

## FTLD-TDP の生前病理診断法の開発

倉重毅志

独立行政法人 国立病院機構呉医療センター・中国がんセンター 臨床研究部

## 【研究の背景】

前頭側頭型認知症(FTD)は主として初老期に発症し、人格変化や行動障害、運動障害などの前頭葉障害である行動異常型 FTD (bvFTD)、失語症を主体とする側頭葉障害である原発性進行性失語症(PPA)を呈する緩徐進行性神経変性疾患である。病理学的には前頭葉や側頭葉に局限した神経細胞の脱落がみられ、残存神経細胞にはタウ蛋白や TDP-43、FUS などが異常に蓄積するが、その原因は未解明である。FTLD は tau 病理を有する FTLD-tau、TDP-43 関連病理を有する FTLD-TDP、tau/TDP-43 とも陰性である FTLD-FET、Ubiquitin 以外が陽性とならない FTLD-UPS に分類される。FTLD の診断にはアルツハイマー病などの除外が必須であるが、剖検病理所見を除き、FTD の明確な診断基準は無い。そのため、現在に至るまで FTLD の診断は困難なままであり、FTLD の治療開発の前段階として、FTLD 生前診断のための biomarker の開発が必須である。

FTLD-TDPと同じく TDP-43を hallmarkとする ALS(ALS-TDP)においても FTLD と同様に診断の困難さが継続している。しかし、申請者らは剖検症例筋組織・筋生検組織を検索し、ALS-TDP 患者の骨格筋に含まれる筋内神経束の軸索に病初期から TDP-43 (TAR DNA-binding protein of 43 kDa)凝集が出現することを見いだした(図 1) (Kurashige T, et al. JAMA Neurol. 2022)。この方法により見いだされた家族性 ALS-TDP 大家系を元に、眼咽頭遠位型ミオパチー(OPDM)の原因遺伝子として既に報告されていた LRP12 を新規の家族性 ALS の原因遺伝子として同定し、LRP12 の non-coding repeat expansion が ALS と OPDM の病態に関与することを証明した(Kume K, Kurashige T, et al. AJHG 2023)。

また、申請者らは optineurin (OPTN)を原因遺伝子とする常染色体劣性遺伝(AR)OPTN-ALS のモデルである OPTN-knock-out (KO)マウスを作成し、OPTN-KO マウスが AR-OPTN-ALS と同様に TDP-43 凝集や顆粒空胞変性(GVD)を呈するだけでなく、末梢神経の軸索障害も生じることを報告した(Kurashige T, et al. Neurobiol. Dis. 2021)。また、TDP-43 transgenic (tg)マウスと比較することで、OPTN-KO マウス、TDP-43-tg マウスでの前頭葉機能障害を示唆する行動異常を確認した (Maetani Y, Kurashige T, et al. Neurosci Res 2025)。

申請者は、これまでの結果から、少なくとも FTLD-TDP や ALS-TDP の生検病理診断は可能であり、TDP-43 が mRNA や ribosome などの順行性軸索輸送に必須であることから、軸索での TDP-43 凝集により、軸索の末端側から逆行性に軸索の変性を生じると推定している(図 2)。そのため、軸索の病態を緩和する治療薬が FTLD-TDP の症状を緩和すると推定している。一方で、①筋生検標本内に筋内神経束が必ずしも含まれている

