

図8 師板内レビー小体病理陽性所見
a. 師板内陽性所見(矢印). b. 拡大像.
(文献6より引用改変)

病理より出現頻度が高く(図7), また扁桃核の病変と強く関係することを明らかにした⁵⁾. また, 嗅上皮にも病変が及ぶ可能性を示唆する結果を得た(図8)⁶⁾.

現在高齢者ブレインバンクでは, 老化に伴う, 変性型異常蛋白蓄積の網羅的スクリーニングを行っているが, α シヌクレイン沈着は, 症状を発症した症例の剖検では, 全身に広がっており, 差を見出すことが困難である. しかし, 初期沈着の症例をみれば, 極初期の病変の推測が可能となる(表3). 最も出現頻度が高いのは, 末梢では交感神経節であり, 中枢では嗅球である. この点を考慮すると, レビー小体の進展において, Braakの提唱する経路以外に, 交感神経系を介して伝搬する経路を考慮する必要がある(図6).

今後の展望

非運動症状としての, うつ・アパシー, restless legs

syndrome, 痛みなど, 責任病巣が確立していない症状については, 剖検例の蓄積を待つしかない. 現在治療中のdopamine transporterのSPECTが, MIBGシンチグラフィとともに使われるようになれば, 末梢自律神経系と, 黒質・線条体系の病変の関連が, *in vivo*で評価可能になることが予想される. レビー小体病理の進展に, 新しい知見が加わることを期待したい.

文献

- 1) 高齢者ブレインバンクホームページ(<http://www.mci.gr.jp/BrainBank/>)
- 2) Saito Y, Kawashima A, Ruberu NN, et al: Accumulation of phosphorylated alpha-synuclein in aging human brain. *J Neuropathol Exp Neurol* 2003; 62: 644-654.
- 3) Ikemura M, Saito Y, Sengoku R, et al: Lewy body pathology involves cutaneous nerves. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67: 945-953.
- 4) Mitsui J, Saito Y, Momose T, et al: Pathology of the sympathetic nervous system corresponding to the decreased cardiac uptake in ¹²³I-metaiodobenzylguanidine (MIBG) scintigraphy in a patient with Parkinson disease. *J Neurol Sci* 2006; 243: 101-104.
- 5) Sengoku R, Saito Y, Ikemura M, et al: Incidence and extent of Lewy body-related alpha-synucleinopathy in aging human olfactory bulb. *J Neuropathol Exp Neurol* 2008; 67: 1072-1083.
- 6) Funabe S, Takao M, Saito Y, et al: Neuropathologic analysis of Lewy-related alpha-synucleinopathy in olfactory mucosa. *Neuropathology* 2012 [Epub ahead of print].
- 7) Braak H, Braak E: Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 1991; 82: 239-259.
- 8) Saito Y, Ruberu NN, Sawabe M, et al: Staging of argyrophilic grains: an age-associated tauopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 2004; 63: 911-918.

トピックス

タウ蛋白と免疫染色

村 山 繁 雄 齊 藤 祐 子

検 査 と 技 術

第 40 卷 第 8 号 別刷

2012 年 8 月 1 日 発行

医学書院

タウ蛋白と免疫染色

むらやましげお さいとうゆうこ
村山繁雄*1・齊藤祐子*2

■ タウの生理学的機能

タウは、微小管関連蛋白の一つで、微小管と結合し、その安定化に寄与する。タウは正常でもリン酸化されているが、リン酸化の生理的意義については、微小管との結合の調整に関与しているらしいことが、仮説として提唱されている。リン酸化されたタウは、胎児では量が多い。また、死後速やかに脱リン酸酵素でリン酸基が外れることがわかっている。しかし、外科材料の場合はこれが当てはまらない。

タウは17番染色体に存在する一つの遺伝子にコードされているが、スプライシングにより、六つのアイソフォームが存在する(図1)。それらは微小管結合部位が3か所か4か所かにより、3リピート(3R)タウと、4リピート(4R)タウに分類される。3Rタウと、4Rタウは、細胞内ではほぼ1:1であることが明らかとなっている。

タウはアルツハイマー神経原線維変化(Alzheimer's neurofibrillary tangle, ADNFT)の主要構成蛋白であるが、それらはリン酸化され、ユビキチン化されていることが明らかとなっている。現在の仮説では、タウがオリゴマー化し、不溶化を獲得した後にリン酸化

化、次いでユビキチン化がほぼ同時に起きることが、培養細胞を用いた検討から明らかになってきた。また、タウ遺伝子異常を伴う、いわゆる19番染色体にリンクした前頭側頭型認知症の研究より、アイソフォームの発現比率が変わることが、上記のタウカスケードにスイッチを入れる要素の一つであることも明らかとなった。

■ タウの翻訳後異常修飾の検出

正常なタウはどの神経細胞にも存在するため、異常構造物を免疫組織科学的に同定するには、オリゴマー特異抗体、リン酸化特異抗体、抗ユビキチン抗体の順に、タウの翻訳後異常修飾を同定できることになる。

現在タウオリゴマー抗体で、免疫組織学的に使用可能なものはない。一方リン酸化タウ特異抗体として、現在最も汎用されているのはAT8である。タウは、最も長いタウのシークエンス(longest tau)で残基の番号付けを行うが、202番のセリンと、205位のスレオニンのリン酸化を認識することが明らかとなっている。この部位は微小管結合部位よりN末側にある。AT8は、胎児脳や外科材料では、正常神経細胞、樹状突起、軸索を認識するため、陽性所見の判定には注意が必要である。また、この202/205のリン酸化部位は、ADNFT形成においては非常に早期に過剰リン酸化が出現し、死後脱リン酸酵素が作用しても、リン酸化が残存することが、検出の基本となっている(図2)。

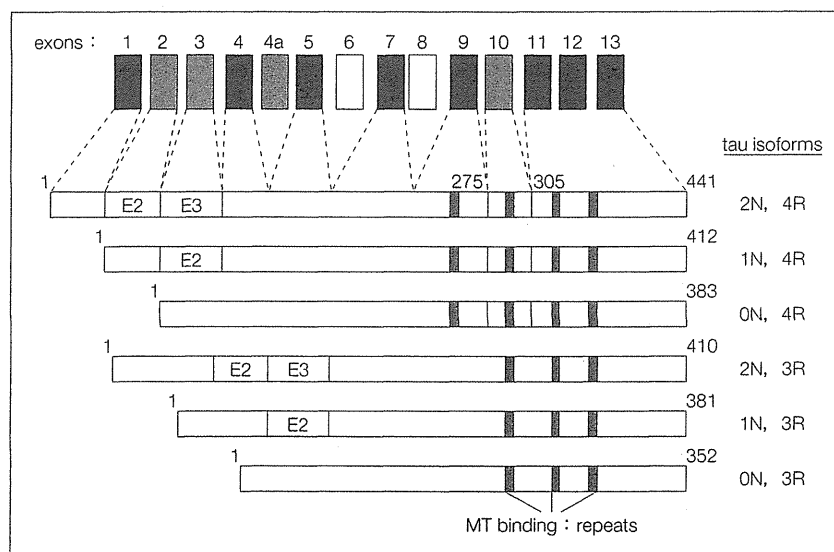


図1 タウのアイソフォーム

タウはエクソン2, 3, 10のスプライシングにより六つのアイソフォームが存在し、微小管結合部位が三つか四つかで、3R, 4Rタウに分類される。

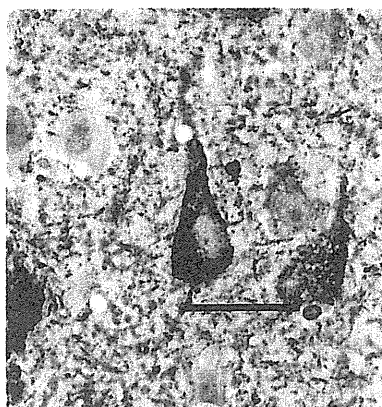


図2 アルツハイマー型神経原線維変化 (AT 8 免疫染色 (bar=20 micron))

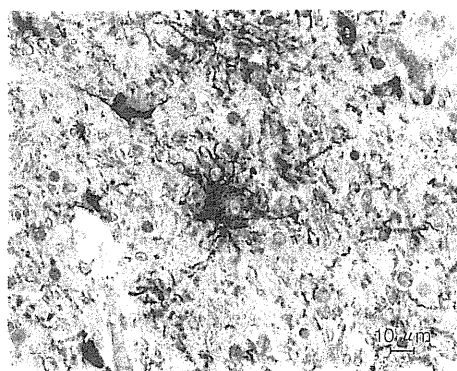


図4 房飾型星状膠細胞 (tuft shaped astrocyte) (RD 4 免疫染色)

蓄積したタウは、N末、C末ともに断片化が進行し、神経細胞体が死滅した後、神経原線維変化のみがアストログリアに取り囲まれる形で存在する ghost tangle の場合、AT 8 では認識されず、よりC末のリン酸化を認識する抗体 (AP 422 など) を用いないと描出できない。

■ タウアイソフォームバランスの異常の検出

ADNFT は、3+4 R タウよりなる。鍍銀染色での形態が類似するため、同じ神経原線維変化の名称を与えられているが、進行性核上性麻痺 (progressive supranuclear palsy, PSP) にみられる神経原線維変化は 4 R タウからなる (図 3)。アイソフォームのアンバランスを伴うタウの神経細胞内蓄積物として、4 R タウでは皮質基底核変性症 (corticobasal degeneration, CBD) の pretangle と、嗜銀顆粒 (argyrophilic grains) が挙げられる。グリア細胞内封入体は極少数の例外を除き 4 R タウよりなり、PSP の房飾型星状膠細胞 (tuft shaped astrocyte) (図 4)、CBD の星状膠細胞斑 (astrocytic plaque)、嗜銀顆粒に伴う bush-

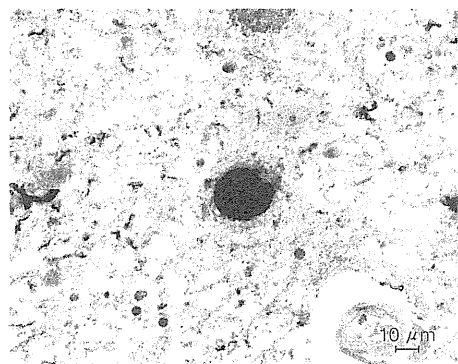


図3 進行性核上性麻痺の globose-type neurofibrillary tangle (RD 4 免疫染色)

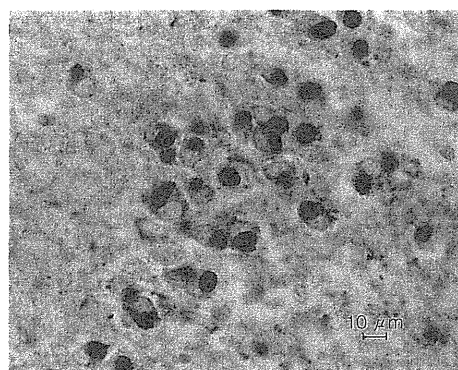


図5 Pick 球 (RD 3 免疫染色)

like astrocyte, 加齢により出現するが、病的意義が不明の, thorn-shaped astrocyte が, 星状膠細胞への蓄積である。一方、オリゴデンドログリアへの蓄積も同様に 4 R タウからなり, coiled body と呼ばれる。

一方、3 R タウからなる神経細胞内蓄積は、Pick 球と呼ばれ、Pick 病に特徴的とされる (図 5)。Pick 病の場合のみ、少数ながら 3 R タウの蓄積が、星状膠細胞に認められる。

アイソフォームの異常の検出のため、3 R タウと、4 R タウのわずかなシークエンスの違いを反映した合成ペプチドに対する抗体として、4 R タウ特異抗体 (RD 4)、3 R タウ特異抗体が開発された。いずれも市販されているが、AT 8 と違い組織の固定の影響を受けやすく、過固定の標本だとほとんど染色されない点に注意である。また、パラフィン切片を用いた場合、RD 4 は血清がクロス反応により染色され、RD 3 は重クロム酸処理を加えないと高いバックグラウンドを示す点に注意が必要である。

■ タウの免疫染色の意義

現在、AT 8、RD 4、RD 3 の免疫染色を、筆者ら

はルーティーンに行っている。最近の報告によれば、AT 8 陽性の神経細胞は 10 代から青斑核に出現するとされる。これらが真に異常を意味するかどうかは、今後さらなる検討が必要である。ただ、65 歳以上の高齢者では、AT 8 陽性の神経原線維変化あるいは嗜銀性をもたない pretangle は必発である。また、RD 4 陽性の tufted astrocyte も高齢者の 5% 程度には出現する。これらが PSP の発症前の状態としてよいかどうかを、現在筆者らは検討中である。

参考文献

- 1) 高齢者ブレインバンクホームページ(www.mci.gr.jp/BrainBank/)

^{*1} 東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク
〒173-0015 東京都板橋区栄町 35-2
^{*2} 国立精神・神経医療研究センター臨床検査部

AKI マーカー

つかもとまき 塚本真貴^{*1}・土井研人^{*2}・野入英世^{*3}

はじめに

AKI(acute kidney injury)という概念は、これまで急性腎不全(acute renal failure, ARF)として認識されていた乏尿・血清クレアチニン値(serum creatinine, sCre)の著しい上昇を示す病態を、より早期に検出することを意識して新たに提唱された。これとともに RIFLE 基準, AKIN 基準といった新しい診断基準が作成され^{1,2)}、さらに 2012 年には Kidney Disease: Improving Global Outcomes(KDIGO)から RIFLE(risk, injury, failure, loss of kidney function and end stage of kidney disease)および AKIN(Acute Kidney Injury Network)基準を統合したものが提唱された(表 1)³⁾。これらの診断基準を用いることによって、わずかな sCre の上昇(48 時間以内に 0.3 mg/dl 以上の上昇)あるいは、6 時間以上尿量低下(0.5 ml/kg/hr 以下)が認められた場合、AKI と診断できる。

しかし、このように新たな疾患概念として提唱された AKI においても、診断および重症度を sCre と尿量といった数十年にわたって用いられている古典的なマーカーが採用されている。sCre は糸球体濾過率(glomerular filtration rate, GFR)の変化より 24~48 時間以上遅れて変動することが知られている⁴⁾。ま

表 1 KDIGO による AKI 診断基準

Stage	血清クレアチニン値	尿量
1	1.5~1.9×ベースライン Cr ≥0.3 mg/dl 上昇	<0.5 ml/kg/h (6~12 h)
2	2.0~2.9×ベースライン Cr	<0.5 ml/kg/h (≥12 h)
3	3.0×ベースライン Cr ≥4.0 mg/dl の Cr 上昇 RRT 開始 <18 歳, eGFR<35	<0.3 ml/kg/h (≥24 h) 無尿(≥12 h)

RRT : renal replacement therapy

た、sCre は栄養状態や全身の筋肉量に依存し、低栄養状態や体格が小さい症例では GFR が低下していても、見かけ上は正常範囲にとどまっていることもあり注意が必要である。もう一つのマーカーである尿量も、循環動態や利尿薬、および補液の影響を受けるので、腎臓の臓器障害そのものを反映できていない可能性がある。

sCre および尿量の問題点が上記のように指摘されるとともに、AKI は主に尿細管上皮細胞の傷害がその病態形成に関与していることから、上皮細胞傷害を鋭敏かつ早期に検出できる新規バイオマーカーの開発が国際的に盛んになった。AKI バイオマーカーは傷害を受けた尿細管上皮細胞から放出されるものであり、これらはネフロン構造が破綻して GFR が低下した後に血中に老廃物として蓄積するクレアチニンの濃度上昇に先行する(図)⁵⁾。

■ 新規 AKI バイオマーカー

バイオマーカーとは、測定可能な生物学的パラメーターを意味する。新規バイオマーカーが満たすべき条件としては、①正常状態および病的状態の区別ができる、②早期に障害を検出する、③障害の程度を反映する、④治療に対する効果判定に用いることができる、⑤非侵襲的かつ簡便、安価に測定できる、⑥測定物質が安定である、といった点が挙げられる⁶⁾。2008 年に米国国立衛生研究所(National Institute of Health, NIH)において開催された AKIN ミーティングで、今後臨床応用に向けて検討に値するバイオマーカーとして、七つのバイオマーカーが示された(表 2)。以下に近年開発が進められている AKI バイオマーカーを概説する。

1. NGAL(neutrophil gelatinase-associated lipocalin)

NGAL は、リポカリンファミリーに属する分子量 25 kDa の分泌蛋白質で、活性化された好中球および遠位尿細管上皮細胞に発現が誘導される。AKI においては血液および尿において NGAL の上昇が観察さ

2. 精神・神経疾患研究のための ブレインバンク

村山繁雄, 齊藤祐子, 丹羽真一

ヒト精神・神経疾患は、動物実験では、病態の一部しか代表させることができず、真の病因説明には、疾患死後脳研究が不可欠である。アルツハイマー病、パーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症などの神経疾患については、形態神経病理所見を基盤に据えた、死後脳研究が、病因説明の最初の一步を踏み出すうえで、大きく貢献した。一方精神疾患は、現在の神経病理手法では、形態学的異常がつかまらないことが障害となり、今のところまだ突破口は開かれていない。このためにも、正確な臨床診断がついた、精神疾患の死後脳蓄積が、重要な意味をもつ。

はじめに

死後脳研究は、古くから、ヒトの精神・神経疾患研究の重要な手段として、主に形態学の立場で行われてきた。レオナルドダビンチの写生は非固定の脳のもので、この状況は、ドイツで固定液により脳を永続的に保存可能となったことで、時間的共有が可能となった。やがて、外傷、疾患の外部からの観察が神経病理学のはじまりとなり、その最も有名なものがBroca失語を呈した症例の脳で、パリ大学にホルマリン固定されて保存されている。Pickも、外表からの観察で脳の左右差を伴う葉性萎縮をきたす疾患を記載したが、当然そのなかには、生物学的に異なる最低3つの疾患（狭義のPick病、皮質基底核変性症、TDP43タンパク質蓄積を伴う前頭側頭葉変性症）が含まれることになり、

[キーワード]

統合失調症、双極障害、自閉症、神経変性疾患、老化

後世の大きな混乱の原因となった。

一方臓器をスライスして観察し、必要な箇所をさらに薄切、染色し、顕微鏡で観察する手法は、Virchowにより全身臓器でまず確立され、それが脳にも用いられるようになった。この伝統に基づき、Alzheimerは、老人斑と神経原線維変化を伴う、当時としては高齢の50代後半（当時の平均寿命は50歳、Alzheimerは51歳で死亡）の女性を記載し、Alzheimer病（AD）の疾患概念を確立するもととなった。この脳のブロックはミュンヘン大学に保存されており、後世DNAが抽出され、apoE遺伝子多型が3/3であることが確認された。この場合、固定脳のブロックが、研究リソースとして利用されたことになる。ホルマリン固定パラフィンブロックは、全世界の病理学教室で原則的に保存されており、これらは研究リソースとなりうる。

しかし、生化学研究、さらには爆発的進化を遂げている分子遺伝学的研究には、未固定の凍結組織が不可欠である。この形での研究リソースの蓄積は、超低温

Brain bank for neuropsychiatric research

Shigeo Murayama¹⁾/Yuko Saito²⁾/Shin-ichi Niwa³⁾: Brain Bank for Aging Research, Tokyo Metropolitan Geriatric Hospital & Institute of Gerontology¹⁾/Department of Pathology and Laboratory Medicine, National Center Hospital for Neurology and Psychiatry²⁾/Aizu Medical Center, Fukushima Medical University³⁾ (東京都健康長寿医療センター高齢者ブレインバンク・バイオリソースセンター¹⁾/国立精神・神経医療研究センター病院臨床検査部²⁾/福島県立医科大学会津医療センター³⁾)

槽が市販された、1960年代まで待たなければならなかった。この時点で、ケンブリッジ大学Huntington病研究グループが研究者主導でHuntington病死後脳リソース蓄積を開始し、それを他のHuntington病研究者に供与することを開始した。ほぼ同時期に、カリフォルニア大学ロサンゼルス分校(UCLA)Tourtellotte博士が、多発性硬化症を中心とする死後脳リソースを構築した。彼は、最初より、髄液と病理組織、凍結組織を一括とし、かつ正常コントロールを得ることも目的とした。彼はこの活動を、患者・医師・研究者による、疾患克服のための市民運動であるとの立場をとり、米国におけるブレインバンクの1つのスタンダードを構築した。一方、これに少し遅れ、ハーバード大学McLean病院に、死後脳研究リソース(いわゆるハーバード大学ブレインバンク)が構築された。このバンクは、剖検施設をもたず、患者団体を含む外部からの搬送脳を処理する形態をとっており、本邦にはないシステムである。

一方本邦においては、欧米の流れを知りながら、研究者が剖検同意をもとに、独自に研究単位ごとに蓄積していくことが一般的で、いわゆる施設蓄積の形をとっており、その最大のものが新潟大学脳研究所リソースである。一方オープンリソースとしてのバンクは、1997年に福島県立医科大学精神疾患ブレインバンク、1999年に高齢者ブレインバンクが構築をはじめまでは、存在しなかった。

本稿においては、米国のブレインバンクとして、2012年3月、文部科学省脳科学研究戦略推進プログラム(脳プロ)ブレインバンクフィージビリティースタディー時に取材した、アルツハイマーリサーチセンターバンクとしてのマサチューセッツ総合病院(MGH)ブレインバンク、精神疾患ブレインバンクとしての前述のMcLean病院ブレインバンク、小児疾患ブレインバンクとしてのメリーランドブレインバンクに加え、筆頭著者がこれまで視察した、メイヨークリニックジャクソンビル進行性核上性麻痺ブレインバンクを、また米国以外のブレインバンクとして、ブレインバンクに関する法的基盤をもつオーストラリアの、プリンスオブウェールズ研究所パーキンソン病ブレインバンク、シドニー大学アルコール依存症ブレインバンクの概観、および、本邦においてオープンリソースの形態をとる、

福島県立医科大学精神疾患ブレインバンク(責任者:丹羽真一)、高齢者ブレインバンク(責任者:村山繁雄)および日本神経科学ブレインバンクネットワークについて解説し、死後脳研究への展望を、最後に述べる。

■ 米国ブレインバンクの概観

1) マサチューセッツ総合病院(MGH)ブレインバンク

アルツハイマーリサーチセンター(主任研究者はBradley Hyman教授)はブレインバンクの役割を担っており、管理・運営は、病院神経病理部門責任者が行っている。病院剖検を基盤としており、生前同意、あるいは剖検時同意がとれた症例を登録している。およそ30年の歴史をもち、蓄積例は1,600例を超える。厳密な神経病理診断が、全米でも屈指の神経病理専門医により施されており、現在は免疫組織化学に軸が移っていること、RNA品質管理が追加されている点、特徴である。800例以上がADの診断をもち、うち250例が他の診断をあわせもつ。筋萎縮性側索硬化症112例、パーキンソン病(PD)81例、進行性核上性麻痺(PSP)50例、レビー小体型認知症(DLB)80例、Pick病33例、前頭側頭葉変性症(FTLD)33例、少数ながらコントロール(7%、110例)を有しており、年間蓄積例は50例程度である。これらのリソースは、本センターだけでなく、神経変性疾患に興味をもつ他のセンターにも供給されている。

③で詳述する高齢者ブレインバンクの基本構築(図1)は、アルツハイマーリサーチバンクを基盤としており、本邦で最も受け入れやすい形態と考えられる。アルツハイマー病やパーキンソン病といった、頻度の高い疾患を蓄積するのに、最適である。しかし、精神疾患、小児精神・神経疾患、稀少疾患を蓄積するには、後に述べる別の枠組みが必要である。

2) 進行性核上性麻痺(PSP)ブレインバンク

PSP患者団体(Cure PSP)の主導で、メイヨークリニックジャクソンビルのDennis Dickson教授が引き受けている。Cure PSPの主導で登録患者の死亡時、脳が搬送されてくる点で、稀少疾患の蓄積には有用である。病理診断されたPSPの数としては世界最大であり、ゲノム研究、亜型分類研究に用いられているが、臨床所見は原則としてA4 1枚のサマリーである。後述す

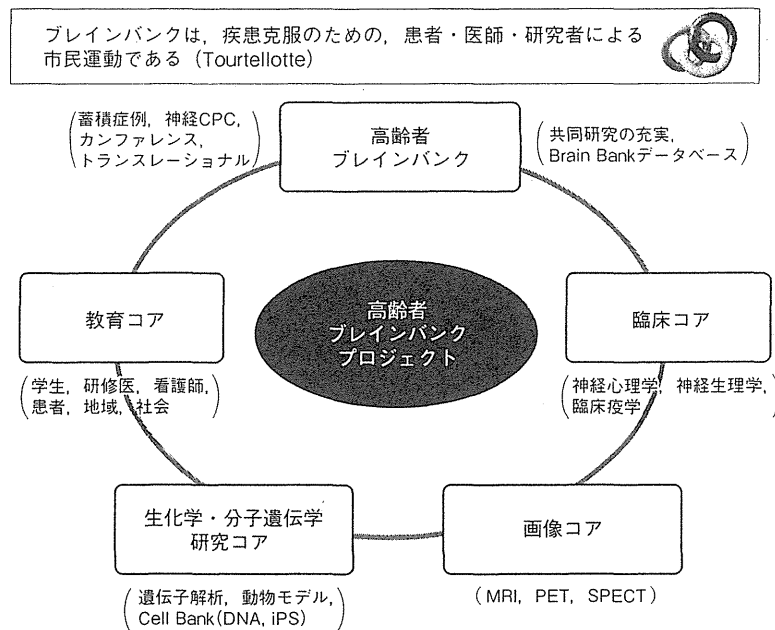


図1 高齢者ブレインバンクプロジェクトの基本構想
ロゴの3つの輪は、患者・医師・研究者を代表している (文献1より引用)

る英国パーキンソン病患者協会ブレインバンクに代表されるアプローチに比べると限界があるが、急速に症例を蓄積しており、2012年6月23日の米国神経病理学会報告時で955例である。

脳の搬送費は患者団体が負担するが、神経病理診断費用は、Dicksonの研究費でまかなわれている。当然ながら、PSPの臨床誤診例として、皮質基底核変性症(CBD)、パーキンソン病(PD)、まれにプリオン病などを含むが、脊髄小脳変性症などの臨床症状が異なる他稀少疾患については、ほとんど保有していない。

3) ハーバード大学 McLean 病院ブレインバンク

米国におけるもう1つの形のブレインバンクの典型である。剖検施設をもたず、脳は全米より搬送されてきて、その運用は、テクニシャンに支えられている。患者団体がフォローしている症例が死亡した場合、担当テクニシャンが、患者団体と連携をとりながら、脳の摘出場所、搬送の手配をすべて行う。脳の到着後の半脳切断、凍結は、テクニシャンに任されている。半脳固定後のブレインカッティング、切り出し、神経病理診断は、ブレインバンクが雇用する神経病理医により行われるが、この雇用費用がバンクの必要経費とし

ての項目としては最も高いとのことである。写真撮影、染色はテクニシャンが行っているが、必要最小限である。ただ、この診断がご遺族に戻ることが、このシステムを支えている原動力とのことである。

本ブレインバンクにおいては、遺体から摘出された脳は、遺体とは扱われておらず、リカバリー(死体から回収する意味)として、剖検とは別の概念で扱われる。脳は、契約した病理施設で取り出される場合もあるが、品質はよいが、費用が高いとのことである。米国では、いわゆる葬儀屋が、遺体に死後処置(embalm)を施すため、剖検室を有しているのが一般的で、そこで脳が取り出されることも、州によっては認められており、正確な比率は不明であるが、この形がより一般的とのことである。これらの脳は、氷詰めで、直接バンクに送られ、その後関心部位を切り出し液体窒素蒸気で瞬間凍結後、残りをドライアイスパウダーで凍結している。

本バンクの特徴は、精神疾患として、統合失調症、双極障害をはじめとする気分障害、自閉症などの小児精神疾患を多く有する点である。レストレスレッグス症候群(むずむず脚症候群)など、剖検を集めにくい

症例についても、患者団体との連携により蓄積が可能である点が特徴である。

ただ、本来ハーバード大学に委託されたので、ハーバード大学で行われている研究以上のものでないと、外に出さないという基本理念があり、外部研究者の利用は制限されている。患者団体を通じた利用に関しては、次項に述べる。

4) メリーランド州立大学ブレインバンク

現時点では全米で唯一NICHD (National Institute of Child Health and Disease) の承認を受けたバンクである。メリーランド州立大学小児科Horst R. Zielke教授 (Ph.D.) が、ライフワークとして行っており、彼は、収集、保管・管理、研究使用の三者は独立することで、公明性が確保されるとの立場を表明している。

