

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25461274

研究課題名(和文) 家族内発症頻発地域における筋萎縮性側索硬化症の網羅的遺伝子解析と臨床病理学的検討

研究課題名(英文) Gene analysis and clinicopathological features of amyotrophic lateral sclerosis in the area where there are many patients

研究代表者

日根野 晃代 (HINENO, Akiyo)

信州大学・医学部附属病院・講師(特定雇用)

研究者番号：20596366

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)：筋萎縮性側索硬化症(ALS)の発症が多い地域のALS患者において遺伝学的、臨床病理学的に検討した。SOD1遺伝子L106V, C111Y, H46R変異に加え、新規挿入変異を見出した。SOD1遺伝子L106V変異では、発症1年程度に呼吸障害とほぼ同時期にみられる排尿障害が特徴で、これらに関連する部位で封入体を形成せずに神経細胞脱落が起きていた。また血清、髄液を用いたheat shock proteinなどの生化学的解析を行った。近年の高齢化に伴い、当地域内のALSの患者数はさらに増加傾向であり、さらなる症例の蓄積、情報共有のためネットワークシステムを構築している。

研究成果の概要(英文)：In this area, some families have amyotrophic lateral sclerosis with gene mutation such as SOD1 L106V, C111Y, and H46R. We also identified a novel duplication in exon 1 of SOD1 gene. Lower urinary tract dysfunction, especially storage symptoms, developed about one year after the onset of weakness, and the dysfunction occurred simultaneously with artificial respirator use in the patients with SOD1 L106 mutation. The serum levels of HSP70 and HSP90 were significantly higher in ALS patients than in controls. We confirmed that the incidence of ALS, especially older onset patient in this area has been recently increasing.

研究分野：神経内科

キーワード：筋萎縮性側索硬化症 神経病理 遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

筋萎縮性側索硬化症(以下 ALS)は約 10% が遺伝性であり、家族性筋萎縮性側索硬化症(以下 FALS)と呼ばれる。ALS の頻度は人口 10 万人あたり全国平均 6.50 人であるのに対し、長野県は 7.88 人と平均を上回っており、県内に FALS 家系が複数存在することが以前から知られていたが、原因遺伝子は同定されていなかった。我々は、これらの家系に SOD1 遺伝子 L106V 変異を見出した。この家系は感覚障害や神経因性膀胱を合併しており、ALS の病態を把握する上で非常に重要であり、当地域は臨床から病理まで豊富な ALS 症例を集積することが可能である。

### 2. 研究の目的

筋萎縮性側索硬化症の原因遺伝子、発症・進行に関連する遺伝学的素因を検索し、臨床病理学的特長を明確にし、病態解明を目指す。地域内の ALS 患者において、網羅的に遺伝子を検索し、原因遺伝子に基づいた ALS の臨床病理像、分子病態に関する検討を行う。

### 3. 研究の方法

(1) 家族性筋萎縮性側索硬化症家系が複数確認されている地域である長野県において、現在確認されている SOD1 遺伝子 L106V 家系を中心に臨床病理学的所見を詳細に検討する。特に、神経因性膀胱の病態を解明するため、神経因性膀胱の発症時期、人工呼吸器使用の有無と装着時期の検討、臨床症状の特徴、病理学的には前頭葉、線条体、視床、視床下部、黒質、中脳水道灰白質、青斑核、橋、小脳、歯状核、前索、側索、脊髄上行路、中間外側核、Onuf 核について神経細胞脱落と変性の程度を検討した。

(2) 県内の ALS 患者の血清 DNA を解析し、原因遺伝子変異の有無、頻度について解析する。また血清から診断バイオマーカーを検索する。Heat shock protein について ALS とコントロール例で測定比較する。また新規原因遺伝子、遺伝学的素因を検討した。

(3) これらの情報、検体の収集が継続的に可能となる環境を維持するため、ALS 診療ネットワークの構築として当科を中心として在宅 ALS 患者のネットワーク通信環境を整備し、関連病院を含めて拡大する。また病理検体の情報共有化のため、信州ブレインリソースネットを構築し、適宜更新する。これにより、多くの ALS 患者の臨床経過を網羅し、検体の収集、管理を行った。

### 4. 研究成果

(1) SOD1 遺伝子 L106V 変異患者では、発症 1 年前後と早期から神経因性膀胱が発現し、蓄尿症状が多く、人工呼吸器使用とほぼ同時期に発現する症例がみられた。病理学的には、排尿障害を来す例において、前頭葉、線条体、視床、視床下部、黒質、中脳水道灰白質、脊髄上行路、側索下行路、中間外側核、Onuf 核

