

厚生労働科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業 (神経・筋疾患分野))

「異常タンパク伝播仮説に基づく神経疾患の画期的治療法の開発」

(分担) 研究報告書

臨床的に ALS-D と診断され、特異な病理組織学的所見を呈した

Globular glial tauopathy の 1 例

研究分担者：高橋均¹⁾

研究協力者：竹内亮子^{1) 2)}、豊島靖子¹⁾、三浦健³⁾、青木賢樹³⁾、池内健⁴⁾、
西澤正豊²⁾、柿田明美¹⁾

- 1) 新潟大学脳研究所病理学分野
- 2) 新潟大学脳研究所神経内科
- 3) 富山県立中央病院神経内科
- 4) 新潟大学脳研究所遺伝子機能解析学分野

研究要旨

TDP-43 が発見されてから、筋萎縮性側索硬化症(ALS)と一部の前頭側頭葉変性症 (FTLD)は、TDP-43 proteinopathy として広く認識されている。今回我々は臨床的には典型的な ALS-D の像を呈し、病理学的には atypical 4 repeat tauopathy に TDP-43 陽性組織像を伴った症例を経験した。本症例は、近年提唱された疾患概念である globular glial tauopathy (GGT)¹⁾ の範疇に含まれると考えられた。一方で、一部の globular astrocyte にリン酸化タウとリン酸化 TDP-43 との共局在を認めた点や、Western blotting にて CBD バンドパターンを示した点などは、本症例が非常に特異な一例であることを示唆するものと考えられた。

A. 症例

死亡時 85 歳女性。家族に類症なし。76 歳時、つまずきやすさ、呂律不良を自覚し、その後歩行障害が進行した。77 歳時、舌の萎縮と線維束性収縮、両側骨間筋・母指球筋の萎縮、四肢腱反射亢進、下肢病的反射陽性等を認め、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) と診断された。その後理解

力低下、無関心などの認知機能障害が急速に進行した。78 歳時、四肢筋力低下が進行、呼吸困難が出現し人工呼吸管理を開始した。この時点で完全閉じ込め状態であった。81 歳時、頭部 CT で前頭側頭葉の著明な萎縮を認めた。85 歳時、敗血症により死亡した。全経過 9 年。

B. 病理所見

脳重 910 g、やや左優位の前頭側頭葉の萎縮、脊髄前根の高度な萎縮を認めた。上位・下位運動ニューロンは高度に脱落し、運動野白質から錐体路にかけてのミエリンの淡明化が顕著であった。残存二次ニューロンに Bunina 小体なし。運動野皮質に明らかに強調されているものの、広範な部位でアストロサイト優位にグリア細胞、神経細胞胞体内に AT8 陽性のリン酸化タウの蓄積を認めた。AT8 陽性アストロサイトは形態上 tufted astrocyte や astrocytic plaque とは異なり、いわゆる globular astrocyte と考えられた。これら AT8 陽性アストロサイトの一部は、リン酸化 TDP-43 免疫染色に陽性であり、蛍光二重染色では両者の共局在が認められた。RD4、RD3 および Gallyas-Braak 染色では、神経細胞の一部が陽性であるが、アストロサイトは陰性であった。また、運動野およびその他の大脳皮質でバルーン状の神経細胞が散見され、しばしばその胞体内に多数の顆粒空胞変性を伴い、顆粒は GSK-3 β 染色に陽性であった。

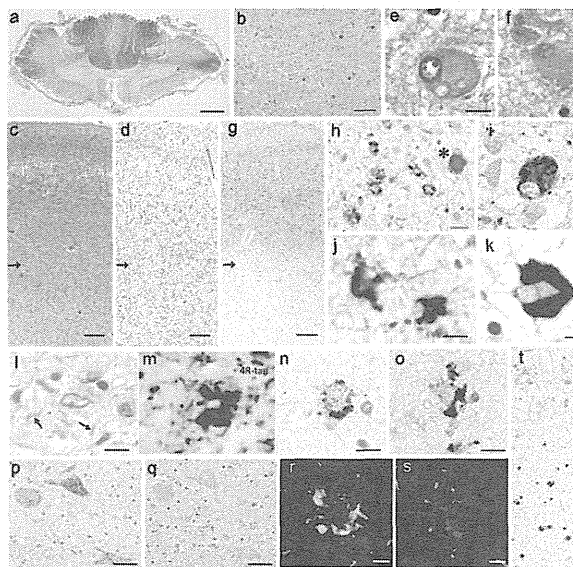


図 1 組織所見。

頸髄の前側索、特に錐体路に強い髄鞘の淡明化を認める(a)。前角の運動ニューロンは高度に脱落 (b)、残存ニューロンにブニナ小体なし。運動野では、皮質第 II 層の微小空胞化を伴う著明な神経細胞脱落とグリオーシスを認め(c)、白質の髄鞘は高度に脱落し(d)、皮髄境界は不明瞭化(矢印)。運動野およびその他の大脳皮質では、バルーン状のニューロンが散見され(e)、しばしば顆粒空胞変性を伴う (f)。リン酸化タウ陽性構造は、主として大脳皮質に存在し(g)、錐体細胞(h*, i)および多数のアストロサイトにも認められる。アストロサイトでは突起の近位側に小球状 (globular) にタウの蓄積を認める(j)。白質にはオリゴデンドロサイトの封入体が少数認められる(k)。タウ陽性アストロサイトは Gallyas-Braak 陰性であるが(l)、その細い突起の一部は淡く陽性となっている(矢印)。このアストロサイトは 4 repeat tau 染色に陽性(m)であり、リン酸化 TDP-43(n)および p62(o)染色では一部が陽性。顔面神経核の残存ニューロンの多くは、リン酸化 TDP-43 陽性であるが(p)、連続切片でみたリン酸化タウ染色では陰性(q)。運動野皮質におけるリン酸 TDP-43 (red) とリン酸化タウ(green)の蛍光二重染色(r, s)では、共局在(yellow)は主にアストロサイトにみられ(r)、ニューロンはリン酸化 TDP-43 (s)、リン酸化タウの一方のみに陽性となる。運動野の A β 染色では、多数の老人斑構造を認め、大型の core 様構造は主に皮質深層に認められる(t)。

C. 生化学的解析

前頭葉皮質から調整したサルコシル不溶性画分の抗タウ抗体 (T46 抗体) による Western blotting では、低分子のバンドが 37 kDa に認められ、CBD バンドパターンを示した。

遺伝子解析の結果、*APP*、*PSEN1*、*PSEN2*、*MAPT*、*PGRN* の各遺伝子に変異を認めず、また、*APOE* ハプロタイプは 2*4 であった。

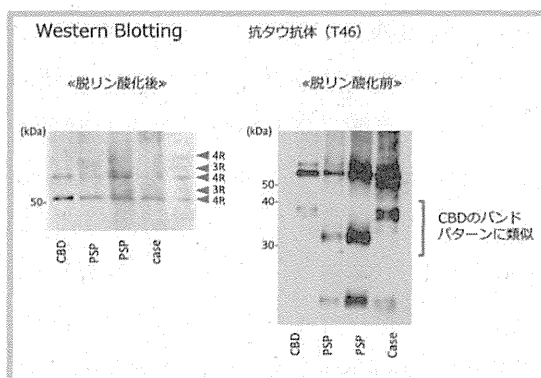


図 2 前頭葉皮質から調整したサルコシル不溶性画分の抗タウ抗体(T46)による Western blotting 脱リン酸化後、本症例(case)では PSP、CBD と同様に 4 リPEAT タウ優位のバンドパターンを示す。脱リン酸化前では CBD と同様に 37 kDa のバンドを認める。

