



Title	Characterization of pathological stages in a mouse model of progressive multiple sclerosis
Author(s)	濱野, 智
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101473
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	濱野 智
論文題名 Title	Characterization of pathological stages in a mouse model of progressive multiple sclerosis(進行性多発性硬化症マウスモデルにおける経時的な病態解析)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目 的(Purpose)〕</p> <p>非肥満性糖尿病 (NOD) マウスの実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) モデル (NOD-EAEモデル) は、ヒトの多発性硬化症 (MS) における再発寛解型MS (RRMS) から二次性進行型MS (SPMS) に類似した二相性の疾患進行パターンを示すことから、進行性多発性硬化症 (MS) の非臨床動物モデルとして用いられている。しかし、NOD-EAEモデルは病理組織学的所見に関する報告が存在しない。そのため発症に関与する細胞および分子機構が未解明であり、このモデルの有用性に疑問が呈されていた。本研究の目的は、NOD-EAEモデルのメカニズムを解析・解明し、ヒトの進行型MSで観察される病理学的特徴と比較することで実際にこのモデルの有用性を検証することである。また発症や進行に関与する細胞や分子機構を解析することで病態改善の手がかりを示すことである。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>方法：NOD-EAEモデルについてEAEスコアに従って次の5つの病態ステージに分け解析を実施した。</p> <p>各病態ステージ：発症前（感作後9-12日，スコア0-0.5），第1ピーク期（感作後16-20日，スコア2-3），寛解期（感作後22-27日，スコア0.5-1.5），再発期（感作後28-33日，スコア2-3），慢性期（感作後45-64日，スコア3-4）</p> <p>始めに炎症脱髄病変部位を特定する為にニュートラルレッドを用いたラベリングを行い脊髄における炎症部位の把握を行った。次に各病態ステージで病理切片を作成し、HE染色とミエリン染色による炎症・脱髄の評価を行った。またヒトの進行型MSで観察される病理学的特徴の一つである濾胞形成を評価する為に、免疫組織化学染色およびフローサイトメトリー解析を実施した。最後に発症や進行に関与する細胞や分子機構を解析目的でRNA-seq解析を実施した。</p> <p>結果：これまでの文献報告と一致してNOD-EAEモデルマウスは、一過性の麻痺症状が認められたのちに麻痺症状が寛解し、その後麻痺症状が再発・進行する二相性の病態進行パターンを示した。脊髄の胸髄から腰髄にかけて広く不均一に炎症部位が広がっていることが確認され、脊髄における脱髄と炎症細胞浸潤の病理学的なスコアは病態麻痺スコアと一致していた。免疫組織化学染色とフローサイトメトリー解析からも病態麻痺スコアに伴ったT、B細胞の浸潤が確認され、さらに濾胞形成が認められた。具体的には区画化されたバンドT細胞ゾーンとB細胞ゾーン、B細胞と隣接するTfh細胞とB細胞の分化と活性化に不可欠な濾胞樹状細胞が確認され、組織化された濾胞形成が示唆された。RNA-seq解析から第1ピーク期ではT、B細胞などの免疫細胞に特異的な遺伝子の発現上昇および細胞増殖活性化に関与するシグナルの増加が認められる一方、慢性期では線維芽細胞、間質細胞、ミクログリア、マクロファージ、内皮細胞に関する遺伝子発現の増加が認められた。さらに慢性期では血管系の発達と細胞外構造の形成に関連するシグナルの増加や、コラーゲンやラミニンなどの神経実質では高発現しない細胞外マトリックスに関連する遺伝子の発現上昇が確認されることから、線維化が進行していることが示唆された。第1ピーク期と慢性期の違いをより詳細に解析する目的で、先行研究で報告のあるシングルセルRNA-seqデータから細胞特異的な遺伝子マーカーリストを作成し解析を実施した。その結果、これまでの結果と一致した慢性期における非免疫細胞の顕著な増加に加えて、ミクログリア・マクロファージが第1ピーク期と慢性期で異なるグループに分かれており、パスウェイ解析から慢性期に同定されるミクログリア／マクロファージが特に炎症に関与していることが示唆された。</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>本研究では、進行性MSの動物モデルであるNOD-EAEモデルマウスの脊髄において、濾胞形成が疾患の慢性期に認められることを初めて発見し、さらに慢性期に線維化が進行していることを示唆した。中枢神経系の瘢痕は、神経保護に関与するグリア性瘢痕と修復を遅らせる線維性瘢痕の2種類に大別される。本研究において慢性期では線維性瘢痕が形成されることが示され、免疫細胞の浸潤が少なく、活性化したミクログリア／マクロファージを特徴とする病変の形成が示唆された。このパターンは、MS長期罹患患者や進行性病型に観察される活動性／非活動性混合病変に類似したものと考えられる。本研究からNOD-EAEモデルはヒトの進行型MSと多くの類似点があることが示され、ヒト進行性MSの分子メカニズムを理解し、治療効果を評価するのに有用であると考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 濱野 智				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	大阪大学教授	山下 俊英	署名
	副 査	大阪大学教授	原田 彰宏	署名
	副 査	大阪大学教授	佐藤 真	署名

論文審査の結果の要旨

炎症が時空間的に多発する脱髄性疾患である多発性硬化症 (MS) はその病態進行状況から再発寛解型MSと進行型MSに区分される。再発寛解型MSは複数の治療薬が存在するが、進行型MSでは限定的でありアンメットニーズがある。進行型MSはリンパ濾胞形成が代表的な特徴であり病態進行に関係する。進行型MSの非臨床動物モデルとしてNOD-EAEが病態理解や新規治療薬開発の為に利用されている。しかしリンパ濾胞形成に関する報告はこれまで無く、本モデルの有用性について議論の余地があった。本研究ではNOD-EAEの病態解析を行い、NOD-EAEの慢性期において濾胞形成が認められることを初めて発見した。また病態初期ではT細胞やB細胞といった免疫細胞の活性化が病態の中心であるが、慢性期ではミクログリアの活性化や瘢痕形成が認められることを見出した。このような研究成果によりNOD-EAEが進行型MSの非臨床動物モデルとして有用であることを示したことは学位に値するものと認める。