

令和元年6月18日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04665

研究課題名(和文)多系統萎縮症のステージ分類確立：グリア封入体を基盤とする分子病理学的解析

研究課題名(英文) Stages of glial inclusion pathology in multiple system pathology

研究代表者

山田 光則 (Yamada, Mitsunori)

信州大学・医学部・特任教授

研究者番号：30240039

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 8,100,000円

研究成果の概要(和文)：多系統萎縮症におけるグリア細胞内封入体(GCI)の病態意義について、99例のMSA剖検例を対象に解析した。その結果、GCIは各臨床病型(線条体黒質変性症 SND、オリブ橋小脳萎縮症 OPCA、Shy-Drager症候群 SDS)に特徴的な分布と経時的变化を呈することが判明した。また、SND、OPCAにはそれぞれの多数例が属する通常型に加え、複数の亜型が存在すること、SDSには独自のGCI型を認めたいことが示唆された。さらに、SND、OPCAの通常型について、GCIの経時的变化曲線を明らかにした。これらのGCI曲線を基盤に、SND、OPCAの通常型では4段階のステージ分類が可能となった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多系統萎縮症は非遺伝性脊髄小脳変性症の中で最多の神経変性疾患であるが、その原因、治療法は確立されていない。臨床面における大きな問題は、同病の確定診断が剖検脳の病理学的診断を必要としている点にあり、このため同病が生前に確定診断されることはない。

本研究により、グリア細胞内封入体を基盤とする病期分類が確立された。一方で近年、多系統萎縮症患者からグリア細胞内封入体を画像描出する試みが成功した。この画像診断法が臨床応用されるに至った場合、本研究成果を基盤に、多系統萎縮症の生前における確定診断、病期分類、予後などが可能となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：Multiple system atrophy (MSA) is a sporadic neurodegenerative disease of unknown etiology. There are two major clinical phenotypes: MSA-P with predominant parkinsonian features and MSA-C with predominant cerebellar ataxia. The former is correspond to the previous striatonigral degeneration (SND) and the latter is olivopontocerebellar atrophy (OPCA). Shy-Drager syndrome (SDS) is another subtype of MSA and characterized by the presence of prominent autonomic dysfunctions, but has been discouraged in the recent MSA criteria (Gilman, 1999) because of the commonality of the feature in all forms of MSA. Analyses of 99 MSA brains revealed that GCI was an excellent biomarker representing the degree of disease progress of MSA. GCI profiles in this study revealed the presence of some subtypes in each clinical phenotype. The combination of four GCI curves in restricted brain regions enabled us to classify the MSA progression into four stages.

研究分野：神経病理学

キーワード：多系統萎縮症 脊髄小脳変性症 グリア細胞内封入体 病期分類

## 1. 研究開始当初の背景

多系統萎縮症 (multiple system atrophy, MSA) は、孤発性脊髄小脳変性症のなかで最も多い疾患であり、臨床型の異なる線条体黒質変性症 (striatonigral degeneration, SND), オリブ橋小脳萎縮症 (olivopontocerebellar atrophy, OPCA), ならびに Shy-Drager 症候群 (SDS) の総称である<sup>1)</sup>。自律神経症状がいずれの病型にも認められることから、近年国際的には、診察時にパーキンソニズムが主体の MSA-P, 小脳性運動失調が主体の MSA-C の二つに臨床診断されているが<sup>2, 3)</sup>、自律神経症状を主体とする Shy-Drager 症候群の取り扱いには異論もみられる。MSA は自律神経症状、パーキンソニズム、小脳性運動失調などにより臨床診断されるが、パーキンソン病、進行性核上性麻痺などの鑑別が困難な場合がある。また、画像所見では、橋や被殻の萎縮、橋の十字サイン、被殻外側部のスリット状 T2 高シグナル変化などが MSA の特徴とされているが<sup>4)</sup>、病早期にこれらを根拠に MSA を確定診断することは困難である。近年、様々な治療法が開発されるにつれ、医療費抑制等の社会的観点から疾病の早期診断早期治療が望まれているが、MSA の正確な早期診断には多くの課題が残されている。

