

多系統萎縮症の軟膜下および脳室周囲アストロサイトにおける リン酸化 α シヌクレインの蓄積

研究分担者：若林 孝一 弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座

研究協力者：森 文秋、中村 桂子、丹治 邦和、三木 康生

弘前大学大学院医学研究科脳神経病理学講座

柿田 明美 新潟大学脳研究所生命科学リソース研究センター

高橋 均 新潟大学脳研究所病理学分野)

研究要旨

多系統萎縮症 (MSA) では α シヌクレイン (α S) が封入体に取り込まれることで脳脊髄液中の α S が減少する可能性が示唆されている。今回、MSA の長期経過例では軟膜下および脳室周囲アストロサイトにリン酸化 α S (p- α S) の蓄積が起こり得ることを見出したので報告する。

55 剖検例 (MSA15 例、レビー小体病 20 例、正常対照 20 例) の前頭葉、側頭葉、基底核、小脳、脳幹、脊髄を免疫組織化学的に検索した。

MSA15 例中 6 例 (40%) の脳幹・脊髄腹側の軟膜下ならびに側脳室周囲に p- α S の蓄積を認めた。蛍光二重免疫染色では、GFAP と p- α S の共局在を認め、この構造物はアストロサイトの突起に局在すると考えられた。免疫電顕では、軟膜下アストロサイトの顆粒状および小胞状構造物に免疫反応性を認めたが、異常な線維性凝集体は認められなかった。p- α S 陽性アストロサイトは、罹病期間が長い症例でより高頻度に認められた。

MSA の脳脊髄液中における α S 濃度の変動要因のひとつとして、軟膜下および脳室周囲のアストロサイトへの p- α S の蓄積が考えられる。

A. 研究目的

多系統萎縮症 (MSA) では α シヌクレイン (α S) が封入体に取り込まれることで脳脊髄液中の α S が減少する可能性が示唆されている[文献 1]。今回、MSA の長期経過例では脳幹・脊髄の軟膜下および側脳室周囲のアストロサイトにリン酸化 α S (p- α S) の蓄積が起こり得ることを見出した。この所見は、脳脊髄液中の α S 濃度の変動要因のひとつとして重要な所見であると思われるので報告する。

B. 研究方法

対象：MSA15 例、レビー小体病 20 例、正常対照 20 例の剖検組織を用いた。

方法：各例の前頭葉、側頭葉、基底核、小脳、脳幹および脊髄の 4 μ m 厚パラフィン切片を用い、免疫組織化学的に検索した。さらに、10%ホルマリンで固定された脊髄から 50 μ m 厚のビプラトーム切片を作成し、p- α S 抗体を用いて包埋前免疫電顕法 (DAB 発色法、

金コロイド銀増感法)による超微形態観察を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究で使用した剖検組織は研究に用いることに関し文書により家族の同意が得られたものであり、倫理上問題はない。

C. 研究結果

MSA15 例中 6 例 (40%) の脳幹および脊髄腹側の軟膜下ならびに側脳室周囲に p- α S の蓄積を認めた。同部位は p62 やユビキチン、Gallyas-Braak 染色に陰性であった。蛍光二重免疫染色では、アストロサイトのマーカーである GFAP と p- α S の共局在を認めたが、オリゴデンドロサイトのマーカーである p25 α や軸索のマーカーであるリン酸化ニューロフィラメントは陰性であり、この構造物はアストロサイトの突起に局在すると考えられた。免疫電顕では、軟膜下アストロサイトの突起において、顆粒状および小胞状構造物に免疫反応性を認めたが、異常な線維性構造物は認められなかった。p- α S 陽性アストロサイトは、罹病期間が長い症例でより高頻度に認められた。レビー小体病と正常対照には p- α S 陽性アストロサイトは認められなかった。

D. 考察

これまで MSA7 例中 3 例で小脳 Bergmann glia に少数の α S 陽性構造物を認めたことが報告されている[文献 2]。しかし、小脳以外の部位においてアストロサイトに p- α S の蓄積を認めた報告はない。本例に認めた軟膜下および脳室周囲アストロサイトにおける p- α S の蓄積は、p62、ユビキチン、Gallyas-Braak 染色で陰性であり、線維性凝集を形成していないという点で、MSA における既知の封入体 (グリア細胞および神経細胞) とは組織学的に異なっている。これらの所見から、アスト

ロサイトにおける p- α S の異常蓄積の機序として、 α S の過剰発現、 α S の取り込み過多、 α S の排出過程の異常が考えられる。培養アストロサイトは α S を発現しうるが、今回認められた特徴的な分布は過剰発現だけでは説明できない。アストロサイトが封入体に由来する p- α S を取り込んだ可能性もあるが、グリア封入体 (GCI) の分布は今回のアストロサイトの分布とは一致しない。我々は MSA の中枢神経系では、今回認められたルートを紹介して、異常あるいは過剰な α S が脳脊髄液中に排出されている可能性を考えている。このルートの排出機能が低下することで、MSA では脳脊髄液中の α S 濃度が低下している可能性がある。

E. 結論

MSA の長期経過例では軟膜下および脳室周囲のアストロサイトに p- α S が蓄積する。MSA の脳脊髄液中における α S 濃度の変動要因のひとつとして、軟膜下および脳室周囲のアストロサイトへの p- α S の蓄積が考えられる。

[参考文献]

1. Sako W, Murakami N, Izumi Y, Kaji R. Reduced α -synuclein in cerebrospinal fluid in synucleinopathies: evidence from a meta-analysis. *Mov Disord* 2014; 29: 1599-1605.
2. Piao YS, Mori F, Hayashi S, Tanji K, Yoshimoto M, Kakita A, Wakabayashi K, Takahashi H. α -Synuclein pathology affecting Bergmann glia of the cerebellum in patients with alpha-synucleinopathies. *Acta Neuropathol* 2003; 105: 403-409.

