

令和元年6月5日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15637

研究課題名(和文) コンフォメーション異常 シヌクレインに着目したレヴィ小体病の臨床病理学的検討

研究課題名(英文) A clinicopathological study on Lewy body disease with a focus on protease-resistant alpha-synuclein.

研究代表者

池村 雅子 (Ikemura, Masako)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・講師

研究者番号：80524553

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：早期レヴィ小体病剖検例を用い、全身臓器においても、抗リン酸化 シヌクレイン抗体よりもプロテアーゼ処理非リン酸化 シヌクレイン抗体の方が、感度高く異常 シヌクレインの検出がある事、また心臓に病変が強調されるレヴィ小体病が存在する事を明らかにした。そのため連続剖検例の心臓及び延髄におけるプロテアーゼ耐性 シヌクレインの沈着を検討した。結果、非開頭のため神経変性疾患を念頭におかず検討された症例の中にも、心臓に高度なレヴィ病変を伴う症例が存在する事が明らかとなり、中には、生前に不整脈を伴っていた症例もみられた。臨床症状とレヴィ小体病理との関係について、さらに症例数を増やし、検討を続けていく予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中枢神経系及び末梢神経系において、より感度高く異常 シヌクレインの沈着の検索が行えること、また末梢神経における異常 シヌクレイン沈着の頻度や心臓に病変が強調されるレヴィ小体病が存在することを明らかにした。レヴィ小体病の発症機構の解明や早期診断法の確立に寄与すると思われる。

研究成果の概要(英文)：This study examined a brain autopsy case with early-stage Lewy body disease. It was revealed that the protease-treated non-phosphorylated alpha-synuclein antibody was more sensitive in detecting abnormal alpha-synuclein than the anti-phosphorylated alpha-synuclein antibody. Moreover, the case had Lewy bodies which were underscored by lesions in the heart. Thus, we examined aggregation of protease-resistant alpha-synuclein, in the heart and medulla oblongata of consecutive autopsy cases. As a result, even amongst non-brain autopsy cases that were examined without considering degenerative neurological disorders, there were some with advanced Lewy bodies. There were some cases that suffered arrhythmia when alive. We will continue to investigate its relationship with clinical symptoms.

研究分野：病理学

キーワード：シヌクレイン レヴィ小体病 心臓

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

病理学的にレヴィ小体の出現を認める疾患群はレヴィ小体病と総称され、パーキンソン病、レヴィ小体型認知症、レヴィ小体を伴う純粋自律神経不全症が含まれる。これまで、レヴィ小体病に関する神経病理学的興味は、脳に集中する傾向にあったが、免疫組織化学的手法により容易にレヴィ小体病変が検索可能になった事やレヴィ小体病変が末梢神経から始まる可能性が示された事で末梢神経系における病理にも注目が集まるようになった。これまで申請者らは、連続開頭剖検例を対象として、末梢神経系におけるレヴィ小体病変の解析に取り組んできた。結果、レヴィ小体病では高率に末梢神経系にも病変が及んでいる事や、中には、中枢神経系よりも末梢神経系優位にレヴィ小体病変が広がっている一群が存在する事を明らかにした。また、これまでレヴィ小体病変の可視化はリン酸化 シヌクレインに対する抗体を用いる事が一般的であったが、プロテアーゼ処理下抗 シヌクレイン抗体による皮膚レヴィ小体病の検索を試み、より感度よく異常シヌクレイン沈着の検出を行う事に成功した。リン酸化シヌクレインよりもコンフォメーション異常をおこしたシヌクレインの沈着がより広範囲に及んでいる事を示しており、より早期病変の描出が可能になった事と考えられる。この異常 シヌクレイン検出法を皮膚以外に応用することで、レヴィ小体病変の分布・広がり新たな知見が得られ、より症状の責任病変と考えられる病理変化が明らかになると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、コンフォメーション異常を示す シヌクレインの沈着に着目し、レヴィ小体病の中核・末梢神経系の病理学的特徴を明らかにすることを目的とする。従来レヴィ小体病の病理学的検索はリン酸化 シヌクレインの沈着に重点が置かれてきた。しかしこれまでの検討で、申請者らはプロテアーゼ耐性 シヌクレインがより早期に、また高率にレヴィ小体病の皮膚に沈着していることを明らかにした。同様の検討を中枢および他の末梢神経に応用することにより、より詳細な病理学的検討が可能となる。また、本邦では、病理解剖の開頭率は低く、生前中枢神経に異常が指摘されていない場合、脳解剖は行われない事が多い。当然ながら、脳解剖のない症例では、神経変性疾患を念頭においた全身病理の検索は行われないため、末梢優位のレヴィ小体病は認識される事はないと思われる。本研究では、通常の病理学的検討あるいは中枢神経系のみ注目したレヴィ小体病の検索では見出す事のできない一群を見出すことを目的とする。

