

201027069A

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

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22年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 村山繁雄

平成23（2011）年3月

厚生労働科学研究費補助金

障害者対策総合研究事業

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 22 年度 総合研究報告書

(2010 年度)

研究代表者 村山 繁 雄

東京都健康長寿医療センター

平成 23 (2011) 年 3 月

目 次

I. 総括報告書

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 神経病理学（ブレインバンク）

II. 分担研究報告書

前頭側頭葉変性症脳における FUS 病変の組織病理学的検討 15

東京都精神医学総合研究所 秋山治彦

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 19

東京大学大学院医学系研究科神経内科 清水 潤

国立精神・神経センター病院でのとりくみ 24

国立精神・神経センター病院 齋藤祐子

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 33

V. 研究成果の刊行物・別刷り 39

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 22 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

研究要旨

〔目的〕 高齢者ブレインバンクのフレームに、今後の研究資源、特にコントロール蓄積に、脳のみならず脊髄バンクを構築することを継続した。

〔方法〕 ①2008 年2 月よりの当施設連続剖検例を対象とした。全開頭剖検例に、ブレインバンクプロトコル(<http://www.mci.gr.jp/BrainBank/>)に基づく網羅的検索に加え、延髄、前方海馬を含む側頭葉を、抗リン酸化TDP (pTDP) C 末抗体 (Pser409/410, monoclonal) 免疫染色でスクリーニングを行った。脊髄は組織バンク同意のもと、全連続剖検例で全長を採取し、L4、Th3、C6、背髄上端をtissue compound に入れ凍結、残りを7-13 日間ホルマリン固定、後根神経節 (DRG)、馬尾、S2、L5・2、Th12・8・4・1、C8・7・6・5・4 をパラフィン包埋し、6 μ m 厚切片を作成した。H.E.、K.B. を通常染色とし、免疫組織化学として、ベンタナ自動免疫染色装置を使用し、S2、L5・2 を抗pTDP-43 抗体、Th12・8・4 を抗リン酸化 α シヌクレイン抗体 (p-syn#64)、Th1、C8・7 を抗リン酸化タウ抗体 (AT8) によるスクリーニングを施行した。③当施設の凍結資源の存在する筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 20 例を対象とし、腰仙髄および海馬を含む側頭葉を抗pTDP C 末抗体、抗非pTDP 抗体、抗optineurin (OPTN) C 末抗体によるスクリーニングを施行し、臨床症状や海馬支脚の変性との比較を行った。前方視的には、ALS 症例はDRG・馬尾・L4・1・Th11-9、Th7-5、Th3-1・C7-5、C3 以上の頸髄も半脳に加え凍結する (①よりかなり多くの部分を凍結)。残りのDRG、馬尾、L5 以下 (S3-L5 各髄節)、Th12、8、4、C8、4 は48 時間パラフォルム固定し、パラフィンブロックを作成し、組織学的検索に使用した。

〔結果〕 ①2011 年1 月8 日現在、270 例の脊髄を蓄積し、その内訳は男性：女性=151：119 例、年齢幅：56-104 歳、平均：82.1 \pm 7.8 歳で、うち開頭許可が得られたのは182 例 (男：女=96：86、平均82.5 歳) であった。260 例 (男性：女性=149：111、平均：82.3 歳) が脊髄の検索済で、うち脳採取例175 例 (男：女=94：81；平均82.5 歳) で、老年期変性疾患としてアルツハイマー病 (AD) 34 例、レビー小体病 (LBD) 17 例、嗜銀顆粒性認知症 (DG) 15 例、TDP 陽性神経細胞質内封入体 (NCI) を伴う前頭側頭葉型変性症 (FTLD-TDP) 1 例、多系統萎縮症 1 例、進行性核上性麻痺 1 例を認めた。260 例の脊髄中、250 例のTh1、C8・7 にAT8 陽性neuropil thread/pretangle、50 例のTh12・8・4 にレビー小体関連病理を認めた。脳検索133 例中、pTDP-43 陽性thread/dot 状構造物を、海馬・側頭葉に46 例、延髄に35 例、腰仙髄に23 例認め、うちそれぞれ39 例、7 例、5 例に非pTDP 陽性構造物を確認できた。pTDP 陽性NCI は19 例に認め、FTLD-TDP の1 例と軽度老年性変化の1 例以外は、いずれもAD、LBD、DG、神経原線維変化優位型認知症といった老年期変性疾患を合併していた。②ALS 全20 例の下位運動ニューロンにユビキチン、pTDP、非pTDP 陽性NCI を認めたが、OPTN 陽性NCI は16 例にのみ認めた。海馬/側頭葉11例は歯状回にpTDP/非pTDP 陽性NCI を認め、そのうち8 例にユビキチン陽性NCI (UI)、7 例にOPTN 陽性NCI を認めた。UI を持つ8 例は全てclinical dementia rating (CDR) が0.5 以上であり、うち4 例には海馬硬化症とは形態学的に異なる海馬支脚の高度変性をTDP 陽性NCI とともに認めた。それに対しTDP 陽性NCI を認めるがUI を認めない2 例のCDR は0 で、もう1 例はDG の合併を認めた。

〔考察〕 高齢者連続剖検例で、35%に海馬・側頭葉の、26%に延髄の、17%に腰仙髄のpTDP 陽性構造物を認め、海馬・側頭葉ではその85%で同時に非リン酸化TDP 陽性構造物を確認した。TDP 陽性構造物は高齢

者コホートにおいて、特に海馬・側頭葉では比較的多数存在していることが明らかとなった。ALS の認知障害にはTDP 陽性NCI よりUI の方が関与しており、また海馬支脚の高度変性との関連が強いことも示された。現在、共同研究として、凍結資源、パラフォルム固定組織を提供することにより複数遂行中である。

研究分担者

秋山治彦：東京都医学研究機構・認知症プロジェクトリーダー

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・神経医療研究センター病院臨床検査部・室長

研究協力者

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：国立国際医療研究センター・神経内科・医長

小久保康昌：三重大学神経内科講師

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：東京都健康長寿医療センター（以下センター）・神経内科・部長

