

平成11年度

厚生省科学研究費補助金

(長寿科学総合研究事業)

総括研究報告書

脳の老化に関連する疾患の  
病態解明に関する研究

主任研究者	小阪憲司（横浜市立大学医学部精神医学教室教授）
分担研究者	橋詰良夫（愛知医科大学加齢医科学研究所老化形態部門教授）
	池田研二（東京都精神医学総合研究所神経病理研究室参事研究員）
	山田正仁（金沢大学医学部神経内科教授）
	石津秀樹（岡山大学医学部神経精神医学教室助手）

脳の老化に関連する疾患の病態解明に関する研究

主任研究者 小阪憲司（横浜市立大学医学部精神医学教授）

**研究要旨** 非アルツハイマー型変性痴呆のうち、とくに重要な5疾患の病態機序の検討と診断基準の作成を行った。すなわち、びまん性レビー小体病(DLBD)のレビー小体の変性機序を $\alpha$ -シヌクレインにより検討し、病理学的診断基準に基づくレビー小体型痴呆(DLB)の亜型の再検討を行った。痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症(ALS-D)の臨床病理学的診断基準を作成し、鑑別疾患を検討した。皮質基底核変性症(CBD)の臨床病理学的診断基準を作成し、脳脊髄液のタウ構成の特異性による診断マーカーの開発を試みた。神経原線維変化型老年痴呆(SD-NFT)の海馬領域病変でのNFT形成と神経変性がアルツハイマー病(AD)と異なることを示し、タウ遺伝子異常の有無と脳脊髄液での診断マーカーの開発を試みた。石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病(DNTC)の臨床病理学的特徴を再検討し、臨床診断基準の作成を行った。

分担研究者

小阪憲司 横浜市立大学医学部精神医学教授  
橋詰良夫 愛知医大加齢医科学研究所教授  
池田研二 東京都精神医学総合研究所参事  
山田正仁 金沢大学医学部神経内科学教授  
石津秀樹 岡山大学医学部精神医学助手

うち、最も頻度が高くレビー小体型痴呆(DLB)とも呼ばれて世界的に注目されている“びまん性レビー小体病(DLBD)”,前頭側頭型痴呆(FTD)の運動ニューロン型としても注目されている“痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症(ALS-D)”,進行性核上性麻痺(PSP)との関連で注目されている“皮質基底核変性症(CBD)”,生理的老化とアルツハイマー型老年痴呆(SDAT)との関連で注目されている“神経原線維変化型老年痴呆(SD-NFT)”,アルツハイマー病(AD)とピック病とを結ぶ変性性痴呆疾患として注目されている“石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病(DNTC)”と、いずれも本邦の研究者により提唱ないし研究の端緒がつけられ、近年その重要性から世界的に研究が進められている5疾患に焦点を絞り、その病態機序についての検討と臨床病理学的診断基準の作成を行うことを今回の研究の目的とする。

A. 研究目的

脳の老化に関連した疾患は多様であるが、このうちアルツハイマー型痴呆(ATD)に関する研究は近年急速に進み、また脳血管障害の研究も盛んである。しかし、その他の脳の老化と関連した疾患、とくに非アルツハイマー型変性性痴呆疾患は、重要な疾患が多いにもかかわらず研究が遅れており、これらの疾患についての系統的研究は急を要する課題である。今年度は、前年度に引き続いて、非アルツハイマー型変性性痴呆疾患の

## B. 研究方法

- 1) 小阪は、DLBD14 剖検例の青斑核と迷走神経背側核にみられるレビー小体(LB)について、抗 $\alpha$ -シヌクレインと抗ユビキチン、抗HLA-DR、抗GFAP、抗補体蛋白、抗 amyloid P component、その他の抗体との二重免疫染色を行い、また、 $\alpha$ -シヌクレインによる免疫電顕を行った。さらに、DLB22 剖検例について、臨床項目と病理項目を検討し、LB の部位別頻度、アルツハイマー病理所見の程度、黒質と青斑核の神経細胞脱落の程度に従って病理学的診断基準を作成し、これに基づいて剖検例を複数の亜型に分類した。
- 2) 橋詰は、臨床病理学的に ALS-D と確定診断された自験 17 剖検例と過去の剖検報告例に基づいて、臨床病理学的診断基準を作成し、鑑別疾患を検討した。病理学的検索は、通常の染色に加え、抗ユビキチン、抗タウ、抗GFAPなどの抗体による免疫染色により行った。
- 3) 池田は、CBD の自験剖検例と過去の剖検報告例の検討から、定型的な CBD (中核群)の臨床診断に必須である症状と、必須ではないが出現頻度が高く、診断に有用な症状を抽出した。次いで、診断困難例を診断するために、脳脊髄液を利用した診断法の開発のための基礎的な研究を行った。
- 4) 山田は、SD-NFT5 剖検例、アルツハイマー病(AD) 5 剖検例、正常対照 5 剖検例について、海馬領域病変の神経原線維変化(NFT)形成と神経変性の検討を行った。通常の染色に加え、抗 $A\beta$ 、抗タウ、抗ユビキチン、抗シナプトフィジン、抗GFAP、抗KI-M1P抗体による免疫染色を行った。また、SD-NFT3例から抽出したDNAを用いてタウ遺伝子の検索を行い、脳脊髄液中のタウおよび $A\beta$ のELISA法による定量を行った。
- 5) 石津は、これまでに報告されたDNTCの21剖検例について、臨床病理学的な特徴を再検

討し、さらに、昨年度のCTスクリーニング調査により得られたDNTC疑診例を加えて疫学的特徴を検討した。また、脳脊髄液中のタウの定量を行った。

## C. 研究結果

- 1) DLBD 脳にみられる $\alpha$ -シヌクレイン陽性構造物は、細胞内LB, LB 関連神経突起、細胞外LBよりなり、 $\alpha$ -シヌクレイン陽性LB含有細胞ではHLA-DR陽性ミクログリアの反応はみられないが、 $\alpha$ -シヌクレイン弱陽性のLBを有する変性細胞は強いミクログリアの反応を伴っていた。 $\alpha$ -シヌクレイン弱陽性の初期の細胞外LBでは、ミクログリアに貪食されている像とアストログリアの反応を伴う像がみられた。後期の細胞外LBは、免疫電顕で $\alpha$ -シヌクレインの染色性を失った線維成分の集合よりなっていた。細胞内LBと細胞外LBの一部は、抗C3d・C4d、抗 amyloid P component 抗体で陽性であった。  
DLB 2 2 剖検例は、病理学的診断基準に基づいて亜型に分類すると、新皮質型 10 例(通常型 8 例、純粋型 2 例)、辺縁型 7 例(通常型 4 例、純粋型 3 例)、大脳型 1 例に分けられ、脳幹型はなかった。この他、アルツハイマー型老年痴呆(SDAT)型 2 例、アルツハイマー病(AD)型 2 例がみられた。これらの亜型は、各々臨床所見との特徴ある対応を示した。
- 2) ALS-D 剖検例は、発症年齢は主として初老期、家族歴・既往歴はない、初発症状は精神症状か運動ニューロン障害、経過は進行性、筋萎縮性側索硬化症は下位運動ニューロン徴候が優位、パーキンソニスムは少ない、痴呆は前頭側頭型痴呆で程度は中等度である、などの特徴を有していた。病理学的には、軽度の前頭・側頭葉の萎縮、前頭・側頭葉皮質の神経細胞脱落とグリオーシス、海綿状変化、黒質の神経細胞脱落とグリオーシス、古典的

