

平成 17 年度 研究リソース開発 成果報告書

平成 18 年 3 月 6 日提出

ふりがな	むらやま しげお	所属・職	東京都老人総合研究所老年病ゲノム・高齢者ブレインバンク、研究部長
開発代表者名	村山 繁雄		
開発課題名	ゲノム研究リソースとしての東京都高齢者ブレインバンクの構築		
<p>開発経過及び成果(開発目標に対する成果を計画書に記載した内容に対応させて記載すること)</p> <p>1. ブレインバンク資源の構築:</p> <p>開頭剖検例について、粗大病変のない半球、原則として右半球大脳冠状断、小脳矢状断、脳幹水平断 7mm slice を、手早く写真撮影、肉眼診断後、前頭極・側頭極・頭頂間溝・後頭極・扁桃核・海馬。中脳を 4%パラフォルム 48 時間固定、5mm 厚スライスをパラフィン包埋し、免疫組織科学的検討に使用、残り 2mm 厚スライスを 20% sucrose PBS 内で保存し、ピブラトームあるいは電顕検索用に保存。残りは迅速凍結、超低温増内に保存。凍結腎皮質より DNA を抽出保存。生前採取血清を文書同意の元に凍結保存することを継続した。本年度は、東京都老人医療センター・老人総合研究所の両倫理委員会の勧告に従い、文書同意の内容に、ブレインバンクの説明文書、並びに、ブレインバンクに登録する個別同意をとることを開始、これにより、法的問題は払拭された。</p> <p>2. 臨床神経病理情報のデータベース化:</p> <p>固定側半脳を 20%中性ホルマリン 7-13 日固定後、生前撮像神経放射線形態・機能画像全て、髄液バイオマーカー、担当神経内科医がまとめた病歴概略との対応をはかることを継続した。生前 Mini-Mental State Examination (MMSE) 値、IADL 値をもとに、Clinical dementia rating (CDR)算出、脳・脊髄の肉眼写真、神経放射線画像を、神経病理学的所見とともにデジタル保存することを継続した。さらに既往 500 例の神経病理画像を、デジタルデータベース化できた。また、パーキンソン病並びに関連疾患 40 既往例を、最新の手法で再検討できた。</p> <p>3. 神経病理学的検索:</p> <p>パラフィン包埋通常検索部位として、CERAD (Consortium to Establish Registry for Alzheimer disease)、the first Consensus Guidelines for Dementia with Lewy bodies (CGDLB)、Braak らの推奨部位に、脊髄、末梢自律神経系等を加え、通常染色、高感度鍍銀染色、抗リン酸化 tau、Aβ、リン酸化 synuclein、ubiquitin 抗体免疫染色で、翻訳後異常修飾蛋白蓄積の半定量化を行うことを継続した。今年度はさらに、3 repeat、4 repeat tau isoform 特異抗体を用いたスクリーニングを開始した。剖検時凍結腎より DNA を抽出、apoE genotyping を施行、4 多型が検出された例には、抗 apoE4 特異抗体による免疫組織化学染色で確認することを継続した。Aβ、tau、psyn の重複沈着について、Ventana NX20 を用いた二重免疫染色、電顕観察を継続した。</p> <p>4. 臨床情報の充実:</p> <p>前方視的に、これまでの MMSE、Rivermead 行動記憶検査 (RBMT) に加え、長谷川式簡易痴呆スケール (HDSR)、frontal assessment battery (FAB)、standard depression scale (SDS) による評価を開始した。また髄液バイオマーカー、FDG-PET に加え、MRI voxel based morphometry、さらに Pittsburgh Compound B によるアミロイド β 蛋白の PET を開始した。これら症例が不慮の転帰をとった時、出来る限り剖検をとる努力を行い、ブレインバンク資源として確保することを継続した。</p> <p>5. 資源の提供と、異常蛋白蓄積の臨床分子病理学的研究:</p> <p>詳細に検討された蓄積資源を用い、老化構造物の単独・重複蓄積の臨床病理学的研究を継続し、今年度は Saito Y, …Murayama S: Unique tauopathy in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. J Neuropath Exp Neurol 2005; 64: 1118-1126 をはじめ、16 英文オリジナル論文を発表できた (添付)。</p>			

開発成果を踏まえた今後の展開

1. ブレインバンク資源の構築:

ブレインバンクの説明文書、並びに、ブレインバンクへの登録同意の上、原則として右半球大脳冠状断、小脳矢状断、脳幹水平断 7mm slice より、必要部位を 4%パラフォルム採取の上、残りをドライアイス粉末を用い迅速凍結、凍結腎より DNA を抽出保存、生前採取血清凍結保存するシステムを、高齢者ブレインバンクシステムとして Web を通じ公開、本年度 6 月のヨーロッパブレインバンクネットワーク国際シンポジウムで発表し、国際的評価を問う。さらに、この手法をたたき台とし、筆頭著者が委員長を務める神経病理ブレインバンク委員会を通じ、日本でのブレインバンクネットワーク構築の準備を開始する。現時点で、委員会メンバーとして、主要神経病理施設を網羅でき、新年度に活動を開始予定である。さらに、献脳希望者に関して、生前同意に基づくブレインバンク構築のため、ブレインバンクドナーカードの作成のための、準備を開始する。

2. 臨床神経病理情報のデータベース化:

臨床・画像・病理連関(動的神経病理)の努力を継続し、新規蓄積例に加え、過去蓄積例への再検討を継続する。さらに他施設において同様のデータベース化を推奨するための、標準データベース構造を作成し、Web での共有化を目指す。新たに老人医療センター放射線データベース端末を、高齢者ブレインバンクで利用できる態勢を構築することで、画像・病理連関を、より効率よく行う。

3. 神経病理学的検索:

パラフィン包埋通常検索部位として、CERAD (Consortium to Establish Registry for Alzheimer disease)、the first and third Consensus Guidelines for Dementia with Lewy bodies (CGDLB)、Braak らの推奨部位に、脊髄、末梢自律神経系等を加えた部位による検索を元に、最低限必要部位を提唱、高齢者ブレインバンク研究用基準、診断用基準を設定、公表する。染色についても、通常染色、高感度鍍銀染色、各種免疫染色により、翻訳後異常修飾蛋白蓄積の半定量化をより充実させるだけでなく、同じ自動免疫染色を使用している検査会社に検索システムを構築してもらうことで、費用を払えば同等の病理結果がどこでも得られる体制を構築する。ApoE genotyping、抗 apoE4 特異抗体による免疫組織化学染色は継続、A α 、tau、psyn の重複沈着について、Ventana NX20 を用いた二重免疫染色、電顕観察も継続する。現在問題となっている、神経病理検査技師、電顕技師の高齢化、後継者不足、雇用体制がないことによる神経病理施設の消滅(本年度一箇所、来年度一箇所)に対抗するため、本研究費を用い、人材派遣会社を介するかたちで候補者を雇用、人材の育成を図る。

4. 臨床情報の充実:

前方視的に、MMSE、HDSR、RBMT、FAB、SDS により、我々が標的としている、アルツハイマー病(AD)、パーキンソン病(PD)、高齢者タウオパチー(進行性核上性麻痺、嗜銀顆粒性認知症、神経原線維変化優位型認知症)のみならず、もの忘れ外来を通じての軽度認知障害(mild cognitive impairment: MCI)、当施設が PET 正常ボランティアとしてかかえる正常老化について、前方視的 pursuit を行う。検者として、臨床心理学講座を持つ大学と共同し、大学院修士課程の学生を謝金ベースで雇用、これらの疾患に知識と理解を持つ、臨床心理士の育成をはかるとともに、研究成果とするべく努力する。

髄液バイオマーカーについて、タウ、リン酸化タウ、アミロイド β 蛋白に加え、5HIAA、HVA も追加し、検査会社を通じ検索が行える体制作りをする。

ブレインバンク対象疾患に関しては、MRI voxel based morphometry に加え、米国では Medicaid レベルで承認された、FDG-PET を routine で撮像することを目指す。FDG-PET 正常ボランティアについても、同様の pursuit を行う。Pittsburgh Compound B によるアミロイド β 蛋白の PET については、献脳希望者を優先して撮像することで、この手技の特異度・感度を剖検レベルで確認する努力を行う。

これまでの MCI と AD に加え、PD 及び関連疾患について、症例登録のためのクリニカルパスを作成、承認を受けたので、新年度より前方視的 pursuit を行い、データベース化の努力を継続する。

5. 資源の提供と、異常蛋白蓄積の臨床分子病理学的研究:

高齢者ブレインバンクのホームページを独立させ、研究資源として活用を希望する研究者とのコミュニケーションを、円滑化する。また多数剖検例を用いた臨床分子病理学的研究を継続、欧文誌に報告することで、バンクの品質が世界一流であるという評価を得る努力を継続する