

学 位 論 文 要 約

Ultrastructure of spinal anterior horn cells in human Niemann-Pick type C (NPC) patient and mouse model of NPC with retroposon insertion in NPC1 genes

(ヒトニーマン-ピック病C型 (NPC) 患者とNPC1遺伝子にレトロポゾン挿入したNPCマウスモデルにおける脊髄前角細胞の超微細構造)

(著者：楠 (伊井) 真広、小浜博司、加藤聖大、野村芳子、長嶋和郎、二宮治明、加藤雅子、加藤信介)

令和2年 Pathology International 掲載予定

ヒトニーマン-ピック病C型 (NPC) は、スフィンゴミエリナーゼの欠損を伴わない、18番染色体上のNPC1の遺伝子異常に基づくコレステロールのキャリア蛋白質の欠損病である。また、そのモデル動物であるNPC^{nh}マウスもNPC1遺伝子にレトロポゾン挿入させて、NPC1遺伝子を分断させたマウスであり、ヒトのNPCと遺伝子レベル上は同一の異常を有する。中枢神経系では、ヒトNPCもNPC^{nh}マウスも、脊髄は主病変部の一つであり、脊髄前角細胞は、細胞内蓄積物質が異常に存在することにより顕著なballooned neuron:BNとして認められる。本研究は、NPCのヒトおよびモデルマウスにおける脊髄前角細胞内蓄積物質の超微形態学的比較検討を行うことにより、NPCにおける細胞機能障害の分子機構を解明することを目的とする。

方 法

NPCのヒトとそのモデルマウスの脊髄を使用した。ヒトは3歳8か月症例で、臨床的、生化学的、病理学的にNPCと診断された症例である。マウスはNPC^{nh}の終末期に相当する9週齢を使用した。これら脊髄を光学顕微鏡用にパラフィン包埋し、HE染色、HE-ルクソールファストブルー二重染色、KB染色を施行した。また、電子顕微鏡用として、頸髄と腰髄をエポン包埋し、酢酸ウラニルとクエン酸鉛の二重染色を施し、電子顕微鏡検索に供した。

結 果

9週齢のNPC^{nh}マウスの脊髄光学顕微鏡像は、核が偏在し、胞体は腫大したballooningを起こした脊髄前角細胞が認められた。細胞内蓄積物質は多数の小空胞として、あるいはそれらが集合して、胞体全体に蓄積していた。

NPC^{nh}マウスの脊髄前角細胞内蓄積物質の超微形態像では、蓄積物質をいれた空胞は、限

界膜が一部で認められるところも存在したが、認められないところもあった。空胞内蓄積物質の超微形態像は、バラの花様 (Rose flower structure: RF) を示しているものが多く観察された。即ち、何枚かのmembrane様構造物 (membranous structure: M) が幾重にも順に被さって生じた像を示していた。また、一枚のMや一枚のmembraneが完全な球体を形成したvesicle様構造物 (vesicle-like structure: V) の像も容易に観察できた。少数だが、完全な全周性を示す同心円状の構造物であるmultiple concentric sphere: MCSも認められた。また、9週齢のNPC^{nih}マウスの前角には、光学顕微鏡的には細胞死への過程の上にあると考えられるatrophic dark neuronが時々観察された。このneuronは電子顕微鏡的にはelectron dense neuronとして観察され、核はほぼ胞体と同質化し、胞体内の細胞小器官は一部の小胞体以外はほとんど認められなかった。また、細胞内蓄積物質も多数存在していた。その超微形態像はRFが主体であり、BNはそれと同一であった。

ヒトNPCの脊髓前角細胞の光学顕微鏡像は、NPC^{nih}マウスのそれと同一であったが、胞体の腫大化がより顕著で、細胞内蓄積物質は偏在した核周辺部より、胞体辺縁部に高度に蓄積していた。ヒトNPCの超微形態学的検索では、蓄積物質を囲む空胞の限界膜は、NPC^{nih}マウスのそれと全く同一であった。ヒトNPCの空胞内蓄積物質の超微形態像においては、MCSとVが高頻度に認められ、MやRFも少数ながら観察された。ヒトNPCの脊髓前角細胞の核周辺部では、蓄積物質として、MCSとMが見られたが、限界膜ははっきりしなかった。細胞体周辺部への移行部位では、MCSやVがみられた。空胞が集合して密集した部位では、MCS以外にVやRFも認められた。

考 察

ヒトNPCの細胞内蓄積物質もNPC^{nih}マウスのそれもmembraneの主構成成分であるコレステロールが蓄積されるため、おそらくこの蓄積されたコレステロールを原料として、基本的にはまずVやMCSが形成され、これらが崩壊することでMやRFが出現するものと考えられた。

細胞内蓄積物質の超微形態像は、ヒトNPCとNPC^{nih}マウスで同一であったが、ヒトNPCではMCSが多く観察され、NPC^{nih}マウスではRFが多くみられるという、ヒトとマウスにおいてはstructureの偏りが認められた。このことは、NPC1遺伝子異常という同一の病因によるコレステロールの蓄積が生じるにもかかわらず、ヒトでは生後3歳8か月、NPC^{nih}マウスでは9週という生存期間の長短、あるいは種による前角細胞の代謝過程の相違が関与していることが推測された。

結 論

ヒトNPCとNPC^{nh}マウスが示す超微細構造形態は同一であった。ただし、その構成内容(M、V、RF、MCSの4種)には違いが認められた。