

- Schuffman S.S.: Light and electron microscopic studies of pigment in human and rhesus monkey substantia nigra and locus coeruleus. *Anat. Res.*, 155: 167~184, 1966.
- 12) 内藤明彦, 井沢 清, 黒崎孝則, 梶 鎮夫, 沢 政一: 優性遺伝型進行性ミオクロヌステんかんの2家系. *精神経誌*, 74: 871~897, 1972.
- 13) Naito H. and Oyanagi S.: Familial myoclonus epilepsy and choreoathetosis: Hereditary dentatorubral - pallidolusian atrophy. *Neurology*, 32: 798~807, 1982.
- 14) 小柳新策, 田中政春, 内藤明彦, 白川健一, 斉藤清子, 中村仁志夫, 大浜栄作: 変性型ミオクロヌステんかんの8剖検例——とくに淡蒼球—視床下核系の変性の合併について——. *神経進歩*, 20: 410~424, 1976.
- 15) 小柳新策, 内藤明彦: 優性遺伝型ミオクロヌステんかんの親子例を含む4剖検例とその臨床病理学的考察. *精神経誌*, 79: 113~129, 1977.
- 16) Shuangshoti S., Paisuntornsook P. and Netsky M.G.: Melanosis of the choroid plexus. *Neurology*, 26: 656~658, 1976.
- 17) 高橋 均, 渡部和彦, 武田茂樹, 大浜栄作, 生田房弘, 本間義章: Holmes 型小脳萎縮症の2剖検例. *神経進歩*, 30: 549~561, 1986.
- 18) 武田茂樹, 高橋 均, 大浜栄作, 生田房弘, 内藤明彦, 有田忠司: 褐色顆粒の出現と小脳皮質変性を伴うミオクロヌステんかんの1剖検例. *神経進歩*, 31: 142~152, 1987.
- 19) Zeman W.: The neuronal ceroidlipofuscinoses. In: *Progress in Neuropathology* vol. III. ed. by Zimmerman HM, pp. 203~223, Grune and Stratton (NY), 1976.

司会 どうも有難うございました。かなり特異な症例ですが、御質問はございませんでしょうか。

臨床像は今までのミオクロヌステんかん、内藤先生の言われているのと、極めて似ていると理解してよろしいのでしょうか。ほとんど区別できないと理解してよろしいのでしょうか。

内藤 初発症状が小脳失調だったわけですけど、臨床像全体としては、典型的なミオクロヌステんかん症候群とみて間違いないと思います。

司会 どうも有難うございました。次に最後になりますが、やはり臨床的には極めて似てる症候で、変性症と鑑別が重要であるシアリドーシスについて、西沢先生お願いいたします。

## 7) シアリドーシスの臨床と生化学

### Clinical and biochemical aspects of sialidosis

新潟大学脳研究所神経内科 (主任: 宮武 正教授) 西澤 正豊

Masatoyo NISHIZAWA

*Department of Neurology, Brain Research Institute, Niigata University (Director: prof. Tadashi MIYATAKE)*

A deficiency of lysosomal sialidase has recently been identified among a group of disorders which had been classified clinically as Ramsay Hunt syndrome, or myoclonic

Reprint requests to: Masatoyo Nishizawa, Department of Neurology, Brain Research Institute, Niigata University, Niigata City, 951 JAPAN

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町  
新潟大学脳研究所神経内科 西澤正豊

epilepsy. Biochemically, they were separated into two groups: isolated sialidase deficiency and galactosialidosis (sialidosis with partial  $\beta$ -galactosidase deficiency).

Galactosialidosis is a hereditary disorder of juvenile onset, inherited as an autosomal recessive trait. Most of the cases are Japanese. Characteristic clinical features consist of mild dementia, cherry-red spot, myoclonus, cerebellar ataxia, convulsive seizures, angiokeratoma, and vertebral dysplasia. There has been found combined deficiency of lysosomal  $\beta$ -galactosidase and sialidase. Urinary excretion of sialyloligosaccharides is markedly increased.

The molecular defect of the disease has been extensively studied by Galjaard et al. According to them, a glycoprotein of Mr. 32 kDa, which is necessary for  $\beta$ -galactosidase monomer to be stabilized by making stable polymer, is defective in galactosialidosis, resulting in rapid degradation of  $\beta$ -galactosidase monomer by lysosomal proteases. On the other hand, Miyatake et al. have examined the subcellular distribution of sialidases and found that sialidase, localized in lysosome fraction and specific for sialyloligosaccharides, is deficient in lymphocytes obtained from galactosialidosis patients. The precise molecular mechanism of sialidase deficiency in this disease remains to be clarified.

