

2024年4月5日

報道各位

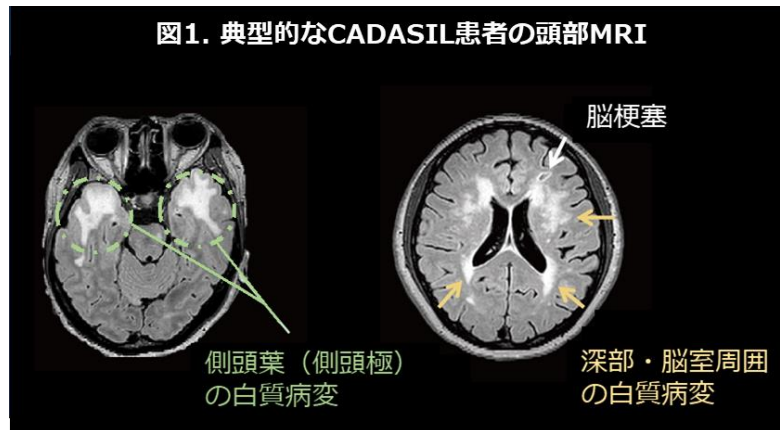
国立循環器病研究センター

新たな疾患概念「出血指向型 CADASIL」を確立

国立循環器病研究センター（大阪府吹田市、理事長：大津欣也、略称：国循）の脳神経内科、石山浩之医師、齊藤聡医師、猪原匡史部長、京都府立医科大学脳神経内科の水野敏樹特任教授、慶應義塾大学神経内科の中原仁教授、韓国のアサン病院脳神経内科、キム・ヒュンジン医師らの国際共同研究グループは、若年者に脳梗塞や側頭葉に特徴的な白質病変など脳虚血病変を引き起こす遺伝性疾患 CADASIL（カダシル、皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体顕性脳動脈症）の原因遺伝子、*NOTCH3* の日本や韓国を含む東アジアで最も多い変異の一つである p.R75P 変異例で、脳出血病変が目立つ一方、側頭葉病変が乏しいといった、通常の CADASIL とは一線を画した所見を示すことを発見し、新規疾患概念「出血指向型 CADASIL」を確立しました。この研究成果は、米国神経学会機関誌「Annals of Neurology」（1977年創刊）オンライン版に、2024年3月23日に掲載されました。

■背景

CADASIL は、*NOTCH3* 遺伝子変異が原因となり、常染色体顕性遺伝形式^{注1}で発症し、若年者における脳梗塞や認知症をきたす遺伝性疾患です（厚生労働省指定難病 124）。CADASIL では、遺伝子変異によりアミノ酸が置き換わることで変異した *NOTCH3* タンパク質^{注2}が主に径の小さな血管（小血管）の壁に蓄積し、血管の伸縮性が失われることで、ラクナ梗塞や側頭葉を中心とした白質病変などの虚血性病変が引き起こされます（図1）。



一方、ときに脳出血やその前駆病変である脳微小出血など出血性病変が目立つ CADASIL 症例が存在し、特に日本や韓国など東アジアでは欧米と比較してその頻度が高いことが知られ、何らかの遺伝的背景の違いが考えられていました。約 300 種類確認されている *NOTCH3* 遺伝子変異のうち、東アジアで最も頻度の高い変異の一つである p.R75P 変異^{注3}は、欧米において報告がありませんでした。そこで我々は、「*NOTCH3* 遺伝子 p.R75P 変異は CADASIL における脳出血病変と関連する」という仮説を立て、本研究で検証しました。

- 注1) ある一つの遺伝子は、両親からそれぞれ受け継いだ2つの組み合わせから成り立っています。変化を持つ遺伝子を1つでも受け継いだ場合に病気を発症する遺伝の仕方を顕性遺伝と呼びます。両親のどちらか一方が変化のある遺伝子を持っていた場合、50%の確率で罹患者が出生する可能性があります。
- 注2) NOTCH3 は19番染色体上の NOTCH3 遺伝子がコードするタンパク質で、おもに血管平滑筋を構成する細胞に発現し、血管壁の機能を保つ役割を持ちます。
- 注3) NOTCH3 タンパク質の75番目のアミノ酸のアルギニン (R) がプロリン (P) に置き換わる変異を p.R75P 変異と表現します。

