

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 12 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25461771

研究課題名(和文) 易怒性の目立つグレイン型認知症の認知・運動機能、予後、QOLに関する臨床病理研究

研究課題名(英文) A clinicopathological study on the cognitive and motor function, prognosis, and quality of life of patients with argyrophilic grain disease

研究代表者

池田 智香子 (Ikeda, Chikako)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号：10648231

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：進行性核上性麻痺(PSP)は嗜銀顆粒病(AGD)を高頻度に合併する事が知られているがAGD例におけるPSPに特徴的なタウ病理(神経原線維変化及びtufted astrocyte)の頻度と意義は知られていない。この事を明らかにするため、AGD19例、PSP9例、対照20例の前頭葉と皮質下諸核におけるタウ病理を検討した。その結果、AGDが進展するにつれてPSPに特徴的なタウ病理が出現し増加する事が示唆された。この事は異なる疾患と考えられているAGDとPSPの病変形成に共通のプロセスが存在する可能性を示していると考えられた。今回は臨床情報が少なく臨床病理関連の検討ができなかったため、今後検討を要す。

研究成果の概要(英文)：Progressive supranuclear palsy (PSP) cases frequently have argyrophilic grain disease (AGD). However, the frequency of neurofibrillary tangles and tufted astrocytes in the subcortical nuclei and frontal cortex in AGD cases remains unclear. To address these issues, we examined tau-positive inclusions in these regions in 19 AGD cases, nine pathologically-confirmed PSP cases, and 20 controls. Our results suggested that the progression of AGD may be associated with the development of PSP-like tau pathologies, and a common pathological process may lie upstream of the occurrence of AGD and PSP pathology, although these diseases have been considered different. In the present study, the clinicopathological correlation between mild tau pathology in the subcortical nuclei and clinical features could not be examined, because detailed neurological data on our AGD cases were not available. Further studies will be needed.

研究分野：精神科

キーワード：嗜銀顆粒病 進行性核上性麻痺 皮質下諸核 タウ tufted astrocyte

1. 研究開始当初の背景

嗜銀顆粒病 (argyrophilic grain disease: AGD) は、70 歳以上の認知症の有無を問わない連続剖検例約 10% に認められる神経変性疾患である。病理診断は Gallyas 染色で嗜銀性を呈し 4 リピート (4R) タウの選択的に蓄積した「グレイン」と呼ばれる顆粒状構造に基づいて行われる。AGD の臨床像は高度病変例では易怒性の目立つ認知症を発症するため、治療やケア・リハビリが困難となりやすい。AGD 病変の運動機能への影響はほとんど知られていない。

AGD は、AGD 同様に 4R タウが蓄積し臨床的に歩行障害といった運動障害が前景に立ちやすい進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy: PSP) を高頻度に合併することが知られている。また、AGD 例の一部は前頭葉や皮質下諸核に PSP に特徴的な病変 (神経原線維変化 [neurofibrillary tangle: NFT] 及び tufted astrocyte [TA]) を有することが観察されている。しかし、AGD 例における運動機能の影響を与える部位のタウ病理の頻度や分布に関しての詳細な検討、及び臨床病理相関の検討は未だ報告がない。

易怒性や運動障害に関する臨床病理相関の検討は、AGD や PSP の病態を理解する上で重要であり、AGD の経過を予測し、適切なケア・リハビリテーションの介入を予測する上でも重要であると考えられる。

2. 研究の目的

AGD 例の前頭葉及び皮質下諸核における PSP 類似タウ病理の組織病理学的特徴を明らかにすること、また、ケア・リハビリの阻害因子である易怒性と運動障害に関連する病変を検討し、AGD の予後、リハビリテーション、QOL の予測といった臨床に役立つ知見を得ることである。

3. 研究の方法

(1) 対象

岡山大学精神科の剖検シリーズから PSP の病理診断基準を満たさない AGD 20 例を抽出した。まず予備的検討として AGD 20 例の前頭葉皮質と皮質下諸核において AT8 (タウ) 陽性 Gallyas 陽性 TA、形態的に TA に類似した AT8 陽性 Gallyas 陰性アストロサイト封入体 (TA-like astrocytic inclusion: TAI)、

皮質基底核変性症の病理である astrocytic plaque の有無を検索した。その結果 1 例で少数の astrocytic plaque が認められ、この例は以後の検討から除外した。残りの 19 例中 5 例 (26.3%) が少数の TA と TAI を、6 例 (31.6%)

が少数の TAI のみを有していた。この結果を踏まえて本研究では (1) TA や TAI を欠く AGD 群 (8 例)、(2) TA 又は TAI を有する AGD-TA 群 (11 例)、(3) 病理学的 PSP 群 (9 例)、(4) 対照群 (20 例) の 4 群を設定した。本研究は岡山大学、南岡山医療センター、慈恵病院、東京都臨床医学総合研究所の倫理委員会の承認を得た。

(2) 一般染色と免疫染色

前頭葉、側頭葉、頭頂葉、後頭葉、基底核、脳幹、小脳をそれぞれ含む 10%ホルマリン固定パラフィン包埋標本から 10 µm 厚切片を作成し、ヘマトキシリンエオジン染色、Klüver-Barrera 染色、Gallyas-Braak 銀染色、Bielschowsky 銀染色を行った。免疫染色は一次抗体にリン酸化依存性抗タウ抗体 (AT8, AT100, AT180, AT270)、リン酸化非依存性抗タウ抗体 (T46)、抗 3 リピート (3R) タウ抗体 (RD3)、抗 4R タウ抗体 (RD4, anti-4R tau)、抗 A 抗体 (12B2)、抗リン酸化シヌクレイン抗体 (psyn#64)、抗リン酸化 TDP-43 抗体 (ps409/410-2) を用い通常の ABC 法にて DAB 又は NiCl₂ で発色させた。12B2 は 98%ギ酸、psyn#64 と ps409/410-2 はオートクレーブ、RD3, RD4, anti-4R tau は 98%ギ酸とオートクレーブで前処理を行った。AGD-TA と PSP の代表例について Gallyas 銀染色と AT8 染色の 2 重染色も行いタウ陽性のアストロサイト病変の染色性を検討した。

(3) 病変の評価

前頭葉皮質、尾状核、被殻、淡蒼球、視床下核、動眼神経核、黒質、橋核、下オリブ核、小脳歯状核における NFT を AT8 染色標本を用いて 8 段階で半定量評価した (stage 0: なし, stage 1: 1 本以上の threads/解剖学的領域, stage 2: NFT1 個/解剖学的領域, stage 3: NFT2-4 個/解剖学的領域, stage 4: NFT1 個/200 倍視野, stage 5: NFT2-10 個/200 倍視野, stage 6: NFT11-20 個/200 倍視野, stage 7: NFT21 個以上/200 倍視野)。

TA も同部位で Gallyas 染色標本を用い 7 段階で評価した (stage 0: なし, stage 1: 1 個/解剖学的領域, stage 2: 2-4 個/解剖学的領域, stage 3: 1 個/200 倍視野, stage 4: 2-10 個/200 倍視野, stage 5: 11-20 個/200 倍視野, stage 6: 21 個以上/200 倍視野)。

TAI は AT8 単染色標本上では TA と区別できない。よって以後は Gallyas 染色で嗜銀性が確認された場合は TA、確認されていない場合は TA と TAI を区別せずに「タウ陽性アストロサイト病変」と総称した。タウ陽性アストロサイト病変を AT8 染色を用いて TA と同様に評価した。

神経細胞脱落は 4 段階 (stage 0: なし, stage 1: 軽度, stage 2: 中等度, stage 3: 高

度)で評価した。グレインは Saito らのステージ (stage 0-III) を用いて評価した。アルツハイマー病変, レビー小体, TDP-43 病理は国際的な規定により評価した。

(4) 共焦点レーザー顕微鏡による観察

AGD-TA と PSP の代表例の前頭葉皮質で, 一次抗体に AT8 と抗 GFAP 抗体, 二次抗体に AlexaFluor 488 (抗 mouse IgG) と AlexaFluor 594 (抗 rabbit IgG) を用い共焦点顕微鏡 LSM780 でタウ陽性アストロサイト病変を観察した。

(5) タウの生化学的分析とタウ遺伝子解析

AGD1 例, AGD-TA1 例, PSP4 例の新皮質, 基底核, 脳幹の凍結試料について抗タウ抗体 (T46) を用いてウェスタンブロットを行った。又, 同症例のタウ遺伝子の H1/H2 ハプロタイプ解析を行った。

(6) 統計解析

二群比較には Mann-Whitney U 検定と Fisher 直接確率法, 対照群と他の二群以上の比較には Kruskal-Wallis 検定と Steel 検定, 三群間以上の比較には Kruskal-Wallis 検定と Steel-Dwass 検定を使用した。相関は Spearman の順位相関係数を用いて検討した。統計解析はエクセルを用いて行い $P < 0.05$ を有意とした。

4. 研究成果

(1) 全例の基本情報

性差, 脳重, Braak NFT stage, Thal A phase に 4 群間で有意差はなかった。AGD-TA 群の死亡時年齢は, PSP 群と対照群よりも有意に高かった ($P = 0.0064, 0.0081$)。

