

[別紙 2]

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 にべ かずみ  
二瓶 和美

イヌの神経軸索ジストロフィー（NAD）および小脳皮質アビオトロフィー（CCA）は極めて稀な神経変性疾患で、いずれも常染色体劣勢遺伝にもとづく疾患と推察されているが、これらの病態や病理発生は十分解明されていない。NADはロットワイラー犬が好発犬種とされ、一般に生後数ヶ月で発症し小脳性運動失調を含む種々の神経症状の進行により致死的転帰を示す。病理学的には、小脳神経細胞の変性・脱落とスフェロイド形成をともなう軸索変性が特徴である。一方、CCAは、ケリーブルー・テリア犬が好発犬種とされ、臨床兆候はNADと類似するが、病理学的に小脳神経細胞の変性・脱落が主要病変であり軸索変性は認められない。この様に、NADおよびCCAは臨床的に複数の類似点を有すが、両者の病理組織学的特徴は一致しないため、両疾患の病理発生機序には相違点が存在すると予想される。そこで本論文では、NADおよびCCAの病理発生機序の解明を目的として、両疾病の臨床および病理学的特徴を詳細に検討した。

第1章では、国内で発生したイヌのNAD 3症例およびCCA 1症例の臨床および病理学的所見を比較・検討した。臨床的には両疾病ともに生後半年までに発症し、進行性の後肢運動失調や小脳性運動失調を呈し致死的転帰を示した。しかし、NADはCCAと比較して臨床症状の進行が急速で、生後1歳齢未満で死亡あるいは予後不良と診断されたが、CCAは生後約3歳齢まで生存可能であった。病理学的に、小脳プルキンエ細胞および顆粒細胞の脱落を伴う小脳萎縮が両疾病で認められた。NADではこの所見に加え、スフェロイド形成を伴う軸索変性が特徴的に認められ、特に延髄薄束核、楔状核、オリブ核、三叉神経脊髄路、脊髄背角などを含む感覚神経路で重度であった。本所見はCCAには認められなかった。以上の結果より、パピヨン犬が生後数ヶ月齢で小脳症状を含む進行性の神経症状を示した際にはNADやCCAを鑑別診断として考慮する必要があると考えられた。確定診断には病理組織検索が必要であるが、生存期間や画像診断における小脳病変の重症度などで生前に両者を鑑別できる可能性がある。また、病理学的にはNADとCCAは軸索変性の有無で容易に区別することが可能であり、これらの疾患の病理発生が異なることが示された。

第2章では、第1章で明らかにしたNADの特徴所見である変性軸索（スフェ

ロイド)の性状を明らかにするために、細胞骨格タンパク(NF-L/-M/-H、tau1、tau2、 $\alpha$ -/ $\alpha\beta$ -synuclein)、熱ショックタンパク(HSP70、ubiquitin)、シナプス関連タンパク(synaptophysin、syntaxin-1、SNAP-25)、カルシウム結合タンパク(calbindin、calretinin、parvalbumin)に対する抗体を用いて免疫組織学的に検討した。その結果、検索部位に関わらず全症例でNF、HSP70、ubiquitin、 $\alpha\beta$ -synucleinおよびsynaptophysinに、多くのスフェロイドが陽性を示した。一方、SNAP-25、syntaxin-1、calbindin、calretininおよびparvalbuminに対しては、主に小脳や脳幹のスフェロイドが陽性を示した。以上の結果より、スフェロイドへのNF蓄積はNADの一般的な特徴であり、HSP70やubiquitinの蓄積は生体の処理能力を超えた物質の蓄積を反映する所見と思われた。また、synucleinおよびsynaptophysinの蓄積は、スフェロイド形成部位がシナプス前終末部であることを示唆する。カルシウムタンパク蓄積に関しては、これまでヒトのNADでは報告されておらずパピヨン犬のNADに特徴的な所見であり、病理発生解明の重要な手がかりになると考えられた。

第3章では、NADとCCAの小脳萎縮の病理発生機序を明らかにするために、神経セロイド・リポフスチン症(NCL)を比較対照例とし、神経細胞の脱落機序をTUNEL法およびCD3、HLA-DR、1本鎖DNA(ssDNA)、リン酸化p53、cleaved caspase-3、caspase-9、8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)に対する抗体を用いて免疫組織学的に検討した。その結果、NADでは主にTリンパ球やミクログリア・マクロファージ浸潤による炎症反応を伴う細胞死(ネクローシス)、CCAではアポトーシスの関与が示された。また、NCLでは炎症反応およびアポトーシスの両方が関与することが示された。なお、TUNEL法および抗1本鎖DNA(ssDNA)抗体、抗リン酸化p53抗体、抗caspase-9抗体、抗8-hydroxydeoxyguanosine(8-OHdG)抗体では、特異的反応は認められなかった。

一連の研究結果より、イヌのNADおよびCCAの病理発生について、NADでは感覚神経路に関連する神経細胞の軸索代謝異常が重要であり、本疾患の特徴所見であるスフェロイド形成にはNF、シナプス関連タンパク、熱ショックタンパク、およびカルシウム結合タンパクの凝集が関与する。一方、細胞死の過程にはNADでは、主にネクローシス、CCAではアポトーシスが関与すると予想された。以上、本研究で得られたNADおよびCCAに関する知見は、今後の原因遺伝子解明ためにも重要な情報を提供するものと思われた。よって審査委員一同は、本論文が博士(獣医学)の学位を授与するに値するものと認めた。