

機関番号：82674

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390248

研究課題名（和文）レヴィー小体病における認知障害の責任病巣の追求

研究課題名（英文）Neuropathology of cognitive decline in Lewy body disease

研究代表者

村山繁雄（MURAYAMA SHIGEO）

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号：50183653

研究成果の概要（和文）：レヴィー小体型認知症（DLB）、パーキンソン病（PD）の認知症の責任病巣として、特異な線条体へのアミロイドβ沈着が原因と、ペンシルベニア大学、ロンドン大学からの報告で示されたことを受け、高齢者ブレインバンクプロジェクトで、PIB PET とドーパミン PET による臨床例における線条体の検討と、死後脳におけるアミロイドβ蛋白とリン酸化αシヌクレイン沈着を免疫組織学的に線条体で検討する二つの方法で行った。

DLB、認知症を伴う PD（PDD）51 例と、認知症を伴わない PD（PDNC）48 例の神経病理学的差分の検討で、辺縁系（扁桃核、嗅内野、CA2）、線条体、新皮質のαシヌクレイン沈着が抽出された。老人班に関しては、新皮質については抽出されたが、線条体は抽出されなかった。また、新皮質のAβ沈着はαシヌクレイン沈着を誘導する傾向が確認されたが、線条体沈着への促進作用は確認されなかった。なおこの研究期間3年間の新規蓄積例は13例であった。

またこの検討過程で、αシヌクレイン沈着のみが有意で、アミロイドβ沈着、タウ沈着が軽度であり、認知症を呈するいわゆる純粋型レヴィー小体型認知症が23例検出され、辺縁方20例、新皮質型3例であった。これらの症例は、線条体のAβ沈着はないかほとんどなく、責任病理としての意味は少ないと考えられた。

DLB/PDD と PD 3 例ずつの差分で、DAT Scan（¹¹C- CFT PET）で、尾状核の集積低下が検出された。しかし、¹¹C- PIB では新皮質は DLB の一例のみ陽性所見が検出されたが、尾状核を含め、線条体は全例で検出されなかった。研究期間中 PDD 一例の剖検所見が得られたが、辺縁型に分類され、新皮質にごくわずかにびまん性老人班を認めるのみであり、線条体には Aβ沈着は認められなかった。

以上の検討より、新皮質のアミロイドβ沈着は、レヴィー小体病理の新皮質への進展を促進することで、レヴィー小体型認知症の認知機能低下に影響を与えうるが、線条体における存在が、積極的に認知機能に影響を与えている結論は得られなかった。

ただし、DLB/PDD における尾状核の DAT scan 低下は、PDD に関しては病気の進行期であるためとの説明が可能であるが、DLB の場合の原因は、課題として残った。

研究成果の概要（英文）：

We studied to identify anatomic substrates to explain dementia in Lewy body disease. Neuropathologically, consecutive autopsy cases were immunocytochemically studied for difference in Lewy body dementia (dementia with Lewy bodies: DLB and Parkinson disease with dementia) Parkinson disease without dementia. Neuroradiologically, PET scans for dopamine transporter (¹¹C- CFT), glucose metabolism (¹⁸F- FDG) and amyloid (¹¹C- PIB) were comparatively examined.

Overall, 99 autopsy cases with diagnosis DLB, PDD or PD were recruited for this study. All the cases were immunocytochemically screened for anti- Abta (11-28),

phosphorylated tau (AT8) and phosphorylated alpha-synuclein (psyn#64). From 2008-2010, three more autopsy cases were newly recruited for this study. Substrates of DLB/ PDD- PD consisted of neocortical plaque as well as alpha-synuclein deposition in neocortex, limbic system and caudate nucleus. Substrates of Lewy body dementia with neocortical amyloid positive and negative cases consisted of limbic and neocortical alpha-synuclein but not striatal alpha-synuclein. Twenty three cases of pure Lewy body dementia with sufficient alpha-synuclein deposition without significant Abeta and tau deposition were selected from consecutive 8344 autopsy cases and 20 were classified into limbic form and 3 into neocortical form. These pure Lewy body cases lacked striatal Abeta deposition.

