

《トピックス》

アルツハイマー病と脳老化の病理学

村山 繁雄 齊藤 祐子

特集 今、認知症にどう向き合うか

臨床雑誌「内科」第109巻 第5号〔2012年5月号〕別刷

南 江 堂

## 《トピックス》

# アルツハイマー病と脳老化の病理学

村山 繁雄 齊藤 祐子\*

### 要 旨

- アルツハイマー病の病変の首座は大脳皮質、かつ神経細胞である。初期病変は神経情報伝達障害であり、進行すると神経細胞脱落にいたる。
- アルツハイマー病の変化は、アミロイドβ蛋白により細胞外に構成される老人斑と、微小管構成蛋白であるタウ蛋白よりなり、細胞内に構成される神経原線維変化よりなる。この変化は量・範囲ともに連続性に進展し、アルツハイマー型老年性変化と総称される。
- アミロイドβ蛋白蓄積がタウ蛋白の蓄積を誘導するというアミロイド仮説に基づき、アルツハイマー病に対し抗アミロイドβ蛋白療法の治験が行われたが、現在までのところまったく成功していない。
- この事実を受け、より早期に治療介入すべきであるとの観点より、アルツハイマー病の臨床診断をより早期に移行する新診断基準が提唱されている。その適用には、臨床・画像・バイオマーカーを駆使することが要求される。

### はじめに○

AD は今世紀の初頭、Alzheimer により、高齢に認められる特異な認知症疾患として、梅毒性の進行麻痺より分離された。最初の報告例は 50 歳代後半であったが当時では高齢であり、神経病理学的に、神経原線維変化(NFT)と、老人斑(Fig. 1)が記載され、異常構造物の出現が、診断に必須の事項とされるにいたった。

ADNFT と老人斑という、若年者には認められ

ない変化を疾患の基本とするパラダイムシフトを提供したのは、Alzheimer の偉大な功績だが、同年齢の正常コントロールに関する検討を欠いている点は、それ以後の精神科領域の病理に一貫して存在する問題点の端緒ともなった。

実際、NFT と老人斑は、筆者らの検討を含め、鍍銀染色では 40 歳代より認められる<sup>1)</sup>。また異論もあるが、最近の Braak らの報告では、リン酸化タウ免疫染色での陽性所見(pretangle)は、青斑核で

キーワード：アミロイドβ蛋白、タウ、神経原線維変化、老人斑。

\* S. Murayama (リーダー)：東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク (〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2)；Y. Saitoh (医長)：国立精神神経医療研究センター臨床検査部。

は10歳代から出現するとされる<sup>2)</sup>。抗A $\beta$ 免疫染色で筆者らが再検しても、鍍銀染色の結果とは変わらず、老人斑の出現は40歳代である。65歳以上の症例に限れば、ADNFTはほぼ必発である。

異常とされた構造が、知的機能正常とされる剖検例にも認められるという点についての解決法をもたらしたのがBraakらである(Fig. 1)。本稿では、Braakが提唱した進展分類を高齢者ブレインバンク連続登録例に適用した結果を述べる。

## 連続変化としてのADの老年性変化○

### 1. 神経原線維変化(ADNFT)と老人斑における細胞病理からみた成熟度(Fig. 2)

アルツハイマー型老年性変化の広がりに関する議論の前に、これらの変化の細胞病理学的成熟について述べる。

ADNFTは、リン酸化されたタウを構成成分とする。蛋白質化学的に不溶画分に分画され、超微形態的にはpaired helical filamentよりなる(Fig. 1b)。抗リン酸化タウ抗体として、ADNFTを認識するもっとも感度のよい抗体が抗リン酸化タウ抗体(AT8)であるが、実際タウは正常にもリン酸化されており、AT8は外科材料では正常の神経細胞も陽性に染色するので、注意が必要である。主に動物実験の結果から、AT8免疫染色陽性で、Galylas鍍銀染色陰性の細胞質内封入体をpretangle、両方ともに陽性のものをNFTと区別する。さらに、時間がたったNFTは、神経細胞死の後、星状膠細胞に取り囲まれるかたちで残り、ghost tangle(GT)と呼ばれる。ただし、pretangle、NFT、ghost tangleが、連続的な過程であるかどうかは、動物実験では、NFT、GTを形成することに成功していないのでわからない。

同様のことは、老人斑についてもいえる。びまん性老人斑(diffuse plaque: DP)は、抗A $\beta$ 抗体免疫染色、山口晴保博士の開発された改良メセナミン銀染色<sup>3)</sup>で陽性に染色されるが、コンゴレッドやチオフラビンなどの、アミロイド染色では検出できない。Alzheimerが記載したのは、

Bielshowsky鍍銀染色で描出される、回りに異常神経突起を伴い、中央にコアをもった古典的的老人斑(classic plaque: CP)(Fig. 2)と呼ばれるもので、アミロイド染色陽性である。さらに、神経変性が進むと突起がなくなり、中央にあるアミロイドコアだけが残るかたちとなり、燃え尽き老人斑(burnt our plaque: BP)と呼ばれる。しかし、動物実験ではDPしか観察されないで、DP、CP、BPが連続的過程であるかも不明である。

### 2. アルツハイマー病理の進展ステージ分類と老化

ADの神経病理診断基準として、最初に提出されたKhachaturian基準<sup>4)</sup>は、一定の数の老人斑が新皮質にあり、認知症があれば、ADと診断するものであり、USADNIで採用されている。一方、CERAD(Cosortium for Establishment of Registry of Alzheimer Disease)基準<sup>5)</sup>は、Bileshowskyあるいはthioflavin S染色で、新皮質で古典的的老人斑の数が200倍視野で11個以上あり、認知症があれば、ADとするもので、米国においてはNIHの研究費申請、臨床雑誌での投稿を支配することで、一種の世界標準を形成している。しかし、この基準はA $\beta$ の蓄積をみているわけではなく、またエビデンスに基づく根拠はない。

Braak夫妻は、対象バイアスのかからない連続剖検例を検討し、かつ被検者バイアスのかかりにくい病変進展分類を採用することで、ステージ分類を提唱した<sup>6)</sup>。これは、老化性変化の病理学的解釈として、一定の域値を超えたとき、次のステージに突入するという概念を、客観的に示した点が、パラダイムシフトであった(Fig. 1e, f)。さらに、神経原線維変化と、老人斑を厳密に分離した結果、これは、現在汎用されている、AT8、抗A $\beta$ 抗体免疫染色と高い相関性をもつ再現性が認められる。たとえばCERAD分類は、厳密には古典的的老人斑ではなく、神経突起を伴う老人斑(neuritic plaque: NP)という、Bielshowsky染色で描出される構造を元に診断がなされる。その結果、免疫染色との対応が困難で、抗A $\beta$ 抗体免疫染色により

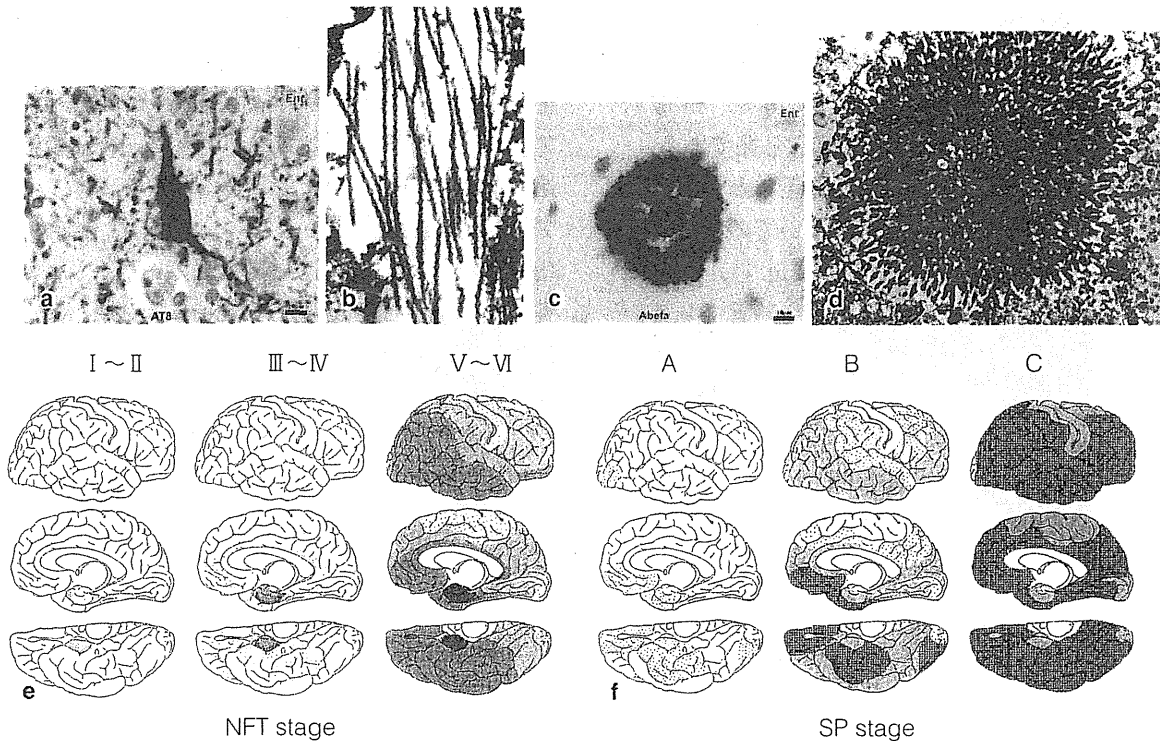


Fig. 1. Braak による AD 変化の進展ステージ分類

神経原線維変化は、抗リン酸化タウ抗体(AT8)免疫染色(a)で、神経細胞質内線維状構造として認識され、超微形態上、paired helical filament(b)より構成される。老人斑(古典的)は、アミロイドβ蛋白(Aβ)免疫染色で、コアと冠から構成される(c)。コアの部分は超微形態的に、アミロイド線維の集簇よりなる(d)。

