

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：13601
 研究種目：基盤研究(C) (一般)
 研究期間：2019～2023
 課題番号：19K07820
 研究課題名(和文) 腫大軸索を伴う遺伝性白質変性症：CSF1R発現細胞種と画像からの病変ステージ診断

 研究課題名(英文) Hereditary leukoencephalopathy with axonal spheroids: CSF1R positive cells and lesion staging based on brain image

 研究代表者
 小柳 清光 (Oyanagi, Kiyomitsu)

 信州大学・医学部・特任教授

 研究者番号：00134958
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝性白質脳症患者の脳MRI画像所見から、その患者の脳の病理ステージ分類を可能とする方法を確立した。すなわち前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉、橋、小脳、6箇所の白質の変性の程度、および大脳萎縮、側脳室拡大、脳梁萎縮、脳幹と小脳、4箇所の萎縮または拡大の程度、を5段階に半定量化し「脳画像Grade」を確定した。脳画像Grade 2は脳病理Stage IIに対応し、Grade 3はStage IIIに、Grade 4がStage IVに一致することを証明した。加えて遺伝性白質脳症の脳梁の菲薄化の病理学的背景は、ミクログリア変化を基盤として、大脳半卵円の変性と密接に関連しつつ生じることを報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義
 生存中の遺伝性白質脳症患者の脳MRI画像所見から、その患者の脳の病理ステージ分類を可能とする方法を確立した。すなわち、それぞれの患者さんの脳画像所見を、われわれが見いだした方法によって「脳画像Grade」を確定することにより、それぞれの症例の脳病理Stageを明確に知る事が可能となり、その患者さんの現在の臨床症状の理解と予後の推定と対策策定のために不可欠に重要な情報を提供しうることとなった。

研究成果の概要(英文)：Settlement of stages of the pathological brain lesions (Oyanagi et al. Brain Pathol 2017) from the findings of brain imaging considered to be inevitably essential for the prognostication in adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP). MRI images of eight patients with ALSP were analyzed semiquantitatively. White matter degeneration was assessed as a scale of 0 to 4 at six anatomical points, and brain atrophy as a scale 0 to 4 in four anatomical areas. The scores of the two assessments were then summed to give total MRI scores of 0 - 40 points. Based on the scores, the MRI features were classified as Grades (0 - 4). MRI Grades (2 - 4) based on the total MRI scores were well correlated with the pathological lesion Stages (II - IV).

研究分野：神経病理学

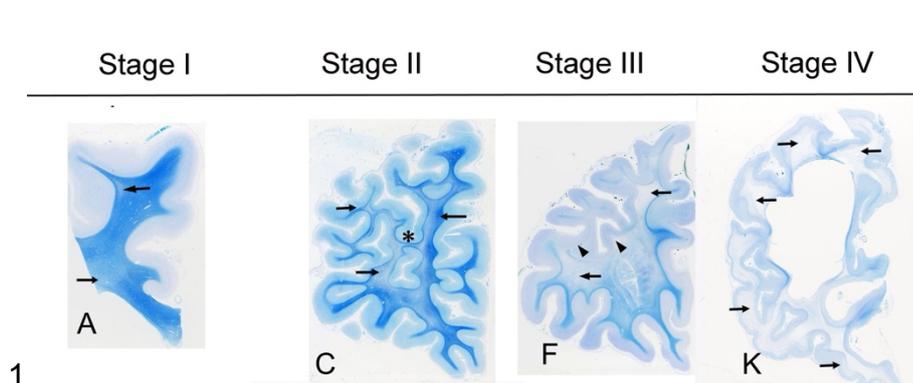
キーワード：ALSP HDLS 白質脳症 遺伝性 ミクログリア CSF1R

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現代日本の大きな社会的問題である若年性認知症の一つ、腫大神経軸索を伴う遺伝性大脳白質変性症 (ALSP) は、*CSF1R* (コロニー刺激因子 1 受容体) 遺伝子、*AARS2* (アラニル tRNA 合成酵素) 遺伝子などの変異により発症する、主には優性遺伝性の疾患で、40 歳～50 歳の働き盛りの男女が突然発症し、子供の二人に一人は病因遺伝子を受け継いで発症して僅か数年で廃人となり死亡する悲惨な疾患である。

