

神経病理染色実習

村山 繁雄

大阪大学大学院連合小児発達学研究科子供のこころの分子統御機構研究センター
ブレインバンク・バイオリソース部門・(発達障害・精神・神経疾患ブレインバンク)
(<https://brainbank-kansai.jp/>)

常勤特任教授

東京都健康長寿医療センター

高齢者ブレインバンク(<https://www2.tmig.or.jp/brainbk/>)

常勤特任研究員(クロスアポイント)

私の背景

赤穂義士は、
喧嘩両成敗の
武士道の正道を
正した社会貢献
である。
(故村山千代子)



天王寺区六万体町 万松山吉祥寺(義士の寺)



COI

本講義に関するCOIはありません。

特任・臨床教授

大阪公立大学・東京医科大学、同志社大学、
神経病理コンサルタント：

国立病院機構大阪刀根山医療センター・相模原病院・

静岡てんかん神経医療センター、

国立国際医療センター、虎の門病院、亀田病院、横浜労災病院、

北里大学附属病院

医師免許：本邦、米国

学会活動

米国神経病理学会誌主任編集委員

日本神経病理学会名誉会員、同ブレインバンク委員長

日本神経学会名誉会員、日本認知症学会名誉会員

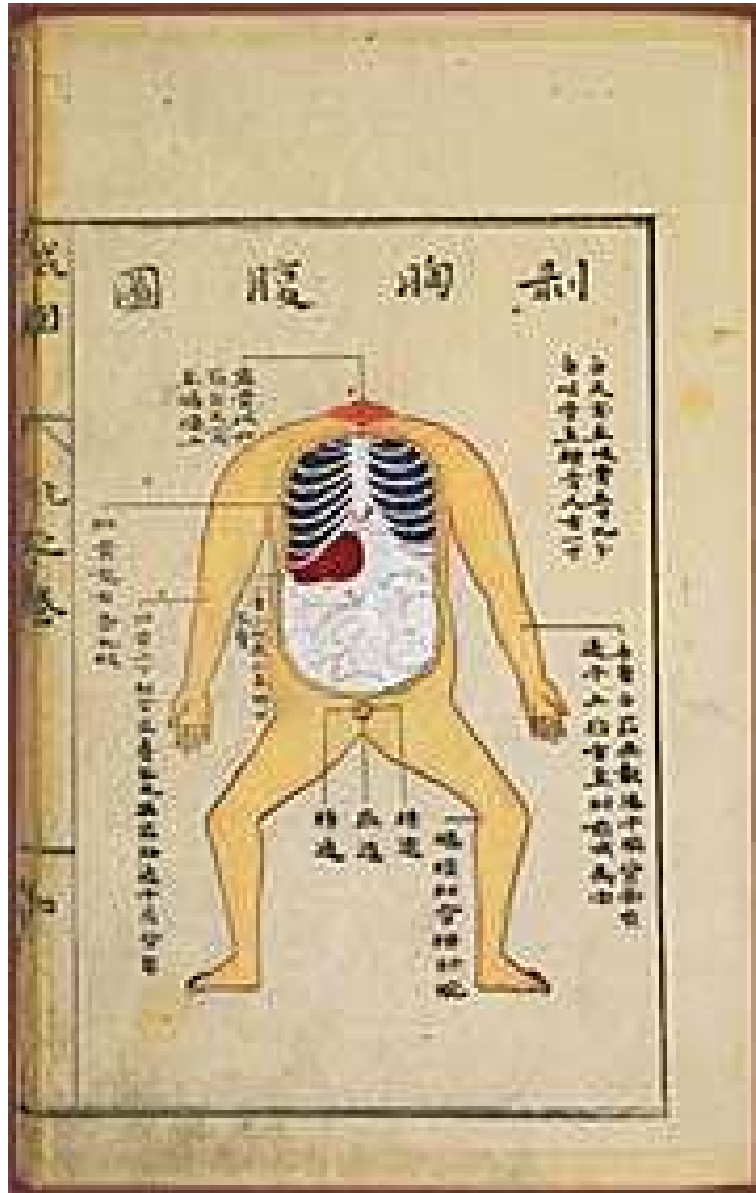
本日の実習に使用する標本は、 ブレインバンクドナー本登録症例です

- ブレインバンクは、死後脳を適切に保存・蓄積し、研究者に供与し、神経科学の底支えをするシステム。
- 1960年代超低温槽が商業ベースになり、Cambridge、Harvard、UCLAに創設。
- 本邦での創設は高齢者ブレインバンクが最初。
- 本邦病理解剖剖検同意は、明治期より診断・教育・研究を含む
- 難治性精神・神経疾患根治療法開発を最終目的とする点で、若手教育は必須として倫理委員会承認を得ている。

本講義のテーマ

- ブレインバンク
- 神経解剖・病理
- 神経病理染色

人体解剖による医療への貢献



蔵志

山脇東洋

1759

(京都府立医大)

1754 斬首刑

死体解剖

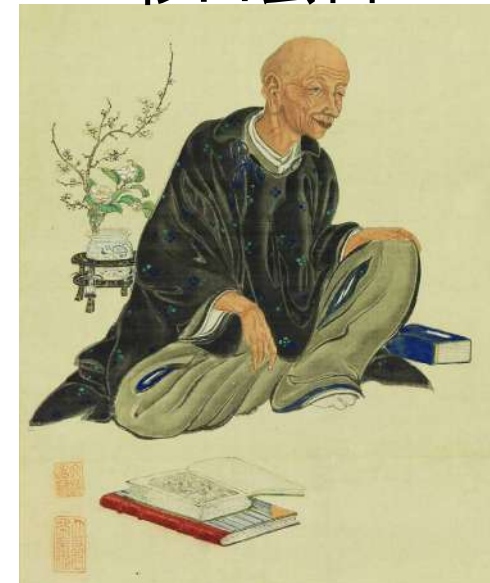
(脳がない)

追加刑罰 腑分け



解体新書 1774

杉田玄白



Tafel Anatomia

1722 ドイツで出版

オランダ語に1734翻訳の

日本語 訳

“nerve”の訳に

“神経”(神気経脈)を造語

人体病理の医療への貢献



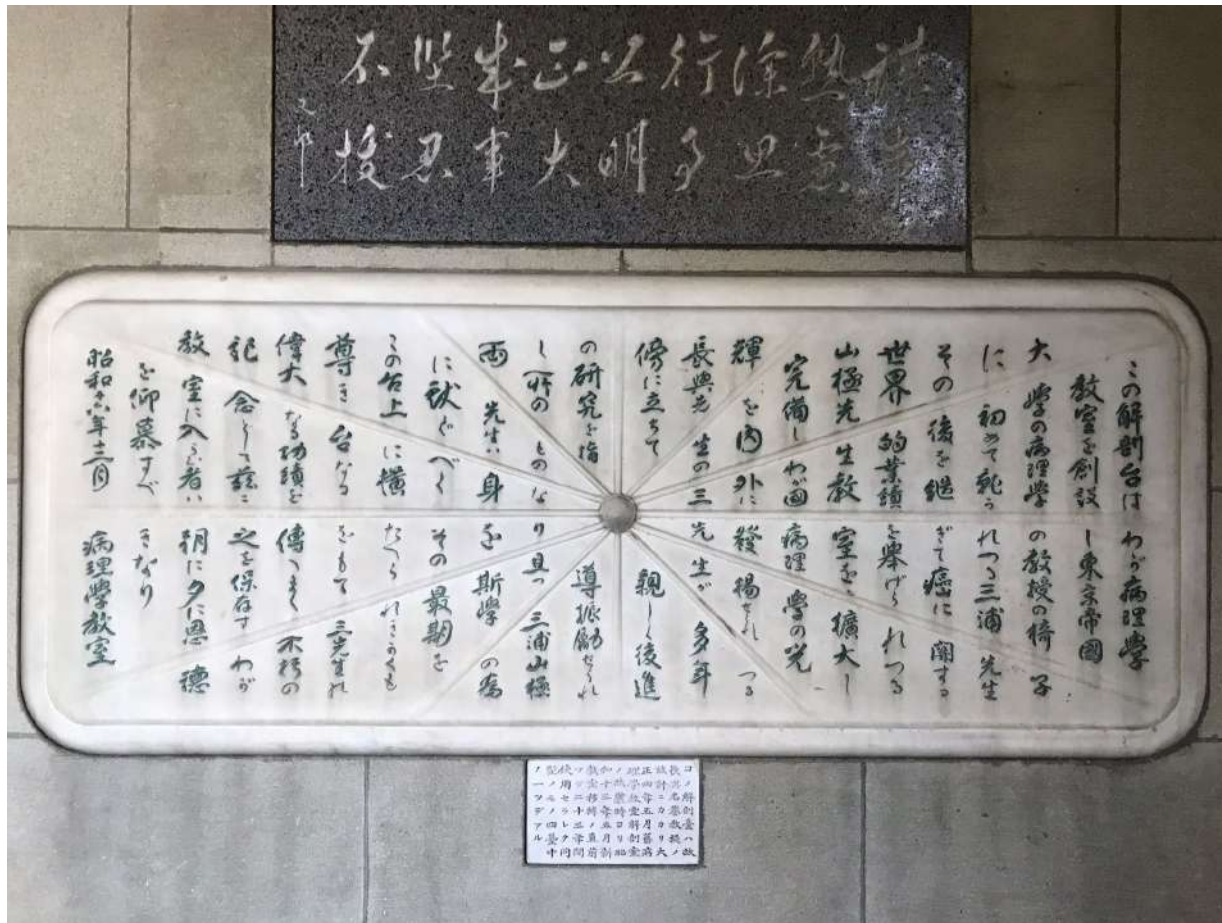
日本住血吸虫症

杉山なか(主婦)

山梨県の風土病であった、若年で肝硬変で死亡する疾患に、献体で病因を解明して欲しいと都知事に陳情。

1897主治医が中心となり剖検。

新型寄生虫卵が発見され、日本住血吸虫症解明の糸口となる。



東大病理学教室入口の壁にはめ込まれた剖検台



剖検が行われた
菩提寺盛岩寺の
杉山なか記徳碑

高齢者ブレインバンク

高齢者コホート連続開頭剖検例 +
オールジャパン稀少神経疾患
(<https://www2.tmig.or.jp/brainbk/>)

A. 東京都健康長寿医療センター例

1. 高齢者コホートリソース

連続開頭剖検例 (1972.5-): **7,601**例

臨床・画像・病理所見はデータベース化

➢2. ゲノムリソース(1985.1-): **2,598**例

凍結部分脳・ゲノム研究への資源

➢3. 凍結半脳リソース (2001.7-): **1,320**例

神経科学全般への資源

→臨床縦断研究と結合(アルツハイマー病・パーキンソン病パス)

B. 外部登録例

オールジャパン稀少疾患デポジトリー **140**例



剖検は死因解明・病態解明・
次世代への貢献を目的とする

日本神経科学ブレインバンクネットワーク

日本神経病理学会ブレインバンク委員会

推進

生前・剖検時同意
診断・症例情報登録

日本ブレインバンクネットワーク

東京大学；徳島大学；広島大学；東京医科大学；北里大学；帝京大学；香川大学；国立国際医療研究センター；国立東京・下志津・沖縄病院；大阪刀根山・静岡てんかん神経・広島西医療センター；東京逋信、虎ノ門・横浜労災・亀田・JR東日本関東

国立精神・神経医療研究センター

高齢者ブレインバンク
(東京都健康長寿医療センター)

発達障害・精神・神経疾患
ブレインバンク (大阪大学)

リソース内容の登録

認定

症例データ管理システム

教育資源・研究資源の公開

研究リソースのチョイス
テーラーメイド方式

研究者

国立相模原病院

美原記念病院

福祉村病院

文科省基盤
研究者支援



井原康夫東大名誉教授
高齢者ブレインバンク
2023.7 本登録

文科省革新学術領域 コホート・生体試料支援プラットフォーム
2022- 2027

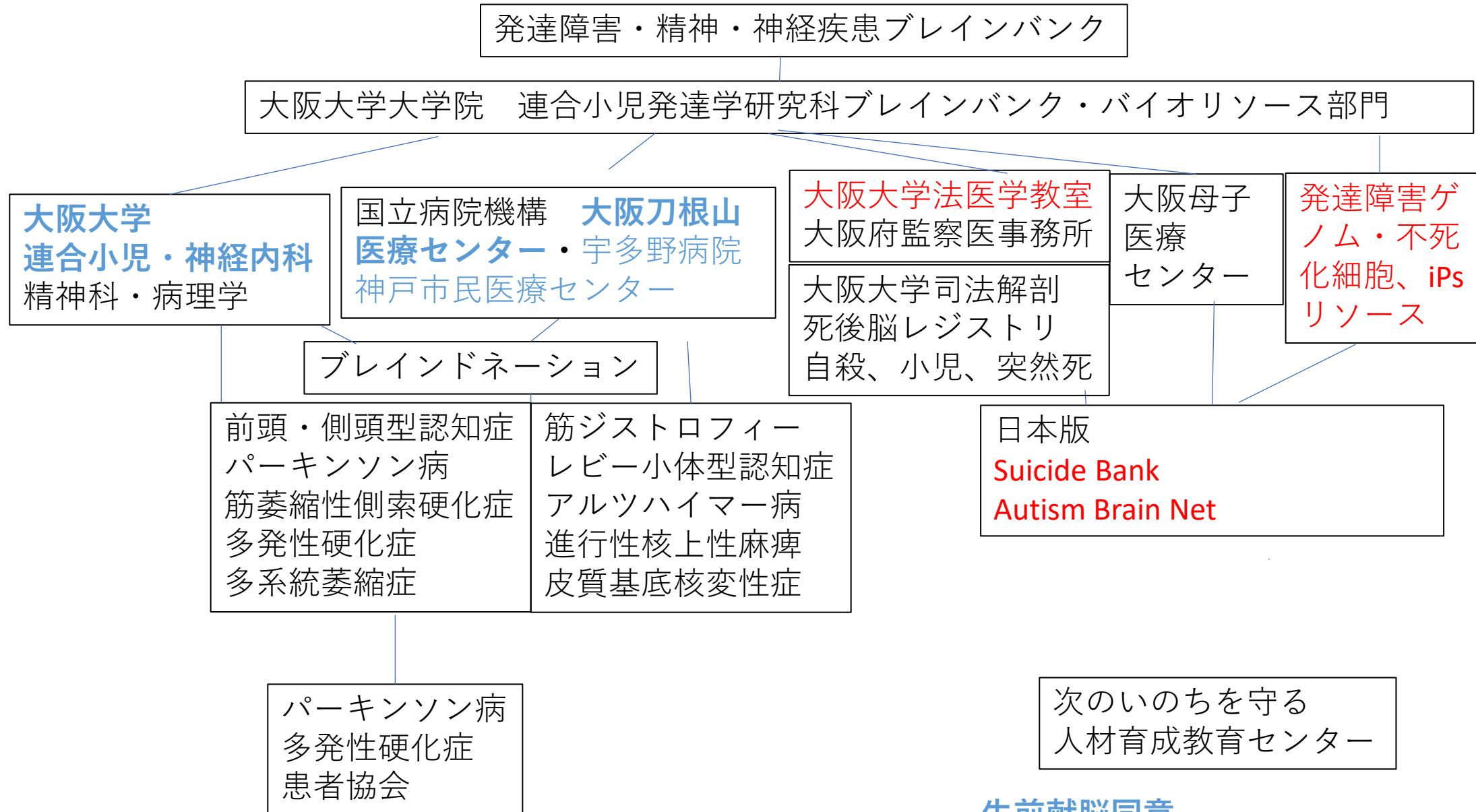
高齢者ブレインバンクプロジェクト

1. ブレインバンクデータは電子カルテに保存。
2. 生前献脳同意事前登録に常勤コーディネーターが対応
3. ブレインバンクドナー登録者でセンターにブレインバンクIDを発行。
外部稀少疾患登録も同様。
4. ブレインバンクリソースセンター：超低温槽24台
(プリオン病バックアップ1台)
5. パラフィンブロック 7000 例以上
6. 臨床髄液3000例以上
7. 全身臓器小片凍結3000例
8. ブレインバンクデータセンター：
バーチャルスライドによる教育発信
9. ブレインバンクネットワークカンファランスルーム：阪大、刀根山と連携