## 2. 研究の目的

MSA 脳では、グリア細胞 (主としてオリゴデンドログリア) の胞体内に嗜銀性のグリア封入体 (glial cytoplasmic inclusion, GCI) が形成され、 $\alpha$ -シヌクレインがその主要な構成蛋白質であることが明らかにされた<sup>5, 6)</sup>。 $\alpha$ -シヌクレイン陽性の構造物は変性部位における神経細胞の核ならびに胞体内にも観察されることから、その蓄積は MSA の病態に密接に関連しているものと考えられている<sup>7)</sup>。MSA では GCI が病理学的診断価値の高い分子マーカーとして確立していることから、近年 GCI を描出することで MSA を画像診断する試みが始まっている<sup>8)</sup>。この画像診断の精度、限界等を客観的に検証するには、ヒト剖検脳における GCI の分子病理学的知見の確立が必須である。しかしながら、MSA 脳では GCI が神経変性部位を含む広範な領域に出現することが明らかにされているものの、MSA の病期に対応して GCI の頻度と分布がどのように変化するのか、その経時的変遷パターンは未だ明らかにされていない。さらに MSA の臨床 3 病型における GCI 形成パターンの異同も未解明である。

本研究は剖検脳を対象に MSA の様々な病期における GCI の空間的・量的変化を明らかにすることで、GCI の意義を明らかにするとともに、GCI を基盤とした MSA のステージ分類を確立することを目的とした。本研究により、病理学的根拠に基づく MSA の早期画像診断の開発が促進される。GCI イメージングの分布・量的パターンから、MSA3 病型の鑑別、病期ならびに病態進行速度の把握などが可能となる。さらに、MSA の治療法が開発された場合、GCI 画像による治療効果判定への応用も期待される。

## 3. 研究の方法

信州大学医学部、新潟大学脳研究所、国立病院機構さいがた医療センターの各研究施設で病理検索が開始されてから現在までの期間に病理解剖され、MSA と病理診断された剖検例を検索対象とした。本研究の倫理申請を 3 施設の倫理審査委員会に提出し、それぞれから承認を得た。検索対象剖検例は総計 104 例を確保でき、広範な脳虚血障害を併発した 5 例を除いた 99 例で本研究を行った。

研究対象例の臨床歴を再評価し、対象例を SND 35 例(女性 24, 男性 11, 平均死亡年 68.4 歳, 死亡年齢範囲 56-84 歳), OPCA 51 例(女性 20, 男性 31, 平均死亡年 67.8 歳, 死亡年齢範囲 46-91 歳), SDS 11 例(女性 4, 男性 7, 平均死亡年 63.7 歳, 死亡年齢範囲 54-73 歳)に分類できた。また、臨床診断が MSA 以外 (筋萎縮性側索硬化症および進行性核上性麻痺) であった症例は 2 例であった。これらの全症例について、通常の病理標本を用い、線条体黒質系ならびにオリブ橋小脳系の神経細胞脱落程度を 4 段階に半定量解析した。また、中枢神経系全体を対象に、リン酸化  $\alpha$ -シヌクレインに対する免疫染色を施し、GCI 頻度を 5 段階に半定量解析した。免疫染色は 1 次抗体に抗リン酸化  $\alpha$ -シヌクレインモノクローナル抗体 (pSyn#64; Wako, Osaka, Japan; 1:10000) を用い、アビジン-ビオチン標識酵素複合体法 (Vectastain ABC Elite kit, Vector, Burlingame, CA, USA) で行った。

## 4. 研究成果

リン酸化  $\alpha$ -シヌクレイン陽性の GCI は脳内に広範囲に認められたが、その分布と頻度は臨床型、罹病期間に応じて症例間で異なっていた。GCI がほとんど認められない領域は、視神経、脊髄後索であった。リン酸化  $\alpha$ -シヌクレイン陽性の構造物は、神経細胞の胞体内と核内、さらにグリア細胞核内にも認められたが、GCI が存在する白質内の軸索には認められなかった。99 例の MSA 剖検脳を対象とした GCI の半定量解析から、SND, OPCA とともに少なくとも 3 種のサブタイプに分類可能であることが示唆された。SND 症例の 7 割程度、OPCA 症例の 5 割程度が含まれる通常型を対象に、脳内 4 力所における GCI の経時的変化曲線を求めた。当該 4 力所には、被殻、中小脳脚、中心前回白質、前頭葉白質の 4 力所を選択した。これら 4 力所の GCI 曲線が