■研究手法

国立循環器病研究センターを受診した CADASIL 患者を対象とし、NOTCH3 遺伝子 p.R75P 変異例とそれ以外の変異を有する群に分け、p.R75P 変異と症候性脳出血、多発する脳微小出血（脳微小出血6個以上）、側頭葉（側頭極）の白質病変との関連を調査しました。また、韓国アサン病院の CADASIL コホートにおいて結果が再現されるか検証しました。



加えて、AlphaFold2（アルファフォールド2）という、Google社が開発したタンパク質の構造を高精度に予測するソフトウェアを用い、典型的な CADASIL の所見（側頭極の白質病変が必ず存在）を示す変異と p.R75P 変異により引き起こされる NOTCH3 タンパク質の構造変化の違いを比較しました。

さらに、皮膚病理検体を用いて、血管壁に蓄積した変異 NOTCH3 を検出する免疫染色を行い、染色の程度を4段階のグレードで分類し、p.R75P 変異と他の変異での違いを検証しました。

■成果

国立循環器病研究センターの CADASIL 患者（63例）において、p.R75P 変異例（15例 [24%]）は、年齢・性別・高血圧症の有無・抗血栓薬内服の有無で補正後も、有意に症候性脳出血、多発脳微小出血、側頭極病変がないこと、と関連しました。この結果は、韓国アサン大学のコホート（全体55例、p.R75P 変異13例 [24%]）でも再現されました。（図2）

図2. p.R75P変異と脳出血、側頭極病変の関連

	日本コホート 		韓国コホート 	
	補正リスク比 (95% CI)	P 値	補正リスク比 (95% CI)	P 値
症候性脳内出血	9.56 (2.45–37.31)	0.001	8.11 (1.83–35.89)	0.006
多発脳微小出血	3.00 (1.34–6.71)	0.007	1.90 (1.01–3.56)	0.047
側頭極病変不在	4.91 (2.29–10.52)	< 0.001	2.32 (1.08–4.97)	0.031

年齢、性別、高血圧症、抗血栓療法で調整

また、構造解析において、典型的な NOTCH3 変異例では、NOTCH3 タンパク質内のアルギニン[R]から置き換わったシステイン[C]が外側に露出した構造を示しました（図3、黄矢印）。システインはお互いに結合して凝集することから、典型的な CADASIL では凝集体を形成しやすいと考えられました。一方、p.R75P 変異では、システインの露出はありませんが、置き換わったプロリンが隣のシステインに影響を与えることで、典型的な CADASIL より弱い凝集性を示すと考えられました（図3、赤*）

図3. 典型的変異とp.R75P変異のNOTCH3タンパク質構造

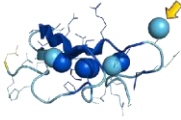
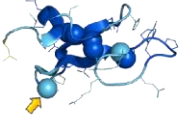
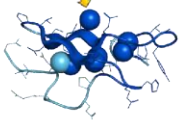
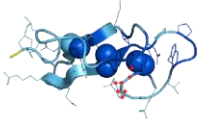
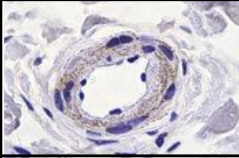
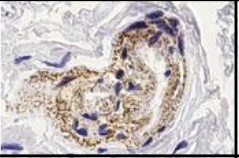
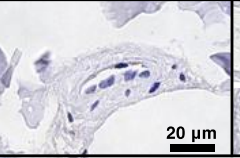
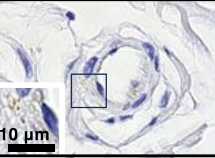
	典型的変異			p.R75P変異
	p.R110C	p.R141C	p.R182C	
予測構造				
システインの露出	+	+	+	-