ALS と同質の運動ニューロン障害をみた。免疫組織化学的にユビキチン陽性の神経細胞内封入体を共通してみるが、NFT やピック嗜銀球などはみられなかった。鑑別疾患としては、ALS、ATD、ピック病、CBD などが上げられた。

- 3) CBD の中核群の診断基準では、大脳病変が中心溝近傍を含む前頭・頭頂領域にあり、左右差を示した。皮質下では、黒質、次いで基底核に病変が及んでいた。これらに対応する臨床症状の中から、必須症状として、①肢節運動失行（手足の運動拙劣）、②パーキンソニスム（無動・筋強剛、振戦、四肢ジストニア）の2症状、診断を補強する項目として、①症状の左右差、②他人の手徴候、③痴呆、④一側優位の前頭・頭頂萎縮を示す画像所見、を抽出した。
- 4) SD-NFT の海馬領域病変の検討から、NFT 密度は AD より有意に高いにもかかわらず、海馬の萎縮、シナプス密度、アストログリアおよびミクログリアの増生は AD と比べて有意に軽度であり、両者の神経変性過程の違いが示唆された。NFT の各種タウ抗体による染色性は AD と差はなかった。タウ遺伝子の検索では遺伝子異常を認めなかった。脳脊髄液中のタウおよび A $\beta$  の検討は、剖検脳から採取したものでは信頼性のある定量結果は得られなかった。
- 5) DNIC21 報告例では、発症は初老期に多く、家族例はなく、経過は約 10 年であった。臨床症状は、記憶力障害、失見当識での発症が 67% と最も多く、発動性低下、脱抑制、易怒性が 24%、幻覚妄想での発症も 10% にみられた。神経症状は、経過中に失行・失認・失語などの巣症状がみられ、進行すると嚥下障害、原始反射、四肢屈曲を示し、失外套状態となる。検査では、頭部 CT で基底核および小脳に高密度を認め、石灰沈着が特徴的であった。萎縮は、側頭葉優位の前頭・側頭葉の限局性

萎縮が多く、側脳室周囲に MRI で Leukoaraiosis がみられた。脳脊髄液のタウは、コントロールと比較して高値を示した。

#### D. 考察

- 1) パーキンソン病や DLB 脳にける LB 形成を伴う神経細胞の変性過程と LB の消失過程の詳細はこれまで不明であった。今回の研究で、LB の変性過程へのグリアの関与について、ミクログリアは LB 含有神経細胞の変性が進み細胞死に至る以前から関与し、細胞外 LB の処理過程の初期に役割を終え、一方アストログリアは細胞外 LB の後期の処理に役割を担っていると考えられた。補体はオプソニン化によりミクログリアを活性化することが知られているが、今回細胞内 LB が C3d・C4d に陽性であったことから、LB 含有細胞の初期の変性過程から補体の classical pathway が活性化していることが示唆され、amyloid P component が活性化因子の一つとして想定された。細胞外 LB は  $\alpha$ -シヌクレインの染色性を失った線維成分として組織中に長期に残遺することが示された。

DLB は一つの疾患単位ではなく、包括的疾患概念と考えるのが適当である。今回われわれの作成した病理学的診断基準に基づいて DLB 剖検例を複数の亜型に分類した結果、各々の亜型は特徴ある臨床所見の組み合わせを有することが示され、DLBD の通常型に相当する新皮質型（通常型）が DLB で最も頻度が高く、DLB の臨床病理学的特徴を全て満たす亜型であることが示された。ガイドラインの臨床診断基準に従うと、確実に DLB と診断されるのは新皮質型（通常型）のみであり、AD 型は DLB とは診断されず、亜型により臨床診断の信頼度に差が生じた。適切な DLB の亜型分類に基づき、各亜型の特徴を踏まえ

て臨床診断を行うことが推奨される。

- 2) ALS-D の診断基準では、特に病理学的に 17 例の全てがユビキチン陽性神経細胞内封入体を有していた。今回の検討から、ユビキチン陽性神経細胞内封入体を ALS-D の指標とし、臨床病理学的に典型例と非典型例を区別しておくことが、現時点では必要であると考えられた。古典的 ALS との厳密な異同、ユビキチン陽性神経細胞内封入体の本体は、まだ未解決であり、今後の検討課題である。
- 3) CBD には中核群以外に、前頭葉萎縮・人格変化を示す群、言語野萎縮・進行性失語を示す群、海馬を含む内側側頭葉萎縮・記憶障害を示す群があるが、これらの亜型の診断は困難であり、その診断には CBD・PSP のタウ異常の特徴を特異マーカーとして、脳脊髄液診断に応用する必要がある。特徴の第一は、CBD・PSP はニューロン・グリアにタウ異常を有する疾患であり、とくに CBD はタウ異常グリアに富むこと、グリアのタウはエクソン 3 を欠いていることが上げられる。第二に、CBD・PSP は 4 リピート型タウ異常疾患である。今回、エクソン 3 およびエクソン 10 (4 リピート型タウ) を特異的に認識する抗タウ抗体を作成し、脳脊髄液による CBD の診断法の開発に供した。
- 4) SD-NFT における海馬領域の変性機序に関して、SD-NFT の海馬領域は AD より大量の NFT を有するにも関わらず、神経変成は AD と比較し軽度であることから、両者の神経細胞の変性機序が異なっていることが明らかになった。AD では NFT 形成を介さない神経細胞変性および死がかなりの部分を占めている可能性がある。第 17 番染色体に連鎖する前頭側頭型痴呆 (FTDP17) では多様な変異がタウ遺伝子に見出されているが、SD-NFT では現在の所

タウ遺伝子変異は見出されていない。

- SD-NFT と高齢発症の SDAT とは臨床的鑑別がしばしば困難である。そのため、SD-NFT の診断の補助となるマーカーが必要であるが、今回 SD-NFT 例の剖検時に採取した脳脊髄液でタウや A $\beta$  を検索したが、死後変化が大きく、疾患における病的な変動を捉えることが困難であった。今後、生前に採取した脳脊髄液を保存し、その後剖検で確定診断のついた例を対象とした検討が必要である。
- 5) 今回、DNTC 剖検例の臨床的特徴から、臨床類型を 3 群に分けた。すなわち、①早期から記憶障害・失見当識が目立つ群、②人格障害・意欲障害が早期または中期からみられる群、③精神症状 (幻覚・妄想) を呈する群、の 3 群である。DNTC の診断には基底核および小脳歯状核の石灰化を示唆する所見が必須であり、側頭葉または前頭・側頭葉の限局性萎縮の所見は進行期に明らかとなる。さらに、支持的項目として、中期に錐体路、錐体外路症状を伴うこと、長期例では脳血管障害や Leukoaraiosis を認めること、などが上げられる。
- 脳脊髄液中のリン酸化タウは盛んな NFT の形成過程を反映していると考えられ、AD 同様 NFT 出現の著しい DNTC の診断に有効であると推測される。今回の結果もこれを裏付けていたが、臨床診断基準に加えるには多数例の追加検討が必要である。

## E. 結論

非アルツハイマー型変性性痴呆疾患のうち、今回の研究で扱った 5 疾患はその頻度や特徴的病態の点でとくに重要な疾患といえる。今回の研究で、DLBD における LB の変性機序を  $\alpha$ -シヌクレイン免疫組織化学を用いて検討した結果、ミクログリ

アとアストログリアが各々LB 含有細胞の変性と細胞外 LB の処理に関与しており、変性過程に補体の classical pathway が活性化していることが示唆された。また、病理学的診断基準により、DLB は複数の病理学的亜型に分けられ、各々は臨床所見と特徴ある対応を示した。

ALS-D の診断基準を作成する過程で、ALS-D が非アルツハイマー型変性痴呆の一つとして独立した疾患であることが示され、病理学的指標としてユビキチン陽性神経細胞内封入体が有用であることが示された。

CBD の中核群は今回の診断基準で診断可能であるが、CBD の亜型群の診断には構成タウ異常の特異性を利用した脳脊髄液診断法が必要であり、現在開発中である。SD-NFT の海馬領域における NFT 形成を伴う神経変性は AD とは異なることが示唆され、SD-NFT の診断法の確立に向けての脳脊髄液などの検体の蓄積と、それを用いた診断マーカーの開発が課題である。

DNTC は、我が国特有とあってよい痴呆疾患であるが、近年のタウオパシーの概念の提起に伴い、病因論的にも重要な疾患である。今後、DNTC の実体調査を行うために診断基準を作成することが重要である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Frequent coexistence of Lewy bodies and neurofibrillary tangles in the same neurons of patients with diffuse Lewy body disease. *Neurosci Lett* 265, 9-12, 1999
- 2) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Clinicopathological multiplicity of dementia with Lewy bodies. *Neuropathology* 19, 386-394, 1999
- 3) Marui W, Iseki E, Kosaka K, et al: Occurrence of human  $\alpha$ -synuclein immunoreactive neurons with neurofibrillary tangle formation in the limbic areas of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*(in press)
- 4) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Degeneration process of Lewy bodies in the brains of patients with dementia with Lewy bodies using  $\alpha$ -synuclein immunohistochemistry. *Neurosci Lett*(in press)
- 5) Wann Y, Hashizume Y, Yoshida M, et al: Pathological changes of the spinal cord in centenarians. *Pathology International* 49, 118-124, 1999
- 6) Konagaya M, Sasaki M, Hashizume Y, et al: Multiple system atrophy with remarkable frontal lobe atrophy. *Acta Neuropathol* 97, 423-428, 1999
- 7) Yasui K, Hashizume Y, Yoshida M, et al: Age-related morphological changes of the central canal of the human spinal cord. *Acta Neuropathol* 97, 253-259, 1999
- 8) Arai T, Ueda K, Ikeda K, et al: Argyrophilic glial inclusions in the midbrain of patients with Parkinson's disease and diffuse Lewy body disease are immunoreactive for NACP/ $\alpha$ -synuclein. *Neurosci Lett* 259, 83-86, 1999
- 9) Tsuchiya K, Ozawa E, Ikeda K, et al: Rapidly progressive aphasia and motor neuron disease: a clinical, radiological, and pathological study of an autopsy case with circumscribed lobar atrophy. *Acta Neuropathol* 99, 81-87, 1999

10) Ikeda K: Neuropathological discrepancy between Japanese Pick's disease and frontal lobe degeneration type of frontotemporal dementia proposed by Lund and Manchester group. Neuropathology(in press)

11) Yamada M, Tomimitsu H, Yokota T, et al: Involvement of the spinal posterior anterior horn in Gerstmann-Straussler-Scheinker's disease(PrPP102L). Neurology 52: 260-265, 1999

12) Sodeyama N, Yamada M, Itoh Y, et al: Lack of genetic associations of  $\alpha$ 1-antichymotrypsin polymorphism with Alzheimer type neuropathological changes or sporadic Alzheimer's disease. Dement Geriatr Cogn Disord 10, 221-225, 1999

13) Sodeyama N, Yamada M, Itoh Y, et al:  $\alpha$ 2-macroglobulin polymorphism is not associated with AD or AD type neuropathology in Japanese. Neurology 54: 443-446, 2000

14) Ishizu H, Tanabe Y, Terada S, et al: Frontotemporal dementia: Pick type. Neuropathology 19, 422-432, 1999

その他省略

## 2. 学会発表

15) 丸井和美、井関栄三、小阪憲司他、レビー小体型痴呆の臨床病理学的多様性の検討、第18回日本生物学的精神医学会、1999

16) 丸井和美、井関栄三、小阪憲司他、びまん性レビー小体病脳では同一神経細胞に $\alpha$ -シヌクレインとタウ陽性物質が高頻度に共存する、第40回日本神経病理学会、1999

17) 井関栄三、丸井和美、小阪憲司他、びまん性レビー小体病の海馬における perforant pathway の変性終末は $\alpha$ -シヌクレイン陽性である、第40回日本神経病、1999

18) 橋詰良夫、吉田真理、許二赫他、百歳老人脳における argyrophilic grain の病理学的検討、第18回日本痴呆学会、1999

19) 吉田真理、橋詰良夫、痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症(ALS-D)の臨床病理学的スペクトラムと鑑別疾患、第18回日本痴呆学会、1999

20) 山田正仁、伊藤嘉憲、袖山信幸他、神経原線維変化型老年痴呆に関する研究：海馬領域病変およびタウ遺伝子の検討、第18回日本痴呆学会、1999

21) 伊藤嘉憲、山田正仁、袖山信幸他、アポリポ蛋白 E $\epsilon$ 4 を有しながらアルツハイマー型痴呆を発症しなかった高齢者剖検例の臨床的背景、第40回日本神経学会、1999

22) 末松直美、大友英一、山田正仁、レビー小体を伴う痴呆とパーキンソン病との形態学的異同：剖検脳におけるユビキチン陽性物の分布パターンから、第40回日本神経病理学会、1999

23) 石津秀樹、Pick 型前頭側頭型痴呆、第40回日本神経病理学会、1999

24) 石津秀樹、小田輝幸、黒田重利他、Pick 病の黒質病変の再検討、第18回日本痴呆学会、1999

その他省略

厚生省科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
脳の老化に関連する疾患の病態解明に関する研究  
分担研究報告書

びまん性レビー小体病の病態機序の検討と臨床病理学的診断基準の作成

分担研究者 小阪憲司（横浜市立大学医学部精神医学教授）  
研究協力者 井関栄三（横浜市立大学医学部精神医学助教授）

**研究要旨** ①びまん性レビー小体病（DLBD）の病理学的指標であるレビー小体（LB）の変性機序の検討を主として $\alpha$ -シヌクレイン免疫組織化学を用いて検討した結果、ミクログリアはLB含有細胞の変性から細胞外LBまで関与し、アストログリアは細胞外LBにのみ関与していた。また、LB含有細胞の変性過程で補体のclassical pathwayが活性化されていることが示唆された。②DLBDを含むレビー小体型痴呆（DLB）の臨床病理学的診断基準を再検討した結果、DLBは複数の病理学的亜型に分けられ、各々は臨床所見と特徴ある対応を示した。DLBのガイドラインによる臨床診断基準では、亜型によって信頼度に差がみられた。

**キーワード：**びまん性レビー小体病、レビー小体型痴呆、レビー小体、 $\alpha$ -シヌクレイン、神経細胞、グリア、補体、免疫組織化学、臨床病理学的診断基準

**A. 研究目的**

- ① レビー小体（LB）は、パーキンソン病やびまん性レビー小体病（diffuse Lewy body disease: DLBD）脳の病理学的指標となる神経細胞内封入体であり、これらの疾患の病態機序を知る手がかりになるものと考えられる。しかし、LBの形成機序についての研究報告は幾つかみられるが、LBの変性機序についてはこれまでほとんど知られていなかった。今回、LBの主要な構成成分であることが示されている $\alpha$ -シヌクレインの免疫組織化学を用いて、LB含有神経細胞の変性機序および細胞外LBの消失機序を検討した。
- ② レビー小体型痴呆（dementia with Lewy bodies: DLB）は、DLBDを含む包括的臨床病理学的疾患概念であり、臨床診断基準の他、複数の病理学的亜型が示されている。しかし、これらの亜型と臨床所見との対応が示さ

れていないため、臨床診断基準としての妥当性に問題がある。今回、われわれは新しいDLBの病理学的診断基準を作成し、これに基づいてDLBの多数剖検例を病理学的亜型に分類し、臨床所見との対応を検討した。

**B. 研究方法**

- ① DLBD14剖検例の中脳と橋の水平断面をパラフィンに包埋し、8ミクロン厚切片を作成した。通常の神経病理学的検索の他、 $\alpha$ -シヌクレインの3つの異なるエピトープに対する抗 $\alpha$ -シヌクレイン抗体と抗ユビキチン、抗HLA-DR、抗GFAP、抗補体蛋白（C3d, C4d）、抗amyloid P componentとの二重免疫染色をABC法とABC-AP法により行い、各々DABとfirst blueで発色した。また、免疫電顕については、40ミクロン厚ピラトーム切片を作成して抗 $\alpha$ -シヌクレイン抗体によりABC法で免疫染色を行い、エポ



ンに包埋して超薄切片を作成し、電子顕微鏡で観察した。

②DLB22 剖検例について、臨床項目として、性別、死亡年齢、経過年数、痴呆ないしパーキンソン症候群の出現年齢、痴呆の程度、動揺性認知障害ないし幻視の有無を検討した。病理学的検索については、大脳半球のパラフィン切片において通常の神経病理学的検索の他、神経原線維変化 (NFT) に対して抗タウ抗体、アミロイド沈着 (AM) に対して抗 A $\beta$  抗体、LB に対して抗ユビキチン抗体と抗  $\alpha$ -シヌクレイン抗体を用いて ABC 法により免疫染色を行い、DAB で発色した。われわれの病理学的診断基準は、LB の部位別出現頻度、アルツハイマー病理所見の程度、黒質と青斑核の神経細胞脱落の程度に従って作成され、これに基づいて剖検例を複数の亜型に分類した。

### C. 研究結果

①DLBD 脳の青斑核および迷走神経背側核にみられる  $\alpha$ -シヌクレイン陽性構造物は、細胞内 LB、LB 関連神経突起、細胞外 LB よりなっていた。  $\alpha$ -シヌクレインの異なるエピトープに対する 3 種の抗体の染色性を比較すると、細胞内 LB と LB 関連神経突起は抗 N 末および抗 C 末抗体に陽性であったが、抗 NAC domain 抗体には弱陽性であった。一方、細胞外 LB はその逆の染色性を示した。  $\alpha$ -シヌクレイン陽性 LB 含有細胞では HLA-DR 陽性ミクログリアの反応はみられず、免疫電顕では LB は径 10-20nm の granulo-filamentous components よりなっていた。一方、  $\alpha$ -シヌクレイン弱陽性の境界不明瞭な LB を有する神経細胞は強いミクログリアの反応を伴い、免疫電顕では LB の filamentous components の  $\alpha$ -シヌクレインの染色性が元弱していた。  $\alpha$ -シヌクレイン弱陽性の初期の細胞外 LB では、ミクログリアに貪食されている像、あるいはアス

トログリアの反応を伴う像がみられた。抗  $\alpha$ -シヌクレイン抗体で同定が困難な後期の細胞外 LB は、免疫電顕で  $\alpha$ -シヌクレインの染色性を失った径約 10nm の filamentous components の粗な集合よりなり、アストログリアの侵入を伴っていた。細胞内 LB および細胞外 LB の一部は、抗 C3d・C4d 抗体および抗 amyloid P component 抗体で陽性であった。

② 検索された DLB22 剖検例は、ガイドラインに基づく病理学的診断基準では、21 例が新皮質型に、1 例のみが辺縁型に分類された。一方、われわれの病理学的診断基準による亜型分類の内訳は、10 例が新皮質型 (通常型 8 例、純粋型 2 例)、7 例が辺縁型 (通常型 4 例、純粋型 3 例)、1 例が大脳型 (通常型) に分けられ、脳幹型に相当するものはなかった。22 例のうち、われわれの病理学的診断基準を満たさない例が 4 例みられた。2 例は、側頭葉内側部の強い萎縮を示し、アルツハイマー病理所見は典型的なアルツハイマー型老年痴呆 (SDAT) に相当したが、LB の部位別頻度からは DLB の新皮質型に相当した。他の 2 例は、びまん性の軽度の大脳萎縮を示し、アルツハイマー病 (AD) に相当したが、LB の部位別頻度は DLB の新皮質型に相当した。

### D. 考察

①最近の研究から、パーキンソン病脳の黒質のメラニン含有細胞の変性死にフリーラジカルやアポトーシスが関与することが示唆されている。しかし、パーキンソン病や DLB 脳における LB 形成を伴う神経細胞の変性過程と LB の消失過程の詳細はこれまで不明であった。その理由として、LB に特異的な構成成分が知られていなかったこと、および神経細胞の死後に細胞外 LB が早期に消失する可能性が考えられる。今回の研究で、LB の変性過程における  $\alpha$ -シヌクレインの修

飾を、 $\alpha$ -シヌクレインの異なるエピトープに対する3種類の抗体を用いて検討した結果、細胞外に出たLBは、細胞外NFTにおけるタウと同様、 $\alpha$ -シヌクレインのN末・C末エピトープが失われ、NAC domainエピトープが露呈される可能性が示された。LBの変性過程におけるグリアの関与については、ミクログリアはLB含有神経細胞の変性が進み細胞死に至る以前から関与し、細胞外NFTと同様、細胞外LBの処理過程の初期に役割を終え、一方アストログリアはミクログリア関与後の細胞外LBの後期の処理の役割を担っているものと考えられた。補体はオプソニン化によりミクログリアを活性化することが知られているが、今回LBの変性過程への補体の関与を検討した結果、細胞内LBが抗C3d・C4d抗体で陽性だったことから、ミクログリアが関与する前のLB含有細胞の初期の変性過程から補体のclassical pathwayが活性化されていることが示唆された。細胞内LBは抗amyloid P component抗体でも陽性であり、細胞外NFTと同様、amyloid P componentが補体の活性化因子の一つとして想定される。また、細胞外LBは、 $\alpha$ -シヌクレインの染色性を失い、強い修飾を受けた線維成分として、組織中に長期に渡って残遺することが示された。

