



図 2-22 ● Pick 病の肉眼所見  
前頭葉，第Ⅱ・Ⅲ側頭回の著明な萎縮を認める。

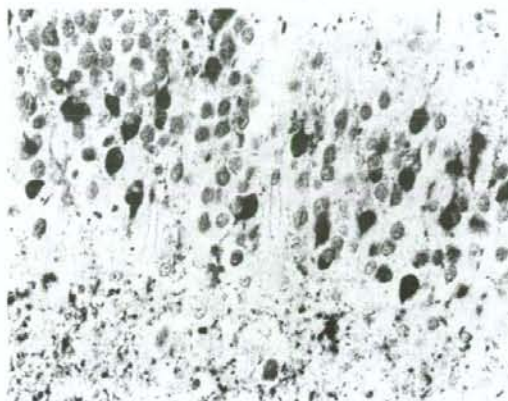


図 2-23 ● Pick 球  
齒状回抗リン酸化タウ抗体免疫染色。球形の封入体に加え，ニューロピルの陽性所見を認める。

神経細胞のみを伴うⅡ型，どちらも伴わないⅢ型に分類された。

その後免疫組織化学的検討から，Ⅰ型が Pick 球（図 2-23）を伴う Pick 病，Ⅱ型が CBD，Ⅲ型が後述する TDP43 の蓄積を伴う，認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症・ユビキチン化封入体を伴う前頭側頭葉型変性症であることが明らかとなった。これは AD が疾患概念提出の当初より，SP と NFT という蓄積物質で規定されたのに対し，Pick 病は臨床症状と肉眼的脳病理により記載されたことが混乱を招いた原因と考えられる。本稿では Pick 球を伴う症例のみを Pick 病とよび，歴史的名称としての Pick 病は Pick 症候群とよぶ。

Pick 病は 3 リピートタウオパチーに分類される。Pick 嗜銀球は，海馬での出現頻度が高いが，Pick 病は海馬が萎縮から免れる特徴を有する点で，AD の NFT のように，Pick 球は細胞死の原因とはなっていない可能性がある。

症状としては前頭側頭型認知症 frontotemporal dementia (FTD) として性格変化，攻撃性を中心とする異常行動，常同行為，無為，病識の欠如，そして意味性認知症 semantic dementia を中核とする言語障害を示し，脱抑制からは，「我が道を往く症候群」ともよばれる。AD の 1/100 程度の頻度であるが介護においてはより重大な問題を呈する。

なお，これらタウオパチーの表現型は，17 番染色体上のタウ遺伝子変異でも起こることが知られており，第 17 番染色体にリンクした，パーキンソン症状を伴う前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17: FTDP-17) と総称される。これは，タウの一義的变化で，神経変性・認知症をきたすことを示した点が重要である。

7) TDP-43 proteinopathy (認知症を伴う筋萎縮性側索硬化症 amyotrophic lateral sclerosis with dementia: ALS/D/ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭葉変性症，frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions: FTLD-U)

TDP-43 は，FTDP-17 中タウ遺伝子変異がみつからない家系から，責任遺伝子として同定された progranulin 遺伝子変異例において，抗ユビキチン抗体免疫染色陽性神経細胞内封入体の，ユビキチ

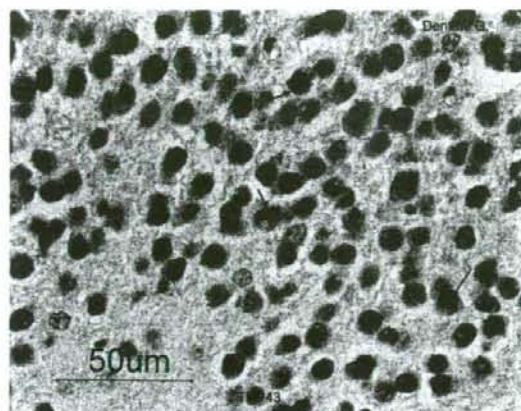


図 2-24 ● 紀伊半島筋萎縮性側索硬化症 (ALS-Kii) 抗 TDP-43 抗体免疫染色

歯状回顆粒細胞層に細胞質内陽性所見(矢印)を認める。核内陽性所見は正常である。

ン化標的物質として同定された<sup>29)</sup>(図 2-24)。その後、TDP-43 遺伝子異常により家族性・孤発性 ALS が発症することが発見され<sup>30)</sup>、これらの疾患の一義的原因と考えられる。

FTLD-U は前述したように、Pick 病のⅢ型と報告されており、前頭側頭葉変性症に分類される。この疾患も、神経内科領域で ALS/ALSD が、精神科領域で FTLD-U が主に対象となっている結果、全体像がきわめて得られにくい。前頭側頭型認知症、失語に加え、運動ニューロン疾患の要素を伴う場合がある点が、重要である。TDP-43 はその後、AD、DLB、CBD、海馬硬化でも高率に陽性所見が認められることが明らかとなった。さらに、グアム島・紀伊半島の ALS のみならず、パーキンソン病認知症複合体 (Parkinson disease with dementia complex: PDC) でも全例に陽性になることが明らかとなった。現在 TDP43 蛋白蓄積症は、一次性 (ALS/ALSD/FTLD-U)、二次性 (AD、DLB、CBD、海馬硬化など)、複合性 (combined、グアム・紀伊半島の ALS/PDC) の 3 型に分類されている。

## 8) プリオン病

生体内蛋白であるプリオン (正常プリオン; Pr<sup>C</sup>) が、立体構造が変化することで不溶性を獲得し (病的プリオン; Pr<sup>Sc</sup>)、蓄積することで神経変性をきたす。病理学的に海綿状変化をきたすクロイツフェルト-ヤコブ (Creutzfeldt-Jakob) 病 (図 2-25) と、クル斑とよばれる Pr<sup>Sc</sup>より構成されるアミロイド斑を主体とする Gerstmann-Sträussler-Scheinker disease (以下 GSS) に分類される。元来人口 100 万対 1 程度のまれな病態であるが、ヒト死後乾燥硬膜移植による医原性 CJD が本邦では多発した。他にも剖検下垂体より抽出されたホルモン製剤、角膜移植、脳外科手術による発症が報告されている。ニューギニアの Kuru 病が、ヒト死後脳を宗教的意味で食し発症したことから、食物連鎖での禁忌事項と考えられる。最近では、牛骨粉を餌とした牛に狂牛病として発症し、その牛骨粉によりさらに感染が拡大し、感染牛を食した人が変異型 CJD (vCJD) として発症したと想定されている。vCJD は、花冠状プリオン斑とよばれるきわめて特殊な病理を呈する。これら医原性ならびに vCJD を主な監視対象とし、プリオン病は第五種感染症として届け出義務があり、また厚生労働省の諮問機関である CJD サーベイランス委員会による監視下にある。髄液 14-3-3、タウの定量評価、プリオン遺伝子解析は、委員会の委託施設で無料で提供されている。WHO 診断基準と

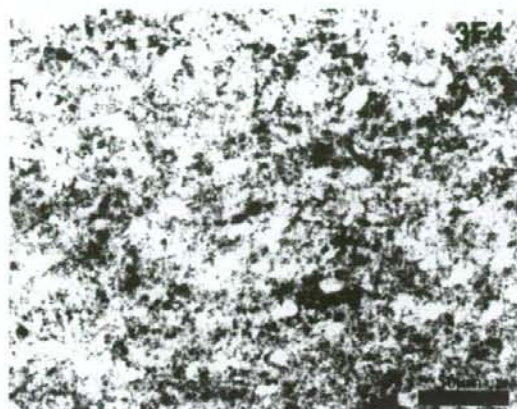


図 2-25 ● クロイツフェルト-ヤコブ病  
抗プリオン抗体免疫染色所見。シナプス型沈着を認める。

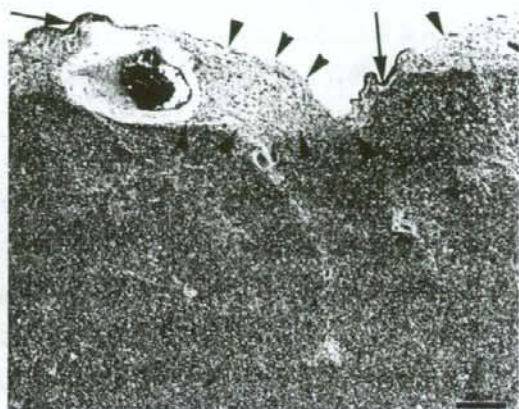


図 2-26 ● 高齢者の側脳室前角  
脳室上衣 (矢印) は部分的にしか覆っていない。脳室上衣のない部位は星状膠細胞が増殖し覆っているが、白質はグリオシス (矢印) により、脳室壁からは遠ざけられている。

