

# **Globular glial tauopathy : 細胞内タウ陽性構造の形態学的特徴**

田中 英智

新潟大学医歯学総合研究科

生態機能調節医学専攻（脳病態病理学）

（主任：柿田 明美教授）

## **Morphological characterization of cellular tau pathology**

### **in globular glial tauopathy (Types II and III)**

**Hidetomo Tanaka**

*Department of Pathology,*

*Graduate School of Medicine Niigata University*

*(Director: Prof. Akiyoshi KAKITA)*

## 要 旨

Globular glial tauopathy (GGT) は 2013 年に疾患概念が提唱された、新たな 4 リピート  
タウオパチーである。組織学的にはグリア細胞内への小球状 (globular) のリン酸化タウ  
陽性構造物 (Globular glial inclusions : GGIs) の存在を特徴とし、オリゴデンドロサイト  
では Globular oligodendroglial inclusions (GOIs), アストロサイトでは Globular astrocytic  
inclusions (GAIs) と呼ばれる。GGT は、GGIs を主体とするタウ陽性構造物の出現分布と  
中枢神経組織の変性部位から、3 つのサブタイプに分けられている。それらは臨床症状  
に対応し、前頭側頭葉主体の病変分布を取り前頭側頭型認知症を呈する Type I, 運動野  
と錐体路を主体とし運動ニューロン徴候を呈する Type II, そして Type I と II の複合型  
である Type III の 3 タイプである。しかし、こうしたサブタイプについては未だ確立さ  
れたものではない。そこで本研究では、GGT Type III 3 例と Type II 2 例を対象とし、  
サブタイプ間の特徴について検討した。特に GAIs と神経細胞内封入体 (Neuronal  
cytoplasmic inclusions: NCIs) の形態に着目して、GGIs の定量解析、共焦点顕微鏡を用  
いた三次元構造解析、電子顕微鏡像による超微形態観察を行い、サブタイプ間で比較検  
討した。GGIs の定量解析では、GAIs の出現量は Type II に比べ Type III で顕著に多かつ  
た。三次元構造解析では、GAIs の形態が Type 間で異なることを示した。すなわち、

Type II の GAIs は、小型で多数の小球状構造からなり、アストロサイトの突起遠位にまで広がっていた。一方、Type III の GAIs はゴツゴツした少数の小球状構造が胞体近位部に形成され、直径も Type II より小さい傾向を示した。これらの形態的特徴の違いから、GAIs の形成過程が異なっている可能性が示唆された。NCIs には、3 つの特徴的形態：即ち①Diffuse granular, ②Thick cord-like, ③Round/horseshoe-shaped NCIs を観察した。Thick cord-like NCIs は Type II, Type III の両方で認めた。Round/horseshoe-shaped NCIs は Type III においてのみ観察された。これらの GAIs と NCIs は、タウ陽性構造物の形態によってサブタイプが判別可能であることを示し、また GGT の病態形成機序を特徴付ける所見と考えた。

**キーワード：**タウ，タウオパチー，細胞内封入体，前頭側頭葉変性症，

運動ニューロン疾患

---

**Reprint requests to: Hidetomo Tanaka**

Department of Pathology,

Brain Research Institute, Niigata University

1-757 Asahimachi-dori Chuo-ku,

Niigata 951-8585, Japan.

**別刷請求先：951-8585**

新潟市中央区旭町通一番町757番地

新潟大学脳研究所病理学分野

田中英智

## 緒 言

Globular glial tauopathy (GGT) は 2013 年に提唱された、新たな 4 リピート タウオパチーであり、基本的に孤発性とされる<sup>1)</sup>。組織学的には、グリア細胞内への小球状 (globular) のリン酸化タウ陽性構造物 (Globular glial inclusions : GGIs) の存在を特徴とする。オリゴデンドロサイト内の構造物は Globular oligodendroglial inclusions (GOIs)、アストロサイトのそれは Globular astrocytic inclusions (GAIs) と呼ばれ、それぞれ特徴的な形態を示す。特に GAIs は Gallyas 銀染色に難染色性である点も特徴とされる。GGT においては、この GGIs を主体とするタウ陽性構造の出現分布と中枢神経組織の変性部位から、3つのサブタイプの存在が提唱されている。それらは臨床症状に対応し、前頭側頭葉主体の病変分布を取り前頭側頭型認知症 (Frontotemporal dementia: FTD)を呈する Type I, 運動野と錐体路を主体とし運動ニューロン疾患 (Motor neuron disease: MND)を呈する Type II, そして Type I と Type II の複合型である Type III の3タイプである<sup>1)</sup>。しかし、比較的新しい疾患概念であり、報告数が少ないこともあり、そのサブタイプについては定義も含め未だ完全に確立されたものではない。タウ病変の広がり以外のサブタイプ間の組織学的な特徴としては、皮質と白質における GGIs の分布パターンが異なることが示されている<sup>1)</sup>ものの、タウ陽性構造物の形態に着目した報告はこれまで無い。



代表的な 4 リピータウオパチーとして、進行性核上性麻痺 (Progressive supra nuclear palsy: PSP)や大脳皮質基底核変性症 (Cortico basal degeneration: CBD) がある。これらは、Gallyas 銀染色でも染色される、タウ陽性アストロサイトの特徴的な形態によって区別可能な疾患であり、NCIs も異なる特徴を持つ<sup>7,8)</sup>。加えて、其々の病的タウ蛋白は生化学的にも異なる特徴を示す<sup>3,14)</sup>。すなわち、4 リピータウオパチーにおいては、蓄積タウの生化学的特徴と、タウ陽性構造物の形態は関連を持ち、疾患ごとに異なる臨床症状や病変分布に影響を与えている可能性がある。

今回、我々は GGT のサブタイプ間における組織学的特徴を、Type II と Type III 複数例を用いて、特に GAIs と NCIs の形態に着目して検討した。

## 対象と方法

### 1. 対象

5 例の GGT 剖検例 (Type II, n = 2; Type III, n = 3)を用いた。Type III, 3 例は既報の症例であり<sup>10, 13)</sup>、2013 年の consensus recommendations<sup>1)</sup>においても Type III の代表的な症例として使用されている。ここに、consensus recommendations に則って GGT Type II と病理組織学的に診断した 2 症例を追加し、比較検討した。各症例の臨床所見は表 1 に

要約した.

