

<公募 Symposium 01-5 > 日本人に好発する遺伝性白質脳症の診断と今後の展望

## HDLS との鑑別に有用な CADASIL の新たな診断法

植田 明彦<sup>1)</sup> 安東由喜雄<sup>1)</sup>

要旨：HDLS と CADASIL は共に常染色体優性の遺伝性白質脳症である。HDLS が前頭葉機能障害や認知症で発症する事に対し、CADASIL では片頭痛や脳梗塞で発症する。また、CADASIL では有病率の高い若年発症の脳梗塞の家族歴が重要である。CADASIL は側頭極白質病変が特異的であるが、本病変を欠くばあいもあり、家族歴、その他の画像所見より総合的な診断が必要なばあいもある。共に半卵円中心に病変ができるが、梗塞巣と脱髄病変との鑑別には、血管走行との関係が評価しやすい冠状断 MRI が有用である。臨床像や画像所見から両者を鑑別できないばあいでも、皮膚の病理診断で鑑別できる。皮膚組織の GOM は病態解析において重要であり、GOM の生化学的解析が CADASIL の病態解明の鍵を握る。

(臨床神経 2014;54:1168-1170)

Key words：皮質下梗塞と白質脳症をともなう常染色体優性遺伝性脳血管障害、側頭極白質病変、皮膚生検、オスミウム好性顆粒状物質、液体クロマトグラフィー質量分析法

### はじめに

Cerebral Autosomal Dominant Arteriopathy with Subcortical Infarcts and Leukoencephalopathy (CADASIL) は常染色体優性の遺伝性脳血管障害であり、Notch3 の単一遺伝子異常により、片頭痛、脳梗塞、認知症、精神症状をきたす疾患である<sup>1)</sup>。病理学的には Granular Osmiophilic Material (GOM) が特徴的であり、GOM は Notch3 細胞外ドメインで構成されている<sup>2)</sup>。変異部位をふくむ Notch3 細胞外ドメインの蓄積により脳血管障害を発症するが、その病態は解明されていない。

### CADASIL の総論

本邦の CADASIL は 2000 年に宇山らが熊本家系を報告して以降<sup>3)</sup>、現在にいたるまで 100 例以上が確認されている。CADASIL は 20～40 代で片頭痛を発症し、危険因子が乏しいにもかかわらず、40～50 代で脳梗塞を発症し、脳梗塞をくりかえし、血管性認知症にいたる。また、経過中に気分障害などの精神症状を合併する。画像では、側頭極白質病変は本疾患に特異的であり<sup>4)</sup>、多発性脳梗塞や微小出血が高血圧性・非高血圧性の両領域にみとめる。Notch3 は動脈の分化に関与する蛋白質で、血管平滑筋細胞膜上に発現する一回膜貫通型レセプターであり、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内ドメインで構成される。

遺伝子変異は細胞外ドメインの epidermal growth factor (EGF) 様のくりかえし構造をコードする exon 2-24 に存在する。1 つの EGF ドメインは 6 個のシステイン残基により、3 対のジスルフィド結合を構成し、遺伝子変異により EGF 構造に不対の

システイン残基が形成される<sup>5)</sup>。病理では脳の髄膜動脈に PAS 陽性の顆粒状変性が小動脈を中心にびまん性に観察される。本所見は脳のみならず、皮膚や骨格筋にはみとめない。一方、GOM は電子顕微鏡所見であり、脳だけではなく、皮膚・骨格筋でも観察される。