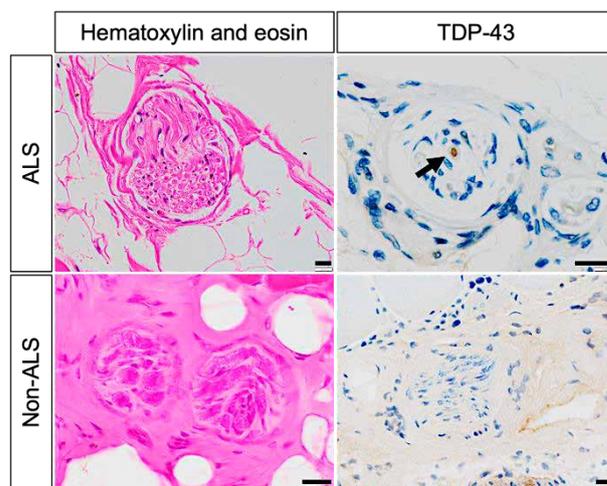


図 1 筋内神経束での TDP-43 凝集

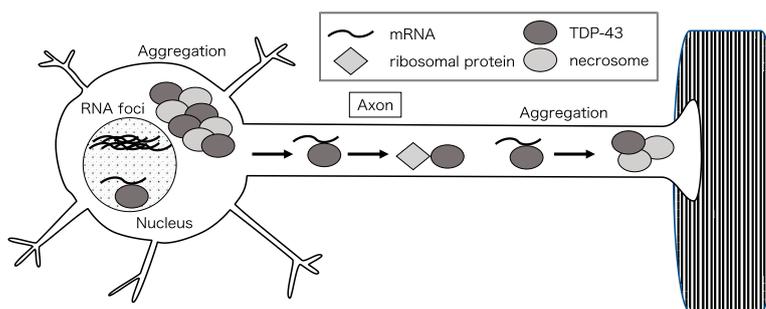


図 2 TDP-43 の機能と異常凝集

とは限らない、②通常は凍結標本を使用するため TDP-43 の検索条件設定がパラフィン切片よりも難しい、という技術的な問題に加え、③筋生検の侵襲性は FTD 患者に許容されるか、などの解決すべき問題が存在する。そのため、FTLD-TDP の診断バイオマーカーを見いだすためには、

- ① 筋内神経束以外での特異的な TDP-43 凝集の検出が必要であり、さらに、治療開発のためには、
- ② TDP-43 凝集と軸索病態の解明の 2 点を基軸とした解析が必要である。

## 【目 的】

本研究では FTLD-TDP の生前診断に必要なバイオマーカーを導出することを目的とする。

## 【方 法】

本研究では、これまでの研究に伴い、FTLD-TDP 患者組織において軸索障害の病態病理を解明するために呉医療センター・中国がんセンターおよび愛知医科大学加齢医科学研究所ブレインバンクの生検・剖検病理組織を FTLD-TDP、ALS-TDP およびそれ以外に分け、以下のように解析することを予定した。

- ① 剖検例病理組織標本を用いた解析
  - 1) 神経軸索の観察: 中枢神経および末梢臓器(骨格筋含む)の凍結切片・epon 切片で神経軸索・神経束を形態学的に検索し、中枢神経病理所見を元に症例をグループ化して比較検討。
  - 2) 高感度検出法の導入: 筋内神経束の病理所見を元に、Proximity Ligation Assay (PLA 法) で TDP-43 と ribosome や mRNA の関係を検索し、軸索の病理との関連を検討。
- ② 生検例骨格筋
 

神経軸索の観察: 中枢神経および末梢臓器(骨格筋含む)の凍結切片・epon 切片で神経軸索・神経束を形態学的に検索し、中枢神経病理所見を元に症例をグループ化して比較検討。

  - 1) 高感度検出法の導入: 筋内神経束の病理所見を元に、Proximity Ligation Assay (PLA 法) で TDP-43 と ribosome や mRNA の関係を検索し、軸索の病理との関連を検討。
- ③ 骨格筋以外の生検組織での解析
 

皮膚・消化管といった末梢神経を含む生検組織での病理組織学的検討を行い、TDP-43 凝集を筋生検よりも容易に評価できる可能性を探る。

以上のようなプロセスにより、FTLD-TDP 患者剖検・生検組織で神経軸索の病態の容易な可視化を目指すとともに、TDP-43 の発現と軸索の病態との関連を ALS-TDP と比較検討した。

抗体は TDP-43、リン酸化 TDP-43 (pTDP-43) 抗体を用いた

## 【結 果】

- ① 剖検例病理組織標本を用いた解析
 

まず、筋内神経束での TDP-43 陽性像が ALS-TDP の中枢神経病理を反映するものかどうかを確認するため、人工呼吸器未使用の ALS 剖検例 11 例、非 ALS 剖検例 12 例で舌・横隔膜・上腕二頭筋・腸腰筋と舌下神経核・脊髄 C4 前角・脊髄 C6 前角・腰髄 L2 前角で病理学的所見の比較を行った。舌と舌下神経核、腸腰筋と腰髄 L2 では pTDP-43 陽性筋内神経束の割合と残存神経細胞数に負の相関関係があることが明らかになった、また、横隔膜と頸髄 C4 では pTDP-43 陽性筋内神経束の割合と残存している前角運動ニューロンの細胞質内封入体の割合に正の相関関係があるが、残存細胞数には症例ごとの差が無いことから、細胞数が一定のレベルまで減少すると呼吸不全を生じることを明らかにし(図 3)、申請者はこの

