



|              |                                                                                                                                                                                                                           |
|--------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | 筋萎縮性側索硬化症の脊髄前根における軸索輸送障害                                                                                                                                                                                                  |
| Author(s)    | 嘉手川, 淳                                                                                                                                                                                                                    |
| Citation     | 大阪大学, 1999, 博士論文                                                                                                                                                                                                          |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                           |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/42977">https://hdl.handle.net/11094/42977</a>                                                                                                                                       |
| 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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> 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

|               |                                                                    |
|---------------|--------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | 嘉 手 川 淳 <sup>かわでか</sup>                                            |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                          |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 4 8 2 6 号                                                      |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 11 年 5 月 28 日                                                  |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第 4 条第 2 項該当                                                   |
| 学 位 論 文 名     | 筋萎縮性側索硬化症の脊髄前根における軸索輸送障害                                           |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 柳 原 武 彦 教 授 武 田 雅 俊<br>(副査)<br>教 授 吉 峰 俊 樹 教 授 青 笹 克 之 |

## 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の脊髄前根における軸索輸送の障害の有無とその機序を明らかにする。

【方法ならびに成績】 対象は臨床的、病理学的に診断された ALS9 例 (SOD1 関連家族例 2 例、孤発例 7 例、平均 62.7 歳) で、疾患対照は末梢神経疾患 2 例 (平均 57 歳) および正常対照 5 例 (平均 50.2 歳) である。

HE 染色と免疫組織化学用に剖検時に採取した脊髄および脊髄前根を formalin 固定し凍結切片を作成。免疫組織化学的検索はリン酸化 neurofilament、 $\beta$ -tubulin、ヒト macrophage、ubiquitin に対する抗体を使用し、ABC 法を用いて免疫反応陽性産物を DAB で発色させた。電顕用に検体を剖検時に速やかに glutaraldehyde 浸漬、osmium 後固定後 epon 包埋し、超薄切片を電子染色し電顕で検索した。有髄線維のときほぐし用として、脊髄前根の最近位部を glutaraldehyde 浸漬、osmium 後固定後、66% glycerin に浸漬、100 本の有髄線維中の軸索変性、脱髄及び髄鞘再生線維を定量的に評価した。さらに凍結脊髄から抽出した SOD1 遺伝子の各 Exon を PCR 法により増幅し塩基配列を決定した結果、ALS 例 2 例で変異を確認したが、孤発例では SOD1 遺伝子変異は認めなかった。

免疫組織化学的には ALS 2 例の脊髄前索で類球体とも樹状突起の腫大とも異なるリン酸化 neurofilament 陽性の局所性軸索腫大を確認した。前根長軸切片では同様の局所性軸索腫大は ALS 例 6 例と PNS 例 2 例においてみられ、リン酸化 neurofilament と  $\beta$ -tubulin に陽性であった。正常対照例ではみられず、この局所性軸索腫大は PNS 例より ALS 例でより高頻度に見い出された。myelin ovoid は HAM56 陽性であったが、この局所的に腫大した軸索内空胞は HAM56 陰性であった。

前根長軸 Semithin 切片では、ALS 例 1 例の大径有髄線維に小器官と小胞の蓄積を伴う局所性軸索腫大と圧排された軸索突起原形質が見られ、別の ALS 例では圧排された軸索突起原形質を伴う空胞化軸索を認めた。

電顕的検索は ALS 例 6 例、PNS 例 2 例、正常対照 4 例で施行した。前根長軸切片の絞輪間部の微小管は ALS 例 4 例と PNS 例 2 例で増加していたが、正常対照ではほとんど認められなかった。軸索突起原形質滑面小胞体 (axoplasmic reticulum、以下 AR) は ALS 例 3 例、PNS 例 1 例、正常例 1 例で高頻度に、他の ALS 例と正常例 1 例では少数のみに観察された。Dense lamellar body (DLB) は ALS 例 1 例では絞輪部のみならず絞輪間部においても高頻度に、

ALS 例 1 例と PNS 例 2 例では絞輪部に少数観察された。Multivesicular body (MVB) は ALS 例 1 例、PNS 例 1 例および正常例 4 例において絞輪部に少数観察された。ALS 例 2 例では軸索内に小器官の蓄積を確認した。

有髄線維のときほぐし法による検索では前角細胞数が中程度以上減少していた ALS 例 3 例において軸索変性変化と脱髄および髄鞘再生性変化の頻度が増加していたが、前角細胞の減少が軽度であった他の ALS 例では軸索変性変化の頻度のみ軽度増加していた。

【総括】 本研究では特に脊髄前根における形態変化を詳細に観察することで ALS における速い (fast) 軸索輸送の障害を示した。第一に局所性軸索腫大と微小管の形態学的変化は ALS に特異的ではないものの速い軸索輸送の障害を示唆している。第二に ALS 例の特に前角細胞が著減し、ときほぐし法にて軸索変性と脱髄、髄鞘再生を伴う高度な異常がみられた進行例の前根で高頻度に AR 増加が認められたことにより速い軸索輸送の障害の存在が示唆される。第三に MVB は正常例全例と PNS 例 1 例で観察されたが、ALS 例は 1 例のみであった。MVB は逆行性の速い軸索輸送で運搬されるので、ALS では逆行性の速い軸索輸送も順行性と同様に障害されるか、あるいは ALS の運動神経軸索の末梢で MVB の産生が減少することが示唆される。さらに ALS 例 2 例の前根で観察された膜性小器官の蓄積も速い軸索輸送の障害によるものと思われる。結論として、ALS 例の前根には順行性および逆行性の速い軸索輸送の障害を示す明白な病理学的特徴があったが、それは ALS における軸索の変化そのものであり、二次的な Waller 変性の特定の段階を意味するものではないことが明らかになった。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の剖検例を用い、その脊髄前根を詳細な神経病理学的手法によって検索した結果、ALS では速い軸索輸送に関連した構造変化の病態が存在することをあきらかにした。これは過去に例を見ない詳細な検討であり、ALS の病態解明のうえで新たなアプローチを可能にする点で意義がある。よって博士 (医学) の学位授与に値する。