

論文名 : Haploinsufficiency of *CSF-1R* and Clinicopathologic Characterization in patients with HDLS (CSF-1R のハプロ不全と HDLS 患者の臨床病理学的解析) (要約)

新潟大学大学院医歯学総合研究科 分子細胞医学専攻 神経内科学

氏名 今野 卓哉

【背景と目的】

神経軸索スフェロイド形成を伴う白質脳症 (Hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids, HDLS) は, 30~50 歳代の比較的若年者に認知症を引き起こす常染色体優性遺伝性白質脳症である。軸索スフェロイドを伴う広範な白質変性と色素性マクロファージの浸潤を認めることが病理学的特徴であり, 従来, HDLS は病理学的に診断されてきた。そのため生前での確定診断が難しく報告例は限られており, HDLS の臨床病理像は確立されていなかった。2011 年末に, HDLS の原因遺伝子 *colony stimulating factor 1 receptor (CSF-1R)* が同定され, 遺伝子検査により HDLS の診断が可能となった。我々は, HDLS と病理診断された剖検例と, HDLS が疑われた臨床例の自験 2 症例に, *CSF-1R* 変異を見出した。本研究は, 国内多施設との共同研究により, *CSF-1R* 変異を有する HDLS 症例を収集し, その臨床像, 画像所見, 病理学的特徴を抽出し, さらに分子遺伝学的アプローチにより HDLS の分子病態機序を解明することを目的とした。

【方法】

国内多施設と共同して HDLS 病理診断例と臨床的に疑われる症例を収集し, *CSF-1R* 遺伝子解析を行った。*CSF-1R* 変異例を後方視的に検討し, HDLS の臨床像, 頭部画像所見の特徴を抽出した。剖検例については病理学的検索を行い, 凍結脳組織より RNA と蛋白をそれぞれ抽出して, 逆転写 polymerase chain reaction (PCR)法および *CSF-1R* 抗体を用いた免疫ブロット法により, それぞれの発現解析を行った。また, 変異型 *CSF-1R* を培養細胞に発現させて変異蛋白の自己リン酸化を解析した。

【結果】

7 家系 7 症例に 6 種類の *CSF-1R* 変異を同定した。変異の内訳は, ミスセンス変異 4 種, フレームシフト変異 1 種, スプライスサイト変異 1 種であり, 1 種のミスセンス変異を除き, すべて新規変異であった。これらの変異は既知の遺伝子多型としては報告されておらず, 健常者 124 人 (248 染色体) に同様の変異を認めなかった。また, ミスセンス変異で置換されるアミノ酸は, いずれも種を越えてよく保存されていた。既報と同じく, すべての変異が *CSF-1R* のチロシンキナーゼドメイン内に位置していた。

家族歴が明らかでないものが 7 症例中 4 例あった。平均発症年齢は 43.9 ± 7.5 歳 (37~55 歳) で, 初発症状は認知機能障害が多く, 人格変化と進行性認知症, 錐体路徴候を全例に認めた。パーキンソニズム, てんかん, うつを呈する症例もあった。進行が速

く、発症後 5 年前後で無動性無言に陥る症例が多かった。頭部 MRI では、両側性に前頭・頭頂葉優位、かつ脳室周囲の深部白質に目立つ白質病変を認め、内包や大脳脚にも異常信号を認めた。全例で病初期から信号変化を伴う高度の脳梁菲薄化を認めた。初期には白質の萎縮が優位で、進行とともに皮質の萎縮が顕在化した。頭部 CT では、撮像された 6 症例中 5 例で前角周囲白質や頭頂葉皮質下白質に点状の微小石灰化を認めた。病理組織学的解析では、HDLS 患者脳では白質がびまん性に障害されていたにもかかわらず、活性型ミクログリアは偏在して集簇していた。また、HDLS 患者脳で見られる活性型ミクログリアは胞体が狭小で、突起は近位部から細く、多数の結節状の径不同を認め、通常の活性型ミクログリアとは形態が異なっていた。さらに、活性型ミクログリアの CSF-1R の染色性自体も減じていた。

フレームシフト変異例では、変異アレル側の mRNA はフレームシフトにより未成熟終止コドンを生じるため、翻訳される前にナンセンス依存性 mRNA 分解機構によって分解されることが推測された。そこで、患者脳から抽出した RNA を用いて逆転写 PCR 法を行うと、予想通り変異アレル由来 mRNA の発現が低下していた。フレームシフト変異およびスプライスサイト変異例の剖検脳組織を用いた CSF-1R の免疫ブロット解析では、CSF-1R の全長型、断片型とも、コントロール脳に比較して減少していた。

変異型 CSF-1R 発現コンストラクトを培養細胞に発現させて自己リン酸化の有無をみると、3 種類の異常スプライスバリエントを含めて、我々が発見した計 8 種類の変異型 CSF-1R のすべてが自己リン酸化されなかった。野生型 CSF-1R はリガンドの刺激時間に応じてリン酸化が増強したが、変異型ではまったくリン酸化されなかった。野生型 CSF-1R の安定発現細胞に変異型 CSF-1R を一過性発現させて自己リン酸化の有無をみたところ、野生型由来のリン酸化の抑制効果は認められなかった。

【考察と結論】

HDLS は遺伝性疾患であるが、孤発例も稀ではない。特徴的な臨床像と頭部画像所見から臨床的に疑うことが可能である。フレームシフト変異例の解析から、HDLS が CSF-1R のハプロ不全で生じうることを明らかにした。変異型 CSF-1R は自己リン酸化が障害されており、下流のシグナル伝達不全が生じると考えられた。一方で、変異型の野生型に対するドミナントネガティブ効果は明らかでなかった。CSF-1R は中枢神経内で主にミクログリアに発現している。我々は病理学的解析により HDLS 患者脳でミクログリア異常が生じていることを示した。以上のことから、CSF-1R 変異によりハプロ不全やシグナル伝達不全といった CSF-1R の機能低下が生じ、これにより引き起こされる一次的なミクログリア異常が、HDLS の病態に本質的に関与していると考えられた。