D. 考察

本症例は、臨床的には典型的な ALS-D の像を呈し、病理像も上位・下位運動ニューロン変性が明らかであり、臨床像に合致した ALS の所見が認められた。それに加え、AT8 陽性の globular astrocyte を運動野優位に認めた点、また、タウよりは少数ながらリン酸化 TDP-43 陽性像を伴った点が特徴といえる。

本症例で見られた globular astrocyte に関しては、近年、4 repeat tauopathy に属する一群として 2013 年 Ahmed らにより

globular glial tauopathy (GGT) という概念が提唱されている(Acta Neuropathol 126: 537-544, 2013)。これは、特徴的な形態 (globular) の封入体をオリゴデンドロサイトやアストロサイト胞体内に有するもので、タウ陽性アストロサイトは、Gallyas 染色陰性とされている。その臨床像は FTD/MND を基本として錐体外路症状を伴う。上述のコンセンサスでは、臨床像と主要な変性部位から Type I~Type III の亜型に分類されている。

本症例はその臨床組織像からこの GGT の一群と考えられるが、TDP-43 pathology を伴っている点や、バルーン状の神経細胞の出現を認める点、Western blotting にて CBD バンドパターンを示す点などは興味深く、近年確立されてきた GGT という疾患概念を今後さらに構築していく上で示唆的な一例であると思われた。

E. 結論

本例は病理組織学的に Globular glial tauopathy¹⁾ (GGT) の範疇に入る。典型的な ALS-D という臨床経過、TDP-43 の関与を疑わせる組織学的所見、CBD パターンを示した生化学的所見はいずれもこれまでの GGT 症例において報告がなく、本症例が非常に特異な一例であることを示すものと考えられた。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Toyoshima Y, Takahashi H. TDP-43 pathology in polyglutamine diseases: with

reference to amyotrophic lateral sclerosis.
Neuropathology 2014; 34: 77-82, 2014

本神経病理学会, 東京, 2014年 6月 5
日~7日

2. Kimura T, Jiang H, Konno T, Seto M,
Iwanaga K, Tsujihata M, Satoh A,
Onodera O, Kakita A, Takahashi H.
Bunina bodies in motor and non-motor
neurons revisited: a pathological study of
an ALS patient after long-term survival on
a respirator. Neuropathology 34:
392-397, 2014
3. Konno T, Tada M, Shiga A, Tsujino A,
Eguchi H, Masakado-Suzukake M,
Hasegawa M, Nishizawa M, Onodera O,
Kakita A, Takahashi H. *C9ORF72*
repeat-associated non-ATG-translated
polypeptides are distributed independently
of TDP-43 in a Japanese patient with
c9ALS. Neuropathol Appl Neurobiol 40:
783-788, 2014

H. 知的所有権の取得状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

2. 学会発表

1. 高橋 均. 異常蛋白はシナプスを超えるか — TDP-43 —. 日本神経病理学会, 東京, 2014年 6月 5日~7日
2. 竹内亮子, 他田真理, 志賀 篤, 今野卓哉, 豊島靖子, 小野寺 理, 西澤正豊, 柿田明美, 高橋 均. 筋萎縮性側索硬化症の TDP-43 大脳皮質組織像の多様性: 臨床病理および生化学的検討. 日本神経病理学会, 東京, 2014年 6月 5日~7日
3. 竹内亮子, 豊島靖子, 三浦 健, 青木賢樹, 池内 健, 西澤正豊, 柿田明美, 高橋 均. 臨床的に ALS-D と診断され, 得意な病理組織学的所見を呈した Globular glial tauopathy の 1例. 日

運動ニューロン疾患でみられる ELP3 抗体陽性封入体

藤田 行雄¹⁾

岡本幸市²⁾、池田佳生¹⁾

- 1) 群馬大学大学院脳神経内科学
- 2) 老年病研究所

研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の剖検例に対して抗 ELP3 抗体を用いて神経病理学的に検討した。その結果 ALS の脊髄前角細胞内には ELP3 の C 末に対する抗体で染色される様々な形態を示す封入体が存在し TDP-43 と共存していた。一方で非運動ニューロン内の TDP-43 陽性封入体は ELP3 抗体で染色性が認められなかった。このことから ELP3 は ALS の病態に関与する蛋白の一つであり、特に運動ニューロン特異的に封入体形成に関与する可能性があると考えられた。

A. 研究目的

ALS の病因として TDP-43、FUS などの RNA 関連蛋白の異常が指摘されている。Elongator complex protein (ELP) は RNA polymerase II による転写を促進する因子として発見されており、特にその 6 個のサブユニットの 1 つである ELP3 はヒストンをアセチル化し、転写を活性化する（文献 1）。さらに ELP3 は微小管の α チューブリンのアセチル化を促進し、微小管を安定化させる働きを有しているとされる。つまり ELP3 はヒストン脱アセチル化酵素とバランスをとりながら微小管の安定性と不安定性を制御しダイニンやキネシンなどの微小管を足場とするモーター蛋白の輸送の調整に関与していると考えられている。さらに Simpson らは ELP3 の遺伝子多型が ALS と関連があることを報告している（文献 2）。これらのことから ELP3 が ALS の病因となる可能性を考え、ELP3 抗体を用いて ALS 例の神経病理学的検討を行った。

B. 研究方法

コントロール 3 例、TDP-43 陽性封入体を有する通常の孤発性 ALS 10 例の脊髄、黒質、小脳、海馬のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックから 5 μ 厚切片と 3 μ 厚のミラー切片を作製して、抗リン

酸化 TDP-43 抗体、非リン酸化 TDP-43 抗体、10 種類の ELP3 の各部位を認識する抗 ELP3 抗体を用いて免疫組織染色、蛍光 2 重染色を施行した。

(倫理面への配慮)

剖検組織の検討については剖検時に家族より同意を得ている。剖検番号などから患者が特定されることはない。

C. 研究結果

1. コントロール例

ELP3 抗体の染色性は主に細胞質にびまん性に認められ、軽度核にも陽性所見が認められた。

2. TDP-43 陽性封入体を有する孤発性 ALS

10 種類の ELP3 抗体うち C 末を認識する 3 種の抗体でのみ脊髄前角細胞内に ELP3 陽性の封入体が認められた。封入体は円形、糸くず状、円の周辺のみなど様々な形態のものが認められた（図 1）。グリア細胞には陽性所見はみられず、ブニナ小体は ELP3 陰性であった。

