

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 23 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2016

課題番号：15K19483

研究課題名(和文) 前頭側頭葉変性症の患者死後脳を用いた診断・病態マーカーの探索・同定

研究課題名(英文) Postmortem investigations on pathological and diagnostic biomarkers of frontotemporal lobar degeneration

研究代表者

陸 雄一 (Riku, Yuichi)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：50748382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：研究代表者らは、前頭側頭葉変性症患者の死後剖検脳を用いた大脳病変のマッピング、およびこれに基づく病態特異的診断バイオマーカーの提唱、および前頭側頭葉変性症における中枢神経病変、特に尾状核・被殻病変の細胞病理学的な病態解明をテーマに研究を行った。結果として、前頭側頭葉変性症においては、正常コントロールやアルツハイマー病に比べて、新線条体の障害が高度であることを明らかにした。とくにGABA作動性遠心ニューロンの障害が選択的に起こり、介在ニューロンは障害を免れることを証明した。そして、線条体遠心ニューロンの中でも、サブスタンスPを神経伝達物質とするニューロンが高度に障害されることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We analyzed pathological changes in the striatal efferent system of 59 consecutively autopsied patients with sporadic FTLD-TDP or ALS-TDP. The axon terminals of striatal efferent neurons were immunohistochemically assessed in the substantia nigra pars reticulata (SNr) and globus pallidus (GP). All of the FTLD-TDP patients exhibited a marked depletion of axon terminals, irrespective of disease duration. In particular, losses of substance-P-positive projections to the SNr and internal segment of GP were consistently severe. Similar findings were also observed in 69.0% of the ALS-TDP patients, although the severity was much less than that in the FTLD-TDP patients. The accumulation of phosphorylated TDP-43 was observed in the striatal efferent neurons, efferent tracts, or their axon terminals in the SNr and GP in both groups. Thus, striatal efferent projections are essentially and commonly involved in the TDP-43-related FTLD/ALS disease spectrum.

研究分野：神経病理学

キーワード：前頭側頭葉変性症 TDP-43 線条体 剖検脳

1. 研究開始当初の背景

(1) 本研究で扱う前頭側頭葉変性症は、アルツハイマー病に次いで頻度の高い認知症である。記憶力障害よりも、むしろ精神行動障害や言語障害といった特徴的な症状を呈する進行性の神経変性疾患である。アルツハイマー病に比べると、疾患概念の確立から歴史の浅い疾患であり、病態や病理学的所見に関しては科学的エビデンスが不足している。しかし、比較的若年者に発症しやすく、多彩で重篤な精神行動異常を来すことから、疾患の克服が重要視されている。

(2) 前頭側頭葉変性症は、前頭葉および側頭葉の神経変性をきたすことがよく知られている。具体的には、前頭側頭葉皮質の神経細胞の脱落や細胞内の異常タンパク凝集が観察される。しかし、これらの部位はほかの認知症疾患でも共通して障害される。したがって、前頭側頭葉変性症における特徴的な臨床症候の責任病巣については未知の部分が多い。

2. 研究の目的

(1) 前頭側頭葉変性症における線条体の病変を検討する。線条体は通常、運動制御の中核として知られるが、近年の研究では遂行機能、精神行動機能、言語の制御においても重要な役割を果たすことが知られている。前述のとおり、これらの機能は前頭側頭葉変性症において最も特異的に障害されるものである。

(2) 線条体には様々な機能を持った神経細胞がモザイク状に集合している。これらのうち、どのような機能を持った神経細胞が障害されやすいのか、あるいはそういった疾患特異性はないのか、について検証する。それにより、ルーチンの組織学的観察ではアプローチできなかった前頭側頭葉変性症患者の線条体の機能的障害について言及したい。

3. 研究の方法

(1) 前頭側頭葉変性症の中で最も主要なサ

ブタイプである、TDP - 43異常凝集を伴う症例に絞って検討した。解剖によって得られた、前頭側頭葉変性症患者のホルマリン固定脳組織をもちいた。対象は連続的に得られた30症例(女性13例、男性17例)。これらの検体はすべて、剖検に際し、個人情報の保護、および研究目的での保存について、遺族の同意を得た上で、愛知医科大学加齢医科学研究所ブレインバンクに提供されたものであり、研究目的での剖検サンプルの使用は愛知医科大学倫理委員会の認可を受けている。ホルマリン固定脳は、乳頭体の後方5mmをランドマークに8mmの厚さで冠状断し、必要部位を切り出して、パラフィン包埋した。実験には、尾状核頭、被殻、淡蒼球が観察可能な切片が用いられた。線条体の組織において、GABA作動性遠心系神経細胞を標識するカルシニューリン免疫組織化学(Goto S, et al. Ann Neurol, 2005)、GABA作動性介在神経細胞およびアセチルコリン作動性介在神経細胞をそれぞれ標識するカルレチニン免疫組織化学とコリンアセチルトランスフェラーゼ免疫組織化学を行った。さらにGABA作動性遠心系神経細胞のうち、中脳黒質と淡蒼球内節へ投射する神経細胞をサブスタンスP免疫組織化学で、淡蒼球外節へ投射する神経細胞をエンケファリン免疫組織化学で標識した(Reiner A, et al. Proc Natl Acad Sci, 1988)。

(2) 近年、TDP - 43異常凝集を伴う前頭側頭葉変性症と筋萎縮性側索硬化症は病態の共通する類縁疾患であることが示唆されている(Gaser F, Arch Neurol, 2007、Riku Y, JAMA Neurol, 2014) というのも、孤発性筋萎縮性側索硬化症患者の90%あまりにおいて、運動神経細胞にTDP - 43の異常凝集がみられるからである。さらに、

これらの疾患は高い頻度で合併するし、臨床的に認知症のない筋萎縮性側索硬化症患者でも、大脳に軽度の病理学的変化が見いだされることは少なくない。したがって、近年ではTDP-43異常凝集を伴う前頭側頭葉変性症と筋萎縮性側索硬化症とを、「TDP-43関連疾患」と一括して、連続的に扱うこともある。本研究ではこの視点に準拠し、(1)で述べた実験系を、筋萎縮性側索硬化症患者29例(女性12例、男性17例)の剖検脳においても検証した。

4. 研究成果

(1) 線条体遠心系神経細胞の脱落: 研究対象とした前頭側頭葉変性症の全症例で線条体のGABA作動性遠心系神経細胞の脱落を認めた。特に、尾状核において顕著な脱落が見られた。一方、臨床的に認知症を認めなかった筋萎縮性側索硬化症患者の約60%でも、軽度のGABA作動性遠心系神経細胞の脱落を認めた。線条体においてGABA作動性遠心系神経細胞は、もっとも主要な出力系である。その脱落は、直接的に線条体機能の障害に関係すると考えられた。また、同様の変化が、軽度ながら筋萎縮性側索硬化症患者の半数以上で認められるということは、これら二つの疾患の類縁性を支持する病理学的エビデンスと考えられた。古典的には、線条体は運動の制御にかかわる中継核であるとされてきた。実際、線条体の神経変性を呈する多系統萎縮症、皮質大脳基底核変性症、ハンチントン病といった疾患では、パーキンソニズムをはじめとする運動症状を前景に呈する。一方、過去に動物実験を用いた基礎的な実験では、線条体の障害がそれ単独で、遂行機能障害や精神障害を起こすことが報告されている(Crinion J, et al. Science, 2006, Han S, et al. J Neurosci, 2006)。また、健常人のデータでは、大脳が遂行機能を発動する際に、線条体の特に尾状核

が活性化することが報告されている。(Wan X, et al. Science, 2010) 尾状核の障害と運動機能障害を呈するハンチントン病でも、線条体の遠心系ニューロンの障害パターンと、精神症状の発現に相関があることが報告されている(Tippett LJ, et al. Brain, 2007)。こういった事実と我々の結果を総合すると、線条体、特に尾状核の遠心性ニューロンの脱落が、前頭側頭葉変性症の症状発現に大いに寄与していることが示唆された。

さらに、我々は線条体遠心系の障害が、いかなる神経回路に影響を及ぼすかも検討した。線条体遠心性神経細胞は、中脳黒質、および淡蒼球へ投射している。中脳黒質および淡蒼球内節への投射の軸索終末は、サブスタンスP免疫組織化学によって標識された。一方、淡蒼球外節への投射の軸索終末は、エンケファリン免疫組織化学によって標識された。結果としては、TDP-43関連前頭側頭葉変性症患者の全例で、サブスタンスP、およびエンケファリン陽性軸索終末の脱落を認めた。特に、サブスタンスPで標識される、中脳黒質や淡蒼球内節への投射が高度に障害されていた。同様の傾向は、認知機能障害を伴わない筋萎縮性側索硬化症患者でも、軽度ながら認めた。サブスタンスPは、末梢神経系においては痛覚神経の伝達物質としてよく知られている。一方、中枢神経系のサブスタンスPは、記憶や学習をはじめとする様々な認知機能に関係するとされている。記銘力障害を優位にきたすアルツハイマー病では、大脳皮質のサブスタンスPが減少しているという報告がある(Quigley BJ, Neuroscience, 1991)。過去に実験動物を用いた基礎的な実験でも、線条体のサブスタンスPレベルを低下させると、遂行機能や学習の障害、異常行動といった、前頭側頭葉変性症と共通する高次機能障害が出現することが報告されている(Yin

H, et al. Behav. Brain. Res, 2006, Kertes E, et al. Behav. Brain. Res, 2009)。こういった事実と、我々の結果を総合すると、線条体遠心系のうち、特にサブスタンスP作動性の黒質・淡蒼球内節への投射経路が障害されることが、前頭側頭葉変性症の症状発現にかかわっていると考えられた。

(2) 線条体介在神経細胞の検討：線条体には遠心性神経細胞のほか、介在神経細胞(インターニューロン)も存在する。これらは遠心系神経細胞と異なり、線条体の外へは軸索を伸ばさず、その機能はほとんど未知である。線条体介在神経細胞には、大きく分けてGABA作動性とアセチルコリン作動性とがある。それぞれをカルレチニン免疫組織化学と、コリンアセチルトランスフェラーゼ免疫組織化学で評価した。結果としては、いずれの介在神経細胞もその脱落は軽度であった。これは遠心性神経細胞とは対照的な結果であり、このことから、前頭側頭葉変性症の線条体病変は、遠心性神経細胞に疾患特異的な選択性があることが判明した。

(3) TDP-43異常凝集と線条体遠心性神経細胞の障害：共焦点レーザー顕微鏡を用いて、TDP-43異常凝集が、線条体遠心性神経細胞、およびその軸索終末にみられるかを検討した。結果としては、前頭側頭葉変性症の全例において、線条体遠心性神経細胞の細胞質に、リン酸化されたTDP-43の異常凝集を認めた。また過半数の症例で、線条体遠心性神経細胞の軸索終末にもTDP-43の異常凝集を認めた。TDP-43の凝集体には神経毒性があることが知られ(Wils H, et al. Proc Natl Acad Sci, 2010)このことから、TDP-43凝集の病態が、直接的に線条体遠心系を障害していることが示された。さらに、こうした所見は1例を除いて

すべて罹病期間2年以内に死亡した症例に限定されていた。このことは、病的なTDP-43タンパクの軸索内輸送が、疾患の比較的早期に起こることを示唆した。近年では、神経細胞質に凝集したタンパクが、軸索内を輸送され、軸索終末にいたり、さらに後シナプスの神経細胞に伝播していくという仮説が提唱されている(Braak H, et al. Nat Rev Neurol, 2013, Brettschneider J, Ann Neurol, 2013)。我々の実験では、線条体遠心性神経細胞の細胞質、軸索、軸索終末に連続的にTDP-43の異常凝集を確認した。剖検脳では、これが後シナプ的に伝播するかどうかは確認できないが、凝集タンパクの軸索輸送という点については、ある程度支持的な結果と考えられた。

(4) 本研究の限界：前頭側頭葉変性症には、行動異常を伴う前頭側頭型認知症、意味性認知症、進行性非流暢性失語という臨床的なサブタイプが存在する(Neary D, et al. Neurology, 1998)。これらの臨床的サブタイプと、線条体遠心系の障害にはある程度の相関があるものと予想したが、有意な結果は得られなかった。最大の原因は、我々の検討した症例は行動異常を伴う前頭側頭型認知症が圧倒的に多い一方で、意味性認知症の患者が少なかったことがあげられる。病理学的所見は、ノンパラメトリックな半定量値であるため、この点を追及するためには各臨床グループの症例数を増やしたデザインが必要と考えられた。

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 1 件)

Yuichi Riku, MD, Hirohisa Watanabe, MD, Mari Yoshida, MD, Maya Mimuro, MD, Yasushi Iwasaki, MD, Michihito Masuda, MD, Shinsuke Ishigaki, MD, Masahisa Katsuno,

MD, and Gen Sobue, MD. Marked Involvement of the Striatal Efferent System in TAR DNA-Binding Protein 43 kDa-Related Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis. J Neuropathol Exp Neurol (2016) 75 (8): 801-811. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

陸 雄一、吉田 眞理、渡辺 宏久、三室 マヤ、岩崎 靖、勝野 雅央、祖父江 元 第 56 回日本神経病理学会総会、2015 年 6 月 4 ~ 5 日、九州大学医学部百年 講堂(福岡県福岡市): 皮質 - 線条体系は TDP - 43 に関連した前頭側頭葉変性症において系統的に障害される

〔図書〕(計 1 件)

陸 雄一 他、医学書院、東京、認知症の病態理解(チャプター: 前頭側頭葉変性症)2017 (印刷中)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

陸 雄一 (RIKU, Yuichi)

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号 : 50748382