

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：24701  
研究種目：基盤研究(C)（一般）  
研究期間：2016～2019  
課題番号：16K09729  
研究課題名（和文）紀伊ALS/PDCのタウイメージング

研究課題名（英文）Tau imaging in Kii ALS/PDC

研究代表者

中山 宜昭（Nakayama, Yoshiaki）

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50590436

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,700,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、タウイメージングであるTHK-5351 PETを用いて、紀伊ALS/PDCの生前診断法を開発することを目的とした。臨床的に紀伊ALSと疑われる患者を対象にTHK-5351 PETを施行したが、残念ながら紀伊ALSに特徴的なタウ沈着を可視化することはできなかった。しかしながら、一般のALS患者を対象としたTHK-5351 PET検査において、中心前回におけるastrocytosisを可視化することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ALSは根本的治療法のない重篤な疾患であり、新たな治療法が開発が切望されている。治療法開発のためには質の高い臨床研究を行わなければならないが、そのためには前提として、極めて精度の高い診断を行えること、治療効果を客観的に評価できることが必要となる。これまで、ALSで生じる上位運動ニューロンの変性は神経学的診察によって捉えられていたが、これを個々の症例レベルで他覚的・定量的に評価する手法の開発が以前より求められていた。今回の研究結果からはTHK-5351 PETがそのニーズに応える手法となりうる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to establish ante-mortem diagnosis method of Kii ALS / PDC using THK-5351 PET, which is one of tau imaging. THK-5351 PET studies were performed to patients with clinically diagnosed Kii ALS, but unfortunately they failed to visualize the disease-specific tau depositions. However, we succeeded to visualize the astrocytosis in the precentral gyrus of the classic ALS patients using THK-5351 PET.

研究分野：神経内科学

キーワード：紀伊ALS/PDC ALS タウイメージング THK-5351

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

本学が位置する紀伊半島には、紀伊 ALS (amyotrophic lateral sclerosis) / PDC (parkinsonism-dementia complex)と呼ばれる世界的にも希少な特異疾患が存在する。本疾患は TAR DNA-binding protein of 43 kDa (TDP-43)プロテインノパチーである通常の ALS とは異なり、中枢神経において TDP-43 に加え、タウ、 $\alpha$ -シヌクレインが蓄積する multiple proteinopathy である(1)。本疾患の病態を解明することは ALS のみならず、タウや  $\alpha$ -シヌクレインなどが蓄積する各種神経変性疾患の治療法開発につながるものと予想され、学問的価値が高いと考えられる。しかしながら、これまで紀伊 ALS/PDC を診断するためには剖検による神経病理学的検索が必要であり、同疾患の研究を行う上での足枷となっていた。

#### 2. 研究の目的

本研究は、タウイメージング ( $^{18}\text{F}$  THK-5351 PET)を用いて、紀伊 ALS/PDC を生前に診断する方法を開発することを目的とした。これにより紀伊 ALS/PDC の生前診断が可能となれば、同疾患の臨床診断の精度が向上すると考えられ、さらにこれまで剖検をされなかったが故に診断をされていなかった紀伊 ALS/PDC 症例の抽出も可能になる。この結果、より精度の高い疫学的研究や遺伝学的解析が可能となり、それが本疾患の病態解明に寄与するものと考えられた。

#### 3. 研究の方法

##### (1) 紀伊 ALS 病理検体を用いたチオフラビン S 染色

紀伊 ALS の海馬・海馬傍回切片に対してチオフラビン S 染色を施行し、紀伊 ALS で認められる神経原線維変化が THK-5351 で検出可能なシート構造を有するかを検討した。