日本ブレインバンクネットワーク関西拠点



生前献脳同意



東北大老年病科JADNI登録初剖検例

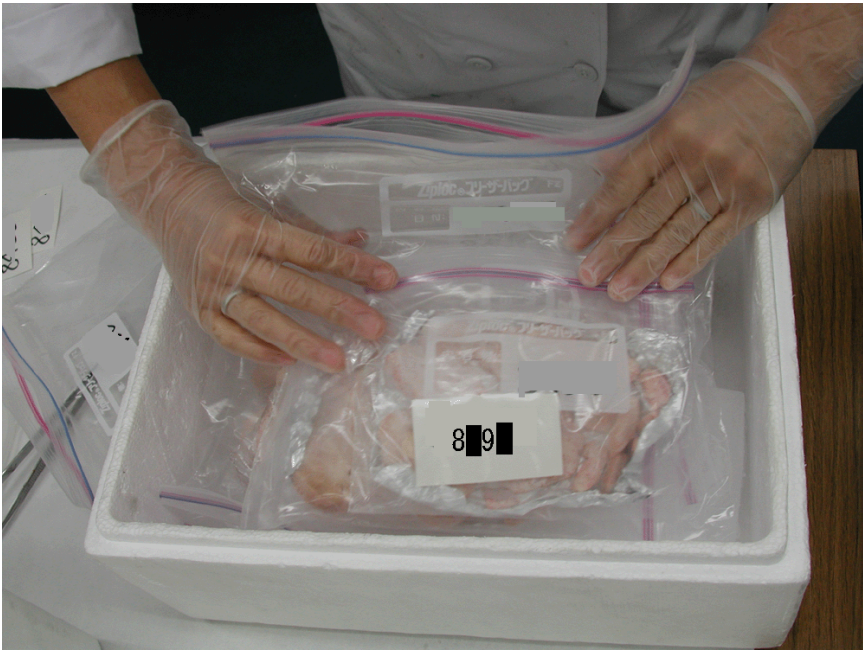
東北大震災後要請に応じ東北大学でリハビリー



“雨にも負けず運動”＝ドネーションの篤志があればどこにでも行きます



a copper plate chilled in refrigerator on sliced dry ice

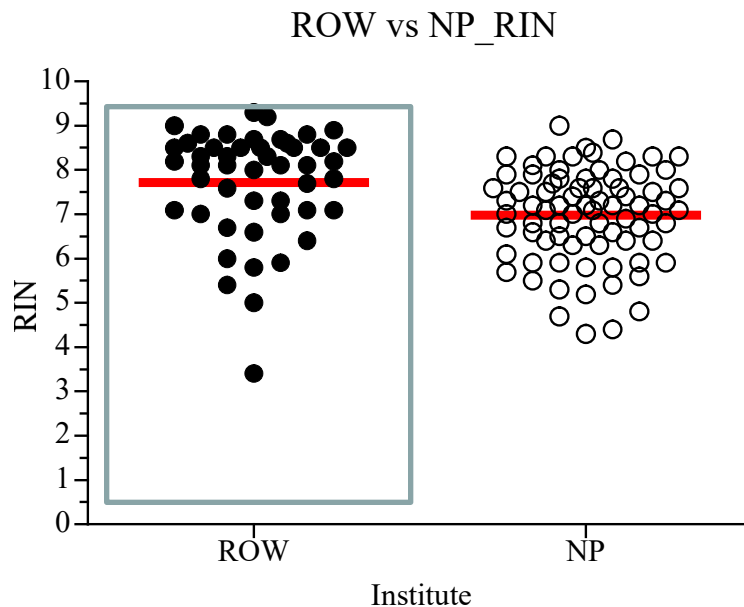
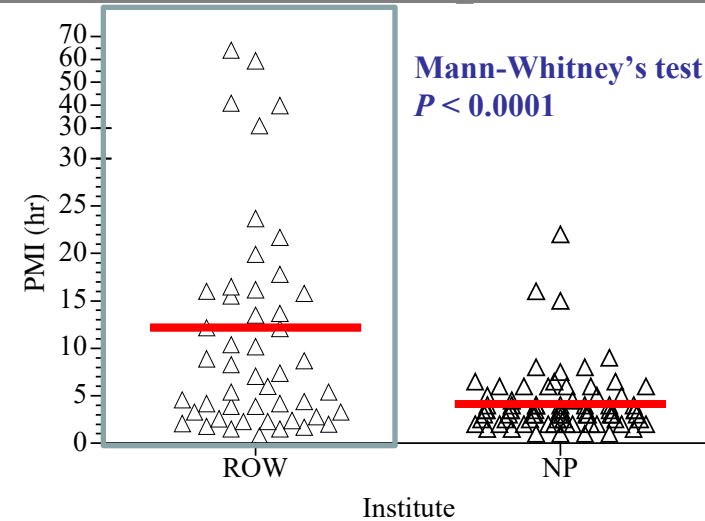


Total RNA Quality Check (Dpt. Mol. Biol. Niigata Univ. BRI)

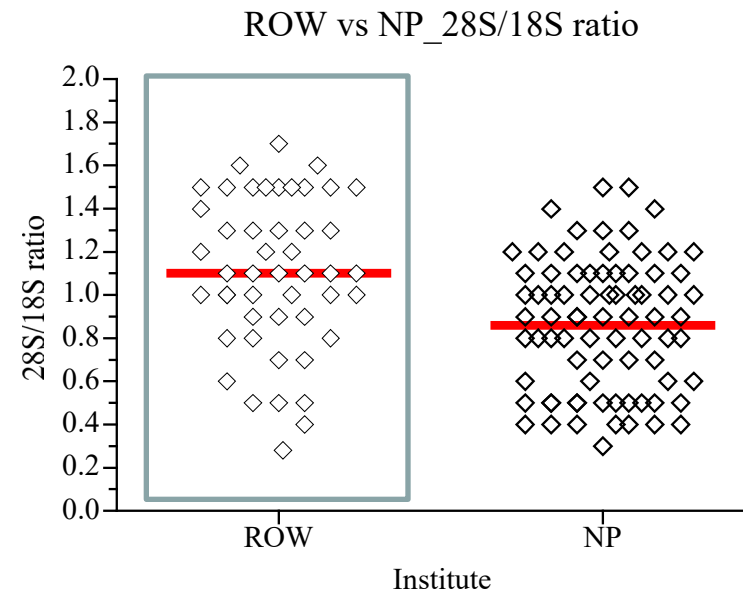
DNA & RNA Back Up

BBAR (N=48: ROW) vs Control (N=78: NP)

RNA Quality of BBAR is better than rapid autopsy control, probably **due to a** very short cooling interval (interval **between** death and transfer to a refrigerator).



Mann-Whitney's test, $P < 0.0001$



Mann-Whitney's test, $P = 0.0002$

日本神経科学 ブレインバンク ネットワーク	施設	臨床/ 病理	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024
	大阪大学	望月秀樹/村山繁雄				3	4	6	6	5	14	7	9	4
	高齢者ブレインバンク	岩田淳/ 齊藤祐子	39	39	45	64	52	39	36	36	34(3)	40	40	35
	福祉村病院	金田大太/ 橋詰良夫	31	27	25	25	21	25	33	40	33 (3)	32	30	24
	国立精神・神経医療研究セ	高橋祐二/ 高尾昌樹	10	11	9	13	18	24	14	22	20	48	27	36
	美原記念病院	美原盤/ 高尾昌樹	26	15	19	23	16	19	33	18	12	10	6	14
	国立相模原病院	長谷川一子/ 柳下三郎				8	10	18	18	17	8	21	13	13
	東京大学医学部附属病院	久保田暁/ 池村雅子	23	22	25	26	15	17	18	21	18	10	9	10
	国立国際医療研究セ	新井憲俊/ 猪狩亨	16	17	27	17	17	9	9	7	12	12	10	8
	大阪刀根山医療センター	井上貴美子/(村山繁雄)	13	12	9	7	11	8	14	12	11(2)	14	6	8
	国立東京病院	小宮正/(村山繁雄)	5	2	4	3	0	1	1	1	0	0	0	0
	静岡てんかん神経医療セ	小尾智一/(村山繁雄)	5	4	6	5	4	6	2	1	6	0	3	1
	横浜労災病院	今福一郎/ 角田幸雄	6	6	8	8	4	4	4	2	1	0	2	2
	亀田総合病院	安藤哲朗/ 竹内亮子	10	6	9	12	10(2)	10(2)	10(2)	5(4)	6	3	6	2
	北里大学病院	西山和利/ 一戸昌明	9	5	4	2	6	6	1	1	2	2	1	1
	徳島大学病院	和泉唯信/ 常山幸一	3	5	10	4	12	4	5	3	3	1	5	0
	国際福祉大学三田	岩田信恵/ 相田真介	3	2	0	2	1	1	2	0	(1)	1	5	1
	香川大学病院	鎌田正紀/ 上野正樹	4	3	1	1	1	2	1	0	0	1	0	0
	虎ノ門病院	上坂義和/ 伊藤慎治	3	1	2	2	3	1	8	2	6	3	2	2
	帝京大学病院	園生雅弘/ 齊藤祐子	2	2	0	4	0	4	2	0	1	1	0	2
	東京逋信病院	椎尾康/ 岸田由起子	5	2	2	3	5	3	3	3(2)	7	3	5	6
	東京医科大学	清水聰一郎/ 黒田雅彦			1	0	0	1	0	1	1	1	2	2
	国立広島西医療センター	渡辺千種/立山義朗			3	4	4	2	4	0	0	1	0	1
	大阪公立大学	伊藤義彰/ 大澤雅彦		1	1	1	1	0	1	0	0	0	0	0
	国立沖縄病院	諏訪園秀吾/ 熱海恵里子				1	2	2	4	2	0	0	0	0
	オープンリソース計		122	112	119	168	170	174	173	164	157	181	158	145
	施設蓄積		79	85	84	105	74	69	50	67	39	31	23	23

本講義のテーマ

- ブレインバンク
- 神経解剖・病理
- 神経病理染色

病理学とは

- 生体から分離されたものを、生体本来の生命活動から分離し、客観的な差異を検討する学問体系
- 本邦での病理学は、米国での解剖病理 (Anatomic Pathology: AP) にあたる。
- 本邦での中央検査は、欧米では臨床病理 (Clinical Pathology: CP) と呼ばれる。
- 米国ではAP、CPの専門医資格 (Board) を取るのが一般的 (AP+CP)。
- 米国神経病理専門医は、神経病理 (NP: neuropathology) の専門医資格を取ることで (AP+NP)、神経病理診断を行う。

神経病理学とは

- ヒトの精神・神経活動を、病理学的に理解するために生まれた学問体系
- 全身病理学同様、ドイツが先行。
- アルツハイマー病が最大の成果。
- 標的臓器である脳・脊髄は、頭蓋骨、脊椎で守られており、病理解剖時採取に別途技術が必要。
- 欧米で開頭剖検率はほぼ100%だが、本邦では七帝大で30%程度。
- 神経系は一般臓器と異なり特殊性があり、本日実習項目であるKluever- Barrera染色はその代表。
。

神経系の特殊性（肉眼所見）

- 解剖学的部位により機能が規定される。
 - 神経細胞は、領域分化、機能分化をとげているが、ほんの一部しか解明されていない。
 - 膠細胞についても、星状膠細胞については同様の分化が一部で解明されているが、ほとんど分かっていない。
- 解剖学的知識が理解の前提となる。