Key words: sialidosis, galactosialidosis, sialidase,  $\beta$ -galactosidase

シアリドーシス, ガラクトシアリドーシス, シアリダーゼ,  $\beta$ -ガラクトシダーゼ

遺伝性小脳変性症の大多数はいまだ分子レベルでの異常が不明のままである。しかし、近年、臨床的に Ramsay Hunt 症候群、あるいは myoclonus epilepsy と分類されていた疾患群の中に、sialidase の先天性欠損によるものが見い出されてきた。これらは生化学的には sialidase 単独の欠損症と<sup>1)2)</sup>、sialidase の欠損に  $\beta$ -galactosidase の低下を伴うもの<sup>3)4)</sup>とに分けられる。後者は最近では galactosialidosis と呼ばれることが多いが<sup>5)</sup>、従来の患者のほとんどが日本人であり、脊髄小脳変性症の鑑別上重要な疾患となっている。ここでは galactosialidosis の臨床、病理、生化学的異常、類縁疾患について概説する。

### 1) 臨床

報告例は20例をこえている<sup>5)6)</sup>。孤発例もあるが、常染色体劣性遺伝形式をとると考えられる。10代から20代の前半に視力障害、歩行障害、振戦などを初発症状として発症することが多いが、幼児期より発症する例もある。

一般身体所見では顔貌は明らかな gargoye ではないが、やや粗である。角膜、水晶体の混濁がみられる。肝脾腫は認められない。主として外陰部に angiokeratoma がみられ、これは Fabry 病、fucosidosis でみられるものと同一である。脊椎、特に腰椎に anterior beaking、扁平椎などの変形が認められる。

神経学的には知能は軽度低下している例が多いが、高

度のものではない。眼底に cherry-red spot を伴う視力障害がみられる。神経症状の中核は著明な action myoclonus と小脳失調であり、緩徐進行性に増悪する。一部の症例では更に全身性けいれん発作、錐体路症状、筋萎縮、深部感覚障害などが認められる。

定型例はこれらの特徴的な臨床症状の組合せから容易に診断されうるが、病期によって必ずしもすべての症状はそろわず、また、症例により進行の程度にもかなりの幅がある。

検査所見では末梢血リンパ球の約半数に空胞がみられる。白血球や fibroblast における lysosomal enzyme 活性を検索すると、4-methyl-umbelliferyl-N-acetylneuraminic acid, sialyllactose などシアリルオリゴ糖を基質とする sialidase の活性は明らかに低下している<sup>3)7)</sup>。ganglioside を基質とする sialidase の活性は正常である<sup>3)</sup>。他の glycosidase の中では、 $\beta$ -galactosidase 活性が細胞内では低下しているが、血清における  $\beta$ -galactosidase は正常である<sup>4)</sup>。尿中には非還元末端にシアル酸を有するオリゴ糖の排泄が増加しており、5糖以上の分画で著明である。

heterozygote においては sialidase 活性は正常者と患者との中間値を示し、gene dose effect が存在するが、 $\beta$ -galactosidase 活性は正常である<sup>9)</sup>。 $\beta$ -galactosidase の primary defect には G<sub>M1</sub>-gan-

gliosidosis と Krabbe 病があり、これらには成人発症例も報告されているが、臨床症状の相異は明らかであり、galactosialidosis における primary の代謝異常は sialidase の欠損とみなされる。

2) 病理

最近まで sialidase は測定が容易でなく、また凍結融解の操作で失活してしまうため、凍結サンプルでは測定できなかった。このため sialidase と  $\beta$ -galactosidase の低下が証明されている剖検例は 1 例しかないが<sup>10)</sup>、特徴的な臨床症状から本症と思われる剖検例は数例ある<sup>11) 12)</sup>。これらの記載によると、大脳皮質の neuron は減少し、残存するものは膨化している。脊髄前角、脳幹運動神経核、小脳歯状核、外側膝状体などでも neuronal swelling を認め、電顕で観察された例ではこれらは多数の membranous、ないし lamellar の inclusion body と、low electron density の vacuole の蓄積による<sup>10)</sup>。

直腸生検で myenteric plexus の neuron が検索された例では電顕上典型的な membranous cytoplasmic body (MCB) が多数認められている<sup>4)</sup>。また fibroblast や schwann 細胞内には微細な顆粒を含んだ lysosome と思われる inclusion が多数みられる<sup>4)</sup>。

