

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：11501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24591248

研究課題名(和文) 家族性正常圧水頭症の病因遺伝子の探索

研究課題名(英文) A search for causal gene of familial normal pressure hydrocephalus.

## 研究代表者

加藤 丈夫 (KATO, TAKEO)

山形大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90194828

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：国内外から家族性正常圧水頭症の家系(山形家系、長崎家系、台湾家系およびギリシャ家系)のDNAを収集し、さらに本邦の同胞発症例のDNAも収集した。これらの患者(計34名)と健常高齢者128名のDNAを用いてエクソーム解析を行った。その結果、計493,522バリエーションを認め、そのうち、アミノ酸置換、ストップコドン、フレームシフトを惹起し、健常者での出現頻度が0.005未満であり、且つ、山形家系の発症者に存在し、非発症者には存在しないバリエーションは2つ(遺伝子Aおよび遺伝子B)に絞られた。1組の同胞発症例でも遺伝子Aの突然変異が認められたため、山形家系および本同胞例の病因遺伝子は遺伝子Aと考えられた。

研究成果の概要(英文)：We recruited 4 families with normal pressure hydrocephalus (NPH) from various countries, including Japan, Taiwan and Greece. Peripheral blood DNA was obtained from a total of 34 patients with familial NPH and 128 healthy individuals, and was subjected to exome analysis. Among a total of 493,522 variants observed, we chose two candidate mutations in the genes A and B: these two mutations induced amino acid substitution, and were found in all the affected members but did not in the non-affected members of Yamagata family. The gene A mutation was also found in the affected member of another family with fNPH. It is therefore concluded that the mutation of the gene A was the cause of the two families with NPH.

研究分野：神経内科

キーワード：正常圧水頭症 家族性 遺伝子

## 1. 研究開始当初の背景

特発性正常圧水頭症(idiopathic NPH: iNPH)は、くも膜下出血、髄膜炎、頭部外傷などの先行疾患がなく、緩徐進行性の歩行障害・認知障害・排尿障害を三徴とする、高齢者に多い疾患である。脳MR画像上、iNPHに特徴的な所見(脳室の拡大、高位円蓋部の脳溝・くも膜下腔の狭小化、およびシルビウス裂の拡大)が報告(Kitagaki et al, 1998)されており、この所見は日本正常圧水頭症学会編「特発性正常圧水頭症診療ガイドライン」(2011)の診断基準にも採用されている。iNPHにシャント手術(脳室-腹腔シャントなど)が有効なことより、その病態に髄液循環障害が関与していることは間違いないと思われるが、髄液循環障害をきたす分子病態や原因(病因)は不明である。

上述のようにiNPHにシャント手術は一定の効果は認められるものの、iNPH患者のほとんどが高齢者であるため、手術を躊躇する患者や家族も少なくない。また、手術の効果も一定期間後には減弱・消失し、さらに手術の合併症(感染、硬膜下血腫・水腫など)も無視できない。本疾患の病因や分子病態が解明できれば、薬物療法の開発に新たな道が開かれ、この分野の飛躍的な進歩が期待できる。iNPHは孤発性の発症様式をとり、その成因として、遺伝的要因と環境要因が複雑に関与して発症する多因子疾患が想定されている。私達はiNPHの遺伝的要因を明らかにする目的で、ゲノムワイドにコピー数多型(CNV)の解析を行った。その結果、SFMBT1遺伝子のイントロン2領域のsegmental copy number lossがiNPHの遺伝的危険因子である可能性が示唆されたが、解析症例数が少ないため結論には至らなかった[Kato T (First & corresponding author),他8名: Segmental copy number loss of SFMBT1 gene in elderly individuals with ventriculomegaly: A community-based study. Intern Med 50, 297-303, 2011]。