図1 ELP3抗体によるALS脊髄前角細胞の免疫染色

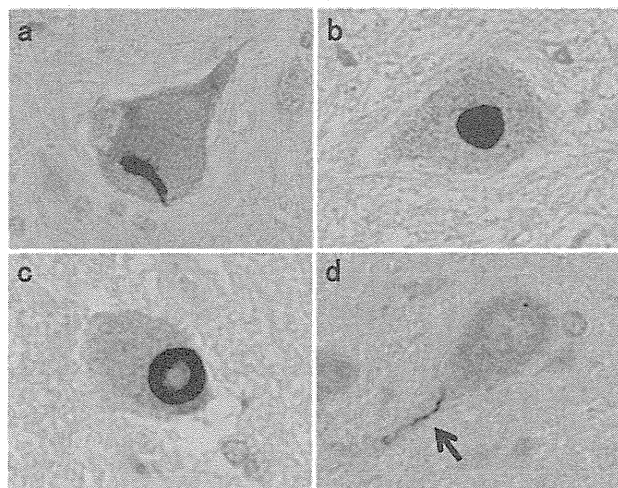
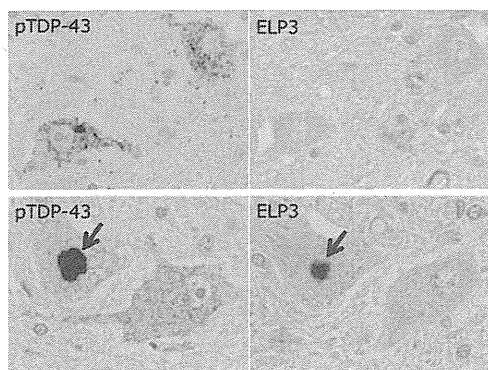


図1 a) 線状、b) 円形、c) 周辺のみ、d) 神経細胞の突起内の ELP3 抗体陽性所見 (矢印)

3. ELP3 陽性封入体と TDP-43 陽性封入体との関連

ALS 例の前角細胞のうち非リン酸化 TDP-43 抗体の染色性が核に認められる正常の神経細胞では ELP3 抗体の染色性はコントロール例と同様に主に細胞質に認められ、封入体形成は見られなかった。リン酸化 TDP-43 抗体と ELP3 抗体を用いたミラー切片による検討ではリン酸化 TDP-43 抗体で細胞質内に顆粒状に染色される陽性構造物は ELP3 抗体では染色されなかったが (図 2)、一方で凝縮したものは、ELP3 抗体で陽性であった (図 2 矢印)。また、糸くず状のリン酸化 TDP-43 陽性構造物はやはり ELP3 陽性であったが、リン酸化 TDP-43 陽性のグリア細胞内封入体は ELP3 では染色されなかった。

図 2



TDP-43 と ELP3 の共存は蛍光 2 重免疫染色でも確認された (図 3)。

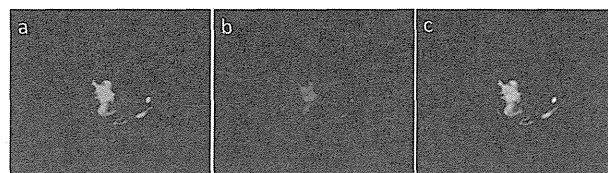


図 3 a) TDP-43 抗体、b) ELP3 抗体、c) Merge

これらの結果は ALS10 例中 7 例で認められた。このうちの 3 例では TDP-43 陽性封入体は運動ニューロンを超えて広範に存在しており、この 3 例について非運動ニューロン内の TDP-43 陽性封入体が ELP3 抗体で染色されるかについて検討した。その結果、それぞれ黒質、海馬歯状回顆粒細胞、小脳歯状核には TDP-43 陽性封入体が認められたが、連続切片に対する ELP3 C 末抗体による染色では陽性所見は認められなかった (図 4)。

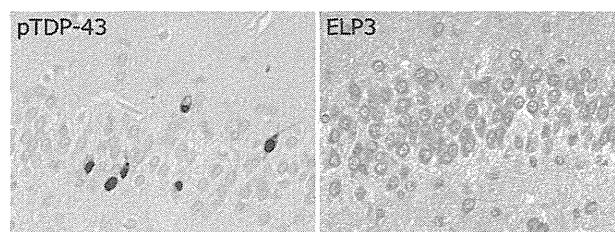


図 4 海馬歯状回顆粒細胞内のリン酸化 TDP-43 陽性封入体は ELP3 陰性

D. 考察

ALS 患者の脊髄前角細胞内に認められる TDP-43 陽性封入体は ELP3 抗体で染色され、また、蛍光 2 重染色では TDP-43 と ELP3 は封入体内で共存していることを確認した。ELP3 は TDP-43 同様に RNA 代謝に関連する蛋白であり、ALS の病因として近年注目されている RNA 代謝異常をさらに強く示唆する所見であると考えた。また、今回の検討では用いた 10 種類の ELP3 抗体のうち C 末を認識する抗体でのみ封入体は染色され、これら封入体に含有されるのは ELP3 の断片化など何か修飾を受けたものである可能性が考えられた。この点について今後生化学的な解析を進める予定である。

一方で TDP-43 陽性封入体が非運動ニューロン

にも広がるのに対して、黒質、海馬歯状回顆粒細胞、小脳歯状核で見られる TDP-43 陽性封入体は ELP3 抗体に対して陰性であった。このことは ELP3 が運動ニューロン特異的に封入体形成に関与する可能性が有ることを示していると考えた。

E.結論

ELP3 は ALS の病態に関与し、特に運動ニューロン特異的に関係する可能性がある。

文献

- 1) Nguyen L et al. Trends Mol Med 16:1-6, 2010
- 2) Simpson CL et al. Hum Mol Genet 18:472-481, 2009

F.健康危険情報

なし

G.研究発表

1. 論文発表：該当なし
2. 学会発表：Fujita Y, Okamoto K, Fujita S, Ikeda Y. ELP3-positive inclusion in motor neuron diseases. JOINT CONGRESS OF EUROPEAN NEUROLOGY. (Istanbul, Turkey), 2014

H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

- 1.特許取得 該当なし
- 2.実用新案登録 該当なし
- 3.その他

厚生労働科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業 (神経・筋疾患分野))

「異常タンパク伝播仮説に基づく神経疾患の画期的治療法の開発」

(分担) 研究報告書

Midbrain 4 repeat tauopathy の検討

村山繁雄 1)2)3)、野上茜 1)4)、山崎峰雄 4)、隅蔵大幸 3)、内野彰子 3)、中野雄太 2)、齊藤祐子 5)

所属：1. 東京都健康長寿医療センター神経内科、2. バイオリソースセンター、3. 神経病理 (高齢者ブレインバンク)、4. 日本医科大学神経内科、5. 国立精神・神経医療研究センター臨床検査部

研究要旨

324 例の連続開頭剖検例 (平均 82.5 歳) 中脳をタウアイソフォルム特異抗体免疫染色により、4 リpeat (R) タウオパチー 35 例を抽出、他の変性疾患を伴わない 8 例を、純粋型とした。タウ遺伝子異常がないことを確認後、タウ C 末抗体を用いた免疫プロットにより、PSP パターン 2 例、CBD パターン 1 例を同定した。これらは発症前 PSP、CBD と考えられ、これら疾患の発症機構解明に貢献しうる可能性がある。

A. 研究目的

都市近郊高齢者コホートリソースである、高齢者ブレインバンク連続登録例を、免疫組織化学的に網羅的にスクリーニングすることで、発症前 (p) 進行性核上性麻痺 (PSP)、皮質基底核変性症 (CBD) を抽出することで、発症機構解明に貢献する。