About clinical PET studies, three each of DLB/ PDD and PD cases were recruited for the study. Decreased ¹¹C- CFT uptake in caudate nucleus of DLB/ PDD patients were confirmed. About ¹¹C- PIB PET scans, the three PD cases lacked cortical uptake at all and two out of three PDD/ DLB cases also lacked cortical uptake. Thus, the correlation between striatal ¹¹C- CFT uptake and ¹¹C- PIB could not be calculated.

Our data confirmed anatomical substrate for dementia in Lewy body disease consisted of deposition of alpha-synuclein in limbic and neocortical structure. Our study also highlighted deposition of alpha-synuclein in caudate nucleus as strategic target for Lewy body dementia. Our study could not confirm the previous reports that striatal deposition of Abeta is responsible for Lewy body dementia.

Pathogenesis of alpha-synuclein deposition and decreased DAT scan in caudate nucleus in Lewy body dementia is yet to be clarified.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	10,500,000円	3,150,000円	13,650,000
2009年度	2,100,000円	630,000円	2,730,000
2010年度	2,100,000円	630,000円	2,730,000
年度			
年度			
総計	14,700,000	4,410,000	19,110,000

研究分野：

科研費の分科・細目：

キーワード：

1. 研究開始当初の背景

レビー小体病（認知症の記載のないパーキンソン病：PD/ 認知症を伴うパーキンソン病：PDD /レビー小体型認知症：DLB）の認知症の責任病巣について、尾状核の DAT scan における低下を我々は注目してきた。今回、ペンシルバニア大学、ロンドン大学より、線条体の Aβ沈着が認知症発症に関与している神経放射線及び、神経病理学的報告が行われた。

2. 研究の目的

レビー小体病の認知症の責任病巣に、尾状核の αシヌクレイン (AS) 沈着並びにアミロイドβタンパク沈着が、直接的に関与しているか否かを明らかにする。

具体的には、免疫組織学的に、中枢神経

系全般の変性型老化性蛋白蓄積の程度と、尾状核における蓄積を、神経病理学的半定量解析を用いて、PDD/ DLB 群（高齢者ブレインバンク：BBAR Stage IV/V 群）と PD 群(BBAR Stage III)並びに臨床症状の記載のないレビー小体病（sLBD、BBAR Stage II）群の差を抽出することで、以下の二つの仮説を検証する。

1. レビー小体病の認知症に、尾状核への AS 沈着が関与している。
2. Aβ沈着がそれを促進している。
3. 研究の方法

剖検例の老化性変化に関して、抗リン酸化 αシヌクレイン (psyn #64, Wako)、Aβ (11-28, IBL)、抗リン酸化タウ (AT8)、

抗ユビキチン抗体 (Sigma) 免疫染色を用い、Braak らの神経原線維変化、老人斑のステージ分類、高齢者ブレインバンクのレビー小体 (Saito Y et al 2003, 2004)、嗜銀顆粒のステージ分類 (Saito Y et al 2004) を全例に施す。

臨床情報として、認知機能の評価は後方視的に病歴を参照し、神経内科専門医二人が独立して病歴を参考に Clinical Dementia Rating (CDR) を決定、一致すれば採用、不一致の場合は主治医、ついで介護者へのインタビューで最終決定し、主任研究者が確認する。

尾状核への AS 沈着の程度は、乳頭体より 14mm 前方の断面の頭部全体を、抗リン酸化 α シヌクレイン (psyn #64, Wako)、抗体免疫染色後、バーチャルスライド化装置の default (20x) を用いて収集、二値化し、密度を算定する。

尾状核の $A\beta$ 沈着に関しては、同様に二値化し、密度と老人斑の平均径の両方を評価する。

連続剖検例より、PD/ PDD/ DLB を抽出し、上記網羅的変性型認知症病理に加え、尾状核への AS, $A\beta$ 沈着について、PD と、PDD/ DLB の差分を取ることで、認知症の責任病巣を明らかにすることを試みる。

また臨床例については、DAT Scan (^{11}C -CFT PET) と、アミロイド PET (^{11}C -PIB) で、尾状核に関心領域を置き検討した。

4. 研究成果

DLB/ PDD 51 例と、認知症を伴わない PD48 例の神経病理学的差分として、辺縁系 (扁桃核、嗅内野、CA2)、新皮質、尾状核の AS 沈着が抽出された。老人斑に関しては、新皮質については抽出されたが、尾状核を含む線条体は抽出されなかった。これは、上記バーチャルスライド、二値化を行って、尾状核で検討しても変わらなかった。また、我々の既報通り、新皮質の $A\beta$ 沈着は、新皮質への AS 沈着を誘導する傾向が確認されたが、尾状核沈着への促進作用は確認されなかった。なおこの研究期間 3 年間のレビー小体病の新規蓄積例は 13 例であった。

以上、DLB の認知障害に、尾状核への $A\beta$ 沈着が、同部への AS 沈着を促進することで、関与することは確認できなかった。

また、AS 沈着のみが有意で、 $A\beta$ 、タウ沈着が軽度であり、認知症を呈する、いわゆる純粋型レビー小体型認知症が 23 例含

まれ、辺縁型 20 例、新皮質型 3 例に分類された。これらの症例には、線条体の $A\beta$ 沈着はほとんどなく、責任病理としての意味は少ないと考えられた。

研究期間中 3 例ずつの PD と PDD/ DLB が、 ^{11}C -CFT PET、 ^{11}C -PIB で検討することが出来、うち PDD 1 例で剖検を得ることが出来た。

DLB/ PDD と PD の差分で、 ^{11}C -CFT では、尾状核の集積低下が検出された。しかし、 ^{11}C -PIB では新皮質は DLB の一例のみ陽性所見が検出されたのみで、他の 5 例では尾状核を含め、線条体は全例で検出されなかった。研究期間中 PDD 一例の剖検所見が得られたが、辺縁型に分類され、新皮質にごくわずかなびまん性老人斑を認めるのみであり、線条体には $A\beta$ 沈着は認められなかった。しかし、尾状核の顆粒状の AS 沈着は、確認することが出来た。

以上より、レビー小体型認知症の責任部位に、辺縁系・新皮質に加え、 $A\beta$ 沈着とは独立した、尾状核への AS 沈着の意義付けを、今後検討する必要がある。

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 26 件)

1. Yokota O, Tsuchiya K, Terada S, Ishizu H, Uchikado H, Ikeda M, Oyanagi K, Nakano I, Murayama S, Kuroda S, Akiyama H: Basophilic inclusion body disease and neuronal intermediate filament inclusion disease: a comparative clinicopathological study. Acta Neuropath 2008; 115: 561- 575
2. Hashimoto M, Kawasaki K, Suzuki M, Mitani K, Murayama S, Mishina M, Oda K, Kimura Y, Ishiwata K, Ishii K, Inoue K: Presynaptic and postsynaptic nigrostriatal dopaminergic functions in multiple system atrophy. Neuroreport 2008; 19: 145- 150
3. Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Ito G, Iwatsubo T, Fukayama M, Murayama S: Lewy body pathology involves cutaneous nerves. J Neuropath Exp Neurol 2008; 67: 945-953
3. Takahashi Y, Seki N, Ishiura H, Mitsui J, Matsukawa T, Kishino A, Onodera O, Aoki M, Shimozawa N, Murayama S, Itoyama Y, Suzuki Y, Sobue G, Nishizawa M, Goto, J, Tsuji S: Development of a high-throughput microarray-based resequencing system for

neurological disorders and its application to molecular genetics of amyotrophic lateral sclerosis. Arch Neurol 2008; 65: 1326-1332