## 2. 組織学的解析

全剖検例において解剖学的領域別のホルマリン固定, パラフィン包埋組織ブロックを準備し, 運動野を含む前頭葉, 側頭葉, 頭頂葉, 脳幹及び脊髄で 4  $\mu$ m 厚の切片を作製した. 染色法として, hematoxylin-eosin (HE) 染色, Bodian 銀染色, Gallyas-Braak (Gallyas) 銀染色を用いた. 免疫染色には, 抗リン酸化タウ抗体 (AT8: Innogenetics, Ghent, Belgium; 1:200), 抗 3R 及び 4R tau 抗体 (RD3, RD4; Upstate, Charlottesville, VA, USA; 1:3000 and 1:100) を用いた. 免疫染色は, Histofine Simple Stain MAX-PO kit (Nichirei, Tokyo, Japan) によるポリマー法で行い, diaminobenzidine (DAB) で発色した.

## 3. タウ陽性グリア細胞内封入体の定量解析

運動野の AT8 免疫染色標本を用い, 皮質と白質において, 20 倍対物レンズ視野で 11 枚の連続写真を撮影し, 計 1.02 mm<sup>2</sup> の範囲で皮質内の GAIs の個数, 白質内の GOIs 及び CBs (Coiled body like inclusions) の個数をカウントした.

#### 4. タウ陽性細胞内封入体の三次元構造解析

タウ陽性アストロサイト及び神経細胞の三次元構造解析には、Type IIとType III 各1例 (症例 1, 症例 4) の中心前回と脊髓前角のホルマリン固定組織を用いた.アガロース包埋組織からビブラトームを用いて50 $\mu$ m 厚の連続切片を作製した後, AT8抗体 (1:100)とポリクローナル抗 pan neuronal marker 抗体 (Neuro-Chrom, Alexa Fluor 488 Conjugate; Millipore, Billerica, MA, USA; 1:30) で二重免疫染色を行った. 2次抗体には Alexa Fluor 568 goat anti- mouse IgG (Molecular Probes, Eugene, OR, USA;1:1, 000)を用いた. 核は4, 6-diamidino-2-phenykmhole(DAPI) で染色した. 自家蛍光除去のため, Autofluorescence Eliminator Reagent (Millipore, Billerica, MA, USA) 処理を施した. 共焦点画像撮影にはレーザー走査型顕微鏡 (LSM 700;Carl Zeiss) を用いた. 全ての画像は, LSM700により同一視野で撮影し, 3D画像作成及び形態学的解析にはIMARIS software (Bitplane, Zurich, Switzerland) を使用した. Type IIとType IIIの形態を比較するために, 各症例20個のAT8抗体陽性アストロサイトについて解析した.

#### 5. タウ陽性神経細胞の超微細構造

Type II (症例 1)のNCIsについて免疫電子顕微鏡像の観察を行った。脊髄前角のホルマリン固定組織をLR white resin (London Resin, Reading, UK) に包埋した。超薄後にAT8抗体 (1:10) 染色を行った。2次抗体として15-nm gold colloidal particle-conjugated anti-mouse IgG (British BioCell; 1:100) を用いた。超微細構造の観察には、Hitachi HT7700電子顕微鏡 (75kV) を使用した。

## 6. 統計学的解析

GAIs の 3D 画像の 2 群間 (Type II vs. Type III) の比較には、Student's *t* test を用いた。解析は SPSS Statistics version 20.0 (IBM, Armonk, NY) で行った。有意水準は  $P < 0.05$  とした。

## 7. 生化学的解析

GGT Type II 2 例 (症例 1, 症例 2), CBD1 例, PSP1 例の死後凍結脳 (前頭葉皮質) 組織からサルコシル不溶性・グアニジン溶性画分を抽出した。脱リン酸化前後のサンプルを用いて、電気泳動(SDS-PAGE) を行い、不溶性タウはタウ C 末端抗体 (T46: Zymed,

South San Francisco, CA USA; 1 : 2,000) で標識した.

## 結 果

### 1. タウ陽性グリア細胞内封入体の分布

全例で, GAIs (アストロサイト) や GOIs/CBs (オリゴデンドロサイト) を含む, リン酸化タウ陽性のグリア細胞内封入体及び神経細胞内封入体を, 中枢神経系で広く認めた. これらの構造は, 既報通り RD4 抗体で陽性, RD3 抗体で陰性であった (データ未掲載). 大脳皮質では, 両タイプともに病変の程度は中心前回で最も強かった. この中心前回において, GAIs と GOIs/CBs の分布パターンは異なっていた. すなわち, Type II では皮質深層から白質にかけて多数の Threads と GOIs/CBs を主体とし (図 1 A, E), 皮質の GAIs は多くない (図 1 C). 一方で, Type III では, 皮質内の GAIs が顕著に多く出現していた (図 1 B, D). 定量解析結果も上記所見を支持する (図 1 G).

### 2. タウ陽性アストロサイトの形態学的特徴

最もタウ病変の強い中心前回での多数の GAIs の観察において, 前述の出現量の違いのみならず, その形態もタイプ間で異なっていた. すなわち, Type II では多数の小球状

構造が突起遠位まで広がり(図 2 A, B), Type III では胞体近位に大型の小球状構造があることを特徴とする(図 2 E, F). さらに, 病変程度の軽度な前頭葉の前方部や側頭葉では, より小さな小球状構造からなる小型の GAIs が観察された. これらも Type II と Type III では異なっていた. Type II は核の近傍から小球状構造が形成されるのに対し (図 2 C, D), Type III (図 2 G, H) では, 核から少し離れた部位に小球状構造が形成され, その数も少なく単調な像を呈していた.

次に, 光学顕微鏡像で観察した上記の違いを定量的に明らかにするために, 中心前回内の GAIs について, 共焦点顕微鏡画像を用いた三次元構造解析を行った. 三次元画像上, Type II は多数の小さな小球状構造から構成され, アストロサイトの突起を模して放射状に広がっていた (図 3 A). 一方, Type III は少数のゴツゴツした小球状構造が, 胞体近位部に固まって存在する像が観察された (図 3 B). 構造解析上も上記所見を支持し, 直径, 粒子数, 粒子数あたりの平均体積について統計学的有意差が認められた (図 3 C).

