

図25. 紀伊半島筋萎縮性側索硬化症抗TDP43抗体免疫染色。歯状回顆粒細胞層に細胞質内陽性所見(矢印)を認める。核内陽性所見は正常である。

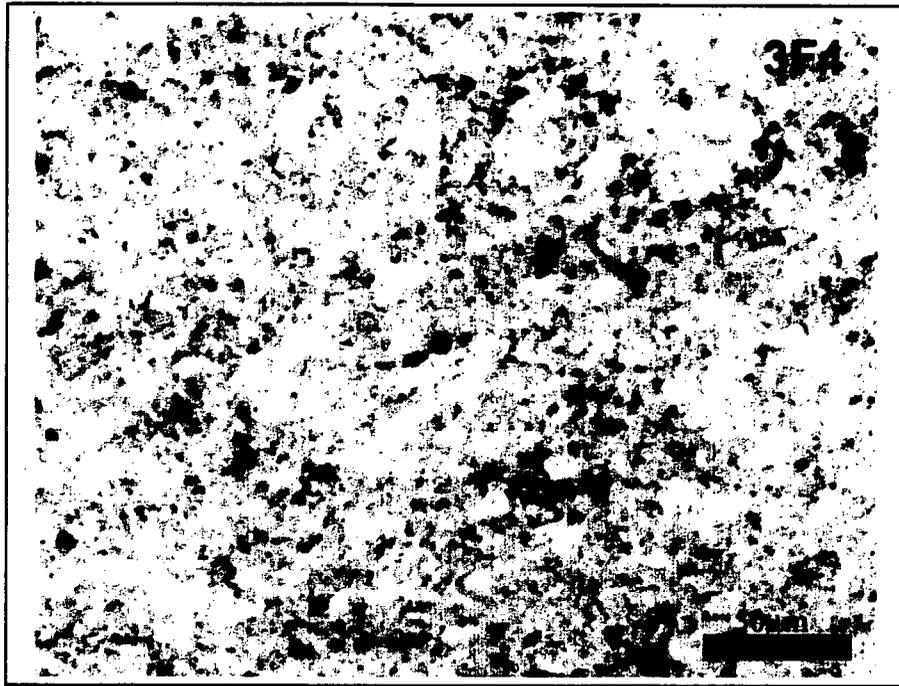


図26. クロイツフェルトヤコブ病、抗プリオン抗体免疫染色所見。シナプス型沈着を認める。

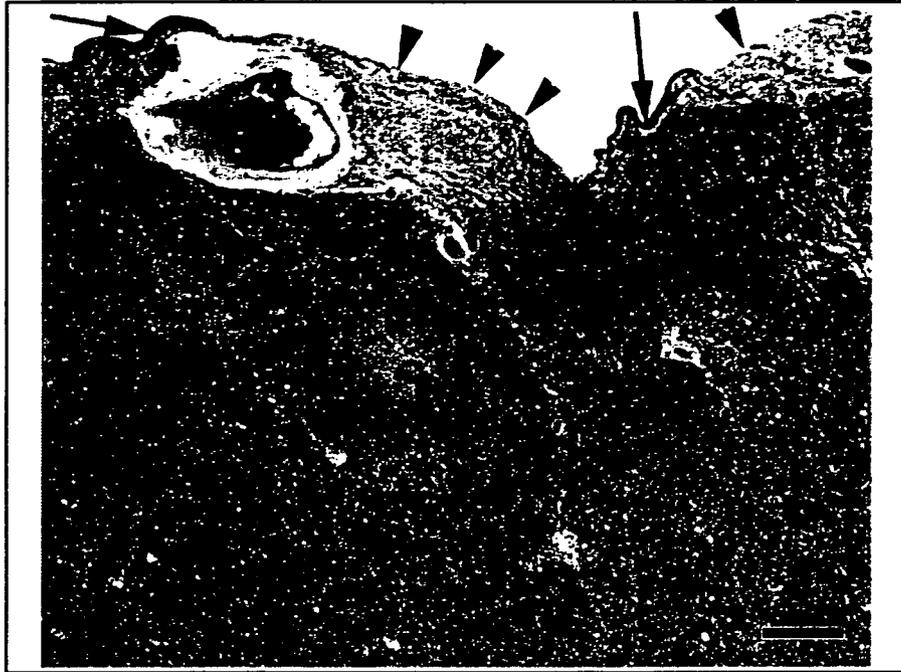


図27. 高齢者の側脳室前角。脳室上衣(矢印)は部分的にしか覆っていない。脳室上衣のない部位は星状膠細胞が増殖し覆っているが、白質はグリオシス(矢尻)により、脳室壁からは遠ざけられている。

進行性核上性麻痺における臨床と分子病理の統合的研究

東京大学医学系研究科博士課程 脳神経医学専攻
神経内科

崎山 快夫

題名：進行性核上性麻痺における臨床と分子病理の統合的研究

	頁
目次	2
略語	3
第一章. 病理診断基準に基づく進行性核上性麻痺ブレインバンクの構築	4
第二章. 進行性核上性麻痺における認知症と背景病理の位置づけ	28
I. 進行性核上性麻痺における認知症のリン酸化タウ沈着 Grading による検討	28
II. 進行性核上性麻痺における認知症の責任病巣候補としての中心前回の分子病理：黒質・嗅内野との対比	33
III. 症例検討：皮質病変の強い症例の臨床病理連関	52
IV. PSP における認知症責任病巣の機能画像での確認 -剖検確認例によるパイロットスタディ-	60
第三章. 小脳症状初発例の検討	65
まとめ	75
参考文献	76
謝辞	87