して、進行性経過をとり無言無動に至ること、ミオクローヌスを伴うこと、脳波上 PSD (periodic synchronous discharge) を伴うこと、髄液 14-3-3 陽性である場合、probable CJD と診断され、確定診断には生化学的に不溶性プリオンの存在が要求される。

プリオン病は、プリオン遺伝子の 129 番の M/V 多型、脳内沈着プリオンの附属糖鎖構造の違いでの type I, II の差異より、表現型が規定される。孤発性の場合、MRI 拡散強調画像で皮質がリボン状に高輝度を呈することが、診断上有用とされるが、type II MM の視床型とよばれる、昔視床変性症とよばれた群についてはこの所見が得られない。この型は機能画像での視床血流・代謝低下が診断上有用である。

プリオン遺伝子異常を伴う症例がおよそ 10% に存在するが、本邦では V180I が最も頻度的に高い。この表現型は病初期には緩徐進行性であるため、物忘れ外来で AD, DLB の診断を受ける場合が多いが、MRI 拡散強調画像で、皮質がび慢性に高輝度を呈することで、鑑別可能である。

#### e. 大脳白質: Binswanger 型白質脳症

大脳白質は、加齢性変化の豊富な部位で、認知症の責任疾患としては、Binswanger 型白質脳症 (図 2-6) が有名である。白質の病理学的評価は、大切片標本を用いる必要があるとされ、少数の専門施設でないと評価不能であったので、検索が依然不十分である。個々の症例を臨床症状、CT/MRI 画像で追跡し、白質の病変を正確に評価し、剖検が得られた時にその部位を組織学的に検索し、対応させていくことが必要である。MRI FLAIR 冠状断像が評価に頻用されている。

CT でみられる脳室周囲低吸収域 periventricular low density (PVL) は、脳室拡大に応じて脳室上衣が増殖できないため離解し、その部位の穴うめにアストログリアが動員されるが、十分な耐水性を維持できないため髄液が実質内に浸透する結果生じると考えられている。現時点で、Binswanger

型白質変性と PVL の画像上の厳密な鑑別は困難である。ただ、いずれの場合も情報伝導遅延に基づく症状を、神経心理学的検査で検出可能であり、認知症の原因となりうる点に注意が必要である。

#### f. 脳室：正常圧水頭症

脳室の拡大は、脳萎縮と並び、加齢で最もよく認められる変化である。その成因には、脳萎縮の他に、髄液循環障害が関与している点は正常圧水頭症 normal pressure hydrocephalus (NPH) の存在より明らかである。脳槽シンチなど臨床画像と、髄液タップテストなどによるダイナミズムの解析結果を、剖検時の病理学的検索で確認することは不可能だが、脳室上衣細胞の連続性の消失、脳室上衣下アストログリアの増生という、加齢脳では必発である所見がそれに該当する。脳室の scalloping とよばれる不規則な壁をもった拡大 (図 2-26)、V sign とよばれる形態機能画像での Sylvius 裂周囲血流低下に相応する、Sylvius 裂の拡大、弓隆部の萎縮が目立たないことなど、形態・機能画像に相応する肉眼所見が得られるがいずれも特異性はない。

#### g. 基底核

小血管病変によるラクナ梗塞、ラクナ出血の好発部位で、脳血管障害性パーキンソン症候群との関連の他、認知症とは特に優位半球尾状核が戦略拠点となりうる。基底核が主座となる変性疾患として、ハンチントン病、多系統萎縮症があり、ともに高齢者で物忘れ外来に初診する可能性があるが、画像変化が鑑別に有用である。

老化に伴い、被殻の背外側後方より腹内側前方への勾配をもった鉄沈着を示すことが、MRI 画像よりは明らかであるが、認知・運動機能への関与はよくわかっていない。最近アミロイド PET (PIB) で、初期より A $\beta$  沈着が起きる部位として、認知機能障害との関係が注目を集めている。

#### h. 視床

認知症の責任病巣としては、脳血管性認知症の戦略拠点の 1 つである。またプリオン病のなかで type II MM 視床型 CJD や、遺伝性プリオン病 D178N 変異による家族性致死性不眠症 (fatal familial insomnia) では病変の主座となる。また、vCJD で T2 強調画像、FLAIR、拡散強調画像で最も高輝度を呈する pulvinar sign、あるいは hockey stick sign が有名である。

#### i. 脳幹

PD で、脳幹病変のみで認知症をきたすことがあるかないかについては、DLB 改訂コンセンサスガイドライン<sup>24)</sup>では低い可能性に分類されている。扁桃核・嗅球病変は PD では必発であり、辺縁系の関与の方が一般的にはより重要と思われる。

#### j. 小脳

認知障害との関与の可能性はおもに functional MRI などから指摘されており、認知機能が運動記憶と深く結びついていることを示唆している。しかし、個別の病変の認知機能との対応は、これか

らの課題である。

## まとめ

認知症の病理の中核である中枢神経系の加齢性変化は連続性であり、一定の域値を超えたときに認知症症状を呈することで病的変化となる。かつこれらの変化が1つだけとは限らない。外傷性変化、血管障害性変化、低酸素・虚血性変化、変性型老化性変化、髄液循環障害など、多因子が関与する。また、認知機能には機能的側面があり、全身状態の関与、精神状態、特にうつとの関与が重要であり、これらは古典的な形態病理学的視点からはとらえきれない。

脳は、体最大の臓器であり（女性平均約 1,200 g、男性約 1,300 g）、さらに高度の領域分化をとげているため、剖検病理学的手法で、全領域を肉眼的・組織学的にくまなく検索することはまず不可能である。また、そうしたとしても、現在の方法論にたよる限り、その脳が呈していた臨床経過や症状を推測することは、極端な病理を呈している場合を除いて不可能である。これは、心臓、肺、腎臓などの臓器とは様相が異なり、脳がブラックボックスの要素を依然として有していることを示す。特に加齢に関しては、未曾有の急速な高齢化により、何を正常としてよいかの基準自体が問題となってきた。

この問題の解決には、正確な解剖画像・機能画像と、臨床情報の積み重ねを、最終病理学的所見で確認していく作業が必要であり、われわれはこの作業を動的神経病理 *dynamic neuropathology* と命名している。

（村山繁雄 齊藤祐子）

## 2. 神経化学

アルツハイマー病（AD）脳で最も顕著に減少する神経伝達物質はアセチルコリン（ACh）であり、コリン作動性神経の障害については詳細に解析されている。1970年から1980年代にかけてコリン作動性神経の障害が記憶・認知能力に深く関与することが報告された<sup>31-34</sup>)を契機にコリン仮説が誕生した。実際にAD脳ではコリン作動性神経系の異常が際立って起こる。すなわち、前脳基底部のマイネルト基底核 *basal nucleus of Meynert* から大脳皮質、および中隔核 *septal nucleus* やブローカの対角帯核 *nucleus of the diagonal band of Broca* から海馬体に投射するコリン作動性の神経細胞の変性・脱落が起こり、結果として大脳皮質・海馬への入力が強いつまらぬ障害を受け、ACh量の低下が起こる<sup>35-38</sup>)。このように低下したAChを補充し認知症症状を緩和する目的で開発されたのがドネペジルをはじめとしたAChエステラーゼ（AChE）阻害薬である。実際、AChE阻害薬がシナプス後膜の受容体に結合するACh量を増加させ神経伝達効率を高めるとコリン作動性入力が賦活化され認知障害が軽減することや、パーキンソン病のL-dopa投与の成功例を考えれば、AChのみならずその他の神経伝達物質の機能的・病理的变化を理解し、補充療法を検討し認知障害や認知症の行動・心理症状を緩和するための臨床応用へつなげることの意義は大きい。

# FTLD/ALSにおけるTDP-43蓄積

新井哲明 長谷川成人  
野中 隆 亀谷富由樹 秋山治彦

神経内科

Reprinted from NEUROLOGICAL MEDICINE

Vol. 68 No. 6 June 2008

科学評論社



## FTLD/ALSにおけるTDP-43蓄積\*

● 新井哲明\*\* / 長谷川成人\*\*\* / 野中 隆\*\*\* / 亀谷富由樹\*\*\* / 秋山治彦\*\*

**Key Words** : inclusion, aggregation, fragment, phosphorylation, neurodegeneration

### はじめに

前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration : FTLD) は、前頭・側頭葉に局限して進行性的変性を呈し、初老期ではAlzheimer病(AD)に次いで頻度が高い認知症である。筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral sclerosis : ALS) は、運動ニューロンの変性により筋肉の萎縮と筋力低下をきたし、半数が発症後3~5年で呼吸筋麻痺により死亡する難病である。2006年、両疾患に出現するユビキチン陽性封入体の主要構成成分としてTAR DNA-binding protein of 43 kDa (TDP-43) が同定されたことにより、両疾患が共通の病理基盤を有することが明らかになった<sup>1)2)</sup>。FTLDについては、第17番染色体に連鎖する家族性例において、成長因子の一種であるプログランニューリン (progranulin : PGRN) 遺伝子の変異が同定されたことがもう一つの重要な発見である<sup>3)4)</sup>。そして2008年、家族性および孤発性ALS例においてTDP-43遺伝子の変異が相次いで発見され<sup>5)~9)</sup>、TDP-43の異常と神経変性の直接的な関係が証明された。これらの発見は、FTLDとALSの発症機序解明につながるるとともに、他

の神経変性疾患の病態を知る上でも重要な示唆を与えるものであり、また、これらの知見のもとに今神経変性疾患の概念が大きく変わろうとしている。本稿では、筆者らの最近の研究結果を中心に、ユビキチン陽性封入体を伴うFTLD (FTLD-U) およびALSとTDP-43の研究の展開について解説する。

### FTLDの臨床病理概念の新たな展開

前頭・側頭葉に局限性的変性を呈する認知症性症候群は、1892年Arnold Pickによって初めて報告されて以来さまざまな概念の変遷を経、1996年以降FTLDと総称されるようになった。FTLDは臨床的には、人格変化と行動障害を主体とする前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia : FTD) と言語機能障害を主症状とする語義認知症 (semantic dementia : SD) および進行性非流暢性失語 (progressive nonfluent aphasia : PA) の三つのサブタイプに分けられている。病理学的には、FTLDはPick病、皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration : CBD)、進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy : PSP) などのタウ陽性封入体を有する疾患群 (tauopathy) と、タウ陰性ユビキチン陽性封入体を有するFTLD (FTLD, ubiquitinated type : FTLD-U) によって主に構成される。FTLD

\* Aggregation of TDP-43 in FTLD and ALS.

\*\* Tetsuaki ARAI, M.D., Ph.D., \*\*\* Masato HASEGAWA, Ph.D., \*\*\* Takashi NONAKA, Ph.D., \*\*\* Fuyuki KAMETANI, Ph.D. & Haruhiko AKIYAMA, M.D., Ph.D.: 東京都精神医学総合研究所老年期精神疾患研究チーム, \*\*\*分子神経生物学研究チーム [〒156-8585 東京都世田谷区北沢2-1-8]; Departments of Psychogeriatrics and \*\*\*Molecular Neurobiology, Tokyo Institute of Psychiatry, Tokyo 156-8585, Japan.

表 1 前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration : FTLD) の神経病理分類

|   | Cairnsらの分類   | McKhannらの分類                |
|---|--|----------------------------|
| 1. Tauopathy<br>(不溶性タウが3リピートタウ優位)                                   | Pick球を伴うFTLD<br>MAPT変異を伴うFTLD  | Pick病<br>FTDP-17           |
| 2. Tauopathy<br>(不溶性タウが4リピートタウ優位)                                   | 皮質基底核変性症<br>進行性核上性麻痺<br>嗜銀性顆粒病<br>Sporadic multiple system<br>tauopathy with dementia<br>MAPT変異を伴うFTLD   | 皮質基底核変性症<br>進行性核上性麻痺       |
| 3. Tauopathy (不溶性タウが<br>3リピートタウと4リピートタウ)                            | 神経原線維変化型認知症<br>MAPT変異を伴うFTLD   | 神経原線維変化型認知症<br>FTDP-17     |
| 4. タウあるいはユビキチン/P62陽性<br>封入体を伴わない前頭側頭葉の<br>神経細胞脱落とグリオーシス             | FTLD (あるいはDLDH)  | FTLD (あるいはDLDH)            |
| 5. TDP-43 proteinopathy   | MNDを伴うFTLD-U<br>(FTLD-U 1型-3型)<br>MNDを伴わないFTLD-U<br>(FTLD-U 1型-3型)<br>PGRN変異を伴うFTLD-U<br>(FTLD-U 3型)<br>VCP変異を伴うFTLD-U<br>(FTLD-U 4型)<br>9番染色体に連鎖するFTLD-U<br>(FTLD-U 2型) | MNDを伴うFTLD<br>MNDを伴わないFTLD |
| 6. ユビキチン/P62陽性、TDP-43および<br>タウ陰性封入体を伴う前頭側頭葉の<br>神経細胞脱落とグリオーシス       | CHMP2B変異を伴うFTLD-U<br>好塩基性封入体病(BIBD)  |                            |
| 7. ユビキチン/P62および $\alpha$ -internexin陽性封入体<br>を伴う前頭側頭葉の神経細胞脱落とグリオーシス | 神経細胞性中間径フィラメント<br>封入体病(NIFID)  |                            |

FTDP-17 : frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (第17番染色体に連鎖しパーキンソン症を伴う前頭側頭型認知症), MAPT : microtubule-associated protein tau gene, DLDH : dementia lacking distinctive histology, MND : motor neuron disease (運動ニューロン疾患), FTLD-U : frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions (ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭葉変性症), PGRN : progranulin gene ; VCP, valosin-containing protein gene, CHMP2B : charged multivesicular body protein 2B gene あるいは chromatin modifying protein 2B gene, BIBD : basophilic inclusion body disease, NIFID : neuronal intermediate filament inclusion disease.

の5~10%には、ALSと同様の運動ニューロン障害 (motor neuron disease : MND) が合併する (FTLD-MND)。

FTLD-UおよびALSにおけるTDP-43の同定以後、valosin-containing protein (VCP) 遺伝子変異による骨Paget病と前頭側頭型認知症を伴う遺伝性封入体筋炎 (inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia : IBMPFD)<sup>10)</sup>、第9番染色体に連鎖するFTLD<sup>11)12)</sup>、グアムおよび紀伊のALS/パーキンソン症・認知症複合 (parkinsonism-dementia complex : PDC)<sup>13)~15)</sup> などにおいても

TDP-43陽性構造が同定された。さらに、AD<sup>16)</sup>およびLewy小体病 (Lewy body disease : LBD)<sup>17)18)</sup>の一部においても、辺縁系を中心にTDP-43の蓄積が生じていることが見出された。これらの知見を基に、2007年CairnsらがMcKhannらの分類<sup>19)</sup>を改訂し、FTLDの新たな病理分類を発表した<sup>20)</sup>(表1)。この改訂のもっとも重要な点は、TDP-43陽性封入体を伴うFTLD-Uの一群を包括するTDP-43 proteinopathy<sup>11)21)</sup>という新たな概念を採用したことである。ただし、グアムおよび紀伊のALS/PDCやADおよびLBDにTDP-43蓄積を伴う症例の位置づけについては言及してお



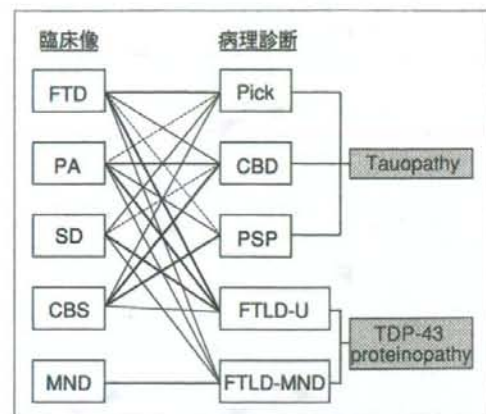


図1 FTLDおよびその関連疾患の臨床像と病理像の対応関係

FTD: frontotemporal dementia (前頭側頭型認知症), PA: progressive non-fluent aphasia (進行性非流暢性失語), SD: semantic dementia (意味性認知症), CBS: corticobasal syndrome (皮質基底核症候群), MND: motor neuron disease (運動ニューロン疾患), Pick: Pick's病, CBD: corticobasal degeneration (皮質基底核変性症), PSP: progressive supranuclear palsy (進行性核上性麻痺), FTLD-U: frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions (ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭葉変性症), FTLD-MND: 運動ニューロン疾患を伴う前頭側頭葉変性症。太い線は強い相関, 細い線は弱い相関, 点線は稀な相関, をおのおの表す。(Boeveら<sup>23)</sup>の図より改変。)