B. 研究方法

2006 年 11 月から 2011 年 11 月の、開頭剖検・ブレインバンク登録同意を得た 324 連続例 (82.5 +/- 8.7 歳) を対象とした。剖検時脳を半切し、凍結側の中脳尾側を 5um 厚で切り出し、4%パラフォルムアルデヒド 48 時間固定パラフィン包埋切片を作成した。6um 厚連続切片を、タウアイソフォルム特異抗体 (RD3/RD4) を用い、Ventana NX20 自動免疫染色装置を用い検討した。基本的神経病理学的検索法、は高齢者ブレインバンクプロトコール (www.mci.gr.jp/BrainBank) に基づいた。

RD4 陽性 RD3 陰性の神経原線維変化 (NFT) あるいは pretangle と、glial tangle の両方を伴う症例を抽出した。Glial tangle として、thorn shaped astrocyte、bush-like astrocyte は除外し、tuft shaped astrocyte、astrocytic plaque の抽出を試みた。これらの中脳 4 リpeat タウオパチーとした。

さらに、神経病理診断として、他の変性疾患病理診断をみださず、Braak NFT Stage II 以下、アミロイドステージ A 以下、齊藤の嗜銀顆粒ステージ 2 以下の症例を、純粋型とした。

純粋型について、タウ遺伝子異常の確認、免疫プロットによるタウ C 末断片の解析を行った。

(倫理面への配慮)

高齢者ブレインバンク登録同意範囲内の研究事例である。

C. 研究結果

35 例が中脳 4 リpeat タウオパチーの定義を満たした。臨床病理学的に 3 例は

PSP、9例はアルツハイマー病 (AD)、9例は嗜銀顆粒性認知症 (AGD)、2例は AGD+ 神経原線維変化優位型認知症 (NFTD)、1例ずつ PSP+AD、PSP+PD、AD+DLB であった。純粋型は8例であった。

純粋型8例にはタウ遺伝子異常は認めなかった。また免疫ブロットでは2例が PSP パターン、1例が CBD パターン、他5例は分類不能であった。

これとは独立して行った神経病理検索で、PSP パターンの2例は pPSP、CBD パターンの1例は pCBD とそれぞれ診断された。

D. 考察

高齢者コホート324例のスクリーニングで、pCBD 1例、pPSP 2例が抽出された。AD やレビー小体病では発症前かつさまざまなステージの症例が多数存在し、異常蛋白質伝搬仮説の検証や、発症ステージ上昇に関与する遺伝子を検索する等の試みに有用なリソースを構築ができる。しかし CBD/PSP においては、頻度が少ないこと、疾患の進行スピードが早いことが、発症前段階が少ない背景と考えられる。

E. 結論

高齢者コホートリソース342例のスクリーニングで、形態病理・分子病理学的検索で、pPSP 2例、pCBD 1例を抽出した。これらの症例は PSP/CBD の発症機構研究に貢献しうる可能性がある。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Shioya, A., Saito Y, Arima K, Kakuta Y, Yuzuriha T, Murayama, S., Tamaoka A: Neurodegeneration in bipolar disorders. *Neuropathology* in press
2. Kizuka, Y., Kitazume S, Fujinawa R, Saito T, Iwata N, Saido TC, Nakano M, Yamaguchi Y, Hashimoto Y, Staufenbiel M, Hatsuta H, Murayama, S., Manya H, Endo T, Taniguchi N: An aberrant sugar modification of BACE1 blocks its lysosomal targeting in Alzheimer's disease. *EMBO Molecular*

Medicine (in press)

3. Araki, K., Y. Nakano, A., Kobayashi, T., Matsudaira, A., Sugiura, M., Takao M, Kitamoto, T., Murayama, S., Obi T: Extensive cortical spongiform changes with cerebellar small amyloid plaques: The clinicopathological case of MV2K+C subtype in Creutzfeldt-Jakob disease. *Neuropathology* (in press).

4. Kuninaka, N., M. Kawaguchi, M. Ogawa, A. Sato, K. Arima, Murayama, S. and Y. Saito (2014). "Simplification of the modified Gallyas method." *Neuropathology* (in press).

5. Tagawa, K., H. Homma, A. Saito, K. Fujita, X. Chen, S. Imoto, T. Oka, H. Ito, K. Motoki, C. Yoshida, H. Hatsuta, Murayama, S., T. Iwatsubo, S. Miyano and H. Okazawa (2014). "Comprehensive phosphoproteome analysis unravels the core signaling network that initiates the earliest synapse pathology in preclinical Alzheimer's disease brain." *Hum Mol Genet* (in press)

6. Hasegawa, H., Liu, L., Tooyama, I., Murayama, S., Nishimura, M. The FAM3 superfamily member ILEI ameliorates Alzheimer's disease-like pathology by destabilizing the penultimate amyloid-beta precursor. *Nat Commun* 2014; 5: 3917.

7. Hasegawa, M., Watanabe, S., Kondo, H., Akiyama, H., Mann, D.M., Saito, Y., and Murayama, S. "3R and 4R tau isoforms in paired helical filaments in Alzheimer's disease." *Acta Neuropathol* 2014; 127(2): 303-305.

8. Ishibashi, K., Ishiwata, K., Toyohara, J., Murayama, S. and Ishii, K. "Regional analysis of striatal and cortical amyloid deposition in patients with Alzheimer's disease." *Eur J Neurosci* 2014; 40(4): 2701-2706.

9. Ito, S., Takao, M., Hatsuta, H., Kanemaru, K., T. Arai, Y. Saito, M. Fukayama and S. Murayama (2014). "Alpha-synuclein immunohistochemistry of gastrointestinal and biliary surgical specimens for diagnosis of Lewy body disease." *Int J Clin Exp Pathol* 7(4): 1714-1723.

10. Iwata, A., K. Nagata, H. Hatsuta, H. Takuma, M. Bundo, K. Iwamoto, A. Tamaoka, Murayama, S., T. Saido and S. Tsuji (2014). "Altered CpG methylation in

sporadic Alzheimer's disease is associated with APP and MAPT dysregulation." *Hum Mol Genet* 23(3): 648-656.

11. Matsumoto, H., R. Sengoku, Y. Saito, Y. Kakuta, Murayama, S. and I. Imafuku (2014). "Sudden death in Parkinson's disease: a retrospective autopsy study." *J Neurol Sci* 343(1-2): 149-152.

12. Miyashita, A., Y. Wen, N. Kitamura, E. Matsubara, T. Kawarabayashi, M. Shoji, N. Tomita, K. Furukawa, H. Arai, T. Asada, Y. Harigaya, M. Ikeda, M. Amari, H. Hanyu, S. Higuchi, M. Nishizawa, M. Suga, Y. Kawase, H. Akatsu, M. Imagawa, T. Hamaguchi, M. Yamada, T. Morihara, M. Takeda, T. Takao, K. Nakata, K. Sasaki, K. Watanabe, K. Nakashima, K. Urakami, T. Ooya, M. Takahashi, T. Yuzuriha, K. Serikawa, S. Yoshimoto, R. Nakagawa, Y. Saito, H. Hatsuta, Murayama, S., A. Kakita, H. Takahashi, H. Yamaguchi, K. Akazawa, I. Kanazawa, Y. Ihara, T. Ikeuchi and R. Kuwano (2014). "Lack of genetic association between TREM2 and late-onset Alzheimer's disease in a Japanese population." *J Alzheimers Dis* 41(4): 1031-1038.

13. Nagao, S., O. Yokota, C. Ikeda, N. Takeda, H. Ishizu, S. Kuroda, K. Sudo, S. Terada, Murayama, S. and Y. Uchitomi (2014). "Argyrophilic grain disease as a neurodegenerative substrate in late-onset schizophrenia and delusional disorders." *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 264(4): 317-331.

14. Oikawa, N., H. Hatsuta, Murayama, S., A. Suzuki and K. Yanagisawa (2014). "Influence of APOE genotype and the presence of Alzheimer's pathology on synaptic membrane lipids of human brains." *J Neurosci Res* 92(5): 641-650.

15. Qina, T., N. Sanjo, M. Hizume, M. Higuma, M. Tomita, R. Atarashi, K. Satoh, I. Nozaki, T. Hamaguchi, Y. Nakamura, A. Kobayashi, T. Kitamoto, Murayama, S., H. Murai, M. Yamada and H. Mizusawa (2014). "Clinical features of genetic Creutzfeldt-Jakob disease with V180I mutation in the prion protein gene." *BMJ Open* 4(5): e004968.

16. Saito, Y., T. Miyasaka, H. Hatsuta, K. Takahashi-Niki, K. Hayashi, Y. Mita, O.

Kusano-Arai, H. Iwanari, H. Ariga, T. Hamakubo, Y. Yoshida, E. Niki, Murayama, S., Y. Ihara and N. Noguchi (2014). "Immunostaining of oxidized DJ-1 in human and mouse brains." *J Neuropathol Exp Neurol* 73(7): 714-728.

17. Sakurai, K., A. M. Tokumaru, T. Nakatsuka, Murayama, S., S. Hasebe, E. Imabayashi, K. Kanemaru, M. Takao, H. Hatsuta, K. Ishii, Y. Saito, Y. Shibamoto, N. Matsukawa, E. Chikui and H. Terada (2014). "Imaging spectrum of sporadic cerebral amyloid angiopathy: multifaceted features of a single pathological condition." *Insights Imaging* 5(3): 375-385.

18. Xie, C., T. Miyasaka, S. Yoshimura, H. Hatsuta, S. Yoshina, E. Kage-Nakadai, S. Mitani, Murayama, S. and Y. Ihara (2014). "The homologous carboxyl-terminal domains of microtubule-associated protein 2 and TAU induce neuronal dysfunction and have differential fates in the evolution of neurofibrillary tangles." *PLoS One* 9(2): e89796.

19. Yamada, M., M. Tanaka, M. Takagi, S. Kobayashi, Y. Taguchi, S. Takashima, K. Tanaka, T. Touge, H. Hatsuta, Murayama, S., Y. Hayashi, M. Kaneko, H. Ishiura, J. Mitsui, N. Atsuta, G. Sobue, N. Shimozaawa, T. Inuzuka, S. Tsuji and I. Hozumi (2014). "Evaluation of SLC20A2 mutations that cause idiopathic basal ganglia calcification in Japan." 2014; *Neurology* 82(8): 705-712.

2. 学会発表

1. Izumi Y, Sumikura H, Fujita K, Kamada M, Shimatani Y, Miyamoto R, Koizumi H, Miyazaki Y, Hatsuta H, Nodera H, Nishida Y, Murayama S, Kaji R: Autopsy-proven Amyotrophic Lateral Sclerosis Coexisted with Parkinson Disease: A Novel Association of TDP-43 Proteinopathy and α -Synucleinopathy. The 66th AAN Annual Meeting. April 26-May 3, 2014, Philadelphia, PA, USA

2. Marwan Sabbagh, John Seibyl, Andrew Stephens, Henryk Barthel, Ishii K, Takao M, Akatsu H, Murayama S, Christopher Rowe, Ana Catafau, Walter Schulz-Schaeffer, Osama Sabri : A negative florbetaben PET scan reliably excludes amyloid pathology as

confirmed by histopathology in a large Phase 3 trial. The 66th AAN Annual Meeting. April 26-May 3, 2014, Philadelphia, PA, USA

3. Takao M, Murayama S, Sumikura H, Nogami A, Uchino A, Nakano Y, Hatsuta H, Obata M, Hirose N: Neuropathologic Analysis of 59 Centenarian Brains. The 90th Annual Meeting of the American Association of Neuropathologists. June 12-15 2014, Portland, OR, USA

4. Satake W, Ando Y, Tomiyama H, Kashihara K, Mochizuki H, Murayama S, Takeda A, Hasegawa K, Tsuji S, Yamamoto M, Murata M, Hattori N, Toda T: Exome sequencing of Parkinson's disease in order to identify genetic variants with high disease-risk. 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

5. Sengoku R, Sumikura H, Takao M, Hatsuta H, Nogami A, Uchino A, Saito Y, Murayama S: Clinicopathological characteristics of pure type Lewy body disease with dementia (Parkinson's disease with dementia and dementia with Lewy bodies). 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

6. Miyamoto R, Takeuchi T, Sumikura H, Fujita K, Mure H, Morigaki R, Goto S, aaaa, Izumi Y, Kaji R: An autopsy case of predominant generalized dystonia in a patient with cerebellar atrophy. 18th International Congress of Parkinson's Disease and Movement Disorders. June 8-12, 2014, Stockholm Sweden

7. Sanjo N, Higuma M, Hizume M, Furukawa F, Nakamura Y, Kitamoto T, Hamaguchi T, Morikawa F, Aoki M, Tanaka F, Nishizawa M, Takeda M, Inuzuka T, Sato K, Murai H, Murayama S, Satoh K, Harada M, Uyama N, Fujita K, Saito N, Takumi I, Tsukamoto T, Yamada M, Mizusawa H: Human prion diseases in Japan: a prospective surveillance from 1999. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea

8. Takatsuki H, Satoh K, Atarashi R, Sano K, Iwasaki Y, Yoshida M, Takao M, Mihara B,

Murayama S, Nishida N: Wide distribution of seeding activity in sporadic CJD patients. Asian Pacific Prion Symposium 2014 in Jeju. July 6-7, 2014, Jeju Korea

9. Andrew Stephens, Henryk Barthel, Ishii K, Takao M, Akatsu H, Murayama S, Christopher Rowe, Norman Koglin, Ana Catafau, Walter Schulz-Schaeffer, Marwan Sabbagh, Osama Sabri, John Seibyl: A negative florbetaben PET scan reliably excludes amyloid pathology as confirmed by histopathology. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

10. Kitazume S, Kizuka Y, Fujinawa R, Saito T, Iwata N, Saido T, Nakano M, Yamaguchi Y, Hashimoto Y, Matthias Staufenbiel, Hatsuta H, Murayama S, Manya H, Endo T, Taniguchi N: Glycosylation regulates degradation of BACE1 in lysosome. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

11. Kanemaru K, Kanemaru A, Murayama S: Assessment of CSF α -synuclein levels distinguish dementia with Lewy bodies from Alzheimer's disease. Alzheimer's Association International Conference 2014. July 12-17, 2014, Copenhagen, Denmark.

