

タウ陽性アストロサイトの形態に着目して PSP 関連タウオパチーの分類を試みる

豊島靖子¹⁾、横山裕一²⁾、小野寺 理³⁾、高橋 均^{1、)}、柿田明美¹⁾

1) 新潟大学脳研究所 病理学分野、2) 新潟大学医学部 精神神経科
3) 新潟大学脳研究所 神経内科学分野

研究要旨

進行性核上性麻痺（PSP）は臨床的にパーキンソニズムと認知症を呈し、病理組織学的にはタウ蛋白の異常蓄積を認めるタウオパチーの中の代表的な1疾患である。剖検例の検索では、神経原線維性変化とタウ陽性グリアを伴う変性を脳幹、基底核や大脳皮質に認め、房状アストロサイト（tuft-shaped astrocyte; TA）の出現を認める。本疾患は変性が一般的に広範にわたり、その程度や範囲が症例ごとに多様である。一方で、Pallido-nigro-luysian atrophy (PNLA)は、PSP 様の変性が淡蒼球-黒質-視床下核に限局し、TA に似たタウ陽性アストロサイトが少数認められる。このタウ陽性アストロサイトの形態学的特徴は明らかにされておらず、PNLA と PSP を病理組織学的に区別する存在になり得るかについての詳細な検討はなされていない。我々はアストロサイトのタウ病理に注目し、PSP 類縁疾患剖検例の臨床経過および病理組織学的所見を再検討した。その結果、TA 類似の特徴的な形態のアストロサイトを持つ群では、臨床的には早期発症、長期経過、寝たきりになりにくい特徴を認めた。さらにそれらの群のうちには病変分布と変性の程度が PSP と PNLA の中間と評価される群があり、PSP 類縁疾患は3群に分類されることが示唆された。

A. 研究目的

進行性核上性麻痺(PSP)¹⁾は、臨床的にパーキンソニズムと認知症を主症状とし、その臨床症状の多様性から、PSP form as Richardson's syndrome (RS)、PSP-parkinsonism (PSP-P)、PSP-corticobasal syndrome (CBS)、PSP-pure akinesia with gait freezing (PAGF) など、多くの病型が報告されている。一方、病理組織学的な検索では、神経原線維性変化とタウ陽性グリアを伴う変性を広範囲に認め、変性部位に tuft-shaped astrocyte (TA)の出現を特徴とする²⁾。本邦からの報告が多い Pallido-nigro-luysian atrophy (PNLA)³⁾ は、変性が淡蒼球、黒質、ルイ体に限局する PSP の亜型と考えられているが、これまで変性部位の広がり以外に、両者の病理組織学的相違点は明らかにされていない。我々は PNLA 剖検例において、TA に類似するものの突起が短く太い特徴的なタウ陽性アストロサイトを観察し、平成24年の班会議において報告した。

け、後方視的に臨床情報を詳細に検討することで、PSP 関連疾患の予後に関わる因子を抽出することができれば、臨床の場で診療に携わる医師や患者に有意義な情報となることが予想される。そこで我々は、PSP 関連疾患と病理診断された症例を、タウ蓄積アストロサイトの形態の違いを中心に分類し、それぞれの群の運動機能予後に関係する因子について臨床病理学的に検討した。

B. 研究方法

（研究を始めるにあたって、新潟大学医学部倫理委員会において承認を得た）

PSP 関連疾患と病理診断された連続剖検例 PSP 関連疾患 40 剖検例（含 PSP, atypical PSP, PNLA etc.）を対象として以下について検討した。

1. タウ陽性アストロサイトの形態学的観察

1) リン酸化タウ抗体 (AT8) 免疫染、Gallyas-

Braak 染色 (G-B)

2) 三次元構造解析

3) 超微細構造解析

2. タウ陽性アストロサイトの形態により 2 群に分類

3. eTA 群 18 例のタウ病変分布によるクラスター解析

4. 病理組織学的所見解析 (神経細胞脱落およびタウ病変についての組織学的半定量解析)

