

特発性基底核石灰化症（IBGC）に関する研究  
- 診療ガイドラインの作成に向けて -

研究分担者 保住 功 岐阜薬科大学薬物治療学教授

研究要旨

全国から脳内石灰化症患者の相談、登録を行った。また、家族例を中心に遺伝子検索を行った。機能解析、病態解明を行い、新たな変異を見出した。IBGC、特にSLC20A2変異患者の髄液中の無機リン(Pi)の値がバイオマーカーになることを見出した。IBGC家系内の脳内石灰化や症状が認められない方（非発症例）で見出した遺伝子変異においては、野生型PiT-2の約30%のリン酸の輸送活性が保持されていることを見出した。この所見は今後の創薬開発の基盤となると考えられた。また、患者や家族の語りに基づく質的研究、タウPETによる検索等を行い、診療マニュアルの作成のためのエビデンスを作り上げている。

A. 研究目的

特発性基底核石灰化症（IBGC）患者の遺伝子を検索し、遺伝子診断に基づいた分類、診療ガイドラインの作成を目指す。IBGCの病態解明と治療薬開発を目標とする。患者の語りに基づく質的研究を行い、患者ニーズに応えるより良い診療ガイドラインの作成に心がける。

B. 研究方法

収集できた患者のDNAについて、既報のSLC20A2, PDGFB等の遺伝子変異についてそれぞれ直接塩基配列決定法による解析を行う。家族例やいとこ婚の症例を重点的に、遺伝子検索を行う。

収集できた患者の髄液からバイオマーカーの検索を行う。IBGC患者の髄液中のNa, K, Cl, Ca, Piの値を測定し、検討する。

収集できた患者の血液からバイオマーカーの検索を行う。IBGC患者30症例の血液中のビタミンD3(25(OH)D、1,25(OH)<sub>2</sub>D)の値について、RIA法（SRLに依頼）で測定し、検討する。

同定されたSLC20A2, PDGFRBの変異についてはその機能解析を行う。機能解析として、正常コントロール(野生型、WT)のPiT-2、変異型のPiT-2をそれぞれ安定的に発現するChinese Hamster Ovary (CHO)細胞を樹立した。樹立した安定的な発現株を用いてPiT-2のリン酸の輸送活性を、<sup>32</sup>Pを用いて測定した。

PDGFB遺伝子変異患者にインタビューを行ない、そのデータに関する質的内容分析を行う。

石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病(別名 小阪・柴山病 Diffuse Neurofibrillary Tangle with Calcification (DNFC))はIBGCと生前鑑別が極めて困難であるが、PBB3プローブ

を用いたタウPETでリン酸化タウを予備的に検索し、検討を行い、臨床的検索に活用していく。

「診療ガイドライン」に準じた「診療マニュアル」案を作成し、「診療ガイドライン」作成のために必要なエビデンスの創出を行っていく。

(倫理面への配慮)

DNAの採取、遺伝子検索においては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い、岐阜薬科大学ならびに岐阜大学の医学研究等倫理審査委員会の承認のもとに実施した。書面を用いてインフォームド・コンセントを取得した。また、個人情報には匿名化、管理を厳格に行い、研究を遂行した。

患者検体(髄液、血液)の検索においては、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、岐阜薬科大学ならびに岐阜大学の医学研究等倫理審査委員会の承認のもとに実施した。書面を用いてインフォームド・コンセントを取得している。また、個人情報は匿名化、管理を厳格に行い、研究を遂行した。

患者と家族の語りに基づく質的研究においては、人を対象とする医学系研究に関する倫理指針に従い、岐阜薬科大学、岐阜大学ならびに富山県立大学の医学研究等倫理審査委員会の承認のもとに実施した。録音等に関しても、書面を用いてインフォームド・コンセントを取得した。また、個人情報、データは匿名化、データ管理を厳格に行い、研究を遂行した。

C. 研究結果

現在登録患者の総数は約400症例 家族例の40%にSLC20A2変異、10%にPDGFB変異を認めた。

IBGC 患者(29 症例)の髄液中の Pi の値は、コントロール群(13 症例)に比べて、統計学的に有意に高値であった( $P < 0.001$ )。特に *SLC20A2* 変異患者 (IBGC1) において、顕著であった(下図)。