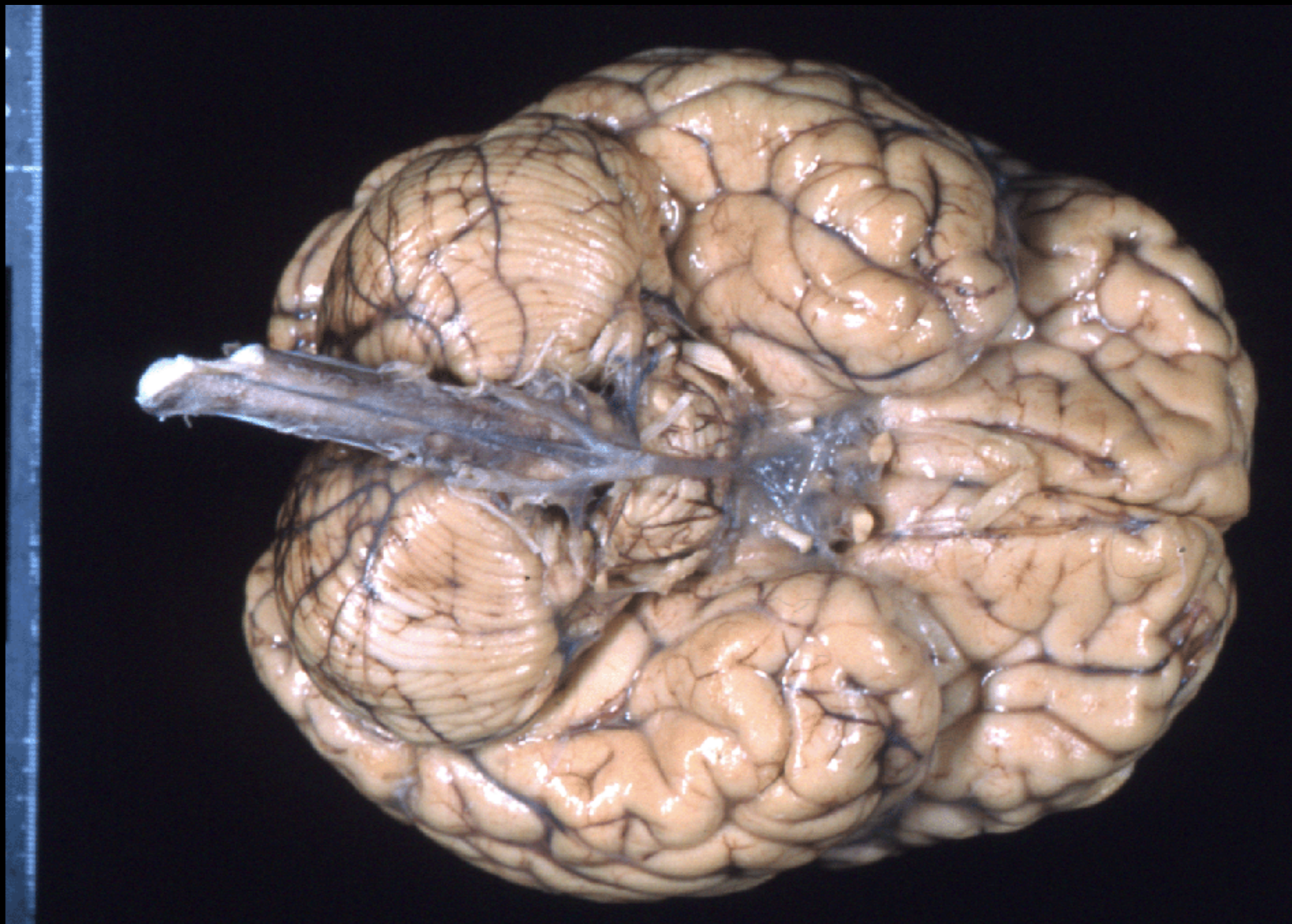


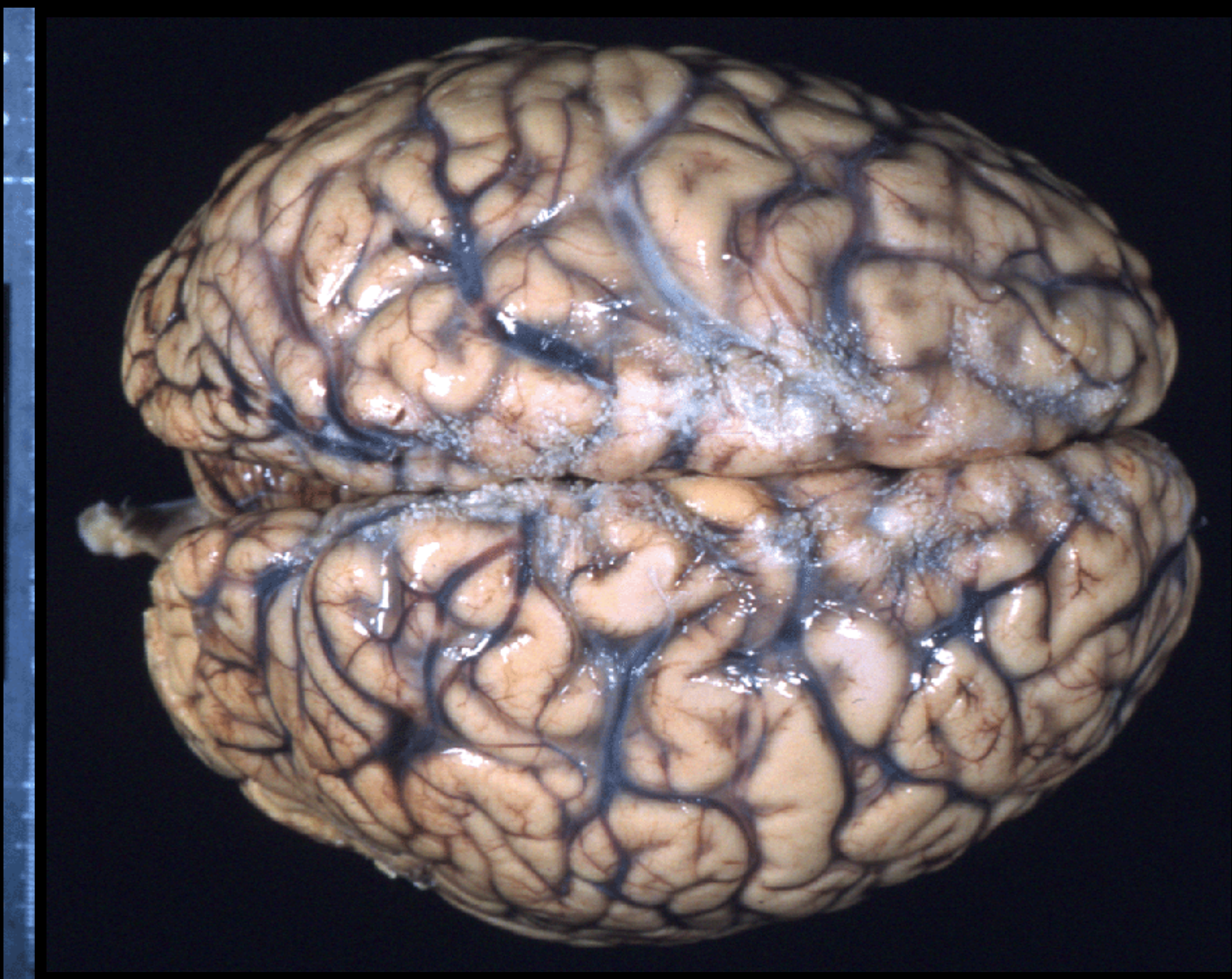
アインシュタインの脳

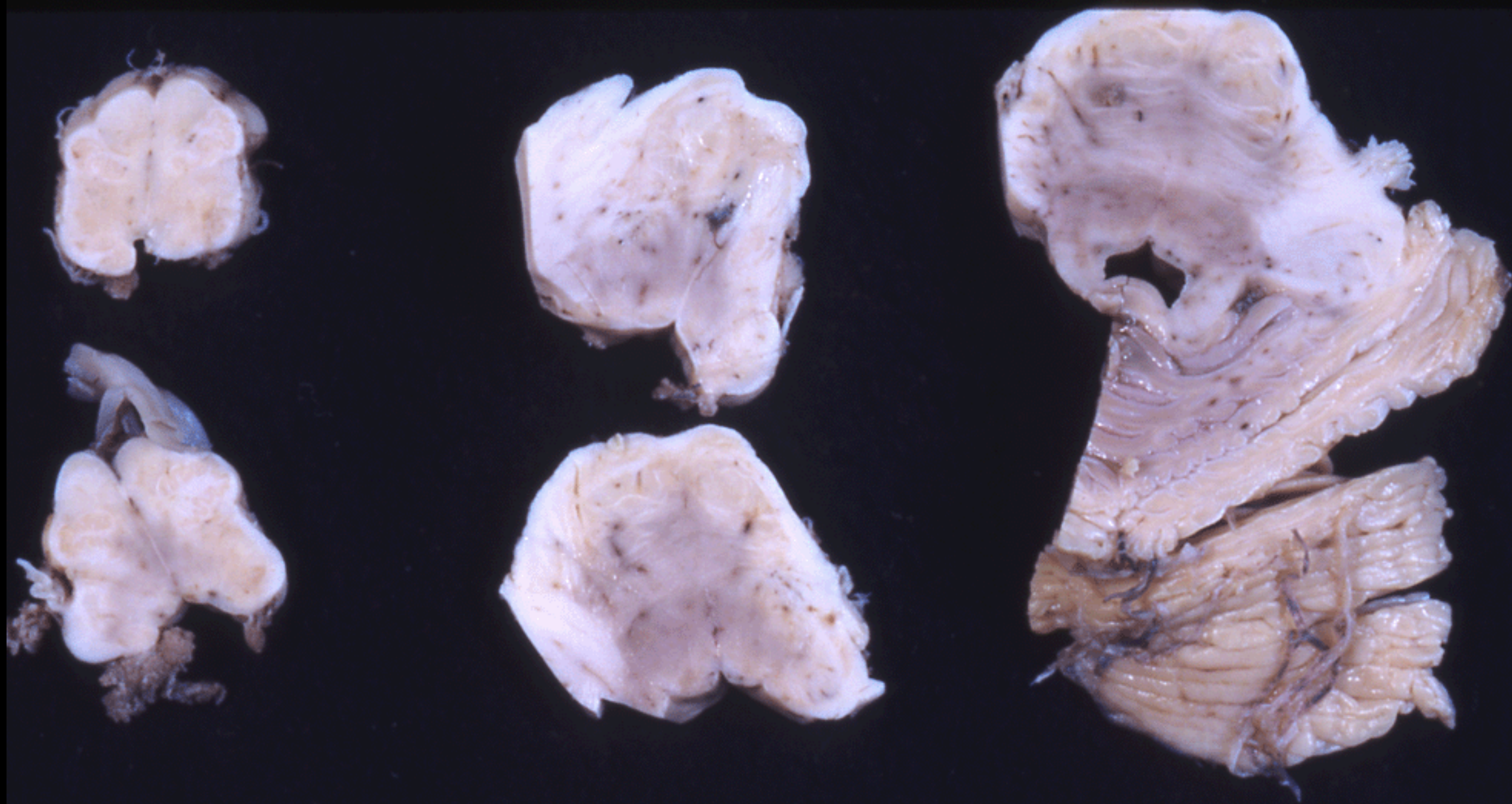


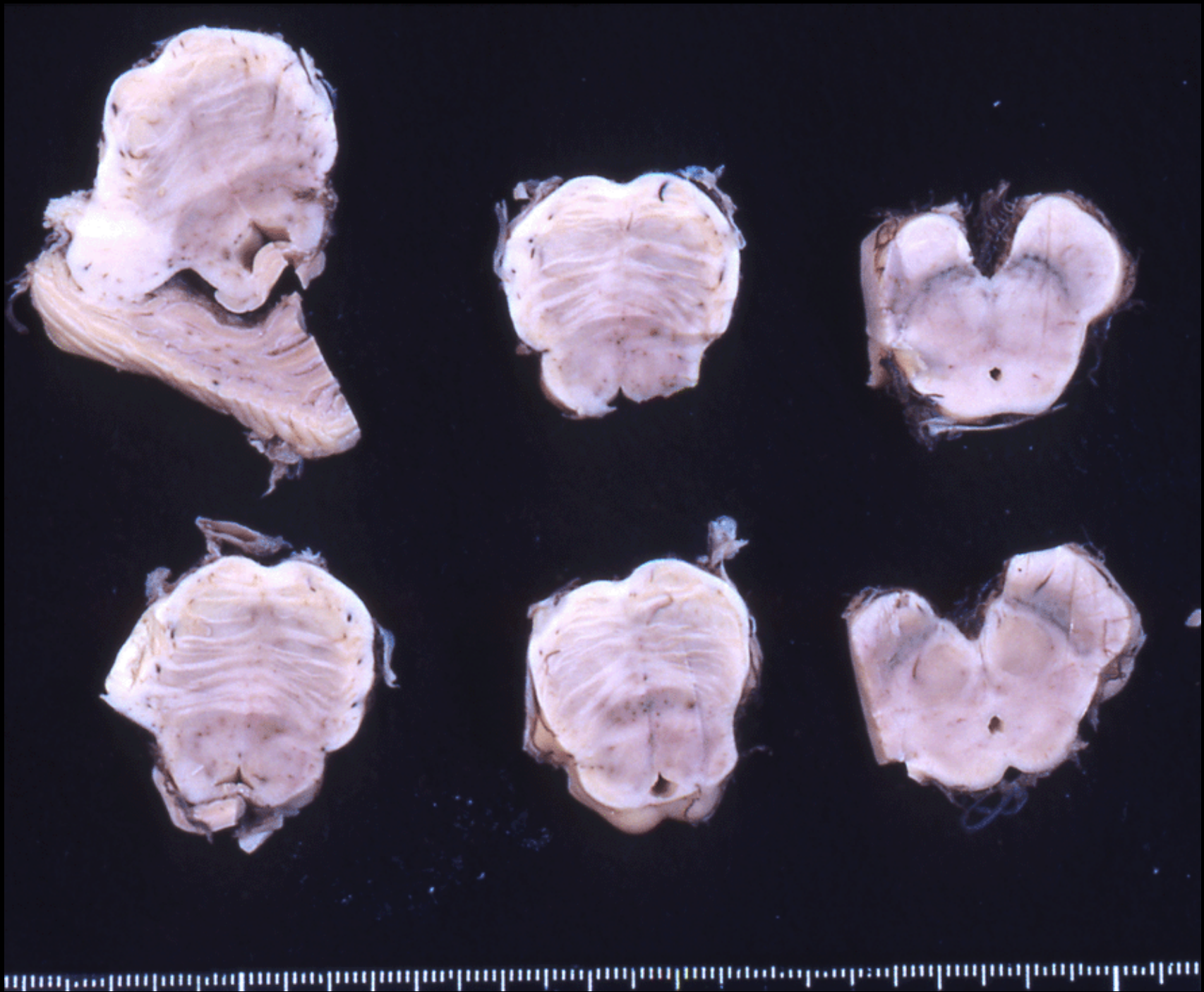
山口晴保博士受給標本、高齢者ブレインバンク委託保管

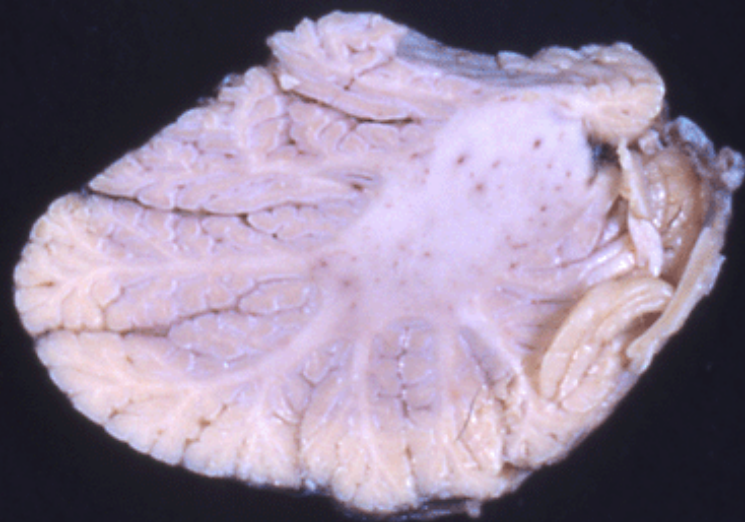
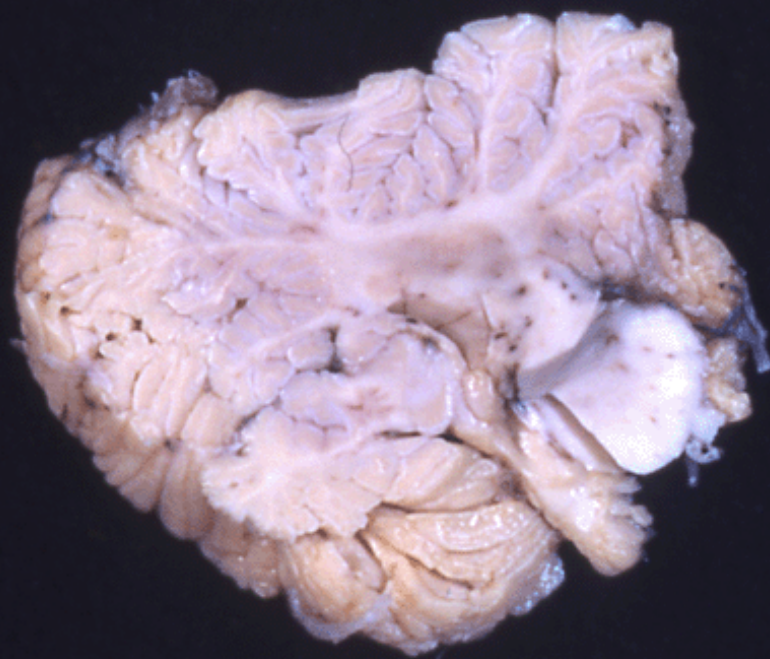
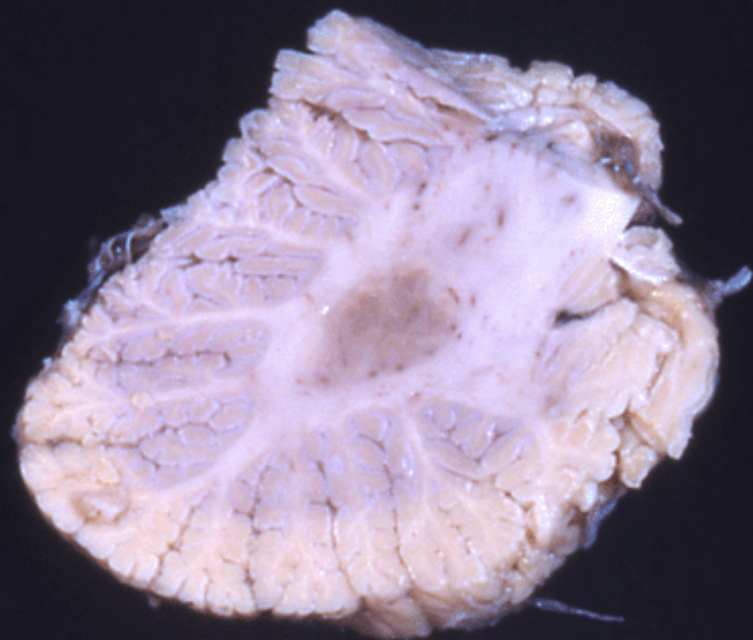
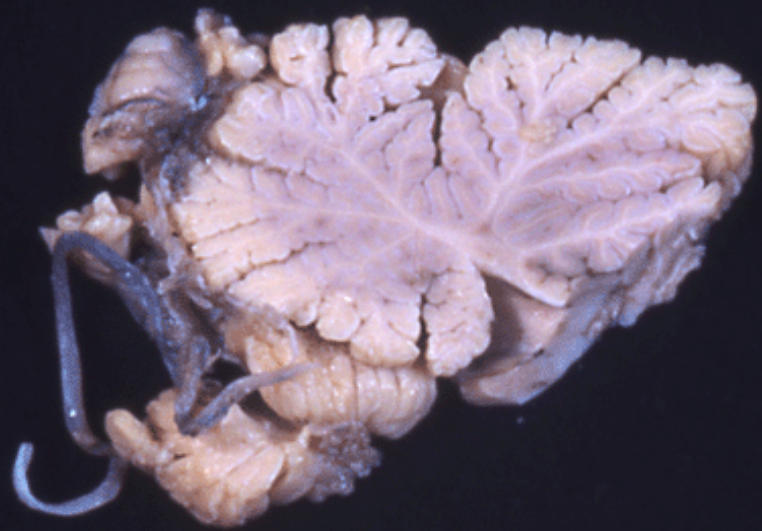