略語

- AD: Alzheimer's Disease, アルツハイマー病
- ADL: Activity of Daily Living, 日常生活動作
- IADL: Instrumental Activity of Daily Living, 手段的日常生活動作
- AGD: Argyrophilic Grain Disease, 嗜銀顆粒性疾患
- BBAR: Brain Bank for Aging Research, 高齢者ブレインバンク
- CBD: Corticobasal Degeneration, 皮質基底核変性症
- CDR: Clinical Dementia Rating
- CERAD: The Consortium to Establishment a Registry for Alzheimer's Disease
- CFT: ^{11}C -2 β -carbomethoxy-3 β -(4- ^{11}C -fluorophenyl)tropane
- CVD: Cerebral Vascular Disease, 脳血管障害
- DG: Dementia with Grain, 嗜銀顆粒性認知症
- DLB: Dementia with Lewy Body, レビー小体型認知症
- FDG: ^{18}F -fluorodeoxyglucose
- FDOPA: 6- ^{18}F -fluoro-L-DOPA
- GFT: Glial fibrillary tangle, グリア原線維変化
- HDS: Hasegawa Dementia Rating Scale, 長谷川式簡易認知症スケール
- HDS-R: Hasegawa Dementia Rating Scale, Revised, 改訂長谷川式簡易認知症スケール
- MAP: Microtubule Associated Protein, 微小管関連蛋白
- MAPT: Microtubule Associated Protein Tau, タウ蛋白
- MIBG: I 123 -metaiodobenzilguanidine, 123-ヨードベンジルグアニジン
- MMSE: Mini-Mental State Examination
- NFT: Neurofibrillary tangle, 神経原線維変化
- NINDS: National Institute of Neurological Disorders and Stroke, 国立神経疾患・脳卒中研究所
- NMSP: ^{11}C -N-methylspiperon
- NT: Neuropil thread, ニューロピルスレッド
- PBP: Progressive Bulbar Palsy, 進行性球麻痺
- PD: Parkinson Disease, パーキンソン病
- PDD: Parkinson Disease with Dementia, 認知症を伴うパーキンソン病
- PSP: Progressive supranuclear palsy, 進行性核上性麻痺
- PT: Pretangle, プレタングル
- RAC: ^{11}C -raclopride
- SCD: Spinocerebellar Degeneration, 脊髄小脳変性症
- WAIS-R: Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised, 改訂ウェクスラー知能検査

第一章： 病理診断基準に基づく進行性核状性麻痺ブレインバンクの構築

1. はじめに

(1) PSP とは

進行性核上性麻痺(Progressive supranuclear palsy, 以下 PSP)は成人発症の神経変性疾患で、パーキンソン症状と認知機能障害を主徴とし、Atypical Parkinsonian Disorders の中でも主要な原因疾患の一つである[1]。神経病理学的には神経細胞脱落とグリオシスを脳幹、基底核、海馬、新皮質に認め、そこには鍍銀染色や抗タウ抗体で陽性となる神経原線維変化(以下 NFT)、ニューロピルスレッド(以下 NTs), Tufted astrocyte(以下 Tuft)を認めている[2]。生化学的には、Sarkosyl 不溶分画の抗タウ抗体免疫ブロットで殆どが4 リピート(R)タウアイソフォームから構成されている[3]。遺伝学的には、*MAPT* 遺伝子のハプロタイプが PSP と関連を認めている[4] [5]。

(2) PSP の歴史

PSP と思われる疾患は古くは Critchley の脳血管性パーキンソニズムのモノグラフ[6]で触れられており、その他にも同様の臨床所見、病理所見の症例報告は散見されていた[7] [8] [9] が、臨床報告と病理報告の記載は別々になされていた。臨床病理学的連関として始めて記載されたのは1964年 Steele-Richardson-Olszewski らによってであり[10] [11]、臨床病理学的概念として確立されたため、Steele-Richardson-Olszewski 症候群とも呼ばれている。

(3) PSP の疫学

米国では1988年 Golbe らによって有病率は10万人あたり1.39人で年間10万人あたり0.3-0.4人の発生率[12]と報告されたが、近年の英国からの報告でによれば有病率が10万人あたり6.4人、年間10万人あたり5.4人の発生率で高齢者の中ではさらに頻度が高くなっている[13-15] [16]。これは、臨床病理診断基準[1, 2]がこの間に作成され、診断率が向上したこと、高齢化によって発症率そのものがあがったこと、などが推定されるが、一方で剖検での確認がされている症例が少ないという問題がある[16]。日本では1998年度厚生省研究班の調査で有病率は10万人あたり1.9人と推定されている。以降正確な調査は無いが10万人に4~5人と推測されている(難病情報センターホームページ <http://www.nanbyou.or.jp/> による)。しかし、PSP との相関を指摘されているタウ遺伝子の H1 haplotype は日本人では

