

神経科学研究部・神経病理学研究室

教授：栗原 敏
(兼任)

講師：福田 隆浩 神経病理学, 神経内科学

講師：藤ヶ崎純子 神経病理学

教育・研究概要

I. 松果体実質細胞腫瘍の腫瘍マーカー

松果体実質腫瘍 (PPT) では, synaptophysin や NSE, NFP, class III β -tubulin, tau protein, PGP9.5, chromogranin, serotonin, retinal S-antigen, rhodopsin などが免疫組織化学法で検出されるが, その感度および特異性は様々である。松果体実質細胞がメラトニンを合成することから, その律速酵素である hydroxyindole O-methyltransferase (HIOMT) に対する抗体を作成し, PPT および PNET, 髄芽腫 (MB) における発現を検索した。対象と方法: ヒト網膜 RNA より得られた HIOMT の cDNA を用い HIOMT 蛋白質を合成精製。マウス (Ms) およびウサギ (Rb) に免疫し, 抗体を精製し, ELISA 法, Western blot 法, 免疫細胞化学法にて評価。PPTs 43 症例, PNETs 3 症例, MBs 34 症例において作成した抗 HIOMT 抗体および retinal S-antigen, SYP, NFP, MIB1 の抗体による免疫組織化学法と HE 染色標本を組織病理学的に評価した。結果と考察: PPTs において, pineocytoma 9 例 (Jouvet 分類 I grade I: GI), PPTID 21 例 (同 grade II: GII 9 例, grade III: GIII 12 例), pineoblastoma 13 例 (同 grade IV: GIV) の全例に HIOMT 陽性細胞を認め, HIOMT 陽性細胞率 (mean \pm SD) は pineocytoma (GI) $85.4 \pm 12.0\%$, PPTID (GII) $53.3 \pm 18.4\%$, PPTID (GIII) $22.8 \pm 22.5\%$, pineoblastoma (GIV) $5.6 \pm 5.3\%$ と, 各群, 有意差を持ちながら発現細胞数は減少した。PNETs 3 例中 1 例, MBs 34 例中 22 例に HIOMT 陽性細胞を認めるもその腫瘍内の発現細胞数は少なかった。HIOMT 免疫組織化学は, PPTs の診断及び組織学的評価を行う上で有用と考えられた。

II. Fabry 病 knockout マウスの神経病理

目的: Fabry 病は alpha-galactosidase A (GLA) が不足・欠損のため, この酵素で分解されるべきスフィンゴ糖脂質が分解されず組織内に蓄積することにより, 臓器の機能低下・不全に至る疾患である。今回, GLA knockout mice において, 病理学的検

索を行い, ヒト Fabry 病と比較検討した。対象と方法: GLA knockout mice を対象とし, 光顕および電顕的に検索した。また, 組織内に蓄積する globotriaosyl-ceramide (GL3) に対する抗体を用い, GL3 の局在を明らかにした。ヒト Fabry 病剖検症例および腎生検標本においても同様の検索を行った。結果: 24 週齢 knockout mice では, 腎尿細管・腸管粘膜下結合織・膀胱上皮下結合織および全身の血管壁に腫大空胞化蓄積細胞を認めた。電顕では lysosome 内に層状封入体が存在した。抗 GL3 抗体免疫組織化学において, 中枢神経系では, 血管・三叉神経運動核・弧束核の細胞内に蓄積し, 末梢神経系では, 三叉神経節細胞・後根神経節細胞・腸管壁神経細胞に蓄積していた。坐骨神経ではシュワン細胞胞体内に封入体は存在するものの軸索には認められなかった。皮内末梢神経では, 軸索内およびシュワン細胞胞体内に封入体を頻繁に認めた。他の臓器として下垂体細胞, 副腎髄質細胞・精巣精母細胞内, および全身の血管に封入体が存在した。ヒト Fabry 病剖検症例 (67 歳男性) では, 中枢神経系に多発性小梗塞巣と血管壁に GL3 蓄積を認め, 視床下部後核および迷走神経背側運動核神経細胞内に GL3 が蓄積していた。knockout mice では認められなかった心筋細胞内や腎糸球体など, より広範に臓器実質細胞内に GL3 は蓄積していた。考察: GLA knockout mice では, GL3 蓄積による層状封入体が, 全身の血管・脳幹神経核・末梢神経系・腎尿細管・下垂体・副腎を中心に認められた。ヒト Fabry 病と比較し, 心筋細胞や腎糸球体への蓄積は軽度であり, 生存期間の違いによると考えられた。

III. 脊髄小脳失調症 7 型細胞モデルにおける NCKX1, Phactr2 の発現変動

脊髄小脳失調症 7 型 (spinocerebellar ataxia type 7: SCA7) は, 網膜, 小脳の変性を特徴とするポリグルタミン病の一型である。SCA7 では, 変異 ataxin-7 が神経細胞内で発現し病態が引き起こされる。網膜や小脳が, より選択的に変性する機序については, 変異 ataxin-7 が, これらの領域に発現する遺伝子の転写を阻害することが病態機序の一つとして注目されるが, その病態はまだ十分に解明されていない。変異 ataxin-7 の発現誘導によって発現が抑制される遺伝子として, 網膜桿体細胞に高発現する Na/Ca-K exchanger 1 (NCKX1), 小脳ブルキンエ細胞に高発現する Phosphatase and actin regulator 2 (phactr2) を選択し, SCA7 細胞モデルでの発現変動について検討した。変異および正常 ataxin-7

をそれぞれ導入した細胞を用い、導入した ataxin-7 の発現を開始、経時的に RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法にて NCKX1, phactr2 の発現解析を行った。H111 では経時的に NCKX, phactr2 の両遺伝子の発現が低下したが、F127 では発現の変動はみられなかった。NCKX1 は桿体細胞の細胞内カルシウム濃度を調節し、Phactr2 は小脳プルキンエ細胞のシナプス可塑性に関与している。変異 ataxin-7 の発現に伴うこれらの遺伝子の発現の低下が、SCA7 の網膜変性、小脳変性の機序に関与している可能性がある。

〔点検・評価〕

1. high grade な松果体実質細胞腫瘍は、他の中枢神経系の未分化な腫瘍との鑑別が困難で、hydroxyindole O-methyltransferase (HIOMT) の存在を証明することにより、診断可能となったことは、画期的である。また、組織学的悪性度および予後を推測する上でも HIOMT 発現率を検討することが有用であることを示し、松果体実質細胞腫瘍の研究が進展することが予想される。

2. Fabry 病の臨床像と病理組織像との関連が明らかにし、今後、Fabry 病の診断、治療の発展に貢献する研究である。

3. SCA7 の変性に関与する因子を更に検討する。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Fukumitsu N, Suzuki M, Fukuda T, Kiyono Y. Multipoint analysis of reduced (125) I-meta-iodobenzyl-guanidine uptake and norepinephrine turnover in the hearts of mice with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydroxypyridine-induced parkinsonism. *Nucl Med Biol* 2009; 36(6): 623-9.
- 2) Janer A¹⁾, Werner A²⁾, Takahashi-Fujigasaki J, Daret A¹⁾, Fujigasaki H (Musashino Redcross Hospital), Takada K, Duyckaerts C^{1, 3)}, Brice A^{1, 3)} (Salpetriere Hospital), Dejean A²⁾ (INSERM U579, Institut Pasteur), Sittler A¹⁾ (INSERM, UMR5 975). SUMOylation attenuates the aggregation propensity and cellular toxicity of the polyglutamine expanded ataxin-7. *Hum Mol Genet* 2010; 19(1): 181-95.
- 3) Kyosen SO, Iizuka S, Kobayashi H, Kimura T, Fukuda T, Shen J, Shimada Y, Ida H, Eto Y, Ohashi T. Neonatal gene transfer using lentiviral vector for murine Pompe disease: long-term expression and glyco-gen reduction. *Gene Ther* 2010; 17(4): 521-30.
- 4) Takahashi-Fujigasaki J, Takagi S, Sakamoto T, Inoue K. Spinal cord biopsy findings of anti-aquaporin-4 antibody-negative recurrent longitudinal myelitis in a patient with sicca symptoms and hepatitis C viral infection. *Neuropathology* 2009; 29(4): 472-9.
- 5) 郭 樟吾, 石井卓也, 長谷川謙, 福田隆浩, 阿部俊昭. 時間的・空間的に多発した硬膜動静脈瘻の1例病理組織学的見地と臨床医学の見地からの考察. *脳卒中* 2009; 31(2): 111-6.

III. 学会発表

- 1) 藤ヶ崎純子. 脊髄小脳失調症7型における変異 ataxin-7 の SUMO 化. 第98回日本病理学会総会. 京都, 5月.
- 2) 福田隆浩, 秋山暢文, 斉藤三郎. 松果体実質細胞腫瘍の腫瘍マーカーその1. 第50回日本神経病理学会総会学術研究会. 高松, 6月.
- 3) 福田隆浩, 秋山暢文, 斉藤三郎. 松果体実質細胞腫瘍の腫瘍マーカーその2. 第50回日本神経病理学会総会学術研究会. 高松, 6月.
- 4) 福田隆浩, 梅原 淳, 河野 優, 谷口 洋, 持尾聰一郎. プリオン蛋白遺伝子 MV129 と VI80I を伴った CJD の1剖検例. 第50回日本神経病理学会総会学術研究会. 高松, 6月.
- 5) 藤ヶ崎純子, 藤ヶ崎浩人 (武蔵野日赤病院). 脊髄小脳失調症7型細胞モデルを用いた発現アレキ解析. 第50回日本神経病理学会総会学術研究会. 高知, 6月.
- 6) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 宇都宮一典, 田嶋尚子. 糖尿病性末梢神経障害における Rho/Rho kinase 系シグナルの亢進と Rho kinase 阻害薬の効果. 第20回日本末梢神経学会学術集会. 大宮, 9月.
- 7) 金澤 康, 藤ヶ崎純子, 石澤 将, 的場圭一郎, 横田太持, 五條 淳, 谷口幹太, 蔵田英明, 宇都宮一典, 田嶋尚子. 糖尿病性末梢神経障害に対する Rho kinase 阻害薬の効果. 第24回日本糖尿病合併症学会. 岡山, 10月.
- 8) 井下尚子¹⁾, 佐野壽昭 (徳島大学), 藤ヶ崎純子, 山田正三¹⁾ (虎の門病院). 下垂体への転移性腫瘍4例の検討. 第13回日本内分泌病理学会学術総会. 甲府, 10月.
- 9) 宇都宮一典, 金澤 康, 藤ヶ崎純子. 糖尿病性神経障害における Rho/Rho キナーゼシグナルの意義. 第24回日本糖尿病合併症学会. 岡山, 10月.