らず, 今後に課題を残している。

ところで, FTLDの臨床分類は, 最初に侵される脳領域の違いに対応して出現する症状に基づいたものであり, 特定の病理学的特徴とは対応しないとされていたが, TDP-43の発見以後の再検討により, ある程度両者の相関がみられることがわかってきた。Snowdenらは, 79例のFTLDについてtauopathyとnon-tauopathyに分けて検討したところ, FTDはtauopathyとnon-tauopathyがほぼ半数ずつを占めるが, SDとFTD-MNDはすべてnon-tauopathyであり, PAもnon-tauopathyの割合がかなり高いことを見出した<sup>22)</sup>。この場合のnon-tauopathyの大部分はFTLD-Uと考えられる。現時点で考えられるFTLDおよびその関連疾患の臨床像と病理像の対応関係について図1にまとめた。

### TDP-43 proteinopathyにおけるリン酸化TDP-43の蓄積

筆者らは, 2006年にFTLD-UおよびALSの患者脳におけるTDP-43の蓄積を同定した際, 蓄積したTDP-43が異常なリン酸化を受けていることを見出した。これまでのタウや $\alpha$ -シヌクレインの研究の経験からもTDP-43のリン酸化が病態に重要な役割を果たしていると考えられたので, 次にそのリン酸化部位の同定を試みた。ヒトTDP-43上に56カ所存在するserine(Ser)/threonine(Thr)部位から36カ所を選び, おおのこのリン酸化ペプチドを合成してウサギに免疫したところ, 異常構造を認識する抗体がいくつか得られた<sup>23)</sup>。これらのうち, 403番目と404番目のSer(pS403/404), および409番目と410番目のSer(pS409/410)をリン酸化したペプチドに対する抗体の反応性ももっとも強かった。

市販のリン酸化非依存性抗TDP-43抗体が異常構造以外に正常の核も染色するのに対し(図2-A~C), リン酸化TDP-43特異抗体は異常構造のみを強く染色した(図2-D~K)。たとえば, FTLD-U例の海馬歯状回を染色した場合, 市販の抗体ではヘマトキシリンなどの核染色なしに神経細胞質内封入体(neuronal cytoplasmic inclusions: NCIs)を同定することは困難であるが(図2-A), リン酸化TDP-43特異抗体ではNCIsのみが染色されるため, その同定は容易である(図2-D)。大脳皮質のDN(図2-B, E)や脊髄前角細胞内のスケイン様封入体(図2-C, F)の染色においても, リン酸化TDP-43特異抗体の優位性は明らかである。リン酸化TDP-43特異抗体は上記のほか, FTLD-MND例の側頭葉皮質のNCIs(図2-G), プログラニューリン変異例における大脳皮質のNCIsおよびDNs(図2-H), 神経細胞核内封入体(neuronal intranuclear inclusions: NIIs)(図2-I, J), 大脳白質の陽性構造(図2-K)など, これまで報告されているすべてのTDP-43陽性構造を染色した<sup>23)</sup>。

ところで, TDP-43陽性のグリア細胞内封入体は, 2006年筆者らがALS例の脊髄に存在することを初めて指摘<sup>2)</sup>。その後Tanらが脊髄のみでなく内包や中心前回などにも出現することを報告したが<sup>24)</sup>, その細胞種については不明であった。今回, ALS例の脊髄切片について, リン酸化TDP-43特異抗体と補体のC4dに対する抗体との二重染色

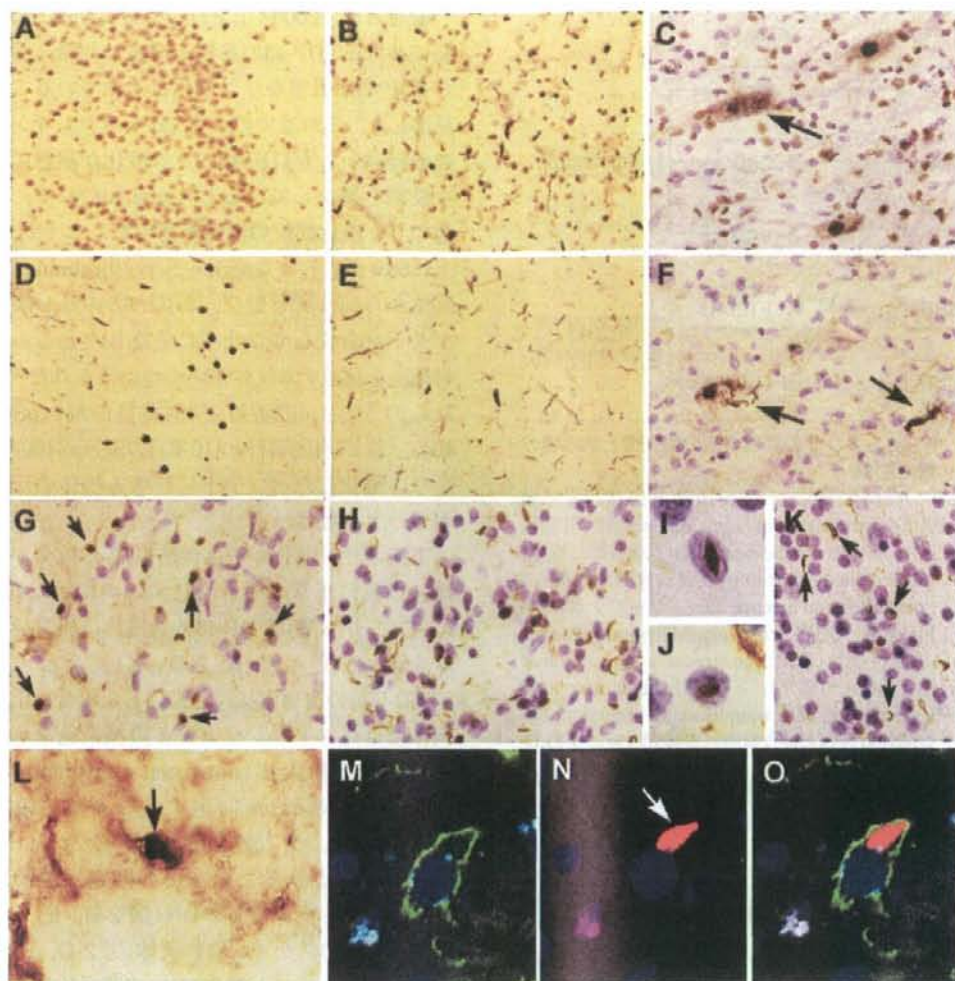


図2 FTLD-UおよびALSに出現するTDP-43陽性構造

市販のリン酸化非依存性抗TDP-43抗体(anti-TDP-43, Protein Tech)(A~C)およびリン酸化TDP-43特異抗体(pS409/410)(D~K)を用い、孤発性FTLD-Uの海馬歯状回(A, D)および側頭葉皮質(B, E)、孤発性ALSの脊髄前角(C, F)、孤発性FTLD-MNDの前頭葉皮質(G)、プログラニューリン遺伝子変異を有する家族性FTLD-Uの側頭葉皮質(H~J)および白質(K)の免疫組織化学染色を施行した。市販のリン酸化非依存性抗体は異常構造以外に正常の核を認識するため(A~C)、とくに海馬歯状回などでは異常構造の同定が困難な場合がある(A)。一方、pS409/410は神経細胞質内封入体(D, G, H)、変性神経突起(D, E, H)、ステイン様封入体(F, 矢印)、神経細胞核内封入体(I, J)、グリア細胞内封入体(K)などの異常構造のみを強く染色し、核は染色しない。(L~O)免疫二重染色により描出されるリン酸化TDP-43陽性オリゴンドログリア細胞内封入体(孤発性ALS例の脊髄)。DAB法(L)および蛍光抗体法(M~O)を用いた免疫二重染色により、pS409/410陽性封入体(L: 黒矢印, N and O: 赤矢印)がC4d陽性オリゴンドログリア(L: 茶, M and O: 緑)の細胞質内に存在することがわかる。M~Oでは、TO-PRO-3で核を青く染色している。

を施行したところ、TDP-43陽性封入体がC4d陽性オリゴンドロサイトの細胞質内に存在することを確認した(図2-L~O)。以上から、ALSに出現するTDP-43陽性グリア内封入体の少なくとも一部はオリゴンドロサイト由来であり、ALSの病態

には神経細胞だけでなくオリゴンドロサイトの異常も関与していると考えられた。なお、FTLD-Uの白質にみられるTDP-43陽性構造についても、Neumannらはそれらがアストロサイトおよびミクログリアのマーカーと共存しないことから、オ

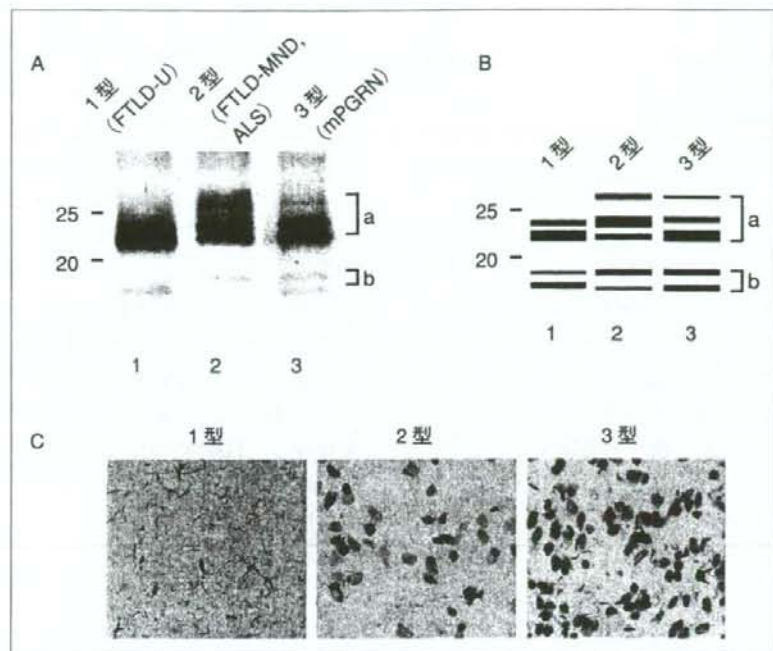


図3

A, B: TDP-43 proteinopathyの病理サブタイプとリン酸化TDP-43のC末側断片のバンドパターンの対応(15%ゲルにより電気泳動後、pS409/410でWestern blotを施行)。断片の基本的な構成は、いずれのサブタイプにおいても20kDa以上の2~3本の比較的強いバンド(断片a)と18, 19kDaの弱いダブルレット(断片b)から成っている。1型(DNs主体)では、断片aは23, 24kDaのダブルレットを示し、23kDaの方が24kDaより強く、断片bでは18kDaの方が19kDaより強い。2型(NCIs主体)では、断片aは23, 24, 26kDaのトリプレットを示し、その中では24kDaがもっとも強く、断片bでは1型とは逆に19kDaの方が18kDaより強い。3型(NCIs+DNs)では、断片aは23, 24, 26kDaのトリプレットを示し、その中では23kDaがもっとも強く、断片bでは18kDaと19kDaの強さがほぼ等しい。これは、1型と2型がmixしたパターンと考えられる。C: 典型的な1型、2型、3型の病理像を示す(pS409/410抗体による免疫染色)。

リゴデンドロサイト由来である可能性を指摘している<sup>25)</sup>。

市販の抗体とリン酸化特異抗体について、FTLD-U例から調整したサルコシル不溶性画分のWestern blotの結果を比較すると、市販の抗体は、正常例でもFTLD-U例でも43kDaのバンドを認識し、FTLD-Uにのみ45kDaのバンドを検出するが、リン酸化特異抗体は正常例では何も検出せず、FTLD-U例にのみ45kDaのバンド、~25kDaのバンド、スメアを検出した。これらの反応は脱リン酸化処理により消失することから異常リン酸化したTDP-43のみを認識していることが証明された(長谷川らの章を参照)。これらの検討により、リン酸化して蓄積しているTDP-43は、全長

(45kDa)のものよりもそのC末側断片(~25kDa)の方が圧倒的に多いことが新たに判明した<sup>23)</sup>。

### FTLD-Uの病理サブタイプの生化学的背景

FTLD-Uの病理像は一様ではなく、大脳皮質におけるユビキチン陽性構造の出現パターンによって3型に分類されていたが<sup>26)27)</sup>、TDP-43の検討によりもう1型加わり、現在4型に分類されている<sup>22)28)</sup>。すなわち、DN主体の1型、NCI主体の2型、両者が混在する3型、NIIとDNが混在する4型、である。これらの病理パターンとFTLDの臨床病型との対応を調べると、SDは1型、FTD-MNDは2型、PAは3型を示す例が多く、

また、9番染色体に連鎖するFTD-MNDは2型、PGRN変異例は3型、VCP変異によるIBMPFDは4型を必ず示す<sup>22)28)</sup>。

不溶性画分のWestern blotにおいて、上記のリン酸化TDP-43陽性C末断片に着目し、ゲルの組成を変えて詳しく調べると、興味深いことが判明した。すなわち、断片のバンドパターンがFTLD-Uの病理型(1型~3型)によって異なっているのである(図3-A, B)<sup>23)</sup>。Sampathuらは、1型と2型の病理構造をおのおの特異的に認識するモノクローナル抗体を作製し、これらの抗体は両型の不溶性画分のWestern blotでもおのおの異なる分子量のTDP-43のC末断片を認識することをすでに報告している<sup>1)26)</sup>。筆者らの結果は、さらにTDP-43断片と病理像の関係を一步進め、リン酸化特異抗体を用いたWestern blotを行えばFTLD-Uの1型から3型までを鑑別できる可能性を示した点で重要である。このような蓄積タンパクの断片と病理像の対応関係について、以前筆者らは同じ4リピートタウが蓄積する疾患であるCBDとPSPにおいて蓄積したタウのC末側断片の切断部位が異なることを報告した<sup>29)</sup>。これらの結果は、タンパクの異常切断が神経変性疾患全般の病態に深くかかわっていることを示唆している。

### リン酸化TDP-43の蓄積と神経変性機序

TDP-43遺伝子変異の効果についてはいまだ不明な点が多いが、Kabashiらは、患者から採取したリンパ芽球様細胞のWestern blot解析およびコンピュータ・アルゴリズムを用いた解析により、TDP-43の断片化とリン酸化の促進を指摘した<sup>8)</sup>。Sreedharanらは、変異型TDP-43遺伝子をニワトリ胚の脊髄に導入し、脚および尾芽の形成阻害と脊髄組織に多数のTUNEL陽性アポトーシス細胞を認めたことから、toxic gain-of-functionあるいはドミナントネガティブ効果を提唱している<sup>6)</sup>。

Zhangらは、培養細胞においてPGRNの発現をsiRNAによりノックダウンすると、カスパーゼの活性化とアポトーシスが起り、結果としてTDP-43の切断とTDP-43断片の核から細胞質への移行が生じると報告したが<sup>30)</sup>、別の論文ではこの結果は否定された<sup>31)</sup>。

一方、エンドソームの膜輸送に関与するタンパク質複合体であるESCRT(endosomal sorting complex required for transport)の発現を培養細胞において抑制すると、オートファジーによるタンパク質分解が阻害され、TDP-43の細胞質内蓄積が生じることが報告されたことから<sup>32)</sup>、オートファジーの障害とTDP-43蓄積との関連性が推測されている。

Wintonらは、TDP-43の核移行シグナルに相当する領域を欠失させた変異体を培養細胞に導入すると、変異型TDP-43の細胞質内蓄積と、内在性TDP-43の核から細胞質への移行が生じることを報告し、TDP-43の核-細胞質間輸送のバランスの障害がTDP-43 proteinopathyの病態に関与する可能性を指摘している。

### おわりに

Progranulin(PGRN)、valosin-containing protein(VCP)、TAR DNA-binding protein of 43 kDa(TDP-43)と、前頭側頭葉変性症(FTLD)および筋萎縮性側索硬化症(ALS)の病態に関与する分子がここにきて出揃ってきた。今後、これらの遺伝子変異の効果に関する解析が進むとともにモデル動物なども作製され、疾患の病態がより明らかになっていくと思われる。筆者らが作製したリン酸化TDP-43特異抗体は、患者脳およびモデル動物の解析に有用であるのみでなく、体液中の異常TDP-43検出による診断法やワクチン療法による治療法の開発などに結びつく可能性があり、今後さらに検討を進める予定である。TDP-43を中心とした解析が、FTLDおよびALSを含めた他の多くの神経変性疾患の病態解明につながることを期待したい。

### 文 献

- 1) Neumann M, Sampathu DM, Kwong LK, et al. Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 2006 ; 314 : 130-3.
- 2) Arai T, Hasegawa M, Akiyama H, et al. TDP-43 is a component of ubiquitin-positive tau-negative inclusions in frontotemporal lobar degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Biochem Biophys Res*

