

別添 1

令和 2 年度厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患政策研究事業

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

令和 2 年度 総括研究報告書

研究代表者 小野寺 理

令和 3 年 (2021) 年 3 月

目 次

I. 総括研究報告書

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 -----3

研究代表者 小野寺 理 新潟大学脳研究所脳神経内科

研究分担者 水野 敏樹 京都府立医科大学神経内科

池内 健 新潟大学脳研究所遺伝子機能解析学

富本 秀和 三重大学大学院・医学系研究科

II. 分担報告書

小野寺 理 -----7

水野 敏樹 -----8

池内 健 -----9

富本 秀和 -----11

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----12

令和2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）  
総括研究報告書  
成人発症白質脳症の医療基盤に関する調査研究  
小野寺理 新潟大学脳研究所教授

### 研究要旨

2019年12月までに全国から送られてきた重度白質病変を呈する212症例の臨床情報、画像情報ならびに遺伝子検体を用いた。これらの症例の中で、NOTCH3の遺伝子変異が陰性である167例の症例に対して、HTRA1の遺伝子解析を実施した。加えて、NOTCH3もHTRA1の双方の遺伝子変異が認められなかった症例の中で、若年発症例または第2親等以内の類症が明らかな91症例に対して、エキソーム解析を行なった。結果、CARASIL 2例、ヘテロ接合生HTRA1変異症例12例に加え、12名の他の遺伝子変異症例を同定した。またCADASILについては、2009年から2017年にCADASILの疑いでサンガー法による遺伝子検査を行い、NOTCH3に変異を認めなかった266症例のうち、6症例において5遺伝子に7個のバリエーションを認め、HTRA1、POLG、GLAのミスセンス変異はlikely pathogenicに該当しこのうちHTRA1、POLGは同一変異を持つ他家系列の文献報告があった。COL4A1イントロン変異、COL4A2ミスセンス変異は同ガイドラインでvariants of unknown significanceに該当した。

マイクロMRIを応用した研究については、生前の臨床機3T MRIで脳小血管病と診断された4名の患者剖検脳を対象とした。生前に異常を指摘された脳葉部位を含む6 cm × 8 cm × 8 cm以内の脳ブロックを作成した。これらのブロックを7TマイクロMRIで撮像し、得られたFLAIR画像から対応する病変部位を同定した。生前のMRIと病理所見の比較を行った。HDLSについては、2015年13人、2016年25人、2017年35人、2018年43人と増加傾向にある。良性型CSF1R、劣性型CSF1R、優性型CSF1Rのキナーゼアッセイを行い、良性型>劣性型>優性型の順番でキナーゼ活性が保持されていた。劣性型CSF1Rのヘテロ接合体（推定キナーゼ活性74%）では発症せず、優性型CSF1Rのヘテロ接合体（推定キナーゼ活性50%）では成人発症の白質変性症（HDLS）を発症する。劣性型の両アリル体（推定キナーゼ活性24%）は小児発症の重篤な白質脳症を発症する。優性遺伝型のCSF1Rのホモ接合体（推定キナーゼ活性0%）は胎生致死が生じることが想定された。CSF1Rキナーゼ活性が疾患の発症や重症度を期待していると思われた。

### A. 研究目的

成人発症の白質脳症には、脳小血管に主病変をもつ（脳小血管病）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）の他に、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）や那須・ハコラ病等が含まれる。

CARASILは常染色体劣性遺伝形式の疾患であったが、最近の研究では、ある特定のHTRA1変異において常染色体優性遺伝形式でも発症することが明らかとなった。そこで、白質脳症におけるCARASILとヘテロ接合性HTRA1変異による脳小血管病、更にCARASIL様の白質脳症を呈する他疾患の頻度を明らかにするために、従来の遺伝子解析に加えて、エキソーム解析を組み合わせる検討を行なった。

CADASILは最も頻度の高い遺伝性脳小血管病であり、若年性脳梗塞や頭部MRIにおける側頭極の白質病変を特徴とする。一方で臨床的にCADASILが疑われるが、その原因遺伝子NOTCH3に変異を認めない症例が多く存在している。これらの症例に対し

てエキソーム解析を行い、NOTCH3以外の遺伝性脳小血管病の原因遺伝子を同定することを目的とした。

また、脳小血管病は血管性認知症の主要な原因であり、小血管病性認知症は血管性認知症の過半数を占めている。MRI画像上では、脳小血管病は白質病変のほか、ラクナ梗塞、脳微小出血、脳表ヘモジデリン沈着症、血管周囲腔の拡大、皮質微小梗塞として検出され、これらの小血管病変が認知機能低下に相加的に関与する。CADASILは常染色体優性遺伝、40～50代での脳卒中の発症、脳画像における側頭極病変が特徴として挙げられる遺伝性脳小血管病の代表的な疾患である。CADASILの特徴的画像所見として側頭極の白質病変がある。この側頭極病変に対応する病理学的所見として、既報告では血管周囲腔の拡大が目立ち、ミエリンの変性、グリオーシスを伴うこと、病理機序として間質液の排出障害が示唆されている。一方、通常観察される加齢性白質病変では血管周囲腔の拡大は目立たず、間質液の排出障害の意義も明らかでない。側頭極病変はCADASIL以外の疾患でも観察され、画像診断マーカーとしては特異性の点で不十分である。本研究で