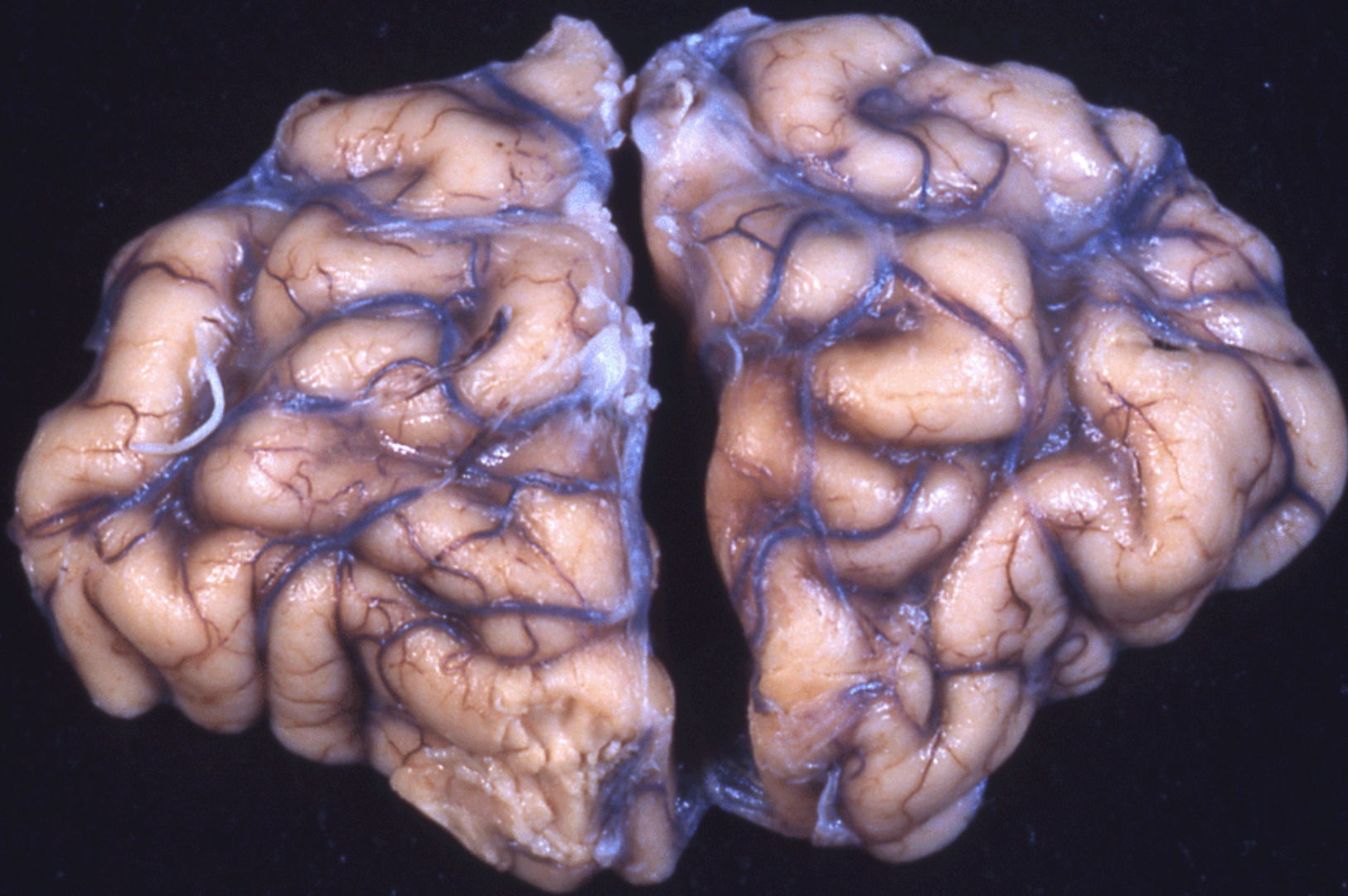


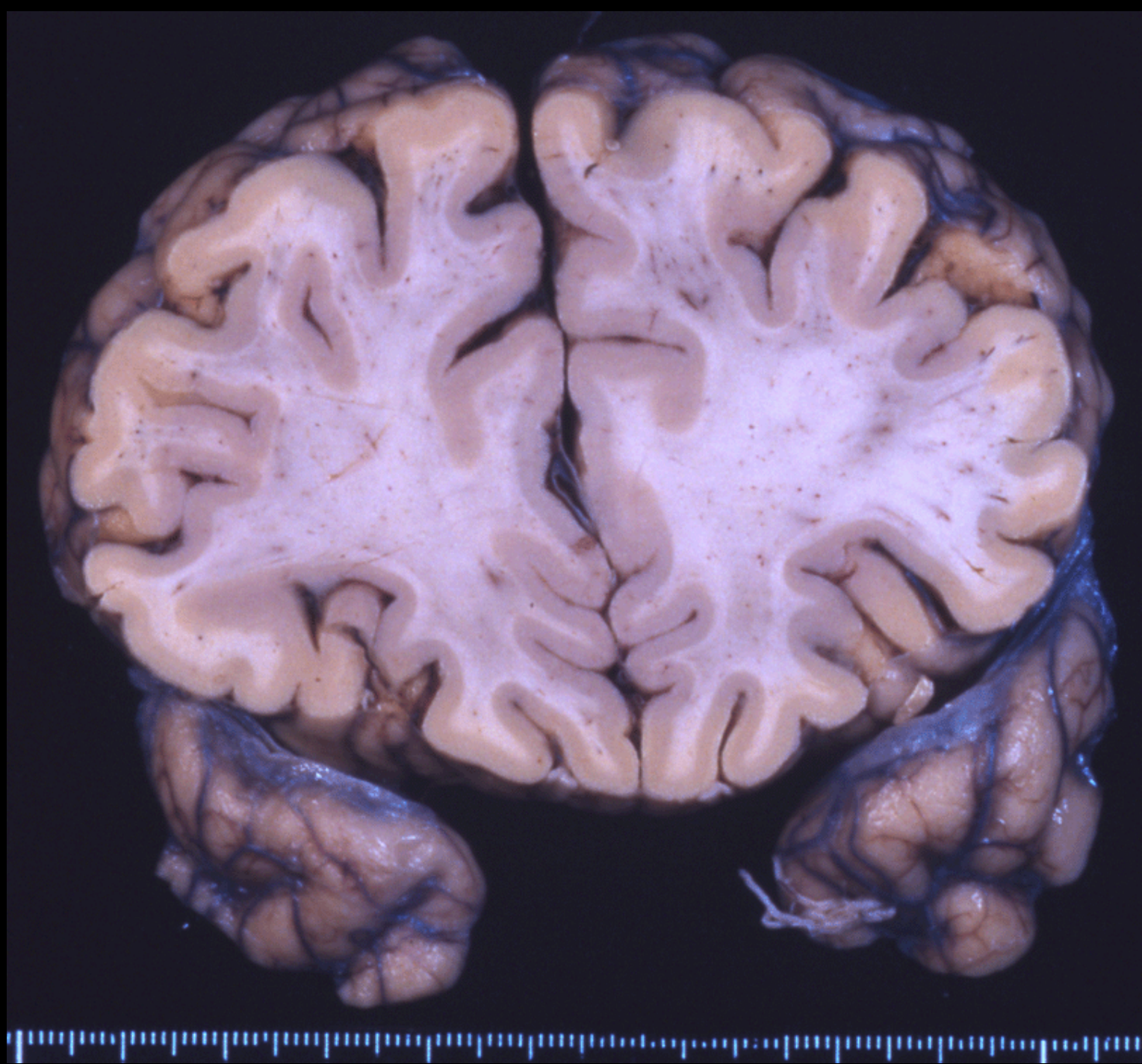


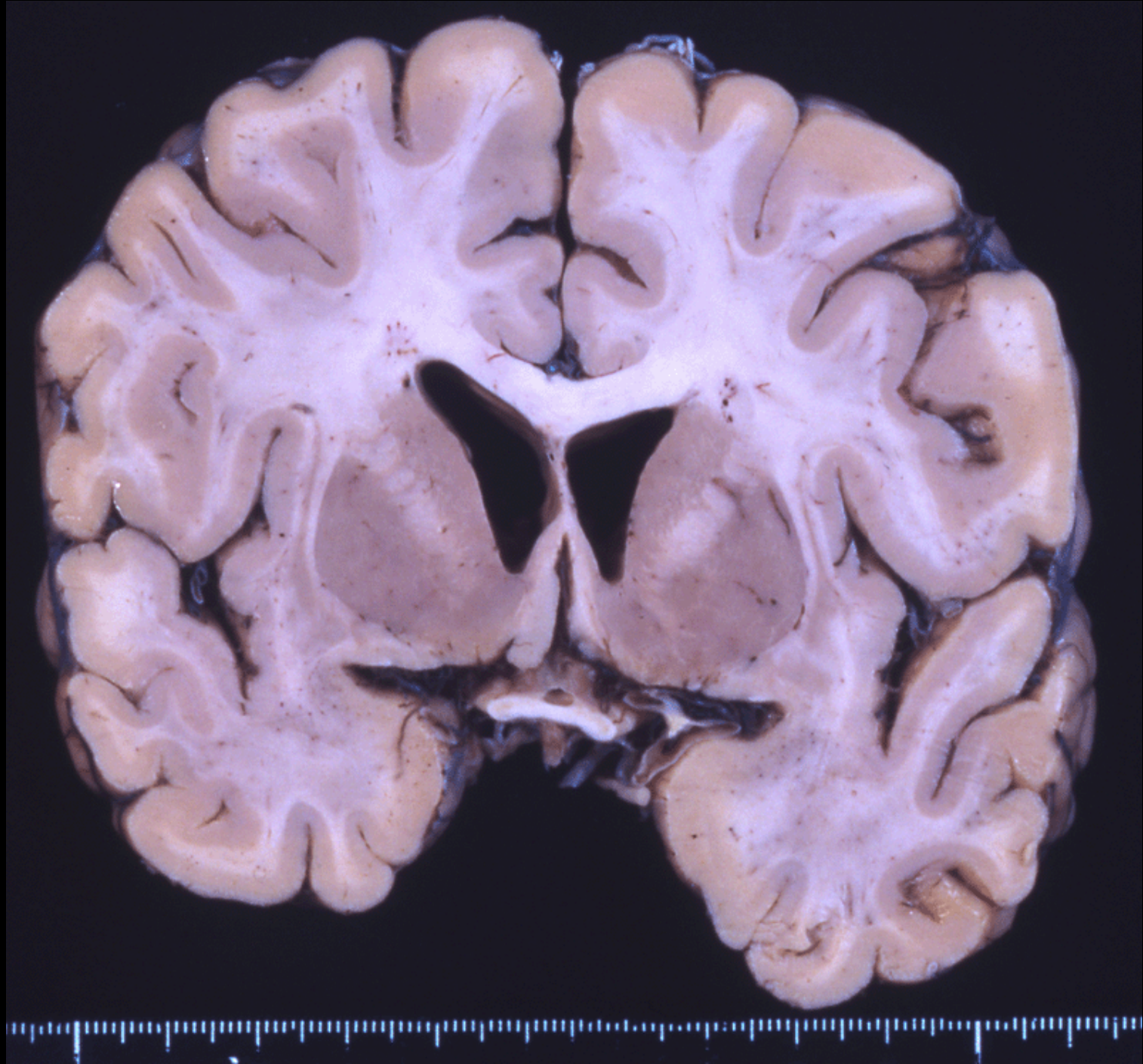


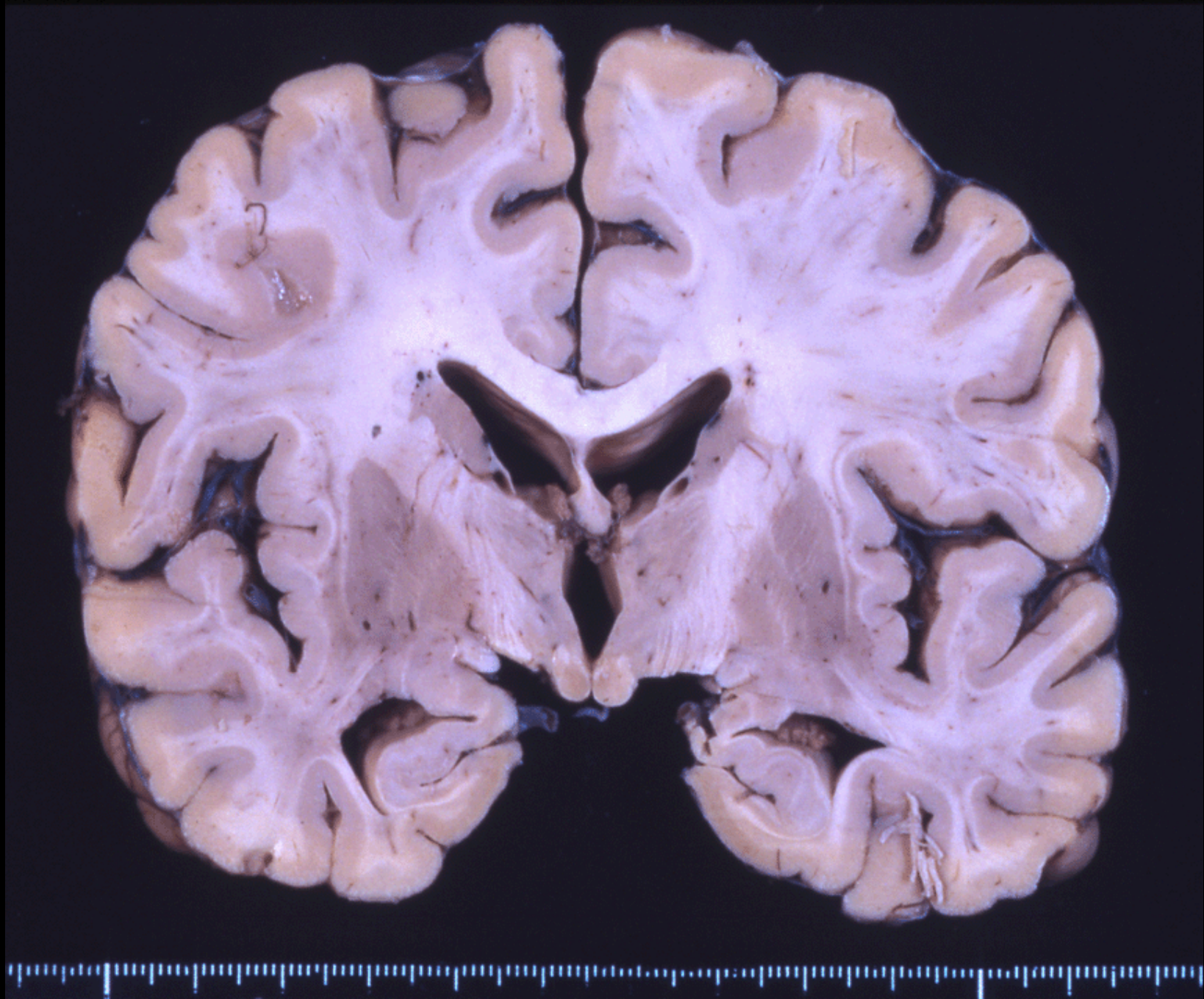


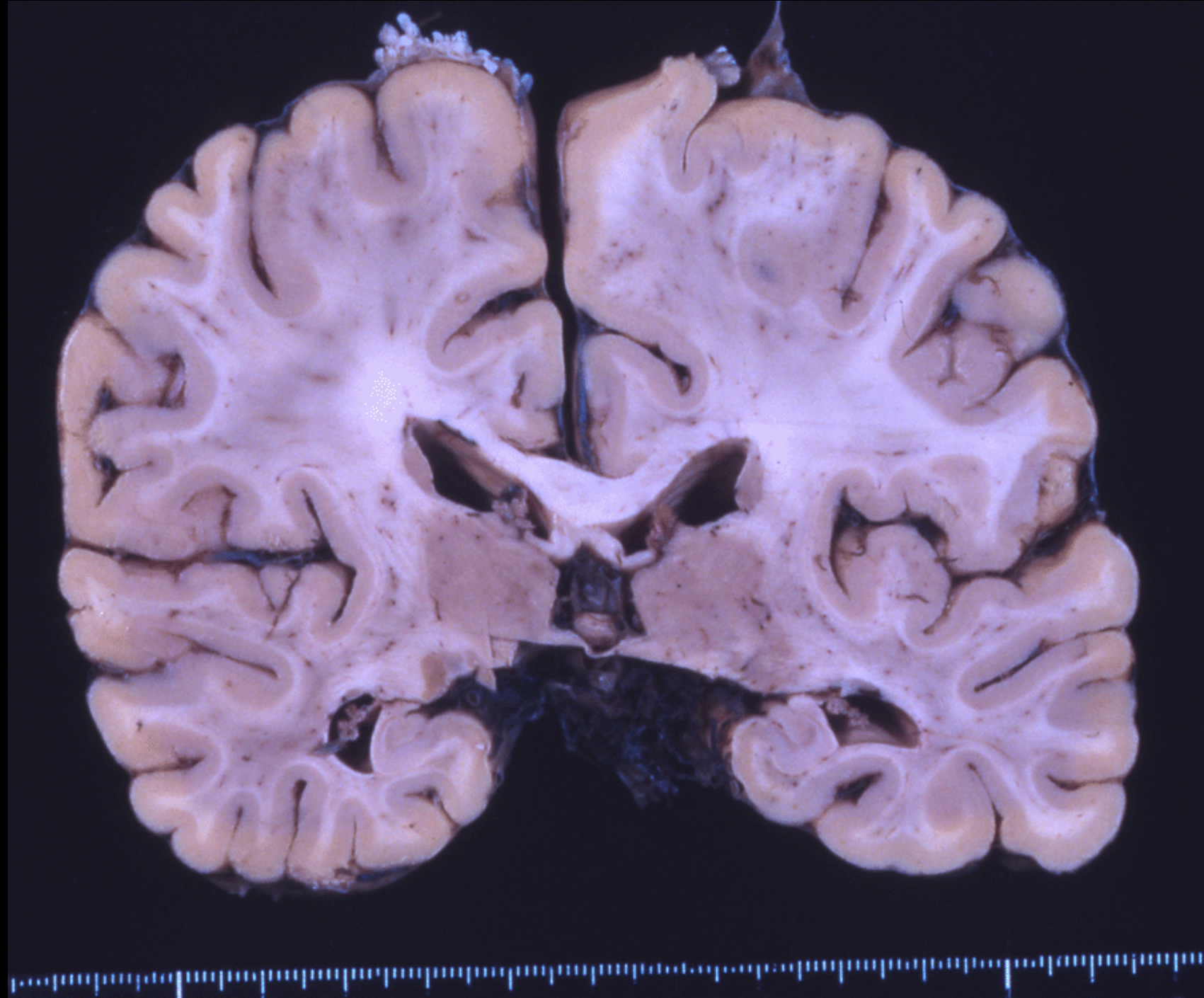




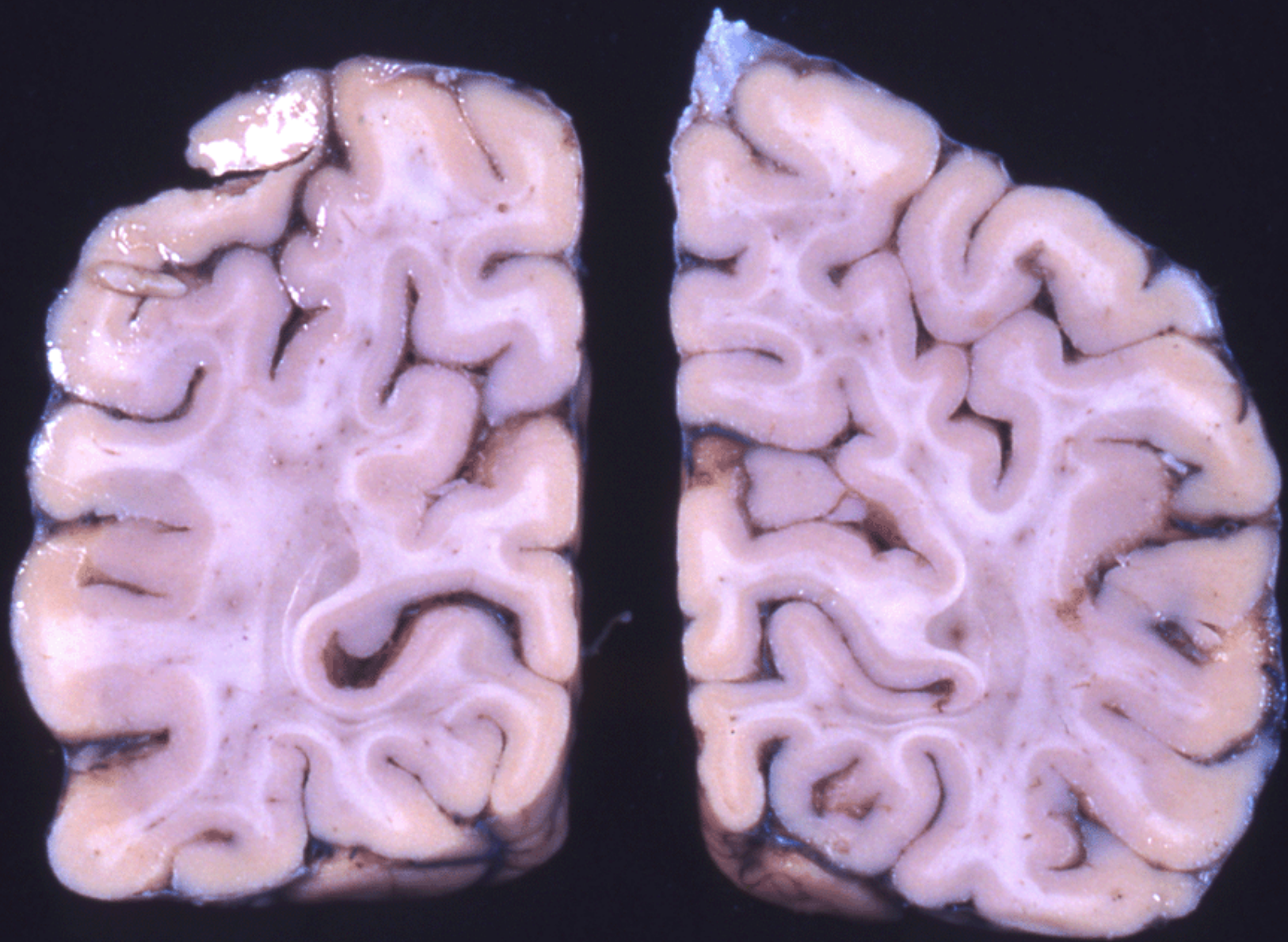






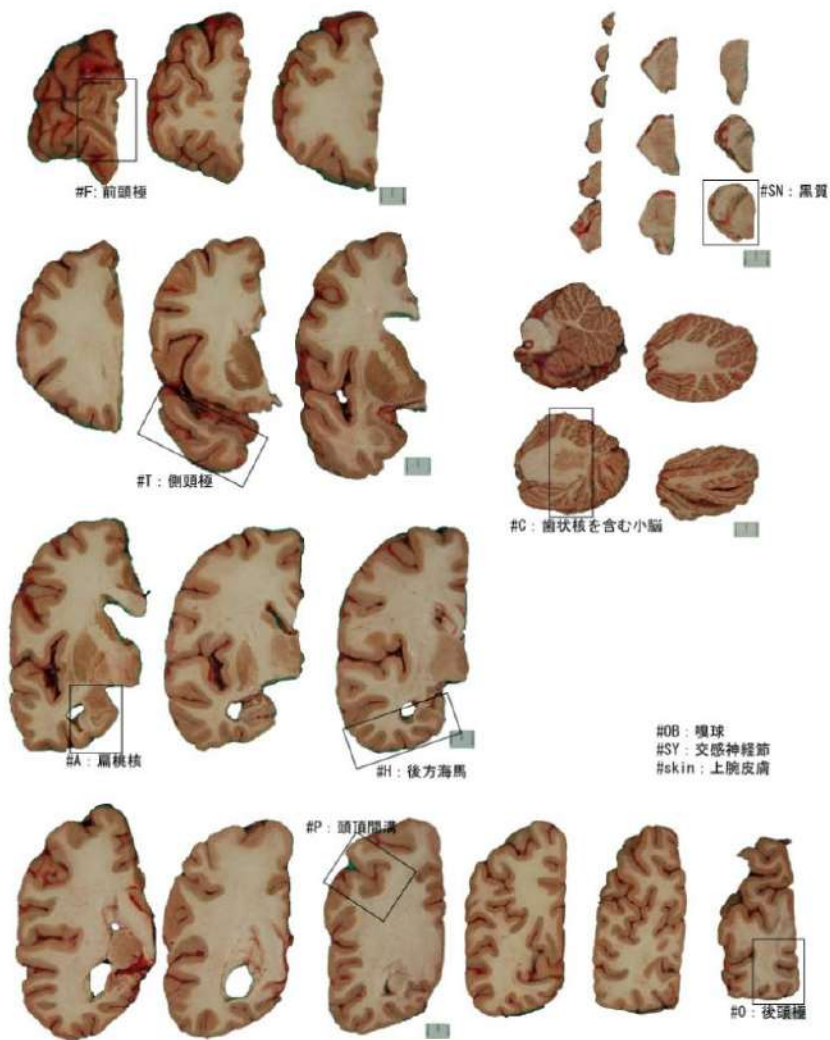




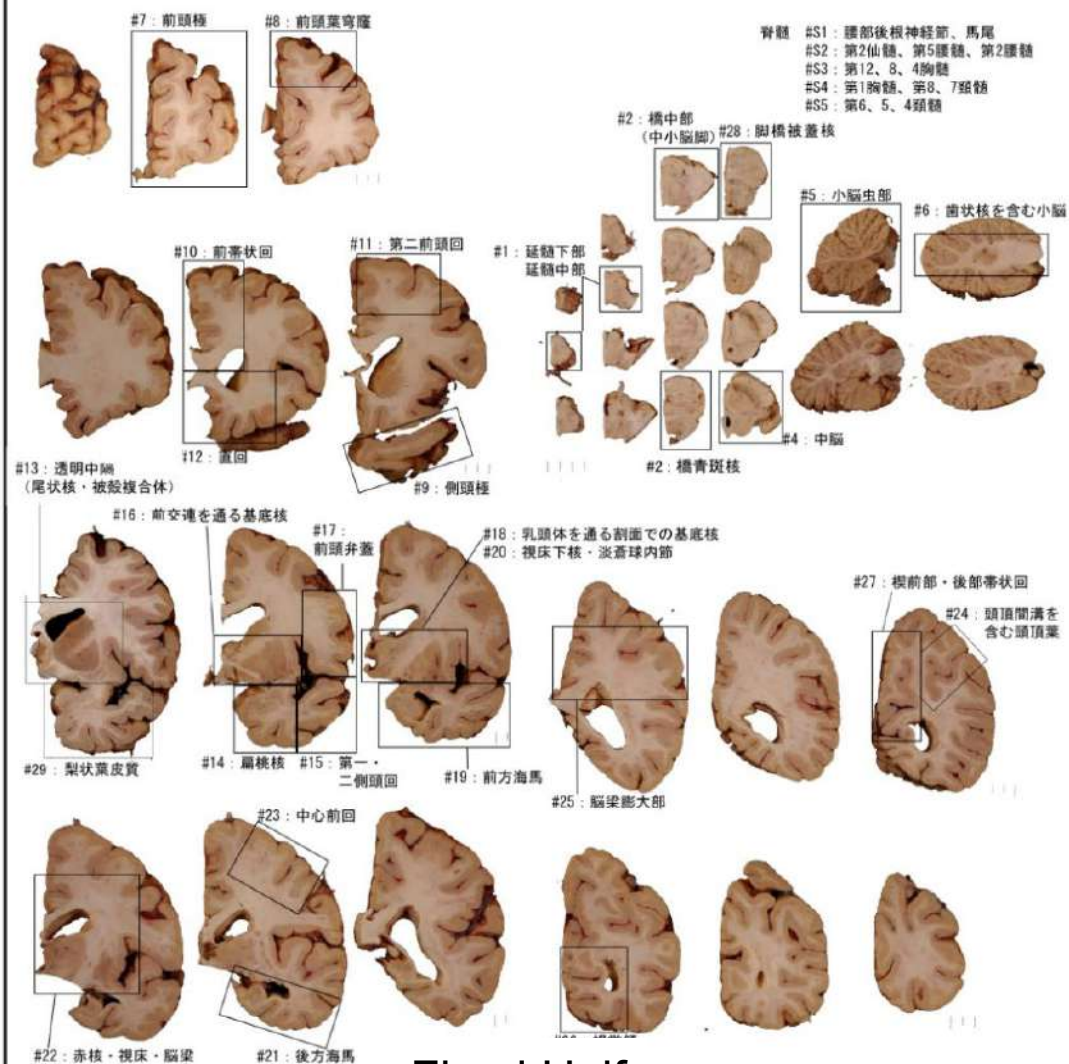




BBAR Protocol (www.mci.gr.jp)



Frozen Half



Fixed Half

脊髓 #S1: 腰部後根神経節、馬尾
#S2: 第2仙髄、第5腰髄、第2 sacral
#S3: 第12、8、4胸髄
#S4: 第1胸髄、第8、7頸髄
#S5: 第6、5、4頸髄

8 areas: 4% paraformaldehyde two over nights
(McGeer's method @ British Columbia)