5. 臨床データ解析 (両群の臨床経過を後方視的に解析)

6. 生化学的解析 (Western blotting: 淡蒼球のサルコシル不溶画分を用いた)

7. MAPT 遺伝子解析 (若年発症例)

C. 研究結果

1. タウ関連病理に関して、まず 2 種類のタウ陽性アストロサイト (TA と eTA) を同定した。TA (図 1 A, C) と比較して、eTA は、形態が不規則で核近傍に短く太い突起様にタウの蓄積が観察された (図 1 B, D)。G-B 銀染色によるアストロサイトの病理組織像により、40 例を 2 群に分類し、それぞれ TA 群 (n=22, 男 13/女 9) と eTA 群 (n=18, 男 8/女 10) とした。

AT8 陽性 TA は、細長い放射状の突起様構造を示し、eTA は、短く太い構造を示した。IMARIS を用いて同一サイズのボクセル内で測定した。

AT8 陽性構造物の比較では、TA が eTA より有意に大きく、それを構成する粒子の大きさが小さく数が多いという結果を得た (図 2)。

包埋前免染法を用いた免疫電子顕微鏡像では、TA 群では AT8 陽性構造が核から遠位に伸びる細長い突起として観察された。一方 eTA 群では AT8 陽性構造が核近傍に集中していた。電子顕微鏡強拡大像では、両群で約 10-13 nm 径の細管構造 (straight tubules) から成る繊維束が認められた

2. 3. TA 群は 22 例、eTA 群は 18 例であった。eTA 群 18 例は全体にタウ病理の程度が軽いとい

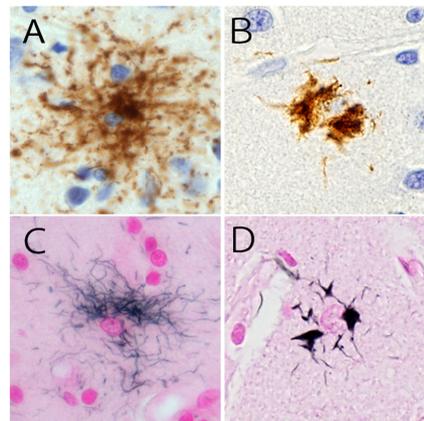


図 1. TA (A, C) と eTA (B, D)

A, B: AT-8 免疫染色 C, D: Gallyas-Braak 染色

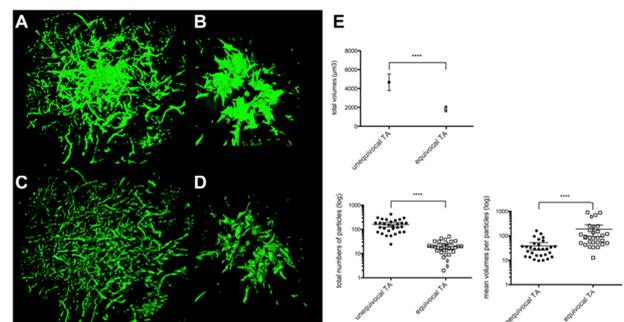


図 2. TA (A, C) と eTA (B, D) の比較で、大きさ (E 上段) と構成する粒子の数 (E 下段左) と大きさ (E 下段右) に有意差が認められる

う特徴があり、その中には病変が PNL に局限する症例と、PNL を超えて病変が広がっている症例があることがわかった。タウ病変分布によりクラスター解析を行った結果、運動野、橋核、小脳歯状核などのタウ病理の強さによって、18 例の eTA 群が 9 例ずつの 2 群に分類された。本研究では、この 2 群を PNLA type1、type2 とした (図 3)。

