

図 2-4

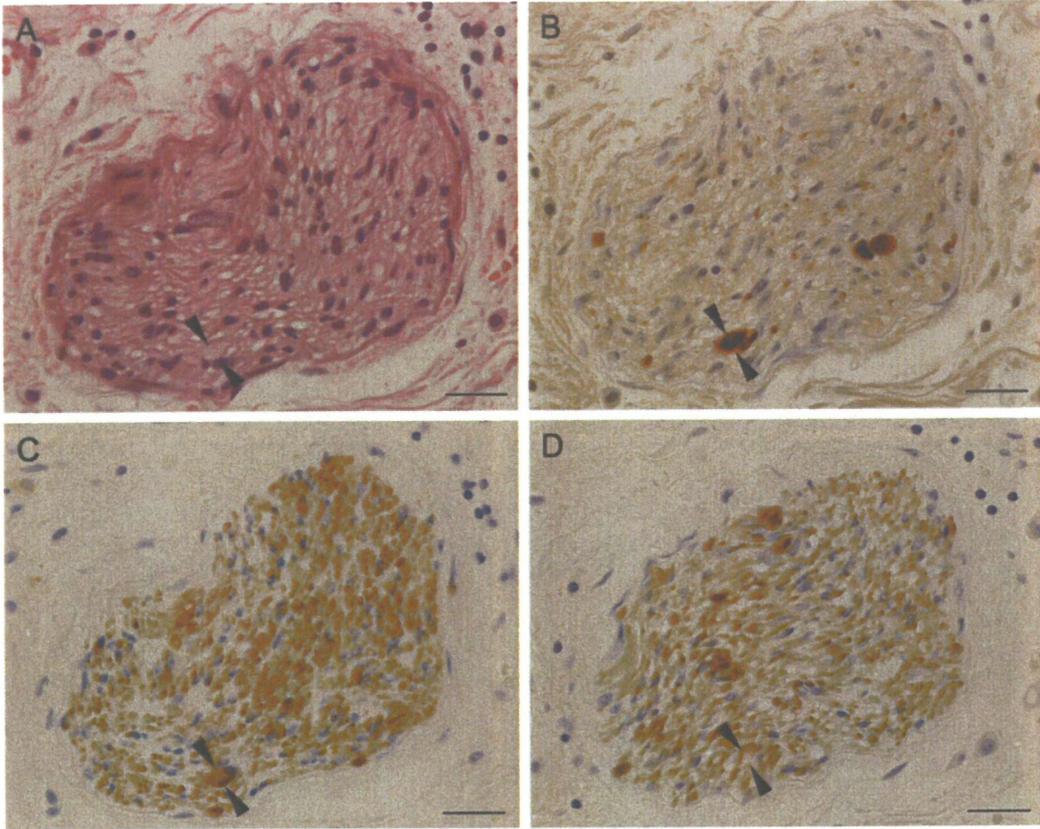


図 2-4 副腎被膜脂肪組織内神経束に認められる抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性所見

A-D: bar=25 μ m

- A: 副腎被膜脂肪組織内神経束の H&E 染色。抗リン酸化 α シヌクレイン抗体を用いた免疫染色 (B) で認める小さな点状の陽性所見は H&E 染色で同定する事はできないが、大きな陽性所見に対応して、軸索腫大を確認する事ができる (arrowheads)。
- B: 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (psyn#64) 免疫染色。神経突起の腫大に一致して類円形の psyn#64 陽性所見を認める (arrowheads)。その周囲の神経束にも小さな点状の陽性所見が散見される。
- C: 抗 tyrosine hydroxylase (TH) 抗体免疫染色。神経束の大部分は抗 TH 抗体陽性となる他、psyn#64 陽性部位 (B) も陽性を示す (arrowheads)。抗 TH 抗体陽性神経線維の減少は明らかでない。
- D: 抗リン酸化ニューロフィラメント抗体 (SMI31) 免疫染色。軸索腫大を示す psyn#64 陽性部位 (B) の中心部のみ染色性の低下を認める (arrowheads)。

図 3-1

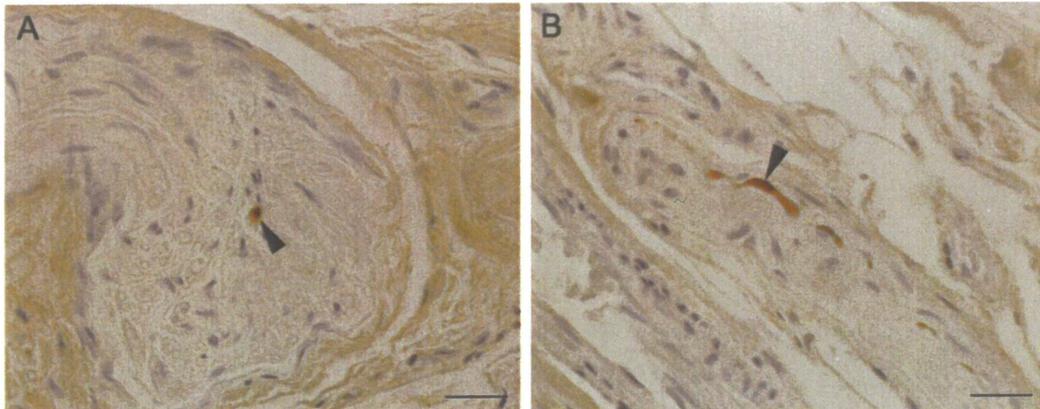


図 3-1 皮膚神経束に認められる抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性所見
抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (PSer129) 免疫染色、bar=25 μ m。
A: 神経束内に PSer129 陽性となる点状の構造を認める (arrowhead)。
B: 神経束内に神経線維の流れに沿った線状の陽性所見を認める (arrowhead)。

図 3-2

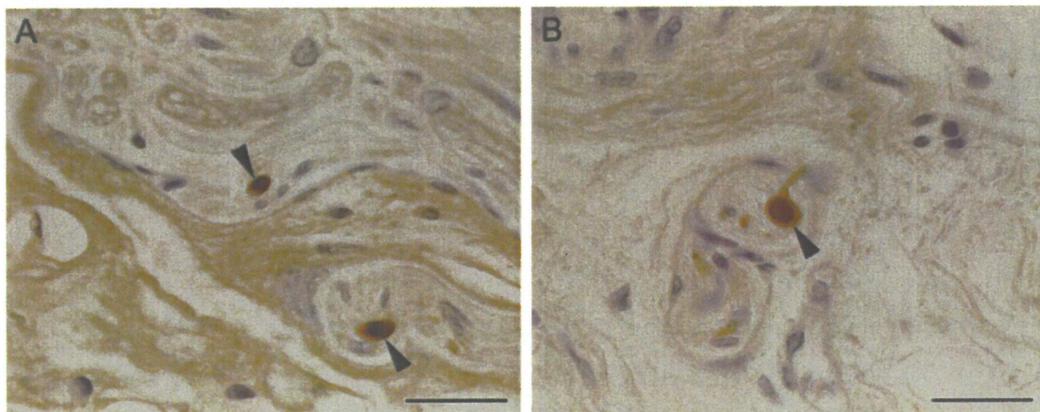


図 3-2 皮膚神経束に認められる抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性所見
抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (PSer129) 免疫染色、bar=25 μ m。
A: 神経束内に PSer129 陽性となる類円形の構造物を認める (arrowheads)。
B: A と同様に類円形の陽性構造物を認めるとともに、同じ神経束内に点状・線状の PSer129 陽性所見もみられる (arrowhead)。

