

## 筋萎縮性側索硬化症の筋病理所見の新しい展開

研究分担者： 和泉 唯信  
徳島大学大学院臨床神経科学分野

## 研究要旨

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の病態解明が進み、下位運動ニューロンの軸索や神経筋接合部といった末梢での病態機序が注目されている。本研究では、末梢での神経変性を評価するため筋内神経束における ALS 特異的な病理学的変化を明らかにすることを目的として、剖検および生検から得られた筋組織を免疫組織学的に解析した。剖検例では孤発性 ALS 全例で筋内神経束に neurofilament と共局在する pTDP-43 凝集を認めたが、非 ALS 剖検例では認めなかった。筋生検では、pTDP-43 陽性の筋内神経束を認めた 33 例全例が最終的に ALS と診断され、pTDP-43 陰性であった 38 例に ALS はいなかった。さらに、臨床診断基準を満たさない症例においても pTDP-43 陽性になるものを認めた。以上のことから、筋内神経束における pTDP-43 凝集は ALS の早期診断に寄与することが示され、末梢における pTDP-43 凝集は ALS の病態において重要な所見と考えられた。

## A. 研究目的

筋萎縮性側索硬化症（ALS）の診断基準の感度は改定ごとに改善されたが、possible ALS や下位運動ニューロン徴候のみの症例では、他の運動ニューロン疾患や封入体筋炎・Pompe 病のような筋疾患の鑑別が必要であることは現在も変わらない。一方、ALS 患者に用いられている、もしくは開発中の治療薬は、進行抑制は期待できるが改善までは期待できない。そのため、診断の遅れは ALS 患者の生命予後・機能予後に直結する重大な問題である。

近年、早期臨床徴候や検査異常が報告されている。これらの基盤となる病態は軸索と神経筋接合部の変性の関与も想定されているが、ALS 患者の末梢神経・筋での TDP-43 の役割は十分には解明されていない。ALS 患者骨格筋での組織病理所見の解明は、ALS の

診断における特異的検査所見としての生検病理診断法の確立に繋がると考えられる。そこで、ALS 患者骨格筋内軸索の病理像を検討した。

## B. 研究方法

孤発性 ALS (SALS) 剖検例 10 例、非 ALS 剖検例 12 例の筋組織を組織学的に比較した。さらに筋生検連続 450 例のうち、筋疾患と診断されず、遺伝学的にも家族性 ALS 原因遺伝子の variant を有さず、生検後 1 年以上経過をフォローアップされた症例の筋生検標本と病歴を比較検討した。骨格筋切片は VENTANA Benchmark GX で pTDP-43 の分布を免疫組織学的に検討するとともに、neurofilament との蛍光二重染色により TDP-43, pTDP-43, fused in sarcoma (FUS), p62, ubiquitin と軸索の関係を検討した。

## (倫理面への配慮)

国立病院機構呉医療センター倫理委員会の承認を受け、人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針に則り行っている。また、本研究対象者も含めた神経筋疾患患者への遺伝学的検査を実施するため、徳島大学、広島大学、国立病院機構呉医療センターの3施設の倫理審査委員会において、ヒトゲノム・遺伝子解析研究の承認を得ている。

## C. 研究結果

SALS 剖検例では全例で、各切片に含まれる神経束の6割程度で内部に pTDP-43 凝集を認めたが、非 ALS 剖検例では認めなかった。蛍光二重染色では TDP-43・pTDP-43 とともに neurofilament と共局在したが、FUS, p62, ubiquitin は共局在しなかった。

筋生検症例のうち対象となった114例では、33例が pTDP-43 陽性の筋内神経束を認め、38例には pTDP-43 陽性の筋内神経束はなく、43例は切片に筋内神経束を含んでいなかった。pTDP-43 陽性筋内神経束を認めた33例は全例が最終的に ALS と診断されたが、pTDP-43 陰性であった38例に ALS 例はいなかった。筋内神経束を確認できなかった43例では3例が ALS であった。また、最終的に ALS と診断された36例中、生検時に updated Awaji 診断基準を満たさない例は9例、Gold Coast 基準を満たさない例は3例であった。

## D. 考察

SALS の大多数は中枢神経での TDP-43 陽性封入体を病理学的特徴としている。既報告には筋線維に着目したものはあるが、筋組織内の軸索に着目したものはなかった。本研究

では pTDP-43 陽性の軸索が SALS 剖検症例全例で認められ、さらに SALS 剖検例の筋組織に含まれる筋内神経束は約6割が pTDP-43 陽性軸索を内部に含んでいた。さらに筋生検症例では pTDP-43 陽性筋内神経束を有する症例は全例が ALS であっただけでなく、筋生検時に updated Awaji 診断基準、Gold Coast 基準では ALS と診断することができない症状が限局された症例でも pTDP-43 陽性筋内神経束を有する症例は最終的に ALS と診断されていたことが特徴的であった。本研究の結果は、症状が限局され、診断基準上は ALS と診断できない病初期の症例においても特異的に診断できる可能性を示した。今後、さらに検討を重ねる必要がある。

## E. 結論

本研究から、Gold Coast 基準を満たさない症例においても筋生検所見で pTDP-43 陽性になるものを認め、ALS の早期診断に寄与することが示された。また、早期からの筋内神経束軸索の pTDP-43 凝集は ALS の病態において重要な所見であると考えられる。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Takashi Kurashige, Hiroyuki Morino, Tomomi Muraio, Yuishin Izumi, Tomohito Sugiura, Kazuya Kuraoka, Hideshi Kawakami, Tsuyoshi Torii, Hirofumi Maruyama. TDP-43 accumulations within intramuscular nerve bundles of patients with amyotrophic lateral sclerosis. *JAMA Neurology*. 2022;79(7):693-701. doi.org/10.1001/jamaneurol.2022.1113

## 2. 学会発表

Takashi Kurashige, Hiroyuki Morino, Tomomi Murao, Yuishin Izumi, Tomohito Sugiura, Kazuya Kuraoka, Hideshi Kawakami, Tsuyoshi Torii, Hirofumi Maruyama. TDP-43 accumulations within intramuscular nerve bundles of ALS patients. 口演発表. 33rd International International Symposium on ALS/MND. 2022 年 12 月 9 日

Takashi Kurashige, Hiroyuki Morino, Tomomi Murao, Yuishin Izumi, Tomohito Sugiura, Kazuya Kuraoka, Hideshi Kawakami, Tsuyoshi Torii, Hirofumi Maruyama. TDP43 accumulates in intramuscular nerve bundles of ALS patients. 口演発表. 27th International Congress of the World Muscle Society. 2022 年 10 月 13 日

倉重毅志, 森野豊之, 村尾智美, 和泉唯信, 杉浦智仁, 倉岡和矢, 川上秀史, 鳥居剛, 丸山博文. ALS 患者の筋内神経束での TDP-43 凝集. ポスター発表. 第 8 回日本筋学会学術集会. 2022 年 8 月 5 日

倉重毅志, 森野豊之, 村尾智美, 和泉唯信, 杉浦智仁, 倉岡和矢, 川上秀史, 鳥居剛, 丸山博文. ALS 患者の筋内神経束における TDP-43 凝集. 口演発表. 第 63 回日本神経学会学術大会. 2022 年 5 月 19 日

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む.)

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし