

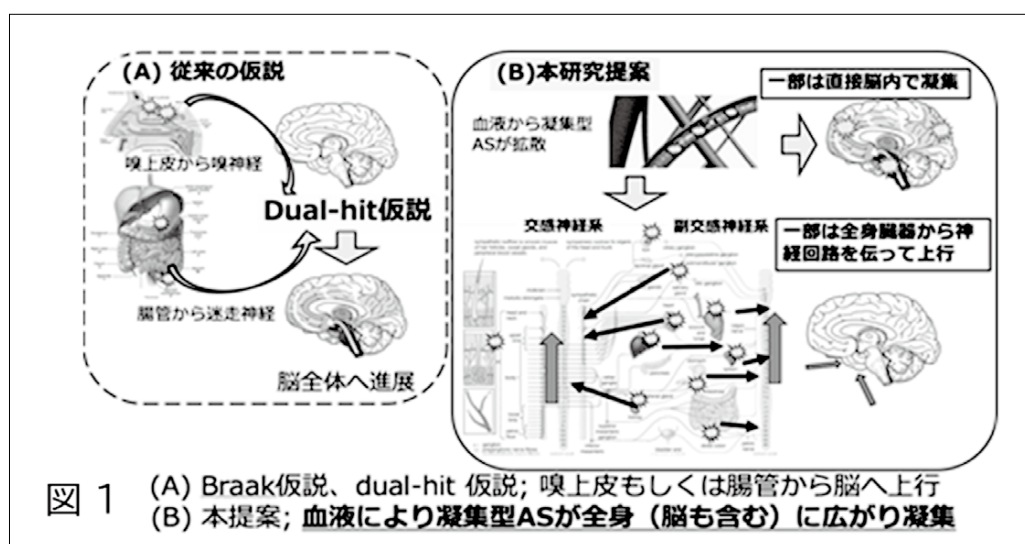
全身疾患と捉えたパーキンソン病の alpha-synucleinシードから迫る病態解明

順天堂大学医学部神経学講座・准教授

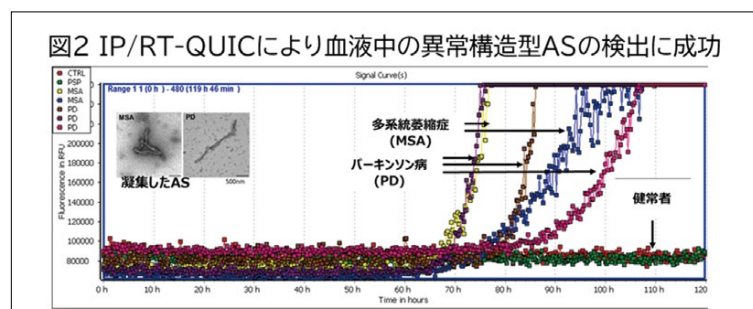
奥住 文美



パーキンソン病（PD）は黒質ドパミン神経変性とレヴィ小体（LB）の存在が特徴であり、病変は末梢自律神経から大脳皮質まで広範囲である。LBの主な構成タンパクは α -シヌクレイン（AS）であり、ASの凝集やその拡がり病態に重要である。現在、嗅上皮や腸管でAS凝集が始まり、凝集型ASが凝集核となり脳全体へ上行進展するという仮説（Braak仮説）が有力だが、この仮説に当てはまらない部位にもASの凝集が確認されている。このことは別の経路からの伝播メカニズムが存在する事を意味するが、進展様式は不明である。AS凝集体の伝播は症状の広がりとも相関するため、伝播経路を特定することが治療開発に重要になる。そこで、申請者はPDを単に多系統神経疾患としてだけでなく血液循環系をも含む“全身病”と捉え、AS凝集の進展様式を解明する必要があると考えた（図1）。



しかしながら血液循環系に存在するAS凝集体は非常に微量であり、従来の方法では検出限界以下であった。昨今そのようなごく微量のタンパク質を検出する方法として、Real-Time Quaking-induced Conversion（RT-QuIC）法が開発されており、プリオン病では臨床応用されている技術である。この



技術は微量なタンパク質を増幅して検出する方法である。申請者はこのRT-QuIC法を改良し血清中の極微量な凝集型ASの検出の開発に成功した（以降IP/RTQuICと呼ぶ）（図2）。血液中にAS凝集体が存在しているということは、AS凝集体が血液を介

して中枢神経系を含む全身臓器に伝播する可能性を強く示唆している。また、申請者は、血液中から増幅したAS凝集体が疾患特異的な構造を保持しており、この構造の違いで疾患を区別できることも実証した（図3）。

血液や末梢神経系を介したAS凝集体の伝播経路を特定していくことは、どのように病態が進行していくのかという問題を解決することにつながる。

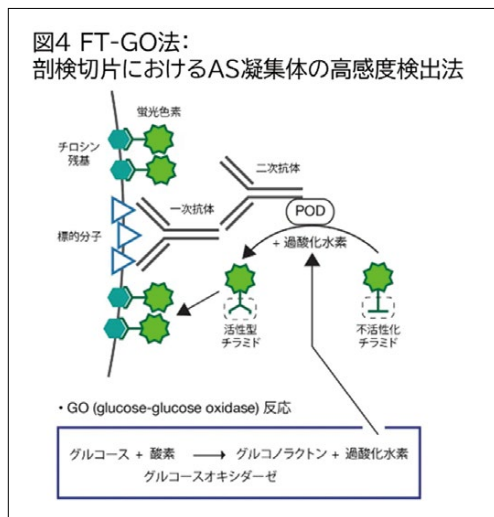
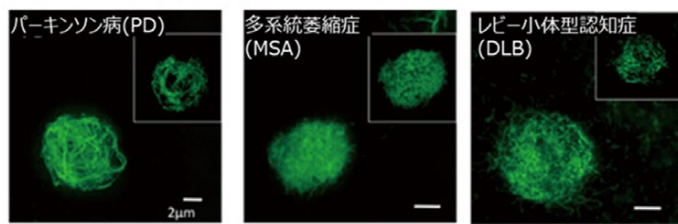


図3 AS凝集体は疾患ごとに異なる



現在まで、AS凝集の広がり、免疫組織学的解析やウェスタンブロッティング（WB）法を用いて検出する以外方法はなかった。免疫組織学的染色方法は確認できる範囲が狭いため、凝集している箇所をピンポイントに選択できなければ検出不可能である。また、WB法を用いる場合、サルコシルなどの強力な界面活性剤で変性しないAS凝集体を検出するため、多くのタンパク量が必要になる。それゆえに強く凝集している組織でないと検出は困難であった。この問題を解決するために、申請書はグルコースオキシダーゼによるグルコースの酸化反応とチラミドシグナル増幅法を併せてより感度を上げた免疫染色（FT-GO）法（Yamauchi K et al. Scientific reports 2022）（図4）をパ

ラフィン切片に応用した。さらに、今年度の本研究において、剖検臓器のパラフィン切片から得られるAS凝集体をRT-QuICで増幅させる方法に成功した（図5）。本研究では、全身および脳の各領域に広がるAS凝集について、ヒト剖検検体のパラフィン切片を用いた高感度免疫染色（FT-GO）法およびRT-QuIC法の両方で評価し、病理変化とASシードの構造解析を照らし合わせることで脳回路および全身の異常AS病変の広がりについての検討が目標である。

また、今年度はパラフィン切片からのRT-QuIC法を用いて、PD患者の全身臓器（消化管、交感神経節、脾臓、膵臓、肝臓、副腎、甲状腺、肺、心臓、精巣、卵巣、子宮、脳、脊髄、大動脈）を調べ解析が進行中である。

本研究はPDを脳の神経変性疾患としてのみ捉えていた従来の考えとは全く異なり、全身臓器の神経変性疾患と捉え、血液バイオマーカーを開発し、発症メカニズムへ迫る研究であり、独自性と創造性が高い研究である。

図5 パラフィン切片を用いたRT-QuICと高感度増幅法を利用した脳病理解析

