

Title	筋緊張性ジストロフィー脳の神経原線維変化と酸化的障害
Sub Title	
Author	小山田, 玲子(Oyamada, Reiko) 鹿島, 晴雄(Kashima, Haruo)
Publisher	慶應医学会
Publication year	2009
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.85, No.2 (2009. 4) ,p.T13- T21
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	学位論文
Genre	Journal Article
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20090400-0230">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20090400-0230</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

## 学位論文

## 筋緊張性ジストロフィー脳神経原線維変化と酸化障害

慶應義塾大学精神神経科学教室

(指導：鹿島晴雄教授)

おやまだ れい こ  
小山田 玲子

Key Words : brainstem, myotonic dystrophy, neurofibrillary tangles, oxidative products

筋緊張性ジストロフィー (myotonic dystrophy, 以下 MyD と略) は緩徐進行性の多系統が障害される疾患で、ミオトニア、筋萎縮、前頭禿頭、白内障、睾丸萎縮、内分泌疾患、心疾患などの身体症状に加え、知的障害、軽度認知障害、多幸性、社会常識の欠如など様々な精神症状を示す、有病率 5 人/10 万人の疾患である。MyD の病理についてこれまでに、約 950 本の論文が報告されており、神経病理学的には、神経原線維変化 (neurofibrillary tangles, 以下 NFT と略)、視床小体、マリネスコ小体などを認める<sup>1-6)</sup>。これら身体症状の一部や神経病理学的所見は加齢に伴う変化として知られている。一方、代表的な加齢性変化としてアルツハイマー型認知症で多発する老人斑は、MyD では出現しない。これまで、アルツハイマー型認知症、パーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症などの神経変性疾患においては、すでに酸化障害に関係する分子の免疫組織化学的検討が報告されているが、MyD に関する報告は少ない。本研究では、加齢性変化の指標とされる NFT の分布を詳細に調べると共に、酸化物質の沈着につき、特に中脳中心灰白質と橋縫線核に注目して、免疫組織化学的に検討した。

## 対象と方法

臨床・病理学的に MyD と診断された 12 症例を対象とした。Table 1 に診療録調査に基づく臨床所見を示した。全症例がミオトニア、筋力低下、内分泌障害、精神症状を示し、神経病理学的には軽度脳萎縮に加え NFT と視床小体などを認めた。19 番染色体長腕 13.3 myotonic dystrophy protein kinase 遺伝子における cytosine-thymine-guanine (CTG) triplet repeat の伸長は検索した全例 (症例 7, 10, 11) で認められた。

各症例の家族に神経病理学的解析の同意を得た。ホルマリン固定脳の冠状断スライスを作成し、パラフィン包埋した。海馬を含む側頭葉皮質、基底核、中脳、橋上部の連続切片にヘマトキシリン・エオジン染色、ボディアン染色、ガリアス染色、メセナミン銀染色を行った。免疫組織化学的には microwave で抗原賦活化後 1% 過酸化水素で内在性のペルオキシダーゼ活性を抑制した。リン酸化タウに対するマウスモノクローナル抗体 (AT-8, Innogenex, CA 以下 AT-8 と略) を 1 : 2500 で, advanced glycation end product<sup>7)</sup> (熊本免疫科学研究所以下 AGE と略) を 1 : 1000 で, 4-hydroxy-2-nonenal-modified protein<sup>8)</sup> (4-HNE, Wako 化学, 東京 以下 4-HNE と略) を 1 : 1000 で, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine<sup>9)</sup> (同 以下 8OHdG と略) を 1 : 1000 で,  $\alpha$  シヌクレイン<sup>10)</sup> に対するウサギポリクローナル抗体 (Zymed Laboratories, CA) を 1 : 2 の濃度で使用した。免疫反応は streptavidin-biotin-complex/3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride 染色キット (ニチレイ, 東京) で可視化した。免疫組織化学的に 8OHdG として核酸を検出するために 10 U/ $\mu$ l の deoxyribonuclease I で切片を 37°C, 1 時間処理した。これらの免疫組織化学染色では中枢神経系に病理学的変化を認めない 4 例 (55, 58, 60, 70 歳) のコントロールを用いた。また、免疫染色の対照として、一次抗体の代わりに正常免疫グロブリンで切片を反応させた標本を用いた。NFT の出現については著者およびもう 1 名の神経病理学者により、ガリアス染色と AT8 免疫組織化学染色標本を鏡検した。一般的に後者の方がやや鋭敏であるとされるため、NFT の出現程度を AT8 免疫染色結果をもとに、4 段階 (対物 10 倍視野で 0 個 : - , 1 ~ 10 個 : 1 + , 11 ~ 30 個 : 2 + , 31 個 ~ : 3 + ) に

Table 1 臨床所見

症例	罹病期間 (年)	年齢 (歳)	性別	IQ	HDS	記銘力障害	自発性低下	睡眠障害	その他の精神症状	死因
1	3	35	女	70	*	—	+	—	衝動的	気管内出血
2	6	65	女	*	*	—	—	—		心不全
3	7	58	女	*	*	—	—	不眠	拒絶	呼吸不全
4	9	46	女	82	23.5	+	+	過眠	病識欠如	心不全
5	9	60	女	*	*	+	—	不眠	徘徊など (注3)	肺水腫
6	12	55	男	*	*	+	—	—	病識欠如, 失計算	直腸癌
7	17	57	男	80	*	—	+	+		不整脈
8	18	54	男	82	27.5	+	+	睡眠リズム障害		肺炎
9	21	51	女	70	17.5	+	+	睡眠リズム障害	拒絶	不整脈
10	34	59	男	99	29	—	+	+	前頭葉機能障害 (注1)	肺炎
11	35	59	男	*	21	—	—	+	病識欠如	肺炎
12	36	56	男	50	*	—	+	—	行動障害 (注2)	窒息