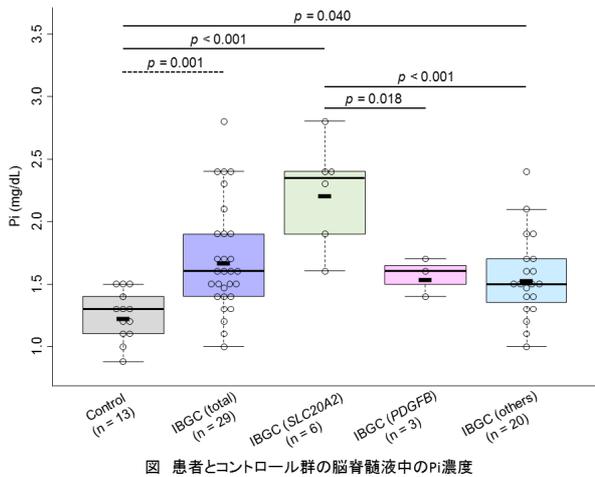
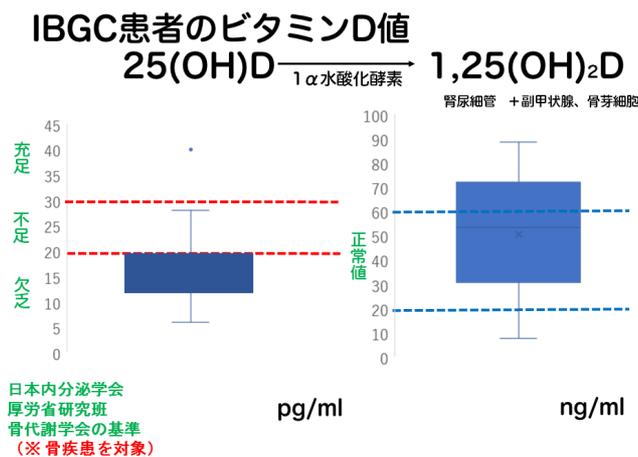


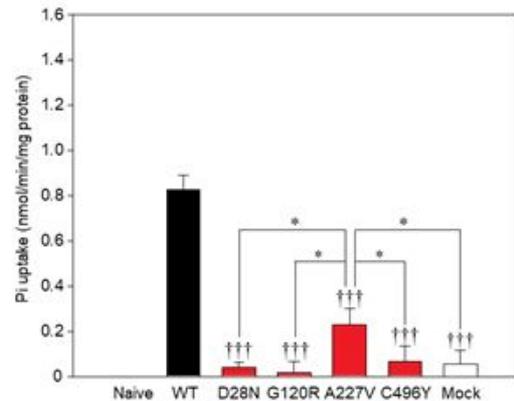
図 患者とコントロール群の脳脊髄液中のPi濃度

IBGC 患者 30 症例の  $25(\text{OH})\text{D}$  の値は  $16.2 \pm 6.71$  pg/ml、 $1,25(\text{OH})_2\text{D}$  の値は  $49.5 \pm 23.9$  ng/ml であった(下図)。 $25(\text{OH})\text{D}$  の値は日本内分泌学会、厚生省研究班骨代謝学会の基準(骨疾患を対象)では、 $< 30$  ng/mL は非充足非充足域に当たる。



さらに新たに 4 つの *SLC20A2* 遺伝子の変異を同定した。これらの変異が与える影響を変異解析ソフト Polyphen-2 にて解析したところ、4 つ全ての変異においてタンパク質の機能に障害を及ぼす可能性が示唆された。次に、変異遺伝子の機能解析として、正常コントロール(野生型、WT)の PiT-2、変異型の PiT-2 をそれぞれ安定的に発現する Chinese Hamster Ovary (CHO) 細胞