F. 健康危険情報

該当なし。

G.研究発表 (2015/4/1~2016/3/31 発表)

1.論文発表

1. Tanji K, Odagiri S, Miki Y, Maruyama A, Nikaido Y, Mimura J, Mori F, Warabi E, Yanagawa T, Ueno S, Itoh K, Wakabayashi K. p62 deficiency enhances α -synuclein pathology in mice. *Brain Pathol* 2015; 25: 552-564.
2. Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Yamada M, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K. Isopentenyl diphosphate isomerase, a cholesterol synthesizing enzyme, is localized in Lewy bodies. *Neuropathology* 2015; 35: 432-440.
3. Kon T, Miki Y, Tanji K, Mori F, Tomiyama M, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K. Localization of nuclear receptor subfamily 4, group A, member 3 (NR4A3) in Lewy body disease and multiple system atrophy. *Neuropathology* 2015; 35: 503-509.
4. Nakamura K, Mori F, Kon T, Tanji K, Miki Y, Tomiyama M, Kurotaki H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K. Filamentous aggregations of phosphorylated α -synuclein in Schwann cells (Schwann cell cytoplasmic inclusions) in multiple system atrophy. *Acta Neuropathol Comm* 2015; 3: 29.
5. Tanji K, Miki Y, Maruyama A, Mimura J, Matsumiya T, Mori F, Imaizumi T, Itoh K, Wakabayashi K. Trehalose intake induces chaperone molecules along with autophagy in a mouse model of Lewy body disease. *Biochem Biophys Res Com* 2015; 465: 746-752.
6. Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Yoshida M, Kakita A, Takahashi H, Utsumi J, Sasaki H, Wakabayashi K. G protein-coupled receptor 26 immunoreactivity in intranuclear inclusions associated with polyglutamine and intranuclear inclusion body diseases. *Neuropathology* (in press).
7. Nakamura K, Mori F, Kon T, Tanji K, Miki Y, Tomiyama M, Kurotaki H, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K. Accumulation of phosphorylated α -synuclein in subpial and periventricular astrocytes in multiple system atrophy of long duration. *Neuropathology* (in press).
8. Miki Y, Tanji K, Mori F, Utsumi J, Sasaki H, Kakita A, Takahashi H, Wakabayashi K. Alteration of upstream autophagy-related proteins (ULK1, ULK2, Beclin1, VPS34, and AMBRA1) in Lewy body disease. *Brain Pathol* (in press).
9. Nakamura K, Mori F, Tanji K, Miki Y, Toyoshima Y, Kakita A, Takahashi H, Yamada M, Wakabayashi K. α -Synuclein pathology in the cranial and spinal nerves in Lewy body disease. *Neuropathology* (in press).
10. Tanji K, Miki Y, Maruyama A, Mori F, Mimura J, Itoh K, Kamitani T, Wakabayashi K. The role of NUB1 in α -synuclein degradation in Lewy body disease model mice. *Biochem Biophys Res Com* (in press).

2.学会発表

1. 森 文秋、丹治邦和、三木康生、豊島靖子、吉田眞理、柿田明美、高橋 均、内海 潤、佐々木秀直、若林孝一。ポリグルタミン病ならびに核内封入体病における G タンパク質共役受容体 GPR26 の局在。第 56 回日本神経病理

- 学会. 福岡、2015年6月3-5日
2. 三木康生、丹治邦和、森文秋、柿田明美、高橋均、内海潤、佐々木秀直、若林孝一. オートファジー関連タンパク質(ULK1、ULK2、VPS34、AMBRA1)はレビエー小体の形成過程に参与している. 第56回日本神経病理学会. 福岡、2015年6月3-5日
 3. 今 智矢、三木康生、丹治邦和、森 文秋、富山誠彦、豊島靖子、柿田明美、高橋 均、内海 潤、佐々木秀直、若林 孝 一 . Neuron derived orphan receptor-1 はシヌクレイノパチーの封入体に局在する. 第56回日本神経病理学会. 福岡、2015年6月3-5日

4. 中村桂子、森文秋、今智矢、丹治邦和、三木康生、富山誠彦、黒滝日出一、山田正仁、柿田明美、高橋均、若林孝一. Schwann細胞にリン酸化 α シヌクレインの蓄積を認めた多系統萎縮症の1剖検例. 第56回日本神経病理学会. 福岡、2015年6月3-5日

H.知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1.特許取得

2.実用新案登録

3.その他