3) 生化学的異常

galactosialidosis において  $\beta$ -galactosidase が低下する機序についてはオランダの Galjaard らにより精力的に研究され、以下のような仮説が提唱されている<sup>13) 14)</sup>。すなわち、 $\beta$ -galactosidase は正常では分子量約 700K の安定な重合体として lysosome に存在しており、この重合体の形成には分子量 32K の糖蛋白質 ("protective protein", 以下 32K 蛋白) が必要である。galactosialidosis においてはこの 32K 蛋白が遺伝的に欠損しており、このため、一旦は正常に合成される  $\beta$ -

galactosidase の monomer は安定な polymer となりえず、蛋白分解酵素により次々と分解されてしまうため、活性が低下するという。leupeptin などの thiol protease の inhibitor を培地に添加すると、患者 fibroblast の  $\beta$ -galactosidase 活性は回復するが、sialidase 活性は回復しない。正常 fibroblast を NH<sub>4</sub>Cl を添加した培地で培養すると、培地中に 32K 蛋白の前駆体 (54K) が放出される。これを濃縮して患者 fibroblast に添加すれば sialidase と  $\beta$ -galactosidase の両者の活性が回復するという<sup>15)</sup>。彼らの仮説では  $\beta$ -galactosidase が低下する機序についてはよく説明されるが、sialidase が欠損する機序は不明であった。また、32K 蛋白そのものもいまだ単離されておらず、その性質も明らかにされていない。

一方、sialidase は膜結合性酵素と考えられ、単離精製が著しく困難であったため、酵素学的解析が進んでいなかった。近年、人工基質を用いた容易な測定法が開発され、ようやくその性質が明らかにされてきている。宮武らは galactosialidosis 患者の白血球、fibroblast にて、sonication により容易に失活する sialidase 分画が欠損していることを見出した<sup>16)</sup>。更に、リンパ球を用いて subcellular fractionation を行った結果、lysosome と plasma membrane の分画に sialidase 活性を認め、galactosialidosis においては lysosome に局在する、主としてシアリルオリゴ糖を基質とする sialidase が欠損していることを明らかにした (表 1)<sup>17)</sup>。

昨年 Galjaard らは少くとも in vitro では、sialidase は  $\beta$ -galactosidase、32K 蛋白とともに大きな重合体を形成していると報告した<sup>18)</sup>。G<sub>M1</sub>-gangliosidosis においても sialidase 活性は正常に発現されるので、sialidase、 $\beta$ -galactosidase、32K 蛋白の相互関係の解析から、sialidase 欠損の機序を明らかにすることが今後の課題である。

表 1 リンパ球の subcellular fractionation による sialidase 活性

Fraction		$\beta$ -galactosidase activities	Sialidase activities		
			sialyllactitol	4-MU-NANA	G <sub>M3</sub>
Plasma membrane	Galactosialidosis	0 ± 0 (3)	3.7 ± 0.2 (3)	10 ± 3.0 (3)	2.8 ± 0.03 (3)
	Control	38 ± 17 (5)	5.3 ± 0.2 (5)	11 ± 3.0 (5)	2.4 ± 0.2 (5)
Lysosome	Galactosialidosis	10 ± 1.0 (3)	0.2 ± 0.05 (3)	0.3 ± 0.05 (3)	0.1 ± 0.003 (3)
	Control	117 ± 14 (5)	7.4 ± 0.2 (5)	18 ± 0.5 (5)	0.4 ± 0.1 (5)

(活性は nmole/h/mg protein, 平均 ± 標準偏差で表示。カッコ内の数字は測定数。)

表 2 sialidosis の生化学的分類

Sialidosis (広義)	
A)	sialidase 単独欠損症 (狭義の sialidosis)
1)	sialyloligosaccharide sialidase 欠損症
a)	infantile onset : mucopolipidosis I
b)	juvenile onset : cherry-red spot-myoclonus 症候群
2)	ganglioside sialidase 欠損症 ?
B)	galactosialidosis (sialidosis with partial $\beta$ -galactosidase deficiency)

## 4) Sialidosis

ヒトの sialidase 欠損症にはいくつかの臨床病型が知られるようになってきており, Lowden らは骨格変形を伴わない type I (normosomatic group) と, 骨格異常をきたす type II (dysmorphic group) に分類した<sup>19)</sup>. type I は cherry-red spot-myoclonus 症候群 (CRSMS)<sup>20)</sup>であり, type II は更に mucopolipidosis I (ML I)<sup>21)</sup>と, galactosialidosis に分けられた. 生化学的には CRSMS と ML I は sialidase 単独の欠損症であり, galactosialidosis は既に述べたように  $\beta$ -galactosidase の低下を伴っている. sialidosis という名称は sialidase の一次欠損症に限って用いられるべきものであるが, 実際にはこれらを含めて広義にも用いられる (表 2). これらの疾患における臨床症状の中核は cherry-red spot, action myoclonus, 小脳失調であり, 基本的にはよく類似している<sup>6)</sup>. これらの病型の差異を生化学的に説明するためには, 今後更に sialidase isozyme の分析, 臓器特異性の検討などが必要である.