神経原線維変化は、移行嗅内野(I)、嗅内野(II)、固有海馬(III)、辺縁系(IV)、連合野新皮質(V)、運動領(VI)と進展し(e)、辺縁系ステージ(III~IV)がMCIと、新皮質ステージ(V~VI)が、認知症と強く関連する。老人斑は、新皮質連合野(A)、海馬(B)、運動領(C)の順に進展するが、老人斑単独では認知症に関係しない。

[高齢者ブレインバンクホームページ [www.mci.gr.jp/BrainBank/](http://www.mci.gr.jp/BrainBank/)より引用]

描出される CP で代用することが、米国では行われている。しかし、厳密には NP と CP は異なる。

東京都健康長寿医療センターは、1972 年より神経疾患・非神経疾患にかかわらず、開頭剖検をできる限りとることを試みてきており、現在蓄積開頭剖検例は 7,000 例を超える。剖検率、開頭率は 1972 年に現在の形態での国際標準の神経病理学的検索が開始された時点ではいずれもほぼ 100% であったが、現在はそれぞれ 30%、80% 程度に激減している。しかし、欧米のコホート研究における剖検率に匹敵するレベルはまだ維持している。1985 年以降の DNA が保存された検体に Braak 進展ステージ分類を適用した結果を Table 1 に示す。

Braak 進展ステージ分類がいずれも低い群は、年齢が若く、いずれも高い群は、年齢が高い。また、同じ神経原線維変化での老人斑のステージの上昇は、年齢の上昇を伴わないが、同じ老人斑ステージにおける神経原線維変化ステージの増加は、年齢の上昇を明らかに伴う。また、神経原線維変化が新皮質ステージになるのは、ごく少数の例外を除いて、老人斑ステージが最終段階の C にいたっていることがわかる。これまで、老人斑が神経原線維変化を誘導するという、いわゆるアミロイド仮説が大きな影響をもってきた。これは、新皮質においてはある程度あてはまると考えられるが、辺縁系では必ずしもあてはまらないことがわかる。アミロイドステージ C 以上、ADNFT ス



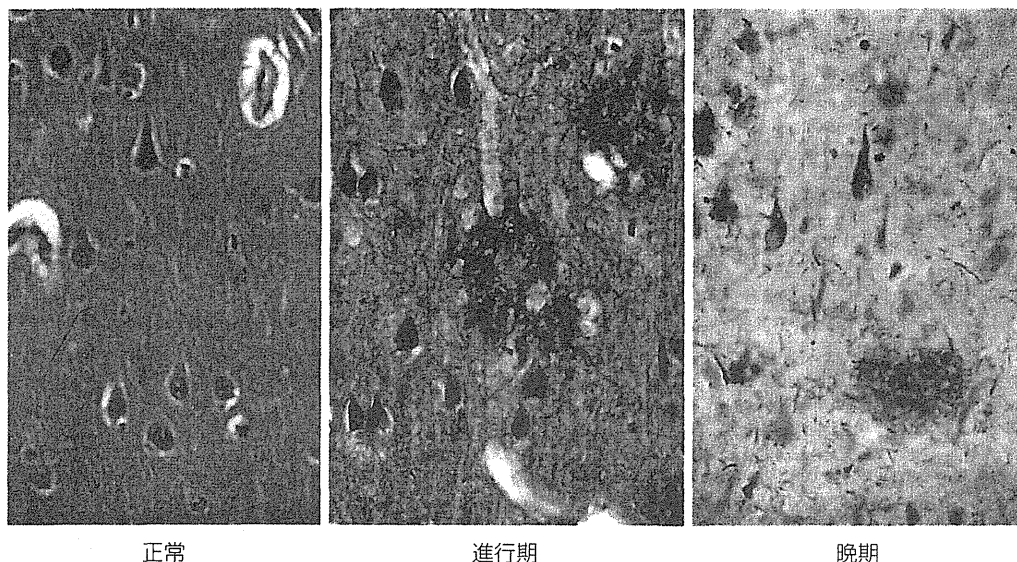


Fig. 2. アルツハイマー病細胞病理の時間経過

正常では存在しない, 神経原線維変化と老人斑が進行期に出現し, 晩期には神経細胞の脱落により, 燃え尽き老人斑と, ghost tangle が主体となる.

テージIV以上が, 特異度・感度ともにもっとも高くなるので, 筆者らはこれを AD 診断基準に採用している<sup>7)</sup>.

Braak らは, 正常と軽度認知障害のカットオフを NFT Stage II と III に置いているが, われわれの観察と一致する. 一方, AD 早期診断に有用であると, 国際的開発競争の中心となっているアミロイドペット<sup>11</sup>C PIB 検査において, 陽性を呈するのは Braak Stage B からである. また, メルボルン大学アルツハイマーバンクで, Braak Stage B 以上を AD の診断基準に採用している. この二点より, われわれはアミロイドステージのカットオフを A と B に置いている.

この2つのカットオフ値により, 高齢者脳の AD 病変は, 4 群に分けられる (Table 1).

#### AD 治療と新 AD 診断基準●

これまで, アミロイド仮説に基づいて, 動物実験で有効とされたさまざまな抗アミロイド療法の, 臨床試験が行われたが, ことごとく失敗であった. とくに, アミロイド能動ワクチン療法は, 致

死性脳炎を惹起しただけでなく<sup>8)</sup>, それを免れた患者は, 脳のアミロイドは明らかに減少しているのに, 臨床経過に変化はなかったことが示され<sup>9)</sup>, アミロイド仮説は修正を要することが明らかとなった.

この批判に対し, AD とこれまで診断された臨床例は, すでに NFT による症状の進行性増悪のスイッチが入った後の状況であり, そのスイッチが入る前に Aβ 除去療法を行えば, 有効であるとの仮説が提唱された. また, 認知症発症後はタウ蓄積の進行をブロックするほうがより有効であり, それには症状が完成する前に治療的介入が必要であるとの考えが提出されるにいたった.

この考えに基づき, 2010 年に AD の臨床診断基準の改定が提唱された. すなわち, これまでの AD は Alzheimer dementia (アルツハイマー型認知症) として晩期と考える. 症状が少しでも出現した段階で, 画像・バイオマーカーが AD を支持すれば, prodromal AD (最初期 AD) と診断する. さらに研究診断基準であるが, 老人斑蓄積の始まった段階で, 将来 AD に進展する症例を, preclinical AD (発

Table 1. 高齢者ブレインバンク DNA リソース

	0	I	II	III	IV	V	VI	計	
MSC	0	314	102	46	12	1	0	509	NFTC
		66.3	75.8	81.8	85.6	85.4	81.0	77.5	
A	16	350	149	74	23	1	0	613	NFTC
		75.5	78.0	83.6	86.2	88.6	99.0	80.6	
B	8	169	91	70	23	2	1	364	ADC
		76.1	79.9	82.8	85.6	91.2	82.0	82.4	
C	3	50	51	80	80	100	40	404	ADC
		76.0	79.4	83.0	84.5	86.6	86.4	84.4	
計	61	883	393	270	138	104	41	1,890	
		70.5	77.7	82.9	85.4	87.6	86.4	84.1	80.9

高齢者ブレインバンクでは網羅的に Braak の神経原線維変化と老人斑のステージ分類を全例に施している。上段が症例数，下段がその平均年齢を示す。旧診断で AD，新診断でアルツハイマー型認知症の診断基準として，Braak 神経原線維変化ステージ IV 以上，老人斑ステージ C を採用した場合，全剖検例に占める割合は，11.6% である。

神経原線維変化のカットオフを II/III，老人斑のカットオフを A/B にすることで，老年性変化は微小変化 (mild senile change MSC)，老人斑優位老年性変化 (plaque dominant senile change : PSC)，神経原線維変化優位老年性変化 (neurofibrillary tangle- dominant senile change : NFTC)，アルツハイマー病変化 (Alzheimer disease change : ADC) の 4 群に分けられる。

[高齢者ブレインバンクホームページより引用]