が障害されていたが、運動神経以外に SOD1 封入体は認めなかった(臨床神経, 2016)。

(2) 過去に報告した SOD1 遺伝子 L106V 変異家系, C111Y 変異家系, 挿入変異 dup18(GGCCAGTGCAGGGCATC)家系その他, H46R 変異家系を見出した。また ALS 患者の血清中の heat shock protein (HRP)-27,70,90 を測定し, HSP-70 と 90 で増加していることを報告した(Neurol Sci, 2016)。

(3) 県内の筋萎縮性側索硬化症患者の情報収集を行った。県内の協力病院より神経疾患の剖検例の情報をまとめ、標本を研究に利用できるようにシステム(信州ブレインリソースネット)に、63 例の孤発性 ALS, 8 例の家族性 ALS を有しており(Neuropathology, 2016), ALS 研究に利用した(Neuropathol Appl Neurobiol, 2016)。また当院で過去 30 年診断した ALS 患者の発症者、病型の推移を検討した。近年の高齢化の影響もあり、高齢発症の ALS 患者が増加していることが確認された(Shinshu Med J, 2016)。県内の ALS 患者の情報共有、患者家族の生活状況の改善を目指し、電子連携ケアシステム、人工呼吸器アラーム伝送の構築、視線入力装置の改良を含めたコミュニケーション支援にも携わり、成果を報告した。

### 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 16 件)

日根野晃代, 小柳清光, 中村昭則, 下島吉雄, 吉田邦広, 池田修一, SOD1 遺伝子 L106V 変異家族性筋萎縮性側索硬化症における下部尿路機能障害の発現時期と排尿神経機構の病理所見, 臨床神経, 56 巻, 69-76, 2016, 査読有, doi: 10.5692/clinicalneuroi.cn-000767

Onozato T, Hineno A, Oyanagi K(他 16 名, 4, 19 番目), Axonal TDP-43 aggregates in sporadic amyotrophic lateral sclerosis, Neuropathol Appl Neurobiol, 42 巻, 561-572, 2016, 査読有, doi:10.1111/nan.12310

Miyazaki D, Nakamura A, Hineno A, Kobayashi C, Kinoshita T, Yoshida K, Ikeda S, Elevation of serum heat-shock protein levels in amyotrophic lateral sclerosis, Neurol Sci, 37 巻, 1277-1281, 2016, 査読有, doi: 10.1007/s10072-016-2582-1

Oyanagi K, Yamada M, Hineno A, Yoshida K, Ikeda S(他 13 名, 1, 3, 17,18 番目), Shinshu Brain Resource Net, Neuropathology, 36 巻, 600-601, 2016, 査読有, doi: 10.1111/neup.12304

Kobayashi C, Miyazaki D, Kinoshita T, Hineno A, Nakamura A, Increasing incidence and age at onset of amyotrophic lateral sclerosis in Nagano Prefecture, Japan, Shinshu Med J, 64 巻, 239-246, 2016, 査読

有

中村昭則, 滝沢正臣, 宮崎大吾, 日根野晃代, 吉川健太郎, 人工呼吸器のアラーム伝送の試み(第3報), 日本遠隔医療学会雑誌, 12巻, 90-3, 2016, 査読有

滝沢正臣, 中村昭則, 吉川健太郎, 日根野晃代, 在宅利用人工呼吸器開発のための国内調査, 日本遠隔医療学会雑誌, 12巻, 94-97, 2016, 査読有

滝沢正臣, 中村昭則, 日根野晃代, 渡辺美緒, 在宅難病患者総合情報共有のための電子チームケアシステムの利用評価, 日本遠隔医療学会雑誌, 12巻, 153-156, 2016, 査読有

滝沢正臣, 中村昭則, 日根野晃代, 在宅難病患者と医師との高度テレコミュニケーションシステム(2) (JTTA 2015 SENDAI 第19回日本遠隔医療学会学術大会), 日本遠隔医療学会雑誌, 11巻, 139-141, 2015, 査読有

中村昭則, 滝沢正臣, 宮崎大吾, 在宅人工呼吸器の遠隔監視, アラーム通報の試み, 日本遠隔医療学会雑誌, 11巻, 142-145, 2015, 査読有

日根野晃代, 小柳清光, 池田修一, Post-polio 症候群, *Clinical Neuroscience*, 32巻, 130-131, 2014, 査読無

Nakamura A, Kuru S, Hineno A, Kobayashi C, Kinoshita T, Miyazaki D, Ikeda S, Slowly progressing lower motor neuron disease caused by a novel duplication mutation in exon 1 of the SOD1 gene, *Neurobiol Aging*, 35巻, 2420.e7-2420.e12, 2014, 査読有, doi:10.1016/j.neurobiolaging.2014.04.012

滝沢正臣, 中村昭則, 宮崎大吾, 日根野晃代, 在宅難病患者の医師と高度テレコミュニケーションシステム, 日本遠隔医療学会雑誌, 10巻, 198-200, 2014, 査読有