### 3. タウ陽性ニューロンの形態学的特徴

リン酸化タウ(AT8)免疫染色を用いた評価では, GGT の神経細胞内において, 3 種類の封入体の形態: すわなち ①diffuse granular NCIs, ②thick cord-like NCIs,

③round/horseshoe-shaped (Pick body-like) NCIs が観察された。これらは、タウ病変の及んだ大脳皮質と脳幹及び脊髄において観察された。このうち、diffuse granular 及び thick cord-like NCIs の 2 種類は Type II (図 4 B-D, 図 5A-B)と Type III (図 4 A, 図 5 C-D)の両タイプで共通して観察された。Thick cord like NCIs は光学顕微鏡像(AT8)では長細いヒモ状の形態として観察された (図 5A-D)。しかし三次元画像上は、この構造物は、実際には帯状ないしリボン状とも表現できる、ある程度の幅を有する構造であることが示された (図 5 M-P)。この NCIs の染色性について、脊髄の連続切片を用いて評価すると、通常は HE 染色で認識されない (図 5 E-H)。しかしながら、Type III で散見される、AT8 免疫染色で、より長く伸びたヒモ状構造が網目状に入り組んだように見える構造に関しては、HE 染色で好塩基性を呈する渦状の構造物として認識された (図 5 I-L)。加えて、Round/horseshoe-shaped (Pick body-like) NCIs も、Type III においてのみ観察された (図 6)。この構造は、HE 染色でも好塩基性を呈する球形や馬蹄状の封入体として観察され (図 6 A, D, G, H), Bodian 銀染色で陽性 (図 6 C, I), Gallyas 銀染色 (図 6 F)で難染色性を示す点で、Pick 病で観察される Pick body に類似していた。

免疫電顕による脊髄前角の神経細胞内封入体の観察では、Type II と Type III とともに、12–20 nm の径を示す、AT8 陽性の tubular structures を認めた。しかしながら、Type III

(図 7D)と比較して、Type II (図 7B)では、tubular structures がより密に束状に集まる像が観察された。

#### 4. 生化学的解析

サルコシル不溶画分のイムノブロット解析の結果を図 8 に示した。脱リン酸化後の画分では、Type II の 2 症例ともに、CBD・PSP と共通の 4R を示すバンドを認めた (データ未掲載)。脱リン酸化未処理の画分では、PSP, CBD と同様に 68, 64 kDa にバンドが認められた (図 8 左)。低分子のバンドは、～40 kDa の CBD バンドパターン(矢頭)ではなく、PSP(矢印)に類似した～35kDa 主体のバンドパターンを示した。

## 考 察

GGT は 2013 年に提唱された比較的新しい疾患概念であり、前頭側頭葉変性症 (Frontotemporal lobar degeneration: FTLD) のスペクトラムに即した 3 つのサブタイプが提案されているものの<sup>1)</sup>、そのサブタイプの概念については未だ確立されていない状況にある。2016 年には、臨床症状と病理組織学的なサブタイプとの相関性に懐疑的な論文も報告されている<sup>5)</sup>。しかしながら、今回の GGT 複数例の比較検討で示された幾つ



かの新たな組織学的所見は、GGT という疾患概念を強固にするとともに、Type II と Type III に合致するサブタイプが明確に存在することを改めて明らかにした。

組織学的に、中心前回に強調されるタウ病変は両タイプに共通していた。しかしながら、タウ陽性のグリア細胞内封入体の出現パターンはタイプ間で大きく異なっていた。皮質深層から白質にかけての Threads と GOIs/CBs (オリゴデンドロサイト) へのタウ蓄積は Type II の特徴的であった。一方で、Type III では皮質の GAIs が顕著に多く、アストロサイトへのタウ蓄積が強調される病態の存在が示唆される。加えて、3次元構造解析は GAIs の形態自体もタイプ間で異なる結果を示した。病変程度の軽い領域で主に観察される小型の GAIs の比較でも両タイプは異なる傾向を示した。すなわち、Type II は核の近傍から小球状構造が形成されるのに対し(図 2 C, D), Type III (図 2 G, H)では、核から少し離れた領域に小球状構造が形成され、その数は少なく単調な像を呈していた。この結果から、我々は GAIs の形成過程自体がタイプ間で異なる可能性を検討した。図 2 は小球状構造の大きさの順に GAIs を並べて提示し、矢印を付記している。図の矢印のような小球状構造の大きさの順に GAIs の形成が進むと仮定すると、アストロサイト内における、小球状構造の形成過程が異なる可能性が示唆された。すなわち、Type II は中心部から遠心性に小球状構造の形成が進むと考えられ、Type III では胞体内の遠位部

からタウの凝集が始まり、求心性にタウ蓄積を増しつつ融合するために、小球状構造が大型化しその数を減じていくように考えられた。

2013 年の consensus recommendations<sup>1)</sup>には、神経細胞内封入体について一定の見解や特徴は明記されていない。しかしながら、幾つかの症例報告では、その特徴的な NCIs を記載している<sup>2, 9, 10, 11)</sup>。興味深いことに、GGT の Type I と Type II 各 1 症例を報告した論文<sup>2)</sup>では、本研究で thick cord-like NCIs として指摘した構造と極めて似た形態の NCIs を、Type I と Type II の両症例の運動神経細胞で観察したことを記載している。また別の Type I 1 例報告<sup>9)</sup>においても、同様の形態の NCIs を運動神経細胞で認めている。残念ながら、本邦での Type I の報告は未だ無いが、GGT が FTL-D-MND のスペクトラムで捉えられている通り、FTD タイプとされる Type I も含めて GGT は運動神経細胞を侵しやすい背景を持つ可能性が示唆される。既報と併せ、今回 thick cord-like NCIs として示した構造は、GGT の 3 つのサブタイプに共通した特徴的な構造の可能性はある。一方で、Round/horseshoe-shaped (Pick body-like) NCIs については、Type III 症例でのみ観察され、タイプ間で異なる所見である可能性がある。この構造は、HE 染色で好塩基性を呈し、Bodian 銀染色で陽性、Gallyas 銀染色で難染色性を示す特徴的な嗜銀性も有していた。興味深いことに、この球状ないし馬蹄状の形態と染色性は、古典的 FTD として