全員に認められる[17]という報告があることを考えると、欧米よりも疾患の頻度が高いこと、診断されていないケースが多数あることが推測される。

(4) PSP の分子病理: タウオパチーについて

最近ではタウ(τ)の沈着を示す疾患をタウオパチーと総称するようになっており、孤発性のタウオパチーには PSP、Pick 病、皮質基底核変性症(以下 CBD)、嗜銀顆粒性認知症(以下 DG)、広義にはアルツハイマー病(以下 AD)があり、家族性には第 17 染色体に連鎖した家族性前頭葉側頭葉型認知症(FTDP-17)がある。タウ蛋白は、微小管結合蛋白(microtubule associated protein, MAP)の一種であり、チューブリンに結合して重合を促進し、微小管を結合・安定化させる働きがある[18]。タウは軸索に多く発現するが、細胞体・樹状突起にも存在し、さらにはニューロン以外のオリゴデンドログリア、アストロサイトにも発現している。タウの遺伝子は第 17 番染色体長腕上(17q21-22)に存在し、14 エキソンからなる。この単一遺伝子からの選択的スプライシングによって N 末端側ではエキソン 2 と 3 の有無によって 0, 29, あるいは 58 残基の挿入構造が生成され、C 末端側ではエキソン 10 の有無によって 31 あるいは 32 残基から成る 3 回もしくは 4 回の繰り返し構造が形成される。これらの組み合わせによって、6 種類のアイソフォームが存在する[19]。C 末端側の繰り返し構造は、微小管に結合しチューブリンから微小管への重合を促しており、リン酸化によって負に制御されていると考えられている。この繰り返し構造が 3 回であるアイソフォーム 3 種を 3 リpeat(3R)、4 回であるアイソフォーム 3 種を 4 リpeat(4R) タウと呼んでいる[20]。ヒト脳において、3R タウと 4R タウの発現は解剖的部位と各々の細胞腫に依存しこの調節が崩れることが、タウ蛋白の沈着を一義的病変とするタウオパチーの発症の一因と考えられている[21, 22]。疾患脳の Sarkosyl 不溶分画の抗タウ抗体免疫ブロットでは PSP、CBD、DG は 3 種類の 4R タウアイソフォームから構成される 64, 68kDa の太いバンドと 72kDa の細いバンドが主体で 4R タウオパチーに分類され[3] [23] [24] [25]、Pick 病は 3 種類の 3R タウから構成される 60, 64kDa のバンドが主体で 3R タウオパチーに分類されている[26, 27]。アルツハイマー病では 6 種類の 3R および 4R タウアイソフォームから構成される 60, 64, 68kDa の太いバンドと 72kDa の細いバンドを認める[28]。

また、PSP と CBD は、非典型例において臨床症状が一部オーバーラップするため診断がしばしば困難で[29]、生化学的にどちらも 4R タウオパチーに分類され、遺伝学的にどちらも H1 haplotype に相関することから、別の疾患として扱うことを問題視する意見も一部にある[29]が、神経病理学的には PSP は Tuft、CBD は Astrocytic Plaque が特異的に出現し、両者が同時に存在することは基本的に無いと考えられており、[30]、PSP の診断には病理学的検索が必須と考えられている。

(5) PSP 研究の現状：ヒト脳研究の趨勢と各国の PSP バンク

ヒト脳研究の世界的趨勢は、剖検疾患脳とコントロール脳の病理組織標本と凍結標本を保存・管理・提供するブレインバンクが基盤となっている。PSP については患者団体が基金を提供し、研究者がマネージをする形でブレインバンクの構築に協力する形になっており、米国では米国 PSP 協会が基金を提供し、Mayo Clinic Jacksonville に米国 PSP ブレインバンク (<http://www.psp.org/index.php>) が構築されている。英国ではヨーロッパ PSP 協会が基金を提供し、Sara Koe PSP 研究センターと Queen Square 神経疾患ブレインバンク (http://www.ion.ucl.ac.uk/research/mol_neurosci/molneuro-themes-brainbank.html) が連携する形をとっている。

(6) 各国の PSP バンクと高齢者ブレインバンクの特徴

患者団体主導のブレインバンクの特徴として、PSP あるいは、神経変性疾患という診断が
ついてから、献脳プログラムに応募される形をとるため、臨床的診断困難例の存在が過小
評価される可能性が挙げられる。PSP は、特に高齢者で非典型的な症状を取ることが多く、
PSP と臨床診断された症例における神経病理診断一致率は米国 PSP brain bank の報告では
76%[31]、英国 PSP bank では 78% [32]と決して高くなく、不一致例の病理診断として約 70%
が CBD、多系統萎縮症、レビー小体病と報告されている。反対に、PSP の病理を持つ症例
における生前臨床診断の一致率を示すデータは存在しない。PSP の病理診断基準を満たし臨
床診断が不一致であった例として、PD と診断されていた症例が、PSP-parkinsonism として
英国 PSP バンクから臨床病型のひとつとして多数例が報告されている[33]が、これは神経疾
患バンクとして PD/PSP の臨床診断例を集積した結果出てきた概念である。米国 PSP バンク
からは Corticobasal syndrome を呈した症例[34]が報告され、その他 Progressive aphasia[35, 36]
[37]についても少数ながら症例が蓄積してきている。しかし、AD と臨床診断された症例に
ついては症例報告が散見されているのみ[38]で、これらの全体における頻度は不明である。
類縁疾患の CBD では、神経内科から CBD[39]、精神科から Pick 病 type B[40]、音声言語か
ら Primary Progressive Aphasia [41]と臨床的には異なる疾患名で呼ばれていたのが、同じ病理
所見を呈する症例が確認されてきた[42, 43]歴史がある。この観点からも、臨床診断によら
ない連続剖検例の母集団から PSP の病理を持つ症例を集積し、その上で PSP の臨床像の広
がりやを再定義することが必要と考え、連続剖検例を母集団とする高齢者ブレインバンクを
研究対象とした。