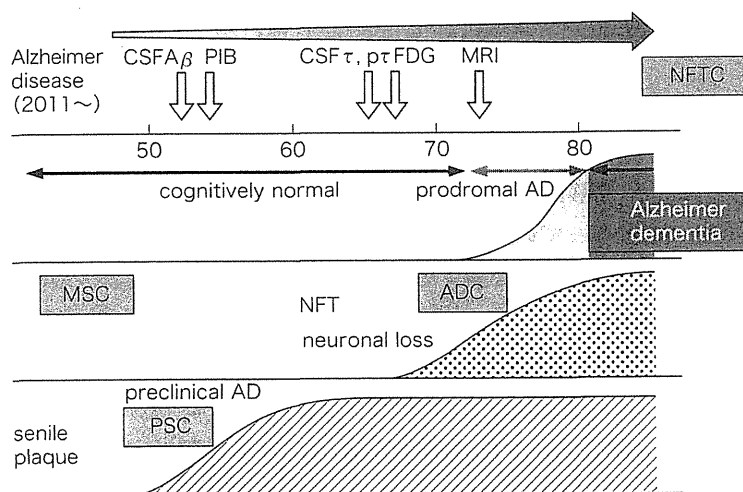


Fig. 3. AD 新診断基準

CSFA $\beta$  : 髄液アミロイド $\beta$ 蛋白, PIB :  $^{11}\text{C}$  Pittsburgh Compound B, CSF $\tau$ , p $\tau$  : 髄液タウ, リン酸化タウ, FDG :  $^{18}\text{F}$ -fluoro deoxy glucose PET scan, NFTC : 神経原線維変化優位型老年性変化, AD : アルツハイマー病, MSC : 微小老年性変化群, NFT : アルツハイマー型神経原線維変化, ADC : アルツハイマー病変化, PSC : 老人斑優位型老年性変化。

[高齢者ブレインバンクホームページより引用]

Table 2. アルツハイマー病プロジェクト

1. もの忘れ外来をベース
2. 一次スクリーニング(初診時) CT, 臨床症状, MMSE/HDSR
3. 二次スクリーニング
3.1. MRI (3D voxel based morphometry : VSRAD)
3.2. 脳血流 SPECT (ECD eZis 3.0 SVF)
4. 三次スクリーニング(1泊2日クリニカルパス)
4.1. Rivermead 行動記憶テスト(RBMT) frontal assessment battery (FAB) geriatric depression scale (GDS)
4.2. 髄液バイオマーカー (ptau, tau, A $\beta$ , 5HIAA, HVA)
4.3. 回診(筆頭著者)
5. コンセンサスカンファランス
5.1. 病院・研究所合同で診断確定
5.2. FDG, アミロイドプローブ(PIB), dopamine PET 適用決定
6. 推定背景病理に基づく的確な治療介入
7. 患者死亡時, 極力剖検を得る努力を行う(生前同意登録も推進)

症前 AD) とするものである (Fig. 3).

現在, 多施設共同研究である US-ADNI2 は, preclinical AD, prodromal AD の診断基準作成を主要研究目的としている。これは US-ADNI1, J-ADNI が, 正常, 軽度認知障害 (prodromal AD の後期相が相当), 早期 AD (新診断基準ではそれも晩期) を対象としているのに対し, より早期を対象としている。われわれは以前より AD プロジェクト (Table 2) として同様の検討をもの忘れ外来患者に適用しているが, 今後はさらに PET ボランティア患者にも広げることで, 新診断基準への対応を考慮している。

しかし, AD 診断基準をより早期にシフトさせると, 対象疾患が激増することは明らかである。筆者らの基準でも, prodromal AD に広げることで

症例数はほぼ 2 倍, subclinical AD まで広げると, 4 倍になることが予想される (Table 1)。元々 AD が 65 歳以上の高齢者の 10% という論議からは, この膨大な群をどう扱えばよいのかが医療経済の視点からは問題となることは明らかである。

### おわりに○

AD 病変は連続的に進展し, 一定の域値を超えると症状を出す。この連続的変化を, 総合的にとらえる視点が, 老化の病理の理解には必要である。

### 文献○

- 1) Saito Y et al : Niemann-Pick type C disease : accelerated neurofibrillary tangle formation and amyloid beta deposition associated with apolipoprotein E epsilon 4 homozygosity. *Ann Neurol* 52 : 351, 2002
- 2) Braak H, Del Tredici K : The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol* 121 : 171, 2011
- 3) Baptista MJ et al : Co-ordinate transcriptional regulation of dopamine synthesis genes by alpha-synuclein in human neuroblastoma cell lines. *J Neurochem* 85 : 957, 2003
- 4) Khachaturian ZS : Diagnosis of Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 42 : 1097, 1985
- 5) Mirra SS et al : The Consortium to Establish a Registry for Alzheimer's Disease (CERAD) : Part II. Standardization of the neuropathologic assessment of Alzheimer's disease. *Neurology* 41 : 479, 1991
- 6) Braak H, Braak E : Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82 : 239, 1991
- 7) Murayama S, Saito Y : Neuropathological diagnostic criteria for Alzheimer's disease. *Neuropathology* 24 : 254, 2004
- 8) Orgogozo JM et al : Subacute meningoencephalitis in a subset of patients with AD after Abeta42 immunization. *Neurology* 61 : 46, 2003
- 9) Holmes C et al : Long-term effects of Abeta42 immunisation in Alzheimer's disease : follow-up of a randomised, placebo-controlled phase I trial. *Lancet* 372 : 216, 2008

第1部 病理解剖の進め方, 切り出し方法など

C. 特殊な部位, 手技, 検体保存

## 6. ブレインバンク

村山繁雄    高尾昌樹    初田裕幸    齊藤祐子

病理と臨床【臨時増刊号】・別刷

2012 vol. 30

東京／文光堂／本郷

## 6. ブレインバンク

村山繁雄\*<sup>1</sup> 高尾昌樹\*<sup>1</sup> 初田裕幸\*<sup>1</sup> 齊藤祐子\*<sup>2</sup>

### はじめに

ブレインバンクに関する剖検マニュアルを執筆するにあたり、ブレインバンクがなぜ必要かに言及しないと、一般の剖検とは共通点を有するものの、かなり特殊である点が、理解しにくいと思われ、解説する。

### I. なぜブレインバンクか

ブレインバンクは、ヒト死後脳を臨床・画像情報とともに系統的に蓄積し、研究可能リソースとして構築する事業を指す。米国ではNIHが、EUでは加盟各国が、国家事業として研究費援助を行い展開している。本邦でも、欧米に比べ構築は遅れていたが、2010年度より高齢者ブレインバンクは、文部科学省科学研究費新領域包括脳支援ネットワーク「高齢者ブレインバンクの支援」研究費を受け、今年度からは国立長寿医療研究センター委託バンクとなり、長寿医療委託研究費を受けることとなった。

一方、国立精神・神経医療研究センターは、生前同意に基づくブレインバンク構築を、精神神経疾患研究委託費を用い推進しており、今年度文部科学省科学研究費健康脳研究費で、ブレインバンクの feasibility study を推進することとなった。それでは、なぜ、脳だけにこのような事業が必要とされているのであろうか。

ヒト脳は系統進化の最終段階にあると考えられており、動物実験の結果が外挿できる、他の全身臓器と異なる点が最も問題となる。また、ヒト脳をおかす神経変性疾患や老化・認知症疾患は、厳密な意味での動物モデルが存在しない。特に精神疾患に至ってはなおさらである。

アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症 amyotrophic lateral sclerosis (ALS)、ハンチントン

病等のヒト脳をおかす疾患は、ブレインバンクがなければ現在のレベルでの解明はならなかったと考えられ、米国アルツハイマー病リサーチセンターでは、ブレインバンクの存在が必須である(図1)。これら神経疾患においては、遺伝子診断・神経病理形態診断を組み合わせることで、ある程度リソース構築が可能である。しかし、統合失調症、双極性気分障害、うつ病等の精神疾患は、遺伝子診断、形態病理診断ともに現時点では不可能であり、正確な臨床病歴の存在が不可欠である。

### II. ブレインバンクの歴史

超低温槽の開発で、ヒト死後脳を $-80^{\circ}\text{C}$ で凍結保存し、研究資源として蓄積し、他の研究者に分配する行為は、疾患研究のためには不可欠であり、歴史的に研究者の主導によりはじまった。1960年代、英国ケンブリッジ大学でハンチントン病患者の脳を、またカリフォルニア大学サンフランシスコ校(UCSF)で多発性硬化症と正常者の脳および髄液を保存することがほぼ同時にはじめられ、それに続きハーバード大学 McLean 精神病院で精神疾患患者の死後脳の蓄積が開始されたのは、このような背景による。この場合、病理医による剖検で得られた脳を、組織検索以外に、原則として半脳凍結を行った点が、通常の剖検と異なる点である。

ブレインバンク事業に対し、UCSFでは当初より、患者、医師、研究者による、疾患克服のための市民運動であるとの立場が取られており、生前同意登録(献脳)は、運動の一貫とされた。一方、英国では国民皆保険体制を守るために、患者団体が疾患克服のために協力するという立場が強調され、パーキンソン病に関しては世界最大である英国パーキンソン病患者協会ブレインバンクは、生前献脳登録が前提である。

本邦には解剖学教室を運用主体とする献体法が、医学教育のための解剖屍体を確保するため存在するが、ブレインバンクについては、死体解剖保存法に準拠するしかない。この場合、剖検検体の管理責任をとれる、