(2) AGD, AGD-TA, PSP, 対照各群における NFT の分布

AGD 群と AGD-TA 群で NFT を有する症例の頻度が最も高かったのは黒質で, 次いで被殻, 淡蒼球, 視床下核, 動眼神経核, 橋核であった。NFT 量を対照群と比較すると AGD 群では淡蒼球と橋核で ($P < 0.05$), AGD-TA 群では前頭葉, 線条体, 淡蒼球, 視床下核, 動眼神経核, 橋核, 下オリブ核, 小脳歯状核で ($P < 0.05$), PSP 群では全部位で ($P < 0.0001$) 有意に多かった。

(3) AGD, AGD-TA, PSP, 対照各群における神経細胞脱落の程度

PSP 群の神経細胞脱落は対照群と比べて

全部位で有意に高度で, AGD-TA 群では動眼神経核で有意に高度であった (全て $P < 0.01$)。AGD 群と対照群の間に有意差はなかった。(4) AGD-TA 群における TA と TAI の分布

TA は NFT を皮質下諸核により広範囲に有する例に出現する傾向があった。TA と TAI は共に PSP と同じく被殻, 尾状核, 前頭葉皮質に好発していた。

(5) AGD-TA, PSP 例における TA 及び TAI の形態と免疫組織化学的特徴

AT8 単染色では Gallyas 陽性 TA を欠く AGD-TA 例では微細なタウ陽性顆粒状構造がアストロサイトの核周囲に均一又は放射状に散在する一方, Gallyas 陽性 TA を有する AGD-TA 例では核に近い部位にタウが多く蓄積する傾向を認め形態的に PSP の TA と類似していた。AT8-Gallyas 銀二重染色では TA と TAI は AGD-TA 例と PSP 例の両方に認められた。TAI から TA に成熟する過程を反映していると考えられる異常蓄積したタウの一部だけが嗜銀性を呈する TA も両疾患でしばしば観察された。

(6) AGD stage ごとの NFT 及びタウ陽性アストロサイト病変量の検討

AGD stage の進行と共に皮質下諸核における NFT 及びタウ陽性アストロサイト病変の量は増加し, 一部のステージ間に有意差があった。

(7) AGD, AGD-TA 群における AGD stage, Braak NFT stage, 皮質下の NFT 量, タウ陽性アストロサイト病変量の相関

AGD と AGD-TA 例について病変量の間相関を Spearman の順位相関係数を用いて検討した。アルツハイマー病理の NFT は 3R タウ陽性 NFT の Braak stage を用いる事で AGD や PSP の神経細胞内タウ蓄積と区別した。AGD stage と皮質下の NFT 量の間 (尾状核: $r = 0.59, P = 0.007$; 被殻: $r = 0.57, P = 0.011$; 淡蒼球: $r = 0.50, P = 0.029$; ルイ体: $r = 0.84, P = 0.0002$; 黒質: $r = 0.72, P = 0.0005$), AGD stage とタウ陽性アストロサイト病変量の間 (尾状核: $r = 0.62, P = 0.0046$; 被殻: $r = 0.47, P = 0.041$; ルイ体: $r = 0.57, P = 0.034$), 及び皮質下 NFT 量とタウ陽性アストロサイト病変量の間 (尾状核: $r = 0.74, P = 0.0003$; 被殻: $r = 0.54, P = 0.018$) 有意な相関を認めた。AD 病理である Braak stage と他の 3 変量の間には有意な相関を認めなかった。

(8) 共焦点レーザー顕微鏡によるタウ陽性アストロサイト病変の観察

Gallyas 陽性 TA を欠く AGD-TA 例では GFAP 発現が弱くタウとの共存は稀であった。Gallyas 陽性 TA を有する AGD-TA 例ではタウは核に近いアストロサイト突起近位部で、PSP 例ではタウは同突起の近位・遠位部の両方で、GFAP としばしば共存していた。

(9) タウのウェスタンブロットとタウ遺伝子解析

PSP 例では 4R タウを代表する 64, 68kDa バンドと PSP に特異的とされる 33kDa バンドを認めた。AGD 例、AGD-TA 例でも PSP と同様のバンドを認めた。タウ遺伝子を検索した全ての PSP、AGD-TA、AGD 例は H1/H1 ハプロタイプであった。

(1)~(9)の結果より、以下のことが考えられた。

AGD における皮質下諸核の NFT 量は PSP より少ないが、分布は PSP と一致していた。AGD の皮質下諸核では、NFT は黒質、次いで線条体、淡蒼球、視床下核、動眼神経核、橋核に出現し、更に下オリブ核と小脳歯状核に形成される可能性が考えられた。

AGD におけるタウ陽性アストロサイト病変は PSP に特異的とされる Gallyas 陽性の TA に限っても 26.3%、その早期病変と考えられる TAI を含めると約 50% の症例に認められた。これらのタウ陽性アストロサイト病変は特に TA で NFT をより広範囲に有する例に出現する傾向があり、好発部位は前頭葉と線条体で PSP と共通だった。これらの結果は AGD ではしばしば皮質下諸核に NFT が出現し、更に PSP と同じ分布で TAI と TA が形成される可能性を示唆している。

