

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	中原 亜紗
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 883 号
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
博士論文名	筋萎縮性側索硬化症における脊髄運動神経細胞の初期障害像
論文審査委員	主査 教授 小野寺 理 副査 講師 金澤 雅人 副査 教授 柿田 明美

博士論文の要旨

【背景と目的】

筋萎縮性側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は上位および下位の運動ニューロンの変性と脱落により、進行性に筋力低下を来す神経変性疾患である。ALS の病態には、核蛋白 TAR DNA-binding protein of 43kDa (TDP-43) が細胞質内へ局在変化することが関与している。ALS は病理組織学的に、TDP-43 陽性神経細胞質内封入体が運動系に限局している type 1 と、大脳の広い範囲にみられる type 2 に分類され、更に、type 2 は神経細胞質内封入体とともに多数の変性神経突起を認める type 2b と、変性突起が殆どみられない type 2a に亜分類される。type 2b 群の患者は下位運動ニューロン脱落が軽度であっても呼吸筋麻痺を早期に生じるが、その機序は不明である。本研究では脊髄前角神経細胞の早期障害像を亜群ごとに比較検討した。

【方法】

脳研究所病理学分野において孤発性 ALS と臨床病理学的に診断された剖検例の中から、罹病期間が 24 ヶ月以内であり、かつ、第 4 腰髄前角における神経細胞脱落が‘軽度’と評価される患者を抽出した。type 1, type 2a, type 2b の 3 群から 5 例ずつと 5 対照例を選んだ。第 4 腰髄前角を含むホルマリン固定、パラフィン包埋ブロックから、10 µm 厚の連続切片 50 枚を作製し、連続した 4 枚に Klüver-Barrera 染色と、choline acetyltransferase (ChAT), Trans-Golgi network (TGN), TDP-43 に対する免疫組織化学を施し、これを 100 µm ごとに 5 セット行った。前角神経細胞数は 3 亜群間に有意差を認めなかった。全ての切片をデジタルイメージに変換し、全前角神経細胞に連続番号を付した。ChAT 発現の強弱、TGN46 染色で見るゴルジ体(GA)断片化、核からの TDP-43 消失について全細胞における頻度を評価し、亜群間で比較した。

【結果】

3 亜群とも、対照と比較して、GA 断片化、核内 TDP-43 消失、ChAT 発現増強を示す細胞が高頻度に認められた。type 2b における GA 断片化を示す神経細胞の割合は、type 1 のそれと比較し有意に高く、type 2a のそれと比較しても高い傾向があった。3 つの所見の関連性を各亜群内で検討すると、type 1 と type 2a ではこれらは互いに有意に相関した。type 2b でも、GA 断片化と ChAT 発現増強、および GA 断片化と核内 TDP-43 消失については有意に相関した。全前角神経細胞に対する GA 断片化を認めかつ核内 TDP-43 消失を認めない細胞の頻度は、GA 断片化を認めずかつ核内 TDP-43 消失細胞の頻度に比し、全亜群で有意に高かった。

【考察】

ChAT 発現増強している細胞の頻度は全亜群において増加していた。ChAT 発現増強細胞では、全亜群で有意に高頻度に GA 断片化を、また type 1 と type 2a で核内 TDP-43 消失を認めたため、ChAT 発現増強は前角神経細胞変性過程における現象の一つと考えられた。ALS 患者の脊髄前角の ChAT を検討した既報では、発現が低下している細胞が増加するとされており、本研究の結果と相反する。本研究では神経細胞脱落の極めて軽い腰髄前角を検索対象とし、初期変化を選択的に捉えたためであると推察される。SOD1 変異マウスの腰髄前角神経細胞での ChAT の検討では、疾患の進行過程で輸送障害による ChAT の局在変化が推測されている。本研究での ChAT 発現増強は輸送障害による蓄積を反映した現象と考えられる。3 亜群の脊髄前角の変性程度に明らかな差はないことから、type 2b における高頻度の GA 断片化は、変性過程が異なるためである可能性が考えられる。GA はシナプス小胞前駆体などの細胞内の物質輸送や軸索の恒常性維持に関与している。GA の障害が引き起こすシナプスの障害が、神経細胞脱落が軽いにも関わらず、呼吸筋麻痺で死に至るという type 2b の臨床像に影響している可能性もある。TDP-43 の核内染色性が低下し細胞質にわずかな凝集を認める神経細胞で GA 断片化が生じていることが知られている。本研究でも、ChAT 発現増強とともに GA 断片化も核内 TDP-43 消失に先行する早期の現象であることが示唆された。このことから、核内 TDP-43 の低下が生じる時期には、すでに軸索輸送障害が始まっている可能性が考えられた。

【結語】

孤発性 ALS の脊髄前角神経細胞における変性初期の形態学的変化が示された。これらの細胞では、核内 TDP-43 の低下が生じる時期にはすでに軸索輸送障害などの細胞内変化が生じていること、また変性過程は亜群間で異なることが示された。

審査結果の要旨

筋萎縮性側索硬化症(amyotrophic lateral sclerosis: ALS) は、病理組織学的に TDP-43 陽性封入体が運動系に限局している type 1 と、大脳の広い範囲にみられる type 2 に分類される。更に type 2 は、多数の変性神経突起を認める type 2b と変性突起を殆ど認めない type 2a に細分類される。申請者は、この各群毎に脊髄前角神経細胞の choline acetyltransferase (ChAT)発現の増強、Trans-Golgi network (TGN)の断片化、核内 TDP-43 消失を観察し、その関連性を検討した。type 1 と type 2a ではこれらは互いに有意に相関した。type 2b でも、TGN 断片化と ChAT 発現増強、および TGN 断片化と核内 TDP-43 消失は有意に相関した。TGN 断片化を認めかつ核内 TDP-43 消失を認めない細胞の頻度は、TGN 断片化を認めずかつ核内 TDP-43 消失を認める細胞の頻度に比し、全亜群で有意に高かった。ChAT 発現増強細胞では、全亜群で有意に TGN 断片化を高頻度に認めた。これらから、ChAT 発現増強、TGN 断片化は早期の現象と結論した。本研究は、孤発性 ALS の脊髄前角神経細胞では、ChAT 発現増強、TGN 断片化が核内 TDP-43 の低下に先行することを示した。これらの現象の背景として、軸索輸送障害などの細胞内変化の寄与を想定した。また変性過程は亜群間で異なる可能性があり、その理由は今後の課題である。本研究は、本症の病態機序に関する新知見を含み、学位論文としての価値があると判断した。