\*<sup>1</sup> 東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク

\*<sup>2</sup> 国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査部

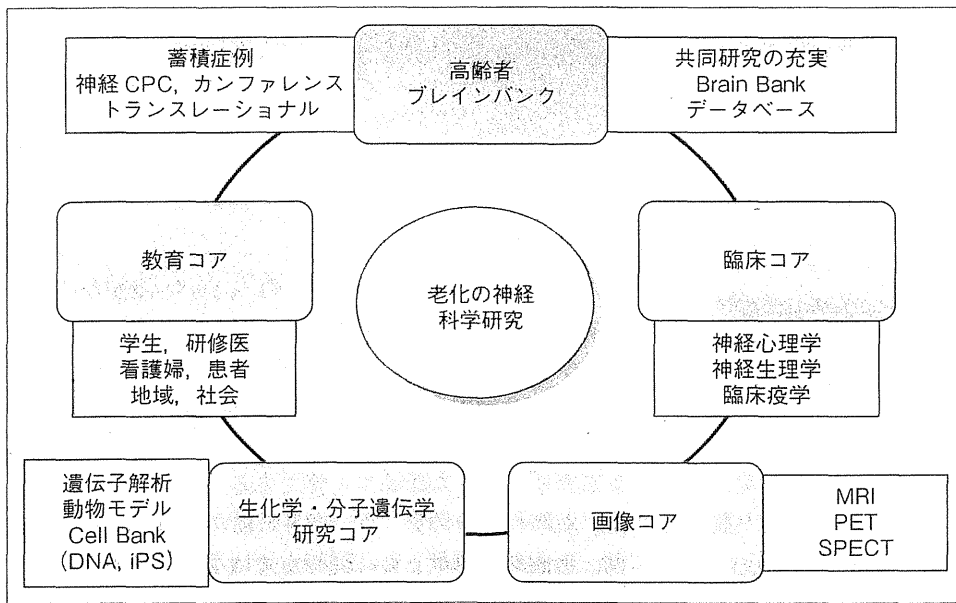


図1 高齢者ブレインバンククラスター 米国アルツハイマー病研究と同様のクラスターを、我々は採用している。

剖検資格をもつ医師の存在が必須で、病理医、ないしは病理学で一定のトレーニングを受けた医師が責任者となるしかない。

### Ⅲ. ブレインバンクにおける検体処理

欧米のブレインバンクでは、全身剖検の一環として脳を採取後、氷の上に乗せ (on ice)、ブレインバンクに搬送する。ブレインバンクはそれを処理し、固定と凍結 (on dry ice) を行い、超低温槽に保存する。死後から剖検開始、on iceまでの時刻、on dry iceまでの時刻を、それぞれ記録している。

本邦においては、脳の処理を全身剖検時同時に行うことが一般的である。したがって、剖検医が一人である場合、剖検終了後脳を処理するしかない。しかし、on ice、on dry iceともに、リソースの品質に影響を与えることは自明である。このため、我々は全身剖検チームと、ブレインバンクチームの二チームが、剖検に参加する体制を敷いており、後者に必ずしも医師がいる必要はない。

他施設からの場合は、臨床主治医の依頼、剖検を同意されたご遺族のブレインバンク登録同意、剖検担当病理医の三者同意が得られれば、我々がブレインバンクチームとして、剖検に参加し、脳の処理を行っている。

この全身剖検と同時並行で行う利点を生かすべく、欧米のブレインバンクでは存在しない、末梢神経系・骨格筋の採取も、我々は行っているが、これは別項に譲る。

### Ⅳ. 固定・凍結リソースの品質管理

固定組織から得られる標本は、切り出し部位をすべて一定にし、ブロック自体が研究リソースとなる配慮を行っている。また、標本はすべて同一部位を通常・特殊・免疫染色を行っており、教育・研究リソースとなる配慮を行っている。また、凍結リソースについては、RNA品質のチェックを、ribosomal 16S/26S比と RIND (RNA Integrity Number) を用い行っている。これらは、先進的ブレインバンクには要求されるものである。

### Ⅴ. ブレインバンクの剖検マニュアル

#### 1. 剖検まで

死後脳リソースに最も影響を与えるのは、死戦期の問題と死後時間である。病理の立場からは、死戦期への介入は不可能である。死後時間の短縮に、新潟脳研究所神経病理部門は、24時間365日剖検体制を引いているが、米国の Sun City のように、病理剖検医と技師の8時間3交代制を引くようなことがない限り、他施設での採用は難しい。一方、cooling interval も大きく影響することがわかっている。我々の施設は月～土の勤務帯内剖検を行っているが、死後遺体保管冷蔵庫に入る時間が短く、かつ冷蔵庫が正確に管理されてき

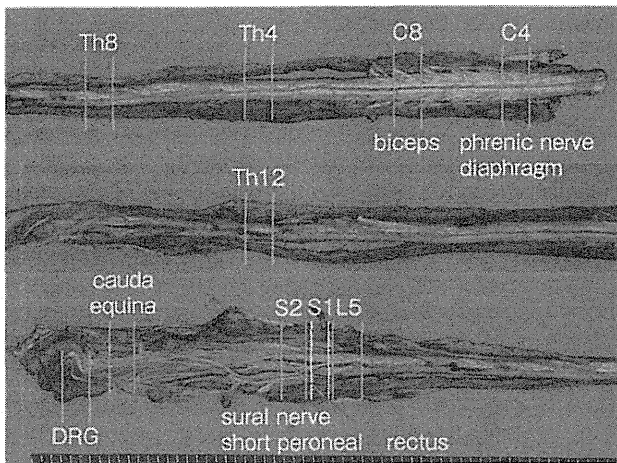


図2 脊髄のリソース蓄積 形態病理学的検査に必要な部位として、赤を4%パラホルム48時間固定、黄色を2.5%グルタルアルデヒド固定電顕用に確保している。必要部位を含み、少し長めに採取すると、採取によるアーチファクトを少なくできる。中性ホルマリンの方が固定が強いのでアーチファクトは少ないが、研究用抗体の一部の染色性は低下する。

た伝統があり、RNA品質が新潟脳研究所と遜色がないことがわかっている。死後時間に比べ、cooling intervalの短縮をはかることは、死後変化を軽減する点でも、コンセンサスを得る意味はある。

## 2. 剖検における体制

東京都健康長寿医療センターでは、剖検を重視する体制を以前より引いているため、剖検時、執刀医、剖検捕手に加え、検査技師1人、写真技師1人の4人体制をとっている。これに、ブレインバンクチームとして、ブレインバンクドクター、ブレインバンクテクニシャンが1人ずつ加わる。

病因が不明な精神・神経疾患において、死因が原疾患であることはない。また、神経病理専門医は必ずしも、全身病理診断に優れているわけではない。全身剖検は死因解明の意味で、細心の注意が必要であり、それと脳・脊髄・末梢神経・骨格筋の採取と、肉眼診断を並行して行うことは、不可能である。

我々の施設では、ブレインバンクドクターを、神経病理専門医をめざす医師が担当しているが、これは、固定前の脳・脊髄の肉眼所見が、放射線画像とよく一致する点で、神経病理診断トレーニングに必須と考えているからである。

## 3. 脳・脊髄・末梢神経の採取

脳・脊髄の採取については、脳は取り出し時の破壊を起ささないよう、脊髄は全長をできる限り採取すること

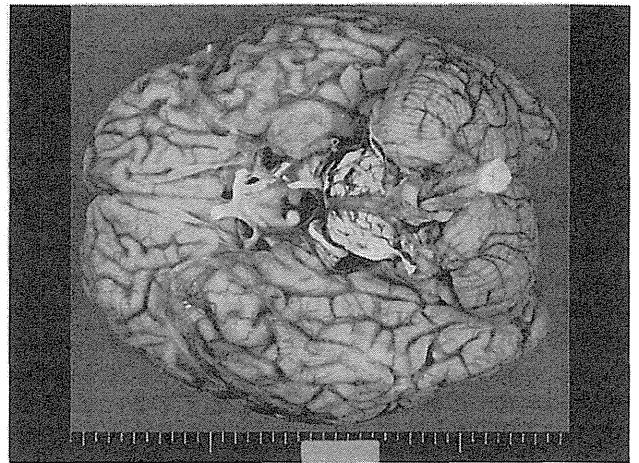


図3 底面からの撮像 固定前の場合、最も問題なく撮像でき、また有用性もある。硬膜をつけたままの上面像の有用性は低い。本例(アルツハイマー病)の場合、側頭葉内側面の萎縮が明らかである。なお、固定前の脳では、脳実質の萎縮により髄膜にちりめん様の変化が認められ、萎縮を判断するのに有用である。

が基本である。心臓よりの脱血を行う前に、脳のみを取り出すと、血液が血管内に残るため、品質上問題となるので、我々は死体血測定後に、脳を採取している。

また、筋肉(上腕二頭筋)、末梢自律神経系として、腹部皮膚(真皮内無髄線維)、胃・腸管移行部(腸管神経叢)、左室前壁(外膜内交感神経)をリソースとして採取している。

## 4. 脊髄の処理

脊髄は、現在筋萎縮性側索硬化症の病因として、TDP43, FUS/TLS, イントロンのヘキサDNAリピートの伸長によるRNAフォーカスの形成と、RNA代謝異常がクローズアップされ、脊髄凍結リソースへの要望が増加していることを受け、組織標本をつくる部位以外はすべて凍結する、欧米の運動ニューロン疾患ブレインバンクと同様の方式を採用している。

具体的には、前方から硬膜を開き、頸髄(C)第四髄節(4), 8, 胸髄(Th)4, 8, 12, 腰髄(L)4以下を切断、固定し、残りは、硬膜はそのまま、各髄節ごとに切り目を入れ、凍結している。頸膨大の終わりがT2, 腰膨大の終わりがS2であることで、髄節レベルを判定している(図2)。