- ③ DLBは一つの疾患単位というより、異なる疾患にまたがる包括的概念とみなすのが適当である。このことは、DLBの適切な亜型分類が、DLBの臨床診断をなす上でも重要であることを意味している。今回の研究で、われわれはDLBを病理学的診断基準に基づいて分類し、各々の亜型と臨床所見との関係を検討した。検討された臨床所見には必須所見としての進行性痴呆、中核所見としてのパーキンソニスム、動揺性認知障害と幻視が含まれる。われわれの診断基準により分類された亜型の臨床病理学的特徴を表に示す。新

皮質型(通常型)は、DLBで最も頻度の高い亜型であり、初老期ないし老年期に発症し、比較的短い経過をたどる。この亜型は記憶障害を主とした痴呆で始まり、後にパーキンソニスムを呈することが多い。パーキンソニスムは寡動と筋強剛が主体で振戦は目立たず、病末期になって初めて顕在化することもある。痴呆の程度は通常中程度であり、動揺性認知障害と幻視が明瞭にみられる。すなわち、この亜型はDLBに特徴的とされる臨床病理所見を完全に満たし、DLBDの通常型に相当する。新皮質型(純粋型)は、まれであるが特徴をもった亜型である。中年期に発症し、長い経過をたどる。パーキンソニスムで始まり、後に痴呆を呈する。パーキンソニスムは高度であり、寡動・筋強剛・振戦を伴いパーキンソン病のそれに類似する。痴呆の程度は高度で、動揺性認知障害と幻視はときに不明瞭である。この亜型はDLBDの純粋型に相当する。辺縁型(通常型・純粋型)は、初老期に発症し、長い経過をたどる。パーキンソン病に類似したパーキンソニスムで発症し、後に痴呆を呈するが、その程度は軽い。動揺性認知障害と幻視はときに不明瞭である。これらはレビー小体病の移行型にほぼ相当する。大脳型(通常型)は、パーキンソニスムが死亡直前にみられる以外は新皮質型(通常型)にきわめて類似し、連続的なものと考えられる。SDAT型は、老年期に発症し、比較的短い経過をたどる。記憶障害を主とした痴呆で始まり、後にパーキンソニスムを呈し、新皮質型(通常型)に似るが、痴呆の程度はより高度である。動揺性認知障害と幻視は明瞭である。AD型は、初老期ないし老年期に発症し、経過は短い。痴呆で発症し、パーキンソニスムを欠き、痴呆の進行は急激であるが高度には至らない。動揺性認知障害と幻視はときに不明瞭である。今回の研究から、DLBはわれわれ

の病理学的診断基準に基づいて複数の亜型に分類され、各々の亜型は特徴ある臨床所見の組み合わせを有することが示された。ガイドラインの臨床診断基準に従うと、確実にDLBと診断されるのは新皮質型(通常型)のみであり、AD型はDLBとは診断されないことになり、亜型により臨床診断の信頼度に差が生ずることになる。このことは、DLBを一つの疾患単位として想定した操作的診断基準により臨床診断を行うことの限界を示しており、適切なDLBの亜型分類に基づき、各亜型の臨床的特徴を踏まえて臨床診断を行うことが、より誤りのない結果に導くものと考えられる。

## E. 結論

今回の研究で、レビー小体(LB)の変性機序の検討を $\alpha$ -シヌクレイン免疫組織化学を用いて検討した結果、ミクログリアはLB含有細胞の変性から細胞外LBまで関与し、アストログリアは細胞外LBにのみ関与しており、LB含有細胞の変性過程で補体のclassical pathwayが活性化されていることが示唆された。また、われわれの作成した病理学的診断基準により、レビー小体型痴呆(DLB)は複数の病理学的亜型に分けられ、各々は臨床所見と特徴ある対応を示し、DLBの核となるのはびまん性レビー小体病(DLBD)に相当する亜型であることが示された。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Frequent coexistence of Lewy bodies and neurofibrillary tangles in the same neurons of patients with diffuse Lewy body disease. *Neurosci Lett*, 265, 9-12, 1999
- 2) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Clinicopathological multiplicity of dementia with Lewy bodies. *Neuropathology* 19, 386-394, 1999

- 3) Marui W, Iseki E, Kosaka K, et al: An autopsied case of Down syndrome with Alzheimer pathology and  $\alpha$ -synuclein immunoreactivity. *Neuropathology* 19, 410-416, 1999
- 4) Shiozaki K, Iseki E, Kosaka K, et al: Alterations of muscarine acetylcholine receptor subtypes in diffuse Lewy body disease: relation to Alzheimer's disease.
- 5) Marui W, Iseki E, Kosaka K, et al: Occurrence of human  $\alpha$ -synuclein immunoreactive neurons with neurofibrillary tangle formation in the limbic areas of patients with Alzheimer's disease. *J Neurol Sci*(in press)
- 6) Iseki E, Marui W, Kosaka K, et al: Degeneration process of Lewy bodies in the brains of patients with dementia with Lewy bodies using  $\alpha$ -synuclein immunohistochemistry. *Neurosci Lett* (in press)

その他、省略

### 2. 学会発表

- 7) 角田貞治、井関栄三、小阪憲司他、非痴呆高齢者脳における老人斑と神経原線維変化の分布の定量的検討—アルツハイマー型老年痴呆および limbic neurofibrillary tangle dementia との関係、第40回日本神経病理学会、1999
- 8) 丸井和美、井関栄三、小阪憲司他、アルツハイマー病脳における神経原線維変化形成を伴う $\alpha$ -シヌクレイン陽性神経細胞の検討、第18回日本痴呆学会、1999
- 9) 丸井和美、井関栄三、小阪憲司他、レビー小体型痴呆の臨床病理学的多様性の検討、第21回日本生物学的精神医学会、1999
- 10) 加藤雅紀、井関栄三、小阪憲司他、びまん性レビー小体病の扁桃中心亜核と黒質・青斑核病変との関連、第40回日本神経病理学

会、1999

- 1 1) 高橋恵、井関栄三、小阪憲司他、びまん性レビー小体病脳における cdk5 とレビー小体との関連、第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 2) 日野博昭、井関栄三、小阪憲司他、痴呆性変性疾患の海馬病変におけるプレセニン 1 の免疫組織化学的検討、進行性痴呆を呈した脳アミロイドアンギオパチー症、第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 3) 金井晶子、井関栄三、小阪憲司他、ピック嗜銀球を欠く非定型ピック病にみられる錐体路変性の神経病理学的検討、第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 4) 桂城俊夫、井関栄三、小阪憲司他、ピック型前頭側頭型痴呆のピック嗜銀球の有無による海馬病変の比較検討、第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 5) 丸井和美、井関栄三、小阪憲司他、びまん性レビー小体病脳では同一神経細胞に  $\alpha$ -シヌクレインとタウ陽性物質が高頻度に共存する、第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 6) 小田原俊成、井関栄三、小阪憲司他、高齢者および痴呆性変性疾患脳における Advanced glycation end products (AGEs) と酸化ストレスの関係について—免疫組織化学的検討—第 40 回日本神経病理学会、1999
- 1 7) 井関栄三、李鋒、小阪憲司他、びまん性レビー小体病の海馬における perforant pathway の変性終末は  $\alpha$ -シヌクレイン陽性である、第 40 回日本神経病理学会、1999  
その他、省略

