The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	神経原線維変化の構成蛋白に関する研究
Author(s)	多田, 國利
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33818
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【10】

氏名・（本籍）	多田國利（ただくにとし）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6088 号
学位授与の日付	昭和58年5月11日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**神経原線維変化の構成蛋白に関する研究**
論文審査委員	（主査）教授 西村 健 （副査）教授 橋本 一成　教授 垣内 史朗

論文内容の要旨

（目　的）

アルツハイマー病及びアルツハイマー型老年痴呆では重篤な痴呆症状とともに，神経病理学的に高度の老人性変化が認められる。中でも神経原線維変化は，これら疾患の症状発現に最も関係の深い病理学的変化の1つといえる。本研究は，神経細胞体内に増生し80nmごとにくびれをもつ特徴的な線維構造 — いわゆるねじれ細管からなる神経原線維変化と，軸索突起内に増生し神経細線維様線維構造からなる神経原線維変化をそれぞれ別個に分離し，それらの構成蛋白を明らかにし，神経原線維変化の形成機序を解明する手掛りを得ることを目的としている。

（方法ならびに成績）

1）軸索突起内の神経原線維変化（A−NFC）の分離精製：アルツハイマー病（AD）あるいはアルツハイマー型老年痴呆（SDAT）の患者剖検脳の前頭葉白質の水不溶性画分から，蔗糖密度勾配法でまずミエリン画分を分離し，さらに分画遠沈を反復すると，蔗糖濃度1.6M−2.0M中間層に細かい線維状の画分（A−NFC画分）が得られる。電顕で観察すると，この画分は径約10nmの神経細線維（neuro−filament）様の細線維から成っている。この画分は痴呆脳からは多量に得られるのに対して，対照脳からは痕跡程度にしか得られない。従って，A−NFC画分はADやSDATの患者脳の軸索突起内に増生した神経細線維様線維構造を高純度に集めたものと考えた。

2）神経細胞体内の神経原線維変化（B−NFC）の分離精製：ADあるいはSDATの患者脳灰白質の水不溶性画分を蔗糖密度勾配法で繰り返し分画遠沈すると，蔗糖濃度1.8M−2.0M中間層にB−NFCに富む画分が得られる。電子顕微鏡下に，この画分が主としてねじれ細管から成ることを確認した。こ

の画分から，更にB−NFC を単離するために，蛍光顕微鏡下に thioflavin −Sで標識した個個の B −NFCをマイクロマニプレーターを用いて採集し，極めて純度の高いB−NFC 試料を得た。

3）A−NFC の構成蛋白の分析と同定：A− NFC画分をSDS 4／30 濃度勾配ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）に供すると，5本の主バンドに分離された。これらのバンドを便宜上陰極側からa，b，c，d，e と名づけ，各々の分子量をその泳動距離から概算すると，a：54,000，b：41,000，c：36,000，d：32,000，e：30,000 であった。バンドa の移動度はチューブリンに等しく，バンドb のそれはアクチンに等しかった。各バンド蛋白を泳動ゲルから抽出し，それらの蛋白と各種線維性蛋白の抗血清との間で，1％寒天ゲルを用いて免疫拡散法を行ない，各バンド蛋白の同定を試みた。その結果，バンドa はチューブリンと，バンドb はアクチンと，バンドc は一部の神経細線維蛋白（160 K）と，バンドe はグリア線維酸性蛋白とそれぞれ同じ抗原性をもつ蛋白であることが明らかとなった。

4）B−NFC 構成蛋白の分析と同定：B−NFC をSDS 4／30濃度勾配PAGEに供すると，3本の主バンドに分離された。これらのバンドを便宜上陰極側からf，g，h と名づけた。各蛋白の分子量を泳動距離から概算すると，f：62,000，g：59,000，h：54,000であった。泳動パタンからみると，バンドh の移動度はA−NFC 画分を構成するバンドa およびチューブリンの移動度に一致した。B−NFC を豊富に含む画分から SDS 4／30 濃度勾配PAGEによってf，g，h 蛋白を分離し，これらについて，免疫拡散法により，構成蛋白の同定を行なった。その結果，バンドf，g は共に一部の神経細線維蛋白（200K）と，バンドh はチューブリンとそれぞれ同じ抗原性をもつ蛋白であることが明らかとなった。

（総　括）

1）アルツハイマー病及びアルツハイマー型老年痴呆の患者剖検脳から神経細胞の軸索突起内に増生する神経原線維変化（A−NFC）と神経細胞体内に増生する神経原線維変化（B−NFC）を蔗糖密度勾配法およびマイクロマニプレーターによって分離精製する方法を考案した。

2）SDS 4／30 濃度勾配ポリアクリルアミドゲル電気泳動で，A−NFC 画分は分子量54,000，41,000，36,000，32,000，30,000 の5本のバンドに分離され，B−NFC は分子量 62,000，59,000，54,000の3本のバンドに分離された。

3）免疫拡散法により，A−NFCはチューブリン及び神経細線維蛋白（160 K）から成り，アクチンが含まれている可能性もあること，B−NFC はチューブリンと神経細線維蛋白（200 K）で構成されていることが示された。

4）以上のことから，従来考えられていたように神経原線維変化は単一の線維性蛋白によって形成されているのではなく，チューブリンおよび神経細線維蛋白など複数の線維性蛋白のサブユニットが，その形成に参加していることが明らかになった。

論文の審査結果の要旨

本研究は，アルツハイマー病およびアルツハイマー型老年痴呆患者の痴呆症状発現に最も関係の深い

病理学的所見の１つである神経原線維変化について，核周囲及び軸索突起内に増生する神経原線維変化をそれぞれ別個に高純度に分離することに成功し，それらの構成蛋白組成を明らかにしたものである。その結果，核周囲の神経原線維変化の形成にはチュブリン及び神経細線維蛋白（200Ｋ）が関与し，軸索突起内神経原線維変化の形成にはチュブリン及び神経細線維蛋白（160Ｋ）の他アクチンも関与していることが示された。これらの成績は，神経原線維変化の形成機序の解明に重要な示唆を与えるものであり，アルツハイマー病及びアルツハイマー型老年痴呆の病因研究に寄与するところ大である。