

孤発性 ALS における認知症発症リスクとしての *APOE2*小野寺 理¹⁾,畠野 雄也¹⁾, 石原 智彦¹⁾, 他田 真理²⁾, 柿田 明美²⁾,

1) 新潟大学脳研究所神経内科, 2) 同 病理学分野

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は成人発症の代表的な難治性運動神経変性疾患である。運動症状の進行を停止・改善させる治療法は開発されていない。ALS の原因遺伝子は 30 以上が知られているが、それぞれの症状の進行速度や、臨床的特徴との関連は十分に明らかになっていない。ALS の診断・診療体制を構築するために、同疾患の遺伝的背景を明らかにすることを目的とする。

我々は当施設の保有する孤発性 ALS 剖検脳組織 139 例より DNA を抽出し、網羅的解析（エクソーム解析）を実施している。このうち病歴で認知症の有無が確認できる 80 例を対象とし、APOE 遺伝子型頻度の解析を行った。その結果、認知症を伴う ALS では *APOE2* アレル頻度が有意に高く、APOE2 が ALS の認知症リスクを上げる可能性が示された。病理学的に裏付けのある ALS 症例において遺伝子変異が同定され、臨床的特徴、病理学的特徴と関連付けて解析が行われることは今後の ALS 病態生理、治療法の解明に有用である。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症：ALS は成人発症の代表的な運動神経変性疾患である。全身の上位下位運動神経の変性により、最終的には嚥下、呼吸障害を呈し、多くは 3-5 年で不幸な転機をたどる。現行治療薬の効果は限定的であり、症状進行を停止、改善させる有用な治療法は開発されていない。

難治性の神経・筋疾患はしばしば遺伝子変異を伴う。この遺伝子変異による病態生理機序を突破口として、有用な治療法が得られる可能性がある。筋ジストロフィーや脊髄性筋萎縮症では、変異遺伝子を対象とした核酸治療薬による画期的な治療法が実用化されている。

ALS の重要な症候に認知症がある。ALS では 50% で認知機能障害をきたし (ALS-D)、10-15% に前頭側頭型認知症 (FTD) を呈する (ALS/FTD)。欧米の ALS/FTD 患者遺伝子背景

として *C9orf72* 遺伝子内の異常伸長が知られているが、本邦では同変異は稀である。2016 年に *APOE2* アレルが ALS/FTD のリスク因子となることがイタリアから報告された (Chio, et al. JAMA Neurol. 2016)。本研究では本邦での ALS-D と APOE の関連について検討する。

B. 研究方法

新潟大学脳研究所保有の ALS 139 例の剖検脳組織を用いて、遺伝子を抽出し、エクソーム解析を行っている。エクソーム解析はイルミナ社 NovaSeq 6000 を用いた (外注: タカラバイオ社)。

表 1 対象40遺伝子

TARDBP	OPTN	FUS	SOD1	TBK1	SQSTM1	MATR3	TUBA4A
NEK1	HNRNPA2B	VCP	ELP3	SETX	HNRNPA1	CCNF	PNF1
VAPB	C21orf2	CHCHD10	NEFH	ANG	DNCT1	CHMP2B	POLDIP2
UBQLN2	FIG4	PFN1	ARHGEF28	ALS2	SPG11	EWRS1	TAF15
SIGMAR1	ANKA11	DAO	ERBB4	MAPT	TIA1	GLE1	PRPH

エクソーム解析結果を元に、既知の ALS 関連 40 遺伝子 (表 1) の解析を既に行っている。

これら 139 例中で病歴に認知症の有無の記載がある 80 例を対象とした。エクソーム解析結果より *APOE* rs7412 と rs429358 の SNP から、各症例の *APOE* 遺伝子型を同定した。疾患群を認知症の有無、病理学的な他認知症の合併（アルツハイマー病/嗜銀顆粒性認知症(AD/grain)), ALS 原因遺伝子の rare variant 保有の有無で分類し、各群での *APOE* のアレル頻度の差を Fisher の正確確率検定を用いて解析を行った。また健常対照群として、本邦での既報 (Nakayama, et al. PCN. 2002) より 1090 例を参照した。