AGD ではグレインは辺縁系から新皮質に広がるが、本研究では NFT やタウ陽性アストロサイト病変は皮質下諸核に出現し、グレインの拡がりや皮質下タウ病理の量に正の相関が認められた。これは、形態も解剖学的分布も異なるグレインと皮質下タウ病理の形成に関わる共通の病態が存在し、グレインが進行するにつれて皮質下諸核に PSP 病変が出現し、高度化する可能性を示唆している。

今回の検討では AGD の進行と共に皮質下諸核に軽度の PSP 病理が出現・高度化することが示された。この事は AGD 例が長く生存した場合に皮質下タウ病理の高度化により各例が PSP の臨床症状を呈するようになる可能性を推測させる。しかし、AGD は 70 歳以上の高齢者で増加する事、逆に PSP の高齢発症は一般的ではない事、本研究で AGD-TA 群の方が PSP 群より死亡時年齢が有意に高かった

PSP より病変が軽い事を考えると、AGD 例が長期に生存することで PSP を発症する症例は多くはないと推測される。ただし、AGD の皮質下タウ病理が高齢者の運動機能に影響する可能性は否定できない。

今回の研究では各症例の臨床症状及び、画像情報が十分に得られなかったため、臨床病理相関の検討ができなかった。これらの検討は AGD 例のリハビリテーションや QOL 予測に役立つと考えられるため、皮質下タウ病理の臨床像への影響は今後検討される必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Chikako Ikeda, Osamu Yokota, Shigeto Nagao, Hideki Ishizu, Etsuko Oshima, Masato Hasegawa, Yuko Okahisa, Seishi Terada, Norihito Yamada. The Relationship Between Development of Neuronal and Astrocytic Tau Pathologies in Subcortical Nuclei and Progression of Argyrophilic Grain Disease. *Brain Pathol.* 2015 Oct 6. doi: 10.1111/bpa.12319. 査読あり

Chikako Ikeda, Osamu Yokota, Shigeto Nagao, Takashi Haraguchi, Hideki Ishizu, Seishi Terada, Yuetsu Ihara, Haruhiko Akiyama, Yosuke Uchitomi. Corticobasal degeneration initially developing motor versus non-motor symptoms: a comparative clinicopathological study. *Psychogeriatrics.* 2014;14:152-64. doi: 10.1111/psyg.12054. 査読あり

〔学会発表〕(計 5 件)

池田智香子, 横田修, 長尾茂人, 石津秀樹, 寺田整司, 須藤浩一郎, 森定ゆみ, 長谷川成人, 内富庸介. 嗜銀顆粒病における進行性核上性麻痺病理の形成と進展: 免疫組織化学的・生化学的検討. 第 33 回日本認知症学会学術集会, パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市), 2014 年 11 月 30 日

池田智香子, 横田修, 長尾茂人, 石津秀樹, 寺田整司, 原口俊, 須藤浩一郎, 森定ゆみ, 長谷川成人, 内富庸介. 嗜銀顆粒病症例における軽度の進行性核上性麻痺病理に関する検討. 第 55 回日本神経病理学会総会学術研究会, 学術総合センタ

一 (東京都, 千代田区), 2014 年 6 月 6 日

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. 非運動症状及び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総会学術研究会 (東京都, 千代田区), 2014 年 6 月 6 日

池田智香子, 横田修, 長尾茂人, 大島悦子, 原口俊, 石津秀樹, 寺田整司, 井原雄悦, 秋山治彦, 内富庸介. 精神症状で初発する皮質基底核変性症の臨床病理学的検討. 第 32 回日本認知症学会学術集会, キッセイ文化ホール (長野県・松本市), 2013 年 11 月 8 日

池田智香子, 横田修, 武田俊彦, 石津秀樹, 大島悦子, 岸本由紀, 武田直也, 長尾茂人, 坂根克明, 寺田整司, 森定ゆみ, 森定諦, 内富庸介. 初期に行動異常と幻覚を認め, 皮質基底核変性症(CBD)と argyrophilic grain disease(AGD)の病理を有した二剖検例. 第 54 回神経病理学会総会学術研究会, タワーホール船堀 (東京都, 江戸川区), 2013 年 4 月 25 日.

〔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〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 智香子 (Ikeda Chikako)

岡山大学・大学病院・医員

研究者番号: 10648231

(2) 研究分担者

寺田 整司 (Terada Seishi)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号: 20332794

横田 修 (Yokota Osamu)

岡山大学・医学部・客員研究員

研究者番号: 60379732