近年の神経医学の大きな進歩の1つとして家族性アルツハイマー病や家族性パーキンソン病の病因遺伝子の発見が挙げられる。これらの発見は遺伝性疾患のみならず、大多数を占める、それぞれの孤発性疾患の病態の解明にも大きく貢献してきた。したがって、家族性NPHの病因遺伝子を同定することは、孤発性のiNPHの病態の解明にも大きく貢献するものと思われる。私達は、iNPHと区別つかない臨床像と脳MR画像所見を呈する患者が3世代に亘り8人発症している1家系を報告した。これまでのNPHの家族内発症の報告では、同胞発症例が2件(兄妹例: Portenoy et al, 1984; 姉妹例: Cusimano et al, 2011)報告されているのみである。これらの報告ではNPHが遺伝的因子によって発症する可能性も考察されているが、(1)孤発性のiNPHが、偶然、同胞間に発症した可能性、あるいは(2)共通の環境因子により発症した可能性、も否定できない。

## 2. 研究の目的

私どもの家系には3世代8人の発症者がおり、家系図から常染色体優性遺伝が強く示唆され、世界で初めて家族性・遺伝性のNPHを報告した(発症者は、40年以上に亘り県内外の別々の地域に居住しており、共通の環境因子の関与は否定的)。本研究の目的は、本家系の病因遺伝子を発見することである。

## 3. 研究の方法

### 1年目:

次世代シーケンサーを用いて、発症者のゲノムの全エクソンの塩基配列を決定する。そして、ヒトゲノムプロジェクトによって明らかにされた塩基配列を参照に、(1)アミノ酸置換を伴う突然変異、および(2)ストップコドンを生じる突然変異を同定する。

### 2年目以降:

これまでの私どもの次世代シーケンサーを用いた解析の経験(これにより、良性成人家族性ミオクローヌスてんかんの病因遺伝子を発見し、報告した: Kato T et al: UBR5 gene mutation is associated with familial adult myoclonic epilepsy in a Japanese family. ISRN Neurology, 2012)から考えると、上記の(1)アミノ酸置換を伴う突然変異、および(2)ストップコドンを生じる突然変異は、発症者のゲノム上に合計で200~400個認められる可能性が想定される。そこで、次のステップにより病因突然変異を絞り込む。

(1) 上記のアミノ酸置換を伴う突然変異およびストップコドンを生じる突然変異を載せたチップを作製し、健常者200人のDNA上に、これらの突然変異が存在するか否かを検討する(GoldenGateアッセイ)。そして、健常者のDNAには存在しない突然変異を抽出する。

(2) 上記により抽出した突然変異のうち、家族性NPHの家系内の発症者にのみ存在し、非発症者には存在しない突然変異をGoldenGateアッセイにより同定する。

## 4. 研究成果

上記の方法により解析を進めたが、病因遺伝子の特定には至らなかった。そこで、解析家系の数を増やすため、国内外から家族性正常圧水頭症の家系(山形家系、長崎家系、台湾家系およびギリシャ家系)のDNAを収集し、さらに本邦の同胞発症例のDNAも収集した。また、発症者および非発症者を含め全例のDNAを用いて、エクソーム解析を行った。すなわち、これらの患者(計34名)と健常高齢者128名のDNAを用いてエクソーム解析を行った結果、計493,522バリエーションを認めた。そのうち、アミノ酸置換、ストップコドン、フレームシフトを惹起し、健常者での出現頻度が0.005未満であり、且つ、山形

家系の発症者に存在し、非発症者には存在しないバリエーションは2つ(遺伝子Aおよび遺伝子B)に絞られた。1組の同胞発症例でも遺伝子Aの突然変異が認められ、さらに遺伝子Aは脳でも発現されているため、遺伝子Aの突然変異が山形家系および本同胞発症例の病因遺伝子と考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計17件)

1. Sato H, Arawaka S, Wada M, Kawanami T, Tanaka F, Sobue G, Emi M, Kato T. Segmental copy number loss of the PCSK6 gene in sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Current Trends in Neurology*. 2014;8:23-29

査読有

2. Iseki C, Takahashi Y, Wada M, Kawanami T, Adachi M, Kato T. Incidence of idiopathic normal pressure hydrocephalus(iNPH):a 10-year follow-up study of a rural community in Japan. *J Neurol Sci*. 2014;339(1-2):108-112.