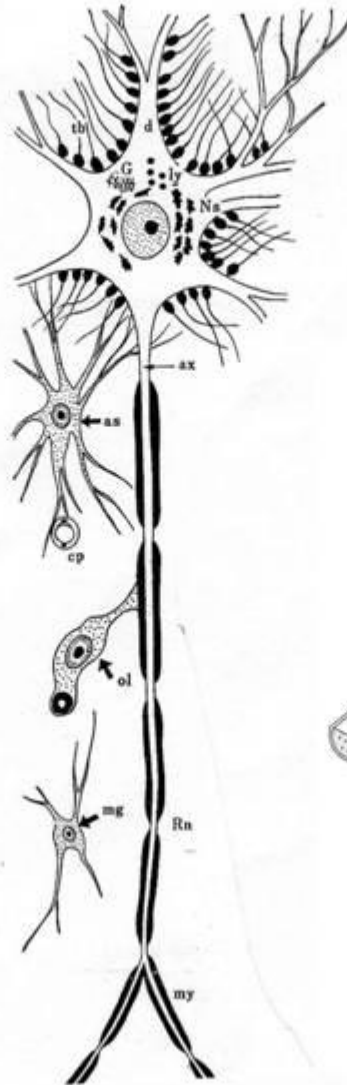
Brain: 29 areas; Spinal Cord: 9 segments

