

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590734

研究課題名（和文） 心臓自律神経系における  $\alpha$ -synucleopathy の意義に関する研究研究課題名（英文） Significance of  $\alpha$ -synucleopathy in cardiac autonomic nervous system

研究代表者

西田 尚樹 (NAOKI NISHIDA)

富山大学・大学院医学薬学研究部（医学）・教授

研究者番号：10315088

研究成果の概要（和文）：

申請期間内に施行された法医解剖中、病理組織学的検索が可能であった 312 例につき中枢神経系、心臓周囲を含めた末梢自律神経系について抗  $\alpha$ -synuclein 抗体を用いて免疫組織染色を施行した。その結果、パーキンソン病において、自律神経系の異常に基づく心臓性突然死例が存在すること、未診断のパーキンソン病による事故死例が存在することが強く示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We performed the pathological examination of serial 312 forensic autopsy cases. The results showed that there may be sudden cardiac death with  $\alpha$ -synucleopathy in central and peripheral nervous system. In addition, the cases with  $\alpha$ -synucleopathy were found in traumatic death, especially in falling down. The examination of  $\alpha$ -synucleopathy may be useful for exploring the sudden cardiac death and traumatic death of aged population.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2010 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011 年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：法医学

キーワード：心臓性突然死、心刺激伝導系、免疫染色、 $\alpha$ -synucleopathy

## 1. 研究開始当初の背景

近年高齢者人口の増加により、浴槽内死亡例や転倒死亡事故の剖検が増加している。その中の少なからぬ例において、心臓の異常により突然死あるいは失神発作を来して事故の発生が生じているものと推察されるが、その大半は突然死同様、心臓に責任病変が明らかにならずに「不慮の事故死」として結論されているものと考えられる。一方、パーキンソ

ン病や多系統萎縮症のような  $\alpha$ -synucleopathy と総称される神経変性疾患において、典型的な錐体外路症状に加え、従来 Shy-Drager 症候群と称されていたような自律神経症状が強く認められ、突然死する場合があることは知られている。しかしながら多数の自律神経が存在する伝導系周囲や、心臓周囲の交感神経系神経節、交感神経幹、頸動脈小体などにおける  $\alpha$ -synuclein (以下  $\alpha$

-SN)沈着のその分布,加齢による発生の有無などについて系統的に検索したと考えられる報告は申請者が検索する限りにおいては認められていなかった。

## 2. 研究の目的

通常の内眼的,病理組織学的検索において発症機序,責任病変を明らかにし得ない心臓性突然死,内因性疾患の発症によって生じた可能性が高い入浴中の急死や転倒(いわゆる不慮の事故死)の法医解剖例を検索し,心刺激伝導系周囲に分布する末梢自律神経,さらにその中枢に位置する自律神経組織にリン酸化 $\alpha$ -synuclein(以下 $\alpha$ -SN)の蓄積を伴った症例が少なからず存在することを証明し, $\alpha$ -synucleopathyによる突然死という概念の確立を目的として本研究を行った。

## 3. 研究の方法

### (1) 症例

申請者が過去に行った,ないしは申請中に施行した法医解剖例において死後経過時間が2日以内で50才以上の症例を対象とし,3年間を通じて該当する312例(男性196例,女性116例,平均年齢 $72.3 \pm 23.6$ 才)の検索を施行した。これらの剖検例を以下の4群に分けて検索した。

- ① 生前 $\alpha$ -synucleopathyと診断されていた突然死例(Group I, 10例)
- ② 虚血性心疾患,心筋症等の既知の疾患を伴わないものの心臓性突然死と考えられる例(Group II, 31例)
- ③ 既知の疾患を伴わない入浴関連死亡例,転倒死亡例[Group III, 入浴関連死をIIIa(7例),転倒例をIIIb(144例)とした]
- ④ 既知の疾患により死亡したことが明らかな内因死例,死因と内因性疾患発症の関連が完全に否定できる外因死例(約137例, Group IV)

