

200935047A

厚生労働科学研究費補助金

こころの健康科学研究事業

筋萎縮性側索硬化症・認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症・

ユビキチン化封入体を伴う

前頭側頭型認知症死後脳脊髄資源の構築

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村山繁雄

平成22(2010)年3月

目次

I. 総括研究報告書

- 筋萎縮性側索硬化症・認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症・ユビキチン化封入体を伴う前頭側頭型認知症死後脳脊髄資源の構築…………… 5
村山繁雄 東京都健康長寿医療センター研究所 高齢者ブレインバンク

II. 分担研究報告書

1. 国立精神・神経センター病院でのとりくみ…………… 19
齊藤祐子¹⁾、千原典夫²⁾、大矢寧²⁾、国仲伸男¹⁾、村田美穂²⁾、有馬邦正³⁾、長谷川成人⁴⁾、村山繁雄⁵⁾
国立精神・神経センター病院 ¹⁾臨床検査部、²⁾同神経内科、³⁾同精神科、⁴⁾東京都精神医学総合研究所 分子神経生物学研究チーム、⁵⁾東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク
2. 変性疾患脳における TDP-43 病変の出現と病型分類…………… 23
秋山治彦、新井哲明、小林禅、長谷川成人
東京都精神医学総合研究所
3. 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 剖検症例の横隔神経有髄線維変化に関する検討…………… 28
清水潤、辻省次
東京大学大学院医学系研究科神経内科
4. 紀伊 ALS/PDC・update: TDP-43 を中心に…………… 30
小久保康昌¹⁾、遠藤真由美²⁾、森本悟²⁾、新井哲明²⁾、秋山治彦³⁾、長谷川成人⁴⁾、葛原茂樹⁵⁾、村山繁雄⁶⁾
¹⁾ 三重大学医学部神経内科、²⁾ 三重大学医学部、³⁾ 東京都精神医学総合研究所 老年期精神疾患、⁴⁾ 東京都精神医学総合研究所 分子神経生物学研究チーム、⁵⁾ 国立精神・神経センター病院、⁶⁾ 東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク
5. SIENA による経時的脳萎縮の検討…………… 33
小尾智一¹⁾ 寺田達弘²⁾
¹⁾ 静岡てんかん・神経医療センター 神経内科、²⁾ 浜松医科大学 第一内科

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表…………… 39

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷…………… 45

I. 総括研究報告書

筋萎縮性側索硬化症・認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症・ユビキチン化封入体を
伴う前頭側頭型認知症死後脳脊髄資源の構築 総括研究報告書

平成 21 年度総括

研究代表者：村山繁雄
東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク

抗リン酸化 TDP43 抗体 (pSer409/410) でスクリーニングした脳 103 例、脊髄 149 例を新たに蓄積し、うち 2 例は原発性 TDP43 蓄積症だが、臨床診断はアルツハイマー病 (AD) であった。

FUS/ TLS が新たに家族性 ALS の責任遺伝子であることが見出されたことより、孤発性 ALS160 例、家族性 ALS 31 家系、FUS/ TLS 変異をそれぞれ 2 例 (1.3%)、2 例 (6.4%)、TDP43 変異を 1 例 (0.6%)、1 例 (3.2%)、SOD1 変異を 2 例 (1.3%)、13 例 (41.9%) に見出した。FUS/ TLS R244C 変異を有する孤発性 ALS 剖検例は、淡蒼球・視床下核・黒質変性を伴う多系統変性型であった。

新たに抗 FUS/ TLS 抗体で ALS 25 例をスクリーニングしたが、juvenile ALS with basophilic inclusion (BI) に陽性所見を見いだしたのみだった。この症例の BI はやはり多系統分布を示した。

FTLD-U 12 剖検例中 7 例は FTLD- TDP43 に分類された。しかし FTLD-U non TDP43 5 例を抗 FUS/ TLS 抗体でスクリーニングしたが、1 例にわずかな陽性所見を見出すのみで、欧米の既報告とは解離があった。

これらのリソースをデータベース化し、研究資源としての構築を継続した。

研究分担者

秋山治彦：東京都精神医学総合研究所・参事研究員

清水 潤：東京大学大学院医学系研究科神経内科・講師

齊藤祐子：国立精神神経センター病院臨床検査部・病理生化学室長

研究協力者

小久保康昌：三重大学神経内科講師

小尾智一：独立行政法人国立病院機構 (以下 NHO)

静岡てんかん・神経医療センター・神経内科医長

今福一郎：横浜労災病院・神経内科・部長

福武敏夫：亀田総合病院・神経内科・部長

栗崎博：NHO 東京病院・神経内科・医長

本吉慶史：NHO 下志津病院・神経内科・医長

竹内壮介：国立国際医療センター・神経内科・医長

高橋祐二：東京大学大学院医学系研究科神経内科・助教

金丸和富：センター・神経内科・部長

加藤貴行：センター・リハビリテーション科 医長

小宮正、仁科裕史：センター神経内科 医長

椎名盟子、砂川昌子、広吉祐子、倉重毅志、江口桂：同医員

初田弘幸：センター・剖検病理科・医員

足立正：センター研究所・研究員

舟辺さやか、杉山美紀子：センター研究所・非常勤研究員

A. 研究目的

ALS/ ALSD/ FTLDU は、共通 ubiquitin 化蛋白としての TDP43、次いで FUS/ TLS の同定により、生化学的共通項を持つ同一疾患のスペクトラムでとらえることが現実的となった。しかし、ALS/ ALSD は神経内科、ALSD/ FTLDU は精神科で臨床的に扱われる傾向が世界的で、全体像の解明は遅れている。本疾患の死後脳研究資源も、運動ニューロン疾患バンクと、前頭側頭型認知症バンクに分裂しており、臨床・画像・病理での統合的アプローチが困難である。高齢者ブレインバンク (BBAR) は、老化に伴う運動・認知機能障害の克服に総合的に取り組むプロジェクトであり、神経内科・精神科を含めた協力体制のもと、本疾患に取り組んできた伝統を持つ。これを基盤として、ALS/ ALSD を多数蓄積してきた東京大学大学院医学系研究

科神経内科及び、BBAR が最終神経病理診断を引き受けてきた総合病院の剖検例、及び、FTLDU を多数蓄積してきた東京都精神医学総合研究所、国立精神神経センター病院が協力することで、本疾患の全体像を解明することが本研究の第一の目的である。

特に、本疾患と primary lateral sclerosis (PLS)、spinal muscular atrophy (SPMA) との関係は、大きな問題となっている。また、FTLDU は窒息による突然死をおこすことが知られている点は ALS 病変の関与が考えられるが、適切な臨床診断法の樹立による疾患概念の変更が、本疾患の生命予後改善に必須である。

また、ALS 罹患者は、疾患の克服のための献体の意識が一般的に高く、剖検率も極めて高いのが特徴であるのに、本邦で死後脳・脊髄バンクの構築が遅れているのは単に体制の問題である。本研究において、施設に個別に蓄積されている凍結組織の内容をデータベース化する援助をし、共同研究希望者の依頼を、班員並びに協力研究施設に伝達し、共同研究として協力可能であれば、直接施設情報のみを共同研究希望者に伝えるという、リサーチリソースネットワークと同じシステムを構築することで、研究基盤の構築を図る。

B. 研究方法

1. ALS/ ALSD/ FTLDU 診断基準の作成

1.1. TDP43, FUS/ TLS proteinopathy の抽出

ALS/ ALSD/ FTLDU 病理診断例以外に、PLS、SPM、Pick 球を伴わない Pick 病等の診断例を各施設より抽出、中心前回・歯状回を含む海馬・舌下神経核を含む延髄のパラフィンブロックより 6mm 厚切片を作成、抗リン酸化・非リン酸化 TDP43 抗体、抗 FUS/ TLS 抗体と、抗 ubiquitin 抗体免疫染色でスクリーニングし、TDP43 proteinopathy に属する症例を抽出する。

1.2. 臨床・画像情報の抽出

抽出症例の臨床・画像所見より、以下の点を重点的に検討する：上位・下位運動ニューロン徴候、球麻痺、呼吸筋麻痺、認知機能、大脳巣症状の有無と特徴、特徴的精神症状の有無、神経生理検査結果、形態画像における萎縮部位の決定、機能画像における機能低下部位の同定。

