

The sympathetic ganglia are the most widely used specimen for the evaluation of the peripheral autonomic nervous system in Lewy body disease (12). However, these ganglia and the epicardium of the anterior wall of the left ventricle of the heart are not a routine site for investigation in general autopsy. In contrast, the adrenal gland is always included in routine autopsy examinations and is a good candidate for examination of the peripheral autonomic nervous system because it is evolutionarily related to sympathetic ganglia and includes autonomic nerves and ganglia in the capsular fatty tissue. Several previous studies indicated that the adrenal gland might be involved in PD (13). However, the exact incidence of adrenal gland involvement in Lewy body disease is not well established.

We recently reported a staging paradigm for Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy (LBAS) in consecutive autopsy cases roughly representing a general cohort of the elderly (14, 15). Employing the same strategy in the present study, we provide evidence that evaluation of the peripheral autonomic nervous system in Lewy body disease is possible through the examination of archival paraffin blocks of adrenal glands. Our studies also suggest that adrenal involvement may be associated with orthostatic hypotension in Lewy body disease.

## MATERIALS AND METHODS

### Tissue Source

For the present study, we used 783 consecutive autopsy brains, spinal cords, and adrenal glands obtained from the Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital (TMGH). This hospital provides community-based medical service to the aged population 24 hours/day in cooperation with local general practitioners. The number of patients requiring emergency admission to the hospital reaches almost 5,000 per year. The hospital holds 711 beds in its ward and is directly run by the Tokyo Metropolitan Government to promote the health and welfare of an aged population of nearly 1 million residents of the Tokyo metropolitan area. In

the present study, 452 of the 783 examined cases overlapped cases used in a previous study (15). The patient ages ranged from 48 to 104 years ( $80.68 \pm 8.8$  years, mean  $\pm$  SD) at the time of death, and the male to female ratio was 455:328. The postmortem interval ranged from 52 minutes to 88 hours ( $13.16 \pm 6:36$  hours). Tissue samples were collected after informed consent was obtained from relatives of the deceased according to the Article 18 of the Cadavers Autopsy and Preservation Act in Japan.

## Neuropathology

### Routine Staining

All brains and spinal cords were examined as described previously (15). Briefly, 6- $\mu$ m-thick sections of the representative anatomical areas were stained with hematoxylin and eosin using the Klüver-Barrera method and further examined by means of modified methenamine (16) and Gallyas-Braak silver (17) staining to detect senile changes, Congo red staining to detect amyloid deposition, and elastica Masson trichrome staining to detect vascular changes. In addition, the bilateral adrenal glands were fixed in 10% buffered formalin and embedded in paraffin and then 3- $\mu$ m-thick serial sections were obtained for hematoxylin and eosin staining.

### Immunohistochemistry

A Ventana 20NX autoimmunostainer (Ventana, Tucson, AZ) was used (18) with the following antibodies: anti-phosphorylated tau (ptau) (AT8, monoclonal; Innogenetics, Temse, Belgium), anti- $\beta$  amyloid (11-28, 12B2, monoclonal; IBL, Maebashi, Japan), anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein (psyn#64 [14] and Pser129 polyclonal [19]), anti- $\alpha$ -synuclein (LB509, amino acids 115-122 [20], monoclonal), anti-ubiquitin (polyclonal, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), anti-phosphorylated neurofilament (SMI31, monoclonal; Sternberger Immunochemicals, Bethesda, MA) and anti-tyrosine hydroxylase (anti-TH, monoclonal; Calbiochem-Novabiochem Corporation, Darmstadt, Germany).

TABLE 1. Lewy Body (LB) Stages in the Central Nervous System (14, 15)

Stage	Substantia Nigra and Locus Ceruleus: Loss of Pigmentation	LB				Dementia	Parkinsonism	Diagnosis
		Nigrostriatal	Limbic-Neocortical	Spinal Cord	LB Score			
0	-	-	-	-	0			
0.5	-	+/-	+/-	+/-	0			
I	-	+/-	+/-	+/-	0			Incidental LB disease
II	+	+	+/-	+/-	0-10	-*	-*	Subclinical LB disease
III	+	+	+	+	0-10	-	+	PD
IV	+	+	+	+	3-6	+	+	PDDT
							+/-	DLBT†
V	+	+	+	+	7-10	+	+	PDDN
							+/-	DLBN†

\*. No dementia or parkinsonism associated with Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy.

†. Differential diagnosis of PDD and DLB was based on the "1-year rule" according to the Consensus Guidelines (21).

LB, Lewy body; DLBN, dementia with Lewy bodies, with a Lewy body score corresponding to the value for the neocortical form; DLBT, dementia with Lewy bodies, with a Lewy body score corresponding to the value for the transitional form; PDDN, Parkinson disease with dementia, with a Lewy body score corresponding to the value for the neocortical form; PDDT, Parkinson disease with dementia, with a Lewy body score corresponding to the value for the transitional form.

## Lewy Body-Related Pathology

### Central Nervous System

The medulla oblongata at the level of the dorsal motor nucleus of the vagus, the upper pons at the level of the locus ceruleus, and the midbrain (including the substantia nigra, the amygdala, and the anterior hippocampus) from all cases were immunohistochemically stained with anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies. When positive results were obtained in any case, the anterior cingulate gyrus, the entorhinal cortex, the second frontal and temporal gyri, and the supramarginal gyrus were immunohistochemically examined using anti-ubiquitin antibody to provide Lewy body scores (21), and the results were confirmed using anti- $\alpha$ -synuclein and anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies. The basal nucleus of Meynert (22), CA2-3 of the posterior hippocampus (23), and several (at least upper, middle, and lower) levels of the thoracic spinal cord were also examined with the anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies. The Lewy body stage (Table 1) was determined for all the cases examined, as reported previously (14,15). In this study, we added Stage 0.5 as Lewy neurites alone, or diffuse or fine granular cytoplasmic staining lacking any focal aggregates, in sections immunohistochemically stained with anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies, following the revised Consensus Guidelines for DLB (22). PD with dementia was differentiated from DLB using the definition

in the Consensus Guidelines: "dementia appears more than 12 months after the onset of parkinsonism" (21). In this study, we subcategorized our Stages I and II into primary and secondary  $\alpha$ -synucleinopathy, based on our previous results (14, 15). Primary  $\alpha$ -synucleinopathy (24) showed accentuation in the brainstem and spread to the spinal cord and was further subdivided into brainstem, transitional, and neocortical forms, according to the Lewy body score (21). Secondary  $\alpha$ -synucleinopathy preferentially involved the amygdala and was termed the amygdala variant (25) in both Stage I (IA) and Stage II (IIA) (26).

### The Adrenal Glands

The adrenal glands from all 783 cases were studied with hematoxylin and eosin staining and immunohistochemistry using monoclonal and polyclonal anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies. The immunoreactive structures were screened in the parenchyma as well as in the autonomic nerves or ganglia in the capsular fatty tissue.

### Evaluation of Pathology Related to Other Disorders Presenting With Dementia or Parkinsonism

All 783 cases were evaluated with modified methenamine (16) and Gallyas-Braak silver (17) stainings as well as immunohistochemically using anti-phosphorylated tau

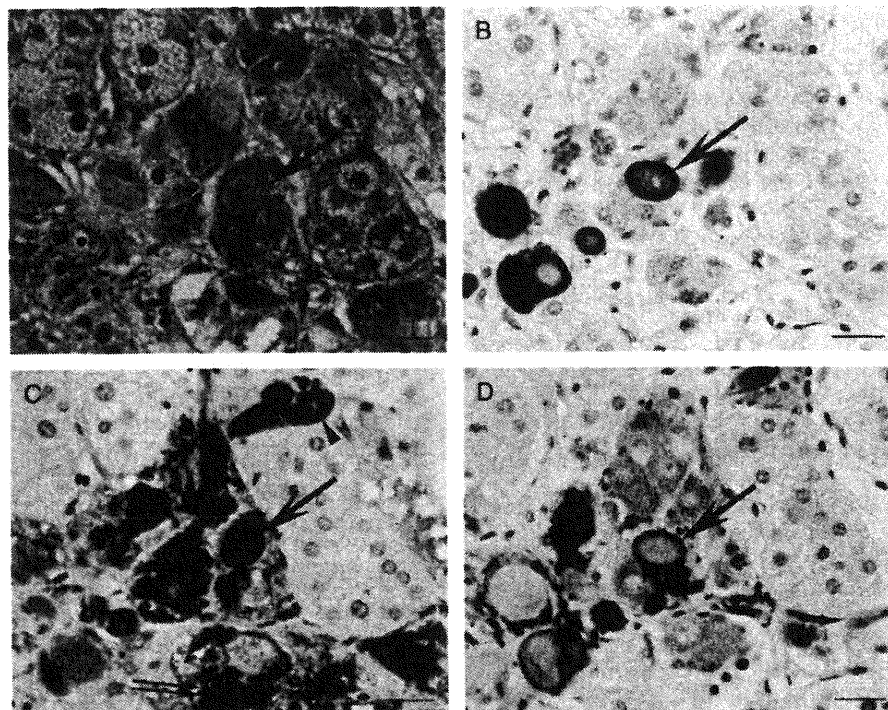
**TABLE 2.** Lewy Body-Related  $\alpha$ -Synucleinopathy in the Central Nervous System and Adrenal Glands

LB Stage*	Type of Distribution/Diagnosis	PA	Dementia	Number of Cases	LBAS in the Adrenal Gland	Ratio (%)
0				577	1	0.2
0.5				36	1	2.8
I				85	14	16.5
	B			41	6	14.6
	T			35	8	22.9
II	A			9	0	0
				29	20	69
	B			5	4	80
	T			19	14	73.7
III	N			2	2	100
	A			3	0	0
	PD	+	-	4	4	100
IV				27	25	92.6
	PDDT	+	+	10	10	100
	DLBT			17	15	88.2
		+	+	7	7	100
		-	+	10	8	80
V				25	22	88
	PDDN	+	+	4	4	100
	DLBN			21	18	85.7
		+	+	7	7	100
Total		-	+	14	11	78.6
				783	87	11.1

\*Lewy body stage (14, 15).

LB, Lewy body; PA, parkinsonism; LBAS, Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy; B, brainstem; T, transitional; N, neocortical; A, amygdala variant; PD, Parkinson disease without dementia; PDDT, Parkinson disease with dementia, with a Lewy body score corresponding to the value for the transitional form; DLBT, dementia with Lewy bodies, with a Lewy body score corresponding to the value for the transitional form; PDDN, Parkinson disease with dementia, with a Lewy body score corresponding to the value for the neocortical form; DLBN, dementia with Lewy bodies, with a Lewy body score corresponding to the value for the neocortical form.

Fig 1 4/C



**FIGURE 1.** Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in the adrenal medulla. **(A)** Lewy bodies (arrow) are identified in a hematoxylin and eosin-stained section. **(B)** Anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein (Pser129) antibody clearly visualizes Lewy body-related inclusions, some of which show a central halo and a peripheral rim (arrow). This section is adjacent to that shown in **(A)**. **(C)** Anti-tyrosine hydroxylase immunohistochemistry demonstrates a positively stained cytoplasm of the ganglion cells (arrowhead) and Lewy bodies (arrow), in addition to adrenal medullary cells (double arrows). This section is adjacent to that shown in panel **(A)**. **(D)** Anti-phosphorylated neurofilament (SMI31) antibody intensely stained the periphery of some Lewy bodies (arrow). This section is a serial section of that shown in **(B)**. Scale bars = **(A–D)** 25  $\mu$ m.

(AT8) and anti- $\beta$  amyloid antibodies. Neurofibrillary tangles were classified into 7 stages as defined by Braak and Braak (27). Senile plaques were also stratified according to Braak and Braak (27) because this Braak stage IV was the only available stage for parenchymal deposition of anti- $\beta$  amyloid. Argyrophilic grains were classified into 4 stages as we have previously described (28).

