

平成 22 年 2 月 6 日現在

研究種目：基盤研究 (C)
 研究期間：2007 年度 ～ 2008 年度
 課題番号：19500311
 研究課題名 (和文) ゲルストマン-ストロイスラー症候群における異常プリオン蛋白沈着のメカニズム
 研究課題名 (英文) Pathologic basis of abnormal PrP accumulation in Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease
 研究代表者
 高尾 昌樹
 (財) 脳血管研究所・講師
 研究者番号：50245487

研究成果の概要：ヒトプリオン病の一つであるゲルストマン-ストロイスラー症候群 (GSS) A117V 例の神経病理学的検討を行った。多数のコアを有するものと、円形かつびまん性にプリオン抗体陽性を呈する 2 種類の斑を認めた。コア周囲の PrP 沈着はすべての PrP 抗体で認識されたが、コアは 90-102, 109-122 に対する抗体で強く認識された。A117V における PrP は N 末, C 末ともに切断されているが、斑によって構成する PrP の性状が異なる可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2008 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計			

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：神経科学・神経解剖学、神経病理学

キーワード：

(1) プリオン, (2) Gerstmann-Sträussler-Scheinker 病, (3) GSS, (4) 神経病理, (5) アミロイド, (6)

1. 研究開始当初の背景

Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) は常染色体優性遺伝を呈する疾患で、臨床的には認知障害、小脳失調、錐体外路徴候、錐体路徴候を認める。GSS はプリオン蛋白遺伝子 (PRNP) の病的変異により生じ、現在までに P102L, P105L, A117V, G131V, A133V, R136S, H187R, F198S, D202N, Q212P, Q217R, M232T の変異が報告されている。そのなかでも、特

に GSSA117V に関しては、最初に報告されたのはフランス、アルザス地方の家系を嚆矢として、7 家系が世界的に報告されている。その後、この家系はイギリス、アイルランド、ハンガリー、米国で報告された。興味深いことには、この A117V 変異を有する GSS でも、他の GSS と同様に、家系間、あるいは同一家系内においても個々の症例の臨床表現形の違いが指摘されている。

一方、神経病理学的な特徴として、GSS には、異常 (不溶性) プリオン蛋白 (PrP^{Sc}) 沈

着からなるプラークが主体となるが、それを構成する PrP 蛋白に関しては明らかにされているとは言えない。

2. 研究の目的

本研究の当初の目的は GSS 全般にわたり、その主たる神経病理学的所見であるプラークを構成する PrP の性状を明らかにすることであったが、検討する過程で、最終的には、特徴的かつ特異的な病理所見を有する A117V 変異を有する症例に関して、PrP^{sc} の組織学的特性を検討した。

3. 研究の方法

当初は、各種遺伝子変異を有する GSS について検討するべく準備をすすめてきたが、最終的にプラークの特異な性状などを考慮し、背景にも記したように、GSSA117V を検討することとした。

方法は、神経病理学的に検索できた、GSSA117V 8 例に関して以下の方法で組織学的検索を施行した。

原則として、右半球は凍結保存されているために、左半球からの検索である。Superior frontal gyrus, cingulate gyrus, middle temporal gyrus, parietal cortex, insular cortex, occipital cortex, amygdala, hippocampus, subiculum, parahippocampus gyrus, caudate nucleus, putamen, globus pallidus, thalamus, midbrain, pons and medulla の各レベルを、ホルマリン固定後に型どおり切り出し、8 ミクロンの切片を作成した。その後、それらを hematoxylin and eosin (HE), Periodic Acid Schiff (PAS), thioflavin S method, Heidenhain-Woelcke for myelin as well as Bodian silver staining for fibrils で通常染色を施行した。免疫染色としては、amyloid A β , tau, glial fibrillary acidic protein (GFAP), α -synuclein に対する抗体を用いて、スクリーニングを施行するとともに、PrP^{sc} 免疫染色として、モノクローナル抗体である 3F4 を用いた。3F4 抗体は、プリオン蛋白の 109-122 を認識するとされている。さらに、一部の切片においては、90-102, 95-108, 151-165, 220-231 をそれぞれ認識するポリクローナル抗体（インディアナ大学 Bernardino Ghetti 教授による）を用いて組織学的に検討した。

4. 研究成果

まず、組織学的に特徴的な点は、多数の PrP 陽性のプラークは、中心にアミロイドコアと周囲に非アミロイド性の沈着（ここではびまん性沈着とする）を認めることである。それ

らは、前頭葉、側頭葉や頭頂葉に多く、後頭葉には少ない傾向にあった。さらに個々の皮質で検討すると、第2層、3層、5層に多い傾向にあった。アミロイドプラークは、ひとつあるいは多数のアミロイドコアからなり、PASやBodian染色で容易に同定できるものであった（図1）。

免疫組織化学では、それらプラークのコアと周囲は、3F4 抗体（PrP 109-112 を認識）で、きわめて強く染色される（図2）。さらにコアの周囲は、GFAP 陽性のアストロサイトで囲まれる。一見すると、アルツハイマー病の老人斑にも類似するプラークは、A β に対する抗体や、tau に対する抗体で認識されない。

