

令和 4 年 4 月 19 日現在

機関番号：33920

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16586

研究課題名(和文) 前頭側頭型認知症の患者剖検脳を用いた海馬シナプス障害の解析

研究課題名(英文) Loss of hippocampal synapses in FTLT: autopsy-based study

研究代表者

陸 雄一 (Riku, Yuichi)

愛知医科大学・付置研究所・助教

研究者番号：50748382

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：病理学的に、前頭側頭型認知症(FTLD)患者の神経・グリア細胞内にはTDP-43もしくはtauの凝集体が形成される。一般に凝集体形成はタンパク毒性による神経細胞脱落を起こすとされている。しかし、我々は細胞死・細胞脱落とは異なった細胞障害の機序として、シナプスの障害が早期に起きるという仮説を立て、前頭側頭型認知症の患者剖検脳を用いて病理学的検討を行った。結果として、TDP-43およびtauに関連したFTLDにおいて高度の海馬顆粒細胞軸索終末の脱落が見られた。特にTDP-43に関連したFTLDの海馬顆粒細胞では、軸索終末の脱落が、細胞脱落より先行することが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究により、前頭側頭型認知症の早期病変として海馬顆粒細胞の軸索終末が提起された。特にTDP-43に関連した前頭側頭型認知症においては、神経細胞の脱落が起こる前からこの変化が起こることが示唆された。早期治療の標的として、海馬顆粒細胞のシナプス伝達が重要となってゆくと考えられる。このシナプスはグルタミン酸作動性であり、アルツハイマー病で行われているようなコリン作動性シナプスの補充療法とは異なった創薬が必要になり、かつ効果が期待される。

研究成果の概要(英文)：TDP-43 and tau aggregates are pathologic hallmarks of frontotemporal lobar degeneration (FTLD). It is known that aggregates demonstrate neurotoxicity and facilitate neuronal death. However, we hypothesized synaptic loss to be an earlier phenomenon than neuronal loss. We included consecutively autopsied cases with FTLT, in which postmortem diagnosis of FTLT-TDP or FTLT-tau were confirmed. In results, FTLT-TDP and FTLT-tau cases showed severe loss of axon terminals that were efferent from hippocampal granule cells. Importantly, in FTLT-TDP cases, axon terminal loss of hippocampal granule cells preceded to neuronal loss. By contrast, in the FTLT-tau cases, axon terminal loss was positively correlated with that of neuronal loss for the hippocampal granule cells. The results indicate that axon terminal loss of the hippocampal granule cells precedes to neuronal loss in FTLT-TDP cases, whereas that arises as a consequence of neuronal loss in FTLT-tau cases.

研究分野：神経病理

キーワード：前頭側頭型認知症 TDP-43 tau シナプス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

病理学的に、前頭側頭型認知症患者の神経・グリア細胞内には TDP-43 もしくは tau の凝集体が形成される。皮質における凝集体形成はタンパク毒性による神経細胞脱落を起こし、認知機能障害につながるとされている。しかし、前頭側頭型認知症の海馬顆粒細胞では、TDP-43 あるいは tau の高度の凝集がみられるにもかかわらず、ほとんど細胞脱落が起こらない。今回我々は、細胞死・細胞脱落とは異なった細胞障害の機序として、シナプスの障害が早期に起きるといふ仮説を立て、前頭側頭型認知症の患者剖検脳を用いて病理学的検討を行った。

2. 研究の目的

海馬顆粒細胞は前頭側頭型認知症の主要病変の一つで、病的なタンパク質凝集が高度に見られるにもかかわらず、神経細胞死(脱落)はほとんどおこらない。病的タンパク質の凝集した海馬顆粒細胞にどのような細胞障害が起きているのかは不明である。そこで、前頭側頭型認知症患者の海馬顆粒細胞では、神経細胞死(細胞脱落や脳萎縮)が起こる前の段階で、シナプスの障害が起き、神経のネットワークが機能不全に陥っていることを証明する。前頭側頭型認知症と臨床的に診断され、疾患関連遺伝子のスクリーニングがされ、病理学的に確定診断された連続剖検脳を用いる。免疫組織化学的に顆粒細胞のシナプスおよび軸索を可視化し、病理学的変化を評価する。

3. 研究の方法

前頭側頭型認知症における海馬のシナプス障害を、患者剖検脳を用いて検討した。2020年度は、海馬顆粒細胞の軸索終末の脱落を免疫組織化学的に評価した。グルタミン酸作動性ニューロンである海馬顆粒細胞の軸索終末は、グルタミン酸輸送小胞を豊富に持つ。また軸索は dynorphin などの内因性オピオイドを豊富に含む。この解剖学的性質を利用して、軸索終末(mossy fiber terminal)は抗 vesicular glutamate transporter-1(VGLUT-1)免疫組織化学で、軸索(mossy fiber)は抗 dynorphin 免疫組織化学で標識した。

対象症例は FTLD-TDP または FTLD-tau と確定診断された患者の剖検脳で、合計62症例(FTLD-TDP 41例; FTLD-tau 21例)とコントロール10例(患者群と年齢層一致、神経疾患なし)の脳組織を確保した。前頭側頭型認知症に関連する遺伝子背景として、FTLD-TDP 患者は C9orf72 遺伝子変異(16例)、PGRN 遺伝子変異(7例)、いずれの変異も陰性のものを含む。FTLD-tau 患者は、MAPT 遺伝子変異(7例)と MAPT 変異なしのものを含む。