結果を論文化した(Kurashige T, et al. Neuropathol Appl Neurobiol 2025)。

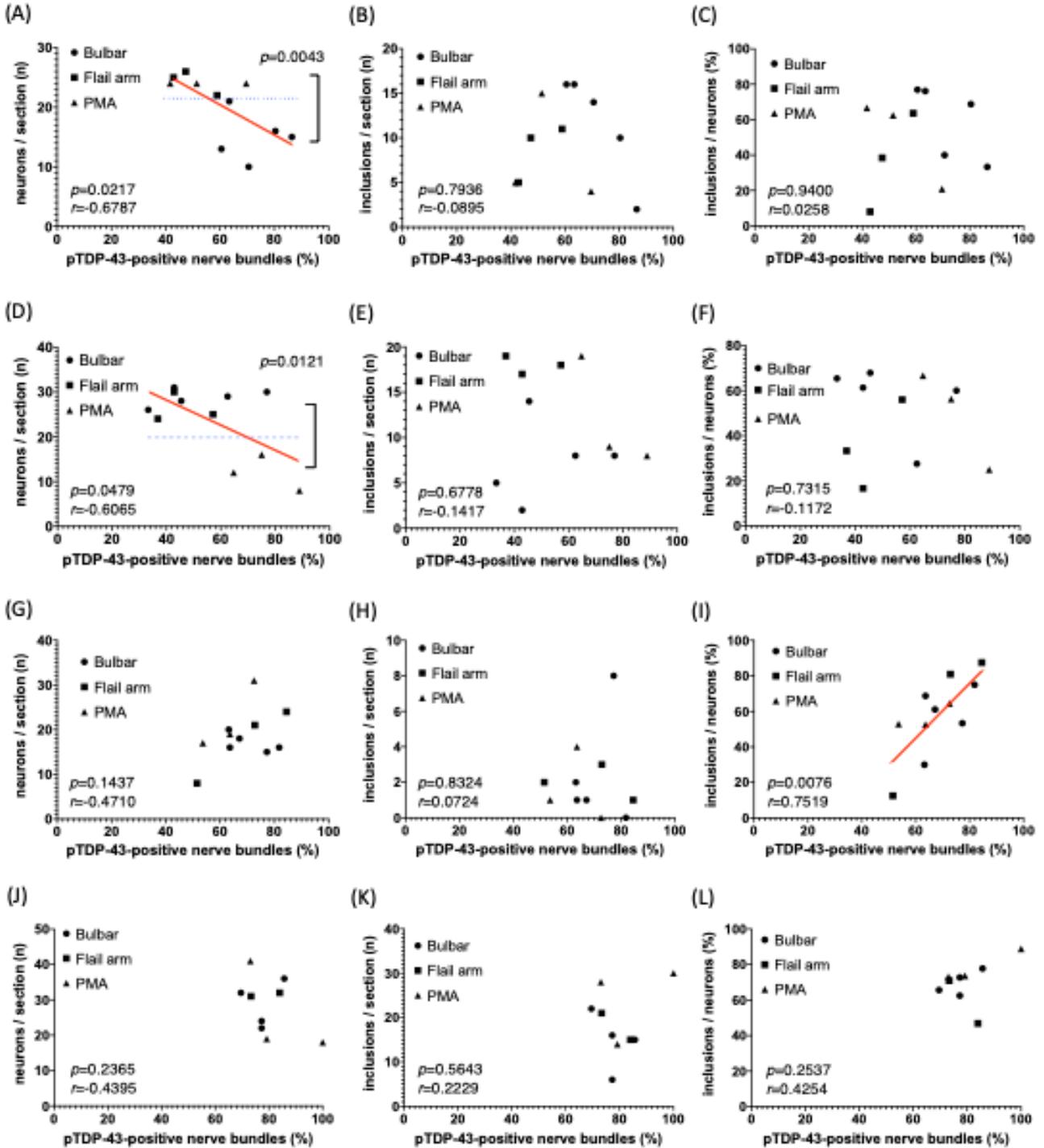


図3 剖検例での pTDP-43 陽性筋内神経束の割合と中枢神経病理の関連。A-C. 舌・舌下神経核、D-F. 腸腰筋・腰髄 L2. G-I. 横隔膜・頸髄 C4. J-L. 上腕二頭筋・頸髄 C6. 舌・舌下神経核および腸腰筋・腰髄 L2 の間では、pTDP-43 陽性筋内神経束の割合と残存神経細胞数の間に負の相関関係が確認される。軸索に異常所見なく、TDP-43 陽性像はない。

次に、末梢臓器の神経軸索の観察を行うために、神経軸索・神経束を形態学的に検索し、中枢神経病理所見を元に症例をグループ化して比較検討した。

まず、骨格筋以外の末梢臓器を検索可能な ALS 剖検例 6 例では、以前の報告と同様に perimysium に pTDP-43 陽性神経束を全例で認めた。一方、非 ALS 群で骨格筋を検索された 7 例では pTDP-43 陽性神経束は認めなかった。さらに、ALS 群の皮膚組織では真皮・皮下脂肪組織に pTDP-43 陽性神経束を全例で認めたが、非 ALS 群で皮膚を検索された 7 例で

は pTDP-43 陽性神経束は認めなかった。また、表皮細胞および上皮細胞(汗腺、毛根)では ALS・非 ALS とも pTDP-43 陽性像を認めた。

この結果を踏まえ、FTLD-TDP 剖検例 3 例の骨格筋・皮膚を検索したところ、FTLD-TDP 例ではいずれの症例も約 6 割の神経束に ALS-TDP と同様の pTDP-43 陽性軸索を観察できた(図 4)。

次に生検例の骨格筋・皮膚の検索を実施した。通常型の ALS として発症した ALS-TDP 症例 10 例では、骨格筋・皮膚とも神経束に TDP-43 陽性軸索を観察した。さらに、FTD として発症した症例のうち 2 例の骨格筋、4 例の皮膚を観察したところ、いずれも TDP-43 陽性軸索を含む神経束が観察された。

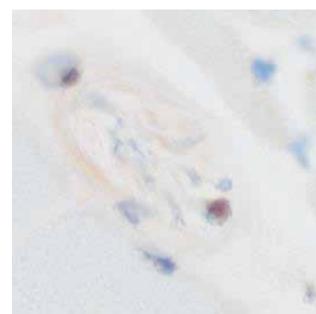


図 4 FTLD-TDP 神経束での pTDP-43 凝集

## 【考 察】

本研究は、FTD の臨床症候群診断(bvFTD/PPA)と、病理学的実体である FTLD サブタイプ (FTLD-TDP/FTLD-tau 等)との間に存在する“生前診断のギャップ”を、末梢組織における TDP-43 病理の可視化により埋めることを目指すものである。ALS-TDP では、筋内神経束の軸索に病初期から TDP-43 凝集が出現し、中枢運動ニューロン病理と関連することを見いだしてきた。今回、ALS 剖検例で骨格筋に加え皮膚の真皮・皮下脂肪組織の神経束にも pTDP-43 陽性軸索を一貫して認め、非 ALS では神経束陽性像を認めないことを確認した。一方で表皮や汗腺・毛根など上皮系では ALS/非 ALS とも pTDP-43 陽性像がみられ、診断標的は上皮ではなく“神経束内軸索”に厳密に限定すべきことが明確になった。

この所見を踏まえ FTLD-TDP 剖検例の骨格筋・皮膚を検討したところ、いずれも ALS-TDP と同様の pTDP-43 陽性軸索を末梢神経束で高率に観察できた。さらに生検例でも、通常型 ALS-TDP では骨格筋・皮膚の神経束に TDP-43 陽性軸索を認め、FTD として発症した症例でも骨格筋および皮膚で同様の所見が得られた。これらは、FTLD-TDP においても末梢神経軸索に TDP-43 病理が出現し得ること、および末梢軸索病変が中枢病理の反映となる可能性を示唆する。TDP-43 は mRNA や ribosome 等の軸索輸送に関与するため、軸索内での凝集が末端側からの軸索変性を誘導し、逆行性に神経細胞体の病態へ波及するという仮説とも整合的である。

一方で、本手法を FTLD-TDP の生前診断へ実装するには、(1)FTLD-tau や AD、DLB 等を含む対照群に対する特異性の検証、(2)病期・罹病期間に応じた感度の評価、(3)神経束同定、判定閾値(陽性束割合)や読影一致率を含む標準化が不可欠である。また、凍結切片での抗体条件設定の課題に対し、epon 切片での形態学的評価や PLA 等高感度法を導入し、TDP-43 と mRNA/ribosome の近接性を指標化することで、病変の“見える化”と定量性を高める必要がある。本研究のプロセスは、末梢組織での TDP-43 病理を軸として、FTLD-TDP と ALS-TDP を比較しつつ軸索病態を統合的に理解し、診断・治療標的の両面から FTD 研究を前進させる基盤となると考えている。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

FTD は初老期に発症し、社会生活・就労に重大な影響を及ぼす一方、生前に病理サブタイプ (FTLD-TDP/FTLD-tau 等)を確定しにくいことが、診断の不確実性と治療開発停滞の主要因となっている。現状、剖検病理を除けば FTLD を明確に分類する診断基準は乏しく、臨床現場では“AD の除外”に留まる場面も少なくない。本研究が提案する末梢神経束における pTDP-43 陽性軸索病変は、FTD を臨床症候群として捉える段階から、TDP-43 proteinopathy として病理学的に近接させる生前バイオマーカー候補であり、臨床的意義が大きい。

とくに皮膚組織は、筋生検に比べ侵襲性が低く、採取の受容性が高い。FTD 患者では侵襲的検査の実施が制限されやすいが、皮膚生検で“真皮～皮下脂肪の神経束内軸索”を標的にすれば、筋内神経束が標本に含まれないという偶然性を減らし、反復検査や多施設展開も現実的となる。さらに、表皮・付属器上皮の pTDP-43 陽性像は疾患特異性を欠く可能性が示されたため、診断の場では上皮所見を除外し、神経束内軸索に限定した判定基準を設けることで偽陽性を抑えられる。このように、“どこを見るか”が明確な組織バイオマーカーは、病理診断の標準化・均てん化に資する。

本バイオマーカーが確立すれば、(1)FTD 疑い症例における FTLD-TDP の病理推定、(2)臨床試験における TDP 標的治療の適格患者選択(コンパニオン診断)、(3)治療介入前後の病理負荷や軸索障害のモニタリングという三つの臨床実装

が期待できる。加えて、PLA 等を用いて TDP-43 と mRNA/ribosome の関係を定量化できれば、単なる陽性/陰性判定に留まらず、軸索病態の程度を指標化でき、病勢評価や薬効評価の客観性を高められる。

以上より、本研究は FTD 診断における“生前病理同定”という未充足ニーズに対し、末梢神経軸索を基盤とする実装可能な解決策を提示し、FTLD-TDP の早期診断、適切な予後説明・ケア計画、さらには疾患修飾療法時代に向けた個別化医療の基盤形成に貢献すると考えており、今後、実装に向けて症例数を積み重ねていく意義があると考ええる。

#### 【参考・引用文献】

1. **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.
2. Kodai Kume\*, **Takashi Kurashige\***, Keiko Muguruma\*(O), Hiroyuki Morino, Yui Tada, Mai Kikumoto, Tatsuo Miyamoto, Silvia Natsuko Akutsu, Yukiko Matsuda, Shinya Matsuura, Masahiro Nakamori, Ayumi Nishiyama, Rumiko Izumi, Tetsuya Niihori, Masashi Ogasawara, Nobuyuki Eura, Tamaki Kato, Mamoru Yokomura, Yoshiaki Nakayama, Hidefumi Ito, Masataka Nakamura, Kayoko Saito, Yuichi Riku, Yasushi Iwasaki, Hirofumi Maruyama, Yoko Aoki, Ichizo Nishino, Yuishin Izumi, Masashi Aoki, Hideshi Kawakami. CGG repeat expansion in LRP12 in amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Hum Genet* 2023; 110: 1086-1097.
3. **Takashi Kurashige**, Masahito Kuramochi, Ryosuke Ohsawa, Yui Yamashita, Go Shioi, Hiroyuki Morino, Masaki Kamada, Takashi Ayaki, Hidefumi Ito, Yusuke Sotomaru, Hirofumi Maruyama, Hideshi Kawakami. Optineurin defects cause TDP43-pathology with autophagic vacuolar formation. *Neurobiol Dis* 2021; 148: 105215.
4. Yuta Maetani, **Takashi Kurashige**, Yui Tada, Kodai Kume, Tomoaki Watanabe, Yusuke Sotomaru, Koji Yamanaka, Hirofumi Maruyama, Hideshi Kawakami. Optineurin knock-out forms TDP-43 aggregates to regulate TDP-43 protein levels despite autophagic up-regulation and aberrant TDP-43 expression. *Neuroscience Research* 2025; 216: 104893.
5. **Takashi Kurashige**, Tomomi Muraio, Yuhei Kanaya, Yoriko Dodo, Tomohito Sugiura, Kazuya Kuraoka, Tomohiko Ohshita. Intramuscular nerve bundles reflect TDP-43 pathology in the medulla and spinal cord of ALS patients. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 2025; 51: e70016.