亜型と病理学的特徴

	LB		NFT	AM	黒質の 神経細胞 脱落	LB 関連 神経突起	海綿状態
	辺縁系	新皮質					
新皮質型 (通常型)	多数	少数	辺縁系 中等度	大脳皮質 中等度	中等度	有	軽度 ～高度
新皮質型 (純粋型)	多数	少数	辺縁系 ごく軽度	なし	高度	有	ごく軽度
辺縁型 (通常型)	少数	稀	辺縁系 軽度	大脳皮質 中等度	中等度	有	ごく軽度 ～軽度
辺縁型 (純粋型)	少数	稀	辺縁系 ごく軽度	なし	高度	有	ごく軽度
大脳型 (通常型)	多数	少数	辺縁系 中等度	大脳皮質 中等度	軽度	有	軽度
SDAT 型	多数	少数	辺縁系 高度	大脳皮質 高度	軽度 ～中等度	有	軽度 ～中等度
AD 型	多数	少数	大脳皮質 高度	大脳皮質 高度	軽度	有	中等度

亜型と臨床的特徴

	発症年齢	臨床経過	初発症状	続発症状	痴呆の 程度	動揺性認知 障害と幻視
新皮質型 (通常型)	初老期 老年期	比較的 短い	痴呆	パーキン ソニスム	中等度	明瞭
新皮質型 (純粋型)	中年期	長い	パーキン ソニスム	痴呆	高度	時に不明瞭
辺縁型 (通常型)	初老期	長い	パーキン ソニスム	痴呆	軽度	時に不明瞭
辺縁型 (純粋型)	初老期	長い	パーキン ソニスム	痴呆	軽度	時に不明瞭
大脳型 (通常型)	老年期	比較的 短い	痴呆	パーキン ソニスム (死亡直前)	中等度	明瞭
SDAT 型	老年期	比較的 短い	痴呆	パーキン ソニスム	高度	明瞭
AD 型	初老期 老年期	短い	痴呆	なし	中等度	時に不明瞭

「脳の老化に関する疾患の病態解明に関する研究」  
痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症の診断基準と鑑別疾患

分担研究者 橋詰良夫 愛知医科大学加齢医科学研究所 教授  
吉田真理 愛知医科大学加齢医科学研究所 助手

研究要旨

非アルツハイマー型痴呆のひとつである痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症の臨床病理学的診断基準を作成し、鑑別疾患を検討した。本疾患は臨床的には前頭側頭型痴呆を示し、古典的筋萎縮性側索硬化症と同質の運動ニューロン障害を示し、ひとつの独立した疾患単位であることを確認した。さらに、本疾患にみられる ubiquitin 陽性神経細胞内封入体が他疾患との鑑別において特異的であり、診断の神経病理学的指標として有用であることを多数例の検討から指摘した。

A. 研究目的

非アルツハイマー型痴呆のひとつである痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症 (ALS-D) の臨床病理学的診断基準を作成し、鑑別疾患を検討した。

B. 研究方法

臨床病理学的に ALS-D と確定診断された自験例 17 例を診断基準の基礎資料とし、過去の剖検報告例を参考にした。自験例は主として神経内科領域からの症例の集積である。

病理学的検索は、通常の HE、KB 染色に加え、Methenamine-Bodian、Holzer、Gallyas-Braak 染色、免疫染色として ubiquitin、tau、GFAP (DAKO) などの免疫染色を施行し、厳密に検討した。

C. 研究結果

1 疾患概念

痴呆と筋萎縮性側索硬化症が相次いで出現し、ともに緩徐に進行する疾患である。筋萎縮性側索硬化症による呼吸筋麻痺のために 2.3 年の経過をたどる場合が多い。

本疾患は「運動ニューロン疾患を伴う初老期痴呆」あるいは「痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症」とよばれ、同一疾患をひとつは痴呆から、ひとつは筋萎縮性側索硬化症の側面からとらえている。本研究は、主として神経内科領域からの症例の集積であり、「痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症」と呼称する。

2 臨床

- ①発症年齢：主として初老期に発症するが、初老期以前から老年期までみられる。
- ②家族歴、既往歴には特記すべきものはない。地域集積性はない。
- ③初発症状：精神症状で発症するケースが多いが、運動ニューロン障害で発症する場合や、両者が同時に出現することもある。精神症状と運動ニューロン障害出現の間隔は 1 年以内が多い。
- ④経過と罹病期間：精神症状と運動ニューロン障害はともに進行し、呼吸筋麻痺で死亡する。
- ⑤筋萎縮性側索硬化症：孤発性の筋萎縮性側索硬化症の診断基準に準じるが、以

下の特徴を示す。

下位運動ニューロン (LMN) 徴候が優位で、上位運動ニューロン (UMN) 徴候は ALS に比して軽度な場合が多い。LMN 徴候は球部、頸部、胸部、腰仙部の 4 領域にて評価するが、球部、頸部、胸部が好発部位である。LMN 徴候が確認されない場合でも、短期間に著明な体重減少を示すことが多い。UMN 徴候が観察されなくても、本疾患を否定はできない。逆に、UMN 徴候が極めて優位な場合は、本疾患の可能性は低い。

⑥ Parkinsonism : 振戦、動作緩慢、筋固縮などの Parkinsonism がみられることは少ない。Parkinsonism が前景にみられる場合は、他疾患との鑑別を要する。

⑦ 除外的症候

感覚障害、小脳失調、自律神経障害、痙攣、ミオクローヌス

⑧ 痴呆 : 前頭側頭葉型痴呆の特徴を示し、痴呆の程度は中等度に留まる場合が多い。自発性の低下、自発語の減少、性格変化、脱抑制的行動異常を示す。情緒障害としては多幸的で無関心な態度がみられ、時に抑鬱的になる場合もある。運動ニューロン障害を伴っているにもかかわらず、病識は乏しい。記銘力低下が軽度みられることがあるが、Alzheimer 病のように高度に進行することはない。失行、失認などの頭頂・後頭葉の高次機能障害がみられることはない。前頭葉徴候として、把握反射、模倣行動、利用行動、保続などがみられる。

自験例での解析結果からの補足

③ 自験例のでは運動ニューロン障害を初診時主訴とする例が、約半数であった。

この頻度は、神経内科領域の特徴と考えられ、初診時には運動ニューロン障害が主訴であることが多く、痴呆や精神症状には家族からも気付かれず、痴呆の正確な評価が困難な場合が存在する。

④ 自験例の解析では平均罹病期間 (人工呼吸器装着例は人工呼吸器装着までとした) は、 $24.5 \pm 9$  ヶ月、7~47 ヶ月であった。

⑥ 自験例では 17 例中 2 例に Parkinsonism が観察された。

3 神経病理学的所見

① 肉眼的所見 : (1) 軽度の前頭葉側頭葉萎縮と脳重の減少を認める。Pick 病のような強い葉性萎縮は通常みられない。萎縮に軽度の左右差を示すことがある。

(2) 黒質の褪色。(3) 脊髓前根の萎縮。

② 組織学的所見 : (1) 前頭側頭葉皮質 II~III 層の軽度の細胞脱落とグリオーシス、海綿状変化、前頭側頭葉極に強調される白質の線維性グリオーシス。(2) 黒質の細胞脱落とグリオーシスは中等度から高度に出現することが多い。扁桃核の変性は、神経細胞の単純萎縮とグリオーシスが主体。(3) 古典的 ALS と同質の運動ニューロン障害。脊髓前角、舌下神経核、顔面神経核の LMN 変性が主体で、残存する運動神経細胞内に Bunina 小体を認める。脊髓前角の障害は頸髄に強く、腰仙髄の変性は軽い。中心前回と錐体路の変性は軽度な場合が多い。脊髓前根の萎縮と、神経原性筋萎縮。

③ 免疫組織学的所見 : Ubiquitin 陽性神経細胞内封入体は神経病理学的指標として重要である。海馬歯状回顆粒細胞、前頭側頭葉皮質 II~III 層小型神経細胞、扁桃

桃核、被殻・尾状核の神経細胞にみられ、tau 陰性、Gallyas-Braak 陰性、 $\alpha$ -synuclein 陰性。組織学的所見に加えて、これらの特徴を示す ubiquitin 陽性神経細胞内封入体が確認できれば、ALS-D として診断確定可能と考えられる。

Ubiquitin 陽性神経細胞内封入体が陰性の場合、ALS-D と診断するのは困難で、他疾患との鑑別が必要である。

④老人性変化：老人斑、Alzheimer 神経原線維変化の出現は生理的範囲に留まる。

⑤その他の封入体：Pick 嗜銀球、Lewy 小体、Gallyas-Braak & Tau 陽性の neurofibrillary tangle や glialfibrillary tangle、 $\alpha$ -synuclein 陽性の神経細胞およびグリア内封入体はみられない。

自験例の解析結果からの補足

①自験 17 例の解析では脳重  $1180 \pm 150$ g (900~1470g)。

③自験例 17 例は全例に ubiquitin 陽性神経細胞内封入体を認めた。

#### 4. 検査所見

本疾患に特異的な検査所見はないが、筋電図で LMN 障害、CT/MRI では前頭側頭葉の萎縮、IMP-SPECT で前頭側頭葉極に強い血流低下がみられ、補助診断として有用である。脳波は末期まで著変を認めない場合が多い。現時点では、本疾患に関連のある遺伝子異常は報告されていない。

#### 5. 鑑別疾患

①ALS：古典的 ALS、球麻痺型 ALS、原発性側索硬化症、広範型 ALS。②Pick 病。③Alzheimer 病、Alzheimer 型老年痴呆。④Argyrophilic grain dementia。

⑤進行性核上性麻痺、皮質基底核変性症。

⑥びまん性 Lewy 小体病、Parkinson 病。

⑦紀伊半島の ALS、Parkinsonism-dementia complex。⑧前頭側頭型痴呆。

#### D. 考察

診断基準では、特に病理学的に ubiquitin 陽性神経細胞内封入体を指標とした。自験例 15 例は典型的 ALS-D であり、2 例はやや非定型例であるがすべて ubiquitin 陽性神経細胞内封入体は陽性である。Ubiquitin 陽性神経細胞内封入体を指標としながら、臨床病理学的に典型例と非典型例を一応区別しておくことは、現時点では必要と考えられる。古典的 ALS との厳密な異同、ubiquitin 陽性神経細胞内封入体の本体は、まだ未解決であり、今後の検討課題である。

#### E. 結論

ALS-D の診断基準を作成し、非アルツハイマー型痴呆のひとつとして本疾患が独立した疾患であることを確定し、ubiquitin 陽性神経細胞内封入体を指標とすることが有用であることを示した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Tanahashi C, Nakayama A, Yoshida M, Hashizume Y et al. MELAS with the mitochondrial DNA3243 point mutation : a neuropathological study.

Acta Neuropathol 99:31-38,2000

2. Wang Y, Hashizume Y, Yoshida M, et al. Pathological changes of the spinal cord in centenarians.



Pathology International 49:118-124,1999

3. Konagaya M, Sakai M, Hashizume Y et al. Multiple system atrophy with remarkable frontal lobe atrophy. Acta Neuropathol 97:423-428,1999

4. Yang Q, Hashizume Y, Yoshida M et al. Neuropathological study of cerebellar degeneration in prion disease. Neuropathology 19:33-39, 1999

5. Yasui K, Hashizume Y, Yoshida M et al. Age-related morphological changes of the central canal of the human spinal cord. Acta Neuropathol 97:253-259,1999

## 2. 学会発表

1. 橋詰良夫, 吉田眞理, 許二赫他: 百歳老人脳における argyrophilic grain の病理学的検討. 第 18 回日本痴呆学会 1999 年 11 月 (熊本)

2. 吉田眞理, 橋詰良夫: 痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症 (ALS-D) 臨床病理学的スペクトラムと鑑別疾患. 第 18 回日本痴呆学会 1999 年 11 月 (熊本)

厚生科学研究費補助金（長寿科学総合研究事業）  
分担研究報告書

皮質基底核変性症の臨床診断について

分担研究者 池田研二 東京都精神医学総合研究所参事研究員

研究要旨

皮質基底核変性症 (CBD) の臨床診断基準を作成した。作成に当たっては、CBDの臨床病理報告例から症状を抽出し、出現頻度から重み付けを行い、必須症状と診断に有用な症状に分けた。作成した診断基準の妥当性を検討した。

A. 研究目的

第一の目的は、皮質基底核変性症 (CBD) の臨床診断法を確立する。診断法の確立には二つの問題がある。一つは、CBDは大脳病変領域の多様性に伴って、臨床症状にもヴァリエーションがあること、もう一つは、近縁疾患である進行性核上性麻痺 (PSP) との類似性である。第二の目的は、これらの問題の解決法の開発にある。

B. 研究方法

自験例と、これまでのCBDの臨床病理報告例の検討から、定型的なCBD（中核群）の臨床診断基準に必須である症状と、必須ではないが出現頻度が高く、診断に有用な症状を抽出した。次いで、診断困難例を診断するために、脳脊髄液を利用した診断法の開発のための基礎的な研究をおこなった。

C. 研究結果

中核群の診断基準：CBDの中核群では、大脳病変が中心溝近傍を含む前頭・頭頂領域にあり、左右差を示す。皮質下では黒質、次いで基底核

に病変が及ぶ。このような病理特徴に対応する臨床症状のなかから、必須症状として、1) 肢節運動失行（手足の運動拙劣）、2) パーキンソニズム（無動・筋強剛、振戦、四肢ジストニア）、の2症状、診断を補強する項目として、1) 症状の左右差、2) 他人の手徴候、3) 痴呆、4) 一側優位の前頭・頭頂萎縮を示す画像所見、を抽出した。