2. 対象：高齢者ブレインバンク

高齢者ブレインバンク(<http://www.mci.gr.jp/BrainBank/>)について以下に概説する[44]。日本では、これまで大学や施設、研究者のコレクションの形で脳資源が保存されており、公的なブレインバンクは存在していなかった。高齢者ブレインバンク(Brain Bank for Aging Research: BBAR) [44]は、東京都老人医療センターと東京都老人総合研究所の共同事業であり、2003年に外部研究費を受けブロックと標本の整理を行って、高齢者ブレインリゾースセンターとして整備された。倫理面では、高齢者の運動・認知障害の改善に貢献する研究に提供するためブレインバンクに登録するという包括同意を剖検時に一番近い親族から得ている。共同研究に当たっては、公的研究費の援助があることと、共同研究先及び東京都老人医療センター・東京都老人総合研究所倫理委員会の承認を受けることを前提としている。1972年研究所開設以来、神経病理学的診断は研究所神経病理部門が責任を負い、連続開頭剖検例(6909例, 2008年1月5日現在)全例がパラフィンブロックで蓄積されている。1995年から後頭極部分凍結脳(1852例, 同上)が保存され、2001年7月からは半脳凍結(614例, 同上)が開始されている。高齢者専門病院一施設由来であるが、開院以来脳病変の有無に関わらず、可能な限り全例に開頭剖検許可を得る努力を行っており、剖検例中86.3%という日本においては例外的に高い開頭率で、コントロールとなる剖検脳も十分に存在する。さらに、PSPの病理を持つ症例が71例と世界有数の症例蓄積があり、研究対象とした。

3. 方法：高齢者ブレインバンクプロトコール

1995年例からは部分凍結脳が保存され、臨床・神経データベースが構築されているので、PSP病理を持つ症例を抽出した上で症状を再検討し、神経病理学的所見についても再検討を行った。1994年以前の症例については、PSPの病理診断がついている症例について、臨床病歴を詳細に検討し、画像と対比させ、最終病理診断からPSP症例を抽出し臨床病理所見を統合し、研究資源として整備した。

(1) 神経病理学的評価：

(1-1) 剖検時 —固定前の処理—

全開頭剖検例に神経病理医が立会い、臨床医からの情報や神経放射線画像をもとに、脳の凍結部位を決定した。脳は写真撮影後、脳重量測定や出血・梗塞など血管性病変の有無、萎縮、動脈硬化の程度等を含む外表観察を行い、病変が外表的に認められる場合や左右差が疑われる症例では非病変側、あるいは病変のより軽度な半球を凍結側とし、それ以外では左右交互に凍結側とした。凍結側の脳は7mm厚冠状断、脳幹は約5mm厚水平断、小脳は7mm厚矢状断の断面を作成。断面の肉眼的観察、写真撮影を行った後、凍結側より組

織学検索を行うルーチン部位として前頭極、側頭極、頭頂間溝を含む頭頂葉、後頭極、後方海馬、扁桃核、歯状核を含む小脳、中脳黒質、嗅球を採取(表 1.1.)、その他病変部位を適宜追加採取した。これらを 4%パラホルムアルデヒドに 24~48 時間固定し、パラフィン包埋後、6 μ m 厚切片を作成、通常染色に加え、後述する特殊染色や免疫組織化学染色を施行し病理組織学的に評価を行った。

(1-2) 固定後(表 1.1.)

凍結側の反対側は 20%中性緩衝ホルマリンに 7~13 日固定後、神経内科、リハビリテーション科医と神経病理との合同ブレインカッティングカンファランスを施行した。固定後の半脳も原則として凍結側と同様に断面を作成した。肉眼的に断面を黒質の脱色素の有無や視床下核の萎縮などを中心に観察・評価後、NINDS-PSP 神経病理診断基準[2]、レビー小体型認知症 (dementia with Lewy bodies、以下 DLB) コンセンサスガイドラインの切り出し推奨部位[45, 46]、アルツハイマー病理の Braak Staging[47] [48]、CERAD 診断基準[49]を包括した代表的部位の切り出しを行った(表 1.1.)。パラフィン包埋後、6 μ m 厚切片を作成し、通常染色に加え後述する特殊染色や免疫組織化学染色を施行し病理組織学的評価を行った。

(1-3) 染色

(A) 通常染色

全症例の全切片に hematoxylin & eosin (以下 H & E)染色と Klüver-Barrera(以下 KB)染色を施行した。

(B) 特殊染色

全症例の代表的部位に神経変性型老化関連病理の評価のため鍍銀染色である改良 methenamine 銀染色[50]、Gallyas-Braak 染色[51]、Bodian 染色、Bielschowsky 染色、アミロイド沈着評価目的に Congo-red 染色、そして血管病理の評価目的に elastica Masson trichrome 染色を行った。

(C) 免疫組織化学染色(表 1.2.)

全症例の代表的部位についてパラフィン包埋ブロックを 6 μ m厚に薄切し、シランコーティンググラス上にのせ、脱パラフィン後、Ventana 20NX autostainer (Ventana, Tucson, AZ)を用いて免疫染色を行った。タウ沈着以外の老年性変化の評価のため、以下の抗体を用いた。抗アミロイド β 抗体 (A β 11-28, 12B2, monoclonal, IBL, Maebashi, Japan)、抗リン酸化 α シヌ

クレイン抗体(ψsyn) (ψsyn#64 monoclonal and Pser129 polyclonal)[52, 53]、抗 α シヌクレイン抗体(LB509, monoclonal, Jakes, 1996)、抗ユビキチン抗体(polyclonal, DAKO, Glostrup, Denmark)、抗 glial fibrillary acidic protein (GFAP, polyclonal, DAKO, Glostrup, Denmark)、抗 CD68 抗体 (PG-M1, monoclonal, DAKO, Glostrup, Denmark)、抗リン酸化ニューロフィラメント抗体(SMI 31, monoclonal, Sternberger Immunochemicals, Betheda, MA)である。各々の抗体について、高齢者ブレインバンクで最適化を行った希釈倍率及び抗原賦活法を用いた(表 1.2.)。

(D) 抗タウ抗体免疫染色(表 1.3.)

全症例について、アルツハイマー神経原線維変化の出現する代表的部位、および PSP については NINDS 病理診断基準を含んだ病変出現部位について、抗リン酸化タウ抗体として AT8 (phosphorylated Ser202/Thr205, monoclonal, Innogenetics, Temse, Belgium) [54]を一次抗体とし、スクリーニングを行った。必要に応じ、コンホメーション特異抗体として MC1 (a.a. 312-342, conformation dependent, monoclonal, kind gifts from Dr. Peter Davies) [55], 抗 3 リピート(以下 3R)タウ抗体として RD3 (a.a. 209-224 (0N3R isoform), monoclonal, Upstate, Lake Placid, NY), 抗 4 リピート(以下 4R)タウ抗体として RD4 (a.a. 275-291, monoclonal, Upstate, Lake Placid, NY) [56], ET3 (a.a. 274-283, monoclonal, kind gifts from Dr. Peter Davies) [57], 抗 4R タウ抗血清(a.a. 272-277, polyclonal, 森啓博士供与), 抗リン酸化タウ抗体として, PHF-1(phosphorylated Ser396/Ser404, monoclonal, kind gifts from Dr. Peter Davies) [58], AP422 (phosphorylated Ser422, polyclonal, 井原康夫博士供与) [59]を用いた。これらの抗体について希釈倍率および抗原賦活法の最適化を実施した(表 1.3.)。

(1-4) 神経病理診断基準及び重症度診断基準

(A) PSP の診断基準(表 1-4)

PSP の診断基準には、Preliminary NINDS-PSP 神経病理診断基準[2]を用いた(表 1-4)。但し、臨床症状の多様性を検討するため、「臨床的に PSP と診断されること」という項目を除外した。診断基準に従い、神経原線維変化の分布によって、Typical PSP と Atypical PSP に分類した。さらに他疾患の合併の無い群を Pure PSP、ある群を Combined PSP に分類した。他疾患の診断基準は下記の通りである。ここで分類された Pure Typical PSP, Pure Atypical PSP, Combined Typical PSP, Combined Atypical PSP の 4 群に関して、平均年齢を一元配置分散分析 (one-way ANOVA, $p < 0.05$)で評価した。

(B) Combined PSP に合併する変性疾患の診断基準(図 1.1.)

合併病理を評価するために、他の変性疾患について以下の診断基準を用いて評価した。

ADについては高齢者ブレインバンクの診断基準[60]、PD・レビー小体型認知症(以下DLB)については高齢者ブレインバンクの基準[61]、DLB コンセンサスガイドラインの診断基準[45, 46]から総合的に判断し、嗜銀顆粒性認知症(Dementia with grain, 以下DG)については高齢者ブレインバンクの診断基準[62]、Jellingerの診断基準[63]を用いた。脳血管性認知症(Vascular Dementia, VD)にはNINDS-AIRENの診断基準を用いた[64]。

アルツハイマー病に代表される脳の老年性変化は連続性であり、ある域値をもって発症すると考えられている[47]。老年性変化の広がりや半定量的に評価するために、全ての症例について以下の基準でステージングを行った。老人斑・神経原線維変化についてはBraakらのステージング [47, 48]を、嗜銀顆粒、レビー小体病理については高齢者ブレインバンクの提唱しているステージング [52, 61, 62, 65]を用いた。

これらについては、二人以上の神経病理専門医が独立に評価した結果を併せ、最終的に評価した。

(C) DNA microarrayを用いた Microtubules Associated Protein Tau (以下 *MAPT*)遺伝子の網羅的解析

腎臓から抽出されたDNAが保存されていた17例について、東京大学医学部神経内科で設計、Affimetrix社で作成したDNA-microarrayを用いて、*MAPT* 遺伝子の全塩基配列の解析を行った。DNA-microarrayの詳細について以下に述べる。

GeneChip® CustomSeq™ Resequencing Microarray(Affymetrix)のプラットフォームを用い、認知症性疾患(アルツハイマー病、前頭側頭葉型認知症、プリオン病)の原因遺伝子および疾患関連遺伝子の全エクソン及び、遺伝子によってはプロモーターの塩基配列を搭載したDNAマイクロアレイTKYAD01をデザインした(表 1.5)。*MAPT*に関しては、スプライスジャンクションの変異が報告されているため、エクソン周辺のイントロンの配列も搭載した。このDNA microarrayを用いたDNA配列の解析は以下の7つのステップで行った(図 1.2)。(1)PCRによる増幅、(2) 定量、(3) 等モルのプーリング、(4) 断片化、(5) ラベリング、(6) ハイブリダイゼーション、染色、(7) 洗浄とスキャンである。PCRのPrimerはPrimer 3 website (http://frodo.wi.mit.edu/cgi-bin/primer3/primer3_www.cgi)を利用して設計した(表 1.6)。Genomic DNA 50ngをtemplateとし、total 50μLの系で、以下の条件でPCRを行った。95°Cを2分、次いで95°C30秒、62°C30秒 68°C3分を5サイクル、次に95°C30秒、60°C30秒、68°C3分を5サイクル、次に95°C30秒、58°C30秒 68°C3分を25サイクル、最後に68°C7分の条件で、LA Taq PCA system (Takara Bio, Otsu, Shiga, Japan)を使用し行った。PCR産物は、PicoGreen(Molecular Probes, Eugene, OR, USA)で定量した。多量のPCR産物を一本のチュー

ブにプーリングするステップには、robotic system である BioMek FX (Beckman Coulter, Fullerton, CA, USA)を導入し、PCR 産物が等モルになるよう分注量を計算し、それに従って Span-8 pipetting devise を用いてプーリングを行った。プーリング以降のステップは、Affymetrix 社のマニュアルに従った(Affymetrix, Santa Clara, CA, USA)。

(D) Pure PSP におけるタウ沈着の半定量的評価 (図 1.3.)