4. TA 群は eTA 群に比べ運動野、中脳被蓋、橋核、小脳歯状核の神経細胞脱落とタウ関連病理の程度が強かった一方、淡蒼球・黒質・視床下核 (PNL) では、神経細胞脱落の程度が PNLA

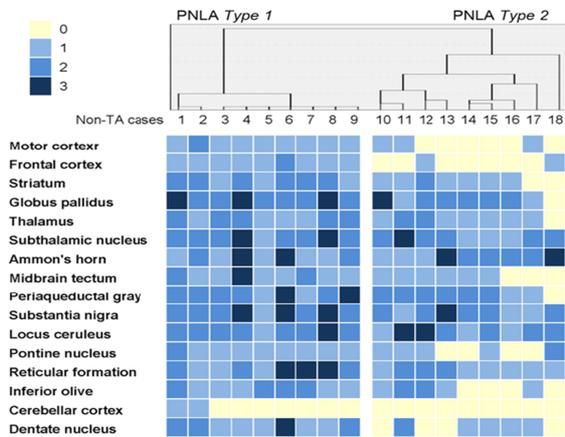


図 3. eTA 群 タウ病変の有無によるクラスター解析

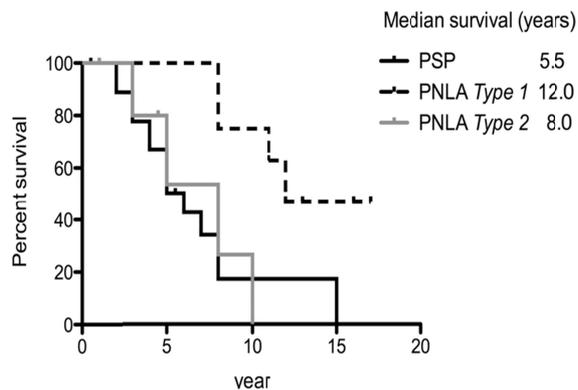


図 4. 発症から車イスになるまでの時間は PNLA type1 が有意に長い。

type1, 2 群が PSP 群より強かった。既報で PNLA の特徴とされているスフェロイドの出現は各群で差を認めなかった

5. 発症後 2 年以内の認知機能障害は, TA 群で有意に多くみられた ($p < 0.05$). 開眼失行を含む開眼困難は PNLA type1 群に優位に多く認められた ($p < 0.05$). 統計学的有意差を認めなかったものの, PSP の古典的の症状である垂直方向眼球運動制限, 転倒, 姿勢反射障害, 寡動は初期の段階で TA 群に多い傾向があった。一方で, 振戦とすくみ足は全経過中で eTA 群に多い傾向があった。図 4 に示すように, 発症から歩行不能 (車イス) になるまでの生存期間中央値は PNLA type 1 群で有意に

長かった ($p < 0.05$). PNLA の臨床的特徴とされる表現形である純粋無動症 (または predominantly akinesia) は, eTA 群のみで認められた。

6. 脱リン酸化後の画分では, TA 群 (PSP 群), eTA 群 (PNLA type 1, type2) とともに CBD と共通の 4R を示すバンドを認めた。脱リン酸化未処理の画分では, CBD では 37kDa のバンドパターンを示したのに対し, TA 群 と eTA 群の低分子量 C 末断片化は 33kDa の従来の PSP バンドパターンを示した。

7. 若年発症を認めた 2 症例で MAPT 変異を検索したが, 異常は認められなかった。

D. 考察

近年, Ahmed ら⁴⁾は 400 以上の PSP 連続剖検例のうち, PNL に強い変性を認めるものの, PSP で通常冒される運動野, 線条体, 橋核および小脳歯状核の変性とタウ蓄積が軽度にとどまる 8 症例を見だし, この群を PSP-PNLA として PSP の一亜系と位置づけた。Ahmed らはその病理組織学的特徴として軸索スフェロイドが淡蒼球と黒質に多数出現することと, 少数の TA を認めたことを報告している。神経細胞脱落とタウ関連病理の強度に基づくと, PSP-PNLA は本研究の eTA 群に合致すると考えられた。Ahmed らは運動野や尾状核におけるタウ関連病理の強度が PSP と PSP-PNLA を区別する上で有用であるとしているが, 本研究ではタウ関連病理の強さに加えてタウ陽性アストロサイトの形態の違いが PSP と PSP-PNLA を区別する上で重要であることが示唆された。さらに, 本研究では軸索スフェロイドは PSP-PNLA (eTA 群) の特異的所見ではないと考えられた。

臨床データ解析の結果, eTA 群には早期発症, 長期経過, 運動機能が比較的保たれるという特徴が認められた。罹病期間の長さは, eTA 群において運動野の神経細胞脱落とタウ関連病理が軽度であることが関与している可能性が考えられる。また, eTA 群は病初期には PD と診断されやすく,

純粋無動症がみられやすいという特徴は興味深い。Ahmedらは典型的なPSPとの比較で、PSP-PNLAがより早期に発症し緩徐進行性であることを述べている。さらに、開眼失行はPSP-PNLAのみにみられたと報告しているが、本研究においても、開眼失行を含む開眼困難はとくにPNLA type1群でより高頻度に認められた。我々の研究ではPNLA type1の運動機能が他の群に比べて有意に末期まで保たれることが示されたが、診察上開眼困難を認めるような症例は機能予後が比較的良好と患者本人や家族に説明することが可能かもしれない。

Ahmedらの報告では、400例以上のPSP剖検例で8例(<2.0%)のみがPSP-PNLAと診断されたのに対し、本研究では40例のPSPとPSP関連疾患の連続剖検例に、18例のeTA群(PSP-PNLA)が含まれており、疾患頻度が大きく異なっていた。本研究に用いた剖検例に臨床診断困難例(初期にPSPと診断されにくい症例)が多く含まれているというバイアスはあるものの、本研究の結果と元々PNLAの報告が本邦から多くなされてきたという事実をふまえると、コーカサス人種と異なる人種的背景を持つ日本人において、PSP-PNLAと関連する何らかのリスクファクターが存在している可能性が高いと推察される。

不溶性タウのイムノプロットでは、TA群(PSP群)とeTA群のいずれにおいても4Rタウが確認された。さらに脱リン酸化処理前の不溶画分のイムノプロットでは33-kDaの断片を認め、PSPとPNLAで共通の生化学的特徴が示された。MoriらはPNLAのイムノプロット解析の結果、PNLAがPSPやCBDと同様の4Rタウオパチーであることを報告したが、我々の知る限り、これまでPNLAの症例でPSPの生化学的特徴が明確に示されたことはなく、重要な所見と考える

E. 結論

PSPの臨床病理学的スペクトラムは広く、その組

織学的病変分布とタウ蓄積アストロサイトの形態から、連続性を示す3群(typical PSP、PNLA type1、PNLA type2)の存在が示唆された。今回の研究では明らかにできなかったアストロサイトの形態の違いに関係する分子の探索や、予後を予測するために重要となる臨床症状上の特徴などをさらに検討する必要がある。

謝辞：本研究に際しまして、貴重な症例のご協力を頂きました国立病院機構相模原病院 長谷川一子先生に深謝いたします。

文献)

1. Steele JC, Richardson JC, Olszewski J **Arch Neurol** 10:333-359, 1964
2. Komori T **Brain Pathol** 9:663-679, 1999
3. Contamin F, Escourolle R, Nick J et al.**Rev Neurol** 124: 107-120, 1971
4. Ahmed Z, Josephs KA, Gonzalez J, et al. **Brain** 131:460-472, 2008

F.健康危険情報

なし。

G.研究発表

1. 論文発表

Yokoyama Y, Toyoshima Y, Shiga A et al. Pathological and clinical spectrum of progressive supranuclear palsy: with special reference to astrocytic tau pathology. **Brain Pathol** in press

2. 学会発表

第55回神経病理学会総会学術研究会 横山裕一
ら「Astrocyteにおけるタウの蓄積像に着目したPSP関連タウオパチーの連続性について」
2014年6月 東京

H.知的所有権の取得状況(予定を含む)

なし。