図 3-3

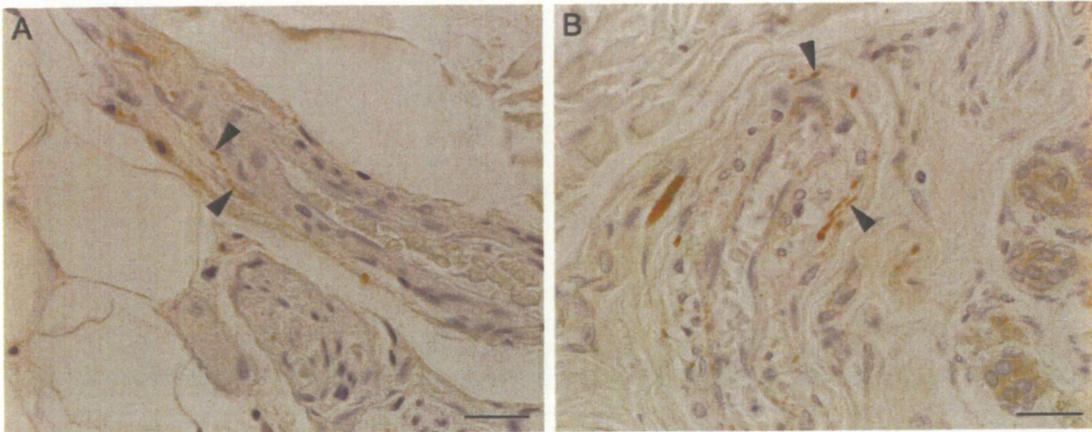


図 3-3 皮膚血管周囲に認められる抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性所見

A: 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (Pser129) 免疫染色、bar=25 μ m。

近傍の神経束から連続性に線状の陽性所見が血管周囲にのびている。

B: 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (psyn#64) 免疫染色、bar=25 μ m。

血管周囲に線状の陽性所見が複数みられる。一部には神経束構造もみられる。

図 3-4

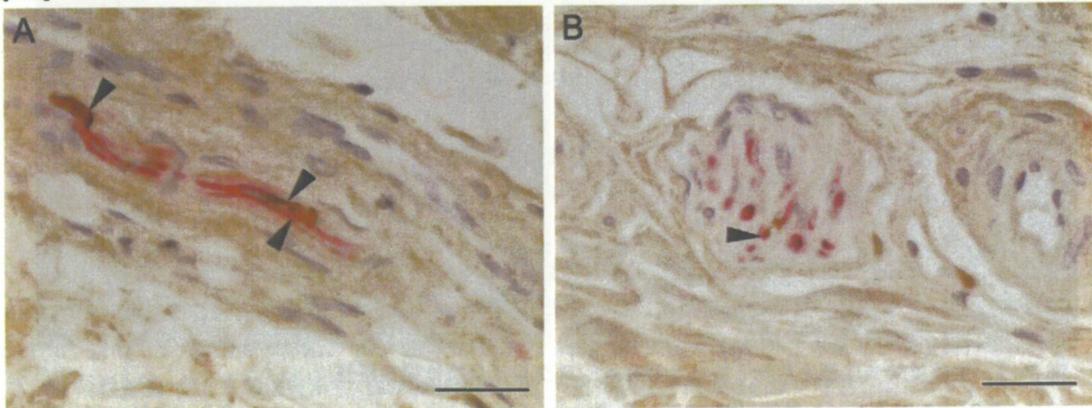


図 3-4 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (Pser129) と抗リン酸化ニューロフィラメント抗体 (SMI31) の二重免疫染色。

A、B: Red-SMI31、Brown-Pser129。 bar=25 μ m

SMI31 陽性であり赤く染色された軸索と、Pser129 陽性所見が重なっている (arrowheads)。

図 3-5

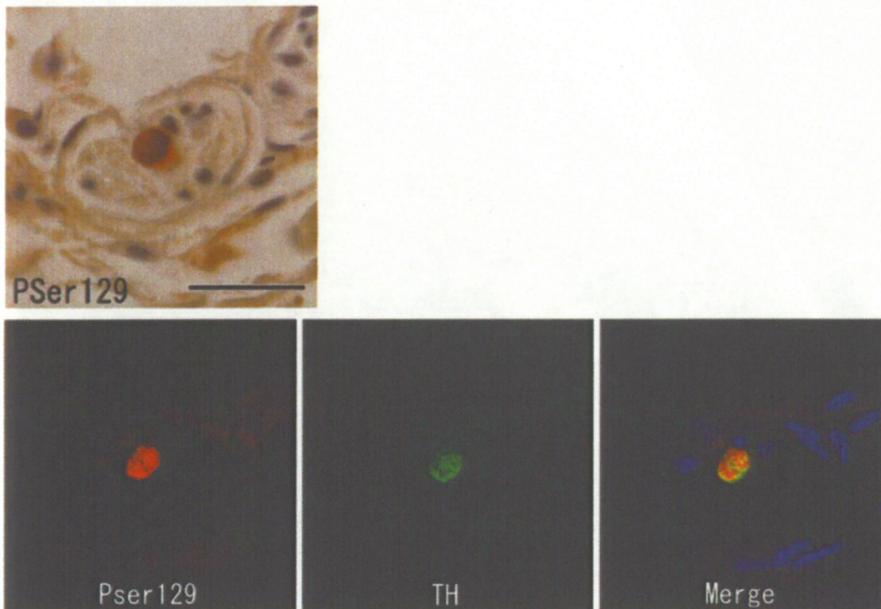


図 3-5 蛍光免疫二重染色

抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (Pser129) 免疫染色の陽性構造が、交感神経節後線維のマーカーとして知られる抗 tyrosine hydroxylase 抗体陽性構造に重なって黄色を示すことが確認できる。

図 3-6 皮膚に出現する抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性構造物の免疫電子顕微鏡的所見

A: 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (Pser129) 免疫染色、bar=25 μ m。

