

京都大学	博士 (医学)	氏名	梶 誠児
論文題目	Pathological Endogenous α -Synuclein Accumulation in Oligodendrocyte Precursor Cells Potentially Induces Inclusions in Multiple System Atrophy (オリゴデンドロサイト前駆細胞内の内因性 α -シヌクレインの異常蓄積が多系統萎縮症における封入体形成をもたらす可能性がある)		
(論文内容の要旨)			
<p>多系統萎縮症(multiple system atrophy, MSA)は進行性にパーキンソニズム、小脳失調、及び自律神経障害をきたす神経変性疾患である。発症後の予後は6~10年で、現在まで予後改善効果を示す薬剤が存在しない神経難病である。</p> <p>MSA患者脳においては、オリゴデンドロサイト(oligodendrocyte, OLG)内にαシヌクレイン(α-syn)の異常蓄積が生じ、Glial Cytoplasmic Inclusion(GCI)と呼ばれる。α-synは神経細胞に豊富に発現する一方で、正常なOLGにおけるα-synの発現の有無は明らかではなく、MSA患者脳にてOLG内に蓄積するα-synの起源は不明である。</p> <p>GCIは神経細胞変性に先立って出現し、MSA発症に深く関わると考えられる。OLGはミエリン鞘を形成し、有髄神経の跳躍伝導を促進するだけでなく、神経栄養因子を産生・分泌することで神経保護に寄与している。OLGの損傷時には、近傍のオリゴデンドロサイト前駆細胞(oligodendrocyte precursor cell, OPC)がOLGに分化することでその機能が代償される。OPCは成人脳全体に5~8%の割合で分布・存在する。本研究はOPCとOLGの初代培養細胞を用いた実験によりGCI形成に関わるα-synの起源を理解し、MSAの発症機序を解明することを目的としている。</p> <p>第一に神経細胞においては高分子体であるα-syn pre-formed fibril (PFF)を添加することで封入体形成が生じるという既報告をもとに、本研究ではラットから作成したOPCとOLGにヒト遺伝子組み換えα-syn PFFを投与した。その結果、α-syn陽性細胞内封入体はOPCにおいて観察されたが、OLGには観察されなかった。興味深いことにOPCにおける封入体は1)内因性(ラット細胞由来)α-synを含み高分子化していること、2)PFFを投与しない条件と比較して著明な内因性α-synの上昇がみられることが判明した。</p> <p>続いて内因性α-syn発現亢進の機序を考察するため、α-syn遺伝子である<i>Snca</i>のmRNA量を比較したが、α-syn PFF投与によるmRNAレベルの変化はみられなかった。一方で、p62蛋白の発現上昇がみられ、オートファジー・リソソーム分解系の異常が内因性α-syn上昇に寄与していることが示唆された。また、α-syn PFFを投与したOPCのRNA-seq解析の結果、神経細胞やオリゴデンドロサイトの機能維持に関わる様々な遺伝子発現に変化がみとめられた。</p> <p>最後に、封入体形成したOPCに分化誘導因子を添加し培養するとα-syn陽性封入体を有するOLGへの分化がみられた。これらの細胞ではミエリン形成に関わる蛋白の発現が低下していた。さらに、α-syn陽性封入体を保有するOLG細胞由来の調整培養液をラット神経細胞に添加し、神経細胞の生存・機能をWSTアッセイ、NeuN・MAP2を用いた細胞免疫染色により検討した。その結果、α-syn PFF投与後に分化誘導を行ったOLGでは、正常なOLGと比較して神経細胞に対する保護効果が減弱することが示唆された。</p> <p>以上の実験結果は、1) GCI形成においてα-synの起源がオリゴデンドロサイト系細胞に由来している可能性を示唆し、2)OLG内のα-syn陽性封入体形成が神経変性の原因となりうることを明らかにした点で新規性が高く、MSAの病態解明・治療法開発の上で重要な知見であるといえる。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は多系統萎縮症(MSA)患者脳の細胞病態であるオリゴデンドロサイト系細胞内の α -シヌクレイン(α -syn)陽性封入体に関して、初代培養細胞レベルでの細胞病態の再現と異常蛋白蓄積の機序解明を試みたものである。

申請者らはラット脳からオリゴデンドロサイト前駆細胞(oligodendrocyte precursor cell, OPC)及びオリゴデンドロサイト(oligodendrocyte, OLG)の初代培養細胞を作成し、病原性を有すると考えられる α -syn pre-formed fibril (PFF)の投与実験を行った。その結果、 α -synの細胞内蓄積がOPCでは観察される一方でOLGにおいては認められなかった。そして α -synの細胞内蓄積にはOPCに内在する α -synが寄与すること、オートファジーによる分解不全が関与することが示唆された。さらに α -syn陽性封入体を有するOPCの分化誘導を通じて、MSA患者脳で観察されるようなOLG内 α -syn陽性封入体を再現した。このプロセスにより作成された病的なOLGは健常なOLGと比較して髄鞘形成に関わる蛋白発現が低下し、細胞上清を介した神経細胞保護効果が減弱することも示された。

以上の研究はMSA脳のOLG系細胞内での封入体形成メカニズム、及びその結果としてもたらされる神経変性の機序解明に貢献し、今後の治療法開発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30年3月5日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、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