## 5. 脳の処理

脳に関しては、硬膜をはずさないで写真撮影を行い、その後凍結側のみめぐり、撮像を行う。脳表の肉眼表面像(図3)は、放射線画像での再現は不可能であり、



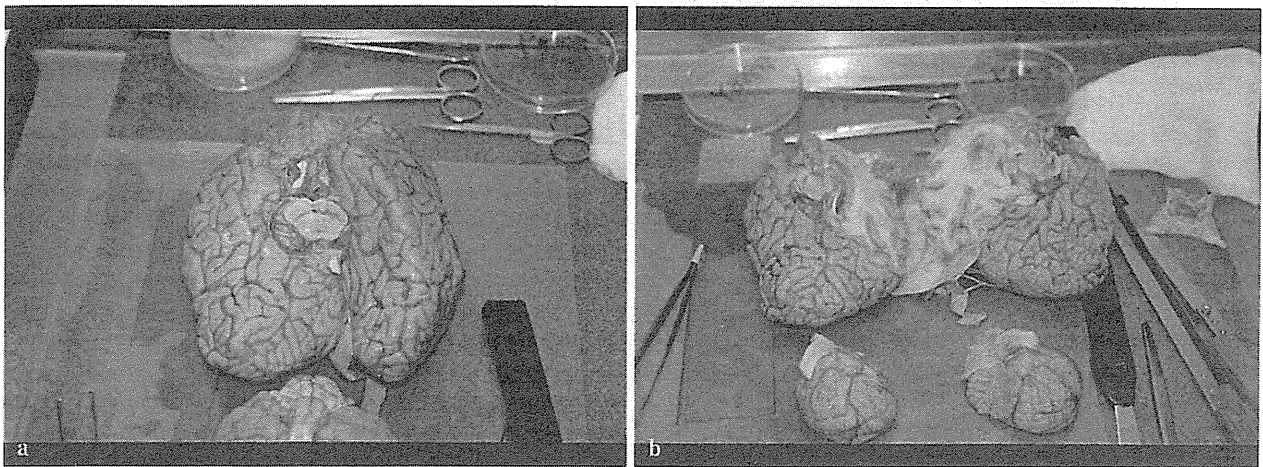


図4 a: 脳幹の切り離し 大きいメスを用いる。動眼神経が脳表に出る部位より下で割を入れると、重要な構造を避けることができる。b: 左右の切り離し 硬膜はつけたままで、正中より気持ち凍結側による感じで切る。これにより、正中構造が凍結側に回り、神経病理診断に影響が生じることを防ぐ。特に動眼神経核、舌下神経核が問題となる。



図5 冠状断面 本例の場合は国際治験に合わせるため1cm厚としている。通常は7mm厚を採用している。フェザーの長刃を使い、プラスチックプレートを用いている。脳が冷えている方が切りやすいので、氷で冷やす場合もある。固定前でも、海馬硬化の所見があることは判別できる。その場でなく、写真を撮像後、観察する方が、情報が得やすい。

きわめて重要である点に留意する。

凍結法に関しては、大脳、小脳、脳幹を薄くスライスし、迅速凍結することが基本である(図4)。この場合も、断面の写真は診断上もリソースを提供する時に提供部位の位置情報を伝えるのに重要なので、撮像は必須である(図5)。凍結法として、液体窒素蒸気を使う方法、ドライアイスパウダー、ドライアイス板を使う方法が存在する。我々は、携帯用フリーザーの底に

ドライアイス板を並べ、その上に超低温槽内で冷やした銅板を置いてアルミホイルを敷き、その上にスライス脳を並べ、ドライアイスパウダーをかけて、ふたを閉めて迅速凍結している(図6)。凍結後はジップロックに二重シールし、バーコードをはって保存している。米国では、ドライアイス板ではさみこむことが標準で、我々も出張時にはこの方法を採用している。

皮質基底核変性症等、左右差を原則とする疾患の場合、半側凍結は診断に影響を与える可能性がある。我々は、凍結側からも、嗅球、海馬後端、扁桃核前端、前頭・側頭・後頭極、頭頂間溝、凍結側中脳下端、小脳歯状核を、パラホルム48時間固定し、パラフィン包埋と、浮遊切片用に採取している(図7)。また、凍結側から作製したパラフィン包埋切片からは、HE染色はブレインカッティング時に作製し、免疫染色は剖検後3週以内には揃うよう配慮している(図8)。凍結サイドの神経病理所見で、ブレインバンク間の診断基準の統一をはかることを、日本神経科学ブレインバンクネットワークの拠点間では行っている。

## 6. 神経病理診断

ブレインバンクにおいて、神経病理診断に信頼性がないと、研究リソースへの信頼性がなくなることは自明である。ブレインカッティングは7~13日、20%中性緩衝ホルマリン(市販)に浸潤固定している。肉眼写真撮像では、外側面がきわめて重要である(図9)。切り出し部位を一定にし、個別例に特異な部位は、そ



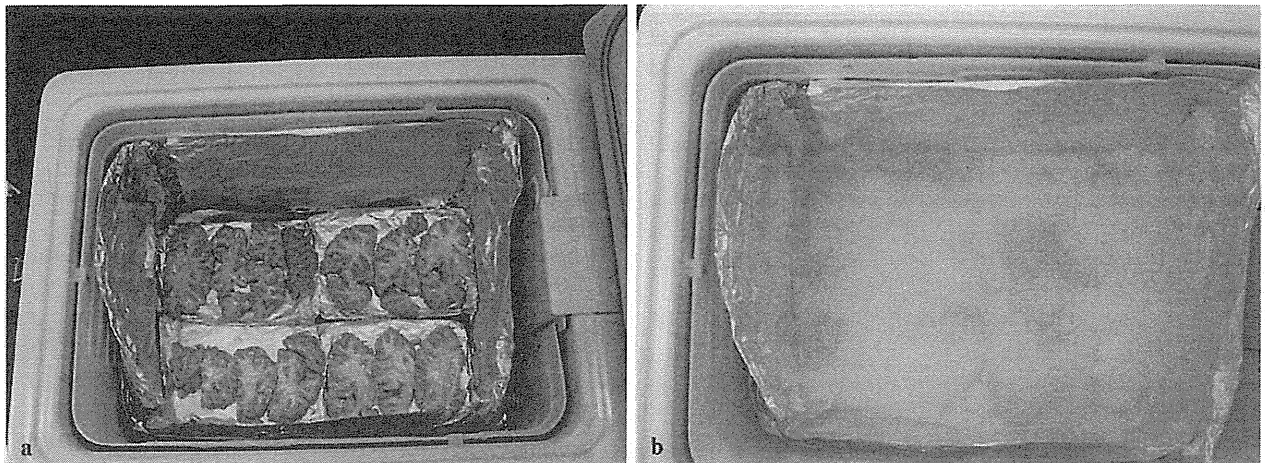


図6 脳の凍結方式 a: ポータブルフリーザーにドライアイスを敷き、その上に超低温槽で冷やした銅板を置き、アルミホイルを敷いた上に、スライスした脳を並べる。b: パウダードライアイスをかけ、瞬間凍結を行う。

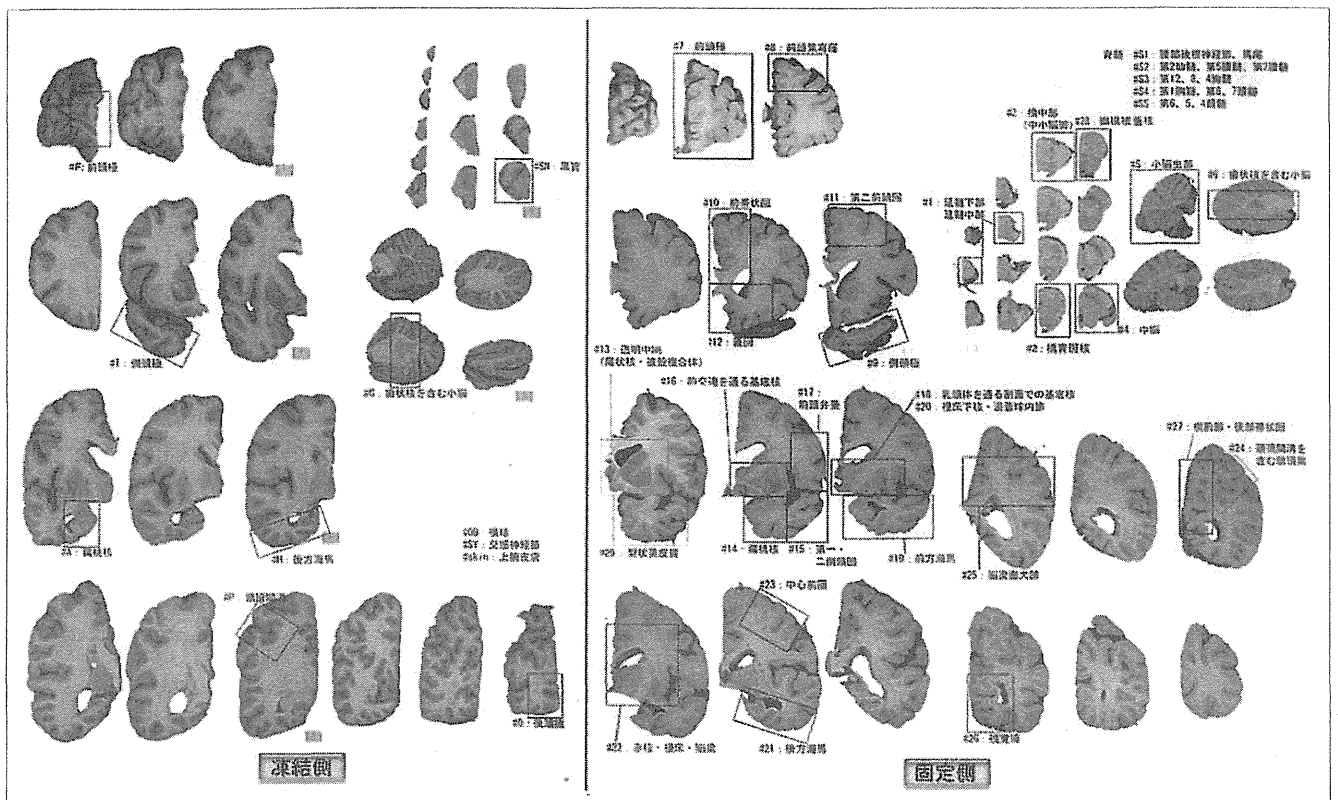


図7 切り出し部位 左右差の検討、診断の迅速化、ブレインバンク拠点間の診断基準の統一のため、凍結側からも組織標本用のサンプルを採取する。固定側からは、標本・ブロックが研究リソースになる配慮より、現在は脳から29ヵ所、脊髄から5ヵ所の切り出しをルーチンとしている。脚橋被蓋核(#28)、梨状葉皮質(#29)は、神経病理学的新知見が報告されるごとに、付け加えられた(高齢者ブレインバンクホームページよりダウンロード可、[www.mci.gr.jp/BrainBank/](http://www.mci.gr.jp/BrainBank/))。

