

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：82609

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2016

課題番号：25670427

研究課題名(和文) シヌクレイン最早期病変同定に向けた試み

研究課題名(英文) Earliest detection of alpha-synuclein lesions for differential diagnosis

研究代表者

文村 優一 (FUMIMURA, Yuichi)

公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・研究員

研究者番号：30647243

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は凍結浮遊切片を用いた免疫組織染色にて、最早期から進行期までのレヴィ小体病における心筋内交感神経線維の可視化に初めて成功した。またシヌクレイン凝集が交感神経脱落よりも先行して起こることを明らかにした。レヴィ小体病であるパーキンソン病やレヴィ小体型認知症では心臓交感神経が脱落し、生前にMIBG心筋シンチグラフィーでの取り込み低下として捉えることができる。そこで我々は全国から剖検例を集積し、MIBG取り込み率と残存軸索面積の間に密な相関があることを、世界に先駆けて定量的に証明した。これらの研究成果を通じて、MIBG心筋シンチグラフィーの臨床的有用性と、その病理学的基盤を確立した。

研究成果の概要(英文)：We first demonstrated phosphorylated  $\alpha$ -synuclein (p syn) aggregation in cardiac sympathetic nerves in the subendocardial area in the early stages of Lewy body disease (LBD) by using immunostained free-floating sections. Accumulation of p syn aggregates preceded the disappearance of tyrosine hydroxylase immunoreactive axons. In LBD, p syn aggregation and distal-dominant degeneration of the cardiac sympathetic nervous system may represent the common pathological mechanism. We demonstrated a tight quantitative correlation between postmortem examination of remaining axons and premortem MIBG uptake in an autopsy series of patients with or without LBD. Sympathetic nervous system has distinguishable orientations. Therefore, the analyses of cardiac sympathetic nerve fibers have possibilities to reveal the earliest changes and pathological mechanism underlying a common degenerative process in LBD.

研究分野：臨床神経学

キーワード：シヌクレイン パーキンソン病 レヴィ小体型認知症 MIBG心筋シンチグラフィー

### 1. 研究開始当初の背景

我々はこれまでレヴィー小体病では臨床症状が出現する以前に副腎等の末梢自律神経系に病変を形成することを明らかにした。更に シヌクレイン( $\alpha$ S)が神経軸索の遠位から起始し、より近位に進展しつつ最終的な細胞脱落に至るとい病変形成過程も明らかにした。この変化は特に心臓交感神経で早期から顕著で、臨床的に MIBG 心筋シンチグラフィの取り込み低下として捉えれば診断的価値が高く有用である。しかし神経細胞体に続く軸索と樹状突起は広範で、かつ観察手法も未確立なため、最早期の病理形態像の検討はこれまで困難であった。最早期像としての突起病変を剖検例で可視化し、更にその病理形態像と臨床像と対応させることで、病態を反映した特異的早期診断が可能になると着想し本研究を遂行した。

### 2. 研究の目的

レヴィ小体病の最早期病変を剖検例で明らかにし、その病理学的基盤を背景とした臨床診断の精度向上に貢献する。

パーキンソン病やレヴィ小体型認知症といったレヴィ小体病では、神経細胞でのレヴィ小体形成以前に $\alpha$ Sが軸索に沈着し、その局所三次元形態は病変の進展方向と密接に関連するとも予想される。本研究では軸索の遠位-近位の orientation が比較的明確な心筋内軸索での病変形成過程を解析し、病変進展の特徴を明らかにすることを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では神経疾患の臨床像と剖検病理像とを比較して、その背景となる病理形態学的基盤を解析することを基本とする。病理診断の確定期例を対象とし、臨床所見(生前臨床検査を含む)と病理形態像がどのように関連するのかを追跡する。ヒト剖検例に裏打ちされた臨床所見を解析できる点は、他の臨床研究にはない強みとなる。

解析手法として、標本全体を高解像度で俯瞰できる virtual slide を利用し、神経軸索の追跡法を導入した。加えて光学顕微鏡でとらえた病変を電子顕微鏡標本に作製し、直接比較する画期的な免疫電顕技術も開発した。これまでの解析方法では得られない視点から病態の追求を試みた。

### 4. 研究成果

**MIBG 取り込み低下の程度と心臓交感神経脱落の程度は定量的に相関する:** 日本全国から集積した剖検例 30 例において、生前の心筋への MIBG 取り込みと、病理学的な心臓交感神経脱落の程度とが定量的に相関することを世界に先駆けて示した(J Neurol Neurosurg Psychiatry 2015;86:939-44 平成 26 年日本神経学会学術総会で最優秀ポスター賞)。本研究成果等の成果により、MIBG 心筋シンチグラフィはパーキンソン病の国際臨床診断基準として採用されるに至った。

**Multifocal Lewy body disease の提唱:** ヒト脳の  $\alpha$ S 病変は軸索分岐の豊富な系に好発し、神経細胞内を軸索末端から細胞体へ向かって進展する点で一貫していることを明らかにした。こうした構造を背景に、レヴィ病変は単巢性(focal)にも多巢性(multifocal)にもおこるが、そのはじまる部位や進展方向は一定しないことを示した。これを Multifocal Lewy body disease という新たな概念として提唱し国際誌に総説として発表した(Acta Neuropathol 2016;131:49-73)。

**心筋内交感神経軸索最末端の検索:** 心筋内  $\alpha$ S や neurofilament の局在を高感度に網羅するために、厚切りパラフィン切片全体を virtual slide でとりこみ検討した。Neuro-filament 陽性の軸索は心筋内を一部追跡できたが、この中に  $\alpha$ S 陽性構造は乏しかった。

### 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 14 件)

\*Uchihara T, An order in Lewy body disorders-Retrograde degeneration in hyperbranching axons as a fundamental structural body disease, Neuropathology, 査読有, 37(2), 129-149, 2017 DOI:10.1111/neup.12348template accounting for focal/multifocal Lewy

\*Uchihara T, \*Giasson BI, Paulus W, Propagation of Abeta, tau and alpha-synuclein pathology between experimental models and human reality: prions, propagons and propaganda, Acta neuropathologica, 査読有, 131(1), 1-3, 2016, DOI:10.1007/s00401-015-1517-x

\*Uchihara T, \*Giasson BI, Propagation of alpha-synuclein pathology: hypotheses, discoveries, and yet unresolved questions from experimental and human brain studies, Acta neuropathologica, , 査読有, 131(1), 49-73, 2016 DOI: 10.1007/s00401-015-1485-1

\*Toru S, Uchihara T, 他 8 名, Kobayashi T, An autopsy case of dementia with Lewy bodies with vocal cord abductor paralysis, European neurology, 査読有, 74(3-4), 186-7, 2015, DOI:10.1159/000441448

Takahashi M, Ikemura M, Oka T, Uchihara T, 他 8 名, Quantitative correlation between cardiac MIBG uptake and remaining axons in the cardiac sympathetic nerve in Lewy body disease, Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry, 査読有, 86(9), 939-44, 2015, DOI: 10.1136/jnnp-2015-310686 (第 55 回日本神経学会学術大会最優秀ポスター賞)

内原俊記, パーキンソン病の始まりと拡がり. 細胞 The Cell, 査読無, 47(1): 2-4, DOI:(-)

文村優一, パーキンソン病の細胞病理と脳内外の拡がり. 細胞 The Cell, 査読無, 47(1): 5-8, DOI:(-)

\*Uchihara T, Yoshida M, Definition and differentials -How to distinguish disease-specific changes on microscopy-, Neuropathology, 査読有, 34(6), 554, 2014, DOI:10.1111/neup.12110

\*Kasahata N, Hagiwara M, Kato H, Nakamura A, Uchihara T, An 85-year old male with levodopa-responsive Parkinsonism followed by dementia and supranuclear ophthalmoplegia caused by Alzheimer pathology without Lewy bodies, J Alzheimers Dis, 査読有, 39(3), 471-6, 2014, DOI:10.3233/JAD-131508.

\*Kasahata N, 他 5 名, Uchihara T, How Progressive Supranuclear Palsy (PSP) is Mimicked and What is Mimicking PSP? PSP-like Features without PSP Cytopathology in Three Cases of Alzheimer's Disease/Parkinson's Disease, J Alzheimer Dis, 査読有, <http://www.j-alz.com/node/348>, 2014,

\*Homma T, 他 8 名, Uchihara T, Lateralized cortical involvement and contralateral parkinsonism without basal ganglia involvement in two autopsy cases of corticobasal syndrome-Alzheimer's disease, J Alzheimers Dis, 査読有, 40(1), 51-5, 2014, DOI:10.3233/JAD-131676

遠藤堅太郎, 他 5 名, \*内原俊記, 3D-oriented immunoelectron microscopy- Qdot を用いた蛍光顕微鏡像と分子局在の超微形態の直接比較, 病理と臨床, 査読無, 32(1), 97-102, 2014, <http://search.jamas.or.jp/link/ui/2014107905>

\*Nomoto N, Orimo S, Uchihara T, Takahashi K, Fujioka T, Lewy pathology in an autopsy case of FTL D-MND with reduced cardiac MIBG uptake and depletion of cardiac sympathetic fibers, Parkinsonism Relat Disord, 査読有 19, 472-3, 2013, DOI:0.1016/j.parkreldis.2012.10.011

Hara M, Hirokawa K, Kamei S, \*Uchihara T, Isoform transition from four-repeat to three-repeat tau underlies dendrosomatic and regional progression of neurofibrillary pathology. Acta neuropathologica, 査読有, 125(4), 565-79, 2013, DOI: 10.1007/s00401-013-1097-6

(学会発表) (計 16 件)

融衆太, 江橋桃子, 木脇祐子, 北川昌伸, 廣川勝彦, 内原俊記 (2016) 認知症の進行が緩徐で、特徴的精神症状に乏しかったレヴィ小体型認知症の 94 歳女性例 P2-C-09. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会, ホテルニューキャッスル(青森県・弘前市), 2016 年 6 月 3

日

笠畑尚喜, 萩原万里子, 加藤弘之, 内原俊記 (2016) l-dopa, dopamine agonist に反応性が乏しく、経過 4 年で死亡した Parkinson 病の 78 歳男性例 P-2-C06. 第 57 回日本神経病理学会総会学術研究会, ホテルニューキャッスル(青森県・弘前市), 2016 年 6 月 3 日

融衆太, 内原俊記, 齋藤和幸, 笹栗弘貴, 小林高義, 廣川勝彦, 北川昌伸, 横田隆徳 (2016) 当院における神経病理解剖 133 例の検討. 第 57 回日本神経学会学術研究会, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市), 2016 年 5 月 19 日

高橋 真, 内原俊記, 吉田眞理, 若林孝一, 柿田明美, 高橋 均, 融衆太, 小林高義, 織茂智之 (2016) 病理学的に確定されたレヴィ小体型認知症での心臓交感神経変性に影響する因子の検討. 第 57 回日本神経学会学術研究会, 神戸国際会議場(兵庫県・神戸市), 2016 年 5 月 18 日

Orimo S, Takahashi M, Uchihara T, Wakabayashi K, Kakita A, Yoshida M, et al. Quantitative correlation between cardiac meta-iodobenzylguanidine uptake and remaining axons of the cardiac sympathetic nerve in Lewy body disease. International Dementia with Lewy Bodies Conference, Fort Lauderdale (アメリカ合衆国), 2015 年 12 月 1-4 日: Am J Neurodegener Dis; 2015. p. 29.

