

蛍光X線分析による微量元素の神経病理学的基盤 Histopathologic basis of neuronal tissues by microbeam XRF analysis

松浦晃洋^a、杵渕 幸^a、寺田靖子^b

Akihiro Matsuura^a, Miyuki Kinebuchi^a, Yasuko Terada^b

^a藤田保健衛生大学医学部第2病理、^b高輝度光科学研究センター

^aFujita Health University School of Medicine Department of Pathology, ^bJASRI/Spring-8

神経組織の変性・傷害の成立には虚血・活性酸素に加え、蛋白質立体構造異常および銅を含めた金属元素の関与もあると推定されている。放射光による組織元素イメージングを応用することで、神経組織に病変を有する疾患の背景に元素異常が存在することを検証することを目的とする。これまで検討した肝臓、腎臓、消化管などの組織とはかなり全体の元素比が異なっていた。正常脊髄組織では銅シグナルは極めて弱い鉄と亜鉛が一定程度発現している。一方、銅欠乏疾患の脊髄では予想通り銅は減少していたが、顕著な鉄シグナルがみられた。銅は脳神経系の発達や機能維持に重要な役割を果たす酵素の補因子である。神経系における鉄代謝に関与する銅含有酵素機能低下により鉄の異常蓄積が生じた可能性がある。今回の実験において神経組織の解析には測定部位の選択がきわめて重要であり、照射野を広範囲にしてシグナルを探しさらに高解像度で測定することで高品質の画像情報を得られることがわかった。神経組織の疾患への応用の基礎条件を整えることができた。

Abstract

We examined the content and distribution of copper in the spinal cord of patients with copper deficiency and with neurodegeneration. The results were compared with those of a control subject with normal copper metabolism. The copper content in the spinal cord was very low but iron and zinc were detectable. Using these elements as a guide of neuronal components, we established an appropriate protocol to examine neuronal tissues and cells. The decrease of Cu level and increase of Fe level in the copper deficiency indicated that abnormal Fe deposition may be occurred by the dysfunction of cuproenzymes involved in iron metabolism. With the condition, we are now able to distinguish neuronal components at cellular level. Analysis of the neurodegenerative disorders is in progress.

背景と目的

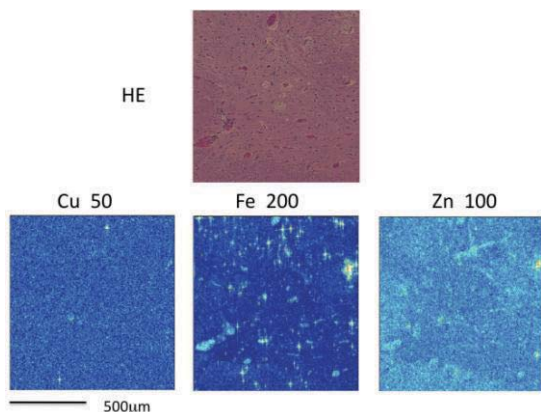
脳神経変性には、頻度の高い虚血性の変性に加えて、パーキンソン病、アルツハイマー病 (AD)、筋萎縮性側索硬化症など特定疾患に指定される難病が数多くある。それぞれは異なる遺伝的背景、病因と発症機構を有し、罹患部位も異なっている。共通する組織所見として、神経細胞の変性・脱落 (neuronal death&loss) とともにそれに対する脳神経系における炎症反応 (gliosis) やアミロイドを含め多様な物質の沈着が観察され、病因蛋白に何らかの異常が生じた結果蛋白質の凝集・蓄積が生じたことによる蛋白質立体構造異常の概念

(Conformational disease) が提唱されている。銅は脳神経系の発達や機能維持に重要な役割を果たす酵素の補因子である。例えば、AD では沈着するβアミロイド蛋白の folding に銅が関与していること、細胞内・細胞外のスーパーオキシドディスムターゼ (SOD) は活性酸素種の除去に関わり、家族性ALSの一部はSOD1の異常によることが判明している。今回、高解像度X線分析にて銅を含めた微量元素の神経組織・細胞内分布の解析を試みた。

結果

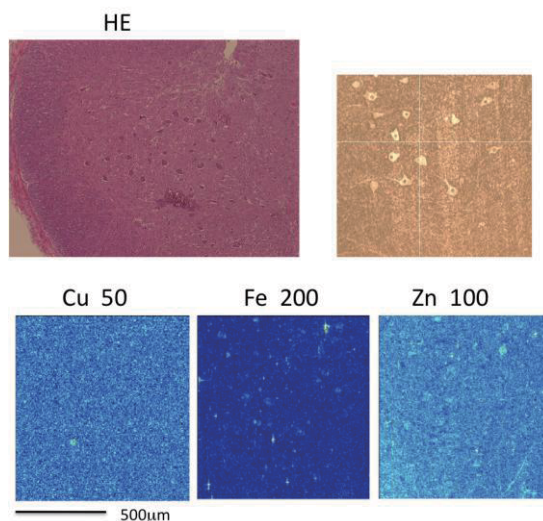
正常、遺伝的銅欠乏症 (MK)、AD の脊髄標本を

用いて蛍光X線分析を行った。銅についてはいずれもシグナルが弱かった。MK では神経細胞数の減少と血管周囲の浮腫が見られた。強い鉄シグナルが異常な分布を示した。多くは血管と粗鬆化した **neuropile** と一致したが、組織構築との関連が不明な部分もあった。ノイズでないことを現時点で完全には除外できていないが、正常ではそれほどシグナルが強くない。



<図1 MK TEI with a wide detection area (DA)>

正常脊髄では光学顕微鏡で神経細胞胞体・突起が観察される部位に一致して特定の元素が高濃度に局在した。銅はシグナルが弱く（正常肝臓よりはるかに弱い）意味のある局在を示さなかった。細胞質に鉄が検出されたが細胞突起にはみられず一定の局在傾向がある。同一測定領域において特定の元素が神経細胞に多く集積しており、同時多元素測定がうまく利用すると、他の微量元素の局在部位の判定に有効である。さらに、シグナルの多い部分を高解像度分析することで極めてクリアな神経組織・細胞のイメージを作成できた（詳細解析中）。AD については測定範囲が病変のある部位をはずれたので、さらに検討する必要がある。



<図2 正常 TEI with a wide DA>

結論

神経変性のない脊髄の組織所見と TEI の比較から、正常神経細胞・突起における元素分布について極めて有用な基本情報を得た。銅欠乏では量と分布が変わっていた。

考察

MKの強度の鉄シグナルは正常脊髄では見られず、神経組織の銅含有酵素機能不全による可能性が考えられる。他の標本で確認するとともに、鉄代謝に重要な銅含有酵素を検索中である。神経組織の計測において、うまく測定領域が描画されない「はずれ」の場合があった。神経系は組織構造が広範囲にわたり、一回では白質と灰白質の同時測定ができず、最初から高解像度測定（狭い範囲）測定を試みたため、実際にスキャンされた領域 **neuropile** にずれが生じたものであった。この問題を解決するには低解像度の広範囲測定と高解像度測定を組み合わせたプロトコールが有効である。銅シグナルは微弱のため、過剰が生じた場合には検出が容易となる。銅過剰疾患の神経組織を得たので陽性対照として有効に使い、今後、脳変性疾患について詳細な解析を行う所存である。脳神経病学において大きな一歩となると期待される。