

認知症性疾患の病理・分子対応

Pathological and molecular dissection of degenerative dementia

筑波大学医学医療系臨床医学域精神医学准教授

Tetsuaki Arai 新井 哲明

Summary

タウ、TDP-43、FUSは、前頭側頭葉変性症を中心とした認知症性神経変性疾患の患者脳において細胞内に凝集・蓄積し、神経細胞死を誘導し、その臨床病理像を規定する鍵分子である。蓄積したタウとTDP-43では、異常リン酸化および断片化が病的変化であり、特に断片化のパターンと臨床病理像に関連がある点が共通している。断片化は、同一疾患では脳のどの部位においても同様に生じており、その機序として、構造変化をきたした異常蛋白の脳領域間での伝播の可能性が想定されている。FUSの病的変化については不明であったが、最近蓄積したFUSのアルギニン残基のメチル化が同定され、病態との関連性が注目されている。蓄積蛋白の性状が明らかになるとともに、それを標的としたイメージングなどの臨床診断法やワクチン療法などの治療法の開発が進むことが期待される。

Key words

- 前頭側頭葉変性症
- タウ
- TDP-43
- FUS
- 断片化
- 伝播

はじめに

認知症性神経変性疾患の特徴は、特定の蛋白が細胞外あるいは内に凝集・蓄積することである。近年、特に前頭側頭葉変性症(frontotemporal lobar degeneration; FTLD)と呼ばれる疾患群(表1)において、原因蛋白あるいは遺伝子が次々と同定され、疾患理解が大きく進んだ。すなわち、TAR DNA-binding protein of 43kD¹⁾²⁾(遺伝子: TARDBP, 蛋白: TDP-43), fused in sarcoma(FUS)³⁾⁻⁷⁾, granulin(GRN)⁸⁾⁹⁾, chromosome 9 open reading frame 72(C9ORF72)¹⁰⁾¹¹⁾などである。

FTLDは、マンチェスターのグループによって、臨床的に前頭側頭型認知症(frontotemporal dementia; FTD)、意味性認知症(semantic dementia; SD)、進行性非流暢性失語(progressive nonfluent aphasia; PA)の3型に分類されている¹²⁾。最近では、これらの3つの臨床サブタイプ全体を表す用語としてFTLDの代わりにFTDを用い、FTLDの下位概念であったFTDをbehavioral variant FTD(bvFTD)と記載することが多くなっているが¹³⁾、本稿ではマンチェスターのグループの原著に従った略語を用いる。

各々の遺伝子変異は特徴的な病理像を呈するが、臨床像と遺伝形式から遺伝子変異あるいは背景病理を予測することは、現時点ではしばしば困難であり、今後の課題は多い¹⁴⁾。しかしながら、最近の研究の進歩により、疾患の臨床像、病理像、蓄積蛋白の性状の対応関係が少し

ずつ明らかとなってきたのも事実である。

本稿では、FTLDを中心とした認知症性神経変性疾患を規定する鍵分子であるタウ、TDP-43、FUSに焦点を当て、その病理と分子の対応関係について、最新の知見を含めて紹介する。

Ⅲ タウ

中枢神経系に多く発現する微小管結合蛋白の一種であるタウの遺伝子はスプライシングを受け、エクソン10の挿入の有無により、31~32個のアミノ酸の繰り返し配列が3つ存在する3リピートタウと4つ存在する4リピートタウが生じる。

タウが蓄積する疾患群をタウオパチーと総称するが、タウオパチーでは、タウが蓄積する細胞種および蓄積し

たタウのアイソフォーム組成、過剰リン酸化部位、断片化などに違いがあり、各疾患を特徴づけている。すなわち、ピック病および神経原線維変化型老年期認知症 (senile dementia of the NFT type ; SD-NFT) では主に神経細胞にタウが蓄積するが、進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy ; PSP)、皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration ; CBD)、嗜銀顆粒性認知症 (argyrophilic grain dementia ; AGD) では神経細胞に加えてグリア細胞にも蓄積がみられる¹⁵⁾¹⁶⁾。アイソフォーム組成については、SD-NFTでは3リピートタウと4リピートタウが同じ割合で蓄積するのに対し、ピック病では3リピートタウが、PSP、CBD、AGDでは4リピートタウが優位に蓄積する¹⁵⁾¹⁷⁻²¹⁾(図1A)。さらに、ピック病で蓄積するタウは、262番目のセリンのリン酸化を欠く点が他のタウオパチーとは異なる¹⁹⁾²²⁾²³⁾(図1

表1 FTLDの病理分類

タウオパチー (FTLD-tau)	<ul style="list-style-type: none"> ピック病(ピック球を伴う) 皮質基底核変性症(CBD) 進行性核上性麻痺(PSP) 嗜銀顆粒性認知症(AGD) 神経原線維変化型老年期認知症(SD-NFT) multiple system tauopathy with dementia(MSTD) white matter tauopathy with globular glial inclusions(WMT-GGI) FTDP-17(MAPT変異)
TDP-43 (FTLD-TDP)	<ul style="list-style-type: none"> FTLD-TDP(Types A-D) FTLD-MND 家族性FTLD-TDP <ul style="list-style-type: none"> GRN変異 VCP変異(IBMFPD) C9ORF72 : hexanucleotide repeats >30
FUS (FTLD-FUS)	<ul style="list-style-type: none"> aFTLD-U BIBD : basophilic inclusion body disease NIFID : neuronal intermediate filament inclusion body disease
FTLD-other	
FTLD-UPS	FTD-3(CHMP2B変異, 封入体の構成蛋白は未同定)
FTLD-ni	ユビキチン陽性封入体を欠く

CBD : corticobasal degeneration, PSP : progressive supranuclear palsy, AGD : argyrophilic grain dementia, SD-NFT : senile dementia of the NFT type, MND : motor neuron disease, MAPT : microtubule associated protein tau gene, GRN : granulin gene, VCP : valosin containing protein gene, IBMFPD : inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia, C9ORF72 : chromosome 9 open reading frame 72 gene, aFTLD-U : atypical frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions, UPS : ubiquitin proteasome system, CHMP2B : charged multivesicular body protein 2B gene, FTD-3 : FTD linked to chromosome 3, ni : no inclusions

(文献37)より改変, 引用)

B)。PSP と CBD は、ともに神経細胞およびグリア細胞内に4リピートタウが蓄積するが、アストロサイト内タウ凝集物の形態に疾患特異性があり、PSPでは tuft-shaped astrocyte, CBD では astrocytic plaque と呼ばれ、病理学的な診断マーカーとされている²⁴⁾。両疾患の

蓄積タウの生化学的違いは、不溶性画分のC末端側タウ断片のパターンが異なることである²⁵⁾(図1C)。

FTDP-17(frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17)における MAPT(microtubule associated protein tau)変異は、①タウの構造を変えて

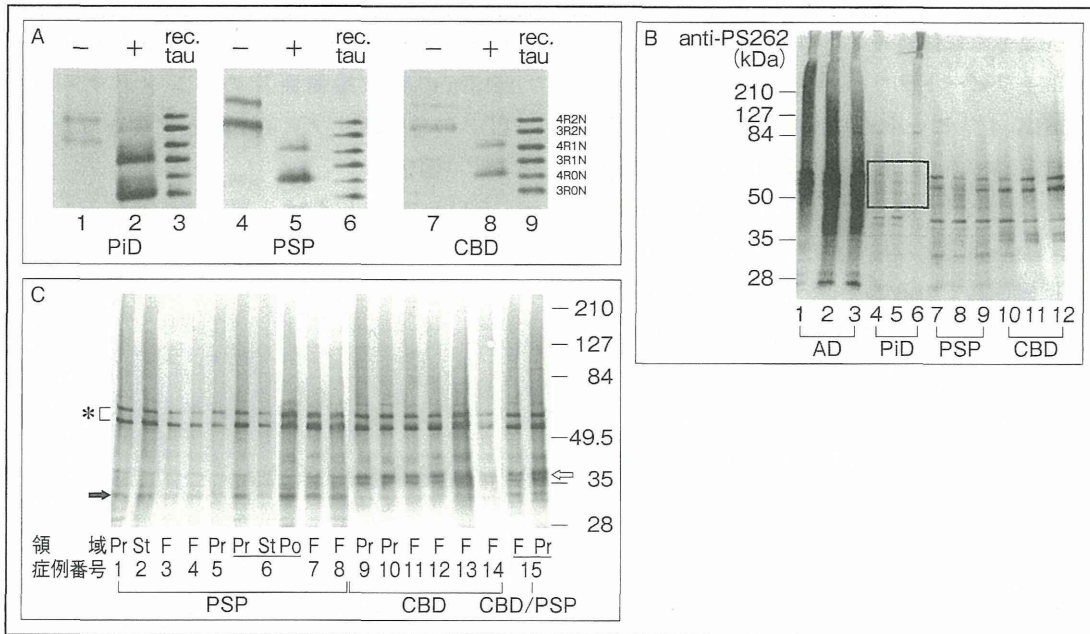


図1 タウオパチー患者脳に蓄積したタウの疾患による生化学的性状の違い

A: アイソフォーム組成の違い

リン酸化非依存性抗体(pool2)を用いたサルコシル不溶性タウのイムノプロット。lanes 1, 2: ピック病(PiD), lanes 4, 5: 進行性核上性麻痺(PSP), lanes 7, 8: 皮質基底核変性症(CBD), lanes 3, 6, 9: recombinant tau。-: 脱リン酸化処理なし, +: 脱リン酸化処理あり。

PiDでは、サルコシル不溶性タウは60kDaと64kDaのダブルットを示す(lane 1)。これらのバンドは脱リン酸化により移動度が変化し、3リピートタウに一致するバンドが検出される(lane 2)。一方、PSPとCBDでは、サルコシル不溶性タウは64kDaと68kDaのダブルットを示し(lane 4, 7)、脱リン酸化後は4リピートタウに一致するバンドが認められる(lane 5, 8)。文献15)より改変, 引用。

B: リン酸化の違い

lanes 1-3: アルツハイマー病(AD), lanes 4-6: ピック病(PiD), lanes 7-9: 進行性核上性麻痺(PSP), lanes 10-12: 皮質基底核変性症(CBD)。

262番目のセリンがリン酸化したタウに対する特異抗体(anti-PS262)を用いたサルコシル不溶性タウのイムノプロット。AD 3例(lanes 1-3), PSP 3例(lanes 7-9), CBD 3例(lanes 10-12)では、いずれも陽性のバンドが認められるが、PiD 3例(lanes 5-7)では免疫反応性がほとんど認められない(□)。文献23)より改変, 引用。

C: 断片化の違い

396/404番目のセリンがリン酸化したタウに対する特異抗体(PHF-1)を用いたサルコシル不溶性タウのイムノプロット。症例番号1-8: 進行性核上性麻痺(PSP), 症例番号9-14: 皮質基底核変性症(CBD), 症例番号15: PSPとCBDの合併例。Pr: precentral, St: striatum, F: frontal, Po: pons。

PSP, CBD, PSPとCBDの合併例、いずれも不溶性の全長タウは64kDa, 68kDaのダブルットとして共通して検出される。一方、C末端側断片のパターンが疾患間で異なっており、PSP(症例番号1-8)では37kDaのバンドが、CBD(症例番号9-14)では42kDaのダブルットが各々優位なパターンを示す。両疾患の合併例では、両方のバンド(症例番号15)が強く検出される。文献25)より改変, 引用。

微小管重合能を変化させる, ② mRNA のスプライシングに影響を与えてアイソフォームの発現比率を変化させる, のどちらかの効果が確認されている。①の大部分は, リピート部とその近傍にあるミスセンス変異であり, 神経原線維変化(NFT)を形成するタイプ, ピック球を形成するタイプ, 4リピートタウのみが神経細胞およびグリア細胞に蓄積するタイプ, などがある。②のほとんどは, エクソン10とそれに続くイントロン10内にあり, これらの多くでは4リピートタウの発現が増加し, 神経細胞とグリア細胞に4リピートタウが蓄積する。FTDP-17の臨床症状は多彩であり, 変異部位によって, また同一変異内でも多様性を示すが, おおまかに2つの臨床病型に分けられ, 変異部位とのある程度の対応関係が認められることが指摘されている²⁶⁾。すなわち, ①の変異では行動異常, 脱抑制などが目立ち, FTD の診断基準に合致する場合が多く, ②の変異ではパーキンソニズム, 核上性眼球運動障害, ジストニア, ミオクローヌス, 錐体路障害などの運動症状が主要症状となり, PSP や CBD に類似する例が多い。

III TDP-43

TDP-43は, HIV-1遺伝子の末端反復配列(long terminal repeat ; LTR)内にある TAR(trans activation responsive region)に結合する因子として最初に同定された。414アミノ酸からなる TDP-43蛋白は全身の臓器に発現しており, 2つのコンセンサス配列からなる RNA 認識モチーフを2個と1個の glycine-rich ドメインをもつ不均一核内リボ核酸蛋白(heterogeneous nuclear ribonucleoprotein ; hnRNP)の一種である。TDP-43によりスプライシングが制御される mRNA の大部分は神経分化や神経疾患などに関与する遺伝子由来である²⁷⁾。また, TDP-43はそれ自身の発現も制御している²⁸⁾。

FTLD-TDP 例に出現する TDP-43陽性構造には, 神経細胞質内封入体(neuronal cytoplasmic inclusions ; NCIs), 神経細胞核内封入体(neuronal intranuclear inclusions ; NIIs), 変性神経突起(dystrophic neurites ; DNs)などがあり, 大脳皮質におけるこれらの出現パター

ンに多様性がある。すなわち, 短い DNs と NCIs が混在し, 主に皮質第II層に出現する Type A, 主として NCIs が皮質全層に出現する Type B, 長い DNs が皮質第II層に出現する Type C, 短い DNs と NIIs が全層に出現する Type D の4型となる²⁹⁾。

リン酸化 TDP-43特異抗体を用いた FTLD-TDP 患者脳の不溶性画分のイムノプロットでは, 45kDa のバンド, ~25kDa のバンド, スメアのみが検出される³⁰⁾。~25kDa の C 末端側断片のバンドパターンは, FTLD-TDP の各病理サブタイプごとに異なったパターンを示す³¹⁾³²⁾(図2)。

FTLD-TDP における神経変性機序としては, 封入体

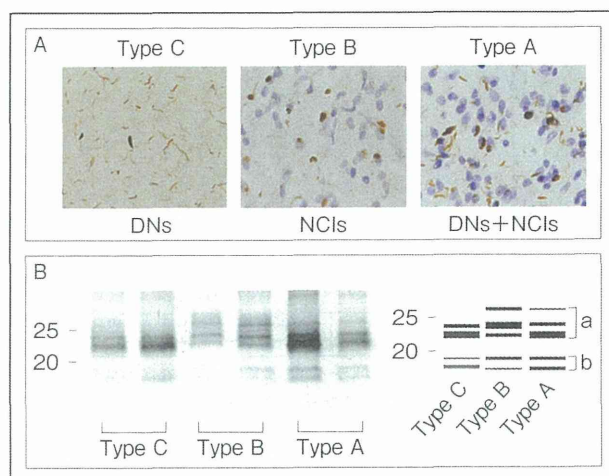


図2 FTLD-TDP の病理サブタイプとリン酸化 TDP-43 の C 末端断片のバンドパターンの対応

A : 典型的な Type A-C の TDP-43病理像(pS409/410抗体による免疫染色)。

B・C : 15%ゲルにより電気泳動後, pS409/410抗体にてウエスタンブロットを施行。断片の基本的な構成は, いずれのサブタイプにおいても, 20kDa 以上の2~3本の比較的強いバンド(断片 a)と18, 19kDa の弱いダブルット(断片 b)からなっている。Type C では, 断片 a は23, 24kDa のダブルットを示し, 23kDa のほうが24kDa より強く, 断片 b では18kDa のほうが19kDa より強い。Type B では, 断片 a は23, 24, 26kDa のトリプレットを示し, その中では24kDa が最も強く, 断片 b では1型とは逆に19kDa のほうが18kDa より強い。Type A では, 断片 a は23, 24, 26kDa のトリプレットを示し, その中では23kDa が最も強く, 断片 b では18kDa と19kDa の強さがほぼ等しい。これは, Type C と Type B がミックスしたパターンと考えられる。

(文献30)より改変, 引用)

が形成された神経細胞の核から TDP-43の染色性が失われることから、TDP-43の核内での生理機能の喪失(loss-of-function)を重視する説と、凝集した TDP-43による細胞毒性(toxic gain-of-function)を重視する説があるが、現時点では結論は得られていない。

IV FUS

FUS は、ヒト粘液性脂肪肉腫(myxoid liposarcoma)において、転写因子の CCAAT enhancer binding homologous protein(CHOP)と融合遺伝子を形成し、がん化を誘導する因子として発見された。Ewing sarcoma(EWS)やTATA-binding protein-associated factor 15(TAF15)などとともに FET 蛋白ファミリーに属する³³⁾。

家族性筋萎縮性側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis; ALS) [ALS6]における FUS 遺伝子変異の同定後(ALS-FUS), FTLD において原因蛋白が不明なまま残されていた atypical FTLD-U(aFTLD-U)⁵⁾, neuronal intermediate filament inclusion disease(NIFID)⁶⁾, basophilic inclusion body disease(BIBD)⁷⁾について免疫組織化学的検討がなされたところ、いずれにおいても多数の FUS 陽性封入体の存在が判明し、これらが FTLD-FUS としてまとめられた。これらの3疾患においては、intermediate filament 陽性 NCIs, 好塩基性封入体, FUS 陽性構造の3種類の病理構造が共通して認められるが、

その程度と脳内出現分布に各々の特徴がある³⁴⁾ (表2)。

患者脳に蓄積した FUS の生化学解析では、タウや TDP-43で認められたリン酸化や断片化は検出されず、病的な修飾が存在するのかどうかは不明であったが、最近 Haass らのグループは、FTLD-FUS と ALS-FUS では、蓄積した FUS のアルギニン残基のメチル化に違いがあることを明らかにした³⁵⁾。彼らは、このメチル化が、FUS と核輸送蛋白であるトランスポート(TRAN)との結合を阻害することから、メチル化のアンバランスが病態に関係するという仮説を提案している。すなわち、メチル化が亢進している ALS 患者では、FUS が TRAN に結合できないため核内に輸送されず、細胞質内に蓄積する。一方、メチル化が低下している FTLD-FUS 患者では、TRAN と結合した FUS が核内に輸送されるが、TRAN から遊離できないため再び細胞質に戻り、TRAN とともに凝集・蓄積する。実際に、FTLD-FUS 患者脳の封入体では、FUS と TRAN との共存が確認されており、新たな病態機序として注目される。

V FTLD の遺伝子変異と臨床病理像の対応(表3)

均一性が高い群としては、SD は通常孤発性であり、病理像は FTLD-TDP, Type C である。ただし、ピック病と同様のタウ病理を示したとする報告もごく少数あ

表2 FTLD-FUS の各病理サブタイプの比較

	Ub-NCI (大脳皮質)	IF-NCI (大脳皮質)	BI (皮質下)	FUS-NCI (大脳皮質)	FUS-NCI (齒状回)	FUS-NCI (脊髄)	FUS-NII (海馬)
aFTLD-U	+++	+ / -	+	+++ (円形)	+++ (円形)	+	+++
NIFID	+++	+++	+	+++ (円形, 三日月状, 環状)	+++ (円形)	+++	+++
BIBD	+++	+	+++	+++ (三日月状, 円形, 環状)	+++ (円形, 三日月状)	+++	-

Ub : ubiquitin, IF : intermediate filament, BI : basophilic inclusion, FUS : fused in sarcoma, NCI : neuronal cytoplasmic inclusion, NII : neuronal intranuclear inclusion, aFTLD-U : atypical frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions, NIFID : neuronal intermediate filament inclusion disease, BIBD : basophilic inclusion body disease

(文献34)より改変, 引用)

る。孤発性 PA の背景病理としては、FTLD-tau のほうが FTLD-TDP より頻度が高い。ALS を伴う FTD の病理は通常 FTLD-TDP, Type B である。一方、パーキンソニズムを伴う FTLD では、FTLD-tau (CBD か PSP) の頻度が高い。ALS を伴わない FTD は、すべての FTLD の病理像を呈しうるが、早期発症で行動障害が前景であり、運動障害と失語を欠く例は、FTLD-FUS に属する aFTLD-U と親和性がある。

家族性例における遺伝子変異の頻度は、C9ORF72 と GRN が最も多く、次いで MAPT となる。TARDBP と FUS 変異の表現型は通常 ALS であるが、FTLD を示したとする報告も少数ある。運動障害を伴わない常染色体優性遺伝形式の家族性 FTD あるいは PA の原因遺伝子は、C9ORF72, GRN, MAPT のいずれかの変異の可能性が高い。パーキンソニズムか原発性側索硬化症 (primary lateral sclerosis; PLS) が目立つ例は MAPT 変異の可能性が高く、ALS を伴う例は C9ORF72 変異の可能性が高い。

VI 伝播仮説

プリオン病は、異常プリオンの蓄積とそれによる神経変性および種々の認知機能障害を呈する疾患群である。プリオン病では、同種間あるいは異種間で感染し、また末梢神経系から中枢神経系へと病変が広がっていく。すなわち、細胞間での伝播がプリオンの特徴である。その分子レベルでのメカニズムは不明な点が多いが、βシート構造に富む異常プリオンが、なんらかの作用で正常プリオンのコンフォメーションを変化させ、異常プリオンに変えていくと考えられている。異常プリオンと正常プリオンは、そのコンフォメーションの違いから、プロテアーゼ処理後のイムノプロットのバンドパターンが異なるため、区別できる。

プロテアーゼ処理後のイムノプロットのバンドパターンの違いは、FTLD-TDP の各病理サブタイプに蓄積した TDP-43³¹⁾ や、PSP と CBD に蓄積した 4 リピートタウにおいても認められる²⁵⁾。そして、このバンドパターンは、FTLD-tau であれ FTLD-TDP であれ、脳のどこの

表3 FTLD の遺伝子変異と臨床病理像の対応

主な分子病型	病理学的サブタイプ	関連遺伝子	臨床表現型				
			FTD	PA	SD	park	MND
FTLD-tau		MAPT	+	(+)	(+)	+	ALS, PLS
	PiD		+	+	(+)		
	CBD		+	+		+	PLS
	PSP		+	+		+	PLS
	AGD		+				
	NFT-dementia		+				
	MSTD		+			+	PLS
	WMT-GGI		+			+	PLS
FTLD-TDP	type A	(TARDBP)	(+)			+	ALS
		GRN/ C9ORF72	+	+		+	
	type B	C9ORF72	+	+	(+)	+	ALS
	type C		+		+		
type D	VCP	+			(+)	ALS	
FTLD-FUS	aFTLD-U	(FUS)	(+)				ALS
			+				
			+			+	PLS
	BIBD		+			+	ALS
FTLD-UPS	FTD-3	CHMP2B	+			(+)	(ALS)
FTLD-ni							

aFTLD-U : atypical frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions, AGD : argyrophilic grain dementia, ALS : amyotrophic lateral sclerosis, BIBD : basophilic inclusion body disease, C9ORF72 : chromosome 9 open reading frame 72 gene, CBD : corticobasal degeneration, CHMP2B : charged multivesicular body protein 2B gene, FTD : frontotemporal dementia, FTD-3 : FTD linked to chromosome 3, FTLD : frontotemporal lobar degeneration, FUS : fused in sarcoma, GRN : granulin gene, MAPT : microtubule associated protein tau gene, MND : motor neuron disease, MSTD : multiple system tauopathy with dementia, NFT-dementia : neurofibrillary tangle predominant dementia, ni : no inclusions, NIFID : neuronal intermediate filament inclusion disease, park : parkinsonism, PiD : Pick's disease, PLS : primary lateral sclerosis, PA : progressive non-fluent aphasia, PSP : progressive supranuclear palsy, SD : semantic dementia, TARDBP : transactive response DNA binding protein gene, TDP : TDP-43, UPS : ubiquitin proteasome system, VCP : valosin containing protein gene, WMT-GGI : white matter tauopathy with globular glial inclusions

() は、報告はあるものの頻度が低いことを示す。

(文献14)より改変、引用)

部位を調べても同じであり、それは異常構造の形態や細胞種に依存しない³¹⁾³²⁾。このことは、同じ疾患では、蓄積蛋白はそれが神経細胞に蓄積しようとグリア細胞に蓄積しようと、断片化やリン酸化などの修飾やコンフォメーションは同じであることを示唆している。以上の結果は、同じ修飾やコンフォメーション変化が、異なった脳領域や細胞種で同時に起こったと考えるより、ある部位で生じた異常蛋白がプリオンと同様に他の領域に伝播したと考えるほうが説明しやすい³¹⁾³²⁾。

蛋白の細胞間伝播のメカニズムは不明であるが、現時点では2つの可能性が考えられている。1つは、multivesicular body からエキソソーム(exosome)として細胞外に放出され、周囲の細胞にエンドサイトーシスあるいは形質膜との融合(fusion)により取り込まれる場合であり、もう1つは tunneling nanotube と呼ばれる F-actin を含む膜チャンネルを通して運ばれる場合である³⁶⁾。

Ⅶ おわりに

最近の FTLD の分子病理研究の進歩により、これまで不明な点が多かった臨床像と背景病理の関係が少しずつ明らかとなってきたが、いまだ課題も多い。すなわち、SD のほとんどは FTLD-TDP, type C であり、FTD-MND もかなりの均一性をもって FTLD-TDP, type B といえる一方、FTD については、タウ、TDP-43、FUS いずれの可能性もあり、依然として予測が困難である。今後さらに、蓄積蛋白を標的としたイメージングや脳脊髄液中のバイオマーカーなどの臨床診断法の研究を進める必要がある。基礎研究の分野では、細胞モデルおよび動物モデルの作製が進んできており、遺伝子変異から特定の蛋白蓄積を経て神経変性に至る経路の解明が期待される。特に、構造変化した蛋白の細胞間伝播は、FTLD を含めた認知症性神経変性疾患の病理変化の進展様式について全く新しい視点を提供しており、病態解明と新たな治療法開発につながる可能性があり、さらなる研究の進展が期待される。

文献

- 1) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al : Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **314** : 130-133, 2006
- 2) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, et al : TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun* **351** : 602-611, 2006
- 3) Kwiatkowski TJ Jr, Bosco DA, Leclerc AL, et al : Mutations in the FUS/TLS gene on chromosome 16 cause familial amyotrophic lateral sclerosis. *Science* **323** : 1205-1208, 2009
- 4) Vance C, Rogelj B, Hortobagyi T, et al : Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* **323** : 1208-1211, 2009
- 5) Neumann M, Rademakers R, Roeber S, et al : A new subtype of frontotemporal lobar degeneration with FUS pathology. *Brain* **132** : 2922-2931, 2009
- 6) Neumann M, Roeber S, Kretzschmar HA, et al : Abundant FUS-immunoreactive pathology in neuronal intermediate filament inclusion disease. *Acta Neuropathol* **118** : 605-616, 2009
- 7) Munoz DG, Neumann M, Kusaka H, et al : FUS pathology in basophilic inclusion body disease. *Acta Neuropathol* **118** : 617-627, 2009
- 8) Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, et al : Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17. *Nature* **442** : 916-919, 2006
- 9) Cruts M, Gijselinck I, van der Zee J, et al : Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature* **442** : 920-924, 2006
- 10) DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al : Expanded GGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron* **72** : 245-256, 2011
- 11) Renton AE, Majounie E, Waite A, et al : A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron* **72** : 257-268, 2011
- 12) Neary D, Snowden JS, Gustafson L, et al : Frontotemporal lobar degeneration : A consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* **51** : 1546-1554, 1998
- 13) 新井哲明, 細川雅人, 野中隆, 他 : 前頭側頭葉変性症の

- 分子医学. *Dement Jpn* **26** : 334-342, 2012
- 14) Rademakers R, Neumann M, Mackenzie IR : Advances in understanding the molecular basis of frontotemporal dementia. *Nat Rev Neurol* **8** : 423-434, 2012
 - 15) Arai T, Ikeda K, Akiyama H, et al : Distinct isoforms of tau aggregated in neurons and glial cells in brains of patients with Pick's disease, corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol* **101** : 167-173, 2001
 - 16) Oda T, Tsuchiya K, Arai T, et al : Pick's disease with Pick bodies ; An unusual autopsy case showing degeneration of the pontine nucleus, dentate nucleus, Clarke's column, and lower motor neuron. *Neuropathology* **27** : 81-89, 2007
 - 17) Goedert M, Spillantini MG, Cairns NJ, et al : Tau proteins of Alzheimer paired helical filaments ; Abnormal phosphorylation of all six brain isoforms. *Neuron* **8** : 159-168, 1992
 - 18) Sergeant N, Wattez A, Delacourte A : Neurofibrillary degeneration in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration : Tau pathologies with exclusively "exon 10" isoforms. *J Neurochem* **72** : 1243-1249, 1999
 - 19) Delacourte A, Sergeant N, Wattez A, et al : Vulnerable neuronal subsets in Alzheimer's and Pick's disease are distinguished by their tau isoform distribution and phosphorylation. *Ann Neurol* **43** : 193-204, 1998
 - 20) Taniguchi S, McDonagh AM, Pickering-Brown SM, et al : The neuropathology of frontotemporal lobar degeneration with respect to the cytological and biochemical characteristics of tau protein. *Neuropathol Appl Neurobiol* **30** : 1-18, 2004
 - 21) de Silva R, Lashley T, Strand C, et al : An immunohistochemical study of cases of sporadic and inherited frontotemporal lobar degeneration using 3R- and 4R-specific tau monoclonal antibodies. *Acta Neuropathol* **111** : 329-340, 2006
 - 22) Probst A, Tolnay M, Langui D, et al : Pick's disease : Hyperphosphorylated tau protein segregates to the somatoaxonal compartment. *Acta Neuropathol* **92** : 588-596, 1996
 - 23) Arai T, Ikeda K, Akiyama H, et al : Different immunoreactivities of the microtubule-binding region of tau and its molecular basis in brains from patients with Alzheimer's disease, Pick's disease, progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Acta Neuropathol* **105** : 489-498, 2003
 - 24) Komori T, Arai N, Oda M, et al : Astrocytic plaques and tufts of abnormal fibers do not coexist in corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol* **96** : 401-408, 1998
 - 25) Arai T, Ikeda K, Akiyama H, et al : Identification of amino-terminally cleaved tau fragments that distinguish progressive supranuclear palsy from corticobasal degeneration. *Ann Neurol* **55** : 72-79, 2004
 - 26) Reed LA, Wszolek ZK, Hutton M : Phenotypic correlations in FTDP-17. *Neurobiol Aging* **22** : 89-107, 2001
 - 27) Tollervey JR, Curk T, Rogelj B, et al : Characterizing the RNA targets and position-dependent splicing regulation by TDP-43. *Nat Neurosci* **14** : 452-458, 2011
 - 28) Polymenidou M, Lagier-Tourenne C, Hutt KR, et al : Long pre-mRNA depletion and RNA missplicing contribute to neuronal vulnerability from loss of TDP-43. *Nat Neurosci* **14** : 459-468, 2011
 - 29) Mackenzie IR, Neumann M, Baborie A, et al : A harmonized classification system for FTLT-DTP pathology. *Acta Neuropathol* **122** : 111-113, 2011
 - 30) Hasegawa M, Arai T, Nonaka T, et al : Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* **64** : 60-70, 2008
 - 31) Hasegawa M, Nonaka T, Tsuji H, et al : Molecular dissection of TDP-43 proteinopathies. *J Mol Neurosci* **45** : 480-485, 2011
 - 32) Tsuji H, Arai T, Kametani F, et al : Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. *Brain* **135** : 3380-3391, 2012
 - 33) Andersson MK, Stahlberg A, Arvidsson Y, et al : The multifunctional FUS, EWS and TAF15 proto-oncoproteins show cell type-specific expression patterns and involvement in cell spreading and stress response. *BMC Cell Biol* **9** : 37, 2008
 - 34) Mackenzie IR, Munoz DG, Kusaka H, et al : Distinct pathological subtypes of FTLT-FUS. *Acta Neuropathol* **121** : 207-218, 2010
 - 35) Dormann D, Madl T, Valori CF, et al : Arginine methylation next to the PY-NLS modulates transportin binding and nuclear import of FUS. *EMBO J* **31** : 4258-4275, 2012
 - 36) Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M : The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* **33** : 317-325, 2010
 - 37) Mackenzie IR, Neumann M, Bigio EH, et al : Nomenclature and nosology for neuropathologic subtypes of frontotemporal lobar degeneration ; An update. *Acta Neuropathol* **119** : 1-4, 2010

