

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 23 日現在

機関番号：82609

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2015

課題番号：24500429

研究課題名(和文) 認知症疾患の原因となる異常蛋白質蓄積の伝播仮説に基づく実験的な病態の解析

研究課題名(英文) Pathological study of abnormal protein accumulation and its propagation in the brain of patients with dementia

研究代表者

秋山 治彦 (AKIYAMA, Haruhiko)

公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・参事研究員

研究者番号：20231839

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：認知症疾患の多くは脳における異常な凝集蛋白質の蓄積が原因で生じる。この異常蛋白質蓄積は疾患の進行に伴い神経解剖学的に整然とした拡がり方をすることから、病変の拡がりや神経回路との関連が指摘されている。本研究では剖検脳組織の解析により、アルツハイマー病とその関連疾患である神経原線維優位型認知症の側坐核におけるタウ蛋白質の異常凝集・蓄積が、側坐核に神経線維を送る主要な部位である海馬CA1と海馬支脚におけるタウ蓄積の程度と密接に関係することを明らかにした。この結果は、タウ蓄積病変の拡大が神経回路を介して生じることを示唆している。

研究成果の概要(英文)：The major cause of dementia is neurodegenerative diseases in which abnormally aggregated proteins form insoluble deposits in the brain. The distribution of these protein aggregates is consistent with the neuroanatomical architecture of the brain, a finding that suggests expansion of the lesions through the neural circuits. In Alzheimer's disease, Abeta and tau are the principal proteins that are deposited in the brain. Tangle-predominant dementia (TPD) is characterized by heavy accumulation of tau in the limbic structures and virtual absence of Abeta. The nature of tau aggregates in TPD is similar to that in AD. We found that tau accumulation is much heavier in the nucleus accumbens in TPD than AD. In TPD, tau accumulation is heavier than AD in the hippocampal CA1 and the subiculum, the brain regions that give rise to significant projections to the nucleus accumbens. The finding supports a notion that the process of tau aggregation propagates through the neural circuits.

研究分野：脳神経科学(認知症の原因となる神経変性疾患の病理学)

キーワード：認知症 病理 異常蓄積蛋白 伝播

1. 研究開始当初の背景

神経変性型の認知症疾患は、いくつかの蛋白質 - A, tau, α -synuclein, TDP-43 など - が構造変化をきたして脳に異常蓄積すること (proteinopathy) により発病する。しかし、これらの異常蛋白質蓄積が疾患ごとにきわめて特徴的な分布を示し、しかも長い年月をかけて神経解剖学的に一定の順で脳内に拡がること、たとえば全例に A と tau の異常蓄積が生じる Alzheimer 病 (Alzheimer's disease: AD) の約半数において、primary にはパーキンソン病 / Lewy 小体型認知症 (Dementia with Lewy bodies: DLB) の病因蛋白質と考えられる α -synuclein が蓄積し、さらに約 3 分の 1 の症例では前頭側頭葉変性症 (Frontotemporal lobar degeneration: FTLD) に特徴的な TDP-43 も蓄積するなど、異常蓄積の重複 (proteinopathy overlap) がしばしば認められること、同じ tau の蓄積でも AD/DLB の形をとる以外に、Pick 球を伴う前頭側頭葉変性症 (FTLD-tau(Pick)) や皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration: CBD)、進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy: PSP)、嗜銀顆粒性認知症 (argyrophilic grain dementia: AGD) など多様な疾患で多様な蓄積形態をとったりアイソフォーム特異性があったりすること、など、蛋白質の構造変化 ~ 凝集という単純なパラダイムだけでは説明することはできない問題が多数存在する。

2. 研究の目的

これら異常蛋白質蓄積を伴う変性疾患の剖検脳について、近年注目されている伝播仮説をもとに組織病理学的ならびに in vitro 実験を組み合わせた生化学的解析を行い、脳病変の拡がりや神経解剖学に従う傾向があること、異常蓄積蛋白質の重複があること、疾患によって蓄積蛋白質にアイソフォームや異常構造の特異性があること、等に関わる新たな知見を得る。

3. 研究の方法

AD, DLB, FTLD-tau(Pick), FTLD-TDP, 嗜銀顆粒性認知症 (AGD)、進行性核上性麻痺 (PSP)、大脳皮質基底核変性症 (CBD) 症その他の proteinopathy による認知症疾患例について、異常蛋白質蓄積病変を免疫組織化学染色による解析を行う。また病理組織学的に確認した症例の凍結脳当該部位から界面活性剤 (sarkosyl) 不溶画分を精製し、シードとして、培養細胞、あるいはトランスジェニックマウス (Tg) 脳に投与、投与したシードの性格 (donor 疾患や部位など) により生じる違

いを解析する。

4. 研究成果

1) これまでに蓄積された変性型認知症疾患症例について、遡って、異常蛋白質蓄積病変、主として tau と TDP-43 の免疫組織化学染色を進めた (相当数が銀染色により評価されていたため)。その過程で、最近、Primary Age Related Tauopathy (PART) という概念に包括されるようになった、神経原線維変化優位の認知症 (Tangle Predominant Dementia: TPD) の側坐核に、従来知られていなかった異常リン酸化 tau 陽性神経細胞の出現を認めた。これは AD の側坐核よりもはるかに高頻度であった。この側坐核の tau 陽性細胞は、近接切片の Gallyas-Braak 染色標本ではほとんど観察されなかった。

凍結脳側坐核から sarkosyl 不溶画分を調製し、脱リン酸化の後 immunoblot を行ったところ、TPD の側頭葉皮質や AD と同様、6 バンドが認められ、3R+4R パターンであることを確認した。一方、免疫電顕では明確な fibril を形成している部位は稀で、免疫反応は構造が不明瞭なライソゾーム様の部位に多く見られた。

側坐核および尾状核の tau 蓄積の出現における TPD と AD との差異は、両疾患の海馬および大脳新皮質における tau 蓄積分布の違い (大脳新皮質: AD > > TPD, 嗅内皮質: AD > TPD, 海馬 CA1・海馬支脚: AD < TPD) と、これらの部位と側坐核 / 尾状核との神経線維連絡とから説明が可能である。

線条体内部には striosome/matrix と呼ばれる神経化学的にヘテロな部位が存在し、それぞれへの大脳皮質、海馬からの投射に量的な差があることが知られている。今回、TPD における側坐核の tau 異常蓄積もまだらに出現し、それが隣接切片の tyrosine hydroxylase 染色との対比から、striosome/matrix の構造に一致した不均一性であることがわかった。これも TPD 側坐核における tau 異常蓄積が、同疾患において海馬 CA1・支脚の tau 蓄積が AD よりも高度であることと密接に関係する変化であることを示す所見と考えられる。

2) 本研究のもう一つの目的であった、in vitro 実験系との組合せによる異常蓄積蛋白質解析では有意な結果を得ることができなかった。剖検脳 sarkosyl 不溶画分由来の試料を凝集シードとして培養細胞に投与することにより、単なる過剰発現のみの場合と比べて凝集形成は促進するが、recombinant の蛋白質を凝集・線維化させたシードを用いた場合と比較すると著しく効率が悪く、さらに、複数の症例間や部位間において比較が可能な

ほど定量的な安定性,再現性が得られなかった。剖検脳 sarkosyl 不溶画分における tau 等の異常蓄積蛋白は,immunoblot では大量に含まれているように見えるが,実際に LC/MS/MS で解析してみると断片を検出する頻度は決して高くはないとされ,効率よく,かつ大量に試料を調製できる技術の開発が必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計17件)

1. Nonaka T, Suzuki G, Tanaka Y, Kametani F, Hirai S, Okado H, Miyashita T, Saitoe M, Akiyama H, Masai H, Hasegawa M. Phosphorylation of TAR DNA-binding Protein of 43 kDa (TDP-43) by Truncated Casein Kinase 1 Triggers Mislocalization and Accumulation of TDP-43. *J Biol Chem*. 2016 Mar 11;291(11):5473-83. doi: 10.1074/jbc.M115.695379. Epub 2016 Jan 14. (査読あり)
2. Taniguchi-Watanabe S, Arai T, Kametani F, Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Tarutani A, Murayama S, Saito Y, Arima K, Yoshida M, Akiyama H, Robinson A, Mann DM, Iwatsubo T, Hasegawa M. Biochemical classification of tauopathies by immunoblot, protein sequence and mass spectrometric analyses of sarkosyl-insoluble and trypsin-resistant tau. *Acta Neuropathol*. 2016 Feb;131(2):267-80. doi: 10.1007/s00401-015-1503-3. Epub 2015 Nov 4. (査読あり)
3. Kimura T, Hatsuta H, Masuda-Suzukake M, Hosokawa M, Ishiguro K, Akiyama H, Murayama S, Hasegawa M, Hisanaga S. The Abundance of Nonphosphorylated Tau in Mouse and Human Tauopathy Brains Revealed by the Use of Phos-Tag Method. *Am J Pathol*. 2016 Feb;186(2):398-409. doi: 10.1016/j.ajpath.2015.10.009. Epub 2015 Dec 11. (査読あり)
4. Sonoda Y, Tooyama I, Mukai H, Maeda K, Akiyama H, Kawamata T. S6 kinase phosphorylated at T229 is involved in tau and actin pathologies in Alzheimer's disease. *Neuropathology*. 2015 Nov 18. doi: 10.1111/neup.12275. [Epub ahead of print] (査読あり)
5. Takahashi M, Miyata H, Kametani F, Nonaka T, Akiyama H, Hisanaga S, Hasegawa M. Extracellular association of APP and tau fibrils induces intracellular aggregate formation of tau. *Acta Neuropathol*. 2015 Jun;129(6):895-907. doi: 10.1007/s00401-015-1415-2 (査読あり)
6. Hosokawa M, Arai T, Masuda-Suzukake M, Kondo H, Matsuwaki T, Nishihara M, Hasegawa M, Akiyama H. (2015) Progranulin Reduction Is Associated With Increased Tau Phosphorylation in P301L Tau Transgenic Mice. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2015 Feb;74(2):158-65. doi: 10.1097/NEN.000000000000158. (査読あり)
7. Hasegawa M, Watanabe S, Kondo H, Akiyama H, Mann DM, Saito Y, Murayama S. (2014) 3R and 4R tau isoforms in paired helical filaments in Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol*. 127(2):303-5. doi: 10.1007/s00401-013-1191-9. (査読あり)
8. Hosokawa M, Arai T, Yamashita M, Tsuji H, Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Tamaoka A, Hasegawa M, Akiyama H. (2014) Differential diagnosis of amyotrophic lateral sclerosis from Guillain-Barre syndrome by quantitative determination of TDP-43 in cerebrospinal fluid. *Int J Neurosci*. 124(5):344-349. doi: 10.3109/00207454.2013.848440. (査読あり)
9. Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, Kubo M, Shimosawa A, Akiyama H, Hasegawa M. (2014) Pathological alpha-synuclein propagates through neural networks. *Acta Neuropathol Commun*. 2014 2:88. doi: 10.1186/PREACCEPT-1296467154135944. (査読あり)
10. Kawakami I, Hasegawa M, Arai T, Ikeda K, Oshima K, Niizato K, Aoki N, Omi K, Higashi S, Hosokawa M, Hirayasu Y, Akiyama H. (2014) Tau accumulation in the nucleus accumbens in tangle-predominant dementia. *Acta Neuropathol Commun*. 2(1):40. doi: 10.1186/2051-5960-2-40. (査読あり)
11. Yamashita M, Nonaka T, Hirai S, Miwa A, Okado H, Arai T, Hosokawa M, Akiyama H, Hasegawa M. (2014) Distinct pathways leading to TDP-43-induced cellular dysfunctions. *Hum Mol Genet*. 23(16):4345-4356. doi:

- 10.1093/hmg/ddu152 (査読あり)
12. Dan A, Takahashi M, Masuda-Suzukake M, Kametani F, Nonaka T, Kondo H, Akiyama H, Arai T, Mann DMA, Saito Y, Hatsuta H, Murayama S, Hasegawa M (2013) Extensive deamidation at asparagine residue 279 accounts for weak immunoreactivity of tau with RD4 antibody in Alzheimer ' s disease brain. *Acta Neuropathol Comm* 1: 54 Doi: 10.1186/2051-5960-1-54 (査読あり)
 13. Higashi S, Kabuta T, Nagai Y, Tsuchiya Y, Akiyama H, Wada K. (2013) TDP-43 associates with stalled ribosomes and contributes to cell survival during cellular stress. *J Neurochem* 126:288-300. doi: 10.1111/jnc.12194. (査読あり)
 14. Kobayashi Z, Arai T, Yokota O, Tsuchiya K, Hosokawa M, Oshima K, Niizato K, Akiyama H, Mizusawa H (2013) Atypical FTLN-FUS associated with ALS-TDP: A case report. *Neuropathology* 33: 83-86. doi: 10.1111/j.1440-1789.2012.01325.x. (査読あり)
 15. Kobayashi Z, Kawakami I, Arai T, Yokota O, Tsuchiya K, Kondo H, Shimomura Y, Haga C, Aoki N, Hasegawa M, Hosokawa M, Oshima K, Niizato K, Ishizu H, Terada S, Onaya M, Ikeda M, Oyanagi K, Nakano I, Murayama S, Akiyama H, Mizusawa H. (2013) Pathological features of FTLN-FUS in a Japanese population: Analyses of nine cases. *J Neurol Sci* 335:89-95. doi: 10.1016/j.jns.2013.08.035. (査読あり)
 16. Masuda-Suzukake M, Nonaka T, Hosokawa M, Oikawa T, Arai T, Akiyama H, Mann D, Hasegawa M (2013) Prion-like spreading of pathological alpha-synuclein in brain. *Brain* 136(Pt 4):1128-1138. doi:10.1093/brain/awt037. (査読あり)
 17. Nonaka T, Masuda-Suzukake M, Arai T, Hasegawa Y, Akatsu H, Obi T, Yoshida M, Murayama S, Mann DM, Akiyama H, Hasegawa M. (2013) Prion-like properties of pathological TDP-43 aggregates from diseased brains. *Cell Rep* 4:124-134. doi: 10.1016/j.celrep.2013.06.007. (査読あり)
- [学会発表] (計 19 件)
1. 秋山治彦 : 神経炎症 in シンポジウム 「 認知症治療に向けた新たな病態の理解 」 . 第 33 回日本神経治療学会 [2015.11.27, 名古屋国際会議場, 愛知県名古屋市]
 2. 細川雅人, 新井哲明, 近藤ひろみ, 長谷川成人, 秋山治彦 : グラニューリン変異脳における神経変性疾患関連蛋白質の重複蓄積 . 第 34 回日本認知症学会 [2015.10.3, リンクステーションホール青森, 青森県青森市]
 3. 朝岡俊泰, 河上 緒, 女屋光基, 三村 将, 新井信隆, 秋山治彦 : アルコール性認知症の臨床像を呈した, 非定型的タウオパチーの 1 剖検例 . 第 34 回日本認知症学会 [2015.10.3, リンクステーションホール青森, 青森県青森市]
 4. 細川雅人, 新井哲明, 増田-鈴掛雅美, 近藤ひろみ, 松脇貴志, 西原真杉, 長谷川成人, 秋山治彦 : プログラニューリンの減少は tau のリン酸化を亢進する . 第 33 回日本認知症学会 [2014.11.30, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市]
 5. 秋山治彦 : 神経細胞と脳の炎症 . 第 33 回日本認知症学会 (会長講演) [2014.11.29, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市]
 6. 長谷川成人, 團彩帆, 高橋宗聖, 近藤ひろみ, 齊藤祐子, 初田裕幸, 村山繁雄, 秋山治彦 : AD 脳に蓄積する 4R タウの N279 の脱アミド化 . 第 55 回日本神経病理学会 [2014.6.7, 学術総合センター, 東京都千代田区]
 7. 鈴木寿臣, 女屋光基, 野島照雄, 富永格, 織田辰郎, 三村将, 小林智則, 長谷川成人, 秋山治彦 : タウ P301L 変異が確認された FTDP-17 の 1 例 . 第 55 回日本神経病理学会 [2014.6.7, 学術総合センター, 東京都千代田区]
 8. 小林 禅, 河上 緒, 新井哲明, 横田修, 大島健一, 新里和弘, 秋山治彦, 水澤英洋 : 本邦における behavioral variant of frontotemporal dementia (bvFTD) 35 例の臨床病理像 . 第 55 回日本神経病理学会 [2014.6.6, 学術総合センター, 東京都千代田区]
 9. 東 晋二, 羽賀千恵, 河上緒, 長谷川成人, 大島健一, 新里和弘, 女屋光基, 秋山治彦 : 外傷性脳損傷の脳における神経変性疾患関連たんぱく質の凝集体分布の検討 . 第 55 回日本神経病理学会 [2014.6.6, 学術総合センター, 東京都千代田区]
 10. 池田智香子, 横田修, 長尾茂人, 石津秀樹, 森定ゆみ, 寺田整司, 中島良彦, 秋