12. Murayama S, Saito Y, Members of the Brain Bank Committee, the Japanese Society of Neuropathology: 18th International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

13. Uchino A, Takao M, Saito Y, Sumikura H, Nakano Y, Hatsuta H, Nishiyama K, Murayama S: Incidence of TDP-43 proteinopathy in aging human brain. 18th International Congress of Neuropathology 2014. September 14-18, 2014, Rio de Janeiro, Brazil

14. Murayama S, Saito Y: The Brain Bank for Aging Research Project, Tokyo, Japan. Brain Conference 2014 The 3rd Congress of Asian Society of Neuropathology. November 6-8, 2014, Seoul, Korea

H. 知的所有権の取得状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

厚生労働科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業 (神経・筋疾患分野))

「異常タンパク伝播仮説に基づく神経疾患の画期的治療法の開発」

(分担) 研究報告書

PSP と CBD におけるアストロサイトのタウ陽性封入体の相違

研究分担者：吉田眞理¹⁾

研究協力者：辰己新水^{1) 2)} 赤木明生¹⁾、三室マヤ¹⁾、岩崎靖共同研究者氏名¹⁾

1) 愛知医科大学加齢医科学研究所、2) 京都大学神経内科

研究要旨

進行性核上性麻痺 (PSP) の tufted astrocyte (TA) と大脳皮質基底核変性症 (CBD) の astrocytic plaque (AP) のタウ陽性線維の局在を比較した。TA は、アストロサイトの胞体から近位部に放線状に凝集する。AP は GFAP 陽性突起の遠位部接線方向に凝集し側枝を持つ。Q-dot を用いた免疫電顕では AP はシナプス近傍に凝集して狭い間隙にタウ凝集線維を形成し、これが光顕所見で見られる側枝に対応した。PSP では近位部に CBD では遠位部にタウ凝集が形成され同じ 4 リPEAT タウでも凝集部位の相違がある。

A. 研究目的

進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy, PSP) と大脳皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration, CBD) は、ともに 4 リPEAT タウオパチーである。病理学的な病変分布は、PSP では淡蒼球、視床下核、黒質、脳幹部被蓋、小脳歯状核が主体であり、CBD では大脳皮質、白質、淡蒼球、視床下核、黒質に変性の主座があるが、その分布には重なりがあり、しばしば臨床診断と病理診断が逆転する現象がおきて、臨床診断を困難にしている。

PSP と CBD のタウ凝集の病理形態学的相違は以下の点とされている。PSP では神経細胞の神経原線維変化 (NFT)、オリゴデンドログリアの coiled body と thread、アストロサイトの tufted astrocyte (TA) がみられる。CBD の神経細胞では嗜銀染色での線維形成性が弱く NFT の形態が少ないが、タウの免疫

染色でびまん性あるいは微細顆粒状に染色される pretangle と呼ばれる構造が主体で、thread が大脳皮質、白質、基底核、脳幹部に多数出現する。アストロサイトには核周囲に環状に形成される astrocytic plaque (AP) がみられる。PSP と CBD の神経細胞とグリア細胞のタウ封入体の背景にあるタウ凝集の相違を明らかにすることで、2 疾患の本質的なタウ凝集の違いを明確にすることを目的とした。

B. 研究方法

病理学的に PSP の TA と AP のタウ凝集部位の相違を嗜銀染色、免疫組織学および超微形態学的に検討した。抗体はリン酸化タウ (AT8, Innogenetics,)、4 リPEAT タウ (RD4, 1E1/A6、Upstate)、GFAP (6F2, DAKO) を用い、免疫染色、二重免疫染色、蛍光二重免疫染色を施行し、タウ凝集線維の局在を観

察した。

AP は嗜銀性と蛍光性の両者の性格をもつ Q dot とタウの免疫電顕で局在を検討した。

C. 研究結果

1) Tufted astrocyte

TA は、嗜銀染色、AT8 および RD4 の免疫染色ではアストロサイトの胞体およびその近位部に凝集し、胞体から放射状に連続したタウ陽性線維として確認できた。GFAP と AT8 の二重免疫染色では、アストロサイトの胞体の AT8 陽性所見は軽度なものが多いが、一部は胞体に GFAP と AT8 陽性像を認めた(図 a)。

2) astrocytic plaque

AP は、アストロサイトの核から遠位部に円環状に配列するタウの陽性像で、GFAP と AT8 の蛍光二重免疫染色では突起の最も遠位部に形成されている。Q dot でラベルしたタウの免疫電顕ではシナプス周囲の狭い間隙にタウの突起が楔入している像が確認された。この像は光顕でみられる AP の側枝に相当する(図 b-e)。

D. 考察

TA と AP は PSP と CBD の病理診断における指標として認識されているが、その形態の相違がどのような病態の違いを反映しているのかについての研究は多くない。本研究では、PSP ではアストロサイトの胞体と突起の近位部に、CBD では遠位部にタウ凝集線維が形成されることを明確にした。線維凝集の局在の違いが両者のアストロサイトの封入体の形態の違いの背景にあると推測される。

E. 結論

PSP の TA はアストロサイトの近位部に、CBD の AP は遠位部にタウ凝集をおこし、両者の病態の相違を反映している。

F. 健康危険情報 該当なし

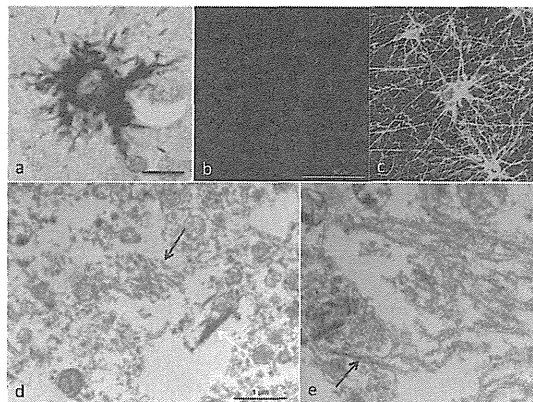


図 Tufted astrocyte と astrocytic plaque
TA の AT8(茶)と GFAP (赤) の二重免疫染色では近位部にタウの凝集を認める(a)。AP の蛍光二重免疫染色では AT8(赤)は GFAP (緑) の遠位部に凝集する。Q-dot の免疫電顕では AT8 (黒矢印) の線維はシナプス構造の間隙に楔入像を示す (d と e)。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Yoshida M. Astrocytic inclusions in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *Neuropathology*.34: 555-70, 2014
2. Tatsumi S, Uchihara T, Aiba I, Iwasaki Y, Mimuro M, Takahashi R, Yoshida M. Ultrastructural differences in pretangles between Alzheimer disease and corticobasal degeneration revealed by comparative light and electron microscopy. *Acta Neuropathologica Communications* 2:161 2014

H. 知的所有権の取得状況 該当なし

厚生労働科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業 (神経・筋疾患分野))

「異常タンパク伝播仮説に基づく神経疾患の画期的治療法の開発」

(分担) 研究報告書

APP による線維化タウの細胞内への取り込みと蓄積の促進

研究分担者：久永眞市¹⁾

共同研究者：高橋宗聖²⁾，亀谷富由樹²⁾，野中隆²⁾，長谷川成人²⁾

¹⁾ 首都大学東京

²⁾ 東京都医学総合研究所

研究要旨

アルツハイマー型認知症 (AD) 患者脳では、アミロイド β ($A\beta$) の細胞外蓄積と、タウの細胞内蓄積を特徴とする。 $A\beta$ 前駆体タンパク質 (APP) の遺伝子変異による AD の発症が良く知られているが、タウ蓄積の有無や分布も臨床像と強く相関しており、病態の進行を説明するマーカーとして注目されている。そこで、 $A\beta$ 、APP に注目し、培養細胞でのタウ蓄積への影響を調べた。タウと APP の過剰発現型細胞の培地中にタウ線維を添加し、培養後のイムノブロットや免疫染色による解析の結果、細胞内タウ蓄積が観察された。これは、APP が何らかの作用で培地中のタウ線維を細胞内に取り込み、正常なタウを巻き込んで異常な線維化、蓄積を引き起こしたと考えられる。この結果は APP がタウ病理を加速していることを示唆している。