前頭側頭葉変性症の病理と関連遺伝子

細川 雅人 新井 哲明

はじめに

前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration: FTLD) は、前頭・側頭葉の神経細胞脱落により、人格変化や失語症状を呈する神経変性疾患の総称であり、臨床的には前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia: FTD)、意味性認知症 (semantic dementia: SD)、進行性非流暢性失語 (progressive nonfluent aphasia: PA) の3つの類型に分類される¹⁾。

病理学的には、ほとんどのFTLD例では神経細胞あるいはグリア細胞内に特定の蛋白質が凝集し、封入体を形成する。その主要構成蛋白として、これまでタウ、TAR DNA-binding protein of 43 kDa (遺伝子: TARDBP, 蛋白: TDP-43), fused in sarcoma (FUS) が同定され、FTLD-tau, FTLD-TDP, FTLD-FUS という3つの主要な病理グループを形成している。これらの蛋白質の異常蓄積は海馬を含めた側頭葉および前頭葉において好発するが、そのような部位特異的な蓄積が生じる機序は不明である。

近年、封入体の構成蛋白質の同定とともに、家族性FTLDの原因遺伝子が次々と同定されたことで、FTLDの疾患理解は大きく進んだ。すなわち、タウ (microtubule associated-protein tau: MAPT), granulin (GRN)^{2,3)}, chromosome 9 open reading frame 72 (C9ORF72)^{4,5)} などである。

本稿では、特に海馬に焦点を当て、FTLDの各病理サブタイプの臨床病理像と関連遺伝子について解説する。

タウ

1. タウオパチーとは

微小管結合蛋白質の一種であるタウの細胞内蓄積が生じる疾患をタウオパチーと総称する。MAPTはスプライシングを受け、エクソン10の挿入の有無により、31~32個のアミノ酸の繰り返し配列が3つ存在する3リピートタウと4つ存在する4リピートタウが生じる。孤発性タウオパチーに属するFTLDにおいては、蓄積したタウのアイソフォーム組成に疾患特異性があり、神経原線維変化型老年期認知症 (senile dementia of the neurofibrillary tangle type: SD-NFT) では3リピートタウと4リピートタウが同じ割合で蓄積するのに対し、Pick病では3リピートタウ

が、進行性核上性麻痺 (PSP) や皮質基底核変性症 (CBD) では4リピートタウが優位に蓄積する。

2. MAPT 変異と FTDP-17

1998年、第17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う家族性FTD (frontotemporal dementia and Parkinsonism linked to chromosome 17: FTDP-17) の原因としてMAPT変異が同定された⁶⁾。その後、病原性が不明なものも含めて73カ所の変異が報告されている。

FTDP-17におけるMAPT変異は、①タウの構造を変えて微小管重合能を変化させる、②mRNAのスプライシングに影響を与えてアイソフォームの発現比率を変化させる、のどちらかの効果が確認されている。①の大部分はリピート部とその近傍にあるミスセンス変異であり、海馬領域にNFTを形成するタイプ (V337M, R406W) やPick球を形成するタイプがある。後者の変異はエクソン9~13にかけて10カ所報告されている。

ところで、Pick病の脳において3リピートタウの発現が増加しているという証拠はなく、なぜ3リピートタウが特異的に蓄積するのかは不明である。Pick球が形成される上記の変異のうち、ΔK280変異はスプライシングエンハンサー配列の崩壊によって3リピートタウの発現が増加することによりその蓄積が生じると考えられるが⁷⁾、その他の変異はすべてのアイソフォームに生じていることから、3リピートタウ優位な蓄積がおこる機序はやはり不明である。一つの仮説は、タウのアイソフォーム発現は神経細胞によって様ではなく、Pick病では元来3リピートタウの発現が多い神経細胞が侵されるというもので、Pick球の好発細胞である海馬歯状回顆粒細胞が3リピートタウのみを発現していることがその根拠となっている^{8,9)}。

FTDP-17の臨床症状は大まかに2つの臨床病型に分けられ、変異部位とのある程度の対応関係が認められる。す

前頭側頭葉変性症の原因遺伝子

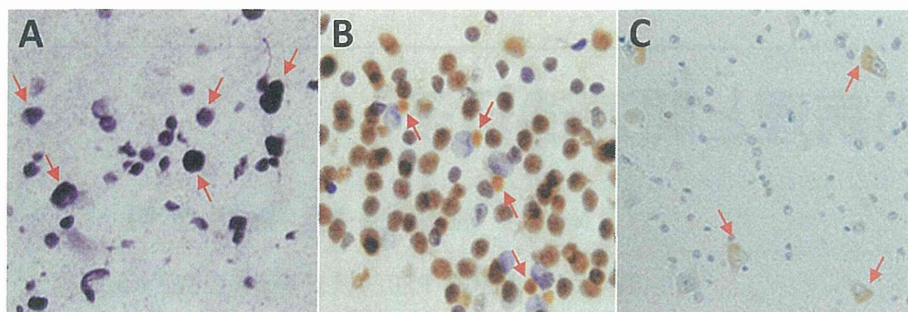
遺伝子	遺伝子座	変異数		
		Clinical	Unclear	Benign
MAPT	17q21.1	44	2	27
VCP	9p13.3	17	2	0
CHMP2B	3p11.2	4	4	4
GRN	17q21.32	69	35	45
TARDBP	1p36.22	36	2	12
FUS	16p11.2	23	4	18
C9orf72	9p21.2	1	0	0

(Crutsら¹⁹⁾より改変)

ほそかわ まさと 東京都医学総合研究所/認知症・高次脳機能研究分野認知症プロジェクト

あらい てつあき 東京都医学総合研究所/認知症・高次脳機能研究分野認知症プロジェクト、筑波大学大学院講師/人間総合科学研究科疾患制御医学専攻精神病態医学分野

0289-0585/13/¥500/論文/JCOPY



FTLD に出現する代表的な海馬の神経細胞内封入体(免疫組織化学染色)

A) Pick 病における Pick 球(矢印). 一次抗体は 3 リピートタウ特異抗体(RD3).

B) FTLD-TDP における TDP-43 陽性神経細胞内封入体(矢印). TDP-43 は核蛋白であるため, 正常の核が染色されるが, 封入体が形成された細胞の核は染色性が失われる点特徴. 一次抗体はリン酸化非依存性抗 TDP-43 抗体(ProteinTech).

C) FTLD-FUS における FUS 陽性神経細胞内封入体(矢印). 一次抗体は抗 FUS 抗体(Sigma).

なわち, ①の変異では行動異常が目立ち, FTD の診断基準に合致する例が多く, ②の変異ではパーキンソニズム, 核上性眼球運動障害, ジストニアなどが主要症状となり, PSP や CBD に類似する例が多い.

3. SD-NFT とアポリポ蛋白質 E 遺伝子多型

SD-NFT は, 海馬領域に限局して NFT が多発するが老人斑を欠く認知症で, 高齢者を中心におこる. 認知症高齢者剖検例における本症の頻度は 1.7~5.6% であり, 発症は加齢に伴い増加し, 90 歳以上では 20% を占めるとされる. その臨床特徴は, 即時・近時記憶を中心とした高度の記憶障害に対して, 周囲に対する認知や言語機能は比較的保たれ, 人格水準の低下もないことである. アルツハイマー病(AD)と比較すると, AD の危険因子であるアポリポ蛋白質 E の ε4 の頻度が低い, あるいは ε2 の頻度が高いことが報告されている¹⁰⁾.

TDP-43

1. TDP-43 と FTLD-TDP

2006 年, タウ陰性・ユビキチン陽性の神経細胞内封入体(neuronal cytoplasmic inclusion: NCI)を有する FTLD-U および筋萎縮性側索硬化症に出現する NCI の主要構成成分として, 核蛋白である TAR DNA-binding protein of 43 kDa(TDP-43)が同定され^{11,12)}, これらを FTLD-TDP と呼ぶこととなった. FTLD-TDP 例に出現する TDP-43 陽性構造には NCI のほかに, 神経細胞核内封入体(neuronal intranuclear inclusion: NII), 変性神経突起(dystrophic neurite: DN)などがあり, 大脳皮質におけるこれらの出現パターンに多様性がある. すなわち短い DN と NCI が混在し, 主に皮質第 II 層に出現する Type A, 主として NCI が皮質全層に出現する Type B, 長い DN が皮質第 II 層に出現する Type C, 短い DN と NII が全層に出現する Type D となる¹³⁾.

2. GRN 変異による家族性 FTLD-TDP

2006 年, 染色体 17q21 に連鎖する家族性 FTLD-TDP の原因として, グラニューリン(*granulin: GRN*)遺伝子変異が同定された^{3,14)}. *GRN* 遺伝子から産生される蛋白質であるプログラニューリン(*progranulin: PGRN*)は成長因子の一種であり, 細胞増殖, 腫瘍形成, 創傷治癒, 発達, 炎症などの多くのプロセスに関与する. 脳では大脳皮質表層の神経細胞, 海馬の錐体細胞および顆粒細胞, 小脳の Purkinje

細胞に発現する¹⁵⁾.

GRN 変異例の臨床像は主として FTD か PA であり, パーキンソン症状をしばしば認めるが, 運動ニューロン症状はまれである. 病理学的には, TDP-43 陽性の NCI, DN, NII が, 変性が生じている大脳皮質の第 II 層や海馬歯状回に出現する.

GRN 変異は現在までのところ, 最初のエクソンを除くすべてのエクソンとほとんどのイントロンに, 病原性が不明なものも含めて, 一塩基置換, 挿入, 欠失などが 149 ヲ所同定されている.

変異による機序としてはハプロ不全(haploinsufficiency)が想定されている. すなわち, 変異型 mRNA がナンセンス変異依存分解機構(nonsense-mediated decay)によって分解されるために無発現となり, 機能型 PGRN 蛋白が減少することによるとされる. *GRN* ノックアウトマウスでは社会的行動障害や海馬依存的な学習・記憶障害が認められる. PGRN 蛋白の減少から TDP-43 蓄積を経て神経変性に至る機序については未だ不明な点が多いが, PGRN が炎症の抑制作用を有することから神経炎症との関連性が注目されている.

3. C9ORF72 遺伝子変異

2006 年より, 家族性 FTD-ALS の連鎖解析等から, 第 9 染色体短腕 21 領域への関連が多数報告されていたが, 2011 年, *C9ORF72* が原因遺伝子として同定された⁴⁾. これらの報告では, *C9ORF72* のエクソン 1a と 1b の間にあるイントロンに GGGGCC というヘキサヌクレオチドの繰り返し配列の異常伸長が発見された. 健常人での GGGGCC リピート数は 2~23 であるのに対し, 患者では 700 以上と推測されている⁴⁾.

変異例の臨床像は FTLD, ALS, あるいは両者の合併である. FTLD の臨床病型としては脱抑制型の FTD が最も多いが, PA あるいは SD を示した例の報告も少数ある. 基本的な病理像は FTLD-TDP と ALS のコンビネーションであり, TDP-43 陽性 NCI が大脳皮質, 海馬, 基底核, 黒質, 脳幹および脊髄の運動ニューロンなどに広汎に分布する.

さらに, 変異例では TDP-43 陽性 NCI 以外に, TDP-43 陰性・p62 陽性の NCI が海馬錐体細胞や小脳顆粒細胞に出現するが, その構成蛋白質は不明であった. 2013 年, *C9ORF72* の GGGGCC リピート部分が開始コドンなしに

非定型的に翻訳され、読み枠の違いによって3種類のジペプチドが産生され、これらのジペプチドリピート蛋白質が上記のNCI中に存在することが示された^{16,17)}。C9ORF72変異によって発症するFTLDにおいて、TDP-43陽性封入体が非常に少なく、ユビキチンあるいはp62陽性封入体が多数観察されるFTLD-UPS (ubiquitin proteasome system)に分類される症例があるが、このFTLD-UPSでは、TDP-43ではなくジペプチドリピート蛋白質が神経変性・細胞死に深く関わっている可能性が示された。

fused in sarcoma (FUS)

FUSはヒト粘液性脂肪肉腫において転写因子と融合遺伝子を形成し、癌化を誘導する因子として発見された。FUSはDNA/RNA結合蛋白であるEwing's sarcoma protein (EWS)やTATA-binding protein associated factor 15 (TAF15)とともにFET蛋白ファミリーに属する。

2009年、家族性ALS (ALS6)においてFUS遺伝子の変異が同定された(ALS-FUS)後、FTLDとの関連が調べられた。FTLDにおいて原因蛋白が不明なままであったatypical FTLD-U (aFTLD-U)、神経細胞性中間径フィラメント封入体病 (neuronal intermediate filament inclusion disease: NIFID)、好塩基性封入体病 (basophilic inclusion body disease: BIBD)の免疫組織化学的検討の結果、これらの疾患において多数のFUS陽性封入体が存在することが明らかとなり、これらがFTLD-FUSとしてまとめられることとなった。なお、FUS遺伝子変異例の表現型はほとんどがALSであり、FTLDを示す例はまれである。

aFTLD-Uの臨床像はほとんどがFTDである。NIFIDもFTDが多いが、FTD-MNDや皮質基底核症候群(CBS)の報告もある。BIBDの臨床像が最も多彩であり、FTD、FTD-MND、CBS、PSPなどの報告がある。

病理学的には、 α -インターネキシン陽性NCI、好塩基性封入体、FUS陽性構造の3種類の異常構造が3疾患に共通して認められるが、その頻度と分布に各々の特徴がある。海馬についてみると、いずれの疾患においても歯状回に円形のFUS陽性NCIが出現するが、BIBDにおいてのみ三日月状のNCIも認められる。さらに、FUS陽性NIIはaFTLD-UとNIFIDでは認められるが、BIBDでは出現しない¹⁸⁾。これらの3疾患は、CBDとPSPのように、各々オーバーラップはあるものの臨床病理学的に異なったentityとして区別されている。

また、最近FTLD-FUS例ではFUS陽性封入体にEWSおよびTAF15が共局在するが、ALS-FUS例ではEWSおよびTAF15陽性の封入体は観察されないことが報告され、FTLD-FUSとALS-FUSの病理進行過程に違いがある可能性が初めて指摘された。

むすび

FTLDの病理と関連遺伝子について、特に海馬の病理構造に焦点を当ててまとめた。FTLDだけでなく、ADにおけるNFTやLewy小体型認知症におけるLewy小体など、各変性性認知症を特徴づける蛋白質凝集物は海馬領域に好発するが、その理由は不明である。FTLDについては、原因蛋白としてのTDP-43とFUS、および原因遺伝子としてのGRNとC9ORF72の発見とその研究は近年飛躍的に進歩し、細胞モデルおよび動物モデルの作製も進んでいる。それらの解析により、遺伝子変異から特定の蛋白蓄積を経て神経変性に至る経路が解明されるなかで、海馬の役割についても明らかになることが期待される。

文献

- 1) Neary D, Snowden JS, Gustafson L, et al. Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology*. 1998; 51: 1546-54.
- 2) Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, et al. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17. *Nature*. 2006; 442: 916-9.
- 3) Cruts M, Gijssels I, van der Zee J, et al. Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature*. 2006; 442: 920-4.
- 4) DeJesus-Hernandez M, Mackenzie IR, Boeve BF, et al. Expanded GGGGCC hexanucleotide repeat in noncoding region of C9ORF72 causes chromosome 9p-linked FTD and ALS. *Neuron*. 2011; 72: 245-56.
- 5) Renton AE, Majounie E, Waite A, et al. A hexanucleotide repeat expansion in C9ORF72 is the cause of chromosome 9p21-linked ALS-FTD. *Neuron*. 2011; 72: 257-68.
- 6) Hutton M, Lendon CL, Rizzu P, et al. Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*. 1998; 393: 702-5.
- 7) van Swieten JC, Bronner IF, Azmani A, et al. The DeltaK280 mutation in MAP tau favors exon 10 skipping in vivo. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007; 66: 17-25.
- 8) Hasegawa M. Biochemistry and molecular biology of tauopathies. *Neuropathology*. 2006; 26: 484-90.
- 9) Delacourte A, Sergeant N, Wattez A, et al. Vulnerable neuronal subsets in Alzheimer's and Pick's disease are distinguished by their tau isoform distribution and phosphorylation. *Ann Neurol*. 1998; 43: 193-204.
- 10) Ikeda K, Akiyama H, Arai T, et al. A subset of senile dementia with high incidence of the apolipoprotein E epsilon2 allele. *Ann Neurol*. 1997; 41: 693-5.
- 11) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2006; 351: 602-11.
- 12) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science*. 2006; 314: 130-3.
- 13) Mackenzie IR, Neumann M, Baborie A, et al. A harmonized classification system for FTLD-TDP pathology. *Acta Neuropathol*. 2011; 122: 111-3.
- 14) Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, et al. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17. *Nature*. 2006; 442: 916-9.
- 15) Daniel R, He Z, Carmichael KP, et al. Cellular localization of gene expression for progranulin. *J Histochem Cytochem*. 2000; 48: 999-1009.
- 16) Ash PE, Bieniek KF, Gendron TF, et al. Unconventional translation of C9ORF72 GGGGCC expansion generates insoluble polypeptides specific to c9FTD/ALS. *Neuron*. 2013; 77: 639-46.
- 17) Mori K, Weng SM, Arzberger T, et al. The C9orf72 GGGGCC repeat is translated into aggregating dipeptide-repeat proteins in FTLD/ALS. *Science*. 2013; 339: 1335-8.
- 18) Mackenzie IR, Munoz DG, Kusaka H, et al. Distinct pathological subtypes of FTLD-FUS. *Acta Neuropathol*. 2010; 121: 207-18.
- 19) Cruts M, Theuns J, Van Broeckhoven C. Locus-specific mutation databases for neurodegenerative brain diseases. *Hum Mutat*. 2012; 33: 1340-4.

Original Research Article

Long-Term Safety and Efficacy of Donepezil in Patients with Dementia with Lewy Bodies: Results from a 52-Week, Open-Label, Multicenter Extension Study

Manabu Ikeda^a Etsuro Mori^b Kenji Kosaka^c Eizo Iseki^d
Mamoru Hashimoto^a Noriyuki Matsukawa^f Kazutaka Matsuo^e
Masaki Nakagawa^e on behalf of the Donepezil-DLB Study Investigators

^aDepartment of Neuropsychiatry, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University, Kumamoto,

^bDepartment of Behavioral Neurology and Cognitive Neurosciences, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai, ^cDepartment of Psychiatry, Yokohama City University School of Medicine, Yokohama, ^dJuntendo Tokyo Koto Geriatric Medical Center, and ^eEisai Co., Ltd., Tokyo, and ^fDepartment of Neurology, Nagoya City University, Nagoya, Japan

Key Words

Cholinesterase inhibitors · Cognitive fluctuations · Dementia with Lewy bodies · Donepezil

Abstract

Background/Aims: To investigate the safety and efficacy of long-term administration (52 weeks) of donepezil in patients with dementia with Lewy bodies (DLB). **Methods:** This was a 52-week, multicenter, open-label extension study. Up to 8 weeks after the completion of the preceding randomized, placebo-controlled trial (RCT), patients started treatment with 3 mg of donepezil daily for 2 weeks, followed by 5 mg daily for the remaining 50 weeks. Cognitive function, behavioral and psychiatric symptoms, cognitive fluctuations, and caregiver burden were assessed using the Mini-Mental State Examination, Neuropsychiatric Inventory, Cognitive Fluctuation Inventory, and the Zarit Caregiver Burden Interview, respectively. Safety parameters were monitored throughout. **Results:** In total, 108 patients were enrolled in the study. Cognitive function and dementia-related behavioral symptoms, including cognitive fluctuations, were improved after the start of donepezil treatment, and improvement was maintained for 52 weeks. Reduction in caregiver burden observed in the preceding RCT returned to the baseline level at 52 weeks. There was no significant imbalance in the incidence of adverse events (AEs) by onset time, and delayed AE onset induced by the long-term administration of donepezil was unlikely to appear. **Conclusion:** The long-term administration of donepezil at 5 mg/day was well tolerated in patients with DLB and is expected to exhibit lasting effects, improving impaired cognitive function and psychiatric symptoms up to 52 weeks.

© 2013 S. Karger AG, Basel

Manabu Ikeda, MD, PhD
1-1-1 Honjo
Kumamoto 860-8556 (Japan)
E-Mail mikeda@kumamoto-u.ac.jp

Introduction

Dementia with Lewy bodies (DLB) is a common form of dementia in the elderly, accounting for 10–15% of patients with dementia and constituting the second largest group after Alzheimer's disease (AD) [1]. The core clinical features of DLB include neuropsychiatric symptoms and parkinsonism, as well as cognitive impairment characterized by deficits in attention, executive function, and visual perception [2].

Compared with patients with AD, cholinergic neurotransmission is more defective in patients with DLB [3]. In addition, although cholinergic losses in DLB affect both brainstem and basal forebrain presynaptic nuclei, postsynaptic cortical muscarinic and nicotinic receptors are functionally more intact [4]. For these reasons, it is suggested that cholinesterase inhibitors (ChEIs) may be effective for treating DLB. In fact, usefulness of ChEIs such as galantamine, rivastigmine, and donepezil in the treatment of DLB symptoms has been reported in several open-label studies [5–9] and two randomized controlled trials [10, 11]. Their usefulness has also been reported in several clinical trials of Parkinson's disease dementia, which is considered to fall into same category as DLB [12, 13]. Recently, we reported in a 12-week, randomized, placebo-controlled trial (RCT) that donepezil at 5 and 10 mg/day produces significant cognitive, behavioral, and global improvements in DLB patients, with a relatively low discontinuation rate due to adverse events (AEs) [11].

Due to the progressive nature of DLB, it is clear that long-term treatment is essential; however, evidence of the long-term safety and efficacy of ChEIs has not been well established, as there is only one report assessing the long-term use of rivastigmine [8]. Also, worsening of parkinsonism and cardiac dysrhythmia are major concerns in the use of ChEIs. Patients with DLB may be more susceptible to bradyarrhythmic side effects due to the autonomic insufficiency associated with the disease [14]. Therefore, the benefits of long-term treatment with ChEIs in those patients remain an important clinical question.

