

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 田中 美穂

犬でしばしば発生する壊死性髄膜脳炎 (necrotizing meningoencephalitis: NME)、壊死性白質脳炎 (necrotizing leukoencephalitis: NLE) ならびに肉芽腫性髄膜脳脊髄炎 (granulomatous meningoencephalomyelitis: GME) という 3 つの疾患はいずれも原因不明であり、特発性脳炎に分類されている。これらの疾患はいずれも急性進行性の神経症状を呈し、多くの症例は早期に死亡する。本論文は NME, NLE および GME の病態解明を目的として、自己免疫機序の側面から検討したものであり、以下の 3 章から構成されている。

第 1 章では、特発性脳炎の犬の脳脊髄液 (CSF) 中に含まれる自己抗体の標的抗原を解析した。ヒトの自己免疫性脳炎の標的抗原として報告されている数種類のタンパク質について検討した結果、NME, NLE および GME 症例の CSF 中からアストロサイト (星状膠細胞) のトランスグルタミナーゼ 2 (TG2) に反応する自己抗体が検出された。この自己抗体は組換えヒト TG2 および組換えイヌ TG2 に対するイムノブロッティングにより存在が検証された。そこで TG2 に対する自己抗体を検出する ELISA を作成し、各種の中樞神経疾患に罹患した犬の CSF で測定したところ、NME、NLE、GME 症例は抗 TG2 抗体が陽性であり、健康対照犬では陰性であった。また、健康対照犬を含む多くの犬の血液中では抗 TG2 抗体が検出されたことから、抗 TG2 抗体は血液中から CSF に移行した可能性が示唆された。

第 2 章では、抗 TG2 抗体が犬のアストロサイトに与える影響を検証するため、初代培養イヌアストロサイトを用いた実験が行われた。初代培養イヌアストロサイトを、市販の抗 TG2 モノクローナルおよびポリクローナル抗体の存在下で 12 時間培養した後に固定し、蛍光標識 2 次抗体で検出したところ、アストロサイトに対する抗 TG2 抗体の反応が観察された。さらに、これらのアストロサイトでは GFAP 発現が増強した。メタボローム解析では、抗 TG2 抗体を反応させたアストロサイトで細胞内還元型グルタチオン (GSH) 含有量が減少した。これらの結果から、抗 TG2 抗体は生きたイヌアストロサイトの表面に存在する TG2 に結合し、細胞内 GSH の低下をはじめとする酸化還元調節系への影響を有することが示された。

第 3 章では、犬の特発性脳炎の脳組織における TG2 陽性アストロサイトの分布を検討した。NME 6 症例、NLE 1 症例、GME 3 症例および健康犬 1 例について脳のパラフィン包埋ブロックから組織標本を作成し、GFAP および TG2 に対する免疫組織化学を実施した。健康犬では大脳皮質および白質のアストロサイトの細胞体と足突起に TG2 が認められ、また一部の血管内皮細胞も TG2 陽性を示した。NME 症例の大脳皮質および大脳白質の TG2 の局在は健康犬とほぼ同様であったが、大脳皮質の病変部に TG2 陽性アストロサイトの明らかな増生が認められた。ただし重度の囲管性細胞浸潤巣の血管周囲には GFAP 陽性で TG2 陰性の肥大したアストロサイトが観察された。NLE 症例の脳における TG2 の局在は NME とほぼ同

様で、壊死領域周囲における TG2 発現の増強が認められた。一方、GME では 3 症例に共通して大脳皮質のアストロサイトが TG2 陰性であった。このように、NME や NLE とは異なり、GME では大脳皮質のアストロサイトが TG2 陰性であり、GME には大脳皮質においてアストロサイトの TG2 発現を低下させる病態機序が存在することが疑われた。

以上のように、本論文は犬の特発性脳炎症例における CSF 中の抗 TG2 抗体の存在を明らかにし、試験管内におけるアストロサイトへの影響を証明し、症例における TG2 の動態を明らかにしたもので、獣医学の学術上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（獣医学）の学位論文として価値あるものと認めた。