神経束内に Pser129 陽性を示す類円形の陽性所見を認める。

B: bar=1 μ m。神経束内に陽性所見がみられ、多数のミトコンドリア、小胞の他、線維状、顆粒状構造を認める。

C: bar=250nm。線維状、顆粒状構造の拡大。

D: 辺縁部の拡大。細い線維状構造を認める。

图 3-6

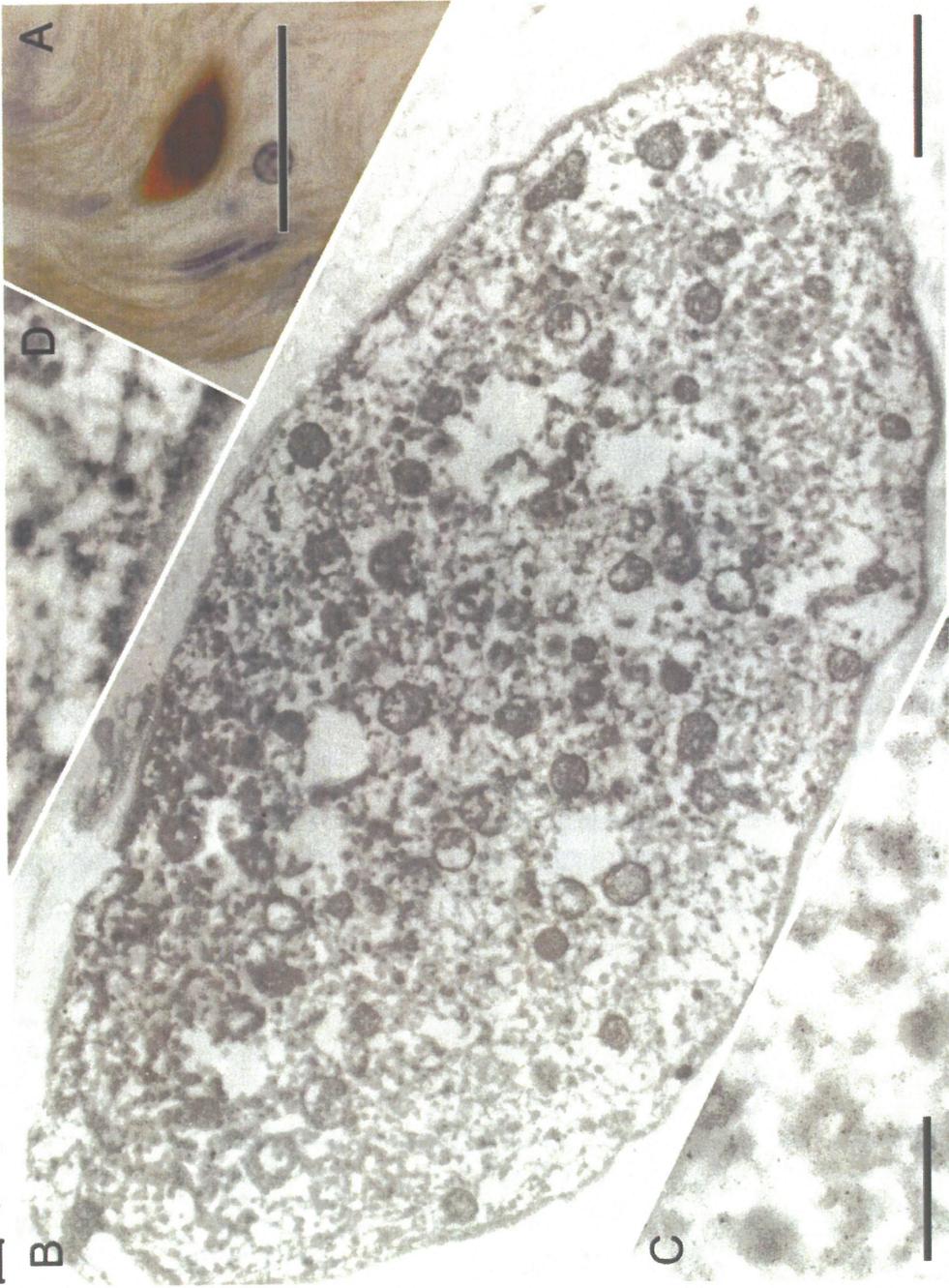
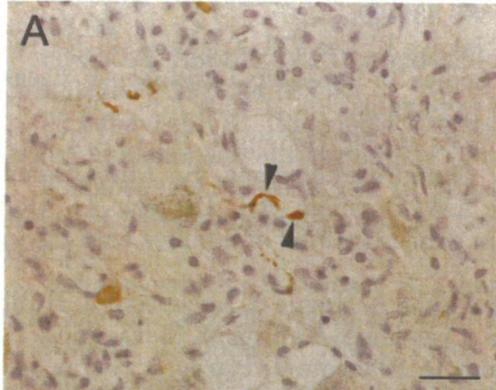
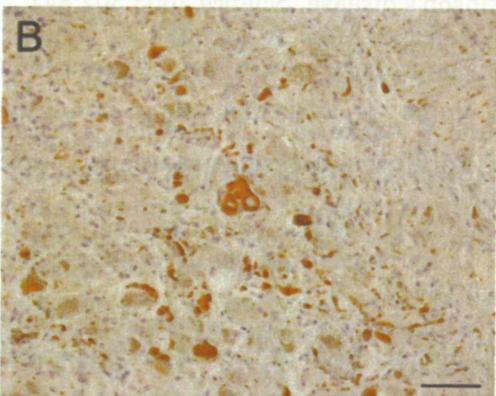


図 4-1 交感神経節に認める抗リン酸化 α シヌクレイン陽性所見



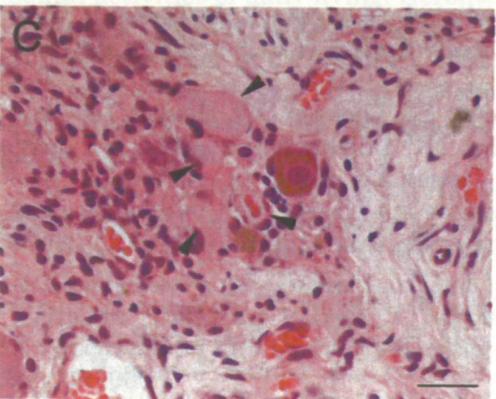
A : 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色。
bar=25 μ m。

ステージ 1: 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性となる Lewy neurites や dots を認める。



B : 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色。
bar=50 μ m。

C : H&E 染色。bar=25 μ m。



ステージ 2 : 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性となり、H&E 染色でも認識可能な腫大した Lewy neurites やレヴィー小体を認める。

参考文献

1. Spillantini MG, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ, Jakes R, Goedert M. Alpha-synuclein in Lewy bodies. *Nature* 1997;388:839-40.
2. Baba M, Nakajo S, Tu PH, Tomita T, Nakaya K, Lee VM, Trojanowski JQ, Iwatsubo T. Aggregation of alpha-synuclein in Lewy bodies of sporadic Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Am J Pathol* 1998;152:879-84.
3. Polymeropoulos MH, Lavedan C, Leroy E, Ide SE, Dehejia A, Dutra A, Pike B, Root H, Rubenstein J, Boyer R, Stenroos ES, Chandrasekharappa S, Athanassiadou A, Papapetropoulos T, Johnson WG, Lazzarini AM, Duvoisin RC, Di Iorio G, Golbe LI, Nussbaum RL. Mutation in the alpha-synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 1997;276:2045-7.
4. Singleton AB, Farrer M, Johnson J, Singleton A, Hague S, Kachergus J, Hulihan M, Peuralinna T, Dutra A, Nussbaum R, Lincoln S, Crawley A, Hanson M, Maraganore D, Adler C, Cookson MR, Muentner M, Baptista M, Miller D, Blancato J, Hardy J, Gwinn-Hardy K. alpha-Synuclein locus triplication causes Parkinson's disease. *Science* 2003;302:841.
5. Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, Kawashima A, Masliah E, Goldberg MS, Shen J, Takio K, Iwatsubo T. alpha-Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002;4:160-4.
6. Shimura H, Hattori N, Kubo S, Mizuno Y, Asakawa S, Minoshima S, Shimizu N, Iwai K, Chiba T, Tanaka K, Suzuki T. Familial Parkinson disease gene product, parkin, is a ubiquitin-protein ligase. *Nat Genet* 2000;25:302-5.
7. Kosaka K, Yoshimura M, Ikeda K, Budka H. Diffuse type of Lewy body disease: progressive dementia with abundant cortical Lewy bodies and senile changes of varying degree--a new disease? *Clin Neuropathol* 1984;3:185-92.
8. Perry RH, Irving D, Blessed G, Fairbairn A, Perry EK. Senile dementia of Lewy body type. A clinically and neuropathologically distinct form of Lewy body dementia in the elderly. *J Neurol Sci* 1990;95:119-39.
9. Hansen L, Salmon D, Galasko D, Masliah E, Katzman R, DeTeresa R, Thal L, Pay MM, Hofstetter R, Klauber M, et al. The Lewy body variant of Alzheimer's disease: a clinical and pathologic entity. *Neurology* 1990;40:1-8.
10. McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, Perry EK, Dickson DW, Hansen LA, Salmon DP, Lowe J, Mirra SS, Byrne EJ, Lennox G, Quinn NP, Edwardson JA, Ince PG, Bergeron C, Burns A, Miller BL, Lovestone S, Collerton D, Jansen EN, Ballard C, de Vos RA, Wilcock GK, Jellinger KA, Perry RH. Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology* 1996;47:1113-24.
11. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, Emre M, O'Brien JT, Feldman H, Cummings J, Duda JE, Lippa C, Perry EK, Aarsland D, Arai H, Ballard CG, Boeve B, Burn DJ, Costa D, Del Ser T, Dubois B, Galasko D, Gauthier S, Goetz CG, Gomez-Tortosa E, Halliday G, Hansen LA, Hardy J, Iwatsubo T, Kalaria RN, Kaufer D, Kenny RA, Korczyn A, Kosaka K, Lee VM, Lees A, Litvan I, Londos E, Lopez OL, Minoshima S, Mizuno Y, Molina JA, Mukaetova-Ladinska EB, Pasquier F, Perry RH, Schulz JB, Trojanowski JQ, Yamada M. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: third report of the DLB Consortium. *Neurology* 2005;65:1863-72.
12. 宇尾野公義. パーキンソン病と自律神経症状. *神経内科* 1981;14:101-8.
13. Hokusui S, Yasuda T, Yanagi T, Tohyama J, Hasegawa Y, Koike Y, Hirayama M, Takahashi A. A radiological analysis of heart sympathetic functions with meta-[123I]iodobenzylguanidine in neurological patients with autonomic failure. *J Auton Nerv Syst* 1994;49:81-4.
14. Orimo S, Oka T, Miura H, Tsuchiya K, Mori F, Wakabayashi K, Nagao T, Yokochi M. Sympathetic cardiac denervation in Parkinson's disease and pure autonomic failure but not in multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:776-7.
15. Orimo S, Ozawa E, Nakade S, Sugimoto T, Mizusawa H.