A. 研究目的

認知症の半数以上を占めるアルツハイマー型認知症 (AD) の患者脳は、Amyloid β ($A\beta$) の細胞外蓄積と、微小管結合タンパク質であるタウの細胞内蓄積を特徴とする。Amyloid β 前駆タンパク質 (APP) の遺伝子変異により家族性 AD が発症することが良く知られているが、微小管タンパク質であるタウの蓄積や広がりも臨床像と強く相関していることが知られている。 $A\beta$ あるいは $A\beta$ 前駆体 (APP) とタウの関係については様々な報告があるが、未だ明確な関係を示すものはない。近

年、細胞内の異常タウが細胞間を伝わって広がる伝播仮説が、病気の進行を説明する考えとして注目されている。この解明により AD の発症メカニズムの解明や治療、予防に貢献できると期待されるが、このメカニズムは未だ不明であるため、 $A\beta$ や APP とタウの関係を伝播の観点から調べることを目的とした。

B. 研究方法

APP やタウ (4R1N 型) を発現させた SH-SY5Y 細胞に、試験管内で線維化したタウを添加し、数日間培養した。その後、細胞内のタウの凝集、蓄積をイムノブロット、

蛍光顕微鏡観察により解析した。イムノブロット解析の際には、Tris バッファー、1% Triton 入り Tris バッファー、1% Sarkosyl 入り Tris バッファーを用いて順に超遠心し、Tris バッファー可溶画分 (TS)、1% Triton 可溶画分 (TX)、1% Sarkosyl 可溶画分 (Sar)、不溶性画分 (ppt) と 4 画分し、解析を行った。AD 患者脳に蓄積しているタウは、Sarkosyl 不溶性であるため、本研究でも AD 様の Sarkosyl 不溶性タウに注目した。

(倫理面への配慮)

本研究計画は、東京都医学総合研究所の倫理委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

最初に、 $A\beta$ が細胞内タウ蓄積に与える影響について検討した。タウを過剰発現させた細胞に $A\beta 42$ (0~2 μM) とタウ線維 (1 $\mu\text{g/mL}$) を添加し 24 時間培養後、培地交換しさらに 48 時間培養を行った。回収、分画分けの後、pS396 (抗リン酸化タウ抗体) を用いてイムノブロットを行った結果、不溶性画分 (ppt) にはタウは検出されなかった (図 1)。

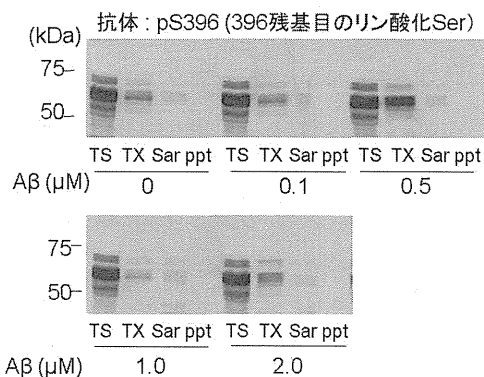


図 1. $A\beta 42$ (0~2 μM) とタウ線維を添加したタウ過剰発現細胞のイムノブロット結果

次に、タウ線維と APP との相互作用を検討した。APP を過剰発現させた細胞にタウモノマーもしくはタウ線維を 24 時間添加、培養した後、免疫染色による観察を行った (図 2)。APP を緑、タウを赤、核を青で染色している。この結果、タウモノマーは細胞上に観察されなかったが、タウ線維は APP と共局在するように検出された。

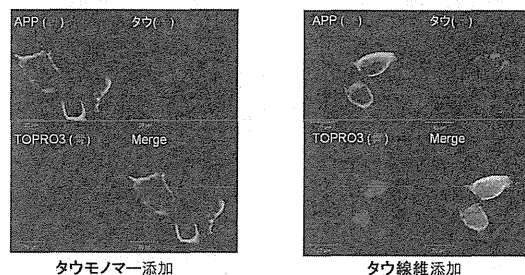


図 2. APP を過剰発現し、タウ線維を添加した細胞の免疫染色結果

APP とタウ線維の相互作用が観察されたため、今度は APP が細胞内タウ蓄積に与える影響を検討した。APP やタウを過剰発現させた細胞に、タウ線維を添加もしくは無添加で 24 時間培養後、培地交換し、さらに 48 時間培養を行った。回収、分画分けの後、pS396 を用いてイムノブロットを行った (図 3)。その結果、タウと APP 両方を過剰発現させただけでは、不溶性画分 (ppt) にタウは検出されなかった。また、タウのみ、もしくは APP のみを過剰発現させ、タウ線維を添加した細胞においても、不溶性画分にタウは検出されなかった。しかし、APP とタウの両方を過剰発現させ、タウ線維を添加した細胞では、不溶性画分にタウが検出された。

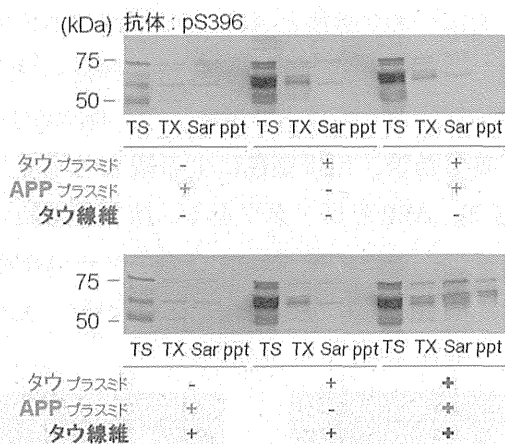


図 3. タウまたは APP を過剰発現し、タウ線維を添加した細胞の免疫プロット結果

さらに、APP とタウの両方を過剰発現させ、タウ線維を添加した細胞の免疫染色を行った (図 4)。APP を緑、異常リン酸化タウを赤、核を青で染色している。この結果、APP 発現細胞において、AD 様の異常リン酸化タウ蓄積が起こっている様子が観察された。

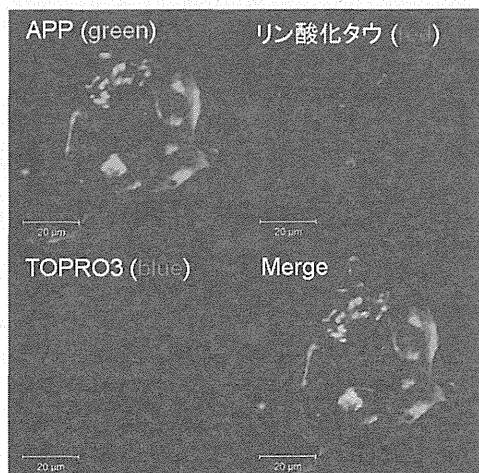


図 4. タウと APP を過剰発現し、タウ線維を添加した細胞の免疫染色結果

D. 考察

我々は以前、タウ過剰発現細胞にトランスフェクション試薬を用いてタウ線維を導

入することで、Sarkosyl 不溶性の細胞内タウ蓄積が誘導されることを報告している。今回、培養細胞においてトランスフェクション試薬を用いずとも、APP とタウを過剰発現しタウ線維を培地中に添加することで、サルコシル不溶性タウ蓄積が誘導されることを見出した。