1.3. 臨床診断基準の提唱

以上の検討を踏まえ、それぞれの表現型について、共通項と特異項を明らかにし、診断基準を作成する。

1.4. 病理診断基準の作成

抗 TDP43、FUS/ TLS 抗体免疫染色は通常細胞核が陽性となるが、ALS/ ALSD/ FTLDU では神経・細胞体内、TDP43 は神経核内にもネコの目様に限局し陽性所見を呈する。しかし TDP43 の場合、

Alzheimer 病 (AD)、Lewy 小体病 (LBD)、Corticobasal degeneration (CBD) 等他疾患でも陽性となり、FUS/ TLS の場合、basophilic inclusion body disease, intermediate filament accumulation disease でも陽性となる。TDP43、FUS/ TLS proteinopathy について、抗リン酸化タウ (AT8)、リン酸化シヌクレイン (psyn #64)、Aβ (11-28, IBL)、ubiquitin 抗体免疫染色を含め、共通する神経病理所見を抽出し、病理診断基準の作成を目指す。

2. ALS/ ALSD/ FTLDU 死後脳・脊髄リソースの構築

2.1. 凍結リソースの前方視的構築

横隔膜・横隔神経の凍結標本を作成する。脊髄に関して、前方視的蓄積例に、頸膨大・腰膨大一髄節ずつ凍結するかたちで、資源を構築する。また大脳は、施行可能な施設（東京都老人医療センター・東京大学医学部附属病院・松沢病院）では、高齢者ブレインバンク (BBAR) プロトコールに従い、半脳凍結半脳固定の方式を続ける。協力研究施設は、右半球前頭極を極力凍結する。

2.2. 凍結リソースの後方視的構築

既に後方視的に蓄積されている症例群については、死後より採取までの時間、採取部位、凍結方法、保存方法の情報を含む、統一したフォーマットのファイルメーカーデータベースを供給することで、蓄積資源について、希望に応じ必要症例を抽出可能な体制を構築する。ALS/ ALSD の場合、筋生検の既往と凍結筋の有無をチェックする。

2.3. 表現型を規定するゲノム背景の解明

高齢者ブレインバンク例、さらに分担班員施設例で、倫理委員会の承認が得られた検体について、東大神経内科で開発された、神経変性疾患スクリーニングチップ、認知症疾患スクリーニングチップで網羅的に検討し、ALS/ ALSD/ FTLDU の表現型を規定するゲノム背景を明らかにする。

2.4. リサーチリソースネットワークの構築

共同研究希望者に関して、希望組織の情報をあらかじめ班参加分担班員・協力研究者に e-mail で伝達し、対応可能組織と希望者が直接交渉できるよう仲介を行う (図 1)。

(倫理面への配慮)

剖検例に対し、新しい方法論で診断を再検討する行為は、倫理的に問題ない。また、それらを総合化することで、診断基準を提唱する試みも、剖検承諾書の範囲内である。凍結材料を施設内でデータベース化する援助をする点も問題はない。それらを用いゲノム研究を施行するにあたっては、ヒトゲノム・遺伝子に関する倫理指針に従い行う必要があり、それぞれの施設において、倫理

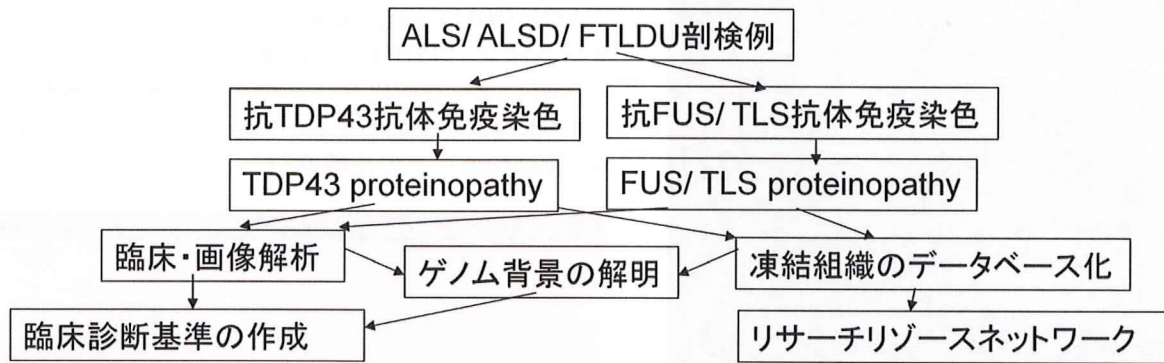


図1. 研究構築のパラダイム

委員会の承認を必要とする。高齢者ブレインバンク、東京大学大学院医学系研究科神経内科では、この倫理指針に従っての共同研究に関し、東京都健康長寿医療センター研究所、東京大学医学部附属病院倫理委員会の承認を既に得ている。

C. 研究結果

1. 凍結脊髄資源の構築

現在までに高齢者ブレインバンク登録同意の元、組織学的検索が済んだのは103例の半脳と脊髄である。また非開頭剖検例に関しては、全身組織バンク同意の下脊髄の採取を行い、41例の脊髄の凍結と組織学的検索を完了した。

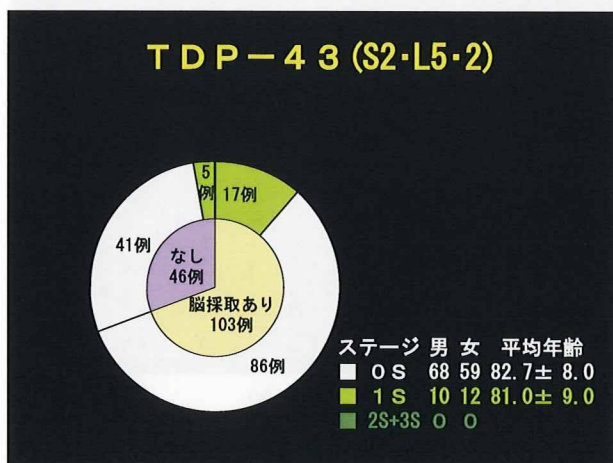


図2. 脊髄資源の構築

開頭剖検例については高齢者ブレインバンクプロトコル (www.mci.gr.jp/BrainBank/) に従い、老化性変化の網羅的検索を行った。非開頭剖検脊髄については腰髄でTDP43蓄積の有無をチェックした。抗リン酸化TDP43 (pTDP43) 409/410単クローン抗体で、前方海馬・延髄・腰髄の全例スクリーニングを継続した。細胞突起かグリア内に陽性 (ステージ1)、少数の神経細胞体内に陽性 (ステージ2)、多数の神経細胞体内に陽性 (ステ

ージ3)、ニューロピルがび慢性に陽性 (ステージ4) に分類した。

2. 凍結半脳資源の構築

これまでに、ステージ2以上のTDP43陽性所見を呈した高齢者ブレインバンク例は、9例で、原発性TDP43例が1例、続発性が8例であった。

TDP-43ステージ2以上の症例

症例	年齢/性	神経病理診断	老年性変化				p-TDP-43 ステージ	脊髄ステージ	
			NFT	SP	LB	AG		p-tau	p-syn
1	90/女	AD	V	C	0	I	3T0M0S	1S	0S
2	84/男	DLB	II	A	IV	I	3T2M0S	1S	3S
3	96/女	FTLD-TDP43	II	0	I	II	3T2M0S	0S	0S
4	86/女	DNTC	VI	C	V	I	3T2M0S	2S	3S
5	85/男	AD	IV	C	0	II	2T1M0S	1S	0S
6	104/女	DLB/AD	IV	C	V	II	3T1M0S	1S	1S
7	87/女	DG/AD	IV	B	0	III	3T1M0S	2S	0S
8	85/女	DLB/AD	IV	C	V	I	2T1M0S	2S	2S
9	85/男	DG/AD	IV	B	0	III	2T1M1S	2S	0S

AD:アルツハイマー病, VD:血管障害性認知症, DLB:レビー小体型認知症, DG:嗜銀顆粒性認知症
NFT: Braak NFT stage, SP: Braak amyloid stage, LB: BBAR Lewy body stage, AG: BBAR argyrophilic grain stage

