

とができることを、楽しく学びながら、今後の研究に役立てたいという意欲を学生達にわかすことができた。

### 3. その他

社会的活動としては、日本宇宙航空環境医学会の事務局が本研究室に置かれ、事務局長を須藤が務め、学会運営に貢献した。

## 研究業績

### Ⅲ. 学会発表

- 1) 財津 崇<sup>1)</sup>, 太田敏子<sup>1)</sup>, 須藤正道, 緒方克彦<sup>1)</sup>, 松本暁子<sup>1)</sup>, 三木猛生<sup>1)</sup>, 大島 博<sup>1)</sup>, 向井千秋<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>宇宙航空研究開発機構). (一般演題) 宇宙歯科における今後の運用と研究について. 第59回日本宇宙航空環境医学会大会. 倉敷, 11月. [宇宙航空環境医 2013; 50(4): 56]
- 2) 鈴木政登, 須藤正道. (一般演題) ラットエネルギー代謝に及ぼす平常給餌および絶食時コーヒー飲用の影響. 第59回日本宇宙航空環境医学会大会. 倉敷, 11月. [宇宙航空環境医 2013; 50(4): 66]
- 3) 阿部高志<sup>1)</sup>, 水野 康<sup>1)</sup>, 三島和夫 (国立精神・神経医療研究センター), 井上雄一 (東京医科大), 太田敏子<sup>1)</sup>, 須藤正道, 緒方克彦<sup>1)</sup>, 大島 博<sup>1)</sup>, 向井千秋<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>宇宙航空研究開発機構). (一般演題) 宇宙飛行士における覚醒度モニター法の必要性和研究の現状. 第59回日本宇宙航空環境医学会大会. 倉敷, 11月. [宇宙航空環境医 2013; 50(4): 74]
- 4) 豊島裕子. (特別講演) メンタルストレスと血小板凝集能. 第13回日本AS学会・第7回日本血流血管学会合同学術集会. 東京, 11月.
- 5) 豊島裕子. ヒトにおけるモーツァルト効果. 第41回自律神経生理研究会. 東京, 12月.
- 6) Nakajo K, Matsumoto N, Minamisawa S, Toshima H. (Poster Presentations: Autonomic Nervous System 1) Aging and plasma total homo-cysteine enhance the response of sympathetic nerve function to cold loading. 第91回日本生理学会大会. 鹿児島, 3月.
- 7) Ichiha K, Matsumoto N, Tomita I, Minamisawa S, Toshima H. (Poster Presentations: Autonomic Nervous System 1) The effect of playing a stringed-instrument ensemble on autonomic nerve function. 第91回日本生理学会大会. 鹿児島, 3月.

## 神経病理学研究室

教授: 池上 雅博

(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. 教育概要

3年生の「医学英語専門文献抄読」および「症候学演習」, 「感染・免疫チュートリアル」を担当。4年生では, 臨床医学Ⅰ「神経」および「病理学各論実習」, 「臨床医学演習」を担当し, 講義・実習共に神経病理学の理解と応用力を学生が学べるよう努めた。6年生選択実習では, 病理学講座に配属される学生1ユニットあたり2コマを担当し, 神経病理学を教育した。卒後教育として, CPCにおいて神経病理を担当した。

### Ⅱ. 研究概要

#### 1. ライソゾーム病中枢神経系における神経細胞・軸索の変性

【目的】プロサボシン欠損病 (PSAP) モデルマウス中枢神経系の病態にユビキチンプロテアソーム系あるいはオートファジーリソソーム系の関与および細胞内小器官の変化 (腫大したライソゾームが蓄積し, ペロキシソームおよびゴルジ体の量的軽度減少, ミトコンドリア・エンドソーム・小胞体・リボゾームの著明な減少) があり, 神経細胞軸索変性の存在を amino-cupric-silver 法にて明らかにしている。今回, amino-cupric-silver 法で検出される蓄積物質を検討した。

【対象と方法】対象として PSAP 疾患モデルマウスを対象とした。中枢神経系 (CNS) を生化学的に2次元電気泳動法にて蓄積蛋白質の同定を試みた。また, 神経セロイドリポフスチン症で蓄積する subunit c of mitochondria ATP synthase (SCMAS) などライソゾーム病で蓄積する物質の分布を検討した。

【結果】PSAP モデルマウス CNS では, 経時的に SCMAS 陽性の神経細胞胞体および neuropils が増加した。MPS II モデルマウスでは, 大脳皮質および視床・脳幹神経核の神経細胞に SCMAS 陽性細胞を認めた。SCMAS 陽性細胞は, amino-cupric-silver 法で鍍銀される細胞の出現とよく相関していた。

【考察】 amino-cupric-silver 法で検出される蓄積物質の候補として、SCMAS の可能性がある。今後、生化学的に蓄積物質を検索する。

## 2. イソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子点変異の検出法

【目的】 イソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子 (IDH) の点変異は、グリア系脳腫瘍や白血病など腫瘍に認められる。検出法としては、免疫組織化学法や DNA シークエンス、高解像能融解曲線分析法、リアルタイム PCR システムでの SNP タイピングがある。今回、RNA と DNA からなるキメラプローブと RNase H の組み合わせによる cycleave PCR SNP 検出法を IDH 遺伝子断片を組み込んだプラスミドベクターにおいて検討した。

【対象と方法】 ヒト IDH1 の野生型と点変異 R132H, R132S, R132C, R132G, R132L, R132V, R132P, および、IDH2 の野生型と点変異 R172G, R172K, R172K を検出するキメラプローブ、および、この部位を含む 250bp 前後の遺伝子断片を増幅するプライマーを設計した。陽性対照として、各遺伝子断片を含むプラスミドベクターをクローニング・精製し、DNS シークエンスで確認。陽性対照および陰性対照を対象として、各キメラプローブの特異性を検討した。また、生検組織内に含まれる腫瘍成分の含有量を 100%, 50%, 20%, 10%, 4%, 2%, 0.4%, 0.2%, 0% となるよう、IDH 遺伝子の野生型と点変異を含むプラスミドベクターを調整し、キメラプローブの検出感度を検討した。さらに、点変異が 2 種存在する腫瘍を仮定し、腫瘍内における 1 種の点変異が 50%, 20%, 10%, 4%, 2%, 0.4%, 0.2%, 0% で含まれる場合の検出感度を検討した。

【結果と考察】 IDH 遺伝子の野生型および点変異を含むプラスミドベクターにおいて、各プローブは特異性 100% で検出した。腫瘍成分が 0.4% 含まれていれば、点変異を検出可能であった。2 種の点変異の存在下では、1 種の点変異が 2% 含まれていれば、検出可能であった。IDH2 R172M のキメラプローブはパンドロームを含みサイクリングプローブ法には適さなかった。

## 3. 脊髄小脳失調症 7 型の網膜視細胞での核内ドメインの変化

【目的】 脊髄小脳失調症 7 型 (SCA7) は網膜変性の合併を特徴とするポリグルタミン病に属する神経変性疾患である。異常に伸張したポリグルタミン鎖を持つ変異 ataxin-7 は核内に蓄積して凝集し、核内封入体が形成されることは、病理学的な特徴としてよく知られる。核内封入体が形成される過程で

は、核内の機能ドメインが関与するが、SCA7 の網膜組織での核内ドメインの変化については報告がない。近年、神経変性疾患に関与する核内ドメインとして、spliceosome, Cajal 小体の関与が注目されている。SCA7 ノックインマウス (SCA7 マウス) を用いてこれらの分布を検討した。

【方法】 SCA7 マウス (15 週齢: Q266), 正常対照マウスの網膜組織を用いた。ホルマリン固定パラフィン包埋されたそれぞれの組織標本を作製し、抗 ataxin-7 抗体, 抗 sm (spliceosome) 抗体, 抗 coilin (Cajal 小体) 抗体を用いた免疫染色を行った。

【結果】 既報の如く、SCA7 マウスでは視細胞層は高度に萎縮し、ataxin-7 の核内凝集体は神経節細胞層, 内顆粒層, 外顆粒層, 色素上皮細胞層に認められた。正常対照マウスの網膜では、抗 sm 抗体, 抗 coilin 抗体陽性の核内構造物は神経節細胞層, 内顆粒層では認められるが、外顆粒層では同定され難かった。SCA7 マウスでは、外顆粒層の視細胞層側の細胞核に抗 sm 抗体陽性の核内構造物が観察されたが、抗 coilin 抗体陽性の構造物の変化は認められなかった。

【考察】 spliceosome は RNA 代謝に関わる核内機能ドメインである。網膜視細胞は特異な形態を呈する細胞で、外顆粒層に位置する核のクロマチンは濃染し、核内構造の観察は難しい。今回の検討で SCA7 の視細胞で spliceosome の構造に変化が生じることが明らかになった。

## 「点検・評価」

神経病理学研究室の業務は、研究、診断、教育である。

教育は基本的に昨年度と変わらない。3 年生の「医学英語専門文献抄読」では英語文献を読む上で重要な点を解説し、週 1 回の抄読により、医学英語に馴染む訓練で成果を出している。「症候学演習」および「感染・免疫チュートリアル」では、チューターとして学生が症候を理解できるよう誘導・指導した。4 年生では、臨床医学 I 「神経」にて 4 コマおよび「病理学各論実習」にて 2 コマ担当し、6 年生選択実習とともに、神経系疾患における病理形態を学生が理解できるよう指導した。「臨床医学演習」では、チューターとして学生が症例を理解できるよう誘導・指導した。卒後教育として、CPC において神経病理を担当した。また、病院病理部の研修医・学生を対象に、神経病理肉眼所見あるいは組織所見の理解を深める機会を提供している。

神経病理診断業務および病理解剖では、本院およ

び分院の病院病理部に積極的に協力し、確実かつ迅速に神経系の病理診断業務を行い、臨床の要求に添えている。経験のない希少な疾患であっても、形態学のみならず、分子生物学的方法あるいは生化学的方法を駆使し正確な診断を行っており、診断能力に関しては評価されて良い。

研究に関しては、人体病理を中心に研究活動を行っており、ライソゾーム病の病態に関し新しい知見を見いだしている。また、グリア系腫瘍の遺伝子変異として重要な位置づけにあるイソクエン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子を、感度・特異度ともに良好な検査法を確立した。今後の分子病理学的検査を容易にし、グリア系腫瘍の治療に貢献できるものである。さらに、共同研究として、パーキンソン病モデルマウスでの病態解明や頭部外傷におけるオートファジーライソゾーム系およびユビキチンプロテアソーム系の関与を検索し、神経細胞障害にこれらの系が関与していることを見いだしている。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Sakai K, Fukuda T, Iwade K. Is the denervation or hyperinnervation of the cardiac sympathetic nerve in the subepicardium related to unexpected cardiac death? *Cardiovasc Pathol* 2014; 23(4) : 211-6. Epub 2014 Mar 27.
- 2) Akiyama K, Shimada Y, Higuchi T, Ohtsu M, Nakauchi H (Univ of Tokyo), Kobayashi H, Fukuda T, Ida H, Eto Y (Institute of Neurological Disorders), Crawford BE<sup>1)</sup>, Brown JR<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>BioMarin Pharmaceutical), Ohashi T. Enzyme augmentation therapy enhances the therapeutic efficacy of bone marrow transplantation in mucopolysaccharidosis type II mice. *Mol Genet Metab* 2014; 111(2) : 139-46.
- 3) Sakai K, Fukuda T, Iwade K. Immunohistochemical analysis of the ubiquitin proteasome system and autophagy lysosome system induced after traumatic intracranial injury: association with time between the injury and death. *Am J Forensic Med Pathol* 2014; 35(1) : 38-44.
- 4) Sato T<sup>1)2)</sup>, Ikeda M<sup>1)</sup>, Yotsumoto S<sup>1)</sup>, Shimada Y, Higuchi T, Kobayashi H, Fukuda T, Ohashi T, Suda T (Keio Univ), Ohteki T<sup>1)2)</sup> (<sup>1</sup>Tokyo Medical and Dental Univ, <sup>2</sup>CREST). Novel interferon-based pre-transplantation conditioning in the treatment of a congenital metabolic disorder. *Blood* 2013; 121(16) : 3267-73.
- 5) Kato M, Hano H, Nagatsuma K, Komine K, Inagaki T, Fukuda T. Histological and immunohistochemical study on the origin of proliferating ductules in extrahepatic cholestasis. *Jikeikai Med J* 2013; 59(3&4) : 29-36.

### II. 総説

- 1) 福田隆浩. 臨床医のための神経病理 Chagas 病. *Clin Neurosci* 2014; 32(3) : 248-9.

### III. 学会発表

- 1) 坊野恵子, 仙石鍊平, 松野博優, 高木 聡, 森田昌代, 福田隆浩, 藤ヶ崎純子, 森 良介, 常喜達裕, 井口保之. (炎症・免疫・脱髄) 多発する脳血管病変と腫瘍性病変を認めたシェーグレン症候群の 71 歳女性例. 第 54 回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4 月. [NEUROPATHOLOGY 2013; 33(Suppl.) : 167]
- 2) 福田隆浩, 小野内健司. (変性 (ALS)) FTLDMND (PLS type) の 1 剖検例. 第 54 回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4 月. [NEUROPATHOLOGY 2013; 33(Suppl.) : 159]
- 3) 福田隆浩, 千葉 諭, 塩崎正嗣. (炎症・免疫・脱髄) Chagas 病の 1 剖検例. 第 54 回日本神経病理学会総会・学術研究会. 東京, 4 月. [NEUROPATHOLOGY 2013; 33(Suppl.) : 166]
- 4) 福田隆浩, 高田耕治. (代謝・中毒) ライソゾーム病中枢神経系における神経細胞・軸索の変性. 第 54 回日本神経病理学会総会学術研究会. 東京, 4 月. [NEUROPATHOLOGY 2013; 33(Suppl.) : 81]

### V. その他

- 1) Sakai K, Fukuda T, Iwade K, Maruyama-Mae-bashi K, Asakura K, Ozawa M, Matsumoto S. A fatal fall associated with undiagnosed parenchymatous neurosyphilis. *Am J Forensic Med Pathol* 2014; 35(1) : 4-7.
- 2) 小野内健司 (会田記念リハビリテーション病院), 福田隆浩, 秋山治彦 (東京都医学総合研究所), 鈴木正彦, 横地正之 (東京保健医療公社荏原病院), 河村満 (昭和大), 後藤 淳 (済生会横浜市東部病院), 織茂智之 (関東中央病院), 藤ヶ崎純子, 星野晴彦 (東京都済生会中央病院). Neurological CPC 進行性構音障害を呈した 71 歳男性例. *Brain Nerve* 2013; 65(6) : 699-709.