ら，SND，OPCA ではそれぞれに独自の病期分類が可能となり，ステージ I-IV の 4 段階に分類することができた。SND のステージ I，II，III，IV は，それぞれ被殻，中小脳脚，中心前回白質，前頭葉白質で GCI 数が最多となる時期と定義できた。また，OPCA のステージ I，II，III，IV は，それぞれ中小脳脚，被殻，中心前回白質，前頭葉白質で GCI 数が最多となる時期であった。SND，OPCA のそれぞれにおける他のサブタイプは，当該 4 力所における GCI の形成速度が通常型とは異なる特徴を有する症例群と判断された。一方，SDS では，多くの症例は OPCA 通常型に類似する GCI 変化を示したが，中心前回白質における GCI 形成が早い特徴がみられた。また，臨床診断が筋萎縮性側索硬化症（ALS）の例は，病理検索で ALS と OPCA 通常型の合併例，臨床診断が進行性核上性麻痺の例は，病理検索でパーキンソン病と早期 SND の合併例と考えられた。

## 考察

1. GCI の意義と GCI 病理に基づく病期分類：本研究成果は GCI が MSA の病理学的指標であるばかりでなく，MSA の病期進行度を表す優れたバイオマーカーであることを示している。多数の MSA 剖検例の解析から，GCI は MSA の各臨床病型（SND，OPCA ならびに SDS）それぞれに特徴的なパターンで形成されることが示された。本研究成果でまず重要な点は，各臨床病型が均一なパターンで進行しているのではなく，複数のサブタイプに分類しうることが示されたことにある。従来の MSA 診断基準にはこうしたサブタイプの存在は示唆されておらず，各症例がどのような進行様式を呈するのか，より詳細に臨床経過をモニターする必要性が示唆された。第 2 の成果は，SND および OPCA の通常型において 4 段階の病期分類が可能になったことが挙げられる。脳内の 4 力所（被殻，中小脳脚，中心前回白質，前頭葉白質）における GCI 曲線を比較することにより，SND および OPCA の病期を確定することが可能である。通常型以外のサブタイプでも将来的に症例数を増やすことで，病期分類が確立される可能性がある。

2. GCI 病理に基づく病期分類と臨床症状との関連：SND 通常型のステージ I は被殻に最多の GCI が観察される病期であり，これはパーキンソンニズムを主徴とする SND 初期に矛盾しない病理所見となる。他方，OPCA 通常型のステージ I は中小脳脚に最多の GCI が観察され，小脳症状を主徴とする OPCA の初期に矛盾しない。ステージ III は SND，OPCA とともに運動野で最多の GCI が観察される病期であり，錐体路徴候が問題になるものと推測される。ステージ IV は両病型ともに前頭葉に最多の GCI が観察される病期となる。近年，多系統萎縮症の進行期には高次機能障害の存在が指摘されており<sup>9)</sup>，ステージ IV はこれらが顕在化してくる時期に相当する可能性が高い。本研究は SND，OPCA にサブタイプが存在することを GCI 解析から初めて提唱した。こうした提唱はこれまで臨床研究から報告されたことはなく，極めて独自性の高い成果となる。MSA 症例の臨床経過，症状の出現・推移から，こうしたサブタイプが認識可能であるのか，今後の慎重な解析が必要となる。

3. MSA の病態における蛋白質伝播仮説：近年，神経変性疾患の進展機構に関して，異常蛋白質がプリオン蛋白様に細胞間を伝播して進行する蛋白質伝播仮説が提唱されている<sup>10-12)</sup>。プリオン病のみならず，アルツハイマー病やパーキンソン病，筋萎縮性側索硬化症など多くの神経変性疾患でこうした伝播機構の存在が推測されるに至っている。MSA においても神経細胞からオリゴドンドログリアへの  $\alpha$ -シヌクレイン蛋白質の伝播が推測され，神経経路に沿った病態進展が提唱されている<sup>13-15)</sup>。しかしながら本研究では，罹病期間の短い症例でもすでに広範囲に GCI 形成が認められ，GCI が多数存在する白質内の軸索には  $\alpha$ -シヌクレインの抗原性が認められなかったことから，本研究で MSA 進展における蛋白質伝播仮説の関与を示唆する所見は得られなかった。

4. GCI 病理に基づく病期分類と MSA 臨床：2010 年に，carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy] benzoxazole (BF-227) を用いたポジトロン断層法 (PET) で MSA の GCI を描出することに成功した<sup>8)</sup>。現在国際的に用いられている MSA の診断基準 (Gilman 分類) では，MSA の確定診断は病理学的に線条体黒質系と下オリブ橋小脳系の変性と GCI が認められることとされており，現状では MSA が生前に確定診断されることはない。GCI を描出する画像診断法の精度と感度がさらに向上した場合，我々の GCI 病理に基づく病期分類を根拠に，シヌクレイン PET による MSA の早期診断，臨床型と病期の確定などが可能になる可能性がある。

## 参考文献

- 1) Graham JG, Oppenheimer DR. Orthostatic hypotension and nicotine sensitivity in a case of multiple system atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1969, 32: 28-34
- 2) Gilman S, Low PA, Quinn N, et al. Consensus statement of the diagnosis of multiple system atrophy. *J Neurol Sci* 1999, 163: 94-98
- 3) Gilman S, Wenning GK, Low PA, et al. Second consensus statement on the diagnosis of multiple system atrophy. *Neurology*. 2008, 71: 670-676
- 4) 柳下 章：神経内科疾患の画像診断，第 1 版．東京：学研メディカル秀潤社，2011；42-48
- 5) Burn DJ, Jaros E. Multiple system atrophy: Cellular and molecular pathology. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2001, 54: 419-426
- 6) Jellinger KA, Lantos PL. Papp-Lantos inclusions and the pathogenesis of multiple system atrophy: an update. *Acta Neuropathol* 2010, 119: 657-667

- 7) Wakabayashi K, Takahashi H. Cellular pathology in multiple system atrophy. *Neuropathology* 2006, 26: 338-345
- 8) Kikuchi A, Takeda A, Okamura N, et al. In vivo visualization of alpha-synuclein deposition by carbon-11-labelled 2-[2-(2-dimethylaminothiazol-5-yl)ethenyl]-6-[2-(fluoro)ethoxy]benzoxazole positron emission tomography in multiple system atrophy. *Brain* 2010, 133: 1771-1778
- 9) Stankovic I, Krismer F, Jesic A, et al. Cognitive impairment in multiple system atrophy: a position statement by the Neuropsychology Task Force of the MDS Multiple System Atrophy (MODIMSA) study group. *Mov Disord* 2014, 29: 857-867
- 10) Goedert M. NEURODEGENERATION. Alzheimer's and Parkinson's diseases: The prion concept in relation to assembled A $\beta$ , tau, and  $\alpha$ -synuclein. *Science* 2015, 349: 1255-1259
- 11) Goedert M, Clavaguera F, Tolnay M. The propagation of prion-like protein inclusions in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 2010, 33: 317-325
- 12) Jucker M, Walker LC. Self-propagation of pathogenic protein aggregates in neurodegenerative diseases. *Nature* 2013, 501: 45-51
- 13) Jellinger KA. Multiple System Atrophy: An Oligodendroglioneuronal Synucleinopathy. *J Alzheimers Dis* 2018, 62: 1141-1179
- 14) Jellinger KA, Wenning GK. Multiple system atrophy: pathogenic mechanisms and biomarkers. *J Neural Transm* 2016, 123: 555-572
- 15) Reyes JF, Rey NL, Bousset L, et al. Alpha-synuclein transfers from neurons to oligodendrocytes. *Glia* 2014, 62: 387-398

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

Yamada M. Stages of glial inclusion pathology in multiple system atrophy. 第12回バイオメディカル研究所国際シンポジウム, 2019

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況 (計 0 件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等: なし

## 6 . 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名: 柿田 明美

ローマ字氏名: Akiyoshi Kakita

所属研究機関名：新潟大学  
部局名：脳研究所  
職名：教授  
研究者番号（8桁）：80281012

研究分担者氏名：吉田 邦広  
ローマ字氏名：Kunihiro Yoshida  
所属研究機関名：信州大学  
部局名：医学部  
職名：特任教授  
研究者番号（8桁）：90242693

(2)研究協力者  
研究協力者氏名：他田 真理  
ローマ字氏名：Mari Tada

研究協力者氏名：豊島 靖子  
ローマ字氏名：Yasuko Toyoshima

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。