合併病理の無い純粋な PSP 病理の病変と症状の重み付けを調べるため、Pure PSP 39 例に対して、NINDS 神経病理診断基準における神経原線維変化評価部位に小脳白質を加え、それらを含む 6 μ m 厚パラフィン包埋切片を作成し、抗リン酸化タウ抗体(AT8)免疫染色を行い、米国 PSP ブレインバンクで用いられている 0(none), 1(mild), 2(moderate), 3(severe)の 3 段階の Grading [66]を用いて、neurofibrillary change (以下 NFT), Tufted astrocytes (Tuft), Coiled bodies (CB)の 3 つのスコアを平均し半定量的に評価した。病理分類に基づいて Typical PSP 群と Atypical PSP 群について、各部位の Grading を比較し、Mann-Whitney U-test (正確検定)にて有意差を検定した。

(2) 臨床病歴の評価

二人の神経内科専門医が、看護記録を含めた病歴を評価し、手段的日常生活動作(以下 IADL)、さらに Mini-Mental State Examination (以下 MMSE)、改訂長谷川式簡易知能スケール(以下 HDS-R) [67-70]が行われている場合はそれを参考に、Clinical Dementia Rating (以下 CDR, 表 1.7.) [71]を決定した。両者が一致していれば採用とし、不一致の場合は主治医と協議した。許可が得られる場合は介護者のインタビューを通じ、再決定した。他院の病歴が存在する場合は、ご遺族より文書同意を取り直した上で、参照した。また病歴より、生前におけるパーキンソン症状、眼球運動障害の有無を抽出し、それらを基に最終的に評価した。発症の定義は、臨床の多様性を比較するため、パーキンソン症状に限らず認知機能障害、易転倒性も含めた症状のどれかひとつでも出た時とした。PSP の発症から診断までの期間は 3.6 年[72]あるいは 4.7 年[12]と報告されていることから、早期診断の観点から、発症 3 年以内の出現頻度も記載した。

4. 結果

(1) PSP ブレインバンクの病理分類と臨床症候と既報告との比較(表 1.8., 表 1.9.)

高齢者ブレインバンクから、71 例の PSP が病理診断確定例として抽出された。性別は男性 42 例、女性 29 例、発症年齢は 66 例で記載があり平均 \pm SD(範囲)で 73.4 \pm 8.2 歳(56~95

歳)、剖検時年齢は全例で確認されており 81.3 ± 8.7 歳 (64~101 歳) であった。下位の分類では、Pure Typical PSP 19 例(発症時 67.9 ± 6.3 歳、剖検時 75.7 ± 6.8 歳)、Atypical PSP 20 例(発症時 76.2 ± 6.2 歳、剖検時 82.4 ± 7.1 歳)、Combined Typical PSP 22 例(発症時 74.1 ± 7.2 歳、剖検時 82.3 ± 7.49 歳)、Combined Atypical PSP 10 例(発症時 78.1 ± 12.5 歳、剖検時 88.8 ± 11.7 歳) であった。発症年齢では Pure Typical PSP に対し Pure Atypical, Combined Atypical の 2 群が有意に高齢であった。剖検年齢では、Pure Typical PSP に対し、他の 3 群がすべて有意に高齢であった。男女比については、Pure PSP はほぼ 2:1 で既報告[1] [73] [74] [75] [76] [77] [78] にほぼ一致しているのに対し、Combined PSP では男女ほぼ同数あるいは女性のほうが多かった。このデータから、Combined PSP に関しては、合併疾患の影響が大きいと考え、以下の解析では一括して扱った。

臨床症候について、既報告(表 1.9.)との比較で述べる。71 例全例について既報告と比較すると、発症時・剖検時年齢共に高齢であることが指摘される。また、個々に見ていくと原著で記載され、Steele-Richardson-Olszewski (SRO)症候群として強調される易転倒性、垂直性眼球運動障害、頸部ジストニア、無動が高齢者ブレインバンク例では少なく、特に NINDS 臨床診断基準で重視されている垂直性眼球運動障害[1]は全経過で 34%しか認めず、とくに発症 3 年以内では 18%しか指摘されていなかった。但し、病理診断基準について検討すると、Litvan ら[79], Verny[73]らの報告は NINDS 病理診断基準の Pure Typical PSP を対象としている。また、De Bruin と Lees[74], Collins ら[75]の報告は、NINDS 診断基準ができる前後に報告されているため基準が異なっているが、ほぼ Pure Typical PSP に一致していると考えられる。そこで、Pure Typical PSP のみ比較してみると、その違いは小さくなり、易転倒性や頸部ジストニアの比率は同程度となるが、やはり眼球運動障害の比率は発症 3 年以内で 30%、全経過で 50%と低くなっている。また、認知症の発症率は発症 3 年以内で 52%、全経過で 76%と高く、Pure Typical PSP に限っても発症 3 年で 50%、全経過で 75%と同様に高かった。この点については、認知症について記載のある、Verny [73]ら、Collins [75]ら、葛原ら[76]の報告とほぼ一致していたが、精神科からの長友ら[77]、天野ら[78]の報告では認知症の発症は 100%であり、母集団の違いを考慮に入れるべきと考えられた。また、認知症の発症率は Pure PSP よりも Combined PSP で高い傾向にあり、Typical PSP と Atypical PSP では大きな差はなかった。認知症の特徴としては、記銘力障害・失見当識が前景に立った症例が 24 例(34%)、行動異常・精神症状が前景に立った症例が 21 例(30%)、両者の記載があるもの 7 例(10%)、不明が 3 例(4)であった。行動異常・精神症状の詳細は、暴力行為が 8 例、意欲低下・発動性低下が 7 例、夜間不穏が 6 例、アパシーが 3 例、うつ・妄想・性格変化・拒薬が 2 例、統合失調症が 1 例であった。また、幻視については PD を他のパーキンソン症候群から鑑別するのに有用である[80]とされているが、Pure PSP に 3 例の非薬剤性幻