Based on our findings from the preceding RCT, which suggested short-term benefits of treating DLB patients with donepezil, we designed an open-label extension study to investigate the safety and efficacy of long-term administration (52 weeks) of donepezil at 5 mg/day in patients with DLB who had completed the preceding RCT.

This study was registered as No. NCT00598650.

Patients and Methods

Patients

Patients who satisfied the consensus diagnostic criteria for probable DLB [2] and who had completed the preceding phase 2, 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study evaluating the efficacy and safety of donepezil [11] were subsequently recruited for this 52-week extension study. The study was conducted in 48 psychiatric and neurological specialty centers throughout Japan between February 2008 and March 2011.

Key inclusion and exclusion criteria for this extension study were the same as for the preceding RCT, and were described in detail in that study [11]. Briefly, patients diagnosed with probable DLB with mild to moderate-severe dementia and behavioral symptoms [$10 \leq$ Mini-Mental State Examination (MMSE) ≤ 26 , Neuropsychiatric Inventory (NPI) ≥ 8 at baseline of the preceding RCT], aged ≥ 50 years, were asked to participate in the study. Patients with conditions which might affect their cognitive functions, including focal vascular lesions and other neurological or psychiatric diseases, were excluded from this study. Patients who had severe extrapyramidal disorders (Hoehn & Yahr staging $\geq IV$), systolic blood pressure of < 90 mm Hg, pulse rate of < 50 b.p.m., or QT interval prolongation (QTc ≥ 450 ms) were also excluded. In order to collect reliable information about the patient's condition from his or her caregiver, patients were also required to have a reliable caregiver who spent at least 4 h per day with them for at least 3 days per week.

Study Design

This was a 52-week, multicenter, open-label extension study to assess the long-term safety and efficacy of daily administration of 5 mg of donepezil for the management of DLB. This study was a preplanned study, planned simultaneously with the preceding RCT. In the preceding RCT, patients were randomly assigned in a 1:1:1:1 ratio to receive a placebo or 3, 5, or 10 mg of donepezil. Up to 8 weeks after the completion of the RCT, eligible patients who agreed to participate started the treatment period of this extension study with 3-mg doses of donepezil for 2 weeks, which was then increased to 5 mg per day for the remaining 50 weeks. Dose adjustment to 3 mg was permitted only when continuation of treatment with 5-mg doses was judged to be difficult due to AEs, in which case the dose was maintained throughout the remaining treatment period. During the transition period between the two studies, administration of donepezil was not allowed. In order to maintain blinding of the preceding RCT, the treatment with donepezil in this extension study was started after the data of each patient from the RCT had been fixed. It was not until 3 months after the last patient was enrolled in this study that the key code of the RCT was broken.

Written informed consent was again obtained from all caregivers and patients (if capable) before the start of this extension study. The study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and the study protocol was approved by the institutional review board of each participating center.

Outcome Measures

Cognitive function was assessed using the MMSE [15]. Behavioral and psychiatric symptoms of dementia and fluctuations in cognition were assessed using the NPI [16] and Cognitive Fluctuation Inventory (CFI), respectively. The CFI is a newly developed questionnaire to assess cognitive fluctuations in patients with dementia [6, 11]. It employs the same format as the NPI, so as to enable practical comparison with the other symptoms assessed by the NPI. Its content validity has been assured based on reviews by experts, and reliability (both inter- and intrarater reliability) was demonstrated to be sufficient as a measure of cognitive fluctuation [unpubl. data]. These measures were assessed at 0, 4, 8, 16, 24, 32, 40, and 52 weeks. We also assessed caregiver burden using the Zarit Caregiver Burden Interview (ZBI) [17] at 0, 24, and 52 weeks.

Safety

All AEs, including abnormalities in vital signs, electrocardiograms, and laboratory tests, were recorded during the entire study period. The causal relationship to donepezil, severity, and outcome of each AE was assessed by attending physicians. For the assessment of parkinsonism, the patients' motor functions were assayed using the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS) part III [18].

Statistical Analyses

Safety analyses were performed on patients who received at least one dose of donepezil and who also provided safety assessment data after baseline. Of these patients, those with at least one available efficacy evaluation were included in efficacy analysis. Baseline demographic and clinical characteristics were summarized with descriptive statistics. For continuous variables, means and standard deviations were calculated. For categorical variables, the frequency of each category was calculated.

In this analysis, no formal primary endpoint was predefined due to the exploratory nature of this study. For safety, incidence rates of AEs were calculated by treatment period. The summary statistics of vital signs and UPDRS scores at each evaluation were also determined. For efficacy measures, mean change from baseline to each evaluation point was calculated. Mean change was also calculated by defining week 0 of the preceding RCT as baseline. These changes were calculated by treatment group in the preceding RCT. Values at the final evaluation were imputed using a last observation carried forward (LOCF) method. Statistical comparisons between baseline and each evaluation point were performed using paired t tests. All statistical tests were two tailed, and $p < 0.05$ was considered to indicate statistical significance.

Results

Baseline Characteristics

Out of 123 patients who had completed the RCT, 113 provided written informed consent to be screened. Of these, 108 patients who met the inclusion criteria were enrolled into the study performed at 40 sites. Two patients whose diagnosis was suspected not to meet clinical

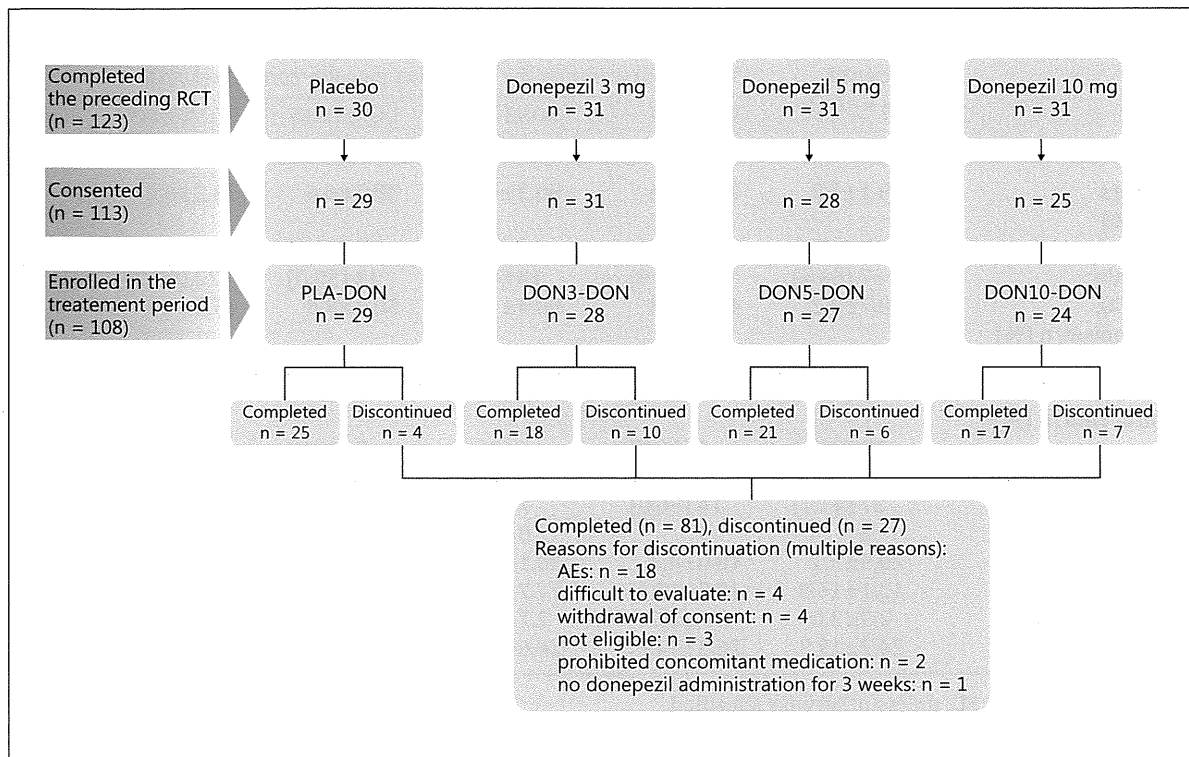


Fig. 1. Disposition of patients in the extension study.

criteria of probable DLB and another 2 patients with lack of efficacy data were excluded from the efficacy analysis population. The efficacy population (n = 104) consisted of 28 patients from the placebo group in the preceding RCT (referred as 'PLA-DON'), 27 patients from the donepezil 3-mg group (referred as 'DON3-DON'), 26 patients from the donepezil 5-mg group (referred as 'DON5-DON'), and 23 patients from the donepezil 10-mg group (referred as 'DON10-DON'; fig. 1). Baseline patient characteristics of the efficacy population are summarized in table 1. Mean scores of the MMSE, NPI-10, and the CFI at baseline were 20.9, 13.1, and 2.3, respectively.

The mean transition period from the final administration in the preceding study to the initiation of this extension study was 12.6 days (SD: 5.8, range: 6–28). Mean changes in MMSE, NPI, and CFI scores in the transition period by group are shown in table 2. Attenuation in the treatment effect was observed in most of the DON-DON groups. Nevertheless, the MMSE scores in the DON5-DON and DON10-DON groups were still more than 3 points higher compared with the PLA-DON group, even after washout prior to the start of the extension study (table 1). Compared to the PLA-DON group, a better NPI score was still observed in the DON5-DON group (approximately 5 points better) and the DON10-DON group (approx. 7 points better) after the washout period (table 1). Compared with patients with a shorter washout period, those with a longer washout period (2 weeks or longer) were more likely to show deterioration in these measures.

Of the 108 patients enrolled in the study, 90 patients (83.3%) completed 24 weeks (18 patients discontinued: 6 patients from 0 to 8 weeks, 6 patients from 8 to 16 weeks, and 6 patients from 16 to 24 weeks), and 81 patients (75%) completed 52 weeks. The overall discontinuation rate of this study was 25% (n = 27), and 18 patients discontinued treatment

Table 1. Patient demographics and baseline characteristics of the efficacy population (n = 104)

	Overall (n = 104)	Treatment group in the preceding placebo-controlled study			
		PLA-DON (n = 28)	DON3-DON (n = 27)	DON5-DON (n = 26)	DON10-DON (n = 23)
Age, years	79.1±5.7	79.0±4.6	80.3±4.8	78.7±6.6	78.2±6.6
Sex, n (%)					
Male	37 (35.6)	9 (32.1)	14 (51.9)	13 (50.0)	1 (4.3)
Female	67 (64.4)	19 (67.9)	13 (48.1)	13 (50.0)	22 (95.7)
Weight, kg	48.7±9.2	48.0±8.3	50.4±10.2	50.6±8.8	45.5±9.1
Parkinsonism, n (%)					
Yes	90 (86.5)	25 (89.3)	23 (85.2)	23 (88.5)	19 (82.6)
No	14 (13.5)	3 (10.7)	4 (14.8)	3 (11.5)	4 (17.4)
Hoehn & Yahr, n (%)					
I	19 (21.1)	4 (16.0)	6 (26.1)	3 (13.0)	6 (31.6)
II	34 (37.8)	7 (28.0)	10 (43.5)	10 (43.5)	7 (36.8)
III	37 (41.1)	14 (56.0)	7 (30.4)	10 (43.5)	6 (31.6)
IV and V	0	0	0	0	0
MMSE	20.9±5.1	18.6±4.3	20.1±6.2	23.1±3.5	21.9±5.0
NPI	13.1±16.8	15.5±13.4	17.7±24.4	10.3±15.4	8.0±7.4
CFI	2.3±3.0	3.3±2.7	2.1±3.0	2.2±3.4	1.4±2.4
ZBI	24.7±15.7	26.9±14.6	26.6±18.1	23.6±16.4	21.1±13.3

Values are mean ± SD, unless otherwise specified.