本講義のテーマ

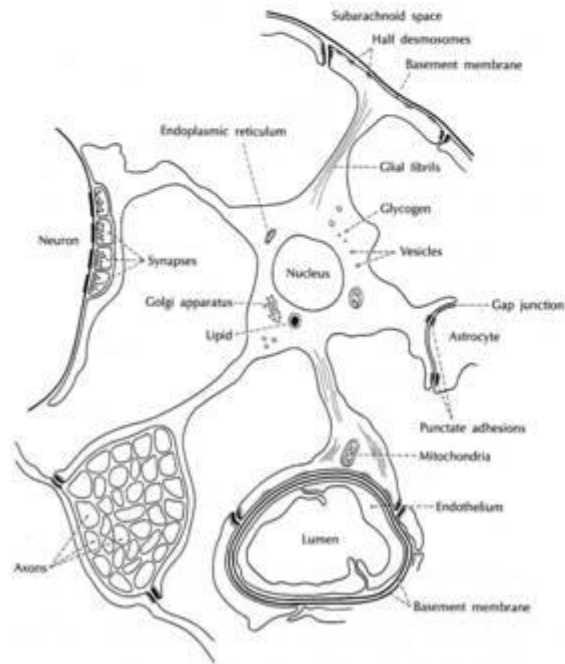
- ブレインバンク
- 神経解剖・病理
- 神経病理染色

神經系固有細胞

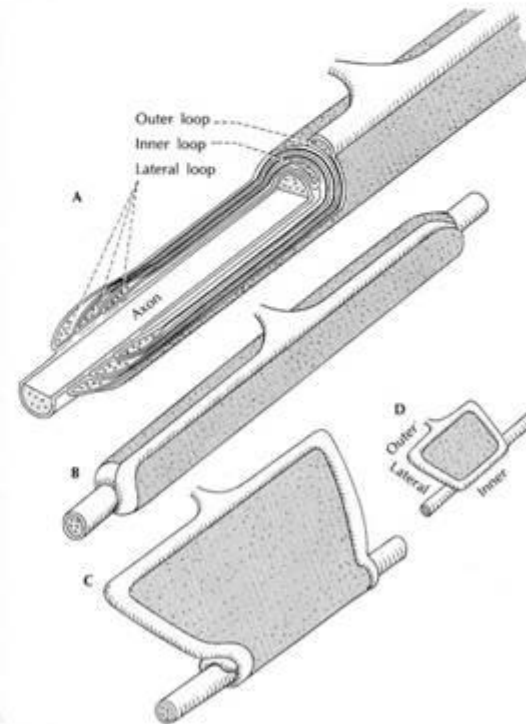
神經細胞



星狀膠細胞



乏突起膠細胞



神経病理における染色

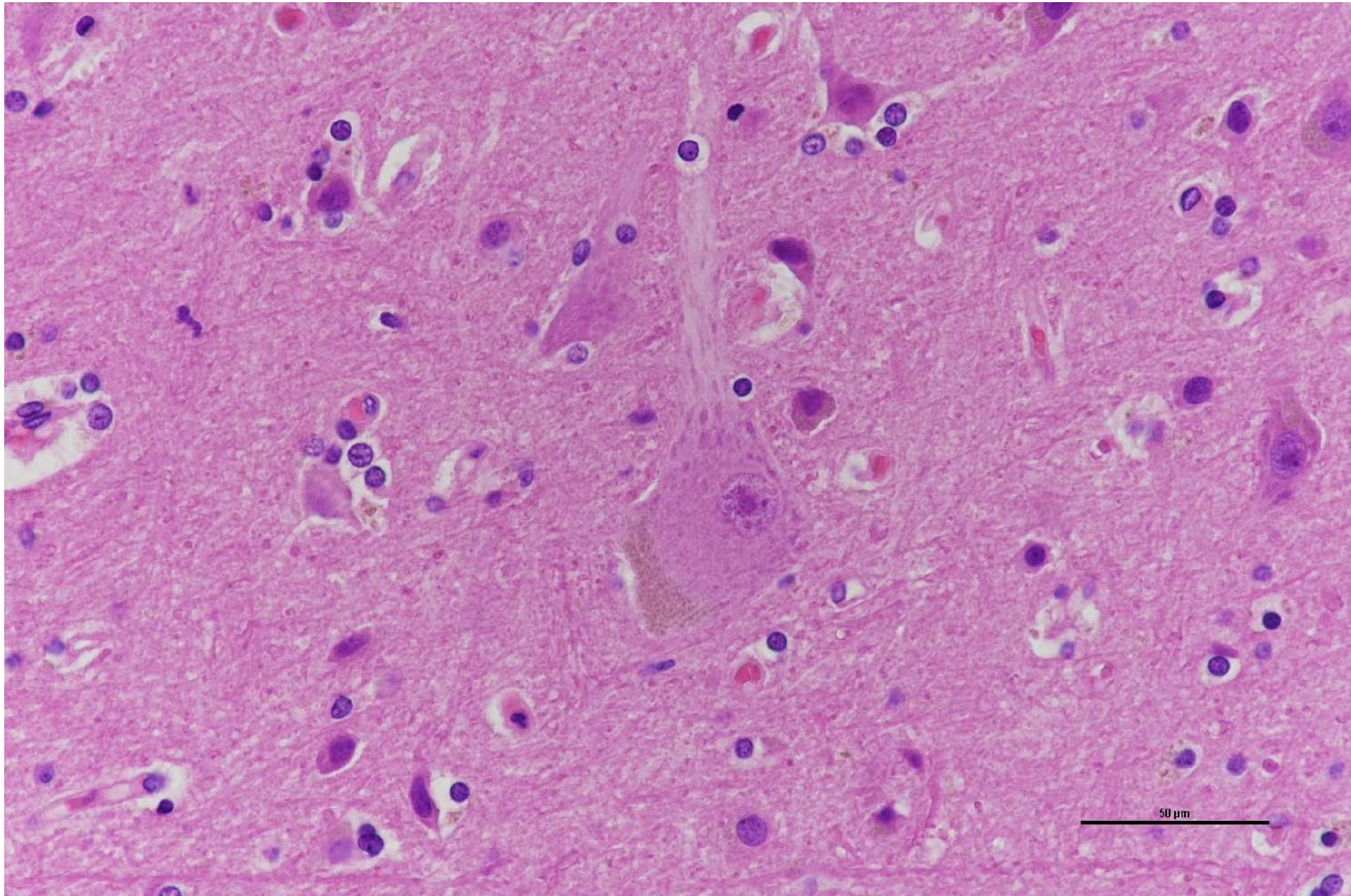
通常染色

- H.E.染色 全ての基本
- K.B.染色 中枢神経系に特別
色抜きの部分が問題で、日本の技師しか染色出来ない。

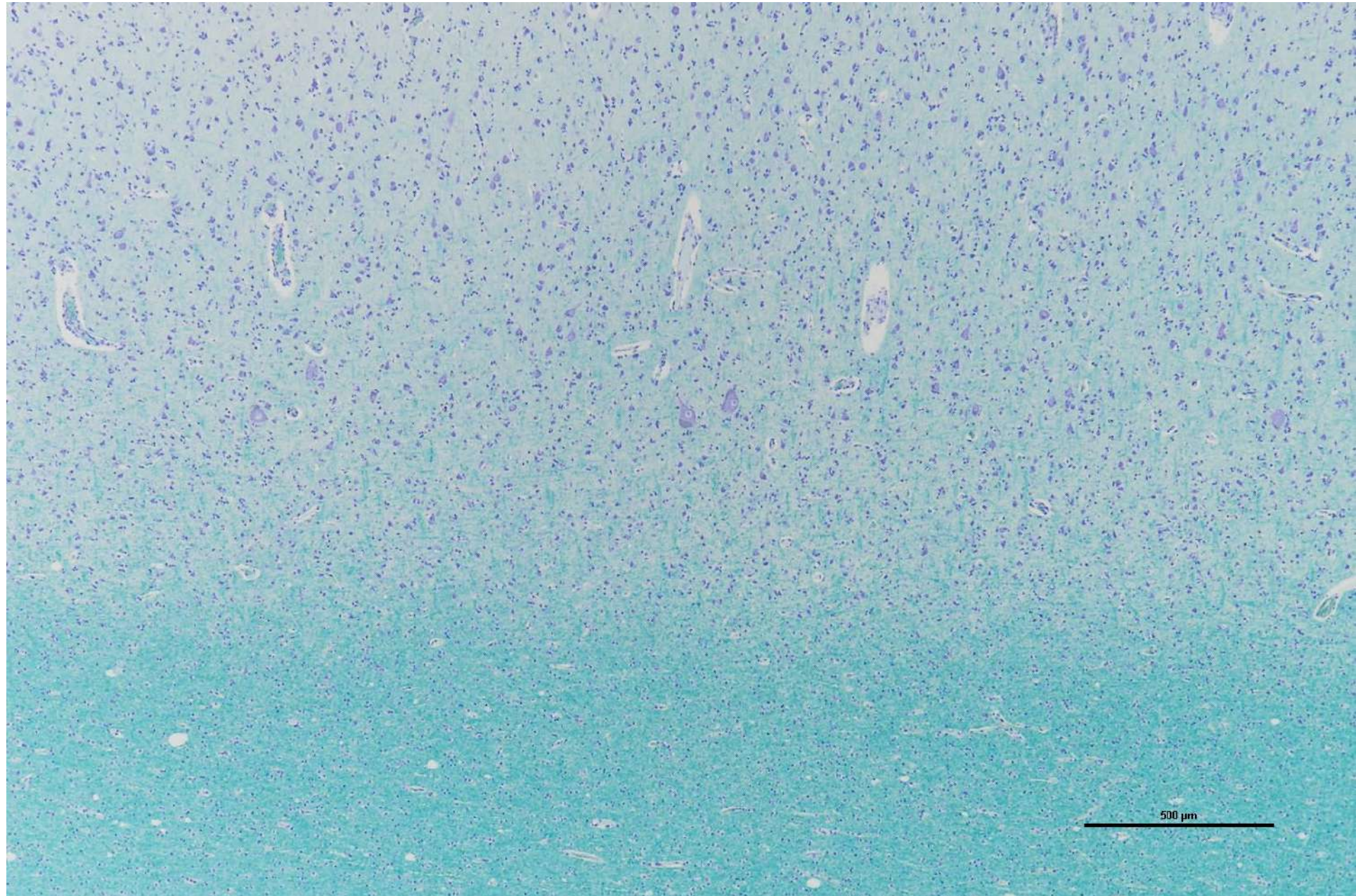
特殊染色

- Gallyas鍍銀染色 神経変性疾患検索には必須
染色法が複雑で、日本の技師しか染色出来ない。

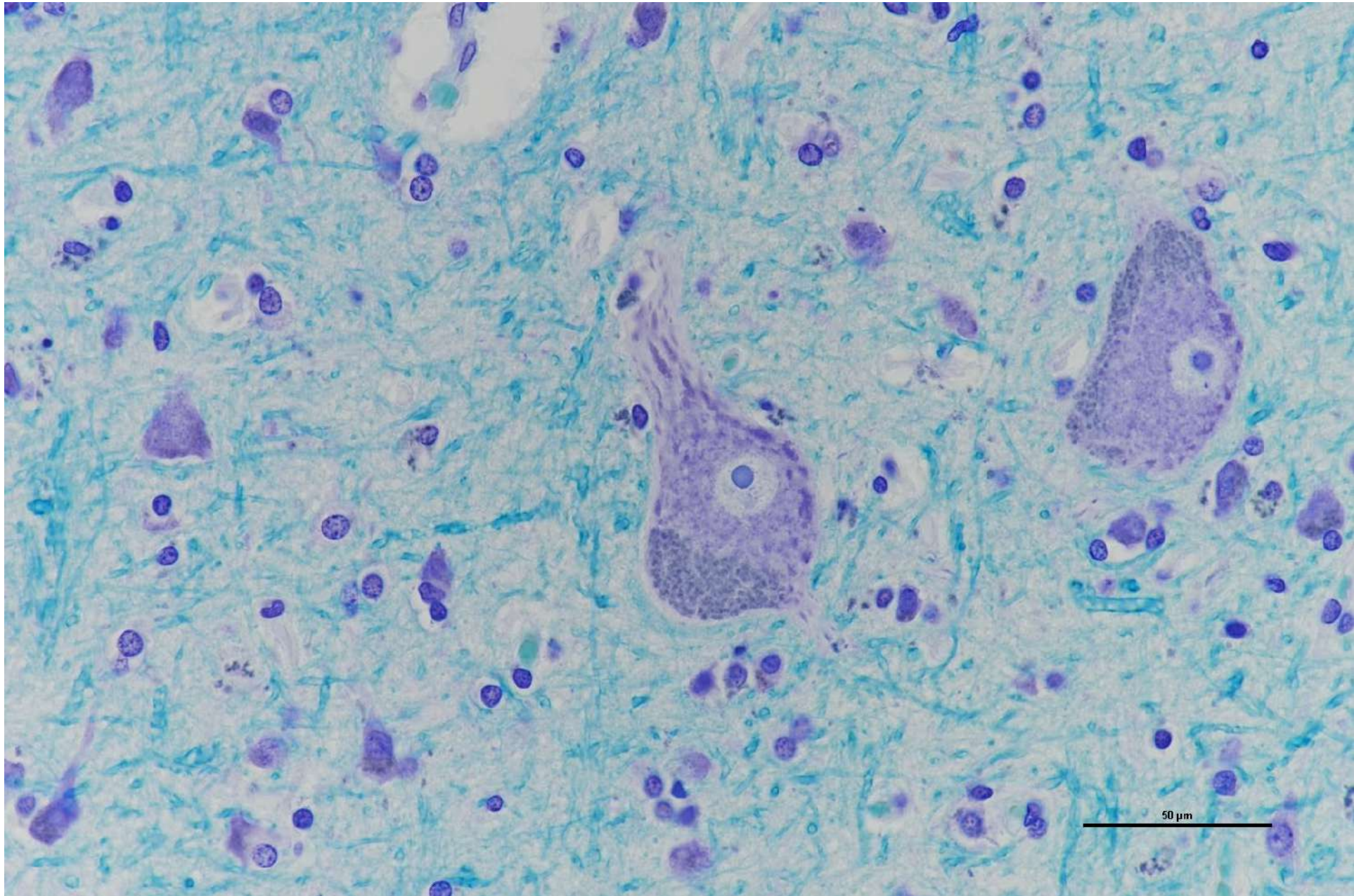
H.E.(hematoxylin & eosin) 染色

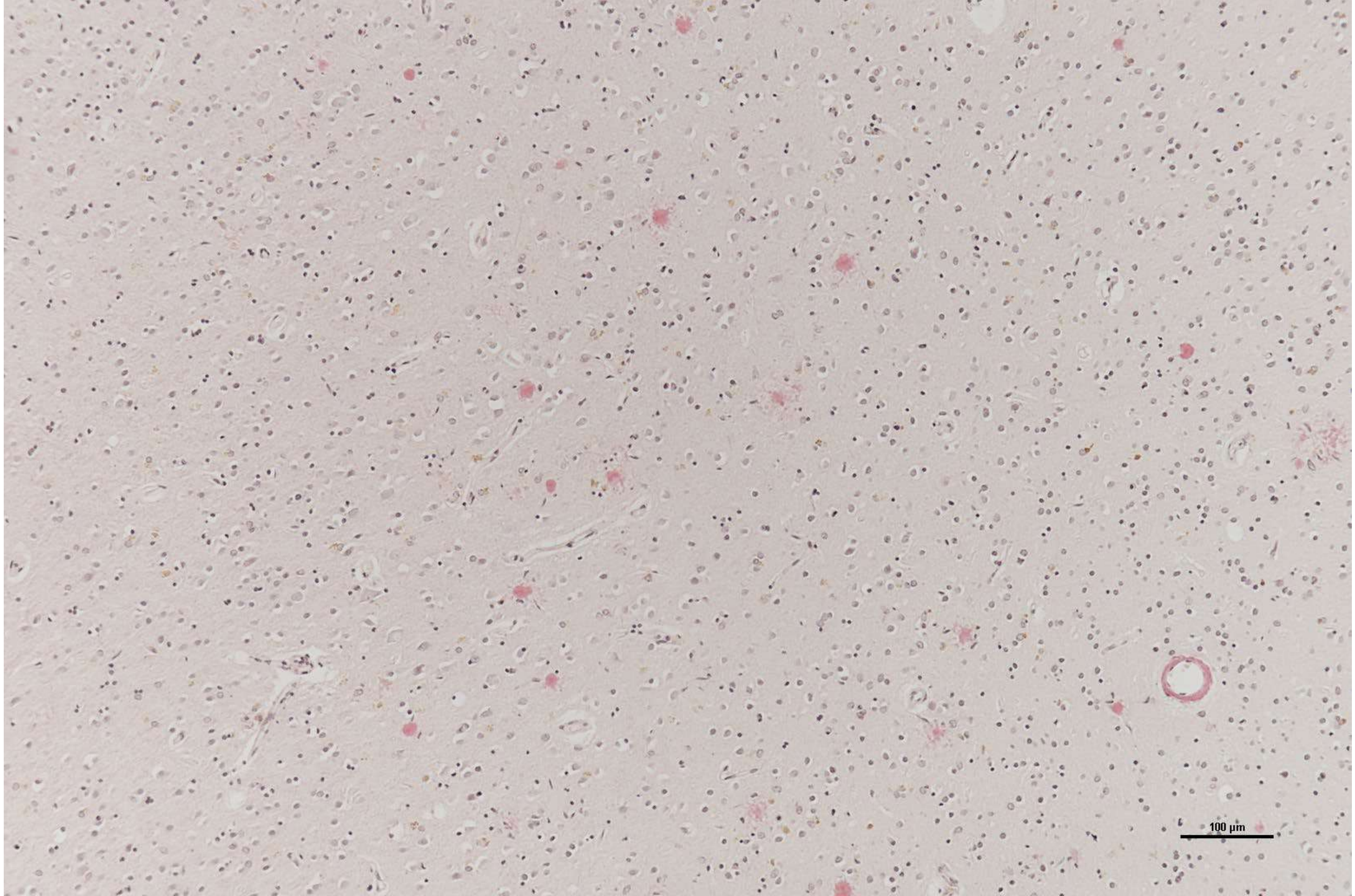


K.B. (Kluever & Barrera) 染色

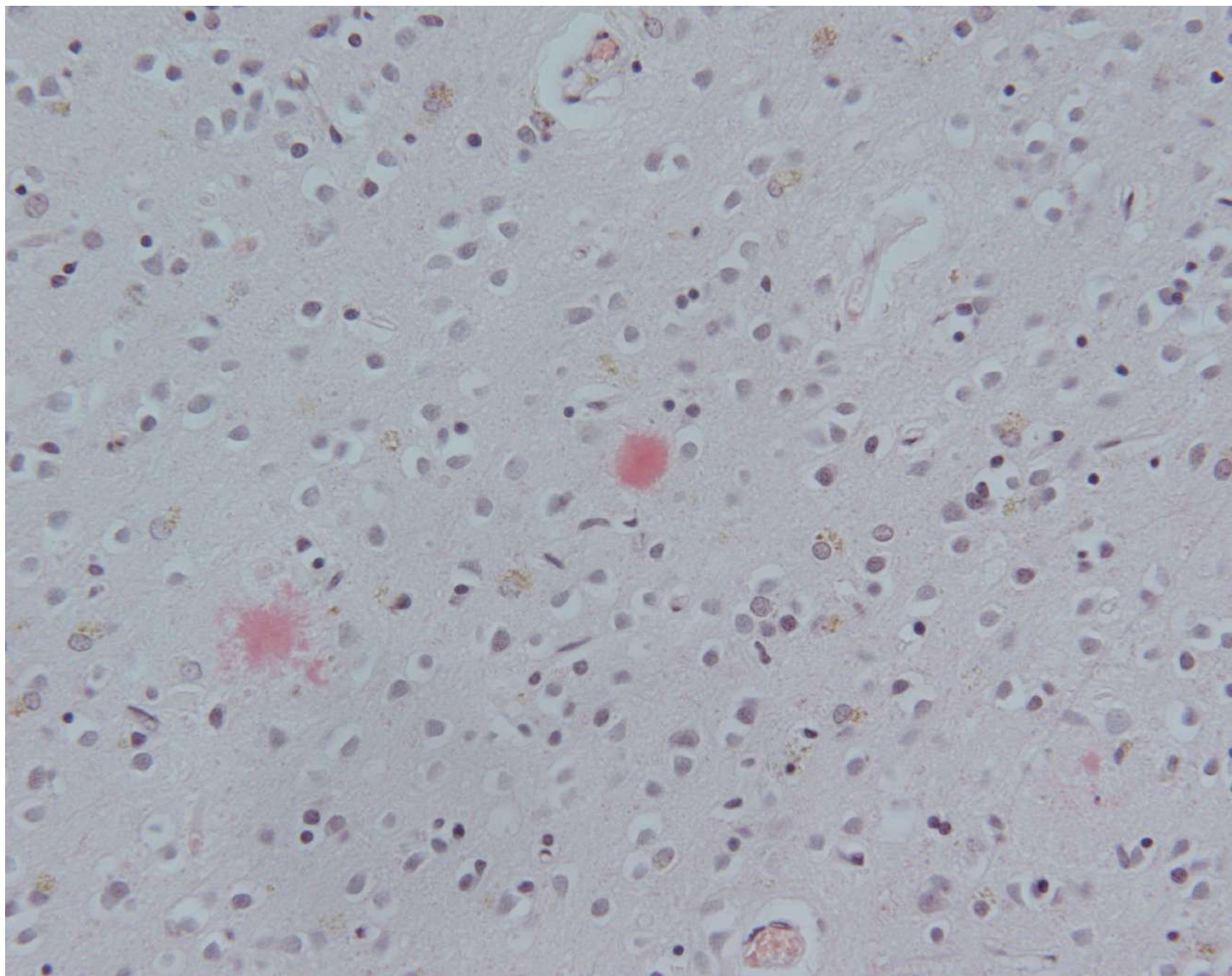


K.B. (Kluever & Barrera) 染色

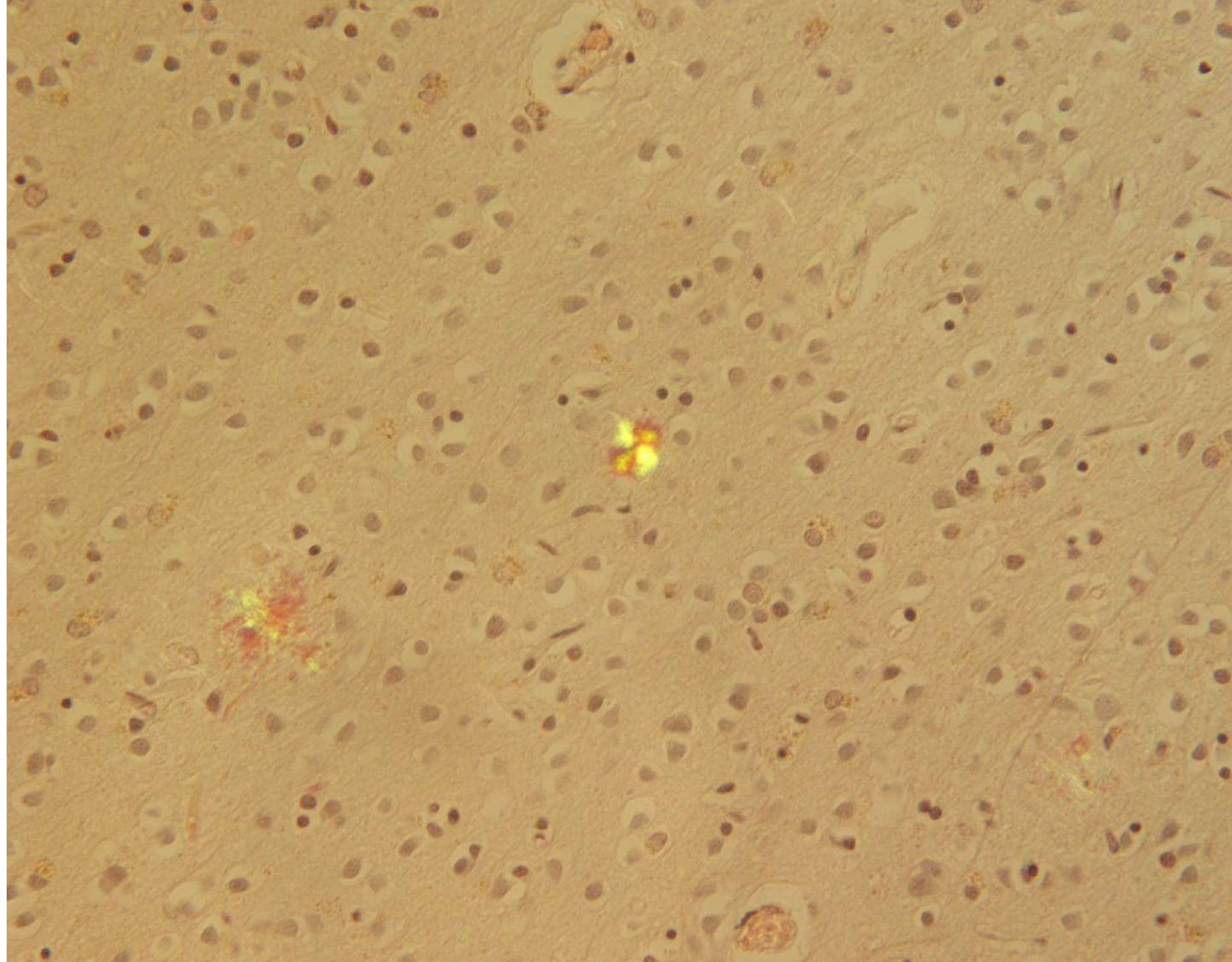




コンゴ赤 (Congo Red) 染色



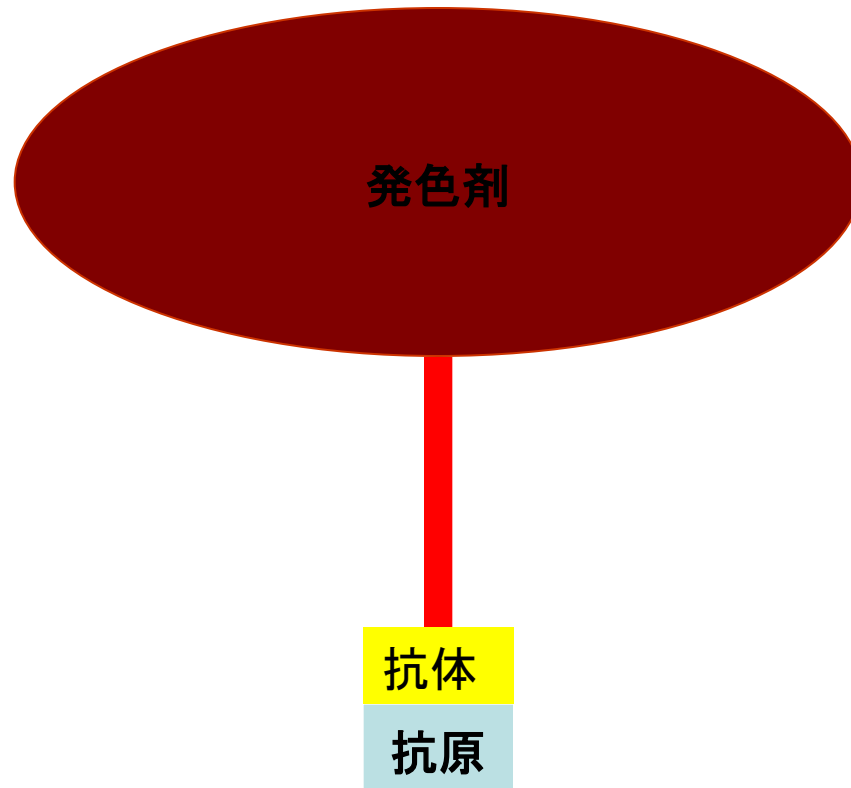






免疫組織化学

- ・ 特定の物質に対する特異抗体を用い、病理組織標本上でその局在を明らかにする手法



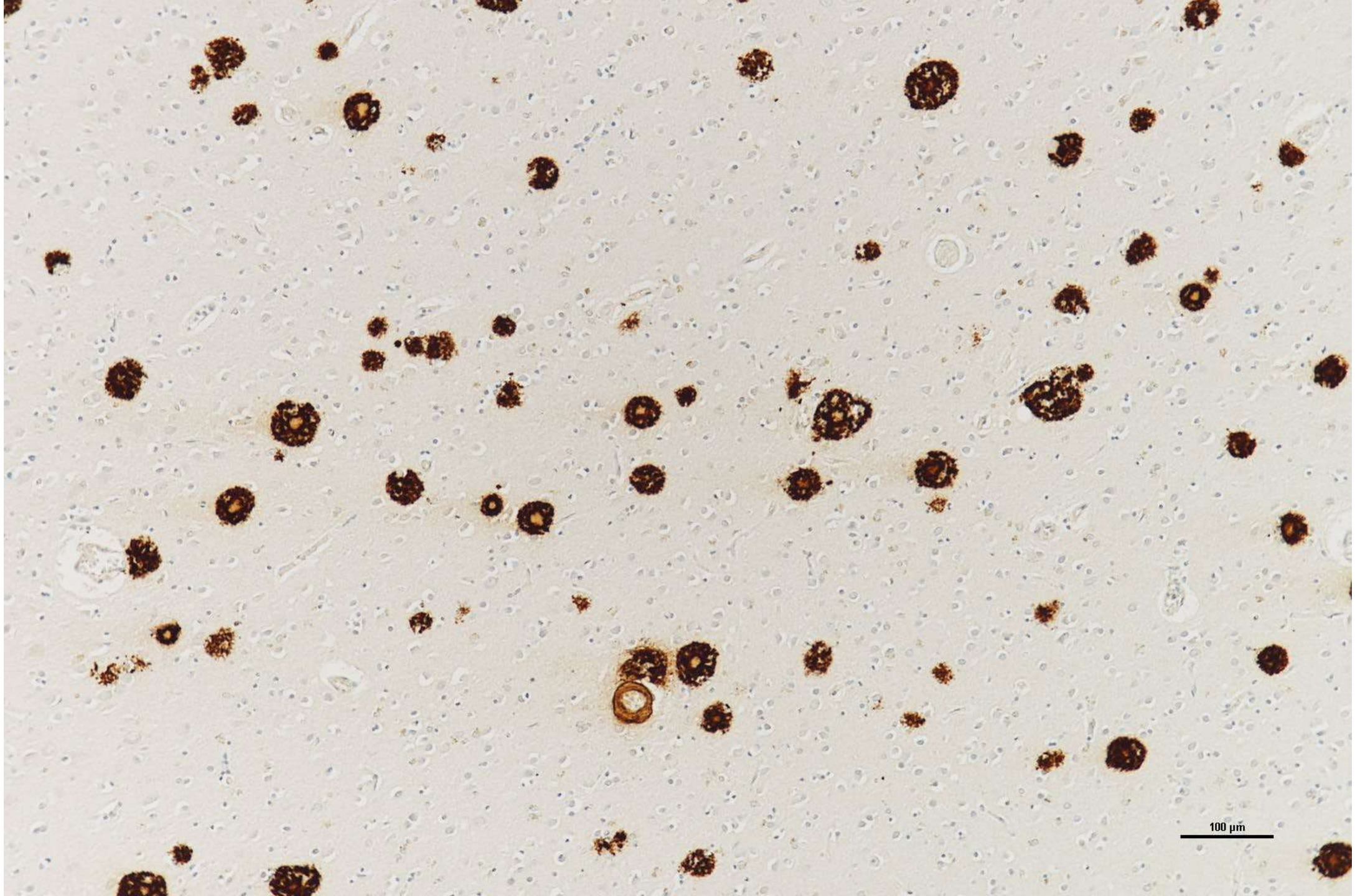


神経病理染色

通常： H.E. (hematoxylin and eosin)., K.B. (Kluever- Barrera)
特殊： Gallyas-Braak, methenamine silver,
Elastica Masson, Congo red, thioflavin S