##### (2) 紀伊 ALS 病理検体を用いた THK-5351 in vitro autoradiography

紀伊 ALS の海馬・海馬傍回切片を用いて  $^3\text{H}$  THK-5351 in vitro autoradiography を施行した。切片を 3nM の  $^3\text{H}$  THK-5351 と反応させ、control として同時にもう 1 枚の切片を 3nM の  $^3\text{H}$  THK-5351 + 3  $\mu\text{M}$  の非標識 THK-5351 と反応させた(タウ陽性構造物と THK-5351 とが特異的に結合して生じるシグナルはこの条件下では抑制される)。これにより、紀伊 ALS において認められる神経原線維変化が THK-5351 にて検出できるかを検討した。

##### (3) ALS 症例の THK-5351 脳 PET

紀南地方出身で、臨床的に紀伊 ALS が疑われる症例 2 例、紀南地方以外の和歌山県出身および大阪府出身で臨床的には通常の ALS と考えられる症例 3 例、さらに頸椎症性筋萎縮症と考えられる 1 例の合計 6 例を対象として、 $^{18}\text{F}$  FDG 脳 PET,  $^{11}\text{C}$  PiB 脳 PET,  $^{18}\text{F}$  THK-5351 脳 PET を施行した。全例に通常の神経学的診察に加えて、mini-mental state examination, Japanese version of Montreal cognitive assessment, frontal assessment battery などの神経心理学的検索を施行した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 紀伊 ALS 病理検体を用いたチオフラビン S 染色

紀伊 ALS の海馬、海馬傍回に認められる神経原線維変化はチオフラビン S 陽性であった。このため、同構造物は THK-5351 に結合する可能性が高いと考えられた。

##### (2) 紀伊 ALS 病理検体を用いた THK-5351 in vitro autoradiography

紀伊 ALS の海馬・海馬傍回切片に対して THK-5351 in vitro autoradiography を施行したところ、海馬傍回における  $^3\text{H}$  THK5351 の集積が認められたが、そのシグナルはアルツハイマー病脳、海馬傍回で認められるものと比べて、極めて軽微なものであった。シグナルが弱いものであった理由として、アルツハイマー病脳と比較し、紀伊 ALS においてはチオフラビン S 陽性となる神経原線維変化およびニューロピルスレッドの量が少ないことが考えられた。紀伊 ALS 剖検脳において認められる神経原線維変化やニューロピルスレッドがアルツハイマー病脳と比較して少ないことは以前にも報告されており(2)、この結果からは、紀伊 ALS においては神経原線維変化の出現量が相当に多い症例でない、in vivo の THK-5351 PET により脳内のタウ沈着を検出することは難しいと考えられた。

##### (3) ALS 症例の THK-5351 脳 PET

紀南地方出身で、臨床的に紀伊 ALS が疑われる症例 2 例と、紀南地方以外の和歌山県出身および大阪府出身で臨床的には通常の ALS と考えられる症例 3 例の THK-5351 脳 PET を比較した。紀伊 ALS においては側頭葉、辺縁系、前頭葉などにおけるタウ沈着が特徴的とされており、これらの部位における THK-5351 集積を比較した。紀伊 ALS 疑い症例において側頭葉内側に THK-5351 集積を認めたが、残念ながらその程度は通常の ALS 例と同等であり、個々の症例レベルでの差を検出することはできなかった。考えられる理由としては、紀伊 ALS におけるタウ集積が少量であ

るため THK-5351 PET では感度が不十分で検出できなかった可能性、臨床的に紀伊 ALS 疑いと診断した症例が実際は非紀伊 ALS であった可能性などが考えられた。今回 PET 検査を施行できた紀伊 ALS 症例の数が少なく、今後症例数を増やし検討を重ねることが重要と考えられた。

一方で、通常の ALS と考えられる 3 例に THK-5351 脳 PET を施行したところ、予期せず中心前回における THK-5351 の集積を認めた ( 図 1 )。これらの症例はいずれも PiB 脳 PET 陰性であり、アルツハイマー病の合併は否定的と考えられた。

