

学 位 論 文 題 名

Pathologic studies on senile plaques,
cerebrovascular amyloidosis and astrocytic gliosis
in the central nervous system (CNS) of aged dogs :
An animal model-sharing features
with CNS aging of human beings

－老犬の中樞神経系における老人斑，脳血管アミロイド症

、およびアストログリオースに関する病理学的研究：

ヒトの中樞神経系における特徴的加齢性諸変化を

共有する動物モデル－

学位論文内容の要旨

ヒトの中樞神経系における形態的加齢性諸変化のうち，老人斑および神経原線維変化の出現，および神経構成単位（ニューロン）の変性・脱落が，アルツハイマー病罹患脳の特徴的所見として知られている。これらの変化は，軽度ながら正常老人の脳にも認められる。したがって，これらのいわば生理的加齢性諸変化が，何らかの原因によって病的に加速されることがアルツハイマー病の背景として考えられている。ヒトの脳の免疫組織化学的検索は，1984年の Glenner と Wong による脳血管アミロイド構成ペプチド（ β -ペータ蛋白。）のアミノ酸組成の解明に端を発し，抗 β -ペータ蛋白抗体を用いることによって飛躍的に進んだ。しかし，脳におけるアミロイド沈着の病理発生，およびその変化と神経原線維変化出現を含めた神経構成単位の変性・脱落との関連については，いまだに明らかにされていない。

加齢に伴いヒトと同様の形態を示す老人斑が，サル，イヌおよびクマなどの哺乳動物の脳に出現することが，近年の免疫組織化学的検索により確かめられつつある。これらのうちとくにイヌは，老齢個体の入手がサルやクマに比し容易である。しかし，イヌの中樞神経系における加齢性変化に関する系統的研究はこれまでなされたことがない。本研究は，光学顕微鏡的，免疫組織化

学的あるいは電子顕微鏡的手法を用い、イヌの中枢神経系における老人斑、脳血管アミロイド症およびアストログリオシスについて形態学的に検索した。以下に検索結果を総括する。

第Ⅰ章では、老犬の脳における老人斑の形態的特徴、老人斑および脳血管アミロイド症の出現頻度、およびそれらの脳内分布を明らかにする目的で研究を行った。研究材料としては、10-17才の老犬33例を用いた。これらのイヌの脳から様々なレベルの前額断組織片を得、各々からパラフィン連続切片を作製した。これらの切片は、ヘマトキシリン・エオジン・チオフラビンS、コンゴレッド、ボディアン、メセナミン銀法および改良ビルショウスキー染色、さらには抗ベータ蛋白抗体を用いた免疫染色（ABC法）を施し、光顕的に観察した。また、脳における老人斑と脳血管アミロイド沈着の数および分布を描画装置を用いて検索した。

老人斑および脳血管アミロイド沈着とも、抗ベータ蛋白抗体に特異的に反応した。また、両者ともチオフラビンS、メセナミン銀、改良ビルショウスキー染色などによりよく染色された。検索した33例中、老人斑は15例（45％）に、脳血管アミロイド症は22例（67％）に認められ、これらの変化の出現頻度は加齢に伴い増加した。また、両病変は同一例に共存する傾向を示した。老人斑は大腦皮質、とりわけ帯状回と側頭葉は好発し、皮質下神経核や海馬にも時折認められた。この分布パターンは正常老人のそれと同様であった。脳血管アミロイド症は大腦および小脳の髄膜の血管、大腦皮質の血管に認められた。老人斑の形態はヒトのそれに酷似し、瀰漫型斑、成熟斑、血管周囲斑などの型に分類された。成熟斑および血管周囲斑は、アミロイド沈着を伴う血管（脳血管アミロイド症）と常に密接な位置的関係を示した。一方、ほとんどの瀰漫型斑は脳血管アミロイド症の分布とは無関係に存在していた。また瀰漫型斑は、多くの場合神経細胞とグリア細胞の両者あるいはいずれか一方を含んでいた。免疫染色により神経細胞の辺縁に時折アミロイド沈着が認められた。

以上の結果から、イヌの老人斑は、形態、染色性および脳内分布パターンがヒトのそれらに類似すること、したがってヒトのそれと同様の形態病理発生が考えられること、イヌの老人斑諸型の形成過程にはそれぞれ異なった機序の関与することが示唆された。

第Ⅱ章では、老犬の中枢神経系におけるアストログリアの形態的特徴、アストログリオシスの出現頻度および分布パターンを明らかにする目的で研究した。研究材料としては、11-18才の老犬17例と2カ月齢-4才の若齢犬9例を用いた。これらのイヌの中枢神経系から様々なレベルの前額断組織片を得、各々からパラフィン連続切片を作製した。これらの切片は、ヘマトキシリン・エオジン、ルクソールファーストブルー、チオフラビンS、ニッスル、ボディアン、改良ビルショウスキー、メセナミン銀法によって染色し、さらには抗グリア線維性酸性蛋白（Glial

Fibrillary Acidic Protein, GFAP) 抗体を用いた免疫染色 (PAP 法) をも行って、光顕的に観察した。また、老齢犬および若齢犬の各々 4 例については、ネンブタール深麻酔下経心臓灌流固定を施し、大脳皮質を電顕的に観察した。

GFAP 陽性アストログリアから成る中等度から重度の瀰漫性アストログリオーシスが、検索したすべての老犬に認められ、それは一定の分布パターンを示した。すなわち、アストログリオーシスは、大脳皮質下および深部白質、大脳皮質髄質境界域、皮質下諸核、小脳中心核、脳幹諸核および脊髄灰白質で最も重度であった。大脳皮質全域および視床諸核においても重度のアストログリオーシスが見られた。小脳および脊髄の白質、海馬においては中等度のアストログリオーシスが見られた。中枢神経系全般を通じ、血管周囲性アストログリオーシスが著明であった。これらのパターンはヒトのそれに酷似していた。若齢犬にも同様の分布パターンのアストログリオーシスが存在したが、その程度は極めて軽度であった。電顕観察によって、多量のグリアフィラメントを含む活性型アストロサイトが、老犬の大脳皮質に多数存在し、その突起の付近に神経突起や軸索終末の様々な変性像が認められた。

以上の結果から、イヌの中枢神経系には、ヒトと同様の加齢性アストログリオーシスの出現することが明らかにされた。

第Ⅲ章では、老犬の脳におけるアミロイド沈着の分布とアストログリオーシスの分布を比較し、アミロイド沈着の発生機序とアストログリオーシスのそれとの関連について考察した。研究材料としては、老人斑および脳血管アミロイド症を有する 11-18 才の老犬 6 例を用いた。これらのイヌの間脳のレベルでの前額断組織片からパラフィン連続断片を作製した。これらの切片は、第Ⅱ章と同様の方法によって染色し、大脳皮質を光顕的に観察した。また、上記 6 例のうち 4 例の大脳皮質を電顕的に観察した。

広範かつ重度の瀰漫性アストログリオーシスは、老人斑の出現あるいは血管へのアミロイド沈着の有無にかかわらず、大脳皮質に一樣に認められた。一方、老人斑諸型のうちの成熟斑に GFAP 陽性アストログリアの突起が時折認められた。

以上の結果から、加齢性アストログリオーシスは、必ずしもアミロイド沈着に伴い二次的に出現する現象ではないことが示唆された。

本研究により、イヌの中枢神経系には、アミロイド沈着、アストログリオーシスおよび神経構成単位の変性・脱落などヒトにおけると同様の特徴的加齢性諸変化の出現することが明らかにされた。これらの事実は、イヌがヒトの中枢神経系における加齢性変化の発生機序解明に極めて有用な動物モデルとなることを示唆した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 杉 村 誠
副 査 教 授 前 出 吉 光
副 査 教 授 長 嶋 和 郎

加齢に伴いヒトと同様の形態を示す老人斑が、イヌの脳にも出現することが近年の免疫組織化学的検索により確かめられつつある。申請者は、イヌの中樞神経系における老齡斑、脳血管アミロイド症およびアストログリオースについて形態学的に検索し、本論文をまとめた。本論文は英文71頁、付図24枚からなり、3章で構成されている。

第I章では、10-17才の老犬33例を用い、老人斑の形態的特徴、老人斑および脳血管アミロイド症の出現頻度、およびそれらの脳内分布を検索した。この結果、老人斑および脳血管アミロイド沈着はともに抗ベータ蛋白抗体に特異的に反応し、チオフラビンS、メセナミン銀、改良ビルショウスキー染色でもよく染色された。検索した33例中、老人斑は15例（45％）に、脳血管アミロイド症は22例（67％）に認められ、これらの発現頻度は加齢に伴い増加した。また、両病変は同一例に共存する傾向を示した。老人斑は大腦皮質、とりわけ帯状回と側頭葉は好発し、皮質下神経核や海馬にも時折認められた。この分布パターンは正常老人のそれと同様であった。脳血管アミロイド症は大腦および小脳の髓膜の血管、大腦皮質の血管に認められた。老人斑の形態はヒトのそれに酷似し、瀰漫型斑、成熟斑、血管周囲斑などの型に分類された。成熟斑および血管周囲斑は、アミロイド沈着を伴う血管（脳血管アミロイド症）と常に密接な位置的関係を示した。一方、ほとんどの瀰漫型斑は脳血管アミロイド症の分布とは無関係に存在していた。また瀰漫型斑は、多くの場合神経細胞とグリア細胞の両者あるいはいずれか一方を含んでいた。免疫染色により神経細胞の辺縁に時折アミロイド沈着が認められた。

以上の所見から、イヌの老人斑は、形態、染色性および脳内分布パターンがヒトのそれらに類似すること、したがってヒトのそれと同様の形態病理発生が考えられること、イヌの老人斑諸型の形成過程にはそれぞれ異なった機序の関与することが示唆された。

第II章では、11-18才の老犬17例と2カ月齢-4才の若齡犬9例を用い、アストログリアの形態的特徴、アストログリオースの出現頻度および分布パターンを検索した。この結果、グリア線維性酸性蛋白（Glial Fibrillary Acidic Protein, GFAP）免疫染色陽性アストログリアか

ら成る中等度から重度の瀰漫性アストログリオーシスが、検索したすべての老犬に認められ、それは一定の分布パターンを示した。すなわち、アストログリオーシスは大腦皮質下および深部白質、大腦皮質髓質境界域、皮質下諸核、小脳中心核、脳幹諸核および脊髓灰白質で最も重度であった。大腦皮質全域および視床諸核においても重度のアストログリオーシスが見られた。小脳および脊髓の白質、海馬においては中等度のアストログリオーシスが見られた。中枢神経系全般を通じて、血管周囲性アストログリオーシスが著明であった。これらのパターンはヒトのそれに酷似していた。若齢犬にも同様の分布パターンのアストログリオーシスが存在したが、その程度は極めて軽度であった。電顕観察では、多量のグリアフィラメントを含む活性型アストロサイトが老犬の大腦皮質に多数存在し、その突起の付近に神経突起や軸索終末の様々な変性像が認められた。

以上の所見から、イヌの中枢神経系には、ヒトと同様の加齢性アストログリオーシスの出現することが明らかにされた。

第Ⅲ章では、老人斑および脳血管アミロイド症を有する11-18才の老犬6例を用い、老犬の脳におけるアミロイド沈着の分布とアストログリオーシスの分布を比較し、アミロイド沈着の発生機序とアストログリオーシスのそれとの関連について考察した。この結果、広範かつ重度の瀰漫性アストログリオーシスは、老人斑の出現あるいは血管へのアミロイド沈着の有無にかかわらず、大腦皮質に一様に認められた。一方、老人斑諸型のうちの成熟斑にGFAP陽性アストログリアの突起が時折認められた。

以上の所見から、加齢性アストログリオーシスは、必ずしもアミロイド沈着に伴い二次的に出現する現象ではないことが示唆された。

以上のように、申請者はイヌの中枢神経系にアミロイド沈着、アストログリオーシスおよび神経構成単位の変性・脱落など、ヒトにおけると同様の特徴的加齢性諸変化の出現することを明らかにした。これらの知見は、イヌの神経病理学に大きく貢献するとともに、ヒトの中枢神経系の加齢性変化の発生機序解明にも寄与するものである。よって審査員一同は、島田章則氏が博士（獣医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。