氏名・（本籍）	藤　井　靖　子（島根県）
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士第168号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成6年3月24日
学位論文題目	Histopathological study on cerebellar dysgenesis of shaking rat Kawasaki(SRK) (Shaking rat Kawasaki(SRK)における小脳形成異常の組織学的検討)
審査委員	主査　教授　越　智　淳　三
	副査　教授　前　田　敏　博
	副査　教授　島　田　司　巳

論　文　内　容　要　旨

［目　的］

精神運動発達遅滞児でみられる比較的頻度の高い脳病理所見として、大脳や小脳皮質における細胞構築異常、神経細胞の極性や樹状突起の分岐・伸展異常などがあげられている。このような異常の発生機序は近年かなり解明されてきたが、なお不明な点も多い。本研究では、大脳および小脳皮質の形成障害を呈する突然変異ラットShaking rat Kawasaki (SRK) を用い、小脳皮質の細胞構築異常や神経細胞の発達障害等の解明を試みた。

［方　法］

振戦、失調性歩行、体重増加不良などの症状を呈したWistar系ラット (SRK) 12匹と、異常を示さない同系ラット51匹を用いた。この両群につき、生後14日から28日目の間に屠殺を行い、その小脳を以下の如く処理した。1) 矢状断切片の (a) HE染色、(b) ボディアン染色、(c) Golgi-Cox染色、(d) プルキンエ細胞（以下P細胞と略す）に特異的な抗P_{400}抗体を用いた免疫組織化学染色。2) 電子顕微鏡標本の作成。このほか、3) 妊娠15日目に^{3}H-thymidine（以下^{3}H-TdRと略す）を母獣に静脈注射し、出生後20日、25日および28日目に小脳矢状断切片のオートラジオグラフ標本を作製した。

［結　果］

SRKの小脳は対照群に比べて著明に小さく、HE染色およびボディアン染色では小葉の低形成と高度な細胞構築異常がみられた。小脳皮質では、外顆粒細胞層の消失が遅れ、狭い分子層、細胞のまばらなP細胞層、大型神経細胞が混在する内顆粒細胞層からなる不完全な層構造を示し、小脳白質深部には形態学的にP細胞に類似した大型細胞の集魂が認められた。

Golgi-Cox染色が示すSRKのP細胞の樹状突起の形態は、その位置によって異なっていた。P細胞層に位置するものの樹状突起の走行はほぼ正常であるが、分岐と伸展状態および樹状突起棘（スパイン）の密度は対照群に比べ不良であった。一方、内顆粒細胞層や白質深部に存在する異所性P細胞では極性異常、樹状突起分岐や伸展の高度な遅滞、およびスパインの著しい減少などがみられた。

妊娠15日に^{3}H-TdRを投与された母獣から生まれた対照ラットの小脳のオートラジオグラフ標本で

は、P細胞のほか小脳深部核の大型細胞が強く標識されていた。一方、SRKではP細胞層だけでなく、内顆粒細胞層や白質深部の細胞集魂にも標識された細胞が認められた。

抗P_{400}抗体による免疫組織化学染色では、SRKのP細胞層、内顆粒細胞層および深部の細胞集魂に陽性細胞が散在することを示した。しかし、その染色性は表層のものと比べて深部のもので弱い傾向がみられた。

P細胞の電子顕微鏡的観察では、分子層内のP細胞の樹状突起のスパインは、対照と同様に軸索終末と非対称性のシナプス形成をしていたが、内顆粒細胞層の異所性P細胞の樹状突起のスパインの殆どはシナプスを形成していなかった。さらに白質の樹状突起では、稀にみられるスパインのすべてが軸索終末との接触を欠いていた。

［考　察］

SRKの小脳の組織学的特徴は、小脳皮質の外顆粒細胞の移動遅延、不完全な皮質三層構造および異所性P細胞による白質深部の細胞集魂などであった。

妊娠15日に^{3}H-TdRを投与したSRKの小脳のオートラジオグラフでは、P細胞層周辺と深部細胞集魂にある大型細胞が強く標識されていたが、それらの分布は抗P_{400}抗体陽性細胞の分布と一致していた。SRKと同一妊娠日齢に^{3}H-TdRを投与した対照群の仔ラット小脳のオートラジオグラフでもP細胞が強く標識されたことより、SRKではP細胞の発生時期には異常がなく、細胞移動の過程により大きな問題があるものと考えられた。

P細胞の樹状突起は、平行線維や登上線維と密接な接触を保持しつつ発達することがこれまでも指摘されてきた。本実験でも、SRKのP細胞の樹状突起の発達やスパインの形成は、平行線維とのシナプス形成が比較的多くみられる、皮質表層に位置するものほど良好であることがGolgi-Cox法および電子顕微鏡的観察で確認された。この所見は樹状突起の正常発達にとってシナプスを介する細胞相互作用が主要な役割を演ずることを示唆している。

［結　論］

SRKの小脳では、顆粒細胞の著しい減少、プルキンエ細胞の配列および位置異常、プルキンエ細胞樹状突起の分岐・伸展異常、樹状突起棘の減少とシナプス形成障害等がみられた。これらの異常には、顆粒細胞やプルキンエ細胞の生成・移動障害と神経細胞間相互のシナプス形成障害が主要な役割を持つことが明らかにされた。

学位論文審査の結果の要旨

脳における神経細胞構築異常および神経細胞の極性や樹状突起の分岐・伸展異常は、精神運動発達遅滞児によくみられる脳病理所見のひとつである。本研究は、それらの発生病理の解明を目的とし、新しく発見された運動失調のモデル動物shaking rat Kawasaki (SRK) を用いて、小脳における神経細胞の配列異常や位置異常をきたした神経細胞の樹状突起の発達を組織学的に検索したものである。

SRKの小脳は低形成で、皮質の層構造は不完全であった。外顆粒細胞の移動遅延、狭い分子層、内顆粒細胞層における顆粒細胞の減少と大型神経細胞の混在、大型神経細胞による白質内の細胞塊形成が示された。さらにこれら大型神経細胞が異所性プルキンエ細胞であることが、プルキンエ細胞に特異的な抗P_{400}抗体を用いた免疫組織化学染色により確認された。一方、胎生15日の^{3}H-thymidine投与

によるオートラジオグラフからは、プルキンエ細胞の発生時期には障害がないことが示され、SRKにおけるプルキンエ細胞の異所性や極性異常は細胞移動の過程に障害があると考えられた。

Golgi-Cox染色により観察されたプルキンエ細胞の形態は、その位置によって樹状突起の発達が異なり、深部に位置するものほど樹状突起の分岐が少なく、伸展異常が高度であり、樹状突起棘も少数であった。一方、プルキンエ細胞層に位置していても、対照と比較すると樹状突起の発達は不良であった。電子顕微鏡検索では、異所性プルキンエ細胞の樹状突起には、平行線維終末などシナプスを形成していない裸の棘が観察された。樹状突起棘のシナプス形成障害は、深部に存在するプルキンエ細胞ほど顕著であった。このように、樹状突起の形態異常と棘におけるシナプス形成障害の程度が相関していることがわかった。

この研究は、SRKではプルキンエ細胞の移動障害、およびプルキンエ細胞と顆粒細胞の突起との接触が減少することなどが、プルキンエ細胞の形態異常の発生の一因であることを示唆したもので、博士（医学）の学位を授与するに値するものと認められる。