(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

本研究で対象とした ALS80 例の *APOE* アレル頻度は、既報での本邦健常例でのアレル頻度と統計的な差異を認めなかった (表 2)。

表2 ALS でのアレル頻度

	<i>APOE</i> ε2	<i>APOE</i> ε3	<i>APOE</i> ε4
ALS (80 例)	7 (4.4%)	138 (86.3%)	15 (9.4%)
Healthy Control (1090 例)	111 (5.1%)	1869 (88%)	200 (9.2%)

次に ALS 認知症合併例 (ALS-D) 30 例と非合併例 (ALS-nonD) 50 例に分類し、*APOE2* アレル頻度を比較した。*APOE 2* アレル頻度は ALS-D での 6.7% に対し、ALS-nonD では 3% であり前者で多い傾向にあった (オッズ比 2.31; $p = 0.43$) (表 3)。

表3 認知症合併ALSのアレル頻度

	<i>APOE</i> ε2	<i>APOE</i> ε3	<i>APOE</i> ε4
ALS-D (30 例)	4 (6.7%)	50 (83.3%)	6 (10%)
ALS-nonD (50 例)	3 (3%)	88 (88%)	9 (9%)

さらに他の認知症疾患や、*APOE* 以外の遺伝的素因の影響を除外するために、病理学的所見でアルツハイマー病 (AD) や嗜銀顆粒性認知症 (grain) 病理像が認められた症例、および ALS 関連遺伝子 (表 1) 変異が認められた症例を除外

した (図 1)。これらの症例の解析では、*APOE 2* アレル頻度は ALS-D 11.8% に対し、ALS-nonD では 1.4% で、前者で有意に多かった (オッズ比 9.20; $p = 0.038$) (表 4)。

図1 症例分類フローチャート

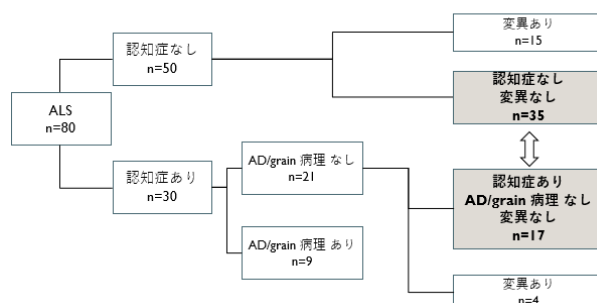


表4 病理、遺伝的背景調整後のアレル頻度

	<i>APOE</i> ε2	<i>APOE</i> ε3	<i>APOE</i> ε4
ALS-D (17 例)	4 (11.8%)	26 (76.5%)	4 (11.8%)
ALS-nonD (35 例)	1 (1.4%)	62 (88.6%)	7 (10%)

D. 考察

本解析では認知症を伴う ALS では *APOE2* アレル頻度が有意に高く、*APOE* 蛋白質が ALS の認知症リスクを上げる可能性が示された。この結果は既報 (Chio, et al. JAMA Neurol. 2016) と一致する。少数例の検討ではあるが、病理学的な裏付けのある症例において、ALS の認知症リスク因子を検討した意義は大きい。

APOE 蛋白質は、脂質代謝に関連し、*APOE 2, 3, 4* のサブタイプがある。また神経細胞におけるアミロイドベータ蛋白の産生に関与し、特に *APOE4* は家族性アルツハイマー病のリスク因子としてひろく知られている。また *APOE4* 保有例は、認知症をきたす変性疾患であるレビー小体病においても病理学的な悪化因子として報告されている (Terry et al. Nat communications. 2020)。

本研究および既報にて *APOE2* が ALS の認知症リスクとされ、他の認知症をきたす変性疾患と異なる点は重要である。既報では *APOE2* 蛋白のコレステロール輸送能の低さとそれに伴う核内受容体 *LXR β* (Liver X receptors) 活性低

下の影響が考察されている。また LXR β ノックアウトマウスでは、脊髄における炎症性サイトカインの増加と運動神経変性が報告されている (Chio, et al. JAMA Neurol. 2016)。

E. 結論

本邦でも APOE2 が ALS における認知症のリスク因子になっている可能性がある。病理学的に裏付けのある ALS 症例において遺伝的要素が、臨床的特徴、病理学的特徴と関連付けて解析が行われることは今後の ALS 病態生理、治療法の解明に有用である。引き続き、症例数を増やし、本邦における ALS の原因遺伝子の同定およびその機能解析を進めていく。

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

なし

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。