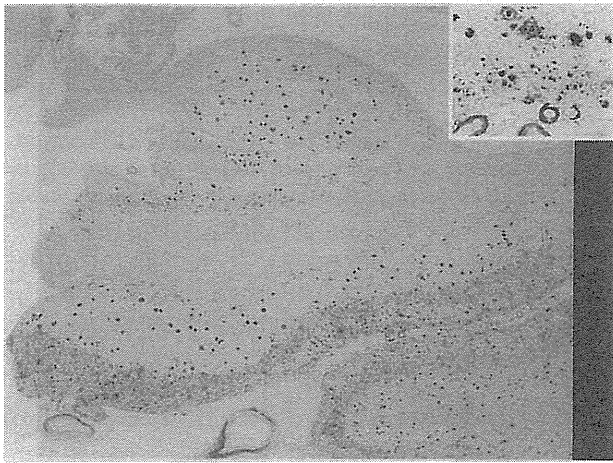


図8 凍結側後方海馬4%パラホルムアルデヒド48時間固定パラフィン包埋標本 形態学的評価を行うのにぎりぎりの固定時間で、これ以下は難しい。免疫組織においては、きわめて良い結果が得られる。

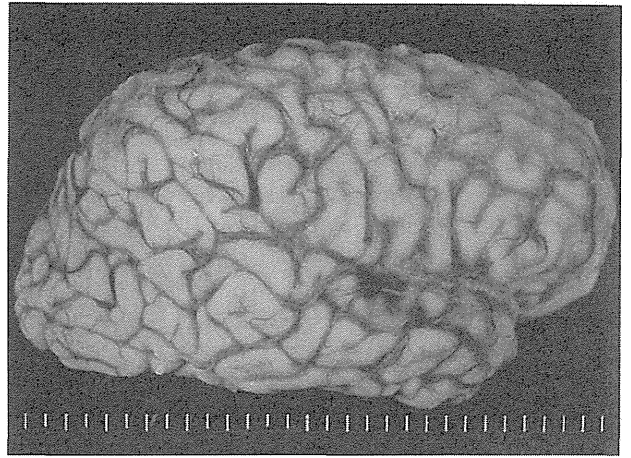


図9 固定側外側面肉眼像 放射線画像では再現不能であり、かつ情報がきわめて多いので、撮像には細心の注意が必要である。本例の場合、前頭・側頭葉に強調された、高齢者アルツハイマー病にはよくみられる所見を呈している。

表1 染色法

通常染色	HE染色, KB染色	
特殊染色	Gallyas-Braak, methenamine silver, Elastica Masson, Congo red, thioflavin S	
免疫染色	自動免疫染色装置 (Ventana NX20)	
	Epitope	抗体名
	リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン	Psyn#64
	リン酸化タウ	AT8
	アミロイド $\beta$ 蛋白11-28aa	12B2
	リン酸化TDP43	PS409/410
	ユビキチン	Sigma
	FUS/TLS	Sigma
		クローン
		monoclonal
		monoclonal
		Monoclonal
		Monoclonal
		Polyclonal
		Polyclonal

免疫染色は、全て市販抗体で、確立したものをを用いる。条件は、高齢者ブレインバンクホームページに公表している。

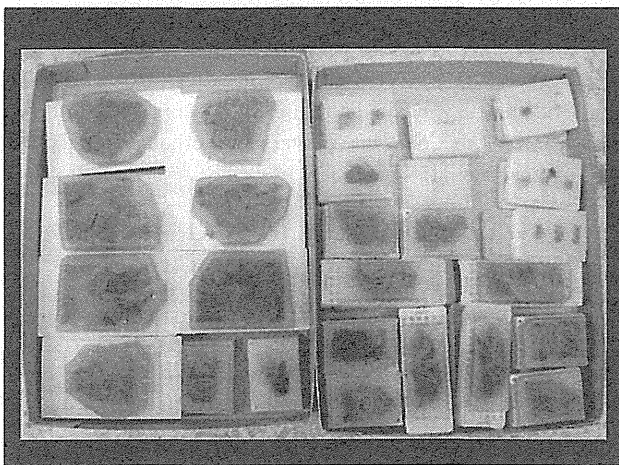


図10 パラフィンブロック 通常、長、大の3種類のカセットを用いている。通常のカセットでも対応可能である。すべての標本が同じ部位で切り出されていることで、神経病理研究のリソースとしての有用性が増す。

れに付け加えるかたちで標本作製しているが、ほとんどの症例では、研究仕様切り出し部位に、症例に特徴的病変も入ることが多い(図10)。市販抗体を用い(表1)、自動免疫染色装置(図11)を用いた検討で、診断の標準化をはかっている。また、標本はすべて、同一部位、同一染色を前提としている結果(図12)、多数例の検討に対応できる体制をつくっている。

## おわりに

ブレインバンクは、神経病理の社会貢献として、重要な位置を占める。我々は、神経内科、病理、神経病理各専門医の協力の下、体制構築の努力を続けてきた。内因性精神病を中心とする精神疾患、精神科領域で最後が看取られることが多い前頭側頭型認知症の死後脳リソースは、本邦においては枯渇している。また、自閉症をはじめとする小児精神・神経疾患に至っては、リソース化のめどすら立っていない。

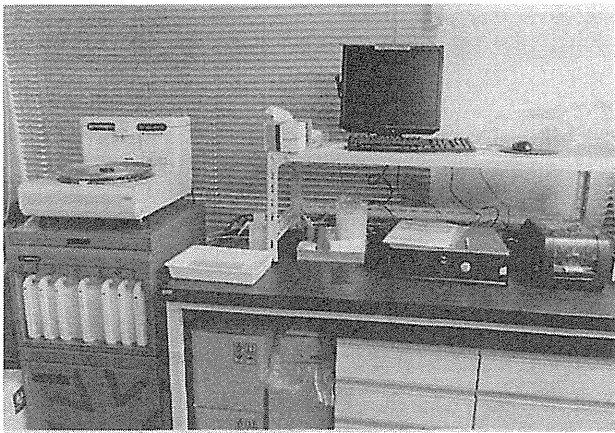


図11 Ventana NX20自動免疫染色装置。高齢者ブレインバンク、国立精神・神経医療研究センター、美原記念病院では、同一プロトコルで、染色を一致させる努力を行っている。

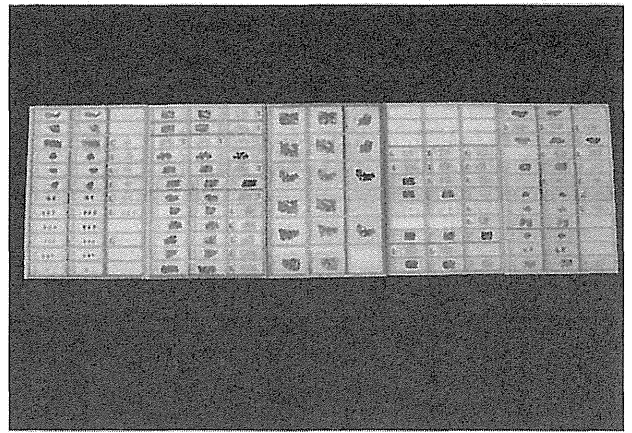


図12 組織標本 染色，部位を統一しており，多数例の検討を行う場合に，ただちに対応可能である。

今年度文部科学省健康脳プロジェクトで，精神神経疾患ブレインバンク構築のためのフェージビリティースタディーが承認され，現在遂行中である。実務において，本邦では病理医の協力なしには，システム構築は不可能であることを強調し，結びとしたい。

#### 文 献

- 1) 高齢者ブレインバンクホームページ，[www.mci.gr.jp/BrainBank/](http://www.mci.gr.jp/BrainBank/)
- 2) Vonsattel, J. P., Del Amaya, M. P., Keller, C. E. : Twenty first century brain banking. Processing brains for research : the Columbia University methods. Acta Neuropathol 2008, 115 : 509-532