D. 考察

診断困難CBD例の診断法を開発する必要がある。CBDには中核群以外に、前頭萎縮～人格変化を示す群、言語野萎縮～進行性失語を示す群、海馬・内側側頭萎縮～記憶障害を示す群があり、これらの亜型の診断は困難であり、その診断にはCBD, PSPのタウ異常の特徴を特異マーカーとして、脳脊髄液診断に応用する必要がある。特徴の第一は、CBD, PSPはニューロン・グリアタウ異常疾患であり、とくにCBDはタウ異常グリアに富むこと、そして、グリアタウはエクソン3を欠いている点にある。第二に、CBD, PSPは4リピート型タウ異常疾患である。エクソ

ン3およびエクソン10（4リピート型タウ）を特異的に認識する抗タウ抗体を作成し、髄液診断法の開発に供した。

#### E. 結論

CBDの中核群は上記の診断基準で診断可能である。CBDの亜型群の診断には構成タウ異常の特異性を利用した脳脊髄液診断法が必要であり、現在開発中である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Uchihara T, Mizusawa H, Tsuchiya K, Kondo H, Oda T, Ikeda K: Discrepancy between tau immunoreactivity and argyrophilia by the Bodian method in neocortical neurons of corticobasal degeneration. *Acta Neuropathol* 96: 553-557, 1998
- 2) 池田研二: 最近注目されてきた新しい痴呆概念. *精神科治療学* 14: 116-120, 1999
- 3) Arai T, Ueda K, Ikeda K, Akiyama H, Haga C, Kondo H, Kuroki N, Niizato K, Iritani S, Tsuchiya K: Argyrophilic glial inclusions in the midbrain of patients with Parkinson's disease and diffuse Lewy body disease are immunopositive for NACP/ $\alpha$ -synuclein. *Neurosci Lett* 259, 83-86, 1999
- 4) 池田研二, 新井哲明: 皮質基底核変性症とtau蛋白異常. *脳の科学* 21: 711-717, 1999
- 5) 池田研二: 神経原線維変化型痴呆. 石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病. *Clin Neurosci* 17: 898-900, 1999
- 6) Machida Y, Tsuchiya K, Anno M, Ito T, Shimo Y, Wakeshima T, Iritani S, Ikeda K: Sporadic amyotrophic lateral sclerosis with multiple system degeneration: a report of an autopsy case without respirator administration. *Acta Neuropathol* 98:

512-515, 1999

- 7) Tsuchiya K, Ozawa E, Fukushima J, Yasui H, Kondo H, Nakano I, Ikeda K: Rapidly progressive aphasia and motor neuron disease: a clinical, radiological, and pathological study of an autopsy case with circumscribed lobar atrophy. *Acta Neuropathol* 99: 81-87, 2000
- 8) Ikeda K: Neuropathological discrepancy between Japanese Pick's disease without Pick bodies and frontal lobe degeneration type of frontotemporal dementia proposed by Lund and Manchester group. *Neuropathology* (in press), 2000
- 9) Ikeda K, Akiyama H, Arai T, Kondo H, Haga C, Tsuchiya K, Yamada S, Murayama S, Hori A: Neurons containing Alz-50-immunoreactive granules around the cerebral infarction: evidence for the lysosomal degradation of altered tau? *Neurosci Lett* (in press), 2000

## 神経原線維変化型老年痴呆(SD-NFT/LNTD)の病因・病態に関する研究

分担研究者 山田正仁 金沢大学医学部神経内科 教授

**研究要旨** 神経原線維変化(NFT)型老年痴呆(SD-NFTあるいはLNTD)の病因・病態の解明のため、SD-NFTの海馬領域におけるNFT形成と神経変性をアルツハイマー病(広義)(AD)と定量的に比較した。SD-NFTの海馬領域におけるNFT密度はADより有意に高いにもかかわらず、海馬の萎縮、シナプス減少、アストロサイト・ミクログリアの増生はADと比較して有意に軽度であり、両者の神経変性過程の違いが示唆された。各種タウ抗体に対するNFTの免疫反応性についてはSD-NFTとADとで差がなかった。SD-NFTのタウ遺伝子の検索では変異を認めなかった。更に、髄液を用いたSD-NFTの臨床診断法の開発を試みたが、剖検にて確定診断された例で剖検時に採取した髄液は、死後変化のために、タウやアミロイドβ蛋白濃度の評価には不適切であった。SD-NFTをADから鑑別診断するため、髄液などの検体の蓄積や診断マーカーの開発が今後の課題である。

### A. 研究目的

神経原線維変化(NFT)型老年痴呆 [senile dementia of the neurofibrillary tangle type (SD-NFT)あるいはlimbic neurofibrillary tangle dementia (LNTD)] は、アルツハイマー病(広義)(AD)と同様に海馬領域を中心に多数のNFTを有するが、老人斑(SP)に乏しい老年期痴呆である。

本年度は、SD-NFTの病因・病態の解明のため、SD-NFTの海馬領域におけるNFT形成と神経変性をADと定量的に比較し、SD-NFTにおける神経変性の機序を検討した。更に、各種タウ抗体に対するNFTの免疫反応性についてSD-NFTとADとを比較した。また、SD-NFTにおけるタウ遺伝子の変異を検索した。

更に、SD-NFTの臨床診断では同年代で発症するADとの鑑別が困難な場合が多いため、患者髄液を用いたSD-NFTの臨床診断法の開発を試みた。

### B. 研究方法

(1)海馬領域病変の検討：SD-NFT 5例、AD 5例、正常対照 5例の剖検例を対象とした。3群の死亡時年齢、SD-NFT群とAD群の経過年数に有意差はなかった。海馬および海馬傍回を含む切片を通常の神経病理学的染色に加え、抗アミロイドβ蛋白(Aβ)抗体、各種タウ抗体(リン酸化および非リン酸化エピトープを認識)、抗ユビキチン抗体、抗

シナプトフィジン抗体、抗GFAP抗体、Ki-M1P (ミクログリア/マクロファージ系細胞を認識する抗体)で免疫染色し、海馬の萎縮、神経細胞密度、NFT密度、SP密度、シナプス密度、アストロサイトおよびミクログリアの増生を定量的に検討した。

(2)タウ遺伝子の検索：SD-NFT 3例から抽出したDNAを用いた。微小管との結合部位を構成するリピート部分を含むタウのC端側をコードするタウ遺伝子のエクソン9から14およびそれに接するイントロン領域をPCRで増幅し、シーケンサーを用い全塩基配列を決定した。

(3)髄液中のタウおよびAβの検討：神経病理学的に確定診断された例について、剖検時採取した脳脊髄液を用い、ELISA法にてタウおよびAβの定量を試みた。

(倫理面への配慮)

本研究は剖検例を対象にしており、研究目的での検索を含む剖検の御許可をいただいている。

### C. 研究結果

(1)海馬領域病変の検討：SD-NFTの海馬領域におけるNFT密度はADより有意に高いにもかかわらず、海馬の萎縮、シナプス密度、アストロサイトおよびミクログリアの増生はADと比較して有意に軽度であり、両者の神経変性過程の違いが