

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

(Kii ALS/PDC、牟婁病) における小脳の免疫組織化学的検討

森本 悟 1)、初田 裕幸 1)、小久保 康昌 2)、葛原 茂樹 3)、村山 繁雄 1)

1) 東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク

2) 三重大学医学部神経内科

3) 鈴鹿医療科学大学保健衛生学部

研究要旨

2012年、石浦らによって古座川流域のALS例の一部にC9orf72遺伝子変異が報告され、小脳病変が注目されている。したがって今回、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(Kii ALS/PDC、牟婁病)におけるtauopathyの広がり、並びに小脳病変を詳細に検討し、ubiquitin, p62及びubiquilin 2蛋白についても併せて検討を行った。結果、全例にtorpedoとgrumose変性を認め、8例(80%)には多核或いは異常局在を示すPurkinje cellsを見いだした。リン酸化タウ陽性構造物は、白質及び歯状核には全例、プルキンエ細胞には5例(50%)に存在した。また、この5例はPDCの表現型を有し、ALS単独例に比して病変が強い傾向があり、Bergmann gliaやgolgi cellにリン酸化タウの蓄積を認め、分布の多様性を示した。小脳症状は認めなかった。ubiquitin, p62, ubiquilin 2に対する免疫染色は全例で陰性であった。Kii ALS/PDC患者小脳での広範なAT-8陽性所見の分布を確認し、これまでに一部の進行性核上性麻痺症例にのみ報告のあるPurkinje cellsにおけるリン酸化タウの蓄積を認めた。また、多彩なグリア病変も合わせて存在することを確認した。

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(Kii ALS/PDC、牟婁病)は、中枢神経系へのリン酸化タウの集積を特徴とする疾患である。また、2012年に古座川流域のALS例の一部にC9ORF72遺伝子変異が見つかり、小脳病変が注目されている。三室らによる小脳のリン酸化タウ病変の報告はあるものの、詳細な検討はなされていない。したがって、Kii ALS/PDCにおけるtauopathyの広がり、並びに小脳病変を詳細に検討した。また、ubiquitin, p62及びubiquilin 2蛋白についても併せて検討を行った。

B.研究方法

穂原地区のKii ALS/PDC 10連続剖検例の小脳を用いて、ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより、6µm/9µm厚の切片を作成し、通常染色(H.E. K.B.染色)、特殊染色(Gallyas- Braak 鍍銀染色)に加え、以下の各種抗体を用いて自動免疫染色装置Ventanaを用いて免疫染色を施行し

た。一部はPser242とcalbindinとの蛍光二重染色を施行した。〈使用抗体〉リン酸化(p)-tau(AT-8, Pser242)、ubiquitin, p62、ubiquilin 2、calbindin

(倫理面への配慮)

ご遺族の剖検同意に基づき、高齢者ブレインバンク倫理規定に沿って研究を施行した。

C.研究結果

全例にtorpedoとgrumose変性を認め、8例(80%)には多核或いは異常局在を示すPurkinje cellsを見いだした。リン酸化タウ陽性構造物は、白質及び歯状核には全例、プルキンエ細胞には5例(50%)に存在した。この5例はPDCの表現型を有し、ALS単独例に比して病変が強い傾向があり、Bergmann gliaやgolgi cellにリン酸化タウの蓄積を認め、分布の多様性を示した。小脳症状は認めなかった。ubiquitin, p62, ubiquilin 2に対する免疫染色は全例で陰性であった。