州立大学、州政府、州監察医が密接に協力し、行政解剖例をブレインバンクに移行させるシステムを全米で唯一もつと言っても過言でない。Zielkeの40年にわたる努力がこのシステムを維持しており、運営費はすべてNIH研究費により支給されている。

メリーランドは行政解剖が1カ所に集められているので、バンク担当者が毎朝そこに出向き、対象症例を選別、監察医が遺族に直接あるいは電話で許可をとり、バンクに症例を移行している。バンキング自体の倫理評価は、州政府、監察医内、州立大学において、個別案件についてレビューを受ける形で担保されている。神経病理診断は、バンクがコンサルト費用を払っているメリーランド州立大学病院の神経病理医が担当している。

自閉症の症例数80は、世界最高であり、次が前述のMcLean病院ブレインバンクである。この2つはATP (Autism Tissue Program) という、自閉症患者団体が運用する、自閉症死後脳研究プログラムにおいてリンクされている。自閉症研究希望者は、このサイトに研究計画を申請し、学術レベルにおいて承認を受ければ、IDとパスワードが発行され、メリーランドとMcLeanの両方のリソースからなるデータベースへのアクセスが許可される。そのデータベースには、自閉症の診断基準、RNA品質が示されており、研究者は希望するリソース数と、RNA品質を含め、再申請を行う。ATP側で調節を行い、組織が研究者にそれぞれのバンクより送られる。費用はバンクにより請求されるが、本邦で

も3研究施設がこの恩恵を受けている。

死後時間を24時間以内としており、正常コントロールを多数有する点が特徴である。また、疾患在宅死、事故死、自殺を含み、小児神経疾患、精神疾患の比率が多いのも特徴である。おりしも本稿を執筆中(2012年5月31日)、McLean病院ブレインバンクで超低温槽事故が起き、自閉症凍結脳49例が失われ、自閉症研究が10年遅れるとの報道がなされた。

2 オーストラリアブレインバンクの概観

1) プリンズオブウェールズ研究所パーキンソン病ブレインバンク

Glenda Halliday教授 (Ph.D.) が運用しており、他に神経病理担当Ph.D.と、臨床心理・データベース担当Ph.D.の3研究者が主要メンバーで、テクニシャンが組織標本を作製している。PD患者をリクルートし、本人あるいは介護者同意で登録している。登録者は毎年、登録意志の確認と、その時点での神経学的所見のアンケートが送付される。このアンケートは、専門医あるいは一般医により記載される。英国圏においては、医療費が無料である点で、神経内科専門医の数が少なく、受診がきわめて制限されているため、PDの場合、生涯に一度は神経内科専門医の受診を受けているとの記載が多くみられる。このバンクに加盟すると、専門医受診の機会が増える恩恵があることが予想される。このシステムは、英国パーキンソン病患者協会ブレインバンクの形を踏襲しており、凍結脳の使用による基礎研究より、蓄積された臨床症状と、神経病理所見との対応に主体が置かれている。実際凍結脳はほとんどとられていない。最も有名なのは、パーキンソン病の幻視と扁桃核レビー小体病変が相関するとする研究成果である。

同様のシステムは、メルボルン大学アルツハイマーブレインバンク、運動ニューロン疾患ブレインバンクでも採用されているが、葬儀担当者が、法的に、バンクに連絡し、搬送する義務がある点が、米国との差である。

2) シドニー大学アルコール依存症ブレインバンク

シドニー大学で行われる行政解剖で、バンキングが望ましいと考えられる症例を、米国メリーランド州と同様、本人あるいは電話インタビューで、事後でよい

ので承諾をとるシステムである。これは、州法により支えられている。米国NIHの研究費下で、アルコール依存症のブレインバンクとして承認されている。アルコール依存症研究者がバンクを統括しており、神経病理診断はバンクが雇用したバンクドクターが行っている。

③ 本邦におけるオープンリソースとしてのブレインバンク

1) 福島県立医科大学精神疾患ブレインバンク

本邦においては精神疾患のブレインバンク構築が欧米諸国に比して遅れている。その理由としていくつかのことが考えられる。1つには、わが国では死後の体の組織、特に脳を医学研究のために提供することへの躊躇が、欧米諸国に比して一般の人のなかに広く存在していることがあげられる。これには人々のもつ宗教的信念の違いや社会通念の違いが関係していると思われる。

また次の理由もあげられる。すなわち、神経疾患の場合は死後に解剖することで得られる脳の所見が診断に直接結びつくのに対し、精神疾患の場合は剖検所見が診断に結びつくことは少なく、解剖は精神疾患の病因・病態研究に資することを目的とすることが一般的であることである。収集のためのシステムをつくれれば、死後脳は自然と集まってくるというわけにはいかないことが精神疾患の死後脳収集の困難さの一因となっている。また、神経疾患においては、原疾患の経過上で亡くなることが多い。認知症疾患の場合は必ずしもそうでないが、前頭側頭葉変性症 (FTLD) を除き、一般に高齢者であり、いわゆる包括的老年病管理のなかで、フォローする医療機関で死亡される機会が多い。しかし、精神疾患においては身体合併症で亡くなることが多く、精神科主治医が剖検の必要性を言い出しにくい。また精神科主治医が看取る場合でも、亡くなった場所 (精神科病院) と剖検実施施設が異なることが多いため、剖検を言い出しにくいことが多い。

この状況の打開のため、1997年2月、慢性精神疾患死後脳研究について、福島県立医科大学精神医学講座を核として、精神疾患死後脳研究運営委員会が発足し、活動を開始した。本邦初となる系統的な精神疾患脳バンクであり、その構想 (図2) は、ハーバード大学ブレインバンクに代表される形態に近い。ただ、その発足

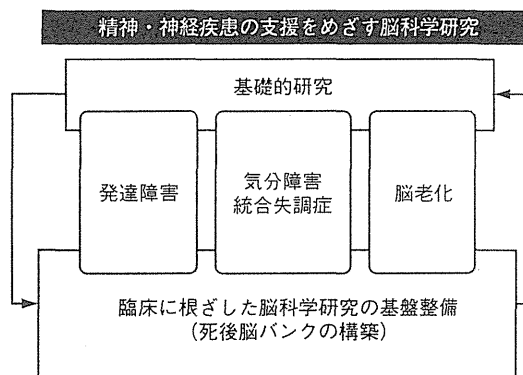


図2 福島県立医科大学のブレインバンクの基本構造

をみるに、患者側の要請によって自然発生的に形成されたものでなく、医師主導型であった点が独自である。当事者・家族の積極的参加による運営、任意団体 (つばめ会) による支援、インフォームド・コンセントによる当事者・健常者の生前登録、開かれた研究活動を基本理念としている。広報活動として、当事者・家族・一般市民に対する講演会やブレインバンクに関する定期ニュース配布、精神福祉雑誌への投稿を定期的に行っている。倫理評価については、外部委員で構成される審議委員会と、福島県立医科大学の倫理委員会と、それぞれの承認を受けることにより担保されている。

問題点として、独自の集積システム・ネットワークの確立、実務スタッフの確保のためのスタッフ人件費、他施設で亡くなられたときのご遺体搬送費、持ち込み剖検に関する解剖費、精神科医の啓発のための広報費などの経費が必要であり、当事者や家族、その自助組織の積極的な支持と支援を前提に、財政的な基盤を確立する、公的・私的支援を受け入れられる体制の構築が必要である。現状では少数のスタッフの献身的な努力により24時間365日の事務対応、組織管理体制が維持されている。

福島県立医科大学精神疾患ブレインバンクの生前登録状況は、現時点で141名である (表1)。ただ、生前登録と死亡までの時間が一般に長いので、現時点で生前同意登録により得られたリソースは限られており、2010年度までは遺族同意の症例が上回っていた。ただし、2011年度の剖検症例では生前登録の症例数が遺族

表1 福島県立医科大学ブレインバンクの生前登録状況 (平成24年5月1日現在)

		男	女	計	
141名	県内 74名	当事者	19	21	40
		健常者	14	20	34
	県外 67名	当事者	22	24	46
		健常者	8	13	21

同意の症例数をはじめて上回り、今後は生前同意登録症例からの死後脳収集が中心となってくるが見込まれる。現時点での収集数の少なさを克服、生前情報としての症状の詳細な記録、心理学的検索、脳画像、血液サンプルの経時的集積が課題である。神経病理学的検索体制の整備としては、後述する日本神経病理学会ブレインバンク委員会との協力を前提とした話し合いを準備中である。また、健常対象脳の集積が大きな課題である。

これらの問題の解決のため、日本生物学的精神医学会ブレインバンク設立委員会が、ブレインバンク立ち上げをめざす学会内コンセンサスを得る活動の推進のため、2008年9月、第30回大会において発足した。委員を公募のうえ、第1回委員会を2008年12月に行い、現在30名の委員よりなる。委員長は福島県立医科大学精神疾患ブレインバンク責任者(丹羽)が務め、技術・システム部会、倫理部会、臨床次項検討部会、リエゾン部会、健常対照収集部会、研究費部会、広報部会の小委員会を設置している。この体制をもとに、病理学、解剖学、法医学、法学など、関連方面からの情報を収集し、日本にブレインネットを構築する努力を行っている。現在までに12回の委員会を行っており、昨年度倫理指針を制定し、学会承認を得たが、日本神経病理学会、日本精神医学会、前述の脳プロブレインバンクフィージビリティースタディー法倫理検討委員会などからの提言を受け、現在改訂作業に従事している。

2) 高齢者ブレインバンク、および日本神経科学ブレインバンクネットワーク

運営方針は、MGHブレインバンクに代表される、AD研究センターブレインバンクに準拠している一方(図1)、基本理念は、McLean病院ブレインバンクが表明する、「篤志によるものは公共のドメインに属し、

公共の福祉のため用いなければならない」を基本としている。また、先述したTourtellotte博士による、ブレインバンクは市民運動であるという理念を基本方針とし、3つの輪をロゴに採用している。

基盤となる東京都健康長寿医療センターは、高齢者在宅支援総合救急病院の役割を現在担っており、高齢者ブレインバンクは病院の事業としてその一機構を占め、老化に関連する運動・認知機能障害の克服という、センターの基本理念に基づいている。センターで剖検を得た症例の開頭剖検同意時に、ブレインバンク登録同意を得ることで、症例を蓄積しており、これは地域医療を支えてきた信頼感が基盤である。当センターは設立当初より、剖検診断例に基づく研究に主眼が置かれており、剖検例の病歴・画像はすべて保存されている点が、ブレインバンク構築を容易にした点である。2007年には高齢者ブレインバンクプロジェクトが都知事表彰を受けることで、都内の認知を確立し、国際的には2008年米国神経病理学会最優秀臨床病理部門賞(Moore賞)を受けることで、学問的立場を確立した。

生前同意登録制の第一例は、故・豊倉康夫東京大学神経内科第一代教授(名誉教授)であり、「患者の病気を治せないなら、その病気の克服のための研究に献体したいという、患者の希望を叶えるのは臨床医である」との理念に基づく(図3)。

高齢者ブレインバンクは、代諾者生前同意登録を採用している。これは、認知症患者では本人の意志の維持が困難であること、ほとんどの場合介護者である代諾者の、介護への意義付けをもたらす点を考えてのことであり、われわれは代諾者と患者の臨床的フォローを、同意受け入れの前提としている。また、患者死後、再同意が得られない限り、法的根拠がない仮同意であり、米国ではpreregistrationの名称が用いられている。

他施設症例の受け入れについて、ご遺体搬送し剖検を引き受ける場合、ブレインバンク登録が前提の場合はブレインバンクが搬送費を負担し、剖検費はセンターが負担する。また他施設剖検例の引き受けについては、剖検承諾ご遺族の同意、臨床主治医の要請、剖検担当病理医の同意の三者文書同意に基づいており、稀少疾患剖検例、後述するJ-ADNI参加研究者剖検例に対応している。

高齢者ブレインバンクが活動で最も重視しているの

故・豊倉康夫先生



80歳没，東京大学名誉教授，東京都老人医療センター（現・東京都健康長寿医療センター）名誉院長，高齢者ブレインバンク生前登録第一例。右は，死の前日に残されたメモ。著者の村山宛に調べるべき病態を網羅。

遺言：

私の体で役立つものはすべて採取・保存し，医学の進歩・発展に役立てる。患者の病気を治せないなら，その病気の克服のための研究に献体したいという，患者の希望を叶えるのは臨床医である。

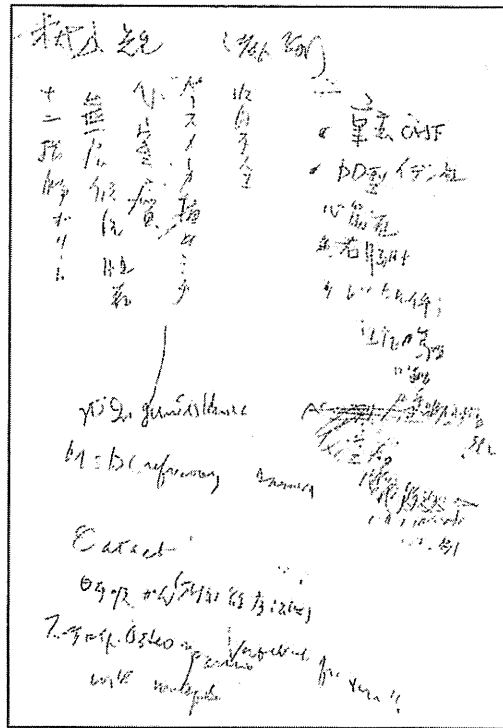


図3 高齢者ブレインバンク生前同意登録制の基本
文献1より転載

は，ブレインカッティングである（表2）。ドイツで20世紀初頭にはじめられ，精神科医と神経内科医が分離する前の，精神・神経科医であったAlzheimerが，アルツハイマー病を抽出した前提であり，臨床・画像・病理連関（動的神経病理）の基本となる。病理・神経内科医の教育の場として，われわれは高齢者ブレインバンクネットワークを構築しており，現在，東京大学，北里大学，徳島大学，国立国際医療研究センター，国立病院機構東京病院，静岡てんかん・神経医療研究センター，下志津病院，横浜労災病院，亀田総合病院が参加している。

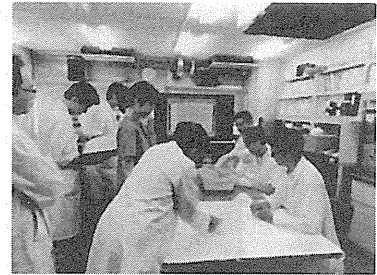
ブレインバンクへの保存の面では，技術的に，基本的に半脳凍結，半脳固定の原則を踏襲している（図4）。凍結については，脳を7mmにスライスし，東京大学解剖学廣川研究室で採用されている，ドライアイスパウダー迅速凍結法を採用している。また，左右差の評価と，ブレインバンク間の中央診断統一のため，凍結

側よりも8カ所を採取している。また固定側からは，29カ所の部位を評価し，嗅球を含む点が特徴である。また，全身剖検を行っている利点を生かし，脊髄は9カ所を4%パラフォルムアルデヒド採取後，残りを髄節ごとにすべて凍結しており（図5），これは筋萎縮性側索硬化症研究のための需要増加に伴い，コントロール脊髄の蓄積をめざしてのことである。また末梢自律神経系として，交感神経節，MIBG心筋シンチグラフィとの関係で左室前壁，胃・食道移行部（腸管神経叢），皮膚，師板を含む嗅上皮も，凍結・固定材料を蓄積している。上腕二頭筋も，サルコペニア研究者の要望で，全例で採取している。また，全身臓器として，肝臓，腎臓の部分凍結も行い，ティッシュバンクとして，別に管理している。

研究の前提としては，前述の動的神経病理に加え，疾患のタンパク質化学的，分子遺伝学的背景解明が基本となる分子神経病理，多数例の検討からなる疫学神

表2 ブレインカッティング

- ・週1回開催
- ・神経内科, リハビリテーション科, 神経病理部門, 神経放射線部門が共同
- ・個々の症例に対し, 神経内科医の担当が決められ, 臨床経過の説明, 臨床的な問題点を確認
- ・臨床症状: 認知症 (CDR), パーキンソニズムの有無を含む, 画像所見や髄液バイオマーカーなどのデータを確認
- ・神経病理学的検索: 凍結側の肉眼的評価を写真で確認, 固定側の萎縮の程度についても評価 (血管の動脈硬化性変化, 断面の肉眼的観察, 写真撮影)



7~13日ホルマリンで固定した半脳を, 週1回行われているブレインカッティング時に, 神経内科, リハビリテーション科, 神経放射線科, 神経病理部門参加のもと, 検索している。個々の症例に対し, 神経内科医の担当が決められ, 病歴をまとめ, プレゼンテーションを行い, 認知機能検査, 髄液バイオマーカーなどのデータを含め, 臨床の問題点を確認する。画像所見は神経放射線専門医が呈示する。続いて, 凍結側の肉眼的評価を, 担当医が写真プレゼンテーションを行うことで, 全員が評価する。固定側の評価については, 萎縮の程度, 血管動脈硬化性変化の評価, 断面は基本的に凍結側と同様に作製したのち, 肉眼的観察および写真撮影を行う (文献1より引用)。国立精神・神経医療研究センターブレインバンクにネット配信することで, バンク間の情報交換に用いている

経病理 (パワー神経病理) を, 基本としている。全例に Braak らの神経原線維変化, 老人斑 (アミロイド) ステージ分類²⁾ を施し, 新潟大学脳研究所分子遺伝学部門桑野教授との共同研究により, apoE 遺伝子多型, RIN (RNA integrity number) の決定を全例で行っている。これまでに, 銀鋳顆粒性認知症の進展ステージ分類 (齊藤分類)³⁾, α シヌクレインの, 嗅球・扁桃核進展経路の提出など⁴⁾ が, 国際的に評価されている。

高齢者ブレインバンクは, 運営経費をセンター, 研究所・病院経費に加え, 文部科学省・厚生労働省科学研究費の獲得で得てきた。これは, 国がやるべきことを, なぜ都がやる必要があるのかという, 非難を常に受けるからである。それ以外に, 文部科学省科学研究費重点領域総括班からの援助も大きく, 統合脳, ゲノム支援双方からの援助を受けてきた。2010年より, 文部科学省新学術領域包括脳支援ネットワークによる援助を受けることになり (図6), それを機に, 本邦の神経科学研究の基盤となるネットワークへの発展を考え, 以下の原則をもとに, 2009年日本神経病理学会ブレインバンク委員会で募集を行った。条件として, 加盟ブレインバンクは施設倫理委員会の承認, 臨床・病理両方のコンセンサスを得ていること, 生前同意ブレインバンク登録制と, 登録者の前方視的縦断追求の構造をもつこと, ブレインバンクリソースは品質管理され, その情報は研究者に公開されることである。この条件をもとに, 2010より福祉村病院, 美原記念病院, 2011

年から国立精神・神経医療研究センターとネットワークを構築し, 研究者の要望に応える体制を構築している。

2011年からは, 高齢者ブレインバンク責任者 (村山) が, 国立長寿医療研究センター特任研究員として, 長寿医療研究委託費を主任研究員として受けることになり, 高齢者ブレインバンクは委託ナショナルバンクとしての地位を得た。

高齢者ブレインバンク責任者は, 現在東京大学神経病理教授岩坪 威博士が主任研究員である J-ADNI において, 病理コアを務めている。また, CJD サーベイランスの病理コアも務めている。これらのオールジャパンプロジェクトでの活動を支援しているのは, 高齢者ブレインバンクの診断および保存・管理システムへの信頼である。24時間365日の管理体制, 研究者への要望にできる限り早く答える努力, 高尾昌樹専門部長 (インディアナ大学神経病理客員教授), 鈴木衣子非常勤研究員 (ノースカロライナ大学神経病理名誉教授) が, 診断確定品質管理カンファランスには常に出席し, ネットワークカンファランスシステムを用いることで, 国立精神・神経医療研究センターブレインバンク神経病理責任者 (齊藤) が参加する形で, 神経病理診断の確定を行っている点は, 国際的にも承認を受けている。

現在責任者は, 日本神経病理学会ブレインバンク委員長として, 脳プロフィールビリティースタディーに協力すると同時に, 生物学的精神医学会ブレインバンク委員会との協力関係の樹立を次の課題と考えている。

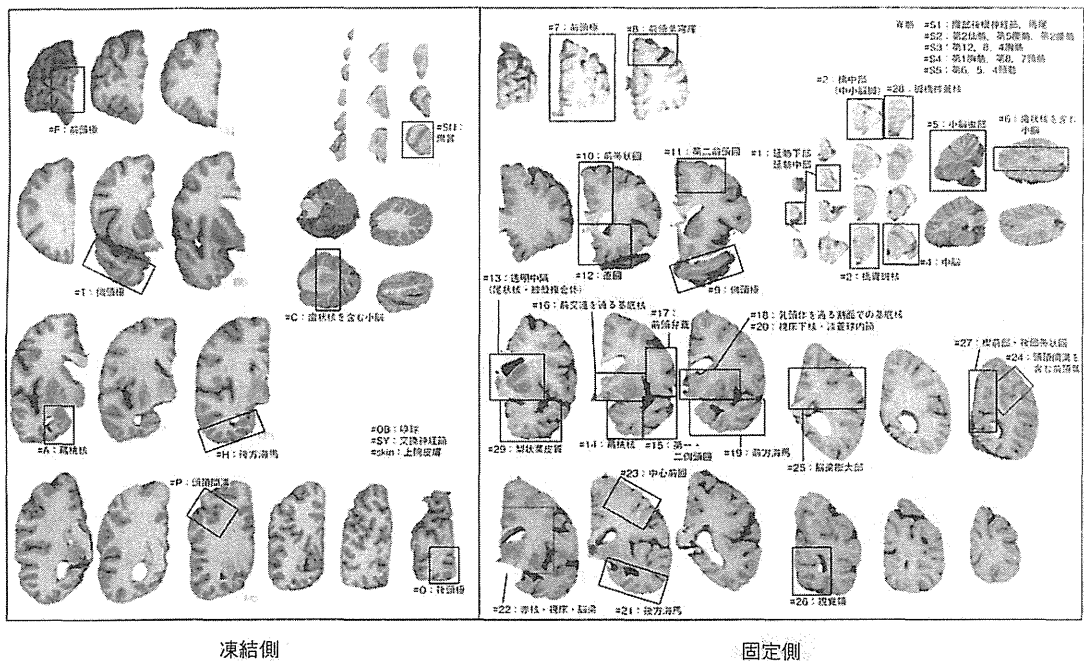


図4 高齢者ブレインバンクにおける脳の採取法
 大脳は7 mmでスライスし、凍結側より8カ所、固定側より29カ所の部位の評価を行っている（文献1より転載）

4 今後の展望

神経疾患と精神疾患の分離は、神経病理学的に所見があるかないかとされてきた。しかし、動的神経病理、分子神経病理、疫学神経病理を駆使すれば、この境界の突破は可能である可能性がある。

神経疾患においても、稀少神経疾患のリソース蓄積には、多施設の協力が不可欠で、本邦最大の新潟大学脳研究所が協力を表明している点は大きい。ただ、本邦においてはムラ意識が依然として強く、これの打開には、患者団体への情報活動が重要と思われる。

米国においては、精神・神経疾患に関係なく、患者団体がバンクに委託する格好が一般的である。ただ、米国では死後脳は遺体としての扱いはされないのに対し、本邦では死体解剖保存法の枠内にあるため、病理医の協力が不可欠である。

精神疾患での双極性障害、小児精神・神経疾患に関しては、監察医務院あるいは法医学教室との協力が、メリーランド州の例をみても有用であり、現在高齢者

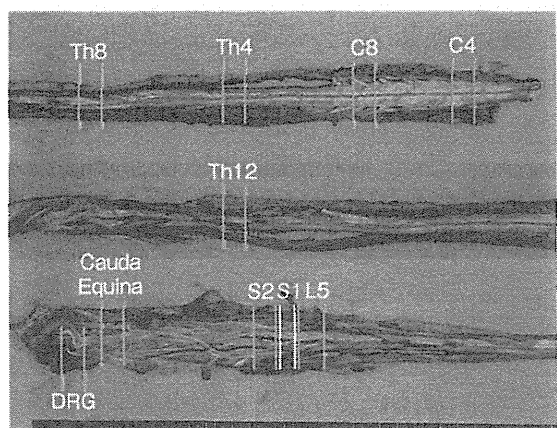


図5 脊髄採取法
 脊髄は、9カ所を4%パラフォルムアルデヒドに採取、筋萎縮性側索硬化症の場合はさらに1カ所をグルタルアルデヒドに採取し、残りはすべて迅速凍結している（文献1より転載）

ブレインバンクでは、東京都監察医務院との連携構築の努力を行っている。また、自殺者のバンク登録につ

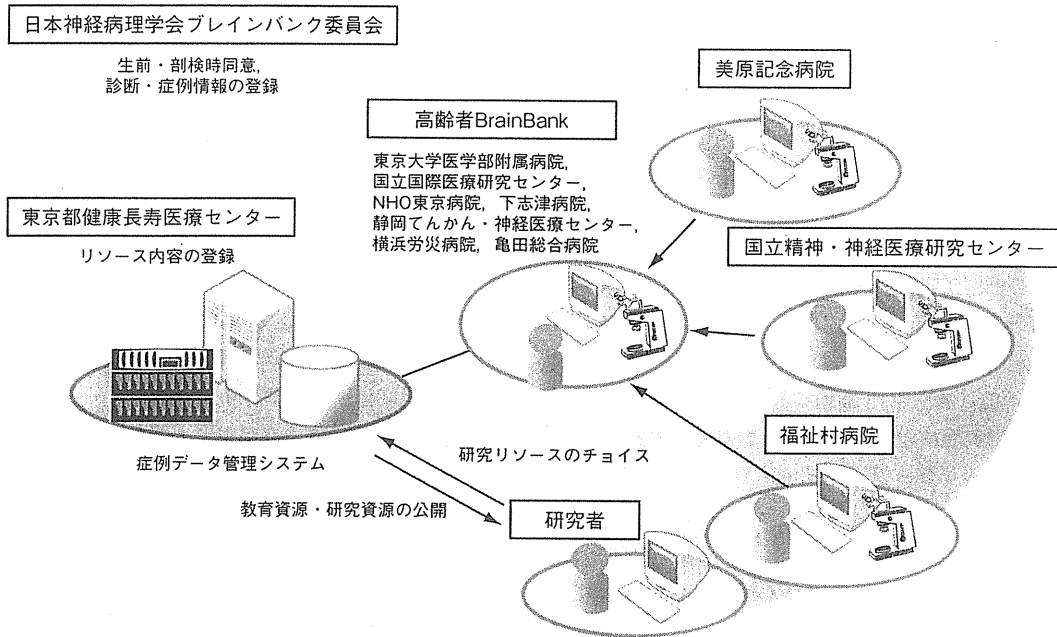


図6 日本神経科学ブレインバンクネットワーク
文献1より引用

いては、情報公開により、ご遺族がブレインバンク登録を希望される状況をつくる必要がある。これは、自殺者のご遺族の、自殺の原因の解明と、自殺に至った疾患の未来における根治療法開発への希望を受け止めるためである。

おわりに

欧米でインフラストラクチャーとして確立しているブレインバンクは、本邦においては依然として未熟である。今後の発展を祈るせいで、筆が過ぎている点についてはご容赦願いたい。

文献

- 1) 『高齢者ブレインバンクホームページ』 (<http://mci.gr.jp/BrainBank/>)
- 2) Braak, H. & Braak, E. : Acta Neuropathol., 82 : 239-259, 1991
- 3) Saito, Y. et al. : J. Neuropathol. Exp. Neurol., 63 : 911-918, 2004
- 4) Sengoku, R. et al. : J. Neuropathol. Exp. Neurol., 67 : 1072-1083, 2008

<筆頭著者プロフィール>

村山繁雄：1979年、東京大学医学部卒業。形態病理を基盤とする、神経内科の王道を進んでいたはずが、神経病理に大きく踏み込んだ結果、現在のハイブリドーマ状態を招いている。神経病理が専門職として成立している米国でのトレーニングが、その後の道を決め、恩師・鈴木衣子ノースカロライナ大学名誉教授の指導をいただきながら、疾患・臨床・研究を結合させる、ブレインバンク運動を、ライフワークとして推進中である。

バイオバンク構築における病理の役割

【共同研究の起点として機能する我が国のバイオバンクの実例】

ブレインバンクの現状，高齢者ブレインバンク，
美原記念病院ブレインバンクの経験から

高尾昌樹 村山繁雄 美原 盤 吉田洋二

病理と臨床・別刷

2012 vol. 30 no. 6

東京／文光堂／本郷

【共同研究の起点として機能する我が国のバイオバンクの実例】

ブレインバンクの現状，高齢者ブレインバンク，美原記念病院ブレインバンクの経験から

高尾昌樹^{*1,2} 村山繁雄^{*1}
美原 盤^{*2} 吉田洋二^{*2}

はじめに

ブレインバンクという用語は，神経科学を研究するものにとって，既によく知られた用語となっている。英語圏では，banking of brain という用語もよく使用されるようである。いずれにせよ，その目的は，主に神経系疾患で死亡された方の，脳を中心とする神経系組織を系統立てて保存し，広く研究者に提供して，様々な疾患克服を目指すものである。あえて，ヒト死後脳を使用する意義はどこにあるのかといえば，ヒトの神経系疾患を研究する上で，培養細胞や動物モデルだけの研究では限界があるからである。トランスジェニックマウスなどの研究は，複雑な神経疾患を比較的単純なモデルに置き換えたものであり，様々な因子が関与するヒト神経疾患を完全に表すことはできないし，当たり前であるが，ヒトと同一の表現形を得ることはできない¹⁾。また，現在さらに将来的にも重要な研究対象である，精神疾患にいたってはヒトの研究を行うことは極めて重要である²⁻⁵⁾。したがって，純粋な基礎的研究にせよ，ヒトの神経疾患を対象に研究を行うときは，ヒト死後脳の研究は重要な手段なのである。

ブレインバンクの歴史や背景，様々な施設に関しては，多くの総説があるので参考にしていただきたい⁶⁻¹¹⁾。また，現在全国にあるブレインバンクとして機能している代表的な施設として，新潟大学脳研究所，国立精神・神経医療研究センター，福祉村病院，福島県立医科大学などが挙げられると思うが，各施設の詳細についても報告があるので，参照されたい⁶⁻¹⁰⁾。また高齢者ブレインバンクを中心として，美原記念病院，福祉村病院，国立精神・神経医療研究センターで

「包括型脳科学研究推進支援ネットワーク」の支援を受けた，神経科学ブレインバンクネットワークを構築している⁹⁾。たまたま筆者自身はこのネットワーク内で地方都市の一般病院に設立された美原記念病院ブレインバンクから，先進的な高齢者ブレインバンクまでを経験し，神経疾患をブレインバンクに蓄積することの重要性を実感している。

本稿では，ブレインバンクにおける様々な問題や技術的な面を述べ，そして多くの施設で可能な範囲で研究に使用できるような脳保存を施行いただけるよう，手順などを示し，ブレインバンクの重要性をご理解いただきぜひご協力をお願いしたいと考えている。

I. ブレインバンクの意義とは

最も重要な意義は，何らかの疾患で亡くなられた方の中枢神経系組織を系統的に保存し，かつそれを研究者に提供して，医学研究の発展に役立て，次世代の人類へ貢献することにあると考えている。同様の主旨で，他の臓器を保存したり，体液を保存したりして研究に役立てる活動があり，治療の過程で得られた手術材料，あるいは検査の過程で得られた血液，脳脊髄液なども研究材料として保存することも行われている。それぞれ，方法は異なっても，究極の目的は変わらないし，まさに本号の特集内容である。

ブレインバンクに脳(脊髄，末梢神経系なども含む)が，以下では代表的な臓器として“脳”と記載することにするので，バンクに保存する“脳”といったときは，他の神経系組織も含むことがあると読み替えていただきたい)を得る過程の最初のステップは，ヒトの死である。対象となる疾患は，神経変性疾患から脳血管疾患，脳腫瘍，あるいは神経系疾患がない症例など多岐にわたるが，施設によって対象疾患を絞っている場合もある。本邦では，病理解剖が施行された際に，摘出された脳を保存するシステムをとっている。諸外

*1 東京都健康長寿医療センター 高齢者ブレインバンク

*2 公益財団法人脳血管研究所 美原記念病院

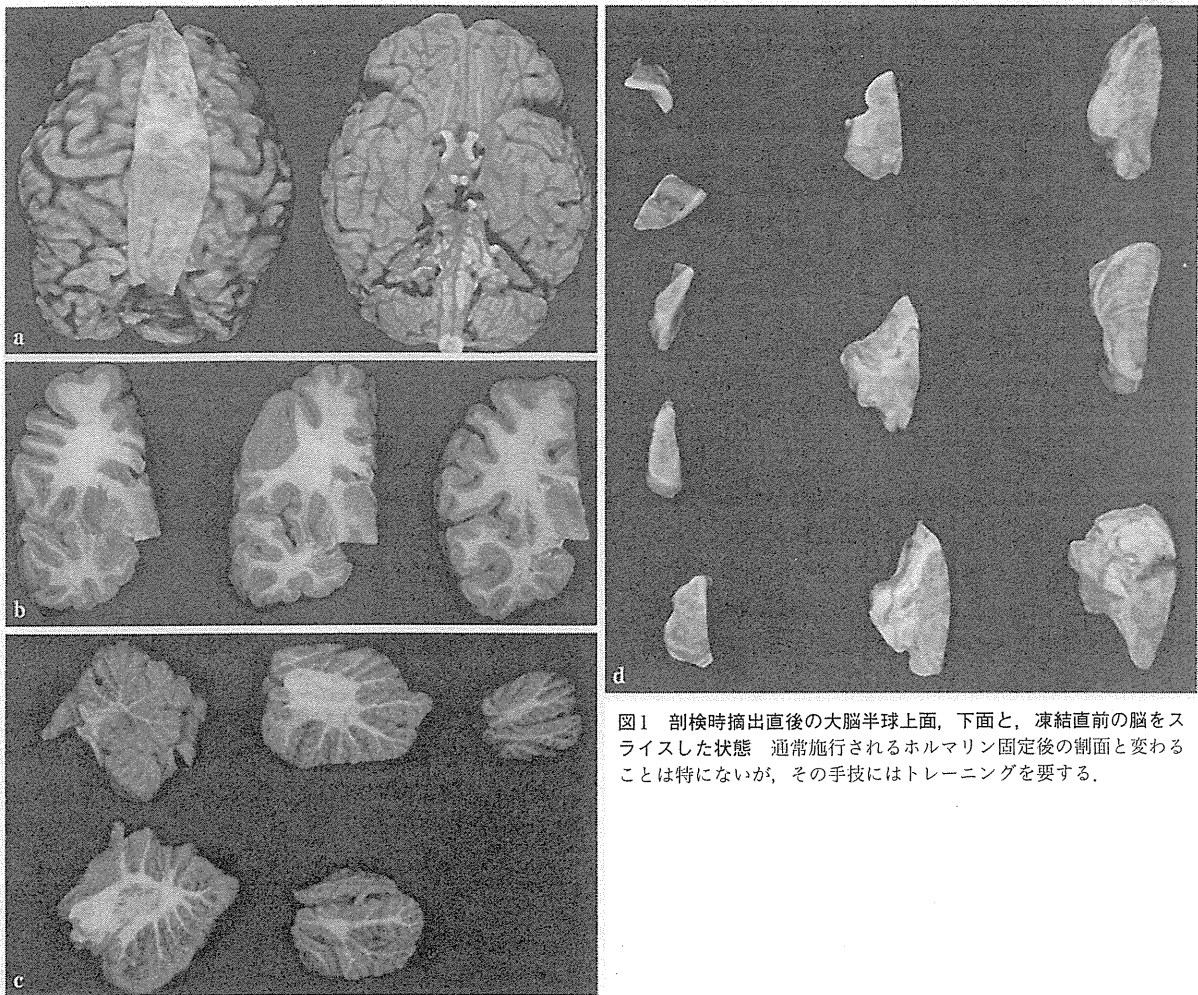


図1 剖検時摘出直後の大脳半球上面、下面と、凍結直前の脳をスライスした状態。通常施行されるホルマリン固定後の断面と変わることは特になが、その手技にはトレーニングを要する。

国では、日本で行政解剖等に当たる症例の脳を、遺族承諾の上でブレインバンクに保存することができる地域・施設もあるが^{12,13)}、本邦で現在そういったシステムはなく、まして司法解剖では解剖の目的が異なることから、ここでは、あくまで病理解剖時に保存されることを前提とする。

II. ブレインバンクへ脳が保存されるまで

1. 全体的な手順と流れ

まず患者様が亡くなられた段階で、ご遺族から病理解剖の承諾を得ることから始まる。通常は、主治医から行われるであろうが、当直医であることもあろう。いずれにせよ、その施設で使用されている承諾書に署名をいただく。ブレインバンクが稼働している施設では、さらにブレインバンクへの登録に関する承諾をい

ただく、少なくとも現段階では書式に一定の決まりはなく、各施設の倫理委員会やガイドラインに準じたものになる。ちなみに、ブレインバンクにおける法的な問題に関する議論は様々な場で行われているし、法的専門家でない筆者が踏み込むべきではない。ただ、あくまでも亡くなられた患者の生前の意思や遺族の希望で、脳を保存し、研究に役立てようという活動である。しばしば、議論の対象が臓器を摘出したり保存したりする行為に対する法的検討になっている印象を受けるが、むしろ保存された試料を使用するにあたっての検討を中心に行うべきではないかと考えている。

2. ブレインバンクとして脳を保存するための方法

続いて、摘出した脳を保存するわけであるが、従来のホルマリン固定標本だけでは、現代医学の研究における要求を満たすことができない。多くのブレインバンクで行われている方法は、取り出した脳をホルマリ

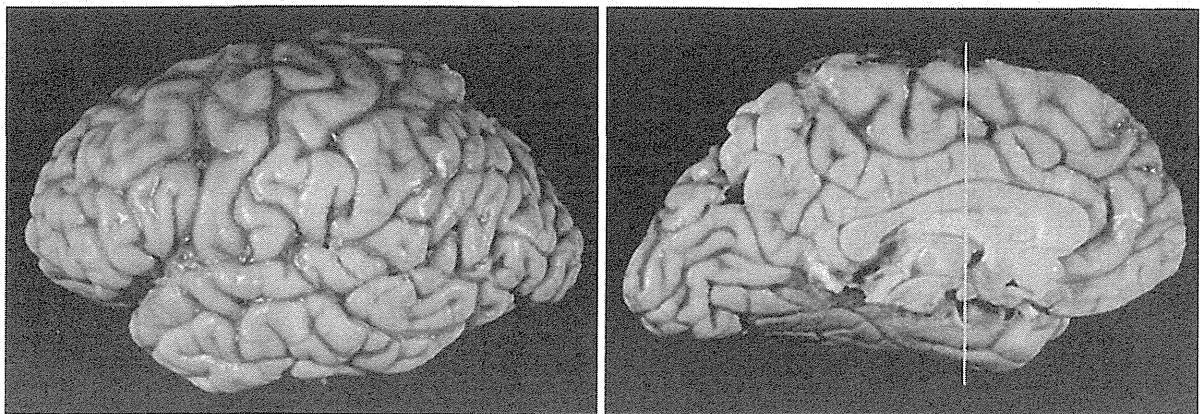


図2 固定後の半球標本 プレインバンクでは、対側の半球を凍結保存するために、写真のように、半球だけをホルマリンで固定する。ブレインカッティングにおいて、最初に剖面を入れる線を黄色で示した。

ンで固定すると同時に、 -80°C 以下で凍結標本を作製することである。その他に、一部をパラフォルムで固定することもある。

死亡してから、剖検までの時間はできるだけ短いほうがよく、かつできるだけ早く体温を下げるために 4°C の遺体用冷蔵庫に入れることが望ましい^{1,9)}。当然のことながら死後変化をできるだけ少なくすることは、分子生物学的研究にとって重要だからである。

脳を摘出したらまず重量を測定し、写真を撮影する。通常、上面と下面である(図1)。その際に脳硬膜を付けたままで撮影すると扱いやすい。硬膜を外すと正中裂が開いてしまい、状況によっては破壊してしまうことがある。その後、引き続き脳を半切する。上面からあるいは下面から半切を行うが、筆者は下面から脳幹の正中、小脳と切断し、最終的に大脳半球に至る手順をとっている。高齢者ブレインバンクでは、脳幹を外し、中脳の一部をパラフォルム固定としているが、一般の施設で行う際には、いきなり半切を行うほうが容易である。半切された脳は、重さを再度測定し写真撮影をする。通常は脳脊髄液が半切に伴い流出するので、左右の重さを加えても摘出した際の重さより少ないことが多い。

半切された脳の一侧はホルマリン固定、一侧は凍結を行うが、どちらのサイドを固定や凍結とするかは、施設の方針にもよる。1例ごとに左右交替、あるいは優位半球がヒトの多くは左とされていることから、左はホルマリン、右は凍結とする施設も多い。凍結する脳を保存するスペースの十分でない施設では、一部だけでも凍結することが望ましい。その際には、前頭葉、

側頭葉、後頭葉の一部と小脳の一部など、切除しやすい部位を採取する。しかし、凍結が不可能であっても、死後脳研究の意義がなくなるわけではない。

半切してホルマリン固定を行うサイドに、硬膜を付けたままにすると、その硬膜に糸を通してホルマリンの入ったバケツに吊すことができ、脳の変形をきたしにくい。硬膜を外してしまう場合は、半切した面をバケツの底面に接するように、静かにホルマリンの中に沈める。進行したCreutzfeldt-Jakob病症例のように、著しく脳萎縮を認めかつ脳室拡大のある場合は、ある程度の変形は避けられないことも多い。従来、Willis動脈輪の1カ所に糸をかけて吊されたが、血管の変形をきたすので避けるべきであろう。むしろ、固定前に血管を丁寧に外し、左右がわかるように広げて別に固定するほうがよい。ホルマリンには、その後の組織の染色性を考慮し、20%中性緩衝ホルマリン液(和光純薬)を使用している。このホルマリンを使用すると、従来のホルマリンに比し固定後の脳が軟らかいため違和感を覚える方もおられると思うが、後に述べる中枢神経系の免疫組織化学などの検討においてよい結果を得ることができる。ブレインバンクへの保存を目的とする場合は、将来的にパラフィンブロックも研究に使用されることから、その質を維持するためにホルマリンの選択も重要である。

通常、半脳の場合は固定後10~14日で行われるブレインカッティングを行うことができ、むしろ長期にホルマリンで固定することは、組織学的検討や研究試料としての質を下げるだけである。ブレインカッティングに際しては、それぞれの施設で若干方法が異なる

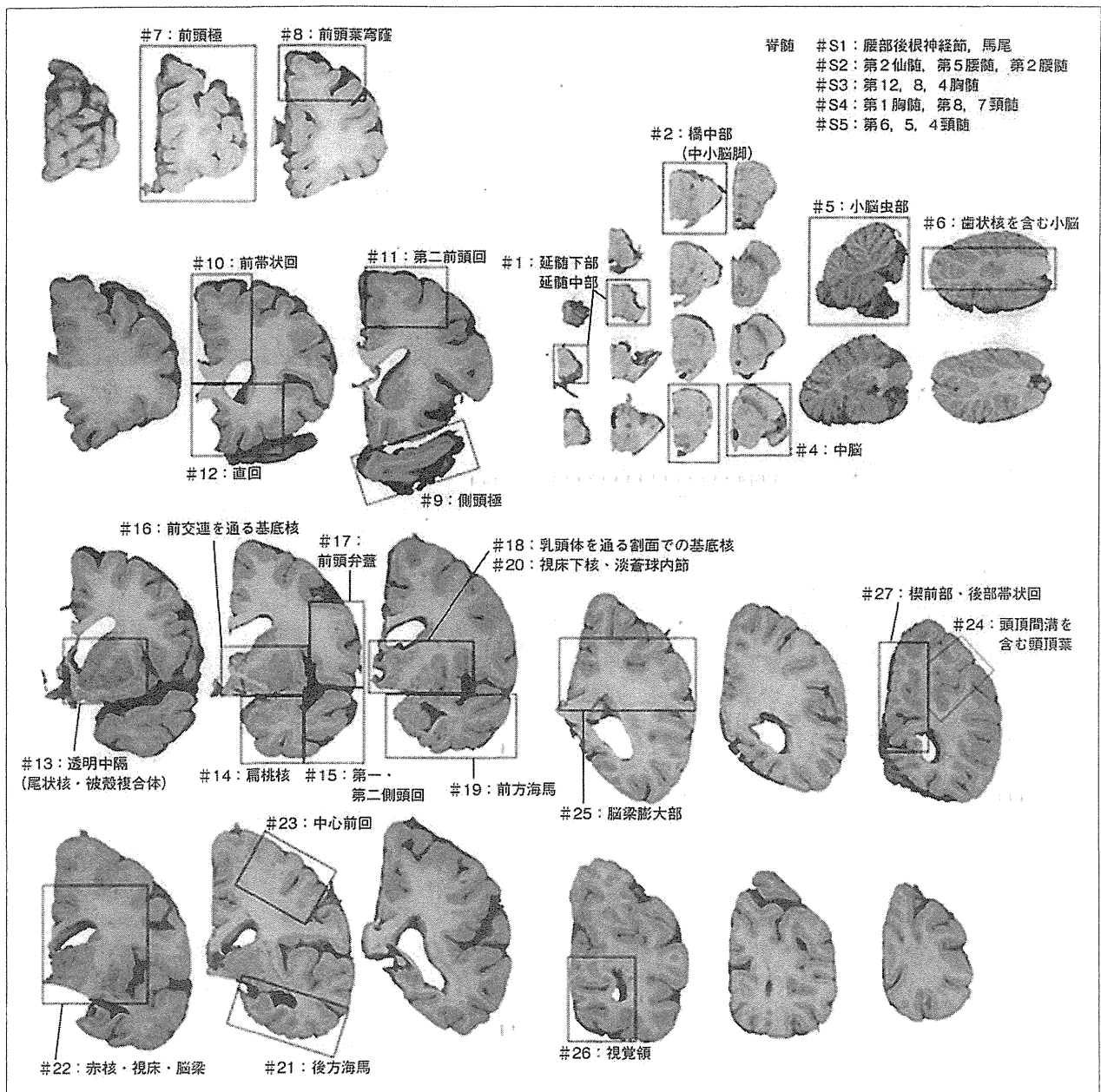


図3 高齢者ブレインバンクの固定後切り出し部位のルーチン

と推察されるが、世界的にみても、大脳半球は冠状断、小脳は矢状断、脳幹は水平断とすることが一般的である。大脳半球は、内側面からみた際に前交連と後交連を通る線に垂直に、かつ乳頭体を通るレベルで前後に切りわけ (図2~4)。その後、我々は7mm厚でスライスを行っているが、5mm、あるいは1cmで行う施設もある。小脳は正中面に平行に5mm程度の厚さで切る。脳幹は、長軸に垂直に (すなわち水平に)

5mm程度の厚さでスライスする。大脳半球は正面から見る方向で、小脳は内側面から見る方向、脳幹は尾側から見る方向で並べて、写真を撮影する。このように置く理由は、頭部画像検査に一致させるためである。ブレインバンクにおいて、生前の臨床情報、画像検査なども重要な資料であり、散逸しないように保管するシステムが重要である (本来、診療録のコピーや画像をブレインバンクに保存できることが望ましい)