図4. 皮膚血管における典型的変異とp.R75P変異のNOTCH3蓄積

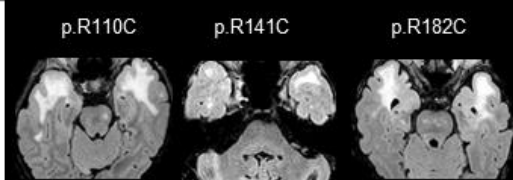
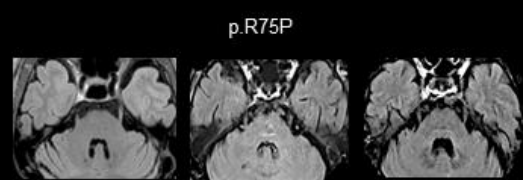
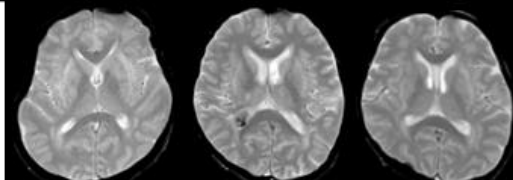
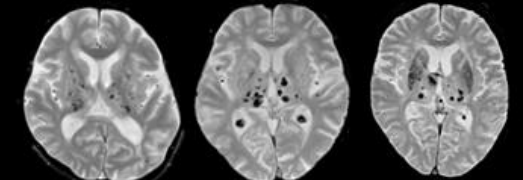
NOTCH3変異	典型的変異		p.R75P	
	p.R141C	p.R182C		
病理像				
NOTCH3蓄積	中等度～高度		なし～軽度	

病理学的評価において、p.R75P 変異では、典型的変異例と比較して、変異 NOTCH3 の血管壁への蓄積は軽度（染色グレード中央値：0 vs. 2, $P < 0.001$ ）でした（図4）。この結果は、構造解析から予測された p.R75P 変異による凝集の弱さと一致していました。

■本研究から得られた知見

本研究において、NOTCH3 遺伝子の東アジアに特異的な p.R75P 変異を有する CADASIL では、「脳の出血性病変が目立つ一方で側頭極病変が乏しい」といった、従来認識されてきた CADASIL とは一線を画した臨床的特徴を示すことが示されました。また、これらの臨床的特徴の違いが、遺伝子変異による NOTCH3 タンパク質の構造的な違いと、その結果として変異 NOTCH3 の血管壁への蓄積性の違いに起因する可能性を見出しました。本知見に基づいて、我々は CADASIL の亜型として、「出血指向型 CADASIL, Pro-hemorrhagic CADASIL」を提唱しました（図5）。出血指向型 CADASIL は、CADASIL として認知することが難しく、若年性脳出血例に相当数が潜因している可能性があります。また、出血指向型 CADASIL の原因となる NOTCH3 遺伝子変異は p.R75P 変異以外に複数存在することが想定されており、その全貌を明らかにすることで、変異に応じた抗血栓療法を選択など、今後の個別化医療に繋がる可能性があります。

図5. 新たな疾患概念「出血指向型CADASIL」

	従来のCADASIL	出血指向型CADASIL
NOTCH3 変異	種々の変異	p.R75P
側頭葉病変	高度	なし～軽度
		
脳内出血	低頻度	高頻度
脳微小出血	低頻度	しばしば多発
		

■ 発表論文情報

著者：Hiroyuki Ishiyama, Hyunjin Kim, Satoshi Saito, Soichi Takeda, Misa Takegami, Yumi Yamamoto, Soichiro Abe, Shinsaku Nakazawa, Tomotaka Tanaka, Kazuo Washida, Yoshiaki Morita, Seung-Taek Oh, Hee-Jae Jung, Jay Chol Choi, Yuriko Nakaoku, Jin Nakahara, Masatoshi Koga, Kazunori Toyoda, Kisaki Amemiya, Yoshihiko Ikeda, Kinta Hatakeyama, Ikuko Mizuta, Toshiki Mizuno, Kwang-Kuk Kim, Masafumi Ihara

題名：Pro-hemorrhagic CADASIL associated with *NOTCH3* p.R75P mutation with low vascular NOTCH3 aggregation property

掲載誌：Annals of Neurology

■ 謝辞

本研究は、日本医療研究開発機構（AMED）難治性疾患実用化研究事業「皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体優性脳動脈症（CADASIL）患者を対象としたアドレノメデュリン静注療法による安全性および有効性に関する多施設共同単群試験」、厚生労働科学研究補助金 疾病・障害対策研究分野 難治性疾患政策研究「治験を目的とした、成人発症白質脳症のレジストリーと評価方法に関する研究」、および難病医学研究財団令和 4 年医学研究奨励助成事業「出血型 CADASIL の疾患概念確立と大規模東アジアレジストリーの構築」により支援されました。

※この報道資料は、大阪科学・大学記者クラブの皆様にお届けしています。

【報道機関からの問い合わせ先】

国立循環器病研究センター企画経営部広報企画室

TEL：06-6170-1070(31120) MAIL：kouhou@ml.ncvc.go.jp