を樹立した。樹立した安定的な発現株を用いて PiT-2 のリン酸の輸送活性を測定したところ、IBGC 発症者の遺伝子変異型 PiT-2 が発現した細胞では、リン酸の輸送活性が著しく低下していた一方で、IBGC 家系内の脳内石灰化や症状が認められない方(非発症例)で見出した遺伝子変異においては、野生型 PiT-2 の約 30%のリン酸の輸送活性が保持されていることが見出された(下図)。



*PDGFB* 遺伝子変異患者の患者数を増やしてインタビューを行った。*SLC20A2* 変異患者とはその結果について差が見られ、現在詳しい解析を行っている。

PBB3 を用いたタウ PET 検査については、DNTC 疑いの家族例、*PDGFB* 変異のある 1 症例で検索が行われ、検索症例を蓄積中である。

「診療ガイドライン」に準じた「診療マニュアル」原案を作成し、推敲中である。難病プラットフォームに参画し、そのフォーマットの作成等に協力した。

#### D. 考察

IBGC 患者の登録数は現在も増加している。ほとんど無症状の患者を含めれば、わが国における患者の総数は、現在の登録患者の数倍は存在するものと推測される。

「脳内石灰化」という切り口で見ると、小児症例では、ミトコンドリア脳筋症も含めて、なんらかの先天代謝異常に属する疾患も含まれてくる。

初老期以降の症例において、現在、タウ PET 検査も含めて、DNTC と確定できる症例は見出していない。近年では DNTC 剖検報告もほとんど見られない。

海外では、家族性のものに絞って、Primary familial brain calcification (PFBC) という

名称が IBGC より、普及している。すなわち F(amilial)IBGC = PFBC である。今後、国際会議等を通じて、検討、名称の統一、本邦における疾患名の検討も必要になるであろう。

これまで、家族性の FIBGC で原因遺伝子が見つかっている家系は約半数で、諸外国の報告とほぼ一致している。他の遺伝子についても、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解析中である。

IBGCのバイオマーカーとして髄液中のPiが有用である。IBGC患者の血中の25(OH)Dの低値は日本人一般に認められる傾向で、必ずしもIBGC患者に特徴的なものではない。

また臨床症状の多様性から考え、分子、遺伝子に基づいた分類、診療ガイドラインの作成が臨まれる。

本研究から、PiT-2が持つリン酸の輸送活性の部分的な低下では、IBGCの病態を示さないことが明らかとなった。すなわち、この事実はリン酸の輸送活性を完全ではなくとも部分的に上昇させることで、IBGCの病態の改善に繋がるのではないかと期待された。

患者の語りに基づく質的研究で明らかにされる患者のニーズは、診療ガイドラインを作成していく上で、重要な指針となる。PDGFB変異患者や孤発性の患者、DNTC患者においても、患者と家族の語りに基づく質的研究を行い、比較検討し、それぞれの患者群における特徴を明らかにしたい。個別的な診療ガイドラインをまとめることは真に患者の気持ちに寄り添った有用なものとなる。PBB3によるタウPETは今後、IBGCとDNTCの鑑別、病態解明に大いに役立つと考えられ、DNTCが疑われる症例が見つければ、検索したい。

## E. 結論

IBGCのバイオマーカーとして髄液中のPiが有用であることを見出した。SLC20A2遺伝子とその機能解析から、輸送活性が変異によって部分的に低下しても、IBGCの病態を引き起こさない可能性が示唆され、この所見は創薬開発の基盤となると考えられた。

IBGCの新規原因遺伝子の検索、患者の語りに基づく質的研究、タウPETによるDNTCの検索、DNTC剖検症例の検討など「診療マニュアル」作成のためのエビデンス創出を行った。

## G. 研究発表

### 1 論文発表

Sekine S, Hozumi I, Inoue H et al, Induced

pluripotent stem cells derived from a patient with familial idiopathic basal ganglia calcification (IBGC) caused by a variant in SLC20A2 gene. Stem Cell Research 24, 40-43, 2017.

Ono M, Hozumi I, Higuchi M et al, Distinct binding of two PET ligands, PBB3 and AV-1451, to tau fibril strains in neurodegenerative tauopathies. Brain. 140(3): 764-780, 2017.