は、マイクロMRIを用いて臨床で観察される脳小血管病の画像異常がどのような病理学的変化に対応するかを明らかにし、CADASIL側頭極病変との病理学的差異を明らかにする。さらに、CADASIL患者における側頭極白質病変の画像・病理学的特徴を解明し、CADASIL画像診断マーカーとしての精度向上を目指すことを目的とした。

更に、HDLSおよび近縁疾患の分子疫学を明らかにし、ミクログリアにおけるCSF1Rキナーゼ活性が疾患の発症や重症度に影響を及ぼす機序を明らかにすることを目的とした。

#### B.C. 研究方法および研究結果

CARASILについては、2019年12月までに全国から送られてきた重度白質病変を呈する212症例の臨床情報、画像情報ならびに遺伝子検体を用いた。これらの症例の中で、NOTCH3の遺伝子変異が陰性である167例の症例に対して、HTRA1の遺伝子解析を実施した。加えて、NOTCH3もHTRA1の双方の遺伝子変異が認められなかった症例の中で、若年発症例または第2親等以内の類症が明らかかな91症例に対して、エキソーム解析を行なった。結果、CARASIL 2例、ヘテロ接合生HTRA1変異症例12例に加え、12名の他の遺伝子変異症例を同定した。

CADASILについては、2009年から2017年にCADASILの疑いでサンガー法による遺伝子検査を行い、NOTCH3に変異を認めなかった266症例のうち、①頭部MRIで側頭極病変を認める、②発症年齢が60歳以下、③神経精神症状の家族歴を有する、の3条件を満たした19症例を“CADASIL 類縁疾患”として選出し、エキソームシーケンスを行った。同定したバリエーションからアミノ酸同義置換など病原性の低いバリエーションを除外し、当施設のin-house data 54例中に認めたバリエーションを除外したうえ、単一遺伝性脳小血管病の原因として確立している8遺伝子(NOTCH3、HTRA1、COL4A1、COL4A2、CTSA、TREX1、GLA、POLG)のバリエーションを検討し、何種類かの候補遺伝子を見出した。

マイクロMRIを応用した研究については、生前の臨床機3T MRIで脳小血管病と診断された4名の患者剖検脳を対象とした。生前に異常を指摘された脳葉部位を含む6 cm×8 cm×8 cm以内の脳ブロックを作成した。これらのブロックを7TマイクロMRIで撮像し、得られたFLAIR画像から対応する病変部位を同定した。病変部位を含む連続パラフィン切片を作成して、H&E、KB染色での病理所見の評価、アミロイドβ(Aβ)、CD31、フェリチンの免疫染色、鉄染色を行った。症例1は81歳男性で、Aβ免疫染色でアルツハイマー病理と重度の脳アミロイド血管症を認めた。生前のMRIで脳表ヘモジデリン沈着症と白質病変を認めた部位では、

直下の脳皮質内に複数の微小梗塞を伴っており、血管周囲腔が拡大して鉄を貪食したマクローファージに浸潤が血管周囲に認められた。直下白質のミエリンは粗鬆化しグリオーシスを伴っていた。白質と連続して皮質内も粗鬆化してpolioaraisosisとも呼ぶべき所見を示しており、生前のMRIで認めたFLAIR画像における皮質高信号に対応する変化と考えられた。症例2は77歳男性でALSと診断、マイクロMRIで皮質微小梗塞と微小出血を同一部位に認め、開存した皮質枝動脈の末梢に存在することから出血性微小梗塞と判断された。症例3は62歳男性、皮質基底核変性症と病理診断したが、偶発した微小出血はマイクロMRIによる解析では微小静脈血管腫であった。症例4hで観察された皮質微小梗塞は炎症関連分子のperoxiredoxin 1、CD204、GFAP陽性細胞が観察され、急性期から亜急性期の皮質微小梗塞巣にマクローファージ/ミクログリアマーカー、反応性アストログリアが集簇した像と考えられた(Ishikawa & Tomimoto, Brain Comm, 2021)。

HDLSについては、HDLSの特定医療費受給証所持者数は、2015年13人、2016年25人、2017年35人、2018年43人と増加傾向にある。良性型CSF1R、劣性型CSF1R、優性型CSF1Rのキナーゼアッセイを行い、良性型>劣性型>優性型の順番でキナーゼ活性が保持されていた。劣性型CSF1Rのヘテロ接合体(推定キナーゼ活性74%)では発症せず、優性型CSF1Rのヘテロ接合体(推定キナーゼ活性50%)では成人発症の白質変性症(HDLS)を発症する。劣性型の両アリル体(推定キナーゼ活性24%)は小児発症の重篤な白質脳症を発症する。優性遺伝型のCSF1Rのホモ接合体(推定キナーゼ活性0%)は胎生致死が生じることが想定された。CSF1Rキナーゼ活性が疾患の発症や重症度を期待していると思われた。

