

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

Research Resource Network 研究

「精神分裂病ロボトミー脳にみられた老年性変化（1）」

分担研究者 織田辰郎 国立下総療養所研究検査科長

研究協力者 富永格、女屋光基（国立下総療養所）

池田研二、秋山治彦（東京都精神医学総合研究所神経病理部門）

研究要旨：ロボトミー術後45年以上を経過した慢性分裂病3例の脳を検索した。2例は grain disease、1例は tangle only dementia と病理診断された。ロボトミー術後脳の長期予後に関する神経病理学的研究は少なく、今回、3例ともに tauopathy の所見であったことは興味深く、今後、症例を増やして検討したい。

A.研究目的

精神分裂病脳の組織形態学的研究の歴史は長いが、現在に至るまで統一した病理所見の見解を得るに至っていない。近年、抗精神病薬長期投与と分裂病脳老年性変化との関連、あるいは分裂病脳における老年性変化の促進を示唆する報告がみられる。これらの研究をふまえ、われわれはロボトミーという脳侵襲をうけた慢性分裂病の脳の検索をはじめた。

B.研究方法

1999年に国立下総療養所において剖検された3例の分裂病ロボトミー脳の組織学的検討をおこなった。

C.研究結果

3例の分裂病ロボトミー脳の病理組織学的所見は、77歳男性および81歳男性は grain disease、85歳女性は tangle only dementia であった。

D.考察

この3例はロボトミー手術後45年以上経過している。病気の性格上、臨床上の痴

呆の発現時期の同定は困難であるが、3例すべてに tauopathy の所見が認められた。分裂病脳の老年性変化に関しては、Soustekら(1989)は慢性分裂病脳のアルツハイマー型(AD)脳病理を検討し、その出現頻度は分裂病患者では一般対照群に比較して6倍の高い危険性を持つことを報告した。また、Wisniewskiら(1994)は、抗精神病薬の治療により高齢の分裂病患者の脳に神経原線維変化の出現が増加すると記述している。一方、これらの結果を否定する報告もある。ロボトミーという脳侵襲の影響、長年にわたる抗精神病薬の服用の影響などを考慮しつつ、症例を増やして検討したい。

E.結論

1999年に国立下総療養所において剖検された3例の分裂病ロボトミー脳は、すべて tauopathy であった。今後、未検索のロボトミー脳（国立下総療養所に10例以上保管）の検討を行うことにより、術後長い年月を経たロボトミー脳の病理所見について明らかにしたい。

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究
分担研究報告書

レビー小体を伴う痴呆およびアルツハイマー病の臨床病理学的検討

分担研究者 樋口 進 国立療養所久里浜病院臨床研究部長

研究要旨 本研究は、平成 10 年度からの継続研究である。臨床症例に関する平成 10 年度研究で、我々は後頭葉皮質における糖代謝低下はレビー小体を伴う痴呆 (DLB) とアルツハイマー病 (AD) の鑑別診断の有力な補助となりうることを明らかにした。また、AD の生物学的マーカーである Apolipoprotein E の $\epsilon 4$ allele や脳脊髄液の tau 蛋白レベルは、2つの疾患を弁別しないことも明らかにした。今年度は DLB、AD および正常脳における定量的な病理学的検討から、後頭葉白質の海綿状変性と反応性グリオシスが糖代謝の低下に関係していることを改めて示した。DLB の後頭葉でも皮質の神経細胞はよく保たれている事実などから、一次的な障害は白質の長投射線維にあり、これが二次的に糖代謝の低下を引き起こしているものと推測された。

A. 研究目的

本研究は、平成 10 年度研究の継続研究である。研究は、生体に対する画像研究および生物学的マーカーの検討を含む臨床研究と、剖検脳を対象とした神経病理学的研究からなる。平成 10 年度は主に臨床研究の結果を中心に報告した。また、剖検脳に対する病理学的な予備的検討から、DLB における臨床研究結果を裏付ける病理学的変化として、白質における海綿状変性とグリオシスの存在が示唆されることも合わせて報告した。

平成 10 年度における臨床研究は、レビー小体を伴う痴呆 (DLB) とアルツハイマー病 (AD) を鑑別する生物学的マーカーとして positron emission tomography (PET) による局所脳糖代謝パターンが使用できることを示すものであった。その概要は以下の通りである。PET と ^{18}F -

fluorodeoxyglucose (FDG) を用いて、AD 症例、DLB) 症例および正常対象者における局所脳糖代謝を測定した。AD および DLB 両群は年齢、性、痴呆の重篤度をマッチングさせた。DLB 群は脳の皮質全般において糖代謝が低下していたが、AD 群と比較すると視覚連合野で著しく低下していた。小脳に対するこの部位の糖代謝比 0.92 を cut-off 点とすると、DLB は AD と敏感度 86%、特異度 91%で判別できた。これに対して、apolipoprotein E (ApoE) および脳脊髄液中の tau 蛋白 (CSF-tau) レベルは両群で差がなかった。

今年度我々は、平成 10 年度に予備的に終わっている脳の病理学的検討をさらに進めた。すなわち、DLB、AD および正常対象者の脳の各部位における白質の海綿状変性、グリオシスを半定量化し、PET のデータと対応させた。また、DLB、

AD の病理学的な hallmark である灰白質における Lewy 小体、neuritic plaque の単位面積当たりの数を測定し、この値と画像データとの対応をも試みた。

B. 研究方法

1. 対象

以下の剖検脳を使用した。19 例の AD 症例 (78.4±7.9 歳、男性 10、女性 9)、17 例の DLB 症例 (76.0±9.3 歳、男性 10、女性 7)、11 例の正常対象者 (68.4±15.5 歳、男性 6、女性 5)。PMI 値は、それぞれ、9.3±4.5 時間、12.5±5.6 時間、9.5±7.3 時間であった。Definite AD の診断は、National Institute of Aging / Reagan Institute Working Group の基準¹⁾にしたがって行った。17 例の DLB 症例のうち 14 例は、同時に AD の病理 (神経原線維変化) を示していた。

2. 病理学的検討

検討した脳の部位は以下の通りである。前頭葉 (BA 8 および 9)、側頭葉 (BA22)、頭頂葉 (BA39)、後頭葉 (BA17 および 18)、海馬および内嗅領皮質、帯状回 (BA24)、小脳。免疫組織染色における染色の標的と使用抗体は以下の通りである。Neuritic plaque の染色には、抗ユビキチン抗体である mAb1510 または抗タウ抗体である AT8 および PHF-1 を使用した。Lewy 小体の染色には、mAb1510 または我々が新たに作成した抗 α -synuclein 抗体である α -SYN を使用した。反応性の astrocyte の染色には、antigial fibrillary acidic protein 抗体を使った。

3. 定量化

1) 海綿状変性と反応性グリオシス

白質における空胞変性の程度と反応性の astrocyte の数から以下の 4 段階に分けた。-: absent、+: mild、2+: moderate、3+: severe。なお、astrocyte 数の計測は、以下の Lewy 小体および neuritic plaque 数の計測方法に従った。

2) Lewy 小体、neuritic plaque 数の計測

1 mm² に存在する Lewy 小体、neuritic plaque 数は、1 部位につき 3 箇所、各々 2 回ずつ数え、3 箇所の平均をその値とした。

C. 研究結果

対象例の個々のデータは表にまとめている。臨床例を対象とした脳の画像検査で、後頭葉の視覚連合野近辺の糖代謝が、DLB と AD および正常対象者を良く弁別することを明らかにした。今回の病理学的検索で、この周辺に認められた DLB における糖代謝の低下を説明しうる病変は、白質を中心とした海綿状変性と反応性のグリオシスであることが改めて示唆された。この付近では、Lewy 小体数は、AD と DLB 間でほとんど差を認めず、また、neuritic plaque 数は、むしろ AD で高い傾向があった。さらに、後頭葉以外の部位における糖代謝率と海綿状変性の程度は AD においても DLB においても互いに鏡像関係にある傾向が認められた。