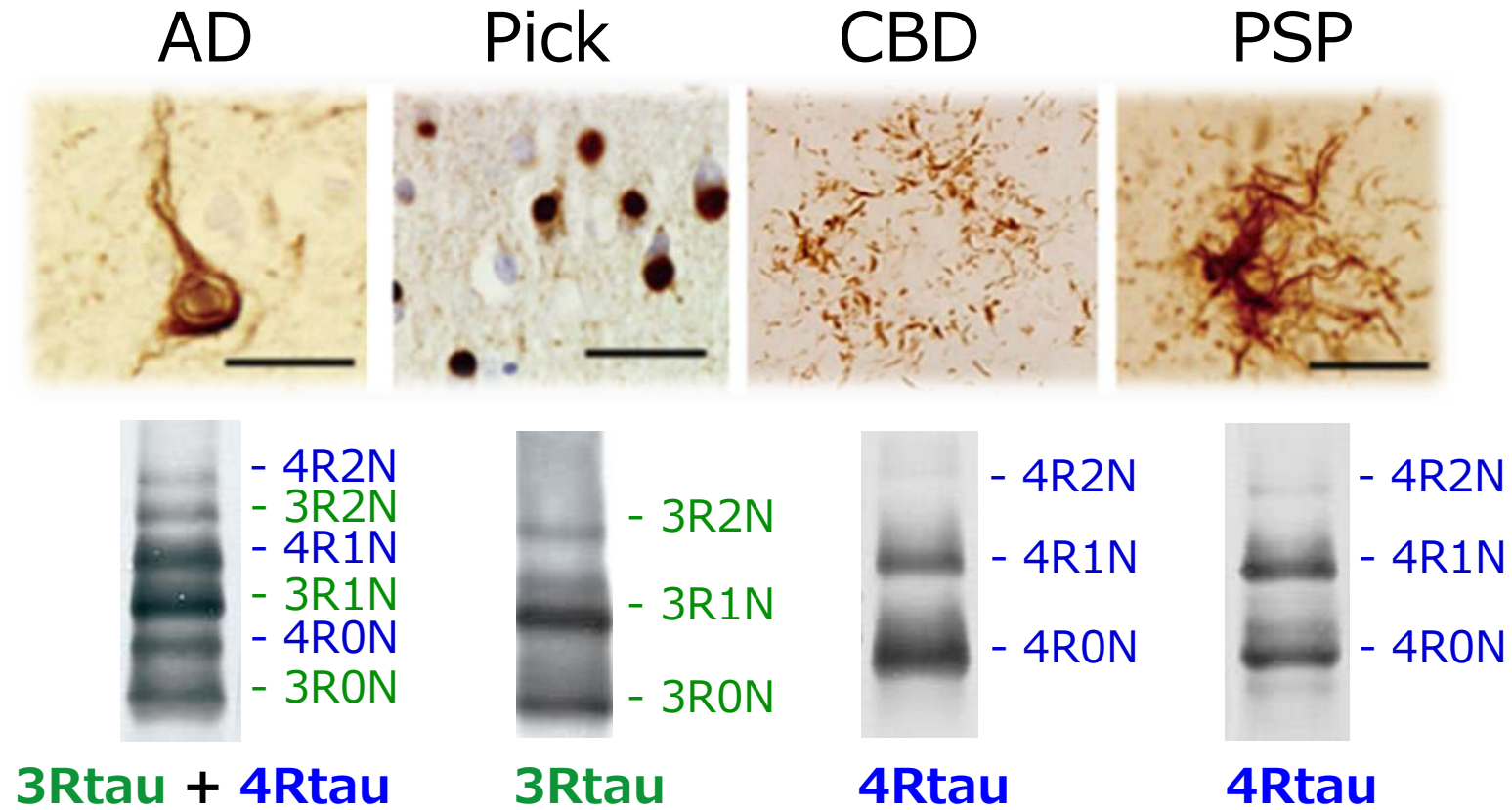
免疫組織化学

エピトープ	抗体	クローン
Aβ11-28aa phosphorylated tau 3R/ 4R tau phosphorylated α- synuclein Ubiquitin	12B2 (IBL) AT8 (Fuji Biopharma) RD3/ RD4 psyn64 (Wako) Sigma	monoclonal monoclonal monoclonal monoclonal polyclonal
Phosphorylated TDP43 FUS/ TLS	PSer409/410 Sigma	monoclonal polyclonal

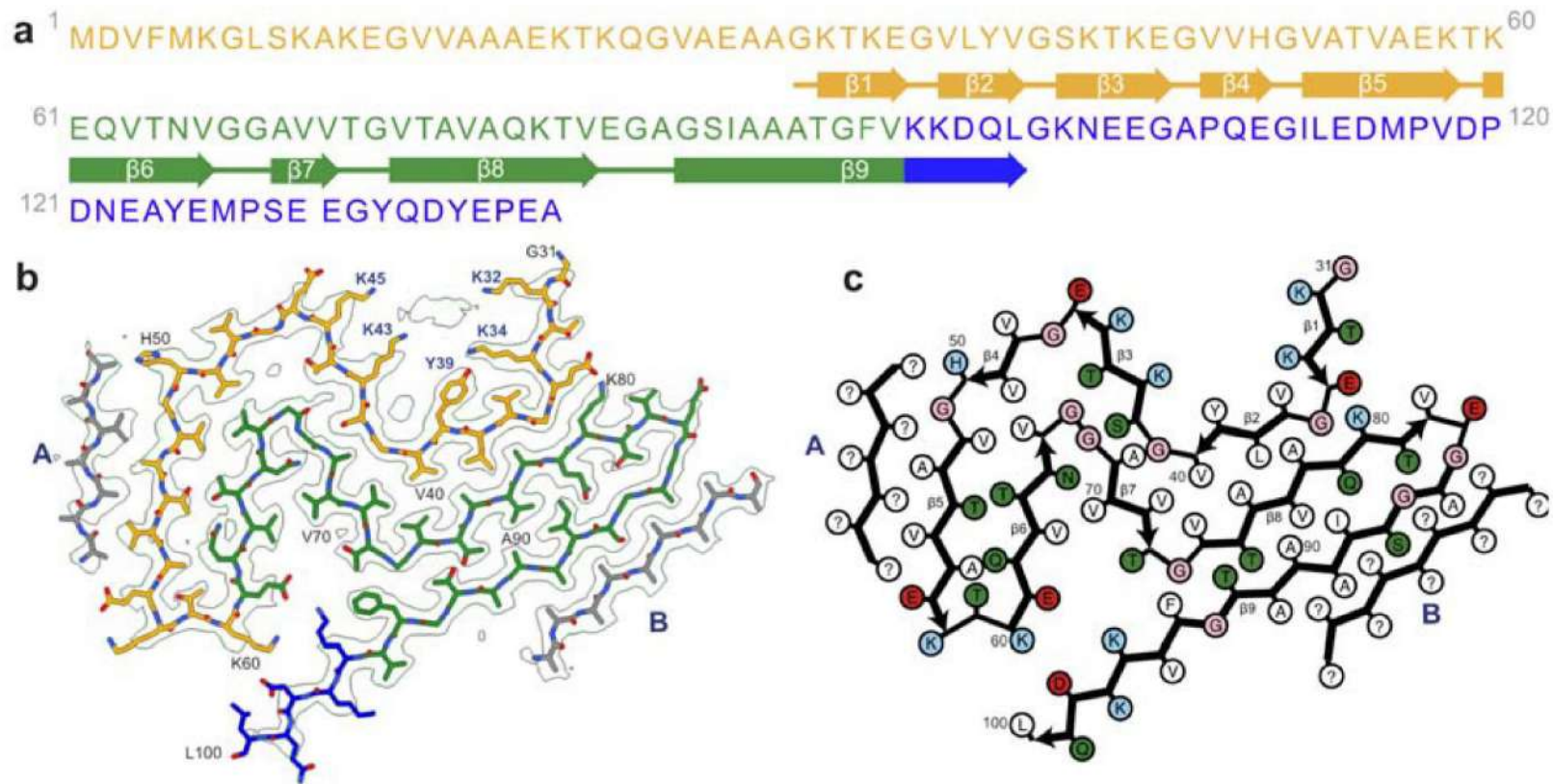




Tau pathology is characteristic for each disease



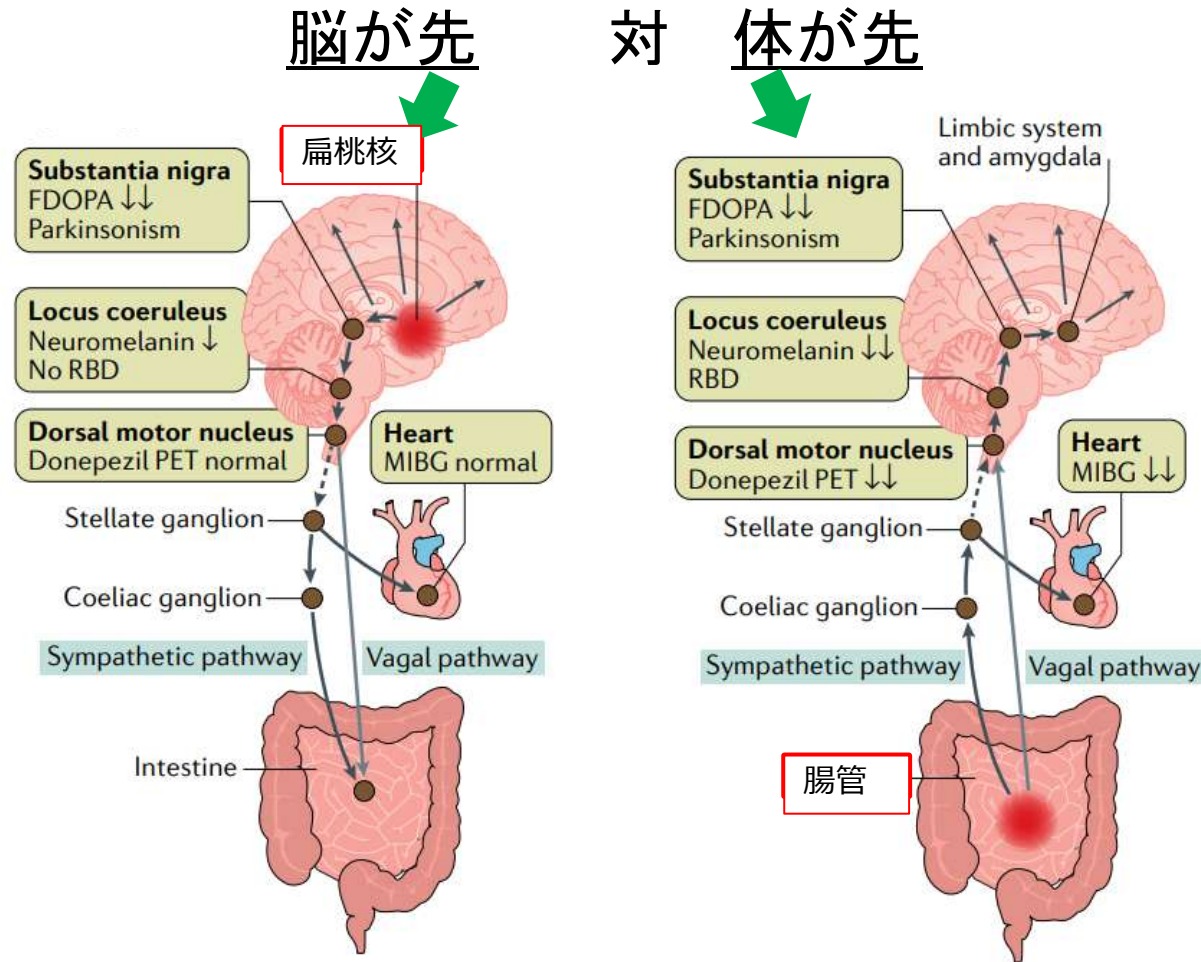
タウの異常病変は疾患ごとに特徴的であり、
その一つを決めているのが蓄積タウのアイソフォーム



Nature on line
2022.9.26

Figure 2. Cryo-EM structure of α -synuclein filaments from Parkinson's disease, Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies (Lewy fold). (a). Amino acid sequence of human α -synuclein. N-terminal region (residues 1-60) in orange, NAC region (residues 61-95) in green and C-terminal region (residues 96-140) in blue. Thick connecting lines with arrowheads indicate β -strands. **(b).** Cryo-EM density map and atomic model of the Lewy fold. The filament core extends from G31-L100. Islands A and B are indicated in grey. **(c).** Schematic of the Lewy filament fold of α -synuclein. Negatively charged residues are in red, positively charged residues in blue, polar residues in green, apolar residues in white, sulfur-containing residues in yellow and glycines in pink. Thick connecting lines with arrowheads indicate β -strands. Unknown residues are indicated by question marks.

パーキンソン病 脳が先か、体が先か



- ①パーキンソン病は**全身**に広がる。
- ②高齢者ブレインバンクは全身剖検を元に全例スクリーニングをし、**高齢者の1/3**にパーキンソン病病理（未発症が3/4）の存在を報告（*Tane et al Acta Neuropath*）。
- ③**高齢者ブレインバンクデータベース**を元に、Borghammer博士が上記仮説を提出。

ADVERTISEMENT FEATURE Advertiser retains sole responsibility for the content of this article

The surprising biobank discovery in Japan that led to a unique brain atlas

The finding that some patients who donated blood and DNA to one biobank, also donated their brains to a second biobank, promises new insights into neurological disorders.

Produced by

natureresearch
custom media



BioBank Japan
バイオバンク・ジャパン



<https://www.nature.com/articles/d42473-024-00244-7>



トロント大学ブレインバンクKovacs博士の、齊藤ブレインバンク責任者によるブレインカッティング国際視察

研究計画

1. 高齢者ブレインバンク、バイオバンクジャパンに両方に登録者を対象
2. 80例の正常例の、3次元ゲノム発現脳アトラスを構築
3. 測定部位のバーチャルスライド作成
4. AI HALOを用い、神経細胞数カウント.