

氏名・(本籍) 川崎久樹(滋賀県)

学位の種類 医学博士

学位記番号 論医博第60号

学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当

学位授与年月日 平成2年3月24日

学位論文題目 Golgi study on macular mutant mouse
 (ゴルジ染色法によるマクラー・マウスの脳病理に関する研究)

1. Golgi study on brain of macular mutant mouse as a model of Menkes kinky hair disease
 (ゴルジ染色法によるメンケス・キンキー・ヘア病のモデル動物としてのマクラー・マウス脳の研究)

2. Golgi study on macular mutant mouse after copper therapy
 (ゴルジ染色法による銅治療後のマクラー・マウスの研究)

審査委員 主査 教授 狭間 章 忠
 副査 教授 島田 司 巳
 副査 教授 前田 敏 博

論文内容要旨

〔目的〕

メンケス・キンキー・ヘア病(以下、MKHDと略す)は銅代謝異常にもとづく脳変性疾患で伴性劣性遺伝を示す。しかし、その病態はいまだ十分解明されておらず、有効な治療法も確立されていない。マクラー・マウスは日本で発見された突然変異体マウスで、そのヘミ接合体(M1/y)は、黒眼白毛でヒゲが縮れ、生後10日目頃からけいれんや運動失調をおこし、急激に体重減少をきたして生後15日目前後に死亡する。この臨床症状よりマクラー・マウスはMKHDのモデルマウスと考えられている。本研究では、ゴルジ染色法を用いてマクラー・マウスの脳病理を検索し、MKHDのモデルマウスとしての有用性及び銅治療法について検討した。

〔方法〕

- (1) 未治療のマクラー・マウスの脳病理：M1/yと正常雄マウス(+/y)を生後7、10、12、14日目に屠殺し、その脳組織をゴルジ染色して比較観察した。
- (2) 銅治療法の検討：M1/yを生後4、6、8、10日目に塩化第二銅それぞれ10、20、20、30 μg

を腹腔内に投与する群（Ⅰ群）と生後7、10日目に塩化第二銅 $10 \mu\text{g/g}$ を腹腔内に投与する群（Ⅱ群）に分けて銅治療法を検討した。

- (3) 銅治療後の脳病理：銅治療が有効であったⅠ群のM1/yと+/yを生後14、20、30、45、60、90、及び365日目に屠殺し、その脳組織をゴルジ染色して比較観察した。

〔結果〕

- (1) 未治療のマクラー・マウスの脳病理：+/y, M1/yとも生後7日目の小脳では、2～3本の未熟な樹状突起と数本の somal sprout（細胞体の萌芽）がみられる未熟なプルキンエ細胞が観察された。しかし+/yでは、生後10日目になると somal sproutは減少し、さらに生後12日目には消失して細胞体の表面が平滑になった。一方、M1/yでは、大部分のプルキンエ細胞は+/yと同様に正常に発育したが、前葉と中葉の一部では特徴的な変化がみられた。すなわち、生後12及び14日目でも somal sproutが残存していた。さらに、細胞体より2本の樹状突起がでたり、太い主幹樹状突起や、樹状突起の分岐部が腫脹した異常なプルキンエ細胞が観察された。また、その樹状突起の分岐・伸展も遅れていた。

つぎに、大脳皮質第5層の錐体細胞を camera lucida で描出し、Shollの方法を用いて樹状突起の分岐・伸展を定量化してM1/yと+/yとを比較検討した。生後10日目では両者あまり差がみられなかったが、生後12日目及び14日目になると、+/yに比しM1/yでは明らかな分岐・伸展の遅れが認められた。

- (2) 銅治療と臨床経過：Ⅰ群のM1/yでは、30匹中8匹が生後15日目までに死亡した。残り22匹では、生後4日目の銅投与後24時間以内に体毛が灰白色になり、ヒゲの縮れもかなり改善した。また、けいれん、運動失調や体重減少もみられず、ほぼ+/yと同様に発育した。一方、Ⅱ群のM1/yでは、10匹中8匹が生後15日目までに死亡した。残り2匹は生き残り、Ⅰ群と同様の臨床経過をとった。

- (3) 銅治療後の脳病理：銅治療後の生後20日目の小脳では、大部分のプルキンエ細胞は+/yと同様、ほぼ正常に成長するが、前葉と中葉の一部では somal sprout が依然として残存した。また、太い主幹樹状突起や、分岐部が腫脹した樹状突起を有するプルキンエ細胞が観察され、その樹状突起の分岐・伸展も遅れていた。しかし、生後30日目になると、somal sprout や太い主幹樹状突起を有するプルキンエ細胞の数は減少したが、末梢樹状突起の分岐部が腫脹したプルキンエ細胞はしばしば観察された。この異常なプルキンエ細胞は、日齢が進むにつれほとんど観察されなくなり、生後365日目では全くみられなかった。

大脳の錐体細胞の樹状突起の分岐・伸展についてみると、+/yでは、生後20日目以降良好に進み、生後60日目で最高に達し、その後やや低下した。銅治療後のM1/yでも、+/yと同様に経日的に進むが、生後20、30、60、90日目では+/yに比して遅れがみられた。しかし、生後365日目では両者に差はみられなくなった。

〔考察および結論〕

M1/y でみられたプルキンエ細胞の somal sprout、太い主幹樹状突起及びそのカクタス形成等はMKHDの特徴的な神経病理学的所見であった。それゆえ、本実験から、MKHDの小脳プルキンエ細胞の somal sproutの残存はプルキンエ細胞の成長遅滞によると考えられた。

銅治療によりマクラーマウスの臨床症状は改善されるが、小脳プルキンエ細胞の異常や大脳皮質錐体細胞の樹状化の遅れは成獣になるまで残っていた。

以上、本研究により、マクラー・マウスはその臨床症状のみならず、その脳病理所見からもメンケス病のモデルマウスとして有用であることが判明した。形態学的な本研究ではその病態を充分解明できなかったが、現在すすめられているマクラー・マウスの生化学的研究と併せ検討することにより、MKHDの治療に寄与する成果が得られるものとする。

学位論文審査の結果の要旨

本研究は、メンケス・キンキー・ヘア病のモデル動物と考えられているマクラー・マウスのヘミ接合体マウス (M1/y) の脳神経細胞の変化を病理学的に検索するとともに、銅治療の効果を検討したものである。

著者は、生後10日目から14日目までのM1/yおよび対照の正常雄マクラー・マウス (+/y) の脳のゴルジ染色標本を作成し、小脳については組織学的に、大脳皮質については組織計測学的に検索を行った。また、M1/y に塩化第二銅を腹腔内に投与し、銅治療に成功した動物および+/y の脳についても、生後14日目から365日目まで経時的に、同様の組織検索を行った。

M1/y の小脳プルキンエ細胞の異常が顕著であり、対照マウスでは12日目で消失する somal sprout(細胞体の萌芽) が14日目のM1/y に残存していることを観察した。また、M1/y の大脳皮質の錐体細胞では、生後14日目で、樹状突起の分岐・伸展が対照に比べ遅れていることを組織計測学的に証明し、M1/y では神経細胞の発達の遅滞があることを見いだしている。

銅治療により、臨床症状は改善し、延命効果のあることを見いだした。M1/y のプルキンエ細胞には、30日目まで somal sprout が残存し、樹状突起の分岐部の腫大 (cactus) は90日目まで見られた。大脳錐体細胞の分岐・伸展は90日目までは対照に比べ遅れが見られたが、365日目には差が見られなくなった。すなわち、脳病変の改善は認められるが、臨床症状の改善に比べ遅れることを見いだしている。

本研究はマクラー・マウスの脳病変がメンケス・キンキー・ヘア病のそれに極めて類似しており、このマウスが同疾患の有用なモデル動物であること、およびその脳病変の本体が神経細胞の発達遅滞であることを明らかとしたものであり、また、メンケス・キンキー・ヘア病の銅治療に対する貴重な示唆を与えるものであり、医学博士の授与に値するものとする。