視を認めており、注意が必要である。

(2) PSP の病理を持つ症例の臨床診断 (表 1.10)

PSP 病理を持つ 71 症例の臨床診断は、PSP が 17 例で、臨床病理の診断一致率が 24%であった。その他の診断は、PD(またはパーキンソン症候群)が 22 例、AD(または老年性認知症)が 11 例、脳血管性認知症が 6 例、CBD が 2 例、脊髄小脳変性症、傍腫瘍性小脳変性症、正常圧水頭症、混合型認知症、視床変性症、進行性球麻痺、うつ病、統合失調症が各 1 例であった。また、精神・神経疾患の診断名がついていない症例が 5 例存在した。

(3) 合併病理の頻度 (表 1.11.)

Combined PSP の合併病理の内訳は、嗜銀顆粒性認知症が 12 例(17%)と最も多く、PD/PDD/DLB が 9 例、アルツハイマー病が 8 例、脳血管性認知症が 7 例、神経原線維変化優位型認知症が 5 例であった。合計が 32 例を越えるのは、3 種類以上の重複病理例が存在するためである。また、嗜銀顆粒病理の広がり少なく、嗜銀顆粒性認知症の診断基準に入らない症例も含めると、嗜銀顆粒病理の出現率は 52 例(73%)にのぼっていた。また、ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭葉変性症(FTL-U)について後方海馬の抗ユビキチン抗体免疫染色でスクリーニングを行ったが、今回対象とした 71 症例の合併症としては認められなかった。

(4) MAPT 遺伝子の解析結果

17 例全例が H1/H1 haplotype で、既報告[17]を裏付ける結果であった。病理との対応では、7 例が Pure Typical PSP, 6 例が Pure Atypical PSP, 4 例が Combined Typical PSP であった。アミノ酸置換を伴う変異は認めず、FTDP-17 として既知のものは含まれていなかった。未報告のアミノ酸置換を伴わない多型として exon 1 の 5'側の非翻訳領域に A→G のヘテロの多型を 1 例に、exon4A の翻訳領域に C→T のヘテロの多型を 8 例にホモの多型を 2 例に認めた。

(5) Pure PSP におけるタウ沈着の半定量的評価 (表 1.12.)

Pure PSP39 例について行ったタウ沈着の半定量的評価を病理分類で分けて比較した。Atypical PSP は Typical PSP に比較して動眼神経核の Grading が有意に低くなっており、その他脳幹・基底核の Grading が低い傾向にあった。また、中心前回・前頭前野の Grading は反対に Atypical PSP で高い傾向にあった。

5. 考察

高齢者ブレインバンク連続剖検例を母集団とした、病理診断に基づく PSP ブレインバンクを本邦で始めて構築した。71 例の登録症例数は米国 PSP バンク(1998 年から 2004 年)の 300 例以上[66]、英国 PSP バンクの(1992 年から 2002 年)約 100 例[33]に次ぐ規模である。71 例は、当ブレインバンクの 1%、PD/DLB 臨床病理診断例の約 1/3 の頻度に相当し、病理学的に PSP と診断される疾患は臨床で指摘されるよりもかなり高い有病率を示す疾患である可能性があるとして臨床で強く認識する必要があると考えられた。真の有病率を見るためには、連続剖検例で無ければならず、臨床診断で集めた他のブレインバンクには無い特徴であると考えられた。

病理学的に Pure Typical PSP, Pure Atypical PSP, Combined Typical PSP, Combined Atypical PSP の 4 群に分類したが、既報告における剖検確認多数例の検討は、大半が Pure Typical PSP に該当すると考えられ、Atypical, Combined PSP を網羅した初めての多数例での検討と言える。Combined PSP が半数弱と多く、Pure PSP の中では Typical PSP が全 71 例中の約 1/3 と少ない点が本ブレインバンクの特徴であった。ただし、今回 Pure PSP の除外基準として嗜銀顆粒性認知症[81][63]、神経原線維変化認知症[82][83]を含めているが、これらは比較的新しい疾患概念であり、従来の報告と Pure PSP、Combined PSP の分け方に差がある可能性がある。

Combined PSP の合併病理の内訳について述べる。嗜銀顆粒性認知症の診断基準を満たす症例が PSP 全体の 17%に存在し、嗜銀顆粒の病理を持っているが広がり小さいため認知症の原因になっているとは考えにくい症例も含めると 73%に上るという点は特筆すべきである。嗜銀顆粒性認知症の臨床像は不明な点も多いが、報告されている限りでは記憶力障害や性格変化を主徴とするがアルツハイマー病に比較して認知症の程度は軽く、経過も長いと考えられており[63, 81, 84, 85]、本研究では CDR1 以上を認知症と定義しているが、正常との境界にあたる軽度認知障害の症例を多く含んでいる可能性があり、今後注意が必要である[86]。アルツハイマー病に関しては、4 リピートタウ抗体を用いると 26%に嗜銀顆粒が見つかることが報告されているが[87]、本研究の PSP 症例ではこれを上回る頻度である。嗜銀顆粒は PSP, CBD と同じ 4 リピートタウオパチーであるため、共通する発症因子を持つ可能性が疑われた。H1 haplotype については嗜銀顆粒性認知症と相関しているという報告と[25][57] 相関していないという報告があり[88]、議論が残っているところである。Pick 病、FTDP-17 など、他のタウオパチーとも含めて検討が今後必要と考えられる。

年齢については、Pure Typical PSP に比較して、Pure Atypical PSP の方が発症時、死亡時ともに高齢であるのは、Atypical PSP が脳幹の病変が軽いため、嚥下障害などの致命的な症状が出にくいことが推察される。Combined PSP が高齢であるのは、主な合併症であるアルツハイマー病やパーキンソン病が高齢と共に頻度が上がる疾患であるためと考えら

れる。

臨床診断について、本バンクの臨床病理診断の一致率は英国 PSP ブレインバンクでは 69%[74]、米国 PSP ブレインバンクでは 76%[31]と報告されており、本バンクでは全体で 24%、病理基準をそろえて Pure Typical PSP に限ると 47%と若干近くなるもののやはり低い。この違いについては、本バンクと英米のバンクにおける、母集団の違いと、それによる医師の違いが挙げられる。英国は PD バンクの中に PSP バンクがあり、donor の募集もパーキンソン病あるいはパーキンソン症候群(“Parkinson’s-like disorders”)に対して行っている。米国では PSP と臨床診断された症例が登録されている。つまり、神経内科医の診察を受ける必要があった症例が登録されていることになる。しかし、本バンクは一施設の連続剖検例からの登録であり、神経内科医だけでなく、一般内科医や精神科医が診療していた症例が少なからず含まれており、結果として、運動障害が問題に挙がらない症例の頻度が高くなっているのではないかと考えられる。

各臨床徴候の検討からは、原著[11]で強調されている垂直性眼球運動障害、頸部ジストニアの頻度は Typical よりも Atypical PSP では低く、Pure case より Combined では低い結果であった。これについては、病理学的には Typical と Atypical PSP のタウ沈着の半定量における有意差が動眼神経核の Grading で認められた点と良く一致していると思われた。認知症については、Combined PSP における比率が Pure PSP より高くなっているが、これは AD や DLB といった認知症を来たしうる変性疾患が合併しているためと考えられた。Pure PSP については、Typical PSP と Atypical PSP で大きな差は認めず、PSP に内在している病変で引き起こされる面があると考えられた。

そこで、次章では、合併症のない Pure PSP における認知症の責任病巣を分子病理学的手法で検索した。

表 1.1. 中枢神経検索部位

凍結側

- # C1 : 小脳歯状核を含む小脳
- # SN : 黒質を含む中脳
- # A : 扁桃核
- # H : 後方海馬
- # F : 前頭極
- # T : 側頭極
- # P : 頭頂間溝を含む頭頂葉
- # O : 後頭葉
- # OB : 嗅球

固定側

- # S1 : 馬尾、腰部後根神経節
- # S2 : 第 2 仙髄、第 5 腰髄、第 2 腰髄
- # S3 : 第 12、8、4 胸髄
- # S4 : 第 1 胸髄、第 8、7 頸髄
- # S5 : 第 6、5、4 頸髄
- # 1 : 延髄下部 (後索核)・延髄中部 (舌下神経核)
- # 2 : 橋中部 (中小脳脚)
- # 3 : 橋上部 (青斑核)
- # 4 : 中脳 (動眼神経核を通る面)
- # 5 : 小脳虫部

- # 6 : 歯状核を含む小脳
- # 7 : 前頭極
- # 8 : 前頭葉穹窿部
- # 9 : 側頭極
- # 10 : 脳梁膝部を通る前帯状回
- # 11 : 第二前頭回・第二前頭回
- # 12 : 直回
- # 13 : 透明中隔 (尾状核・被殻複合体)
- # 14 : 扁桃核
- # 15 : # 14 に接した第一・二側頭回
- # 16 : 前交連を通る基底核
- # 17 : 前頭弁蓋
- # 18 : 乳頭体を通る断面での基底核
- # 19 : 海馬支脚を含む海馬
- # 20 : 視床下核・淡蒼球内節
- # 21 : 海馬 (外側膝状体を通る面)
- # 22 : 赤核・視床・脳梁
- # 23 : 中心前回
- # 24 : 頭頂間溝を含む頭頂葉
- # 25 : 側脳室後角後端を含む頭頂葉
- # 26 : 視覚領
- # 27 : 楔前部

表 1.2. 使用した一次抗体 (その 1)

抗体	クローン	エピトープ	Source	免疫動物	希釈倍率	抗原賦活化法
12B2	Monoclonal	A β 11-28 アミノ酸配列	IBL, Maebashi	mouse	1:50	蟻酸
Psyn#64	Monoclonal	α -synuclein phosphorylated ser129	Dr. T. Iwatsubo	mouse	1:20000 (中枢神経系)	蟻酸
PSer129	Polyclonal	α -synuclein phosphorylated ser129	Dr. T. Iwatsubo	rabbit	100	不要
抗 ubiquitin 抗体	Polyclonal	Ubiquitin	DAKO, Glostrup, Denmark	rabbit	1:1000	microwave
GFAP	Polyclonal	glial fibrillary acidic protein	DAKO, Glostrup, Denmark	rabbit	1:10	不要
PG-M1(CD68)	Monoclonal	CD68 抗原	DAKO, Glostrup, Denmark	mouse	1:100	microwave
抗 TH 抗体	Monoclonal	tyrosine hydroxylase	Calbiochem-Novabiochem Corporation, Darmstadt, Germany	mouse	1:10000	target retrieval solution
SMI31	Monoclonal	phosphorlated neurofilament	Sternberger Immunochemicals, Bethesda, MA	mouse	1:20000	不要
AT8	Monoclonal	MAPT phosphorylated Ser202/Thr205	Innogenetics, Temse, Belgium	mouse	1:1000	不要