A36 は、生前に PET を施行し、死後剖検脳を検索し得た唯一の症例である。この症例においても脳の各部位における糖代謝率と海綿状変性およびグリオシスの程度は互いに鏡像関係にあることが確

認された。

D. 考察

臨床症例に関する平成 10 年度の研究成果から、後頭葉皮質における糖代謝低下は DLB と AD の鑑別診断の有力な補助となりうるということが明らかにされた。また、AD の生物学的マーカーである ApoE の $\epsilon 4$ allele や CSF-tau レベルは、2つの疾患を弁別しないことも明らかにされた。今年度は DLB、AD および正常対象脳の詳細な病理学的検討から、後頭葉白質の海綿状変性と反応性グリオースが糖代謝の低下に関係していることが改めて示された。

本研究における方法論上の問題点は、臨床研究と病理学的検索を行った対象が異なる点である。しかし、例外として画像検査と剖検脳の検索をしえた症例が 1 例存在した。その症例の脳の各部位における海綿状変性の程度と糖代謝との関係をもと、他の症例で認められた鏡像関係がこの症例においても確認された。この結果は、DLB 症例の後頭葉に認められた糖代謝の低下は、白質における海綿状変性と反応性のグリオースが関係しているという我々の解釈を支持していると思われる。

平成 10 年度の報告でも触れたが、DLB における海綿状変性の存在、および後頭葉における糖代謝の低下は以前から報告されていた²⁾。本研究の貢献は、これらの部位における病理学的変化を定量的に検討することで、画像の所見と病理を関連づけたことにある。本研究から、DLB における後頭葉の特徴的な海綿状変性お

よび反応性のグリオースの発生機序やその臨床的な意義を明らかにすることはできなかった。この点については、今後に重大な課題を残すことになった。しかし、脳の画像との関係に関しては、皮質の神経細胞はよく保たれている事実などから、一次的な障害は皮質間または皮質-皮質下間を結ぶ長投射線維にあり、これが二次的に糖代謝の低下を引き起こしているものと推測された。

E. 結論

平成 10 年度の研究成果から、後頭葉皮質における糖代謝低下は DLB と AD の鑑別診断の有力な補助となりうるということが明らかにされた。今年度行った DLB、AD および正常対象脳の詳細な神経病理学的検討から、白質における海綿状変性と反応性のグリオースがこの特徴的な PET 所見に関係していることが改めて示された。今後、後頭葉の糖代謝低下が報告されている痴呆を伴うパーキンソン病を含め、さらに症例を増やしてその特異性などについて検討される必要がある。その際、画像と脳病理をともに検索できる症例の追加は不可欠である。

F. 文献

- 1) Anonymous. Consensus recommendations for the post-mortem diagnosis of Alzheimer's disease: The National Institute of Aging, and Reagan Institute working group on diagnostic criteria for the neuropathological assessment of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1997; 18: S1-S2.

- 2) Albin RL, Minoshima S, D'Amato CJ, Frey KA, Kukl DA, Sima AAF. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography in diffuse Lewy body disease. *Neurology* 1996; 47:462-466.

G. 研究発表

1. 論文発表

Higuchi M, Tashiro M, Arai H, Okamura N, Hara S, Higuchi S, Itoh M, Shin R-W, Trojanowski JQ, Sasaki H. Glucose hypometabolism and neuropathological correlates in brains of dementia with Lewy bodies. *Exp Neurol* 2000; 162: 247-256.

2. 学会発表

特になし。

H. 知的所有権の取得状況

特になし。

表 DLB, AD, 正常者脳の各部位における白質の海綿状変性、グリコーシスの程度と灰白質の Lewy 小体、neuritic plaque の単位面積当たりの数の比較

Disease	Case number	Age (years)	Sex	PMI (hours)	Frontal			Temporal			Parietal			Occipital			Cerebellum			Cingulate			Hippocampus				
					Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P	Sp	Gl	L P		
AD	A1	77	M	2	+	2+	0 6	-	0 9	+	+	+	-	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 26
	A2	76	M	7	-	+	0 43	+	+	+	+	+	+	+	0 20	-	+	0 20	+	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 46
	A3	82	M	5	-	3+	0 34	-	0 29	+	+	+	+	+	0 54	-	+	0 54	-	+	0 0	-	+	0 0	-	2+	0 23
	A4	78	F	10	-	2+	0 30	-	0 48	+	+	2+	+	+	0 36	-	+	0 36	-	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 34
	A5	85	M	11	-	2+	0 20	-	0 14	+	+	+	+	+	0 25	-	+	0 22	-	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 29
	A6	77	F	6	-	3+	0 37	-	0 39	+	+	2+	+	+	0 36	-	+	0 32	-	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 29
	A7	84	F	17	-	2+	0 14	-	0 9	-	2+	0 0	-	2+	0 17	-	+	0 30	-	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 29
	A8	92	F	8	-	2+	0 39	-	0 24	+	+	2+	+	+	0 30	-	+	0 30	-	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 29
	A9	74	M	9	+	2+	0 14	+	0 6	+	+	2+	+	+	0 15	+	+	0 15	3+	+	0 0	+	+	0 0	-	3+	0 33
	A10	86	F	17	-	-	0 10	+	0 17	+	+	2+	+	+	0 16	-	2+	0 16	-	2+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A11	73	M	11	-	3+	0 21	-	0 27	+	+	2+	+	+	0 24	+	+	0 24	-	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A12	74	M	11	-	3+	0 32	-	0 16	+	+	2+	+	+	0 15	+	+	0 15	2+	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A13	82	F	17	-	3+	0 34	-	0 43	+	+	2+	+	+	0 44	+	+	0 44	-	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A14	56	M	5	-	3+	0 31	-	0 30	+	+	2+	+	+	0 16	+	+	0 16	-	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A15	71	F	10	+	3+	0 26	-	0 42	+	+	2+	+	+	0 37	+	+	0 37	-	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A16	77	F	5	+	2+	0 5	+	0 8	+	+	2+	+	+	0 18	+	+	0 18	-	+	0 0	+	+	0 0	-	-	0 21
	A17	74	F	6	2+	3+	0 3	+	0 8	+	+	2+	+	+	0 8	+	+	0 8	-	+	0 0	+	+	0 0	-	2+	0 31
	A18	89	M	14	+	2;	0 19	+	0 13	+	+	+	+	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 31
	A19	82	M	15	+	+	0 25	+	0 27	+	+	2+	+	+	0 20	+	+	0 20	-	+	0 0	+	+	0 0	-	+	0 31
DLB	A20	71	M	8	+	2+	17 23	-	23 25	-	2+	14 4	+	3+	0 9	+	3+	0 9	+	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 29
	A21	75	M	6	+	+	11 21	+	29 30	+	+	+	+	+	3 8	+	+	3 8	+	+	3 0	+	+	0 0	+	+	0 29
	A22	88	F	20	+	+	3 15	+	3 19	2+	+	3 21	+	2+	0 12	2+	+	0 12	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	2+	0 40
	A23	71	M	22	+	2+	3 19	2+	0 23	2+	+	0 17	+	3+	0 15	2+	+	0 15	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	+	0 25
	A24	65	F	16	2+	3+	0 16	+	0 6	+	+	0 20	+	2+	0 4	2+	+	0 4	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	3+	0 21
	A25	58	M	11	2+	+	0 0	2+	0 6	+	+	3 0	+	3+	0 0	2+	+	0 0	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	2+	0 20
	A26	71	M	20	+	2+	0 19	+	0 9	+	+	2 0	+	2+	0 0	2+	+	0 0	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	2+	0 20
	A27	83	F	15	+	3+	11 0	+	9 0	+	+	3 6	+	3+	0 0	2+	+	0 0	2+	+	0 0	+	+	0 0	+	3+	0 20
	A28	74	F	4	-	3+	6 17	+	6 36	+	+	3 9	+	+	0 30	+	+	0 30	+	+	0 0	+	+	0 0	-	2+	0 24