パーキンソン病医学・医療の最前線

第1部：基礎編

## 2. パーキンソン病の神経病理 up to date

Murayama Shigeo  
村山 繁雄

Saito Yuko  
齊藤 祐子

ライフ・サイエンス



村山 繁雄

第1部：基礎編

2. パーキンソン病の神経病理 up to date

Murayama Shigeo  
村山 繁雄<sup>1)</sup>

Saito Yuko  
齊藤 祐子<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク・バイオリソースセンター  
<sup>2)</sup>国立精神・神経医療研究センター臨床検査部

はじめに

本稿でのパーキンソン病(PD)は、レビー小体を伴うものに限定する。レビー小体は、中枢神経、末梢自律神経系に出現し、出現部位により、PD、レビー小体型認知症(DLB)、純粋自律神経不全症(PAF)の病型をとりえ、レビー小体病と総称される(図1)<sup>1)</sup>。この臨床・病理連関を理解するためには、中枢神経系だけで

なく、末梢自律神経系を含めた総合的検討が必要である(表1)。また、バイオマーカーとして、セロトニン代謝産物である5HIAA、ドパミン代謝産物であるHVAの低下が有用である(表2)<sup>1)</sup>。

神経病理学的には、レビー小体病理の検出が、抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体を用いることで、特異度・感度ともに極めて簡便かつ正確になったことで、PDの概念自体、大きく変化したことを中心に述べる。

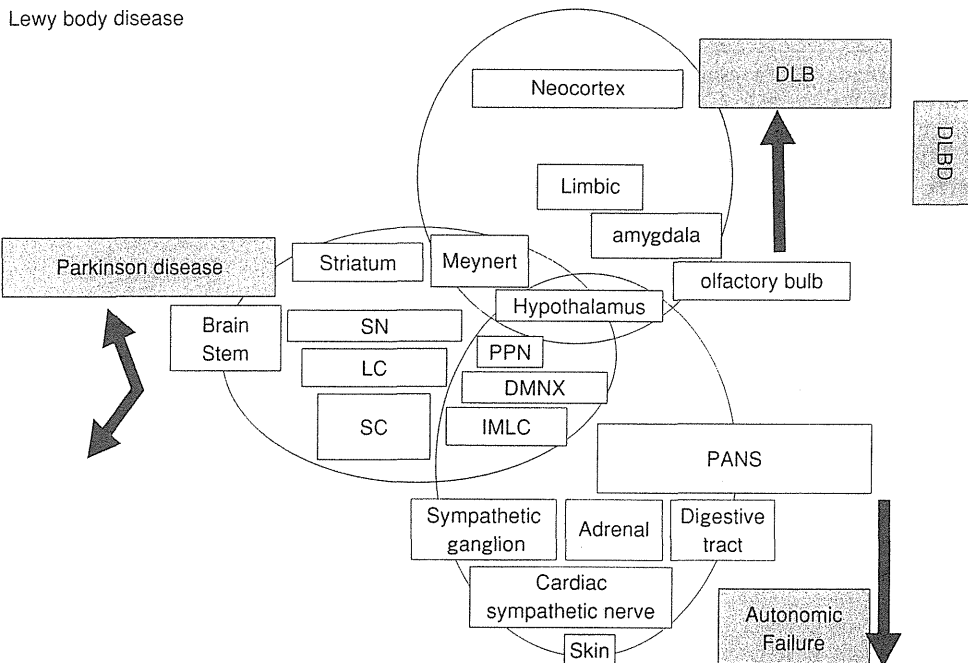


図1 パーキンソン病は、レビー小体病の表現型の1つである

SN：黒質、LC：青斑核、SC：脊髄、PPN：脚間被蓋核、DMNX：迷走神経背側核、IMLC：脊髄中間外側核、PANS：末梢自律神経系、DLB：dementia with Lewy body、DLBD：diffuse Lewy body disease.

表1 パーキンソン病プロジェクト

- ・神経所見(UPDRS).
- ・MRI: 定性的評価+VBMによる中脳被蓋萎縮の有無.
- ・MIBG心筋シンチグラフィ.
- ・脳血流シンチグラフィ(eZis 3.0. SVA).
- ・認知機能検査: MMSE, HDS-R, RBMT, FAB, GDS.
- ・髄液バイオマーカー: 5HIAA, HVA, タウ, リン酸化タウ, Aβ.
- ・Tilt test.
- ・リハビリ科診察.
- ・新患回診(筆頭著者).
- ・診断確定カンファで, PET適用決定(<sup>18</sup>F-FDG/<sup>11</sup>C-PIB/<sup>11</sup>C-CFT/<sup>11</sup>C-Raclopride).
- ・背景病理に基づく適切な治療介入.
- ・死後, 極力剖検許可を得る.

高齢者健康長寿医療センターでは, パーキンソン病および関連疾患の初診症例に上記パスを適用している. VBM: voxel based morphometry, SVA: specific voxel analysis, MMSE: minimental state examination, HDS-R: 長谷川式簡易知能スケール, RBMT: リバミード行動記憶検査, FAB: frontal assesment battery, GDS: 老年期うつスケール, 5HIAA: 5hydroxy indole acetic acid, HVA: homovanilic acid, FDG: fluor deoxy glucose, PIB: Pittsburgh Compound B, CFT: carbomethoxy fluorophenyl tropane = dopaimne transporter, Raclopride: D<sub>2</sub> ligand.

表2 剖検確定例での髄液バイオマーカー

	n	HVA	5HIAA
AD	4	19.6 ± 6.4	14.1 ± 5.7
PD	1	6.3	2.9
PDD/DLB	6	11.2 ± 4.8	7.3 ± 4.2
PSP	3	20.5 ± 11.8	19.2 ± 5.5
CBD	1	29.0	15.9
DG	2	27.2 ± 18.2	22.6 ± 18.2
MND	4	30.6 ± 14.5	30.7 ± 16.0
SCD	1	24.7	14.9
Pick	1	43.5	17.1
Others	2	21.0 ± 2.3	21.0 ± 4.8

CSF: HVA, 5HIAA (ng/mL) (autopsy confirmed).  
 HVA, 5HIAAの低下をパーキンソン病(PD)では認める. AD: アルツハイマー病, PDD: 認知症を伴うパーキンソン病, DLB: レビー小体型認知症, PSP: 進行性核上性麻痺, CBD: 皮質基底核変性症, DG: 嗜銀顆粒性認知症, MND: 運動ニューロン疾患, SCD: 脊髄小脳変性症.

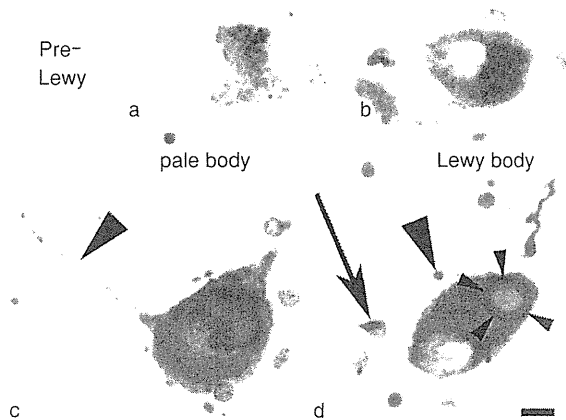


図2 レビー小体病理

抗リン酸化αシヌクレイン抗体を用いると, 初期の顆粒状沈着(a)が, 凝集し(b), 封入体を形成し(c), レビー小体が形成される(d). その時点でαシヌクレインのリン酸化抗体で細胞全体が染色されている.

(文献2より引用改変)

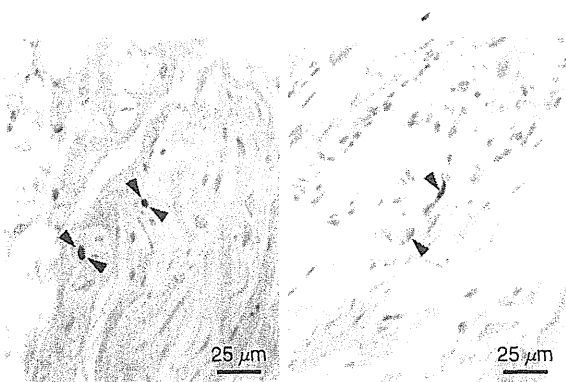


図3 皮膚のレビー小体病理

真皮内神経線維に抗リン酸化αシヌクレイン抗体陽性所見(矢頭)を認める.