表1. TDP43蛋白蓄積症

3. ALS/ALSD/FTL DU リサーチリソースネットワークの構築

東大神経内科、国立精神神経センター、静岡てんかん神経医療センター、亀田総合病院で今年度もALS/ALSD資源が得られた。

4. 遺伝子診断リソース

東大神経内科、遺伝子同意取得献体について、ALS 関連遺伝子検索を行った。孤発性 ALS160 例、家族性 ALS 31 家系、FUS/ TLS 変異をそれぞれ 2 例 (1.3%)、2 例 (6.4%)、TDP43 変異を 1 例 (0.6%)、1 例 (3.2%)、SOD1 変異を 2 例 (1.3%)、13 例 (41.9%) に見出した。

FUS/ TLS R244C 変異を有する弧発性 ALS 剖検例は、淡蒼球・視床下核・黒質変性を伴う多系統変性型であった。

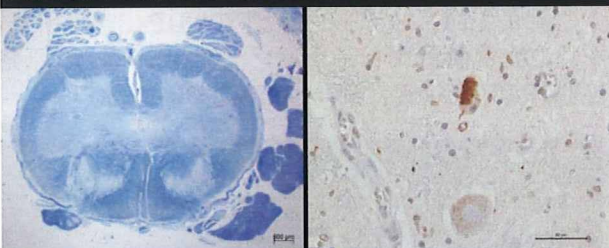
神経病理学的検討結果

ALS/ ALSD/ FTLTDP43	全 (FTLD) mutation	
東京都健康長寿医療センター	22例 (2)	0/22
国立精神神経センター	10例 (7)	
横浜労災病院	20例	
亀田総合病院	3例	
東京病院	1例	
静岡てんかん神経医療センター	1例	
ALS/ FTLTDP43- FUS/ TLS		
東大附属病院 R512C変異	1例	1/ 1
東京都健康長寿医療センター	1例 (1)	
横浜労災病院	1例	
ALS- SOD1		
亀田総合病院	1例	1/ 1

表2. 神経病理学的診断完了例

FUS/ TLS R512C Mutation

遺伝歴のない死亡時41歳男性、約1年2ヶ月の経過で進行した上肢、近位優位の筋力低下・筋萎縮、呼吸・嚥下障害。神経学的所見上、運動系以外の所見を認めなかった。



神経病理所見：上位・下位運動ニューロンに加え、淡蒼球内節、視床下核、黒質病変を伴い、Bunina小体を欠いていた。Basophilic inclusionは典型的なものは認めなかった。

図3. FUS/ TLS R512C 変異

4. FTLTDP43 に関する検討

さらに、国立精神神経センターTDP43 陰性 FTLTDP43 例と、高齢者ブレインバンク TDP43 陰性 FTLTDP43 1例を抗 FUS/ TLS 抗体で検索したが、後者のごく一部に陽性所見を認めるのみであり、TDP43 陰性 FTLTDP43 は全て FUS/ TLS 陽性であるという欧米の見解を支持する所見は得られなかった。

FTLTDP43- FUS/ TLS

死亡時73歳女性、66歳 構音障害で初発。68歳時嚥下障害、70歳時パーキンソン症状、71歳、意志疎通不可、寝たきり、両上下肢拘縮、腱反射亢進、両側Babinski 反射、73歳：頻回の肺炎の未死亡

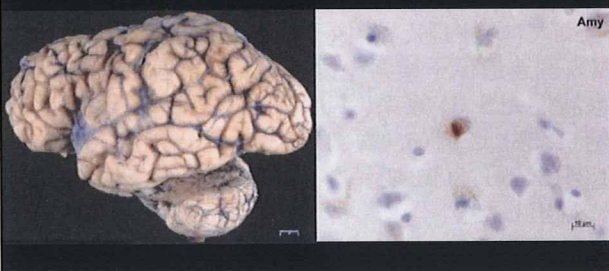


図4. FTLTDP43- FUS/ TLS

5. 複合型 TDP43 蛋白蓄積症

ALS/ PDC Complex Kii と、同様にタウ、 α シヌクレイン、TDP43 の蓄積を認めることが新たに判明した、石灰化を伴うびまん性神経原線維変化症 (DNTC: diffuse neurofibrillary tangle with calcification) との比較を行った。

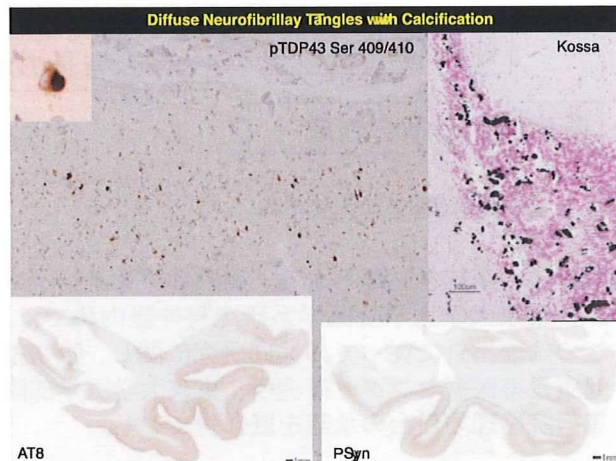


図5. DNTC の重複リン酸化蛋白沈着

ALS/ PDC と DNTC の本質的差異は、脊髓前角細胞に、TDP43 蓄積が起きるか否かであることが、明らかとなった。

Combined TDP43 proteinopathy

年齢/性	神経病理診断	老年性変化				p-TDP-43 ステージ	脊髓ステージ	
		NFT	SP	LB	AG		p-tau	p-syn
82/女	DNTC	VI	C	V	0	3T0M0S	1S	2S
81/女	DNTC	VI	A	V	0	3T0M0S	1S	2S
79/女	DNTC	VI	0	V	0	3T0M0S	1S	2S
00-02	PDC	>IV	A	>IV?	0?	3T?M3S	2S	2S
01-01	ALS/PDC	>IV	A	>IV?	0?3	3T?M3S	2S	2S
04-03	ALS/PDC	>IV	A	>IV?	0?	3T?M3S	2S	?
05-03	ALS/PDC	>IV	0?	>I	0?	3T?M3S	2S	2S
98-01	ALS/PDC	>IV	A	?	0?	3T?M3S	2S	?
99-01	ALS/PDC	>IV	?	?	0?	3T?M3S	2S	?

表3. ALS/ PDC と DNTC の比較

D. 考察

TDP43 に加え、FUS/ TLS が、ともに RNA 関連蛋白であり、ALS/ ALSD/ FTLTDP43 をブリッジする因子として分離されたことを受け、研究自体を拡大することが必要となった。

リサーチリソースとして、コントロール脳、コントロール脊髄凍結資源は十分量蓄積ができたが、ALS/ ALSD/ FTLTDP43 半脳・脊髄凍結資源が十分量蓄積が、できない。これは、班員施設を除き、人員並びに倫理委員会の承認の二点で、凍結資源が十分得られないこと、最近の在宅医療導入により、都市部の神経内科で、ALS/ ALSD/ FTLTDP43

の剖検が得にくいことの両者が原因となっている。

今年度は最終年度としてさらに改善を加えて行く予定である。

また、2010.4.29、Nature 誌に、広島・徳島・京都・東北大学神経内科の共同研究として、OPTN が、遺伝性 ALS の原因として分離された。OPTN は、TDP43、FUS/ TLS、SOD1 の全ての下流に属する final common pathway であることが示唆されており、この資源を用い、明らかにしていく予定である。

E. 結論

ALS/ ALS/D/ FTLDU の脳脊髄資源の構築を目指す、TDP43 proteinopathy に加え、FUS/ TLS 蓄積症も標的とすることになり、今年度一定の業績を上げることが出来た。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文原著

1. Fukuda M, Kanou F, Shimada N, Sawabe M, Saito Y, Murayama S, Hashimoto M, Maruyama N, Ishigami A: Elevated levels of 4-hydroxynonenal-histidine Michael adduct in the hippocampi of patients with Alzheimer's disease. *Biomed Res* 2009; 30: 227-233
2. Tokumaru A, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Sakiyama Y, Toyoda M, Yamakawa H, Terada H: Imaging-Pathologic Correlation in Corticobasal Degeneration. *Am J Neuroradiol* 2009; 30: 1884-1892
3. Sato N, Amino T, Kobayashi K, Asakawa S, Ishiguro T, Tsunemi T, Takahashi M, Matsuura T, Flanigan KM, Iwasaki S, Ishino F, Saito Y, Murayama S, Yoshida M, Hashizume Y, Takahashi Y, Tsuji S, Shimizu N, Toda T, Ishikawa K, Mizusawa H: Spinocerebellar ataxia type 31 is associated with 'inserted' penta-nucleotide repeats containing (TGGA)n. *Am J Hum Gen* 2009; 85; 5: 544-557
4. Akasaka-Manyu K, Manyu H, Sakurai Y, Wojczyk B, Kozutsumi, Y, Saito Y, Taniguchi N, Murayama S, Spitalnik S, Endo T: Protective effect of N-glycan bisecting GlcNAc residues on amyloid production in Alzheimer's disease. *Glycosilation* 2010; 20: 99-106
5. Ishibashi K, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Oda M, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K:

Validation of cardiac 123I-MIBG scintigraphy in patients with Parkinson's disease who were diagnosed with dopamine PET. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2009. 7. 25 Epub

6. Terada T, Tsuboi Y, Obi T, Doh-ura K, Murayama S, Kitamoto T, Yamada T, Mizoguchi K: Less protease-resistant PrP in a patient with sporadic CJD treated with intraventricular pentosan polysulphate. *Acta Neurol Scand* 2009. 10. 7 Epub

7. Ishibashi K, Kanemaru K, Saito Y, Murayama S, Oda K, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K: Cerebrospinal fluid metabolite and nigrostriatal dopaminergic function in Parkinson's disease. *Acta Neurol Scand* (in press)

8. Shishido T, Ikemura M, Obi T, Yamazaki K, Terada T, Sugiura A, Saito Y, Murayama S, Mizoguchi K: α -Synuclein accumulation in skin nerve fibers revealed by skin biopsy in pure autonomic failure. *Neurology* (in press)

9. Kobayashi S, Saito Y, Maki T, Murayama S: Cortical propagation of Creutzfeldt-Jakob disease with codon 180 mutation. *Clin Neurol Neurosurg* (in press)

日本語原著

1. 杉原毅彦, 木村直樹, 村山繁雄, 新井富生, 井藤英喜, 稲松孝思, 大田雅嗣, 原田和昌: 顕微鏡的多発性血管炎に対してステロイド療法中、原因不明の発熱が出現し、死亡した1例. *Geriat Med* 2009; 47 (3): 387-396

日本語総説

1. 村山繁雄: リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関)。脳血管障害。 *Journal of Clinical Rehabilitation* 2009; 18: 4-8
2. 村山繁雄、齊藤祐子、徳丸阿耶: リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関)。脳血管障害。 *Journal of Clinical Rehabilitation* 2009; 18: 100
3. 村山繁雄、齊藤祐子、徳丸阿耶: リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関)。頭部外傷。 *Journal of Clinical Rehabilitation* 2009; 18: 192-196
4. 村山繁雄、齊藤祐子、徳丸阿耶: リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関)。アルツハイマー病。 *Journal of Clinical Rehabilitation* 2009; 18: 292-296
5. 齊藤祐子、足立正、村山繁雄: リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関)。パーキンソン病。 2009; 18: 392-396

6. 村山繁雄: MCI を考える。高齢者ブレインバンクプロジェクトの経験から。老年精神医学雑誌 2009; 29: (増刊号 I) 35-40
7. 村山繁雄、齊藤祐子: 大脳白質の機能解剖学。分子脳血管病 2009; 8: 131-136
8. 村山繁雄、齊藤祐子: 異常タンパク蓄積と神経変性、アルツハイマー病を中心に。実験医学 2009; 27: 1356-1360

単行本

日本語書物

村山繁雄監訳: エスクロール基礎神経病理。西村書店、2009

2. 学会発表

英文抄録

1. Adachi T, Saito Y, Hatsuta H, Funabe S, Murayama S: Laterality in argyrophilic grain disease. 2009 Annual Meeting of the American Association for Neuropathologists, 2009. 7. 13, San Antonio, U. S. A, JNEN 2009; 68: 573
2. Murakami K, Horikoshi-Sakuraba Y, Murata N, Noda Y, Masuda Y, Kinoshita N, Murayama S, Shirasawa T, Shimizu T, Irie K: Development of a monoclonal antibody against the toxic conformer of the 42-mer amyloid β protein. 2009 Annual Meeting of the Society for Neuroscience, 2009. 10. 17-21, Chicago, U. S. A.

日本語抄録

1. Murayama S: Neuropathological Technique in Brain Banking. Japanese Society of Neuropathology 2009; 29 suppl: 46
2. 宮川統爾、齊藤祐子、足立正、村山繁雄: 多系統萎縮症における嗅球・扁桃核病変の検討。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
3. 橋本明子、森田茂樹、古和久朋、岩田淳、清水潤、辻省次、福嶋敬宜、深山正久、村山繁雄: 未分化悪性腫瘍を伴い、前角・脳幹を中心とした conglomerate inclusion の多発を認めた 63 歳剖検例。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
4. 栗崎博司、四茂野はるみ、井上里美、板東充秋、村山繁雄: 推定背景病理としての DLB 第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
5. 広吉祐子、仁科裕史、金丸和富、初田裕幸、齊

藤祐子、村山繁雄: 高齢者神経・筋生検における、国際標準処理の有用性の検討。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22

6. 山崎峰雄、森啓、山崎昌子、新井裕至、村山繁雄、片山泰朗: 認知症専門病院における 16 年連続剖検 159 例の病理学的検討。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
7. 舟辺さやか、齊藤祐子、足立正、初田裕幸、高梨雅史、服部信孝、村山繁雄: 腸管神経叢のリン酸化 α -synuclein の沈着の検討(会)。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
8. 初田裕幸、齊藤祐子、佐藤進、福武敏夫、森啓、村山繁雄: 経過 19 年の SOD1 変異を伴う家族性筋萎縮性側索硬化症 74 歳剖検例。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
9. 初田裕幸、齊藤祐子、足立正、舟辺さやか、新井富生、沢辺元司、桑野良二、森啓 and 村山繁雄: アミロイドアンギオパチーの進展ステージ(会)。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
10. 仁科裕史、古田光、徳丸阿耶、金丸和富、石井賢二、村山繁雄: 扁桃核腫大を伴い、認知症が進行する一群の検討。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
11. 石井賢二、石橋賢士、石渡喜一、齊藤祐子、徳丸阿耶、金丸和富、村山繁雄: 前頭側頭型認知症におけるアミロイド蓄積。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
12. 石橋賢士、金丸和富、齊藤祐子、村山繁雄、川崎敬一、織田圭一、石渡喜一、水澤英洋、石井賢二: パーキンソン病での髄液 HVA 濃度と 11C-CFT PET で測定した黒質線条体機能との関連。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
13. 仙石錬平、齊藤祐子、V. J. Paul、村山繁雄: 高齢者ブレインバンクと米国ブレインバンクとの差異。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6

14. 仙石錬平, 齊藤祐子, J. P. Vonsattel, 村山繁雄: ブレインバンクの日米比較。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
15. 足立正, 江口桂, 齊藤祐子, 徳丸阿耶, 石井賢二, 金丸和富, 沢辺元司, 中島健二, 北本哲之, 村山繁雄: 病初期より FDG-PET にて賢明な糖代謝低下を認めた Creutzfeldt-Jakob 病の 1 剖検例。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
16. 足立正, 齊藤祐子, 初田裕幸, 徳丸阿耶, 金丸和富, 石井賢二, 沢辺元司, 中島健二, 村山繁雄: 嗜銀顆粒性疾患(AGD)は、左右差を原則として呈する。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
17. 足立正, 齊藤祐子, 徳丸阿耶, 金丸和富, 石井賢二, 沢辺元司, 中島健二, 村山繁雄: 嗜銀顆粒性疾患の左右差と臨床画像診断(会)。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
18. 村山繁雄, 齊藤祐子, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 沢辺元司: 脊髄バンクの構築。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
19. 村山繁雄, 齊藤祐子, 清水潤, 秋山治彦: 原発性 TDP43 蓄積症死後脳・脊髄資源の構築。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
20. 野崎一朗, 浜口毅, 篠原もえ子, 中村好一, 北本哲之, 水澤英洋, 佐藤猛, 森若文雄, 志賀裕正, 三條伸夫, 黒岩義之, 西澤正典, 武田雅俊, 犬塚貴, 黒田重利, 村井弘之, 村山繁雄, 太組一朗, 調漸, 立石潤, 山田正仁: CJD 患者における髄液中の異常プリオンタンパクの検出。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22
21. 有馬邦正, 久野貞子, 塚本忠, 山村隆, 森秀生, 村山繁雄, 佐藤啓造, 河原直人, 秋口一郎: パーキンソン病ブレインバンク Progress Report 2008。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
22. 齊藤祐子, 宮下哲典, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 桑野良二, 村山繁雄: 高齢者ブレインバンク年次報告。第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会、高松、2009.6.4-6
23. 齊藤祐子, 仙石錬平, 舟辺さやか, 足立正, 初田裕幸, 村山繁雄: レヴィー小体病理における嗅球扁桃核進展経路の提唱(会)。第 50 回日本神経学会総会、仙台、2009.5.20-22

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

国立精神・神経センター病院でのとりくみ

研究分担者 齊藤祐子¹⁾

研究協力者 千原典夫²⁾、大矢寧²⁾、国仲伸男¹⁾、村田美穂²⁾、有馬邦正³⁾、長谷川成人⁴⁾、村山繁雄⁵⁾
国立精神・神経センター病院 1)臨床検査部、2)同神経内科、3)同精神科、4)東京都精神医学総合研究所
分子神経生物学研究チーム、5)東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク

当院剖検 923 例における TDP43 proteinopathy の、抽出・解析・新規症例の当研究班バンクへの登録を行った。検索可能な前頭側頭葉変性症 (FTLD) 15 例中、FTLD-TDP43 7 例 (FTLDU type: 3 例、FTLDU-NMD/ALS type: 3 例、分類困難: 1 例)、FTLD-4 リピートタウオパチー 1 例、Pick 病 4 例、FTLD-non TDP43 2 例で、抗 FUS/TLS 抗体免疫染色は全例で陰性だった。リン酸化 TDP43 による western blot で、新規 ALSD 例で高度の集積をみ、mRNA 量も 1.9 倍で、組織学的にも広範な陽性所見を認めた。

A. 研究目的

TDP43 proteinopathy の脳バンクとしての見直しと、新規症例の登録を報告する。

B. 研究方法

1. 連続剖検 923 例を、前頭側頭葉型認知症 (FTLD) TDP43 proteinopathy (FTLD-TDP43) の観点から整理した。

2. 前方視的に新規症例の解析を行った。

A. 神経病理学的解析: 剖検脳・脊髄の凍結方法、標本作製方法は凍結にプログラミングフリーザーを使用した他は高齢者ブレインバンクプロトコルに従った。一部の症例で抗リン酸化 TDP43 抗体 (mPser409/410) による western blot を施行し、mRNA の発現量も解析した。

(倫理面への配慮: 個々の症例について、剖検承諾時、遺族同意を得ている。)

C. 研究結果

1. 後方視的検討

ユビキチン陽性封入体を伴う FTLD (以下 FTLD-U) は 22 例抽出され、評価可能であった 15 例について免疫組織学的検討を行い、FTLD-TDP43 7 例、unknown 2 例、4 repeat tau 1 例、Pick 病 4 例で、unknown 2 例は抗 FUS/TLS 抗体免疫染色でも陽性所見は得られなかった。

2. 前方視的検討 (1)

今年度新たな TDP43 proteinopathy は、ALS with dementia (ALSD) 57 歳女性、ALS 77 歳男性、ALS 67 歳男性であった。

症例 1 は精神症状が強く、新皮質 (特に前頭側頭葉)・基底核・脳幹などに非リン酸化・リン酸化 TDP43 抗体陽性構造が高度かつ広汎に出現していた。Western blot で TDP43 に非常に強い反応を呈し、ALS のパターンであった。TaqMan アッセイで TDP-43mRNA 発現は control 例の 1.9 倍と高値を呈した。

D. 考察

後方視的検討で、TDP43、FUS/TLS 陰性 FTLD は新しい型である可能性がある。

E. 結論

当施設の剖検例を TDP43 proteinopathy としてとらえなおし、一定の成果を得た。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

村田佳子、齊藤祐子ら。第 94 回神経病理学会関東地方会、2009 年 12 月東京

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

なし

変性疾患脳における TDP-43 病変の出現と病型分類

研究分担者：秋山治彦¹⁾

研究協力者：新井哲明¹⁾、小林禪¹⁾、長谷川成人¹⁾

所 属：¹⁾東京都精神医学総合研究所

研究要旨

ALS-6 と言われていた家族性筋萎縮性側索硬化症(ALS)が FUS 遺伝子変異によること、TDP-43 遺伝子変異が家族性 ALS-10 の原因であることから、家族性および非家族性 ALS の DNA サンプルを集積して変異検索を行い、本邦にもこれら遺伝子変異による発病例があることを見出した。前頭側頭葉変性症(FTLD)-TDP および ALS の死後脳脊髄試料の生化学的解析を行い、その結果に基づいて両疾患の病態を再現する TDP-43 培養細胞モデルを作製するとともに、そのモデルによる創薬スクリーニングが可能であることを示した。TDP-43 異常蓄積の生前診断をめざして脳脊髄液中の異常 TDP-43 を測定する ELISA の開発を進めた。さらに従来、それぞれ ALS-6、塩基性封入体病(BIBD)、中間径神経フィラメント封入体病(NIFID)と診断されていた症例、各 1 例の死後脳脊髄標本において FUS 蛋白質蓄積を確認した。

A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症(ALS)とユビキチン化封入体を伴う前頭側頭型葉変性症(FTLD-U)の死後脳脊髄資源の構築を促進するため、これら疾患の正確な診断と予後予測への貢献や治療薬開発加速を進める。

B. 研究方法

ALS～FTLD-U 群の剖検脳脊髄試料を免疫組織化学的・生化学的手法で解析して、疾患モデル作製を行うと共に、患者 DNA を用いた遺伝子変異検索、異常 TDP-43 選択的 ELISA 開発を進めた。

(倫理面への配慮を含む)

遺伝子解析はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理基準に基づいて実施した。剖検脳脊髄試料の解析も同基準に準じて実施し、すべての研究計画について、東京都精神医学総合研究所における倫理委員会の承認を受けた。

C. 研究結果

本邦では家族性 ALS のうち 10%ほどが TDP-43 変異により、また、やはり 10%ほどが FUS 変異により発病することが明らかになった。

また剖検脳組織標本を検索し得た ALS-6 および、tau 陰性 TDP-43 陰性・ユビキチン陽性 FTLD 疾患群のうち BIBD、NIFID 各 1 例において FUS 蛋白質の細胞質内異常蓄積を認めた。

D. 考察

FTLD-U は FTLD-TDP と FTLD-FUS に収斂し、かつ ALS と共通の病理基盤を有する可能性が高い。診断、治療の両面でこれらの疾患群をひとつのスペクトラムの中で捉えて研究を進めるべきである。

E. 結論

FTLD-FUS をひとつの疾患 entity とするには、剖検脳脊髄を用いた病態解析の継続が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yokota O, Tsuchiya K, Arai T, Yagishita S, Matsubara O, Mochizuki A, Tamaoka A, Kawamura M, Yoshida H, Terada S, Ishizu H, Kuroda S, Akiyama H (2009) Clinicopathological characterization of Pick's disease versus frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin/TDP-43-positive inclusions. *Acta Neuropathol.* 117:429-444
2. Tetsuaki Arai, Masato Hasegawa, Takashi Nonoka, Fuyuki Kametani, Makiko Yamashita, Masato Hosokawa, Kazuhiro Niizato, Kuniaki Tsuchiya, Zen Kobayashi, Kenji Ikeda, Mari Yoshida, Mitsumoto Onaya, Hiroshige Fujishiro and Haruhiko Akiyama (2010) Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS, FTLD and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy. *Neuropathol* doi:10.1111/j.1440-1789.2009.01089.x
3. Mackenzie IR, Neumann M, Bigio EH, Cairns NJ, Alafuzoff I, Kril J, Kovacs GG, Ghetti B, Halliday G, Holm IE, Ince PG, Kamphorst W, Revesz T, Rozemuller AJ, Kumar-Singh S, Akiyama H, Baborie A, Spina S, Dickson DW, Trojanowski JQ, Mann DM (2010) Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update. *Acta Neuropathol* 119:1-4

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

なし

筋萎縮性側索硬化症（ALS）剖検症例の横隔神経有髄線維変化に関する検討

清水 潤、辻 省次
東京大学大学院医学系研究科神経内科

研究要旨

ALS 剖検例の運動神経の有髄線維変化を死後 3 時間以内の ALS 症例は 4 症例の横隔神経を用いて検討した。有髄線維密度は、コントロール 6060/mm² であり、症例では 5240、2470、3790、6960/mm² であった。症例の有髄線維ヒストグラムは、大径ピークが減じ小径ピークが増高する傾向があった。髄鞘厚に比較して軸索径が小さく dark になった大径有髄線維変化が散見され軸索機能不全に対応する所見と考えた。また、無髄線維に伴う小径有髄線維密度の低下が疑われた。

A.研究目的

ALS の運動神経の機能障害に対応する axonopathy（軸索の機能不全）の形態変化を死後変化の少ない症例を用いて検討した。

B.研究方法

ALS 症例末梢神経筋バンク症例の死後 3 時間以内の横隔神経を 4 例[症例 1(PMT2 時間)：70 才男、経過 2 年、呼吸不全 6 ヶ月、症例 2(PMT3 時間)：71 才女、経過 2 年 3 ヶ月、呼吸不全 1 ヶ月、症例 3(PMT2 時間)：72 才女、経過 3 年、呼吸不全 10 ヶ月、症例 4(PMT2 時間)：47 才女、経過 10 年、呼吸不全 5 年。]を用いた。（倫理面への配慮）東京大学の倫理規定を遵守しプライバシーの保護には充分配慮した。

C.研究結果

いずれの症例も大径有髄線維は高度に脱落しており、脱落の程度は神経束内の部位によって異なった。小径有髄線維も無髄線維の割合に比較して低下する部位が観察された。急性軸索変性像の散見と、髄鞘厚に比較して軸索径が小さく dark になった大径有髄線維が散見された。有髄線維ヒストグラムでは、大径ピークが減じ、小径ピークが増高する傾向があり、特に呼吸不全

歴が 10 年の症例 4 では小型有髄線維の密度が増加していた。

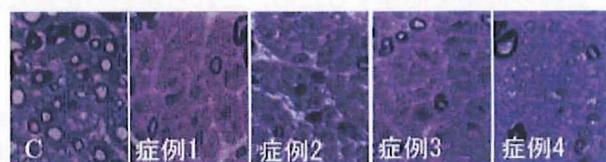


図 1：エポソ包埋トルイジンブルー染色。ALS 症例(症例 1-4)では、小型有髄線維の減少傾向が観察された。

D.考察

横隔神経は、PMT3 時間以内であれば形態検討に適した。ALS の横隔神経の有髄線維変化の特徴は、大径有髄線維優位の脱落であり、軸索径が小さく dark になった大径有髄線維変化は、軸索機能不全に対応する所見と考えた。小型の有髄線維の変化は今後の検討課題である。

E.結論

ALS の軸索機能不全に対応する所見は軸索萎縮を伴う大径有髄線維の脱落である。

F.健康危険情報 特になし

G.研究発表 なし

H.知的所有権の取得状況（なし）

紀伊 ALS/PDC ·update: TDP-43 を中心に-

小久保康昌¹⁾

遠藤真由美²⁾、森本 悟²⁾、新井哲明²⁾、秋山治彦³⁾、長谷川成人⁴⁾、葛原茂樹⁵⁾、村山繁雄⁶⁾

- 1) 三重大学医学部神経内科, 2) 三重大学医学部, 3) 東京都精神医学総合研究所老年期精神疾患, 4) 東京都精神医学総合研究所分子神経生物学研究チーム, 5) 国立精神・神経センター病院, 6) 東京都健康長寿医療センター 老年病理学研究チーム

研究要旨

紀伊 ALS/PDC の中枢神経系におけるリン酸化 TDP-43 の分布と性状について検討した。紀伊 ALS/PDC 症例では、1.リン酸化 TDP-43 は、脊髄にほぼ必発する。2.リン酸化 TDP-43 は、皮質表層（Ⅱ Ⅲ層）に分布。NCI は、round, dot, bud, coiled といった形態をとる。tau との関係は、一部の神経細胞質内に共存するが、大部分は非共存。NCI に比較して GCI の方が広範に分布する。3.リン酸化 TDP-43 出現様式の神経病理学的分類は、NCI>>>DI>NII タイプ 2。ただし、ウエスタンブロットでの結果は、3 型であり、今後、前頭葉白質とともに今後凍結切片での検索が必要。4. リン酸化 TDP-43 は、臨床病型にかかわらず同様に出現していた。

A.研究目的

紀伊 ALS/PDC の中枢神経系におけるリン酸化 TDP-43 の分布と性状について検討する。

B.研究方法

紀伊 ALS 2 例、ALS with dementia 1 例、PDC 4 例。大脳、小脳、脳幹、脊髄のホルマリン固定、パラフィン包埋切片について、TDP-43 の Ser409/410 リン酸化部位を認識する抗体を用いて検討した。また、凍結脳を用いたウエスタンブロット解析を行った。本研究は、三重大学倫理委員会の承認に基づき行った。

C.研究結果、D.考察

紀伊 ALS/PDC 症例では、1.リン酸化 TDP-43 は、脊髄にほぼ必発する。2.リン酸化 TDP-43 は、皮質表層（Ⅱ Ⅲ層）に分布。3.リン酸化 TDP-43 出現様式の神経病理学的分類は、NCI>>>DI>NII タイプ 2。ただし、ウエスタンブロットでの結果は、3 型であり、今後、前頭葉白質とともに今後凍結切片での検索が必要。4. リン酸化 TDP-43 は、臨床病型にかかわらず同様に出現していた。

E.結論

紀伊 ALS/PDC は、tauopathy, α -synucleinopathy, TDP-43 proteinopathy の 3 つの proteinopathy に包含される。

F.健康危険情報 なし

G.研究発表

1.論文発表

Hara K, Kokubo Y, et al. TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. Am J Med Genet Part B. 2009, in press.

2.学会発表

Y, Kokubo, S. Kuzuhara. FDG-PET study in amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan. 20th International Symposium on ALS/MND. Berlin, Germany, 8-10 December.

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

SIENA による経時的脳萎縮の検討

小尾智一¹⁾ 寺田達弘²⁾

1) 静岡てんかん・神経医療センター 神経内科 2) 浜松医科大学 第一内科

研究要旨

SIENA を用いた脳萎縮の進行度評価の有用性を検討した。対象は Alzheimer disease (AD) 27 例 (dementia 15, MCI 12), 脳血管性認知機能障害 (Va) 5 例, 前頭側頭葉型認知機能障害 (FT) 3 例, CDR 0 の正常対照 (NC) 9 例。6 ヶ月以上の間隔で MRI を 2 回撮像し, PBVC per year を計算した。AD 群では髄液 biomarkers も検討した。NC 群と比較して AD では, dementia 群で有意に萎縮進行度が高かった。hTau と pTau は PBVC per year との間に負の相関を認め, MMSE との間には正の相関を認めた。Va では, 治療を拒否した 1 例を除き PBVC per year が平均+2SD 以内であった。FT では 3 例中 2 例が平均+2SD 以上であった。AD の PBVC per year は認知機能, hTau, pTau に相関する。Va では再発の有無が PBVC per year に関連する可能性がある。FT にも PBVC per year が有用と考えた。

A. 研究目的

SIENA (Structural Image Evaluation, using Normalisation, of Atrophy) を用いて, 認知症性疾患の脳萎縮の進行度を計算し, その有用性を検討する。

B. 研究方法

6 ヶ月以上の間隔で MRI を 2 回撮像し, two-time point Percentage Brain Volume Change (PBVC) per year を計算した。MRI 施行時には MMSE も評価した。AD 群では髄液 biomarkers も検討した。対象は Alzheimer disease (AD) 27 例 (dementia 15, MCI 12), 脳血管性認知機能障害 (Va) 5 例, 前頭側頭葉型認知機能障害 (FT) 3 例, CDR 0 の正常対照 (NC) 9 例。AD 群では髄液バイオマーカーの測定も当院倫理委員会の承認を得ておこなった。

