

機関番号：82674

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23500435

研究課題名(和文) 神経病理学的新規アプローチによる弧発性・遺伝性認知症の大脳白質小血管病変の解明

研究課題名(英文) Neuropathologic analysis of small vessel diseases of the cerebral white matter in association with sporadic and hereditary dementia

研究代表者

高尾 昌樹 (TAKAO, MASAKI)

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：50245487

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：血管性認知症や変性型認知症における、大脳白質血管病変の関与を、剖検例を用いた病理形態学的に、1) 遺伝性脳血管疾患CARASILの検討、2) 認知症性疾患における血管性認知症と変性型認知症の意義、3) 大脳白質における小血管形態病理、に関して施行した。その結果1) CARASILは頭蓋内血管で弾性板の年輪様多層化、中膜菲薄化、小血管の壁分離が特徴、2) 認知症性疾患における脳血管疾患の頻度が高いこと、しかし高齢になるとその頻度が低下すること、3) アルツハイマー病に関連する神経原線維変化の進展と、皮質下白質の小血管の狭窄度が関連することが判明した。認知症と脳血管病変との関連を多角的に解析した。

研究成果の概要(英文)：The aim of the present study is to clarify the role of small vessel diseases in the cerebral white matter in dementia individuals. We carried out clinical and neuropathologic studies of 1) CARASIL cases, 2) mildly demented (CDR=0.5) individuals and 3) morphological analysis of small vessels in the cerebral white matter and putamen. The small vessels of CARASIL showed multilayers of elastic membranes and thinning of tunica media. Those findings were different from those of usual atherosclerotic changes. Frequency of cerebrovascular diseases was relatively high in mildly demented cases. However, the rate of cerebrovascular diseases decreased with increase of age. The lumen of small vessels in the cerebral white matter decreased with increasing grade of Braak stages of neurofibrillary tangles. Our multidisciplinary approaches suggest that small vessel diseases are important to understand dementia cases.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学，神経解剖学・神経病理学

キーワード：脳・神経 病理学 脳血管疾患 認知症 神経科学 長寿命化 生体材料

1. 研究開始当初の背景

高齢化により認知症患者が増加し、臨床の場面では適切な診断および早期介入が重要である。本邦では脳血管性認知症はアルツハイマー病に次いで多く、両者の合併や関連も注目され、認知障害における脳血管病変を明らかにすることも重要である。一般に血管性認知症の原因は、大脳皮質や基底核の多発性小梗塞との関連で強調されているが (Cerebrovascular diseases ed by Kalimo), 臨床的診断基準の感度や特異度の問題、神経病理学的基準がなく、その頻度も 0.3-85.2% とばらついている。

一方、大脳白質小血管病変 (Cerebral White Matter Small Vessel Diseases CWMSVDs) が認知症との関連で注目されている。例えば血管性認知症のなかで CWMSVDs の頻度が 18%、AD との混合型で 11% とされ (J Neurol Sci 2008) など、その病態解明は認知症研究において重要な意義を有する。

既存の CWMSVDs に関する神経病理学的研究は、申請者の報告、Binswanger 病や CADASIL に関する報告があるが (J Neurol Sci 1999:127, Neuropathol 2004:21)、いずれも少数例の検討で髄質動脈における小動脈硬化など古典的病理記述に焦点がおかれてきた。しかし CWMSVDs を主体とする遺伝性脳血管疾患が次々と発見され、遺伝子異常による血管壁構成タンパクの変性が推察されることから (例えば collagen 4-A1 遺伝子変異や HTRA1 遺伝子変異で生じる脳血管疾患で、血管壁内膜、平滑筋の変性原因との関連が指摘されている N Engl J Med 2006;354:1489, 2009;360:1729) ことから、古典的病理変化でなく、遺伝性疾患との関連からも検討することは極めて重要である。さらに共存するアルツハイマー病など変性型認知症との関連を検討することも重要である。以上の点から本研究を計画した。

2. 研究の目的

血管性認知症や変性型認知症における、大脳白質血管病変の関与を検討するために、高齢者ブレインバンクにおける剖検例を用いて、形態病理学的に、以下の 3 項目を主に検討した。

(1) 遺伝性脳血管疾患の検討

遺伝性脳血管疾患は、現在本邦に比較的多く報告されている、常染色体劣性遺伝性脳血管疾患で白質病変を有する CARASIL 3 例を検討対象とした。本疾患の病理学的背景は、まだ十分検討されておらず、形態病理学的に詳細な検討を施行した。

(2) 認知症性疾患における血管性認知症と変性型認知症の意義

認知症をきたす状態においては、脳血管疾患だけではなく、他の神経変性疾患の病態が合併する頻度も予想以上に高いことが判明

してきた。例えば、アルツハイマー病、レヴィ小体病 (LBD)、神経原線維変化優位型疾患、嗜銀顆粒性疾患、海馬硬化症などである。この実態を把握することも、本研究の主眼から重要であると考えられた。特に、認知症が進完全 (高度) に進行してしまった段階よりも、より早期の状態あるいは軽度認知機能障害の段階を検討した。

(3) 大脳白質における小血管病理の検討

大脳白質における小血管の血管病理を、形態学的に検討を行った。特に、小血管径の狭窄度、サイズ、また基底核との比較、さらには、個々の症例が有する変性型認知症の指標の中で、特にアルツハイマー病理との関連を検討した。

3. 研究の方法

(1) 遺伝性脳血管疾患の検討

遺伝子診断により確定診断された CARASIL 3 剖検例の神経病理学的検索を行った。基本染色 (HE, KB)、特殊染色 (Bodian, EVG, EM, PAS)、免疫染色 (SMA, Factor8, CD34, CD68, GFAP, 各種コラーゲン) 等の各種染色と電顕的観察を行い、神経病理学的に検索した。症例 1; HTRA1 遺伝子 C904T (R302X) ナンセンス変異を有する、死亡時 54 歳男性。症例 2; HTRA1 遺伝子 C904T (R302X) ナンセンス変異を有する、死亡時 46 歳女性。症例 3; HTRA1 遺伝子 G754A (A252T) ミスセンス変異を有する、死亡時 51 歳女性。

(2) 認知症性疾患における血管性認知症と変性型認知症の意義

ブレインバンクに保存されている症例のなかで、特に後方視的に生前の CDR が評価されている症例を対象とした。特に、認知症が進行してしまった段階よりも、早期の状態あるいは軽度認知機能障害の段階における、病理学的状態を把握することは重要であると考え、CDR = 0.5 と評価され、病理学的検討が可能な 284 例を対象とした。個々の症例において、脳血管性疾患の有無だけでなく、同時に併存する、アルツハイマー病、レヴィ小体病 (LBD)、神経原線維変化優位型疾患、嗜銀顆粒性疾患、海馬硬化症 (LBD)、神経原線維変化優位型疾患、嗜銀顆粒性疾患、海馬硬化症などの合併を、高齢者ブレインバンクの診断基準 NIA-Reagan や CERAD による診断基準、あるいはレヴィ小体病 (LBD) の第 3 次診断指針を用いて、診断基準により診断を行った。また、老人斑や神経原線維変化のひろがり、Braak の方法によった。

(3) 大脳白質における小血管病理の検討

高齢者ブレインバンクにおける一定の切り出しがなされている剖検例において、研究開始時点からの症例を対象とした (切り出しが確認できるため)。特に、基底核 (乳頭体を含むレベル) の組織切片において、側頭葉

島回皮質下白質の小血管と被殻背側の小血管を検討した。後者を部位として選定した理由は、腹側ではレンズ核線条体動脈からの分枝直後で血管系が太く、正常でも血管周囲腔も開大することが多いからである。Elastica-masson 染色標本（他の染色や免疫染色よりも最も正確に血管構造を明瞭に描出できたため）を作成し、顕微鏡下に観察・撮像、最大径が 400 μm より大きい血管は除外した。それぞれの部位でランダムに 3 本の小血管に関して、血管周囲腔(PVS)外周、血管外周、血管内腔をトレースして、それぞれの面積を画面上で得た。上記のデータから新たに導入した独自の指標、%lumen=血管内腔面積/血管外周面積、PVS ratio=(PVS 面積-血管外周面積)/PVS 面積を検討した。この 2 つの指標の基本等計量に加え、特にアルツハイマー病と関係する神経原線維変化と老人斑との拡がりを被殻検討した。Braak stage 0 = B0, (1, 2) = B1, (3, 4) = B3, (5, 6) = B5 と区分した。老人斑のステージは SP0, SP1, SP2, SP3 とした。統計学的手法は、JMP を用いて、P<0.05 を有意差ありと判断した。

4. 研究成果

(1) 遺伝性脳血管疾患の検討

3 例の中で、特に 1 例は臨床経過を長期に追跡、剖検まで確認できた稀少例であった。全ての CARASIL 剖検例において、深部白質髄鞘染色性低下、U-fiber 保持、大脳皮質・白質・基底核の多発梗塞を認めた。脳主幹動脈の内膜肥厚、髄膜動脈・穿通枝・髄質動脈における弾性板と SMA 陽性筋線維芽細胞層が交互に重なる年輪状多層化、中膜平滑筋層の菲薄化、白質細動脈硬化を認めた。遺伝子変異別の病理組織学的差異は明瞭ではなかった。脳以外の動脈系（硬膜動脈や皮膚の動脈）における内膜病変は比較的軽度であった。脳動脈壁に電顕的沈着物は確認されなかった。以上から、大脳白質病変や多発梗塞における病理所見は、高血圧例や Binswanger 病例と一部共通点を有するが、その脳血管病理は広範、且つ高度であることが確認された。すなわち小血管病変は単純な動脈硬化ではなく、正常の血管構造を逸脱したもので、頭蓋内血管で弾性板の年輪様多層化、中膜菲薄化、小血管の壁分離などが特徴であった（図 1, 2）。

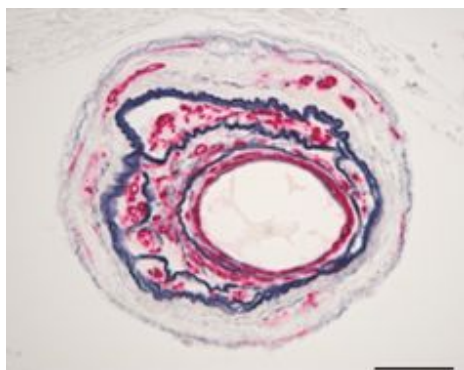


図 1 : CARASIL の髄膜動脈:弾性板の多層化と波状化

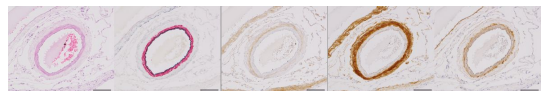


図 2 : 左から HE 染色, SMA, コラーゲン I, III, IV に対する免疫染色。内膜増加, 中膜減少, などがみられる。

(2) 認知症性疾患における血管性認知症と変性型認知症の意義

脳血管性疾患単独で認知症の原因となったと考えられた頻度が 34%、脳血管性疾患に他の神経変性疾患を合併したと考えられた頻度が 6%であった。両者をあわせると 40% になった（図 3）。さらに高齢になると、脳血管疾患の頻度が低下することも明らかになった（図 4）。すなわち、認知症の基礎疾患としての、脳血管疾患の重要性だけでなく、同時に合併している神経変性疾患の重要性も明らかになった。

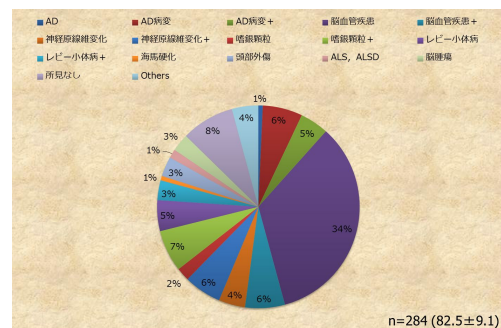


図 3 : CDR が 0.5 相当の症例における病理学的背景。

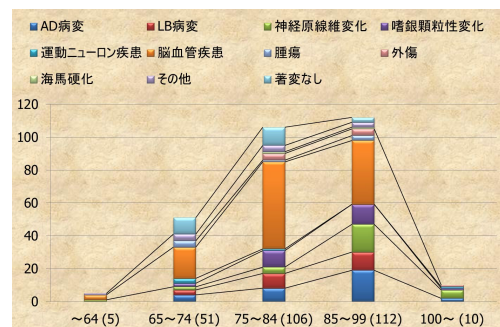


図 4 : 高齢（横軸；年齢）になると脳血管疾患の頻度は病理学的に低下する。

(3) 大脳白質における小血管病理の検討

検討組織部位が、脳血管病変などで破壊されている症例、あるいは線条体黒質変性症などによる被殻変性が顕著で検討できない症例を除外し、164 例（計 984 本の血管）で検討可能であった。

基本統計量として、%lumen は正規分布に従っていたが、PVS ratio は非正規分布であった。%lumen は被殻において皮質下白質より有意に大きかった (P<0.0001)（血管狭窄度は皮質下白質で顕著）。逆に PVS ratio は皮質下

白質で有為に大きかった($P=0.0005$) (血管周囲腔の開大が顕著)。

神経病理学的診断で、脳血管疾患(脳梗塞、脳出血)が存在する場合と、しない場合と比較すると、皮質下白質でのみ%lumenが、脳血管疾患が存在するときに($33.23 \pm 0.93\%$)、脳血管疾患が存在しない症例($36.28 \pm 1.18\%$)と比較して、有意に小さかった(より狭窄していた)。

アルツハイマー病に特に関連する、神経原線維変化との関連では、特に%lumenと皮質下白質との関連が得られた。すなわち、Braak stage B0; $33.94 \pm 3.48\%$, B1; $36.34 \pm 0.93\%$, B3; $32.00 \pm 1.37\%$, B5; $28.60 \pm 2.46\%$ であり、神経原線維変化のステージがB1からB5と進行すると、血管狭窄が進行していた(図5)。また、老人斑に関しては、SP3におけるPVS ratioがSP0より小さい(血管周囲腔が狭い)結果が得られたが、それ以上の傾向は得られなかった。

また、年齢や脳重との関連も検討したが、一定の傾向はなかった。

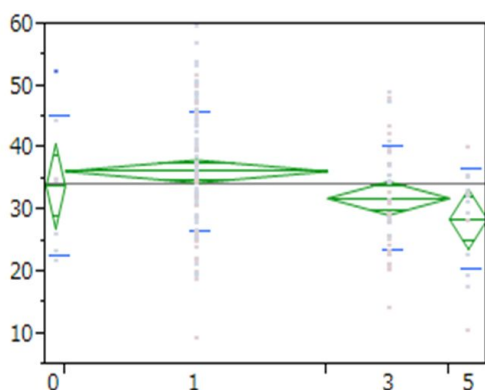


図5: Braak stageが伸展すると(横軸), 皮質下白質%lumen(縦軸)も低下(狭窄がより高度)する。

(まとめ)

認知症性疾患のなかで、特に遺伝性脳血管疾患 CARDASILにおける特異な血管病変を明らかにした。また、弧発性高齢者白質小血管病変の特徴を検討し、新規血管評価指標を導入し、アルツハイマー病に代表される病理伸展との一定の関与があることも示した。

本検討での問題点は、多種類の遺伝性疾患を検討できなかったこと、1施設における剖検例の検討が中心で、特に高齢者を対象としているといった点であり、今後解決されるべき検討課題と考えられた。

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12件)

Sakurai K, Tokumaru AM, Nakatsuka T, Murayama S, Hasebe S, Imabayashi E, Kanemaru K, Takao M, Hatsuta H, Ishii K, Saito Y, Shibamoto Y, Matsukawa N, Chikui E, Terada H. Imaging spectrum of sporadic cerebral amyloid angiopathy: multifaceted features of a single pathological condition. Insights Imaging 2014 (in press). 査読有。

<http://link.springer.com/article/10.1007/s13244-014-0312-x>

高尾昌樹. 血管性認知症の臨床とその背景, 問題点. 血管医学 2014;15;1-8. 査読なし。

高尾昌樹. 軽度認知障害の神経病理. 神経内科 2013; 78; 703-715. 査読なし。

高尾昌樹. 神経病理基盤に関する今日を理解. 高次脳機能研究 2013; 33; 310-317. 査読なし。

Sakurai K, Imabayashi E, Tokumaru A, Hasebe S, Murayama S, Morimoto S, Kanemaru K, Takao M, Shibamoto Y, Matsukawa N. The Feasibility of White Matter Volume Reduction Analysis using SPM8 plus DARTEL for the Diagnosis of Patients with Clinically Diagnosed Corticobasal Syndrome and Richardson's Syndrome. Neuroimage clinical. 2014 (in press).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.nicl.2014.02.009> 査読有。

Sugiyama M, Takao M, Hatsuta H, Funabe S, Ito S, Obi T, Tanaka F, Kuroiwa Y, Murayama S. Increased number of astrocytes and macrophages/microglial cells in the corpus callosum in amyotrophic lateral sclerosis. Neuropathology 2013; 34: 591-9. doi: 10.1111/neup.12027. 査読有。

Tsuji H, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Yamashita M, Suzukake M, Hosokawa M, Yoshida M, Hatsuta H, Takao M, Saito Y, Murayama S, Akiyama H, Hasegawa M, Mann DM, Tamaoka A. Molecular analysis and biochemical classification of TDP-43 proteinopathy. Brain 2013; 135: 3380-91. DOI: 10.1093/brain/aws230. 査読有。

Funabe S, Takao M, Saito Y, Hatsuta H, Sugiyama M, Ito S, Kanemaru K, Sawabe M, Arai T, Mochizuki H, Hattori N, Murayama S. Neuropathologic analysis of Lewy-related α -synucleinopathy in olfactory mucosa. Neuropathology 2103; 33: 47-58. DOI: 10.1111/j.1440-1789.2012.01329.x. 査読有。

Takao M. Neuropathology of mild cognitive impairment. Rinsho Shinkeigaku 2012; 52: 851-854. 査読なし.

