

も見られなかった。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

後方視的検討については、TDP43、FUS/TLS 症例については新しい型である可能性があり、今後の検討を要する。

前方視的検討を行った ALSD 例では臨床的に精神症状・認知症が急速に進行し、ALSD としては特異な臨床像を呈した。病理学的には TDP43 蛋白の蓄積量が多量であり、神経細胞体内および特徴的なニューロピルへの synaptic pattern 様の蓄積をみた。よって特異な臨床像はこの特徴的な病理と関連することが示唆された。

MyD 症例については、スプライシング異常の可能性があり、今後の検討を要する。

E. 結論

当施設の剖検例を TDP43 proteinopathy としてとらえなおした場合、資源としての独自性が明らかとなった。今後も ALS 症例についても整理をするなど研究を進める必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Murata Y, Saito Y et al. "Widespread and massive accumulation of TDP 43 protein in a case of ALS who developed jealous delusion and hallucination" in preparation.

2. 学会発表

村田佳子、齊藤祐子ら。神経病理学会関東地方会

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

秋山治彦¹⁾、新井哲明¹⁾、小林禪¹⁾、長谷川成人¹⁾

¹⁾東京都精神医学総合研究所

研究要旨

従来 ALS-6 とされていた家族性筋萎縮性側索硬化症(ALS)が fused in sarcoma: FUS 遺伝子変異によるものであることが 20 年度末に海外から報告された。TAR DNA-binding protein 43: TDP-43 遺伝子変異が家族性 ALS-10 の原因であることとあわせ、家族性および非家族性 ALS の DNA サンプルを集積してこれら遺伝子のシーケンスを行い、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 プロテノパチーの生前診断をめざして脳脊髄液中の異常 TDP-43 を測定しうる ELISA の開発を進め、検出抗体として使用しうる抗体を見出した。今後、キャプチャに適した抗体の作製を進め、サンドウィッチ ELISA による特異的な異常 TDP-43 検出系を完成させる予定である。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

世界的な剖検率の低下による医学研究の停滞が危惧されている中でも、本邦における剖検率低下は特に著しい。そのような状況で、比較的稀である、筋萎縮性側索硬化症(ALS)・認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症(ALS-D)・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はかるには、患者・家族の協力が不可欠である。そのため、医療者側は正確な診断と予後予測による介護プラン・介護体制構築への貢献や、治療薬開発加速の努力を重ねる必要がある。これらの目的を達成するために以下の研究を推進した。

(1) 少数ではあるがこれらの疾患群において家族性に発病する例があるため、TDP-43 遺伝子のシーケンスを行い遺伝子変異の有無を調べて、臨床の現場における遺伝子検索の重要性を評価した。なお前年度末に、従来 ALS-6 と呼ばれていた家族性 ALS の原因遺伝子が FUS であることが報告されたのを受け、FUS 遺伝子のシーケンスも実施した。

(2) 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した。次に、その培養細胞モデルを用いて予備的に少数の化合物の治療効果をスクリーニングし、創薬に使用できることを示した。

(3) これらの疾患の多くは非遺伝性に発病する。とりわけ FTLD-U は tau 蓄積症である Pick 病との鑑別が臨床に困難である。さらに、疾患の進行自体を抑制する治療薬を効率よく開発するには、様々な要因で変動する臨床症状ではなく、客観的な病態指標が必要である。そこで TDP-43 異常蓄積の生前診断と重症度評価を可能にするため、脳脊髄液中の異常 TDP-43 を測定しうる ELISA の開発を進めた。

(4) ALS-6、および tau 陰性 TDP-43 陰性・ユビキチン陽性 FTLD 疾患群(FTLD の病理診断 2009 recommendation においてそれぞれ atypical(a) FTLD、塩基性封入体病(basophilic inclusion body disease: BIBD)、中間径神経フィラメント封入体病(neuronal intermediate filament inclusion body

disease: NIFID)と分類されていた群)の症例でホルマリン固定パラフィン標本を保有していた ALS-6, BIBD, NIFID, aFTLD 各 1 例において FUS/TLS の蓄積を検討して、上記 2009 recommendation の 2010 update [ref. 19]の妥当性を検討した。

B.研究方法

遺伝子解析には血液あるいは剖検脳試料から抽出した DNA を常法により PCR にかけて、自動シーケンサーにより塩基配列を判読した。剖検脳脊髄試料の解析には免疫組織化学、イムノブロット、質量分析を用いた。培養細胞モデル作製にはヒト神経芽腫由来の株化培養細胞を用い、様々な改変を施したヒト TDP-43 遺伝子コンストラクトを導入した。ELISA には間接抗体法、サンドウィッチ法を用いた。

(倫理面への配慮)

剖検脳の解析にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理基準に準じることとし、剖検時に遺族の承諾を得た場合のみ剖検材料を研究に使用した。同倫理指針策定以前に剖検になった症例については、連結不可能匿名化による個人情報保護を図った上で使用した。患者血液からの DNA 抽出と遺伝子解析に際してはヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理基準に基づき、試料採取を行う各施設において倫理委員会の承認を得た、あるいは当該臨床施設に倫理委員会が設置されていない場合は東京都精神医学総合研究所の倫理委員会の承認を得た。本研究のための研究計画説明書、試料提供承諾書等を用いて文書による提供者の承諾を得、試料は連結不可能匿名化を行った後に解析した。なお詳細な研究計画全体について、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

(1) 全国の共同研究先である臨床施設から ALS 患者の血液、あるいは血液から抽出した DNA の提供を受け、あるいは剖検脳新鮮凍結試料から抽出した DNA を用いて、TDP-43 および FUS の遺伝子変異を調べた。対象とした約 200 例のうち約 8 分の 1

が家族性 ALS であったが、これは家族性 ALS に限ってサンプル提供を受けた施設があるためであり、実際の家族性発症の頻度とは異なっている。

上記のサンプルにおいて、本邦では非家族性 ALS の 1%未満に、また SOD-1 変異のない家族性 ALS の 10%ほどに TDP-43 変異が認められた。また、SOD-1 変異陰性の家族性 ALS において、TDP-43 変異とほぼ同じ頻度で FUS 変異が認められた。

(2) FTLD-TDP および ALS において界面活性剤不溶性となり異常蓄積している TDP-43 の主要な画分は複数の C 末側断片である。そこで質量分析によりその C 末断片の N 末端アミノ酸を 2 ヶ所同定し、そこから始まる TDP-43 の C 末断片の DNA コンストラクトを作製、培養細胞に導入した。この培養細胞モデルでは、疾患脳に異常蓄積した TDP-43 と同様の異常リン酸化およびユビキチン化を伴う TDP-43 の細胞質内凝集・蓄積形成が認められた。この細胞モデルに様々な化合物を投与して TDP-43 異常蓄積を減少させる化合物の試験的スクリーニングを行ったところ、有効なものを 2 剤見出すことができた。1 剤は tau の凝集阻害作用を有することが既に知られている methylthionium chloride であり 1 剤は現在アルツハイマー病で治験中の dimebon である。このように、本研究で開発した TDP-43 培養細胞モデルは、ALS・FTLD-U 根本治療薬開発のためのモデルとして使用できると考えられた。

(3) 剖検脳脊髄試料に異常蓄積した TDP-43 を選択的に検出できる間接抗体法による ELISA を開発した。しかし脳脊髄液中あるいは血液中に微量存在すると思われる異常 TDP-43 を検出するには感度を高める必要がある。そこで様々な TDP-43 抗体を用いてサンドウィッチ ELISA を試作したが、現状で実用レベルに達したのは全長 TDP-43 のみを検出できる系であり、主要画分である C 末断片を含めて検出するには、この C 末断片をすべてキャプチャできる新たな抗体の作製が必要であると考えられた。

(4) 東京都精神医学総合研究所に所蔵する ALS-6, BIBD, NIFID, aFTLD 各 1 例のホルマリン固定パラフィン標本を、複数の抗 FUS 抗体を用いて免疫

組織化学染色により調べた。その結果、aFTLDを除く3例でFUS陽性封入体を認めた。しかし現状のFUS免疫染色は、文献的に言われているようにユビキチン染色陽性構造を上回る頻度で封入体を染色することはなかった。なおtau, TDP-43, FUSのいずれにも陰性を示した、現時点ではaFTLDとしか言えない例は1970年代の標本であるため、これらの免疫染色陰性所見がエピトープ保存の状態に影響されているものなのか、あるいはまだ同定されない稀な封入体構成蛋白質が存在するのかを判断するのは難しいと考えられた。

D. 考察

前年度に病理診断の国際的コンセンサスが成立して発表されたが(2009 recommendation), TDP-43と同じRNA結合蛋白質であるFUSがALS-6の原因遺伝子として同定され、さらにTDP-43の場合と同様、FUSがFTLD-U(TDP-43陰性例)とALS-6に異常蓄積していることが明らかになって、FTLDの神経病理診断における国際的recommendationは2010 updateとして以下のように改訂された。

FTLDの神経病理学的診断 [ref. 19]:			
2009 recommendationの2010 update 変更点			
2009	subtypes	2010	subtypes
FTLD-UPS	{ FTD-3 aFTLD-U	FTLD-UPS	FTD-3
FTLD-IF	NIFID	FTLD-FUS	{ NIFID BIBD aFTLD-U
BIBD			
FTLD-ni		FTLD-ni	

しかし、FUSは他の異常蓄積蛋白質のような生化学的異常(リン酸化、断片化など)が明らかではなく、今後さらなる解析が必要であると考えられる。その基盤として、稀少疾患であるFTLD-FUS、およびALS-6症例の脳脊髄資源の蓄積が重要である。

診断に関しては、家族性ALSについては、従来、行われてきたSOD-1のみでなく、TDP-43, FUS

の変異解析が発病予測(保因者の同定)や診断確定に有用であることが明らかになった。一方、TDP-43異常蓄積のバイオマーカー開発には、今後さらなる研究の積み重ねが必要である。

なお本年度にTDP-43培養細胞モデルで見出された2剤については、今後、TDP-43動物モデルを作製してin vivoにおける効果を判定するのが常道である。そのためにもTDP-43トランスジェニックマウスの開発を加速させるべきであると考えられる。

E. 結論

FTLD-Uの多くがFTLD-TDPとFTLD-FUSに収斂し、かつALSと共通の病理基盤を有すること、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ことが明らかになった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Arai T, Yokota O, Watabiki S, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H (2010) Pseudopolyneuritic form of ALS revisited: Clinical and pathological heterogeneity. *Neuropathology*. doi:10.1111/j.1440-1789.2009.01084.x
2. Foulds PG, Davidson Y, Mishra M, Hobson DJ, Humphreys KM, Taylor M, Johnson N, Weintraub S, Akiyama H, Arai T, Hasegawa M, Bigio EH, Benson FE, Allsop D, Mann DM (2009) Plasma phosphorylated-TDP-43 protein levels correlate with brain pathology in frontotemporal lobar degeneration. *Acta Neuropathol* 118:647-58
3. Yanagida K, Okochi M, Tagami S, Nakayama T, Kodama TS, Nishitomi K, Jiang J, Mori K, Tatsumi S, Arai T, Ikeuchi T, Kasuga K, Tokuda T, Kondo M, Ikeda M, Deguchi K, Kazui H, Tanaka T, Morihara T, Hashimoto R, Kudo T, Steiner H, Haas C, Tsuchiya K, Akiyama H, Kuwano R, Takeda M (2009) The 28-amino acid form of an APLP1-derived Abeta-like peptide is a surrogate marker for Abeta42 production in the central nervous system. *EMBO Mol Med* 1:223-235

4. Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Hasegawa M (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. *Human Mol Genet* 18:3353-3364
5. Yamashita M, Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama T, Buchman VL, Zibae S, Goedert M, Hasegawa M (2009) Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Letters* 583:2419-2424
6. Davidson Y, Amin H, Kelley T, Shi J, Tian J, Kumaran R, Lashley T, Lees AJ, Duplessis D, Neary D, Snowden J, Akiyama H, Arai T, Hasegawa M, Bandopadhyay R, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM (2009) TDP-43 in ubiquitinated inclusions in the inferior olives in frontotemporal lobar degeneration and in other neurodegenerative diseases: a degenerative process distinct from normal ageing. *Acta Neuropathol* 118:359-369.
7. Schwab C, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Yu S, McGeer PL (2009) TDP-43 pathology in familial British dementia. *Acta Neuropathol* 118:303-311.
8. Honda M, Arai T, Fukazawa M, Honda Y, Tsuchiya K, Salehi A, Akiyama H, Mignot E (2009) No ubiquitinated inclusions in hypocretin neurons of narcolepsy patients. *Neurol* 73:511-517
9. Beach TG, Adler CH, Lue LF, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Sasse J, Boyer S, Shirohi S, Brooks R, Eschbacher J, White CL III, Akiyama H, Caviness J, Shill HA, Connor DJ, Sabbagh MN, Walker DG and the Arizona Parkinson's Disease Consortium (2009) Unified Staging System for Lewy Body Disorders: Correlation with Nigrostriatal Degeneration, Cognitive Impairment and Motor Dysfunction. *Acta Neuropathol* 117:613-634
10. Kametani F, Nonaka T, Suzuki T, Arai T, Dohmae N, Akiyama H, Hasegawa M (2009) Identification of casein kinase-1 phosphorylation sites on TDP-43. *Biochem Biophys Res Commun* 382:405-9
11. 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
12. Beach TG, White CL, Hladik CL, Sabbagh MN, Connor DJ, Shill HA, Sue LI, Sasse J, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Akiyama H, Adler CH (2009) Olfactory bulb α -synucleinopathy has high specificity and sensitivity for Lewy body disorders. *Acta Neuropathol* 117:169-174
13. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Takahashi M, Yokota O, Taki K, Ishizu H, Arai T, Akiyama H, Mizusawa H (2010) Morel's laminar sclerosis showing apraxia of speech: Distribution of cortical lesions in an autopsy case. *Neuropathology* 30:76-83
14. Oshima K, Tsuchiya K, Niizato K, Akiyama H, Arai T, Nagashima K (2009) Clinicopathological study of early progressive multifocal leukoencephalopathy incidentally found in a schizophrenia patient. *Neuropathology* 29:684-688
15. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Machida A, Goto J, Yokota O, Miake H, Watabiki S, Taki K, Ishizu H, Haga C, Arai T, Akiyama H, Mizusawa H (2009) Metastatic CNS lymphoma presenting with periventricular dissemination - MRI and neuropathological findings in an autopsy case. *J Neurol Sci* 277:109-113
16. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Uchihara T, Nakamura A, Haga C, Yokota O, Ishizu H, Taki K, Arai T, Akiyama H, Mizusawa H (2009) Intractable hiccup caused by medulla oblongata lesions: a study of an autopsy patient with possible neuromyelitis optica. *J Neurol Sci* 285:241-245
17. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Yokota O, Haga C, Arai T, Akiyama H, Kotera M, Mizusawa H (2009) Japanese encephalitis - serial CT findings and neuropathology in an autopsy case. *Clin Neuropathol* 28:422-429.
18. Tetsuaki Arai, Masato Hasegawa, Takashi Nonaka, 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
19. 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
20. 秋山治彦 (2009) アルツハイマー病 Abeta ワクチンの有効性 (1) Abeta ワクチンの開発と作用機序. *Clin Neurosci* 27:600-601
21. 秋山治彦 (2009) アルツハイマー病 Abeta ワクチンの有効性 (2) 臨床試験の経過と今後の展望. *Clin Neurosci* 27:720-721

2.学会発表

1. 野中隆, 山下万貴子, 亀谷富由樹, 新井哲明, 秋山治彦, 長谷川成人 (2009) 細胞内 TDP-43 蓄積モデルの作製とその応用. 第 82 回日本生化学会大会, 神戸 [2009/10/24]
2. Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Hasegawa M (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. The 12th International Conference on Alzheimer's Disease 2009, Vienna, Austria [2009/07/12]
3. Arai T, Mackenzie IRA, Hasegawa M, Fujishiro H, Nonaka T, Niizato K, Tsuchiya K, Kobayashi Z, Iritani S, Onaya M, Akiyama H (2009) Phosphorylated TDP-43 in neurodegenerative disorders. The 12th International Conference on Alzheimer's Disease 2009, Vienna, Austria [2009/07/15]
4. 小林禪, 土谷邦秋, 松永高志, 高橋真冬, 秋山治彦, 水澤英洋 (2009) HTLV-1 associated myelopathy 2 剖検例における臨床病理相関. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/06]
5. 大島健一, 土谷邦秋, 新井哲明, 秋山治彦, 新井哲明, 長嶋和郎 (2009) 統合失調症患者で剖検後に偶然見つけた初期進行性多巣性白質脳症の臨床病理学的検討. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/06]
6. 青木直哉, 土谷邦秋, 都甲崇, 内門大丈, 勝瀬大海, 鈴木京子, 安野みどり, 藤城弘樹, 新井哲明, 井関栄三, 小阪憲司, 秋山治彦, 平安良雄 (2009) 那須-Hakola 病における灰白質病変の検討. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/06]
7. 吉田眞理, 櫻井信夫, 橋詰良夫, 新井哲明, 長谷川成人, 新井誠, 糸川昌成, 秋山治彦 (2009) TDP-43 G298S 変異を示す認知症を伴う家族性 ALS. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/06]
8. 後藤潤, 土谷邦秋, 新井哲明, 秋山治彦, 塩田清二 (2009) 嗜銀性顆粒病 argyrophilic grain disease の初発病変は扁桃体である. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/06]
9. 橋本智代, 長谷川成人, 山崎峰雄, 河上江美子, 新井哲明, 秋山治彦, 柿田明美, 土谷邦秋, 森田俊, 水谷俊雄, 高橋均, 小柳清光 (2009) リン酸化 TDP43 と神経原線維変化からみるグアム島の筋萎縮性側索硬化症(ALS)の本体について. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/05]
10. 秋山治彦, 新井哲明, 長谷川成人, 下村洋子, 近藤ひろみ, 羽賀千恵, 土谷邦秋, 新里和弘, 大島健一, 女屋光基, 加藤雅紀 (2009) アルツハイマー病およびレビー小体型認知症脳における progranulin の免疫組織化学的検討. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/05]
11. 内原俊記, 土谷邦秋, 澁谷克彦, 秋山治彦, 中村綾子, 柳下三郎, 水谷俊雄 (2009) Thiazin Red でとらえた線維形成性と銀染色プロフィールの関係. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/05]
12. 眞鍋雄太, 土谷邦秋, 秋山治彦 (2009) 中心前で Betz 細胞の脱落と astrocytosis を伴う筋萎縮性側索硬化症の 2 例. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/05]
13. 土谷邦秋, 中山宏, 羽賀千恵, 秋山治彦 (2009) 石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化病の上位運動ニューロン障害: 5 剖検例の臨床病理学的研究. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/05]
14. 小林禪, 土谷邦秋, 内原俊記, 秋山治彦, 水澤英洋 (2009) 難治性吃逆を呈し剖検にて孤東核病変を確認した neuromyelitis optica の 48 歳女性例. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台 [2009/05/20]
15. 村山繁雄, 齊藤祐子, 清水潤, 秋山治彦 (2009) 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 [2009/05/20]
16. 土谷邦秋, 秋山治彦 (2009) 認知症を伴う ALS の'不全型'の運動外病変は黒質から始まるか(?). 第 50 回日本神経学会総会, 仙台 [2009/05/20]
17. 新井哲明, 長谷川成人, 野中隆, 亀谷富由樹, 吉田眞理, 橋詰良夫, 小林禪, 土谷邦秋, 秋山治彦 (2009) TDP-43 と ALS: 病理学的側面. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 高松 [2009/06/04]
18. 辻浩史, 長谷川成人, 亀谷富由樹, 野中隆, 新井哲明, 秋山治彦, 詫間浩, 富所康志, 中馬越清隆, 石井亜紀子, 石井一弘, 渡邊雅彦, 玉岡晃 (2009) 筋萎縮性側索硬化症(ALS)における TDP-43 遺伝子とタンパク質に関する検討. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台 [2009/05/20]
19. 秋山治彦, 新井哲明, 神保永吉, 近藤ひろみ, 長谷川成人 (2009) 剖検脳における progranulin の免疫組織学的検討. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台 [2009/05/20]
20. 玉岡晃, 新井誠, 糸川昌成, 新井哲明, 長谷川成人, 土谷邦秋, 詫間浩, 辻浩史, 石井亜紀子, 渡邊雅彦, 高橋祐二, 後藤順, 辻省次, 秋山治彦 (2009) TDP-43 の M337V 変異を有する家族性筋萎縮性側索硬化症の臨床的特徴について. 第 50 回日本神経学会総会, 仙台 [2009/05/22]

H.知的所有権の取得状況 (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

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の病態進行に伴う筋萎縮は、運動神経の axonopathy（軸索の機能不全）が関与する。ブレインバンク ALS 剖検例の横隔神経を用いて axonopathy に相応する有髄線維変化を検討した。死後 3 時間以内の ALS 症例は 4 症例を用いた。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 の病態進行に伴う筋萎縮は、運動神経の機能障害としての axonopathy（軸索の機能不全）が関与する。横隔神経は、剖検時に容易に採取可能で、分枝することなく長く採取可能であり軸索変化の検討に適する。一方、剖検材料で超微形態変化を観察する場合には死後変化の影響を考慮する必要がある。横隔神経を形態検討に用いる場合の死後変化の影響を同時に採取した腓腹神経との比較で明らかにすること、ALS の横隔神経有髄線維変化を死後変化の少ない症例を用いて検討することの 2 点を目的とした。

B. 研究方法

ALS 症例末梢神経筋バンク症例の横隔神経を用いた。死後 3 時間以内の症例を選び、横隔神経と腓腹神経も検討した。神経束は half karnovsky 液で固定後、1%オスミウムで後固定しエポキシ樹脂に包埋し 1 μ m の切片を作製し観察した。横隔神経に関しては、神経束内の有髄線維残存部位の写真撮影後、有髄線維密度と有髄線維径のヒストグラムに関する計測をおこなった

ALS 症例は 4 症例で、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。コントロール症例として、PMT4 時間の 63 才症例の横隔神経を用いた。

(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。

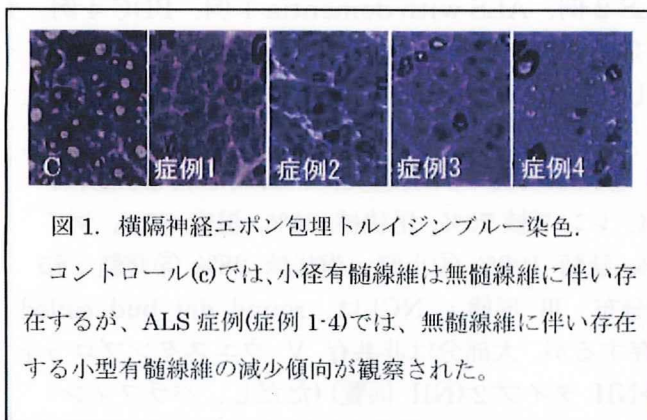
C. 研究結果

末梢神経形態の保持状態は、腓腹神経ではいずれの症例も形態はよく保持されていたが、横隔神経は、症例 4 で内皮の腫脹やシュワン細胞の腫脹などの軽度の死後変化を認めたが、残りの 3 例は比較的よく保たれていた。

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。小径有髄線維は、無髄線維と共にまとめて残存する傾向があったが、コントロールとの

比較観察では、無髄線維の割合に比較して低下を見せる部位が観察された。有髄線維、無髄線維ともに脱落した部位では間質が増加していた。いずれの症例も急性軸索変性像が散見と同時に、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。

形態計測では、有髄線維密度は、コントロール 6060 本/mm² であり、症例 1 5240 本/mm²、症例 2 2470 本/mm²、症例 3 3790 本/mm²、症例 4 6960 本/mm²であった。ヒストグラムでは、ALS 症例では、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、残存する大径の有髄線維の間において多数の小径有髄線維を認めた。



D. 考察

横隔神経は、PMT3 時間以内であれば死後変化は少なく形態検討に適した。腓腹神経との比較観察では、形態保持は腓腹神経の方が良好であった。病理変化の有無の差や組織特有の死後変化の進み方が両者で異なる可能性を考えた。

ALS における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った。横隔神経内部での部位差を考慮する必要があるが、無髄線維に伴い存在する小型有髄線維の減少傾向があった。小型の有髄線維も脱落する可能性がある。一方、呼吸不全の長期例では小型有髄線維の密度が増加しており、大径有髄線維脱落後の再生機序が存在する可能性が示唆された。

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は、軸索萎縮の所見であり軸索機能不全に対応する所見と考えた。

E. 結論

- 1) 死後早期の症例を用いることで横隔神経の形態検討評価が可能である。
- 2) ALS における横隔神経の有髄線維変化の特徴は軸索萎縮を伴う大径有髄線維優位の脱落である。
- 3) 小型有髄線維には脱落機序の存在と大径線維脱落後の再生機序の両方がある可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

- なし
1. 論文発表
 2. 学会発表

H. 知的所有権の取得状況 (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（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葉変性症の、脳・脊髄資源の構築 研究班（分担）研究報告書

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

〔目的〕昨年度に引き続き、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。

〔方法〕対象は、紀伊半島多発地区出身の ALS 2 例、ALS with dementia 1 例、PDC 4 例。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。

〔結果及び考察〕 I 分布と頻度：pTDP-43 陽性率 ①大脳皮質：前頭葉皮質、海馬を含む側頭葉皮質 100%、運動野 66% ②基底核：扁桃核 80%、レンズ核 70%、尾状核 86%、視床 70%、マイネルト基底核 67% ③脳幹：中脳 100%、橋 86%、延髄 100% ④小脳：歯状核 28% ⑤脊髄：85% (要再検) II 皮質内での分布：表層 (II, III層) に分布 III 形態：NCI は、round, dot, bud, coiled など。IV tau との関係：一部の神経細胞質内に共存するが、大部分は非共存 V ウエスタンブロット 3 型 VI 神経病理学的なサブタイプ：NCI >>> DI > NII タイプ 2 (NII 供覧) (ただし、パラフィン切片での検討のため、前頭葉白質の陽性細胞とともに今後凍結切片での検索が必要) VII NCI に比較して GCI の方が広範であった。VIII 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。

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

A. 研究目的

紀伊半島の筋萎縮性側索硬化症/パーキンソン認知症複合 (Ki ALS/PDC) の脳、脊髄では、TDP-43 の異常な蓄積が認められる。前頭側頭型認知症や孤発型 ALS に出現する異常 TDP-43 は、多数の部位でリン酸化され、また断片化している。昨年度に引き続き、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

対象は、紀伊半島多発地区出身の 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。(倫理面への配慮) 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

1. 分布と頻度：pTDP-43 陽性率 ①大脳皮質：前頭葉皮質、海馬を含む側頭葉皮質 100%、運動野 66% ②基底核：扁桃核 80%，レンズ核 70%，尾状核 86%，視床 70%，マイネルト基底核 67% ③脳幹：中脳 100%，橋 86%，延髄 100% ④小脳：歯状核 28% ⑤脊髄：85% (要再検) (図 1, 2) (Results 1,2,3)

2. 皮質内での分布：表層 (II III層) に分布

3. 形態：NCI は、round, dot, bud, coiled など。

4. tau との関係：一部の神経細胞質内に共存するが、大部分は非共存

図 1

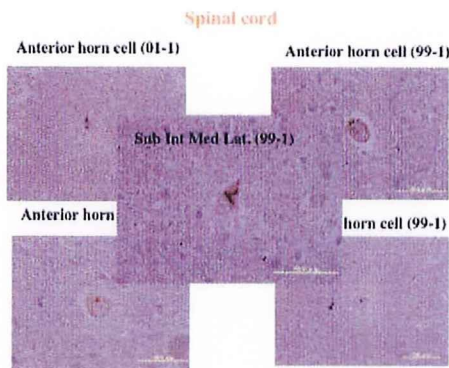
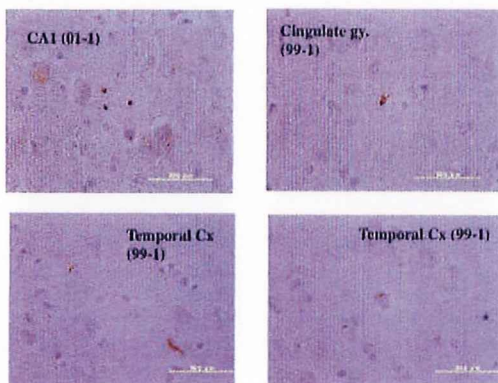


図 2



Results 1

Phenotype/Age	Frontal lobe cortex	Frontal lobe white matter	Temporal lobe cortex	Temporal lobe white matter	Hippocampus
KII ALS (05-3)/70	+	-	+	-	+
KII ALS (04-3)/63	+	-	+	-	+
KII ALS-D (98-1)/77	+	-	+++	-	+++
KII PDC (01-1)/60	+	+	+	-	+++
KII PDC (99-1)/70	++	-	-	-	+++
KII PDC (00-2)/76	+	-	+	+	+
KII PDC (03-1)/79	+	-	-	-	+

—, negative; +, mild; ++, moderate; +++, severe

Results 2

Phenotype/Age	Amygdala	Striatum	Pallidum	Thalamus	Mynert B.N.
KII ALS (05-3)/70	++	-	-	+	n.e.
KII ALS (04-3)/63	n.e.	+	-	+	+
KII ALS-D (98-1)/77	+	+	+	n.e.	-
KII PDC (01-1)/60	+++	+	+	+	n.e.
KII PDC (99-1)/70	+	+	+	+	+
KII PDC (00-2)/76	+	-	-	-	+++
KII PDC (03-1)/79	n.e.	+	+	-	-

—, negative; +, mild; ++, moderate; +++, severe; n.e., not examined

Results 3

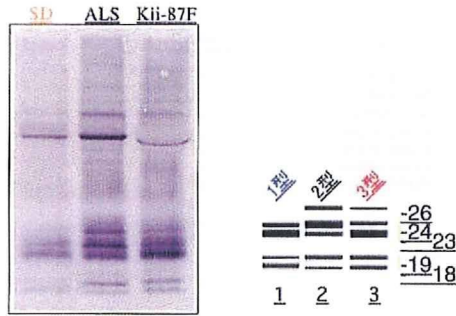
Phenotype/Age	Midbrain	Pons	Medulla	Cerebellum	Spinal cord
KII ALS (05-3)/70	+	n.e.	+	+	+
KII ALS (04-3)/63	+	+	+	-	+
KII ALS-D (98-1)/77	+++	-	++	-	+
KII PDC (01-1)/60	+	+	+	-	+
KII PDC (99-1)/70	+++	+	+	-	++
KII PDC (00-2)/76	++	++	++	+	+
KII PDC (03-1)/79	-	+	n.e.	-	-

—, negative; +, mild; ++, moderate; +++, severe; n.e., not examined

- ウエスタンブロット：3型 (図 3)
- 神経病理学的なサブタイプ：NCI>>>DI>NII
タイプ 2 (NII 供覧) (ただし、パラフィン切片での検討のため、前頭葉白質の陽性細胞とともに今後凍結切片での検索が必要)
- NCI に比較して GCI の方が広範囲であった。
- 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。(Results 1,2,3)

図 3

紀伊 ALS/PDC 患者の脳に蓄積する TDP-43 のイムノブロット解析



紀伊 ALS/PDC 脳に蓄積する TDP-43 の C 末断片のバンドパターンは 3 型

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。

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。

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

(発表雑誌名巻号・頁・発行年なども記入)

1. 論文発表

Kenju Hara, Yasumasa Kokubo, Hiroyuki Ishiura, Yuko Fukuda, Akinori Miyashita, Ryozo Kuwano, Ryogen Sasaki, Jun Goto, Masatoyo Nishizawa,

Shigeki Kuzuhara, and Shoji Tsuji. 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. 知的所有権の取得状況 (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 (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、その有用性を検討した。対象は、認知症性疾患を有する症例。Probable Alzheimer disease (AD) 27 例 (dementia 15, MCI 12)、脳血管性認知機能障害 5 例、前頭側頭葉型認知機能障害 3 例、CDR 0 の正常対照 9 例。対象に 6 ヶ月以上の間隔で MRI を 2 回撮像し、SIENA により two-time point Percentage Brain Volume Change (PBVC) を計算した。この PBVC は、12 ヶ月の変化に換算して PBVC per year として比較検討した。また、AD 群では髄液バイオマーカーも検討した。正常対照群の PBVC per year が $-0.39 \pm 0.26\%$ (-0.01 — -0.85 、平均 $+2SD$ は 0.91) であったのに対して Probable AD では、 -1.75 ± 0.89 (dementia)、 -1.23 ± 0.89 (MCI) であり、dementia 症例群で有意に萎縮の進行度が高かった。また、hTau と pTau は PBVC per year との間に負の相関を認めた。1 回目と 2 回目の MMSE と PBVC per year の間にそれぞれ正の相関を認めた。脳血管性認知機能障害群では、PBVC per year が -0.94 ± 0.80 であり、治療を拒否した 1 例を除き PBVC per year は平均 $+2SD$ 以内であった。前頭側頭葉型認知機能障害では 3 例中 2 例が平均 $+2SD$ 以上であった。以上より AD において、PBVC per year は認知機能と、hTau、pTau に相関する。脳血管性認知機能障害では、脳血管障害の再発の有無が PBVC per year の程度に関連する可能性がある。前頭側頭葉型認知機能障害にも PBVC per year が有用と考えられた。

A. 研究目的

認知症の診断には、神経心理学的検索、髄液バイオマーカー、脳萎縮部位や脳血流低下の統計画像解析、アミロイドイメージングが有用である。しかし、これらの手法を用いてもなお診断が困難な症例が存在する。また、近年の治療法の発展により症状が緩和されるために神経心理学的検索だけでは実際の進行度を判定し難くなり、潜在性の症状を見落とす危険性がある。更に、治療効果の判定も簡便かつ客観的に数値化できるものが少なく、日常臨床上の問題点となっている。以上の点をふまえて、脳容積を計算し脳萎縮の進行度を判定することの臨床的有用性を検討した。

B. 研究方法

対象は、1) NINCDS-ADRDA 診断基準により診断された probable Alzheimer Disease (AD) dementia 15 例 (男 10, 女 5) 平均年齢 71.1 ± 6.2 歳 (61—83)、probable AD MCI 12 例 (男 4, 女 8) 平均年齢 71.0 ± 8.1 歳 (59—81)。2) DSM-III-R により診断された脳血管障害群の 5 例 (男 3, 女 1) 平均年齢 76.0 ± 5.7 歳 (73—86)。3) 前頭側頭葉型認知障害の 3 例 (男 1 例, 女 2 例) 平均年齢 79.0 ± 6.0 歳 (73—85) 4) MRI のいずれの撮像時にも CDR が 0 と判定された、normal control 9 例 (男 3, 女 6) 平均年齢 67.3 ± 7.1 歳 (56—75)。

対象に 6 ヶ月以上の間隔で MRI を 2 回撮像した。撮像方法は SPGR 法による 1.3mm の矢状断

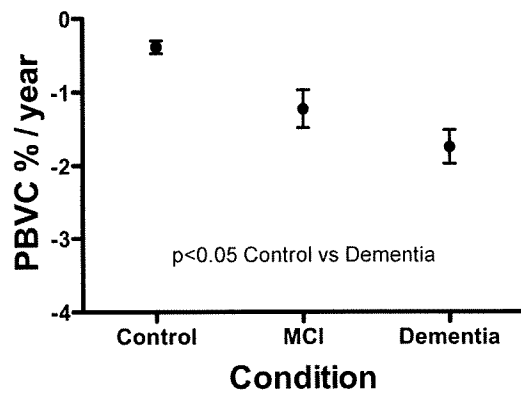
像である。DICOM ファイルの isometric 化と NIfTI (nii) ファイルへの変換。SIENA

(Structural Image Evaluation, using Normalisation, of Atrophy,

(<http://www.fmrib.ox.ac.uk/fsl/>)) を用いて two-time point Percentage Brain Volume Change (PBVC) を計算した。この PBVC は、12 ヶ月の変化に換算して PBVC per year として比較検討した。AD 症例の一部には髄液バイオマーカー (hTau, pTau, Aβ42) の測定もおこなった。

髄液バイオマーカーの測定は、当院倫理委員会の承認を得ておこなった。

図 1



C. 研究結果

1) AD dementia, AD MCI, normal control の 3 群間の年齢には有意差なし。PBVC per year は、それぞれ、 -1.75 ± 0.89 ($-0.51 \sim -3.67$), -1.23 ± 0.89 ($-0.11 \sim -2.75$), -0.39 ± 0.26 ($-0.01 \sim -0.85$ 。平均+2SD は 0.91) (図 1) であり、dementia 群と Normal control 群に有意な差を認めた。hTau と pTau には PBVC per year との間に負の相関を認めた (図 2)。1 回目と 2 回目の MMSE と PBVC per year の間にそれぞれ正の相関を認めた (図 3)。2) Vascular MCI と dementia では PBVC per year が -0.94 ± 0.80 ($-0.16 \sim 2.28$) で、正常+2SD 以上であったのは治療を拒否し放置した 1 例 (86 歳, 男性) のみ (表 1)。3) 前頭側頭葉型 MCI と dementia の 3 例では 2 例が正常+2SD 以上であった (表 2)。1 例 (79 歳, 男) では、PBVC per year が増加していた。抗精神病薬と介護保険の導入により、症状が安定していた時の結果である。また、2 回目の MMSE も 21 から 23 に改善していた。

図 2

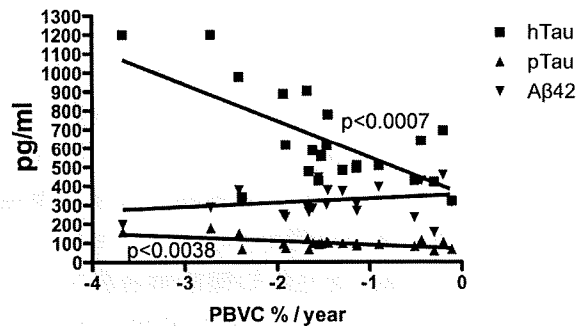


図 3

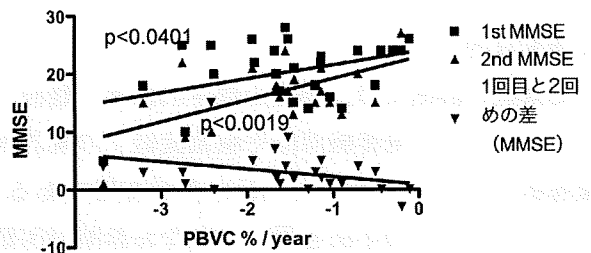


表 1

Age	Sex	Diag.	Condition	1st MMSE	2nd MMSE	MRI interval (days)	PBVC per Year (%)
75	F	Vascular	MCI	29	28	1082	-0.821
73	M	Vascular	MCI	26	25	798	-0.835
73	M	Vascular	MCI	25	22	822	-0.164
73	M	Vascular	dementia	22	21	746	-0.594
86	M	Vascular	dementia	27	18	737	-2.276

表 2

Age	Sex	Diag.	Condition	1st MMSE	2nd MMSE	MRI interval (days)	PBVC per Year (%)
73	F	FTD	MCI	26	15	1396	-1.321
85	F	FTD	dementia	24	20	198	-0.933
79	M	FTD	dementia	21	23	384	1.345

D. 考察

ADにおいて、PBVC per year は認知機能と、hTau, pTau に関連した。認知機能が低下している程、脳萎縮の進行が著しいという結果については、脳容積の低下が経過を通じて一定であると仮定すると、脳萎縮が進行する程、萎縮の比率が高まるということになる。従って、この問題を解決するには、実際の脳容積を測定する必要がある。また、ADにおいてはAβ42の沈着が第一義的とされ、アミロイド仮説が重要視されている。しかし、今回の結果は、タウ蛋白が脳萎縮に強く関連していることを示していた。一方で、今回測定した髄液中のAβ42は、被験者の活動度や採取時間に関連するとされているため、髄液中のタウ蛋白と脳萎縮の関連だけを強調するには慎重でなければならず、更に検討が必要である。

脳血管障害性 MCI と dementia では、脳血管障害の再発の有無が PBVC per year の程度に関連する可能性があることを示していた。脳血管障害性認知症機能障害群は、治療をおこなった症例では脳萎縮の進行が平均+2SDの範囲内であった。脳血管障害性認知症 AD との鑑別がしばしば問題になる。抗血小板療法などの治療を十分におこなうことが前提であるが、脳萎縮の経時的検討は鑑別診断の一助となると考えられる。

前頭側頭葉型認知症機能障害群でも PBVC per year が低下している症例があり、その診断と経

過観察に脳萎縮の評価が有用である可能性がある。しかし、この群では PBVC が増加している症例が認められた。この例は MMSE にも改善が認められており、症状と脳萎縮の改善が関連していたことから、今回の手法は症状の改善もとらえうるとも考えられる。

しかし、ここで注意しなければならないのは、脳の萎縮は変性や血管障害以外の要素によっても生じうるという点である。神経性食欲不振症では脳萎縮が生じ、栄養状態の程度により脳の容積は変化する。

以上の点を考慮しながら今後も更に経時的な脳萎縮についての検討をおこなう必要がある。

E. 結論

認知症性疾患において、認知症の診断と治療効果の判定に対して PBVC は有用な手法となりうる。

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. 知的所有権の取得状況（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

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表（研究業績録）

英文単行本

著者名	論文題名	書名	(編集者名)	出版社名	(出版地)	出版西暦年	頁
なし							

英文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年	GRANTへの 謝辞の有無
Akasaka-Manyu K, Many 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 β -amyloid production in Alzheimer's disease.	Glycosilation	20	99-106	2010	無
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	37(1)	3-11	2010	無
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	121(2)	127-130	2010	無
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	30	227-233	2009	無
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	30	1884-1892	2009	無
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	85(5)	544-557	2009	無
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)				無
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)				無
Kobayashi S, Saito Y, Maki T, Murayama S	Cortical propagation of Creutzfeldt-Jakob disease with codon 180 mutation.	Clin Neurol Neurosurg (in press)				無
Kobayashi Z, Tsuchiya K, Arai T, Yokota O, Watabiki S, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H	Pseudopolyneuritic form of ALS revisited: Clinical and pathological heterogeneity	Neuropathology		doi:10.1111/j.1440-1789.2009.01084.x	2010	無
Foulds PG, Davidson Y, Mishra M, Hobson DJ, Humphreys KM, Taylor M, Johnson N, Weintraub S, Akiyama H, Arai T, Hasegawa M, Bigio EH, Benson FE, Allsop D, Mann DM	Plasma phosphorylated-TDP-43 protein levels correlate with brain pathology in frontotemporal lobar degeneration	Acta Neuropathol	118	647-658	2009	無
Yanagida K, Okochi M, Tagami S, Nakayama T, Kodama TS, Nishitomi K, Jiang J, Mori K, Tatsumi S, Arai T, Ikeuchi T, Kasuga K, Tokuda T, Kondo M, Ikeda M, Deguchi K, Kazui H, Tanaka T, Morihara T, Hashimoto R, Kudo T, Steiner H, Haas C, Tsuchiya K, Akiyama H, Kuwano R, Takeda M	The 28-amino acid form of an APLP1-derived Abeta-like peptide is a surrogate marker for Abeta42 production in the central nervous system	EMBO Mol Med	1	223-235	2009	無
Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Hasegawa M	Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43	Human Mol Genet	18	3353-3364	2009	無
Yamashita M, Nonaka T, Kametani F, Arai T, Akiyama H, Buchman VL, Zibae S, Goedert M, Hasegawa M	Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models	FEBS Letters	583	2419-2424	2009	有

Davidson Y, Amin H, Kelley T, Shi J, Tian J, Kumaran R, Lashley T, Lees AJ, Duplessis D, Neary D, Snowden J, Akiyama H , Arai T, Hasegawa M, Bandopadhyay R, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM	TDP-43 in ubiquitinated inclusions in the inferior olives in frontotemporal lobar degeneration and in other neurodegenerative diseases: a degenerative process distinct from normal ageing	Acta Neuropathol	118	359-369	2009	無
Schwab C, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H , Yu S, McGeer PL	TDP-43 pathology in familial British dementia	Acta Neuropathol	118	303-311	2009	無
Honda M, Arai T, Fukazawa M, Honda Y, Tsuchiya K, Salehi A, Akiyama H , Mignot E	No ubiquitinated inclusions in hypocretin neurons of narcolepsy patients	Neurol	73	511-517	2009	無
Beach TG, Adler CH, Lue LF, Sue LI, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Sasse J, Boyer S, Shirohi S, Brooks R, Eschbacher J, White CL III, Akiyama H , Caviness J, Shill HA, Connor DJ, Sabbagh MN, Walker DG and the Arizona Parkinson's Disease Consortium	Unified Staging System for Lewy Body Disorders: Correlation with Nigrostriatal Degeneration, Cognitive Impairment and Motor Dysfunction	Acta Neuropathol	117	613-634	2009	無
Kametani F, Nonaka T, Suzuki T, Arai T, Dohmae N, Akiyama H, Hasegawa M	Identification of casein kinase-1 phosphorylation sites on TDP-43	Biochem Biophys Res Commun	382	405-409	2009	無
Yokota O, Tsuchiya K, Arai T, Yagihita S, Matsubara O, Mochizuki A, Tamaoka A, Kawamura M, Yoshida H, Terada S, Ishizu H, Kuroda S, Akiyama H	Clinicopathological characterization of Pick's disease versus frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin/TDP-43-positive inclusions	Acta Neuropathol	117	429-444	2009	無
Beach TG, White CL, Hladik CL, Sabbagh MN, Connor DJ, Shill HA, Sue LI, Sasse J, Bachalakuri J, Henry-Watson J, Akiyama H , Adler CH	Olfactory bulb α -synucleinopathy has high specificity and sensitivity for Lewy body disorders	Acta Neuropathol	117	169-174	2009	無
Kobayashi Z, Tsuchiya K, Takahashi M, Yokota O, Taki K, Ishizu H, Arai T, Akiyama H , Mizusawa H	Morel's laminar sclerosis showing apraxia of speech: Distribution of cortical lesions in an autopsy case	Neuropathology	30	76-83	2010	無
Oshima K, Tsuchiya K, Niizato K, Akiyama H , Arai T, Nagashima K	Clinicopathological study of early progressive multifocal leukoencephalopathy incidentally found in	Neuropathology	29	684-688	2009	無
Kobayashi Z, Tsuchiya K, Machida A, Goto J, Yokota O, Miake H, Watabiki S, Taki K, Ishizu H, Haga C, Arai T, Akiyama H , Mizusawa H	Metastatic CNS lymphoma presenting with periventricular dissemination - MRI and neuropathological findings in an autopsy case	J Neurol Sci	277	109-113	2009	無
Kobayashi Z, Tsuchiya K, Uchiyama T, Nakamura A, Haga C, Yokota O, Ishizu H, Taki K, Arai T, Akiyama H , Mizusawa H	Intractable hiccup caused by medulla oblongata lesions: a study of an autopsy patient with possible neuromyelitis optica	J Neurol Sci	285	241-245	2009	無
Kobayashi Z, Tsuchiya K, Yokota O, Haga C, Arai T, Akiyama H , Kotera M, Mizusawa H	Japanese encephalitis - serial CT findings and neuropathology in an autopsy case	Clin Neuropathol	28	422-429	2009	無
Son D, Kanda H, Yamaguchi A, Kawabata K, Kawakami T, Kubo K, Higashihara M, Shimizu J , Uozaki H, Kuramochi S, Misaki Y, Takeuchi F, Yamamoto K.	Myeloperoxidase antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis with diffuse tubulointerstitial nephritis.	J Nephrol	22	417-420	2009	無
Kenju Hara, Yasumasa Kokubo, Hiroyuki Ishiura, Yuko Fukuda, Akinori Miyashita, Ryozo Kuwano, Ryogen Sasaki, Jun Goto, Masatoyo Nishizawa, Shigeki Kuzuhara, and Shoji Tsuji.	TRPM7 is not associated with amyotrophic lateral sclerosis-parkinsonism dementia complex in the Kii peninsula of Japan	Am J Med Genet Part B Neuropsychiatric Genetics			2009	無
Akihiro Shindo, MD1), Yasumasa Kokubo, MD, PhD1), Ken Kagawa, MD1), Yuichiro Ii, MD1), Ryogen Sasaki, MD, PhD1), Josep Dalmau, MD, PhD2), Shigeki Kuzuhara, MD, PhD1)	Anti-N-methyl-D-aspartate receptor-related grave but reversible encephalitis with ovarian teratoma in two Japanese women presenting with excellent recovery	Eur Neurol	61	50-51	2009	無
T. Shishido, MD, M. Ikemura, MD, PhD, T. Obi, MD, PhD, K. Yamazaki, MD, PhD, T. Terada, MD, A. Sugiura, MD, Y. Saito, MD, PhD, S. Murayama, MD, PhD, K. Mizoguchi, MD, PhD	α -SYNUCLEIN ACCUMULATION IN SKIN NERVE FIBERS REVEALED BY SKIN BIOPSY IN PURE AUTONOMIC FAILURE	Neurology			2010 (印刷中)	無

