
原 著

進行性核上性麻痺とアストロサイトのタウ病理学： 40 連続剖検例における臨床病理学的検討

横 山 裕 一

新潟大学医歯学総合研究科生体機能調節医学専攻

感覚統合医学大講座精神医学分野

(主任：染矢俊幸教授)

Progressive Supranuclear Palsy and Astrocytic Tau Pathology: a Clinicopathological Study in 40 Consecutive Autopsy Cases

Yuichi YOKOYAMA

Department of Psychiatry, Niigata University Graduate School of

Medical and Dental Sciences

(Director: Prof. Toshiyuki SOMEYA)

要 旨

【目的】進行性核上性麻痺（PSP）は臨床的にパーキンソニズムと認知症を呈し、病理組織学的にはタウ蛋白の異常蓄積を認めるタウオパチーの中の代表的な1疾患である。剖検例の検索では、神経原線維性変化とタウ陽性グリアを伴う変性を脳幹、基底核や大脳皮質に認め、房状アストロサイト（tuft-shaped astrocyte; TA）の出現が特徴的である。本疾患は変性が一般的に広範にわたり、その程度や範囲が症例ごとに多様である。一方で、Pallido-nigro-luysian atrophy (PNLA) はPSP様の変性が淡蒼球-黒質-視床下核に局限し、TAに似たタウ陽性アストロサイトが少数認められる。このタウ陽性アストロサイトの形態学的特徴は明らかにされておらず、PNLAとPSPを区別する存在になり得るかについての詳細な検討はされていない。そこで、本研究ではアストロサイトのタウ病理に注目し、PSP類縁疾患剖検例の臨床経過および病理組織学的所見を再検討した。

【材料と方法】病理組織学的にPSPまたはPSP類縁疾患と診断された連続剖検例50例において、他の神経変性疾患を併存する10例を除外した40例を対象とし、TAの有無（銀染色で判定）によりTA群22例とnon-TA群18例に分類した。2群のタウ陽性アストロサイトの形態に

Reprint requests to: Yuichi YOKOYAMA
Department of Psychiatry, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences,
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757
新潟大学大学院医歯学研究科精神医学分野

横 山 裕 一

ついて共焦点顕微鏡を用いた三次元構造解析および電子顕微鏡像による超微細構造の比較解析を行った。組織学的所見は神経細胞脱落程度およびタウ陽性構造物の出現頻度について半定量解析を行った。タウのイムノプロット解析には各群の淡蒼球の凍結組織サルコシル不溶画分を用いた。臨床情報は各群について後方視的に解析した。

【結果】Non-TA群では、TAとは大きさや形態が異なり、短く太い突起を有するタウ陽性アストロサイトを認めた。3次元構造解析と免疫電子顕微鏡像においてTAとnon-TAでは大きさやタウの凝集様式が異なっていたが、イムノプロット解析ではPSPと区別できなかった。Non-TA群はTA群より視床下核と黒質の変性が高度で、運動野、橋核、小脳歯状核の変性が軽度であった。臨床的には早期発症、長期経過、寝たきりになりにくい特徴を認めた。Non-TA群のうち9例では橋核、小脳歯状核に変性を認めず、既報のPNLAと合致したが、残り9例の病変分布と程度はPSPとPNLAの中間と評価された。

【考察】近年タウオパチーの分類においてタウ蓄積グリア細胞の形態的特徴が注目されている。本研究では、TAとnon-TAに蓄積するタウ蛋白の生化学的な違いはみられなかったものの、タウ陽性アストロサイトの形態と病変分布によって、病理組織学的に連続性を持つ3群(PSP群、PSP-PNLA中間群、PNLA群)の存在が明らかとなり、PSP類縁疾患の臨床病理学的多様性を理解する上で重要と考えられた。

キーワード：進行性核上性麻痺、淡蒼球黒質ルイ体萎縮症、房状アストロサイト、タウオパチー

はじめに

進行性核上性麻痺(Progressive supranuclear palsy; PSP)は、1964年にSteeleらによって提唱された神経変性疾患であり¹⁾、垂直方向眼球運動制限、姿勢反射障害、易転倒性、四肢筋強剛、認知機能障害などを主症状とする²⁾³⁾。病理組織学的には、タウ陽性神経原線維変化(neurofibrillary tangle; NFT)やタウ陽性グリアを広範に認める4リピート(4R)タウオパチーを代表する疾患であり、嗜銀性を示す房状アストロサイト(tuft-shaped astrocyte; TA)の出現を特徴とする^{4)–7)}。PSPは臨床症状により、PSP-Richardson's syndrome (PSP-RS)⁸⁾、PSP-Parkinsonism (PSP-P)⁸⁾、PSP-pure akinesia with gait freezing (PSP-PAGF)⁹⁾、PSP-cerebellum (PSP-C)¹⁰⁾に分類されるが、近年では新たな臨床病理学的亜系も報告され、その臨床病理学的多様性が示唆されている^{11)–13)}。

一方、淡蒼球黒質ルイ体萎縮症(pallido-nigro-luysian atrophy; PLNA)¹⁴⁾¹⁵⁾は、Contaminらにより最初に報告され、次いで本邦から多くの症例報告がなされたPSP類似の稀な神経変性疾患であ

る。病理組織学的にはPSP類似の変性が淡蒼球、黒質、視床下核(ルイ体)(PNL)に局限する。PSPとPNLAは同一スペクトラムにあると推察する報告¹⁶⁾¹⁷⁾がある一方で、ShimodaらはPNLAの主要な臨床症状は純粹無動症¹⁸⁾であり、病理組織学的に嗜銀性を持つタウ陽性の神経細胞またはグリア細胞内封入体が、脳の限局した部位に少数のみ観察されることから、PSPとは区別されると報告している¹⁹⁾。これらの所見は2つの症例報告により追跡調査されたが、いずれの報告でもPSPの特徴である明確なTAの存在は指摘されていない²⁰⁾²¹⁾。

近年、Ahmedらは400以上のPSP連続剖検例のうち、PNLに強い変性を認めるものの、PSPで通常冒される運動野、線条体、橋核および小脳歯状核の変性とタウ蓄積が軽度にとどまる8症例を見だし、この群をPSP-PNLAとしてPSPの一亜系と位置づけた²²⁾。さらに、PSP-PNLAの全例に少数のTAが認められたとしているが、その形態学的特徴については言及していない。

そこで本研究では、タウ陽性アストロサイトの形態学的特徴に着目し、新潟大学脳研究所病理学分野に保存されているPSPまたはPSP類縁疾患

と診断された日本人剖検例を再調査し、その臨床病理学的な特徴を明らかにすることを目的とした。

材料と方法

新潟大学脳研究所病理学教室において 1983 年から 2013 年までに病理組織学的に PSP または PSP 類縁疾患と診断された連続剖検例 50 例について再調査した。他の神経変性疾患を併存していた 10 例（皮質基底核変性症とピック病 1 例，筋萎縮性側索硬化症 1 例，良性遺伝性舞蹈病 1 例，パーキンソン病 7 例）は本研究から除外した。残りの 40 例を対象として臨床病理学的・生化学的解析を行った（表 1）。