表の続き

Disease Case number	Age (years)	Sex	PMI (hours)	Frontal			Temporal			Parietal			Occipital			Cerebellum			Cingulate			Hippocampus																						
				Sp	Gl	P	Sp	Gl	P	Sp	Gl	P	Sp	Gl	P	Sp	Gl	P	Sp	Gl	P	Sp	Gl	P																				
DLB	A29	M	13	+	+	30	+	+	37	-	2+	3	25	2+	3+	0	2+	+	3	2+	2+	3	23	2+	2+	0	2+	+	0	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0			
	A30	F	6	+	3+	3	+	+	0	2+	3+	3	3	2+	3+	3	2+	+	0	2+	+	17	4	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A31	M	14	2+	3+	3	2+	2+	0	3+	2+	3	0	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	9	39	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A32	F	16	2+	2+	3	2+	2+	0	2+	2+	3	37	2+	2+	3	2+	+	3	2+	+	3	30	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A33	M	14	-	3+	6	2+	2+	0	2+	2+	6	28	2+	2+	3	2+	+	6	2+	+	14	21	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A34	M	10	+	+	3	+	+	0	2+	2+	6	10	2+	3+	14	2+	+	0	2+	+	16	16	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A35	M	14	2+	+	3	+	+	0	2+	+	3	27	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	15	15	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0	2+	+	0
	A36	F	4	2+	2+	17	2+	2+	0	2+	3+	15	12	3+	3+	12	3+	3+	12	3+	3+	8	8	3+	2+	0	3+	2+	0	3+	2+	0	3+	2+	0	3+	2+	0	3+	2+	0	3+	2+	0
Normal	A37	M	10	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0
	A38	F	17	+	2+	0	+	2+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0
	A39	M	10	-	2+	0	-	2+	0	-	+	0	0	2+	2+	0	2+	+	0	2+	+	3	3	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0
	A40	F	24	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	-	+	2+	0	+	0	-	+	0	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A41	F	9	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	2+	+	0	+	+	0	2+	+	7	7	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A42	M	14	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A43	M	4	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	2+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A44	M	4	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A45	M	2	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A46	F	1	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0
	A47	F	NA	-	+	0	-	+	0	-	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0	-	+	0

Sp: Spongiform change

Gl: Gliosis

L: Number of Lewy bodies / mm²

P: Number of neuritic plaques / mm²

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

長期経過のパーキンソン病にみられる神経病理学的特徴

分担研究者：加知輝彦 国立療養所中部病院第一神経内科医長

共同研究者：吉田真理 橋詰良夫 宮石 理 鷺見幸彦 山田孝子

研究要旨

20年以上の長期経過の Parkinson 病(PD) 3 例を臨床病理学的に検討した。3 例は典型的な PD の経過をたどり、強い痴呆や精神症状は明らかではなかった。病理学的には典型的な PD の所見に加えて、大脳皮質には Lewy 小体が多数出現し、Lewy 小体型痴呆(DLB)に特徴とされる spongiform change や海馬 CA2-3 の Lewy neurite を認め、DLB と共通した変化が観察された。

A. 研究目的

Parkinson 病(PD)は中高年以降に発症する代表的な神経変性疾患で、その有病率は高く、病期も長期にわたることが特徴である。PD の薬物治療の進歩や高齢社会を背景に、その有病率は最近人口 10 万人当たり 50 から 100 程度と、従来考えられているより高いことが指摘されている。また、近年痴呆の原因疾患として、Alzheimer 病について、初期から痴呆が前景となることが特徴である Lewy 小体型痴呆(DLB)が多いという報告があり、PD や DLB は社会医学的にもきわめて重要な疾患のひとつである。典型的な PD では、初期には痴呆はみられず、経過とともに運動障害が進行して ADL が低下し、認知機能も障害されてくる。このような認知機能障害は皮質下性痴呆として、大脳基底核が責任病巣として考えられていた。一方、痴呆が初期から出現する DLB では、大脳皮質に多数の Lewy 小体が出現することに加えて、entorhinal cortex に spongiform change や海馬 CA2-3 に出現する Lewy neurite が、病理組織学的特徴であると報告されてきて、辺縁系を主体とする大脳皮質の変性が指摘されている。今回われわれは、典型的な PD の

長期経過例の病理学的特徴を DLB と対比検討した。

B. 研究方法

臨床的に典型的な PD の経過を辿った 20 年以上の長期経過例の 3 例剖検脳を用いて、McKeith らの dementia with Lewy bodies の病理学的ガイドライン (Neurology47:1996)に従い Lewybody score を測定し、entorhinal cortex における spongiform change や海馬 CA2-3 の Lewy neurite の出現を観察した。病理学的検索はホルマリン固定、パラフィン包埋した大脳、脳幹部の各切片を HE、K-B 染色、Gallyas-Braak 染色、ubiquitin (DAKO1:400)、 α -synuclein (DAKO1:400)、AT-8 (Inno-genetics1:500)の免疫染色を施行した。脳幹部、大脳皮質、基底核の細胞脱落とグリオシス、Lewy 小体の出現頻度、Alzheimer 神経原線維変化(NFT)、老人斑(SP)を観察した。Lewy body score の測定には HE 染色を用いた。

C. 研究結果

1. 対象：症例 1 死亡時年齢 73 歳、男性、全経過 27 年、脳重 1260g。症例 2 死亡時年齢 73 歳、男性、全経過 27 年、脳重 1210g。症例 3 死亡時年齢 86 歳女性、全経過 22 年、脳重 1000g。症例 1 で

は発症 17 年後より幻覚、妄想、自発性低下がみられ、症例 2 と 3 では発症 23 年、16 年頃から発動性の低下が出現したが幻覚や妄想はみられなかった。

2. 病理学的所見: Parkinson 病の所見として黒質、青斑核、迷走神経背側核の高度の細胞脱落とグリオオーシス、Lewy 小体の出現。脊髄中間質外側核の軽度の細胞脱落と Lewy 小体の出現。交感神経節の細胞は比較的良好に残存しているが多数の Lewy neurites を認める。大脳皮質はいずれも軽度の前頭葉側頭葉の萎縮がみられ、特に側頭葉内側面、島葉、帯状回などの辺縁系に目立ち、海馬傍回の萎縮、側副溝の拡大を認めた。皮質の深層の小型神経細胞には皮質型 Lewy 小体の多発していたが、神経細胞の強い脱落やグリオオーシスはみられなかった。

3. Lewy body score は症例 1 が 6 点、症例 2 が 7 点、症例 3 が 9 点であった。症例 1 は limbic form (transitional form)、症例 2 と 3 は neocortical form を示した。Lewy 小体はいずれも辺縁系で多発していた。Spongiform change は・中等度・軽度・軽度、Lewy neurite は・中等度・軽度・軽度にみられ、3 例すべてに DLB に特徴とされる所見が認められた。SP や NFT は 3 例とも生理的範囲内であった。

D. 考察

3 例では辺縁系を主体に Lewy body が多発し、spongiform change や Lewy neurite がみられたことは、典型的な PD においても DLB と同様の神経病理学的変化が出現していると考えられる。DLB ではこれらの変化が早期から出現し、通常の PD ではきわめて緩徐に同様の変化が進行している可能性が考えられる。また 3 例では皮質の変性が DLB に比して軽度であることも特徴だった。3 例は SP や NFT などの老人性変化が乏しく、いわゆる純粋型であり Alzheimer 型痴呆の修飾がみられないことが皮質の変性を軽微にしている可能性は考えられる。また、神経細胞内の Lewybody 以外に neuropil