加藤貴行：センター・リハビリテーション科 副部長

小宮正、仁科裕史：センター神経内科 副部長

椎名盟子、砂川昌子、広吉祐子、江口桂：同医員

初田弘幸：センター・剖検病理科・医員

伊藤慎治：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 の同定により、生化学的共通項を持つ疾患として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、国立精神神経医療研究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、ALS/ ALSD 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としか考えられない。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ことが可能と考え、本研究班を組織した。

B. 研究方法

1. ALS/ ALSD/ FTLDU 診断基準の作成

1.1. TDP43, FUS 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 6um 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した。

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した：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、診断基準を作成した。

1.4. 病理診断基準の作成

抗 TDP43、FUS 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 の場合、basophilic inclusion body disease, intermediate filament accumulation disease でも陽性となる。TDP43、FUS proteinopathy について、抗リン酸化タウ (AT8)、リン酸シヌクレイン (psyn #64)、 $A\beta$ (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した。

2. ALS/ALSD/FTLUDU 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した。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、資源を構築した。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・国立精神・神経医療研究センター) 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た。協力研究施設は、右半球前頭極を極力凍結することを継続した。

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ことを試みた。ALS/ALSD の場合、筋生検の既往と凍結筋の有無をチェックした。

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/FTLUDU の表現型を規定するゲノム背景を明らかにすることを試みた。

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に仲介を行う枠組みの構築を試みた (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

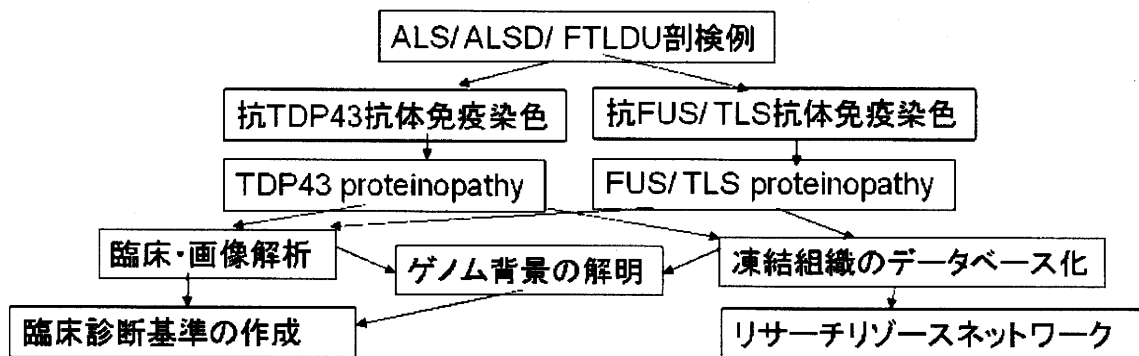


図 1. 研究構築のパラダイム

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、国立精神・神経医療研究センターでは、この倫理指針に従っての共同研究に関し、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182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、88例の脊髄の凍結と組織学的検索を完了した。

開頭剖検例については高齢者ブレインバンクプロトコール (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)、

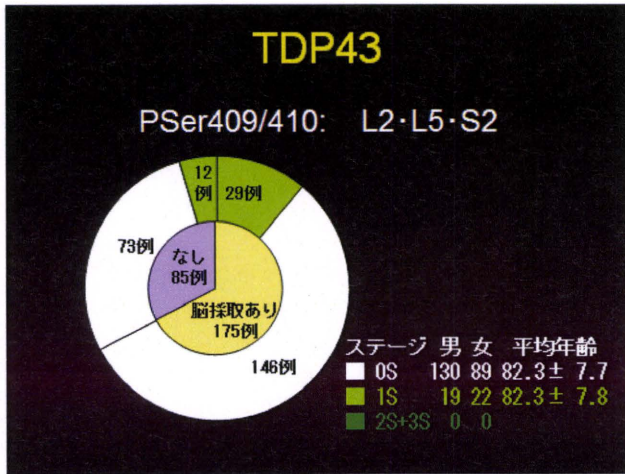


図2. 脊髄資源の構築。

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]

症例	年齢/性別	神経病理診断	老年性変化					音響		TDP-43		WB
			NFT	SP	LB	AG	p-tau	p-syn	ステージ	type		
1	96/女	FTLD-TDP43	Ⅲ	0	I	Ⅲ	0S	0S	3T2MOS	3	1or3	
2	79/女	AD	Ⅲ	C	Ⅲ	I	2S	1S	3T0MOS	3		
3	77/女	AD	Ⅲ	C	Ⅲ	I	2S	0S	2T0MOS	/		
4	81/女	AD	Ⅲ	C	I	I	2S	0S	2T0MOS	/		
5	90/女	AD	Ⅲ	C	0	I	2S	0S	3T0MOS	3		
6	78/男	AD	Ⅲ	C	0	I	2S	0S	2T0MOS	/		
7	91/男	AD	Ⅲ	C	Ⅲ	I	1S	0S	3T0MOS	2	3	
8	90/女	AD	Ⅲ	C	0	I	1S	0S	3T0MOS	2		
9	85/男	AD	Ⅲ	C	0	Ⅲ	1S	0S	2T1MOS	2		
10	86/女	AD/DLB	Ⅲ	C	V	I	2S	3S	3T2MOS	3		
11	75/男	AD/DLB	Ⅲ	C	Ⅲ	0	1S	0S	3T0MOS	3	3	
12	104/女	AD/DLB	Ⅲ	C	V	Ⅲ	1S	1S	3T1MOS	3		
13	85/女	AD/DLB	Ⅲ	C	V	I	2S	2S	2T1MOS	/		
14	87/女	AD/DG	Ⅲ	B	0	Ⅲ	2S	0S	3T1MOS	3		
15	85/男	AD/DG	Ⅲ	B	0	Ⅲ	2S	0S	2T1MOS	/		
16	85/女	NFTD	Ⅲ	A	I	Ⅲ	2S	0S	3T0MOS	2		
17	81/女	NFTD	Ⅲ	A	0	Ⅲ	2S	0S	2T0MOS	/		
18	84/男	DLB	Ⅲ	A	Ⅲ	I	1S	3S	3T2MOS	3		
19	89/男	MSC	Ⅲ	A	0	I	2S	0S	2T1MOS	/	??	