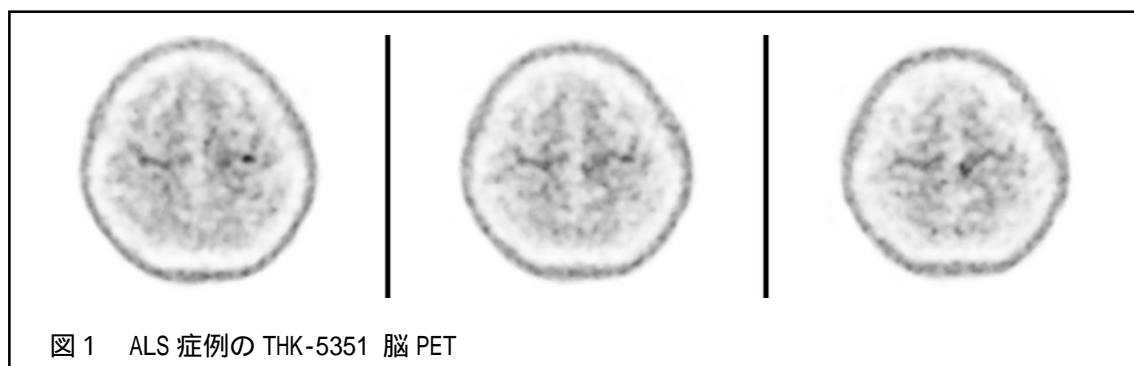


図 1 ALS 症例の THK-5351 脳 PET

THK-5351 は当初タウのトレーサーとして開発されたが、本研究を遂行している期間中に、MAO-B への結合性を有すること、またそれにより THK-5351 脳 PET では MAO-B を多く含有するアストロサイトーシス部位が描出されることが明らかとなった(3)。今回我々の得た結果も、ALS における中心前回のアストロサイトーシスを検出したものであると考えられた。

ALS は上位運動ニューロンと下位運動ニューロンの変性によって特徴付けられる疾患であるが、これまで個々の症例レベルで上位運動ニューロン変性を証明する検査法は確立されておらず、その証明は主に神経学的診察によっていた。このため、脊椎疾患や脳虚血性変化など神経学的に上位運動ニューロン障害所見を呈する疾患を合併している症例においては、ALS の診断に難渋する場合があります。診断・適切な治療介入の遅れにつながるおそれがあった。また治療法開発の面においても、より厳密な診断を可能にするためや、変性の進行および治療介入の効果を客観的にとらえるために、個々の症例レベルにおいて上位運動ニューロンの変性を証明・定量化する手法の開発が望まれていた。本検査は、将来的にこれらのニーズに応えることができる可能性を有していると考えられた。現在、本研究結果について論文を執筆中である。

#### ( 4 ) 孤発性 ALS における TDP-43 陽性神経細胞質内封入体に対するリニアポリコピキチン化

我々は、ALS 症例の病理検体を用いて実験を進めている過程で、偶発的に、孤発性 ALS で認められる TDP-43 陽性神経細胞質内封入体がりニアポリコピキチン化されていることを見出した。リニアポリコピキチン分子は、K48 結合ポリコピキチン化によって誘導されるユビキチン-プロテアソーム系を介した異常凝集タンパク質分解が不完全であると、補完的なオートファジーによるタンパク質分解を誘導するべく生じているのではないかと想定された。また神経細胞質内封入体におけるリニアポリコピキチン分子の病的な蓄積は、tumor necrosis factor receptor complex II 形成を介した神経細胞死の加速を引き起こしうるため、同分子の蓄積が孤発性 ALS の神経細胞死に関与している可能性が想定された。この知見は ALS の病態の一端を解き明かすものであり、将来的にはその治療法開発の糸口となる可能性を有している。本研究結果は Journal of Neuropathology and Experimental Neurology 誌に報告した。

