

表 1. AAアミロイドーシス臨床研究会

会長	吉崎 和幸	会員 (治療担当)	(検査担当)	
理事	奥田 恭章 江口 勝美 寺井 千尋 中村 正 養田 清次 山田 俊幸	田村 裕昭 中野 正明 黒田 毅 池田 修一 寺井 千尋 養田 清次 小関 由美 今井 裕一 山田 正仁 高市 憲明 森口 正人 稲田 進一	佐伯 修 佐伯 行彦 土橋 浩章 松原 司 山名 征三 奥田 恭章 公文 謙雄 中村 正 中里 雅光 吉崎 和幸 江口 勝美	工藤 幸司 山田 俊幸 河野 裕夫
監事	石原 得博			
幹事	田中 敏郎			
顧問	岸本 忠三			

表 2. 書類 整備

1. 各施設のための倫理委員会申請原案：施設毎に書式変更
2. 患者への説明文
3. 患者の同意書 ：患者用、医師用 (控)
4. 患者の生体試料保存に関する同意書
5. 研究実施計画書
6. 参加登録書
7. 経過索、検査項目票

表 3. 2008年度 年次活動

2008年	1月31日	アミロイド-シス調査研究班、研究報告
	4月21日	日本リウマチ学会、ランチョンセミナー、 「AAアミロイド-シス」講演
	5月24日	AAアミロイド-シス臨床研究会、総会（東京）
	8月21日	アミロイド-シス調査研究班、夏のワークショップ2008
	9月19日	AAアミロイド-シス治療研究会、理事会（メール会議）
2009年	1月29日	アミロイド-シス調査研究班、研究報告 アミロイド-シス調査研究班、AA分科会

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

CAA 関連血管炎のステロイド治療後の病理組織像

研究分担者 池田修一 信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科
 共同研究者 町田香津子*、鈴木彩子*、内藤康介*、佐野健司**、有馬邦正***

*信州大学医学部脳神経内科、リウマチ・膠原病内科 **同臨床検査医学

***国立精神・神経センター武蔵病院臨床検査部

研究要旨 67 歳時に左前頭葉皮質下出血にて発症。69 歳時に転倒して左側頭部打撲を契機に緩徐進行性の意識障害に陥り、画像所見より髄膜脳症と考え、ステロイド投与にて症状改善。その後交通性水頭症と診断し、脳室腹腔シャント術と脳生検を施行、CAA と血管炎が見られた。術後穿刺部位側の右半球白質にび慢性の高信号領域と腫脹が見られたが、ステロイド投与にて症状改善。以後脳出血の再発なく、1.5 年後死亡。剖検所見では右の大脳半球を中心に白質の変性所見が目立ち、また皮質下を中心に陳旧性の小出血巣が多発していた。くも膜は全体に肥厚しており、同部位の血管壁にも変性所見があり、先行した髄膜炎の影響と考えられた。大脳の皮質、くも膜下腔、小脳の血管壁に A β アミロイドの沈着が見られたが、その程度は生検標本に比して軽度であった。CAA 関連血管炎にはステロイド療法が有効であり、また本治療で脳血管壁への A β アミロイドが軽減する可能性が示唆された。

A. 研究目的

CAA 関連血管炎に起因する髄膜脳症にステロイド療法を施行し、その後の病態変化を剖検所見を含めて明らかにする。

(倫理面への配慮)

本研究の目的を患者さんの御家族に十分説明して、脳生検、剖検を含めて同意を得た。

B. 研究方法

症例は 71 歳、女性。2004 年(67 歳)、左前頭葉皮質下出血にて某脳外科病院へ入院。右不全麻痺、運動性失語を後遺したが ADL は自立。2006 年 4 月(69 歳)、転倒して左側頭部打撲。5 月中旬より言葉の出づらさ、異常行動、傾眠が出現。髄液はキンサントクロミーを呈し、総蛋白は 444mg/dl であった。MRI 上、脳溝に沿った高信号性病変が見られた。亜急性に進行する髄膜脳症と考え、ステロイド投与にて症状改善。しかし、再増悪あり、交通性水頭症と診断し、脳室腹腔シャント術と穿刺部位より脳生検を施行。術後、深昏睡となり、MRI では穿刺部位側の右半球白質にび慢性の高信号領域と腫脹が見られた。ステロイド投与にて症状改善。以後脳出血の再発なし。2008 年 3 月、褥瘡感染による敗血症のため死亡。剖検前の頭部 CT では白質の広範な変性像のみが見られた。

C. 研究結果

【病理所見】i) 脳生検所見：髄膜と皮質血管に A β アミロイドの高度な沈着があり、くも膜下腔の一部の血管の壁には炎症細胞浸潤と巣状壊死があり、CAA と isolated cerebral angiitis の合併と診断した。ii) 剖検所見：脳重量 1135g、脳の外見は異常なし。剖検で右大脳半球を中心に白質の軟化巣が見られた。組織学的には大脳の皮質、くも膜下腔、小脳の血管壁に A β アミロイドの沈着が見られたが、その程度は生検標本に比して軽度であった。また Congo red 色素との親和性も低く、偏光は弱かった。検索した限り明瞭な血管炎の所見は見出せなかった。一方、右の大脳半球を中心に白質の変性所見が目立ち、また皮質下を中心に陳旧性の出血巣が多発していた。

D. 考察

CAA は高齢者の脳出血の原因としてよく知られているが、近年、新たな病態として A β 関連血管炎と白質病変(leukoencephalopathy)との関係が注目されている。本病変は A β の免疫原性に起因して CAA で侵された血管周囲に単核細胞浸潤が起り、一部にはアミロイドを貪食した巨細胞も混在している。この血管病変(isolated cerebral angiitis)により白質の限局した領域に浮腫を伴った虚血巣が生じ、臨床的には緩徐進行性の認知機能低下、頭痛、痙攣を示す。本病変には副腎皮質ステロイドホルモン、cyclophosphamide による薬物療法が有用であり、アミロイド関連疾患ではあるが治療可能な病態と報告されている。

本例は CAA 関連血管炎が髄膜脳症の臨床像を呈した稀な例である。また副腎皮質ステロイドホルモン治療が CAA 関連の脳出血の再発予防ならびに白質脳症の治療に有効であることが示された。さらに本薬物療法が CAA 自体を改善させること(血管壁へ沈着した A β アミロイドの軽減作用)が示唆されたことの意義は大きい。今後、CAA アミロイドの退縮機序の詳細を検索する予定である。

E. 結論

1. 本例のシャント手術前のステロイド反応性髄膜脳症はCAA related angiitisが原因であったと考えられた。
2. 生検所見と剖検所見の比較では
 - i) 陳旧性髄膜炎を示す所見はみられたが、血管周囲への炎症細胞浸潤は目立たなかった。
 - ii) 血管壁へのアミロイド沈着自体も軽減している印象であった。
 - iii) CAA関連病変に対してステロイド治療は有効である。
3. シャント術後、急性に出現した右大脳半球の広範な白質病変は、外科的処置を契機に発生したCAA関連のび慢性出血と浮腫と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Machida K, Tojo K, Naito K, Gono T, Nakata Y, Ikeda S: Cortical petechial hemorrhage, subarachnoid hemorrhage and corticosteroid-responsive leukoencephalopathy in a patient with cerebral amyloid angiopathy. *Amyloid* 15:60-64, 2008.
- 2) Naito K, Sekijima Y, Ikeda S: Cerebral amyloid angiopathy-related hemorrhage in a middle-aged patient with Down's syndrome. *Amyloid* 15: 275-277, 2008.

2. 学会発表

- 1) 町田香津子, 武井洋一, 松田正之, 池田修一: Nonsystemic vasculitic neuropathy の臨床像. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 2) 町田香津子, 鈴木彩子, 内藤康介, 池田修一, 佐野健司: ステロイド反応性髄膜脳症で発症し、生検にて血管炎を伴う脳アミロイドアンギオパチー(CAA)と診断され、その後脳症状の再発なく 1.5 年後に死亡した 71 歳女性例. 第 34 回上信越神経病理懇談会, 松本, 9.20, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

典型的老人斑を欠くアルツハイマー病アイオワ変異家系脳に蓄積した A β の可溶性による比較検討

研究分担者 玉岡 晃 筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻神経病態医学分野 (臨床医学系神経内科)

共同研究者 富所康志*、Jorge Ghiso**

*筑波大学大学院人間総合科学研究科疾患制御医学専攻神経病態医学分野 (臨床医学系神経内科)、 **New York University School of Medicine

研究要旨 A β 蛋白前駆体(A β PP)の A β 分子領域内のアミノ酸置換 Asp23Asn 変異はアイオワ家系で早期発症認知症を引き起こす。高度の脳アミロイドアンギオパチー(cerebral amyloid angiopathy; CAA)、皮質のプレアミロイド沈着並びに広範な神経原線維変化(neurofibrillary tangles; NFTs)がその主要神経病理学的変化であり、アミロイド芯を伴う典型的老人斑はわずかである。NFT を伴うことから本家系は病理学的に非典型的な家族性 AD と考えられる。本家系は、実際のヒト脳にける AD 型の神経変性の導入には典型的老人斑が必須でないことを示し、CAA、プレアミロイド病変、あるいは可溶性オリゴマーの重要性を示唆する。アイオワ変異に関連した A β 分子の蓄積と分解機序を明らかにするため、Iowa 家系脳を生化学的に解析した。孤発例に比べ大脳皮質の A β オリゴマーは異なった様態を示し、可溶性オリゴマーの多様性が示唆された。A β の N 末端の切断が見出され、A β の沈着よりは除去に関与すると思われる。

A. 研究目的

近年、様々な培養細胞系や動物モデルの検討からアルツハイマー病(Alzheimer disease; AD)の発症機序としてオリゴマー仮説が唱えられているが、ヒトにおける実証はなされていない。AD の治療法開発に当たり、オリゴマー仮説の検証、並びに、ヒト脳に蓄積したオリゴマーの蓄積と分解の機序の解明は最重要課題の一つである。A β 蛋白前駆体(A β PP)の A β 分子領域内のアミノ酸置換 Asp23Asn 変異はアイオワ家系で早期発症認知症を引き起こす。高度のアミロイドアンギオパチー(CAA)、皮質のプレアミロイド沈着並びに広範な神経原線維変化(NFT)がその主要神経病理学的変化であり、アミロイド芯を伴う典型的老人斑はわずかである。NFT を伴うことから本家系は病理学的に非典型的な家族性 AD と考えられる。本家系は、実際のヒト脳にける AD 型の神経変性の導入には典型的老人斑が必須でないことを示し、CAA、プレアミロイド病変、あるいは可溶性オリゴマー

の重要性をも示唆する。したがって、本家系は AD 脳における高毒性の可溶性オリゴマーの重合、蓄積並びに分解のモデルとなる。アイオワ変異に関連した A β 分子の蓄積と分解機序を明らかにする。

B. 研究方法

凍結剖検脳から A β をその可溶性に応じてリン酸緩衝液 (可溶性 A β)、SDS (非線維性沈着物)、ギ酸 (線維性沈着物) に連続抽出し、免疫沈降 (IP)、ウェスタンブロット (WB)、質量分析 (MS) 法を組み合わせて生化学的に解析した。

(倫理面への配慮)

剖検例の凍結脳の解析は、剖検並びに脳の解析が行われた米国ニューヨーク大学、ジョージタウン大学、Massachusetts General Hospital 及び米国 NIH のプロトコールに沿い、それらの承認のもと行われた。

C. 研究結果

PBS 可溶性分画の検討では、皮質分画では IP-WB 法で A β 分子はモノマーと少量のオリゴマーを呈し、孤発性 AD に比べて重合度は比較的軽度であった。IP-MS 分析法では、主要な A β 分子種は A β 4-40 などで断片化されていた。PBS による抽出を続けると次第に A β 断片は減少し、全長 A β 1-40 の比率が増加した。症例による違いがみられ剖検時間の違いが影響した可能性も推察されたが、A β の N 末端はいずれにせよそのほとんどが Phe4 であった。一方、血管の分画ではオリゴマーの比率が高く、当初よりその主要分子種は A β 1-40 であった。PBS 抽出後の SDS 抽出分画では IP-WB 法で皮質、血管分画ともに A β は主にオリゴマーを呈した。IP-MS 分析法で主要 A β 分子種は A β 1-40 であり、A β 2-40 並びに A β 4-40 が続いた。SDS 抽出後のギ酸分画でも、皮質並びに血管の双方の分画において WB 法で、A β x-40 を主要構成要素とした高度の重合を呈し A β x-42 はマイナーな要素であった。IP-MS 分析法では A β 1-40 に続き、A β 2-40、A β 4-40、A β 1-38、A β 2-38 が主要構成要素であった。

D. 考察

本家系脳皮質においても A β はその多くは高度に不溶性であり、アミロイドに富む血管と同様著明に重合していた。一方で、神経毒性を呈する可能性のある可溶性分画においては、典型的老人斑の欠如を反映してオリゴマーは少量であった。本分画に見出された A β 断片は不溶性分画では存在しないかマイナーな要素であり、N 末端の切断が A β の沈着よりはむしろ除去に関連するものと思われる。いわゆる可溶性 A β オリゴマーには様々な重合度あるいは様々な程度の SDS 耐性を示すものが存在し、孤発例と典型的老人斑を欠く本家系ではその存在比率が異なる、或いは必ずしも同一でないことが示唆された。

E. 結論

AD 発症におけるオリゴマー仮説を支持する可能性のある家族性 AD アイオワ家系において、いわゆる可溶性オリゴマーの多様性が示され、N 末端の切断がオリゴマーあるいは皮質の非線維性沈着物の除去にかかわることが示唆された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kume H, Oda A, Tamaoka A, Kametani F, Araki W: IGF-1 promotes β -amyloid production by a secretase-independent mechanism. *Biophys Biochem Res Commun*, in press.
- 2) Yokota O, Tsuchiya K, Arai T, Yagishita S, Matsubara O, Mochizuki A, Tamaoka A, Yoshida H, Terada S, Ishizu H, Kuroda S, Akiyama H: Clinicopathological characterization of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions and Pick's disease. *Acta Neuropathol*, in press.
- 3) 富所康志, 織田彰子, 玉岡 晃: アルツハイマー型認知症におけるオリゴマー形成を好む新規アミロイド β 変異体. *Cognition and Dementia* 7:62-63, 2008.
- 4) 詫間 浩, 辻 浩史, 玉岡 晃: TDP-43 変異と筋萎縮性側索硬化症. *Cognition and Dementia* 7:64-65, 2008.
- 5) 玉岡 晃: アルツハイマー病. *モダンフィジシャン* 28:699-702, 2008.
- 6) 玉岡 晃: アルツハイマー病の予防. *臨床検査* 52:307-313, 2008.
- 7) 玉岡 晃: インスリン分解酵素. *日本臨床* 66 Suppl 1:72-79, 2008.
- 8) 富所康志, 玉岡 晃: NSAIDs. *日本臨床* 66 Suppl 1:478-483, 2008.

2. 学会発表

- 1) 上野友之, 矢口雅江, 河野 豊, 富所康志, 永田博司, 玉岡 晃: 慢性脳低灌流暴露下におけるアミロイド β タンパクと BACE1 の発現. 第27回日本認知症学会, 10.10, 2008.
- 2) 富所康志, 玉岡 晃, Blas Frangione, Jorge Ghiso: 典型的老人斑を欠く変異型アルツハイマー病アイオワ家系脳の生化学的解析. 第27回日本認知症学会, 群馬, 10.10, 2008.
- 3) 富所康志, 玉岡 晃, Frangione Blas, Jorge Ghiso: 家族性デンマーク型認知症脳における Adan

アミロイド分子切断・分解の沈着部位による相違
(Regional brain difference in the degradation of
deposited A β species in familial Danish dementia) .

第31回日本神経科学大会, 東京, 7.10, 2008.

4) 玉岡 晃: アルツハイマー病の分子病態と治療
- アミロイド β 蛋白を中心として- . 第39回日本
脳科学会, 東京, 6.13, 2008.

5) 織田彰子, 荒木 亘, 玉岡 晃: 脂質ラフトの
BACEに対する酸化ストレスの影響. 第49回日本
神経学会総会, 横浜, 5.15, 2008.

6) 上野友之, 矢口雅江, 河野 豊, 角 正美, 富所
康志, 一谷幸男, 永田博司, 玉岡 晃: 慢性脳虚血
ラットモデルにおける認知学習機能と β アミロイ
ドの産生. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15,
2008.

7) 富所康志, 玉岡 晃: 典型的老人斑を欠く変異
型アルツハイマー病Iowa家系脳 of の生化学的解析.
第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15, 2008

8) 玉岡 晃: アルツハイマー病の分子病態と治療
戦略. アルツハイマー病治療薬の開発動向と今後
の可能性に関するセミナー, 東京, 3.18, 2008.

9) 玉岡 晃: アルツハイマー病の病態と臨床-診
断治療から予防に至るまで-. 第18回高齢者介護
福祉研究会, 3.8, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

弘前大学神経内科におけるもの忘れ外来の確立と脳脊髄液診断

研究分担者 東海林幹夫 弘前大学医学部医学科

共同研究者 中畑直子*、若佐谷保仁*、清野祐輔*、渡辺有希子*、渡辺光法*、瓦林毅*、
松原悦朗*

*弘前大学医学部医学科

研究要旨 弘前大学附属病院神経内科で平成 18 年からもの忘れ外来を開始し、地域における認知症・脳アミロイドーシスの診療を推進してきた。もの忘れ外来 276 人中の疾患分布は AD 99 例と MCI 45 例で約半数を占めた。AD の特徴として初めて認知症と診断された例が多かった。行政ともの忘れ検診を共同で開始し、かかりつけ医、認知症専門病棟、家族会との地域ネットワークを形成した。診断の標準化を行い、マーカー、遺伝子検索を開始した。MCI の診断には WMS-R が有用であった。J-ADNI 版 MMSE は従来の MMSE とよく相関したが、一部で解離が認められた。遺伝子検査により presenilin-1 の変異を認める 2 家系の FAD を発見した。髄液 A β 42 の低下と総 tau の著明な上昇が認められ、AD index は AD 群で有意な上昇を示し、AD の鑑別に有用であった。

A. 研究目的

弘前大学附属病院神経内科は平成 18 年から主にアルツハイマー病(AD)を対象とするもの忘れ外来を開始し、地域における認知症・脳アミロイドーシスの診療を推進してきた。本報告ではもの忘れ外来の現状と青森県における取り組み、特徴とバイオマーカーの検討経過を報告する。

B. 研究方法

当科もの忘れ外来を立ち上げた。一部の患者で脳脊髄液のアミロイド B 蛋白(A β)40、A β 42 と Tau の測定を行った。

(倫理面への配慮)

研究対象者の個人情報保護に留意した。

C. 研究結果

1. もの忘れ外来 276 人中の主な内訳は AD 99 例、軽度認知症(MCI)45 例、レビー小体型認知症 20 例、血管性認知症 12 例、進行性核上性麻痺 10 例、アルコール性認知症 10 例、認知症を伴うパーキンソン病 9 例、大脳皮質基底核変性症 8 例、前頭葉

側頭葉変性症 6 例、Creutzfeldt-Jakob 病 3 例であった。AD は平均年齢 76.0 歳、発症から受診まで 2.3 年、Minimental State Examination (MMSE) 19 \pm 5 点で、初めて認知症と診断された例が多かった。家族性 AD を 3 例認め、うち 2 例で presenilin-1 の変異を認めた。一例はすでに報告された家族性 AD の大家系であり A488G 変異を認めた。もう 1 例には新規の変異 HisArg 41/42 ins を認めた。

2. Clinical Dementia Rating (CDR), Wechsler Adult Intelligence Scale (WAIS)-III および Wechsler Memory Scale Revised (WMS-R)を中心にした神経心理検査を始め、バイオマーカー、画像診断、遺伝子検索などもの忘れ外来検査の標準化を行った。
3. 啓発活動として①市民を対象としたもの忘れフォーラムを弘前市、青森市、八戸市、つがる市、鱒ヶ沢町、十和田市で毎年開催した。②青森県と共同した物忘れ検診を開始した。タッチパネル検査と MMSE を用いた物忘れ検診で認知症を疑われた方を当科外来受診とするシステムを作製した。当科受診者の約半数が AD であった。③精神科地域中核病院、開業医とのネットワークを形成した。④青森県認知症家族会設立を支援した。これらの

活動の結果もの忘れ外来受診患者数は増加した。

4. CSF バイオマーカーの検討では AD において A β 42 の低下と総 tau の著明な上昇が認められた。AD index (総 tau x A β 40 / A β 42)を用いると AD 群で有意な上昇を示した。tauopathy が疑われる原発性失語および意味性失語では軽度の tau 上昇が認められた。

5. WMS-RをAD群とMCI群で行うとMCI群では注意・集中以外の項目で低下していたが、AD群では全項目において著明に低下しており、MCIの診断にはWMS-Rが有用であることが示された。

6. 従来のMMSEとJ-ADNI版MMSEを同一患者に行い、その相関を検討した。J-ADNI版MMSEは従来のMMSEとよく相関したが、一部の例では解離が認められた。

7. 脳amyloidosisの認知機能リハビリテーションのevidenceを得るために、現実見当識訓練、回想法、学習療法、外的代償法、自由会話などの認知機能リハビリテーションが有効かどうかの検討中である。

D. 考察

弘前大学神経内科、もの忘れ外来の現状を報告した。疾患分布はADとMCIで約半数を占め、従来の報告と同様であった。ADの特徴として初めて診断された例が多かった。行政ともの忘れ検診を共同で開始し、かかりつけ医、認知症専門病棟、家族会との地域ネットワークを形成した。診断の標準化を行い、マーカー、遺伝子検索を開始したが、MCIの診断にはWMS-Rが有用であった。J-ADNI版MMSEは従来のMMSEとよく相関したが、一部で解離が認められた。遺伝子検査によりpresenilin-1の変異を認める2家系のFADを発見した。髄液A β 42の低下と総tauの著明な上昇が認められ、AD indexはAD群で有意な上昇を示し、ADの鑑別に有用であった。

E. 結論

地域医療でもの忘れ外来を立ち上げた。地域での認知症の啓発活動、地域ネットワーク活動が有用であった。髄液バイオマーカーはADの鑑別に有用な検査と考えられた。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ikeda M, Kawarabayashi T, Harigaya Y, Sasaki A, Yamada S, Matsubara E, Murakami T, Tanaka Y, Kurata T, Wuhua X, Ueda K, Kuribara H, Ikarashi Y, Nakazato Y, Okamoto K, Abe K, Shoji M: Motor impairment and aberrant production of neurochemicals in human α -synuclein A30P+A53T transgenic mice with α -synuclein pathology. *Brain Res* 1250:232-241, 2009.

2) Wati H, Kawarabayashi T, Matsubara E, Kasai A, Hirasawa T, Kubota T, Harigaya Y, Shoji M, Maeda S: Transthyretin accelerates vascular A β deposition in a mouse model of Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 19:48-57, 2009.

3) Xu W, Kawarabayashi T, Matsubara E, Deguchi K, Murakami T, Harigaya Y, Ikeda M, Amari M, Kuwano R, Abe K, Shoji M: Plasma antibodies to A β 40 and A β 42 in patients with Alzheimer's disease and normal controls. *Brain Res* 1219:169-179, 2008.

4) Sasaki A, Kawarabayashi T, Murakami T, Matsubara E, Ikeda M, Hagiwara H, Westaway D, St. George-Hyslop P, Shoji M, Nakazato Y: Microglial activation in brain lesions with tau deposits: comparison of human tauopathies and tau transgenic mice TgTauP301L. *Brain Res* 1214:159-168, 2008.

5) Miyashita A, Arai H, Asada T, Imagawa M, Shoji M, Higuchi S, Urakami K, Toyabe S, Akazawa K, Kanazawa I, Ihara Y, Kuwano R. GAB2 is not associated with late-onset Alzheimer's disease in Japanese. *Eur J Hum Genet*, in press.

6) Kawarabayashi T, Shoji M: Plasma biomarkers of Alzheimer's disease. *Curr Opin Psychiatry* 21:260-267, 2008.

2. 学会発表

1) Kawarabayashi T, Scioi Y, Wakasaya Y, Watanabe M, Kimura T, Suzuki C, Tomiyama M, Matsubara E, Ishiguro K, Westaway D, St. George-Hyslop P, Shoji M: CSF tau correlates with

brain tau in tau transgenic mice. ICAD2008, Chicago,
7.26-31, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

パーキンソン病モデルトランスジェニックマウス
（特許第 4174212 号・2008 年 8 月 22 日）

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドシスに関する調査研究班 分担研究報告書

レビー小体型認知症およびアルツハイマー病における脳脊髄液 α シヌクレイン、アミロイド β_{1-42} 、タウ蛋白の検討

研究分担者 山田正仁 金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科)
 共同研究者 篠原もえ子*、吉田光宏*、小野賢二郎*、徳田隆彦**、笠井高士**、
 中川正法**
 *金沢大学大学院脳老化・神経病態学 (神経内科)
 **京都府立医科大学神経内科

研究要旨 レビー小体型認知症 (DLB) とアルツハイマー病 (AD) の鑑別における有用性を検討する目的で、DLB、AD患者脳脊髄液 (CSF) 中の α シヌクレイン、アミロイド β_{1-42} ($A\beta_{42}$)、総タウ蛋白 (tau)、リン酸化タウ蛋白 (ptau) 濃度を測定した。また、DLB、ADの鑑別に有用とされている ^{123}I -MIBGシンチも施行した。CSF- α シヌクレイン濃度はDLB群とAD群で差を認めなかったが、DLB群のCSF- α シヌクレイン濃度は罹病期間と有意に相関し、罹病期間が長くなるにつれてCSF- α シヌクレイン濃度の低下を認めた。CSF $A\beta_{42}$ 濃度はDLB群とAD群間で差がなく、CSF tau、CSF ptau濃度はDLB群に比べAD群で有意に上昇していた。 ^{123}I -MIBGシンチでは、DLB群でAD群と比較して有意にH/M比の低下、wash out rate (WR)の高値を認めた。DLBではCSF- α シヌクレイン濃度と罹病期間が相関したことから脳内の α シヌクレイン沈着を反映してCSF- α シヌクレイン濃度が低下する可能性が示唆されたが、CSF- α シヌクレイン測定はDLBとADの鑑別に有用とはいえなかった。一方、CSF tau、CSF ptau濃度はDLB、AD間で有意差を認めたがオーバーラップが大きく、DLB、ADの鑑別には ^{123}I -MIBGシンチがもっとも有用と考えられた。

A. 研究目的

レビー小体型認知症 (DLB) は病理学的に α シヌクレインを主成分とするレビー小体が広範にみられる疾患である。われわれは、DLB、アルツハイマー病 (AD) 患者脳脊髄液 (CSF) 中の α シヌクレインをアミロイド β_{1-42} ($A\beta_{42}$)、総タウ蛋白 (tau)、リン酸化タウ蛋白 (ptau) と共に測定し、DLB、ADの鑑別における有用性について検討した。

B. 研究方法

DLB 16名、AD 21名についてCSF- α シヌクレイン、 $A\beta_{42}$ 、tau、ptau濃度を測定した。また、演者らがDLB、ADの鑑別における有用性を報告している ^{123}I -MIBGシンチを施行し (Yoshita M et al. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2001; Yoshita M et al. Neurology 2006)、心臓交感神経節後線維を評価した。

(倫理面への配慮)

DLB患者およびAD患者のCSF採取等の検査は本人、または家族から十分なインフォームドコンセントを書式にて得てから行われた。

C. 研究結果

CSF- α シヌクレイン濃度はDLB群とAD群で差を認めなかった。しかし、DLB群のCSF- α シヌクレイン濃度は罹病期間と有意に相関し、罹病期間が長くなるにつれてCSF- α シヌクレイン濃度の低下を認めた。CSF $A\beta_{42}$ 濃度はDLB群とAD群間で差がなかった。CSF tau、CSF ptau濃度はDLB群に比べAD群で有意に上昇していた。CSF- α シヌクレイン濃度はCSF $A\beta_{42}$ 、CSF tau、CSF ptau値いずれとも相関を認めなかった。 ^{123}I -MIBGシンチでは、DLB群でAD群と比較して有意にH/M比の低下、wash out rate (WR)の高値を認めた。H/M比およびWRとCSF- α シヌクレイン値に有意な相関は認めなかった。

D. 考察

当初われわれは、DLB では α シヌクレインの沈着を反映し AD に比して CSF- α シヌクレイン濃度が低下することを予想していたが、DLB 群と AD 群間で CSF- α シヌクレイン濃度に差はなかった。一方、Mollenhauer らは α シヌクレイノパチー[DLB とパーキンソン病(PD)]群で AD 群と比較し CSF- α シヌクレイン濃度が低下することを報告した (Mollenhauer B, et al. *Exp Neurol* 2008)。ただ、彼らの研究では DLB 群より PD 群でより CSF- α シヌクレイン濃度が低下しており、DLB 群と AD 群の α -シヌクレイン濃度はかなりオーバーラップがみられる。つまり、PD 群の CSF- α シヌクレイン濃度が α シヌクレイノパチー (DLB と PD) で AD よりも有意に CSF- α シヌクレイン値が低下しているという結果に強い影響を及ぼした可能性がある。

われわれの研究で DLB 群と AD 群の CSF- α シヌクレイン濃度に差がなかった理由として、これまでに AD の病理でアミロイド β プラークに α シヌクレインが凝集していること (Wirhth O, et al. *Neuroreport* 2000) や、AD 脳にレビー小体がしばしば認められること (Uchikado H, et al. *J Neuropathol Exp Neurol* 2006) が報告されており、AD の脳における α シヌクレイン凝集が CSF- α シヌクレイン濃度に影響している可能性もある。また、*in vitro* の α シヌクレイン凝集系において、DLB 患者の CSF 同様に、AD 患者の CSF も α シヌクレイン凝集を促進することを著者らは報告している (Ono K, et al. *Exp Neurol* 2007)。さらに、CSF- α シヌクレイン濃度は、死後採取した CSF では著明高値をとり (El-Agnaf OM, et al. *FASEB J* 2006)、CSF- α シヌクレイン濃度は神経細胞障害の程度にも影響をうけると思われた。

E. 結論

DLB では CSF- α シヌクレイン濃度と罹病期間が相関したことより脳内の α シヌクレイン沈着を反映して CSF- α シヌクレイン濃度が低下する可能性が示唆されたが、CSF- α シヌクレイン測定は DLB と AD の鑑別に有用とはいえない。一方、CSF tau、CSF ptau 濃度は DLB、AD 間で有意差を認めたが、オーバーラップが大きく診断上の意義は限定的である。DLB、AD の鑑別における 123 I-MIBG

シンチの有用性を再確認した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Chen WP, Samuraki M, Yanase D, Shima K, Takeda N, Ono K, Yoshita M, Nishimura S, Yamada M, Matsunari I: Effect of sample size for normal database on diagnostic performance of brain FDG PET for the detection of Alzheimer's disease using automated image analysis. *Nucl Med Commun* 29:270-276, 2008.
- 2) Matsumoto Y, Yanase D, Noguchi-Shinohara M, Ono K, Yoshita M, Yamada M: Cerebrospinal fluid/serum IgG index is correlated with medial temporal lobe atrophy in Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 25:144-147, 2008.
- 3) Kato-Motozaki Y, Ono K, Shima K, Morinaga A, Machiya T, Nozaki I, Shibata-Hamaguchi A, Furukawa Y, Yanase D, Ishida C, Sakajiri K, Yamada M: Epidemiology of familial amyloid polyneuropathy in Japan: Identification of a novel endemic focus. *J Neurol Sci* 270:133-140, 2008.
- 4) Noguchi-Shinohara M, Tokuda T, Yoshita M, Kasai T, Ono K, Nakagawa M, El-Agnaf OMA, Yamada M: CSF α -synuclein levels in dementia with Lewy bodies and Alzheimer's disease. *Brain Res* 1251:1-6, 2009.
- 5) Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nozaki I, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M: Medical procedures and risk for sporadic Creutzfeldt-Jakob disease, Japan, 1999-2008. *Emerg Infect Dis* 15:265-271, 2009.
- 6) Yamada M, Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, Nozaki I, Kitamoto T, Sato T, Nakamura Y, Mizusawa H: Dura mater graft-associated Creutzfeldt-Jakob disease in Japan: Clinicopathological and molecular characterization of the two distinct subtypes. *Neuropathology*, in press.
- 7) 篠原もえ子, 小野賢二郎, 山田正仁: アルツハイマー病: 脳脊髄液検査 ($A\beta$ 、タウ以外). *日本臨床* 66 Suppl 1:237-240, 2008.

- 8) 野崎一朗, 山田正仁: アルツハイマー病: 鑑別診断. *Current Therapy* 26:308-312, 2008.
- 9) 浜口毅, 山田正仁: アミロイドーシス. *総合臨床 (増刊: 処方計画法)* 57:1238-1241, 2008.
- 10) 浜口毅, 山田正仁: アルツハイマー病にみる遺伝子異常. *診断と治療* 96:2265-2268, 2008.
- 11) 浜口毅, 山田正仁: 脳卒中と遺伝子: アミロイドアンギオパチー. *Brain&Nerve* 60:1275-1283, 2008.
- 12) 森永章義, 篠原もえ子, 山田正仁: 軽度認知障害. *神経内科* 68 Suppl 5:103-108, 2008.
- 13) 森永章義, 山田正仁: かかりつけ医が認知症を診るとき: 認知症の治療と今後の展望. *日本医事新報* 4410:69-73, 2008.
- 14) 山田正仁: 認知症早期診断の課題を再考する. *老年精神医学* 19:82-86, 2008.
- 15) 柳瀬大亮, 山田正仁: アルツハイマー病の危険因子としての common diseases. *Geriat Med* 47:59-63, 2009.
- 16) 吉田光宏, 山田正仁: レビー小体型認知症: 5. 臨床症状と経過, 6. 検査所見, 7. 診断, 8. 治療. *日本認知症学会 (編) 認知症テキストブック*. 268-281, 284-289, 2008.
- 17) 山田正仁: その他の認知症を主症状とするタウオパチー. *日本認知症学会 (編) 認知症テキストブック* 326-333, 337-338, 2008.
2. 学会発表
- 1) Samuraki M, Matsunari I, Chen WP, Yajima K, Yanase D, Fujikawa A, Takeda N, Nishimura S, Matsuda H, Yamada M: Prevalence of reduced glucose metabolism or gray-matter concentration in healthy Apo E ε 4 carriers: The Ishikawa Brain Imaging Study. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Munich, 10.11-15, 2008.
- 2) Shima K, Matsunari I, Samuraki M, Chen WP, Yanase D, Takeda N, Yoshita M, Nishimura S, Matsuda H, Yamada M: FDG PET in Relation to Atrophic Pattern Using Voxel-Based Morphometry in Patients with Alzheimer's Disease: The Ishikawa Brain Imaging Study. Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine, Munich, 10.11-15, 2008.
- 3) Shima K, Matsunari I, Samuraki M, Shinohara M, Chen WP, Yanase D, Ono K, Yoshita M, Yamada M: FDG PET in Relation to Atrophic Pattern Using Voxel-Based Morphometry in Patients with Alzheimer's Disease. International Symposium on Innovative Brain Science for Development, Learning, Memory and Autism, Kanazawa, 7.17-19, 8.8, 2008.
- 4) Hamaguchi T, Noguchi-Shinohara M, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Yamada M: Medical procedures and sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: analyses with the Japanese CJD surveillance. PRION 2008, Madrid, 10.8-10, 2008.
- 5) 石田千穂, 山口和由, 島啓介, 池田篤平, 高橋和也, 坂尻顕一, 新田永俊, 川島篤弘, 駒井清暢, 山田正仁: 前頭側頭型認知症を伴う運動ニューロン疾患におけるユビキチン, TDP-43による免疫組織学的検討. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 6) 池田芳久, 吉田光宏, 能登大介, 山田正仁: 認知障害を主症状としiNPH様MRI所見を呈した症例におけるタッグテストの検討. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 7) 坂井健二, 小嶋由希子, 石田千穂, 浜口毅, 浅賀知也, 野崎一朗, 土屋彩子, 矢崎正英, 沖野惣一, 山田正仁: アミロイド沈着を認めたrimmed vacuole陽性ミオパチーの臨床病理学的検討. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 8) 島啓介, 佐村木美晴, 柳瀬大亮, 駒井清暢, 松成一朗, 吉田光宏, 小野賢二郎, 山田正仁: アルツハイマー病におけるFDG-PET後部帯状回・頭頂側頭葉代謝低下とMRI海馬萎縮の検討. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 9) 能登大介, 吉田光宏, 高橋和也, 山田正仁: PSP、CBD、PDにおける¹²³I-MIBG心筋シンチおよびMRIの診断的価値. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-18, 2008.
- 10) 吉田光宏, Fletcher E, Mungas DM, Reed BR, DeCarli C, 山田正仁: 正常認知機能高齢者の拡散テンソル画像による脳MRIの検討: 大脳白質高信号との関連. 第49回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-18, 2008.
- 11) 山田正仁, 吉田光宏, 篠原もえ子: Alzheimer病 (AD) とLewy小体型認知症 (DLB) の画像診

断.第2回Movement Disorder Society Japan学術集会,
京都, 10.2-4, 2008.

12) 山田正仁: Overview: 科学的根拠に基づくMCI
段階でのAD早期診断をめざして. 第27回日本認
知症学会学術集会, 群馬, 10.10-12, 2008.

13) 山田正仁: 認知症の診断ツール(神経心理以外
の検査). 第27回日本認知症学会学術集会, 群馬,
10.10-12, 2008.

14) 吉田光宏, 山田正仁: レビー小体型認知症にお
ける¹²³I-MIBG心筋シンチグラフィ. 第13回日本
神経精神医学会, 金沢, 11.27-28, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図 1 . AD, DLBのCSF- α シヌクレイン濃度

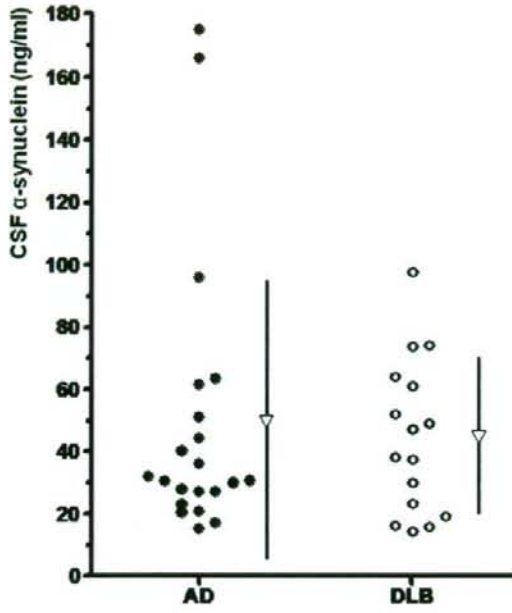


図2. AD, DLB群におけるCSF- α シヌクレイン濃度と罹病期間との相関

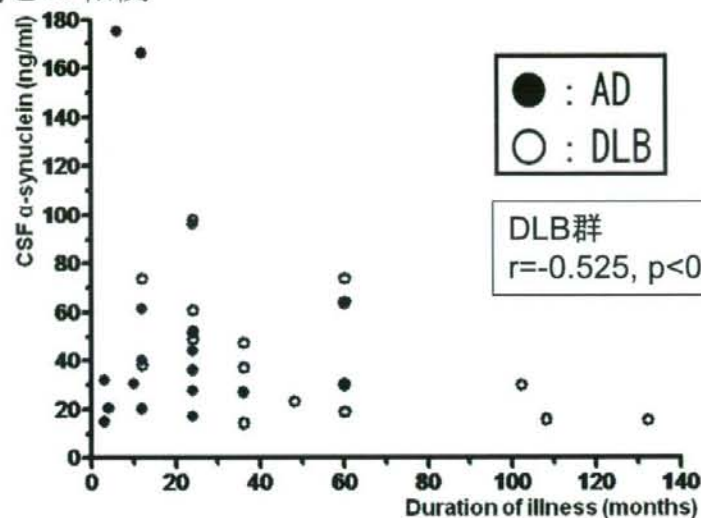
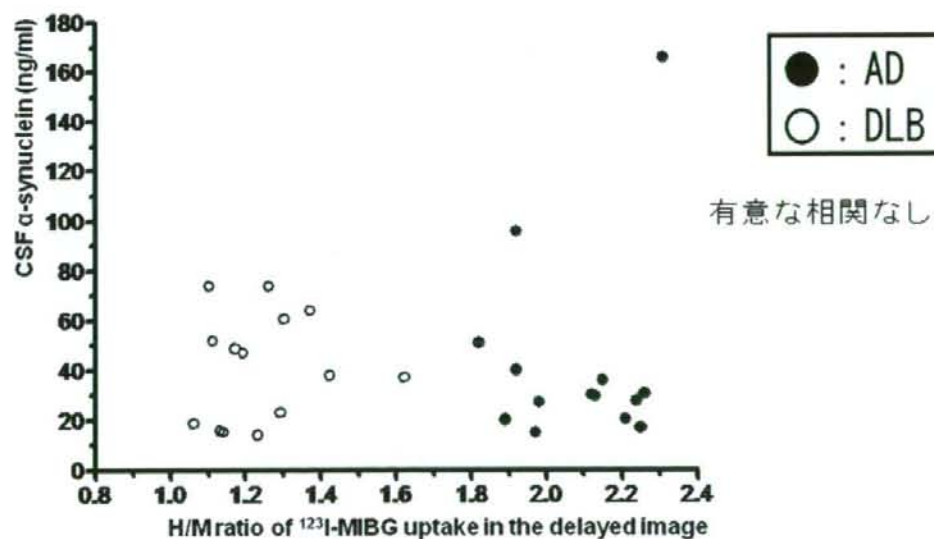


図3. AD, DLBにおける ^{123}I -MIBG心筋シンチH/M比 (delayed) とCSF- α シヌクレイン値の相関



厚生労働科学研究費補助金 (難治性疾患克服研究事業)
 アミロイドーシスに関する調査研究班 分担研究報告書

アンジオテンシン受容体拮抗薬のアミロイドβ産生への影響の比較

研究分担者 水澤英洋 東京医科歯科大学大学院脳神経病態学 (神経内科学)
 共同研究者 三條伸夫、金海峰
 同上

研究要旨 我が国で血圧降下剤として使用されている5種類のアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)のうち3種類のARBと、そのうちの2種類の活性体に関して培養細胞を用いて毒性とβアミロイド(Aβ)産生への影響を調べた。olmesartanとlosartanはmMレベルの高濃度で細胞毒性を認めた。olmesartanはAPPwt細胞における培養液中Aβ40およびAβ42を濃度依存的に減少させ、losartanはAPPwt細胞における培養液中Aβ40を減少させたが、olmesartanとlosartanの活性体は培養液中Aβを変化させなかった。valsartanは2mMの高濃度でAPPswe細胞における培養液中のAβ42とAβ42/40の比を低下させたが、それを培養液に添加した細胞のγセクレターゼ構成各因子の蛋白量には明らかな変化は認められなかった。以上より、ARBはγセクレターゼモジュレーター様の作用を有する可能性があると思われる。

A. 研究目的

近年、血圧降下剤であるアンジオテンシン受容体拮抗薬(ARB)による、アミロイドβ代謝への影響が指摘されているが、そのメカニズムに関しては不明な点が多い。そこで、ARBおよびその活性体の培養細胞におけるアミロイドβ産生への影響、およびその調節メカニズムを解明する。

B. 研究方法

提供を受けることができた valsartan、losartan、losartan 活性体、olmesartan、olmesartan 活性体をそれぞれ適切な濃度で、野生型、あるいはスウェーデン型遺伝子変異を有するアミロイド前駆蛋白(APPwt、および APPswe)を過剰発現している培養細胞の培養液に添加し、一定時間経過した後に培養液を回収し、培養液中のAβの濃度をELISA法にて測定した。また、細胞毒性をLDH定量により評価した。さらに、各々の培養細胞のlysateをwestern blottingで解析し、γセクレターゼ構成因子の量的変化の有無を確認した。

(倫理面への配慮)

養細胞を用いたin vitroの実験のみであり、倫理上特に問題となる実験は行わなかった。また、

感染性のある病原微生物も使用していない。

C. 研究結果

細胞毒性に関しては、losartanとolmesartanでは1000μMの高濃度で培養液中のLDH濃度の有意な上昇を認めた(図1)。valsartanを培養液に添加した実験ではAPPwt細胞では変化が認められなかったが、APPswe細胞では2000μMの高濃度で培養液中のAβ42量とAβ42/40の比が減少していた(図2)。APPwt細胞においてolmesartanではAPPwt細胞において濃度依存的に培養液中のAβ40とAβ42量が減少していたが、APPswe細胞では明らかな変化が認められなかった(図3)。losartanではAPPwt細胞において濃度非依存的に培養液中のAβ40量のみが減少していたが、APPswe細胞では明らかな変化が認められなかった(図4)。losartanとolmesartanの活性体に関しては両者とも、どの細胞でも培養液中のAβに変化が認められなかった。培養液にvalsartanを2000μM添加した細胞におけるAph-1、ニカストリン、プレセニリンの量には明らかな変化が認められなかった。

D. 考察

近年、valsartan投与によるマウス脳内Aβの減

少と認知機能の改善、およびマウス脳細胞の初代培養細胞を用いた実験で $A\beta$ の産生・凝集が減少し、そのメカニズムとしてインシュリン分解酵素 (IDE) の活性亢進による $A\beta$ の分解亢進が報告された (JCI 117, 3393-3402, 2007)。valsartan を用いた我々の実験では同様の現象は確認できなかった。さらに、単なる分解酵素活性の亢進では説明できないこととして、 $A\beta_{42}$ のみが低下するという現象が観察された。現在まで $A\beta_{42}$ のみを分解する酵素は発見されていないため、 $A\beta_{42}$ のみの分解が亢進した可能性は少ないと思われる。一方、 $A\beta$ 産生に関しては γ セクレターゼ・モジュレーター (GSM) の研究で明らかにされているように、内因性、あるいは外因性に $A\beta_{40}$ と $A\beta_{42}$ の産生比率を変化させることが報告されている。すなわち、今回の実験結果は ARB が GSM 作用を有する可能性を示唆しており、そのメカニズムの解明はアルツハイマー病の治療戦略において重要な役割を示す可能性があると思われる。

E. 結論

ARB はその種類によって $A\beta$ 産生培養細胞の GSM 様の作用を介して $A\beta$ 産生に様々な影響を与える可能性があると思われる。そのメカニズムの解明はアルツハイマー病の病理メカニズムの解明、および γ セクレターゼの調節を介したアルツハイマー病の治療戦略において、新たな方向性を示唆する可能性がある。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Misawa T, Kunimasa A, Mizusawa H, Satoh J: Close association of water channel AQP1 with amyloid- β deposition in Alzheimer disease brains. *Acta Neuropathol* 116: 247-260, 2008.
- 2) Kanazawa T, Uchiyama T, Takahashi A, Nakamura A, Orimo S, Mizusawa H: Three-Layered Structure Shared Between Lewy Bodies and Lewy Neurites-Three-Dimensional Reconstruction of Triple-Labeled Sections. *Brain Pathol* 18:415-422, 2008.

3) Nishina K, Unno T, Uno Y, Kubodera T, Kanouchi T, Mizusawa H, Yokota T: Efficient in vivo delivery of siRNA to the liver by Conjugation of α -Tocopherol. *Mol Ther* 16:734-740, 2008.

2. 学会発表

- 1) 大林正人, 入岡 隆, 三條伸夫, 水澤英洋: 遺伝性プリオン病(V180I 変異)における脳 MRI 画像の経時的変化. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.5-17, 2008.
- 2) 三條伸夫, 高橋勝義, 金海峰, 渡邊睦房, 水澤英洋: 酸化ストレス下におけるリン酸化酵素活性を介したタウ蛋白の異常リン酸化. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 3) 金海峰, 三條伸夫, 渡邊睦房, 内原俊記, 水澤英洋: Tunicamycin による ER ストレスに対する培養細胞内全長型 Presenilin 1 の役割. 第 49 回日本神経学会総会, 横浜, 5.15-17, 2008.
- 4) 三條伸夫, 叶内匡, 水澤英洋, 長堀正和: 内服中止 1 年経過後に症状の改善を認めた metronidazol ニューロパチーの 1 例. 第 26 回日本神経治療学会総会, 横浜, 6.26-27, 2008.
- 5) Sanjo N, Takahashi K, Jim H, Watanabe M, Mizusawa H: Serine422 phosphorylation of tau protein by oxidative stress via c-jun N-terminal kinase (JNK) activation, The 11th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders. Chicago, IL, 7.26-31, 2008.
- 6) 渡邊睦房, 三條伸夫, 金海峰, 水澤英洋, 荒木亘: 酸化ストレス下における内因性キナーゼによるタウ蛋白リン酸化の検討. 第 27 回日本認知症学会総会, 前橋, 10.11, 2008.
- 7) 三條伸夫, 金海峰, 渡邊睦房, 水澤英洋: ヒト由来培養細胞における Valsartan による β アミロイド産生動態の検討. 第 27 回日本認知症学会総会, 前橋, 10.11, 2008.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

図 1. 各 ARB の細胞毒性

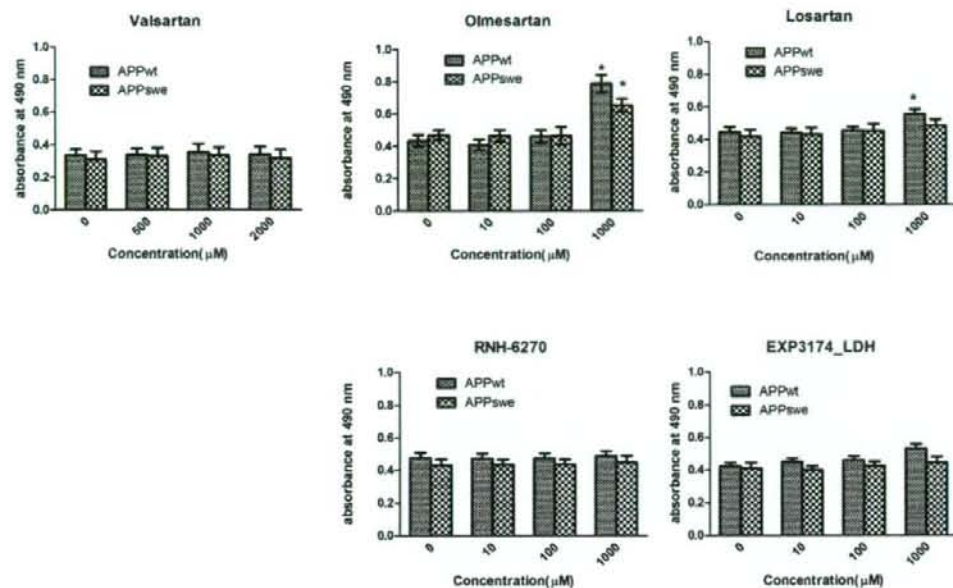


図 2. valsartan の培養液中 AB への影響