3. Sengoku R, Saito Y, Ikemura M, Sakiyama Y, Hatsuta H, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Inoue K, Murayama S: The incidence and extent of Lewy- body related alpha- synucleinopathy in human aging olfactory bulb. J Neuropath Exp Neurol 2008; 67: 1072-1083

4. Tokumaru A, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Sakiyama Y, Toyoda M, Yamakawa H, Terada H: Imaging-Pathologic Correlation in Corticobasal Degeneration. Am J Neuroradiol 2009; 30: 1884-1892

4. Sato N, Amino T, Kobayashi K, Asakawa S, Ishiguro T, Tsunemi T, Takahashi M, Matsuura T, Flanigan KM, Iwasaki S, Ishino F, Saito Y, Murayama S, Yoshida M, Hashizume Y, Takahashi Y, Tsuji S, Shimizu N, Toda T, Ishikawa K, Mizusawa H: Spinocerebellar ataxia type 31 is associated with “inserted” penta-nucleotide repeats containing (TGGAA)_n. Am J Hum Gen 2009; 85 (5): 544-557

4. Ishibashi K, Saito Y, Murayama S, Kanemaru K, Oda M, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K: Validation of cardiac 123I-MIBG scintigraphy in patients with Parkinson’s disease who were diagnosed with dopamine PET. Eur J Nucl Med Mol Imaging 2010; 37: 3- 11

5. Ishibashi K, Kanemaru K, Saito Y, Murayama S, Oda K, Ishiwata K, Mizusawa H, Ishii K: Cerebrospinal fluid metabolite and nigrostriatal dopaminergic function in Parkinson’s disease. Acta Neurol Scand 2010; 122: 46- 50

6. Shishido T, Ikemura M, Obi T, Yamazaki K, Terada T, Sugiura A, Saito Y, Murayama S, Mizoguchi K: α -Synuclein accumulation in skin nerve fibers revealed by skin biopsy in pure autonomic failure. Neurology 2010; 74: 608-610

7. Adachi T, Saito Y, Hatsuta H, Funabe S, Tokumaru AM, Ishii K, Arai T, Sawabe M, Kanemaru K, Miyashita A, Kusano R, Nakashima K, Murayama S: Neuropathological asymmetry in argyrophilic grain disease. J Neuropath Exp Neurol 2010; 69: 737-744

8. Nozaki I, Hamaguchi T, Sanjo N, Noguchi-Shinohara M, Sakai K, Nakamura Y, Sato T, Kitamoto T, Mizusawa H, Moriwaka F, Shiga Y, Kuroiwa Y, Nishizawa M, Kuzuhara S, Inuzuka T, Takeda M, Kuroda S, Abe K, Murai H, Murayama S, Tateishi J, Takumi I, Shirabe

S, Harada M, Sadakane A, Yamada M: Prospective 10-year surveillance of human prion diseases in Japan Brain 2010; 133; 3043–3057

〔学会発表〕（計 87 件うち 1 件）

1. Funabe S, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Murayama S: Olfactory epithelium in Lewy body disease. 86th Annual Meeting of American Association of Neuropathologists, June 10-13, 2010 Philadelphia, PA

〔図書〕（計 6 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

www.mci.gr.jp/BrainBank/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

村山繁雄 (MURAYAMA SHIGEO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号：50183653

(2) 研究分担者

齊藤祐子 (SAITO YUKO)

独立行政法人国立精神・神経医療研究センター・臨床検査部・室長

研究者番号：60344066

【20 年度のみ、21,22 年度は連携研究者】

(3) 連携研究者

石井 賢二 (ISHII KENJI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究部長

研究者番号：10231135

初田 弘幸 (HATSUTA HIROYUKI)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：60469963