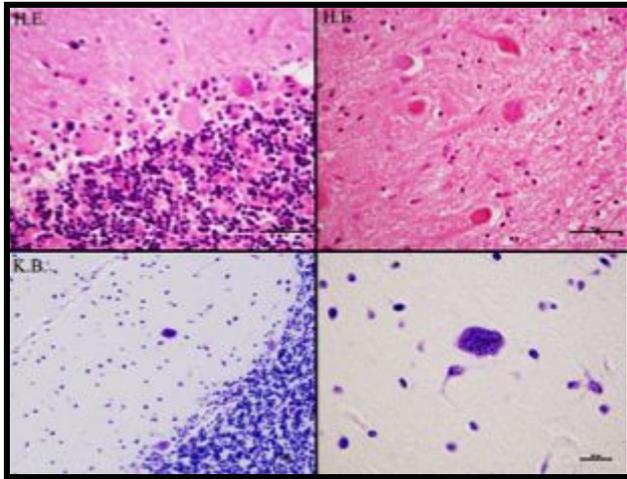


図 1 . プルキンエ細胞層における torpedo、歯状核におけるグルモース変性、及び分子層における多核かつ異所性のプルキンエ細胞を認める。

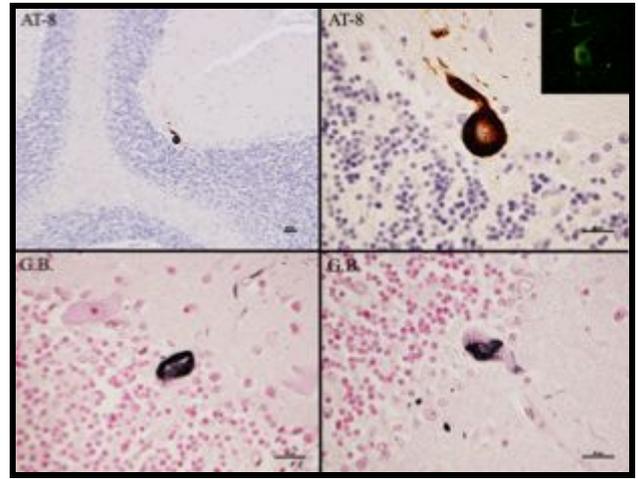


図 3 . プルキンエ細胞内に銀染色、AT-8 陽性の顆粒状、線維状ないしはそれらが凝集した構造物を認め、突起にまで及んでいる。Calbindin と Pser242 との蛍光 2 重染色にてプルキンエ細胞内のリン酸化タウの蓄積が確認された。

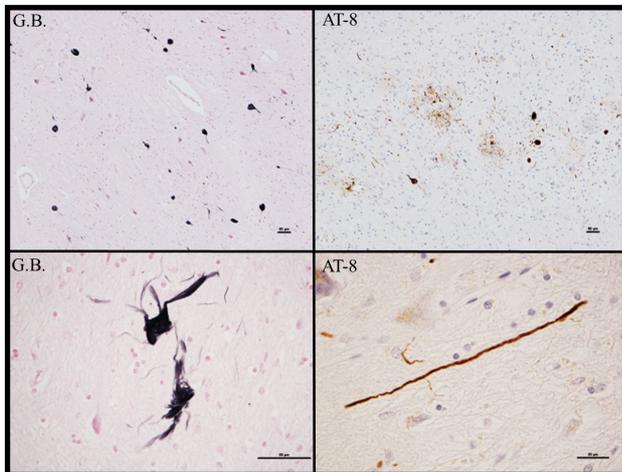


図 2 . 歯状核において、多数の NFT (或いは pre-tangle) coild body を認め、AT-8 では neuropil threads, long neurite を散見する。

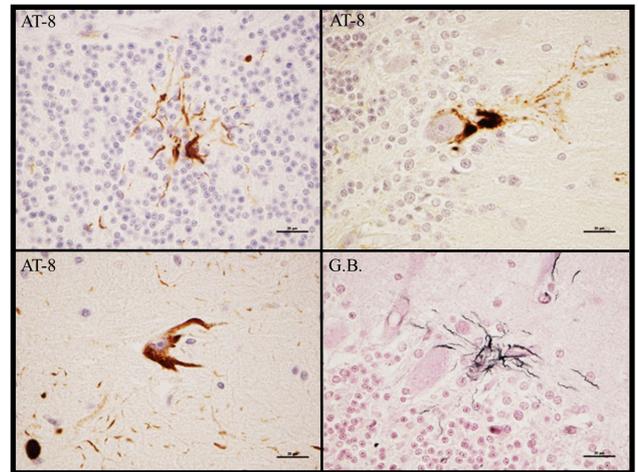


図 4 . AT-8 による染色では、顆粒層に astrocyte の突起と思われる構造物、プルキンエ細胞を取り囲む glia、あるいは bergmann glia、更には golgi 細胞にも陽性所見を認める。

Case/P	Age	Sex	DOI (year)	Phenotype			Types of degeneration				P-tau pathology					
				A	P	D	Dislocation of PCs	Multinucleus of PCs	Torpedo	Grumose degeneration	Cortex		WM		DN	
											PCs	ML	GL	L	D	
Case 1	63	F	4	+	-	-	+	-	+	+	-	+	±	+	+	+
Case 2	70	F	13	+	-	-	+	-	+	+	-	-	±	-	±	±
Case 3	70	F	10	+	-	-	-	-	+	+	-	±	-	+	±	+
Case 4	77	M	7	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Case 5	65	M	3	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Case 6	76	F	6	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
Case 7	70	F	12	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Case 8	60	F	8	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Case 9	75	M	7	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	±	+
Case 10	70	F	11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Positive rate							80%	60%	100%	100%	50%	90%	80%	90%	100%	100%

表 1 . 染色結果のまとめ

torpedo、grumose 変性を全例に認め、プルキンエの位置異常は 80%、多核形成は 60%に認める。また、リン酸化タウについては、プルキンエ細胞に 50%、分子層に 90%、顆粒層に 80%、小葉間白質には 90%、深部白質には 100%、並びに歯状核に陽性構造物を認めた。