### CADASIL の臨床像と画像所見： Hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids (HDLS) との鑑別点

HDLS と CADASIL は共に 40～50 歳を好発年齢とする常染色体優性の遺伝性白質脳症である。HDLS は性格変化や自発性低下など緩徐進行性の前頭葉機能障害を初発症状とすることに対し、CADASIL では片頭痛や脳梗塞など急性発症の脳血管障害を初発症状とし、家族歴では有病率の高い 60 歳未満発症の脳梗塞の患者が家系内にいることが重要である。画像では、両者とも前頭葉や側脳室周囲に白質病変をみとめるが、CADASIL では外包や側頭極に白質病変をみとめる。一方、HDLS は MRI 拡散強調画像の高信号が遷延することが特徴的である<sup>6)</sup>。このように典型例では両者の鑑別は容易であるが、HDLS に特徴的な拡散強調画像の高信号は亜急性期脳梗塞との鑑別が困難であり、CADASIL では片頭痛のない例や側頭極白質病変を欠く例もあるため、両者の鑑別が必要なばあいもある。CADASIL 症例で特異的臨床像を欠くばあい、40～50 代と比較的若年で脳梗塞を発症し、脳梗塞をくりかえすこと、60 歳未満発症の脳梗塞の家族歴があること、半卵円中心に多発性梗塞をみとめることから、総合的に診断する必要がある。半卵円中心の多発性梗塞は white matter medullary infarcts と

<sup>1)</sup> 熊本大学大学院生命科学研究部神経内科学分野 [〒 860-0811 熊本県熊本市中央区本荘 1-1-1] (受付日：2014 年 5 月 21 日)

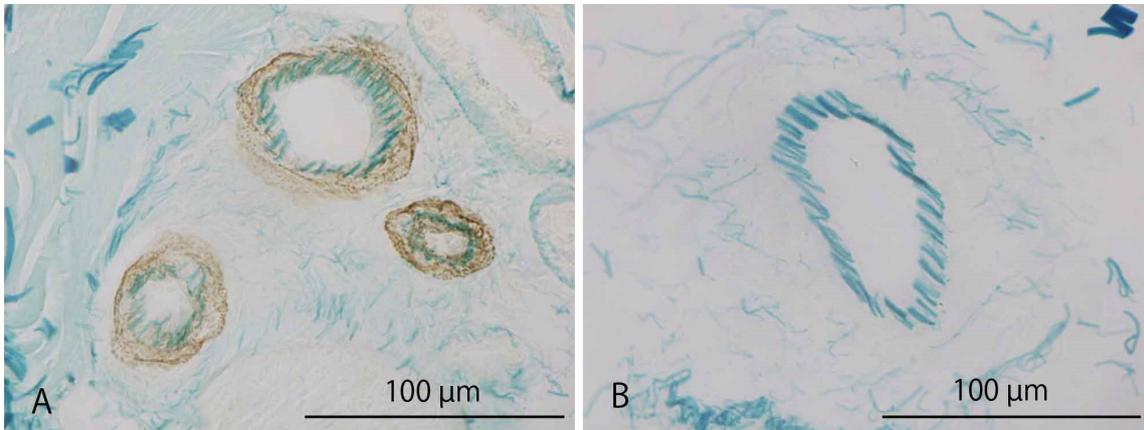


Fig. 1 皮膚凍結切片をもちいた Notch3 細胞外ドメインの免疫染色.

皮膚凍結切片での抗 Notch3 細胞外ドメイン抗体をもちいた免疫染色では、CADASIL 症例と非 CADASIL 症例の鑑別が容易にできる。CADASIL 症例 A) は、Notch3 細胞外ドメイン陽性像が血管の基底膜に一致して、点線状にみとめる。一方、非 CADASIL 症例 B) では、同免疫染色ではまったく陽性像はみられない。

呼ばれ、表在枝である髄質動脈領域の脳梗塞である。CADASIL では症候性・無症候性の本病変が高頻度に見られ、塞栓性機序の脳梗塞と誤認することがあるため、注意が必要である。また、半卵円中心の病巣は HDLS でも DWI 高信号が好発する部位であり、両者の鑑別が必要になる<sup>6)</sup>。水平断 MRI では両者とも点状・斑状の病変としてみえるが、冠状断 MRI では、CADASIL の脳梗塞は皮髄境界から側脳室に向かう線状・棒状の形態をしており、髄質動脈の血管走行に一致している。このように冠状断 MRI は、血管性病変と非血管性病変を鑑別するばあいに有用である。