各例の生前の既往歴の有無等に関しては,直接あるいは警察を通じて家族,医療機関から聴取し,正確な把握に努めた。

### (2) 病理組織標本の作製

剖検施行後,諸臓器を20%緩衝ホルマリンにて1週間から10日固定した。脳幹から,中脳(1,2切片),橋(3切片),延髄(2~4切片)を切り出し,その他,大脳皮質各葉,基底核,扁桃核,視床,海馬などを切り出し,パラフィン包埋ブロックを作製した。心臓からは,乳頭筋の最大断面が含まれる水平断につき,全周性に標本作製を行う。また洞房結節,房室伝導系を既知の方法で切り出し,さらに上頸神経節,交感神経幹,頸動脈小体の標本作製した。各切片に対し,HE染色と $\alpha$ -

SNの沈着をスクリーニングする目的で,Garyas-Braak染色を施行した。

(3) 免疫組織化学による脳幹内 $\alpha$ -SNの検出  
対象全例の脳幹標本において,抗リン酸化 $\alpha$ -SN抗体を用いたSAB法による面積染色を施行した。神経組織内の $\alpha$ -SNの沈着程度の評価は,全くないものから高度なものまで4段階で半定量評価する。脳幹神経核に陽性所見を認めた例は,他の部位(大脳皮質,基底核,視床,扁桃核,海馬など)の切片を同様に染色し,その沈着程度を評価した。

### (4) 染色結果の解析

Group I, II, III, IV各例における脳幹,交感神経幹,頸動脈小体,上頸神経節,心臓内(伝導系周囲)神経節における $\alpha$ -SN陽性細胞,線維の出現の有無,程度を記録した後,以下の手順で検証を行った。

- ① Group Iにおける脳幹,心臓内外自律神経における $\alpha$ -SN陽性細胞,線維の出現頻度を記録する。
- ② Group IVにおける脳幹,心臓内外自律神経における $\alpha$ -SN陽性細胞,線維の出現頻度を記録する。Group Iの各例との比較を行う。
- ③ Group II, IIIにおいて,脳幹内の $\alpha$ -SNの沈着程度につき,Braakらの提唱したパーキンソン病や多系統萎縮症の診断基準を満たしうる例の有無を検証し,自律神経系の標本について,Group I, IVの $\alpha$ -SN陽性細胞,線維の出現頻度と比較検討を行った。

## 4. 研究成果

(1) Group 1においては,Parkinson病(以下,PD)8例,多系統萎縮症(以下,MSA)2例が認められ,全例において中脳黒質,橋青斑核,延髄迷走神経背側核などにLewy body(図1), $\alpha$ -SNの沈着が認められた。PDの8例においては心臓洞房結節周囲の神経節や自律神経線維に $\alpha$ -SNの沈着が高度に認められた(図2)。また,交感神経幹,上頸神経節にも $\alpha$ -SNの沈着を多量に認めた。頸動脈小体にはごく微量の沈着を認めた。これらの結果は,臨床的にparkinsonismが出現している時点では,末梢自律神経系,特に心臓周囲においても $\alpha$ -SNの沈着が進行していることを示しており,またPD患者の突然死の発生に関与していることが強く示唆される。PDと突然死の関連は広く認知されていると考えられるが,具体的な頻度に関しては報告に乏しい。本研究はPD患者の予後のさらなる改善のために循環器系の精査や不整脈の発症機序の解明を行うことが重要であることを示唆している。

またMSAに関しては末梢自律神経系には $\alpha$ -SNの沈着がなく,PDとは異なった形で循環

器系に影響を及ぼしていることが示唆された。

(2) Group IVにおいては、137例中3例に陽性像を認め、6例では延髄迷走神経背側核、疑核に中等量、中脳黒質に少量の $\alpha$ -SNが認められた。また交感神経幹にも少量の沈着が認められた。これらは以前から incidental Lewy body disease といわれているPD発症前の状態であるものと考えられる。

(3) Group IIにおいては、31例中、4例において脳幹諸核および心臓周囲自律神経系、交換神経幹に $\alpha$ -SNの沈着が認められた。4例中2例では、生前PDと診断されていないものの、家族等から聞き取りの結果、すでにパーキンソニズムが出現していたことが強く疑われた。この4例はいずれも心臓自体には器質的疾患を認めないものの剖検諸検査の結果心臓性突然死であることが強く疑われた症例である。脳内における $\alpha$ -SNの進展はBraak stage 3と重度ではないことから、神経兆候が不明瞭であったことに関しては矛盾しないものと考えられるが、自律神経系の $\alpha$ -SNの沈着程度はGroup 1と同等の沈着量が認められ、Group IVで認められた incidental Lewy body disease と考えられた症例に比して、より病変が進行した状態であった。これらの結果は自律神経系においてPDの運動症状が発生する前、または軽微な段階から、病変が高度に進展し、心臓に対する自律神経系の調節機能に障害が生じている場合があることを示唆している。つまり心臓周囲自律神経への $\alpha$ -SN沈着が、心臓の電気生理学安定性において、何らかの障害を来している可能性が考えられた。また法医学的観点からは中高齢者の突然死剖検例に関しては、 $\alpha$ -SNの検索が重要であることが明らかとなった。

(4) Group 3についてであるが、入浴関連死のIIIa群には今回の検討では $\alpha$ -SNの沈着は認めなかった。しかし1例において、進行性核上性麻痺（以下、PSP）に合致する病理所見が認められた。本例は、生前PDと診断されており、パーキンソニズム主体のPSPで入浴中に死亡した例と考えられた。またIIIb群では、10例に $\alpha$ -SNの沈着を認め、6例ではGroup IVに認められたのと同様の所見であったが、その他4例はいずれも脳幹にBraak 4相当の進行したPD病変が認められ、生前、PDという診断はなされていないものの、すでにPDを発症していたことが強く疑われ、かつ死亡の原因に関与していた可能性が考えられた。通常、高齢者の転倒死亡事故において、その内的因子、特に神経変性疾患を念頭においた検索が行われることは法医学分野においてはほとんどない。我々が示した結果

は、高齢者の転倒の原因は加齢や運動器疾患のみではなく、PDを始めとする神経変性疾患に罹患していたことに起因する症例が少なく存在する可能性を示したと考えられる。

#### (5) まとめ

- ① 法医学分野で剖検される中高齢者の突然死例においては、 $\alpha$ -synucleopathyによる末梢自律神経障害が突然死の発生に関与したと考えられる症例が存在する。
- ② 生前に診断されていない症例においても形態学的には $\alpha$ -synucleopathyが進行しており、心臓性突然死を来したことが強く疑われる例が存在する。
- ③ さらに $\alpha$ -synucleopathyは中高齢者の不慮の事故死の背景因子としても重要な病変である可能性が強く疑われる。
- ④ 以上より中高齢者の剖検に関しては、末梢神経を含めた神経系の免疫組織染色を加えた検索が非常に重要である。

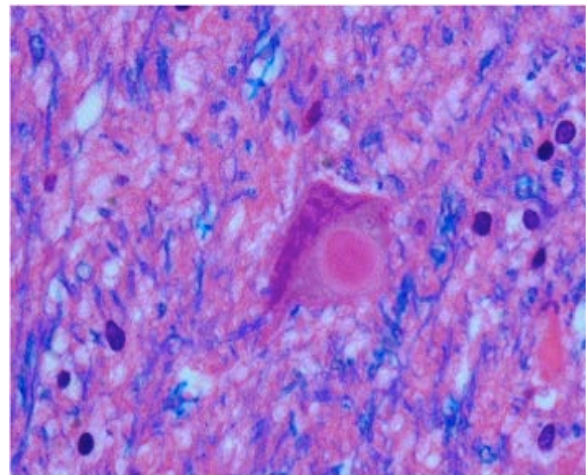
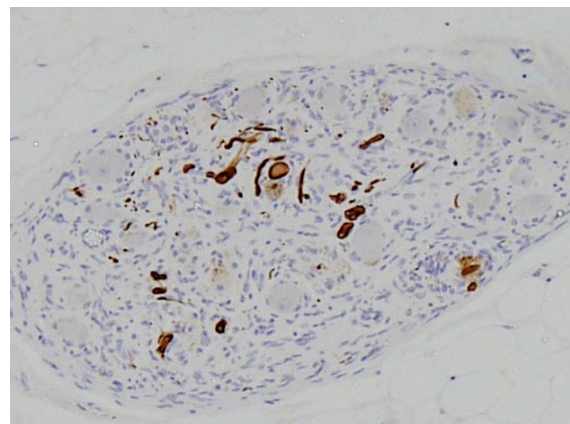


図1 中脳黒質に認めたLevy body

図2 洞房結節周囲神経節の $\alpha$ -SN陽性像



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- 1) Kinoshita K, Yamaguchi Y, Nishide K, Kimoto K, Nonobe Y, Fujita A, Asano K, Tabata T, Mori H, Inoue H, Hata Y, Nishida N. A novel missense mutation causing a G487R substitution in the S2-S3 loop of human ether-a-go-go-related gene channel. J Cardiovasc Electrophysiol. (Inpress, 査読有)

[学会発表] (計 25 件)

- 1) 山口由明, 水牧功一, 西田邦洋, 岩本讓太郎, 中谷洋介, 片岡直也, 坂本 有, 井上 博, 畑 由紀子, 西田尚樹. 突然死の家族歴を有し早期再分極とQT延長症候群が混在したSCN5A遺伝子異常の1家系. 第24回心臓性急死研究会. 2011, 12, 17, 品川.
- 2) 西田尚樹, 畑 由紀子, 木下耕史. 病原性大腸菌O111感染後に発症した急性脳症. 第18回東北神経病理研究会. 2011, 10, 29, 秋田.
- 3) 西田尚樹, 畑 由紀子, 木下耕史. ビタミン欠乏を伴っていたと考えられる未治療進行胃癌の1剖検例. 第3回日本神経病理学会東海・北陸地方会. 2011, 9, 10, 愛知.
- 4) 山口由明, 水牧功一, 西田邦洋, 井上 博, 齋藤和由, 伊吹圭二郎, 小澤綾佳, 渡辺一洋, 市田藤子, 畑 由紀子, 西田尚樹. 先天性QT延長症候群LQT1とLQT2における心拍依存性のQT間隔とT波高の変動の検討. 第47回日本小児循環器学会, 2011, 7, 7, 福岡.
- 5) 畑 由紀子, 木下耕史, 西田尚樹. 複数のchannel異常と心肥大を認めた心臓性突然死の一例. 第95次日本法医学会学術全国集会. 2011, 6, 15-17. 福島.
- 6) 西田尚樹, 畑 由紀子, 木下耕史. アルコール性中枢神経障害を背景とした焼死の1例. 第95次日本法医学会学術全国集会. 2011, 6, 15-17. 福島.
- 7) 西田尚樹, 畑 由紀子, 木下耕史. Pathologically proven corticobasal degenerationと考えられた1例. 第52回神経病理学会総会学術研究会. 2011, 6, 2-4, 京都.
- 8) 中川貴美子, 畑 由紀子, 西田尚樹. PSP-perkinsonismの2剖検例. 第100回日本病理学会総会. 2011, 4, 28-30, 横浜.
- 9) 井上 哲, 畑 由紀子, 西田尚樹. パーキンソン病患者の転倒死亡事故の1例. 第100回日本病理学会総会. 2011, 4, 28-30, 横浜.
- 10) 竹内 結, 畑 由紀子, 西田尚樹. 未治療の進行胃癌に合併したペラグラ脳症の1剖検

例. 第100回日本病理学会総会. 2011, 4, 28-30, 横浜.