- 山治彦,内富庸介:運動症状及び非運動症状で初発した皮質基底核変性症における臨床病理学的特徴の比較検討.第55回日本神経病理学会 [2014.6.6, 学術総合センター, 東京都千代田区]
11. 長谷川成人, 近藤ひろみ, 齊藤祐子, 初田裕幸, 村山繁雄, 秋山治彦: AD 脳に蓄積するタウの解析. 第 55 回日本神経病理学会 [2014.6.6, 学術総合センター, 東京都千代田区]
 12. 新井哲明, 河上緒, 小林禅, 野中隆, 長谷川成人, 細川雅人, 秋山治彦, 池田研二, 朝田隆. タウオパチー病理変化の基礎. 第 32 回日本認知症学会 [2013.11.10, キッセイ文化ホール, 長野県松本市]
 13. 河上緒, 新井哲明, 新里和弘, 大島健一, 秋山治彦. 舞踏病様不随意運動を呈する FTLD-FUS の臨床病理学的検討. 第 32 回日本認知症学会 [2013.11.8, キッセイ文化ホール, 長野県松本市]
 14. 河上緒, 長谷川成人, 新井哲明, 勝瀬大海, 平安良雄, 秋山治彦. Tangle-predominant dementia の側坐核における病理学的検討. 第 40 回日本脳科学会 [2013.09.28, アクトシティー浜松, 静岡県浜松市]
 15. 望月葉子, 川田明広, 橋本智代, 秋山治彦, 川上秀史, 小森隆司, 小柳清光, 水谷俊雄, 松原四郎. FUS R521G 変異を伴った家族性筋萎縮性側索硬化症の 1 剖検例. 第 54 回日本神経病理学会 [2013.04.26, タワーホール船堀, 東京都江戸川区]
 16. 野中隆, 鈴掛雅美, 新井哲明, 赤津裕泰, 小尾智一, 吉田眞理, 村山繁雄, David Mann, 秋山治彦, 長谷川成人. 患者脳に蓄積した TDP-43 のプリオン様性質. 第 54 回日本神経病理学会 [2013.04.25, タワーホール船堀, 東京都江戸川区]
 17. 鈴掛雅美, 野中隆, 細川雅人, 笈川貴行, 新井哲明, 秋山治彦, David Man, 長谷川成人. レビー小体型認知症患者脳不溶画分の脳内接種は野生型マウス脳にレビー小体様病理を形成させる. 第 54 回日本神経病理学会 [2013.04.25, タワーホール船堀, 東京都江戸川区]
 18. 河上緒, 新井哲明, 新里和弘, 大島健一, 秋山治彦. 32 歳時に抑うつ症状で発病した舞踏病様不随意運動を伴った認知症例. 第 54 回日本神経病理学会 [2013.04.25, タワーホール船堀, 東京都江戸川区]
 19. 河上緒, 長谷川成人, 新井哲明, 青木直哉, 勝瀬大海, 東晋二, 大島健一, 新里和弘, 近藤ひろみ, 羽賀千恵, 下村洋子, 山下万貴子, 鈴木京子, 平安良雄, 秋山

治彦. Tangle-predominant dementia の側坐核における病理学的検討. 第 54 回日本神経病理学会 [2013.04.25, タワーホール船堀, 東京都江戸川区]

〔図書〕(計 0 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
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋山治彦 (AKIYAMA, Haruhiko)
公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・参事研究員
研究者番号: 20231839

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

長谷川成人 (HASEGAWA, Masato)
公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・分野長
研究者番号: 10251232

細川雅人 (HOSOKAWA, Masato)
公益財団法人東京都医学総合研究所・認知症・高次脳機能研究分野・主席研究員
研究者番号: 00435116

新井哲明 (ARAI, Tetsuaki)
筑波大学・医学部精神科・教授
研究者番号: 90291145