日根野晃代, 中村昭則, 宮崎大吾, 滝沢正臣, 神経難病患者におけるモバイル端末を用いた在宅チームケアシステムの有用性, 日本遠隔医療学会雑誌, 9巻, 145-147, 2013, 査読有, 査読有

Takei Y, Oguchi K, Koshihara H, Hineno A, Nakamura A, Ohara S. -Synuclein coaggregation in familial amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 gene mutation. *Hum Pathol* 44:1171-6, 2013, 査読有, doi:10.1016/j.humpath.2012.10.024

宮崎大吾, 滝沢正臣, 日根野晃代, 中村昭則, タブレット端末を用いた診療情報共有の有用性, 日本遠隔医療学会雑誌, 9巻, 148-151, 2013, 査読有

[学会発表](計17件)

日根野晃代, 神経難病患者の在宅診療における電子連携システムの導入, 第4回日本難病医療ネットワーク学会学術集会, 2016.11.18, 名古屋

中村昭則, 人工呼吸器の遠隔アラート通報システムの開発, 第4回日本難病医療ネットワーク学会学術集会, 2016.11.18, 名古屋

滝沢正臣, 日根野晃代, 中村昭則, 視線追跡システムによる在宅患者-医療者間リアルタイムテレコミュニケーション, 第4回日本難病医療ネットワーク学会学術集会, 2016.11.18, 名古屋

中村昭則, 日根野晃代, 人工呼吸器のアラーム伝送の試み(第3報), 第20回日本遠隔医療学会学術大会, 2016.10.15, 米子

滝沢正臣, 中村昭則, 日根野晃代, 在宅利用人工呼吸器開発のための国内調査, 第20回日本遠隔医療学会学術大会, 2016.10.15, 米子

滝沢正臣, 中村昭則, 日根野晃代, 渡辺美緒, 在宅難病患者総合情報共有のための電子チームケアシステムの利用評価, 第20回日本遠隔医療学会学術大会, 2016.10.15, 米子

日根野晃代, 神経難病患者に対する視線入力装置を用いたコミュニケーション支援, 第57回日本神経学会学術大会, 2016.5.20, 神戸

中村昭則, 在宅人工呼吸器の遠隔監視, アラーム通報の試み, 第19回日本遠隔医療学会学術大会, 2015.10.9, 仙台

滝沢正臣, 中村昭則, 日根野晃代, 在宅難病患者と医師との高度テレコミュニケーションシステム(2), 第19回日本遠隔医療学会学術大会, 2015.10.9, 仙台

日根野晃代, 地域基幹病院における電子連携システムを用いた神経難病患者の在宅診療, 第56回日本神経学会学術大会, 2015.5.20, 新潟

滝沢正臣, 中村昭則, 宮崎大吾, 日根野晃代, 在宅難病患者の医師と高度テレコミュニケーションシステム, 第18回日本遠隔医療学会学術大会, 2014.10.25, 長崎

日根野晃代, ポリオ後症候群におけるポリオ病巣の神経病理学的検討, 第55回日本神経病学会総会学術研究会, 2014.6.6, 東京

日根野晃代, 筋萎縮性側索硬化症における交感神経皮膚反応の評価, 第55回日本神経学会学術大会, 2014.5.24, 福岡

日根野晃代, 神経難病患者におけるモバイル端末を用いた在宅チームケアシステムの有用性, 第17回遠隔診療学会学術大会, 2013.10.19, 高松

宮崎大吾, 滝沢正臣, 日根野晃代, 中村昭則, タブレット端末を用いた診療情報共有の有用性, 第17回遠隔診療学会学術大会, 2013.10.19, 高松

日根野晃代, 神経難病患者診療におけるモバイル電子端末を用いた在宅チームケアシステムの有用性, 第54回日本神経学会学術大会, 2013.5.29, 東京

日根野晃代, 腰髄に巣状の脊髄神経細胞脱落と皮質脊髄路変性を認めたポリオ後症候群の1剖検例, 第54回日本神経病理学会

総会学術研究会，2013.4.25，東京

6．研究組織

(1)研究代表者

日根野 晃代 (HINENO, Akiyo)  
信州大学・医学部附属病院・講師 (特定雇用)  
研究者番号：20596366

(2)研究分担者

小柳 清光 (OYANAGI, Kiyomitsu)  
信州大学・医学部・特任教授  
研究者番号：00134958

中村 昭則 (NAKAMURA, Akinori)  
信州大学・医学部・特任教授  
研究者番号：10303471

池田 修一 (IKEDA, Shu-ichi)  
信州大学・医学部附属病院・特任教授  
研究者番号：6013534

(3)連携研究者

吉田 邦広 (YOSHIDA, Kunihiro)  
信州大学・医学部附属病院・特任教授  
研究者番号：90242693