A neurofibrillary tangle stage equal to or greater than IV and senile plaque stage C were adopted for the diagnosis of AD, as previously reported (29). Diagnoses of “dementia with

grains” and the “neurofibrillary tangle-predominant form of dementia” were based on Jellinger’s definitions (30, 31). A diagnosis of vascular dementia was based on the National Institute of Neurological Disorders and Stroke (NINDS)-Association Internationale pour la Recherche et l’Enseignement en Neurosciences (AIREN) criteria (32). A diagnosis of progressive supranuclear palsy was based on the NINDS diagnostic criteria (33), skipping the clinical inclusion scheme.

**Clinical Information**

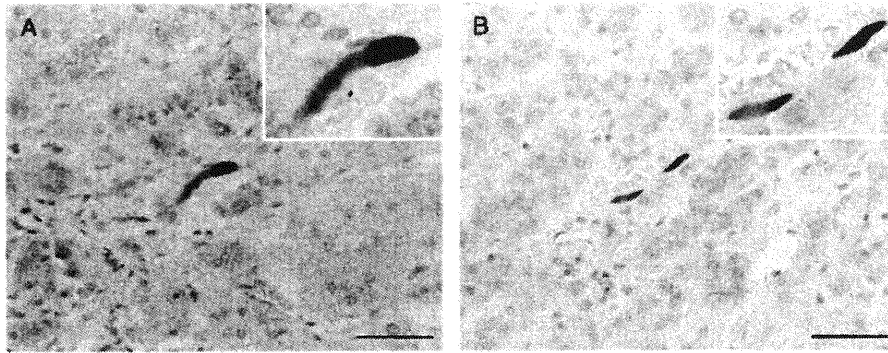
Clinical information, including the presence or absence of parkinsonism and autonomic failure, as well as an assessment of the patient’s cognitive state, was obtained from medical charts. The entire collection of medical records, including neuroimages (magnetic resonance imaging, computed tomography, single photon emission computed tomography, and positron emission tomography) of the patients on whom an autopsy was performed, was stored in the TMGH’s database. When the previous medical history of another hospital was available, the medical records from that hospital were also obtained with written informed consent from the patient’s relatives. Scores from the Mini-Mental State Examination (34) or the Hasegawa Dementia Scale (35) or its revised version (36) and Instrumental Activities of Daily Living scale (37) were used to evaluate cognitive function.

**TABLE 3.** Distribution of Lewy Body-Related  $\alpha$ -Synucleinopathy in the Adrenal Gland Specimens

Region	Lewy Body-Related Pathology (Number)	Frequency (%)
Ganglia in the adrenal medulla	58	66.7
Nerve fascicles in the adrenal cortex	23	26.4
Ganglia in the periadrenal fatty tissue	37 (of 50 cases*)	(74.0)
Nerve fascicles in the periadrenal fatty tissue	81	93.1

\*. Ganglia in the periadrenal fatty tissue were identified in 50 of the 87 cases.

Fig 2 4/C



**FIGURE 2.** Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in the adrenal cortex. **(A, B)** Anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibody **(A)**, psyn#64, monoclonal; Pser129, polyclonal **(B)**. Both antibodies are raised against the same synthetic peptide and show the same specificity in immunoblots (15, 19). The polyclonal antibody presents less background than the monoclonal one in the peripheral autonomic nervous tissues examined and demonstrates positively stained thick neurites with focal swelling (left in insets). Scale bars = **(A, B)** 50  $\mu$ m.

AQ3

The Clinical Dementia Rating Scale (38) was retrospectively determined by 2 independent board-certified neurologists. If the resulting Clinical Dementia Rating Scale scores were in agreement, the score was accepted. If not, the neurologists reconciled their differences after interviews with the patient's attending physicians and caregivers. Locomotor activity was evaluated using the Barthel Index of Activity of Daily Living (39). Information about parkinsonism, tremor (resting), rigidity (cogwheel), bradykinesia, and postural instability was extracted from the records of neurologic examinations, and the presence of more than 2 of these symptoms was interpreted as positive for PD. To assess autonomic failure, documentation of orthostatic hypotension was retrieved from the charts. There were limitations in clinical assessment in this retrospective manner, compared with prospective clinical studies, but we made efforts to decrease the gap, using the merit of community-based settings. The majority of the cases had long-term follow-up (up to more than 40 years) and both cognitive and motor function parameters were routinely evaluated at each admission to TMGH. The majority of the relatives who approved the autopsy were also medically followed by the TMGH, and we tried to have direct interviews with them to confirm descriptions in clinical charts.

**Statistical Analysis**

Statistical analysis was performed using the chi-square test or the Fisher exact test for comparisons of categorical data. Statistical significance was set at  $p < 0.05$ .

**RESULTS**

**Incidence and Distribution of Lewy Body-Related  $\alpha$ -Synucleinopathy in the Adrenal Glands**

LBAS was found in 207 (26.4%) of 783 cases examined. Among them, 87 cases (11.1%) (Table 2) showed LBAS in the following areas of sections of the adrenal glands: 1) sympathetic ganglion cells in the adrenal medulla (Fig. 1); 2) sympathetic nerve fascicles in the interstitial

tissue of the adrenal cortex (Fig. 2); 3) sympathetic ganglia in the fatty tissue surrounding the adrenal capsule (Fig. 3); and 4) nerve fascicles in the fatty tissue surrounding the adrenal capsule (Fig. 4). The above 4 structures were immunoreactive for anti-TH antibody, a marker of the sympathetic nervous system (Figs. 1C and 3C). The regional distribution of LBAS is summarized in Table 3.

So-called "adrenal bodies" (40) were always negative for anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies (data not shown). SMI31 stained preserved unmyelinated fibers of TH-immunoreactive nerve fascicles in all of the cases with adrenal Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy, including PD cases, in contrast to a marked decrease in TH-immunoreactive unmyelinated fibers in the pericardium in these cases (data not shown) (9,10).

**Comparison With the Lewy Body Stage in the Central Nervous System**

The correlation between the Lewy body stage in the central nervous system and the presence or absence of  $\alpha$ -synucleinopathy in the adrenal gland is summarized in Table 2. Lewy bodies were found in one Lewy body Stage 0 case and in one Lewy body Stage 0.5 case. All of the PD cases with or without dementia had Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in the adrenal gland.

To elucidate the initial stage of LBAS, the percentage of cases with positive anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein immunoreactivity in the adrenal glands was estimated in each subgroup of Lewy body Stage I and Stage II (Table 2). None of the amygdala variants exhibited anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein immunoreactivity in the adrenal glands. In contrast, nearly 20% of Stage I and approximately 80% of Stage II cases of the primary  $\alpha$ -synucleinopathy presented with LBAS in the adrenal glands.

We further analyzed Lewy body Stage IV and Stage V cases (n = 5) that did not present with Lewy body-related pathology in the adrenal glands. These cases had no clinical description of Parkinsonism or orthostatic hypotension. Four of these cases were complicated by AD pathology (changes in senile plaque stage C and an neurofibrillary tangle stage

equal to or greater than Stage III), and the fifth case was complicated by argyrophilic grain Stage III. All 14 DLB cases with a clinical description of parkinsonism and all 8 DLB cases with no such description but with other mild senile changes presented with adrenal LBAS. However, the 7 DLB cases with similar Alzheimer pathology and the 3 DLB cases with argyrophilic grain Stage III contained adrenal Lewy body pathology and did not show easily detectable morphologic differences from the above mentioned 5 cases without the adrenal Lewy body pathology.

### Clinicopathologic Correlation With Lewy Body Pathology in the Adrenal Glands

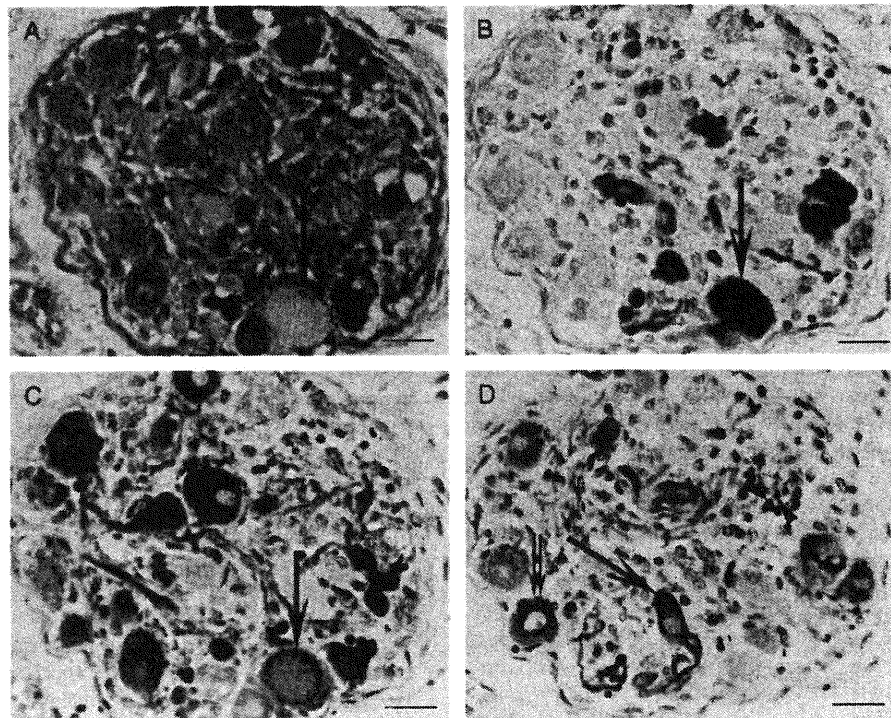
Orthostatic hypotension was clinically described in the medical records for 6 of the 783 cases. Five of these cases showed LBAS in the adrenal glands: one case of PD without clinical description of dementia, one case of PD with dementia with the Lewy score of the transitional form, one case of PD with dementia with the Lewy score of the neocortical form, and 2 cases with DLB transitional form. Of the 2 cases in which Lewy bodies were restricted to the adrenal glands, one case with Lewy body Stage 0.5 clinically presented with syncope-like attack, but there was no definite evidence of orthostatic hypotension.

### DISCUSSION

Our studies represent the first demonstration in the literature of the following. 1) LBAS was always involved the adrenal gland in PD, with or without dementia. 2) Adrenal glands were always free of LBAS in cases with the amygdala variant. 3) DLB cases that lacked LBAS in the adrenal glands were always complicated by the presence of moderate to severe Alzheimer pathology or argyrophilic grain disease and had no clinical description of parkinsonism. 4) LBAS in the adrenal glands can occur independently of LBAS in the central nervous system. Thus, the immunohistochemical evaluation of adrenal glands with anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies can be used to evaluate Lewy body pathology involving the peripheral autonomic nervous system.

Lewy bodies and their related structures are present in the adrenal glands of patients with PD or DLB (13, 41). However, the detection ratio was only approximately 30% (41), which differed from the ratio in the sympathetic ganglia (42), in which Lewy bodies were always present in patients with PD or DLB. In the present study we were able to detect Lewy body-related pathology immunohistochemically in adrenal glands or their associated sympathetic tissues with anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies in

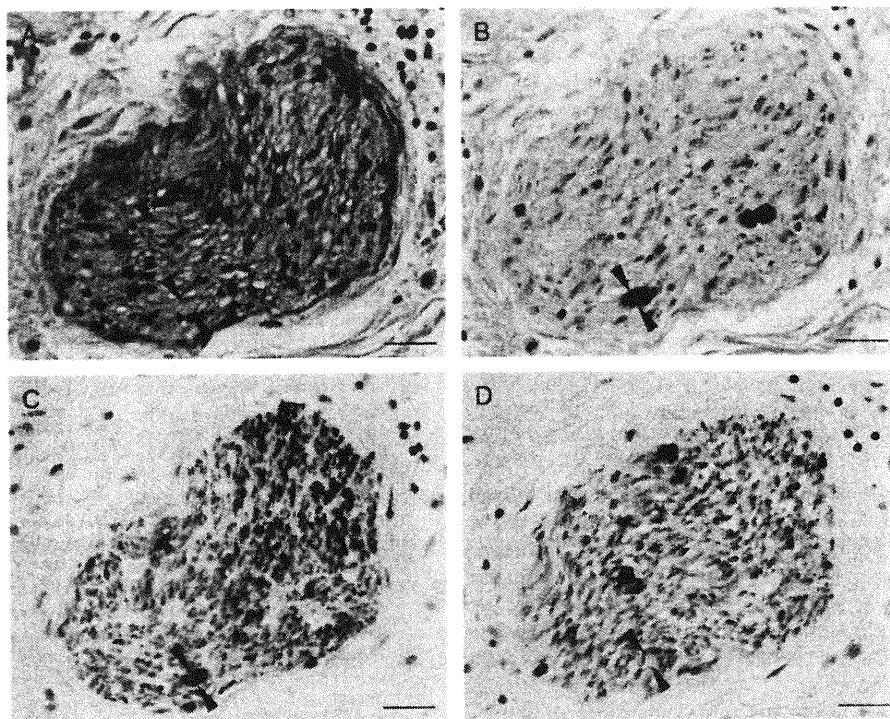
Fig 3 4/C



**FIGURE 3.** Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in a sympathetic ganglion from the fatty tissue surrounding the adrenal capsule. **(A)** Lewy bodies (arrow) are visible in a hematoxylin and eosin-stained section. **(B)** Anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein (Pser129) immunostaining visualizes the abundant Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy (arrow). This image represents a serial section of that shown in **(A)**. **(C)** Anti-tyrosine hydroxylase staining in the neuronal cytoplasm, neurites, and Lewy bodies (arrow). This image is a serial section of that shown in **(B)**. **(D)** Anti-phosphorylated neurofilament antibody (SMI31) reveals axons (arrowheads) and some neuronal perikarya (double arrows). The periphery of some Lewy bodies is intensely stained by the antibody. Scale bars = **(A–D)** 25  $\mu$ m.)

AQ4

Fig 4 4/C



**FIGURE 4.** Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in a nerve fascicle from the fatty tissue surrounding the adrenal capsule. **(A)** An axonal pale body (arrowheads) is detectable with hematoxylin and eosin staining. **(B)** Anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibody (psyn#64) stains the pale body (arrowheads). Lewy dots are also visualized by the antibody. This image is a serial section of that shown in **(A)**. **(C)** Anti-tyrosine hydroxylase antibody clearly visualizes the pale body (arrowheads) as well as adjacent axons in the fascicle. This image is a serial section of that shown in **(B)**. **(D)** Anti-phosphorylated neurofilament antibody (SMI31) stains the periphery of the pale body (arrowheads) as well as axons of the nerve fascicle. This image is a serial section of that shown in **(C)**. Scale bars = **(A–D)** 25  $\mu$ m.

all cases of PD. Because adrenal glands are routine sites of investigation in general autopsy, our results indicate that evaluation of the peripheral autonomic nervous system in Lewy body disease is possible through the examination of archival paraffin blocks of adrenal glands. Pathologic examination in TMGH requires strict removal of fatty tissue from adrenal glands to evaluate their exact weight. When such removal is not done, the detection rate of periadrenal paraganglia was almost 100% (Dr. K. Kawabata, Director, Department of Pathology, Akashi City Hospital, personal communication). Because the periadrenal retroperitoneal space contains abundant paraganglia and associated sympathetic ganglia and nerves, even the very thin surrounding tissue of the adrenal glands in our series always included useful peripheral sympathetic nervous tissue.

Adrenal glands are frequently affected by autolysis, inflammation, or metastasis, but our study suggests that the organs and the surrounding sympathetic ganglia and nerves are nevertheless useful for assessing morphologic changes in the peripheral autonomic nervous system in PD or DLB.

The amygdala variant of  $\alpha$ -synucleinopathy is complicated by either a severe burden of tangles and plaques or by argyrophilic grains in the amygdala. This type of  $\alpha$ -synucleinopathy is associated with AD and Down syndrome (25, 26, 43, 44), as well as with other tauopathies

(45). We termed this type “secondary” (14, 15). The present study clearly shows that immunopathologic studies of the adrenal glands can distinguish secondary  $\alpha$ -synucleinopathy from PD.

Braak et al (46) proposed a staging system for  $\alpha$ -synucleinopathy in the brains of a nondemented general cohort and in cases of PD. Our series, with a cohort having a mean age of approximately 80 years, included a high percentage of dementia, as was expected. The differential diagnosis between DLB and PD with dementia is often difficult in such aged cohorts. Thus, Braak et al’s staging paradigm could not be applied effectively to our group (15). We always examined the spinal cord, a structure not included in Braak et al’s staging, to evaluate the preganglionic sympathetic neurons. Our results show that some DLB cases, whose  $\alpha$ -synucleinopathy definitely involved sympathetic preganglionic neurons, did not present with  $\alpha$ -synucleinopathy in the adrenal or periadrenal tissues. All of these cases met the morphologic criteria for AD from the elderly cohort (47) or for dementia with grains (28) and lacked a clinical description of parkinsonism. However, many other cases of DLB, complicated by similar changes in AD or dementia with grains and lacking a clinical description of parkinsonism, presented with  $\alpha$ -synucleinopathy involving the adrenal or periadrenal tissues. Although

morphologic differences in the Lewy body pathology in the central nervous system at the final stage of the illness may become unclear, the pathologic examination of LBAS in the peripheral autonomic nervous system could delineate those DLB cases complicated by other senile changes and presenting with a limbic-neocortical-dominant distribution of Lewy body pathology, lesser involvement of the brainstem and spinal cord, and a lack of adrenal and periadrenal Lewy body pathology from other DLB cases with a pathology more common to PD (with or without dementia), which always presents with adrenal or periadrenal Lewy body pathology.

Although the number of cases was small, 2 cases presented with Lewy bodies only in the adrenal glands and lacked Lewy bodies in the central nervous system. These cases could possibly represent the earliest stage of Lewy body-related progressive autonomic failure. From the points of disease pathogenesis and hierarchy of the Lewy body disorders, this result indicates that the adrenal gland could be the initial and primary target for these progressive disorders.

In the present study, we retrospectively investigated the correlation between clinical and pathologic presentations of adrenal glands. Although there were definite limitations in our study based on the review of medical records, the observed Lewy body-related pathology involving adrenal tissues did not correspond to any symptomatology of adrenal insufficiency, except for orthostatic hypotension. Also, our studies did not indicate how to detect this adrenal or periadrenal Lewy body-related pathology in clinical testing. Reduced uptake of MIBG in cardiac scintigraphy in Lewy body disease corresponds to decreased TH-immunoreactivity as well as to  $\alpha$ -synucleinopathy in unmyelinated fibers from the epicardial fatty tissue of the anterior wall of the left ventricle of the heart (8–10). However, because the TH-immunoreactive unmyelinated fibers in the periadrenal fatty tissue were relatively preserved in this study, MIBG scintigraphy, which is also used for the detection of pheochromocytoma of the adrenal glands, may not be useful for detection of this Lewy body-related pathology in adrenal tissues. Therefore, we are now planning a prospective functional study of cases with Lewy body disease consisting of the tilt test and simultaneous blood sampling to gauge the serum noradrenalin level, as well as the resting adrenalin level, to detect this adrenal pathology clinically.

In conclusion, the immunohistochemical examination of adrenal glands with anti-phosphorylated  $\alpha$ -synuclein antibodies can help differentiate the primary and the secondary forms of LBAS, as well as identify where LBAS starts in the human body and how it spreads.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We thank Mr. Naoo Aikyo, Ms. Mieko Harada, and Ms. Nobuko Naoi (Department of Neuropathology, Tokyo Metropolitan Institute for Gerontology) for the preparation of sections and Dr. Kinuko Suzuki (Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of North Carolina at Chapel Hill) for helpful discussions. We also thank two

anonymous neurologists for preparing the Clinical Dementia Rating scores used in this study.

#### REFERENCES

1. Kosaka K. Dementia and neuropathology in Lewy body disease. *Adv Neurol* 1993;60:456–63
2. 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
3. Koike Y, Takahashi A. Autonomic dysfunction in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1997;38(Suppl 2):8–12
4. Horimoto Y, Matsumoto M, Akatsu H, et al. Autonomic dysfunctions in dementia with Lewy bodies. *J Neurol* 2003;250:530–33
5. Hishikawa N, Hashizume Y, Yoshida M, Sobue G. Clinical and neuropathological correlates of Lewy body disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 2003;105:341–50
6. Haksui S, Yasuda T, Yanagi T, et al. A radiological analysis of heart sympathetic functions with meta-[<sup>123</sup>I]iodobenzylguanidine in neurological patients with autonomic failure. *J Auton Nerv Syst* 1994;49:81–84
7. Orimo S, Ozawa E, Nakade S, Sugimoto T, Mizusawa H. [<sup>123</sup>I]-metaiodobenzylguanidine myocardial scintigraphy in Parkinson's disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1999;67:189–94
8. Orimo S, Oka T, Miura H, et al. Sympathetic cardiac denervation in Parkinson's disease and pure autonomic failure but not in multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:776–77
9. Orimo S, Amino T, Takahashi A, et al. Cardiac sympathetic denervation in Lewy body disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2006;12:S99–105
10. Mitsui J, Saito Y, Momose T, et al. Pathology of the sympathetic nervous system corresponding to the decreased cardiac uptake in [<sup>123</sup>I]-metaiodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy in a patient with Parkinson disease. *J Neurol Sci* 2006;243:101–4
11. Yoshita M, Taki J, Yokoyama K, et al. Value of [<sup>123</sup>I]-MIBG radioactivity in the differential diagnosis of DLB from AD. *Neurology* 2006;66:1850–54
12. Forno LS, Sternberger LA, Sternberger NH, Streifling AM, Swanson K, Eng LF. Reaction of Lewy bodies with antibodies to phosphorylated and non-phosphorylated neurofilaments. *Neurosci Lett* 1986;64:253–58
13. Wakabayashi K, Takahashi H. Neuropathology of autonomic nervous system in Parkinson's disease. *Eur Neurol* 1997;38(Suppl 2):2–7
14. Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, et al. Accumulation of phosphorylated  $\alpha$ -synuclein in aging human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:644–54
15. Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, et al. Lewy body-related  $\alpha$ -synucleinopathy in aging. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:742–49
16. 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* 1990;79:569–72
17. Gallyas F. Silver staining of Alzheimer's neurofibrillary changes by means of physical development. *Acta Morphol Acad Sci Hung* 1971;19:1–8
18. Saito Y, Nakahara K, Yamanouchi H, Murayama S. Severe involvement of ambient gyrus in dementia with grains. *J Neuropathol Exp Neurol* 2002;61:789–96
19. Fujiwara H, Hasegawa M, Dohmae N, et al.  $\alpha$ -Synuclein is phosphorylated in synucleinopathy lesions. *Nat Cell Biol* 2002;4:160–64
20. Jakes R, Crowther RA, Lee VM, Trojanowski JQ, Iwatsubo T, Goedert M. Epitope mapping of LB509, a monoclonal antibody directed against human  $\alpha$ -synuclein. *Neurosci Lett* 1999;269:13–16
21. McKeith IG, Galasko D, Kosaka K, 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;47:1113–24
22. McKeith IG, Dickson DW, Lowe J, et al. Diagnosis and management of dementia with Lewy bodies: Third report of the DLB Consortium. *Neurology* 2005;65:1863–72
23. Dickson DW, Schmidt ML, Lee VM, Zhao ML, Yen SH, Trojanowski JQ. Immunoreactivity profile of hippocampal CA2/3 neurites in diffuse Lewy body disease. *Acta Neuropathol (Berl)* 1994;87:269–76