一方、PrP 陽性のアミロイドコアだけからなり、周囲にびまん性沈着を伴わない場合も認められた。

アミロイドコアを有さない、びまん性の PrP 沈着（PAS 染色など、通常染色では同定が困難）は、大脳皮質にしばしば認められた（図3）。特に、subiculum から parahippocampus にかけて多かった。また、大脳基底核では、神経線維に沿った PrP 沈着を認めることがあった。

一般的な GSS と比較して特徴的な点は、円形で周囲組織から明瞭に境界されたプラークの存在である。その形態は、一部の家族性アルツハイマー病に報告されている、cotton wool plaque と区別できないものであるが、免疫組織化学的には、PrP 陽性で A β 陰性であることから、完全に区別された（図4）。

小脳皮質では、PrP 陽性のコアのみを認めることが多かった。

上記典型的なプラークに対して、方法で記載したとおり、PrP の 90-102, 95-108, 109-122 (3F4), 151-165, 220-231 をそれぞれ認識する抗体を用いて組織学的に検討した。その結果、コア周囲の PrP 沈着はすべての抗体で認識されたが、コアに関しては、90-102, 109-122 に対する抗体で比較的強く認識された。

以上の結果から、PrP^{sc} から構成されるプラークに着目した場合、GSSA117V においては、本邦に多い P102L と異なり、形態学的には特異的なプラークが出現することが明らかになった。過去の生化学的検討からは、GSS A117V における PrP は N 末、C 末ともに truncated されていることが知られているが、それらの検討は、プラークごとに行われたものではない。今回の病理学的検討からは同一の PRNP 変異症例においても、プラークの形態によっては、それを構成する PrP の性状が異なる可能性が示唆された。

今後の展望として、形態学的面からは、なぜ様々な形態の異常プリオン沈着を来たしうのかを解明することは、今後プリオン病の治療を考えたときにその一助になる可能

性がある。今後は、従来の組織学的あるいは生化学的手法だけでなく、プラークそのものレーザーマイクロダイセクションなどを用いて（我々は実際に、その方法を用いて、プレセニリン1遺伝子変異を伴うアルツハイマー病の新規老人斑 cotton wool plaque の A β の構造を明らかにした）構成する PrP の異同等を検討する必要があると考慮された。

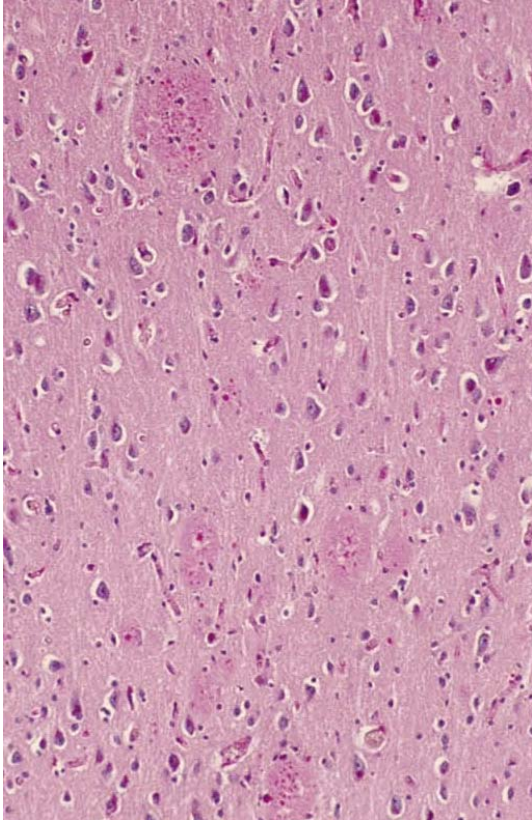


図 1: PAS 陽性多数のコアを有するプラーク.

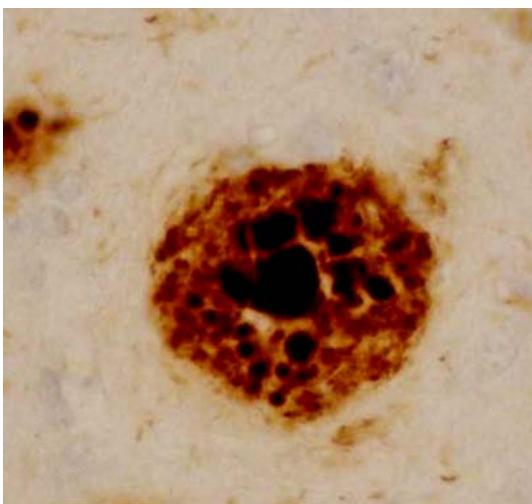


図 2: 3F4 抗体 (PrP 109-112) でコアと周囲ともに陽性の本例に典型的なプラーク.



図 3: アミロイドコアを有さない、びまん性の PrP 沈着.