- (123)I-metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67;189-94.
16. den HJW, Bethlem J. The distribution of Lewy bodies in the central and autonomic nervous systems in idiopathic paralysis agitans. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1960;23;283-90.
 17. Forno LS, Norville RL. Ultrastructure of Lewy bodies in the stellate ganglion. *Acta Neuropathol (Berl)* 1976;34;183-97.
 18. Wakabayashi K. [Parkinson's disease: the distribution of Lewy bodies in the peripheral autonomic nervous system]. *No To Shinkei* 1989;41;965-71.
 19. Wakabayashi K, Takahashi H, Takeda S, Ohama E, Ikuta F. Parkinson's disease: the presence of Lewy bodies in Auerbach's and Meissner's plexuses. *Acta Neuropathol (Berl)* 1988;76;217-21.
 20. Wakabayashi K, Takahashi H, Ohama E, Takeda S, Ikuta F. Lewy bodies in the visceral autonomic nervous system in Parkinson's disease. *Adv Neurol* 1993;60;609-12.
 21. Stephen J, Qualman HMH, Peter Yang, and Stanley R. Hamilton. Esophageal Lewy Bodies Associated With Ganglion Cell Loss in Achalasia. *Gastroenterology* 1984;87;848-56.
 22. Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, Fujiwara H, Koyama S, Sawabe M, Arai T, Nagura H, Yamanouchi H, Hasegawa M, Iwatsubo T, Murayama S. Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in aging human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62;644-54.
 23. Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975;12;189-98.
 24. Hasegawa K IK, Moriya K. An investigation of dementia rating scale for the elderly. *Seishin Igaku* 1974;16;965-69.
 25. Katoh S SH, Onodera A, et al. Development of the revised version of Hasegawa's dementia scale (HDS-R). *Rounen Seishinigaku Zasshi* 1991;2;1339-47.
 26. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969;9;179-86.
 27. Hughes CP, Berg L, Danziger WL, Coben LA, Martin RL. A new clinical scale for the staging of dementia. *Br J Psychiatry* 1982;140;566-72.
 28. Yamaguchi H, Haga C, Hirai S, Nakazato Y, Kosaka K. Distinctive, rapid, and easy labeling of diffuse plaques in the Alzheimer brains by a new methenamine silver stain. *Acta Neuropathol (Berl)* 1990;79;569-72.
 29. Gallyas F. Silver staining of Alzheimer's neurofibrillary changes by means of physical development. *Acta Morphol Acad Sci Hung* 1971;19;1-8.
 30. Grogan TM CT, Miller PC, Rangel CS, Nunnery DW, Nagle RB. Automation of immunohistochemistry. *Adv Pathol Lab Med* 1993;6;253-83.
 31. Grogan TM RC, Rimsza L, et al. Kinetic-mode, automated double-labeled immunohistochemistry and in situ hybridization in diagnostic pathology. *Adv Pathol Lab Med* 1995;1995;79-100.
 32. Braak H, Del Tredici K, Rub U, de Vos RA, Jansen Steur EN, Braak E. Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging* 2003;24;197-211.
 33. Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Arai T, Kazama H, Hosoi T, Yamanouchi H, Murayama S. Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63;742-9.
 34. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)* 1991;82;239-59.
 35. Murayama S, Saito Y. Neuropathological diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Neuropathology* 2004;24;254-60.
 36. Jellinger KA, Bancher C. Senile dementia with tangles (tangle predominant form of senile dementia). *Brain Pathol* 1998;8;367-76.
 37. Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Arai T, Tanaka N, Kakuta Y, Yamanouchi H, Murayama S. Staging of argyrophilic grains: an age-associated tauopathy. *J Neuropathol*

Exp Neurol 2004;63:911-8.

38. 永野俊雄、橋本正淑編集. 人体組織学 6、内分泌器生殖器. 1985;168-206.
39. 山本一彦、松村譲児、多久和陽著. 人体の正常構造と機能Ⅶ、血液・免疫・内分泌. 2002;74-7.
40. Forno LS, Sternberger LA, Sternberger NH, Strefling AM, Swanson K, Eng LF. Reaction of Lewy bodies with antibodies to phosphorylated and non-phosphorylated neurofilaments. *Neurosci Lett* 1986;64:253-8.
41. Bancher C, Lassmann H, Budka H, Jellinger K, Grundke-Iqbal I, Iqbal K, Wiche G, Seitelberger F, Wisniewski HM. An antigenic profile of Lewy bodies: immunocytochemical indication for protein phosphorylation and ubiquitination. *J Neuropathol Exp Neurol* 1989;48:81-93.
42. Wakabayashi K, Takahashi H. Neuropathology of autonomic nervous system in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1997;38 Suppl 2;2-7.
43. Lack EE. Tumors of the Adrenal Gland And Extra-Adrenal Paraganglia Armed Forces Institute of Pathology, 1997.
44. Hamilton RL. Lewy bodies in Alzheimer's disease: a neuropathological review of 145 cases using alpha-synuclein immunohistochemistry. *Brain Pathol* 2000;10:378-84.
45. Lippa CF, Schmidt ML, Lee VM, Trojanowski JQ. Antibodies to alpha-synuclein detect Lewy bodies in many Down's syndrome brains with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 1999;45:353-7.
46. Lippa CF, Fujiwara H, Mann DM, Giasson B, Baba M, Schmidt ML, Nee LE, O'Connell B, Pollen DA, St George-Hyslop P, Ghetti B, Nochlin D, Bird TD, Cairns NJ, Lee VM, Iwatsubo T, Trojanowski JQ. Lewy bodies contain altered alpha-synuclein in brains of many familial Alzheimer's disease patients with mutations in presenilin and amyloid precursor protein genes. *Am J Pathol* 1998;153:1365-70.
47. Yamazaki M, Arai Y, Baba M, Iwatsubo T, Mori O, Katayama Y, Oyanagi K. Alpha-synuclein inclusions in amygdala in the brains of patients with the parkinsonism-dementia complex of Guam. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59:585-91.
48. Marui W, Iseki E, Kato M, Akatsu H, Kosaka K. Pathological entity of dementia with Lewy bodies and its differentiation from Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 2004;108:121-8.
49. Iseki E, Marui W, Kosaka K, Ueda K. Frequent coexistence of Lewy bodies and neurofibrillary tangles in the same neurons of patients with diffuse Lewy body disease. *Neurosci Lett* 1999;265:9-12.
50. Giasson BI, Forman MS, Higuchi M, Golbe LI, Graves CL, Kotzbauer PT, Trojanowski JQ, Lee VM. Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein. *Science* 2003;300:636-40.
51. Pletnikova O, West N, Lee MK, Rudow GL, Skolasky RL, Dawson TM, Marsh L, Troncoso JC. Abeta deposition is associated with enhanced cortical alpha-synuclein lesions in Lewy body diseases. *Neurobiol Aging* 2005;26:1183-92.
52. Mitsui J, Saito Y, Momose T, Shimizu J, Arai N, Shibahara J, Ugawa Y, Kanazawa I, Tsuji S, Murayama S. Pathology of the sympathetic nervous system corresponding to the decreased cardiac uptake in 123I-metaiodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy in a patient with Parkinson disease. *J Neurol Sci* 2006;243:101-4.
53. Stoddard SL, Tyce GM, Ahlskog JE, Zinsmeister AR, Carmichael SW. Decreased catecholamine content in parkinsonian adrenal medullae. *Exp Neurol* 1989;104:22-7.
54. Stoddard SL. The adrenal medulla and Parkinson's disease. *Rev Neurosci* 1994;5:293-307.
55. Wakabayashi K, Takahashi H, Ohama E, Ikuta F. Parkinson's disease: an immunohistochemical study of Lewy body-containing neurons in the enteric nervous system. *Acta Neuropathol (Berl)* 1990;79:581-3.
56. 日本自律神経学会編. 発汗・皮膚血管系自律神経機能検査. 自律神経機能検査第 3 版 2000:201-242.
57. Kihara M, Kihara Y, Tukamoto T, Nishimura Y, Watanabe H, Hanakago R,