神経病理学的解析

1) 病理組織学的解析

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，4 μ m 厚の切片を作成した。中心前回（運動野）皮質，大脳基底核，視床，中脳，橋，延髄および小脳の全ての部位において，hematoxylin-eosin (H-E) 染色および Klüver-Barrera (K-B) 染色を用いて，神経細胞脱落の程度について半定量的解析を行った（0，なし；1，軽度；2，中等度；3，重度）。次に，タウ関連病理（神経原線維変化およびグリアのタウ蓄積）の分布と強度について，抗リン酸化タウ抗

体（AT8; Innogenetics, Ghent, Belgium; 1 : 200）を用いて，半定量的解析を行った（0，なし；1，わずか；2，中等度；3，多数）（図 1）。免疫染色は，Vectastain ABC kit（Vector, Burlingame, CA, USA）を用いて avidin-biotin-peroxidase complex（ABC）法で行い，diaminobenzidine（DAB）で発色した。タウ関連病理の嗜銀性評価には，Gallyas-Braak（G-B）銀染色を用いた。さらに，軸索スフェロイドの出現量を淡蒼球と黒質の H-E 染色を用いて 4 段階で評価した（0，なし；1，軽度；2，中等度；3，多数）。

2) タウ陽性アストロサイトの 3 次元構造解析

後に述べるように本研究ではアストロサイトのタウ病理によって，症例を TA 群と non-TA 群に分類した。タウ陽性アストロサイトの 3 次元（3D）構造解析には，TA 群 3 例と non-TA 群 3 例の被殻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 μ 厚の連続切片を作成した後に，AT8 抗体（1 : 100）で免疫染色した。2 次抗体には Alexa Fluor 488 goat anti-mouse IgG（Molecular Probes, Eugene, OR, USA; 1 : 1,000）を用いた。核は 4, 6-diamidino-2-phenylindole（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走査型顕微鏡（LSM 700; Carl Zeiss Co., Ltd.）を用いた。全ての画像は，

表 1 TA 群と non-TA 群の症例のまとめ

	All (n=40)	TA (n=22)	non-TA (n=18)	p-value
Gender (male/female)	21/19 (male, 52.5%)	13/9 (male, 59.1%)	8/10 (male, 44.4%)	0.525 (F)
Age at onset (year: mean \pm SD)	65.9 \pm 9.22	69.1 \pm 8.42	61.8 \pm 8.76	0.007 (U) *
Age at death (year: mean \pm SD)	76.2 \pm 8.44	76.9 \pm 8.90	75.3 \pm 8.01	0.558 (U)
Disease duration (year: mean \pm SD)	9.3 \pm 5.24	7.29 \pm 4.22	11.8 \pm 5.42	0.010 (U) *
Initial diagnosis of PSP	4/32 (12.5%)	3/16 (18.8%)	1/16 (6.3%)	0.600 (F)
Diagnosis of PSP at death	27/40 (67.5%)	14/22 (63.6%)	13/18 (72.2%)	0.737 (F)
Initial diagnosis of PD	14/32 (43.8%)	2/16 (12.5%)	12/16 (75.0%)	0.001 (F) **

TA, tuft-shaped astrocyte; PSP, progressive supranuclear palsy; PD, Parkinson's disease. F, Fisher の正確検定; U, Mann-Whitney U 検定。統計学的有意差: * p < 0.05, ** p < 0.01

LSM700により同一視野で撮影し、3D画像はLSMソフトウェア(ZEN 2011)で作成した。形態学的解析にはIMARIS(Carl Zeiss Co., Ltd.)を使用した。TA群とnon-TA群の形態を比較するために、各症例10個(TA 30個, non-TA 30個)のAT8抗体陽性アストロサイトについて、ボクセルを固定して表面積と体積を測定した。

3) タウ陽性アストロサイトの超微細構造

代表的なTA群2例とnon-TA群2例について電子顕微鏡像および免疫電子顕微鏡像の観察を行った。中心前回と被殻のホルマリン固定組織を1%四酸化オスミウムで後固定し、エタノールで段階的に脱水処理した後、Epon 812に包埋した。超薄後に酢酸ウランとクエン酸ウランで染色した。次に、包埋前免染法による免疫電子顕微鏡のため、被殻のアガロース包埋組織ブロックからピプラトームを用いて50μm厚の連続切片を作成し、AT8抗体(1:100)染色、DAB発色後にEpon 812に

包埋し超薄した²³⁾。超微細構造の観察には、Hitachi HT7700電子顕微鏡(75kV)を用いた。

4) タウの生化学的解析

TA群1例, non-TA群4例, CBD1例, 正常コントロール1例の死後凍結淡蒼球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²⁴⁾。脱リン酸化前後のサンプルとヒトタウタンパクの6種のアイソフォームを含むリコンビナントタウ(タウラダー)を用いてドデシル硫酸ナトリウム・ポリアクリルアミドゲル電気泳動(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。

5) 臨床データ解析

全例の入手可能な臨床記録を後方視的に調査し、PSPの主要症状⁸⁾⁻¹⁰⁾の有無について、発症後2年以内と全経過に分け、TA群とnon-TA群で比較検討した。

表2 TA群とnon-TA群の神経病理学的所見

Regions	Neuronal loss (mean ± SD)			Tau-related pathology (mean ± SD)		
	TA (n=22)	non-TA (n=18)	p-value	TA (n=22)	non-TA (n=18)	p-value
Motor cortex	1.36 ± 0.90	0.44 ± 0.62	0.001 **	2.19 ± 0.75	0.72 ± 0.57	<0.001 ***
Striatum	0.73 ± 0.77	0.39 ± 0.50	0.176	1.64 ± 0.66	1.28 ± 0.67	0.153
Globus pallidus	2.27 ± 0.70	2.50 ± 0.79	0.205	2.32 ± 0.57	2.00 ± 0.77	0.189
Thalamus	1.14 ± 0.56	0.61 ± 0.61	0.009 **	1.68 ± 0.57	1.33 ± 0.59	0.086
Subthalamic nucleus	1.91 ± 0.61	2.67 ± 0.49	<0.001 ***	2.14 ± 0.71	1.94 ± 0.64	0.373
Midbrain tectum	1.77 ± 0.92	1.00 ± 0.77	0.010 *	2.09 ± 0.75	1.06 ± 0.75	<0.001 ***
Periaqueductal gray	1.50 ± 0.96	1.28 ± 0.75	0.475	1.96 ± 0.72	1.78 ± 0.73	0.547
Substantia nigra	2.14 ± 0.83	2.67 ± 0.59	0.034 *	2.46 ± 0.51	2.00 ± 0.69	0.034 *
Locus ceruleus	1.73 ± 0.77	1.22 ± 0.43	0.015 *	2.23 ± 0.69	1.94 ± 0.64	0.114
Pontine nucleus	1.18 ± 0.66	0.33 ± 0.59	<0.001 ***	2.18 ± 0.73	0.89 ± 0.58	<0.001 ***
Reticular formation	1.82 ± 0.80	1.33 ± 0.69	0.059	2.14 ± 0.56	1.67 ± 0.77	0.029 *
Inferior olive	0.86 ± 0.64	0.78 ± 0.55	0.704	1.41 ± 0.50	1.11 ± 0.76	0.219
Cerebellar cortex	0.32 ± 0.48	0.22 ± 0.55	0.348	0.55 ± 0.51	0.11 ± 0.32	0.005 **
Cerebellar dentate nucleus	2.41 ± 0.67	1.06 ± 0.80	<0.001 ***	1.91 ± 0.68	1.11 ± 0.83	0.003 **
Axonal spheroid (mean ± SD)						
Globus pallidus	0.82 ± 0.96			0.89 ± 1.08		
Substantia nigra	1.36 ± 0.109			1.17 ± 1.20		

TA, tuft-shaped astrocyte; SD, standard deviation. Neuronal loss: 0, なし; 1, 軽度; 2, 中等度; 3, 重度. Tau pathology: 0, なし; 1, わずか; 2, 中等度; 3, 多数. Mann-Whitney U 検定, 統計学的有意差: * $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$

6) 統計学的解析

発症/死亡時年齢, 罹病期間および病理組織学的所見 (神経細胞脱落, タウ関連病理および 3D 画像) の 2 群間 (TA 群 vs. non-TA 群) の比較には, Mann-Whitney U 検定を用いた.

臨床データの比率 (性別, 診断, 臨床症状) の 2 群間比較には, Fisher の正確検定を用いた. 歩行不能になるまでをエンドポイントとした生存曲線は Kaplan-Meier 曲線を用い, 2 群の比較には Log-rank 検定を使用した. 統計学的解析は GraphPad Prism version 5.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) で行った. 有意水準は $p < 0.05$ とした.

結 果

神経病理学的所見

1) 組織学的所見

タウ関連病理に関して, まず 2 種類のタウ陽性アストロサイト (TA と non-TA) を同定した. TA (図 2 A, C) と比較して, non-TA は, 形態が不規則で核近傍に短く太い突起様にタウの蓄積が観察された (図 2 B, D). 銀染色によるタウ陽性アストロサイトの病理組織像により, 40 例を 2 群に分類し, それぞれ TA 群 ($n=22$, 男 13/女 9) と non-TA 群 ($n=18$, 男 8/女 10) とした (表 1).

2 群の脳重には有意差を認めなかった (TA 群: $n=22$, 1106 ± 151.1 g; non-TA 群: $n=18$, 1171 ± 139.8 g). 病理組織学的所見のまとめを表 2 に示した. TA 群では, 神経細胞脱落の程度が, 運

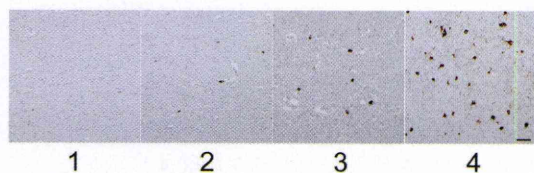


図 1 タウ関連病理の評価尺度. 神経原線維変化とタウ陽性グリア (coiled body とタウ陽性アストロサイト) の強度は AT8 免疫染色を用いて 4 段階評価を行った: 0, なし; 1, わずか; 2, 中等度; 3, 多数. 橋核, AT8 免疫染色 (1: 200). Bar $100 \mu\text{m}$.

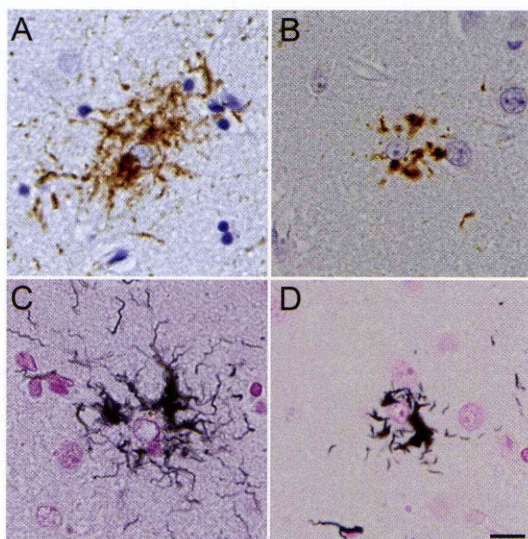


図 2 Tuft-shaped (TA) と non-tuft-shaped (non-TA) astrocytes の光鏡像. A, C) TA では, タウ蓄積像は放射状に広がり, 細長い突起状を示す. B, D) 一方, non-TA では, TA と異なりタウ蓄積像は核周囲に短く太い突起状に認められる. A, B) AT8 免疫染色; C, D) Gallyas-Braak 銀染色. Bar $10 \mu\text{m}$.

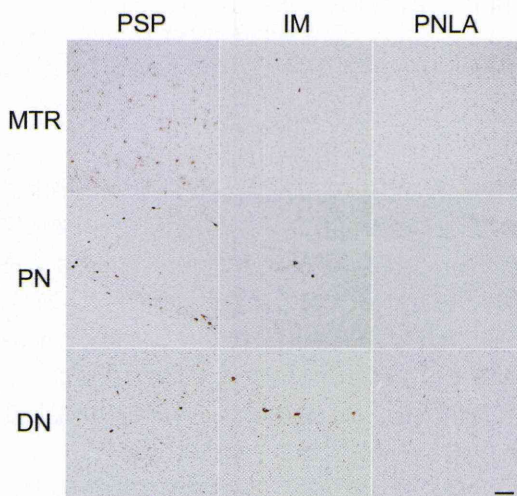


図 3 PSP 群, 中間 (IM) 群, PNLA 群の代表的症例における運動野 (MTR), 橋核 (PN), 小脳歯状核 (DN) の AT8 陽性タウ病変. タウ関連病理の評価尺度は, 総じて PSP 群で 2-3, IM 群で 1-2, PNLA 群で 0-1 を示す. Bar $100 \mu\text{m}$.