平均84.9 AD: 7例(35.7%) DLB: 1例(5.3%) DLB/DLB: 2例(10.5%) DG: 2例(10.5%) NFTD: 2例(10.5%) DLB/NFTD: 1例(5.3%) MSC: 1例(5.3%)

NFT: Braak NFT stage, SP: Braak amyloid stage, LB: Braak Lewy body stage, AG: Braak astrocytosis stage, type: Cairns type

表1. TDP43蛋白蓄積症

3. ALS/ALSD/FTLUD 高齢者ブレインバンクネットワーク

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

東大神経内科の一例は、塩基性封入体を伴い、経過が緩徐で若年発症だったが、封入体は、TDP43, FUS, ubiquitinに陰性であった。

コンソーシアム 蓄積凍結脊髄

ALS/ALSD	
・ バックシステム	12例
・ 上位頸髄	13例
・ 胸髄	1例
ALS 6	
・ 腰髄	1例
FTLUD	
・ 上位頸髄	2例
Control	
・ 脊髄上端・C4, D5, L4	219例

表2. 蓄積リソース

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 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。

JACALS で SOD1 変異例が静岡てんかん・神経医療センター孤発例より見いだされた。

4. FTLUD に関する検討

さらに、国立精神・神経研究センターで、FTLD-TDP43 例の他施設コンサルト症例あて、progranulin 変異が確認された。

一方東京都医学研究機構での蓄積例から、病理学的に FTLD-TDP の型別を行ったところ、FTLD-TDP43 と ALSD は免疫化学的性格が異なることが明らかとなった。

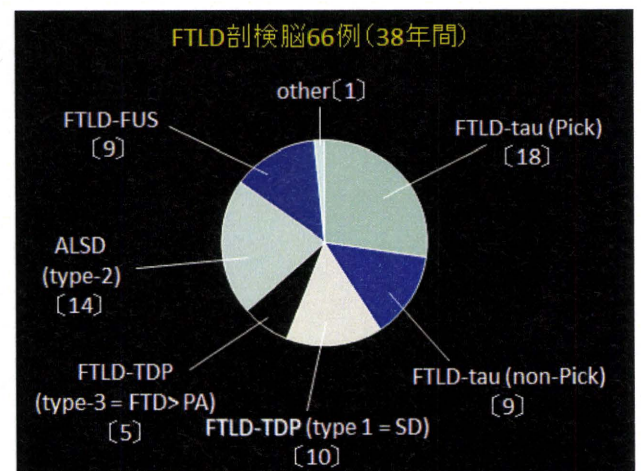
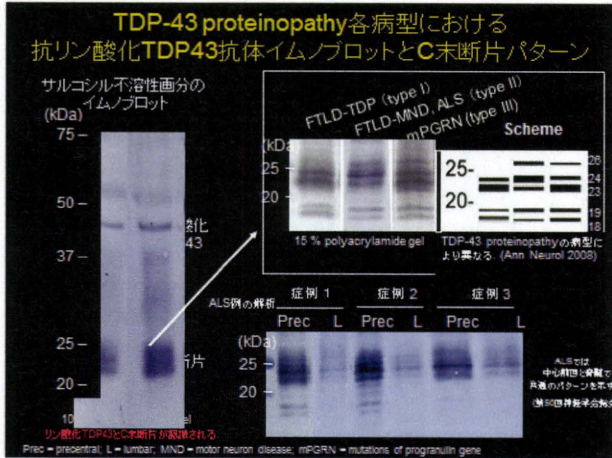


図 4. 東京医学研究機構認知症プロジェクト内 FTLD の分類

5. TDP43 蛋白蓄積型と病理所見

ALS/ PDC Complex Kii は、免疫ブロット上では type 3 に属するが、二次性 TDP43 蛋白蓄積症との差は、脊髄のブロットが行うことが出来ていないので、最終結論は出せなかった。

一方 ALS/ ALSD は脳・脊髄とも type2 であるのに対し、FTLUDU type 1, 3 での同様の検討は、運動ニューロン・脊髄病変を欠くため、明かには出来なかった。



D. 考察

TDP43 に加え、FUS が RNA 関連蛋白であり、ALS/ ALSD/ FTLUDU 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/ FTLUDU 半脳・脊髄凍結資源が十分量蓄積できていない。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/ FTLUDU の剖検が得にくいことの両者が原因となっている。

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 とされたが、陽性率が極めて低く、Kii ALS/ PDC では陽性所見は得られなかった。抗体への依存性が強いことが言われているが、今後さらに意義付けについて、検討して行く必要がある。

E. 結論

ALS/ ALSD/ FTLUDU の脳脊髄資源の構築を目指し、TDP43 proteinopathy に加え、FUS、SOD1 も標的とすることで、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

1. 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 β -amyloid production in Alzheimer's disease. *Glycosilation* 2010; 20: 99-106
2. 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* 2010; 37: 3- 11
3. 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* 2010; 122: 46- 51
4. 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* 2010; 74: 608-610
5. Kobayashi S, Saito Y, Maki T, Murayama S: Cortical propagation of creutzfeldt- Jakob disease with codon 180 mutation. *Clin Neurol Neurosurg* 2010; 112: 520- 523
6. Adachi T, Saito Y, Hatsuta H, Funabe S, Tokumaru AM, Ishii K, Arai T, Sawabe M, Kanemaru K, Miyashita A, Kusano R, Nakashima K, Murayama S: Neuropathological asymmetry in argyrophilic grain disease. *J Neuropath Exp Neurol* 2010; 69: 737-744
7. 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* 2010; 121: 127-130
8. Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe S, Harada M, Sadakane A, Yamada M: Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan *Brain* 2010; 133; 3043-3057
9. 足立正, 今福一郎, 角田幸雄, 村山繁雄: Neurological CPC 純粋自律神経不全症で発症, Parkinson 症状と進行性の前頭側頭葉萎縮