D. 考察

白木、八瀬らは、Guamanian 及び Kii ALS/PDC において、多核かつ異常局在を示すプルキンエ細胞が存在すると報告した。三室らは、Kii ALS/PDC では主として歯状核に NFT が出現すると報告している。今回の検討では、Kii ALS/PDC 患者小脳での広範な AT-8 陽性所見の分布を確認し、これまでに一部の進行性核上性麻痺症例にのみ報告のあるプルキンエ細胞におけるリン酸化タウの蓄積を認めた。また、多彩なグリア病変も合わせて存在することを確認した。

E. 結論

Kii ALS/PDC における特異な小脳病変を報告した。

F. 健康危険情報

特記事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Kai H, Shin RW, Ogino K, Hatsuta H, Murayama S, Kitamoto T. Enhanced antigen retrieval of amyloid β immunohistochemistry: re-evaluation of amyloid β pathology in Alzheimer disease and its mouse model. *J Histochem Cytochem.* 2012 Oct;60(10):761-9.
2. Ishiura H, Sako W, Yoshida M, Kawarai T, Tanabe O, Goto J, Takahashi Y, Date H, Mitsui J, Ahsan B, Ichikawa Y, Iwata A, Yoshino H, Izumi Y, Fujita K, Maeda K, Goto S, Koizumi H, Morigaki R, Ikemura M, Yamauchi N, Murayama S, Nicholson GA, Ito H, Sobue G, Nakagawa M, Kaji R, Tsuji S. The TRK-fused gene is mutated in hereditary motor and sensory neuropathy with proximal dominant involvement. *Am J Hum Genet.* 2012 Aug 10;91(2):320-9.
3. Saito Y, Inoue T, Zhu G, Kimura N, Okada M, Nishimura M, Kimura N, Murayama S, Kaneko S, Shigemoto R, Imoto K, Suzuki T.

Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide gated channels: a potential molecular link between epileptic seizures and A β generation in Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener.* 2012 Oct 3;7:50.

4. Tsuji H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, Murayama S, Akiyama H, Hasegawa M, Mann DM, Tamaoka A. Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain.* 2012 Nov;135(Pt 11):3380-91.
5. Kakuda N, Akazawa K, Hatsuta H, Murayama S, Ihara Y; The Japanese Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. Suspected limited efficacy of γ -secretase modulators. *Neurobiol Aging.* 2013 Apr;34(4):1101-1104.
6. Murayama S, Saito Y. [Prognosis of amyotrophic lateral sclerosis in relation with pathological pattern of propagation]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2012;52(11):1066-7.
7. Hasegawa M, Nonaka T, Suzukake M, Tsuji H, Tamaoka A, Yoshida M, Murayama S, Arai T, Akiyama H. [Prion-like protein propagation in neurodegenerative diseases]. *Rinsho Shinkeigaku.* 2012;52(11):1325-6.
8. Kokubo Y, Nomura Y, Morimoto S, Kuzuhara S. Cardiac ^{123}I -meta-iodobenzylguanidine scintigraphy in patients with amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Kii peninsula, Japan. *Parkinsonism Relat Disord* 2012;18:306-8.
9. Kokubo Y, Taniguchi A, Hasegawa M, Hayakawa Y, Morimoto S, Yoneda M, Hirokawa Y, Shiraishi T, Saito Y, Murayama S, Kuzuhara S. -Synuclein

pathology in the amyotrophic lateral sclerosis/parkinsonism dementia complex in the Kii Peninsula, Japan. J Neuropathol Exp Neurol. 2012 Jul;71(7):625-30.

10. Kamiya H, Murayama S, Funabe S, Saito Y, Fukuda T. [An 87-year-old Man with Mild Cognitive Impairment, Accompanying Possible Drug-induced Parkinsonism]. Brain Nerve. 2012 Dec;64(12):1435-42.
11. Tuiji H, Iguchi Y, Furuya A, Kataoka A, Hatsuta H, Atsuta N, Tanaka F, Hashizume Y, Akatsu H, Murayama S, Sobue G, Yamanaka K. Spliceosome Integrity is Defective in the Motor Neuron Diseases ALS and SMA. EMBO Mol Med. 2012 Dec 19.

2.学会発表

1. Morimoto S, Kokubo Y, Hasegawa M, Shigeki K, Murayama S:
Immunohistochemical study and western blotting of tauopathy in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)/ parkinson dementia complex (PDC), Kii, Japan. JNEN 2012 [Annual Meeting of the American Association for Neuropathologists, Cicago]
2. Murayama S, Morimoto S, Kokubo Y, Kihira T, Yoshida Y, Yoshida M, Takahashi H, Kuzuhara S: Establishment of pathology center for amyotrophic lateral sclerosis/ parkinson disease complex in Kii Peninsula. The Journal of the Alzheimer's Association, 2012 [Alzheimer's Association International Conference 12th, Vancouver].

H.知的所有権の取得状況（予定を含む）

特記事項なし