レーザー顕微鏡を用いて軸索終末を蛍光免疫組織化学的に可視化し、3D構築することで、投射先ニューロンに対していかに軸索終末の入力が減少しているかを観察した。2021年度前半にはすべての症例の解析が終了し、以降は画像処理ソフトを用いたシナプス脱落の定量化、統計処理を行った。

4. 研究成果

海馬顆粒細胞の軸索終末の脱落は、FTLD-TDP、FTLD-4-repeat-tau、FTLD-3-repeat-tau のいずれにおいても高度に観察された。特に、FTLD-TDP の 12%、FTLD-4-repeat-tau の 14%、FTLD-3-repeat-tau の 60%の症例で、海馬顆粒細胞の軸索終末のほぼすべてが消失していた。背景遺伝子間では、軸索終末脱落の重症度に有意差はなかった。抗 VGLUT-1 免疫組織化学と抗 dynorphin 免疫組織化学との比較検討では、FTLD-TDP と FTLD-tau (4-repeat・3-repeat) とで、顆粒細胞の軸索終末脱落と軸索脱落とのパターンに明確な相違が見られた。すなわち、FTLD-TDP 症例では、顆粒細胞軸索が残存している症例でも高率にその軸索終末が脱落していた。一方、FTLD-tau 症例では、軸索終末の脱落は、軸索が脱落・減少した症例にほぼ限局されていた。このことは、FTLD-TDP の海馬顆粒細胞では軸索終末の障害が軸索の障害に先行するのに対し、FTLD-tau の海馬顆粒細胞では軸索終末の障害が軸索変性の結果として起きていることを示唆した。次に、海馬顆粒細胞の投射先である CA3/4 ニューロンの樹状突起を MAP2 で標識し、顆粒細胞軸索終末の所見と対比した。基本的に、FTLD-TDP、FTLD-tau のいずれにおいても、CA3/4 ニューロンの脱落は軽度であり、樹状突起もよく保たれていた。抗 VGLUT-1・抗 MAP2 二重免疫組織化学をレーザー顕微鏡で画像取得し、3D構築すると、樹状突起上の VGLUT-1 陽性終末が FTLD 症例では高度に減少し、むき出しの状態になっていることが判明した。一方、正常コントロールでは、樹状突起は軸索終末に密に覆われていた。この実験により、冒頭で述べた海馬顆粒細胞軸索終末の脱落は、投射先の CA3/4 ニューロンの脱落による二次的变化ではなく、海馬顆粒細胞そのものに軸索終末障害の病態が起きていることを示唆した。まとめると、海馬顆粒細胞の軸索終末脱落が FTLD-TDP・FTLD-tau の両方に共通した病理所見であること、FTLD-TDP では軸索終末の脱落が軸索脱落に先行することが示された。プレリミナリーな定性データについて論文を投稿、採択された(Riku Y, Seilhean D, Duyckaerts C, et al. Int J Mol Sci. 2021;22:3843)。定量データを加えたフルデータについても、学会発表、論文執筆が終了し、投稿過程である。なお、実験過程で海馬、前頭葉、運動ニューロン障害にスプライ

シング因子の核内発現が関連する可能性、顆粒細胞障害が多系統萎縮症などのより広範な神経変性疾患に見られることも見出され、それぞれ当該研究資金の貢献を文中に明記の上、論文発表した（Riku Y, Iwasaki Y, Ishigaki S, et al. *Brain*. 2022, in press.; Ando T, Riku Y, Akagi A, et al. *Brain Pathol*. 2022;32:e13002.）

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuichi Riku, Danielle Seilhean, Charles Duyckaerts, et al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Pathway from TDP-43-Related Pathology to Neuronal Dysfunction in Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Lobar Degeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3843
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22083843	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Yuichi Riku	4. 巻 40
2. 論文標題 Reappraisal of the anatomical spreading and propagation hypothesis about TDP-43 aggregation in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Neuropathology	6. 最初と最後の頁 426-435
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/neup.12644	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 Riku Yuichi, Iwasaki Yasushi, Ishigaki Shinsuke, Akagi Akio, Hasegawa Masato, Nishioka Kenya, Li Yuanzhe, Riku Miho, Ikeuchi Takeshi, Fujioka Yusuke, Miyahara Hiroaki, Sone Jun, Hattori Nobutaka, Yoshida Mari, Katsuno Masahisa, Sobue Gen	4. 巻 -
2. 論文標題 Motor neuron TDP-43 proteinopathy in progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Brain	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/brain/awac091	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 Ando Takashi, Riku Yuichi, Akagi Akio, et al.	4. 巻 32
2. 論文標題 Multiple system atrophy variant with severe hippocampal pathology	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Brain Pathology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/bpa.13002	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 Ando Takashi, Riku Yuichi, Akagi Akio, Miyahara Hiroaki, Sone Jun, Katsuno Masahisa, Yoshida Mari, Iwasaki Yasushi	4. 巻 -
2. 論文標題 Clinical diagnosis sensitivity of neuropathologically established multiple system atrophy in Japan	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Neurology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00415-022-11122-x	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2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Yuichi Riku
2. 発表標題 Reappraisal of the TDP-43 propagation hypothesis in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration
3. 学会等名 日本神経病理学会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuichi Riku
2. 発表標題 TDP-43 pathology of spinal cord in tau-related neurodegenerative disorders
3. 学会等名 日本神経学会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------