3. 研究の方法

1) 初期レヴィ小体病の検討

東京大学医学部付属病院で行われた開頭剖検例を対象とした。2011年～2017年に行われた64歳以上の開頭剖検例の中から、延髄または扁桃核に抗リン酸化 シヌクレイン抗体陽性像が偶発的に認められる、初期のレヴィ小体病を抽出した。抽出した症例の、心臓、副腎、腸管、扁桃核、延髄に対し、二種類の抗体を用いて、異常 シヌクレインの沈着を検討した。用いた抗体は、抗リン酸化 シヌクレイン抗体 (psyn#64; Wako, Osaka, Japan) 及び抗非リン酸化 シヌクレイン抗体 (LB509; Funakoshi, Tokyo, Japan) である。それぞれの臓器において、陽性像の有無、陽性像の特徴、二種類の抗体の比較を行った。

2) 末梢優位のレヴィ小体病

上記の初期レヴィ小体病の検討の結果、心臓に強調される一群の存在が示唆されたこと、また一般臓器の中で異常 シヌクレインの沈着率が高かったことから、心臓をスクリーニングの部位とした。東京大学医学部付属病院で行われた連続剖検例を対象とした。2013年～2017年に行われた50歳以上の剖検例(生前の臨床診断がレヴィ小体病である症例を含む)を用い、非開頭剖検例では心臓のみ、開頭剖検例では心臓及び延髄に対し、1)と同様の二種類の シヌクレイン抗体を用いて、異常 シヌクレインの検討を行った。心臓に比較的高度なレヴィ小体病理を認めた症例について、臨床的に特徴がないか、心疾患の有無について後方視的に電子カルテの記載を確認した。

4. 研究成果

1) 初期レヴィ小体病の検討

64歳以上の開頭剖検例(60例)のうち、9例において扁桃核及び/あるいは扁桃核にリン酸化シヌクレインの沈着が認められた。

抗リン酸化 シヌクレイン抗体と、プロテアーゼ耐性抗非リン酸化 シヌクレイン抗体の陽性像の違い

中枢神経系においても末梢神経系においても、プロテアーゼ耐性 シヌクレインの方がリン酸化シヌクレインの沈着よりも多く認められた。

異常 シヌクレインの全身臓器への沈着の分布について

HE染色でも認識可能なレヴィ小体病理をScore 2、HE染色では認識できないレヴィ小体病理をScore 1として各全身臓器への異常 シヌクレインの沈着を示すと表1ようになる。

9例中6例において心臓にレヴィ小体病理を認めた。そのうち2例では、中枢神経系では僅かに

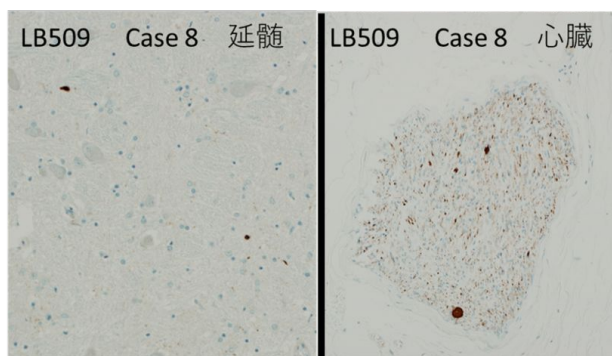
Lewy dot や Lewy neurites を認めるのみであるのに対し (score 1) 心臓では多くの神経束にレヴィ小体を含めた異常シヌクレインの沈着がみられ (score 2) 心臓のほうが中枢神経系よりも異常シヌクレインの沈着が強かった (図 1)。心臓にレヴィ小体病理のみられなかった 3 例はいずれも延髄よりも扁桃核にレヴィ小体病理が多く認められる傾向があった。

表1 初期レヴィ小体病における異常αシヌクレインの沈着

	年齢・性別	延髄	扁桃核	心臓	副腎	腸管
Case1	75M	1	0	2	2	2
Case2	86M	2	2	2	0	0
Case3	83M	1	2	0	0	0
Case4	87F	1	2	0	1	n.d.
Case5	75M	1	n.d.	2	0	0
Case6	74M	0	1	0	0	n.d.
Case7	79M	2	n.d.	2	1	0
Case8	74F	1	0	2	0	0
Case9	67M	2	2	2	1	1

以上より、既に検討済みの皮膚だけでなく、中枢神経系や心臓などの全身臓器においても、プロテアーゼ処理 シヌクレインの沈着の方がリン酸化 シヌクレインの沈着よりも高度であり、コンフォメーション異常がリン酸化よりも早く起こっている可能性が示唆された。心臓はレヴィ小体病の初期から侵される臓器であり、心臓に病変が強調されるレヴィ小体病の一群が存在する可能性が示唆された。レヴィ小体病理は腸管から始まるという説があるが、今回の検討では、腸管にレヴィ病理があまりみられなかった。腸管全体を評価することが難しいことが、陽性率の低さにつながっている可能性がある。