- 11) 畑 由紀子, 木下耕史, 西田尚樹. K channel異常を認めた若年者の心臓性突然死の一例. 第100回日本病理学会総会. 2011, 4, 28-30, 横浜.
- 12) 西田尚樹, 畑 由紀子. Diffuse neurofibrillary tangle with calcificationと考えられた1剖検例. 第100回日本病理学会総会. 2011, 4, 28-30, 横浜.
- 13) Ichida F, Hata Y, Chang B, Ozawa S, Saito K, Ibuki K, Watanabe K, Hirono H, Nishida N, Bowles NE, Miyawaki T. Genetic Basis Of Left Ventricular Noncompaction The 84<sup>th</sup> Scientific sessions of AHA 2011, 2011.11, 13-16, Orlando.
- 14) Hata Y, Mori H, Tanaka A, Fujita Y, Shimomura T, Tabata T, Kinoshita K, Nishida N. Identification and characterization of a novel mutation M579fs+75X in HERG. The 4th Asia Pacific Heart Rhythm Society Scientific Session (APHRs 2011). 2011, 9, 20-22, Fukuoka.
- 15) Ichida F, Hata Y, Chang B, Ozawa S, Saito K, Ibuki K, Watanabe K, Nishida N. Genetic Basis of Left Ventricular Noncompaction. ESC Congress 2011, 2011, 8, 28, Paris.
- 16) 西田尚樹, 畑 由紀子, 木下耕史: 非典型的な病変分布を認めた高齢者PSPの一例. 第17回東北神経病理研究会, 2010, 11, 13, 宮城.
- 17) 西田尚樹, 畑 由紀子: 起始部の異常走行を伴う右冠状動脈左冠状動脈洞起始の2例. 第136回東海・第121回北陸合同地方会, 2010, 11, 6-7, 石川.
- 18) 畑 由紀子, 木下耕史, 西田尚樹: 神経変性疾患を背景とした高齢者転倒死亡事故の一例. 第32回日本法医学会学術中部地方集会, 2010, 10, 23, 富山.
- 19) 松岡 理, 西田尚樹, 鈴木道雄: 剖検にて嗜銀顆粒性認知症と診断された一例. 第177回北陸精神神経学会, 2010, 9, 12, 富山.
- 20) 畑 由紀子, 西田尚樹, 木下耕史: Na channel異常を認めた若年者突然死の一例. 第94次日本法医学会学術全国集会, 2010, 6, 23-25, 東京.
- 21) 西田尚樹, 畑 由紀子, 大谷真紀, 千葉 孝, 吉岡尚文: 神経疾患を背景因子に有すると考えられた高齢者の自殺例. 第94次日本法医学会学術全国集会, 2010, 6, 23-25, 東京.
- 22) 西田尚樹, 畑 由紀子: NFT predominant form of dementia of Alzheimer typeと考えられた1例. 第99回日本病理学会総会, 2010, 4, 27-29, 東京
- 23) 中曾根 泰人, 畑 由紀子, 西田尚樹: 起始部の大動脈壁内走行を伴う右冠状動脈左冠状動脈洞起始の2例. 第99回日本病理学会総会, 2010, 4, 27-29, 東京 西田尚樹, 畑

- 由紀子：認知症発症後2年で死亡した1例。  
第16回日本神経病理学会東北地方会，2009，  
11，21，山形。
- 24) 守吉秀行，畑 由紀子，西田尚樹：Dementia  
with Lewy bodies (DLB) と考えられた1例。  
第99回日本病理学会総会，2010，4，27-29，東  
京。
- 25) 西田尚樹，畑 由紀子：躁鬱病の経過中に認  
知症を発症した1剖検例。第16回日本神経  
病理学会東北地方会，2009，11，21，山形。

[その他]

研究室ホームページ

<http://www.med.u-toyama.ac.jp/legal/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

西田 尚樹 (NAOKI NISHIDA)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・  
教授

研究者番号：10315088

### (2) 研究分担者

畑 由紀子 (HATA YUKIKO)

富山大学・大学院医学薬学研究部 (医学)・  
助教

研究者番号：30311674