#### 当院における遺伝子検査と病理診断の現状

CADASIL の確定診断には、Notch3 遺伝子変異の同定もしくは電子顕微鏡による GOM の同定が必要である。Notch3 遺伝子変異は、exon 3, 4 に好発するため、当院の中央検査部で exon 3, 4 の検索をおこなっている<sup>7)</sup>。また、exon 3, 4 以外の変異のばあいは、皮膚生検による Notch3 細胞外ドメインの免疫染色をおこなっている。凍結切片をもちいた免疫染色は CADASIL と非 CADASIL を明確に鑑別することができ、今後とも CADASIL の診断に必要な不可欠である (Fig. 1)。

#### 剖検脳 MRI による画像と病理の対比

以下 CADASIL を呈する興味深い症例を提示する。症例 1 は診断時 52 歳、死亡年齢 62 歳の男性で R133C 変異を呈していた。高血圧を有し、49 歳で側脳室周囲に Binswanger 型白質脳症をみとめ、52 歳の入院時には、認知症、錐体路徴候が顕著であった。また、経過中に痙攣発作が頻発し、T<sub>2</sub>\* で微小出血が多発していた。本例の側脳室周囲の病理所見は、Binswanger 型白質脳症と同様の所見であり、微小出血の病理

像は、視床、基底核、皮質において、いずれも内弾性板の断裂をとともう細動脈の破綻がみられた。

症例 2 は診断時 57 歳、剖検時 62 歳男性で R449C 変異を呈していた。家族歴で姉に若年性脳梗塞の既往があり、危険因子では喫煙歴があった。現病歴では 41 歳でラクナ梗塞、55 歳で多発性梗塞をみとめた。画像では半卵円中心をふくむ多発性脳梗塞をみとめた。塞栓性機序による脳梗塞と診断し、抗凝固療法を開始したところ、57 歳で左視床に脳出血を合併した。側頭極白質病変を欠くものの、家族歴、臨床像、画像より、CADASIL がうたがわれ、当院に検査依頼があり、診断にいたった。剖検解析において、抗凝固療法中の病理学的背景は、高血圧性の微小動脈瘤であった。また、皮質下梗塞の病理背景は、髄膜動脈の破綻であり、脳実質内に穿通する直前での血管破綻であった。髄膜動脈は周囲を強固な結合組織で覆われているため、髄膜内では破裂しにくい。脳実質内に穿通する直前では、そのような外膜が途切れるため、解剖学的脆弱性があり、血管が破綻しやすい。また髄膜動脈は PAS 陽性顆粒状変性をもっともみられる血管であり、皮質下白質の梗塞は CADASIL に関連性の深い梗塞と考えられる。

#### CADASIL の病態解析と今後の展望

CADASIL では遺伝子変異により Notch3 細胞外ドメインに不対のシステイン残基が形成され、Notch3 細胞外ドメインが過剰に切断され、細胞外ドメインが基底膜上に蓄積する<sup>8)</sup>。血管平滑筋細胞の細胞膜外に蓄積した Notch3 細胞外ドメインがどのように血管平滑筋細胞に機能的器質的影響を及ぼすのか解明されていない。その病態生理を明らかにするためには、Notch3 細胞外ドメインで構成される GOM の生化学的性質を解明する必要がある<sup>9)</sup>。本来、GOM を生化学的に解析するには、GOM を抽出して、単離し、分析機器装置で解析す

る必要がある。しかし、GOM の抽出・単離は容易ではない。そこでわれわれは GOM の性質を組織切片上で組織化学的手法をもちいて、解析することとした。そのような解析には、電子顕微鏡で観察される GOM を光学顕微鏡で観察する必要があり、これまでその方法の開発に取り組んできた。われわれは、GOM をヘマトキシリン陽性の 1 $\mu$ m 未満の顆粒として観察されることを発見し、Basophilic Submicron Granules (BSG) と命名した<sup>10)</sup>。本方法により未固定凍結切片上で GOM の光学顕微鏡観察が可能になり、現在、組織化学的手法をもちいて、GOM の生化学的解析をおこなっている。また、PAS 陽性の顆粒状変性をもとめる脳の髄膜動脈の共存蛋白の解析をおこなっている。剖検脳組織切片からレーザーマイクロダイセクションで髄膜動脈を採取して、LC/MS/MS で共存蛋白を同定している。共存蛋白の解析により CADASIL の病態に迫ることを目標に研究に取り組んでいる。

※本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

## 文 献

- 1) Joutel A, Corpechot C, Ducros A, et al. Notch3 mutations in CADASIL, a hereditary adult-onset condition causing stroke and dementia. *Nature* 1996;383:707-710.
- 2) Ishiko A, Shimizu A, Nagata E, et al. Notch3 ectodomain in a major component of granular osmiophilic material (GOM) in CADASIL. *Acta Neuropathol* 2006;112:333-339.
- 3) Uyama E, Tokunaga M, Suenaga A, et al. Arg133Cys mutation of Notch3 in two unrelated Japanese families with CADASIL. *Internal Medicine* 2000;39:732-737.
- 4) Auer DP, Pütz B, Gössl C, et al. Differential lesion patterns in CADASIL and sporadic subcortical arteriosclerotic encephalopathy: MR imaging study with statistical parametric group comparison. *Radiology* 2001;218:443-451.
- 5) Dichgans M, Ludwig H, Müller-Höcker J, et al. Small in-frame deletions and missense mutations in CADASIL: 3D models predict misfolding of Notch3 EGF-like repeat domains. *Eur J Hum Genet* 2000;8:280-285.
- 6) Terasawa Y, Osaki Y, Kawarai T, et al. Increasing and persistent DWI changes in a patient with hereditary diffuse leukoencephalopathy with spheroids. *J Neurol Sci* 2013;335:213-215.
- 7) Markus HS, Martin RJ, Simpson MA, et al. Diagnostic strategies in CADASIL. *Neurology* 2002;22:1134-1138.
- 8) Joutel A, Andreux F, Gaulis S, et al. The ectodomain of the Notch3 receptor accumulates within the cerebrovasculature of CADASIL patients. *J Clin Invest* 2000;105:597-605.
- 9) Ruchoux MM, Guerouaou D, Vandehaute B, et al. Systemic vascular smooth muscle cell impairment in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Acta neuropathol* 1995;89:500-512.
- 10) Ueda A, Hirano T, Takahashi K et al. Detection of granular osmiophilic material of cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy by light microscopy in frozen sections. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2009;35:618-622.

## Abstract

### The new diagnostic methods of CADASIL as differential diagnosis of HDLS

Akihiko Ueda, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup> and Yukio Ando, M.D., Ph.D.<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Neurology, Graduate School of Medical Science, Kumamoto University

Both hereditary diffuse leukoencephalopathy with axonal spheroids (HDLS) and cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy (CADASIL) are autosomal dominant white matter diseases. First symptoms of HDLS are cognitive decline or dementia, while those of CADASIL are migraine or ischemic infarcts. Family histories of young patients with stroke are important, because most of patients with CADASIL have these family histories. Temporal pole lesions are specific for CADASIL. However, some of the patients have no such lesions. We should differ CADASIL from non-CADASIL by evaluation of family history or the other MRI findings such as confluent external capsular lesions or multiple white matter medullary infarcts. Coronal views of MRI are useful for differentiating ischemic lesions from demyelinated lesions, even if horizontal views of MRI give little information. In addition, evaluation of immunohistochemical staining of Notch3 by frozen skin samples is useful for diagnosis. We discovered the methods of detecting light microscopic findings of GOM in frozen section. To reveal the pathogenesis of CADASIL, it is indispensable to analyze the chemical nature of GOM by histochemical stainings. We are going to analyze coexist proteins or materials in small arterial granular degeneration by proteomics of LC/MS/MS.

(Clin Neurol 2014;54:1168-1170)

**Key words:** CADASIL, temporal pole white matter lesion, skin biopsy, granular osmiophilic material, LC/MS/MS