Takahashi M, Ishikawa K, Sato N, Obayashi M, Niimi Y, Ishiguro T, Yamada M, Toyoshima Y, Takahashi H, Kato T, Takao M, Murayama S, Mori O, Eishi Y, Mizusawa H. Reduced brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA expression and presence of BDNF-immunoreactive granules in the spinocerebellar ataxia type 6 (SCA6) cerebellum. Neuropathology 2102; 32: 595-603. DOI:10.1111/j.1440-1789.2012.01302.x. 査読有.

高尾昌樹 .ラクナ梗塞の病理と発症機序. 神経内科 2013; 74: 217-226. 査読なし.
Takao M, Murayama S, Yoshida Y, Mihara B. Superficial siderosis associated with abundant tau and α -synuclein accumulation. BMJ Case Reports 2011; 1-7. DOI:10.1136/bcr.10.2011.4925. 査読有.

〔学会発表〕(計 8件)

伊藤慎治, 高尾昌樹, 仁木利郎, 伊藤信夫, 福武敏夫, 下江豊, 深山正久, 村山繁雄. 皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体劣性脳動脈症 (CARASIL) 遺伝子診断された3剖検例を用いた病理学的検討. 第102回日本病理学会総会. 2013/6/6-6/8

有馬邦正, 武田伸一, 丸山英二, 松下一章, 木原章子, 服部功太郎, 柿田明美, 豊島靖子, 村山繁雄, 高尾昌樹, 富田博秋, 手嶋豊, 磯部哲, 佐藤雄一郎, 伏木次次, 辻村貴子, 佐藤啓造, 丹羽真一, 武藤香織, 井上悠輔, 辰井聡子, 伊藤雅之, 黒木規臣, 石川 正憲, 齋藤祐子, Lin Crystal. ブレインバンク研究班 ブレインバンク (BB) に関する調査研究(文科省脳科学研究戦略推進プログラム脳基盤研究)の結果概要報告. 第54回日本神経病理学会総会学術研究会. 2013/4/24-4/26

高尾昌樹 .軽度認知障害の神経病理. 第53回日本神経学会総会. 2012/5/22-5/25

高尾昌樹 .軽度認知障害の背景にある神経病理所見とは. 第3回日本血管性認知障害研究会(招待講演). 2012/9/8

高尾昌樹 .シンポジウムII 「進行性失語」神経病理基盤に関する今日理解. 第36回日本高次機能障害学会学術総会. 2012/11/22-11/23

Takao M, Spina S, Murrell J, Epperson F, Glazier B, Farlow M, Unverzagt F, Saykin S, Yoder K, Risacher S, Kepe V,

Barrio J. New Observations in Gerstmann-Straussler-Scheinker Disease Associated with the PRNP A117V Mutation. The 88th Annual meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc. 2012/6/21-6/24

Murrell J, Mehta R, Bigio E, Cairns N, Cochran E, Gitelman D, Head E, Leverenz J, Poon W, Takao M, Weintraub S, Ringman J, Ghetti B. Clinical and Neuropathologic Heterogeneity in PSEN1 A431E. The 88th Annual meeting of the American Association of Neuropathologists, Inc. 2012/6/21-6/24

伊藤慎治, 高尾昌樹, 野上茜, 舟辺さやか, 初田 裕幸, 赤津裕康, 下江豊, 福武敏夫, 村山繁雄. 皮質下梗塞と白質脳症を伴う常染色体劣性脳動脈症 (CARASIL)の54歳男性剖検例. 第98回日本神経病理学会関東地方会. 2011/8/7

〔図書〕(計 1件)

高尾昌樹 .脳血管性認知症 田中耕太郎, 高島修太郎 編. 必携脳卒中ハンドブック 改訂第2版. 診断と治療社. 357-361

6. 研究組織

(1)研究代表者

高尾昌樹 (TAKAO, Masaki)

地方独立行政法人・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: 50245487

(2)研究分担者

齋藤祐子 (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

研究協力者

伊藤慎治 (ITO, S)

虎ノ門病院病理・医師