

に対し、L-ドーパ服薬から2～15時間後のパーキンソン病では正常者と差がなかったことを報告した。このことから、今回の患者はVEP記録時に服薬を14時間以上中止しておりパーキンソン症状はoff状態であったが、網膜のドーパミン機能はL-ドーパ服薬により維持されていた可能性もある。

今回の検討では、OT-VEP潜時と年齢との間に強い正の相関を認めた。網膜機能の加齢的变化はいろいろな機序が考えられるが、年齢に依存したドーパミンの減少が関与している可能性もある。40歳と70歳とでおよそ20msの潜時の違いがあり、後頭葉記録のVEP潜時や反応時間の解釈には網膜レベルでの加齢による影響を考慮する必要がある。

#### 結論

パーキンソン病の黒質線条体ドーパミン低下は、今回の方法によるflash lightによる視索記録VEPの潜時には反映されなかった。

#### 文献

1. Bodis-Wollner I. Visual deficits related to dopamine deficiency in experimental animals and Parkinson's disease patients. *Trend Neurol Sci* 13:296-302, 199
2. Harnois C, et al. Decreased dopamine in the retinas of patients with Parkinson's disease. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31:2473-2475, 1990
3. Indice A, et al. The electroretinogram in Parkinson's disease. *Res Commun Psych Psych Behav* 5:283-?, 1980
4. Nightingale S, et al. Visual evoked cortical potentials and pattern electroretinograms in Parkinson's disease and control subjects. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 49:1280-1287, 1986
5. Gottlob I, et al. Alteration of visual evoked potentials and electroretinograms in Parkinson's disease. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 66:349-357, 1987
6. Ellis CJK, et al. Electroencephalographic abnormalities in idiopathic Parkinson's disease and the effect of levodopa administration. *Clin Vision Sci* 1:347-355, 1987.
7. Jaffe MJ, et al. Ganzfeld electroretinographic findings in Parkinsonism: untreated patients and the effect of levodopa intravenous infusion. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 50:847-852, 1987
8. Bodis-Wollner I, et al. Measurements of visual evoked potentials in Parkinson's disease. *Brain* 101:661-171, 1978
9. Onofrij M, et al. Visual evoked potentials in Parkinson's disease and dopamine blockade reveal stimulus-dependent dopamine function in humans. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 49:1150-1159, 1986

## 京都府パーキンソン病疫学調査（第二報）

久野貞子<sup>1)</sup>、山崎俊三<sup>2)</sup>、水田英二<sup>2)</sup>

1) 国療宇多野病院臨床研究部

2) 国立療養所宇多野病院神経内科

**研究要旨** パーキンソン病は65歳以上での発症が多くみられる疾患で、人口の高齢化とともに患者数の増加が予想される。1978年に京都府下で行ったパーキンソン病疫学調査では十万人あたりの粗有病率は49.5人であったが、その後、日本各地で疫学調査が行われ最近では100人前後と報告されている。われわれは2001年に1978年調査と同じ町を対象として疫学調査を行い、粗有病率で156.4人という結果を得た。この有病率の増加について比較検討を行い、高齢化による影響を考慮してもなお1.8倍の増加がみられた。男女比では1978年には9対4で男性が多かったが、2001年には17対21と逆転した。重症度で分類するとYahr4・5の重度患者が61.5%から42.1%に減少し、Yahr3（Yahr2.5～3.5を含む）の中等症患者が15.4%から42.1%に増加していた。性・年齢別で比較すると1978年には0人の80歳以上の女性患者が2001年には7人診断され、高齢パーキンソン病患者の存在が確認された。

### 目的

昨年、我々は2001年の京都府下4町におけるパーキンソン病疫学調査について報告した<sup>1)</sup>。今回は1978年の結果<sup>2)</sup>と比較し、23年間のあいだのパーキンソン病患者の変動について検討した。

### 対象および方法

昨年報告した京都府下4町（岩滝町、瑞穂町、弥栄町、和束町）における1978年の患者13名、2001年の患者37名について比較検討を行った。

### （倫理面への配慮）

調査に先立って宇多野病院倫理委員会で承認を受け、返送されたアンケート用紙は特定の部屋において開封・集計を行い、調査を行った医師以外の者がアンケート用紙などを見ることがないように配慮した。

### 結果および考察

1978年にはPDと診断された人は13人で平均年齢は71.8歳、男女比は9:4で男性が多く、十万人あたりの粗有病率は49.5人、1978年全国人口構成による訂正有病率は34.4人であった。2001年調査ではPD患者は38人で平均年齢は73.7歳、男女比は17:21で女性が多くなっており、十万人あたりの粗有病率は156.9人、2000年

全国人口構成を用いた訂正有病率は112.7人であった。1978年の訂正有病率を2000年全国人口構成を用いて計算しなおすと63.5となり、人口の高齢化を考慮してもなお約1.8倍の増加がみられた（表-1）。

患者の重症度をYahr分類で比較すると、1978年にはYahrⅣ、Ⅴの患者が8人と過半数を占めていたが、2001年は人数は増えているものの半数には達せず、前回はYahrⅢは2人であったが、今回はYahr2.5-3.5を合計すると16名と著明に増えていた（図-1）。診察時に既に治療を受けていた患者については診察のために治療を中断することは不可能であったので、この重症度は治療を受けている状態での重症度を示していると考えられ、患者が治療により中等症にコントロールされていることによって増加していることを示しているものと考えられた。

患者数を年齢・性別で比較すると、男性では1978年には70-74歳に、2001年には65-69歳にピークがみられ、人数は増加しているが分布には著明な変動はみられなかったが、女性では1978年には60-79歳の間の5歳毎に一人いるだけでピークはみとめられなかったのが、2001年には70-74歳、80-84歳の二つのピークが出現し、

大きく変化している。これら患者数の増加および患者の高齢化は人口の高齢化によるものの他に、治療の進歩によって患者の長寿化がもたらされているのではないかと考えられる。1978年には一般にはL-DOPA単剤、抗コリン剤、アマンタジンによってパーキンソン病治療が行われていたが、その後L-DOPA/DCI合剤、ドーパミンアゴニスト、さらにMAO阻害剤が使用できるようになりパーキンソン病患者の死亡時年齢は徐々に上昇してきている。重症度分類でもYahrⅢ前後の患者の比率が上昇していることは治療の発達によって患者数が増加している可能性を支持するものと考えられる。男女比が逆転した原因については不明であるが、これには図-2に見られるとおり、1978年にはみられなかった高齢女性患者の著明な増加が大きく寄与している。この違いは1978年調査での調査漏れによる可能性も否定はできないが、治療の進歩に伴って高齢の特に80歳以上の女性患者数が著しく増加したことによるのではないかと考えられる。この間に男性患者の年齢構成がなぜ、女性患者ほどは変化しなかったかは疑問が残るが、2001年調査で女性がやや多いというのは日本の他の地域での疫学調査の結果<sup>1)</sup>と一致しており、逆に1978年調査では、なぜ男性が2倍以上多いという結果になったのかを今後、検討する必要があるものと考えられる。

結論

2001年疫学調査では1978年に比べて2000年全国人口を用いた訂正有病率では1.8倍になっていた。男女比は1978年には男性が多かったが2001年には女性が多くなっていた。重症度では重症患者の比率が低下し、中等症患者の比率が上昇した。地域差としては2001年にもなお2倍弱の有病率の違いがみとめられた。

文献

- 1) 久野貞子、ほか。京都府パーキンソン病疫学調査、神経変性疾患に関する研究班、平成13年度報告書 2002:
- 2) 西谷裕、ほか。京都府下パーキンソン病の疫学調査、特定疾患神経変性疾患調査研究班、昭和53年度報告書 1979:149-157
- 3) 楠見公義、ほか。Parkinson病のQOL。日本臨床 2000; 58:169-175

表-1 1978年および2001年の患者数、平均年齢、男女比、有病率

1978年			
	患者数	粗有病率	訂正有病率
岩滝町	3	41.1	36.2(55.2)
瑞穂町	4	66.6	38.2(73.7)
弥栄町	5	74.7	50.2(87.4)
和束町	1	16	10.6(19.3)
計	13	49.5	34.4(63.5)
平均年齢	71.8		
男女比	9:04		

(カッコ内は2000年人口構成での訂正有病率)

2001年			
	患者数	粗有病率	訂正有病率
岩滝町	9	132.1	95.9
瑞穂町	11	198.2	131.7
弥栄町	12	193.8	145.4
和束町	6	105.8	80.1
計	38	156.9	112.7
平均年齢	73.7		
男女比	17:21		

図-1 Yahr重症度別症例数

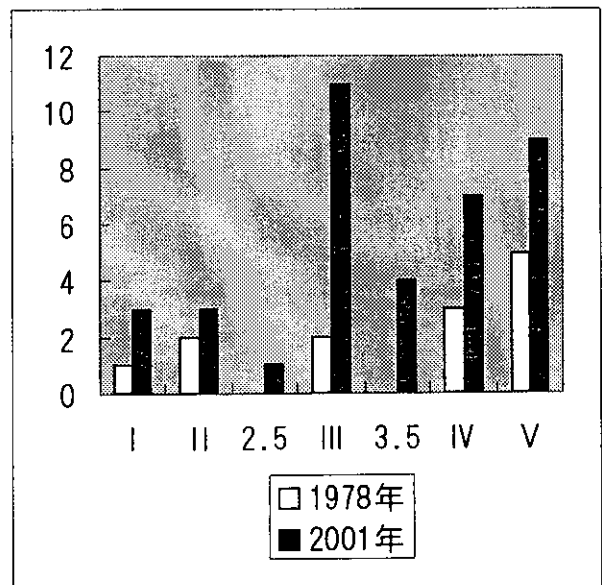
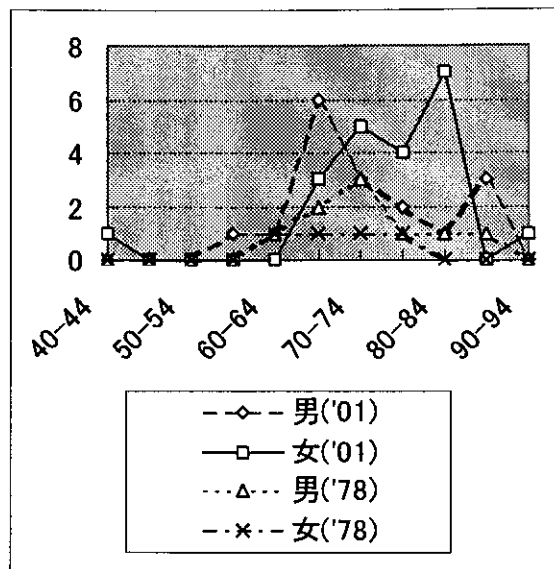


图-2 Parkinson 病年龄别患者数



# MPTP 処理したカニクイザルのパーキンソン病モデルにおける <sup>123</sup>I-MIBG 心筋シンチグラムを用いた心交感神経の検討

久野 貞子<sup>1)</sup>、竹花 一哉<sup>2)</sup>、水田 英二<sup>1)</sup>、山崎 俊三<sup>1)</sup>

- 1) 国立療養所宇多野病院 臨床研究部・神経内科
- 2) 関西医科大学 心臓血管病センター内科

**研究要旨** パーキンソン病患者において心交感神経のトレーサーである <sup>123</sup>I-MIBG の心臓への取り込み低下が知られているものの、その基礎的検討は少ない。そこで、MPTP 処理カニクイザルを用いて、<sup>123</sup>I-MIBG の動態に関して基礎的検討を行った。MIBG の心臓への分布を示す H/M は早期像で N 群に比し M 群で有意に高値を認めた (2.06±0.06 vs 2.59±0.15, p=0.015)。後期像では 2 群間に差を認めなかった(1.92±0.08 vs. 2.19±0.11)。心臓からの洗い出し率は N 群 26.8±3.0% に対し M 群でも 28.1±4.2% と差を認めなかった。すなわち、MPTP 処理によるパーキンソン病モデルでは、<sup>123</sup>I-MIBG の心臓への取り込みが健常群に比し有意に高いことが示された。以上より、無治療の MPTP 処理パーキンソン病モデルにおいては、臨床上パーキンソン病患者に認められるような心臓への <sup>123</sup>I-MIBG の取り込み低下、洗い出し亢進は認められず、むしろ取り込みの亢進を認められたことより、パーキンソン病患者で認められる <sup>123</sup>I-MIBG 心筋シンチグラムの取り込み低下の臨床的意義に関して今後の更なる検討が要する事が示唆された。

はじめに

I-123-metaiodobenzylguanidine (MIBG)は、心臓交感神経の分布を画像化することを目的に作られたノルエピネフリンのアナログであり、心不全患者では心不全の重症度に応じた心臓への取り込み低下、心臓からの洗い出しの亢進を認める。パーキンソン病患者においては、病初期より臨床上、諸検査上、心機能低下を示さないにもかかわらず、MIBG の心臓への取り込みが減少することが知られているものの、その基礎的検討は少ない。

そこで、今回われわれは、パーキンソン病の動物モデルである MPTP 処理カニクイザルを用いて、MIBG の動態に関して基礎的検討を行うことを目的に実験、研究を行った。

方法

MPTP 処理を行い、既にパーキンソニズムを呈し 2 年以上無治療で経過したカニクイザル (M 群) 6 頭と MPTP 処理前の健常カニクイザル (N

群) 5 頭を対象に、ケタミン麻酔下に 55.5MBq の <sup>123</sup>I-MIBG を静脈内投与し、10ml の生理食塩水のボラス投与後 15 分と 4 時間後の 2 回、胸部の planar 撮像及び心筋 SPECT を撮像し、planar 像より心縦隔比(H/M)と心洗い出し率(WR)を以下の式により算出し、N 群と M 群の 2 群間の比較を行った。即ち、

$H/M = (\text{心臓の ROI カウントのピクセルあたりの平均値}) / (\text{縦隔の ROI カウントのピクセルあたりの平均値})$

$WR (\%) = \{ (15 \text{ 分後像の心臓の ROI カウント} - \text{BKG}) - (4 \text{ 時間後像の心臓の ROI カウント} - \text{BKG}) \times F \} \times 100 / (15 \text{ 分後像の心臓の ROI カウント} - \text{BKG})$

(BKG = background count、 $F=1/(1/2)^X$ 、 $X=(t_a-t_e)$ )

/13.2、F = 時間補正係数、 $t_c = 15$  分後像の撮像時間、 $t_d = 4$  時間後像の撮像時間)

また、経過観察が可能であった M 群の 2 頭に関しては、薬剤投与の MIBG 心筋集積に及ぼす影響を検討する目的で、l-dopa (100mg / 日)の経口投与を 60 日間行った後、再度 1 度目と同様に MIBG シンチグラムを行った。

### 結果

両群の体重には差を認めなかった (N vs. M =  $5.3 \pm 0.4$  vs.  $5.9 \pm 0.6$  kg)。MIBG の心臓への分布を示す H/M は投与後 15 分の早期像で N 群  $2.06 \pm 0.06$  であったのに対し、M 群でも  $2.59 \pm 0.15$  と有意に高値を認めた ( $p=0.015$ )。投与後 4 時間の後期像では N 群  $1.92 \pm 0.08$  に対し、M 群  $2.19 \pm 0.11$  と 2 群間に差を認めなかった(表 1)。心臓からの MIBG の洗い出しを示す WR は N 群  $26.8 \pm 3.0\%$  に対し M 群でも  $28.1 \pm 4.2\%$  と差を認めなかった(表 2)。すなわち、MPTP 処理によるパーキンソン病モデルでは、MIBG の心臓への取り込みが健常群に比し有意に高いことが示されたが、パーキンソン病患者に認められるような MIBG の洗い出し率の亢進は認められなかった。

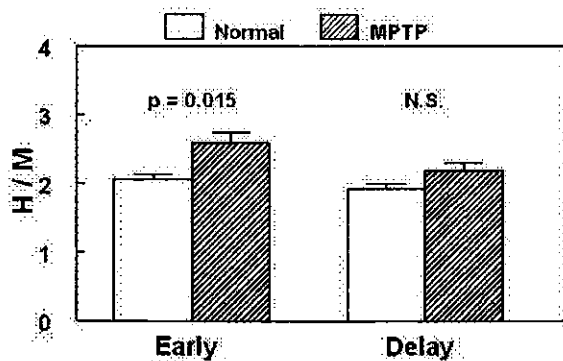


図 1. 心/胸隔比(H/M)の比較

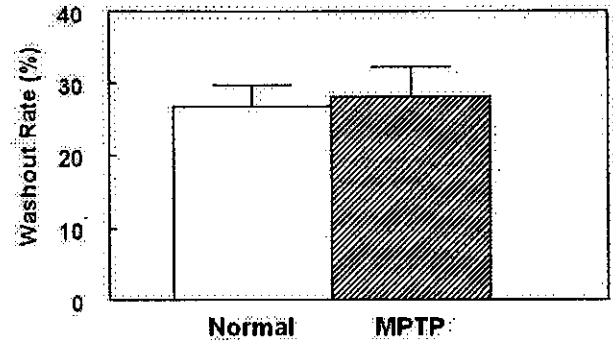
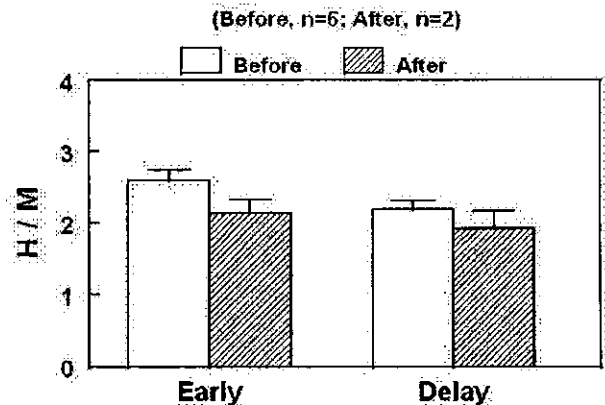


図 2. 心洗い出し率 (WR) の比較

一方、追跡調査を行うことの出来た M 群の 2 頭のサルに関して、l-dopa 投与前後での MIBG の心臓への取り込み、心臓からの洗い出し率を比較検討した。心臓への取り込みを示す H/M は投与後 15 分で  $2.26 \pm 0.13$  と l-dopa 投与前の  $2.59 \pm 0.15$  に比し低値を認め、4 時間後の後期像でも同様の傾向( $1.98 \pm 0.04$  vs.  $2.19 \pm 0.11$ )を認めた(図 3)。

図 3. l-dopa 投与前後での心集積率の比較



(Before=l-dopa 投与前、After=l-dopa 投与後)

また、心臓からの洗い出し率は l-dopa 投与前の 6 頭の平均値  $28.1 \pm 4.2\%$  に比し、l-dopa 投与後には  $31.6 \pm 1.6\%$  と洗い出し率は高値をとる傾向にあった(図 4)。これらの結果は人の検討において認められるパーキンソン病患者の MIBG の心臓からの洗い出し率の異常亢進の中に薬剤、特に

l-dopa の影響があることが示唆される所見であると考えられた。

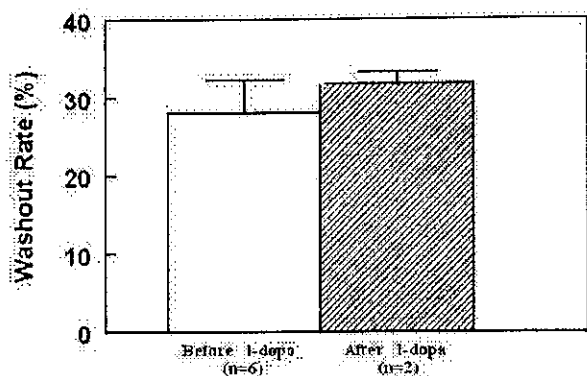


図4. l-dopa 投与前後での心洗い出し率の比較

#### 考察

無治療の MPTP 処理パーキンソン病モデルにおいては、臨床上パーキンソン病患者に認められるような心臓への MIBG の取り込み低下、洗い出し亢進は認められず、むしろ取り込みの亢進が認められた。

100mg/日の l-dopa 投与を 60 日間投与した MPTP 処理パーキンソン病モデルにおいては、投与前に比べて MIBG の取り込み低下する傾向、洗い出し率が亢進する傾向を認めた。

#### 結論

無治療の MPTP 処理パーキンソン病モデルにおいては、臨床上パーキンソン病患者に認められるような心臓への  $^{123}\text{I}$ -MIBG の取り込み低下、洗い出し亢進は認められず、むしろ取り込みの亢進を認められたことより、パーキンソン病患者で認められる  $^{123}\text{I}$ -MIBG 心筋シンチグラムの取り込み低下の臨床的意義に関して今後の更なる検討が要する事が示唆された。

## パーキンソン病の認知機能 —脳磁図を用いて—

加知 輝彦<sup>1)</sup>, 山田 孝子<sup>1)</sup>, 中村 昭範<sup>2)</sup>, 文堂 昌彦<sup>3)</sup>, 阿部 祐士<sup>1)</sup>,  
鷺見 幸彦<sup>1)</sup>, 加藤 隆<sup>4)</sup>, 伊藤 健吾<sup>4)</sup>

- 1) 国立療養所中部病院 神経内科
- 2) Max Planck Institute of Cognitive Neuroscience
- 3) 国立療養所中部病院 脳神経外科
- 4) 国立長寿医療研究センター 生体機能研究部

**研究要旨** 顔の画像刺激による脳磁場反応を測定し、パーキンソン病における顔の視覚認知機構の異常を検討した。痴呆のないパーキンソン病患者(PD)6名及び年齢をマッチさせた健常対照者(対照)13名を対象に、未知のヒトの顔、顔を格子状にスクランブルしたもの、及び果物の各画像の刺激による誘発磁場反応を記録した。顔刺激後、頂点潜時が93~123 msの成分100mが記録され、続いて156~190 msの成分160mFが得られた。PDにおける160mFの頂点潜時は、対照に比べ有意( $p<0.05$ )に延長した。一方、100m頂点潜時はPD、対照で有意差はなかった。100m電源は一次視覚野に推定され、160mF電源は顔に特異的に反応する部位がある紡錘状回に推定された。PDにおける未知の顔認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの視覚処理過程の異常が示唆された。

### はじめに

「顔の認知」はヒトが社会生活を行う上で重要な視覚情報処理であるが、痴呆性疾患ではごく親しい人物の顔さえもわからないといった認知障害がしばしば認められる。パーキンソン病(PD)は運動障害が前景であるが、認知障害は、特に病期の進行時に臨床的に問題となり、運動障害と並んで重要な症状である。PDにおける顔の認知機能に関して神経心理学的検討では、言葉に比べ顔の再認再生の障害が報告されている。しかしその障害が、視覚情報入力後、第1次視覚野から顔認知、記憶のどのレベルであるのか明らかにされていない<sup>1), 2)</sup>。

電気生理学的研究から、顔視覚刺激に対して特異的に誘発される電位/磁界が、刺激から約160 msの頂点潜時で記録され、右優位に紡錘状回から電源推定が報告されている<sup>3)-5)</sup>。PET<sup>6)-9)</sup>、fMRI<sup>10)-11)</sup>の研究からも、両側の下後頭側頭部、特に紡錘状回が顔の認知に関わっていることが報告されている。

これまで、パーキンソン病における顔認知機能の電気生理学的な検討はほとんど行われていない。そこで今年度われわれは、脳磁図を用い、パーキンソン病患者を対象に視覚誘発磁場反応を記録し、パーキンソン病におけ

る顔認知機能について検討した。

### 方法

対象は、パーキンソン病(PD)患者6名(平均年齢±SD:63.7±7.3歳, 男3:女3)であり、年齢をマッチさせた健常者(対照)13名(65.5±9.8歳, 男4:女9)を対照とした。PDはMMSEで27点以上であり、痴呆はなく、Hoehn and Yahrの重症度はstage IIIであった。治療として、全例L-DOPAなどの抗パーキンソン病薬を服用しており、wearing-offのある例では、薬が奏効しているon-periodの時間帯に検査を施行した。PD、対照とも全例右利きで、検査前に視力検査を施行し、裸眼視力または矯正視力が1.0以上とした。検査は病院の倫理委員会の承認を得た上でを行い、検査の前にその内容、安全性について被検者に説明し、文書で承諾を得た。

視覚刺激は顔(未知で無表情の正面像)、そのスクランブル画像、フルーツ、十字である。顔、スクランブル、フルーツの画像はそれぞれ10種類で200回、十字は1種類で60回、総計660回、ランダムに刺激を提示した<sup>5)</sup>。刺激の提示間隔は1000-1500 ms。十字が提示されたときにボタンを押すよう指示して、覚醒をはかり、検査中カメラでモニターした。



眼前約 140 cm のスクリーンに画像を提示し、画面の中心に固視点を設置した。記録の収集は 4D Neuroimaging 社製 74 チャンネル脳磁図を用い、センサーを両側後頭側頭部にあてた側臥位と、後頭前頭部にあてた仰臥位の状態で記録した。サンプリング周波数は 520.8 Hz、分析時間はトリガー前 100 ms から後 500 ms とした。

電源位置は single ECD (等価電流双極子) model もしくは Leaner estimation を用いて計算し、得られた ECD の座標をそれぞれの被検者の頭部 MRI に重ね合わせて発生源の局在を推定した。

得られた結果は Mann-Whitney の U-test を用いて統計を行った。

### 結果

視覚刺激後、頂点潜時が 93~123 ms の成分 100m が記録された。それに続いて 156~190 ms の潜時で 160m 成分が得られた。100m は刺激の種類にかかわらず安定して同様に誘発された。一方、160m は、顔刺激では高振幅で明瞭に誘発されたが、スクランブル画像やフルーツでは被検者により波形が異なり、安定しては得られなかった(図 1)。顔を提示したときの 160m を 160mF とし、検討した。

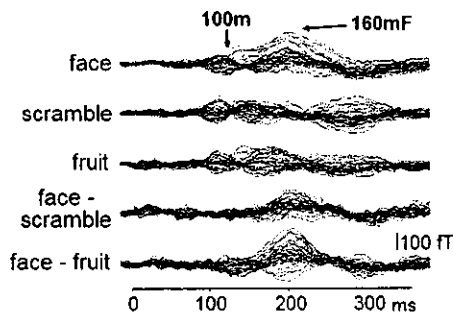


図 1. PD における視覚刺激に対する誘発脳磁場反応

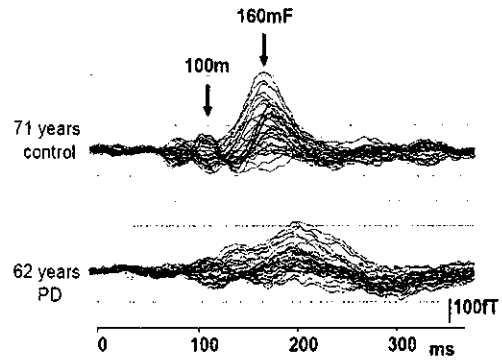


図 2. PD と対照における顔刺激に対する誘発脳磁場反応の比較

図 2 は PD と対照における代表波形である。100m の電源は一次視覚野に推定され、160mF は顔に特異的に反応する部位がある紡錘状回に推定された(図 3)。

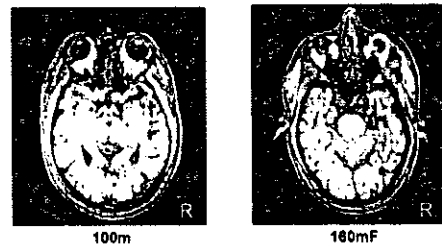


図 3. PD における 100m、160mF の推定発生源

100m 頂点潜時は PD、対照でそれぞれ  $108.2 \pm 11.6$  ms、 $107.7 \pm 6.6$  ms あり、両群間で有意差はなかった。一方、160mF 頂点潜時は PD、対照で  $177.6 \pm 5.3$  ms、 $167.7 \pm 9.0$  ms で、対照に比べ PD で有意 ( $p < 0.05$ ) に延長していた。また 100m と 160mF との頂点間潜時  $160mF - 100m$  は、それぞれ  $69.5 \pm 11.3$  ms、 $59.2 \pm 7.3$  ms であり、有意差は得られなかったが PD で延長する傾向が認められた。

### 考察

顔刺激に対して特異的に誘発される 160mF は PD において対照に比べ有意に延長していた。一方、一次視覚野を電源とする 100m は両群間で有意差はなかった。160mF は紡錘状回から電源が推定された。これらの結果から PD では未知の顔の認知障害の基盤として一次視覚野から紡錘状回までの異常が

示唆された。

脳波や脳磁図を用いた研究から、顔の画像刺激で特異的に誘発される反応成分 N170 が約 160-180 ms の頂点潜時で見られることが報告されている<sup>3)-5)</sup>。PET<sup>6)-9)</sup>、fMRI<sup>10),11)</sup>の研究でも、顔の画像課題により右紡錘状回の賦活が多く報告されている。今回の結果で誘発された成分 160mF は、頂点潜時、推定電源から、N170 などの顔刺激と関連した誘発成分と一致すると考えられた。

神経心理学の報告から、PD では物体に比べ顔の recognition memory の障害が選択的にみられるとの報告ある<sup>12)</sup>。今回の結果は、物体に関しては比較を行っていないが、顔の認知に異常がある点で矛盾しない結果である。recognition memory の研究では、課題に注意を向け、記憶する脳内課程まで含まれた情報処理を検討しており、その間の異常を指摘している。一方、今回の検討では十字に注意を向ける課題であり、顔刺激に対しては、せいぜい受動的な注意しか向けられていない課題を設定した。従って、顔認知の情報処理過程の中で記憶を要しない比較的早期の段階の障害が示唆された。

顔刺激で誘発された 100m 成分と、視覚誘発反応で一次視覚野から誘発される P100/P100m との異同について、頂点潜時や推定される電源から両者は同様の成分と考えられた。

今回検討した PD は痴呆がなく、160mF 異常は全般的な知的機能障害を反映したものではない。また、臨床的に顔の認知機能の低下は明らかではなく、今回の結果は、痴呆のない PD において潜在的な未知の顔の認知機能の低下を示すものと考えられる。脳磁図は安全性に優れており、認知機能の評価法の一つ

として臨床的に有用と考えられる。

#### 結論

顔画像刺激で特異的に反応する誘発磁場反応 160mF を PD で記録し、PD の認知機能の中で未知の顔認知過程の異常を検討した。PD では、紡錘状回から電源が推定された 160mF の頂点潜時が対照に比べ延長し、一時視覚野が活動源の 100m は両者で有意差はなかった。PD における未知の顔認知異常の基盤として、一次視覚野から紡錘状回に至る処理過程に異常があることが示唆された。

#### 文献

- 1) Cousins R et al: *Neuropsychologia*, 837-847, 2000
- 2) Dewick HC et al: *Neuropsychologia*, 785-802, 1991
- 3) Allison T et al: *J Neurophysiol*, 71: 821-825, 1994
- 4) Allison T et al: *Cerebral Cortex*, 415-430, 1994
- 5) Nakamura A et al: *Neuroscience Letters*, 13-16, 2001
- 6) Sergent J et al: *Brain*, 15-36, 1992
- 7) Kapur N et al: *Cortex*, 31: 225-230, 1995
- 8) Nakamura K et al: *Brain*, 123: 1903-1912, 2000
- 9) Dubois S et al: *NeuroImage*, 9: 278-289, 1999
- 10) Puce A et al: *J Neurophysiol*, 1192-1199, 1995
- 11) Kanwisher N et al: *J Neurosci*, 17(11): 4302-4311, 1997

## グリア細胞における $\alpha$ -synuclein の機能

研究協力者 下濱 俊，河野 隆一，河本 恭裕，澤田 秀幸<sup>1)</sup>

1) 京都大学医学研究科臨床神経学

**研究要旨** パーキンソン病をはじめとするいくつかの神経変性疾患で出現するグリア細胞内 $\alpha$ -synuclein 陽性封入体に着目し，グリア細胞における $\alpha$ -synuclein の機能を解明することを目的とした．野生型 $\alpha$ -synuclein は細胞内カルシウム依存性にグリア細胞に BDNF を誘導・産生する機能を持ち，神経細胞保護的な機能を持つ可能性が示唆された．

はじめに

$\alpha$ -synuclein は，常染色体優性遺伝性家族性パーキンソン病の原因遺伝子として報告され<sup>1,2)</sup>，パーキンソン病の病理学的特徴であるレビー小体の主要な構成成分としても報告されている．近年，パーキンソン病の黒質グリア細胞にも $\alpha$ -synuclein 陽性の封入体が出現することが報告されているが<sup>3)</sup>，その機能についての報告は現在のところ認められない．さらに，レビー小体型痴呆，進行性核上性麻痺，ピック病，大脳皮質基底核変性症，筋萎縮性側索硬化症等の神経変性疾患でも主病変部位に $\alpha$ -synuclein 陽性の封入体が出現することが報告されていることから，これらの神経変性疾患の病態にグリア細胞内 $\alpha$ -synuclein が関与していると考えられる<sup>4,5)</sup>．

今回我々は， $\alpha$ -synuclein のグリア細胞内での機能を Neurotrophin 産生の観点から mRNA，蛋白レベルで検討することを目的とした．

方法

ラット C6 グリオーマ細胞にヒト $\alpha$ -synuclein（野生型，変異型）を過剰発現させた系を確立し，その系を用いて，NGF，BDNF の誘導について RT-PCR 法，ELISA 法を用いて検討した．

C6 での BDNF 誘導メカニズムについてカルシウムキレーターである BAPTA，BAPTA-AM，小胞体カルシウム-ATP ポンプ阻害剤の Thapsigargin，アデニレートサイクレース阻害剤の 2',5'-dideoxyadenosine，プロテインキナーゼ A 阻害剤の H-89，プロテインキナーゼ C 阻害剤の Gö6976，MAP キナーゼキナーゼ阻害薬の PD9805，CaM キナーゼ阻害薬の KN-93 を用いて検討した．

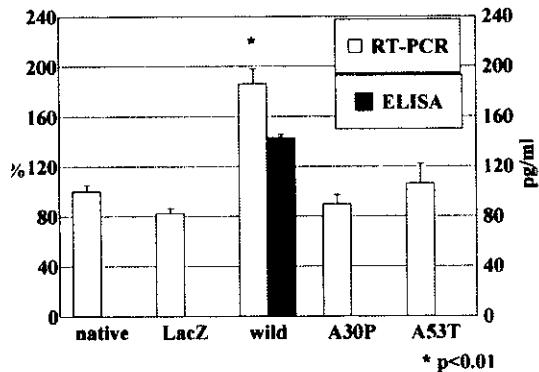
また，ヒト脳を用いて $\alpha$ -synuclein と BDNF の発現パターンについて免疫染色法を用いて検討した．

結果

ヒト野生型 $\alpha$ -synuclein を過剰発現させた clone でのみ BDNF mRNA の発現が増加し，蛋白レベ

ルでも産生・分泌は増加していた(Fig 1)。外来遺伝子を発現させていない細胞、コントロール遺伝子であるβガラクトシダーゼ遺伝子を過剰発現させた細胞、変異型αsynucleinを導入したcloneではBDNF mRNA, 蛋白レベル共に上昇は認めなかった。

Figure 1.

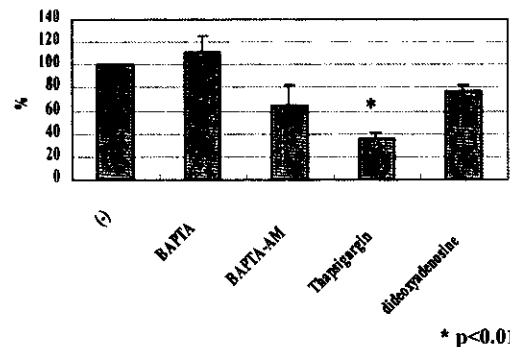


半定量的RT-PCR：野生型αsynuclein発現細胞でBDNF mRNA発現量の増加を認める。  
BDNF ELISA：野生型αsynuclein発現細胞でのみmedium内に分泌されたBDNFが測定できる。他の細胞は測定限界以下。

このBDNF増加メカニズムについて、これまでの報告を参考としてカルシウムキレーター、アデニレートサイクラーゼ阻害剤、小胞体カルシウム-ATPポンプ阻害剤等を用いて検討した結果、細胞外カルシウム、cAMPには依存せず、細胞内カルシウム依存性であった(Fig 2)。さらにカルシウムの下流メカニズムについてプロテインキナーゼC, プロテインキナーゼA, MAPキナーゼ, CaMキナーゼの阻害剤を用いて検討したが、有意な変化を認める薬剤はなく今回は同定できなかった。

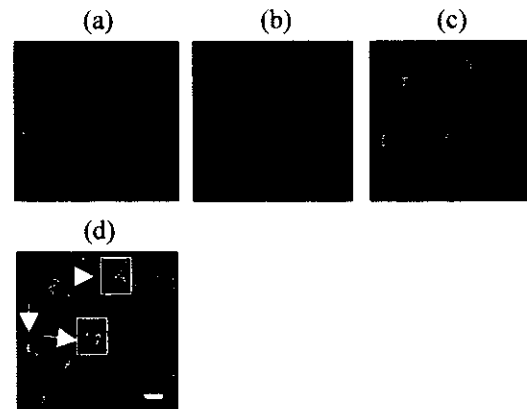
また、ヒト脳ではαsynucleinとBDNFはアストロサイト内で共存し、αsynuclein陰性のアストロサイトはBDNFを発現していなかった(Fig 3)。

Figure 2.



小胞体のCa<sup>2+</sup>-ATPase阻害剤であるThapsigarginのみが有意にBDNF産生を抑制する。細胞内カルシウムキレーターであるBAPTA-AMもBDNF産生を抑制する傾向があるが、有意ではない。

Figure 3.



GFAP陽性細胞にαsynuclein, BDNFが共存しており(arrow), αsynucleinを発現していないアストロサイトはBDNFも発現していない(arrow head).

(a)BDNF抗体, (b)αsynuclein抗体,  
(c)GFAP抗体による免疫染色。  
(d) merge画像

#### 考察

近年、パーキンソン病やそれ以外の神経変性疾患でも主に病変部位にαsynucleinを含んだグリア細胞内封入体が出現することが報告されている<sup>3-5)</sup>。そこで、今回我々は神経細胞障害に反応してアストロサイトでαsynucleinが誘導され、神経細胞保護的な機能を持つという仮説を立て、それを検証するためにラットC6グリオーマ細胞にヒトαsynucleinを過剰発現させた細胞系を確立し、

神経栄養因子の発現・産生について検討した。その結果、ヒト野生型  $\alpha$ synuclein のみが、BDNF mRNA、蛋白の産生を誘導する機能を持ち、家族性パーキンソン病原因変異を持った  $\alpha$ synuclein を発現させた細胞ではその効果は認めなかった。変異による機能変化の詳細なメカニズムについて今回は解明できなかったが、野生型  $\alpha$ synuclein による細胞内カルシウム依存性の BDNF 産生メカニズムが存在することを証明し、変異により  $\alpha$ synuclein による BDNF 産生メカニズムが働いていない可能性が考えられた。

また、正常脳アストロサイト内で  $\alpha$ synuclein と BDNF は共存し、 $\alpha$ synuclein を発現していないアストロサイトは BDNF の発現もないことから、正常状態でも  $\alpha$ synuclein はアストロサイトに存在し、BDNF を誘導・産生する機能を持っていると考えられた。また、神経変性疾患の主病変部位では、神経細胞障害に伴いアストロサイトで  $\alpha$ synuclein の発現が誘導され、BDNF の産生が増大することが示唆された。

#### 結論

$\alpha$ synuclein のグリア細胞での機能の一つは BDNF を誘導することであり、Mutant  $\alpha$ synuclein はこの機能を喪失していた。

#### 文献

- 1) Polymeropoulos M.H., et al. Science 276, 2045-2047, 1997
- 2) Kruger R., et al. Nat Genet 18, 106-108, 1998
- 3) Hishikawa N., et al. Neuropathol Appl Neurobiol 27, 362-372, 2001
- 4) Takeda A., et al. Acta Neuropathol 99, 296-304, 2000
- 5) Mezey E., et al. Nat Med 4, 755-757, 1998

## 細胞内封入体形成過程における p62 および $\alpha$ -synuclein の役割

中島健二<sup>1)</sup>，中曾一裕<sup>1)</sup>，吉本祐子<sup>1)</sup>，中野俊也<sup>1)</sup>，福原葉子<sup>1)</sup>，  
安井建一<sup>1)</sup>，竹島多賀夫<sup>1)</sup>

### 1) 鳥取大学医学部脳神経内科

**研究要旨** Lewy 小体(LB)の構成成分や，封入体形成過程の解析を行う事は，パーキンソン病(PD)の発症メカニズムを解明する上で有用な戦略である。我々は，MG132 処理 PC12 細胞による実験的封入体モデルを用い，p62 および  $\alpha$ -synuclein の封入体形成過程への関与を検討した。p62 は PD 脳における LB および細胞内封入体の構成成分でありユビキチンと結合していた。プロテアソーム阻害下での p62 増加は転写レベルでの発現量増加によるものであり，転写抑制剤の投与により p62 の増加，封入体形成の両者が抑制された。封入体形成が抑制された細胞は脆弱性を示した。p62 は封入体形成に積極的に関わり，細胞死抑制に働く可能性が考えられた。また，細胞内でミトコンドリア毒が cytochrome c の遊離を引き起した場合， $\alpha$ -synuclein の凝集を加速すること，チロシン水酸化酵素の阻害が凝集体形成を抑制することを合わせて報告した。

#### はじめに

パーキンソン病(PD)は中脳黒質のドーパミン神経細胞の脱落により発症する原因不明の神経変性疾患であり，病理組織学的に神経細胞内に Lewy 小体 (LB) が認められることを特徴とする。近年，家族性 PD の原因として同定された遺伝子産物である  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ syn)やパーキン蛋白が，LB 主要構成成分であることが報告された。さらに，蛋白分解に重要な役割を担うユビキチン(Ub)や  $\alpha$ syn 結合蛋白である synphilin-1 なども LB の構成成分であり，いずれも PD の発症に深く関与する分子である。すなわち，LB の構成成分たるタンパク質の機能解析や，それらが封入体を形成する過程の解析を行う事は，PD の発症メカニズムを解明する上で極めて有用な戦略と考えられる。しかし，細胞内封入体の存在意義については諸説あるものの，確立した解答は得られていない。

酸化ストレス関連蛋白であり，Ub 結合能を有する p62 (A170) が LB をはじめとする各種神経疾患関連の封入体に存在する事が報告されつつある<sup>1)</sup>。我々は，p62 が脳内では神経細胞に発現が認められ，興奮性神経毒性により発現量が増加する事を報告し，脳内の不適当な環境に対するストレス応答と考え

られる事を報告してきた。これらの事実は，p62 が PD あるいは他の神経変性疾患の封入体形成に何らかの役割を果たしていることを示唆するものであり，本分子の機能解析をすることにより，新たな視点からの病態把握をすることが可能になると考えられ，有用な研究戦略と考えられた。

#### 方法

**LBおよび細胞内封入体の免疫染色，アポトーシス細胞の検出：**PD患者剖検脳の切片，およびPC12細胞内封入体モデルを用い，抗p62抗体，抗Ub抗体，抗 $\alpha$ syn抗体で細胞内封入体の染色性を検討した。アポトーシス細胞はヘキスト33342を用いて核の形態で判定した。

**In vitro aggregation解析：**ヒト脳ライセートを用い，cytochrome c，チロシン，L-DOPA，dopamineが $\alpha$ synなどの重合に与える影響を検討した。

**培養細胞封入体モデルを用いた封入体形成過程の解析：**PC12細胞を5%FBSおよび50 ng/ml NGFを含むDMEM/F12培地で神経様に分化さ

せた後、プロテアソーム阻害薬MG132 (250 nM) を24時間作用させることにより、LB類似の封入体を形成させ、細胞内封入体モデルとした。転写抑制はactinomycin D (ActD)、チロシン水酸化酵素(TH)抑制は $\alpha$  methyl-tyrosin ( $\alpha$  MT)を用いた。

**P62のUb結合能** : P62とUbの結合は免疫沈降法、およびUbセファロースビーズを用いて共沈させ、ウエスタンブロットで検出した。p62の転写活性はノザンブロットで検出した。

### 結果

p62はPD脳におけるLBおよび細胞内封入体の構成成分であり (図1), Ubと結合していることを免疫沈降法で確認した (図2)。

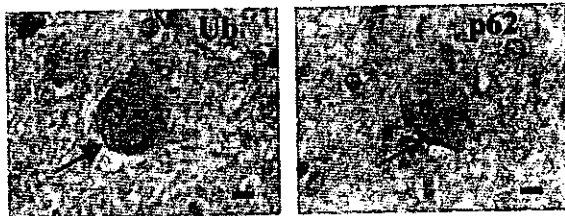


図1 (上左右)PD 剖検脳におけるLBはUbおよびp62陽性である (Bar=10  $\mu$ M). (左) PC12細胞内に形成した封入体もp62陽性である。

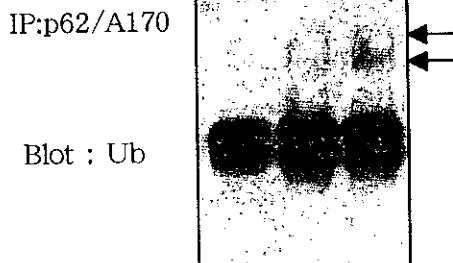
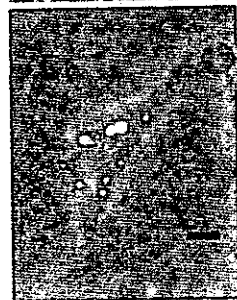


図2 免疫沈降によりp62とUbが結合している事を確認した (矢印).  
1: NGF,  
2: NGF & MG132 24h,  
3: NGF & MG132 48h.

プロテアソーム阻害下でp62増加が認められた

が、蛋白分解抑制によるのではなく、ノザンブロットにより、転写レベルで発現量が増加していることを見出した (図3)。MG132投与により認められるp62の増加は転写抑制剤ActDを投与する事により、ほぼ完全に抑制され、同時に封入体形成も抑制された (図4)。

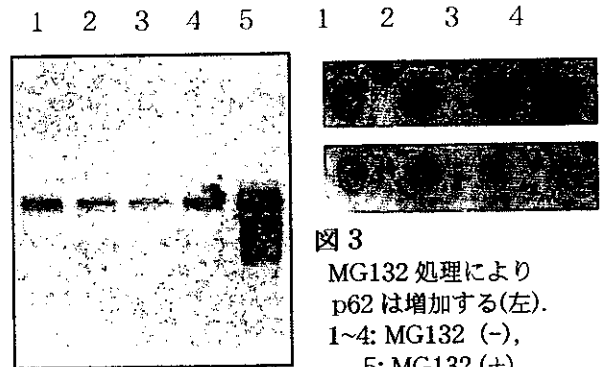


図3 MG132 処理によりp62は増加する(左).  
1~4: MG132 (-),  
5: MG132 (+).

p62はMG132処理により転写レベルで増加する。  
1: 未処理, 2: NGF, 3~4: NGF&MG132.  
上段: p62, 下段:  $\beta$ actin.

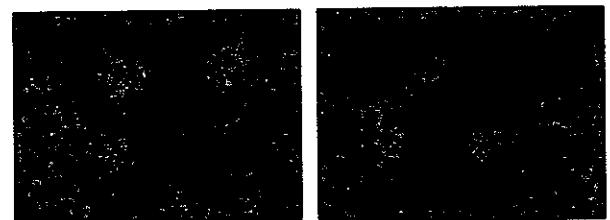
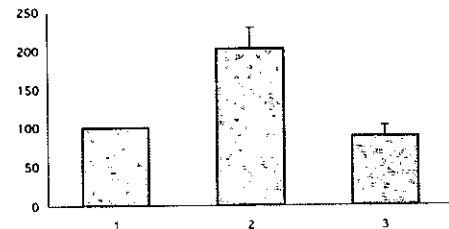


図4 MG132 投与による p62 増加は ActD 投与で抑制される。グラフは p62 レベルを示す (%control) .1: NGF (control), 2: NGF & MG132, 3: NGF & MG132 & ActD. (下右)MG132 投与により形成される p62 陽性封入体が、(下左) ActD の同時投与により抑制。

今回用いた細胞内封入体モデルでは、約80%の細胞に封入体が認められ、5-10%の細胞には、クロマチン凝集など、核の初期アポトーシス変化が認められた。封入体が形成された細胞にアポトーシス変化はなく、一方で封入体を有さない細胞には高率にアポトーシス変化が認められた (図5)。

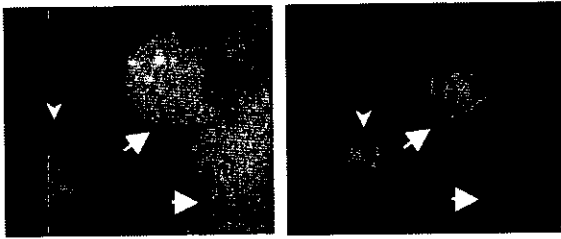


図5  
封入体を有する細胞（太矢印）にはアポトーシス変化は認められないが、封入体を有さない細胞は高率にアポトーシス変化を認めた（細矢印）。  
左：p62抗体，右：ヘキスト 33342。

$\alpha$ synはヒト脳ライセート中においてミトコンドリアと共存させる事により，ウエスタンブロット上の二量体が増加し，凝集が促進されたと考えられた。さらにcytochrome cとの共存により同様の凝集が認められた事から，細胞内においてミトコンドリア毒がcytochrome cの遊離を引き起こした場合には， $\alpha$ synの凝集を加速する可能性が示された（図6）。実際，MPP<sup>+</sup>，ロテノン，スタウロスポリンといったミトコンドリア毒性物質はMG132による封入体形成を促進した。

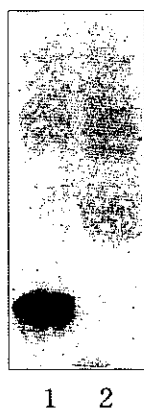


図6  
cytochrome cは $\alpha$ synの重合化を促進する。  
単量体（矢印），  
二量体（矢頭）。  
1：cytochrome c (-)，  
2：cytochrome c (+)

細胞内蛋白凝集に関してのdopamineの作用を検討するために，TH阻害薬である $\alpha$ MTを用いた。 $\alpha$ MTはMG132による細胞内封入体形成を濃度依存的に抑制した。100  $\mu$ Mの $\alpha$ MT投与により，80%前後に認められた封入体含有細胞を40%以下まで減少させた（図7）。

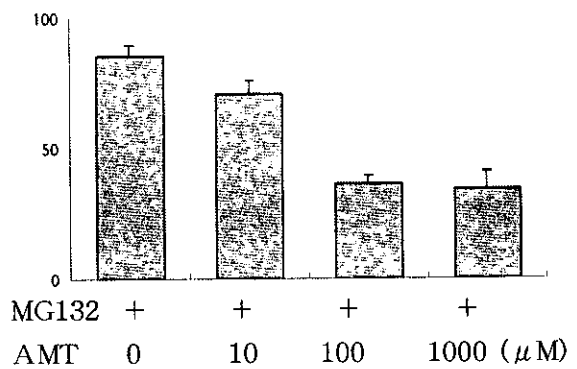
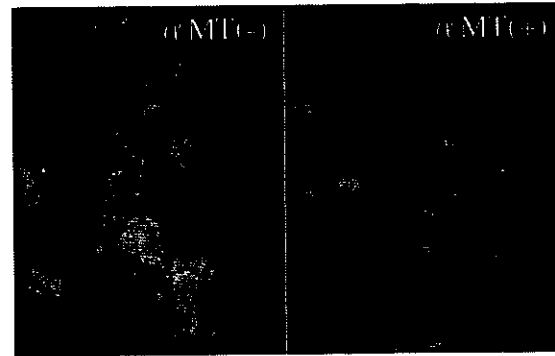


図7  
（上写真：Ub抗体）MG132により形成される細胞内封入体は $\alpha$ MTにより抑制される。  
下段：封入体を有する細胞の割合（%）を示す。  
 $\alpha$ MTは濃度依存的に細胞内封入体形成を抑制する。

#### 考察

PDで認められるLBのように，神経変性疾患の多くに様々な細胞内封入体が観察される。しかし，その存在意義や，形成機構はいまだ明らかにされていない。近年，封入体形成にユビキチンプロテアソーム系の障害が深く関与している事が報告されているが，我々はそれ以外の因子に注目して，検討した。近年，封入体との関連が示唆されるp62は<sup>9</sup>Ub結合能を有するのみならず，酸化ストレスや，プロテアソーム阻害によるアポトーシスを抑制する事が報告されており<sup>2)</sup>，LBや細胞内封入体の構成成分として注目に値する。さらに，p62がプロテアソーム阻害下で転写活性の増加により誘導され，p62陽性封入体を有する細胞でアポトーシスがほとんど認められない事から，封入体そのものは毒性を持たず，むしろ細胞が劣悪な



環境を回避する過程で生じたものである可能性がある<sup>2)</sup>。その中で、p62はUb鎖を目印として、細胞内に増加したmisfold蛋白を一ヶ所に集める役割があると考えられる。

さらに、プロテアソーム阻害による蛋白質凝集の促進因子としてミトコンドリア毒性 (cytochrome cの放出)、dopamineを示し、ユビキチンプロテアソーム系以外にも様々な因子が、PDの病態の中で蛋白凝集に関与していると考えられた。

#### 結論

1) p62はLBや実験的細胞内封入体の構成成分であり、その発現量は転写レベルで積極的に調節されていた。P62の抑制は結果として封入体形成を抑制する事から、p62はUbを介してUb化misfold蛋白を一ヶ所に集める機能を有すると考えられる。

2) 封入体そのものは毒性を持たず、むしろアポトーシスを回避できた細胞に多く認められた。

3) cytochrome cやdopamineも封入体形成に関わっており、ユビキチンプロテアソーム系以外の因子も重要である。

#### 文献

- 1) E. Kuusisto et al. Neuroreport 12(2001) 2085-2090.
- 2) E. Kuusisto et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. 280 (2001) 223-228.
- 3) L. Shin. Arch. Pharm Res. 21 (1998) 629-633.

## 「神経変性疾患にみられた上衣細胞のユビキチン陽性封入体」 に関する研究

水谷 智彦<sup>1)</sup>，河西 竜太<sup>1)</sup>，山田 寛<sup>1)</sup>，南 正之<sup>1)</sup>，  
山田 勉<sup>2)</sup>，羽鳥 努<sup>3)</sup>，秋間 道夫<sup>3)</sup>

- 1) 日本大学医学部内科学講座神経内科部門
- 2) 日本大学医学部病理学講座
- 3) 東邦大学医学部第一病理学講座

**研究要旨** 上衣細胞におけるユビキチン陽性封入体 (UbIs) に関しては、殆ど知られていない。そのため、我々は42例の種々の神経疾患と10例の非神経疾患を対象に、脳・脊髄から連続切片を作成し、抗ユビキチン抗体を一次抗体とした免疫染色と様々な染色法を用いて、上衣細胞におけるUbIsについて検討した。上衣細胞におけるUbIsの形状は直径4~11 μmで円形から楕円形であった。UbIsはperiodic acid-Schiff染色で淡く染色されたが、他の組織化学染色法、hematoxylin and eosin染色およびユビキチン・epithelial membrane antigen以外の種々の抗体を用いた免疫染色では染色されなかった。UbIsは上衣細胞だけでなく上衣下細胞にもみられた。UbIsは種々の神経疾患と非神経疾患に様々な頻度でみられ、疾患特異性は無かった。本研究は、成人の脳の中心管上衣細胞にUbIsがしばしば認められることを示した最初の報告である。

### はじめに

上衣下にある“tanycytes”では、様々な年齢の正常脳でユビキチン陽性封入体(UbIs)が認められている<sup>1)</sup>のに対し、上衣細胞でのUbIsは、正常の乳児脳にみられたとDicksonら<sup>1)</sup>が1990年に半行記載しているにすぎない。我々は、神経変性疾患のUbIsについて検索していたところ、Machado-Joseph病患者の延髄・脊髄の中心管上衣細胞にUbIsを見出した<sup>2)</sup>。このため、今回、我々は、種々の神経疾患42例と非神経疾患10例を対象とし、様々な染色法を用い、上衣細胞におけるUbIsについて検討したので報告する。

### 方法

日本大学医学部附属板橋病院神経内科の患者で1988年から1997年までに病理解剖された剖検例のうち、脳と脊髄が揃っている種々の神経疾患42例（男性26例，女性16例，平均年齢67.3±10.9歳）と東邦大学付属大森病院にて病理解剖された剖検例で脳と脊髄が揃っている非神経疾患10例（男性5例，女性5例，平均年齢63.2±20.9歳）を対象とした。

10%ホルマリンにより固定された各症例の側脳室・第3脳室・中脳水道・第4脳室・延髄下部・脊髄から4 μmのパラフィン包埋連続切片を作成した。各切片に対してhematoxylin and eosin (HE) 染色

とKlüver-Barrera (KB) 染色を行い、また、ユビキチンに対する免疫染色として、ポリクロナール抗ユビキチン抗体 (50倍希釈; Sigma No. U5379) を一次抗体として、Vectastain kit (Vector Laboratories, California, USA) を用いて、avidin-biotin complex (ABC) 法による免疫組織化学染色を行った。さらに、一部の切片に、モノクローナル抗ユビキチン抗体<sup>3)</sup> (50倍希釈; 井原教授から供与) も一次抗体として用いた。また、上衣細胞にUbIsがしばしばみられる切片を用いて、Bodian染色、methenamine silver染色、Gallyas-Braak染色、Holzer染色、periodic acid-Schiff (PAS) (消化法と未消化法) 染色、Masson trichrome染色、alcian blue染色、phosphotungstic acid染色、Feulgen染色、KB染色の各染色を行った。免疫染色として、epithelial membrane antigen (EMA) (200倍希釈; DAKO No. M0613)、tau、glial fibrillary acidic protein、tubulin、neurofilaments、vimentin、αB crystallin、paired helical filaments、β-protein、ApoEに対する免疫染色も行った。

また、UbIsの性状を調べるために、延髄中心管にみられたUbIsを含む標本を前述の各組織化学染色でそれぞれ染色後、顕微鏡写真を撮影した。その後、カバーガラスを外し、エタノールで脱色後、ポリクロナール抗ユビキチン抗体を用いたABC法で染色

し、光顕写真を撮影した。それから、各組織化学染色と抗ユビキチン抗体染色の光顕写真を比較検討して UbIs の染色性を確認した。

さらに、抗ユビキチン抗体と抗 EMA 抗体を用いて、ABC 法による二重免疫染色と confocal laser microscopy を用いた蛍光二重免疫染色で UbIs の免疫染色性を検討した。

UbIs の電子顕微鏡的構造を観察するために、光顕微鏡下で観察された UbIs のパラフィン切片からカバーガラスをはずし、2.5% glutaraldehyde, 2% osmium で固定し、alcohol と propylene oxide で脱水後、Epon 樹脂に接着させ、その後、超薄切片し、電子顕微鏡下で観察した。

## 結果

上衣細胞の UbIs は PAS 染色 (消化法・未消化法) のいずれでも同程度に淡く陽性に染色された。UbIs は細胞質内に円形あるいは楕円形の封入体として認められ、直径 4~11 $\mu$ m であった (Fig. 1)。HE 染色、Bodian 染色、methenamine silver 染色、Gallyas-Braak 染色、Holzer 染色、Masson trichrome 染色、alcian blue 染色、phosphotungstic acid 染色、Feulgen 染色、KB 染色の各染色法では染色されなかった。また、UbIs はモノクローナルおよびポリクローナルの抗ユビキチン抗体で、ともに同程度に強く陽性に染色され、UbIs の大部分は抗 EMA 抗体にも様々な程度に染色されていた。しかし、他の抗体 (tau, glial fibrillary acidic protein, tubulin, neurofilaments, vimentin,  $\alpha$ B crystallin, paired helical filaments,  $\beta$ -protein, ApoE) を用いた免疫組織化学染色では染色されなかった。

上衣細胞における UbIs は種々の神経疾患群および非神経疾患群でみられ、上衣細胞だけでなく上衣下細胞および残存上衣細胞にもみられた (Table 1)。上衣細胞においては、神経疾患群では 35/38 例 (92.1%)、非神経疾患群では 7/9 例 (77.8%) の症例に UbIs を認めた。また、上衣下細胞においては、神経疾患群では 36/41 例 (87.8%)、非神経疾患群では 10/10 例 (100%) の症例に UbIs を認め、両群間に有意差はみられなかった。上衣細胞における UbIs を部位別に検討すると、延髄中心管と脊髓中心管の上衣細胞では神経疾患群に有意に多かったが、その他の部位では有意差はみられなかった。神経疾患群・非神経疾患群の両群合わせた UbIs の分布としては、側脳室、第 3 脳室の上衣細胞・上衣下細胞よりも延髄・脊髓中心管の上衣細胞・上衣下細胞や中脳水道、第 4 脳室の上衣下細胞によりしばしば認められた。

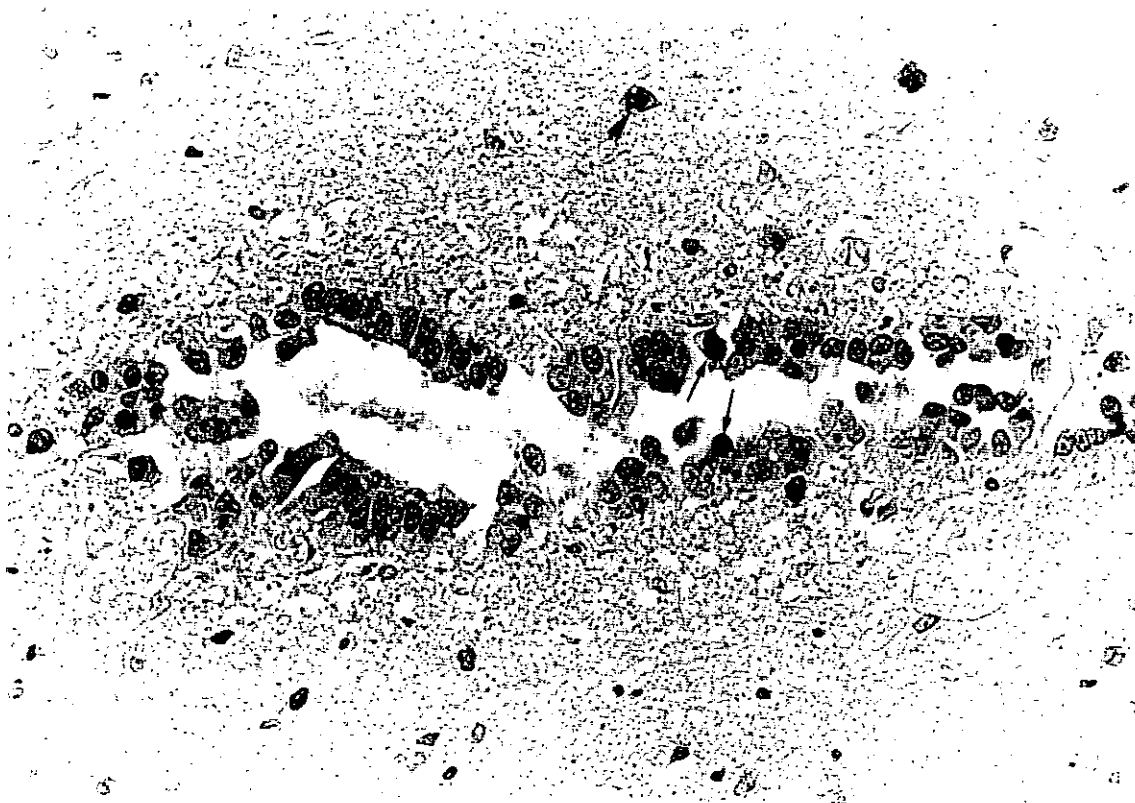
## 考察

上衣細胞にみられる UbIs は、これまで正常乳児脳で記載されている<sup>1)</sup>のみであるが、今回の研究で、延髄下部・脊髓の中心管では、神経疾患の有無に関わらず、この UbIs がしばしば認められることが判明した。延髄下部・脊髓中心管の上衣細胞に UbIs がしばしばみられることを示した研究は、この報告が初めてである。当初、我々は UbIs を神経変性疾患例に認めたが、この UbIs は様々な神経疾患にみられ、疾患特異性はなかった。また、UbIs は中心管の上衣細胞のみでなく、上衣下層にみられる細胞や残存した上衣細胞にもしばしばみられた。上衣下細胞に UbIs がみられたという本研究の所見は、種々の年齢層の正常脳の上衣下細胞である

“tanycyte” の細胞質内に UbIs がみられたという Dickson らの報告<sup>1)</sup>に合致していた。“tanycyte” は Golgi 法では同定可能である<sup>4-6)</sup>が、我々の用いた通常の染色法や免疫組織化学染色法では同定困難であるため、本研究では、「上衣下 UbIs」と記述したが、本研究でみられた上衣下 UbIs は、形態学的には Dickson らの記載した tanycyte の UbIs と同様であった。

UbIs の構成成分はさらに検討する必要があるが、未消化 PAS 染色での陽性度が消化後 PAS 染色でも変わらないことから、PAS 陽性物質はグリコーゲンではなく、何らかの糖蛋白を含んでいるのではないかと推測している<sup>7)</sup>。

UbIs には今回の研究で見出された上衣細胞の UbIs 以外に、種々のものがこれまでに報告されている。この中には、Biondi 小体、Lewy 小体、皮質型 Lewy 小体、骨格筋にみられる細胞質内封入体、Mallory 小体、Pick 小体などが含まれているが、これらの封入体と今回の研究の UbIs とは以下の点で異なっていた。すなわち、Biondi 小体は脈絡叢上皮細胞の細胞質内にみられ、加齢によって増加する UbIs であるが、この封入体は嗜銀性があり、tau,  $\beta$  protein に対する免疫染色で陽性を示す<sup>5, 8, 9)</sup>のに対し、我々の上衣細胞 UbIs は、嗜銀性や tau,  $\beta$  protein に対する免疫染色で陽性を示さなかった。また、我々の上衣細胞 UbIs は、 $\alpha$ B crystallin や tau に対する免疫染色が陰性であるので、Lewy 小体、皮質型 Lewy 小体、骨格筋にみられる細胞質内封入体、Mallory 小体、Pick 小体とは異なっていた<sup>10)</sup>。



**Fig. 1** Intracytoplasmic inclusions in the endepidymal cells of the central canal of the caudal medulla in Machado-Joseph disease. UbIs were found in the endepidymal cells (arrow), as well as in the subependymal cells (arrowhead).  $\times 490$ .

**Table 1** Distribution of the UbIs

Group	lateral ventricle		third ventricle		cerebral aqueduct		fourth ventricle		central canal				entire brain	
	EC	SEC	EC	SEC	EC	SEC	EC	SEC	EC	SEC	EC	SEC	EC	SEC
Neurological group	2/42	5/42	4/42	12/42	8/42	20/42	2/42	15/42	14/25 <sup>1)</sup>	13/25	28/42 <sup>1)</sup>	19/42	35/38	36/41
(%)	4.8	11.9	9.5	28.6	19.0	47.6	4.8	35.7	56.0	52.0	66.7	45.2	92.1	87.8
Control group	0/10	4/10	2/10	6/10	3/10	8/10	2/10	6/10	3/8	7/8	3/10	5/10	7/9	10/10
(%)	0.0	40.0	20.0	60.0	30.0	80.0	20.0	60.0	37.5	87.5	30.0	50.0	77.8	100.0
Both groups	2/52	9/52	6/52	18/52	11/52	28/52	4/52	21/52	17/33	20/33	31/52	24/52	42/47	46/51
(%)	3.8	17.3	11.5	34.6	21.2	53.8	7.7	40.4	51.5	60.6	59.6	46.1	89.4	90.2

<sup>1)</sup> more frequent than in the control group ( $p < 0.05$ , Fisher's exact probability test). EC endepidymal cell, SEC subependymal cell.

上衣細胞・上衣下細胞にみられたUbIsの生成機序は不明であるが、1) 閉塞ないし閉塞に近い延髄下部・脊髄の中心管の上衣細胞や上衣下細胞という上衣としての機能が活発でない部位にしばしばみられることから、UbIsは上衣細胞・上衣下細胞に起きた何らかの変性により生じた物質で、それにユビ

キチンが結合して蛋白分解を受け易くしている<sup>10)</sup>、2) 上衣細胞には分泌機能・吸収機能・輸送機能がある<sup>12, 13)</sup>といわれているが、中心管の上衣細胞・上衣下細胞にもこのような機能が残存し、細胞内の代謝産物が蓄積してUbIsを生じた、などの可能性が推測可能である。