Table 2. Mean change in MMSE, NPI, and CFI from the end of the preceding RCT to the start of this extension study by treatment group in the preceding RCT

Scores by treatment group	Overall		Washout period			
	n	mean ± SD	<2 weeks		≥2 weeks	
			n	mean ± SD	n	mean ± SD
MMSE						
PLA-DON	27	0.2±2.2	14	-0.1±2.0	13	0.5±2.5
DON3-DON	27	-0.9±3.0	12	-0.5±2.2	15	-1.2±3.5
DON5-DON	26	-0.8±2.7	12	0.4±2.4	14	-1.9±2.5
DON10-DON	22	0.1±2.7	14	0.7±2.7	8	-1.0±2.4
NPI						
PLA-DON	28	-0.3±5.1	14	-1.3±4.3	14	0.7±5.7
DON3-DON	27	1.9±8.4	12	-0.3±5.0	15	3.6±10.1
DON5-DON	26	3.7±12.5	12	8.3±15.7	14	-0.1±7.5
DON10-DON	21	0.3±4.8	14	-0.5±4.3	7	2.0±5.7
CFI						
PLA-DON	28	0.1±2.0	14	0.0±1.4	14	0.2±2.6
DON3-DON	27	-0.2±1.8	12	-1.1±1.5	15	0.5±1.8
DON5-DON	26	0.7±2.2	12	1.3±2.9	14	0.1±1.1
DON10-DON	21	-0.2±1.9	14	-0.4±2.2	7	0.0±1.3

The negative MMSE scores, the positive NPI scores, and the positive CFI scores indicate deterioration.

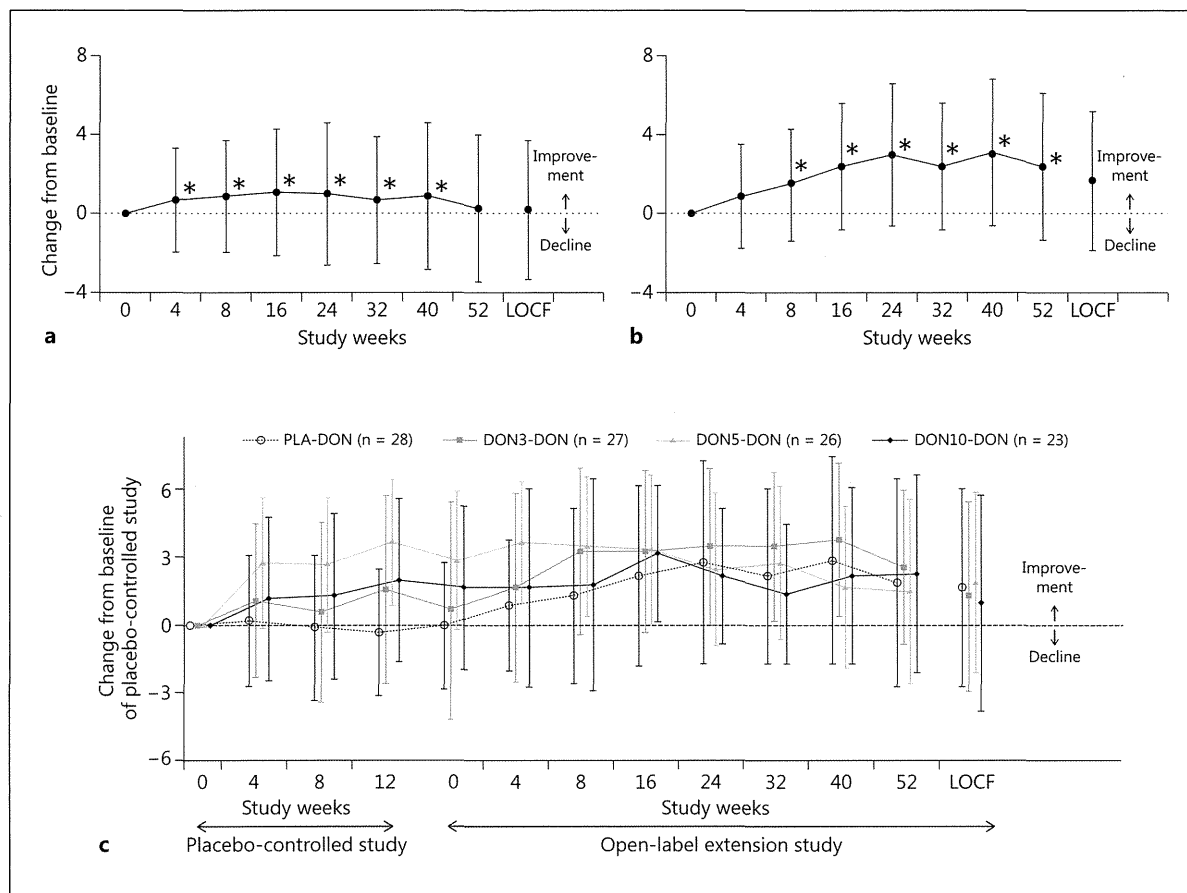


Fig. 2. Mean changes in MMSE scores. * $p < 0.05$ vs. baseline (paired t test). Vertical bars indicate standard deviations. **a** Overall mean change during the treatment period ($n = 103$). **b** Mean change in the placebo group of the preceding RCT ($n = 27$). **c** Mean cumulative changes by treatment group in the preceding RCT throughout both the preceding RCT and this extension study (no statistical test was performed).

due to AEs (fig. 1). Three patients underwent a dose reduction from 5 to 3 mg/day due to the occurrence of AEs. Of these, 2 patients completed the study with a dose of 3 mg/day without premature termination of the study, despite having an AE occur even after the dose reduction.

Efficacy

Mean scores in MMSE significantly improved at 4–40 weeks compared with baseline (fig. 2a). The mean (SD) changes at 52 weeks and at the final evaluation (LOCF) from baseline were 0.3 ± 3.7 and 0.2 ± 3.5 , respectively, indicating that baseline values were maintained over 52 weeks. In the PLA-DON group (fig. 2b), the mean (SD) changes at 52 weeks and at the final evaluation (LOCF) from baseline were 2.0 ± 4.4 and 1.7 ± 4.4 , respectively, and the largest change was observed at 40 weeks (3.0 ± 4.3). Significant improvement was demonstrated at all the evaluation points after 8 weeks. If the results are analyzed by defining week 0 of the previous RCT as baseline, although there was up to an 8-week washout period, MMSE scores in DON-DON groups improved throughout the RCT and the subsequent 52-week extension study (longer than 64 weeks in total; fig. 2c). On the other hand, in the PLA-DON group, improvement in MMSE scores was found only during the extension period.

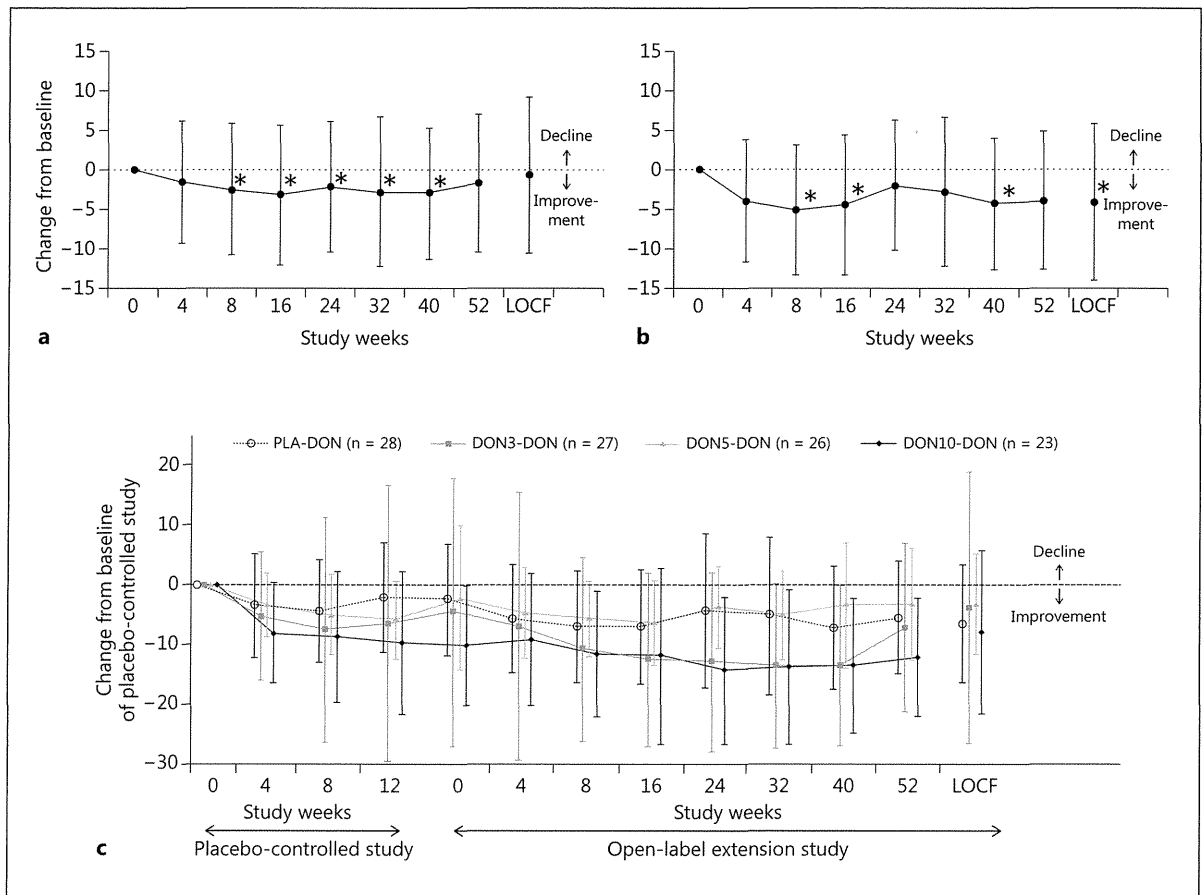


Fig. 3. Mean changes in NPI scores. * $p < 0.05$ vs. baseline (paired t test). Vertical bars indicate standard deviations. **a** Overall mean change during the treatment period ($n = 104$). **b** Mean change in the placebo group in the preceding RCT ($n = 28$). **c** Mean cumulative changes by treatment group in the preceding RCT throughout both the preceding RCT and this extension study (no statistical test was performed).

