

令和 2 年 4 月 30 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09752

研究課題名(和文)モデルマウスを用いた硬膜移植による脳 アミロイドーシスの個体間伝播についての研究

研究課題名(英文) A study on transmission of cerebral beta-amyloidosis via dura mater grafting using Alzheimer's disease model mice

研究代表者

濱口 毅 (Hamaguchi, Tsuyoshi)

金沢大学・附属病院・講師

研究者番号：70452109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：高齢者ブレインバンクから33例の剖検症例の硬膜を収集し、それらの硬膜をアミロイドbeta蛋白質(Abeta)に対する抗体(4G8)を用いて免疫染色を行なったところ、8例(24.2%)で硬膜上の血管にAbetaの沈着を認めた。収集した硬膜をホモジネートし、若年(3ヶ月齢)のAlzheimer病(AD)モデルマウスの脳に接種したところ、接種12ヶ月後にはAbeta沈着を認めた硬膜を接種したADモデルマウスでは脳血管にAbetaの沈着(脳アミロイドアンギオパチー：CAA)を認めたが、Abetaが沈着していなかった硬膜を接種したADモデルマウスでは脳実質および脳血管共にAbetaの沈着を認めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト硬膜にAbeta沈着を認めることを示し、更にその硬膜上のAbetaを脳内に接種することによって脳内に接種された側のモデル動物の脳血管へのAbeta沈着を引き起こすことを証明した。このことは硬膜移植が脳のAbeta病理の個体間伝播の原因となることを直接証明しており、これまでのヒト剖検脳を用いた観察研究の結果を支持する結果である。1980年代には、わが国では年間200000件の硬膜移植が行われていた事が知られており、硬膜移植によって脳へのAbeta病理が伝播することが証明された意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：We obtained dura maters from 33 autopsied patients from a geriatric brain bank, and immunohistochemical study of those dura maters were performed using an antibody against amyloid beta protein (Abeta). Eight of 33 patients (24.2%) had Abeta deposition on the vessel of the dura mater. The dura maters were homogenized at 19% (w/v) in PBS, and the supernatants were injected into the brain of Alzheimer's disease (AD) model mice. One year after the injection, immunohistochemical study using the antibody against Abeta showed that Abeta deposited on the vessels of AD model mice brain injected the homogenate of dura mater with Abeta deposition, while no Abeta deposition was observed in the brain and vessels of AD model mice injected the homogenate of dura mater without Abeta deposition.

研究分野：脳神経内科学

キーワード：アルツハイマー病 硬膜移植 プリオン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

プリオン病は脳への異常プリオン蛋白沈着を病理学的特徴とし、動物からヒト、ヒトからヒトへと伝播することが知られており、ウシから伝播した変異型 Creutzfeldt-Jakob 病 (Creutzfeldt-Jakob disease: CJD) や医療行為によって伝播した医原性 CJD などの発症はしばしば社会問題となった。特に我が国では、硬膜移植後に CJD を発症した硬膜移植後 CJD が多数確認され、その数は全世界の 60% 以上を占め、現在 151 例に達している (Hamaguchi T, et al. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2013, Sakai K, Hamaguchi T, et al. *BMJ Open* 2013, Nozaki I, Hamaguchi T, et al. *Brain* 2010, Yamada M, Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, et al. *Neuropathology* 2009, Noguchi-Shinohara M, Hamaguchi T, et al. *Neurology* 2007)。

Alzheimer 病 (Alzheimer's disease: AD) も、プリオン病で異常プリオン蛋白が脳へ沈着していたのと同様に、アミロイドβ蛋白 (amyloid β protein; Aβ) の脳への沈着を病理学的特徴としている。遺伝性 AD の原因遺伝子が全て Aβ 産生にかかわる遺伝子であったため、現在では Aβ が AD 発症の鍵を握っていると考えられている。マウスやラット、マーモセット等を用いた動物実験では、脳への Aβ 沈着 (脳βアミロイドーシス) もプリオン病と同様に生体から生体へ伝播する可能性が報告されている (Meyer-Luehmann M, et al. *Science* 2006, Eisele YS, et al. *Science* 2010, Hamaguchi T, et al. *Acta Neuropathol* 2012)。

近年、ヒトにおいても医療行為によって脳βアミロイドーシスが個体間を伝播する可能性が報告されている。成長ホルモン製剤関連 CJD 剖検脳を用いた検討では、他のプリオン病群と比較して、成長ホルモン製剤関連 CJD 群で有意に脳への Aβ 沈着が高度であった (Jaunmuktane Z, et al. *Nature* 2015) 。申請者も、わが国の硬膜移植後 CJD 剖検例を検討し、硬膜移植後 CJD では孤発性 CJD と比較して、髄膜脳 CAA や軟膜下 Aβ 沈着が有意に多く、その程度は硬膜移植から死亡までの期間と有意な相関を認め、硬膜移植によって脳βアミロイドーシスが硬膜を移植された脳の表面から広がっていることを報告した (Hamaguchi T, et al. *Acta Neuropathol* 2016) 。また、欧州からの報告でも、硬膜移植後 CJD における脳βアミロイドーシスの頻度は孤発性 CJD と比較して有意に高頻度であった (Frontzek K, et al. *Swiss Med Wkly* 2016) 。更に、高齢者 84 例 (年齢の中間値 84.9 歳) の硬膜を免疫染色したところ、13% の症例で硬膜に Aβ 沈着を認めていたことが報告された (Kovacs GG, et al. *Acta Neuropathol* 2016) 。これらの報告は、医療行為によって脳βアミロイドーシスが伝播した可能性を示しているが、全て観察研究であり、これまでにこれらの医療行為で脳βアミロイドーシスがヒトからヒトへ伝播することを証明した研究はない。

## 2. 研究の目的

ヒトの硬膜に Aβ が沈着しているかおよびその頻度を確認する。

さらに、ヒト硬膜に A $\beta$ が沈着していた場合、その硬膜に沈着した A $\beta$ が生体内で脳 $\beta$ アミロイドーシスを引き起こすかどうかを検討すること。

### 3．研究の方法

文部科学省科学研究費助成事業新学術領域研究「学術研究支援基盤形成」「コホート・生体試料支援プラットフォーム」の高齢者ブレインバンク（地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター）で剖検された症例から硬膜を採取し、金沢大学に送付する。

その硬膜の一部をパラフィン包埋し、一部を閉鎖型ホモジネーターを用いてホモジネートする。

パラフィン包埋したものを薄切し、A $\beta$ に対する抗体（4G8）を用いて免疫染色を行う。

ホモジネートした硬膜は 3 ヶ月齢の AD モデルマウス脳に接種し、接種 12 ヶ月後に AD モデルマウス脳を A $\beta$ に対する抗体（4G8）を用いて免疫染色を行う。

### 4．研究成果

高齢者ブレインバンクから 33 例の剖検症例の硬膜を収集し、それらの硬膜を A $\beta$ に対する抗体（4G8）を用いて免疫染色を行なったところ、8 例（24.2%）で硬膜上の血管に A $\beta$ の沈着を認めた。A $\beta$ が沈着していた硬膜と沈着していなかった硬膜をホモジネートし、若年（3 ヶ月齢）の AD モデルマウスの脳に接種したところ、接種 12 ヶ月後には A $\beta$ 沈着を認めた硬膜を接種した AD モデルマウスでは脳血管に A $\beta$ の沈着（脳アミロイドアンギオパチー：CAA）を認めた。脳実質には明らかな A $\beta$ 沈着を認めなかった。A $\beta$ が沈着していなかった硬膜を接種した AD モデルマウスでは脳実質および脳血管共に A $\beta$ の沈着を認めなかった。

この研究結果は、ヒト硬膜に A $\beta$ 沈着を認めることを示し、更にその硬膜上の A $\beta$ を脳内に接種することによって脳内に接種された側のモデル動物の脳血管への A $\beta$ 沈着を引き起こすことを証明した。このことは硬膜移植が脳の A $\beta$ 病理の個体間伝播の原因となることを直接証明しており、これまでのヒト剖検脳を用いた観察研究の結果を支持する結果である。1980 年代には、わが国では年間 200000 件の硬膜移植が行われていた事が知られており、硬膜移植によって脳への A $\beta$ 病理が伝播することが証明された意義は大きいと考える。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hamaguchi T, Komatsu J, Sakai K, Noguchi-Shinohara M, Aoki S, Ikeuchi T, Yamada M	4. 巻 399
2. 論文標題 Cerebral hemorrhagic stroke associated with cerebral amyloid angiopathy in young adults about 3 decades after neurosurgeries in their infancy.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurol Sci	6. 最初と最後の頁 3-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.jns.2019.01.051.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hayashi K, Hamaguchi T, Sakai K, Nakamura K, Wakabayashi K, Shirasaki H, Yamada M	4. 巻 400
2. 論文標題 Neuronal intranuclear inclusion disease showing blepharoptosis and positive serum anti-acetylcholine receptor antibody without myasthenia gravis.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Neurol Sci	6. 最初と最後の頁 119-121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1016/j.jns.2019.03.013.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Furukawa F, Sanjo N, Kobayashi A, Hamaguchi T, Yamada M, Kitamoto T, Mizusawa H, Yokota T	4. 巻 12
2. 論文標題 Specific amyloid-b42 deposition in the brain of a Gerstmann-Straussler-Scheinker disease patient with a P105L mutation on the prion protein gene.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Prion	6. 最初と最後の頁 315-319
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1080/19336896.2018.1541689.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Yamada M, Hamaguchi T	4. 巻 293
2. 論文標題 The sulfation code for propagation of neurodegeneration	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Biol Chem	6. 最初と最後の頁 10841-10842
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） doi: 10.1074/jbc.H118.003970.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	山田 正仁  (Yamada Masahito)  (80191336)	金沢大学・医学系・教授   (13301)	