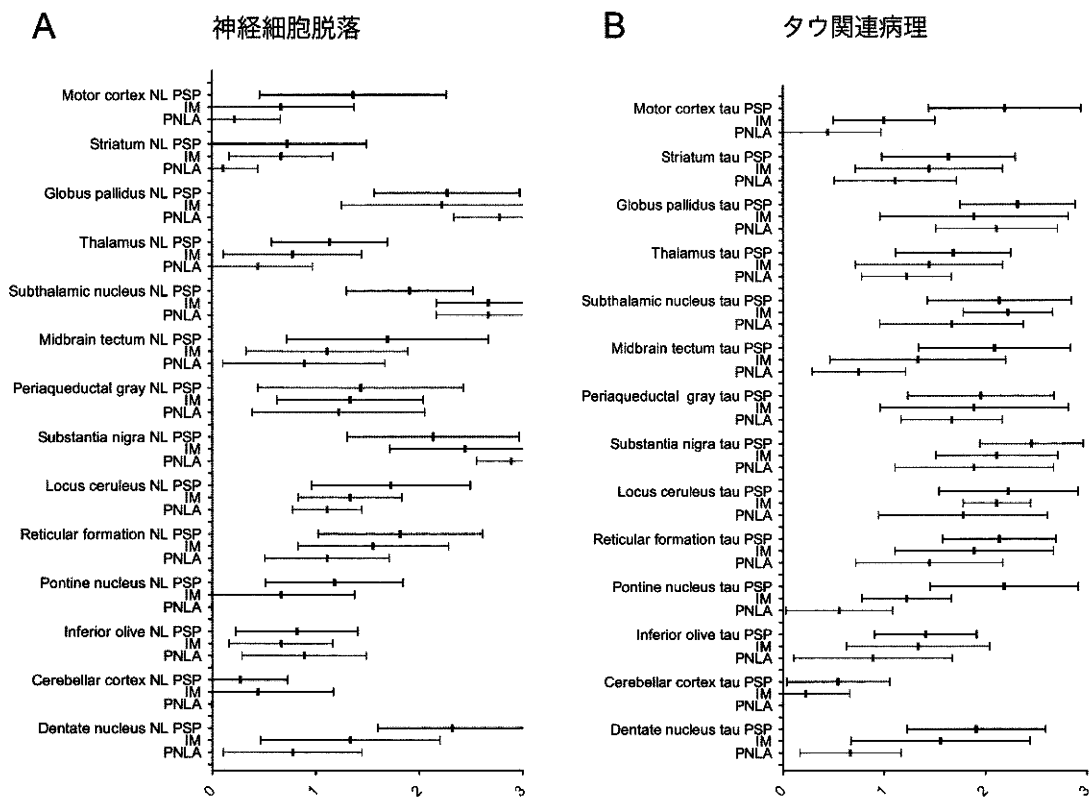


図4 A, B) PSP群, 中間(IM)群, PNLA群の神経細胞脱落とタウ関連病理の分布と強度. 各半定量的評価尺度(0-1-2-3)の平均値±標準偏差. PSP群(黒色), IM群(灰色), PNLA群(薄灰色). 図を見る限りIM群はPSP群とPNLA群の中間に位置づけられているように見える.

動野皮質, 視床, 中脳被蓋, 橋核および小脳歯状核で有意に強かった. 一方で, 視床下核の変性程度はnon-TA群の方が有意に強かった. タウ関連病理の程度は, TA群で運動野, 中脳被蓋, 橋核, 小脳皮質および小脳歯状核で有意に強く, non-TA群ではこれらの部位のタウ蓄積の程度が明らかに軽度であった. 軸索スフェロイドの出現頻度はTA群とnon-TA群で差を認めなかった.

TA群全例(22/22)は病理学的にdefinite PSPに属すると考えられ, タウ関連病理が脳の広範な領域に認められた¹⁴⁾⁻⁷⁾²⁴⁾. 一方で, non-TA群のうち9例(9/18)は, 神経細胞脱落の程度は強いものの, 全体的にタウ病理が軽く, 淡蒼球, 黒質, 視床下核に病変が限局しており, この9例の

病理組織学的特徴は, 既報のPNLAの所見に合致すると考えられた¹⁹⁾⁻²¹⁾. Non-TA群の残りの9例(9/18)は, 軽度の神経細胞脱落とタウ病変がPNLを超えて, 運動野, 橋核, 小脳歯状核にも及んでいることから, PSPとPNLAの中間に位置する群(以下, IM群とする)である可能性が考えられた(図3). この3群(PSP群, IM群, PNLA群)の神経細胞脱落とタウ関連病理につき, 病変分布と強度を比較したグラフを図4に示した.

2) タウ陽性アストロサイトの3次元構造解析

AT8陽性TAは, 細長い放射状の突起様構造を示し(図5A), AT8陽性non-TAは, 短く太い構造を示した(図5B). IMARISを用いて同一サイズのボクセル内で測定したAT8陽性構造の表面積と

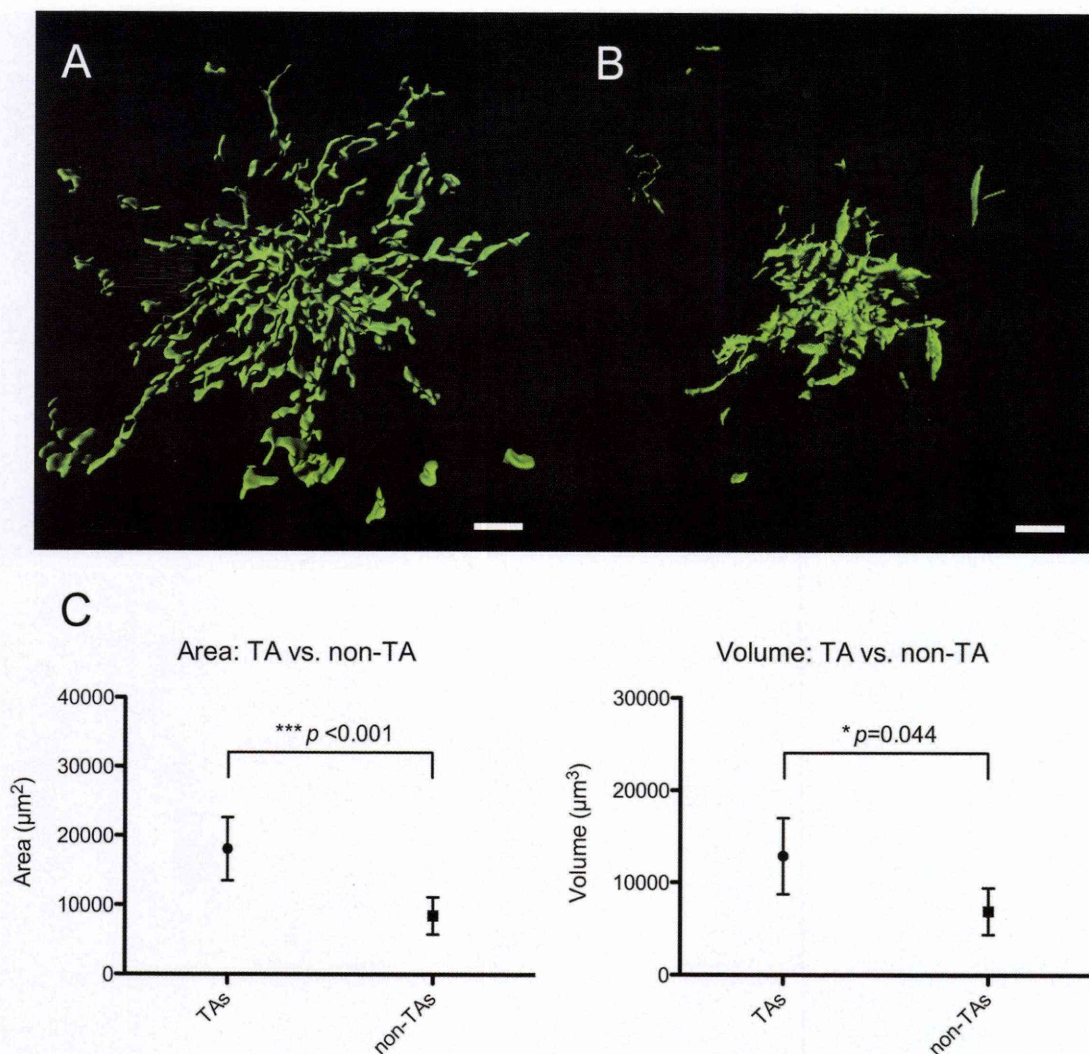


図5 A, B) AT8陽性アストロサイトの3次元(3D)再構築画像。IMARIS。A) TA, B) non-TA, C) IMARISを用いた形態学的解析では、TAはnon-TAを比較して体積と表面積が有意に大きい(Mann-Whitney U検定, 統計学的有意差 $*p < 0.05$)。グラフには平均値と95%信頼区間を示す。表面積の比較では、TAとnon-TAの95%信頼区間は重ならない。

体積はTAがnon-TAより有意に大きかった(図5 C)。

3) タウ陽性アストロサイトの超微細構造

包埋前免染法を用いた免疫電子顕微鏡像では、TA群ではAT8陽性構造が核から遠位に伸びる細長い突起として観察された(図6 A)²³⁾。一方、

Non-TA群ではAT8陽性構造が核近傍に集中していた(図6 B)。電子顕微鏡強拡大像では、両群で約10-13 nm径の細管構造(straight tubules)から成る繊維束が認められた(図6 C, D)。TA群と比較して、non-TA群の細管は不規則で密度が疎にみえた(図6 D)。

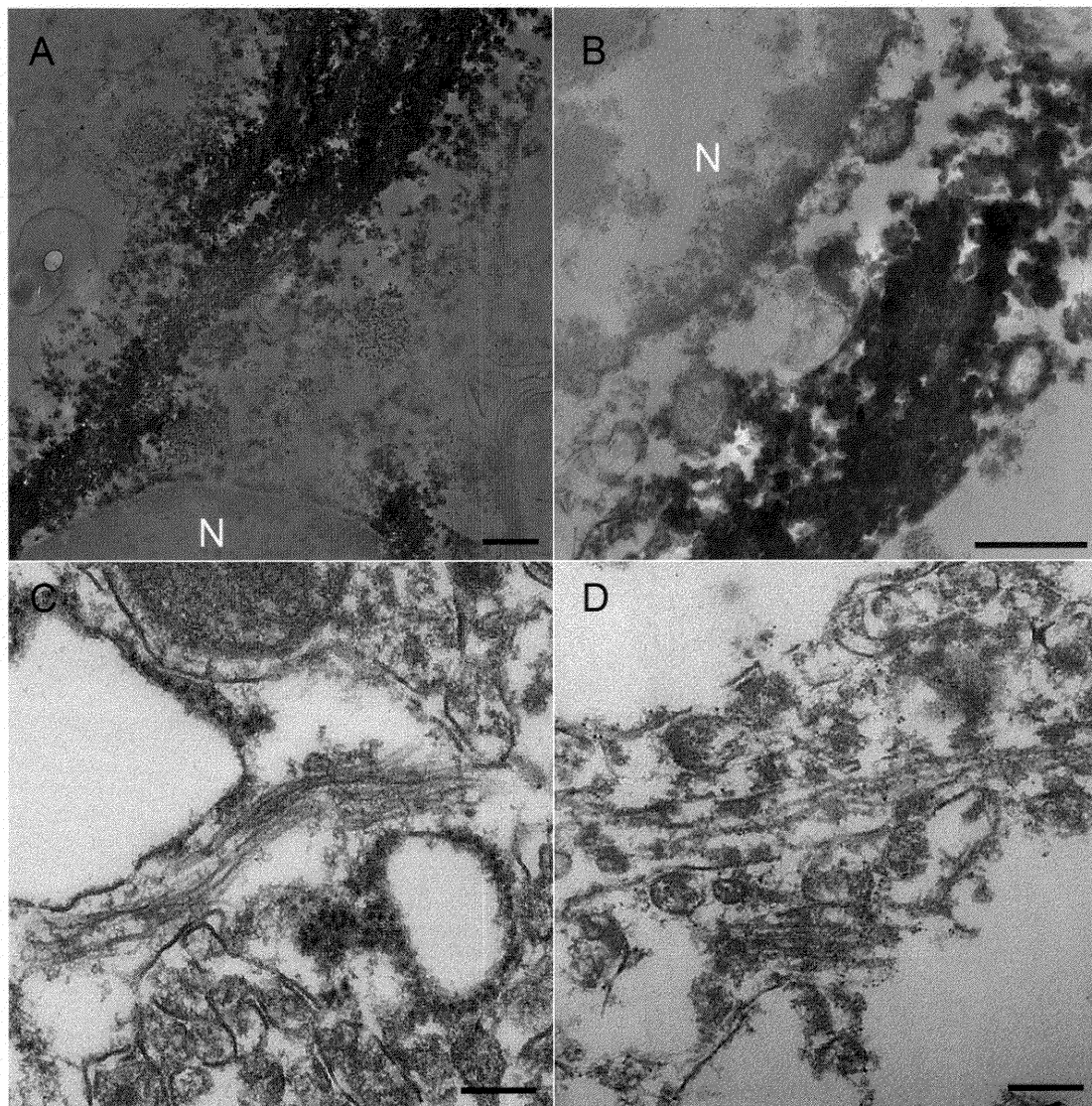


図6 被殻組織のタウ陽性アストロサイト電顕像。A, B) AT8抗体を用いたプレエンベデッド法による免疫電子顕微鏡像。A) TAでは、AT8陽性構造が核周囲から細長く遠くに広がっている。B) non-TAでは、AT8陽性構造物は核近傍に凝集している。C, D) 電子顕微鏡強拡大像では、TA (C) と non-TA (D) に共通して細管構造 (straight tubules) の集合体である線維束が観察された。N, 核; Bars A, B 500 nm; C, D 200 nm。

4) 臨床的特徴

TA群と non-TA群の症例のまとめを表1に示した。2群ともに臨床初期に PSP と診断された症例は少なかった。TA群と non-TA群で性別と死

亡年齢には有意差を認めなかった。しかしながら、non-TA群は発症年齢が有意に若く、罹病期間が有意に長かった ($p < 0.05$)。また、臨床初期にパーキンソン病と診断されやすいという特徴があっ

表 3 TA 群と non-TA 群の臨床所見

Symptoms and signs	Initial 2 years of disease course			Entire disease course		
	TA (n=22)	non-TA (n=18)	p-value	TA (n=22)	non-TA (n=18)	p-value
Vertical gaze palsy	7/22 (31.8%)	3/18 (16.7%)	0.465	16/22 (72.7%)	16/18 (88.9%)	0.258
Falls	8/22 (36.4%)	3/18 (16.7%)	0.286	16/22 (72.7%)	11/18 (61.1%)	0.509
Postural instability	7/22 (31.8%)	2/18 (11.1%)	0.149	12/22 (54.5%)	14/18 (77.8%)	0.186
Cognitive decline	8/22 (36.4%)	1/18 (5.6%)	0.027 *	18/22 (81.8%)	10/18 (55.6%)	0.093
Asymmetry	7/22 (31.8%)	3/18 (11.1%)	0.465	8/22 (31.8%)	3/18 (16.7%)	0.286
Tremor	6/22 (27.3%)	9/18 (50.0%)	0.194	8/22 (31.8%)	10/18 (55.6%)	0.339
L-Dopa response	4/22 (18.2%)	5/18 (27.8%)	0.705	5/22 (22.7%)	7/18 (38.9%)	0.315
Ataxia	3/22 (13.6%)	0/18 (0.0%)	0.239	4/22 (18.2%)	1/18 (5.6%)	0.356
Limb rigidity	8/22 (36.4%)	6/18 (33.3%)	1.000	14/22 (63.6%)	13/18 (72.2%)	0.737
Gait disturbance	14/22 (63.6%)	11/18 (61.1%)	1.000	20/22 (90.9%)	17/18 (94.4%)	1.000
Freezing gait	2/22 (9.1%)	2/18 (11.1%)	1.000	4/22 (18.2%)	7/18 (38.9%)	0.173
Bradykinesia	10/22 (45.5%)	6/18 (33.3%)	0.526	15/22 (68.2%)	14/18 (77.8%)	0.724
Psychiatric symptom	2/22 (9.1%)	2/18 (11.1%)	1.000	4/22 (18.2%)	7/18 (38.9%)	0.173
Speech problem	9/22 (40.9%)	9/18 (50.0%)	0.750	19/22 (86.4%)	16/18 (88.9%)	1.000
Dysphagia	4/22 (18.2%)	4/18 (22.2%)	1.000	16/22 (72.7%)	16/18 (88.9%)	0.258
Nuchal/axial rigidity	3/22 (13.6%)	4/18 (22.2%)	0.680	13/22 (59.1%)	13/18 (72.2%)	0.510
Cerebral cortical signs	2/22 (9.1%)	1/18 (5.6%)	1.000	5/22 (22.7%)	4/18 (22.2%)	1.000
Writing disturbance	1/22 (4.5%)	3/18 (16.7%)	0.310	2/22 (9.1%)	6/18 (33.3%)	0.110
Difficulty in eye-opening	0/22 (0.0%)	1/18 (5.6%)	0.450	1/22 (4.5%)	6/18 (33.3%)	0.033 *

TA, tuft-shaped astrocyte. Fisher の正確検定, 統計学的有意差: * $p<0.05$

た ($p<0.01$) (表 1).

2 群の臨床症状の出現頻度を表 3 にまとめた。発症後 2 年以内の認知機能障害は, TA 群で有意に多くみられた ($p<0.05$)。開眼失行を含む開眼困難は全経過中で, non-TA 群に有意に多く認められた ($p<0.05$)。統計学的有意差を認めなかったものの, PSP の古典的症状である垂直方向眼球運動制限, 転倒, 姿勢反射障害, 寡動は初期の段階で TA 群に多い傾向があった。一方で, 振戦とすくみ足は全経過中で non-TA 群に多い傾向があった。

図 7 に示すように, 発症から歩行不能 (車イス) になるまでの生存期間中央値は TA 群で 5.5 年, non-TA 群で 11.0 年と, non-TA 群で有意に長かった ($p<0.05$)。PNLA の臨床的特徴とされ

る表現形である純粹無動症 (または predominantly akinesia) は, non-TA 群のみで認められた (IM, 4/9; PNLA, 1/9; $p=0.014$)。

5) サルコシル不溶性タウ

サルコシル不溶画分のイムノプ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, TA 群 (PSP 群), non-TA 群 (IM 群, PNLA 群) とともに CBD と共通の 4R を示すバンドを認めた。脱リン酸化未処理の画分では, CBD では 37kDa のバンドパターンを示したのに対し, TA 群 (PSP 群) と non-TA 群 (IM 群, PNLA 群) の低分子量 C 末断片化は 33kDa の従来の PSP バンドパターンを示した。

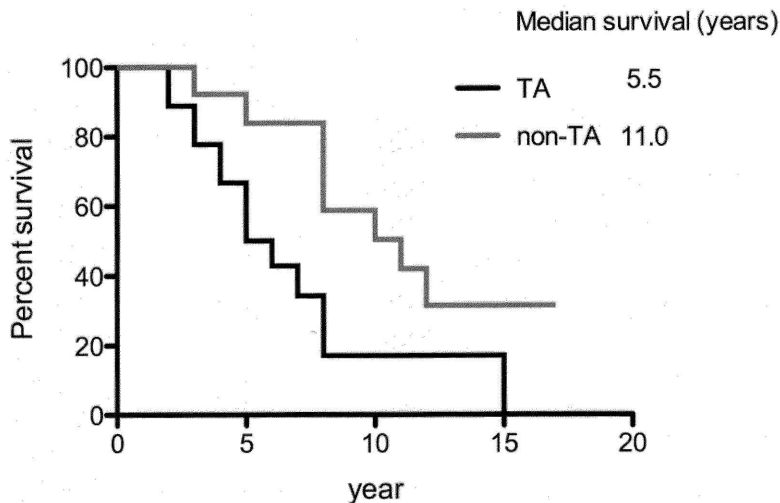


図7 歩行不能(車イス上)になるまでをエンドポイントとしたカプランマイヤー曲線(TA群とnon-TA群). 生存期間中央値はnon-TA群(11.0年)がTA群(5.5年)より有意に長い. ログランク検定, $p=0.019$.

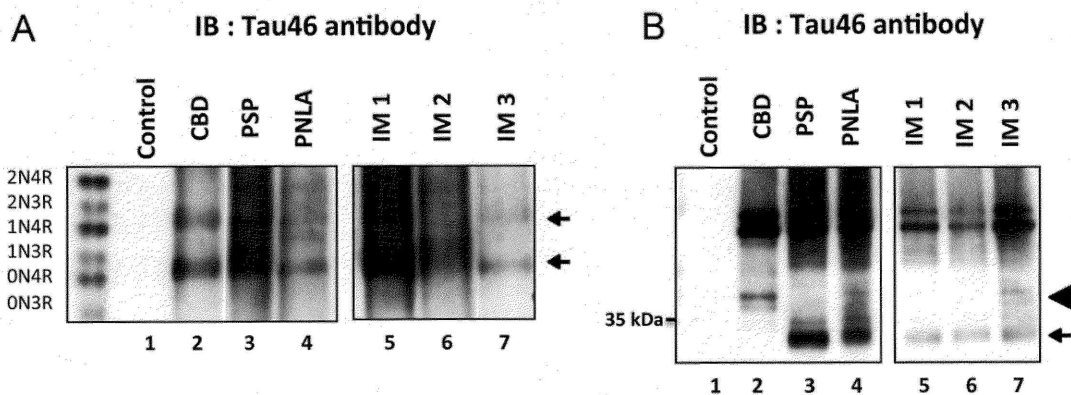


図8 サルコシル不溶画分のイムノプロット解析結果. A) T-46抗体を用いた脱リン酸化処理後のイムノプロットでは, TA群(PSP群レーン3)とnon-TA群(IM群#1-3レーン5-7; PNLA群レーン4)でCBD(レーン2)と共通の4Rタウアイソフォーム(左端タウラダー; 0N4R and 1N4R, 矢印)を示すバンドが認められる. B) T-46抗体を用いた脱リン酸化未処理のイムノプロットでは, TA群(PSP群レーン3), non-TA群(IM群#1-3レーン5-7; PNLA群レーン4)ともに33 kDa(矢印)の断片化バンドを認め, CBD症例(レーン2)では37 kDa(矢尻)のバンドを認める.

考 察

近年, 病理組織学的にPSPや皮質基底核変性症(corticobasal degeneration: CBD)と異なる非

典型的タウオパチーの剖検例の多数例の検討により, 4Rタウオパチーの新たな分類として, オリゴデンドロサイトとアストロサイトに小球状のタウ陽性封入体がみられることを特徴とする globular

glial tauopathies (GGT) が提唱された²⁵⁾。興味深いことに、GGT でみられるタウ陽性アストロサイトは常に G-B 染色陰性であり²⁴⁾²⁵⁾、この点が G-B 染色陽性を示す本研究の TA や non-TA、あるいは CBD で認められるアストロサイト斑 (astrocytic plaque)⁴⁾⁵⁾²⁶⁾ と異なる特徴である。このように、タウオパチーを分類する上でタウ陽性アストロサイトの形態学的特徴を正確に描写することが重要視されるようになっている。

本研究ではタウ陽性アストロサイトの形態学的な違いに着目し、古典的 TA を有する TA 群と独特の形態のアストロサイトを有する non-TA 群の 2 群に分類した。後者は TA の非典型像というよりも、G-B 染色陽性であることを除けば GAI 们に類似していると考えられた²⁴⁾²⁵⁾。個々の non-TA は TA に比べて明らかに形態が小さく、小球状～太く短い突起状のタウ蓄積像が認められた。3D 画像による解析では、固定ボクセル内の表面積と体積は non-TA が TA よりも有意に小さく両者の表面積に重なりを認めないという結果が得られ、non-TA は TA と明らかに区別することができると考えられた。この形態学的な違いは両者の超微細構造の違いを反映していることが予想されたが、免疫電顕による観察では、その存在部位や広がりにより若干の違いはあるものの、10-13 nm の細管構造 (straight tubules) から成る繊維束が両者に認められ²³⁾、明らかな相違を指摘することができなかった。

TA が PSP の主要な病理組織学的特徴であることから⁴⁾⁻⁷⁾²⁴⁾、本研究において TA 群 22 例は PSP と確定診断された。一方で、non-TA 群 18 例のうち、9 例はタウ病変の分布が PNL に限局しており PNLA に合致すると考えられた。Non-TA 群の残りの 9 例については、PSP で認められる典型的 TA と同定できる形態のタウ陽性アストロサイトはほとんど認めず、タウ病変の分布が PNL を超えて運動野、橋核、小脳歯状核にも広がりを持っていたが、その程度は PSP よりも明らかに軽度であった。興味深いことに、多くの病変において神経細胞脱落とタウ関連病理のスコアは PSP と PNLA の中間に位置づけられた。このことから、

この群が、PSP と PNLA の中間群である可能性が考えられた。

近年、Ahmed らは 400 以上の PSP 連続剖検例のうち、PNL に強い変性を認めるものの、PSP で通常冒される運動野、線条体、橋核および小脳歯状核の変性とタウ蓄積が軽度にとどまる 8 症例を見だし、この群を PSP-PNLA として PSP の一亜系と位置づけた²²⁾。その病理組織学的特徴として軸索スフェロイドが淡蒼球と黒質に多数出現することと、少数の TA を認めたことを報告している²²⁾。神経細胞脱落とタウ関連病理の強度に基づく、PSP-PNLA は本研究の non-TA 群 (IM 群 + PNLA 群) に合致すると考えられた。運動野や尾状核におけるタウ関連病理の強度が PSP と PSP-PNLA を区別する上で有用であるとされるが、本研究ではタウ関連病理の強さに加えてタウ陽性アストロサイトの形態の違いが PSP と PSP-PNLA を区別する上で重要であることが示唆された。さらに、本研究では軸索スフェロイドは PSP-PNLA (IM 群 + PNLA 群) の特異的所見ではないと考えられた。

臨床データ解析の結果、non-TA 群には早期発症、長期経過、運動機能が比較的保たれるという特徴が認められた。罹病期間の長さは、non-TA 群において運動野の神経細胞脱落とタウ関連病理が軽度であることが関与している可能性が考えられる。また、non-TA 群は病初期には PD と診断されやすく、純粋無動症がみられやすいという特徴は興味深い。Ahmed らは典型的な PSP との比較で、PSP-PNLA がより早期に発症し緩徐進行性であることを述べている²²⁾。さらに、開眼失行は PSP-PNLA のみにみられたと報告しているが、本研究においても、開眼失行を含む開眼困難は non-TA 群でより高頻度に認められた。このように、本研究の non-TA 群 (IM 群 + PNLA 群) の臨床的特徴は全般的に Ahmed らの PSP-PNLA と類似していた²²⁾。

先行研究では、400 例以上の PSP 剖検例で 8 例 (<2.0%) のみが PSP-PNLA と診断されたのに対し、本研究では 40 例の PSP と PSP 関連疾患の連続剖検例に、18 例 (IM 群 9 例、PNLA 群 9 例、

45.0%)のnon-TA群(PSP-PNLA)が含まれており、疾患頻度が大きく異なっていた。本研究に用いた剖検例に臨床診断困難例(初期にPSPと診断されにくい症例;表1)が多く含まれているというバイアスはあるものの、本研究の結果と元々PNLAの報告が本邦から多くなされてきた^{16)17)19)–21)}という事実をふまえると、コーカサス人種と異なる人種的背景を持つ日本人において、何らかのリスクファクターが存在していると推察される。

不溶性タウのイムノブロットでは、TA群(PSP群)とnon-TA群(IM群, PNLA群)のいずれにおいても4Rタウが確認された。さらに脱リン酸化処理前の不溶画分のイムノブロットでは33-kDaの断片を認め、PSPとPNLAで共通の生化学的特徴が示された²⁷⁾。MoriらはPNLAのイムノブロット解析の結果、PNLAがPSPやCBDと同様の4Rタウオパチーであることを報告したが²¹⁾、我々の知る限り、これまでPNLAの症例でPSPの生化学的特徴が明確に示されたことはなく、重要な所見と考える。

結 論

タウ陽性アストロサイトの形態学的特徴により、本研究ではPSPまたはPSP類似疾患の剖検例を2群、すなわちTA群とnon-TA群に分類できることを示した。TA群は古典的PSP群と考えられ、non-TA群はタウ関連病理の広がりや強度により、さらに中間(IM)群とPNLA群の2群に分類されると評価された。この3群は共通の生化学的特徴を有する4Rタウオパチーであり、すなわちPSP群、IM群、PNLA群の3群は臨床病理組織学的に連続するスペクトラムを構成している可能性が示唆された。IM群をPSPとPNLAの中間に位置づけられる群と評価する妥当性については更なる検討が必要ではあるが、タウ陽性アストロサイトの形態とタウ関連病理の強度と分布により、古典的PSP¹⁾⁴⁾⁵⁾とPSP-PNLA²²⁾、あるいは本研究のnon-TA群を区別できるという事実は重要である。PSPは臨床的にも病理組織学的にも多様であ

り、今後PSP関連疾患が新たに分類されていく可能性があり、non-TA群は少なくともその中の1群を形成していると予測される。

謝 辞

直接のご指導を賜りました新潟大学脳研究所病理学教室の高橋 均教授、柿田明美教授、豊島靖子准教授に厚く御礼申し上げます。また、標本作製や電顕に御助力いただきました技師の丹田智恵子さん、高崎順子さん、斉藤春美さん、藤田知子さん、江川重公さん、濁川慎吾さんに深謝致します。

参 考 文 献

- 1) Steele JC, Richardson JC and Olszewski J: Progressive supranuclear palsy. A heterogeneous degeneration involving the brain stem, basal ganglia and cerebellum with vertical gaze and pseudobulbar palsy, nuchal dystonia and dementia. Arch Neurol 10: 333–359, 1964.
- 2) Litvan I, Agid Y, Calne D, Campbell G, Dubois B, Duvoisin RC, Goetz CG, Golbe LI, Grafman J, Growdon JH, Hallett M, Jankovic J, Quinn NP, Tolosa E and Zee DS: Clinical research criteria for the diagnosis of progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome): report of the NINDS-SPSP international workshop. Neurology 47: 1–9, 1996.
- 3) Litvan I, Campbell G, Mangone CA, Verny M, McKee A, Chaudhuri KR, Jellinger K, Pearce RK and D’Olhaberriague L: Which clinical features differentiate progressive supranuclear palsy (Steele-Richardson-Olszewski syndrome) from related disorders? A clinicopathological study. Brain 120: 65–74, 1997.
- 4) Dickson D, Hauw J-J, Agid Y and Litvan I: Progressive supranuclear palsy and corticobasal degeneration. In: Dickson DW, Weller RO (eds) Neurodegeneration: the molecular pathology of dementia and movement disorders, 2nd edn. Blackwell Publishing Ltd., Oxford, pp 135–155, 2011.
- 5) Dickson DW, Rademakers R and Hutton ML:

- Progressive supranuclear palsy: pathology and genetics. *Brain Pathol* 17: 74-82, 2007.
- 6) Komori T: Tau-positive glial inclusions in progressive supranuclear palsy, corticobasal degeneration and Pick's disease. *Brain Pathol* 9: 663-679, 1999.
- 7) Komori T, Arai N, Oda M, Nakayama H, Mori H, Yagishita S, Takahashi T, Amano N, Murayama S, Murakami S, Shibata N, Kobayashi M, Sasaki S and Iwata M: Astrocytic plaques and tufts of abnormal fibers do not coexist in corticobasal degeneration and progressive supranuclear palsy. *Acta Neuropathol* 96: 401-408, 1998.
- 8) Williams DR, de Silva R, Paviour DC, Pittman A, Watt HC, Kilford L, Holton JL, Revesz T and Lees AJ: Characteristics of two distinct clinical phenotypes in pathologically proven progressive supranuclear palsy: Richardson's syndrome and PSP-parkinsonism. *Brain* 128: 1247-1258, 2005.
- 9) Williams DR, Holton JL, Strand K, Revesz T and Lees AJ: Pure akinesia with gait freezing: a third clinical phenotype of progressive supranuclear palsy. *Mov Disord* 22: 2235-2241, 2007.
- 10) Kanazawa M, Shimohata T, Toyoshima Y, Tada M, Kakita A, Morita T, Ozawa T, Takahashi H and Nishizawa M: Cerebellar involvement in progressive supranuclear palsy: A clinicopathological study. *Mov Disord* 24: 1312-1318, 2009.
- 11) Hassan A, Parisi JE and Josephs KA: Autopsy-proven progressive supranuclear palsy presenting as behavioral variant frontotemporal dementia. *Neurocase* 18: 478-488, 2012.
- 12) Josephs KA, Boeve BF, Duffy JR, Smith GE, Knopman DS, Parisi JE, Petersen RC and Dickson DW: Atypical progressive supranuclear palsy underlying progressive apraxia of speech and nonfluent aphasia. *Neurocase* 11: 283-296, 2005.
- 13) 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: 396-405, 2006.
- 14) Contamin F, Escourolle R, Nick J and Mignot B: Atrophy of the globus pallidus, substantia nigra, and nucleus subthalamicus. Akinetic syndrome with palilalia, oppositional rigidity and catatonia. *Rev Neurol* 124: 107-120, 1971.
- 15) Takahashi K, Nakashima R, Takao T and Nakamura H: Pallido-nigro-luysial atrophy associated with degeneration of the centrum medianum. A clinicopathologic and electron microscopic study. *Acta Neuropathol* 37: 81-85, 1977.
- 16) Matsuo H, Takashima H, Kishikawa M, Kinoshita I, Mori M, Tsujihata M and Nagataki S: Pure akinesia: an atypical manifestation of progressive supranuclear palsy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 54: 397-400, 1991.
- 17) Yamamoto T, Kawamura J, Hashimoto S, Nakamura M, Iwamoto H, Kobayashi Y and Ichijima K: Pallido-nigro-luysian atrophy, progressive supranuclear palsy and adult onset Hallervorden-Spatz disease: a case of akinesia as a predominant feature of parkinsonism. *J Neurol Sci* 101: 98-106, 1991.
- 18) Imai H, Narabayashi H and Sakata E: "Pure akinesia" and the later added supranuclear ophthalmoplegia. *Adv Neurol* 45: 207-212, 1987.
- 19) Shimoda M, Hosoda Y, Kato S, Kaneto D, Takahashi K, Yen SH and Ohama E: Pallidonigro-luysian atrophy: clinicopathological and immunohistochemical studies. *Neuropathology* 16: 21-28, 1996.
- 20) Konishi Y, Shirabe T, Katayama S, Funakawa I and Terao A: Autopsy case of pure akinesia showing pallidonigro-luysian atrophy. *Neuropathology* 25: 220-227, 2005.
- 21) Mori H, Motoi Y, Kobayashi T, Hasegawa M, Yamamura A, Iwatsubo T and Mizuno Y: Tau accumulation in a patient with pallidonigroluysian atrophy. *Neurosci Lett* 309: 89-92, 2001.
- 22) Ahmed Z, Josephs KA, Gonzalez J, DelleDonne A and Dickson DW: Clinical and neuropathologic features of progressive supranuclear palsy with severe pallido-nigro-luysial degeneration and axonal dystrophy. *Brain* 131: 460-472, 2008.
- 23) Arima K: Ultrastructural characteristics of tau fil-

- aments in tauopathies: immuno-electron microscopic demonstration of tau filaments in tauopathies. *Neuropathology* 26: 475-483, 2006.
- 24) 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: 21-32, 2010.
- 25) 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: 537-544, 2013.
- 26) Dickson DW, Bergeron C, Chin SS, Duyckaerts C, Horoupian D, Ikeda K, Jellinger K, Lantos PL, Lippa CF, Mirra SS, Tabaton M, Vonsattel JP, Wakabayashi K and Litvan I; Office of Rare Diseases of the National Institutes of Health: Office of rare diseases neuropathologic criteria for corticobasal degeneration. *J Neuropathol Exp Neurol* 61: 935-946, 2002.
- 27) 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: 72-79, 2004.

(平成27年1月9日受付)