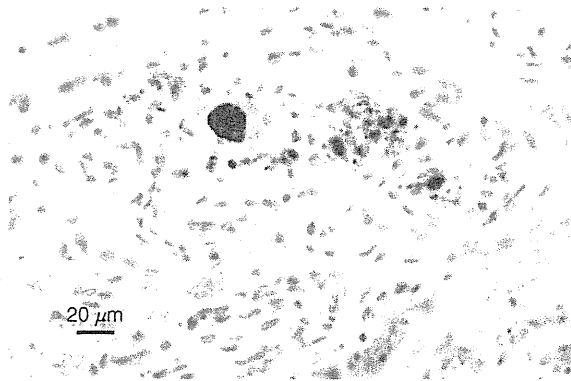


図4 食道・胃接合部, Auerbach神経節(腸管神経叢)内抗リン酸化αシヌクレイン抗体免疫染色陽性所見

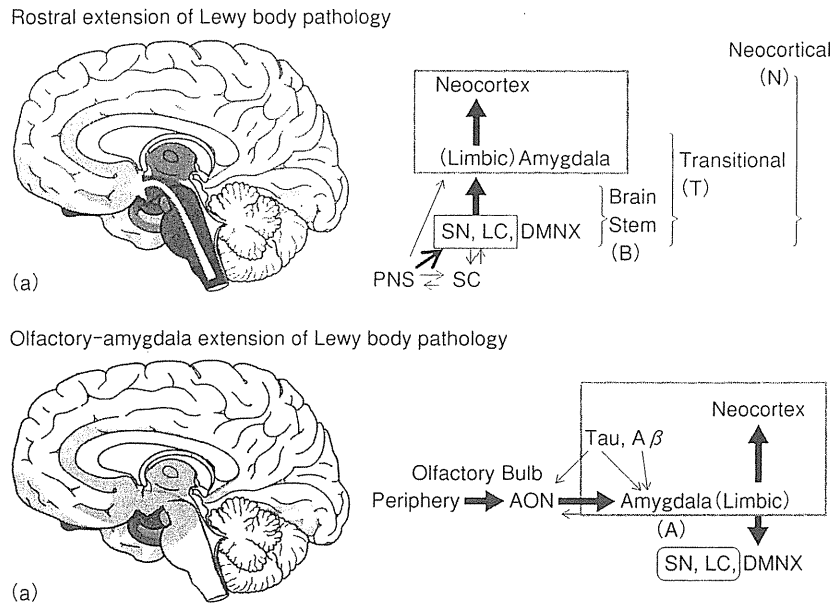


図6 レビー小体の進展過程

Braakの脳幹進展仮説において、末梢の部分では、迷走神経だけでなく、交感神経からの伝搬も想定する必要がある。嗅球から進展する経路は脳幹上行系とは独立しており、辺縁系から頭側・尾側に広がる経路が想定される。

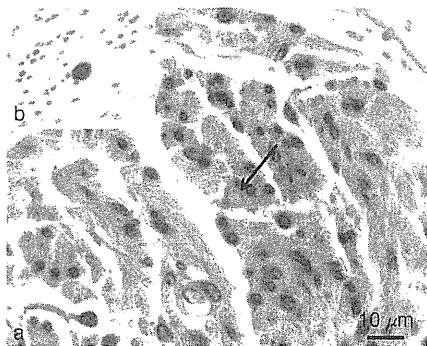


図5 左室前壁心外膜無髄線維内レビー小体  
本例は全身の中でここにのみレビー小体を認めた。  
(文献1より引用)

### レビー小体の形成と進展

抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体免疫染色により、レビー小体の形成過程は連続的凝集のプロセスであることが明らかとなった(図2)<sup>2)</sup>。すなわち、 $\alpha$ シヌクレインの不溶化前のオリゴマー形成が細胞毒性をもち、レビー小体はむしろ隔離のプロセスであるとする仮説が有力となっている。

レビー小体病理は、変性型老化性病理の中で唯一末梢にひろがるのが特徴で、皮膚(図3)<sup>3)</sup>、腸管神経叢(図4)<sup>4)</sup>、左室前壁無髄線維内に出現し(図5)<sup>5)</sup>、最後者は、最近健康保険適用容認の判断がされた、MIBG心筋シンチグラフィーでの取込み低下の原因病理を形成

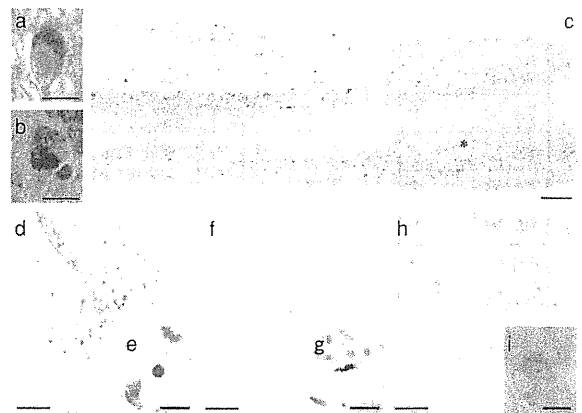


図7 嗅球のレビー小体病理

嗅球のみにレビー小体病理を認めた症例。a. 辺縁部に認められた皮質型レビー小体。b. 抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体(psyn#64)陽性。c. 嗅球では初期には前嗅核(星印)は陰性で、辺縁部が陽性となる。d. 青斑核では突起内に抗リン酸化 $\alpha$ シヌクレイン抗体陽性所見を認める。e. 強拡大。f. 扁桃核では極少数突起の陽性所見を認める。g. 拡大像。h. 海馬CA2には細胞内に顆粒状の陽性所見を認めるのみ。i. 拡大像。  
(文献5より引用改変)

すると予想される<sup>1)</sup>。

Braakは、レビー小体形成の病源は、消化管より舌咽・迷走神経を逆行し、延髄に到達後、上行する有名な脳幹進行仮説を提唱した(図6)<sup>1)</sup>。この仮説は、狂牛病のプリオン伝搬を模したもので、異常蛋白蓄積を伴う変性型疾患のプリオノパチー仮説を導くに至った。

われわれは、嗅球の検討より、嗅球の病理は延髄の



表3 高齢者の網羅的検討

年齢・性・CDR診断			皮膚	左室	副腎	交感	脊髄	食道	迷背	青斑	黒質	NBM	嗅粘	嗅球	扁桃	嗅内	前帯	側頭	前頭	頭頂	NFT	SP	嗜銀	
4	104/F	3	DLB	0	1	0	3	1	2	3	3	3	3	1	4	4	4	4	2	3	2	4	3	2.5
	70/F	3		0	1	3	2	1	1	3	3	3	3	1	4	4	4	4	4	4	3	4	3	1
	86/F	3		0	1	0	3	2	1	3	3	3	3	0	4	4	4	4	4	4	4	6	3	1
	84/M	3		0	1	2	3	3	1	3	2	3	3	1	3	4	3	3	3	2	2	2	1	1
3	79/F	2	PD/PDD	1	1	2	3	1	1	3	3	3	3	1	4	4	3	4	2	1	1	2	1	0.5
	80/F	3		1	1	2	3	1	2	3	3	3	3	1	2	4	3	2	0	1	0	2	1	1
	81/M	0?		1	1	1	3	2	2	3	3	3	2	0	3	4	3	3	2	2	2	2	1	0.5
4	79/M	0	Sub	0	1	0	2	2	0	1	1	1	0	2	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1
	68/F	0?		0	1	0	4	2	2	3	3	2/2	2	0	3	2/2	2/1	2	0	0	0	2	2	1.5
	79/F	3		0	0	0	1	1	0	1	2	2	3	0	3	4	4	3	4	2	2	6	3	1
	77/F	3		0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	0	3	4	2	2	1	0	0	6	3	1
21	78/M	N/A	Inc	0	1	0	1	1	0	1	2	1/1	1	0	1	2/3	0	0	0	0	0	2	1	3
	75/M	N/A		0	1	0	3	1	1	3	3	1	3	0	1	3	2	2	1	1	0	2	1	0.5
	89/F	N/A		0	1	0	2	1	1	3	3	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	3	3	0.5
	93/F	3		0	1	0	1	2	0	3	3	3	3	0	4	4	3	3	1	1	1	4	3	2
	86/M	3		0	0	0	4	2	2	3	3	2	3	1	4	4	2	2	1	0	1	4	3	1
	81/M	0		1	1	0	3	1	1	3	3	2	3	0	2	3	3	2	1	0	0	2	1	1.5
	90/F	2?		0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	2	1	0	0	0	0	0	2	1	1.5
	86/M	3		0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	1	2	0	0	1	0	0	2	1	3
	97/F	3		0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	1	0.5
	78/M	0		0	1	2	4	2	2	3	2	1	1	0	3	1	0	1	0	0	0	1	1	0.5
	92/M	>=1		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	3	3	2.5
	94/M	2		0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	2	1	1	0	0	0	0	4	1	1
	85/M	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	3	1	2
	81/F	3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	0	0	0	6	3	1.5
	96/F	3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	2	0	2.5
	87/F	0		0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	0	3	1	2.5
	101/F	3		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	4	1	3
	69/F	>1		0	0	0	3	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	1
	83/F	1<=		0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	3
	72/M	0		0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	2	1	0	0	0	0	0	1	1	0.5
	77/M	0?		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0	0	2	1	0.5
6	83/M	N/A	Very	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4	3	1	
	71/M	0		0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1.5	
	89/M	0.5		0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	2	1	2	
	85/F	0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	3	1	2	
	85/F	0.5		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	1	
	96/F	2		0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	1	2	

M：男性，F：女性，DLB：レビー小体型認知症，PD：パーキンソン病，PDD：認知症を伴うパーキンソン病，Sub：発症前レビー小体病(黒質の脱色素を伴う)，Inc：偶発性レビー小体病，Very：極初期レビー小体病(免疫組織学的にαシヌクレイン沈着を認めるが、レビー小体を認めない)，交感：胸部交感神経節，迷背：迷走神経背側核，青斑：青斑核，NBM：マイネルト基底核，嗅粘：嗅粘膜，扁桃：扁桃核，嗅内：嗅内野，前帯：前帯状回，側頭：第二側頭回，前頭：第二前頭回，頭頂：縁上回，NFT：神経原線維変化，SP：老人斑，嗜銀：嗜銀顆粒。レビー小体のステージは、文献3に記載，NFT，SPのステージはBraak分類(文献7)に従った，嗜銀顆粒のステージは齋藤分類(文献8)に従った。

(文献6より引用改変)