C. 研究結果

NC 群の PBVC per year が -0.39 ± 0.26 ($-0.01 \sim -0.85$, 平均+2SD は 0.91) であったのに対して AD では, -1.75 ± 0.89 (dementia), -1.23 ± 0.89 (MCI) であり, dementia 群で有意に萎縮進行度が高かった。hTau と pTau は PBVC per year との間にそれぞれ負の相関を認めた。1 回

めと 2 回目の MMSE との間にはそれぞれ正の相関を認めた。Va では, PBVC per year が -0.94 ± 0.80 で, 治療を拒否した 1 例を除き平均+2SD 以内であった。FT では 3 例中 2 例が平均+2SD 以上であった。

D. 考察

AD の PBVC per year は認知機能, hTau, pTau に相関する。Va では再発の有無が PBVC per year に関連する可能性がある。FT にも PBVC per year が有用と考えた。

E. 結論

SIENA による経時的な脳萎縮の検討は, 病態を把握する上で有用である。また, 治療の効果判定にも応用が可能と考えられる。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし
2. 学会発表 なし

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

Ⅱ. 分担研究報告書

国立精神・神経センター病院でのとりくみ

研究分担者 齊藤祐子¹⁾

研究協力者 千原典夫²⁾、大矢寧²⁾、国仲伸男¹⁾、村田美穂²⁾、有馬邦正³⁾、長谷川成人⁴⁾、村山繁雄⁵⁾
国立精神・神経センター病院 1)臨床検査部、2)同神経内科、3)同精神科、4)東京都精神医学総合研究所
分子神経生物学研究チーム、5)東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク

当院剖検 923 例における TDP43 proteinopathy の、抽出・解析・新規症例の当研究班バンクへの登録を行った。前頭側頭葉型認知症は 22 例、筋萎縮性側索硬化症は 60 例。主にリン酸化 TDP43 抗体を用いて免疫染色による評価や western blot を施行。前頭側頭葉型認知症例では、AD1 例、非定型的 4 リピートタウオパチー1 例、ピック球を伴うピック病 4 例、FTLUDU TDP43 7 例 (FTLUDU type: 3 例、FTLUDU-NMD/ ALS type: 3 例、分類困難: 1 例)、tauopathy 1 例、FTLUDU-non TDP43 2 例。FUS/TLS 免疫染色では全例で陰性。リン酸化 TDP43 による western blot では新規 ALSD 症例で強い反応が見られた。

A.研究目的

当院は精神科の病床数が多いという特徴を有する。精神症状の強い前頭側頭葉型認知症の剖検例が比較的多い。そのような特徴をもった TDP43 proteinopathy の脳バンクとして、これまでの見直しを行うとともに、新規症例の登録を確実にを行うことを目的とする。

B.研究方法

1. 連続剖検 923 例中、後方視的に前頭側頭葉型認知症 (FTLD) を TDP43 proteinopathy という観点から整理した。

2. 前方視的に新規症例の解析 (代表として精神症状が前景に立った、認知症を伴った症例、中枢神経系の老年性変化の強い疾患である筋強直性ジストロフィー症例の解析) の大きく 2 つの解析を行った。

A. 神経病理学的解析: 剖検脳・脊髄の凍結方法、標本作製方法は凍結にプログラミングフリーザーを使用した他は高齢者ブレインバンクプロトコルに従った。後方視例・前方視例の染色方法は、HE, KB 染色に加え、自動免疫装置 Ventana Discovery XT を用い、以下の抗体を用いて代表的な切片について免疫染色を行った。抗体は抗 ubiquitin 抗体、抗 C 末非リン酸化 TDP-43 抗体 (405/414)、抗リン酸化 TDP43 抗体

(mPser409/410) (長谷川先生供与)、抗リン酸化タウ (AT8)、抗 3 リピートタウ (RD3) 抗体、抗 4 リピートタウ (RD4) 抗体を使用。なお抗 FUS/TLS 抗体 (貫名先生供与) は老人研で染色。一部の症例で抗リン酸化 TDP43 抗体 (mPser409/410) を用いて western blot を施行。

(倫理面への配慮: 個々の症例については剖検承諾書に従って遺族同意を得ており、連結可能匿名化により解析を行った)

C.研究結果

1. 後方視的検討

ユビキチン陽性封入体を伴う FTLD (以下 FTLUDU) は 22 例抽出され、そのうち評価可能であった 15 例について免疫組織学的検討を行った。

結果のまとめを Table 1 に示す。FTLUDU unknown 症例については FUS/ TLS 抗体免疫染色でも陽性所見は得られなかった。

Table 1. 症例のプロフィールと病理診断。

年齢	性	臨床診断	病理診断
1	67 女性	ピック病	AD
2	59 男性	ピック病	FTLUDU: tauopathy
3	70 男性	老年性痴呆	FTLUDU: TDP43
4	56 女性	筋萎縮性側索硬化症・アルツハイマー病	FTLUDU: TDP43
5	66 女性	ピック病疑い	FTLUDU: TDP43
6	67 男性	初老期痴呆	FTLUDU: TDP43
7	72 女性	痴呆	FTLUDU: TDP43
8	68 女性	ピック病疑い	FTLUDU: TDP43
9	72 女性	ピック病	FTLUDU: TDP43
10	57 男性	ピック病疑い	FTLUDU: unknown
11	62 男性	ピック病疑い	FTLUDU: unknown
12	65 女性	ピック病	Pick disease with PB
13	54 男性	ピック病	Pick disease with PB
14	71 女性	ピック病	Pick disease with PB
15	67 女性	痴呆を伴う筋萎縮性側索硬化症	Pick disease with PB

代表例を呈示する。

【FTLUDU unknown 症例 (症例 11)】

死亡時 62 歳男性。臨床診断は初老期痴呆。家族歴・既往歴に特記事項なし。現病歴は 50 歳ころ、それまで大手企業の部長であったが、仕事上のトラブルが出現進行。53 歳 店の支払いの事などで警察沙汰となり、その頃より出勤せず。物忘れにも気づかれる。56 歳、発語がほとんど無くなり、自宅で妻が全面解除。58 歳、A 病院入院。入院時「緘黙、疎通不良、ちらちらと見ては、あるいは知らぬ顔。好褥及至不穩、徘徊、失禁、流涎、ときに異食、全面要介助」の記載。嚥下障害・褥瘡・肺炎出現、進行。62 歳 死亡。神経病理学的には脳重は 1100g。側頭葉前頭葉の極度の萎縮を認める (図 1)。海馬歯状回、萎縮部位にユビキチン陽性封入体を認めるが、リン酸化 TDP43 抗体

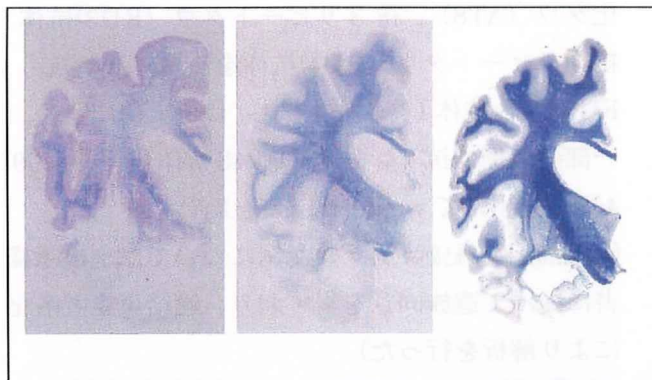


図 1 症例 11 のセミマクロ像。髓鞘染色。前頭側頭葉、特に側頭葉前方に強い萎縮を認める。

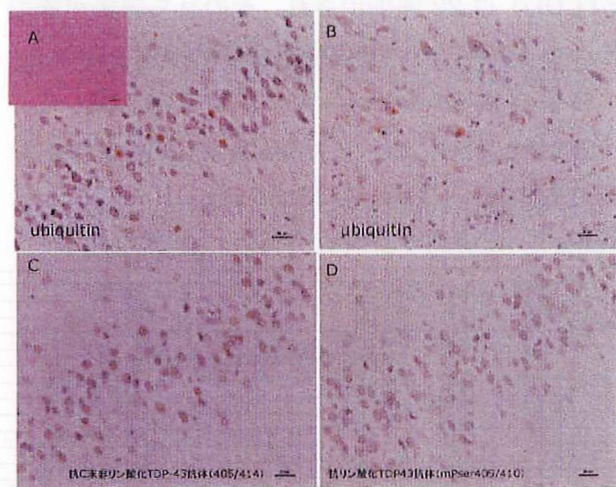


図 2 症例 11 の組織像。ユビキチン抗体陽性所見

は抗 TDP43 抗体陽性所見は認めない。

陰性、抗 FUS/TLN 抗体でも陰性であった。

2. 前方視的検討 (1)