の神経突起の変性が DLB の皮質病変に関与している可能性も指摘されており、今後さらに症例を蓄積して PD の自然経過の病理像を検討することが課題である。

E. 結論

20 年以上の長期経過の典型的な PD においても、大脳皮質の Lewy 小体の出現頻度は増加し、DLB に特徴とされる spongiform change、Lewy neurite を認め、DLB と共通した病理学的変化が観察された。

F. 研究業績

1. 論文発表

Nagano AS, Ito K, Kato T, Arahata Y, Kachi T, Hatano K, Kawasumi, Nakamura A, Yamada T, Abe Y, Ishigaki T: Extrastriatal mean regional uptake of fluorine-18-FDOPA in the normal aged brain-an approach using MRI-aided spatial normalization. *NeuroImage* 2000; 11: 760-766

加知輝彦: 脳画像検査。パーキンソン病—診断と治療—

— (柳澤信夫 編), 金原出版, 東京, 2000 (7 月 10 日), p.45-52

2. 学会発表

新畑豊, 加知輝彦, ほか: パーキンソン病におけるドーパミン神経系の障害と大脳皮質糖代謝の関連に関する研究。第 41 回日本神経学会総会, 2000 年 5 月 24 日, 松本

加藤隆司, 加知輝彦, ほか: パーキンソン病の中脳におけるドーパミン神経系の変化の [F-18]FDOPA PET による検討。第 41 回日本神経学会総会, 2000 年 5 月 25 日, 松本

阿部祐士, 加知輝彦, ほか: 痴呆を伴う ALS における線条体 F-18-DOPA 取り込みの検討。第 41 回日本神経学会総会, 2000 年 5 月 26 日, 松本

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

進行性核上性麻痺における脊髄病変の検討に関する研究

分担研究者: 饗場郁子 国立療養所東名古屋病院神経内科

研究協力者: 岩崎 靖 祖父江 元 名古屋大学医学部神経内科

吉田眞理 橋詰良夫 愛知医科大学加齢医科学研究所

研究要旨

臨床病理学的に PSP と診断された 3 症例で脊髄における細胞骨格異常の分布および程度について検討した。主として脊髄灰白質内側群と中間帯の病変が強く、神経突起の変性と小型の介在 neuron の障害が関与していることが示唆された。

A. 研究目的

進行性核上性麻痺（PSP）では大脳半球から脳幹、小脳まで広範に細胞骨格異常が生じているが、脊髄病変の詳細な報告は少ない。今回われわれは臨床病理学的に PSP と診断された 3 症例について脊髄病変を観察し、脊髄における細胞骨格異常の分布および程度について検討したので報告する。

B. 研究方法

対象は臨床病理学的に PSP と確定診断された 3 例。症例 1: 死亡時年齢 81 歳男性、全経過 6 年、脳重 1150g。症例 2: 死亡時年齢 83 歳女性、全経過 4 年、脳重 1090g。症例 3: 死亡時年齢 72 歳女性、全経過 6 年 2 ヶ月、脳重 1080g。病理組織学的検索はホルマリン固定、パラフィン包埋した脊髄の各髄節に H-E 染色、K-B 染色、Gallyas-Braak 染色(G-B 染色)、AT-8 免疫染色 (Innogenetics 1:500) を施行し、神経細胞減少、グリオシス、神経原線維変化(NFT)、Glial fibrillary tangle(GFT)、neuropil thread(NT)の

分布及び程度を連続的に観察した。

C. 研究結果

脊髄の横断面では頸髄、胸髄で前側索の軽度萎縮と淡明化を認めた。脊髄灰白質では前角内側群と中間帯における小型神経細胞の減少とグリオシスが頸髄で目立ち、大型の前角細胞や中間質外側核、Clarke 柱、後角は比較的よく保たれていた。G-B 染色では灰白質全体に NT がみられ、特に前角内側群と中間帯の小型神経細胞に NFT と多数の NT が出現し、頸髄に多く腰仙髄では少ない傾向を示した。大型の前角細胞や中間質外側核、Clarke 柱、後角での NFT の出現は少数であった。典型的な tuft-shaped astrocyte は観察されなかった。AT-8 免疫染色では G-B 染色とほぼ同様の傾向を示し、より広範に陽性の所見を認めた。白質では NT と少数の coiled body がみられ、前索の内側縦束を含む前角周囲および脊髄網様体に多い傾向があった。

D. 考察および結論

PSP では脊髄にも細胞骨格異常が出現していた。

主として脊髄灰白質内側群と中間帯の病変が強く、神経突起の変性と小型の介在 neuron の障害が関与していることが示唆された。

F. 研究発表

学会発表

・饗場郁子, 橋詰良夫, 吉田眞理, 齋藤由扶子, 片山泰司, 横川ゆき, 山岡朗子, 安田武司. 小脳性運動失調の目立った進行性核上性麻痺の神経病理学的検討. 第 41 回日本神経病理学会総会学術研究会. (米子) 2000.6.1.

・片山泰司, 山岡朗子, 横川ゆき, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 安田武司, 吉田眞理, 橋詰良夫. 著明な側頭葉萎縮を伴い, Pick 嗜銀球様の封入体が多数出現した全経過 25 年の多系統萎縮症の 1 剖検例. 第 41 回日本神経病理学会総会学術研究会.

(米子) 2000.6.2.

・後藤敦子, 山岡朗子, 片山泰司, 横川ゆき, 伊藤信二, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 伊藤栄一, 橋詰良夫, 吉田眞理. 高血圧を伴わない若年発症の Binswanger 病の 1 例. 第 37 回名古屋臨床神経病理アカデミー (名古屋) 2000.7.15.

・ Watanabe, T. Ieda, T. katayama, A. Takeda, I. Aiba, M. Doyu, M. Hirayama, G. Sobue. Cardiac 123I-MIBG uptake can distinguish dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease-A preliminary study-. Clinical autonomic research society and European federation of autonomic societies joint meeting, London, 2000.7.15.

・後藤敦子, 山岡朗子, 片山泰司, 横川ゆき, 伊藤信二, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 伊藤栄一, 吉田眞理, 橋詰良夫. 高血圧を伴わない Binswanger 型白質脳症の 1 剖検例. 第 98 回日本神経学会東海北陸地方会 (名古屋), 2000.10.21.

・饗場郁子, 齋藤由扶子, 後藤敦子, 伊藤信二,

横川ゆき, 片山泰司, 山岡朗子, 伊藤栄一, 吉田眞理, 橋詰良夫. 小脳性運動失調の目立った進行性核上性麻痺の 1 剖検例. 第 98 回日本神経学会東海北陸地方会 (名古屋), 2000.10.21.

・片山泰司, 山岡朗子, 後藤敦子, 横川ゆき, 伊藤信二, 齋藤由扶子, 饗場郁子, 伊藤栄一, 吉田眞理, 橋詰良夫. 臨床上, dementia with Lewy bodies(DLB) が疑われた corticobasal degeneration(CBD)の 1 剖検例. 第 28 回神経神経病理懇話会 (津), 2000.11.26.

