

京都大学	博士（医 学）	氏 名	安田 謙
論文題目	Effect of fingolimod on oligodendrocyte maturation under prolonged cerebral hypoperfusion（慢性脳低灌流下におけるオリゴデンドロサイト分化に対するフィンゴリモドの効果）		
（論文内容の要旨）			
【目的】			
脳血管性認知症は、アルツハイマー病に次いで2番目に多い認知症である。皮質下血管性認知症は、脳血管性認知症のおよそ半分を占め、脳白質病変、オリゴデンドロサイト（oligodendrocyte, OLG）の脱落と髄鞘粗鬆化を病理的特徴とする。			
オリゴデンドロサイト前駆細胞（oligodendrocyte precursor cell, OPC）は、脳内に広範に存在するグリア細胞である。脳内でOLGの脱落が起こると、OPCが増殖、遊走、分化することにより代償しようとする反応がみられるが、病的環境下ではその代償反応がしばしば障害される。皮質下血管性認知症においても、OPCからOLGへの分化が障害されることが報告されている。そのため、OPCの分化誘導を促進するような治療法が髄鞘再生を促進し、皮質下血管性認知症における白質病変および認知機能障害を軽減することが期待される。しかし、現時点でそのような治療法は存在しない。			
フィンゴリモド（fingolimod）は冬虫夏草の一種である <i>Isaria sinclairii</i> 由来の天然物であるマイリオシンの構造変換により得られた化合物である。フィンゴリモドは多彩な生理活性作用をもち、脳内の神経細胞、血管内皮細胞、グリア細胞に対して多くの作用を示すことが知られている。しかし、虚血環境下でのフィンゴリモドのOLG分化に対する効果は明らかではない。			
【方法】			
（1）ラットの初代培養OPCに対して、化学的低酸素状態を誘導する塩化コバルトを非致死量添加することにより、OPCの分化が抑制されることを確認した。次に、低酸素状態におけるOPC分化抑制に対するフィンゴリモドの効果を免疫細胞染色、ウェスタンブロット法により検討した。			
（2）細胞内シグナルとして、OPCにフィンゴリモドを添加した後のリン酸化Akt, Erkの発現変化を経時的に評価した。また、フィンゴリモドによるOPC分化促進作用における細胞内シグナルの関与を検討するために、AktとErkの阻害薬であるLY294002とU0126を用いた阻害実験を行い、ウェスタンブロット法により解析した。			
（3）野生型C57/BL6マウスの両側総頸動脈に0.18 mmの微小コイルを装着することにより皮質下血管性認知症モデルである慢性脳低灌流マウスモデル（Bilateral Common Carotid Artery Stenosis, BCAS）を作製し、OLG分化、脳梁の白質障害を評価した。さらに、フィンゴリモドの白質病変に対する効果を免疫組織染色、ウェスタンブロット法により検討した。			
【結果】			
（1）非致死量（50 μM）の塩化コバルトによる低酸素負荷はOPCの分化を阻害した。また、低濃度（0.01 μM）のフィンゴリモドは、低酸素環境下でのOPC分化抑制を有意に改善させた。			
（2）低酸素環境において、フィンゴリモドはOPCのAktシグナル経路、Erkシグナル経路を活性化させた。また、フィンゴリモドによるOPC分化改善効果には、Aktシグナル経路が介在していることが示された。			

<p>(3) BCAS マウスでは、脳梁を中心に白質障害を示した。BCAS マウスにおいて、フィンゴリモド投与群は偽薬群と比較して、OLG への分化を促進し、白質障害を軽減させた。</p> <p>【結論】</p> <p>フィンゴリモドは、<i>in vitro</i> の系では直接的に低酸素環境下での OPC 分化抑制を改善し、その効果は Akt シグナル経路を介していた。また、<i>in vivo</i> の系ではフィンゴリモドは慢性脳低灌流における白質障害を改善させたことから、皮質下血管性認知症の治療薬として有望であることが示唆された。</p>
<p>（論文審査の結果の要旨）</p> <p>本研究は、皮質下血管性認知症の治療法開発に関して、細胞実験とモデル動物を用いた動物実験によりフィンゴリモドの効果を検討したものである。ラット脳からオリゴデンドロサイト前駆細胞（oligodendrocyte precursor cell, OPC）を分離培養し、塩化コバルトによる化学的低酸素環境に暴露することで、オリゴデンドロサイト（oligodendrocyte, OLG）への分化が抑制されることを確認した。そして、低酸素状態における OPC の分化抑制が、低濃度フィンゴリモド投与で改善すること、その作用にはAktシグナル経路が介在していることを示した。さらに、野生型マウスの両側総頸動脈を微小コイルにより狭窄させ慢性脳低灌流状態とし、皮質下血管性認知症モデルマウスを作製した。この皮質下血管性認知症モデルマウスに対し、フィンゴリモドを投与することにより、OLG への分化が促進され、白質の粗鬆化は改善した。</p> <p>以上の研究は既存薬であるフィンゴリモドの、虚血環境下でのオリゴデンドロサイト前駆細胞に対する効果を明らかにしたものであり、今後の皮質下血管性認知症の治療法開発に寄与するところが多い。</p> <p>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。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和2年2月12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。</p>
要旨公開可能日： 年 月 日以降