ALSP は、*CSF1R* 変異または *AARS2* 遺伝子を原因とし、ミクログリアに発現する *CSF1R* 蛋白などが機能異常を起こすためにミクログリアの働きが障害され大脳白質の有髄線維が変性して発症する疾患である、と理解されている。すなわち、脳白質の病変発生と、ミクログリア、*CSF1R* は密接不可分の関係にあり、これらの異常が発症と病変進展の核心であると考えられている。



このような背景を有する ALSP で、代表者らは初めて、白質病変が一定方向性を有して進展拡大し、神経病理学的ステージが 4 段階からなる事、それらのステージごとに軸索やミクログリアなどがダイナミックかつ特徴的な変化を示すこ

とを見出し報告した (*Brain Pathol.* 2017 : 図 1)。

2017 年の研究で明らかにし得た「ALSP の脳病理ステージ」を、生存中の患者さんにおいて CT、MRI 等の所見から分類できれば、そのときどきの脳神経症状の分析と治療に役立つのみならず、将来的な病状の進展の予測、それに対する医療側の対応、あるいはご家族のこころの準備に大きな貢献をすることが期待される。このことを鑑みれば、ALSP 患者さんの脳画像所見から「脳病変ステージ」を同定する方法の開発は医学的にも社会的にも極めて重要、かつ不可欠である。

このような ALSP 脳画像の特徴として脳梁の菲薄化があげられており、臨床診断のための重要な所見とされている。しかし ALSP 脳において脳梁がなぜ際だって菲薄化するのか、ミクログリアとの関連などは不明であった。これを明らかにすることは ALSP 脳病変の成り立ちおよび画像所見の解析に重要と考えられる。

また 2018 年、研究代表者らは ALSP の病変発生メカニズムを探索する目的から、病変主座である前頭葉白質を観察し、*Iba1* (ミクログリアマーカー) 陽性細胞数は Stage I から IV で減少していること、一方、これもミクログリアに発現すると言われている *CSF1R* 細胞の増加を見出した。これらのミクログリアマーカーの ALSP 脳における陽性細胞種の同定も学問的未解決として残されている。

2. 研究の目的

生存し治療中の腫大神経軸索を伴う遺伝性大脳白質変性症 (ALSP) の患者さんの脳画像所見から「神経病理学的ステージ」を同定する方法を確立する。これは、ALSP 患者さんにおいて、そのときどきの脳神経症状の分析と治療に役立つのみならず、将来的な病状の進展の予測、それに対する医療側の対応、あるいはご家族のこころの準備のために、重要かつ不可欠である。

ALSP 脳画像の特徴として脳梁の菲薄化があげられており、臨床診断のための重要な所見とされている。

しかし ALSP 脳において脳梁がなぜ際だって菲薄化するのか、ミクログリアとの関連などは不明であった。これを明らかにして、ALSP 脳病変の成り立ちの解析を更に進める。

ALSP 脳病変のメカニズムを知る目的から、ALSP 脳に出現するミクログリアマーカー陽性細胞種の同定を試みる。

3. 研究の方法

1. 脳 MRI 所見と脳神経病理学的所見との対応においては、*Brain Pathol.* 2017 における ALSP 脳の神経病理学的研究で用いた 10 症例のうち、分析に足りる脳画像所見が保存されていた 8 症例を用いた。MRI 画像の Axial T2 強調画像または拡散強調画像 (FLAIR) を使用した。撮像時期は症例により異なる。前頭葉、頭頂葉、側頭葉、後頭葉、橋底、および小脳の 6 箇所において検討した。深白質高輝度信号 (DWMH) によって、0: 変化なし、1: patchy、2: large patchy、3: confluent、4: diffuse、に分類した。これにより「白質変性スコア」は各症例で合計 0~24 point となる。また脳萎縮の程度は、脳萎縮、側脳室拡大、脳梁萎縮、脳幹萎縮、小脳萎縮、として各箇所、0: 変化なし、1: slight、2: mild、3: moderate、4: severe、と分類した。これにより「脳萎縮スコア」は各症例で合計 0~16 point となる。さらに各症例の「白質変性スコア」と「脳萎縮スコア」を合算し、各症例の「Brain MRI Grades」(0~4) を分類した。これらのデータと各症例の臨床経過の長さ、臨床症状 (mRS: modified Rankin Scale) との対応を統計的に検討した。

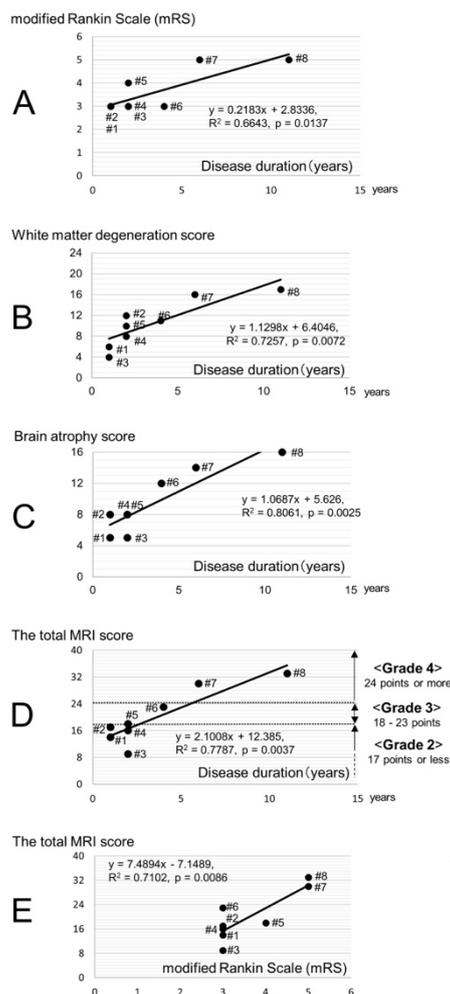
次に、これら各症例の「Brain MRI Grades」と *Brain Pathol* 2017 で報告されている「脳の神経病理学的 Stage」と比較した。

2. 脳梁の菲薄化とミクログリアとの関連については、上記 *Brain Pathol* 2017 で用いた症例のうち、7 例を使用した。脳梁体部において、Iba1、CD68、CD163 などのミクログリアマーカーによる免疫染色、および神経細糸免疫染色、並びにヘマトキシリン-エオジン染色、クリューバー-バレラ染色を行って、半卵円の所見と対比した。

3. ALSP 脳に出現するミクログリアマーカー陽性細胞種の同定に関しては、前頭葉白質を Iba1、CD40、CD163、GFAP、Olig2、および CSF1R 免疫染色し、光顕観察 (対物レンズ x40) 下に、0.063mm² 4 箇所 (計 0.25mm²) における各陽性所見を計測し分析する。

4. 研究成果

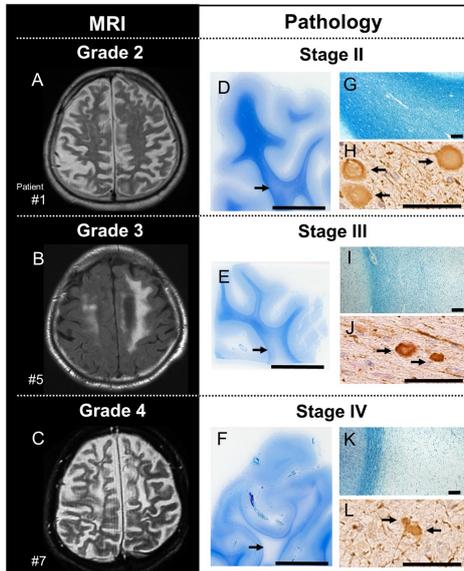
図 2 のように mRS と臨床経過は相関し (A)、白質変性スコア (B) と脳萎縮スコア (C)、総 MRI スコア (D) も臨床経過の長さと同相した。総 MRI スコアは mRS と相関することも確認した (E)。総



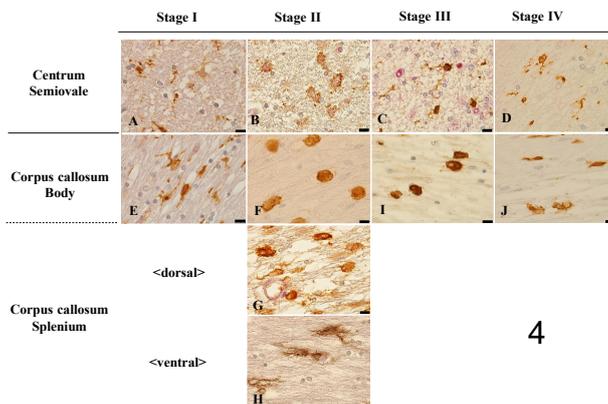
MRI スコアで 24 以上を Brain MRI Grade 4 とし、18~23 を Grade 3、17 以下を Grade 2 とした。

Brain MRI Grade と神経病理 Stage の比較では、生前の Brain MRI Grade 2 は Brain Pathology Stage II と、Grade 3 は Stage III と、Grade 4 は Stage IV と対応した（下図 3、業績）。

3



脳梁の菲薄化におけるミクログリアは、半卵円のそれと差が無い事を見だし、菲薄化は半卵円病変が脳梁で凝集したことによることを指摘した（下図 4、業績）。



4

ALSP 脳に出現するミクログリアマーカー陽性細胞種の同定に関しては困難を極め、現在も計測中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 7件）

| | |
|---|----------------------|
| 1. 著者名 Kinoshita M, Oyanagi K, Matsushima A, Kondo Y, Hirano S, Ishizawa K, Ishihara K, Terada S, Inoue T, Yazawa I, Washimi Y, Yamada M, Nakayama J, Mitsuyama Y, Ikeda S, Sekijima Y | 4. 巻 461 |
| 2. 論文標題 Adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP): Estimation of pathological lesion stage from brain images | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 J Neurol Sci | 6. 最初と最後の頁 123027 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jns.2024.123027 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|------------------|
| 1. 著者名 Verheijen BM, Chung C, Thompson B, Kim H, Asa Nakahara A, Anink JJ, D. Mills JD, NYGC ALS consortium, Lee JH, Aronica E, Oyanagi K, Kakita A, Gout JF, Vermulst M | 4. 巻 12 |
| 2. 論文標題 The cycad genotoxin methylazoxymethanol, linked to Guam ALS/PDC, induces transcriptional mutagenesis | 5. 発行年 2024年 |
| 3. 雑誌名 Acta Neuropathol Com | 6. 最初と最後の頁 30 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s40478-024-01725-y | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Qi C, Verheijen BM, Kokubo Y, Shi Y, Tetter S, Murzin AG, Nakahara A, Morimoto S, Vermulst M, Sasaki R, Aronica E, Hirokawa Y, Oyanagi K, Kakita A, Ryskeldi-Falcon B, Yoshida M, Hasegawa M, Scheres SHW, Goedert M | 4. 巻 120 |
| 2. 論文標題 Tau Filaments from Amyotrophic Lateral Sclerosis/Parkinsonism-Dementia Complex (ALS/PDC) adopt the CTE Fold | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Proc Natl Acad Sci USA | 6. 最初と最後の頁 e2306767120 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2306767120. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 小柳清光、橋本智代、和田 学、山崎 峰雄、中原 亜紗、柿田 明美 | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 グアム島と西ニューギニアのALSとPDCとは何であり、医学はそれらから何を学んだのか | 5. 発行年 2023年 |
| 3. 雑誌名 Clinical Neuroscience | 6. 最初と最後の頁 325-329 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 無 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Oyanagi K, Shimizu H, Yamada M, Kakita A | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 The neostriatum in polyglutamine diseases: preferential decrease of large neurons in dentatorubral-pallidoluysian atrophy and Machado-Joseph disease, but of small neurons in Huntington disease | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Neuropathology | 6. 最初と最後の頁 274-281 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12811 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Oyanagi K, Hayashi H, Yamada M, Kakita A | 4. 巻 42 |
| 2. 論文標題 The large neuron involvement in the neostriatum in Lewy body diseases | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Neuropathology | 6. 最初と最後の頁 459-463 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12819 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 金子 順, 佐藤 竜一郎, 渡辺 正秀, 小柳 清光, 木下 通亨 | 4. 巻 62 |
| 2. 論文標題 高浸透圧高血糖状態を2回発症しTotally locked-in state (TLS) を呈した筋萎縮性側索硬化症の剖検例 | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 臨床神経学 | 6. 最初と最後の頁 595-601 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Hineno A, Oyanagi K, Yoshida T, Sakai Y, Kannno H, Sekijima Y | 4. 巻 41 |
| 2. 論文標題 Spread of vimentin-immunoreactive cells within the plaque-like lesion in the spinal anterior horn of a patient with post-poliomyelitis syndrome | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Neuropathology | 6. 最初と最後の頁 406-411 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/neup.12768 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|----------------------|
| 1. 著者名 Kinoshita M, Oyanagi K, Kondo Y, Ishizawa K, Ishihara K, Yoshida M, Inoue T, Mitsuyama Y, Yoshida K, Yamada M, Sekijima Y, Ikeda S | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Pathologic basis of the preferential thinning of corpus callosum in adult-onset leukoencephalopathy with axonal spheroids and pigmented glia (ALSP) | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 eNeurologicalSci | 6. 最初と最後の頁 100310 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ensci.2021.100310 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Verheijen BM, Morimoto S, Sasaki R, Oyanagi K, Kokubo Y, Kuzuhara S, van Leeuwen FW | 4. 巻 79 |
| 2. 論文標題 Expression of mutant ubiquitin and proteostasis impairment in Kii amyotrophic lateral sclerosis / parkinsonism-dementia complex brains | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neuropathology and Experimental Neurology | 6. 最初と最後の頁 902-907 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlaa056 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|--|---------------------|
| 1. 著者名 Verheijen BM, Lussier C, Muller-Hubers C, Garruto RM, Oyanagi K, Braun RJ, van Leeuwen FW | 4. 巻 79 |
| 2. 論文標題 Activation of the unfolded protein response and proteostasis disturbance in parkinsonism-dementia of Guam | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neuropathology and Experimental Neurology | 6. 最初と最後の頁 34-45 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlz110. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 該当する |