今年度新たな TDP43 proteinopathy は以下 3 例であった。

- ・症例 1 : ALS with dementia (ALSD) 57 歳女性
- ・症例 2 : ALS 77 歳 男性
- ・症例 3 : ALS 67 歳 男性

症例 1 は精神症状が強く、症例 2 および 3 は運動ニューロンの脱落が著しかった。特に症例 3 は急速に呼吸筋麻痺が進行し、約 1 年半の経過で死亡しており、ALS のスペクトラムを考える上で重要である。症例 1 について呈示する。

主訴は、嫉妬妄想、物をつまめない、言葉を間違える。家族歴では母認知症で 84 歳で死亡。現病歴は、56 歳時アメリカで断食の修行を行い体重が 9kg 減少し、上肢の筋萎縮が出現した。体重が戻っても上肢の萎縮は改善しなかった。

57 歳時「夫が浮気をしている」という嫉妬妄想が出現し、隣人の悪口の幻聴が聞こえるようになった。名詞、動詞を間違えるようになった。家事をしなくなった。近医精神科を受診し、認知症あるいは統合失調症も疑われ当院精神科を受診。上肢の筋力低下、手指の筋萎縮を認め、運動ニューロン病を疑われ、神経内科第 1 回入院。

入院時一般身体所見に特記すべきことなし。神経学的には#1 顔面・頸部・四肢筋力低下、#2 舌・頸部・肩甲帯・前腕筋群・殿筋・下腿三頭筋 筋萎縮、#3 舌・前腕筋群 fasciculation、#4 四肢腱反射亢進・病的反射陽性、#5 嚥下障害、#6 高次機能障害：理解力障害、注意力障害、保続、超皮質性感覚性失語 (換語困難、反響言語)、失書、失計算、見当識障害、嫉妬妄想・幻聴の所見であった。頭部 MRI では海馬・扁桃核を含む側頭葉・前頭葉の進行性の著しい萎縮を認めた。頭部 SPECT でも前頭葉・側頭葉の著しい血流低下を認めた。筋電図では上下肢に active denervation を高度に認め、認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症

と診断された。57歳、嚥下障害悪化し、当院第2回入院。MMSEは4点と低下。呼吸障害悪化し、死亡。全経過約2年。

神経病理所見は脳重1020gと減少し、側頭葉内側面を含む前頭側頭葉の著しい萎縮を認めた。組織学的には1)上位および下位運動ニューロンの脱落と非リン酸化 TDP43 抗体免疫染色陽性構造、下位運動ニューロンにプニナ小体。2) ALSD 型変性として、右に強い海馬支脚の高度の神経細胞脱落、グリオーシス、萎縮。前方に強く、迂回回、経嗅内野までひろがり、側副溝を超える。3) 抗 C 末非リン酸化 TDP43 抗体 (405/414) およびリン酸化 TDP43 抗体 (mPser409/410) 免疫染色で、陽性神経細胞・オリゴデンドログリアなどが広汎に出現。4) 海馬歯状回の顆粒細胞に多数のユビキチン、非リン酸化・リン酸化 TDP43 陽性封入体を認めた。核内陽性構造は明かではない。5) 黒質に抗 TDP43 抗体陽性構造を多数伴う変性。新皮質 (特に前頭側頭葉)・基底核・脳幹などに非リン酸化・リン酸化 TDP43 抗体陽性構造が高度かつ広汎に出現しており、ALSD と診断した。

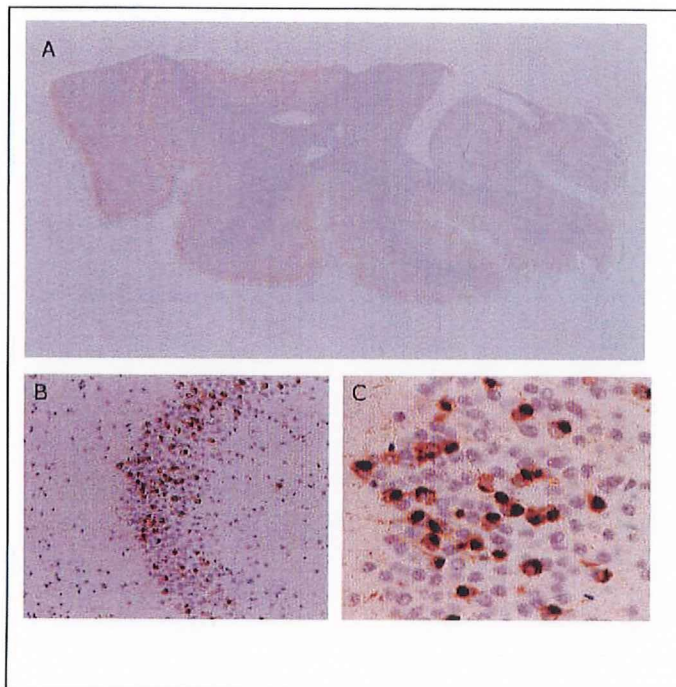


図3 症例の海馬の抗リン酸化 TDP43 抗体免疫染色。A:右海馬のセミマクロ像。歯状回、海馬、海馬支脚、海馬傍回、外側後頭側頭回基質から新

皮質にひろがり、皮質では深層と浅層の2層性の陽性像を呈している。B. 歯状回に陽性所見を多数認める。C. 歯状回の拡大像。核内封入体は認めない。

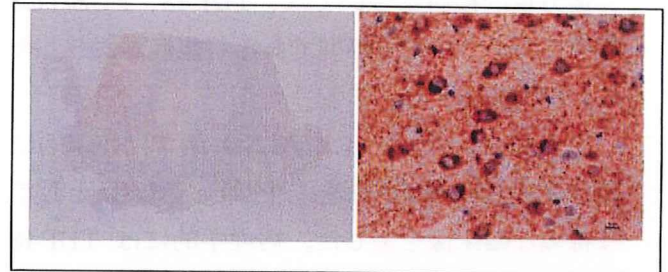


図4 尾状核頭をとる断面の海馬の抗リン酸化 TDP43 抗体免疫染色。A セミマクロ像でもび慢性の陽性所見が確認できる。B. 尾状核の拡大像。多数の神経細胞体内陽性所見のほか、基質にあたかもシナプスに対する免疫染色のような、び慢性の陽性所見を認める。

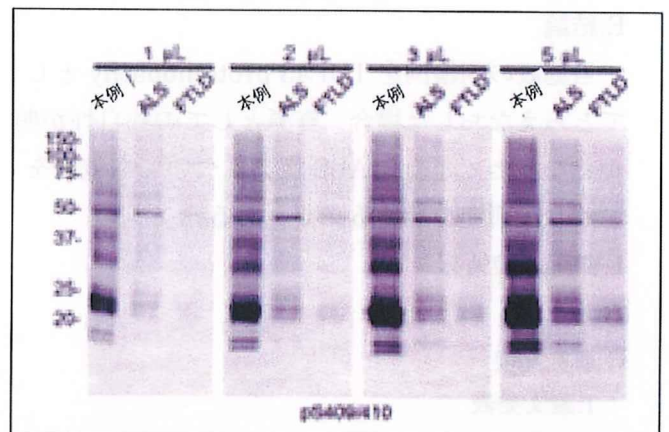


図5 リン酸化 TDP43 抗体による western blot。非常に強い反応を呈している。ALS のパターンをとっている。

また western blot (図5) では非常に強い反応を呈し、ALS のパターンであった。

3. 後方視および前方視的検討

筋強直性ジストロフィー症例は新規症例を含め当施設剖検 29 例中 20 例について検討が可能であった。年齢は 37~70 歳 (平均 57.3 歳)、性別は男性 13 例、女性 7 例。

解析の結果、20 例中陽性所見はいずれの症例に