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）

分担研究報告書

精神分裂病死後脳におけるシナプス蛋白に関する研究

分担研究者：杠 岳文 国立肥前療養所神経科医長

研究協力者：中原 辰雄 九州大学理学部助教授

本村 啓介 国立肥前療養所精神科

研究要旨：本年度は、まず精神分裂病死後脳の生化学的研究のためのサンプルの採取方法について検討し、国立肥前療養所と国立下総療養所に凍結保存された脳 30 例からこれまでに神経病理学的に異常を指摘されている部位を中心に厳密に採取部位を規定しながら各症例 12 箇所からのサンプル収集を行った。今後このサンプルを用いてシナプス蛋白の検討を行う予定である。

A. 研究目的

精神分裂病発症における器質的要因の解明は待望久しい研究課題であるが、混沌としており、未だ病因に結びつくようなめぼしい成果が得られていない。われわれは、シナプス前ニューロン末端からの神経伝達物質の開口放出に関連する一群の蛋白であり、神経伝達の変化を伴う様々な病態に関与が考えられるシナプス蛋白に注目し、平成9年度からラットを用いた基礎的研究を行い、本年度はヒト脳でのシナプス蛋白測定に着手すべく、ヒト精神分裂病死後脳のサンプル収集を国立下総療養所と共同研究として行った。また、本年度ブレインバンクには新たに精神分裂病4例、アルツハイマー病2例、アルコール依存症1例、レビー小体病1例、ハンチントン舞踏病1例、脳血管性痴呆1例の計10例を登録した。

B. 研究方法

本年度は、国立肥前療養所に凍結保存されている精神分裂病脳 20 例と国立下総療養所に保存されている 10 例で、いずれも当研究班で作成された「病理解剖に関する遺族の承諾書」により遺族から研究目的での組織の利用について承諾が得られている症例である。

これらの症例についてこれまでの基礎的研究の結果から精神分裂病発症に関連が深いと考えられる部位を選び、それぞれの症例で同一部位が採取できるように厳密に位置決めをしながら凍結脳からのサンプリングを行った。以下、実際に行ったサンプリングの方法を中心に報告する。

C. 研究結果

1) ヒト凍結脳からの検体の採取方法について

われわれは、まず 1cm 幅で切り出された -80℃ の凍結半球切片からアトラスを参照しながら正確に位置決めを

し、凍結されたステンレス盤上で冷却した小型のノミを用いて 200mg 程度ずつを削り取り、その部位をアトラス上にマッピングしながら小型の冷却したスピッツ 3 本に分注した。作業は迅速に行い、凍結脳も作業時以外は薄めの凍結したステンレス盤で覆い、小型のスピッツも下面と上面をステンレス盤で覆いながら組織が解凍しないように注意を払った。これらの方法により、作業中組織が融解することなくサンプリングが可能であった。

2) ヒト凍結脳からの検体採取部位について

上記 1) の方法でサンプリングを行った場所は、左右いずれかの半球の①frontal pole (Brodmann area 10)、②anterior cingulate gyrus (Brodmann area 24)、③dorso-lateral frontal gyrus (Brodmann area 46)、④caudate nucleus、⑤putamen、⑥nucleus accumbens、⑦ medio-dorsal thalamus、⑧ hippocampus、⑨ superior temporal gyrus (Brodmann area 22)、⑩ ventral tegmental area、⑪ substantia nigra、⑫ occipital pole (Brodmann area 18) の計 12 箇所である。これらの部位は精神分裂病に関するこれまでの神経病理学的検討で、神経細胞、軸索、シナプス、シナプス蛋白などの変化が既に報告された (Harrison PJ、1999) 部位を含むように選択したものである。

D. 考察および結語

本年度は、精神分裂病死後脳の生化学的検索に用いるサンプルの採取方法を中心に検討し、凍結保存した脳が作業中に解凍しないような方法を工夫しながら、精神分裂病死後脳 30 例のサンプリングを行った。今後これらのサンプルを用いてシナプス蛋白の検討を行う予定である。

筋萎縮性側索硬化症における Cu,Zn-SOD 遺伝子変異の研究

分担研究者 井原雄悦 国立療養所南岡山病院 神経内科医長
臨床研究部治療開発研究室長

研究要旨

患者または遺族の同意を得て次の研究を行った。Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子の Exon5 に Leu126Ser の点突然変異を示す家族性筋萎縮性側索硬化症の 2 家系 4 症例について、codon126 の変異を認めた既報告例と臨床所見を比較し、SOD1 遺伝子変異部位と臨床所見の関連を検討した。また、本剖検例の病理所見を過去の SOD1 遺伝子変異を伴った剖検報告例と比較し、SOD1 変異部位と病理所見の関連も検討した。今回報告した 2 家系 4 症例は、下肢遠位部の筋力低下と筋萎縮で発症し比較的緩徐進行性で、1 次運動ニューロン症状を認めず、臨床症状は類似していた。病理学的にも 2 次運動ニューロンの障害が強く、1 次運動ニューロン障害は軽度であった。本剖検例は脊髄では運動ニューロン系病変に加え、脊髄小脳路、後索の中間根帯が障害される後索型家族性筋萎縮性側索硬化症の病理所見を示した。さらに、本剖検例と SOD1 遺伝子変異を伴った過去の剖検例の検討から、Lewy body-like hyaline inclusions (LBHIs) の生成機序には変異部位と罹病期間が深く関わっている可能性が考えられた。以上の成果をまとめた論文は Archives of Neurology に受理された。今後は、本剖検例に認められた LBHIs の特徴的染色性から LBHIs の生成過程を解明するため病理学的検討を進めるとともに、病態への酸化ストレスの関与についても検討していく予定である。

共同研究者

武久 康^{1, 2}、田辺康之¹、高田 裕¹、信国圭吾¹、難波玲子¹、早原敏之¹、原口 俊²、寺田整司²、石津秀樹²、氏家 寛²、黒田重利²

¹国立療養所南岡山病院臨床研究部・神経内科

²岡山大学医学部神経精神科

遺伝子変異 (Ser126Leu) を認めた FALS の 2 家系 4 症例と codon126 の変異が認められた既報告例と臨床所見を比較するとともに、本剖検例と過去の SOD1 遺伝子変異を伴った剖検報告例と病理所見を比較し、SOD1 変異部位と臨床所見、病理所見の関連を検討した。

A. 研究目的

家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の 5-10% を占め、FALS の約 25% の症例には Cu,Zn-superoxide dismutase (SOD1) 変異が認められる。現在まで 60 種類以上の変異が報告されているが、SOD1 変異を伴った剖検例の報告は 20 例に満たず、8 種類の SOD1 変異しか報告されていない。また、SOD1 変異の部位と臨床所見、病理所見の関連は一部の変異では認められているものの詳細な検討はなされていない。FALS の SOD1 変異と臨床所見および病理所見との関連を検討することは、ALS の病態や治療法を研究する上で非常に重要と考えられる。最近、我々は新しい SOD1 遺伝子変異 (Ser126Leu) を示す FALS の 2 家系を経験し検討をおこなってきた。今回、SOD1

B. 研究方法

【対象】(表 1)

〔家系 1〕

症例 1: 52 歳時に左下肢の筋力低下にて発症し、右下肢から両上肢へと筋力低下、筋萎縮がひろがった。深部腱反射は消失し、病的反射、眼球運動障害および感覚障害は認めなかった。58 歳時に当院に呼吸困難のため入院し、1 カ月後に死亡。全経過 6 年にて剖検した。

症例 2: 症例 1 の甥で 28 歳時に右下肢の筋力低下にて発症した。筋力低下、筋萎縮は左下肢から両上肢へとひろがった。深部腱反射は消失し、病的反射は認めなかった。大腿四頭筋の筋生検を施行した。36 歳時に死亡し、全経過は 8 年であった。

〔家系2〕

症例3：71歳時、脳梗塞のため右下肢の筋力低下出現した。74歳頃より下肢の脱力と筋萎縮が進行し、翌年歩行不能となった。その後、構音障害、嚥下困難、が出現した。76歳時死亡、全経過推定20ヶ月であった。

症例4：症例3の妹で、54歳時右下肢の筋力低下で発症した。以後、下肢と上肢の筋力低下と筋萎縮が進行した。68歳で死亡、全経過14年であった。

【方法】

1) SOD1 遺伝子検索：症例1および症例3は末梢血より、症例2は大腿四頭筋筋生検のパラフィン包埋標本よりゲノムDNAを抽出し direct sequence 法により SOD1 遺伝子変異の有無を検討した。