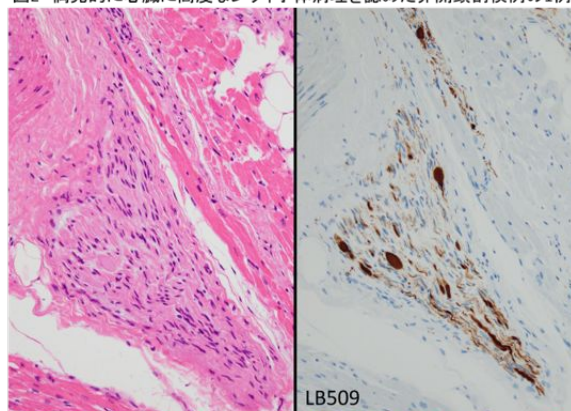
図1 Case8 延髄と心臓における異常αシヌクレインの沈着



2) 末梢優位のレヴィ小体病に関する検討 非開頭剖検例を含めた連続開頭剖検におけるレヴィ小体病理

2013年4月～2017年までの50歳以上の解剖例 (平均 71.3 歳) のうち評価可能なものは 192 例であった。192 例のうち、開頭剖検例は 84 例である。192 例中、心臓・延髄の両方あるいはどちらかに異常 シヌクレインの沈着を認めた例は 47 例 (24.5%) であった。開頭剖検例 84 例の中では、30 例に異常 シヌクレインの沈着がみられたが、このうち 11 例は延髄のみ、1 例は心臓のみの沈着であった。非開頭剖検例 108 例の中には、心臓に異常 シヌクレインの沈着を認めたのは 17 例 (15.7%) であり、HE 染色でも認識可能なレヴィ小体を含む強い陽性像を示すものもあった (図 2)。17 例のうち生前レヴィ小体病が疑われた症例は 1 例のみであり、非開頭剖検例にも比較的多くのレヴィ小体病が埋もれていることが明らかとなった。開頭剖検例の中で、中枢神経系よりもレヴィ小体病理が強いものは、1) で明らかとなった 2 例のほか、心臓にのみレヴィ小体病理のみられた 1 例を加えた 3 例であった。

図2 偶発的に心臓に高度なレヴィ小体病理を認めた非開頭剖検例の1例



心臓に病変の強いレヴィ小体病と臨床症状

心臓にレヴィ小体病を含む異常 シヌクレインの沈着が比較的高度に認められる症例 12 例のうち、臨床経過中に心房細動の記載がみられたものは 2 例あった。

高齢者ブレインバンクの連続開頭剖検例 1241 例 (平均年齢 80.6 歳) を用いた Saito らの検討では、20.5% の症例において中枢神経系にレヴィ小体病理が認められ、そのうち、22.8% が臨床的に症状を示していた。今回の検討では、平均年齢が高齢者ブレインバンクよりも低いため、陽性率も低くなるものと思われたが、より高い陽性率が得られたのは、より早期の病変をプロテアーゼ処理抗 シヌクレイン抗体によって視覚化できたためである可能性がある。開頭剖検例の中には臨床的にレヴィ小体病がもともと疑われており、その検索のために病理解剖となった症例が複数例存在するため非開頭剖検例と比較して異常 シヌクレインの検出率が高いのは当然であるが、若干開頭剖検例と比較すると低くなるものの、15.7% もレヴィ小体病が確認された。中には比較的高度な病変がみられるものもあり、その中には生前不整脈を伴っていた症例もあった。症例数が少なく、異常 シヌクレインの沈着と臨床症状との関係は不明であるが、不整脈の原因の一つである可能性は否定できず興味深い。パーキンソン病では、突然死の発症率が優位に高い事が知られており、この点でも心自律神経症状が重要視されている。さらに症

例数を増やして、臨床症状との関係などにつき、検討をつづけていく予定である。

参考文献

- Analysis of the adrenal gland is useful for evaluating pathology of the peripheral autonomic nervous system in Lewy body disease. Fumimura Y, Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Ito G, Iwatsubo T, Fukayama M, Mizusawa H, Murayama S. J Neuropathol Exp Neurol. 2007 May;66(5):354-62.
- Lewy body pathology involves cutaneous nerves. Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Ito G, Iwatsubo T, Fukayama M, Murayama S. J Neuropathol Exp Neurol. 2008 Oct;67(10):945-53.
- Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging.
Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, Ari T, Kazama H, Hosoi T, Yamanouchi H Murayama S. Journal of Neuropathology & Experimental Neurology, Vol.63 (7), p.742-749, 2004

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 第 107 回日本病理学会 偶発性 Lewy 小体病 (初期 Lewy 小体病) における異常 シヌクレインの全身臓器への沈着の検討 2018 年 池村雅子、深山正久
2. 19th International Congress of Neuropathology. Accumulation protease-resistant alpha-synuclein in the skin. Masako Ikemura, Yuko Saito, Masashi Fukayama, Shigeo Murayama. 2018.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕該当なし

6 . 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。