知られる Pick 病に特徴的とされる Pick body に類似している。

嗜銀性は GGT において、重要な特徴の一つとされる。これは、PSP の Tufted astrocyte や CBD の Astrocytic plaque が Gallyas 銀染色で良く染色されるのに対し、GAIs は難染色性を示す点で明確に異なり、GGT の組織診断上の一つの指標になっているためである。今回用いた症例についても、GAIs と NCIs は Gallyas 銀染色で難染色性を示す。しかしながら、Type II の thick cord like NCIs の幾つかは Type III の同構造と較べて、Gallyas 銀染色で染色性を示し、異なる嗜銀性を有していた。この理由は明らかではないが、我々はタウ凝集構造の超微形態に着目している。図 7 で示したように、Type II の NCIs 中のタウ凝集構造は Type III と比較して、tubular structure がより密に凝集したバンド状構造として観察される点で異なっており、Gallyas 銀染色での嗜銀性の違いはこうした違いを反映している可能性がある。また、イムノブロットでは、Type II の低分子バンドは PSP 類似のパターンを呈した一方で、既報の Type III では CBD 類似の ~40kDa に強調されるバンドパターンが混在したことが報告されている<sup>10)</sup>。電顕像と併せて、両者の病的タウ蛋白の性質は微妙に異なる可能性も考慮される。

ここで代表的な 4 リピータウオパチーである、PSP と CBD について考えると、両者は組織学的に Gallyas 銀染色で嗜銀性を示す特徴的な Tufted astrocyte (PSP) と

Astrocytic plaque (CBD) の存在により明確に区別可能な疾患である<sup>7,8,12)</sup>。加えて、サルコシル不溶性分画の低分子パターンの違いから、生化学的にも蓄積タウ蛋白の性質が異なることが示されている<sup>3,14)</sup>。すなわち、蓄積する病的タウ蛋白の性質の違いがタウ陽性アストロサイトの形態の違いとして反映されている可能性を示唆する。

近年、タウオパチーにおいてもプリオン仮説が注目されている<sup>6,15)</sup>。アルツハイマー病と皮質基底核変性症の患者から抽出したタウ蛋白をモデル動物の中枢組織内に投与した実験では、タウ病変は広がりを示しつつ、主な病変分布とタウ陽性構造は疾患間で異なる結果となったことから、病的タウ蛋白のストレイン（素性）としての性質を示唆する論文もある<sup>(4)</sup>。今回我々が提示した、GGT のタイプ間におけるタウ陽性アストロサイトの形態の違いや、特徴的な神経細胞内封入体の存在と差異も、PSP や CBD のように病的なタウ蛋白の性質の違いを反映している可能性があり重要と考える。

## 結 語

本研究により示された、GGT に共通する特徴的な神経細胞内封入体の存在、タイプ間で異なるタウ陽性アストロサイトの形態学的所見は、GGT という疾患概念とそのサブタイプの存在を支持するものと考えられた。また、タウ陽性アストロサイトの形態の

違いは、GGT に蓄積する病的タウ蛋白の性質がサブタイプごとに異なることを反映している可能性がある。

## 謝辞

本研究に際しご指導を賜りました新潟大学脳研究所病理学分野の柿田明美先生，高橋均先生，豊島靖子先生，同神経内科学分野の小野寺理先生，同遺伝子機能解析学分野の池内健先生に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Ahmed Z, Bigio EH, Budka H, Dickson DW, Ferrer I, Ghetti B, Giaccone G, Hatanpaa KJ, Holton JL, Josephs KA, Powers J, Spina S, Takahashi H, White CL, 3rd, Revesz T and Kovacs GG: Globular glial tauopathies (GGT): consensus recommendations. *Acta Neuropathol.*126(4):537-44, 2013.
- 2) Ahmed Z, Doherty KM, Silveira-Moriyama L, Bandopadhyay R, Lashley T, Mamais A, Hondhamuni G, Wray S, Newcombe J, O'Sullivan SS, Wroe S, de Silva R, Holton JL, Lees AJ and Revesz T: Globular glial tauopathies (GGT) presenting with motor neuron disease or frontotemporal dementia: an emerging group of 4-repeat tauopathies. *Acta Neuropathol.*122(4):415-28, 2011.
- 3) Arai T, Ikeda K, Akiyama H, Nonaka T, Hasegawa M, Ishiguro K, Iritani S, Tsuchiya K, Iseki E, Yagishita S, Oda T and Mochizuki A: Identification of amino-terminally cleaved tau fragments that distinguish progressive supranuclear palsy from corticobasal degeneration. *Ann Neurol.*55(1):72-9, 2004.
- 4) Boluda S, Iba M, Zhang B, Raible KM, Lee VM and Trojanowski JQ: Differential induction and spread of tau pathology in young PS19 tau transgenic mice following intracerebral injections of pathological tau from Alzheimer's disease or corticobasal degeneration brains. *Acta Neuropathol.*129(2):221-37, 2015.

- 5) Burrell JR, Forrest S, Bak TH, Hodges JR, Halliday GM and Kril JJ: Expanding the phenotypic associations of globular glial tau subtypes. *Alzheimers Dement (Amst)*.4:6-13, 2016.
- 6) Clavaguera F, Akatsu H, Fraser G, Crowther RA, Frank S, Hench J, Probst A, Winkler DT, Reichwald J, Staufenbiel M, Ghetti B, Goedert M and Tolnay M: Brain homogenates from human tauopathies induce tau inclusions in mouse brain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 110(23):9535-40, 2013.
- 7) Dickson DW: Neuropathologic differentiation of progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. *J Neurol*. 244 Suppl 2:II6-II15, 1999.
- 8) Dickson DW, Kouri N, Murray ME and Josephs KA: Neuropathology of frontotemporal lobar degeneration-tau (FTLD-tau). *J Mol Neurosci*.45(3):384-9, 2011.
- 9) Ferrer I, Hernandez I, Boada M, Llorente A, Rey MJ, Cardozo A, Ezquerra M and Puig B: Primary progressive aphasia as the initial manifestation of corticobasal degeneration and unusual tauopathies. *Acta Neuropathol*.106(5):419-35, 2003.
- 10) Fu YJ, Nishihira Y, Kuroda S, Toyoshima Y, Ishihara T, Shinozaki M, Miyashita A, Piao YS, Tan CF, Tani T, Koike R, Iwanaga K, Tsujihata M, Onodera O, Kuwano R, Nishizawa M, Kakita A, Ikeuchi T and Takahashi H: Sporadic four-repeat tauopathy with frontotemporal lobar degeneration, Parkinsonism, and motor neuron disease: a distinct clinicopathological and biochemical disease entity.

- Acta Neuropathol.120(1):21-32, 2010.
- 11) Josephs KA, Katsuse O, Beccano-Kelly DA, Lin WL, Uitti RJ, Fujino Y, Boeve BF, Hutton ML, Baker MC and Dickson DW: Atypical progressive supranuclear palsy with corticospinal tract degeneration. J Neuropathol Exp Neurol.65(4):396-405, 2006.
- 12) Josephs KA, Petersen RC, Knopman DS, Boeve BF, Whitwell JL, Duffy JR, Parisi JE and Dickson DW: Clinicopathologic analysis of frontotemporal and corticobasal degenerations and PSP. Neurology.66(1):41-8, 2006.
- 13) Piao YS, Tan CF, Iwanaga K, Kakita A, Takano H, Nishizawa M, Lashley T, Revesz T, Lees A, de Silva R, Tsujihata M and Takahashi H: Sporadic four-repeat tauopathy with frontotemporal degeneration, parkinsonism and motor neuron disease. Acta Neuropathol.110(6):600-9, 2005.
- 14) 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 DMA, Iwatsubo T and Hasegawa M: Biochemical classification of tauopathies by immunoblot, protein sequence and mass spectrometric analyses of sarkosyl-insoluble and trypsin-resistant tau. Acta Neuropathol.131(2):267-80, 2016.
- 15) Woerman AL, Aoyagi A, Patel S, Kazmi SA, Lobach I, Grinberg LT, McKee AC, Seeley WW, Olson



SH and Prusiner SB: Tau prions from Alzheimer's disease and chronic traumatic encephalopathy

patients propagate in cultured cells. Proc Natl Acad Sci USA. 113(50):E8187-E96, 2016.

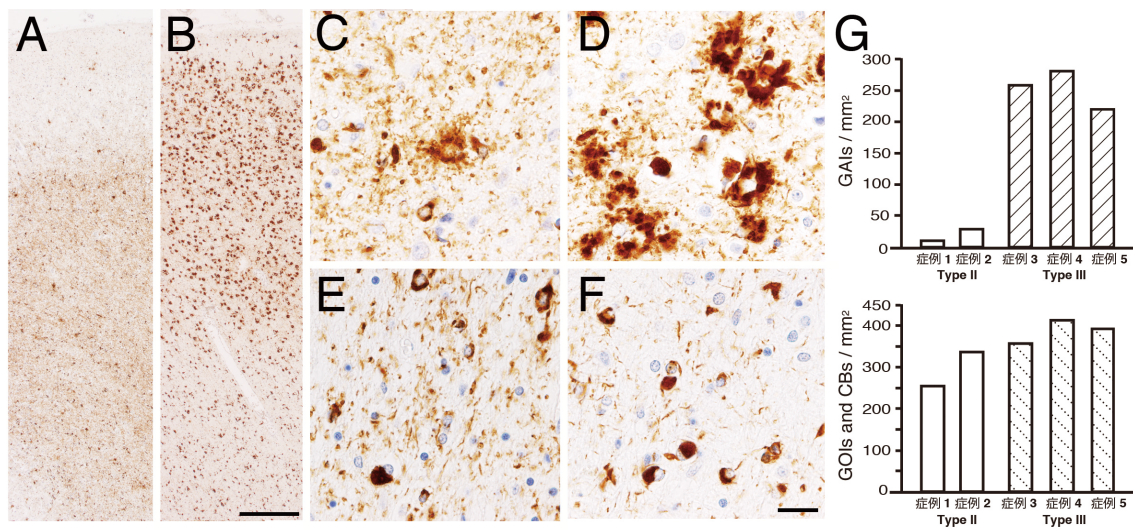


図 1 中心前回におけるタウ陽性構造の分布

Type II (症例 2: A, C, E) と Type III (症例 3: B, D, F) は異なる分布パターンを示す. Type III は Type II と比べ, GAs が顕著に多く (C, D), Type II は皮質深層から白質に強調される Threads を特徴とする. GOIs や CBs は両者に認める (E, F). 定量解析においても上記所見を支持する (G).

Bars A-B = 200 μm; C-F = 20 μm.

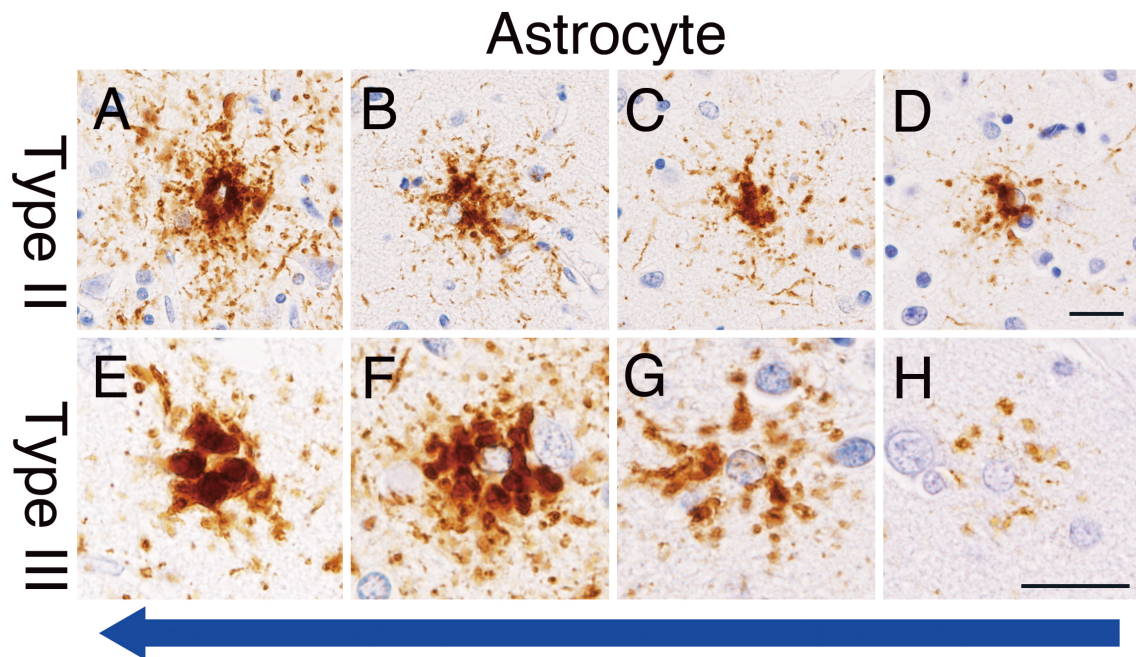


図2 各皮質領域における，代表的な GAlS の形態

Type II (症例 1: A-B, motor ; C, premotor; D, anterior frontal)と Type III (症例 4: E-F, motor ; G, premotor; H, anterior frontal)を並べて提示する．概して，Type II では多数の小球状構造が突起遠位まで広がり，Type III では胞体近位の比較的大型の小球状構造を特徴とする．

病変程度の軽い領域(Type II: C-D, Type III: G-H)では，小球状構造がより小さい，小型の GAlS を両タイプで観察する．その形態はタイプ間で異なっており，GAlS の形成過程が異なる可能性を示唆する (矢印)．Bars A-D, E-H = 20  $\mu$ m.

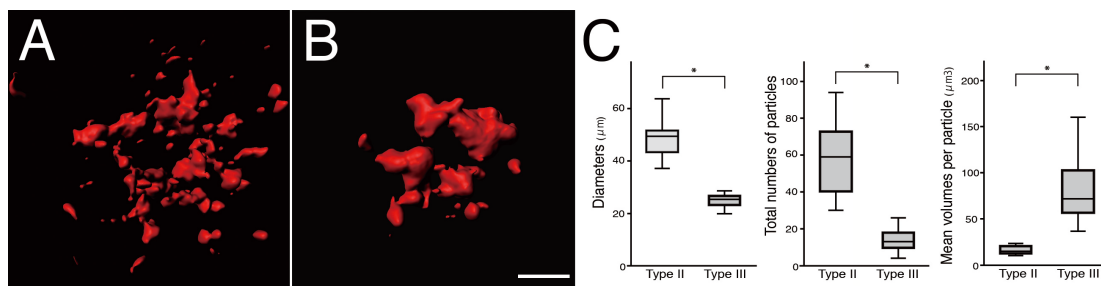


図3 GAIの3次元構造解析

両タイプの運動野における, 代表的な GAI の形態について, 3次元構造解析を用いて比較した.

Type II (症例 1: A)と Type III (症例 4: B)では, 直径, 構成する粒子数, 粒子数あたりの平均体積

において有意な差 (\* $P < 0.001$ , Student's  $t$  test) を認め, その形態が異なることを示す (C). Bar

A-B = 10 μm.

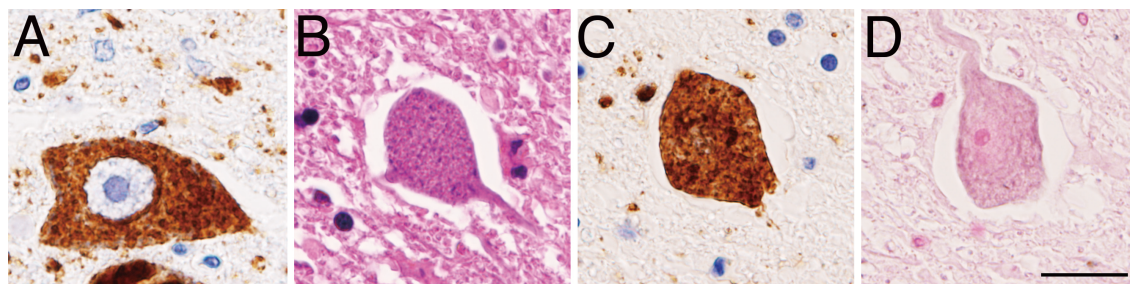


図4 Diffuse granular NCIs

Diffuse granular NCIs は Type II (症例 2: B-D), Type III (症例 4: A)共に認める.

連続切片を用いた観察では (B-D: 脊髄前角細胞), リン酸化タウ陽性構造 (C)は HE 染色(B)や

Gallyas 銀染色(D)では認識されないことを示す. Bar A-D = 20 μm.



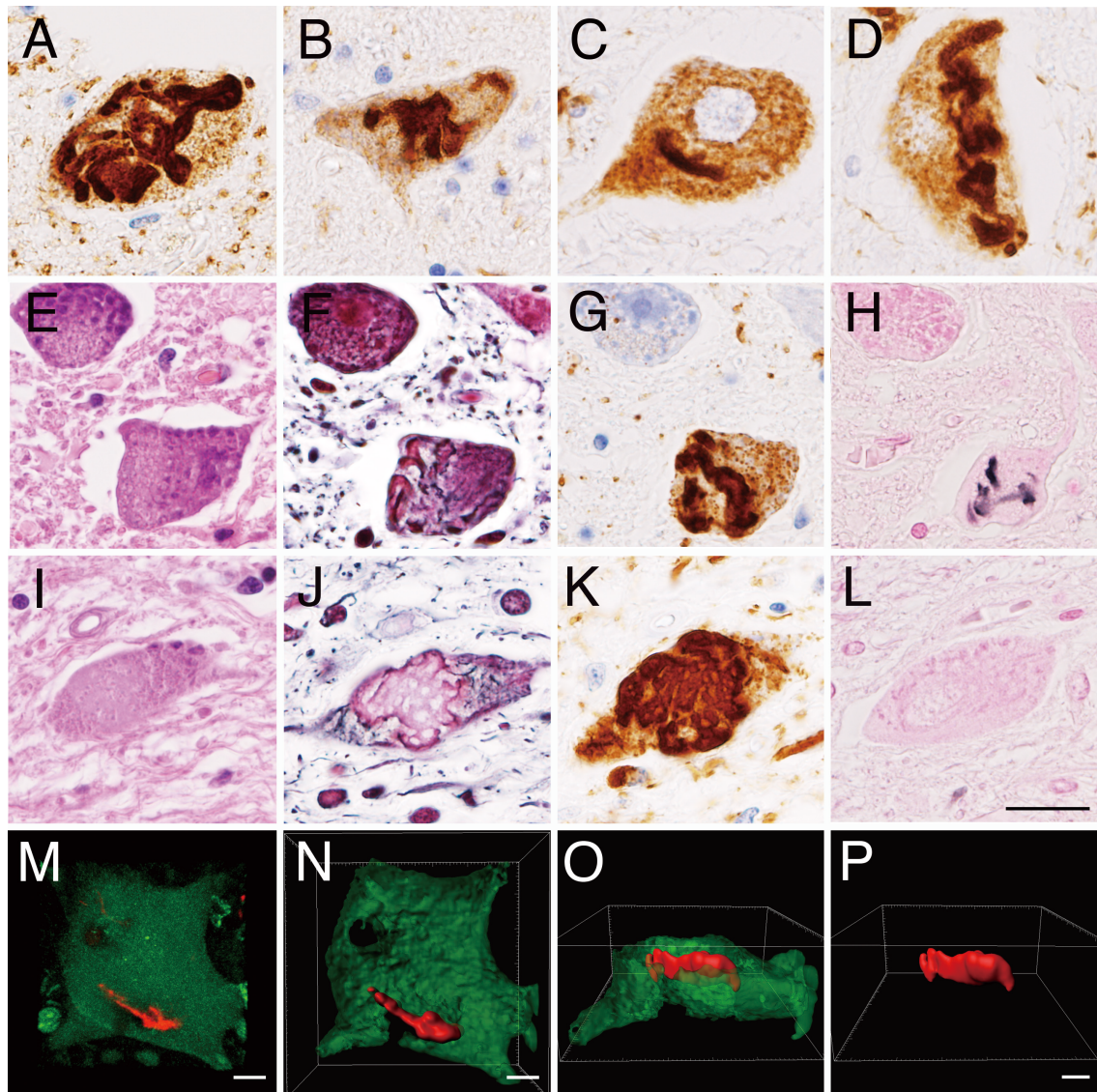


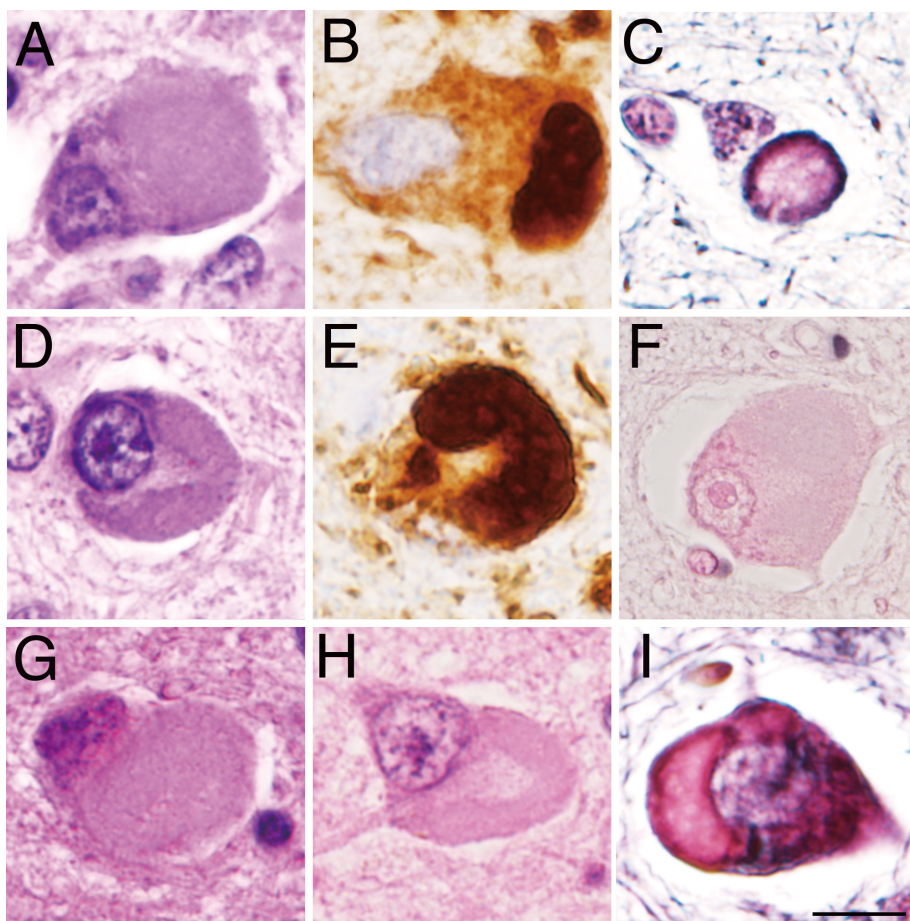
図5 Thick cord-like NCIs

Type II (症例 2: A; 症例 1: B), Type III (症例 3: C; 症例 4: D)ともに, 運動神経細胞に特徴的なヒモ状のタウ陽性構造を認める. Type III では, ヒモ状構造がより長く伸び, 網目状に入り組むような構造も観察される (症例 3: K). 脊髓前角細胞の連続切片を用いて染色性を評価すると(Type II: E-H, Type III: I-L), HE 染色(E, I)では認識されず, Bodian 銀染色(F, J)では嗜銀性を示す. GB 銀染色(H, L)では, Type II では Type III よりも嗜銀性を有する傾向をもつ. Bar A-L = 20  $\mu$ m.

3次元画像では, ヒモ状に見えた構造は, 带状やリボン状とも表現できる, ある程度の幅を有す

る構造であることが分かる (症例 4: M-P). AT8(赤)と Neuro-chrom(緑)による蛍光二重免疫染色.

Bars M, N, P = 8  $\mu$ m.



**図 6 Round/horseshoe-shaped (Pick body-like) NCIs**

Type III (症例 3: A-F; 症例 4: G-I)では, 球状もしくは馬蹄状の特徴的な NCIs が観察される.

これらは, HE 染色(A,D,G,H)で好塩基性を示し, Bodian 銀染色(C, I)では嗜銀性を示すものの,

Gallyas 銀染色(F)では難染色性を示す. Bar A-I = 10  $\mu$ m.



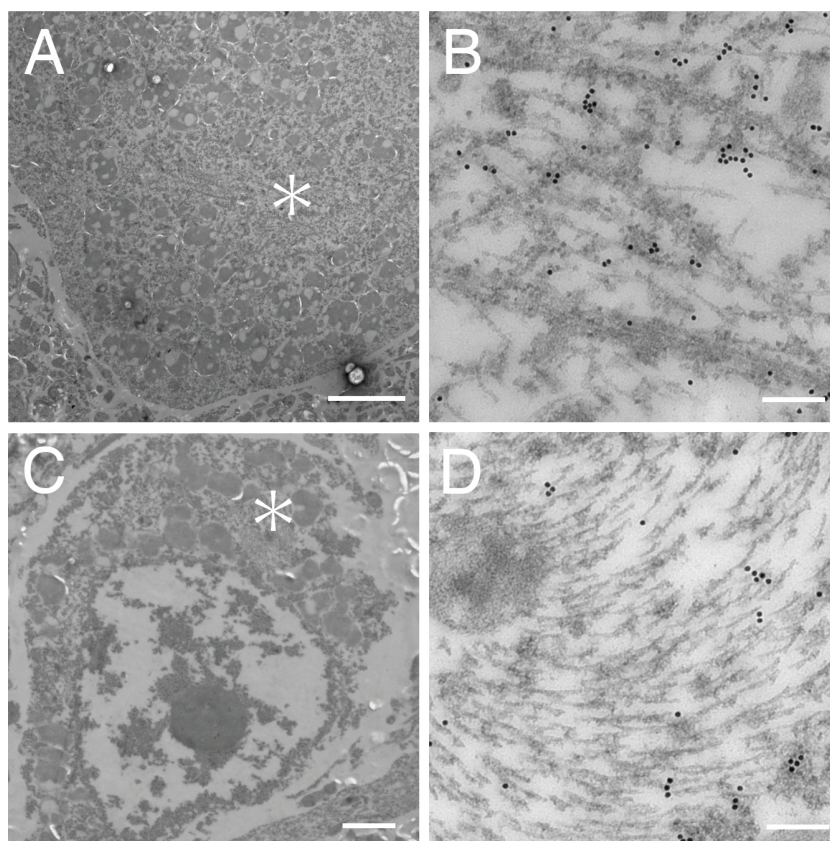


図7 脊髄前角細胞の免疫電顕像

リポフスチンに富む大型の脊髄前角の神経細胞(A, B: Type II, 症例 1; C, D: Type III, 症例 4).

拡大像(B: A\*部の拡大像; D: C\*部の拡大像)では, AT8 陽性となる, 直径 12~20 nm の tubular structures を両タイプで認めるが, Type II (B)では, Type III (D)と比べ, 密度高く束状に凝集した構造が観察される. Bars: A = 5  $\mu$ m; C = 2  $\mu$ m; B, D = 200 nm.

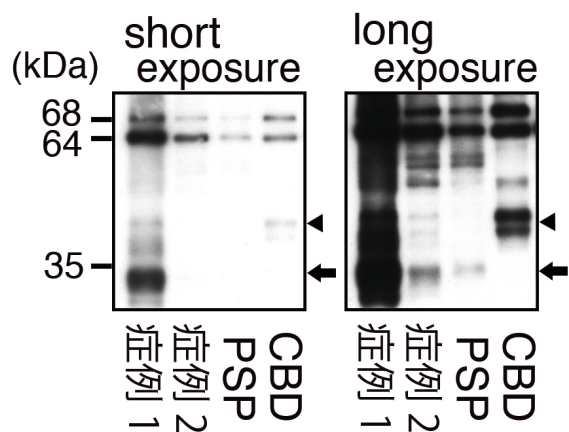


図 8 サルコシル不溶性画分の Tau イムノブロット解析

Type II (症例 1, 2) は PSP, CBD と同様に 68, 64 kDa にバンドを示す(左図)。低分子のバンドは、  
 ～40 kDa の CBD バンドパターン(矢頭)ではなく、PSP(矢印)に類似した～35kDa 主体のバンドパ  
 ターンを示す(症例 1:左図, 症例 2: 右図)。



表 1. 5 症例の臨床症状の要約

	症例 1	症例 2	症例 3 <sup>a</sup>	症例 4 <sup>a</sup>	症例 5 <sup>a</sup>
性別	女性	男性	女性	男性	男性
発症年齢	71	64	71	58	44
死亡時年齢	76	70	76	62	49
罹病期間 (年)	5	6	6	4	5.5
初発症状	歩行障害 四肢筋力低下	歩行障害 振戦	振戦	歩行障害	歩行障害
錐体外路徴候	バリスム, 舞踏様の 不随意運動	振戦	振戦, 固縮, 運動緩慢, ミオクローヌス	振戦, 固縮	固縮, ミオクロー ヌス
上位運動ニューロン 徴候	痙性, 深部腱反射亢進, バビンスキー反射陽性	痙性, 深部腱反射亢進, バビンスキー反射陽性	深部腱反射亢進, ホフマン反射陽性	痙性, 深部腱反射亢進, バビンスキー反射陽性	痙性, 深部腱反射亢進, バビンスキー反射陽性
下位運動ニューロン 徴候	筋力低下	(-)	筋力低下	舌萎縮, 線維束性収縮	筋力低下
認知症	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
その他	嚥下障害	強制泣き, 仮性球麻痺	肢節運動失行	頸部後屈, 垂直性注視麻痺	(-)
MRI	(-)	前頭葉萎縮	前頭側頭葉の萎縮	前頭側頭葉の萎縮	未施行
MAPT 変異	(-)	(-)	(-)	(-)	未施行
臨床診断名	Atypical ALS	FTLD/PLS	PSP/MND	CBD	MND <sup>b</sup>

<sup>a</sup> 症例 3-5: 文献 10) を参考にして作成. <sup>b</sup> 後方視的に記載. 略語: ALS = amyotrophic lateral sclerosis; FTLD = frontotemporal lobar degeneration; PLS = primary lateral sclerosis; PSP = progressive supranuclear palsy; MND = motor neuron disease; CBD = corticobasal degeneration.