2) 症例1の神経病理学的検索：死亡後3時間で剖検を行った。組織をホルマリン固定しパラフィン包埋切片を作製、各種染色を行い光学顕微鏡、電子顕微鏡にて観察した。

3) 2家系4症例について臨床所見を検討した。

【倫理面への配慮】

以下のように、2家系とも患者または遺族に説明し、同意を得て、遺伝子検査、病理学的検査を行った。

〔家系1〕

症例1においては生前に患者から遺伝子検査について同意を得て採血を行った。また死亡時に遺族の承諾を得て剖検を行った。死亡後に遺伝子検査のため生前に採取した血液から SOD1 遺伝子変異 (Ser126Leu) を確認したため、遺族に遺伝子検査の結果を説明した。更に遺族の同意のもとに症例2の生前に行った筋生検のパラフィン包埋標本よりゲノムDNAを抽出し direct sequence 法により SOD1 遺伝子変異を確認した。

〔家系2〕

症例3および症例4においては生前に患者から遺伝子検査について文書にて同意を得て、採血を行った。死亡後に遺伝子検査のため生前に採取した症例3の血液から SOD1 遺伝子変異 (Ser126Leu) を確認した。検査結果について遺族に説明し、その際に研究結果を論文等で発表させて頂くことについても遺族の同意を得た。

C. 研究結果

【神経病理学的所見】(表2)

昨年度報告したように症例1において、脊髄では運動ニューロン系病変に加えて、脊髄小脳路、後索の中間根帯が障害される後索型の FALS に特徴的な所見が認められた。さらに本症例は小脳入力系では橋核から中小脳脚までの橋小脳路は障害されていたが、オリブ小脳路は保たれていた。小脳出力系ではブルキンエ細胞から白質、歯状核まで障害されていた。また Lewy body-like hyaline inclusions (LBHIs) は舌下神経核、前角、小脳歯状核、橋横走線維の神経細胞内、突起内に認められ、Gallyas 染色で嗜銀性を示した。また、LBHIs は免疫組織化学では SOD1 陽性、Ubiquitin 陽性、 α -Synuclein 陰性であった。超微形態学的には、granule-coated fibril である filamentous な構造物が無秩序に配列しているのが観察された。更に本剖検例に認められた LBHIs はこれまでの報告とは異なった染色性を示しており、今後病理学的検討を進めていく予定である。

【遺伝子検索】

症例1、症例2および症例3において、SOD1 遺伝子の Exon5 に Leu126Ser の点突然変異を認めた。一方、正常対照者116名に対して Aval による PCR-RFLP にて同部位の変異の有無を確認したが、変異は認められなかった。

D. 考察

SOD1 codon126 の遺伝子異常は2塩基欠失例が本邦で3例病理報告されているが、これらは臨床的にも病理学的にも多彩である。同部位の点突然変異を示した2家系4症例は、発症年齢は28歳から74歳と差があるが、下肢遠位の筋力低下と筋萎縮で発症し、経過中1次運動ニューロン症状を認めない点では一致していた。症例3では脳梗塞の既往のため罹病期間が明らかでないが、症例1、症例2および症例4は罹病期間が6-14年と長く、比較的緩徐進行性である点も類似していた(表1)。病理学的には FALS では変性が運動ニューロンに限局する例と運動ニューロン以外に後索の中間根帯と脊髄小脳路、さらに多系統にみられる例が報告されている。また運動ニューロン変性が2次運動ニューロンのみに認められる例と、1次運動ニューロンと2次運動ニューロンの両方に認められる例がある。

Table 1. Comparison of clinical findings among FALS cases with mutation in codon 126 of the *SOD1* gene

	patient 1	patient 2	patient 3	patient 4	Kadekawa	Takahashi	Kato
Gene analysis	Leu126Ser	Leu126Ser	Leu126Ser	n.e.	2bp deletion	2bp deletion	2bp deletion
Sex	male	male	male	female	female	Female	Male
Age at onset	52	28	74	54	42	46	54
Disease duration	6	8	2	14	2	1.5	11*
Neurol. findings							
UMN	-	-	-	-	-	-	n.d.
LMN	+	+	+	+	+	+	+
bulbar sign	+	+	+	+	+	-	-

Disease duration: years; Neurol. findings: Neurological findings; n.d.: not described; n.e.: not examined; one year after onset, respirator was put.

Table 2. Comparison of clinical and neuropathological findings among FALS cases with mutation in *SOD1* gene

Gene analysis	No. of patients	Age at onset	Disease duration (years)	Neuropathology					Reference
				UMN	LMN	PCI	LBHIs	Ast-HI	
Ala4Thr	1	40	<1	-	+	+	+	-	Takahashi <i>et al.</i>
Ala4Val	5	mean 45.4	<1	-	+	+	+	-	Cudkowits <i>et al.</i>
Ala4Val	3	39,46,66	<1	-	+	+	+	-	Shibata <i>et al.</i>
His46Arg	1	30	40	+	+	+	+	-	Saida <i>et al.</i>
His48Gln	1	54	<1	+	+	+	-	-	Shaw <i>et al.</i>
Glu100Gly	1	36	3	+	+	+	-	-	Ince <i>et al.</i>
Ile113Thr	1	62	3	-	+	n.d.	-	-	Rouleau <i>et al.</i>
Ile113Thr	1	68	1	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	Kokubo <i>et al.</i>
Ile113Thr	1	49	20	+	+	-	-	-	Orrell <i>et al.</i>
Val118Leu	1	38	8	+	+	n.d.	n.d.	n.d.	Shimizu <i>et al.</i>
2bp deletion(126)	1	42	2	+	+	-	-	-	Kadekawa <i>et al.</i>
2bp deletion(126)	1	46	1.5	-	+	+	+	-	Takahashi <i>et al.</i>
2bp deletion(126)	1	54	11	+	+	+	+	+	Kato <i>et al.</i>
Leu126Ser	1	52	6	+	+	+	+	+	patient in this study

n.d.: not described; PCI: posterior column involvement

UMN: degeneration in motor cortex, pyramids, and/or corticospinal tract

LMN: degeneration in the anterior horn cells

LBHIs: Lewy body-like hyaline inclusions; Ast-HIs: astrocytic hyaline inclusions

本剖検例は2次運動ニューロンの障害が強く、1次運動ニューロンの障害は軽度であった。また後索の中間根帯と脊髄小脳路だけでなく、橋核から中小脳脚までの橋小脳路、Purkinje細胞から白質、歯状核まで高度に障害されていた。しかし、オリブ小脳路、黒質、赤核等に病変が見られず、病変の分布がSOD1遺伝子異常のすべての剖検例と比較しても極めて特徴的であった。さらにLBHIsは変性が認められた領域に観察された。現在までに本例を含めSOD1遺伝子の変異または欠失を認めるFALS剖検例が9種類報告されている(表2)。そのうちLBHIsが認められる剖検例は、Ala4Thr、Ala4Val、His46Arg、コドン126の2塩基欠失例と本例のみである。

Ala4Thr、Ala4Valはいずれの症例も罹病期間は短い、His46Argは40年と長く、またコドン126の2塩基欠失例においても罹病期間の長い例にも短い例にもLBHIsが出現している。以上よりLBHIsの生成機序には変異部位と罹病期間が深く関わっている可能性が考えられる。一方、本剖検例に認められたLBHIsにはこれまでの報告とは異なった染色性を示すものがあり、LBHIsの生成過程解明のため重要と考えられ、今後病理学的検討を進めていく予定である。また、我々はこれまで神経筋疾患の病態と酸化ストレスの関連について研究を行ってきたが、今後SOD1遺伝子変異(Ser126Leu)を認めたFALSの2家系についても病態への酸化ストレスの関与について研究を進めていく予定である。