## 5) おわりに

従来は臨床上, 神経変性疾患に分類されていた一群の疾患が sialidase 欠損によるものであることが明らかにされた. 遺伝性小脳変性症の多くはいまだに生化学的異常については全く不明のままであるが, 今後の研究の進展を期待したい.

## 参 考 文 献

- 1) Cantz, M., Gehler, J. and Spranger, J.: Mucopolipidosis I: Increased sialic acid content and deficiency of an  $\alpha$ -N-acetylneuraminidase in cultured fibroblast, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **74**: 732~738, 1977.
- 2) O'Brien, J.S.: Neuraminidase deficiency in the cherry red spot-myoclonus syndrome, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **79**: 1136~1141, 1977.
- 3) Wenger, D.A., Tarby, T.J. and Wharton, C.: Macular cherry-red spots and myoclonus with dementia: coexistent neuraminidase and  $\beta$ -galactosidase deficiencies, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **82**: 589~595, 1978.
- 4) Miyatake, T., Atsumi, T., Obayashi, T., Mizuno, Y., Ando, S., Ariga, T., Nakamura, K. and Yamada, T.: Adult type neuronal storage disease with neuraminidase deficiency, *Ann. Neurol.*, **6**: 232~244, 1979.
- 5) Suzuki, Y., Sakuraba, H., Yamanaka, T., Ko, Y-M. and Okamura, Y.: Galactosialidosis ( $\beta$ -galactosidase-neuraminidase deficiency): A new hereditary metabolic disease with abnormal degradation of enzyme molecules, *Acta Pediatr. Jpn.*, **25**: 618~624, 1983.
- 6) 宮武 正: 成人型シアリダーゼ欠損症, *新潟医誌*, **96**: 164~170, 1982.
- 7) Miyatake, T., Yamada, T., Suzuki, M., Pallman, B., Sandhoff, K., Ariga, T. and Atsumi, T.: Sialidase deficiency in adult-type neuronal storage disease, *FEBS Lett.*, **97**: 257~259, 1979.
- 8) Kuriyama, M., Ariga, T., Ando, S., Suzuki, M., Yamada, T. and Miyatake, T.: Four positional isomers of sialyloligosaccharides isolated from the urine of a patient with sialidosis, *J. Biol. Chem.*, **256**: 12316~12321, 1981.
- 9) Tsuji, S., Yamada, T., Ariga, T., Toyoshima, I., Yamaguchi, H., Kitahara, Y., Miyatake, T. and Yamakawa, T.: Carrier detection of sialidosis with partial  $\beta$ -galactosidase deficiency by the assay of lysosomal sialidase in lymphocytes, *Ann. Neurol.*, **15**: 181~183, 1984.
- 10) Sakuraba, H., Suzuki, Y., Akagi, M., Sakai, M. and Amano, N.:  $\beta$ -galactosidase-neuraminidase deficiency (galactosialidosis): Clinical, pathological, and enzymatic studies