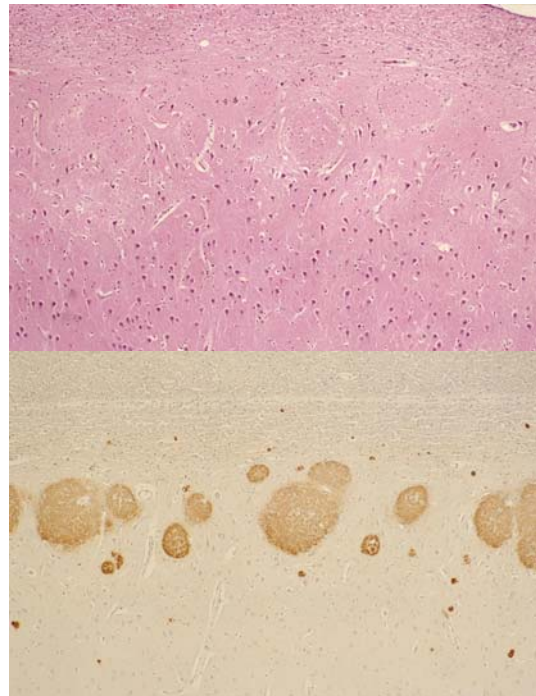


図 4: HE では一部の遺伝性アルツハイマー病に見られる cotton wool plaque と区別できないプラークを認める (上段). しかし、これらは PrP 免疫染色 (3F4 抗体) で陽性.

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 7 件)

1. Takao M, Hayashi M, Tsuchiya K, Ikeda E, Mihara B, Koto A. Clinical and neuropathologic analyses of adult neuronal ceroid lipofuscinosis (Kufs disease, CLN4A). J Neuropathol Exp Neurol (査読有) 2009; 68: 574

2. Takao M, Sakiyama Y, Saito Y, Aoyama M, Shiroyama H, Kurisaki H, Ishikawa K, Tsuchiya K, Mihara B, Murayama S. Alpha-synucleinopathy is associated with spinocerebellar ataxia type 2 with Parkinsonism. J Neuropathol Exp Neurol (査読有) 2008; 67: 489

3. 高尾 昌樹. リハの基礎となる動的神経病理 (画像・病理連関) (11) 代謝・中毒疾患. J Clinical Rehabilitation (査読無) 18 2009, 962-968.

4. 高尾昌樹. 軽度認知障害(MCI)を考える. 軽度認知障害の神経病理. 老年精神医学雑誌 (査読無) 20 : 2009, 280-286.

5. 水澤英洋, 橋詰良夫, 山田正仁, 北本哲之, 高橋均, 岩城徹, 有馬邦正, 高尾昌樹, 村山繁雄 (日本神経病理学会プリオン病剖検・病理検査推進委員会). 日本神経病理学会 プリオン病剖検・病理検査ガイドライン 2008. 医学検査 (査読無) 58:2009;1029-1039.

6. 諏訪部桂, 青柳真一, 高尾昌樹, 吉田洋二, 美原盤. クロイツフェルト・ヤコブ病の解剖感染対策について 当院における頭部局所解剖での検討. 医学検査 (査読有) 57 : 2008; 559.

7. 青柳真一, 諏訪部桂, 高尾昌樹, 吉田洋二, 美原盤. 当院におけるブレインバンク立ち上げの試み. 医学検査 (査読有) 57 : 2008 ; 560.

[学会発表] (計 6 件)

1. 高尾昌樹、美原 盤、吉田 洋二、林 雅晴、棚橋 紀夫、厚東 篤生. イソニアジド (INH) 長期投与中に認知症で発症し広範な脱髄、多数の軸索腫大を認めた 1 例. 第 50 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2009. 6. 5, 高松市

2. 諏訪部桂, 青柳真一, 高尾昌樹, 吉田洋

二, 小沢広樹, 美原盤. プリオン抗体 (3F4) における全自動免疫染色法の有用性について. 58 回日本医学検査学会, 2009. 8. 1 横浜市.

3. 高尾昌樹. 認知症の神経病理学: 遺伝性疾患を中心に. 特別講演. 第 13 回埼玉認知症研究会, 2008. 7. 18. 大宮市.

4. 高尾昌樹. VSRAD の有効性に関して - 軽度認知障害を中心に -. 特別講演. 第二回 VSRAD 勉強会, 2008. 6. 23, 前橋.

5. 高尾昌樹, 初田裕幸, 門脇太郎, 齋藤祐子, 吉田洋二, 村山繁雄, 美原盤, 北本哲之. 弧発型 Creutzfeldt-Jakob 病 (MM 1+2) の 1 剖検例. 第 49 回日本神経病理学会総会学術研究会, 2008. 5. 20-22, 東京.

6. Takao M, Ikeda E, Tsuchiya K, Yoshida Y, Mihara B. Autopsy Imaging of 3 Tesla MRI of Neurodegenerative Disorders: Neuropathologic-Neuroradiologic Correlations. Experimental biology 2007 & 83rd, Annual meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc., 2007. 4. 28-5. 2, Washington DC.

[その他]

謝辞: 本研究にあたり, インディアナ大学アルツハイマーセンター代表 Bernardino Ghetti 教授に多大なご指導をいただいた.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高尾 昌樹

所属機関名. (財) 脳血管研究所・講師

研究者番号: 5 0 2 4 5 4 8 7