#### D. 考察と結論

CARASILについては、今回の研究により新たな優性遺伝型CARASILの原因となるHTRA1変異について分子生物学的に機能喪失を明らかとした。また、非CARASIL非CADASIL症例に含まれる遺伝性白質脳症症例の殆どは55歳以下で神経症状を発症することが明らかとなった。これらの知見を基に、非CARASIL非CADASIL症例における原因遺伝子検索のプロトコルを立案する予定である。

CADASILについてはCADASIL類似疾患でも、CADASILと同様に脳梗塞発作を繰り返すことが多いことから、これら類似疾患を含めた疫学調査、診療ガイドラインの作成が必要である。

HDLSについては、CSF1Rキナーゼ活性が疾患の発症や重要度を期待していたことから、キナーゼ活性の調節薬剤がHDLSを含めたCSF1R関連白質脳症の治療につながる可能性が示され

た。

- F. 健康危険情報 本研究においては  
該当事項なし
- G. 研究発表  
1. 論文発表
- 1) Uemura M, ..., Ikeuchi T, Mizuta I, Mizuno T, Onodera O. HTRA1-Related Cerebral Small Vessel Disease: A Review of the Literature. *Front Neurol.* 11:545. 1-12. 2020.
  - 2) Kato T, ..., Onodera O. Excessive Production of Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 Causes Mural Cell Depletion From Cerebral Small Vessels. *Front Aging Neurosci.* 12. 512-9. 2020.
  - 3) Saito R, ..., Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A. Oculopharyngodistal myopathy with coexisting histology of systemic neuronal intranuclear inclusion disease: Clinicopathologic features of an autopsied patient harboring CGG repeat expansions in LRP12. *Acta Neuropathol Commun.* 8:75. 2020
  - 4) Clinical and Genetic Aspects of CADASIL. Mizuno T, et al. *Front Aging Neurosci.* 2020;12:91. doi: 10.3389/fnagi.2020.00091..
  - 5) Effect of Lomerizine Hydrochloride on Preventing Strokes in Patients With Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. Watanabe-Hosomi A, Mizuno T. et al. *Clin Neuropharmacol.* 2020 Sep/Oct;43(5):146-150.
  - 6) Watabe-Hosomi A, ..., Mizuno T. Effect of Lomerizine Hydrochloride on Preventing Strokes in Patients With Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. *Clin Neuropharmacol.* 43(5). 146-150. 2020.
  - 7) Tamura A, ..., Mizuno T. A 10-year longitudinal study of deep white matter lesions on magnetic resonance imaging. *Neuroradiology (Online).* 2021.
  - 8) Okada T, ...Mizuno T, Ihara M. Prevalence and Atypical Clinical Characteristics of NOTCH3 Mutations Among Patients Admitted for Acute Lacunar Infarctions. *Front Aging Neurosci.* 14;12. 130. 2020
  - 9) Shindo A, ..., Tomimoto H. Clinical Features and Experimental Models of Cerebral Small Vessel Disease. *Front Aging Neurosci.* 5;12. 109. 2020.
  - 10) Shindo A, ..., Mizuno T, Tomimoto H. A Nationwide Survey and Multicenter Registry-Based Database of Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy in Japan. *Front Aging Neurosci.* 14;12. 216. 2020.
  - 11) Ii Y, ... Tomimoto H. Association between cortical microinfarcts and total small vessel disease burden in cerebral amyloid angiopathy on 3-Tesla magnetic resonance imaging. *Eur J Neurol.* 28(3). 794-9. 2021.
  - 12) 4) Ii Y, ..., Tomimoto H. Hypertensive Arteriopathy and Cerebral Amyloid Angiopathy in Patients with Cognitive Decline and Mixed Cerebral Microbleeds. *J Alzheimers Dis.* 78(4). 1765-74. 2020.
  - 13) Senzaki S, Miura S, Ochi M, Kato T, Okada T, Matsumoto S, Shiraoka A, Ochi H, Igase M, Kitazawa R, Zhu B, Ikeuchi T, Ohayagi Y. Sporadic Japanese case of adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia caused by a de novo p.Phe849del mutation in CSF1R. *Neurology Clinical Neuroscience* 8:96-98, 2020 / doi: [org/10.1111/ncn3.12367](https://doi.org/10.1111/ncn3.12367)
  - 14) 2) Tamhankar PM, Zhu B, Tamhankar VP, Withbawkar SM, Seabra L, Livingston J, Ikeuchi T, Crow YJ. Biallelic hypomorphic mutations in CSF1R associated with fatal childhood neurodegeneration. *Neuropediatrics* 51:302-306, 2020 / doi: 10.1055/s-0040-1702161
  - 15) 3) Awata S, ..., Ikeuchi T, Kawakatsu S, Konagaya Y, Miyanaga K, Ota H, Suzuki K, Tanimukai S, Utsumi K, Kakuma T. Prevalence and subtype distribution of early-onset dementia in Japan. *Psychogeriatrics.* 20(6). 917-23. 2020.
  - 16) 4) 池内 健. 成人発症大脳白質変性症. 脳神経内科診断ハンドブック. 中外医学社 (印刷中)
  - 17) 5) 池内 健, Yusran Ady Fitrah, 朱 斌. 中枢性希少難病における恒常性ミクログリアの破綻と細胞移植療法の可能性. 日本薬理学雑誌 (印刷中)
2. 学会発表
- 1) Frequencies of genetic cerebral small vessel disease in adult-onset leukoencephalopathy. Masahiro U,...Onodera O. 第62回日本神経学会 2020.8.31~9.2 岡山
  - 2) CADASIL遺伝子検査陰性であった白質脳症症例の検討 渡邊明子,水田依久子,小泉崇,向井麻央,水野敏樹 第61回日本神経学会 2020.8.31~9.2 岡山.
  - 3) 新堂晃大ほか 本邦における CADASIL の全国調査と多施設データベースの構築第39回日本認知症学会学術集会 2020.10.26-28 名古屋
  - 4) ) 池内 健. 中枢性希少難病に対するミクログリアを標的とした新規治療アプローチシンポジウム「中枢性超希少疾患の薬理」第93回日本薬理学会年会. 2020.3.16.

- 5) 池内 健. 神経軸索スフェロイド形成をともなう遺伝性びまん性白質脳症 (HDLS) の画像と病理. シンポジウム「稀少な認知症疾患の画像と病理」Web 発表. 第 61 回日本神経学会. 2020.9.1.岡山コンベンションセンター (岡山市)
- 6) 朱 斌, Liu Lixin, 樋口 陽, Yusran Ady Fitrah, 三浦 健, 目崎直実, 原 範和, 月江珠緒, 今野卓哉, 春日健作, 宮下哲典, 池内 健. CSF1R バリエントのキナーゼアッセイによる CSF1R 関連脳症の発症機序解明. 39 回日本認知症学会学術集会. Web 発表
- 7) 池内 健. 一次性ミクログリア病の病態から考えるミクログリアを標的とした治療の可能性. Web 発表. 第 63 回日本神経化学会. 2020.9.12. Web 開催
- 8) 池内 健. 一次性ミクログリア病: 病態研究の進歩と新規治療法. シンポジウム「ミクログリア: 基礎・臨床研究の最先端」Web 発表. 第 32 回日本神経免疫学会学術集会. 2020.10.2. 金沢市文化ホール (金沢市)

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし

令和2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  
CARASIL、類縁疾患の調査  
研究代表者 小野寺理 新潟大学脳研究所教授

研究要旨

白脳症症例に対する HTRA1 遺伝子解析を実施し、新しく 3 つの変異を同定した。加えて、非 CADASIL/非 CARASIL 症例の網羅的遺伝子解析を行い、遺伝性白質脳症 12 症例を同定した。更に臨床表現系の解析により、非 CADASIL/非 CARASIL 症例の約 83%（12 例中 10 例）は 55 歳以下で神経症状を発症していることが明らかとなった。これらの情報は、遺伝性白質脳症の診断に寄与するものであると考えられた。

A. 研究目的

成人発症の白質脳症における CARASIL 症例の検索と、非 CADASIL/非 CARASIL 症例に対する網羅的遺伝子解析を利用した遺伝子変異を同定する。

B. 研究方法

2019年12月までに全国から送られてきた重度白質病変を呈する212症例に対してHTRA1遺伝子検査を行なった。加えて、非CADASIL/非CARASIL症例に対してエクソーム解析を実施し、他の原因遺伝子変異症例の同定を試みた。

（倫理面への配慮）

新潟大学倫理委員会の許可を得て、研究参加者から文書同意を得て行った。

C. 研究結果

6遺伝子解析の結果、CARASIL確定例を2例、ヘテロ接合性HTRA1変異症例確定例を12例見出した。ヘテロ接合性HTRA1変異症例では3つの新規変異を認め、その中の2変異については分子生物学的解析により変異蛋白の機能解析を終了した。2つの変異HTRA1蛋白はプロテアーゼ活性が有意に低下していた。残る1変異については機能解析を進めている。

またエクソーム解析の結果、仮性弾性黄色腫症2例、ヘテロ接合性ABCC6変異症例4例、COL4A1の3'非翻訳領域変異による脳小血管病を1例、COL4A2の新規変異症例1例、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例合計12例の遺伝性疾患症例を見出した。これらの成人発症の遺伝性白質脳症12症例の臨床的特徴を解析したところ、10症例は55歳以下で神経症状を発症していた。これらの結果から、CADASILやCARASIL/ヘテロ接合性HTRA1変異症例を除いた場合、55歳以下で神経症状を認める症例については種々の遺伝性疾患を念頭に精査や加療が必要であることを明らかとした。

D. 考察と結論

非CADASIL/CARASIL症例における遺伝性脳小血管病の原因や臨床的特徴を明らかにした。

F. 健康危険情報 本研究においては該当事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uemura M, ..., Ikeuchi T, Mizuta I, Mizuno T, Onodera O. HTRA1-Related Cerebral Small Vessel Disease: A Review of the Literature. *Front Neurol.* 11:545. 1-12. 2020.
- 2) Kato T, ..., Onodera O. Excessive Production of Transforming Growth Factor  $\beta$ 1 Causes Mural Cell Depletion From Cerebral Small Vessels. *Front Aging Neurosci.* 12. 512-9. 2020.
- 3) Saito R, ..., Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A. Oculopharyngodistal myopathy with coexisting histology of systemic neuronal intranuclear inclusion disease: Clinicopathologic features of an autopsied patient harboring CGG repeat expansions in LRP12. *Acta Neuropathol Commun.* 8:75. 2020

2. 学会発表

- 1) Frequencies of genetic cerebral small vessel disease in adult-onset leukoencephalopathy. Masahiro U, ... Onodera O. 第62回日本神経学会 2020.8.31~9.2 岡山

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

#### 研究要旨

CADASIL 類縁疾患 6 例において NOTCH3 以外の病原性あるいは感受性遺伝子 5 遺伝子に 7 個のバリエントを認め、遺伝性脳小血管病における遺伝的多様性が示唆された。

#### A. 研究目的

CADASILは最も頻度の高い遺伝性脳小血管病である一方、臨床的にCADASILが疑われるが、その原因遺伝子NOTCH3に変異を認めない症例が多く存在している。これらの症例に対してエキソーム解析を行い、NOTCH3以外の遺伝性脳小血管病の原因遺伝子を同定することを目的とした。

#### B. 研究方法

2009～2017年にCADASILの疑いで遺伝子検査を行い、NOTCH3に変異を認めなかった266症例のうち、①頭部MRIで側頭極病変を認める、②発症年齢が60歳以下、③神経精神症状の家族歴を有する、の3条件を満たした19症例を“CADASIL 類縁疾患”として選出し、エキソームシーケンスを行った。同定したバリエントから病原性の低いバリエントを除外したうえ、単一遺伝性脳小血管病の原因として確立している8遺伝子のバリエントを検討した。

（倫理面への配慮）

京都府立医科大学医学倫理審査委員会の許可を得て、研究参加者から文書同意を得て行った。

#### C. 研究結果

6症例において5遺伝子に7個のバリエントを認め、ACMGガイドライン2)に準拠すると、HTRA1、POLG、GLAのミスセンス変異はlikely pathogenicに該当しこのうちHTRA1、POLGは同一変異を持つ他家系例の文献報告があった。COL4A1イントロン変異、COL4A2ミスセンス変異は同ガイドラインでvariant of unknown significanceに該当した。

#### D. 考察と E. 結論

CADASIL類縁疾患においてNOTCH3以外の病原性あるいは感受性遺伝子の関与を明らかにした。遺伝性脳小血管病における遺伝的多様性が示唆された。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1) Clinical and Genetic Aspects of CADASIL. Mizuno T, et al. Front Aging Neurosci. 2020;12:91. doi: 10.3389/fnagi.2020.00091..

2) Effect of Lomerizine Hydrochloride on Preventing

Strokes in Patients With Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. Watanabe-Hosomi A, Mizuno T, et al. Clin Neuropharmacol. 2020 Sep/Oct;43(5):146-150.

3) Watabe-Hosomi A, ..., Mizuno T. Effect of Lomerizine Hydrochloride on Preventing Strokes in Patients With Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy. Clin Neuropharmacol. 43(5). 146-150. 2020.

4) Tamura A, ..., Mizuno T. A 10-year longitudinal study of deep white matter lesions on magnetic resonance imaging. Neuroradiology (Online). 2021.

5) Okada T, ... Mizuno T, Ihara M. Prevalence and Atypical Clinical Characteristics of NOTCH3 Mutations Among Patients Admitted for Acute Lacunar Infarctions. Front Aging Neurosci. 14;12. 130. 2020

##### 2. 学会発表

1) CADASIL 遺伝子検査陰性であった白質脳症症例の検討 渡邊明子,水田依久子,小泉崇,向井麻央,水野敏樹 第61回日本神経学会 2020.8.31～9.2 岡山.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

該当なし



#### 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、CSF1R 変異を原因とし、認知機能低下と運動症状を呈する成人発症大脳白質脳症である。HDLS の特定医療費受給証所持者数は、2015年13人、2016年25人、2017年35人、2018年43人と増加傾向にある。良性型 CSF1R、劣性型 CSF1R、優性型 CSF1R のキナーゼアッセイを行い、良性型>劣性型>優性型の順番でキナーゼ活性が保持されていた。劣性型 CSF1R のヘテロ接合体（推定キナーゼ活性 74%）では発症せず、優性型 CSF1R のヘテロ接合体（推定キナーゼ活性 50%）では成人発症の白質変性症（HDLS）を発症する。劣性型の両アリル体（推定キナーゼ活性 24%）は小児発症の重篤な白質脳症を発症する。優性遺伝型の CSF1R のホモ接合体（推定キナーゼ活性 0%）は胎生致死が生じることが想定された。CSF1R キナーゼ活性が疾患の発症や重症度を期待していると思われた。

#### 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。

本研究では、HDLSおよび近縁疾患の分子疫学を明らかにし、ミクログリアにおけるCSF1Rキナーゼ活性が疾患の発症や重症度に影響を及ぼす機序を明らかにすることを目的とする。

#### B. 研究方法

特定医療費（指定難病）のHDLS・受給者証により患者数を推定する。良性型（p.R106Q, p.T587I, p.T600M, p.E753Q）、劣性型（p.P132L, p.K627del, p.H643Q, p.T833M）、優性型（p.R777W, p.L786T, p.I794T, p.K820N）CSF1Rバリエーションをヒト・ミクログリア培養細胞に一過性に導入した。リガンド（CSF1, IL34）を刺激し、20分後に細胞ライセイトを回収した。タンパクを電気泳動で分離し、リガンド依存性のCSF1Rの自己リン酸化をリン酸化特異抗体（p.Y546, p.Y708, p.Y723）を用いて検討した。

#### C. 研究結果

特定医療費（指定難病）のHDLS・受給者証の保持者数は、2015年13名、2016年25名、2017年35名、

2018年43名と増加傾向にある。平成30年の年齢層別の分布は、20～29歳：3名 30～39歳：9名 40～49歳：17名 50～59歳：3名 60～69歳：7名 70～74歳：2名 75歳以上：2名である。

野生型のキナーゼ活性を基準としてバリエーションのキナーゼ活性を検討した。CSF1R刺激では、良性型キナーゼ活性  $85.6 \pm 6.4$ 、劣性型  $22.5 \pm 3.4$ 、優性型  $0.03 \pm 0.03$ であった。IL-34刺激では、良性型キナーゼ活性  $87.1 \pm 6.3$ 、劣性型  $24.5 \pm 2.2$ 、優性型  $0.03 \pm 0.02$ であった。良性型ヘテロ接合体が有するCSF1Rキナーゼ活性は93%、ホモ接合体のキナーゼ活性は86%でいずれも発症しない。劣性型ヘテロ接合体のキナーゼ活性は74%で発症せず、ホモ接合体のキナーゼ活性は24%で小児期の白質脳症を発症する。優性型ヘテロ接合体キナーゼ活性は50%でHDLSを成人期に発症し、ホモ接合体のキナーゼ活性は0%で胎生致死になると思われた。

#### D. 考察

HDLSの特定医療費の受給者は増加傾向にある。患者数が真に増加している可能性も考えられるが、HDLSに関する認知度が高まり、遺伝子診断まで結びついた症例が増えていた可能性も考えられた。好発返礼は40歳～50歳代であり、既報の年齢分布と類似していた。

CSF1Rキナーゼ活性と臨床病型と重症度を比較したところ、両者には相関を認めた。劣性型変異のホモ接合体のキナーゼ活性は24%であり、優性型変異のヘテロ接合体（キナーゼ活性50%）よりも若年で重篤な病型を示した。一方、劣性遺伝型のヘテロ接合体（キナーゼ活性74%）は発症しないことから、キナーゼ活性50%に発症の有無を分ける閾値があることが示唆された。

## E. 結論

HDLSの特定医療費の受給者は増加傾向にある。疾患の発症、重症度は、CSF1Rキナーゼ活性により大きく規定されていると思われた。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Senzaki S, Miura S, Ochi M, Kato T, Okada T, Matsumoto S, Shiraoka A, Ochi H, Igase M, Kitazawa R, Zhu B, Ikeuchi T, Ohyagi Y. Sporadic Japanese case of adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia caused by a de novo p.Phe849del mutation in *CSF1R*. *Neurology Clinical Neuroscience* 8:96-98, 2020 / doi: [org/10.1111/ncn3.12367](https://doi.org/10.1111/ncn3.12367)
- 2) Tamhankar PM, Zhu B, Tamhankar VP, Withbawkar SM, Seabra L, Livingston J, Ikeuchi T, Crow YJ. Biallelic hypomorphic mutations in *CSF1R* associated with fatal childhood neurodegeneration. *Neuropediatrics* 51:302-306, 2020 / doi: 10.1055/s-0040-1702161
- 3) Awata S, ..., Ikeuchi T, Kawakatsu S, Konagaya Y, Miyanaga K, Ota H, Suzuki K, Tanimukai S, Utsumi K, Kakuma T. Prevalence and subtype distribution of early-onset dementia in Japan. *Psychogeriatrics*. 20(6). 917-23. 2020.
- 4) 池内 健. 成人発症大脳白質変性症. 脳神経内科診断ハンドブック. 中外医学社 (印刷中)
- 5) 池内 健, Yusran Ady Fitrah, 朱 斌. 中枢性希少難病における恒常性ミクログリアの破綻と細胞移植療法の可能性. 日本薬理学雑誌 (印刷中)

### 2. 学会発表

- 1) 池内 健. 中枢性希少難病に対するミクログリアを標的とした新規治療アプローチシンポジウム「中枢性超希少疾患の薬理」第93回日本薬理学会年会. 2020.3.16.
- 2) 池内 健. 神経軸索スフェロイド形成をともなう遺伝性びまん性白質脳症 (HDLS) の画像と病理. シンポジウム「稀少な認知症疾患の画像と病理」Web発表. 第61回日本神経学会. 2020.9.1.岡山コンベンションセンター (岡山市)
- 3) 朱 斌, Liu Lixin, 樋口 陽, Yusran Ady Fitrah, 三浦 健, 目崎直実, 原 範和, 月江珠緒, 今野卓哉, 春日健作, 宮下哲典, 池内 健. CSF1RバリエーションのキナーゼアッセイによるCSF1R関連脳症の発症機序解明. 39回日本認知症学会学術集会. Web発表
- 4) 池内 健. 一次性ミクログリア病の病態から考えるミクログリアを標的とした治療の可能性. Web発表. 第63回日本神経化学会. 2020.9.12. Web開催
- 5) 池内 健. 一次性ミクログリア病: 病態研究の進歩と新規治療法. シンポジウム「ミクログリア: 基礎・臨床研究の最先端」Web発表. 第32回日本神経免疫学会学術集会. 2020.10.2. 金沢市文化ホール (金沢市)

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

該当なし

#### 研究要旨

CADASIL に特徴的とされる側頭極病変の診断特異性を向上させることを目的とし、加齢性白質病変の画像・病理の対比研究を行って、CADASIL 側頭極病変との相違点を明らかにする

#### A. 研究目的

側頭極病変はCADASIL以外の疾患でも観察され、画像診断マーカーとしては特異性の点で不十分である。本研究では、マイクロMRIを用いて臨床で観察される脳小血管病の画像異常がどのような病理学的変化に対応するかを明らかにし、CADASIL 側頭極病変との病理学的差異を明らかにする。さらに、CADASIL患者における側頭極白質病変の画像・病理学的特徴を解明し、CADASIL画像診断マーカーとしての精度向上を目指す。

#### B. 研究方法

生前の臨床機3T MRIで脳小血管病と診断された4名の患者剖検脳を対象とした。生前にMRIで異常を指摘された脳葉部位を含む6 cm×8 cm×8 cm以内の脳ブロックを作成した。これらのブロックを7T マイクロMRIで撮像し、得られたFLAIR画像から、対応する病変部位を同定した。病変部位を含む連続パラフィン切片を作成して、H&E、KB染色での病理所見の評価、アミロイドβ (Aβ)、CD31、フェリチンの免疫染色、鉄染色を行って病変部位の病理機転の解析を行った。

(倫理面への配慮)

三重大学倫理委員会の承認を得て実施。

#### C. 研究結果

脳小血管病に関し、以下の点が明らかとなった。  
1. 臨床機で観察される白質病変は病理学的な白質ミエリン線維の粗鬆化、グリオーシスと対応する。  
2. 血管炎症、血液脳関門 (BBB) の障害が推定される微小血管を中心として微小梗塞、白質病変が広がっており、炎症、BBB障害が白質病変の拡大に関与する。  
3. 脳小血管病変には多様性があり、共局在も認められる。

#### D. 考察

非特異的な加齢性白質病変の病理機転は血管炎症、BBB障害が主体であり、CADASILに見られる間質液の排出障害と相違する可能性が示された。

#### E. 結論

CADASIL患者レジストリーのMRI画像情報を解析することで、側頭極病変によるCADASIL診断精度の向上が可能となる。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Shindo A, ..., Tomimoto H. Clinical Features and Experimental Models of Cerebral Small Vessel Disease. *Front Aging Neurosci.* 5;12. 109. 2020.
- 2) Shindo A, ..., Mizuno T, Tomimoto H. A Nationwide Survey and Multicenter Registry-Based Database of Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy in Japan. *Front Aging Neurosci.* 14;12. 216. 2020.
- 3) Ii Y, ... Tomimoto H. Association between cortical microinfarcts and total small vessel disease burden in cerebral amyloid angiopathy on 3-Tesla magnetic resonance imaging. *Eur J Neurol.* 28(3). 794-9. 2021.
- 4) Ii Y, ..., Tomimoto H. Hypertensive Arteriopathy and Cerebral Amyloid Angiopathy in Patients with Cognitive Decline and Mixed Cerebral Microbleeds. *J Alzheimers Dis.* 78(4). 1765-74. 2020.

##### 2. 学会発表

- 1) 新堂晃大ほか 本邦におけるCADASILの全国調査と多施設データベースの構築第39回日本認知症学会学術集会2020.10.26-28 名古屋

#### 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

別添5

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
	該当なし						

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Uemura M, Nozaki H, Kato T, Kobayashi A, Sakai N, Ando S, Kanazawa M, Hishikawa N, Nishimoto Y, Polavarapu K, Nalini A, Hanazono A, Kuzume D, Shindo A, El-Ghanem M, Abe A, Sato A, Yoshida M, Ikeuchi T, Mizuta I, Mizuno T, Onodera O.	HTRA1-Related Cerebral Small Vessel Disease: A Review of the Literature	Front Neuro	11:545	1-12	2020
Kato T, Sekine Y, Nozaki H, Uemura M, Ando S, Hirokawa S, Onodera O.	Excessive Production of Transforming Growth Factor $\beta$ 1 Causes Mural Cell Depletion From Cerebral Small Vessels	Front Aging Neurosci	12	512-9	2020
Saito R, Shimizu H, Miura T, Hamada N, Mezaki N, Higuchi Y, Miyashita A, Kawachi I, Sanpei K, Honma Y, Onodera O, Ikeuchi T, Kakita A.	Oculopharyngodistal myopathy with coexisting histology of systemic neuronal intranuclear inclusion disease: Clinicopathologic features of an autopsied patient harboring CGG repeat expansions in LRP12	Acta Neuropathol Commun	8:75	-	2020

Mizuno T, Mizuta I, Watanabe-Hosomi A, Mukai M, Koizumi T.	Clinical and Genetic Aspects of CADASIL	Front Aging Neurosci	12:91.	1-10	2020
Mukai M, Mizuta I, Watanabe-Hosomi A, Koizumi T, Matsuura J, Hamano A, Tomimoto H, Mizuno T.	Genotype-phenotype correlations and effect of mutation location in Japanese CADASIL patients	J Hum Genet	65(8)	637-46	2020
Watanabe-Hosomi A, Mizuta I, Koizumi T, Yokota I, Mukai M, Hamano A, Kondo M, Fujii A, Matsui M, Matsuo K, Ito K, Teramukai S, Yamada K, Nagagawa M, Mizuno T.	Effect of Lomerizine Hydrochloride on Preventing Strokes in Patients With Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy	Clin Neuropharmacol.	43(5)	146-150	2020
Tamura A, Kuriyama N, Akazawa K, Ozaki E, Watanabe I, Ohshima Y, Kondo M, Takezawa N, Takeda A, Matsumoto S, Takeda K, Yoshii K, Yamada K, Watanabe Y, Nakagawa M, Mizuno T.	A 10-year longitudinal study of deep white matter lesions on magnetic resonance imaging	Neuroradiology	Online		2021
Okada T, Washida K, Irie K, Saito S, Noguchi M, Tomita T, Koga M, Toyoda K, Okazaki S, Koizumi T, Mizuta I, Mizuno T, Ihara M.	Prevalence and Atypical Clinical Characteristics of NOTCH3 Mutations Among Patients Admitted for Acute Lacunar Infarctions	Front Aging Neurosci.	14:12	130	2020

Shindo A, Ishikawa H, Ii Y, Niwa A, <u>Tomimoto H.</u>	Clinical Features and Experimental Models of Cerebral Small Vessel Disease	Front Aging Neurosci	5;12	109	2020
Shindo A, Tabei KI, Taniguchi A, Nozaki H, Onodera O, Ueda A, Ando Y, Urabe T, Kimura K, Kitagawa K, Hanayama H, Hirano T, Wakita H, Fukuyama H, Kagimura T, Miyamoto Y, Takegami M, Saito S, Watanabe-Hosomi A, Mizuta I, Ihara M, <u>Mizuno T, Tomimoto H.</u>	A Nationwide Survey and Multicenter Registry-Based Database of Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy With Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy in Japan	Front Aging Neurosci	14;12	216	2020
Ii Y, Ishikawa H, Shindo A, Matsuyama H, Matsuyama K, Yoshimaru K, Satoh M, Kogane R, Umino M, <u>Maeda M, Tomimoto H.</u>	Association between cortical microinfarcts and total small vessel disease burden in cerebral amyloid angiopathy on 3-Tesla magnetic resonance imaging	Eur J Neurol	28(3)	794-9	2021
Ii Y, Ishikawa H, Matsuyama H, Shindo A, Matsuyama K, Yoshimaru K, Satoh M, Taniguchi A, Maeda K, Umino M, <u>Maeda M, Tomimoto H.</u>	Hypertensive Arteriopathy and Cerebral Amyloid Angiopathy in Patients with Cognitive Decline and Mixed Cerebral Microbleeds	J Alzheimers Dis.	78(4)	1765-74	2020
Tamhankar PM, Zahu B, Tamhankar VP, Mithbawkar S, Seabra L, Livingston JH, <u>Ikeuchi T, Crowley J.</u>	A Novel Hypomorphic CSF1R Gene Mutation in the Biallelic State Leading to Fatal Childhood Neurodegeneration	Neuropediatrics	51(4)	302-6	2020

<p>Awata S, Edahiro A, Arai T, Ikeda M, <u>Ikeuchi T</u>, Kawakatsu S, Konagaya Y, Miyanaga K, Ota H, Suzuki K, Tamimukai S, Utsumi K, Kakuma T.</p>	<p>Prevalence and subtype distribution of early-onset dementia in Japan</p>	<p>Psychogeriatrics</p>	<p>20(6)</p>	<p>817-23</p>	<p>2020</p>
--	---	-------------------------	--------------	---------------	-------------