

氏名	おおつか まこと 大塚 真
学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	甲第477号
学位授与年月日	平成16年 3月16日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	クロイツフェルト・ヤコブ病の大脳皮質におけるアストロサイトとミクログリア：免疫組織化学的および形態計測的研究
学位論文審査委員	(主査) 中島 健二 (副査) 川原 隆造 大浜 栄作

## 学位論文の内容の要旨

クロイツフェルト・ヤコブ病 (Creutzfeldt-Jakob disease : CJD) の病理像は、大脳皮質の広範な海綿状変化と神経細胞脱落およびグリオシスであり、免疫組織化学的に感染型プリオン蛋白の蓄積を伴う。このような病理所見に加え、CJD の脳組織においてはミクログリアが活性化していることが報告されているが、その分布や病理学的意義は明らかでない。また、近年多くの神経疾患においてアストロサイトも疾病過程に積極的な役割を演じている可能性が推察されている。本論文は、CJD における神経細胞脱落とグリオシスおよびミクログリアの出現との関連を明らかにするため免疫組織化学的ならびに形態計測的検討を行なった。

### 対象および方法

対象は剖検により確定診断された孤発性 CJD 7 例 (全脳型 6 例、視床型 1 例) である。対照として、中枢神経系に組織学的異常を認めなかった 3 例 (心不全 2 例、腎不全 1 例) と大脳に組織学的異常を認めなかった筋萎縮性側索硬化症 1 例の合計 4 例を用いた。

10%ホルマリン固定脳を肉眼的および組織学的に検索した後、ウサギ抗 GFAP 抗体、マウス抗プリオン蛋白モノクローナル抗体、マウス抗 MHC class II モノクローナル抗体、マウス抗 CD68 モノクローナル抗体を一次抗体として、ABC 法による免疫組織化学を行なった。

形態計測には、上前頭回および中前頭回皮質の 7 ヶ所を無作為に選択し単位面積 (1 mm<sup>2</sup>) あたりの神経細胞数、MHC class II 陽性細胞数、CD68 陽性細胞数、GFAP 陽性細胞数を算出した。対照例の平均神経細胞数 (A/mm<sup>2</sup>) と各 CJD の平均残存神経細胞数 (B/mm<sup>2</sup>) から神経細胞消失率  $(A - B) / A \times 100 (\%)$  を求めた。

以上の結果をもとに、①MHC class II 陽性細胞数、②CD68 陽性細胞数、③GFAP 陽性細胞数、④神経細胞消失率、⑤罹病期間、⑥固定後脳重量、について、それぞれの組み合わせで P 値をもとめ、 $P < 0.05$  の場合を統計学的に有意とした。

## 結果

CJD 全例で特徴的な大脳皮質の海綿状変化、神経細胞脱落およびアストロサイトの増生（グリオシス）を認めた。海馬の神経細胞は正常に保たれているか軽度の脱落を示し、グリオシスも大脳新皮質に比して明らかに軽度であった。

GFAP 染色では、大脳新皮質の海綿状変化を生じている部位ではグリオシスは軽く、残存神経細胞の多い皮質深層でグリオシスの強い傾向を認めた。

MHC class II および CD68 免疫染色では、大脳新皮質に活性化ミクログリアが多数認められたが、海馬ではごく少数であった。

全脳型 CJD6 例中 4 例において、CD68 陽性細胞数が MHC class II 陽性細胞数に比して少なかった。

MHC class II 免疫染色および CD68 免疫染色の両者において、陽性細胞数は新皮質の神経細胞消失率、アストロサイト密度、罹病期間、固定後脳重量のいずれとも有意な相関を示さなかった。

アストロサイト密度についても、相関する要因は認められなかったが、MHC class II 陽性細胞数と GFAP 陽性細胞数は相関する傾向を示した。

## 考察

CJD において活性化ミクログリアの出現が報告されているが、その分布についての記載は、報告者により必ずしも一様でなく、CJD の疾病過程にどのように関与しているのかは不明である。今回の検討で活性化ミクログリアのマーカーである MHC class II 免疫染色では、大脳新皮質優位に陽性細胞が検出された。活性化型および静止型ミクログリアを含む CD68 陽性細胞の数が、活性化型ミクログリアである MHC class II 陽性細胞の数より少ない症例が認められた。これは検索した組織における CD68 抗原性の失活によるものと考えられた。

MHC class II 陽性細胞数と GFAP 陽性細胞数との間には、統計学的に有意ではないものの負の相関を示す傾向があった。このことは発症早期には活性化ミクログリアが出現し、その後にアストロサイトが出現してくる可能性を示唆する。今回の検討では、症例数が少なかったこと、そしてミクログリアやアストロサイトの出現或いは消失が必ずしも直線的な経過を示すとは限らないことなどの制約があったため、今後より多数例での検討が必要と考えられる。

アストロサイトの分布は海綿状変化を来している部位では明らかに軽度であり、海綿状変化を回避するように拡がる傾向を示した。このことは CJD 脳においてアストロサイトが神経保護的に機能している可能性を示唆する。

## 結論

CJD 脳では発症早期に活性化ミクログリアが出現し、その後にアストロサイトが出現することが示唆された。またアストロサイトは神経保護的に機能していることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

本研究は、クロイツフェルト・ヤコブ病（CJD）の脳皮質におけるミクログリアとアストロサイトの出現ならびに神経細胞脱落について、免疫組織化学的ならびに形態計測的に検討したものである。その結果、ミクログリアの分布については脳新皮質において活性化ミクログリアが増加していることが示された。また、活性化ミクログリア密度とアストロサイト密度との間に負の相関傾向があること、発症早期にミクログリアが発現しその後アストロサイトが出現してくることが示唆された。また、アストロサイトは神経細胞に対して保護的に作用していることも示唆された。本論文は、CJDの神経病理学に関して新しい知見を加えたものであり、明らかに学術の水準を高めたものと認められる。