

顆粒空胞変性の分子マーカーは縁取り空胞にも存在する

我々はアルツハイマー病の海馬で神経原線維変化に伴って観察される3-7 μ m大の顆粒空胞変性という病理構造物に着目し、エンドソーム機能に関与する分子CHMP2B(charged multivesicular body protein 2B)が顆粒空胞変性の新規マーカーであることを明らかにした(Y. Yamazaki, et al. Immunopositivity for ESCRT-III subunit CHMP2B in granulovacuolar degeneration of neurons in the Alzheimer's disease hippocampus, *Neurosci Lett.* 477, 86-90, 2010)。また、微小管関連蛋白タウのリン酸化酵素の一つCDK5(cyclin-dependent kinase 5)が顆粒空胞変性の新たなマーカーであること(M. Nakamori, et al. Cyclin-dependent kinase 5 immunoreactivity for granulovacuolar degeneration, *Neuroreport.* 23(15), 867-72, 2012)、脂質ラフトに関連するリン脂質 phosphatidylinositol-4,5-bisphosphateが顆粒空胞変性ならびに神経原線維変化に存在すること(T. Nishikawa et al. Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate is enriched in granulovacuolar degeneration bodies and neurofibrillary tangles, *Neuropathology and Applied Neurobiology.* in press)を報告した。

一方、中高年に好発する難治性進行性筋疾患である封入体筋炎は、その疫学的特徴や封入体(縁取り空胞)を構成する蛋白が顆粒空胞変性に存在する蛋白と一部共通していることから、アルツハイマー病との相同性が注目されている。アルツハイマー病の顆粒空胞変性と、封入体筋炎の縁取り空胞が自己貪食空胞に相当し、これらが相同な構造物であるとの仮説のもと、免疫組織化学的に検証をおこない、病理学的意義について検討した。

NIA-AA 基準を満たす高度アルツハイマー病理を有した73歳男性剖検脳ホルマリン固定海馬1例、現在最も用いられているNeedhamらの臨床・病理学的診断基準を満たした封入体筋炎8例とGNE遺伝子変異を認めた縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー3例の凍結固定筋組織を対象に免疫組織化学的検討を行った。既報で顆粒空胞変性のマーカーとされているCHMP2B、CDK5、CK1 δ (casein kinase 1 δ)、JNK(c-jun N-terminal kinase)、caspase3、ラフト関連蛋白であるannexin2、flotillin-1、さらにLRRK2(leucine-rich repeat kinase 2)、pTDP43(phosphorylated transactive response DNA binding protein-43)に対する一次抗体を用い、免疫染色を行った。縁取り空胞は連続切片にてModified Gomori trichrome染色を行い対比、確認した。また顆粒空胞変性、縁取り空胞双方に存在することがすでに報告されているpTDP43と上記の蛋白に対する抗体で免疫蛍光二重染色を行い、共局在を確認した。なお、使用した一次抗体は過去の報告でその特異性がすでに示されているものを使用し、入手できる範囲内で同一の蛋白の異なる抗原部位を認識する2種類の

抗体（caspase3, CK1δ, JNK, annexin2, flotillin-1, pTDP43）を使用した。

まず顆粒空胞変性は上記の抗体すべてで陽性を示すことを確認した。封入体筋炎、縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチーいずれの症例においても上記の蛋白すべてが縁取り空胞選択的に染色された。また蛍光二重染色でこれらの蛋白は pTDP43 と共局在していた。

タウは CK1、JNK、caspase3 などの蛋白によって修飾を受けるがこれらが顆粒空胞変性、縁取り空胞共に存在することが示され、両構造物が共にタウの修飾に関与する可能性が示唆された。またラフト関連蛋白が顆粒空胞変性、縁取り空胞共に存在することが示され、両構造物がラフト由来の空胞であることが示唆された。

顆粒空胞変性と縁取り空胞に存在する種々の蛋白の共通性を明らかにし、その形成機序と病理的意義について総合的に検討した。両疾患の病態機序と治療法に影響を与えるものと考えられる。