Changes in NPI scores during the treatment period are shown in figure 3a. The mean (SD) changes at 52 weeks and at the final evaluation (LOCF) from baseline were -1.9 ± 9.8 and -0.7 ± 11.1 , respectively. A significant improvement in the scores compared to baseline was observed at 8–40 weeks, and the largest change was observed at 16 weeks (-3.6 ± 9.9). In the PLA-DON group, significant improvement was demonstrated at 8, 16, and 40 weeks, and at the final evaluation point (LOCF; fig. 3b). The mean changes at 52 weeks and at the final evaluation point (LOCF) were -4.1 ± 10.1 and -4.3 ± 9.7 , respectively. During the entire treatment period, combining both the preceding study and this extension study, improvement was maintained in all the DON-DON groups, even though there was up to an 8-week washout period (fig. 3c).

The changes in CFI scores during the treatment period are shown in figure 4a. Significant improvement compared to baseline was observed at 24 and 32 weeks, and this improvement was maintained throughout the treatment period. In the PLA-DON group, significant improvement was demonstrated at 8 and 16 weeks (fig. 4b). The mean (SD) changes at 52 weeks and at the final evaluation point (LOCF) were -1.0 ± 2.7 and -1.0 ± 2.6 , respectively, and the largest change was observed at 8 weeks (-1.4 ± 1.8). If the results are analyzed by defining week 0 of the preceding RCT as baseline, CFI scores in all the DON-DON

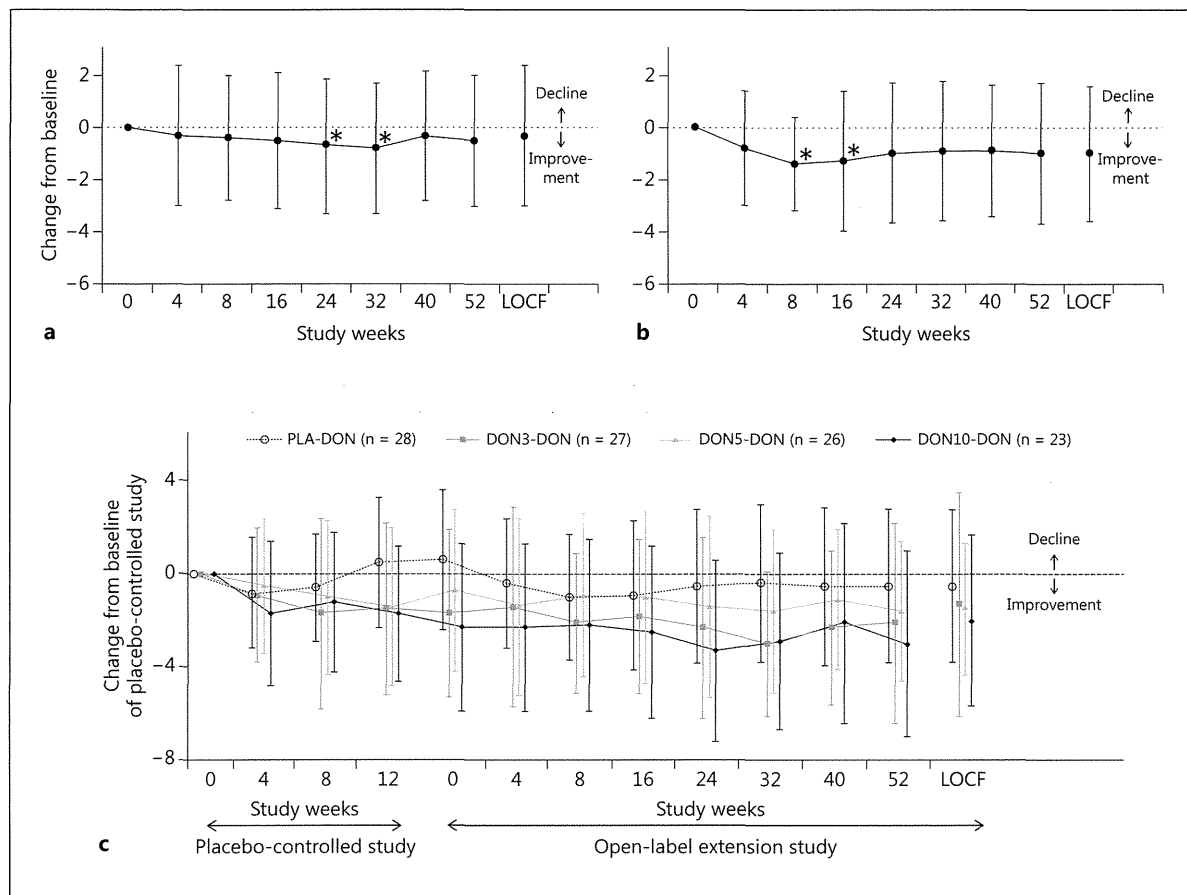


Fig. 4. Mean changes in CFI scores. * $p < 0.05$ vs. baseline (paired t test). Vertical bars indicate standard deviations. **a** Overall mean change during the treatment period ($n = 104$). **b** Mean change in the placebo group in the preceding RCT ($n = 28$). **c** Mean cumulative changes by treatment group in the preceding RCT throughout both the preceding RCT and this extension study (no statistical test was performed).

groups improved throughout the RCT and the subsequent 52-week extension study (fig. 4c).

With regard to caregiver burden, a significant deterioration was demonstrated at 52 weeks and at the final evaluation point (LOCF) compared to baseline (fig. 5a). In the PLA-DON group, however, improvements in scores were observed during the treatment period, although they were not statistically significant (fig. 5b). In the DON-DON groups, ZBI scores were likely to be improved during the preceding RCT; however, this degree of improvement disappeared during the extension period (fig. 5c).

Safety

The incidence of AEs in the safety analysis set was 94.4% (102/108). Incidence rates of AEs did not differ among the four groups stratified according to the preceding RCT (89.7% in PLA-DON, 96.4% in DON3-DON, 92.6% in DON5-DON, and 100.0% in DON10-DON). Twenty-seven serious AEs were reported in 25 patients. Serious AEs observed in more than 1 patient included compression fractures ($n = 3$), pneumonia ($n = 3$), and dehydration ($n = 2$). Four events (myocardial infarction, subarachnoid hemorrhage, asphyxia, and acute pancreatitis) resulted in the deaths of 3 patients. Myocardial infarction and acute pancreatitis were deter-

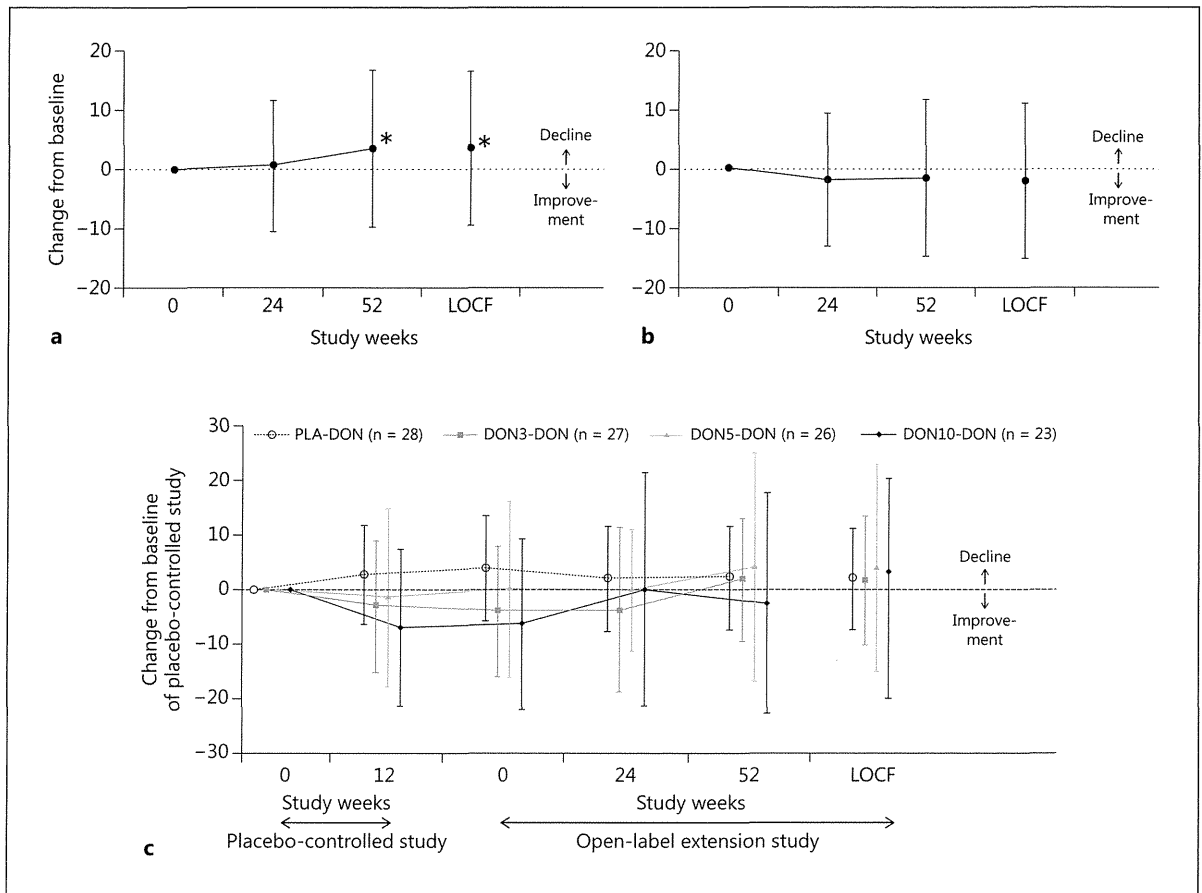


Fig. 5. Mean changes in ZBI scores. * $p < 0.05$ vs. baseline (paired t test). Vertical bars indicate standard deviations. **a** Overall mean change during the treatment period ($n = 103$). **b** Mean change in the placebo group in the preceding RCT ($n = 28$). **c** Mean cumulative changes by treatment group in the preceding RCT throughout both the preceding RCT and this extension study (no statistical test was performed).

mined to be the results of adverse drug reactions. Major frequently observed AEs are shown in table 3. They included increased blood creatine phosphokinase and contusion (12 patients each, 11.1%), followed by nasopharyngitis, blood pressure increase, fall (11 patients each, 10.2%), and diarrhea (10 patients, 9.3%).

AEs associated with parkinsonism were reported in 12.0% ($n = 13$) of the patients throughout the study period. Most of them (12/13) were mild to moderate in severity. No notable increase in these AEs was observed according to the treatment period. A modest and insignificant rise in the mean UPDRS score (range: 0.5–1.1) was noted at 24 and 52 weeks, and at the final evaluation point (LOCF).

The incidence of abnormal changes in pulse rate and abnormal electrocardiograms was 1.9 (2 patients) and 7.5% (8 patients), respectively. The mean pulse rate decreased modestly at every evaluation point compared to baseline (range: -0.3 to -1.8). AEs related to them included prolonged QT (2 patients), supraventricular extrasystoles (2 patients), first-degree atrioventricular block (1 patient), bradycardia (1 patient), sinus bradycardia (1 patient), and ventricular extrasystoles (1 patient) on electrocardiogram. None of these events was serious or clinically significant (e.g., leading to discontinuation or dose reduction).