E. 結論

Leu126SerのSOD1変異を認めるFALSの2家系4症例を報告した。4症例とも下肢の脱力

と筋萎縮で発症し、臨床的には1次運動ニューロン徴候を認めなかった。また、罹病期間の明らかでない症例3を除く3症例は、罹病期間が6-14年と長く、進行は比較的緩徐であった。病理学的には後索障害型のFALSの病理所見を示し、LBHIsが多数出現していた。本症例と過去の剖検報告例の検討から、LBHIsの生成機構には変異部位と罹病期間の両者が関与している可能性が示唆された。以上の成果をまとめた論文はArchives of Neurologyに受理された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ihara Y, et al. Relationship between oxidative stress and apoE phenotype in Alzheimer's disease. Acta Neurologica Scandinavica, 102:346-349, 2000.
- 2) Takehisa Y, Ujike H, Ihara Y, et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis with a novel mutation Leu126Ser in the copper/zinc superoxide dismutase gene showing mild clinical features and Lewy body-like hyaline inclusions. Archives of Neurology, in press.

2. 学会発表

- 1) 井原雄悦、他：パーキンソン病患者における血液の酸化ストレスと臨床所見の関連。第55回国立病院療養所総合医学会。
- 2) 藤田大輔、他：若年性パーキンソニズムの1剖検例。第41回日本神経病理学会総会。
- 3) 武久 康、井原雄悦、他：Leu126SerのSOD1遺伝子変異を認めた家族性筋萎縮性側索硬化症の2家系。第42回日本神経学会総会(東京)にて発表予定。

厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

生検・剖検バンクの倫理的問題の研究

分担研究者 後藤雄一 国立精神・神経センター神経研究所

研究要旨

脳のバンキングに関する法的・倫理的問題の現状を整理した。法律面では、「死体解剖保存法」、倫理面では「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（案）」を検討対象とした。本研究事業の中核となる作業である剖検試料の保存について、その法的問題と今後の課題をまとめた。倫理に関しては、すでに作成されていた承諾書とガイドラインの改正版を作成し、国立精神・神経センター倫理委員会に諮り、さらに指摘を受けた点についての修正を行い、最終的な承認を受ける予定である。

A. 研究目的と社会情勢

平成9年度から平成11年度に行われた厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）「生検材料による神経・筋疾患等の成因解明と治療に関する研究」班（主任研究者：埜中征哉）、及び「剖検脳等を用いた精神・神経疾患の発生機序と治療に関する研究」班（主任研究者：高嶋幸男）において、法的・倫理的問題が検討されてきた。[精神・神経疾患リサーチリソースネットワーク（バンク）に関する研究：総合研究報告書、pp101-108]

平成12年度より「精神・神経・筋疾患の実験用研究資源に関する研究」（主任研究者：高嶋幸男）が開始され、倫理的課題については社会情勢の変化に的確に対応する必要性から、インフォームド・コンセントに係わる手順や書式の改訂等を行う予定であった。

平成12年8月15日の朝日新聞の「小児脳バンク」に関する報道により、行政解剖後の検体の研究使用に関する問題が指摘された。本報道に関連する検討を重ねる中で、「死体解剖保存法」に係わる問題の整理を行うことができた。

さらに、政府のIT戦略に関連し、個人情報保護に関する法律の制定が予定され、その大綱案が示されたことから、その点からの検討も開始した。

一方倫理的問題については、表1に示すような種々の倫理指針の発表とそれに応じた適切な対応に迫られた。特に、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（案）」に準拠したインフォームド・コンセントのあり方を検討した。

B. 研究方法と結果

1. 診断・検体保存・研究使用・バンキングに至る過程の整理

生検・剖検材料を使って、病理・生化学・遺伝

表1 倫理指針関係

1. ミレニアム研究倫理指針「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」（厚生省・厚生科学審議会先端医療技術評価部会、平成12年4月28日）
2. 「ヒトゲノム研究に関する基本原則」（科学技術会議声明倫理委員会、平成12年6月14日）
3. 世界医師会：ヘルシンキ宣言「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」（英国エジンバラの第52回世界医師会総会で修正、平成12年10月）
(http://www.med.or.jp/wma/helsinki00_j.html)
4. 「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（案）」（文部省、厚生省、通商産業省及び科学技術庁、平成12年11月24日）
(http://www1.mhlw.go.jp/topics/bosyuu/tp1220-1_6.html#betten)
(http://www.mext.go.jp/b_menu/kensaku/index.htm)

子検査による診断を行い、その検体を保存し、2次利用として、研究使用、バンキングがある（図1）。その際、まず患者への説明と同意が前提である。その説明と同意に関しては、すでに、承諾書とそのガイドラインを作成し使用してきたが、昨今公表された倫理ガイドラインとの整合性が必要になっている。特に、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（案）」に則った改正が必要である。詳細は、後に述べる。

2. 法律問題の検討

剖検の試料保存に関しては、「死体解剖保存法」（昭和24年法律204号）（以下「法」とする。）が適用される。本研究においても、法の解釈に対する疑義が明らかになったので、以下に述べる。

法17条によると保存可能な施設が特定されてお

り、国立精神・神経センター及びネットワーク構築に参加している国立小児病院以外の施設（以下参加施設）における、剖検の試料（標本）の保存は病院機能として認められていない。但し、法 18 条によると、法 2 条一項「死体の解剖に関し相当の学識技能を有する医師、歯科医師その他の者であつて、厚生大臣が適当と認定したもの」（以下、有資格者とする）が解剖した場合、その有資格者が標本を参加施設に保存することは違法ではない。

この点に関しては、法では有資格者が保存する場所の規定、有資格者が保存していた検体を他の有資格者に譲渡することに関する規定がなされたおらず、したがって、この点は、疑義事項として、法の所管部署である厚生労働省医政局医事課に対して、法の改正や解釈の追加の希望を含めた照会を行う必要がある。その際、リサーチ・リソース・ネットワークの意義を最大限考慮し、当センターのナショナルセンターとしての役割の明確化が必要になる。

また、検体の保存は現段階で、パラフィンブロック、凍結及びプレパラートなど様々な形態をとっているが、いずれも「死体」に相当する可能性があり、ブロック、凍結はもちろんのことプレパラート標本も「死体」に相当するとなるとその保存も法的な検討が必要になる。平成 12 年 11 月に、プレパラートも「死体」と見なすという判例*（一審のみ）があるが、今後検討されるべき問題である。この点についても、医事課に疑義照会を行う必要がある。

3. 倫理的問題の検討

文書による事前の十分な説明と自由意思による同意（インフォームド・コンセント）を基本とする。そのために、説明者側が使用する説明資料（従

来のガイドラインに相当）、患者に手渡す説明文書、及び同意文書（従来の承諾書）を必要とする。

上記目的のために、診断、保存、研究使用、バンキングという 4 つの段階のインフォームド・コンセントに係わる問題のうち、バンキングを除く、診断、保存、研究使用に係わる承諾書及びガイドラインの改正版を作成し、国立精神・神経センター倫理委員会に審議を申請した。その議事録要旨は、国立精神・神経センターのホームページに掲載されている。

（<http://www.ncnp.go.jp/hospital/topics/Rinri/center-rinri04jan2001.html>）

以下にその要点を述べる。

a. 試料等提供者のインフォームド・コンセント

患者に説明し同意をとる際、「診断のための保存」及び「研究のための保存」のそれぞれの説明内容について、ガイドライン及び説明文書で明らかにすることとした。

保存された試料が、「診断使用」と「研究使用」について、その目的、方法等を明らかにして患者にとっての利益を明記しておくことが必要であるとの指摘を受け、その点をガイドライン及び説明文書に明示することとした。

b. 遺伝カウンセリングについて、実際の遺伝カウンセリングをいかに運用してゆくかを明示する必要がある旨の指摘を受け、ガイドライン及び説明文書で明らかにしなくてはならない。

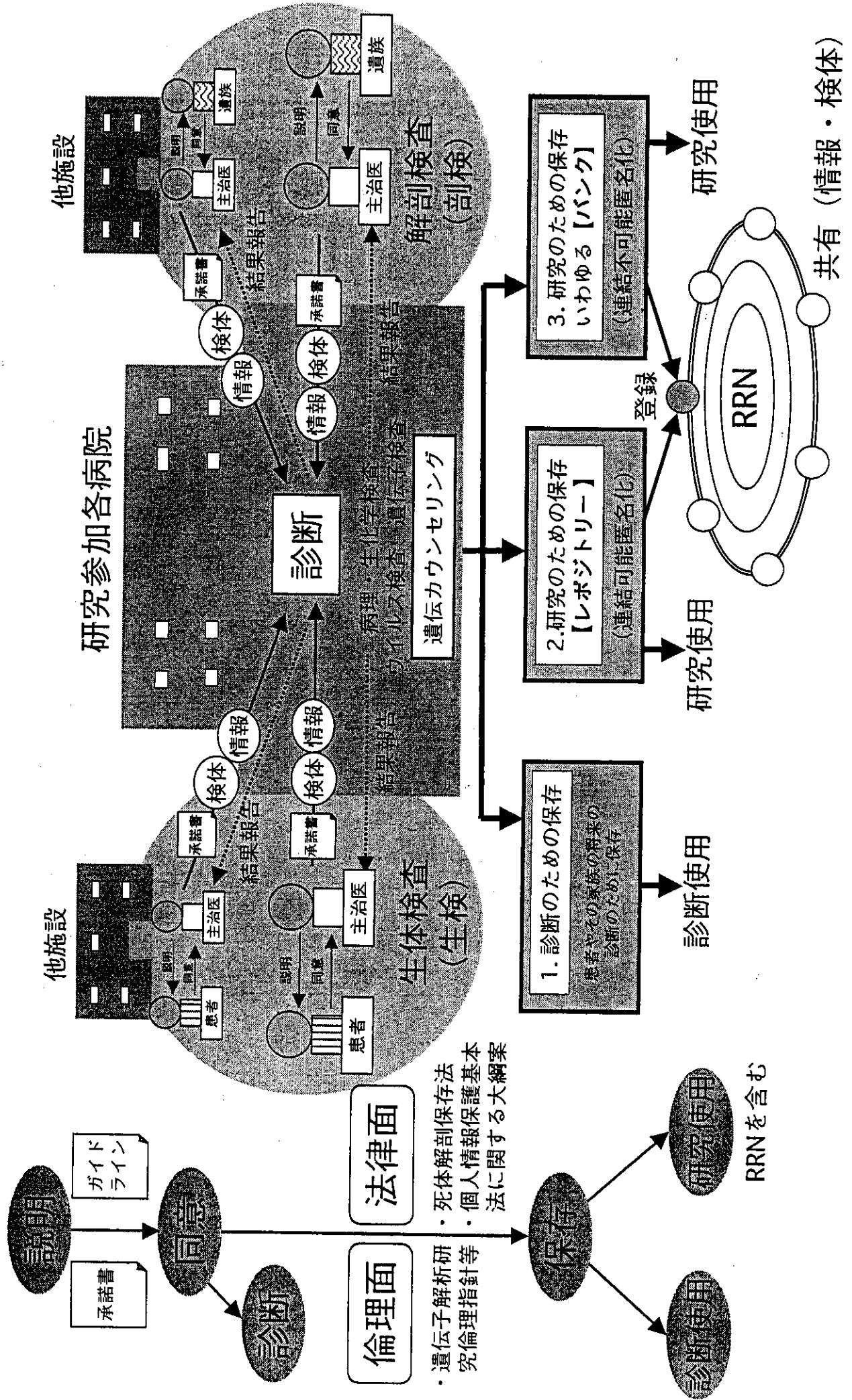
C. 研究発表 なし

D. 知的所有権の取得状況 なし

* 2000 年 11 月 25 日毎日新聞夕刊に報道

生検／剖検からの検体保存と診断使用／研究使用の区分

ーリサーチ・リソース・ネットワーク (RRN) の位置づけー



厚生科学研究費補助金（脳科学研究事業）
分担研究報告書

生検神経筋バンクの総括に関する研究

分担研究者 埜中征哉 国立精神・神経センター武蔵病院院長

研究要旨: 本研究班において作成された承諾書により許可を得た検体の登録は、1000検体を越えている。神経・筋疾患の病因・病態解明を目指す研究に対してこれらの検体を提供し、研究が促進されることを目指した。計20件の研究プロジェクトに対して検体が供与され、世界に先駆けたオリジナリティーの高い研究が行われた。順調にその成果が公表されてきており、長期的には神経・筋疾患患者全体の利益になるものと思われる。

A. 研究目的

神経・筋疾患の病因・病態解明には研究対象となる組織、培養細胞、DNA など患者からの検体が不可欠である。神経・筋疾患では診断のために筋生検、神経生検、皮膚生検などが行われる。これらの検体を上記の研究目的に使用するため全国規模の生検材料のレポジトリシステムを作ることを目指す。レポジトリに登録された検体は、倫理的配慮を最大限に行いつつ、神経・筋疾患の病因・病態解明を目指す研究に対して提供され、その成果が長期的に神経・筋疾患患者全体へと還元されることを目指す。

B. 研究方法

本研究班により作成され、国立精神・神経センター倫理委員会において承認を得た承諾を用い、許可を得た検体のみをレポジトリに登録し、研究に使用した。研究者より供与依頼が寄せられた際に、患者の個人情報を守りつつ、検体を提供した。必要に応じ、生検検体の切片、生検検体より抽出したDNAまたはRNAなどの形で提供を行った。研究供与を行った施設とは、原則として共同研究の形を取り、研究を進めた。

C. 研究結果

1) Danon 病に関する研究

Danon 病は、極めてまれな疾患であるが、日本からの報告が多いこと、特異な筋病理像を呈することなどから、注目を浴びていた疾患である。今年度、生検筋レポジトリに登録された検体を用いた研究により、本疾患がリソソーム膜蛋白の1つであるLAMP-2の欠損により起こることが同定された。従来、リ

ソソーム膜蛋白異常で骨格筋や心筋の障害の報告はなく、この発見により、全く新しい疾患概念がもたらされた。

2) 福山型先天性筋ジストロフィーにおける筋細胞膜蛋白の変化についての研究

福山型先天性筋ジストロフィーは、フクチン遺伝子の変異により起こることが示されているが、フクチンにどのような機能があるのかは依然として不明である。今回、レポジトリに登録された検体を用いた研究で、福山型先天性筋ジストロフィーにおいては α -ジストログリカンが特異的に消失していることが免疫組織学的に示された。この研究で用いられた抗体は、糖鎖を特異的に認識することから、フクチンが糖鎖就職に関わっている可能性が示された。

3) その他

MNGIE の病態解明に関する研究、LGMD2A におけるアポトーシスの有無に関する研究、アクアポリン4の発現と機能に関する研究など、今年度だけで計20の研究プロジェクトに対して検体が供与された。これらの内大半のものは、現在も研究が進行中である。

D. 考察

検体が提供された19の研究プロジェクトの内、すでに3プロジェクトにおいてその研究結果が国際紙に掲載され、その他にも投稿中及び印刷中のものが6プロジェクトある。何れの研究も、外国の後追いの研究でなく、前駆的であり、本生検レポジトリが有効に機能したことを示している。