- in a postmortem case, *Ann. Neurol.*, **13**: 497~503, 1983.
- 11) 徳田良仁, 原田憲一, 山上松義, 白木博次: 家族性黒内障性白痴遅発型の1剖検例——同型疾患の同胞2剖検例との比較臨床・病理学的考察, *精神誌* **69**: 401~428, 1967.
  - 12) Endo, H., Al-Samarrai, S.F., Sakakibara, K., Nagashima, K. and Shimada, Y.: An autopsy case of a new type of mucopolipidosis associated with hereditary thrombocytopathy and color blindness, *Acta Pathol. Jpn.*, **27**: 421~434, 1977.
  - 13) D' Azzo, A., Hoogeveen, A., Reuser, A.J.J., Robinson, D. and Galjaard, H.: Molecular defect in combined  $\beta$ -galactosidase and neuraminidase deficiency in man, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**: 4535~4539, 1982.
  - 14) Hoogeveen, A.T., Verheijen, F.W. and Galjaard, H.: The relation between human lysosomal  $\beta$ -galactosidase and its protective protein, *J. Biol. Chem.*, **258**: 12143~12146, 1983.
  - 15) Hoogeveen, A., d' Azzo, A., Brossmer, R. and Galjaard, H.: Correction of combined  $\beta$ -galactosidase/neuraminidase deficiency in human fibroblasts, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **103**: 292~300, 1981.
  - 16) Tsuji, S., Yamada, T., Tsutsumi, A. and Miyatake, T.: Neuraminidase deficiency and accumulation of sialic acid in lymphocytes in adult type sialidosis with partial  $\beta$ -galactosidase deficiency, *Ann. Neurol.*, **11**: 541~543, 1982.
  - 17) Yamada, T., Tsuji, S., Ariga, T., and Miyatake, T.: Lysosomal sialidase deficiency in sialidosis with partial  $\beta$ -galactosidase deficiency, *Biochim. Biophys. Acta*, **755**: 106~111, 1983.
  - 18) Verheijen, F.W., Palmeri, S., Hoogeveen, A.T. and Galjaard, H.: Human placental neuraminidase. Activation, stabilization and association with  $\beta$ -galactosidase and its "protective" protein, *Eur. J. Biochem.*, **149**: 315~321, 1985.
  - 19) Lowden, J.A. and O'Brien, J.S.: Sialidosis: A review of human neuraminidase deficiency, *Am. J. Hum. Genet.*, **31**: 1~18, 1979.
  - 20) Rapin, I., Goldfisher, S., Katzman, R., Engel, J. and O'Brien, J.S.: The cherry-red spot-myoclonus syndrome, *Ann. Neurol.*, **3**: 234~242, 1978.
  - 21) Durand, P., Gatti, R., Cavalieri, S., Borrone, C., Tondeur, M., Michalski, J.-C. and Strecker, G.: Sialidosis (mucopolipidosis I), *Helv. paediat. Acta*, **32**: 391~400, 1977.
- 司会 どうも有難うございました。何か質問はございませんでしょうか。
- どうも有難うございました。では全部まとめまして、どなたか、これはという討論ございませんでしょうか。生田先生、何かコメントございませんでしょうか。
- 生田 Joseph 病の報告をされた先生方をお願い致します。これら症例相互の家族歴に、関連性が見られるか否かの点について。また第二に、これらの家族歴と、困難なことかもしれませんが、ヨーロッパの Joseph 病例の家族歴との間に関係がみられそうか否か、の2点に一言ふれていただければ幸いです。
- 湯浅 ポルトガル等の関連につきましては、九州の大分にある家系では、ポルトガルとの交流が一部疑われているようですが、実は不明です。それから、新潟にある優性遺伝を呈します今のような小脳失調症の家系につきましては、もっと奥深いものがあるのではないかと考えています。一応今のところ若林先生の2家系。それから神経内科で、昨年剖検された例も含めまして2家系。それらは独立した家系であります。それから、最近当科に研修に来ております前期研修医の伊藤君が、非常に精力的に調べております。これはかつて新潟の最もポピュラーな、新潟で優性遺伝型の失調症といえは K 家系、といわれている大変な大家系があるのですが、そういう家系の一部を見ておりますと、ジストニーがあるヒトが居たりするのです。しかしこの家系では病理学的な裏づけがないものですから、最終的なことは言えません。このような疾患をポルトガルの Joseph 病というべきか、あるいは新潟の特異な変性病というのか、まだそういう意味では、これからもつめられなくてはいけないということだと思います。多くの家系があるように思えます。東京の方で発表されている家系の中にも、新潟の家系とのつながりがあったという情報も得ておりますので、

当地である新潟でしっかり調べて行くべきだと思っております。

司会 よろしいでしょうか。ミオクローヌスてんかんの内藤・小柳病に関しても、Joseph 病に関しても、新潟にかなり関連の症例が多い。こういう症例を今、臨床的でないし病理学的に確認されて、疾患単位として確立されつつある、という気がします。両者は違った疾患であり、どこが違うかということも認識をされたと考えます。こういう病気、これからどうやってつめて行くかということが、今後の課題かと思えます。やはり、ハンチントン病で明らかにされたような、なんらかの生化学的な手

がかりをつかまえていくというのが、一つの方法であろうと思います。遺伝子の解析の方法が進んでいる時代ですので、遠い未来でなく何か分かるという気がします。そのためには、臨床でのきちんとした症例を把握しておくことが大事だ、ということが指摘されております。皆さん方のこれからの、継続しての臨床観察が最も大事であるという気がいたします。

この分野は非常に困乱しておりますが、今回のシンポジウムでかなりはっきり整理されて来た所もございまして、これくらいで閉めさせていただきたいと思えます。ありがとうございました。

---