24. Forman MS, Schmidt ML, Kasturi S, Perl DP, Lee VM, Trojanowski JQ. Tau and  $\alpha$ -synuclein pathology in amygdala of Parkinsonism-dementia complex patients of Guam. *Am J Pathol* 2002;160:1725-31
25. Uchikado H, Lin WL, DeLucia MW, Dickson DW. Alzheimer disease with amygdala Lewy bodies: A distinct form of  $\alpha$ -synucleinopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006;65:685-97
26. Hamilton RL. Lewy bodies in Alzheimer's disease: A neuropathological review of 145 cases using  $\alpha$ -synuclein immunohistochemistry. *Brain Pathol* 2000;10:378-84
27. Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991;82:239-59
28. Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, et al. Staging of argyrophilic grains: An age-associated tauopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004;63:911-18
29. Murayama S, Saito Y. Neuropathological diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Neuropathology* 2004;24:254-60
30. Jellinger KA. Dementia with grains (argyrophilic grain disease). *Brain Pathol* 1998;8:377-86
31. Jellinger KA, Bancher C. Senile dementia with tangles (tangle predominant form of senile dementia). *Brain Pathol* 1998;8:367-76
32. Roman GC, Tatemichi TK, Erkinjuntti T, et al. Vascular dementia: Diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop. *Neurology* 1993;43:250-60
33. Hauw JJ, Daniel SE, Dickson D, et al. Preliminary NINDS neuropathologic criteria for Steele-Richardson-Olszewski syndrome (progressive supranuclear palsy). *Neurology* 1994;44:2015-19
34. 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
35. Hasegawa K, Inoue K, Moriya K. An investigation of dementia rating scale for the elderly (in Japanese). *Seishin Igaku* 1974;16:965-69
36. Katoh S, Simogaki H, Onodera A, et al. Development of the revised version of Hasegawa's dementia scale (HDS-R). *Rounen Seishinigaku Zashi* 1991;2:1339-47
37. Lawton MP, Brody EM. Assessment of older people: self-maintaining and instrumental activities of daily living. *Gerontologist* 1969;9:179-86
38. 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
39. Mahoney FI, Barthel DW. Functional evaluation: The Barthel Index. *Md State Med J* 1965;14:61-65
40. Kimura Y, Utsuyama M, Yoshimura M, Tomonaga M. Element analysis of Lewy and adrenal bodies in Parkinson's disease by electron probe microanalysis. *Acta Neuropathol (Berl)* 1983;59:233-36
41. 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
42. Forno LS, Norville RL. Ultrastructure of Lewy bodies in the stellate ganglion. *Acta Neuropathol (Berl)* 1976;34:183-97
43. Lippa CF, Fujiwara H, Mann DM, et al. 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
44. 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;45:353-57
45. Yamazaki M, Arai Y, Baba M, et al.  $\alpha$ -Synuclein inclusions in amygdala in the brains of patients with the parkinsonism-dementia complex of Guam. *J Neuropathol Exp Neurol* 2000;59:585-91
46. 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
47. Knopman DS, Parisi JE, Salviati A, et al. Neuropathology of cognitively normal elderly. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003;62:1087-95



## 総説

## ブレインバンク\*

村山 繁雄<sup>1)</sup> 齊藤 祐子<sup>1,2)</sup>

Key words : neuropathology, neurodegeneration, dementia, Alzheimer's disease, Parkinson's disease

## I. なぜブレインバンクが必要なのか？

脳はヒト進化の最終段階にある臓器であり、いかなる動物実験の結果も、最終的な確認はヒト脳を用いる必要がある。解剖学的に、ヒトに最も近いチンパンジーを用いても、解剖学的構造はいうに及ばず、言語機能をはじめ、ヒト特有の機能は共有できない。

例えば、動物実験で最も用いられる機会の多いマウスにおいては、嗅脳が最も発達しているが、ヒトの相同構造は嗅球であり、ヒト脳全体の中では僅少な部分である。嗅脳には神経幹細胞が存在するとして現在脚光を浴びており、基礎科学者より嗅球を希望する共同研究計画が寄せられている。しかし果たしてヒトの場合、齧歯類のデータがどの程度回帰できるのか、疑問といわざるを得ない。

遺伝子改変マウスは、ヒト脳疾患を検索する上で極めて有用なモデルである。しかし、このマウスモデルによる有用性が確認された、アルツハイマー病 (Alzheimer's disease : AD) の原因と考えられている、アミロイドβ蛋白 (amyloid beta : Aβ) を用いたワクチン療法が、ヒトへの応用において、致死性脳炎を合併することで治験が中止されたことは、記憶に新しい。Aβの代謝、あるいは脳をめぐる免疫応答、さらにマウスとヒトでのライフスパンの差が、この結果をもたらした可能性がある。この事実で代表されるように、疾患モデルマウスが、病因解明に大きな役割を果たすことはいうまでもないが、ヒトでの確認が不可欠であり、神経系のみならず、循環系、免疫系ともに特殊な分化を遂げている、ヒトの脳疾患解明には、常にヒト脳での確認が必要なこと自体は変わらない。

また、培養細胞を用いた研究も、生物学的現象としていかに興味深いものであっても、ヒト脳の現実の代謝に本当に対応するのかは、実際のヒト脳を用いた確認が必須である。培養細胞から得られる実験データは、非常にきれいであることが多いが、設定された実験条件が、ヒトの脳で *in vivo* で起きている病態をそもそも反映しているかは、まったく別の次元の問題である。

ところで一般臓器の場合は、脳とはかなり事情が異なる。例えば心臓や肺の動物実験を用いた研究が、ヒトにあてはまらない可能性は、脳に比べると非常に少ない。これは、系統発生的に進化の最終段階に達するのが、より下等な段階で達成されるからと言い換えることも可能である。

また、全身臓器の場合、生検・手術という手段で病理組織が得られる可能性が高く、それが組織全体を代表する可能性が高い点も脳と異なる点である。脳の場合は局在があり、解剖学的部位により組織所見が異なることが一般的である。また、遺伝子の90%以上は脳に発現しており、同じ神経細胞、あるいはアストログリアでさえも、部位により高度の分化を遂げていることが明らかとなっている。さらに、頭蓋に囲まれてアプローチが難しいこともあり、現在生検診断が医学上行われるのは、腫瘍や炎症など、脳を局所性に破壊する病変にほぼ限られている。神経変性疾患の診断に、一時期非優位半球側頭極の生検が用いられた時代もあるが、生検材料が少量で、かつ脳の一部を代表するだけであるため、診断はともかく病態追求にどの程度貢献できたかは極めて疑問である。脳手術に関して、手術材料により一定の進歩がもたらされたのは脳腫瘍・てんかんがあげられ、これらにおいては手術材料の果

## \* Brain Bank

<sup>1)</sup> 東京都老人総合研究所高齢者ブレインバンク (〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2) Shigeo Murayama, Yuko Saito : Department of Neuropathology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, 35-2 Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan

<sup>2)</sup> 東京都老人医療センター剖検病理科 Yuko Saito : Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital

たした役割は、全身臓器と大きな変わりはない。

したがって、神経変性疾患の場合、剖検脳が脳研究のための唯一の資源といっても過言ではない。また、神経変性疾患のみならず、多発性硬化症等の脱髄疾患、後天性免疫不全症候群(AIDS)、プリオン病などの感染性疾患、Krabbe病などの代謝性蓄積疾患、CADASIL (cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy) などの遺伝性血管障害において、剖検脳が、疾患の原因解明に重要な役割を果たしてきたことは、歴史が示している。

もう1つヒト脳に特有なことは、剖検脳をいかに細かく調べようと、その脳の生前の臨床症状をすべて解明することはできないという事実である。肺の場合、炭粉沈着が強ければ喫煙歴が推測できるし、気腫性変化が強ければ呼吸困難をある程度自覚したであろうことは予想可能である。心臓の場合も、冠状動脈、弁装置、心臓重量、心腔の拡張、心筋の肥大、組織学的線維化の有無、アミロイド沈着の有無、さらには心筋構成蛋白の遺伝子変異の有無などを調べることで、本人の症状をある程度類推可能である。

しかし死後脳をいかなる方法を用いて検索しようとも、現在のレベルでは、精神疾患の代表である統合失調症やそううつ病を診断することは不可能である。また、認知症は形態学的変化を基準に診断するが、本人の最終臨床症状を正確に推測することは、病理所見からは不可能である。病前の知的レベル、20歳までの教育程度、栄養状態、全身状態など、同様の病理を呈していても認知機能の予後に影響を与えることが明らかにされてきた。プリオン病やAIDSの極期、ALS(筋萎縮性側索硬化症)などの神経変性疾患の場合は、ある程度症状との類推が可能であるが、それも中核症状に限られる。例えばパーキンソン病では、黒質にLewy小体が出現し、神経変性を認めながら、パーキンソン症状の記載のない症例が一定数存在する。この場合、症状の発症前なのか、それとも見逃されていたのかにより、神経病理所見の意味付けが異なる。

それでは、ヒト死後脳で基礎的研究で得られた知見を確認するとしたときに、何が必要とされるか？それは、生化学的な解析、そして近年劇的な進歩をとげて分子遺伝学的検索に耐える手法で脳を凍結保存すること、その脳は、解剖学的・病理学的情報を確実に持つこと、さらに、臨床症状が正確に記載されていることである。また、死直前の状態の影響を受けることが確実であるので、一定の症例数での確認が必要である。

このためには、対症疾患について臨床的に前方視的縦断研究が不可欠である。現在、欧米の老化研究にお

いては、臨床症状、放射線画像、バイオマーカーを縦断的に追求し、不慮の転帰をとった時はできる限り剖検を行うことが主流となっている。さらにそのような結果得られた剖検脳を詳細に神経病理学的に検討の上、解剖学的正確性を持って生化学的・分子遺伝学的使用に耐えるようバンク化していく試みもはじまっている。

神経病理学的診断自体、新しい知見が加わるたびに、新しい視点からの再検討が必要であり、後方視的研究は不可欠である。例えば、 $\alpha$ シヌクレインがLewy小体の構成成分であることが判明し、Lewy小体の検出に抗 $\alpha$ シヌクレイン抗体免疫染色による確認が診断基準として採用されると、これまでLewy小体病と診断された症例を抗 $\alpha$ シヌクレイン抗体免疫染色で再検討することが要求されるごとくである。したがって、ブレインバンクプロジェクトにおいては、本来前方視的臨床追求と後方視的病理検索の両方を、常にアクティブに行うことが要求される。

## II. ブレインバンクの世界における位置づけ

歴史的にみたときに、最初にブレインバンクを構築したのは英米の脳研究者である。1960年代に超低温槽が開発され、組織を半永久的に保存するめどがたったことを前提としている。英国ではCambridgeのハンチントン病研究者が、ハンチントン病研究を行っている他施設の研究者に、凍結脳の提供を始めたのが最初とされる。同じ時期に、現在米国をはじめとして、ブレインバンクの啓蒙活動を最も熱心に行っているDr. Tourtellotteが、UCLAで正常脳と多発性硬化症の脳を蓄積し研究者に供与することを始めた。後者は現在Human Brain and Spinal Fluid Resource Centerとして、世界最大の資源蓄積を誇るブレインバンクの1つを形成している(<http://www.loni.ucla.edu/uclabrainbank>)。彼らは自分たちの運動を「希望の贈り物プログラム(the gift of hope program)」と呼んでおり、これは、全米あるいは豪州でブレインバンクのシンボルとして採用されている。これらは、研究者が主導で脳を蓄積していくアプローチである。

一方、患者本人ないしは介護者が、自分ないしは家族の難治性疾患の克服を願い、研究者に脳を提供する試みがこれに続いた。患者団体が、公的寄付を募りながら、ブレインバンク登録生前同意の取得と、バンクの運用資金援助、疾患の克服の研究に研究費を提供し、研究者を勧誘するアプローチである。英国のパーキンソン病協会ブレインバンク(<http://www.parkinsonstissuebank.org.uk/>)が最も有名である。

米国自閉症ブレインバンク勧誘のパンフレットには、両親の言葉として、「お前がこの病気に苦しんでも、もしお前のおかげでこの病気が克服されるなら、私達はお前のことを誇りに思うことができる」という言葉が使われている。脳以外では、筋ジストロフィーの分野で、このアプローチが極めて有効であったが、脳の場合、本人の死を前提とするところに難しさがある。

研究者主導、患者主導の他に、疾患の深刻さが行政サイドの関与を余儀なくさせたものとしては、欧米のプリオン病ブレインバンク、AIDSブレインバンクがある。特に、狂牛病を発端とする変異型クロイツフェルトヤコブ病の出現は、欧州でブレインバンク活動の基本の1つとして重視されるに至っている。このプリオン病の問題は、牛、羊、ミンク、鹿、猫にも波及しており、ヒトだけにとどまってない点が問題である。AIDSブレインバンクは、AIDS脳症の解明に大きな役割を果たしたが、HARRT (high anti-retrovirus treatment) 療法の導入以来、死亡率が激減し、対象テーマの変更が現在行われている。