- を示した83歳男性. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩 2010; 62 : 1343-1351
10. 四茂野はるみ, 栗崎博司, 蛇沢晶, 崎山快夫, 齊藤祐子, 村山繁雄: パーキンソニズムを主症状とした SCA2 の 1 剖検例. 臨床神経学, 2010; 50: 156-162
 11. 吉村菜穂子, 本間琢, 村山繁雄, 織茂智之: Neurological CPC 認知症を伴った Parkinson 病 85 歳男性例. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩, 2010; 62: 635-642
 12. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 齊藤祐子: 前頭側頭型認知症の診断と病理. Cognition and Dementia 2010 ; 9(1): 44-50
 13. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 坂田増弘, 齊藤祐子: 脳の老化の神経病理学. 分子精神医学 2010 ; 10(2): 16-19
 14. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 齊藤祐子: Braak 脳幹上行仮説の検証. 最新医学 2010 ; 65(4) : 30-36
 15. 村山繁雄: 【認知症 研究・臨床の最先端】 最新研究動向 認知症のブレインバンク. 医学のあゆみ 2010; 235: 647-654
 16. 高尾昌樹: Vidal R, Ghetti B. Neuroferritinopathy の病理. 神経内科 2010; 73: 132-137
 17. 高尾昌樹: MCI の臨床と神経病理学的背景 Geriatric Medicine 老年医学 2010; 48: 1408-1415
 18. 高尾昌樹: FTDP17 の神経病理. 老年期痴呆研究会 2010; 16: 135-139
 19. 徳丸阿耶, 村山繁雄: 認知症 研究・臨床の最先端】 診断 認知症における MRI 診断の可能性 背景病理を踏まえて. 医学のあゆみ 2010; 235: 619-626
 20. 村山繁雄, 徳丸阿耶, 石井賢二, 金丸和富, 齊藤祐子【知っておきたい認知症の臨床と画像】 認知症総論 認知症の動的神経病理 前方視的臨床研究と後方視的病理研究の結合. 臨床放射線 2010; 55: 1309-1318
 21. 村山繁雄, 齊藤祐子: 【ブレインバンク】 ブレインバンクの現状と展望. BRAIN and NERVE: 神経研究の進歩 2010; 62: 1013-1018
 22. 徳丸阿耶, 村山繁雄, 齊藤祐子: アルツハイマー病 update 臨床検査 CT, MRI. Clinical Neuroscience 2010; 28 (9): 1011-1013
 23. 齊藤祐子, 仙石鍊平, 村山繁雄: 臨床医のための神経病理 Lewy 小体・Lewy 神経突起のスペクトラム(3). Clinical Neuroscience 2010; 28: 962-963
 24. 齊藤祐子, 池村雅子, 村山繁雄: 臨床医のための神経病理 Lewy 小体・Lewy 神経突起のスペクトラム(2). Clinical Neuroscience 2010; 28: 722-723
 25. 齊藤祐子, 村山繁雄: 臨床医のための神経病理 Lewy 小体・Lewy 神経突起のスペクトラム(1). Clinical Neuroscience 2010; 28: 482-483
 26. 池村雅子, 齊藤祐子, 仙石鍊平, 深山正久, 村山繁雄: 【レヴィ小体をめぐって】 末梢神経のレヴィ小体. Brain Medical 2010; 22: 159-165
 27. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 坂田増弘, 齊藤祐子: 【脳老化の神経科学】 脳の老化の神経病理学. 分子精神医学 2010; 10: 100-104
 28. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 齊藤祐子: 【パーキンソン病 最近の進歩】 病因・病態の解明 Braak 脳幹上行仮説の検証. 最新医学 2010; 65: 814-820
 29. 村山繁雄, 齊藤祐子: 【認知症診療マニュアル】 その他の認知症 タウオパチーによる認知症 DG, NFTD, DNTC. 神経内科 2010; 72 Suppl.6: 404-408
 30. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 齊藤祐子: 【前頭側頭葉変性症の症候学】 前頭側頭型認知症の診断と病理. Cognition and Dementia 2010; 9: 44-50
 31. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 齊藤祐子: 【アルツハイマー型認知症 この10年とこれから】 認知症の診断 この10年とこれから 大脳白質病変の再評価. 老年精神医学雑誌 2010; 21sup1: 29-35
 32. 村山繁雄, 齊藤祐子 Basic Neuroscience 神経病理 α シヌクレインはどこから蓄積するか? Annual Review 神経 2010 : 17-26

口頭発表

1. Murayama S, Takao M, Akatsu H, Saito Y. : Establishment of Japanese brain bank network for neuroscience research. XVIth International Congress of Neuropathology, Salzburg, Austria, 2010.9, Brain Pathol 2010; 20 Suppl 11:45
2. Takao M, Spina S, Spillantini MG, Murrell JR, Unverzagt FW, Farlow MR, Ghetti B. : Motor dysfunction and multi-domain mild cognitive impairment in association with FUS immunopositive intra-neuronal inclusions. 7th International Conference of Frontotemporal dementia, Indianapolis, USA, 2010.10 Geriatr Cog Dis 2010; 30 Suppl 1: 40-41
3. Murayama S, Akiyama H, Shimizu J, Saito Y, Hasegawa M: Consortium for motor neuron disease and frontotemporal dementia in Japan. 7th International Conference of Frontotemporal dementia, Indianapolis, USA, 2010.10