IQ: 知能指数, HDS: 長谷川式簡易知能評価スケール, \*: 検査未実施, (空欄): 特に記載がなかった症例

(注1): 前頭葉機能検査 (仮名拾い検査など) にて低下を示した

(注2): 大音量でラジオのイヤホンを片耳にだけつけ, テレビを見るなどの行動がみられた

(注3): 本文中の症例提示欄参照

自発性低下+: 具体的な無為・好癖な様子の記載が診療録にあった症例

—: 徘徊, 多動などの行動の記載から, 自発性低下が認められないと判断された症例

睡眠障害+: 不眠, 過眠, 睡眠リズム障害などの具体的記載でなく, 「睡眠障害あり」などの記載があった症例

—: 「良眠」など, 睡眠障害をみとめなかったという記載があった症例

—: 「良眠」など, 睡眠障害をみとめなかったという記載があった症例

(Oyamada R, et al: Neuropathology. 26: 107-114, 2006 の Table 1 を許可を得て転載)

分けて表記した。AGE, 4-HNE, 8OHdG についても同様に評価した。

加齢性変化をヘマトキシリン・エオジン, ボディアン, ガリアス, メセナミン銀および AT8,  $\alpha$  シヌクレイン染色にて判定し, 4-HNE, AGE, 8OHdG 染色にて酸化的障害を評価した。また, 12 症例中診療録の記載が豊富であった 1 症例につき臨床症状を詳述し, 病理所見と対比した。

## 結 果

一般染色では視床小体やマリネスコ小体のみとめたが, ボディアン染色およびメセナミン銀染色で辺縁系, 基底核, 脳幹において対照および MyD の全例で老人斑を認めなかった。 $\alpha$  シヌクレイン抗体による免疫染色では側頭葉, 海馬, 基底核, 脳幹のニューロピルが対照群と MyD 群ともに染色された。また,  $\alpha$  シヌクレイン染色では MyD の 3 例で黒質ないし青斑核においてレビー小体や pale body が認められた。

### 1. ガリアス染色・AT8 免疫組織化学染色 (Table 2)

対照例 4 例には海馬 CA1, 海馬台にわずかに NFT が認められた。それに比し, MyD の 12 例中 11 例に中側頭回, 海馬傍回皮質と海馬台に軽度から高度までのさまざまな程度に NFT が出現していた (Fig. 1)。症例 1 のみこれらの部位で NFT を認めなかった (Table 2)。

海馬では MyD で NFT を認めた 11 例中 9 例で CA1 に NFT を認め, その他の部位で NFT を認めたのは 11 例中の半数以下だった。また, 中脳と橋上部でも 12 例中 11 例に NFT を認めた。これら 11 例の中には辺縁系に NFT を全く認めなかった症例 1 も含まれている。症例 9 では橋に NFT を認めず, 中脳は検索できなかった。罹病期間・死亡年齢は NFT の出現程度や範囲に関連はなかった。脳重量 1000 g 以下の症例 2 で辺縁系・脳幹共に NFT が多く出現しているのを除けば, 一般に脳萎縮の程度を反映するとされる脳重量も NFT の出現とは明らかな関連は認められなかった。精神症状 (Table 1) と NFT の出現 (Table 2) との関連を検討するために, 12 症例を, NFT が多発している 5 例 (症例 2, 5, 6, 10, 12) を第 1 群と, NFT が少ない 7 例 (症例 1, 3, 4, 7, 8, 9, 11) を第 2 群とに分類したところ, 睡眠障害は, 第 2 群では 6 例 (86%) であるのに対し, 第 1 群では 1 例 (20%) のみであった。自発性低下を示したのは, 第 2 群では 5 例 (71%), 第 1 群では 2 例 (40%) であった。このように, 第 1 群に比し第 2 群の方が睡眠障害と自発性低下を呈した例が多かった。認知症症状, 記銘力障害, その他の精神症状の出現頻度については, 両群間に明らかな差はなかった。

### 2. 酸化物質の免疫組織化学

酸化物質の免疫組織化学染色として 4-HNE, AGE, 8OHdG の 3 種を行ったが, 対照群 4 例においては, 4-

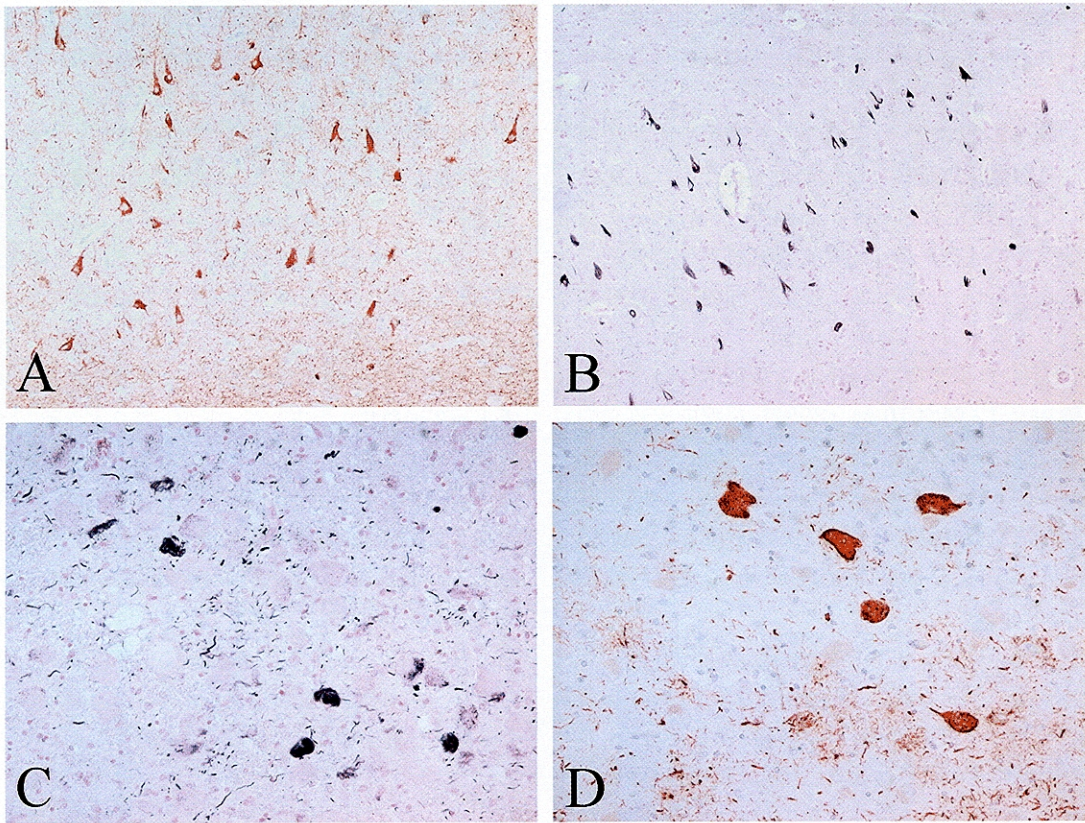


Fig. 1 ガリアス染色・抗 AT8 免疫染色所見  
 A: 症例 2 海馬台の多数の NFT 抗 AT8 免疫染色 (×100)  
 B: 症例 2 海馬台の多数の NFT ガリアス染色 (×100)  
 C: 症例 10 青斑核の NFT ガリアス染色 (×200)  
 D: 症例 3 中脳中心灰白質の NFT 抗 AT8 免疫染色 (×200)  
 (Oyamada R, et al: Neuropathology. 26: 107-114, 2006 の Fig. 1 を許可を得て転載)

Table 2 AT8 免疫組織化学染色の結果

症例	剖検時間 (時間)	脳重 (g)	Braak 分類	海馬			海馬台	嗅内皮質	中側頭回	黒質	CGM	青斑核	縫線核
				CA4	CA2, 3	CA1							
1	4	1120		-	-	-	-	-	-	1+	1+	1+	
2	4	936	III	1+	1+	2+	3+	3+	2+	1+	3+	1+	1+
3	2	1242	II	-	-	1+	1+	1+	1+	-	2+	1+	1+
4	8	1085	II	-	-	-	1+	1+	1+	-	1+	1+	1+
5	17	1072	III	1+	-	2+	2+	3+	2+	1+	2+	1+	1+
6	-	1070	III	1+	2+	1+	2+	3+	2+	1+	1+	1+	1+
7	12	1220	II	-	1+	1+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	1+
8	2	1100	II	-	-	1+	1+	2+	1+	1+	1+	1+	1+
9	2	1100	II	-	-	1+	1+	2+	1+			-	-
10	12	1113	III	2+	1+	2+	3+	3+	3+	2+	2+	2+	2+
11	12	1370	II	-	-	-	1+	1+	1+	1+	-	1+	-
12	4		III	1+	-	1+	2+	3+	2+	1+	2+	1+	2+

CGM: 中脳中心灰白質

NFT の分布については AT8 免疫染色にて 2 名の神経病理学者 (RO, MH) により評価し, 対物 10 倍視野で, 0 個; -, 1~10 個; 1+, 11~30 個; 2+, 31 個~; 3+ に分類した。

(Oyamada R, et al: Neuropathology. 26: 107-114, 2006 の Table 2 を許可を得て転載)

HNE染色でわずかに陽性を示す神経細胞が中側頭回皮質で認められるのみであった。AGE, 8OHdGは陰性であった。

8OHdG染色ではMyDの症例5, 6で中脳中心灰白質や大脳白質の神経細胞核に陽性所見を得た (Fig. 2)。

AGEによる免疫活性はMyD12例中, 中脳中心灰白質の神経細胞体で4例, 橋縫線核の神経細胞体で3例, 陽性を示した (Table 3, Fig. 2)。一方, 同免疫活性は中側頭回皮質や辺縁系では12例とも陰性であった。

Table 3で示したように, 4-HNEの免疫活性は, 症例1, 4を除いた12例中10例 (83%) が嗅内皮質や中側頭回皮質の神経細胞体で陽性となった (Fig. 2)。また, 縫線核では症例5, 8を除いた10例 (83%) が同免疫活性を示した。MyD12例のCA2, CA3, CA4では83%, 中脳中心灰白質では64%で4-HNEの免疫活性が認められた (Table 3)。

他方, 4-HNE染色は, CA1では半数以下の5例でしか陽性とならず, 海馬台では全症例で陰性であった (Table 3)。前述の2群間で神経細胞における4-HNEの免疫活性の出現態度に明らかな差がなく, 同免疫活性は, NFTの分布, 程度および精神症状のいずれとも明らかな関連は見出せなかった。

### 3. 症例呈示

MyD患者の精神症状について詳細な記述が得られた症例5につき経過と神経病理学的所見を検討した。

症例は, 死亡時60歳, 女性。同胞8名中5名が同病, 長女は同病かつ発達障害の遺伝負因あり。42歳時, C型肝炎と診断され, 48歳時, 子宮筋腫手術, 51歳時, 白内障手術の既往歴あり。幼少時より, 走るのが遅かった。24歳時に結婚。25歳頃より, 歩行も遅くなり, 手に持った物を落としやすくなった。28歳時に長女を出産。50歳頃より, 腰を落とした姿勢で歩くようになり, 知的能力の低下を周囲に気づかれるようになった。53歳頃より, 転倒しやすくなったが, 不眠, 無気力, 憂鬱感, 不安感 (一人で自宅にすることができず, 夫の職場に何回も電話する), 食思低下, 体重減少 (2ヶ月で10kg減), 希死念慮を訴えて, Y病院精神科を初診。家事もできず, ヘルパーを利用してしたが, 2ヵ月後, 転倒して右足骨折し, 同院入院。

入院時, 眼脂が眼瞼周囲に付着し, 口唇周囲は汚染, 頭髪は乱れており, 身なりは整っていなかった。洗面が雑で清潔を保てず, ベッド周囲も乱雑。構音障害を認め, 発語不明瞭。会話は一方的で, どころなく奇異な印象があり, 認知症もしくは慢性期の統合失調症を思わせた。用意された食事は摂らないが, 好きなみかんは一度に5

個も食べるなど, 食思低下というよりもむしろ極度の偏食を示し, 健康に配慮した摂食が不能であった。入院前は家事が満足にできず, ヘルパーに頼っていたが, 「家事は出来る」「退院する」と現実検討能力も低下。時の失見当識, 失計算あり。介助時に協力的動作を示さず, 骨折部のシーネをはずしてしまう。脱衣, 寝巻きを裏返しに着る, バスタオルを着ようとする, 「自衛隊が怖い」「校長先生が…」「夫がアラスカに行ってしまう」隣の患者を「おかあさん」と呼ぶ, スプーンを握って座っている, 独語など, せん妄を思わせる言動あり。更に「逃げる」っていわれたからとベッドから降りようとし, 「ジェット機に乗ってる?」と聞くなど幻聴の存在を疑わせる言動もみられた。その他, 被害妄想 (看護師に「殴ったでしょ」と尋ねたり, 「殺される」と言うなど), 錯視 (車椅子を子供という), 人物誤認 (兄弟が面会に来てても別の兄弟の名を呼ぶ), 失見当識 (日付, 曜日, 住所, 年齢, 生年月日をいえない) などの症状を認め, 常識的知識が欠落し (信号色をいえないなど), 簡単な指示動作 (左手で右耳をつまんでなど) に従うことができなかった。

以上のような症状を認めていたが, 骨折の治療を終え, 54歳時に退院し, H病院へ転入院。55歳時に退院後は半年毎にY病院に通院。59歳時にも不眠, 食思低下, 希死念慮を呈してY病院に入院。入院直後より, 食思改善し, 1ヶ月後に退院したが, 入院中何度も同じ質問を繰り返すなど, 健忘の悪化がうかがえた。以後も同様の症状を認め, K病院へ入院した。

その後も同様な状態が持続し, 夫が介護に疲弊したため, 60歳時Y病院へ再入院。ナースコールが頻回だが, 看護師が訪室すると「忘れました」といったり, 「トイレ」というので連れて行くと用を足さないうちに「終わりました」と部屋へ戻る。車椅子で徘徊し, 他患の部屋へ入ってしまったたり, 食事中も落ち着かず, 多動。1割しか食べていなくても, 「全部食べました」と答える。夜間せん妄があり, 要素性の幻聴や幻視を認める。毎日, 夫が面会に来ているにもかかわらず, 「来ない」という。前日の入浴も想起不能。脳波上, 基礎波は6Hzと徐波化していた。肺炎を合併し, 1週間後に死亡。

家族の承諾の下, 死後17時間後に病理解剖を実施。全身の横紋筋は萎縮しており, 心臓および平滑筋には特記すべき所見は認めなかった。病理学診断もMyDであった。その他, 肺水腫, 非誤嚥性の出血性気管気管炎, 腎脾のうっ血, 肝臓の萎縮, 慢性膀胱炎, 軽度動脈硬化を認めた。骨髄は正常, 子宮筋腫による子宮摘出と虫垂切除術を受けている。剖検により採取された脳は,

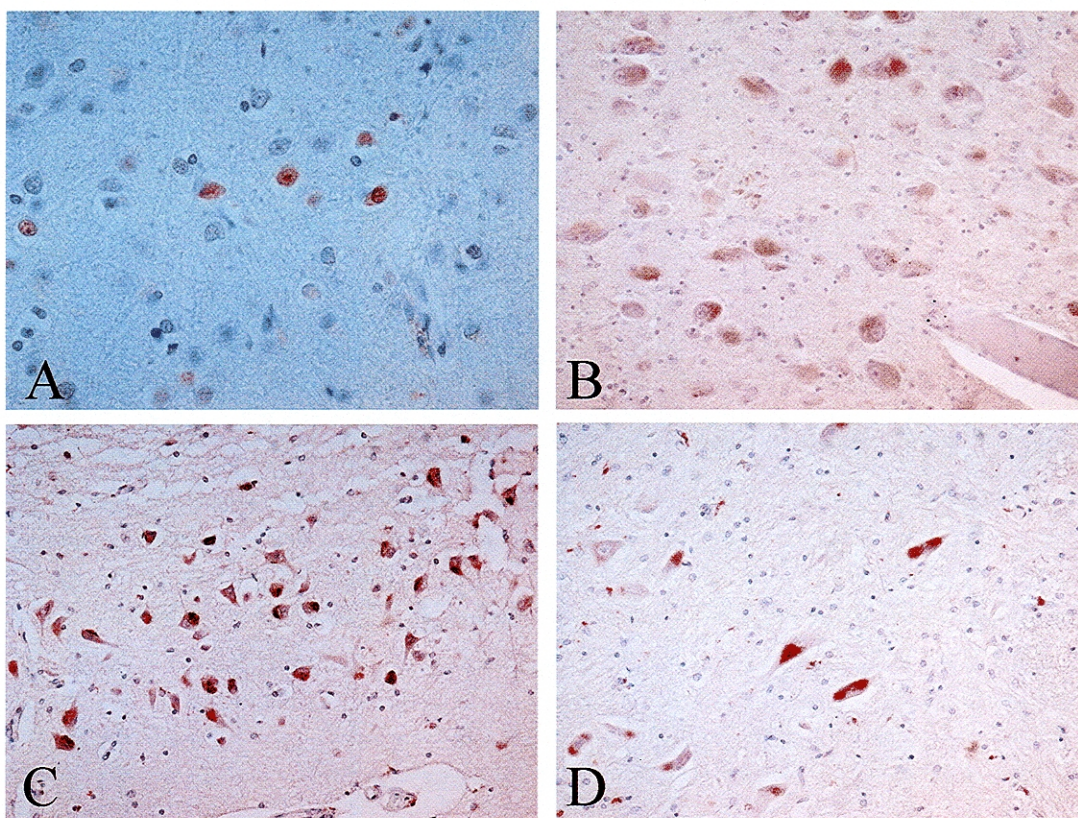


Fig. 2 酸化産物に対する免疫組織化学染色所見

- A : 症例 5 大脳白質における細胞核の 8OHdG の免疫活性 (×400)  
 B : 症例 5 中脳中心灰白質における細胞質の AGE の免疫活性 (×200)  
 C : 症例 7 海馬 CA3 における細胞質の 4-HNE の免疫活性 (×200)  
 D : 症例 11 中脳中心灰白質における細胞質の 4-HNE の免疫活性 (×200)  
 (Oyamada R, et al : Neuropathology. 26 : 107-114, 2006 の Fig. 2 を許可を得て転載)

Table 3 酸化産物に対する免疫組織化学染色の結果

症例	4-HNE										AGE	8OHdG
	海馬			海馬台	嗅内皮質	中側頭回	黒質	CGM	青斑核	縫線核		
	CA4	CA2,3	CA1									
1	-	2+	-	-	-	-	-	-	-	1+	-	-
2	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	CGM, 縫線核	-
3	1+	-	-	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
4	-	-	1+	-	-	-	-	1+	-	1+	-	-
5	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	-	CGM	大脳白質
6	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	縫線核	CGM
7	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
8	2+	2+	1+	-	1+	1+	-	1+	-	-	CGM	-
9	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	-	-
10	1+	1+	-	-	1+	1+	-	-	-	1+	-	-
11	1+	1+	-	-	1+	1+	-	1+	-	1+	-	-
12	-	-	1+	-	1+	1+	-	1+	-	1+	CGM, 縫線核	-

AGE : Advanced glycation end products

4-HNE : 4-hydroxy-2-nonenal-modified protein

8OHdG : 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

AGE, 4-HNE, 8OHdG に対する免疫染色についても同様に評価した

(Oyamada R, et al : Neuropathology. 26 : 107-114, 2006 の Table 3 を許可を得て転載)

1072 g と重量がやや減少し、全体的に萎縮していた。髄鞘染色標本にて大脳半球白質に淡明化を認めた。リン酸化タウをガリアス・AT8にて染色すると、NFT, neuropil threads が扁桃核、海馬、海馬傍回、中側頭回皮質、中脳中心灰白質に中等度、マイネルト核、嗅内皮質、動眼神経核には高度に、黒質、青斑核、縫線核には軽度出現しており、Braak's stage III<sup>11)</sup>に相当していた。老人斑は認められなかった。αシヌクレイン染色では陰性であった。AGE染色では中脳中心灰白質で、8OHdG染色では大脳白質に陽性所見を得た。4-HNE染色では海馬CA2～4・嗅内皮質・中側頭回皮質で軽度陽性の所見であった。

## 考 察

MyDにおいては、NFTは比較的若年より辺縁系皮質を中心に出現する事が多く、アルツハイマー型認知症で多発する新皮質には少ないとされ<sup>12, 13)</sup>、また、MyDにおけるNFTの分布は正常の加齢と差はないといわれている<sup>13)</sup>。NFT、黒質のレビー小体、マリネスコ小体の早発はMyDにおいて加齢性変化が促進している可能性を示唆するが<sup>14, 15)</sup>、加齢に伴いほぼ必発するアミロイド沈着や老人斑の増加は見られない。本研究でもNFTは辺縁系または脳幹に全例で出現していたが、老人斑を認めた例はなかった。同様にNFTを示すが老人斑を伴わないか、もしくは少ない疾患には、進行性核上性麻痺、limbic neurofibrillary tangle dementia、認知症をともしなうパーキンソン病、石灰沈着を伴うびまん性神経原線維変化などが知られている<sup>16, 17)</sup>。NFTは、20歳代から嗅内皮質に観察され始め、辺縁系よりも広がるのは85.7歳くらいであり、老人斑は40歳代から大脳皮質に観察されるようになるといわれている<sup>18)</sup>。このように、NFTと老人斑は出現開始時期も広がり方も異なっている。また、NFTはglycogen synthase kinase 3β (GSK-3β)などのタウ蛋白をリン酸化する酵素が活性化し、脱リン酸化する酵素の活性が相対的に低下した結果、高度にリン酸化されたタウ蛋白が重合して神経細胞内に沈着したものであり、老人斑はamyloid precursor protein (APP)やプレセニリンの遺伝子変異によりAβが増加して形成されるとされ<sup>19)</sup>、出現機序も異なることから、NFTと老人斑はどちらも加齢により出現しやすくなるとはいえ、出現に解離が見られる疾患の存在もなづける。MyDでは第19番染色体長腕上にあるDM protein kinase (DMPK)遺伝子の3'側非翻訳領域に存在する伸張したCTG repeatによりCUG repeat

が伸張したmRNAが、DMPK, cardiac troponin T, muscle specific chloride channel, microtubule-associated protein tau, insulin receptorなどの遺伝子のスプライシング異常を呈することにより多臓器障害が引き起こされると考えられる<sup>19-21)</sup>。現在のところは、DMPKを含むタウ蛋白リン酸化酵素を中心として各酵素およびその基質を染色した、病理学的研究論文は乏しいので、MyDの病因解明に向け、今後、この方面での研究を重ねていくことが有用であろう。また、本研究上、最年少の症例1(35歳)では脳幹のみにNFTを認めた。これはMyDでNFTの出現が大脳皮質よりも脳幹に先行する可能性を推測させるが、今後さらに症例を蓄積し、検討する必要がある。

MyDの患者は記銘力障害、無関心、無感情、自発性低下などの様々な精神症状を呈し、前頭葉機能検査や視覚特殊認知検査で明らかとなる障害を示すとされる<sup>22)</sup>。Mizukamiら<sup>23)</sup>はMyDではNFT、視床小体、黒質のレビー小体、マリネスコ小体などの一部あるいは全てが同時に出現することが多く、それが本症における精神症状と関係があるのではないかと述べているが、必ずしも一致した見解とはなっていない。12例を対象とした本研究でも、NFTの出現は死亡年齢、脳重量、IQ、記銘力障害の有無、無関心などその他の精神症状の有無のいずれとも明らかな関連を認めなかった(Table 1)。本研究では抗αシヌクレイン免疫組織化学染色を行ったが、黒質などの好発部位に、レビー小体は検出されなかった。本研究の12例全例で、脳幹にNFTの出現を認めたことから(Table 2)、脳幹症状としての睡眠障害や自発性低下は全例に出現すると予想されるが、実際にはそれらの症状が明確でない症例もあった。これは、障害される範囲の拡大により、脳幹症状が覆われた可能性がある。

アルツハイマー病、パーキンソン病、ダウン症候群などの様々な神経変性疾患における酸化的ストレスの関与については、すでに多くの研究がある<sup>24, 25)</sup>。DNAの酸化的障害は核酸の酸化的ストレスの最も代表的なマーカーの一つである8OHdGで評価した。これらの疾患における8OHdGによる免疫化学染色についてはすでに報告があり、Nunomuraら<sup>26)</sup>はアルツハイマー病におけるアミロイドβの沈着と核酸の酸化的障害の関連を報告している。しかし、我々が検討した症例では老人斑を欠いており、かつ8OHdGに対する免疫反応も乏しかったことから、核酸の酸化的ストレスはMyDでみられる神経変性の主要因とはいえないのではないかと考えられた。更に、AGEの蓄積も目立たず、少数例で脳幹神経細胞に免疫活性を認めるのみであった(Table 3)。以上より、

アルツハイマー病とは異なり、蛋白の酸化的障害も MyD の中枢神経病変を生じるとは考えにくい。一方、4-HNE の神経細胞への沈着はより明確かつ広範囲にみられ (Table 3)、嗅内皮質、中側頭回皮質、橋縫線核では 12 例中 10 例 (83%) と高頻度に陽性所見を認めた。4-HNE を含む脂質の過酸化がアルツハイマー病やパーキンソン病ではよくみられる<sup>27, 28)</sup>。また、小児期発症の神経変性疾患で 4-HNE が沈着することも報告されている<sup>29, 30)</sup>。4-HNE の沈着と NFT の出現はその程度と部位が必ずしも一致していなかった。しかしながら、NFT 形成にはタウの蓄積と重合を要し、過剰リン酸化によって微小管との結合能を失ったタウが、細胞質に蓄積して、酸化ストレスにより活性化された酵素がタウの 2 量体化、ひいては繊維化を引き起こすが<sup>31)</sup>、過酸化脂質の中間代謝物である HNE はタウと結合して脱リン酸化を阻止することが報告されている点で<sup>32)</sup>、関連性があると考えられる。また、脂質の過酸化は MyD におけるその他の中枢神経病変を生じている可能性がある。他方、海馬台、黒質、青斑核で 4-HNE の免疫活性を示さないことが MyD の特徴ではないかと考えられた。特に、海馬では陽性であるのに対し、海馬台では陰性である点につき、病理所見の更なる比較や機能の違いなどについての知見を深めることが、MyD を研究する上で有用と考えられた。しかしながら、両部位は相互に神経線維が連絡しており、特に両者の病理所見や機能の違いを述べたこれまでの知見は乏しかった。今後、双方の所見に着目した研究を重ねていく必要がある。

Ono ら<sup>33-36)</sup> は MyD の機能的脳幹所見について述べている。Ono ら<sup>35)</sup> と Jouvret<sup>37)</sup> は縫線核のセロトニン作動性ニューロンの減少と過眠が関連すると指摘し、さらに延髄網様体および延髄弓状核のカテコラミン作動性ニューロンの減少と臨床的な低換気との関係を示唆している<sup>34, 36)</sup>。本研究では中脳中心灰白質と橋縫線核に NFT が出現し、4-HNE 沈着が明らかであった。特に橋の縫線核で高頻度 (83%) に 4-HNE の沈着が認められ、臨床的には 12 例中 9 例 (75%) が睡眠障害を示し、8 例 (67%) が自発性の低下を示した (Table 1)。よって MyD では網様体賦活系の障害により覚醒度の低下が生じ、そのため自発性が低下すると考えれば、本研究の結果は Ono らの考察を支持するものといえよう。また、セロトニンと疼痛の関係が報告されており<sup>38, 39)</sup>、MyD においても疼痛症状の存在が推測される。本研究の 12 症例では、疼痛症状は明らかではないが、MyD において、半数以上に疼痛の訴えが見られたという報告もある<sup>40)</sup>。今後は中脳中心灰白質と橋縫線核において、モノ

アミン作動性ニューロンの免疫組織化学的検索を行うことにより、MyD の症状形成メカニズムの解明により近づく可能性がある。

最後に、臨床症状が詳細に記載されていた症例 5 の臨床・病理相関について考察する。臨床的には生来格別知的な問題なく、主婦および母として生活を送っていた女性が、50 歳頃に認知症を思わせる症状 (知的能力の低下) を呈するようになり、健忘よりもむしろ常識の欠如に由来する理解力、判断力の低下が目立っていた。さらにうつ状態や幻覚を思わせる症状に加え、不眠、夜間せん妄も認めた。神経病理学的には、NFT が海馬・中側頭回皮質・嗅内皮質・中脳中心灰白質・黒質・青斑核・縫線核に出現していたが、大脳皮質には広汎には認められなかった。酸化的障害を反映する AGE 染色では中脳中心灰白質で陽性であったが、橋網様核では陰性であった。4-HNE 染色によれば海馬 CA 2 ~ 4・嗅内皮質・中側頭回皮質で軽度陽性であったが、やはり、大脳には広汎な陽性所見は認められなかった。常識の欠如、理解力や判断力の低下は、側頭葉内側部や前頭葉眼窩面の障害に基因する可能性がある。しかし、大脳白質の髄鞘は広汎に淡明化しており、この病変が認知症症状の責任病巣である可能性も否定できない。MyD の精神症状の基盤となる脳病変の解明には、更なる症例の蓄積とより精緻な手法を用いた解析が必要である。なお、精神症状の把握は診療録の記載からなされており、不十分である可能性もある。神経病理所見についても標本化されなかった切片に所見がないとは明言できず、よって、双方の関連について検討するにあたっては限界があることをこわっておく。

## 総 括

12 例の MyD の症例につき、神経病理学的な加齢性変化として NFT の分布に着目し、精神症状との関連を検討し、MyD の中枢神経系における酸化的障害について免疫組織化学的検討を行い、下記の結果を得た。

- 1) 辺縁系、特に海馬 CA1 および脳幹に NFT の出現頻度が高かった。
- 2) NFT が少ない症例で睡眠障害・自発性低下が出現しやすい傾向が見られた
- 3) 罹病期間・死亡年齢・脳重量・認知症症状・記憶力障害・その他の精神症状と NFT の出現程度や範囲に相関はなかった。
- 4) 嗅内皮質・中側頭回皮質・海馬 CA 2 ~ 4・中脳中心灰白質・橋縫線核で 4-HNE の免疫活性が高



頻度に陽性を示し, CA1 では陽性率が50%にとどまり, 海馬台では陰性であった.

- 5) 8OHdG・AGEの免疫活性は少数例でわずかに陽性所見を認めるのみであった.

以上よりMyDにおけるNFTの出現が脳幹に先行する可能性が示唆され, MyDの中枢神経病変の要因として核酸や蛋白の酸化的ストレスは関連が乏しく, 脂質の過酸化は何らかの関連性をもつ可能性がある. また, 網様体で4-HNEの沈着が高頻度に認められ, MyDの睡眠障害や自覚性低下などの臨床症状形成に関与している可能性が示唆される. 今後はより多数例に対し脳幹網様体のモノアミン作動性ニューロンを免疫組織化学的に検索することによってMyDにおける精神症状形成のメカニズム解明に近づくことが期待される.

## 謝 辞

本稿を終えるにあたり, 御指導・御校閲を賜りました慶應義塾大学医学部精神・神経科学教室鹿島晴雄教授に深甚なる謝意を表します. また, 本研究を直接ご指導くださり, 論文の御校閲をいただきました東京都神経科学総合研究所林雅晴先生, 東京都立神経病院水谷俊雄先生, 独立行政法人国立病院機構下総精神医療センター富永格院長に深謝いたします. さらに, ご協力をいただきました都立松沢病院土谷邦秋先生, 独立行政法人国立病院機構下総精神医療センターの諸先生方に感謝いたします.

本研究の一部は, 第45回日本神経病理学会において発表した.

本論文はOyamada R, Hayashi M, Katoh Y, Tsuchiya K, Mizutani T, Tominaga I, Kashima H: Neurofibrillary tangles and deposition of oxidative products in the brain in cases of myotonic dystrophy. *Neuropathology*. 26: 107-114, 2006の一部を含む.

## 文 献

- 1) Corsi B, Danni M, Del Pesce M, Provinciali L. Neuropsychological profile in myotonic dystrophy. *J Neurol* 237: 251-256, 1990
- 2) Ono S, Inoue K, Mannen T, Kanda F, Jinnai K, Takahashi K. Neuropathological changes of the brain in myotonic dystrophy—some new observations. *J Neurol Sci* 81: 301-320, 1987
- 3) Chang L, Anderson T, Migneco OA *et al.* Cerebral Abnormalities in myotonic dystrophy. *Arch Neurol* 50: 917-923, 1993
- 4) Vermersch P, Sergeant N, Ruchoux MM *et al.* Specific tau variants in the brains of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 47: 711-717, 1996
- 5) Ono S, Takahashi K, Fukuoka Y *et al.* Intracytoplasmic inclusion bodies of the substantia nigra in myotonic dystrophy. Immunohistochemical observations. *J Neurol Sci* 148: 193-198, 1997
- 6) Toscano A, Messina S, Campo GM *et al.* Oxidative stress in myotonic dystrophy type I. *Free Radic Res*. 39: 771-6, 2005
- 7) Horiuchi S, Araki S, Morino Y. Immunochemical approach to characterize advanced glycation end products of the maillard reaction. *J Biol Chem* 266: 7329-7332, 1991
- 8) Toyokuni S, Miyake N, Hiai H, *et al.* The monoclonal antibody for the 4-hydroxy-2-nonenal histidine adduct. *FEBS Lett* 359: 189-191, 1995
- 9) Toyokuni S, Tanaka T, Hattori Y, *et al.* Quantitative immunohistochemical determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine by a monoclonal antibody N 45.1: its application to ferric nitrilotriacetate-induced renal carcinogenesis model. *Lab Invest* 76: 365-374, 1997
- 10) Giasson BI, Jakes R, Goedert M, *et al.* A panel of epitope-specific antibodies detect protein domains distributed throughout human  $\alpha$ -synuclein in Lewy bodies of Parkinson's disease. *J Neurosci Res* 59: 528-533, 2000
- 11) Braak H, Braak E. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82: 239-259, 1991
- 12) Yoshimura N, Otake M, Igarashi K, Matsunaga M, Takebe K, Kudo H. Topography of Alzheimer's neurofibrillary change distribution in myotonic dystrophy. *Clin Neuropathol* 9: 234-239, 1990
- 13) Kiuchi A, Otsuka N, Namba Y, Nakano I, Tomonaga M. Presenile appearance of abundant Alzheimer's neurofibrillary tangles without senile plaques in the brain in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 82: 1-5, 1991
- 14) Ono S, Inoue K, Mannen T *et al.* Intracytoplasmic inclusion bodies of the thalamus and the substantia nigra, and Marinesco bodies in myotonic dystrophy: a quantitative morphological study. *Acta Neuropathol* 77: 350-356, 1989
- 15) Kumada S, Uchida T, Hayashi M *et al.* Promyelocytic leukemia protein is redistributed during the formation of intranuclear inclusions independent of polyglutamine expansion: an immunohistochemical study on Marinesco bodies. *J Neuropathol Exp Neurol* 61: 984-991, 2002
- 16) 池田研二: 非アルツハイマー型変性痴呆の最近の分類と知見. *老年精神医学* 14: 279-286, 2003
- 17) Armstrong RA, Lantos PL, Cairns NJ. Progressive supranuclear palsy (PSP): a quantitative study of the pathological changes in cortical and subcortical

- regions of eight cases. 114 : 1569-77, 2007
- 18) Braak H, Braak E. Frequency of stages of Alzheimer-related lesions in different age categories. *Neurobiol Aging* 18 : 351-357, 1997
  - 19) Kawai M. Myotonic dystrophy-recent advances and current clinical problems. *Neurological Medicine* 60 : 339-342, 2004
  - 20) Dansithong W, Paul S, Comai L, Reddy S. MBNL1 is the primary determinant of focus formation and aberrant insulin receptor splicing in DM1. *J Biol Chem*. 280 : 5773-80, 2005
  - 21) O'Coilain DF, Perez-Terzic C, Reyes S *et al*. Transgenic overexpression of human DMPK accumulates into hypertrophic cardiomyopathy, myotonic and hypotension traits of myotonic dystrophy. *Hum Mol Genet*. 13 : 2505-18, 2004
  - 22) Roses AD, Harper PS, Bossen EH. Myotonic muscular dystrophy. In : Vinken PJ, Bruyn GW (eds) *Handbook of Clinical Neurology*, Amsterdam : Elsevier/North-Holland. 40 : 485-532, 1979
  - 23) Mizukami K, Sasaki M, Baba A, Suzuki T, Shiraiishi H. An autopsy case of myotonic dystrophy with mental disorders and various neuropathologic features. *Psychiatry Clin Neurosci* 53 : 51-55, 1999
  - 24) Takedo A, Yasuda T, Miyata T *et al*. Immunohistochemical study of advanced glycation end products in aging and Alzheimer's disease brain. *Neurosci Lett* 221 : 17-20, 1996
  - 25) Nunomura A, Perry G, Pappolla M A *et al*. Neuronal oxidative stress precedes amyloid-beta deposition in Down syndrome. *J Neuropathol Exp Neurol* 59 : 1011-1017, 2000
  - 26) Nunomura A, Perry G, Aliev G *et al*. Oxidative damage is the earliest event in Alzheimer disease. *J Neuropathol Exp Neurol* 60 : 759-767, 2001
  - 27) Markesbery WR, Carney JM. Oxidative alterations in Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 9 : 133-146, 1999
  - 28) Smith MA, Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Perry G. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biochim Biophys Acta* 1502 : 139-144, 2000
  - 29) Hayashi M, Araki S, Arai N *et al*. Oxidative stress and disturbed glutamate transport in spinal muscular atrophy. *Brain Dev* 24 : 770-775, 2002
  - 30) Hayashi M, Arai N, Satoh J *et al*. Neurodegenerative mechanisms in subacute sclerosing panencephalitis. *J Child Neurol* 17 : 725-730, 2002
  - 31) Friedhoff P *et al* : Rapid assembly of Alzheimer-like paired helical filaments from microtubule-associated protein tau monitored by fluorescence in solution. *Biochemistry*. 37 : 10223-10230, 1998
  - 32) Mattson MP *et al* : 4-hydroxynonenal, a product of lipid peroxidation, inhibits dephosphorylation of the microtubule-associated protein tau. *Neuroreport* 8 : 2275-2281, 1997
  - 33) Ono S, Kanda F, Takahashi K *et al*. Neuronal cell loss in the dorsal raphe nucleus and the superior central nucleus in myotonic dystrophy : a clinicopathological correlation. *Acta Neuropathol* 89 : 122-125, 1995
  - 34) Ono S, Takahashi K, Jinnai K *et al*. Loss of catecholaminergic neurons in the medullary reticular formation in myotonic dystrophy. *Neurology* 51 : 1121-1124, 1998
  - 35) Ono S, Takahashi K, Jinnai K *et al*. Loss of serotonin-containing neurons in the raphe of patients with myotonic dystrophy : a quantitative immunohistochemical study and relation to hypersomnia. *Neurology* 50 : 535-538, 1998
  - 36) Ono S, Takahashi K, Kanda F *et al*. Decrease of neurons in the medullary arcuate nucleus in myotonic dystrophy. *Acta Neuropathol* 102 : 89-93, 2001
  - 37) Jouvet M. The role of monoamines and acetylcholine-containing neurons in the regulation of the sleep-waking cycle. *Ergeb Physiol* 64 : 166-307, 1972
  - 38) Hamel E. Serotonin and migraine : biology and clinical implications. *Cephalalgia*. 27 : 1293-300, 2007
  - 39) Schuh-Hofer S, Richter M, Geworski L *et al*. Increased serotonin transporter availability in the brainstem of migraineurs. *J Neurol*. 254 : 789-96, 2007
  - 40) Jensen MP, Hoffman AJ, Stoelb BL *et al* Chronic pain in persons with myotonic dystrophy and facio-scapulothoracic dystrophy. *Arch Phys Med Rehabil*. 89 : 320-8, 2008.