- Takahashi A. Assessment of sudomotor dysfunction in early Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1993;33;363-5.
58. Mano Y, Nakamuro T, Takayanagi T, Mayer RF. Sweat function in Parkinson's disease. *J Neurol* 1994;241;573-6.
59. 小嶺幸弘、神里尚美. パーキンソン病患者における交感神経皮膚反応. *臨床脳波* 1999;41;31-4.
60. 吉岡雅之、岡尚省、森田昌代、井上聖啓. パーキンソン病の重症度と発汗機能障害—エポポリメーターをもちいた検討—. *臨床神経学* 2003;43;381-3.
61. 齋藤博. パーキンソン病における発汗障害とその経時的推移. *自律神経*(0288-9250), Vol. 42, 2005:229-32.
62. Turkka JT, Myllyla VV. Sweating dysfunction in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1987;26;1-7.
63. 宮本和人、阿部達哉. 末梢神経障害と無汗症. *発汗学* 2004;11;78-80.
64. Dabby R, Djaldetti R, Shahmurov M, Treves TA, Gabai B, Melamed E, Sadeh M, Avinoach I. Skin biopsy for assessment of autonomic denervation in Parkinson's disease. *J Neural Transm* 2006;113;1169-76.
65. Chien HF, Tseng TJ, Lin WM, Yang CC, Chang YC, Chen RC, Hsieh ST. Quantitative pathology of cutaneous nerve terminal degeneration in the human skin. *Acta Neuropathol (Berl)* 2001;102;455-61.
66. Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G, Brelje TC. Innervation and vasculature of human sweat glands: an immunohistochemistry-laser scanning confocal fluorescence microscopy study. *J Neurosci* 1994;14;6825-33.
67. Pan CL, Tseng TJ, Lin YH, Chiang MC, Lin WM, Hsieh ST. Cutaneous innervation in Guillain-Barre syndrome: pathology and clinical correlations. *Brain* 2003;126;386-97.
68. 齋藤博、金原禎子. 中枢神経障害に伴う無汗症. *自律神経* 2003;40;316-22.
69. Hishikawa N, Hashizume Y, Hirayama M, Imamura K, Washimi Y, Koike Y, Mabuchi C, Yoshida M, Sobue G. Brainstem-type Lewy body disease presenting with progressive autonomic failure and lethargy. *Clin Auton Res* 2000;10;139-43.
70. Hague K, Lento P, Morgello S, Caro S, Kaufmann H. The distribution of Lewy bodies in pure autonomic failure: autopsy findings and review of the literature. *Acta Neuropathol (Berl)* 1997;94;192-6.
71. van Ingelghem E, van Zandijcke M, Lammens M. Pure autonomic failure: a new case with clinical, biochemical, and necropsy data. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994;57;745-7.
72. Arai K, Kato N, Kashiwado K, Hattori T. Pure autonomic failure in association with human alpha-synucleinopathy. *Neurosci Lett* 2000;296;171-3.
73. Braak H, de Vos RA, Bohl J, Del Tredici K. Gastric alpha-synuclein immunoreactive inclusions in Meissner's and Auerbach's plexuses in cases staged for Parkinson's disease-related brain pathology. *Neurosci Lett* 2006;396;67-72.

パーキンソン病における嗅球の病理

分担研究者： 齊藤 祐子（東京都老人医療センター・剖検病理科）
研究協力者：○仙石 鍊平（東京都老人総合研究所・高齢者ブレインバンク）
池村 雅子（東京都老人総合研究所・高齢者ブレインバンク）
望月 秀樹（順天堂大学・脳神経内科）
主任研究員： 村山 繁雄（東京都老人総合研究所・高齢者ブレインバンク）

研究要旨

嗅球は神経幹細胞の遊走場所で、パーキンソン病（PD）でドパミン作動性ニューロンがむしろ増加しているという報告が、神経再生の点より注目を集めている。また、臨床的には、PDにおいて極早期より嗅覚障害を認めることより、嗅覚テストを初期診断に用いる試みが多数行われている。我々は、バイアスの極めて少ない嗅球総合病院高齢者連続剖検例を網羅的に検索することで、老化における嗅球のLewy小体関連病変の位置づけを、免疫組織化学的に検討した。結果として嗅球はPD極早期より障害される部位だが、扁桃核・嗅球系という系統病変として捉えるべきであること、タウ沈着と細胞レベルで関連を持つことが明らかとなった。以上は、嗅球病理のPDの病態における位置づけにおいて、重要な知見と考えられる。

A. 研究目的

嗅球は傍脳室域に存在する神経幹細胞が、胎生期に増殖および分化後に遊走する部位の一つとされており、パーキンソン病（PD）でドパミン作動性ニューロンがむしろ増加しているという報告が、神経再生の点より注目を集めている。また、臨床的には、PDにおいて極早期より嗅覚障害を認めることが指摘されており、嗅覚テストを初期診断に用いる試みが多数行われている。以上のことから、嗅球病理は現在、大変興味深い対象となっている。

今回、我々は、軽度認知障害（MCI）を含めると、認知障害が6割を越える高齢者専門病院連続剖検例を網羅的に検討

することで、Lewy小体病における嗅球病変の位置づけを試みた。Lewy小体病変検出において感度・特異度が極めて高い抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色を用いることで、脳・脊髄を検討した。全例で嗅球の病理所見を求めた。ここで得られた知見を通してLewy小体病における嗅球病変の位置づけを明らかにすることを試みたので報告する。

B. 研究方法

高齢者専門病院連続剖検 270例（年齢幅 54歳から 104歳, 男性 157例, 女性 113例, 平均死亡年齢 81.1 ± 8.4 歳）死後時間は、平均 12時間 15分（52分～70時間 10分）であった。

