

京都大学	博士 (医 学)	氏 名	宇 山 直 人
論文題目	Selective nuclear shrinkage of oligodendrocytes lacking glial cytoplasmic inclusions in multiple system atrophy: A three-dimensional volumetric study		
(論文内容の要旨)			
多系統萎縮症（MSA；multiple system atrophy）は乏突起膠細胞に出現するグリア細胞内封入体（GCI；glial cytoplasmic inclusion）を特異的病変とする。GCIはユビキチン陽性でα-シヌクレインを構成成分とするが、その意義はまだ不明である。今回、この疾患特異的なGCIがMSAの乏突起細胞の変性にどのような影響を及ぼしているのかを検討するために、個々の乏突起細胞の核三次元的に立体構成しその体積を直接定量した。 MSA 6例（男=3、女=3）及び対照コントロール群 7例（男=6、女=1）の橋を用いて、30μm厚の浮遊切片を作成した。GCIには抗ユビキチン抗体を、核にはDAPIを用いて、蛍光二重染色した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて、無作為に、橋の横走線維に並ぶ乏突起細胞全体を含んだ0.1μm毎の連続画像を200枚程度撮像した。この2次元連続断層像から核膜をトレースして、乏突起膠細胞の核をコンピューター上で再構成し体積を計測した。撮像条件により、対象の蛍光像の大きさは異なってみえるので蛍光像の正確な定量は通常困難だが、今回核膜をトレースすることで、核の輪郭を正確にとらえ、信頼できる定量法を確立することができた。対照群と比し、MSA全体では有意に核の体積が小さかった。このうち、GCIなしでは、対照群と比し有意に小さかったが、GCI有りは対照群と有意差を認めず、MSAの乏突起膠細胞に見られる核の萎縮はGCIなしの細胞に選択的に起こることを明らかにした。なお、正常細胞群、GCI有り、GCIなしの各群の体積のヒストグラムは各群で異なる正規分布を示したことで、samplingされた細胞群は各群一様で、計測方法も信頼できることを事後的に追認できた。 これまでの二次元の観察でも、GCIを有する乏突起膠細胞の核は比較的大きいとの指摘がある。個々の細胞の核体積を直接定量する新たな方法を用いた今回の研究は、MSAに見られる乏突起膠細胞の核の萎縮はGCIなしの細胞に選択的に起こり、GCI有りの細胞には見られないとの解離があることを明らかにした。GCIの存在は細胞萎縮を促進させるのではなく、寧ろ細胞萎縮に拮抗する作用と関連していると推測される。			

(論文審査の結果の要旨)
多系統萎縮症（MSA；multiple system atrophy）は、乏突起膠細胞に出現するグリア細胞内封入体（GCI；glial cytoplasmic inclusion）を特異的病変とする。GCIが乏突起膠細胞の変性に及ぼす影響を検討するため、個々の乏突起膠細胞の核を三次元的に立体構成し、その体積を直接定量した。 MSA 6例及び対照群 7例の橋を用い、30μm厚の浮遊切片を作成した。抗ユビキチン抗体及びDAPIを用いて、蛍光二重染色した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて、無作為に、橋の横走線維に並ぶ乏突起膠細胞全体を含んだ連続画像を撮像し、核をコンピューター上で再構成し体積を計測した。対照群と比較し、MSA全体では有意に核の体積が小さかった。このうち、GCIを有しない群では、対照群と比較し、有意に小さいが、GCIを有する群では対照群と有意差を認めなかった。MSAでは、GCIを有しない乏突起膠細胞の核は、GCIを有する核と比較し有意に小さかった。 これまでも、MSAではGCIを有する乏突起膠細胞の核は、有しない核より比較的大きいとされていた。MSAでの乏突起細胞の核体積の有意な減少は、GCIを有しない細胞の核に見られた。GCIの存在は核萎縮を促進させるのではなく、寧ろ核萎縮に拮抗する作用を有する可能性がある。 以上の研究はMSAの病理学的形態変化の解明に貢献し、病態解明に寄与するところが多い。 したがって本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、平成22年3月29日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。
要旨公開可能日： 年 月 日以降