

## 論文の内容の要旨

論文提出者氏名	小野里知哉
論文審査担当者	主査 池田修一 副査 鈴木龍雄・田淵克彦
論文題目  Axonal TDP-43 aggregates in sporadic amyotrophic lateral sclerosis (孤発性筋萎縮性側索硬化症における軸索内 TDP-43 凝集体)	
(論文の内容の要旨) 〔背景と目的〕 孤発性筋萎縮性側索硬化症 ALS (amyotrophic lateral sclerosis) は成人発症の神経変性疾患で、上位及び下位運動ニューロンが主として傷害され、人工呼吸器を装着しなければ多くは数年以内に死亡する神経難病である。そのおよそ 9 割は孤発性で sALS (sporadic ALS)、プニナ小体及びリン酸化 p- (phosphorylated) TDP-43 (transactive response DNA-binding protein 43 kDa) の神経細胞細胞質への沈着、皮質脊髄路の変性と脊髄前角細胞の脱落が特徴である。正常神経細胞では非リン酸化 n-p- (nonphosphorylated) TDP-43 は核に存在し、RNA スプライシングなど蛋白質合成に関与している。sALS と前頭側頭葉変性症 (FTLD) 患者の脳では TDP-43 はしばしば過剰にリン酸化され、細胞質内に存在している。このため TDP-43 が核内から消失することによる蛋白質合成の障害による神経細胞変性が指摘されている。p-TDP-43 の沈着を特徴とする疾患は TDP-43 プロテオパチーと呼ばれ、ALS と FTLD が代表的な疾患である。異常蛋白沈着に基づく神経変性疾患では— sALS と FTLD、パーキンソン病と多系統萎縮症 (p-synuclein)、アルツハイマー病 (Abeta と p-tau) 等—、病変が進展する際にこれらの病的蛋白質が「正常蛋白を異常化し、プリオン様に伝播するのではないか」と提唱されている。p-TDP-43 が sALS 患者の神経系で異常プリオンと同じ様式で伝播するのであれば、本蛋白が軸索或いは樹状突起に存在し、且つシナプスや細胞膜を越えていると考えられるが、これらについての報告では「軸索に陽性像がみられた」2 編があるのみである。また、その局在と形態、臨床症状との対比、経シナプス伝播の有無についての報告はみられない。本研究ではこれらに関する検索を実施した。 〔材料と方法〕 日本人の sALS 患者 19 名 (男性 11 名、女性 8 名; 死亡時年齢 59-88 歳 (mean±SD; 70.2±9.1 歳); 発症から死亡までの経過期間 6-72 カ月 (mean±SD; 24.2±16.9 カ月)) と対照 3 名 (男性 3 名; 死亡時年齢 65-74 歳 (mean±SD; 69.3±4.5 歳) の脳及び脊髄のホルマリン固定パラフィン包埋標本について免疫組織化学的に検索し、p-TDP-43 から成る細胞質内封入体や軸索、シナプスの変化に注目した。特に軸索内の p-TDP-43 については、その分布と微細構造の特徴及び病理学的意義、sALS の臨床経過との相関関係を検討した。 〔結果〕 p-TDP-43 の軸索内凝集体は顔面神経、舌下神経及び脊髄前角細胞の軸索に高い頻度で存在し、粒状網状 GRA (granuloreticular aggregate) 及び塊状 MA (massive aggregate) の 2 形態を示した。MA は軸索内に位置し、ほぼ楕円形でサイズは短径 5 μm×長径 10 μm 以内で、p-ニューロフィラメントに取り囲まれていた。一方、GRA は軸索の細胞膜に近接して位置していた。p-TDP-43 の軸索凝集体の有無と発症から死亡までの経過期間は検索した全 sALS 症例では 6-72 カ月 (mean±SD; 24.2±16.9 カ月) であるのに対し、MA が認められた症例では 6-11 カ月 (mean±SD; 7.7±2.9 カ月)、GRA が認められた症例では 6-31 カ月 (mean±SD; 16.3±9.2 カ月) と短かった。また、赤核神経細胞では p-TDP-43 及び p-i-TDP-43 を含有したシナプスに取り囲まれている神経細胞の 78 個中 77 個で、核の p-i-TDP-43 免疫反応性が失われ、そのうちの 17%の神経細胞では TDP-43 の細胞質内封入体を伴っていた。細胞内のシナプス後膜には p-TDP-43 の沈着はみられなかった。	

[結論] sALS の軸索内には p-TDP-43 から成る凝集体が MA と GRA の 2 形態を示し、主として顔面神経、舌下神経及び脊髄前角細胞の軸索に存在した。これらの凝集体の存在は臨床経過の短縮化と相関し、またその機序としての可能性が考えられた。シナプス前要素の p-TDP-43 の凝集がシナプス後細胞の核の p-i-TDP-43 の消失を誘導し、神経細胞変性を惹起していることが推測された。一方、p-TDP-43 のプリオン様伝播について、sALS では p-TDP-43 がシナプスを直接通過していないのではないかと考えられた。