全症例について、解剖時に脳を矢状断で2分し、半脳は生化学的・遺伝子学的検索のために凍結し、残りの半分（基本的には、左半球）を、20%中性緩衝ホルマリンで固定後、DLB コンセンサスガイドライン推奨部位¹、BraakらのLewy小体病期分類での推奨部位²、CERAD (Consortium to establish registry for Alzheimer disease) 推奨部位³、進行性核上性麻痺診断推奨部位⁴、Braakらのアルツハイマー病関連病理ステージ分類必須部位⁵を網羅するかたちで、既報告通り⁶検討した。

切り出し部位については、ヘマトキシリン・エオジン染色 (H&E 染色)、Klüver-Barrera 髄鞘染色を通常染色とし、老年性変化に対しては、改良型メセナミン鍍銀染色、改良 Gallyas-Braak 鍍銀染色を前方海馬・扁桃核に、アミロイド沈着に対してはコンゴレッド染色を後頭葉に、血管の変化に対しては elastica Masson trichrome 染色を基底核に全例加え、症例毎の陽性所見に応じ、適宜染色部位を追加した。免疫染色として、抗リン酸化 α シヌクレイン (psyn)[monoclonal, psyn#64 and polyclonal, Pser129]は後述部位を、抗リン酸化タウ (ptau) (AT8, monoclonal, Innogenetics, Temse, Belgium) は、前方海馬・扁桃核を、抗アミロイド β 蛋白 ($A\beta$) 11-28 (12B2, monoclonal, IBL, Maebashi, Japan) は後方海馬・後頭葉を、抗ユビキチン (polyclonal, DAKO, Glostrup, Denmark) 抗体は後方海馬を、Ventana 20NX autostainer (Ventana, Tucson, AZ)を用いて染色し、陽性所見に応じ、適宜部位を追加した。

Lewy 小体以外の老年性変化を呈する病理像の評価は、神経原線維変化 (NFT) は Braak 分類を用い7段階に、老人斑 (SP) は Braak 分類で4段階に、嗜銀顆粒は既

報⁷の通り4段階で評価した。

Lewy 小体関連病変に関しては、両側の副腎、交感神経節、延髄、青斑核レベルでの橋上部、中脳、扁桃核を、全例平等に検索した。H.E.染色で検討し、次いで、免疫組織化学的に、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体と、抗ユビキチン抗体で評価した。

Lewy 小体のステージ分類としては、我々が提唱し、一部改良した中枢神経系 Lewy 小体ステージ分類を採用した。ステージ II, III の例は、Lewy スコアにより、脳幹型 (B)、移行型 (T)、新皮質型 (N) に分類した。ステージ 0.5 と I の例は、Lewy スコアでの数による評価ではなく、単純に Lewy 小体病変の拡がりにより、脳幹型 (B)、移行型 (T)、新皮質型 (N) に分類した。また、これらの進展パターンにあてはまらず、扁桃核に強調される陽性所見を認める型を、扁桃核垂型 (A) と分類した。

嗅球は4%パラフォルムアルデヒドで48時間固定後、正中矢状断で2分しパラフィン包埋し、6 μ m厚切片を作成した。H & E 染色、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色で検討を行った。その結果を嗅球ステージ (Olfactory bulb stage) として以下の3段階に分類した。すなわち、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性所見がないものを「0」、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性の dot, neurite を高倍率で1視野に数個認めるか、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性の dot, neurite を低倍率で中等度認めるが明らかな Lewy 小体を認めないものを「0.5」、明らかに神経細胞内に凝集した封入体をもつ Lewy 小体を認めるものを「I」とした。

嗅球に Lewy 小体病理を認めた場合は、抗リン酸化タウ、 $A\beta$ 免疫染色を追加した。一部の症例には、抗リン酸化 α シヌクレ

インモノクロナル抗体 (psyn#64) と抗リン酸化タウポリクロナル抗体(AP422, 井原康夫博士供与) を用い, 二次抗体として Alexa488 (mouse) と Alexa546(rabbit) を使用した蛍光抗体二重免疫染色を行い, 共焦点レーザー顕微鏡 (Zeiss, LSM5, PASCAL, Jena, Germany) で観察した。

C. 研究結果

対象 270 例中, 中枢神経系に Lewy 小体病理を認めたものは, 83 例 (30.7%) であった (Table 1)。我々の中枢神経系 Lewy 小体ステージを, 嗅球を含まない状態で分類すると, Stage 0 が 187 例, Stage 0.5 が 24 例, Stage I が 27 例, Stage II は 7 例, Stage III は 2 例, Stage IV は 9 例, Stage V は 14 例であった。亜型分類別では, 0.5A 9 例, 0.5B 7 例, 0.5T 8 例, IA 3 例, IB 13 例, IT 11 例, IIA 2 例, IIB 2 例, IIT 3 例, IIIT 1 例, IIIN 1 例であった。CNS LB Stage 0.5A 9 例中 8 例に神経原線維変化 (NFT) Stage III 以上, 老人斑 (SP) Stage B 以上のアルツハイマー病関連病理が合併し, 残り 1 例は, 明らかな他の老年性変化を伴っていなかった。

嗅球に Lewy 小体病理を認めた症例は 66 例 (24.4 %) であった。亜型を含めた各 Stage における嗅球の Lewy 小体病理陽性率は, Stage 0 では 0 例 (0%), Stage 0.5 では 11 例 (45.8%) でその内訳は: 0.5A 3 例 (33.3%), 0.5B 4 例 (57.1%), 0.5T 4 例 (50%) であった。Stage I では 23 例 (85.2%) でその内訳は: IA 3 例 (100%), IB 10 例 (76.9%), IT 10 例 (90.9%) であった。Stage II 以上では全例に陽性所見を認めた (Table 1)。嗅球以外の中枢神経系に, Lewy 小体関連病変を認める率を年齢別に検討すると, 80 歳代でピークとなる。一方 Lewy 小体病理を嗅球に認める率を年代別で検討すると, 70 歳代は 73%

(19/26), 80 歳代は 83% (30/36), 90 歳代では 93% (14/15) と高齢になるほど陽性率が高くなる傾向を示した (Fig. 1)。

中枢神経系 Lewy 小体ステージの中でステージ 0.5 の症例中, 神経細胞内に凝集する封入体を嗅球にのみ認める例が, 5 例 (Table 2) 認められたがその内訳は, 0.5A が 1 例, 0.5B が 2 例, 0.5T が 2 例であった。一方で扁桃核に Lewy 小体病理を認める 0.5A 9 例中の 6 例は, 嗅球ステージ 0 であった (Table 1)。Lewy 小体出現初期にあたりと考えられる症例を以下に呈示する。

Case 3 は, 臨床診断が肺癌 (放射線療法後) の死亡時 89 歳男性。CDR は 1 であったが, 認知症の臨床診断はされていなかった。神経病理学的には, Braak の神経原線維変化 Stage IV, 老人斑 Stage B より早期アルツハイマー病と診断された。Lewy 小体病理としては, 胸髄中間外側核にわずかの抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色陽性の dot, neurite を認め, 扁桃核に少数の dot, neurite, 嗅球に Lewy 小体, 抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性の神経細胞内凝集体に加え, dot, neurite を多数認めた (Fig. 2A)。また, 抗リン酸化タウ抗体 (AT8) 免疫染色では, 前嗅核に AT8 陽性の神経細胞を多数, neuropil thread を多数認めた (Fig. 2B)。抗 A β 抗体免疫染色では, 陽性構造物は極軽度であった (Fig. 2C)。また, 蛍光抗体二重免疫染色により, 神経突起においては, AP422, psyn#64 の両者はほぼ完全に共存 (Fig. 2G-I) し, 神経細胞では, 陽性を呈する部位がそれぞれ異なっていたものの同一細胞内で共存していた (Fig. 2D-F)。