4. 神澤孝夫, 谷崎義生, 赤路和則, 高尾昌樹, 美原盤: rt-PA 静注療法における脳梗塞病型別予後. *Stroke*2010, 岩手, 2010.4.15-4.17
5. 谷崎義生, 秋山武和, 平賀健司, 赤路和則, 神澤孝夫, 高尾昌樹, 美原盤: 地域脳卒中救急医療体制再構築に対する脳卒中専門病院の役割. *Stroke*2010, 岩手, 2010.4.15-4.17
6. 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 沢辺元司, 村山繁雄: パーキンソン病における胸髄前根 B-fiber の検討. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
7. 齊藤祐子, 大矢寧, 村田美穂, 有馬邦正, 村山繁雄. 筋強直性ジストロフィーの中枢神経病変—老年性変化の網羅的検討. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
8. 杉浦明, 小尾智一, 山崎公也, 宍戸丈郎, 北本哲之, 村山繁雄, 溝口功一: 全脳型病変をきたした, プリオン遺伝子 E200K 変異を伴うクロイツフェルトヤコブ病一剖検例. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
9. 有馬邦正, 村田美穂, 塚本忠, 岡本智子, 山村隆, 久野貞子, 秋口一郎, 村山繁雄, 森秀生, 河原直人, 齊藤祐子: パーキンソン病ブレインバンク Progress Report 2009. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
10. 村山繁雄, 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 鈴木衣子, 齊藤祐子, 清水潤: 高齢者ブレインバンク 年次報告. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
11. 杉山美紀子, 仁科祐司, 本間尚子, 足立正, 舟辺さやか, 初田裕幸, 黒岩義之, 村山繁雄: 両側前角中心に限局的懐死病変を呈した外傷性頸椎損傷の 1 剖検例. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
12. 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: 嗜銀顆粒性認知症の臨床診断の確立. 第 51 回日本神経病理学会総会学術研究会, 東京, 2010.4.23-25
13. 村山繁雄: FUS/TLS-ALS の臨床と病理. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
14. 高橋祐二, 後藤順, 渡邊雅彦, 岸田修二, 丸木雄一, 村山繁雄, 辻省次: 家族制及び孤発性 ALS における FUS 遺伝子変異と臨床病理学的特徴. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
15. 村山繁雄: ALS・ALSD・FTLDU 脳・脊髄資源の構築 (第二報). 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
16. 舟辺さやか, 初田裕幸, 杉山美紀子, 足立正, 高梨雅史, 望月秀樹, 服部信孝, 村山繁雄: 嗅粘膜上皮におけるレビー小体病理の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
17. 初田裕幸, 足立正, 舟辺さやか, 杉山美紀子, 沢辺元司, 石井賢二, 宮下哲典, 桑野良三, 村山繁雄: 楔前部と後部帯状回におけるアミロイドβ沈着. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
18. 齊藤祐子, 大矢寧, 村田美穂, 有馬邦正, 村山繁雄: 筋強直性ジストロフィーの中枢神経病変—老年性変化の網羅的検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
19. 石井賢二, 金丸和富, 石渡喜一, 仁科裕史, 齊藤祐子, 徳丸阿耶, 村山繁雄: 髄液 Aβ1-42 は PiB-PET より感度よく脳アミロイドβ沈着を確定できるのか?. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
20. 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: 嗜銀顆粒性認知症の臨床診断の確立. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
21. 坂井健二, 中村好一, 北本哲之, 佐藤猛, 水澤英洋, 森若文雄, 志賀裕正, 三篠伸夫, 黒岩義之, 西澤正豊, 武田雅俊, 犬塚貴, 阿部康二, 村井弘之, 村山繁雄, 立石潤, 調漸, 太組一朗, 原田雅史, 山田正仁: CJD サーベイランスにおける高齢発症プリオン病の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
22. 三井純, 高橋祐二, 後藤順, 齊藤祐子, 村山繁雄, 辻省次: アレイ CGH を用いた PARK2 欠失・重複変異検出によるパーキンソン病の関連解析. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
23. 杉山美紀子, 舟辺さやか, 足立正, 初田裕幸, 小尾智一, 福武敏夫, 黒岩義之, 村山繁雄: 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の脳梁病変—4 剖検例の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
24. 仁科裕史, 金丸和富, 徳丸緑, 石井賢二, 村山繁雄: PET でのアミロイドβ沈着に先行して髄液中アミロイドβ42 低下が認められた認知症の 2 例. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
25. 金丸和富, 仁科裕史, 小宮正, 村山繁雄: 脳脊髄液バイオマーカー CSF tau と ptau の比較. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
26. 加藤貴行, 金丸和富, 村山繁雄: パーキンソン病・レビー小体型認知症の頭部 MRI 白質病変の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22
27. 松田俊一, 中山貴博, 清水崇宏, 北村美月, 今福一郎, 村山繁雄: 炎症性筋疾患の MRI 所見の検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京, 2010.5.20-22

28. 荒木邦彦, 片多史明, 柴山秀博, 福武敏夫, 村山繁雄: 免疫健常の高齢者に発症した水痘帯状疱疹ウイルス性髄膜脳炎の剖検例. 第193回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2010.6.5
29. 初田裕幸, 杉山美紀子, 椎名盟子, 徳丸阿耶, 村山繁雄: 寛解増悪を繰り返したエオジン好性核内封入体病(NIHID)の69歳男性剖検例. 第193回日本神経学会関東・甲信越地方会, 東京, 2010.6.5
30. 金丸和富, 村山繁雄: 脳脊髄液タウとリン酸化タウの比較—特に境界値付近での検討. 第52回日本老年医学会学術集会・総会, 神戸, 2010.6.24-26
31. 沢辺元司, 新井富生, 櫻井うらら, 本間尚子, 相田順子, 田久保海誉, 初田裕幸, 足立正, 村山繁雄: 病理解剖試料に由来する組織バンク(病理解剖バイオバンク)事業開始. 第52回日本老年医学会学術集会・総会, 神戸, 2010.6.24-26
32. 村山繁雄, 齋藤祐子, 高尾昌樹, 赤津裕康: 神経科学ブレインバンクネットワークの構築. Neuro2010 第33回日本神経科学大会, 神戸, 2010.9.2-4
33. 齋藤祐子, 村山繁雄: DLBの病変形成過程. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
34. 團彩帆, 野中隆, 村山繁雄, 初田裕幸, 新井孝夫, 長谷川成人: RD4 エピトープ内に起こっている翻訳後修飾によるタウの生理機能変化. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
35. 宮下哲典, 齋藤祐子, 初田裕幸, 月江珠緒, 村山繁雄, 井原康夫, 桑野良三: 死後脳におけるアルツハイマー病関連遺伝子の発現プロファイリング. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
36. 温雅楠, 宮下哲典, 月江珠緒, 齋藤祐子, 初田裕幸, 村山繁雄, 柿田明美, 高橋均, 北村信隆, 赤津宏平, 井原康夫, 桑野良三: アルツハイマー病脳組織における SORL1 の遺伝子発現解析. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
37. 小林禪, 秋山治彦, 新井哲明, 細川雅人, 長谷川成人, 横田修, 寺田整司, 土谷邦秋, 大島健一, 新里和弘, 近藤ひろみ, 羽賀千恵, 下村洋子, 池田学, 小柳清光, 石津秀樹, 村山繁雄, 中野今治, 水澤英洋: 本邦における FELD-FUS 症例の検討. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
38. 村上一馬, 堀越(櫻庭)優子, 村田央, 野田義博, 増田裕一, 木下憲明, 初田裕幸, 村山繁雄, 白澤卓二, 清水孝彦, 入江一浩. 第29回日本認知症学会学術集会, 名古屋, 2010.11.5-7
39. 村山繁雄, 広吉祐子, 金丸和富, 伊藤慎治, 杉山美紀子, 舟辺さやか, 高尾昌樹, 新井富生, 徳丸阿耶, 鈴木衣子, 村山繁雄. 層状の脱髄を呈した43歳男性例. 第97回日本神経病理学会関東地方会, 東京, 2010.12.4

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

平成 22 年度 障害者対策総合研究事業（神経・筋疾患分野）「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」
（分担）研究報告書

前頭側頭葉変性症脳における FUS 病変の組織病理学的検討

研究分担者：秋山治彦¹⁾

研究協力者：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

筋萎縮性側索硬化症（ALS）から前頭側頭葉変性症（FTLD）にまたがる疾患のひとつとして、2009 年以降、FUS 異常蓄積を伴う FTLD（FTLD-FUS）が知られるようになった。しかしこれまでのところ、蓄積した FUS について明らかな生化学的異常は指摘されていない。本研究では当研究所に組織切片が所蔵されていた FTLD 全 66 例について再検討を行った。その結果、タウ陰性・TDP-43 陰性であった 10 例中 9 例が FTLD-FUS であった。9 例の病型内訳は、好塩基性封入体病（BIBD）が 5 例、神経細胞中間径フィラメント封入体病(NIFID)が 2 例、非定型的 FTLD-U（aFTLD-U）が 1 例、分類不能の FTLD-FUS が 1 例と、欧米に比べ aFTLD-U の頻度が低かった。また、これらの標本を、市販の 7 種類の抗 FUS 抗体を用いて免疫組織化学的に検討したところ、FUS のカルボキシル末端側部分を抗原とする抗体では、核の染色性が封入体の染色性より高かった。一方 FUS の中間部分を抗原とする抗体では、封入体の染色性の方が核の染色性より高かった。FTLD-FUS の異常蓄積～封入体形成過程において FUS 分子のコンフォメーションが変化している可能性がある。

A.研究目的

2009 年に塩基性封入体を伴う家族性筋萎縮性側索硬化症（ALS-6）の原因が RNA 結合蛋白質 FUS の遺伝子異常であることが明らかになり、同時に、この疾患の塩基性封入体に FUS が異常蓄積していることが示された。その後、タウ陰性・TDP-43 陰性の前頭側頭葉変性症（FTLD）の多くで細胞質封入体が FUS 陽性であることが明らかになった。これらの群には、従来、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)、非定型的 FTLD-U（aFTLD-U）と呼ばれていた疾患が含まれる。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・脊髄資源の構築にあたり、本邦における FTLD-FUS の頻度、病型やその特徴を明らかにする必要がある。

また、これまでのところ、蓄積した FUS につい

て明らかな生化学的異常は指摘されていないが、これらの疾患に異常蓄積した FUS を病理組織標本において確実に検出し、病理診断をくらすためには、FUS 分子に生じている異常を見出すことが重要である。

そこで、当研究所に組織切片が所蔵されていた FTLD 全 66 例について再検討を行って臨床病理診断を確認すると共に、FUS のさまざまな部位を認識する異なる抗体によって FTLD-FUS 組織標本の免疫組織化学染色を行い、FUS 陽性封入体の免疫化学的なプロファイルを検討した。

B.研究方法

病型分類には型どおり病理組織標本を作製し、リン酸化タウ、リン酸化 TDP-43、 α インターネキシン、ユビキチン、FUS に対する抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。異常蓄積 FUS の免疫化学的プロファイルの検討には、上記で見出された FTLD-FUS、9 例を用いた。FUS はホルマリン固定

により容易に染色性が低下する。そこで予備的研究として、市販されている抗 FUS 抗体十数種類から、ホルマリン固定標本でも FUS を検出する抗体 7 種類を選び出した。次いでこの 7 種の抗体を用いて FTLD-FUS の大脳皮質標本を染色し、細胞核と封入体の染色性を比較した。必要に応じて異なる抗体濃度を使用し、抗体を希釈していく過程で、核と封入体、どちらの染色が先に減弱～消失するかを決めた。(倫理面への配慮)

剖検脳の解析にあたっては、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理基準に準拠することとし、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、連結可能匿名化による個人情報の保護を図った上で使用した。すべての研究計画は東京都精神医学総合研究所の倫理委員会の審査承認を受けた。

C. 研究結果

全 66 例の FTLD 中、9 例の FTLD-FUS が見出された。タウ、TDP-43、FUS いずれの蓄積も確認できなかったのは 66 例中 1 例であった。FTLD-FUS の病型の内訳は、好塩基性封入体病 (BIBD) が 5 例、神経細胞中間径フィラメント封入体病 (NIFID) が 2 例、非定型的 FTLD-U (aFTLD-U) が 1 例、分類不能の FTLD-FUS が 1 例であった。すべての例が臨床的には behavioral variant of FTD として発症していた。

なお分類不能の 1 例は、病理学的には、大脳皮質の FUS 蓄積が主として変性神経突起の形をとっており、細胞質封入体はむしろ少ない点が従来の FTLD-FUS の報告にない特徴であった。皮質下構造では細胞質封入体が比較的多く認められた。さらに、FTLD 発症後十数年の経過を経て ALS の徴候を呈し、病理学的には TDP-43 蓄積を伴う (通常) ALS 病変を示した。偶然の合併とするには両疾患の頻度が低いが、現時点では、同一症例における FUS 蓄積と TDP-43 蓄積の同時出現 (出現部位は基本的には異なっている) を説明することは難しい。

次いで、これら FTLD-FUS 例の大脳皮質につい

て、FUS 分子の様々な部位に対する抗体 (市販) 7 種を用いて免疫染色を行った。それぞれの抗体は FUS のアミノ酸配列のうちアミノ末端側から順に [1-50] (2 種類), [52-400], [86-213], [250-300], [400-450], [500-526] を抗原として作製されたものである。その結果、FUS のカルボキシル末端側部分 ([400-450], [500-526]) を抗原とする抗体では、核の染色性が封入体の染色性より高かった。一方 FUS の中間部分 ([52-400], [86-213], [250-300]) を抗原とする抗体では、封入体の染色性の方が核の染色性より高かった。アミノ末端側 ([1-50]) に対する抗体は症例により異なる染色結果を示した。

D. 考察

特定の研究室に集積された標本から人口全体の発症率を推測することはできないが、FTLD の病型分類が整備されたのが最近であることを勘案すると、FTLD 中での亜型の割合は、実態に近いと考えられる。したがって、本邦では FTLD-FUS が FTLD 全体に占める割合は欧米とほぼ同様、FTLD 全体の 10~20% を占めると思われる。異常より、タウ、TDP-43、FUS の免疫染色は FTLD~ALS 圏の剖検脳脊髄資源構築にあたっては必ずスクリーニングを行う必要があると考えられた。なお FTLD-FUS の亜型分類では、本邦では aFTLD-U の頻度が欧米より低かい点を考慮すべきである。

また本研究では FTLD-FUS の異常蓄積~封入体形成過程において FUS 分子のコンフォメーションが変化している可能性が示された。FTLD-FUS については今後、凍結脳脊髄資源を整備して FUS の生化学的解析を行う必要がある。なお、上述した異常蓄積 FUS のスクリーニングにおいては、FUS 分子の中間部分を認識する抗体 (たとえば抗 FUS [86-213] 抗体) の使用が推奨される。抗 FUS [52-400] 抗体については、TDP-43 異常蓄積の一部を (すべてではない) 認識することから、スクリーニングでの使用に用いることが可能かどうかは、今後さらなる検討を要する。

E. 結論

FTLD-FUS は本邦においても FTLD 全体の 10~20% を占めると考えられる。ALS~FTLD 剖検脳脊髄資源構築のための病理診断において、FUS 分子の中間部分を認識する抗体を用いた免疫組織化学的解析を全例に行う必要がある。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Asaoka T, Tsuchiya K, Fujishiro H, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Iseki E, Oda T, Onaya M, Tominaga I, Argyrophilic grain disease with delusions and hallucinations: a pathological study., *Psychogeriatrics*, 10, 69-76, 2010
2. Beach TG, Adler CH, Sue LI, Vedders L, Lue L, White Iii CL, Akiyama H, Caviness JN, Shill HA, Sabbagh MN, Walker DG; Arizona Parkinson's Disease Consortium, Multi-organ distribution of phosphorylated alpha-synuclein histopathology in subjects with Lewy body disorders, *Acta Neuropathol*, 119, 689-702, 2010
3. Habuchi C, Iritani S, Sekiguchi H, Torii Y, Ishihara R, Arai T, Hasegawa M, Tsuchiya K, Akiyama H, Shibayama H, Ozaki N, Clinicopathological study of diffuse neurofibrillary tangles with calcification With special reference to TDP-43 proteinopathy and alpha-synucleinopathy, *J Neurol Sci*, 301, 77-85, 2010
4. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Arai T, Aoki M, Hasegawa M, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H, Occurrence of basophilic inclusions and FUS-immunoreactive neuronal and glial inclusions in a case of familial amyotrophic lateral sclerosis, *J Neurol Sci*, 293, 6-11, 2010
5. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Arai T, Yokota O, Yoshida M, Shimomura Y, Kondo H, Haga C, Asaoka T, Onaya M, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H, Clinicopathological characteristics of FTLD-TDP showing corticospinal tract degeneration but lacking lower motor neuron loss, *J Neurol Sci*, 298, 70-77, 2010
6. Kobayashi Z, Tsuchiya K, Kubodera T, Shibata N, Arai T, Miura H, Ishikawa C, Kondo H, Ishizu H, Akiyama H, Mizusawa H, FALS with Gly72Ser mutation in SOD1 gene: Report of a

- family including the first autopsy case, *J Neurol Sci*, 300, 9-13, 2010
7. Kuwahara H, Tsuchiya K, Saito Y, Kobayashi Z, Miyazaki H, Izumiyama Y, Akiyama H, Arai T, Mizusawa H, Frontotemporal lobar degeneration with motor neuron disease showing severe and circumscribed atrophy of anterior temporal lobes, *J Neurol Sci*, 297, 92-96, 2010
 8. Nozaki I, Arai M, Takahashi K, Hamaguchi T, Yoshikawa H, Muroishi T, Noguchi-Shinohara M, Ito H, Itokawa M, Akiyama H, Kawata A, Yamada M, Familial ALS with G298S mutation in TARDBP: a comparison of CSF tau protein levels with those in sporadic ALS, *Intern Med*, 49, 1209-1212, 2010
 9. Tamaoka A, Arai M, Itokawa M, Arai T, Hasegawa M, Tsuchiya K, Takuma H, Tsuji H, Ishii A, Watanabe M, Takahashi Y, Goto J, Tsuji S, Akiyama H, TDP-43 M337V mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis in Japan, *Intern Med*, 49, 331-334, 2010
 10. Yokota O, Davidson Y, Bigio EH, Ishizu H, Terada S, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM, Phosphorylated TDP-43 pathology and hippocampal sclerosis in progressive supranuclear palsy, *Acta Neuropathol*, 120, 55-66, 2010
 11. Yokota O, Davidson Y, Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, Ishizu H, Terada S, Sikkink S, Pickering-Brown S, Mann DM, Effect of topographical distribution of alpha-synuclein pathology on TDP-43 accumulation in Lewy body disease, *Acta Neuropathol*, 120, 789-801, 2010
- ### 2. 学会発表
1. Akiyama H, Kobayashi Z, Arai T, Hosokawa M, Tsuchiya K, Yokota O, Shimomura Y, Kondo H, Haga C, Hasegawa M (2010) Screening for FUS proteinopathy in the institutional brain collection. The 7th International Conference on Frontotemporal Dementias, Indianapolis, USA [2010/10/06]
 2. 羽賀千恵, 池田研二, 新井哲明, 石山宮子, 柳下三郎, 下村洋子, 近藤ひろみ, 細川雅人, 土谷邦秋, 秋山治彦 (2010) 内嗅領皮質野に出現するユビキチン顆粒(UPG)の再検討. 第51回日本神経病理学総会学術研究会 [2010/04/24]
 3. 横田修, Davidson Yvonne, Bigio Eileen H, 石津秀樹, 寺田整司, 新井哲明, 長谷川成人, 秋山治彦, Sikkink Stephen, Pickering-Brown Stuart, Mann David MA. (2010) 進行性核上性麻痺症例におけるリン酸化 TDP-43 病理、海馬硬化、認知機能低下の関係の検討. *Dementia Japan* 24: 328.
 4. 山下万貴子, 野中隆, 亀谷富由樹, 細川雅人, 秋

- 山治彦, 長谷川成人. (2010) TDP-43 凝集体形成による神経細胞毒性の誘導. *Dementia Japan* 24: 387.
5. 小林禅, 秋山治彦, 新井哲明, 細川雅人, 長谷川成人, 横田修, 寺田整司, 土谷邦秋, 大島健一, 新里和弘, 近藤ひろみ, 羽賀千恵, 下村洋子, 池田学, 小柳清光, 石津秀樹, 村山繁雄, 中野今治, 水澤英洋 (2010) 本邦における FTLD-FUS 症例の検討. *Dementia Japan* 24: 391
6. 新井哲明, 松脇貴志, 長谷川成人, 秋山治彦, 野中隆, 細川雅人, 近藤ひろみ, 西原真杉 (2010) プログラニューリンノックアウトマウス脳の組織化学的解析. 第 51 回日本神経病理学総会学術研究会 東京 [2010/04/24]
7. 辻浩史, 宅間浩, 中馬越清隆, 富所康志, 石井亜紀子, 石井一弘, 渡邊雅彦, 山下万貴子, 野中隆, 亀谷富由樹, 新井哲明, 長谷川成人, 秋山治彦, 玉岡晃. (2010) TDP-43 proteinopathy に認める TDP-43 蛋白 C 末端断片に関する検討. *Dementia Japan* 24: 386.
8. 辻浩史, 長谷川成人, 野中隆, 新井哲明, 山下万貴子, 亀谷富由樹, 秋山治彦, 宅間浩, 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 (2010) 筋萎縮性側索硬化症に蓄積する TDP-43 蛋白 C 末端断片に関する検討. 第 51 回日本神経学会総会, 東京 [2010/05/21]
9. 眞鍋雄太, 土谷邦秋, 新井哲明, 秋山治彦 (2010) パーキンソン病の病理所見を呈する Shy-Drager 症候群と臨床診断されていた 3 例. 第 51 回日本神経病理学総会学術研究会 東京 [2010/04/24]

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ン樹脂に包埋し 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

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もに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。

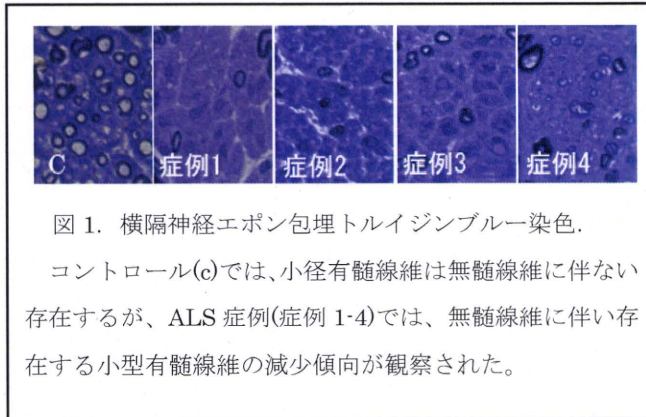


図 1. 横隔神経エボン包埋トルイジンブルー染色。

コントロール(c)では、小径有髄線維は無髄線維に伴い存在するが、ALS 症例(症例 1-4)では、無髄線維に伴い存在する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る印象があった。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. 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

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

2. 実用新案登録

3. その他

研究発表

1) 国内

そのうち主なもの

論文発表

1. 清水 潤 悪性腫瘍関連筋炎 *Brain and Nerve* 62(4):427-432;2010
2. 清水 潤 膠原病・類縁疾患に伴う神経・筋障害の診断と治療 多発筋炎・皮膚筋炎 日本内科学会雑誌 99(8):45-52;2010
3. 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
4. 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
5. 清水 潤 多発筋炎・皮膚筋炎 *Clinical Neuroscience* Vol28:194-198 2010

学会発表

1. 清水 潤 サルコイドミオパチーの筋病理所見～炎症性筋疾患の中での位置づけ～第172回日本サルコイドーシス/肉芽腫性疾患学会関東地方会,東京,2010
2. 清水 潤 抗SRP抗体陽性ミオパチーについて 第2回筋炎ワークショップ,東京,2010
3. 清水 潤 末梢神経障害の臨床と病理 第38回倉敷脳疾患研究会,倉敷 2010
4. 清水 潤 筋炎の病理所見について 第4回膠原病臨床病理研究会,東京,2009

2)海外

そのうち主なもの

論文発表

1. Takada K, Shimizu J, Kusunoki S. Apoptosis of primary sensory neurons in GD1b-induced sensory ataxic neuropathy.

Exp Neurol. 209:279-83,2008

2. Ishiura H, Matsuda S, Higashihara M, Hasegawa M, Hida A, Hanajima R, Yamamoto T, Shimizu J, Dalmau J, Tsuji S. Response of anti-NMDA receptor encephalitis without tumor to immunotherapy including rituximab. *Neurology.* 2008 Dec 2;71(23):1921-3.
3. Shimizu J, Hatanaka Y, Hasegawa M, Iwata A, Sugimoto I, Date H, Goto J, Shimizu T, Takatsu M, Sakurai Y, Nakase H, Uesaka Y, Hashida H, Hashimoto K, Komiya T, Tsuji S. IFN β -1b may severely exacerbate Japanese optic-spinal MS in neuromyelitis optica spectrum. *Neurology.* 2010 Sep 8;75:1423-142

学会発表

1. Immunohistochemical and electron microscopy study of myositis with rheumatoid arthritis. Shimizu J, Hashimoto M, Kadoya M, Koide Y, Kubota A, Tsuji S XII ICNMD, 2010, Naples, Italy.
2. Clinical and pathological features of myopathy associated with antimitochondrial antibodies Hashimoto M, Kowa H, Iwata A, Kadoya M, Tsuji S, Shimizu J, XII ICNMD, 2010, Naples, Italy.