網野猛志, 文村優一, 渡辺有希子, 横手裕明, 瀧和博, 櫻井うらら, 内原俊記, 鎌田智幸. 進行性核上性麻痺様症状で発症したびまん性レヴィ小体型病の 1 剖検例. 第 56 回日本神経病理学会総会学術研究会, 九州大学百年講堂(福岡県・福岡市), 2015 年 6 月 4 日

融衆太, 内原俊記, 大西威一郎, 北川昌伸, 廣川勝彦, 小林高義. Probable DLB の臨床診断基準を満たした PSP の 1 剖検例. 第 56 回日本神経病理学会総会学術研究会, 九州大学百年講堂(福岡県・福岡市), 2015 年 6 月 4 日

野本信篤, 黒田忠英, 中村綾子, 廣川勝彦, 内原俊記. DLB における皮質型レヴィ小体と老人斑に含まれるレヴィ小体の 3 次元構造. 第 56 回日本神経病理学会総会学術研究会, 九州大学百年講堂(福岡県・福岡市), 2015 年 6 月 4 日

Nomoto. N, Kuroda T, Nakamura A, Hirokawa K, Uchihara T. Three-dimensional study of cortical Lewy bodies and senile plaques. 第 56 回日本神経学会学術大会, 朱鷺メッセ(新潟県・新潟市), 2015 年 5 月 22 日

内原俊記, 植松未帆, 金澤俊郎, 中村綾子, 遠藤堅太郎, 市川眞澄, 土谷邦秋, 安達栄治

郎. 3D-oriented immuno EM 法で直接比較したピック小体とレヴィ突起の光顕と電顕像. 第 33 回日本認知症学会, パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市), 2014 年 12 月 1 日

Fumimura Y, Ichikawa M, Toru S, Kobayashi T, Hirokawa K, Orimo S, Mizusawa H, \*Uchihara T. Immunohistochemical study of the most distal axons of the cardiac sympathetic nerve. the XVIII th International Congress of Parkinson's disease and Movement Disorder, Stockholm, Sweden, June 8-12, 2014

文村優一, 市川忠, 融衆太, 小林高義, 廣川勝昱, 織茂智之, 水澤英洋, \*内原俊記. 心筋内軸索最末端に想定される  $\alpha$  シヌクレイン最早期病変の追跡. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 学術総合センター (一橋講堂) (東京都・千代田区), 2014 年 6 月 7 日

山田哲夫, 内原俊記, 融衆太, 竹本暁, 平井ゆり, 小林高義, 廣川勝昱, 北川昌伸. Lewy 病理が心臓交感神経のみに潜在していた筋緊張性ジストロフィの 1 剖検例. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 学術総合センター (一橋講堂) (東京都・千代田区), 2014 年 6 月 7 日

文村優一, 市川忠, 融衆太, 小林高義, 廣川勝, 織茂智之, 水澤英洋, \*内原俊記. 心筋内軸索末端に想定される  $\alpha$  シヌクレイン最早期病変の追跡 第 2 報. 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡国際センター (福岡県・福岡市), 2014 年 5 月 24 日

融衆太, 新宅洋, 斎藤和幸, 原誠, 内原俊記, 小林高義 (2014) パーキンソン病および関連疾患における声帯外転障害について. 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡国際センター (福岡県・福岡市), 2014 年 5 月 24 日

高橋真, 大塚十里, 吾妻玲欧, 北園久雄, 稲葉彰, \*織茂智之, 池村雅子, 岡輝明, 内原俊記, 若林孝一, 柿田明, 高橋均, 吉田眞理, 融衆太, 小林高義. 病理診断されたレヴィ小体病の心臓交感神経変性の程度と MIBG の集積の程度は相関する. 第 55 回日本神経学会学術大会, 福岡国際センター (福岡県・福岡市), 2014 年 5 月 24 日 (最優秀ポスター賞受賞)

(図書) (計 1 件)

Uchihara T. Histochemical staining of CNS tissue. Where, what and how is it? In: Cohen M, editor. Encyclopedia of the Neurological Sciences. 2. 2nd ed. ed. Oxford: Academic Press; 2014. p. 574-9.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

文村 優一 (FUMIMURA, Yuichi)

公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・研究員  
研究者番号: 30647243

(2) 研究分担者

内原 俊記 (UCHIHARA, Toshiki)  
公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・副参事研究員  
研究者番号: 10223570