Case 1 は, 臨床診断がアルツハイマー病である死亡時 82 歳女性。神経病理学的にも Braak の神経原線維変化 Stage V, 老人斑 Stage C より, アルツハイマー病と診

断された。Lewy 小体病理としては、迷走神経背側運動核を含めた脳幹には一切抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色陽性の構造物を認めず、扁桃核に極少数の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色陽性の dot, neurite を認めるのみであったが、嗅球には細胞内に、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性の凝集体を散見した。

Case 2 は、臨床診断が慢性閉塞性肺疾患である死亡時 74 歳男性。CDR は 0.5 としているが、いわゆる良性健忘症の範疇であり明らかな記憶障害は呈していなかった。神経病理学的には、Braak の神経原線維変化 Stage IV, 老人斑 Stage C とアルツハイマー病の病理像を示した。

Case 4 は、臨床診断が慢性腎不全、認知症である死亡時 78 歳女性。神経病理学的には、塞栓性の脳血管障害を認め、Braak の神経原線維変化 Stage II, 老人斑 Stage A と軽度であり、血管障害性認知症と診断された。

Case 5 は、臨床診断が肝細胞癌である死亡時 75 歳男性。神経病理学的には、神経原線維変化 Stage I, 老人斑 Stage A と軽度であった。Case 4, 5 のようにアルツハイマー病関連病理が軽度である群においても、Lewy 小体が嗅球にのみ出現している症例が存在した。

嗅球に Lewy 小体病理を認める例について、Alzheimer 型老年性変化との関連を検討した。嗅球に限った病理変化の検討では、嗅球には神経原線維変化の方が、老人斑より出現しやすい傾向が明らかであった。

さらに、扁桃核にのみ Lewy 小体病理を認め、嗅球を含めての中樞神経系には陽性所見を一切認めない症例が、1 例のみ存在した (Table 3: Case 6)。

D. 考察

本研究によって、以下の 4 点が明らか

となった。1) 嗅球は、Lewy 小体が極初期より出現する部位のひとつで、黒質に変性を認める時期では 100%出現する。

2) 高齢者連続剖検例の検討では、嗅球にのみ Lewy 小体形成を認める症例が 2%程度存在する。3) アルツハイマー病関連病理は嗅球 Lewy 小体陽性例では陰性例に比べ高い傾向を有する。4) AD 例では、前嗅核の同一神経細胞内で、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体と抗リン酸化タウ抗体の両者の陽性所見が存在する場合がある。

パーキンソン病において、嗅覚に初期症状が認められるのは、運動障害が出現する以前であることが、臨床的に報告⁸されている。パーキンソン病発症前状態の一つに REM 睡眠行動障害 (RBD) が知られている。最近、RBD の患者に嗅覚障害が認められ、早期発見のマーカーとして嗅覚障害を用いることは有用であるとする報告がある⁹。我々の中樞神経系 Lewy 小体ステージ II (発症前 Lewy 小体病) 以上の全症例において、嗅球に α シヌクレイン陽性所見を認めるという本研究結果は、パーキンソン症状や認知症を呈する以前の極早期の段階で、嗅球が障害されることを病理学的に証明する結果である。

今回われわれは、中樞神経系において、脳幹や扁桃核には Lewy 小体を認めず、嗅球にのみ Lewy 小体を認める症例を 5 例確認した。これら嗅球にのみ Lewy 小体を有する症例は、下記の 3 群にわけることができる。一つは、Case 1 のように背景病理としてアルツハイマー病関連病理を合併し、脳幹には一切 Lewy 小体病理を認めず、嗅球にのみ Lewy 小体形成、扁桃核に軽度の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色陽性構造物を認める症例群、二つめは、Case 2, 3, 4 のように、軽度から中等度の神経原線維変化を伴い、かつ

脳幹にも軽度の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性構造物を認める群、三つめは、背景病理として他の有意な認知症関連病理を伴わず Lewy 小体の出現は認めていないが、脳幹にも軽度の抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性構造物を認め、純粋 Lewy 小体病の極初期と考えざるを得ない症例 (Case 5) である。脳における Lewy 小体関連病変の初期像としては、Braak らは、認知症のない一般コホートと臨床的 PD 例を、抗 α シヌクレイン抗体免疫組織化学的手法を用いて検索することで、初期段階で Lewy 小体病理を認める部位として、迷走神経背側運動核と嗅球を挙げているが、嗅球に所見を認める場合は、必ず迷走神経背側核にも陽性所見を認めると記載している²。前述の Case 1 において、Braak らの報告と異なり、迷走神経背側核に Lewy 小体病理を認めなかった理由としては、AD 関連病理が併存していたことの関与が考えられる。

AD にはしばしば、扁桃核に強調される α シヌクレイノパチーが合併することが報告されている¹⁰。しかし、扁桃核には老人斑と神経原線維変化の双方が高率に出現するため、アルツハイマー病に伴う α シヌクレイン病変の出現や広がり、神経原線維変化の影響によるものか、老人斑によるものかについての一定の見解は得られていない。一方培養細胞を用いた研究では、 α シヌクレインとタウは、互いに線維形成を促進することが報告されている¹¹。また、AD の扁桃核では、Lewy 小体含有神経細胞の 97.8% に神経原線維変化を伴っていると報告されている¹²。嗅球における Lewy 小体関連病変とタウ病理については、Tsuboi ら¹³が前嗅核において Lewy 小体数と神経原線維変化の Braak ステージとは相関すると報告している。一方、PD において皮質型 Lewy 小

体の数が、神経原線維変化よりも老人斑の数とよく相関することが報告されている¹⁴。本研究において、Lewy 小体病理の出現した前嗅核では、 $A\beta$ 沈着はタウ沈着に比べはるかに軽かったこと、前嗅核の神経細胞において抗リン酸化タウ抗体と抗リン酸化 α シヌクレイン抗体の両者が同一細胞内で陽性を示したことは、 $A\beta$ よりタウの関与の方が、Lewy 小体病理への影響が強いことを示唆する所見と考えられる。これは、従来から扁桃核における Lewy 小体関連病変は、 $A\beta$ よりもむしろタウが関与していると報告されている¹⁵ことが、嗅球にもあてはまることを示している。

嗅球と扁桃核の病理学的比較について、以下に述べる。アルツハイマー病に伴う Lewy 小体病理が扁桃核に強調されていることから、 α シヌクレイノパチー、タウオパチー、 β アミロイドシスの三病理が互いにどのように影響しているかを形態病理学的に検索しうる部位として、扁桃核が注目されてきた。しかし、扁桃核は、タウオパチーとしても、神経原線維変化に加え、neuritic plaque の好発部位であり、嗜銀顆粒も高率に合併し、さらに β アミロイドシスが高頻度存在するため、抗リン酸化 α シヌクレイン抗体陽性構造出現に、何が一義的に影響を与えているかの検討には、あまり適していない。その点では、神経原線維変化と $A\beta$ の出現に乖離がみられる嗅球を用いることは、 α シヌクレインとタウの関係を捉えるのにより適している。しかしながら、本研究で扁桃核に Lewy 小体病理を認めず、嗅球に Lewy 小体病理を認めた例は確認できず、逆に、扁桃核に Lewy 小体病理を認めるが、嗅球には Lewy 小体病理を認めない例が、我々の中枢神経系ステージ 0.5A の 2/3 に及んだ。嗅球の標本が扁桃核に比して小

さいため、それによる陽性率の低下への関与は否定できないが、この結果は、依然としてスクリーニングを行う部位としては、扁桃核の方が嗅球よりも適していることを示している。他の老年性変化が軽度な、いわゆる純粋型 Lewy 小体病例の中に、脳幹を始めとする他の部位には Lewy 小体関連病変を認めず、扁桃核にのみ抗リン酸化 α シヌクレイン抗体免疫染色陽性所見を呈する例 (Table 3: Case 6) を確認した。この例は認知症を合併していたが、既往に脳挫傷があり、神経変性疾患による認知症ではなく、外傷由来の認知症と診断されていた。Braak らのステージ分類²では、扁桃核はステージ 2 に属している。Case 6 は、その他の老年性変化を伴わない Lewy 小体病理単独でも Braak らのステージ分類に完全に外れる症例が存在しうることを示している。

E. 結論

高齢者一般コホートにおいて、嗅球は α シヌクレインが極早期に沈着する部位のひとつであり、時に Lewy 小体が単独に出現する場合があること、アルツハイマー型老年性変化との関連では、 β アミロイドよりもむしろタウと共存することが多いこと、パーキンソン症状の記載のない黒質変性例 (発症前 Lewy 小体病) 及び PD・DLB では嗅球に 100% Lewy 小体関連病変を伴うことが、明らかとなった。

[文献]

1. McKeith, I.G., et al., Consensus guidelines for the clinical and pathologic diagnosis of dementia with Lewy bodies (DLB): report of the consortium on DLB international workshop. *Neurology*, 1996. 47(5): p. 1113-24.

2. Braak, H., et al., Staging of brain pathology related to sporadic Parkinson's disease. *Neurobiol Aging*, 2003. 24(2): p. 197-211.

3. Mirra, S.S., et al., The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD). Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology*, 1991. 41(4): p. 479-86.

4. Litvan, I., et al., Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. *Neurology*, 1996. 47(1): p. 1-9.

5. Braak, H. and E. Braak, Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol (Berl)*, 1991. 82(4): p. 239-59.

6. Saito, Y., et al., Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2004. 63(7): p. 742-9.

7. Saito, Y., et al., Severe involvement of ambient gyrus in dementia with grains. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2002. 61(9): p. 789-96

8. Doty, R.L., et al., The olfactory and cognitive deficits of Parkinson's disease: evidence for independence. *Ann Neurol*, 1989. 25(2): p. 166-71

9. Postuma, R.B., et al., Potential early markers of Parkinson disease in idiopathic REM sleep behavior disorder. *Neurology*, 2006. 66(6): p. 845-51

10. Uchikado, H., et al., Alzheimer disease with amygdala Lewy bodies: a

distinct form of alpha-synucleinopathy.
J Neuropathol Exp Neurol, 2006. 65(7):
p. 685-97

3. その他：なし

11. Giasson, B.I., et al., Initiation and synergistic fibrillization of tau and alpha-synuclein. Science, 2003. 300(5619): p. 636-40
12. Marui, W., et al., Pathological entity of dementia with Lewy bodies and its differentiation from Alzheimer's disease. Acta Neuropathol (Berl), 2004. 108(2): p. 121-8.
13. Tsuboi, Y., et al., Tau pathology in the olfactory bulb correlates with Braak stage, Lewy body pathology and apolipoprotein epsilon4. Neuropathol Appl Neurobiol, 2003. 29(5): p. 503-10.
14. Hurtig, H.I., et al., Alpha-synuclein cortical Lewy bodies correlate with dementia in Parkinson's disease. Neurology, 2000. 54(10): p. 1916-21.
15. Popescu, A., et al., Lewy bodies in the amygdala: increase of alpha-synuclein aggregates in neurodegenerative diseases with tau-based inclusions. Arch Neurol, 2004. 61(12): p. 1915-9.

F. 健康危険情報

なし

G. 学会発表

1. 仙石鍊平、齊藤祐子他：第 48 回日本神経病理学会、東京、2007（予定）
2. 仙石鍊平、齊藤祐子他：第 48 回日本神経学会総会、名古屋、2007（予定）

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得：なし
2. 実用新案登録：なし

Table 1. Incidence of LB-related pathology in the olfactory bulbs and individual olfactory stage.

LB stage	Number	Olfactory bulb	Olfactory bulb			
		LB-related pathology positive (ratio, %)	Stage	0	1	2
0	187	0 (0)	187	0	0	0
0.5	24	11 (45.8)	13	4	2	5
A	9	3 (33.3)	6	1	1	1
B	7	4 (57.1)	3	2	0	2
T	8	4 (50)	4	1	1	2
I	27	23 (85.2)	4	3	8	12
A	3	3 (100)	0	1	0	2
B	13	10 (76.9)	3	2	5	3
T	11	10 (90.9)	1	0	3	7
II	7	7 (100)	0	0	5	2
A	2	2 (100)	0	0	1	1
B	2	2 (100)	0	0	1	1
T	3	3 (100)	0	0	3	0
III	2	2 (100)	0	0	1	1
T	1	1 (100)	0	0	0	1
N	1	1 (100)	0	0	1	0
IV	9	9 (100)	0	0	5	4
V	14	14 (100)	0	0	2	12
Total	270	66	204	7	23	36

Abbreviations: LB Lewy body, A amygdala, T transitional, N neocortical

Table 2. Demographics and clinical features of five cases, that presented with LB related pathology, accentuated in the olfactory bulbs and tracts

Case	Age / Sex	Clinical Dx	CDR	BW (g)	Np Dx	NFT	SP	AG	LB Stage	LB related pathology						
										ol	other regions					
											dm	lc	sn	a	ca2	sc
1	82 / F	AD	3	1123	AD	V	C	0	0.5A	I	0	0	0	0.5	0	0
2	74 / M	COPD	0.5*	1413	AC	IV	C	0	0.5T	I	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0
3	89 / M	Lung carcinoma senile dementia	1	1246	early AD	IV	B	1	0.5A	I	0	0	0	0.5	0	0.5
4	78 / F	CRF senile dementia	2	1147	CVDE, VD	II	A	2	0.5B	I	0.5	0.5	0.5	0.5	0	0
5	72 / M	HCC	0.5	1351	unremarkable	I	A	0	0.5T	I	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0

Abbreviations: LB:Lewy body Dx:diagnosis CDR:clinical dementia rating scale BW:brain weight Np:neuropathological NFT:neurofibrillary pathology SP:stages of amyloid deposition AG:grain M:male F:female AD:Alzheimer's disease CRF:chronic renal failure CVDE:cerebral vascular disease embolism VD:vascular dementia HCC:hepatic cell carcinoma COPD:chronic obstructive pulmonary disease AC:Alzheimer's disease change ol:olfactory bulb and tract dm:dorsal motor nucleus of vagus lc:locus coeruleus sn:substantia nigra a:amygdala ca2:ca2 of the hippocampus sc:spinal cord -:not detected *; benign forgetfulness

Table 3 Demographics and clinical features of a case that presented with LB related pathology only in the amygdala.

Case	Age / Sex	Clinical Dx	CDR	BW (g)	Np Dx	NFT	SP	AG	LB Stage	α-synuclein related pathology						
										ol	other regions					
											dm	lc	sn	a	ca2	sc
6	72 / M	Pneumonia Senile dementia	1	1145	cerebral contusion	I	0	0.5	0.5A	0	0	0	0	0.5	0	0

Abbreviations: Dx:diagnosis CDR:clinical dementia rating scale BW:brain weight Np:neuropathological NFT:neurofibrillary pathology SP:stages of amyloid deposition AG:grain M:male F:female

Fig. 1. The incidence of Lewy body pathology in the olfactory bulb is increased with aging