ブレインバンクのもう1つの流れは、行政・司法解剖例の脳を、家族の同意を取り用いることである。主体は研究者である場合と、患者団体である場合がある。例えばシドニー大学ブレインバンクでは、事後電話同意で行政解剖例のブレインバンク登録を可能とする法体系を作っており、アルコール中毒者の事故死体、躁うつ病などの精神疾患の世界最大のブレインバンクを構築している。

行政解剖の脳をブレインバンクに登録するシステムは、欧米では相当数に上っている。精神疾患においては、この方法が使えないと研究に有効な脳が得られない可能性が高いが、当然同意の取得のレベルで問題が起きうる可能性を常に有している。

最近、これのどれにも属さない健常者がコントロール脳を提供する、“Normal Brain”運動が豪州で開始された。これは、ブレインバンクがコントロール脳を得にくい弱点を克服する目的を持つ。

### III. わが国の死後脳研究の状況

わが国においては、大学に属する研究者が自分の所属する部署に、当該科で診ていた症例の凍結脳を保存する、いわゆる施設収集 (institutional collection) が中心であった。これは日本の場合、大学附属病院の医局講座制に基づく縦割り構造で、講座間を越えた協力がしばしば困難であったことが一因であろう。また、大学間の協力も行われにくいという事情も存在した。さ

らに、大学附属病院と医学基礎研究は文部科学省、臨床病院と臨床医学研究は厚生労働省という管轄省庁の縦割り構造により、臨床医学研究と基礎医学研究を統合的に結合することが困難であったという事情もあろう。日本の場合、インフラストラクチャーの整備に研究費を得にくい事情が存在することも一因であろう。

さらに問題なのは、日本において全身剖検時に脳を得ることが一般的ではないこと、剖検数が激減していることである。現在先進国において、全病死に対する病理解剖の比率はほぼ1%であり、日本でもほとんど変わらない。しかし、欧米においては全身剖検時脳を採取するのが一般的で、いわゆる開頭剖検率はほぼ100%であるのに対し、正確な数字は発表されていないが日本では開頭剖検率が5%を切っている。

筆者は、米国ノースカロライナ大学チャペルヒル分校で3年間臨床神経病理の診断・研究に従事していたが、剖検数は年間200例程度でほぼ全例が開頭剖検例であり、これは現在もほとんど変わっていない。したがって、正常脳を多数観察する機会があった。

一方、日本においては日本病理学会が剖検指標に開頭剖検の是非という言葉を使っているように、脳は病変がない限りは採取しないという伝統がある。これは、日本では病理というものが歴史的に臨床ではなく、研究であるというかたちできていることと無縁ではない。

いまだに病理科は、厚生労働省により標榜科にはなっていない。東京地区でさえも、剖検脳の採取は神経内科医が行っている施設が存在する。筆者はクロイツフェルトヤコブ病サーベイランス委員会で病理部門を担当しているが、プリオン病の剖検施設がない県が存在しているだけでなく、神経内医が剖検することで成立しているところも複数存在する。

Institutional Collection は、疾患数が少ないだけでなく正常コントロールが得られにくいという問題点を持つ。その結果、日本の脳研究者の多くが欧米のブレインバンクに依存することが一般化している。疾患に人種差があることは多発性硬化症においては有名であったが、実験動物としてのマウスを用いた研究で、同じ遺伝子改変マウスでも系 (strain) をかえると神経病理所見が異なることが認識されるようになったことから、より深刻な問題と認識されるようになった。また、海外のブレインバンクと共同研究を組むと、臨床病理学的情報が十分に得られないことも問題である。

そして、臓器移植と同様で、日本の中での体制が不備のまま海外の研究資源を使用することによって、当然ながら非難を受けることになった。さらに最近では、ブレインバンク側が知的所有権を主張し、パテント申

請を日本の研究者には認めないことが一般的になりつつある。

上記の道義的問題に加え、日本の中にブレインバンクを構築しないと知的所有権の保持ができないという事情が出現してきた。

Institutional Collection としては、新潟脳研究所神経病理部門が、日本最大の資源と体制を誇っている。剖検体制は24時間365日、死後時間をできる限り少なくする努力を行い、ほぼ新潟全域の神経疾患の剖検に対応している。また、凍結脳資源の蓄積において、超低温槽の保守管理、標本の蓄積管理のいずれもわが国における標準となっている。蓄積資源については共同研究を基本とし、遺体への尊厳の念を保つこと、神経病理学的検索が生き、その疾患の解明に貢献できる可能性があることが要求される。これは、ブレインバンクの基本としても十分通用する。

愛知医科大学加齢医科学研究所神経病理部門は、東海地区の神経疾患の剖検をほぼ一手に引き受けており、神経疾患の剖検数としてはわが国一である。特に神経変性疾患を多く蓄積している。

また、Research Resource Network は国立精神神経センター武蔵病院が中心となり、独立行政法人国立病院機構(NHO)の11の参加病院をネットワーク化したもので、各病院で凍結脳・筋肉を蓄積し、その情報を共有することで研究に役立てる視点を持つ。すなわち Institutional Collection のネットワーク化である。

献体という意味では白菊会が有名で志願数は増加しており、供給が需要を超えているが、教育使用に限定されているため研究には用いることはできない。

#### IV. わが国のブレインバンク(高齢者ブレインバンク以外)

わが国において、ブレインバンクと名乗り外部への提供を明瞭に打ち出している施設は、われわれのところの高齢者ブレインバンク以外に2カ所ある。その紹介と、本年度より発足した研究班について述べる。

##### 1. 福島医大神経精神科死後脳バンク

1997年12月に創立され、わが国では生前同意を前提に献脳カードを発行している唯一のブレインバンクである。統合失調症友の会の後援の下に運営されている。現時点で22統合失調症脳を保存している。現在神経病理学的再検討を当施設が引き受けている。

##### 2. 福祉村病院長寿医学研究所ブレインバンク

1993年に創設され、福祉村病院からの剖検脳を遺

族同意に基づき蓄積している。アルツハイマー病とLewy小体型認知症が主要な対象である。神経病理学的最終診断は、愛知医大加齢研神経病理が引き受けている。

#### 3. 生前同意に基づくパーキンソン病関連疾患ブレインバンク

難治性疾患克服事業として、2006年より3年間、久野貞子国立精神神経センター武蔵病院副院長を主任研究員、有馬邦正臨床病理部長、順天堂大学脳神経内科森秀生助教授と筆頭筆者を分担研究員として発足した。これはドナーカードと登録制度を基に、患者団体と協力しながら欧米型のブレインバンクを構築しようとする試みであるが、今後の展開が期待される。

#### V. 高齢者ブレインバンク

東京都老人医療センター(以下センター)と老人総合研究所(以下研究所)は、1972年の研究所開設以来センター医師が研究所を協力研究員として兼務し、研究所の医師研究者が医療センターを兼職する相互協力体制をとってきた。両者は統合し、健康長寿医療センター(仮称)として地方独立行政法人化することが決定されたが、本年度からセンター医師も科学研究費申請が可能となった。われわれのグループはセンター神経内科と剖検病理科を兼務しており、センター神経内科が研究所協力研究員として共同研究を行うという形をとっている。週1回のブレインカッティングカンファランスと、週2回の早朝のスライドカンファランスにより、高齢者脳の専門神経病理学的検索を、若手研究者の育成を兼ねて行っている。養育院という東京都の高齢者医療行政の中心を担い、地域の在宅高齢者医療に貢献してきた実績と伝統からは、剖検とは死因の解明だけでなく、その根底にある老化・認知症の克服を目指さなければならないこと、そのためにはできる限り剖検をとり、その組織を蓄積していかなければならないという信念が創立以来存在する。

わが国の死体解剖保存法には、公共の福祉のための教育・研究への貢献がうたわれているが、古い法律でブレインバンクは想定外である。欧米のブレインバンクの哲学は、「篤志により提供された資源は公共のドメインに属し、公共の福祉のために用いなければならない」ということであるが、これは死体解剖保存法の本質と一致する。われわれは欧米のブレインバンクと哲学を共有し、共同研究を前提とし、老化・認知症の克服に向けたという目的指向を持った高齢者ブレインバンクを構築した<sup>1,2)</sup>。

1972年研究所開設より、神経病理学的診断は当部

門が責任を負い、標本およびブロックの保管・管理を一括して行ってきた。さらにセンター剖検病理科で、1995年よりDNAの蓄積と後頭極の凍結保存が開始された。1999年6月、筆頭筆者は欧米型半脳凍結ブレインバンク構築の明瞭な意図を持って公募に応じ、現職に赴任した。しかし、半脳凍結は神経病理学的検索がおろそかになるというセンター臨床側からの反対があった。そのため、アルツハイマー病研究プロジェクトとしてセンター・研究所倫理委員会の承認を受け、連続開頭剖検例で右海馬をティッシュコンパウンドに固め迅速凍結を開始した。これは、「凍結した場所の病理はどうするのだ」という非難に対し、凍結切片を切れれば評価できると反論するためであった。もちろん、laser dissectionを念頭に置いてのことである。

次にパーキンソン病研究プロジェクトを同様の手続で立ち上げ、連続剖検例の中脳黒質のティッシュコンパウンド内迅速凍結保存を開始した。さらに、側頭葉内側面を侵す嗜銀顆粒性認知症が当施設でアルツハイマー病に継ぐ頻度を持つこと、神経原線維変化優位型認知症が高齢者において認知症の原因の1つとして重要であることが明らかとなり、高齢者タウオパチープロジェクトとして、生化学的・分子遺伝学的研究のため、右前頭・側頭極の凍結、ついで右側頭葉全体の凍結を開始した。

続いて、老人斑の最初の蓄積部位の解明と、最初の蓄積における生化学的解析を目的に、頭頂葉皮質の蓄積を開始した。さらに、Lewy小体病のプロテオーム解析を線条体で行う研究計画を元に、線条体の採取を開始した。この結果、右半球は原型をとどめない状態となり、半脳を固定前でスライスし、肉眼所見を正確にとる方が写真としてきれいであること、半脳を凍結保存する体制でも、病変部位を肉眼診断し、必要部位を組織学的に検索すれば神経病理学的検索はおろそかにならないというコンセンサスを、2年かけてやっと築くことができた。以上の努力の後に、2001年7月より半脳凍結保存を開始した。

凍結側については非優位半球を凍結する方針とし、原則として右半球を固定前に連続断面を作製することにした。しかし、UCLA脳バンクをはじめ、多くの脳バンクが左右交互に凍結する方針に変更した点を受け、2006年9月をもって左と右を交互にとる方針に変更した。言語による優位半球・非優位半球の区別は、パーキンソン病やタウオパチーの左右差とは一致せず、さらには精神疾患の場合、左右半球のどちらに病変があるかわからないことが、変更の背景にある。

凍結法として液体窒素を用いる方法を最初採用した

が、白質と灰白質の間に亀裂が入るだけでなく、ホモジェナイズする時、しばしば断面が鋭利となり危険であるという指摘を共同研究者より受けた。さらに検討し、インシチューハイブリダイゼーション用にラット脳を凍結する際に用いる方法であるドライアイスパウダー法に変更した(図1)。脳を剖検室で7mmにスライスし、写真撮影を行い、剖検担当医と臨床主治医に説明をする。切片は氷冷の状態、P2対応のブレインバンクルームに搬入する(図2)。セーフティーチェインバー内に、-20度のmobile freezerを設置する。底にドライアイスをしき、その上に超低温槽で冷却した銅板を引き、その上にアルミホイルを敷き、脳を並べ、粉末ドライアイスをかけ、ふたをするとおよそ5分程度で完全に凍結する。

全体凍結法のほかに、凍結前にエッペンドルフチューブに皮質を入れ凍結する手法をとるバンクもあるが、どちらの方法にも長所と短所がある。利点は多数例を直ちに供与できる点で、短所は厳密な部位同定において劣る点である。現在Vonsatelが主催するColumbia大学ブレインバンクでは、低温室の中で2人のテクニシャンが5時間かけ、Brodman野を含め解剖構造ごとにすべてをエッペンドルフに分割し、迅速凍結を行っている。症例数は少ないが、貴重例が主体である日本の施設においては検討してよい方法である。