- Commun 2006 ; 351 : 602-11.
- 3) Cruts M, Gijssels I, van der Zee J, et al. Null mutations in progranulin cause ubiquitin-positive frontotemporal dementia linked to chromosome 17q21. *Nature* 2006 ; 442 : 920-4.
  - 4) Baker M, Mackenzie IR, Pickering-Brown SM, et al. Mutations in progranulin cause tau-negative frontotemporal dementia linked to chromosome 17. *Nature* 2006 ; 442 : 916-9.
  - 5) Gitcho MA, Baloh RH, Chakraverty S, et al. TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. *Ann Neurol* 2008 ; DOI : 10.1002/ana. 21344.
  - 6) Sreedharan J, Blair IP, Tripathi VB, et al. TDP-43 Mutations in Familial and Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Science* 2008 ; 319 : 1668-72.
  - 7) Yokoseki A, Shiga A, Tan CF, et al. TDP-43 Mutation in familial amyotrophic lateral sclerosis. *Ann Neurol* 2008 ; in press.
  - 8) Kabashi E, Valdmanis PN, Dion P, et al. TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nat Genet* 2008 ; in press.
  - 9) Van Deerlin VM, Leverenz JB, Bekris LM, et al. TARDBP mutations in amyotrophic lateral sclerosis with TDP-43 neuropathology : a genetic and histopathological analysis. *Lancet Neurol* 2008 ; 7 : 409-16.
  - 10) Neumann M, Mackenzie IR, Cairns NJ, et al. TDP-43 in the ubiquitin pathology of frontotemporal dementia with VCP gene mutations. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007 ; 66 : 152-7.
  - 11) Morita M, Al-Chalabi A, Anderson PM, et al. A locus on chromosome 9p confers susceptibility to ALS and frontotemporal dementia. *Neurology* 2006 ; 66 : 839-44.
  - 12) Vance C, Al-Chalabi A, Ruddy D, et al. Familial amyotrophic lateral sclerosis with frontotemporal dementia is linked to a locus on chromosome 9p13.2-21.3. *Brain* 2006 ; 129 : 868-75.
  - 13) Hasegawa M, Arai T, Akiyama H, et al. TDP-43 is deposited in the Guam parkinsonism-dementia complex brains. *Brain* 2007 ; 130 : 1386-94.
  - 14) Geser F, Winton MJ, Kwong LK, et al. Pathological TDP-43 in parkinsonism-dementia complex and amyotrophic lateral sclerosis of Guam. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 115 : 133-45.
  - 15) 葛原茂樹. 紀伊ALS再訪—ALS-parkinsonism-dementia complexとしての新しい概念, 疫学, 原因についての考察. *Brain and Nerve* 2007 ; 59 : 1065-74.
  - 16) Amador-Ortiz C, Lin WL, Ahmed Z, et al. TDP-43 immunoreactivity in hippocampal sclerosis and Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 2007 ; 61 : 435-45.
  - 17) Nakashima-Yasuda H, Uryu K, Robinson J, et al. Co-morbidity of TDP-43 proteinopathy in Lewy body related diseases. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 114 : 221-9.
  - 18) Higashi S, Iseki E, Yamamoto R, et al. Concurrence of TDP-43, tau and alpha-synuclein pathology in brains of Alzheimer's disease and dementia with Lewy bodies. *Brain Res* 2007 ; 1184 : 284-94.
  - 19) McKhann GM, Albert MS, Grossman M, et al. Clinical and pathological diagnosis of frontotemporal dementia : report of the work group on frontotemporal dementia and Pick's disease. *Arch Neurol* 2001 ; 58 : 1803-9.
  - 20) Cairns NJ, Bigio EH, Mackenzie IR, et al. Neuropathologic diagnostic and nosologic criteria for frontotemporal lobar degeneration : consensus of the Consortium for Frontotemporal Lobar Degeneration. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 114 : 5-22.
  - 21) Davidson Y, Kelley T, Mackenzie IRA, et al. Ubiquitinated pathological lesions in frontotemporal lobar degeneration contain the TAR DNA-binding protein, TDP-43. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 113 : 521-33.
  - 22) Snowden J, Neary D, Mann D. Frontotemporal lobar degeneration : clinical and pathological relationships. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 114 : 31-8.
  - 23) Hasegawa M, Arai T, Nonaka T, et al. Phosphorylated TDP-43 in frontotemporal lobar degeneration and ALS. *Ann Neurol* 2008 ; in press.
  - 24) Tan CF, Eguchi H, Tagawa A, et al. TDP-43 immunoreactivity in neuronal inclusions in familial amyotrophic lateral sclerosis with or without SOD1 gene mutation. *Acta Neuropathol (Berl)* 2007 ; 113 : 535-42.
  - 25) Neumann M, Kwong LK, Truax AC, et al. TDP-43-

- positive white matter pathology in frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions. *J Neuropathol Exp Neurol* 2007 ; 66 : 177-83.
- 26) Sampathu DM, Neumann M, Kwong LK, et al. Pathological heterogeneity of frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin-positive inclusions delineated by ubiquitin immunohistochemistry and novel monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 2006 ; 169 : 1343-52.
- 27) Mackenzie IRA, Baborie A, Pickering-Brown S, et al. Heterogeneity of ubiquitin pathology in frontotemporal lobar degeneration : classification and relation to clinical phenotype. *Acta Neuropathol (Berl)* 2006 ; 112 : 539-49.
- 28) Cairns NJ, Neumann M, Bigio EH, et al. TDP-43 in familial and sporadic frontotemporal lobar degeneration with ubiquitin inclusions. *Am J Pathol* 2007 ; 171 : 227-40.
- 29) Arai T, Ikeda K, Akiyama H, et al. Identification of amino-terminally cleaved tau fragments that distinguish progressive supranuclear palsy from corticobasal degeneration. *Ann Neurol* 2004 ; 55 : 72-9.
- 30) Zhang YJ, Xu YF, Dickey CA, et al. Progranulin mediates caspase-dependent cleavage of TAR DNA binding protein-43. *J Neurosci* 2007 ; 27 : 10530-4.
- 31) Shankaran SS, Capell A, Hruscha AT, et al. FTLD-U linked missense mutations in the progranulin gene reduce progranulin production and secretion. *J Biol Chem* 2008 ; 283 : 1744-53.
- 32) Filimonenko M, Stuffers S, Raiborg C, et al. Functional multivesicular bodies are required for autophagic clearance of protein aggregates associated with neurodegenerative disease. *J Cell Biol* 2007 ; 179 : 485-500.
- 33) Boeve BF. Links between frontotemporal lobar degeneration, corticobasal degeneration, progressive supranuclear palsy, and amyotrophic lateral sclerosis. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2007 ; 21 : S31-8.

\* \* \*

Dementia Japan 第 22 卷 第 1 号 別冊

## TDP-43 と FTLD-U 研究の新展開

新井 哲明, 長谷川成人, 野中 隆  
亀谷富由樹, 秋山 治彦



特集

2. 認知症研究のトピックス

## TDP-43 と FTLD-U 研究の新展開

新井 哲明<sup>1</sup>, 長谷川成人<sup>2</sup>, 野中 隆<sup>2</sup>  
 亀谷富由樹<sup>2</sup>, 秋山 治彦<sup>1</sup>

### はじめに

前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration: FTLD) は, 初老期ではアルツハイマー病 (Alzheimer's disease: AD) に次いで頻度が高い認知症である。2006 年, FTLD に関して 2 つの重要な発見がなされ, その研究に大きな進展がみられた。1 つは, 家族性 FTLD におけるプログランニューリン (progranulin; PGRN) 遺伝子変異の発見 (Baker et al., 2006; Cruts et al., 2006) であり, もう 1 つは, FTLD と筋萎縮性側索硬化症 (amyotrophic lateral

sclerosis; ALS) に出現するタウ陰性ユビキチン陽性封入体の構成成分としての TAR DNA-binding protein of 43 kDa (TDP-43) の同定 (Arai et al., 2006; Neumann et al., 2006) である。さらに本年, 家族性 ALS においてついに TDP-43 遺伝子の変異が相次いで発見され (Gitcho et al., 2008; Sreedharan et al., 2008; Yokoseki et al., 2008), TDP-43 の異常と神経変性との直接的な関係が証明された。このことについては, 本号のトピックスにおいて詳しく解説される。これらの発見は, FTLD と ALS の発症機序解明につながるるとともに, 他の神経変性疾患の病態を知る上でも重要な示唆を与えるものである。また, これらの知見により, 神経変性疾患の概念も大きく変わろうとしている。PGRN 変異と TDP-43 同定に関する経緯とその意義については, 以前本誌のトピックスで紹介したので (新井, 2006; 新井ら, 2007), 本稿ではその後の TDP-43 および FTLD-U を中心とした研究の展開について解説する。

### 1. FTLD の臨床病理概念の新たな展開

前頭・側頭葉に局限して進行性的変性を呈す

Recent advances in research on TDP-43 and FTLD-U  
 Tetsuaki Arai<sup>1)</sup>, Masato Hasegawa<sup>2)</sup>, Takashi Nonaka<sup>2)</sup>,  
 Fuyuki Kametani<sup>2)</sup>, Haruhiko Akiyama<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 財団法人東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所  
 老年期精神疾患研究チーム [〒156-8585 東京都世田谷区北  
 沢 2 丁目 1-8]

Department of Psychogeriatrics, Tokyo Institute of Psy-  
 chiatry (2-1-8 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-  
 8585, Japan)

<sup>2)</sup> 財団法人東京都医学研究機構 東京都精神医学総合研究所  
 分子神経生物学研究チーム [〒156-8585 東京都世田谷区北  
 沢 2 丁目 1-8]

Molecular Neurobiology, Tokyo Institute of Psychiatry  
 (2-1-8 Kamikitazawa, Setagaya-ku, Tokyo 156-8585,  
 Japan)



る認知症性症候群は、1892年Arnold Pickによって初めて報告されて以来様々な概念の変遷を経、1996年以降前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration: FTL) と総称されるようになっていく。FTLDは、臨床的には、人格変化と行動障害を主体とする前頭側頭型認知症 (frontotemporal dementia: FTD) と言語機能障害を主症状とする語義認知症 (semantic dementia: SD) および進行性非流暢性失語 (progressive nonfluent aphasia: PA) の3つのサブタイプに分けられている。病理学的には、FTLDはピック病を中心としたタウ陽性封入体を有する疾患群 (tauopathy) と、タウ陰性ユビキチン陽性封入体を有するFTLD (FTLD, ubiquitinated type: FTL-U) によって主に構成される。

FTLD-UおよびALSにおけるTDP-43の同定以後、valosin-containing protein (VCP) 遺伝子変異による骨パジェット病と前頭側頭型認知症を伴う遺伝性封入体筋炎 (inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia: IBMPFD) (Neumann et al., 2007)、第9番染色体に連鎖するFTLD (Morita et al., 2006; Vance et al., 2006)、グアムおよび紀伊のALS/パーキンソン病・認知症複合 (parkinsonism-dementia complex; PDC) (Geser et al., 2007; Hasegawa et al., 2007; 葛原, 2007) などにおいてもTDP-43陽性構造が同定された。さらに、AD (Amador-Ortiz et al., 2007) およびレビー小体病 (Lewy body disease: LBD) (Higashi et al., 2007; Nakashima-Yasuda et al., 2007) の一部においても、辺縁系を中心にTDP-43の蓄積が生じていることが見出された。これらの知見を基に、2007年CairnsらがMcKhannらの分類 (McKhann et al., 2001) を改訂し、FTLDの新たな病理分類を発表した (Cairns et al., 2007a) (表1)。この改訂の最も重要な点は、TDP-43陽性封入体を伴うFTLD-Uの一群を包括するTDP-43

proteinopathy (Arai et al., 2006; Davidson et al., 2007; Neumann et al., 2006) という新たな概念を採用したことである。ただし、グアムおよび紀伊のALS/PDCやADおよびLBDにTDP-43蓄積を伴う症例の位置づけについては言及しておらず、今後課題を残している。

ところで、FTLDの臨床分類は、最初に冒される脳領域の違いに対応して出現する症状に基づいたものであり、特定の病理学的特徴とは対応しないとされていたが、TDP-43の発見以後の再検討により、ある程度両者の相関がみられることが分かってきた。Snowdenらは79例のFTLDについてtauopathyとnon-tauopathyに分けて検討したところ、FTDはtauopathyとnon-tauopathyがほぼ半数ずつを占めるが、SDとFTD-MNDは全てnon-tauopathyであり、PAもnon-tauopathyの割合がかなり高いことを見出した (Snowden et al., 2007)。この場合のnon-tauopathyの大部分はFTLD-Uである。

FTLD-Uの病理像は、大脳皮質におけるユビキチン陽性構造の出現パターンによってすでに3型に分類されていたが (Mackenzie et al., 2006; Sampathu et al., 2006)、TDP-43の検討によりもう1型加わり、現在4型に分類されている (Cairns et al., 2007b; Snowden et al., 2007) (表2)。この病理分類とFTLDの臨床病型との対応を調べると、SDは1型、FTD-MNDは2型、PAは3型を示す例が多く、また9番染色体に連鎖するFTD-MNDは2型、PGRN変異例は3型、VCP変異によるIBMPFDは4型を必ず示すことが明らかになった。FTDの病理像が最も多様であり、1型から3型のいずれのパターンも認められた (Cairns et al., 2007b; Snowden et al., 2007)。

## 2. TDP-43のリン酸化部位の同定とその意義

筆者らは、2006年にFTLD-UおよびALS

表 1. 前頭側頭葉変性症 (frontotemporal lobar degeneration: FTLD) の神経病理分類

|   | Cairns らの分類   | McKhann らの分類                    |
|---|---|---------------------------------|
| 1. Tauopathy (不溶性タウが3リピートタウ優位)                                    | ピック球を伴う FTLD<br>MAPT 変異を伴う FTLD   | ピック病<br>FTDP-17                 |
| 2. Tauopathy (不溶性タウが4リピートタウ優位)                                    | 皮質基底核変性症<br>進行性核上性麻痺<br>嗜銀性顆粒病<br>Sporadic multiple system tauopathy with dementia<br>MAPT 変異を伴う FTLD   | 皮質基底核変性症<br>進行性核上性麻痺<br>FTDP-17 |
| 3. Tauopathy (不溶性タウが3リピートタウと4リピートタウ)                              | 神経原線維変化型認知症<br>MAPT 変異を伴う FTLD  | 神経原線維変化型認知症<br>FTDP-17          |
| 4. タウあるいはユビキチン/P62 陽性封入体を伴わない前頭側頭葉の神経細胞脱落とグリオーシス                  | FTLD (あるいは DLDH)  | FTLD (あるいは DLDH)                |
| 5. TDP-43 proteinopathy   | MND を伴う FTLD-U (FTLD-U 1型-3型)<br>MND を伴わない FTLD-U (FTLD-U 1型-3型)<br>PGRN 変異を伴う FTLD-U (FTLD-U 3型)<br>VCP 変異を伴う FTLD-U (FTLD-U 4型)<br>9 番染色体に連鎖する FTLD-U (FTLD-U 2型) | MND を伴う FTLD<br>MND を伴わない FTLD  |
| 6. ユビキチン/P62 陽性, TDP-43 およびタウ陽性封入体を伴う前頭側頭葉の神経細胞脱落とグリオーシス          | CHMP2B 変異を伴う FTLD-U<br>好塩基性封入体病 (BIBD)  |                                 |
| 7. ユビキチン/P62 および $\alpha$ -internexin 陽性封入体を伴う前頭側頭葉の神経細胞脱落とグリオーシス | 神経細胞性中間径フィラメント封入体病 (NIFID)  |                                 |

FTDP-17, frontotemporal dementia and parkinsonism linked to chromosome 17 (第17番染色体に連鎖しパーキンソニズムを伴う前頭側頭型認知症); MAPT, microtubule-associated protein tau gene; DLDH, dementia lacking distinctive histology; MND, motor neuron disease (運動ニューロン疾患); FTLD-U, frontotemporal lobar degeneration with ubiquitinated inclusions (ユビキチン陽性封入体を伴う前頭側頭葉変性症); PGRN, progranulin gene; VCP, valosin-containing protein gene; CHMP2B, charged multivesicular body protein 2B gene あるいは chromatin modifying protein 2B gene  
BIBD, basophilic inclusion body disease; NIFID, neuronal intermediate filament inclusion disease

の患者脳における TDP-43 の蓄積を同定した際、蓄積した TDP-43 が異常なリン酸化を受けていることを見出した。これまでのタウや  $\alpha$ -シヌクレインの研究の経験からも TDP-43 のリン酸化が病態に重要な役割を果たしていると考えられたので、次にそのリン酸化部位の同定を試みた。

ヒト TDP-43 上に 56ヶ所存在する Serine (Ser)/Threonine (Thr) 部位から 36ヶ所を選び、各々のリン酸化ペプチドを合成してウサギに免疫したところ、免疫組織化学染色上、異常構造を認識する抗体がいくつか得られた。この

うち、409番目と410番目の2ヶ所のSerをリン酸化したペプチドに対する抗体 (pS409/410) の反応性が最も強かった。この抗体は、FTLD-U および ALS にこれまで報告されている全ての TDP-43 陽性構造を染色した。すなわち、大脳皮質の神経細胞質内封入体 (neuronal cytoplasmic inclusions: NCIs), 変性神経突起 (dystrophic neurites: DNs), 神経細胞核内封入体 (neuronal intranuclear inclusions: NIIs) や脊髄の skein-like inclusions, round inclusions, glial inclusions などである。現在最もよく用いられている市販のリン酸化非依存性抗

表2. TDP-43 陽性構造の出現パターンによるFTLD-Uの病理分類と臨床病型との対応

| 病型  | 主な TDP-43 陽性構造 | 主な臨床病型  |
|-----|----------------|---------|
| 1 型 | DN             | SD      |
| 2 型 | NCI            | FTD-MND |
| 3 型 | NCI, DN, NII   | PA, FTD |
| 4 型 | NII, DN        | IBMPFD  |

DN, dystrophic neurites (変性神経突起); NCI, neuronal cytoplasmic inclusions (神経細胞質内封入体); NII, neuronal intranuclear inclusions (神経細胞核内封入体); SD, semantic dementia (意味性認知症); FTD-MND, frontotemporal dementia with motor neuron disease (運動ニューロン疾患を伴う前頭側頭型認知症); PA, progressive non-fluent aphasia (進行性非流暢性失語); FTD, frontotemporal dementia (前頭側頭型認知症); IBMPFD, inclusion body myopathy associated with Paget disease of bone and frontotemporal dementia (骨パジェット病と前頭側頭型認知症を伴う遺伝性封入体筋炎)

TDP-43 抗体 (ProteinTech) による染色と比較すると、市販の抗体が正常の核も染色するためしばしば異常構造の同定が困難であるのに対し (図 1-A, B), pS409/410 は異常構造のみを認識し、その染色性も市販の抗体より強かった (図 1-C, D)。同様に、サルコシル不溶性画分の Western blot の結果を比較すると、市販の抗体は、正常例でも FTLD-U 例でも 43 kDa のバンドを認識し、FTLD-U にのみ 45 kDa のバンドを検出するが (図 1-E), pS409/410 は、正常例では何も検出せず、FTLD-U 例にのみ 45 kDa のバンド、~25 kDa のバンド、スメアを検出した。これらの反応は脱リン酸化処理により消失することから、pS409/410 抗体は異常リン酸化した TDP-43 のみを認識している (図 1-F)。この検討により新たに分かったことは、リン酸化して蓄積している TDP-43 は、全長 (45 kDa) のものよりもその C 末側断片 (~25 kDa) の方が圧倒的に多いことである。

この C 末側断片に着目し、ゲルの組成を変えて詳しく調べると、さらに興味深いことが判明した。それは、断片のバンドパターンが上記の FTLD-U の病理型 (1 型~3 型) によって異なるということである (図 2-A, B)。Sampathu らにより作製された 1 型と 2 型の病理構造を各々特異的に認識するモノクローナル抗体は、両型の不溶性画分の Western blot でも各々異なった分子量の TDP-43 の C 末側断片を認識することがすでに報告されており (Neumann et al., 2006; Sampathu et al., 2006)、筆者らの結果も基本的にそれを支持するものであるが、さらに筆者らは、3 型の TDP-43 断片のバンドパターンが 1 型と 2 型を併せたようなパターンをとることを明らかにした。これは 3 型の病理像が 1 型と 2 型の両方の特徴を併せもつことと対応していると思われる (図 2-C)。このような蓄積タンパクの C 末側断片のバンドパターンと病理像の対応関係については、以前筆者らが同じ 4 リピートタウが蓄積する疾患である皮質基底核変性症と進行性核上性麻痺に見出した結果 (Arai et al., 2004) と類似しており、きわめて興味深い。以上から、TDP-43 の Ser409/410 部位のリン酸化および TDP-43 の断片化は疾患の病理過程に重要な役割を果たしていると考えられた。

### 3. TDP-43 proteinopathy における TDP-43 の蓄積および神経変性の機序

TDP-43 の蓄積と神経変性に至るメカニズムを明らかにするため、これまで培養細胞を用いた検討がいくつか行われているが、未だ不明な点が多い。Zhang らは、PGRN の発現を siRNA によりノックダウンすると、カスパーゼの活性化とアポトーシスが起り、結果として TDP-43 の切断と TDP-43 断片の核から細胞質への移行が生じると報告したが (Zhang et al., 2007)、その後発表された Shankaran らの論

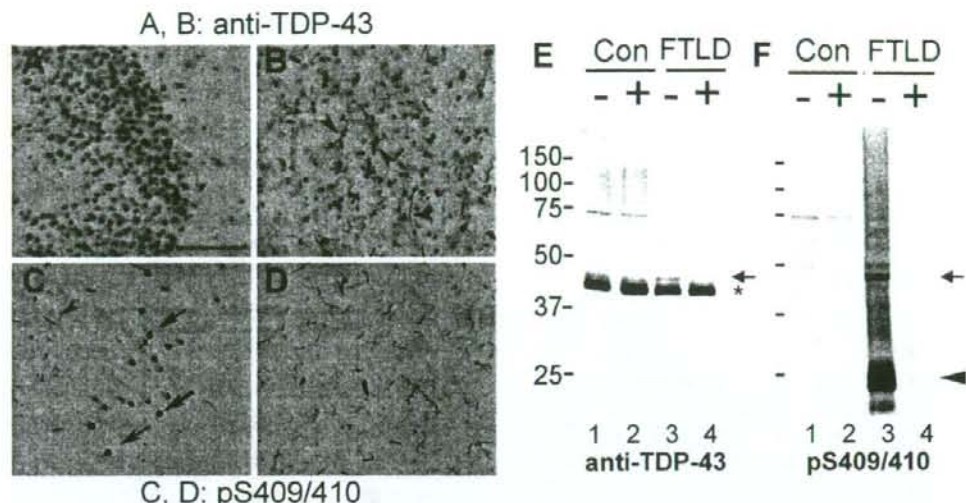


図 1. A-D: FTLD-U 例の海馬歯状回 (A, C) と側頭葉皮質 (B, D) の免疫組織化学染色。A, B が市販のリン酸化非依存性抗 TDP-43 抗体 (anti-TDP-43, ProteinTech), C, D がリン酸化 TDP-43 を特異的に認識する抗体 (pS409/410) による染色。海馬歯状回では、市販の抗 TDP-43 抗体は正常の核を染色するため神経細胞質内封入体 (neuronal cytoplasmic inclusions: NCIs) が分かりにくい (A), pS409/410 では核が染まらず、NCIs (矢印) と変性神経突起 (dystrophic neurites: DN) (矢頭) のみが染色される (C)。同様に側頭葉皮質においても、市販の抗体が核と DN を両方染色するのに対し (B), pS409/410 は DN のみを多数染色する (D)。E, F: サルコシル不溶性画分の Western blot。E. 市販の抗 TDP-43 抗体では、対照および FTLD-U ともに 43 kDa のバンド (\*印) が検出され (レーン 1-4), FTLD-U にのみ 45 kDa のバンドが検出される (レーン 3, 矢印)。このバンドは脱リン酸化処理により消失することから、異常リン酸化した TDP-43 である (レーン 4)。F. pS409/410 では、対照は陰性であり (レーン 1-2), FTLD では脱リン酸化処理をしない場合に 45 kDa のバンド (レーン 3, 矢印)、~25 kDa のバンド (レーン 3, 矢頭)、スメア状の染色が検出され、これらの反応は脱リン酸化により消失する (レーン 4)。

文ではこの結果は否定されている (Shankaran et al., 2007)。

一方、エンドソームの膜輸送に関するタンパク質複合体である ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) の発現を培養細胞において抑制すると、オートファジーによるタンパク質分解が阻害され、TDP-43 の細胞質内蓄積が生じることが報告されたことから (Filimonenko et al., 2007), タンパク質分解の障害と TDP-43 蓄積との関連性が注目されている。タンパク質分解との関連では、VCP は、小胞体関連タンパクのユビキチン・プロテアソーム系による分解に関与することが知られており (Wang et al., 2004), 変異によりこの

分解が阻害されることから (Weihl et al., 2006), ユビキチン・プロテアソーム系の障害と TDP-43 蓄積との関連も推測されている (Neumann et al., 2007)。

最近 Winton らは、TDP-43 proteinopathy に特徴的な病理像に類似の所見を示す細胞モデルについて報告した。彼らは、まず BHK21 細胞の温度感受性変異株 tsBN2 を用い、タンパク質の核移行阻害が生じるような温度条件で培養すると、核内 TDP-43 が消失し、細胞質に TDP-43 が顆粒状に蓄積することを見出した。次に、TDP-43 の核移行シグナルに相当する領域 (a.a 82-98) を欠失させた変異体を別の細胞に導入すると、予想通り変異型 TDP-43 が細胞質に蓄積