Hozumi I, Kurita H, Ozawa et al, Inorganic phosphorus(Pi) in CSF is a biomarker for SLC20A2-associated idiopathic basal ganglia calcification(IBGC1). J Neurol Sci 388, 150-154. 2018.

特発性基底核石灰化症の病態解明の進歩 保住 功 BRAIN and NERVE 71(1):59-66. 2019.

Sekine SI, Kaneko M, Tanaka M, Ninomiya Y, Kurita H, Inden M, Yamada M, Hayashi Y, Inuzuka T, Mitsui J, Ishiura H, Iwata A, Fujigasaki H, Tamaki H, Tamaki R, Kito S, Taguchi Y, Tanaka K, Atsuta N, Sobue G, Kondo T, Inoue H, Tsuji S, Hozumi I. Functional evaluation of PDGFB-variants in idiopathic basal ganglia calcification, using patient-derived iPSCs. Sci Rep. 2019 Apr 5;9(1):5698.

Nishii K, Shimogawa R, Kurita H, Inden M, Kobayashi M, Toyoshima I, Taguchi Y, Ueda A, Tamune H, Hozumi I. Partial reduced Pi transport function of PiT-2 might not be sufficient to induce brain calcification of idiopathic basal ganglia calcification. Sci Rep. 2019 Nov 21;9(1):17288.

山田 恵、保住 功 特発性基底核石灰化症(いわゆる 'Fahr 病') の異常運動 脳神経内科 92(1):56-62, 2020.

### 2 学会発表

Hozumi I et al, Survey on idiopathic basal ganglia calcification in Japan. XX World Congress of Neurology H29.9.16 ~ 21 国立京都国際会議場

位田 雅俊、栗田尚佳、保住 功 脳内石灰化症

の病態解明と治療薬開発に向けて 日本毒性学会 生体金属部会（メタルバイオサイエンス研究会 2017）  
H29.10.13～14 岡山国際交流センター

保住 功 新たに確立された神経疾患：その病理および臨床 特発性基底核石灰化症 第59回日本神経学会学術大会 シンポジウム 平成30年5月26日 さっぽろ芸術文化の館

保住 功 栗田尚佳 位田雅俊。山田 恵 林 祐一、犬塚 貴 SLC20A2 に変異を認める 特発性基底核石灰化症（IBGC1）患者の病態解析 第59回日本神経学会学術大会 平成30年5月26日 さっぽろ芸術文化の館

Isao Hozumi, Hisaka Kurita, Masatoshi Inden, Megumi Yamada, Yuichi Hayashi, Takayoshi Shimohata, Takashi Inuzuka  
Evaluation and functional study of idiopathic basal ganglia calcification in Japan AOCN 2018 Nov, 8-11, COEX, Seoul, Korea.

保住 功 栗田尚佳 位田雅俊 山田 恵 林 祐一 下畑享良 犬塚 貴 特発性基底核石灰化症（IBGC）の病態解明についた治療薬開発の試み 第36回日本神経治療学会学術集会 平成30年11月23日（土）TFT ビル西館 東京

保住 功他 本邦における特発性基底核石灰化症（IBGC）患者の遺伝子解析と機能解析の現状 第60回日本神経学会学術大会 R1.5.22～25 大阪国際会議場

保住 功 特発性基底核石灰化症の病態解明と治療薬開発への取り組み 第67回医の医学・生物学研究会 R1.8.30 名市大医学研究棟 11階

保住 功 神経変性疾患におけるメタロチオネイン、生命金属の役割に関する研究 メタルバイオサイエンス研究会 2019 生体金属部会賞受賞講演 R1.10.29～30 東京理科大学

澁谷尚輝他 特発性基底核石灰化症の新規 PDGFRB 変異解析と疾患特異的 iPS 細胞の作製及び機能評価 メタルバイオサイエンス研究会 2019 R1.10.29～30 東京理科大学

保住 功他 特発性基底核石灰化症の病態解明と治療薬の開発 第37回日本神経治療学会学術集会 シンポジウム R1.11.5～7 パシフィコ横浜

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む）

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし