

学位論文題名

Morphological Studies on Acrylamide-induced
Neurotoxicity in Japanese Quails
— Comparative Studies Using Normal and
Neurofilament-deficient Quails —

(ニホンウズラにおけるアクリルアミド誘発性神経毒性の形態学的研究
— 正常ウズラとニューロフィラメント欠損ウズラを用いた比較研究 —)

学位論文内容の要旨

アクリルアミド (AC) は、ヒトに末梢神経障害および脳症を引き起こす神経毒である。この神経毒の哺乳動物への実験的長期暴露は中枢-末梢遠位軸索症を誘発する。その特徴病変は、径が太く長い有髄神経の遠位部から逆行性に進行する神経線維のウォーラー様変性である。超微形態学的には、傍ランビエの絞輪部におけるニューロフィラメント (NF) の蓄積が、神経線維の変性に先行する初期変化として観察されている。本研究では、正常ニホンウズラと先天的にNFが欠損しているニホンウズラ (Quv) にACを連続投与して誘発された中枢神経および末梢神経病変を、病理学的に比較検討した。

実験には、10~16週齢の正常ウズラ11羽とQuvウズラ9羽を用いた。これらのうち正常ウズラ8羽とQuvウズラ6羽には、AC100mg/kgを1日おきに投与した。初期の神経症状として、歩行忌避、犬座様姿勢、脚の上下運動における軽度の協調不能が観察された。この発現は、正常ウズラ (5~8回投与後) よりも Quvウズラ (2~4回投与後) の方が早かった。AC投与ウズラは、起立不能、重度の歩行障害あるいはよろめき歩行などの神経症状がみられた後 10~30回投与後に、殺処分され、剖検された。

第I章では、正常ウズラにおけるAC誘発性の中枢神経病変を検索した。その結果、ACを投与した全例の脊髄において、脊髄小脳路 (側索) および前庭脊髄路 (腹索) の遠位部に、逆行性の軸索の腫大を伴った神経線維の

変性，すなわち遠位軸索症が観察された。超微形態学的には，NFの蓄積が有髄神経の軸索内にみられ，その一部は腫大していた。一方，変性した神経線維は，ミエリンの崩壊を伴って，軸索形質の完全な消失あるいは軸索内小器官とその変性産物の密な集積を示した。これらの神経線維の変性像はウォーラー変性の特徴に一致していた。このほか，脊髓小脳路および前庭脊髓路の神経線維が終止する小脳および脊髓灰白質，延髄の薄束核，視葉の視索では，軸索の腫大のみが観察された。小脳および脊髓灰白質の腫大した前終末および終末神経線維の軸索内には，NFとミトコンドリアならびに滑面小胞体などの膜性小器官の蓄積が観察された。このように，ACは中枢神経の細い神経線維には軸索腫大を惹起したが，ウォーラー様変性を引き起こさなかった。すなわち，ACによる神経線維の変性の発現は，軸索径の太さに依存していることが示唆された。

背根神経節ならびに脊髓腹角の神経細胞体には，核の偏位を伴った染色質融解性の変化がACにより誘発された。この所見は，末梢の軸索障害により誘導される神経細胞体の反応である軸索反応に一致し，軸索再生に向かう代謝反応を反映する変化と解された。超微形態学的には，ACを21回以上投与したウズラの神経細胞体内に，NFの減数ならびに微小管（MT）の増数がみられた。これらの変化は，軸索反応における代謝変化のひとつである細胞骨格蛋白合成の変化（NF蛋白合成の減少，チューブリン合成の増加）に関連した所見と考えられた。

第Ⅱ章では，QuvウズラにおけるAC誘発性の中枢神経病変を検索した。AC投与Quvウズラは，小脳の髄質から顆粒層に軽度の軸索腫大を示した。超微形態学的には，小脳および脊髓灰白質の前終末および終末神経線維に膜性小器官の軸索内蓄積，軸索とミエリンの変性性変化が観察された。一方，脊髓の脊髓小脳路および前庭脊髓路には，ACによる変化は観察されなかった。すなわち，ACはQuvウズラに，遠位軸索症を惹起しなかったが，終末および前終末神経線維の軸索内に膜性小器官の蓄積を引き起こした。軸索内膜性小器官の蓄積は，ACを投与したニワトリおよびラットで観察され，速い軸索輸送の障害あるいは軸索再生への抑制作用を反映することが示唆されている。NFを欠損しているQuvウズラで同様の変化が発現したことは，ACはNFと関係なく，膜性小器官を蓄積させるものと解された。

第Ⅲ章では，正常およびQuvウズラの末梢神経（坐骨・脛骨神経）におけるAC誘発性病変を検索した。ACは，正常およびQuvウズラのいずれにも

逆行性に進行する軸索変性を惹起した。電顕的に、AC投与例の有髄神経の軸索内には、正常ウズラではNFの蓄積が、Quvウズラでは膜性小器官の蓄積が観察された。変性軸索は崩壊した軸索内小器官ならびに無定型物質の蓄積あるいは軸索形質の消失を示した。ACを投与した正常ウズラでは、軸索変性に加え、ミエリンの断片化、崩壊、神経内膜領域に細胞の増数、径の太い有髄神経の消失および小型の再生神経線維の出現が観察された。これらの所見は、末梢神経におけるウォーラー変性と一致していた。ACを投与したQuvウズラでは、軸索変性に伴って、ミエリンの不規則な陥入はみられたが、ミエリンの崩壊とこれに続く一連のウォーラー様変性は観察されなかった。このように、末梢神経においても、正常ウズラでは、ACにより軸索内NFの蓄積に関連した遠位軸索症が誘発された。しかし、Quvウズラでは、軸索に膜性小器官の蓄積と変性変化はみられたが、ミエリンの崩壊を伴ったウォーラー様変性は惹起されなかった。

以上のように、NFが欠損し径が細いQuvウズラの中樞および末梢神経のいずれにおいても、ACによる病変が惹起された。したがって、ACはNFには無関係に、神経毒性を発現することが示された。しかしながら、病理形態学的に、ACを投与した正常ウズラとQuvウズラにみられた病変が異なっていたことは、神経細胞内におけるNFの存在が、AC誘発性軸索症の発現およびその程度に影響することが示唆された。

Quvウズラを用いたこのような実験的比較研究は、NFと薬物の作用機序との関連性をはじめ、NFと他の細胞内小器官との相互作用、さらに、神経線維の変性過程におけるNFの関与を探るうえで意義深い。したがって、Quv系ウズラは、有用なモデル動物と考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 板 倉 智 敏
副 査 教 授 橋 本 晃
副 査 助 教 授 橋 本 善 春
副 査 教 授 長 嶋 和 郎

学位論文題名

Morphological Studies on Acrylamide-induced Neurotoxicity in Japanese Quails —Comparative Studies Using Normal and Neurofilament—deficient Quails—

(ニホンウズラにおけるアクリルアミド誘発性神経毒性の形態学的研究
—正常ウズラとニューロフィラメント欠損ウズラを用いた比較研究—)

アクリルアミド (AC) は神経毒であって、哺乳動物に中枢—末梢遠位軸索症を惹起する。本軸索症の特徴病変はワーラー様変性で、超微形態学的には、傍ランビエの紋輪部にニューロフィラメント (NF) 蓄積が変性に先行して引き起こされる。申請者は、正常ニホンウズラと先天的にNFが欠損しているニホンウズラ (Quv) にACを投与し、これらの中枢ならびに末梢神経病変を形態学的に比較検討した。

ウズラへのAC投与は100mg/kg/日とし、1日おきに10~30回行った。この結果、起立不能、重度の歩行障害が生じ、この症状が生じた時ウズラは殺処分されて検索された。

AC誘発性の中枢神経病変は、正常ウズラでは脊髓小脳路 (側索) および前庭脊髓路 (腹索) の遠位軸索症で、電顕的にはNFの蓄積を示した。また、この部位にはワーラー様変性も生じていた。このほか、脊髓小脳路および前庭脊髓路の神経線維が終止する小脳および脊髓灰白質では、軸索の腫大のみが観察され、電顕的にはNFと膜性小器官の蓄積が観察され、ワーラー様変性は引き起こされなかった。一方、Quvウズラでは、脊髓小脳路および前庭脊髓路は変化を示さなかったが、この神経線維が終止する小脳および脊髓灰白質では、神経線維が軽度に腫大し、膜性小器官の蓄積を伴った変性が観察された。

末梢神経では、正常ウズラはNFに関連した遠位軸索症とワーラー様変性を示したが、Quvウズラはワーラー様変性を示さず、膜性小器官の蓄積と変性変化のみを示した。

以上のように、ACはNFには無関係に神経毒性を発現した。しかし、NFを有する正常ウズラとNFを有しないQuvウズラの病変は異なっていた。Quvウズラを用いたこのような実験的比較研究は、NFと薬物の作用機序のみならず、NFの生物学的ならびに病理学的意義の解明に大きく貢献

する。よって審査員一同は、高橋明美氏が博士（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。