#### < 引用文献 >

1. Mimuro M, Yoshida M, Kuzuhara S, et al. Amyotrophic lateral sclerosis and parkinsonism-dementia complex of the Hohara focus of the Kii Peninsula: A multiple proteinopathy? Neuropathology. 2018;38:98-107.
2. Wakayama I, Kihira T, Yoshida S, et al. Rare Neuropil Threads in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Parkinsonism-Dementia on Guam and in the Kii Peninsula of Japan. Dement Geriatr Cogn Disord. 1993;4:75-80.
3. Harada R, Ishiki A, Kai H, et al. Correlations of 18 F-THK5351 PET with Postmortem Burden of Tau and Astroglialosis in Alzheimer Disease. J Nucl Med. 2018;59:671-4.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nakayama Yoshiaki, Tsuji Kazumi, Ayaki Takashi, Mori Megumi, Tokunaga Fuminori, Ito Hidefumi	4. 巻 79
2. 論文標題 Linear Polyubiquitin Chain Modification of TDP-43-Positive Neuronal Cytoplasmic Inclusions in Amyotrophic Lateral Sclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neuropathology & Experimental Neurology	6. 最初と最後の頁 256 ~ 265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnen/nlz135	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakayama Yoshiaki, Sakamoto Shinji, Tsuji Kazumi, Ayaki Takashi, Tokunaga Fuminori, Ito Hidefumi	4. 巻 703
2. 論文標題 Identification of linear polyubiquitin chain immunoreactivity in tau pathology of Alzheimer ' s disease	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neuroscience Letters	6. 最初と最後の頁 53 ~ 57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neulet.2019.03.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計8件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Yoshiaki Nakayama, Kazumi Tsuji, Takashi Ayaki, Hidefumi Ito
2. 発表標題 A subset of ubiquitin-positive pathologic structures in the brain of Alzheimer ' s disease patients also show linear ubiquitin chain immunoreactivity
3. 学会等名 The XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazumi Tsuji, Yoshiaki Nakayama, Takashi Ayaki, Masaya Hironishi, Hidefumi Ito
2. 発表標題 Comparative immunohistochemical study on the past and the recent Kii amyotrophic lateral sclerosis patients
3. 学会等名 The XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Masaya Hironishi, Yoshiaki Nakayama, Tameko Kihira, Sohei Yoshida, Hidefumi Ito
2. 発表標題 Updated epidemiological assessment of amyotrophic lateral sclerosis in Wakayama prefecture, Japan, using data from the Japanese specified disease treatment research program
3. 学会等名 The XXIII World Congress of Neurology (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshiaki Nakayama, Kazumi Tsuji, Takashi Ayaki, Hidefumi Ito
2. 発表標題 Linear polyubiquitination occurs following K48-linked polyubiquitination in Alzheimer's disease
3. 学会等名 19th International Congress of Neuropathology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazumi Tsuji, Yoshiaki Nakayama, Takashi Ayaki, Masaya Hironishi, Hidefumi Ito
2. 発表標題 Immunohistochemical comparison of past and present patients with Kii amyotrophic lateral sclerosis
3. 学会等名 19th International Congress of Neuropathology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中山宜昭, 辻郁在, 綾木孝, 伊東秀文
2. 発表標題 Linear polyubiquitination occurs later than K48-linked polyubiquitination in Alzheimer's disease
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 廣西昌也, 中山宜昭, 辻郁在, 石口宏, 紀平為子, 吉田宗平, 伊東秀文
2. 発表標題 紀伊ALS/PDC多発地域における認知症有病率
3. 学会等名 第59回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 中山宜昭, 坂本信二, 辻郁在, 綾木孝, 徳永文稔, 伊東秀文
2. 発表標題 アルツハイマー病脳におけるlinear polyubiquitin鎖の局在
3. 学会等名 第60回日本神経病理学会総会学術研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊東 秀文  (Ito Hidefumi)  (20250061)	和歌山県立医科大学・医学部・教授   (24701)	
研究分担者	廣西 昌也  (Hironishi Masaya)  (80316116)	和歌山県立医科大学・医学部・教授   (24701)	