英文総説

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
Tetsuaki Arai, Masato Hasegawa, Takashi Nonaka, Fuyuki Kametani, Makiko Yamashita, Masato Hosokawa, Kazuhiro Niizato, Kuniaki Tsuchiya, Zen Kobayashi, Kenji Ikeda, Mari Yoshida, Mitsumoto Onaya, Hiroshige Fujishiro, Haruhiko Akiyama	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	2010
Mackenzie IR, Neumann M, Bigio EH, Cairns NJ, Alafuzoff I, Krl 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	Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration: an update	Acta Neuropathol	119	1-4	2010

邦文単行本

著者名	論文題名	書名	(編集者名)	出版社名	(出版地)	出版西暦年	頁
村山繁雄 監訳	エスクロール基本神経病理学	エスクロール基本神経病理学		西村書店	東京	2009	1-375
久保田暁、清水潤	Sporadic Inclusion body myositis	Annual Review 神経 2010	鈴木則宏ら	中外医学社	東京	2010	208-215
小久保康昌	パーキンソン認知症複合(グアム島、紀伊半島)	パーキンソン病 基礎・臨床研究のアップデート	葛原茂樹	日本臨床	東京	2009	259-263

邦文原著・症例報告

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年	GRANTへの謝辞の有無
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	47 (3)	387-396	2009	無
橋本明子, 清水潤, 代田悠一郎ら	病初期に他人の手徴候がみとめられた Creutzfeldt-Jakob病の1例	臨床神経学	49	109-114	2009	無
寺田達弘, 小尾智一, 杉浦明, 山崎公也, 溝口功一	Frontal Assessment Battery (FAB) の年齢による効果	神経心理学	25	51-56	2009	無
寺田達弘, 小尾智一, 吉住美保, 村井俊哉, 溝口功一	Frontal Systems Behavior Scale (FrSBe) によるパーキンソン病の前頭葉機能評価	神経心理学	25	281-289	2009	無

邦文総説

著者名	論文題名	雑誌名	巻	頁	出版西暦年
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	18	4-8	2009
村山繁雄, 齋藤祐子, 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	18	100	2009
村山繁雄, 齋藤祐子, 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	18	192-196	2009
村山繁雄, 齋藤祐子, 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	18	292-296	2009
齋藤祐子, 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	Journal of Clinical Rehabilitation	18	392-396	2009
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	29 (増刊号I)	35-40	2009
村山繁雄, 齋藤祐子	大脳白質の機能解剖学	分子脳血管病	8	131-136	2009
村山繁雄, 齋藤祐子	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	27	1356-1360	2009
秋山治彦	アルツハイマー病Abetaワクチンの有効性 (1) Abetaワクチンの開発と作用機序	Clin Neurosci	27	600-601	2009
秋山治彦	アルツハイマー病Abetaワクチンの有効性 (2) 臨床試験の経過と今後の展望	Clin Neurosci	27	720-721	2009
清水潤	多発筋炎・皮膚筋炎 神経内科から	Clinical Neuroscience	28	194-198	2010
橋本明子, 清水潤	自己抗体を伴う炎症性筋疾患の筋病理	神経内科	71	385-391	2009
清水潤	リハの基礎となる動的神経病理 (9) 末梢神経疾患	Clinical Rehabilitation	18	770-774	2010

IV. 研究成果の刊行物・別刷

Elevated levels of 4-hydroxynonenal-histidine Michael adduct in the hippocampi of patients with Alzheimer's disease

Mitsugu FUKUDA¹, Fumihisa KANOU², Nobuko SHIMADA¹, Motoji SAWABE³, Yuko SAITO^{3, 4}, Shigeo MURAYAMA⁴, Masakatsu HASHIMOTO², Naoki MARUYAMA¹ and Akihito ISHIGAMI^{1, 5}

¹ Aging Regulation, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan; ² Shima Laboratories, Tokyo, Japan; ³ Department of Pathology, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital, Tokyo, Japan; ⁴ Department of Neuropathology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Tokyo, Japan; and ⁵ Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University, Chiba, Japan

(Received 7 May 2009; and accepted 12 June 2009)

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) is among the most common causes of progressive cognitive impairment in humans and is characterized by neurodegeneration in the brain. Lipid peroxidation is thought to play a role in the pathogenesis of AD. 4-hydroxynonenal (HNE) results from peroxidation of polyunsaturated fatty acids and it in turn gives evidence of lipid peroxidation *in vivo*. HNE reacts with protein histidine residue to form a stable HNE-histidine Michael adduct. To clarify the influence of lipid peroxidation on the pathogenesis of AD, we measured HNE-histidine Michael adduct in hippocampi from four AD patients and four age-matched controls by means of semiquantitative immunohistochemistry using a specific antibody to cyclic hemiacetal type of HNE-histidine Michael adduct. This antibody does not react with the ring-opened form of HNE-histidine Michael adduct and the pyrrole form of HNE-lysine Michael adduct. The HNE adduct was detected in the hippocampi of both AD and control donors, especially in the CA2, CA3 and CA4 sectors. Immunoreactive intensity of HNE adduct in these sectors were significantly higher in AD patients than in the controls. The HNE adduct was found in the perikarya of pyramidal cells in the hippocampus. These results show that the hippocampi of patients with AD undergo lipid peroxidation and imply that this activity underlies the production of cytotoxic products such as HNE that are responsible for the pathogenesis of AD.

The progressive cognitive impairment of Alzheimer's disease (AD) is associated with neuronal loss as well as the formation of neurofibrillary tangles (NFTs) and senile plaques in the brain (25). Free radical-mediated oxidative damage, energy depletion, deposition of amyloids and NFTs, excitotoxicity, and vascular endothelial cell damage are all thought to participate in the pathogenesis of AD (13). Oxygen-derived free radicals, byproducts of

respiration, cause oxidative damage to cellular biomolecules including lipids, proteins and nucleic acids. The brain seems to be especially vulnerable to lipid peroxidation by free radicals, because it consumes approximately one-fifth of humans' oxygen intake, has a relative paucity of antioxidant systems and contains high concentrations of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) (11). Lipid peroxidation results in structural damage to membranes and generation of secondary products such as reactive aldehydes

Address correspondence to: Akihito Ishigami, Ph.D. Department of Biochemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University, Miyama 2-2-1, Funabashi, Chiba 274-8510, Japan
Tel/Fax: +81-47-472-1536
E-mail: ishigami@phar.toho-u.ac.jp

Abbreviations used: AD, Alzheimer's disease; DAB, 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride; HNE, 4-hydroxynonenal; MAP2, microtubule-associated protein 2; NFT, neurofibrillary tangle; PBS, phosphate buffered saline; PUFAs, polyunsaturated fatty acids.