, Wszolek ZK. CSF1R-related leukoencephalopathy: a major player in primary microgliopathies. *Neurology* 91:1092-1104, 2018 / doi: 10.1212/WNL.0000000000006642

6) 田中 賢, 田中 晋, 田中 弘, 五十嵐 勝, 池内 健. 上顎洞内に骨破壊と異所性石灰化像を認めた神経軸索スフェロイドを伴う遺伝子白質脳症 (HDLS) の1症例. *Dementia Japan* 32:624-628, 2018

2. 学会発表

1) Miura T, Mezaki N, Ishiguro T, Tokutake T, Kasuga K, Konno T, Nozaki H, Onodera O, Ikeuchi T. Identification and Functional Assay of Novel CSF1R Mutations in Patients with Adult-onset Leukoencephalopathy with Axonal Spheroids and Pigmented Glia. *American Academy of Neurology*, April 23, 2018, Los Angeles, USA

2) Konno T, Miura T, Harriott A, Mezaki N, Edwards E, Rademakers R, Ross O, Meschia J, Ikeuchi T, Wszolek Z. Genetic Screening of CSF1R in Familial Ischemic Stroke. *American Academy of Neurology* April 27, 2018,

Los Angeles, USA

(予定を含む。)

3) 三浦 健, 目崎直実, 今野卓哉, 石黒敬信, 徳武孝允, 春日健作, 野崎洋明, 小野寺理, 池内 健. Identification and functional characterization of novel CSF1R mutations in patients with ASLP. 第59回 日本神経学会学術大会 ポスター発表. 2018.5.26. ロイトン札幌 (札幌市)

該当なし

4) 今野卓哉, 三浦 健, Daniel Broderick, 目崎 直実, 小野寺理, Rosa Rademakers, 池内 健, Zbigniew Wszolek. Brain Calcifications in adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia. 第59回 日本神経学会学術大会 口演発表. 2018.5.26. ロイトン札幌 (札幌市)

H. 知的財産権の出願・登録状況