今回の結果は、培養培地中に添加したタウ線維は APP と共局在し、何らかの作用で細胞内へと侵入し、細胞質中でシードとして働くことで細胞内タウ蓄積を引き起こすと考えられる。

タウ線維の細胞内への取り込みに関しては、APP が代謝される際のエンドサイトーシスと共に取り込まれることや、APP 発現によりタウ線維が細胞膜を貫通しやすくなることが想定されるが、詳しいメカニズムは不明であるため、今後検討していきたい。

APP は、家族性 AD において変異や duplication が報告されているように、病態との関連の深い膜タンパク質である。今回の実験結果は、AD においても、APP がタウ病理を加速していることを強く示唆している。

E. 結論

APP とタウの両方を過剰発現させ、タウ線維を添加した細胞では、細胞内に Sarkosyl 不溶性のタウ蓄積が引き起こされた。これは AD でのタウ蓄積と類似し、異常リン酸化されたものであった。

これまで、Aβ とタウの研究が多く行われてきたが、今回の成果は、その前駆体である APP が Aβ 病理だけではなく、タウ病理の促進にも関わっていることを強く示唆している。この研究の進展により、AD の病理

進行メカニズムの解明は勿論、新規の治療法の確立を目指したい。

F：健康危険情報

特になし

G：研究発表

(発表雑誌名、巻号、頁、発行年なども記入)

1：論文発表

2：学会発表

Muneaki Takahashi, Takashi Nonaka, Fuyuki Kametani, Shin-ichi Hisanaga, Masato Hasegawa.: Treatment of cells expressing amyloid precursor protein with tau fibrils induces intracellular aggregate formation of tau. Alzheimer's Association International Conference 2014. Copenhagen, Denmark. [2014. 7. 12-17]

高橋宗聖、野中隆、亀谷富由樹、久永眞市、長谷川成人: APP 発現によるタウ蓄積の亢進・第 33 回日本認知症学術総会 [2014, 11.29 – 12.1]

H：知的所有権の取得状況（予定を含む）

1：特許取得

該当無し

2：実用新案登録

該当無し

3：その他

該当無し

厚生労働科学研究費補助金 (障害者対策総合研究事業 (神経・筋疾患分野))

「異常タンパク伝播仮説に基づく神経疾患の画期的治療法の開発」

(分担) 研究報告書

線維化 α シヌクレインの線条体への接種による

孤発性パーキンソン病霊長類モデルの作成

研究分担者：横田隆徳¹⁾

研究協力者：阿部圭輔¹⁾，田尻美緒¹⁾，大久保卓哉¹⁾，内原俊記²⁾，下沢明希³⁾，
鈴掛雅美³⁾，長谷川成人³⁾

1) 東京医科歯科大学大学院 脳神経病態学 (神経内科)

2) 東京都医学総合研究所 脳病理形態研究室

3) 東京都医学総合研究所 認知症プロジェクト

研究要旨

パーキンソン病に特異的なレヴィー小体の主要構成成分である α シヌクレイン(α -Syn) は異常に折り畳まれて凝集し，正常な α -Syn を巻き込んで細胞間伝播することが知られている。線維化したヒトのリコンビナント α -Syn 蛋白をマウスの線条体に接種することで内因性 α -Syn が巻き込まれて凝集し周囲に伝播するが，カニクイザルでは α -Syn の凝集は起きなかった。霊長類では α -Syn 凝集を抑制する何らかの機構があると考えられる。

A. 研究目的

パーキンソン病(PD)は抗 α -Synuclein(α -Syn) 抗体陽性の神経細胞内封入体 (レヴィー小体) と中脳ドーパミン細胞の脱落で特徴づけられる神経変性疾患であるが，細胞内封入体形成や病態進展のメカニズムについては未だ不明である。長谷川らや Lee らは，野生型マウスにマウス α -Syn リコンビナント蛋白(mSyn)やヒト α -Syn リコンビナント蛋白(hSyn)を接種することにより，パーキンソン病類似の α -Syn 病理の再現や蛋白伝播を示したが，ヒトでの病態を十分に反映しているとは言えない。我々は，同様の実験をカニクイザルで行うことにより，孤発性パーキンソン病霊長類モデル

の確立を試みた。

B. 研究方法

リコンビナント蛋白(mSyn, hSyn)を精製し，濃縮したリコンビナント蛋白をカニクイザルの線条体 (被殻) に接種し，SUPDRS (Simian Unified Parkinson's Disease Rating Scale) と apple test で行動解析を行った。接種から 3 ヶ月後 (mSyn 接種 1 頭，hSyn 接種 1 頭)，5 ヶ月後 (mSyn 接種 1 頭)，12 ヶ月後(hSyn 接種 1 頭) に解剖し， α -Syn を含む異常な凝集の有無を確認した。また同様の手法でマウス線条体にもリコンビナント蛋白(mSyn, hSyn)を接種し，凝集した蛋白の拡がりの相違を検証した。

(倫理面への配慮) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターでは、長年に渡る霊長類を用いた動物モデル研究により培った技術に基づいて実験を行い、特に外科手術や安楽死ではサル之苦痛を最小限にする配慮を行った(承認番号: DS24-20).

C. 研究結果

mSyn 450 μ g を接種したカニクイザル2頭は、接種3ヶ月後、5ヶ月後までの行動観察で運動障害を認めなかった。また、解剖脳において接種した線条体及び周囲の神経細胞にも抗リン酸化 α -Syn抗体、抗ヒト α -Syn抗体で陽性の異常構造物は確認できなかった。カニクイザルに近い種であるhSyn 1250 μ g を接種した2頭でも接種12ヶ月後まで行動観察を継続したが、やはり運動障害は認めず、解剖脳病理でも同様に異常構造物を認めなかった。一方で、同時期に10 μ g のmSyn及びhSynを接種したマウスでは、接種した線条体の他、扁桃核、中脳黒質、大脳皮質等に抗リン酸化 α -Syn抗体陽性の異常構造物が広範囲に確認された。

D. 考察

Vilaらは、びまん性レビー小体病患者脳の不溶性分画をカニクイザルの線条体に接種し、接種9ヶ月後の ^{11}C -DTBZ PETで黒質ドーパミン細胞の減少と黒質での抗ヒト α -Syn抗体陽性の構造物を含む神経細胞が認められることを報告しているが(Ann Neurol 2014)、我々の実験と同様に、接種した局所での抗リン酸化 α -Syn抗体及び内在性の抗ヒト α -Syn抗体陽性の凝集体は認められていない。線条体に接種された線維化した異常な α -Synは遅くとも接種3ヶ月後には消失しており、カニ

クイザル自身に凝集した α -Synを除去する機構があるものと考えられる。

E. 結論

マウスとは異なり、カニクイザルでは線維化した α -Synによる内因性の α -Synを巻き込んだ凝集は起こらず、 α -Synの伝播には宿主側の種差があることが示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的所有権の取得状況(予定を含む)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし