

Title	孤発性筋萎縮性側索硬化症の一次運動野におけるTDP-43陽性細胞質内封入体形成に伴う細胞への影響
Author(s)	山寺, みさき
Citation	大阪大学, 2010, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54157
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【84】

氏 名	山 寺 みさき
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 2 3 6 5 3 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 22 年 3 月 23 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学 位 論 文 名	孤発性筋萎縮性側索硬化症の一次運動野におけるTDP-43陽性細胞質内封入体形成に伴う細胞への影響 The influence of the TDP-43 positive cytoplasmic inclusions upon cells in primary motor area of SALS cases
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 佐古田三郎 (副査) 教 授 青笹 克之 教 授 武田 雅俊

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は上位および下位運動ニューロンの変性により、進行性の筋力低下を生じ、多くが数年で死に至る神経変性疾患である。近年、TAR DNA binding protein-43 (TDP-43)が、孤発性ALS (SALS) において病理診断上重要な異常構造物である神経細胞質内封入体 (NCI) の主要な

構成要素であることが判明した。TDP-43は核に存在し、遺伝子翻訳の抑制やexon splicingの阻害に関係すると考えられている。TDP-43に対する免疫組織化学的解析によりSALSでは神経細胞のほかオリゴデンドログリア細胞にもTDP-43陽性細胞質内封入体（GCI）が存在することが知られているが、GCI形成メカニズムや神経変性における役割についてはほとんどが不明である。今回脊髄に比較して神経細胞脱落が軽度とされる一次運動野ではTDP-43がどのように神経変性に関与するかを明らかにするために、中心前回の神経細胞とグリア細胞における封入体形成に伴う病理変化をmorphologicalに解析した。

〔 方法ならびに成績 〕

大阪大学医学部において病理解剖されたSALS10例（性別：男性5例、女性5例、死亡時平均年齢：65歳、平均罹病期間：26ヶ月）について検討した。中心前回におけるパラフィン包埋切片についてHE染色およびクリューバー・バレラ（KB）染色を行った。また抗TDP-43、リン酸化TDP-43（pTDP-43）抗体を用いて免疫組織学的染色を行い、さらに抗TDP-43抗体とミクログリアのマーカーである抗CD68抗体、抗pTDP-43抗体とアストロサイトのマーカーである抗GFAP抗体を用いて、それぞれ二重免疫染色を施行した。各標本で認めたTDP-43陽性NCIを、細胞質がびまん性に染色されるdiffuse punctuate typeと凝集体が形成されるaggregation typeに分類し、全視野で計測した。中心前回のGCI数は皮質浅層と皮質深層、皮質直下白質、深部白質の4カ所計測し、これらの合計のGCI数を各標本における総GCI数とした。さらにこれらのGCIの断面積を測定し、全GCI断面積の平均である12.4 μ m²未満のものを小型、それより大きいものを大型として分類した。

HE染色上、SALSの中心前回皮質では、神経細胞の突起は変性して萎縮し、神経細胞貪食像を少数認めた。Neuropilは粗く不整でグリア細胞の増加を伴ったが、神経細胞数の減少は症例によりごく軽度のものから中等度のものまで程度差があった。

TDP-43免疫染色では、多くの神経細胞の核が強陽性に染まるのに対し、ほとんどのグリア細胞の核は弱陽性または陰性であった。NCIは10例中7例で認められたが、その総数は全視野10個以下のものが多かった。NCIは皮質内に散在し、分布は一定しなかった。NCIはaggregation typeとdiffuse punctuate typeの2種類が認められ、aggregation typeのNCIを有する神経細胞の核は、核縁が陥凹するなど変形しているものが多かった。グリア細胞質内にもTDP-43陽性の微細顆粒状あるいは卵円形や三日月形など、大小様々なGCIを10例中9例にて認めた。GCIを有するグリア細胞の多くは、周辺に明瞭なハローを伴う類円形の小型の核を持ち、核はすべてTDP-43陰性で、明らかな核の変形は認められなかった。GCIを有するグリア細胞のほとんどはGFAP陰性、CD68陰性であった。

中心前回各部位における単位面積あたりのGCI数の比較では、GCIは皮質深層に有意に多く分布していた（ $p=0.008$ ；皮質深層vs皮質表層、0.008；皮質深層vs 皮質直下白質、0.008；皮質深層vs 深部白質）。

大型GCIの総GCI数全体に占める割合は総GCI数の多い症例で高かった。GCI断面積の平均値は総GCIの多い症例で高く、両者に有意な相関を認めた（Spearman $r=0.753$ 、 $p=0.019$ ）。

〔 総 括 〕

SALSの一次運動野における神経細胞では、細胞質にTDP-43陽性NCIが出現すると、TDP-43陰性の核は高率変形し、強い細胞変性を示した。オリゴデンドログリア細胞では、GCIが出現してもTDP-43陰性の核は変形せず、GCI数の多い症例では大型のGCIが増加していた。細胞質にTDP-43が凝集しても、オリゴデンドログリア細胞への細胞毒性は少なく進行性にTDP-43が蓄積していくと考えられた。NCIは一次運動野では脊髄に比べてはるかに出現頻度が低く、変性が強い皮質深層にGCIを最も多く認められたことから、一次運動野における神経細胞脱落が軽いことにGCIの形成が関与する可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）において、核蛋白であるTAR-binding protein-43（TDP-43）の神経細胞核から細胞質への移行と凝集が病因に深い関係があると考えられている。今回、孤発性ALSの一次運動野につき免疫染色を行い、TDP-43陽性の封入体形成に伴う神経細胞およびグリア細胞の病理変化を

解析した。封入体を有する神経細胞の核では、TDP-43発現低下と変形が顕著に見られた。封入体を有するグリア細胞の核はTDP-43陰性であったが変形は見られなかった。各症例におけるグリア細胞質内封入体は大小様々で、封入体数の多い症例ほど封入体が有意に大型であったことから、グリア細胞では細胞質におけるTDP-43の凝集があっても細胞死に至らず、進行性にTDP-43が蓄積することが示唆された。

本研究はALSにおけるTDP-43凝集に対する神経細胞とグリア細胞病理変化の違いを示しており、ALSの病態への関与を解明する基盤となるもので、学位の授与に値すると考えられる。