超低温槽に関しては事故による影響を最低限にするため、縦型の最小型を用いている。電流としては、最大電流を台数分かけた値を確保している。また、外部温度の上昇を防ぐため、熱量計算の上空調機を2台設置し、1台が故障しても室温上昇を予防できる体制を作っている。日本においては、特に夏場に超低温槽の過剰稼働による故障で融解事故を起こす危険率が高くなる。上記の設計は米国ブレインバンクでは基本とされている。

凍結脳の切り出しにおいては、切断面のカラー写真を参考に解剖部位の同定を行う。そして、クリオスタットの室内温度を-30度まで下げ、ドライアイスをおいた上にアルミホイル、プラスチックのまな板をおき、彫刻刀で正確に必要な部位を切り出す。重量はスケールで正確に測定する。特に聴覚領などBrodman野にあわせた切り出しの場合は、この方法が最良であろう。欠点は1例の切り出しに時間がかかること、超低温槽の開閉が頻回になる結果、温度上昇のため1回に切り出せる症例数に限りがある点である。

固定後脳標本に関しては、解剖学的構造の同定と、深部白質の評価に大切片作製が有用であり、当施設も

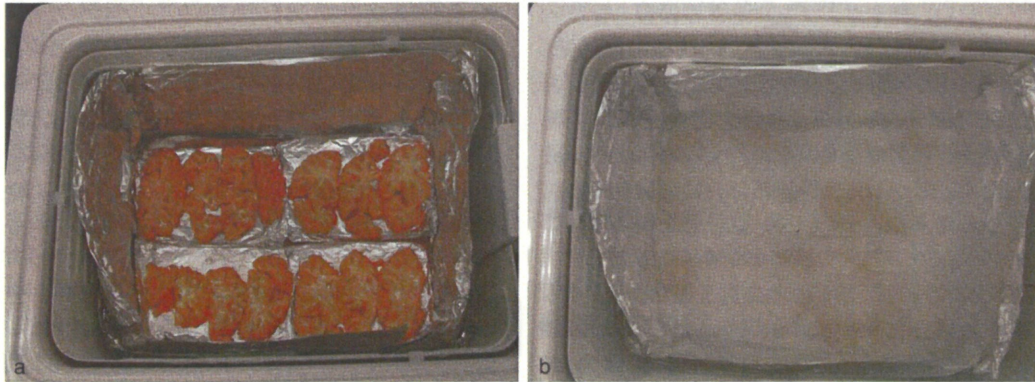


図1 脳迅速凍結法 a: -20度の携帯用冷凍庫に、ドライアイスの板を引き、超低温槽内で冷やした銅板をその上におき、アルミホイルを敷き、その上にスライス脳を並べる。b: その上に細かく砕いたドライアイスを上にかき、迅速凍結する。

筆頭筆者以前には採用していた。しかし、アルツハイマー病やパーキンソン病のような普通にある病気を対象とするのであれば、どこでも誰でもが行える診断基準作りをしないと共同研究体制を組むのが困難である。

したがって、一般病理で作れる大きさの標本を用い、市販抗体と自動免疫染色装置による診断を、中核とする方針とした。染色方法と、最小必要切り出し部位(図2)を公表し、全国展開の検査会社が同じ装置を採用しているため、当施設と染色結果が一致するよう条件を調節した。20%中性緩衝ホルマリン7~13日固定という固定条件をわれわれと一致させ、必要な一時抗体を渡し染色費用さえ払えば、日本全国どこでもわれわれと同様の結果が得られる体制を構築した。

さらに、1972年からの蓄積剖検例について、ブロックと標本の一貫した整備を行い、図書館形式で引用可能な高齢者ブレインバンクリソースセンターを構築した。同時にこれら症例の臨床所見・神経病理学的所見をデータベース化し、高齢者臨床神経病理データベースを構築した。データベース構築にあたっては、研究所旧臨床病理部門からセンター剖検病理科に引き継がれていた剖検データベース、センター神経内科、循環器内科で蓄積されてきた臨床データベースを取込み、総合化をはかった。以上により、蓄積脳のすべてが利用可能な状態を構築することができた。これらの剖検例の病歴はすべて保存されており、後方視的臨床研究に用いることが可能である。

本バンクの資源を用いた、いわゆるパワー神経病理(疫学神経病理)の成果も、徐々に上がってきており<sup>3-17)</sup>、共同研究の成果もやっと出てくるようになった<sup>17-35)</sup>。

## VI. 今後の課題

ブレインバンクでは、人的資源がまず第一である。日本で脳の剖検数が少ないのも、病理の人員が少ないことが影響しているのは明白である。文部科学省への働きかけにおいて、基礎科学者から脳バンクが必要であるという声がかえってこないという批判を浴びた。ヒト脳研究は、成果をあげにくい側面があることのほかに、日本では死後脳を手に入れにくいいため、基礎科学者が最初から自分の研究課題として考慮していないという実態を改善していく必要がある。

最近 ADNI (Alzheimer disease neuroimage initiative) という、Alzheimer 病の治療指標の構築のために神経画像・バイオマーカーを全米で統合的に蓄積しネットに公開していく研究が発足し、日本でもその準備が進んでいる。主任研究者である Weiner 博士が国際アルツハイマー病会議において日本研究者へ説明を行った際、筆頭筆者によるブレインバンクとの結合は考慮しているのかという質問に対し、エントリー症例の剖検による確定診断への結合は、それぞれの施設で努力することを明記していると説明された。日本で同じ試みがスタートするときに、アルツハイマー病の確定診断は病理診断であること、このように追跡された症例の剖検脳は極めて貴重であることより、それぞれの参加施設でブレインバンクを構築するドライビングフォースになることをわれわれは期待している。

欧米のブレインバンクでは、生前同意を基本とするところが多い。われわれのところは、剖検承諾時に説明文書と剖検承諾における遺族の個別同意で対応しているが、実際生前同意を表明する患者も存在し、欧米型への移行が望まれる。その意味で前述した生前同意

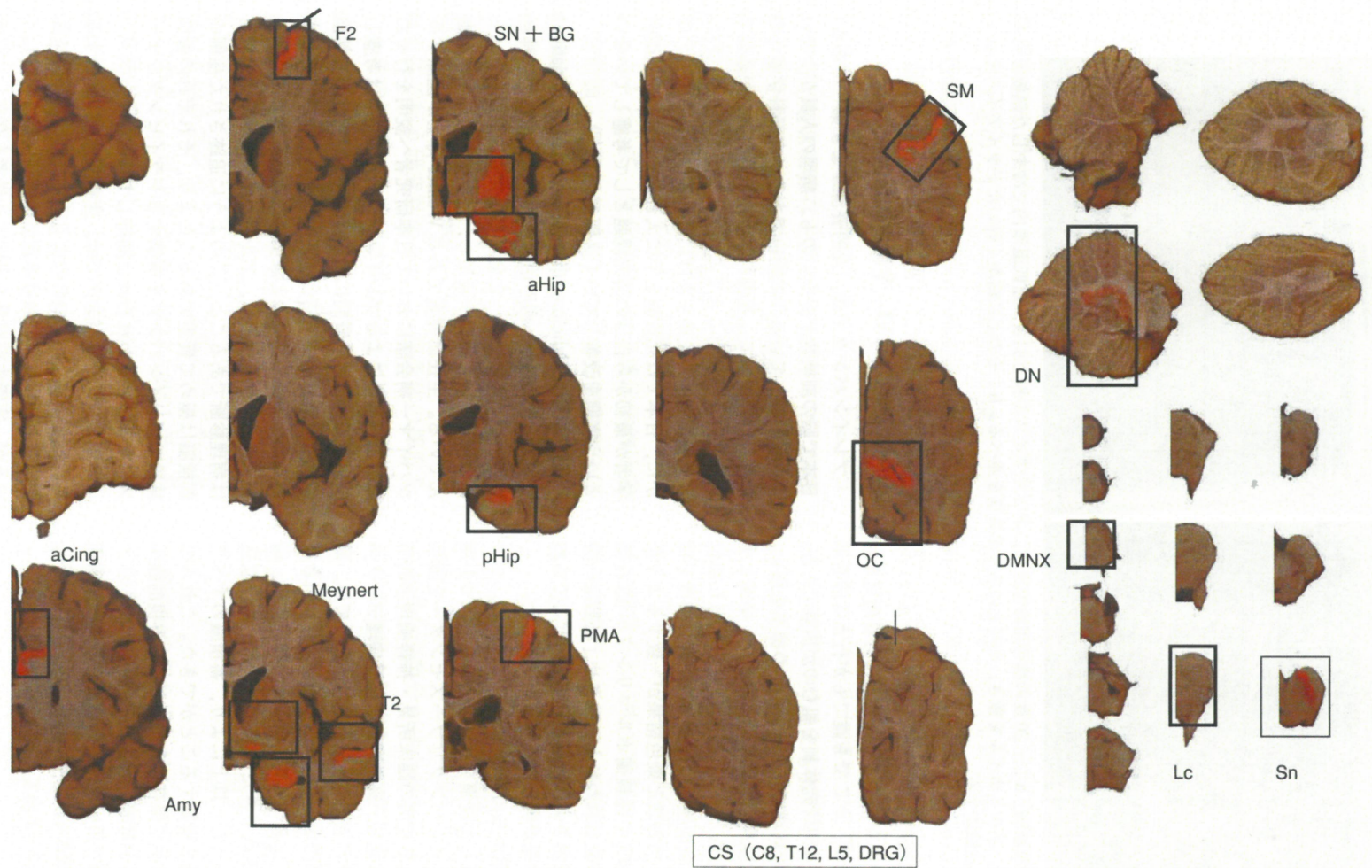


図2 標本作製部位 CERAD (Consortium to establish registry for Alzheimer disease), Lewy 小体型痴呆コンセンサスガイドライン, Braak らの推奨部位を網羅する形で作成している。  
 aCing: 前帯状回, F2: 第二前頭回, Meynert: Meynert 基底核, Amy: 扁桃核, T2: 第二側頭回, SN + BG: 視床下核と基底核, aHip: 前方海馬, pHip: 後方海馬, PMA: 運動領, SM: 縁上回, OC: 後頭葉, DN: 齒状核, DMNX: 迷走神経背側核, LC: 青斑核, Sn: 黒質, CS: 脊髄, C8: 第8頸髄, T12: 第12胸髄, L5: 第5腰髄, DRG: 後根神経節

に基づく脳バンク構築の試みが期待される。白菊会に脳が必要以上に応募がある現状からも、ブレインバンクの重要性について啓蒙できれば潜在的提供者は存在すると予想される。ADNIの場合、マスコミを通じた宣伝に研究費のかなりを使っているとのことであり、日本で同様の試みがスタートした場合、ブレインバンク活動の促進につながる可能性を期待したい。

標本採取に関して、当施設では担当医師が on call 体制で対応しているため、担当医が部署を離れられない。欧米ではこの部分は技術員が対応しているが、技術員をどのように育成していくかは大変な問題である。ブレインバンク自体、わが国では新しい体制である。また、日本の研究費は、インフラストラクチャーへの使用は人員を含めて認められていない。現在神経病理テクニシャンの高齢化が進んでおり、脳研究を支える人材の育成は急務である。

ブレインバンク超低温槽についてはその趣旨からは輸血製剤と同じ体制作りが必要であり、24時間365日の管理が必要である。故障による融解事故が起き、すべてゼロになったことを、わが国の多くの研究者は経験している。われわれの高齢者ブレインバンクは、自家発電によるバックアップは有さないが、定時チェックを行うこと、アラームが中央監視に直結していることで対応しているが、今後ブレインバンクを広めるためには、技術的基準を公表する必要がある。

標本の供給先の決定において、研究者の資質として特にフランスで問題となっているのがヒトの遺体に対する尊厳の問題である。また、米国ではブレインバンクの資源を使った場合、NIHのグラント3年間の中間の site visit、すなわち1年半の段階で使用成果が出ていないと、次のグラントが通らないという制約がある。さらに、ブレインバンクに毎年年次報告を出すことが要求される。一方日本の場合、研究費自体が成果を評価しない体制のため、ブレインバンクの資源を提供しても結果を出す義務を有さない体制となりうる。この点で、外部委員を含めた委員会体制でブレインバンクの資源使用の申請に対応すること、成果を一定の期間で報告する義務を負うことを前提とすることが必要である。

また、研究者の資質においても、ヒトの脳を常に使える環境にある欧米の研究者と異なり、日本の基礎研究者の場合、動物脳との差が分からないという実情があり、ブレインバンク側がより積極的に共同研究に関与して行かないと実りある結果が期待できないし、相互に不信感が生じうる。これについて、申請者にブレインバンク施設でセミナーをしてもらい、実際のブレ

インバンクの状況を説明し、実効的共同研究を組むことが有用ではないかと考えられる。

高齢者ブレインバンク内資源は在宅高齢者の一般内科的疾患の死亡が中心であるため、正常コントロール、疾患だけでなく、その中間段階を多数含む点が特徴であり、疾患主体のバンクと相補性をなす。しかし、施設に収容されるような重度認知症例は少ない。最近の剖検数の減少と、開頭率の低下は、われわれの施設にも深刻な影響を与えつつある。ドイツブレインネットは生前同意制を前提にし、複数の施設が剖検を行い、脳を保存することで資源を蓄積する試みである。米国のブレインバンクは連結不可能匿名化が原則だが、ドイツブレインネットは連結可能匿名化を採用しており、わが国にはより参考になろう。剖検数の減少に対抗するためには、日本ブレインネットを構築するしかない。現在、日本神経病理学会ブレインバンク委員会(筆頭筆者が委員長)を基盤とし、institutional collection を行っている全国の代表的施設を網羅するという形で、ドイツブレインネットをお手本に協力の可能性を模索している。さらに、クライアントの立場として、理化学研究所ブレインネット構築検討委員会が指針提出の努力を行っている。

ブレインバンクの発展のためには、若手研究者に脳研究に興味を持ってもらい、資源の有効活用を行ってもらう以外ない。ブレインバンクが人口に膾炙し、その重要性が市民権を獲得すれば、患者団体が主体的に関わっている欧米型のブレインバンクへの移行にも道が開ける。人口の急激な高齢化は、特にアルツハイマー病の原因解明への努力の重要性を倍増している。また、統合失調症やそううつ病などの、頻度の高い精神疾患の解明もやっと始まったばかりである。高齢者ブレインバンクと同様の哲学を持つブレインバンクの増加が、脳の加齢性変性疾患の解明には不可欠であることを再度訴えて結びと代えたい。ブレインバンク普及のための熱意のあまり筆がすぎている可能性がある点にはご容赦願いたい。

## 文 献

- 1) 村山繁雄, 齊藤祐子, 文村優一, 愛敬直雄, 原田三枝子, 直井信子: 東京都高齢者ブレインバンクの創設. *Dementia Jpn* 18: 54-63, 2004
- 2) 村山繁雄, 齊藤祐子, 金丸和富, 徳丸阿耶, 石井賢二, 沢辺元司, 高齢者ブレインバンクチーム: ブレインバンクの構築課題. *日老会誌* 42: 483-489, 2005
- 3) 村山繁雄, 齊藤祐子, 笠畑尚喜: 軽度認知機能障害の神経病理. *神経進歩* 48: 441-449, 2004
- 4) 村山繁雄: 高齢者連続剖検例における頸椎・頸髄病



- 変 3年間 566例の経験. 脊椎脊髄 15 : 531-536, 2002
- 5) 小山俊一, 齊藤祐子, 山之内博, 名倉博史, 千田宏司, 新井富生, 沢辺元司, 岩本俊彦, 高崎優, 村山繁雄 : 高齢者における頭蓋内一脳動脈硬化の時代的推移に関する病理学的研究. 日老会誌 40 : 267-273, 2003
  - 6) Saito Y, Murayama S : Tau immunoreactivity in spinal anterior horn cells in Alzheimer's disease. *Neurology* 55 : 1727-1730, 2000
  - 7) Nakahara H, Yamada S, Mizutani T, Murayama S : Identification of the primary auditory field in archival human brain tissue via immunocytochemistry of parvalbumin. *Neurosci Lett* 286 : 29-32, 2000
  - 8) Saito Y, Yamazaki M, Kanazawa I, Murayama S : Severe involvement of the ambient gyrus in a case of dementia with argyrophilic grain disease. *J Neurol Sci* 196 : 71-75, 2002
  - 9) Saito Y, Nakahara K, Yamanouchi H, Murayama S : Severe Involvement of ambient gyrus in dementia with grains. *J Neuropath Exp Neurol* 61 : 789-796, 2002
  - 10) 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 Neuropath Exp Neurol* 62 : 644-654, 2003
  - 11) Saito Y, Ruberu NN, Harada M, Arai T, Sawabe M, Nukina N, Murayama S : *In-situ* detection of apolipoprotein E e4 in archival human brain. *Neuroreport* 15 : 1113-1115, 2004
  - 12) Ruberu NN, Saito Y, Honma N, Sawabe M, Yamanouchi H, Murayama S : Granulomatous meningitis as a late complication of iodized oil myelography. *Neuropathology* 24 : 144-148, 2004
  - 13) Kazama H, Ruberu NN, Murayama S, Saito Y, Nakahara K, Kanemaru K, Nagura H, Arai T, Sawabe M, Yamanouchi H, Orimo H, Hosoi T : Association of estrogen receptor alpha-gene polymorphisms with neurofibrillary tangles. *Dement Geriatr Cog Diso* 18 : 145-150, 2004
  - 14) Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Arai T, Kazama H, Hosoi T, Yamanouchi H, Murayama S : Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging. *J Neuropath Exp Neurol* 63 : 742-749, 2004
  - 15) 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 Neuropath Exp Neurol* 63 : 911-918, 2004
  - 16) Murayama S, Saito Y : Neuropathological diagnostic criteria for Alzheimer disease. *Neuropathology* 24 : 254-260, 2004
  - 17) 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 in human brain? *Neurosci Lett* 284 : 187-189, 2000
  - 18) Taniguchi S, Fujita Y, Hayashi S, Kakita A, Takahashi H, Murayama S, Saido TC, Hisanaga S, Iwatsubo T, Hasegawa M : Degradation of p35 to p25 in postmortem human and rat brains. *FEBS Letters* 489 : 46-50, 2001
  - 19) Forno LS, J Langston W, Herrick MK, Wilson JD, Murayama S : Ubiquitin-positive neuronal and tau 2-positive glial inclusions in frontotemporal dementia of motor neuron type. *Acta Neuropath (Berl)* 103 : 599-606, 2002
  - 20) Kazama H, Ruberu NN, Murayama S, Saito Y, Nakahara K, Kanemaru K, Nagura H, Arai T, Sawabe M, Yamanouchi H, Orimo H, Hosoi T : Association between a promoter polymorphism of the paraoxonase PON1 gene and pathologically verified idiopathic Parkinson's disease. *Geriatrics and Gerontology International* 2 : 91-96, 2002
  - 21) Shimizu T, Fukuda H, Murayama S, Izumiyama N, Shirasawa T : Isoaspartate formation at position 23 of amyloid beta peptide enhanced fibril formation and deposited onto senile plaques and vascular amyloids in Alzheimer's disease. *J Neurosci Res* 70 : 451-461, 2002
  - 22) Yokota O, Terada S, Ishizu H, Ishihara T, Nakashima H, Kugo A, Tsuchiya K, Ikeda K, Hayabara T, Saito Y, Murayama S, Ueda K, Checler F, Kuroda S : Increased expression of neuronal cyclooxygenase-2 in the hippocampus in amyotrophic lateral sclerosis both with and without dementia. *Acta Neuropath (Berl)* 107 : 399-405, 2004
  - 23) Yokota O, Terada S, Ishihara T, Nakashima H, Kugo A, Ujiike H, Tsuchiya K, Ikeda K, Saito Y, Murayama S, Ishizu H, Kuroda S : Neuronal expression of cyclooxygenase-2, a pro-inflammatory protein, in the hippocampus of patients with schizophrenia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 28 : 715-721, 2004
  - 24) Katsuno T, Morishima-Kawashima M, Saito Y, Yamanouchi H, Ishiura S, Murayama S, Ihara Y : Independent accumulations of tau and amyloid  $\beta$ -protein in the human entorhinal cortex. *Neurology* 64 : 687-692, 2004
  - 25) Ishigami A, Ohsawa T, Hiratsuka M, Taguchi H, Kobayashi S, Saito Y, Murayama S, Asaga H, Toda T, Kimura N, Maruyama N : Abnormal accumulation of citrullinated proteins catalyzed by peptidylarginine deiminase in hippocampal extracts from patients with Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 80 : 120-128, 2005
  - 26) Tsuchiya K, Murayama S, Mitani K, Oda T, Arima K, Mimura M, Nagura H, Haga C, Akiyama H, Yamanouchi H, Mizusawa H : Constant and severe involvement of Betz cells in corticobasal degeneration is not consistent with pyramidal signs : a clinicopathological study of ten autopsy cases. *Acta Neuropathol (Berl)* 109 : 353-366, 2005
  - 27) Yoshimi K, Ren YR, Seki T, Yamada M, Ooizumi H, Onodera M, Saito Y, Murayama S, Okano H, Mizuno Y, Mochizuki H : Possibility for neurogenesis in the substantia nigra of Parkinsonian brain. *Ann Neurol* 58 : 31-

- 40, 2005
- 28) Saito Y, Motoyoshi Y, Kashima T, Izumiyama-Shimomura N, Toda T, Nakano I, Hasegawa M, Murayama S : Unique tauopathy in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *J Neuropath Exp Neurol* 64 : 1118-1126, 2005
- 29) Harada H, Tamaoka A, Ishii K, Shoji S, Kametaka S, Kametani F, Saito Y, Murayama S : Beta-site APP cleaving enzyme 1 (BACE1) is increased in remaining neurons in Alzheimer's disease brains. *Neurosci Res* 54 : 24-29, 2006
- 30) 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* 243 : 101-104, 2006
- 31) Maeda S, Sahara N, Saito Y, Murayama S, Ikai A, Takashima A : Increased levels of granular tau oligomers : an early sign of brain aging and Alzheimer's disease. *Neurosci Res* 54 : 179-201, 2006
- 32) Mizuta I, Satake W, Nakabayashi Y, Ito C, Suzuki S, Momose Y, Nagai Y, Oka A, Inoko H, Fukae J, Saito Y, Sawabe M, Murayama S, Yamamoto M, Hattori N, Murata M, Toda T : Multiple candidate gene analysis identifies a-synuclein as a susceptibility gene for sporadic Parkinson's disease. *Hum Mol Gen* 15 : 1151-1158, 2006
- 33) Umemura K, Yamashita N, Yu X, Arima K, Asada T, Makifuchi T, Murayama S, Saito Y, Kanamaru K, Goto Y, Kohsaka S, Kanazawa I, Kimura H : Autotaxin expression is enhanced in frontal cortex of Alzheimer-type dementia patients. *Neurosci Lett* 400 : 97-100, 2006
- 34) de Silva R, Lashley T, Strand C, Shiarli AM, Shi J, Tian J, Bailey KL, Davies P, Bigio EH, Arima K, Iseki E, Murayama S, Kretzschmar H, Neumann M, Lippa C, Halliday G, MacKenzie J, Ravid R, Dickson D, Wszolek Z, Iwatsubo T, Pickering-Brown SM, Holton J, Lees A, Revesz T, Mann DM : An immunohistochemical study of cases of sporadic and inherited frontotemporal lobar degeneration using 3R- and 4R-specific tau monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol (Berl)* 111 : 329-340, 2006
- 35) Shiarli AM, Jennings R, Shi J, Bailey K, Davidson Y, Tian J, Bigio EH, Ghetti B, Murrell JR, Delisle MB, Mirra S, Crain B, Zolo P, Arima K, Iseki E, Murayama S, Kretzschmar H, Neumann M, Lippa C, Halliday G, Mackenzie J, Khan N, Ravid R, Dickson D, Wszolek Z, Iwatsubo T, Pickering-Brown SM, Mann DM : Comparison of extent of tau pathology in patients with frontotemporal dementia with Parkinsonism linked to chromosome 17 (FTDP-17), frontotemporal lobar degeneration with Pick bodies and early onset Alzheimer's disease. *Neuropathol Appl Neurobiol* 32 : 374-387, 2006

MEDICAL BOOK INFORMATION

医学書院

# Neurological CPC〔ハイブリッドCD-ROM付〕

順天堂大学脳神経内科 臨床・病理カンファレンス

編集 水野美邦・森 秀生

●B5 頁392 2006年  
 定価8,400円(本体8,000円+税5%)  
 [ISBN4-260-00210-4]

主に『脳と神経』に連載された97回の順天堂大学脳神経内科のCPC(臨床・病理カンファレンス)から珠玉の30編を選定し、読みやすくレイアウトを変更、単行本化したもの。定評のある同教室のCPCが臨場感溢れる形式で掲載され、読者を飽きさせない。付録CD-ROMに97回すべての雑誌連載時のPDFファイルを収録し、キーワードでの検索も可能。

# パーキンソン病の画像診断—MRI

大場 洋 徳丸阿耶 村山繁雄 齊藤祐子 松田博史

## はじめに

MRIは、様々な方向の多断層面が得られ、組織分解能が高いことから病理に肉薄する診断モダリティである。パーキンソン病(PD)およびパーキンソン症候群の診断において、何よりも基本となるのは神経病理学的知見である。病理像と解離したMRI診断はありえず、病理を超えるような診断も意味はないと考える。ここでは、PDの他、パーキンソン症候群として、進行性核上性麻痺(PSP)、多系統萎縮症パーキンソン型(MSA-P)、Machado-Joseph病(MJD)、皮質基底核変性症(CBD)を取り上げ、MRI診断について概説する。

## パーキンソン病(PD)

PDでは、黒質緻密部や青班核のメラニン含有細胞の脱落、迷走神経背側核の細胞脱落を認め、残存する神経細胞(ドーパミン作動性)にLewy小体が出現するのが特徴である。肉眼病理では、黒質緻密部や青班核の脱色として認識されるが、MRIでの評価は難しい。従来、MRI所見として報告された黒質緻密部の萎縮でのPDの評価は、黒質の神経細胞脱落は、PDのみならず、PSP、MSA-Pなどのパーキンソン症候群や、脳梗塞、脳出血後の二次的パーキンソニズムでも認められ、むしろこれらの疾患の方がより顕著な萎縮を示す<sup>1)</sup>ことから、もともと知られていた病理学的知見を逸脱した報告であったといえる。MRIにおける黒質緻密部の萎縮でのPD診断能は、現在是否定的である。したがって、PDの画像診断としての頭部MRIの役割は、PD自体の診断にはなく、PD以外のパーキンソン症候群の除外にある。一方、頭部のSPECTやPETなどの機能画像では、PDに特異的な所見を認める。また、123I-MIBG心筋シンチグラフィでの正面planar像で、心/縦隔比(H/M比)の半定量化やSPECT像での集積低下などにより、心交感神経機能の低下が描出される(図1)。しかし、同じく

Lewy小体の出現を特徴とするびまん性Lewy小体型痴呆などでも心交感神経機能が低下し、同じ所見を呈する。こられるの詳細は、別稿に譲りたい。

## 進行性核上性麻痺

### progressive supranuclear palsy (PSP)

病理学的に、黒質、上丘、淡蒼球、視床下核、小脳歯状核などに強い神経細胞の脱落とグリオシスを認める。更に残存神経細胞の中に、神経原線維変化が出現し、タウ蛋白が蓄積する。中脳被蓋は最も障害の強い部位であり、著明な萎縮を呈する(図2A, B, C)。MRIにて、萎縮した中脳被蓋を評価する方法として、再現性の非常に高い断面である正中矢状断像がよく用いられる(図2A)。中脳被蓋が乳頭体に伸びる部分が、鳥のくちばし状に見えるため、これに着目したのが、岩田が提唱したハミングバードサイン“humming bird sign”である<sup>2)</sup>。筆者らは、正中矢状断像にて、中脳被蓋と橋被蓋の面積を測定し、PSPでは、中脳被蓋面積が非常に小さくなるのに対し、橋の面積低下は軽微であり、萎縮が目立たないことに注目した。すなわち、PSP患者のMRI正中矢状断像では、脳幹部が、大きな体部(橋)と小さな頭部(中脳被蓋)をもつ皇帝ペンギン様のシルエットを呈し(図2A)、皇帝ペンギンサイン(ペンギンシルエットサイン)と名づけた<sup>3)</sup>。PSPを数多くみていると視覚的な評価でも相当診断できると思われるが、より正確な診断には面積を測定するのがよい。MRIコンソール本体や付属のワークステーションで簡単に面積は測定可能である。健常人男女の年齢ごとの中脳被蓋面積曲線とPSP患者の面積分布を示す<sup>4)</sup>(図3A, B, C)。PSP患者では男女とも健常者と比較して、中脳被蓋面積が明らかに小さい。筆者らの検討<sup>3)</sup>では、PSPでは、中脳被蓋は50~70mm<sup>2</sup>程度と年齢をマッチさせた正常群やPD群の約100~120mm<sup>2</sup>の半分程度に小さい(図2D)。PSP患者の横断像にて、中脳被蓋萎縮を評価したものに、“morning glory sign”がある<sup>5)</sup>。頭部MRI横断像での評価の問題点は、スライスアングルによって、あるいは撮像しているスライスレベルが個人によって必ずしも一致しないなど、再現性に難があることである<sup>3,6)</sup>。

おおば ひろし 帝京大学助教授/放射線科  
とくまる あや 東京都立老人医療センター/放射線科  
むらやま しげお 東京都老人総合研究所/老化臨床神経科学研究  
グループ(神経病理)グループリーダー  
さいとう ゆうこ 東京都老人総合研究所/老化臨床神経科学研究  
グループ(神経病理)  
まつだ ひろし 埼玉医科大学教授/核医学診療科

0289-0585/07/¥500/論文/JCLS

55

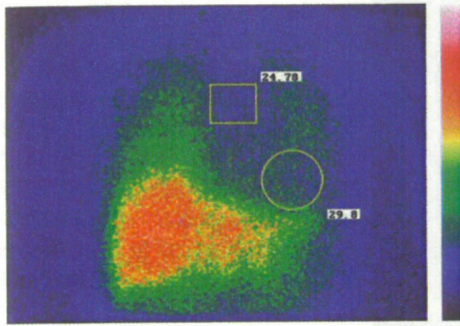
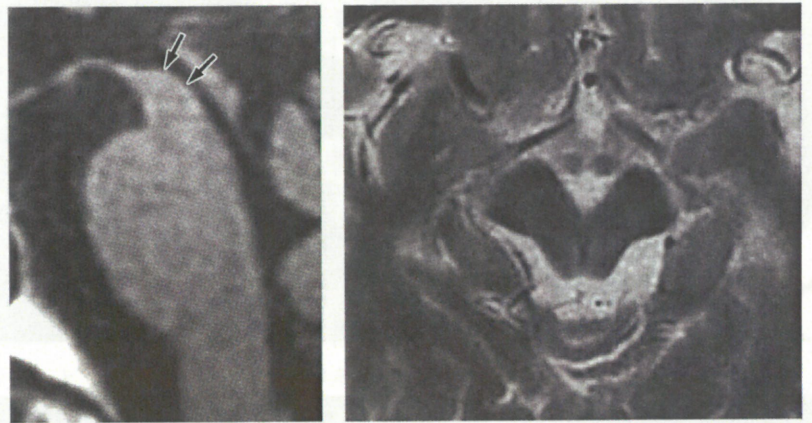
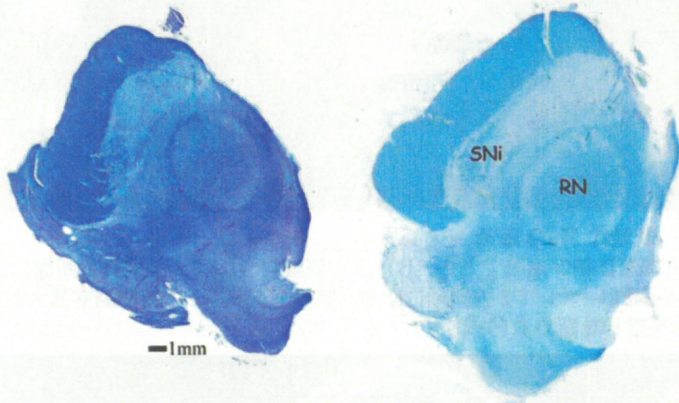


図1 心筋 MIBG シンチグラフィ  
正常では集積の高い心筋に集積が認められない。  
H/M 比は 1.2 と低値を示す。

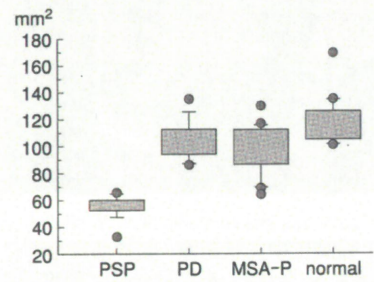


A

B



C



D

図2 60歳代 PSP 患者

A) MRI T1 強調正中矢状断像。中脳被蓋萎縮を反映して、中脳被蓋が非常に小さい(矢印)。橋被蓋も萎縮するが、橋全体の萎縮はあまり目立たない。

B) T2 強調軸位断像。中脳被蓋萎縮が強く、中脳は全体として“Morning glory sign”を呈する。

C) 中脳部分マクロ標本。右側は PSP、左側は正常コントロールである。PSP では、中脳被蓋を中心に萎縮が顕著である。

D) PSP, PD, MSA-P 患者群および健常群の中脳被蓋面積を示す。縦軸は面積で単位は  $\text{mm}^2$ 。面積測定は図3C に準じている。PSP 群では、PD, MSA-P, 健常群に対して、中脳被蓋面積が明らかに小さい。(Oba ら<sup>3)</sup>より)

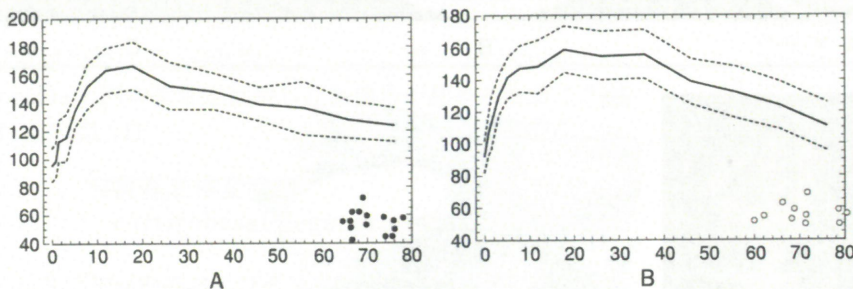
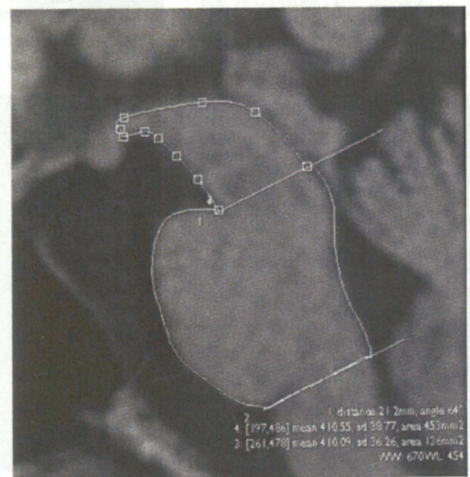


図3 年齢別健常者中脳被蓋面積と PSP 患者の中脳被蓋面積

A) 男性, B) 女性。

濃曲線は年齢ごとの中脳被蓋面積平均を示し、淡曲線は平均±1 標準偏差を示す。男女とも PSP 患者では、中脳被蓋面積は、健常群に比較して著明に小さい。縦軸は面積 ( $\text{mm}^2$ )、横軸は年齢を示す。(Oba ら<sup>4)</sup>より改変)

C) 脳幹部正中矢状断像での中脳被蓋面積測定部位 (Oba ら<sup>3)</sup>より)



C