

孤発性 ALS の病原蛋白質 TDP-43 の発症機構の解明

《研究対象者》

1982年1月4日から2018年3月31日までの間に、滋賀医科大学病理学教室で剖検され筋萎縮性側索硬化症（ALS）あるいは前頭側頭葉変性症と病理診断された症例および非神経疾患例の脳標本と脊髄標本

研究協力をお願い

神経難病研究センターでは「孤発性 ALS の病原蛋白質 TDP-43 の発症機構の解明」という研究を行います。この研究は、1982年1月4日から2018年3月31日までの間に、滋賀医科大学病理学教室で剖検され、病理学教室やブレインバンクに登録された筋萎縮性側索硬化症（ALS）あるいは前頭側頭葉変性症、アルツハイマー病、パーキンソン病と病理診断された症例および非神経疾患例の脳標本と脊髄標本と病理診断された剖検脳を調査する研究で、研究目的や研究方法は以下の通りです。直接のご同意はいただく前に、この掲示などによるお知らせをもって公開致します。研究対象となる患者さんのご遺族の方におかれましては研究の主旨をご理解いただき、本研究へのご協力を賜りますようお願い申し上げます。この研究へのご参加を希望されない場合、途中からご参加取りやめを希望される場合、また、研究に関するご質問は下記の問い合わせ先へご連絡下さい。

（1）研究の概要について

研究課題名：孤発性 ALS の病原蛋白質 TDP-43 の発症機構の解明

研究期間：倫理委員会承認（2018年10月29日）～2022年3月31日

実施責任者：滋賀医科大学神経難病研究センター 教授 遠山 育夫

（2）研究の意義、目的について

《研究の意義、目的》

筋萎縮性側索硬化症（ALS）は、中年期に発症し、徐々に運動神経が脱落して全身の筋肉が萎縮する原因不明の神経変性疾患で、神経難病の中でも、最も過酷な難病と言われ、その原因究明と治療の開発が強く望まれています。ALSの大部分を占める孤発性 ALS では、その病巣部で本来核に局在する RNA 結合蛋白質 TAR-DNA binding protein of 43KDa (TDP-43) が、細胞質で異所性に凝集体を形成していることが観察されます。培養細胞や遺伝子改変マウスの実験から、TDP-43 の核からの消失に伴う機能不全 (loss-of function) 及び封入体形成に基づく毒性 (gain-of function) が、孤発性 ALS の発症及び進行に重要な役割を担っている事が明らかとなっています。しかしながら、なぜこのような TDP-43 凝集体が異所性に形成されて神経毒性を示すのか、その詳細なメカニズムは不明です。

当センターの守村助教は、TDP-43 の遺伝子ノックダウン (TDP-43KD) を行った HEK293A 細胞を用いた解析から、TDP-43KD により mRNA および蛋白質の発現レベルが変化する遺伝子群、TDP-43 regulated genes (TRGs、仮称) を同定しました。TRGs は TDP-43 により強く発現制御を受けることから、ALS の発症に深く関わっていることが推測されます。しかし、実際にヒトの脳内に存在するのか、存在するとすればどの細胞に存在するのか、そして ALS ではどのように変化しているのか、ヒト病理組織を用いて明らかにする必要があります。本研究では、TDP43 が蓄積する ALS や前頭側頭葉変性症と病理診断された症例および非神経疾患例の脳標本と脊髄標本を比較しながら、TRGs の変化を探り、TDP-43 の病的意義を解明する目的で実施します。

（3）研究の方法について

《研究の方法》

本学病理学教室、解剖センターに保管されている剖検脳および脊髄標本を連結可能匿名化して使用しま

す。具体的には、解剖センターとヒューマンサンプル室に保存されているホルマリン固定標本、ホルマリン固定パラフィン包埋標本、凍結サンプルの既存試料を対象とします。本学で保管されている ALS および TDP-43 蓄積を伴う前頭側頭葉変性症 6 例、アルツハイマー病やパーキンソン病など TDP-43 病理伴わない神経変性疾患例 6 例、および非神経疾患対照例 6 例を用います。剖検脳や脊髄からパラフィン切片あるいはクリオスタット標本を作製して、神経病理学的染色を行う（HE 染色、鍍銀染色、鉄染色等）。TDP-43 や TRGs の局在や発現を免疫組織化学法、レーザーマイクロダイセクションと qPCR を組み合わせた標的細胞における遺伝子発現の定量的解析、ウエスタンブロット法にて検索し、ALS あるいは前頭側頭葉変性症と、TDP-43 病理伴わない神経変性疾患例、非神経疾患対照例の間での、局在や発現の違いを比較します。局在を詳細に検討するため、ニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ミクログリアなどの細胞マーカーやチロシン水酸化酵素などの神経伝達物質マーカーとの免疫二重染色やミラー切片での免疫染色を行います。さらに α シニクレインやタウ、リン酸化タウ、 β アミロイドなどの神経難病原因蛋白の免疫染色やミトコンドリアマーカー、酸化ストレスマーカー、ミトファジーマーカーとの免疫二重染色やミラー切片での免疫染色を行います。これらを通して、ヒト脳・脊髄における TRGs と TDP-43 の局在を明らかにするとともに、ALS あるいは前頭側頭葉変性症での変化を明らかにします。

(4) 予測される結果（利益・不利益）について

ALS や前頭側頭型認知症（TDP43 タイプ）の発症に重要な役割を果たすと考えられている TDP-43 やその発現を制御する TRGs の脳内局在や発現量の変化を明らかにすることができ、学術的な意義が大きく、医学の発展に貢献できます。ALS は神経難病の中でも、最も過酷な難病と言われ、その原因究明と治療の開発は急務です。本研究の成果は、TDP-43 を標的にした ALS の治療法開発において、基礎的なデータを提供できます。本研究の達成により、ALS の原因究明が進み、治療法の開発へと道をひらくことができれば、患者さんやご家族への貢献できると考えます。また、神経難病発症に関わる基盤研究として関連疾患に関わる病態の理解と治療法の確立を進める事が期待できます。尚、参加頂いた場合の利益・不利益はありません。

(5) 個人情報保護について

本研究では、サンプルの識別情報として、対応表に基づく連結可能匿名化された番号を用います。対応表は病理学講座が鍵のかかるロッカーに保存し、ブレインバンクには匿名番号、年齢、性別、病理診断、死後時間のみが送られてきます。これらの情報は、ブレインバンク事務局の個人情報保護管理者（柳沢大治郎准教授）の管理の下で、個人情報保護管理補助者（遠山育夫）が紙媒体で管理します。紙媒体の資料は、個人情報保護管理補助者（遠山育夫）が、滋賀医科大学神経難病研究センター教授室内の鍵のかかるロッカーに保管します。解析結果は原則として研究目的以外は使用しません。研究発表、論文等には、個人が特定できないように行います。研究終了後、個人情報に関わる情報については、記録データを消去し、記録文書、メモ類は全てシュレッダー等で粉碎処理します。解析結果は原則として研究目的以外は使用しません。研究発表、論文等には、個人が特定できないように行います。

(5) - (1) 試料・情報は、上記（1）、（2）、（3）の目的と方法によって使用します。

(5) - (2) 試料・個人情報は、他機関に提供しません。

(5) - (3) 試料を利用するのは、以下の研究代表者と研究分担者です。

研究代表者

神経難病研究センター・神経診断治療学部門 教授 遠山 育夫 内線 2330

分担研究者

神経難病研究センター・神経診断治療学部門 助教 守村 敏史 内線 2331

神経難病研究センター・神経診断治療学部門	特任助教	加藤 智子	内線 2331
神経難病研究センター・神経診断治療学部門	准教授	柳沢 大治郎	内線 2331
生化学・分子生物学講座・再生・修復医学部門	准教授	寺島 智也	内線 2205
内科学講座（神経内科）	教授	漆谷 真	内線 2928
病理学講座	教授	杉原洋行	内線 2166
神経難病研究センター・神経診断治療学部門	研究医	景山 裕介	内線 2331

(5)-(4) 試料・情報を管理する責任者は、下記の研究代表者です。

滋賀医科大学神経難病研究センター 教授 遠山 育夫

(5)-(5) 研究対象者のご遺族の求めがあれば、試料・情報を研究に使用しません。

(5)-(6) 使用停止を求められる場合には、2020年3月31日までに、下記(8)の問い合わせ先に、メールないしお電話でご連絡下さい。

(6) 研究計画書等の入手又は閲覧

本研究の対象となる方は、希望される場合には、他の研究対象者等の個人情報及び知的財産の保護等に支障がない範囲内で本研究に関する研究計画書等の資料を入手・閲覧することができます。

(7) 研究成果の公表について

この研究成果は学会発表、学術雑誌およびデータベースなどで公表します。

(8) 問い合わせ等の連絡先

研究全般に関する問合せ窓口

滋賀医科大学神経難病研究センター 助教 守村 俊史

住所：滋賀県大津市瀬田月輪町

電話番号： 077-548-2331 メールアドレス： morimura@belle.shiga-med.ac.jp

プライバシーポリシーに関する問合せ窓口

滋賀医科大学神経難病研究センター 教授 遠山育夫

住所：滋賀県大津市瀬田月輪町

電話番号： 077-548-2330 メールアドレス： kinchan@belle.shiga-med.ac.jp