査読有

3. Iseki C, Kawanami T, Tsunoda T, Chinuki Y, Kato T. Chronic headaches and sleepiness caused by facial soap(containing hydrolyzed wheat proteins)-induced wheat allergy. *Intern Med*. 2014;53(2):151-154. 査読有

4. Watanabe K, Ouchi M, Ohara M, Kameda W, Susa S, Oizumi T, Wada M, Suzuki T, Kawanami T, Oba K, Kato T. Change of carotid intima-thickness is associated with age in elderly Japanese patients without a history of cardiovascular disease. *Geriatr Gerontol Int*. 2014;Oct 14. (Epub ahead of print) 査読有

5. Yoshinaga T, Sekijima Y, Koyama S, Maruyama K, Yoshida T, Kato T, Ikeda S. Clinical and radiological findings of a cerebrotendinous xanthomatosis patient with a novel p.A335V mutation in the CYP27A1 Gene. *Intern Med*. 2014;53(23):2725-2729. 査読有

6. Sato H, Kato T, Arawaka S. Potential of cellular and animal models based on a prion-like propagation of  $\alpha$ -synuclein for assessing antiparkinson agents. *Mol Neurobiol*. 2014; Aug 21. (Epub ahead of print). 査読有

7. Yamaguchi Y, Wada M, Sato H, Nagasawa H, Koyama S, Takahashi Y, Kawanami T, Kato T. Impact of ambulatory blood pressure variability on cerebral small vessel disease progression and cognitive decline in community-based elderly Japanese. *Am J Hypertens*. 2014;27(10):1257-1267.

査読有

8. Arawaka S, Fukushima S, Sato H, Sasaki A, Koga K, Koyama S, Kato T. Zonisamide attenuates  $\alpha$ -synuclein neurotoxicity by an aggregation-independent mechanism in a rat model of familial Parkinson's disease. *PLoS One*. 2014;9(2):e89076.

査読有

9. Hara S, Arawaka S, Sato H, Machiya Y, Cui C, Sasaki A, Koyama S, Kato T. Serine 129 phosphorylation of membrane-associated  $\alpha$ -synuclein modulates dopamine transporter function in a G protein-coupled receptor kinase-dependent manner. *Molecular Biology of the Cell*. 2013;24(11):1649-1660. 査読有

10. Mori E, Ishikawa M, Kato T, Kazui H, Miyake H, Miyajima M, Nakajima M, Hashimoto M, Kuriyama N, Tokuda T, Ishii K, Kaijima M, Hirata Y, Saito M, Arai H. Guidelines for management of idiopathic normal pressure hydrocephalus: second edition. *Neurol Med Chir (Tokyo)*. 2012;52(11): 775-809. 査読有

11. Mizuta K, Kuroda M, Kurimura M, Yahata Y, Sekizuka T, Aoki Y, Ikeda T, Abiko C, Noda M, Kimura H, Mizutani T, Kato T, Kawanami T, Ahiko T. Epidemic myalgia in adults associated with human parechovirus type 3 infection, Yamagata, Japan, 2008. *Emerging Infectious Diseases*. 2012;18(11):1787-1793. 査読有

12. Kato T, Tamiya G, Koyama S, Nakamura T, Makino S, Arawaka S, Kawanami T, Tooyama I. UBR5 gene mutation is associated with familial adult myoclonic epilepsy in a Japanese family. *ISRN Neurology*. 2012;2012:508308. 査読有

13. Takahashi Y, Koyama S, Tanaka H, Arawaka S, Wada M, Kawanami T, Haga H, Watanabe H, Toyota K, Numakura C, Hayasaka K, Kato T. An elderly Japanese patient with adult-onset type II citrullinemia with a novel D493G

mutation in the SLC25A13 gene.  
Intern Med. 2012;51(16):2131-2134. 査読有

14. Tanji H, Nakajima K, Wada M, Kato T: Alterations of the cerebral white matter in a middle-aged patient with Turner syndrome: an MRI study. Case Reports in Neurology. 2012;4(3):144-148. 査読有

15. Iseki C, Takahashi Y, Wada M, Arawaka S, Kawanami T, Kato T. Changes in subarachnoid space precede ventriculomegaly in idiopathic normal pressure hydrocephalus. Intern Med. 2012;51(13):1751-1753. 査読有

16. Koyama S, Kawanami T, Tanji H, Arawaka S, Wada M, Saito N, Kato T. A case of cerebrotendinous xanthomatosis presenting with epilepsy as an initial symptom with a novel V413D mutation in the CYP27A1 gene. Clinical Neurology and Neurosurgery. 2012;114(7):1021-1023. 査読有

17. Koyama S, Kawanami T, Kurokawa K, Tanji H, Iseki C, Arawaka S, Wada M, Kato T. Carpal tunnel syndrome as an initial manifestation in a case of transthyretin-related familial amyloid polyneuropathy with a novel A120T mutation. Clinical Neurology and Neurosurgery. 2012;114(6):707-709. 査読有

〔学会発表〕(計8件)

1. Kato T, Sato H, Takahashi Y. A genetic risk factor for idiopathic normal pressure hydrocephalus. (英語セッション)第56回日本神経学会学術総会、朱鷺メッセ(新潟県・新潟市)、2015年5月。

2. 高橋賛美, 伊関千書, 公平瑠奈, 佐藤秀則, 佐藤裕康, 小山信吾, 荒若繁樹, 和田学, 川並透, 加藤丈夫. 地域在住高齢者における特発性正常圧水頭症の罹患率. 第33回日本認知症学会学術集会、パンフィコ横浜(神奈川県・横浜市) 2014年11月

3. Kato T, Takahashi Y, Ono S, Samejima N, Kuwana N, Miyajima M, Arai H, Kaijima M, Aoki K, Yamada S. Familial normal pressure hydrocephalus: a novel subgroup. Hydrocephalus 2014, Bristol (UK), September 2014

4. 加藤丈夫. 治療可能な認知症・歩行障害: 特発性正常圧水頭症の最近の知見. 第50回日本内科学会信越支部生涯教育講演会. 朱鷺メッセ(新潟県・新潟市) 2014年

6月

5. 高橋賛美, 川並透, 佐藤秀則, 公平瑠奈, 猪狩龍佑, 山口佳剛, 佐藤裕康, 丹治治子, 小山信吾, 荒若繁樹, 和田学, 加藤丈夫. どのような AVIM が、iNPH を発症するか? (AVIM: asymptomatic ventriculomegaly with features of idiopathic NPH on MRI). 第12回山形県脳ドック研究会、大手門パルズ(山形県・山形市)、2014年6月

6. 高橋賛美, 佐藤秀則, 公平瑠奈, 猪狩龍佑, 山口佳剛, 佐藤裕康, 丹治治子, 小山信吾, 荒若繁樹, 和田学, 川並透, 加藤丈夫. 特発性正常圧水頭症の危険因子の探索. 第55回日本神経学会学術大会、福岡国際会議場(福岡県・福岡市) 2014年5月

7. 高橋賛美, 公平瑠奈, 岡田弘明, 猪狩龍佑, 山口佳剛, 佐藤秀則, 佐藤裕康, 丹治治子, 小山信吾, 和田学, 川並透, 加藤丈夫. 脳室拡大は家族性か? 第15回日本正常圧水頭症学会、大阪大学コンベンションセンター(大阪府・吹田市) 2014年2月

8. 加藤丈夫, 高橋賛美, 佐藤秀則, 森本芳郎, 小野慎治, 宮崎雅一, 新井一, 鮫島直之, 桑名信匡, 貝嶋光信, 山田晋也, 青木和哉, Ming-Jen Lee, Evangelia Liouta. 国内外における正常圧水頭症の家族内発症例. 第15回日本正常圧水頭症学会、大阪大学コンベンションセンター(大阪府・吹田市) 2014年2月

〔図書〕(計1件)

高橋賛美, 加藤丈夫. 特発性正常圧水頭症の疫学. 石川正恒, 森悦朗 編. 特発性正常圧水頭症の診療. 金芳堂, 京都, 2014: 133-138.

6. 研究組織

(1)研究代表者

加藤 丈夫 (KATO, Takeo)

山形大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 90194828