| | |
|---|-------------------|
| 1. 著者名 Ohara S, Miyahira TA, Oguchi K, Takei YI, Yanagimura F, Kawachi I, Oyanagi K, Kakita A | 4. 巻 19 |
| 2. 論文標題 Neuromyelitis optica spectrum disorder with massive basal ganglia involvement: a case report | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 BMC Neurology | 6. 最初と最後の頁 351 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12883-019-1580-3. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Saito R, Nozaki H, Kato T, Toyoshima Y, Tanaka H, Tsubata Y, Morioka T, Horikawa Y, Oyanagi K, Morita T, Onodera O, Kakita A | 4. 巻 78 |
| 2. 論文標題 Retinal vasculopathy with cerebral leukodystrophy: clinicopathologic features of an autopsied patient with a heterozygous TREX 1 mutation | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Journal of Neuropathology and Experimental Neurology | 6. 最初と最後の頁 181-186 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nly115. | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

| |
|---|
| 1. 発表者名 木下通亨、小柳清光 |
| 2. 発表標題 ALSP/HDLs患者の脳画像から脳病変ステージを診断するための基準 |
| 3. 学会等名 第63回日本神経学会学術大会 |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計1件

| | |
|---------------------|-----------------|
| 1. 著者名 小柳清光、池田修一 | 4. 発行年 2023年 |
| 2. 出版社 中外医学社 | 5. 総ページ数 172 |
| 3. 書名 症例から学ぶ神経病理 | |

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|----------------------------------|----|
| 研究分担者 | 山田 光則 (Yamada Mitsunori) (30240039) | 信州大学・医学部・特任教授 (13601) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|