



| | |
|--------------|---|
| Title | Astrocyte regeneration via FGF8-DBX1 signalling facilitates recovery in neuromyelitis optica rats |
| Author(s) | 芦川, 芳史 |
| Citation | 大阪大学, 2025, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/103120 |
| 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 | 芦川 芳史 |
| 論文題名 Title | Astrocyte regeneration via FGF8-DBX1 signalling facilitates recovery in neuromyelitis optica rats (FGF8-DBX1シグナルを介したアストロサイト再生は、視神経脊髄炎ラットの回復を促進する) |
| 論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 アストロサイトは神経細胞への栄養供給や神経活動の制御、血液脳関門の構成など多彩な役割がある。様々な中枢神経疾患ではアストロサイトの破壊と一部再生が生じ、軸索伸長因子の発現や軸索伸長の足場となることで、中枢神経系の再生を促す可能性が指摘されている。しかし、アストロサイト再生機序は不明な点が多い。視神経脊髄炎(Neuromyelitis Optica, NMO)は、アストロサイト足突起にある水チャネル(アクアポリン4, AQP4)が自己抗体で破壊される。破壊後に再生アストロサイトを認めるが、その機能は不明である。NMOの特徴として、脊髄の広範なアストロサイト脱落病変があるが、従来のモデル動物では、その実際の患者の病態を再現することができていなかった。近年、高親和性のAQP4モノクローナル抗体(E5415A)の腹腔内投与で、ランダムに広範なアストロサイト脱落をきたすことが報告された。これを応用し、特定部位に広範な病変を誘導するNMOモデル動物を作製することで、アストロサイト再生過程を安定的に評価できると考えた。本研究では、NMOモデルを用いてアストロサイトが破壊された後のアストロサイト再生メカニズムを解明し、アストロサイト脱落后のアストロサイト再生調節が神経回路再編や運動機能異常に与える影響を評価することを目的とする。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず、広範囲なアストロサイト脱落病変をきたすNMOモデルラットを作製した。具体的には、脊髄の腰膨大部に抗AQP4抗体(E5415A)を注入した。NMO誘導4日後と15日後の脊髄切片でアストロサイトマーカーであるAQP4及びGFAPに対する免疫染色を行い、NMO誘導4日後にはアストロサイトが広範に脱落し、NMO誘導15日後にはアストロサイト再生を認めた。細胞実験の検討により、アストロサイト再生に関与する因子として、線維芽細胞増殖因子8(Fibroblast growth factor8, FGF8)がアストロサイト再生に関与するのではと考えた。NMOモデルラットにアストロサイト脱落が完成している4日後と6日後にリコンビナントFGF8(rFGF8)投与を行ったところ、先程のアストロサイト再生領域面積が広がった。アストロサイト再生促進によって神経回路の再編が促されるかを確認するため、NMOモデルラットに対してトレーサーであるBiotinylated dextran amines(BDA)を大脳皮質運動野に注入した。NMO+rFGF8投与群では補正BDA陽性面積が病変部頭側で増加していた。先程のラットに対して運動機能を評価するためにラダーテストとフットプリントテストを行ったところ、病変導出28日後にはrFGF8投与群でいずれも有意な運動機能異常の改善を認めた。FGF8によるアストロサイト再生促進に関するメカニズムの更なる解明を進めるため、発生期にアストロサイト分布に関わる転写因子の発現を確認したところ、中間脊髄の分布に関連する転写因子Developing brain homeobox1(DBX1)の発現がNMOモデルにおける再生アストロサイトで陽性であった。また、NMOモデルにおいてrFGF8投与によってDBX1の遺伝子発現が増加した。DBX1に対するアンチセンスオリゴヌクレオチドを作製し、NMOモデルラットに投与したところ、アストロサイト再生が抑制された。アストロサイトによる神経回路再編のメカニズムの一つとして、神経栄養因子の分泌が考えられる。そこで、アストロサイトの再生を促進するため、NMOモデルラットにrFGF8を投与し、NMO誘導15日後に病変部脊髄からRNAを抽出し、軸索伸長を促進する可能性のあるグリア細胞株由来神経栄養因子(GDNF)についてリアルタイムPCRを行った。その結果、GDNF遺伝子の発現がNMOにrFGF8を投与した群で有意に上昇していることが明らかになった。次に上衣細胞由来のアストロサイトがGDNFを分泌するかどうかを調べた。成体ラットの脊髄を用いた上衣細胞培養系に対して、アストロサイト分化培地中でrFGF8を曝露し、培地中のGDNFレベルをELISAによって測定した。GDNFレベルはrFGF8投与群で有意に上昇し、このGDNFレベルの上昇は、DBX1を標的とするAS0によって打ち消された。 〔総括(Conclusion)〕 FGF8依存的なアストロサイト再生の増加は、機能回復を促す可能性が示唆された。我々の結果は、アストロサイト再生を促進する治療が、脊髄再生に寄与し、様々な神経疾患の治療につながる可能性を示唆している。 | |

論文審査の結果の要旨及び担当者

| | | | | |
|---------------|-----|--------|-------|-----|
| (申請者氏名) 芦川 芳史 | | | | |
| 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 | 河原 行郎 | 署 名 |
| | 副 査 | 大阪大学教授 | 原田 彰宏 | 署 名 |

論文審査の結果の要旨

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis Optica, NMO) はアストロサイトにある水チャネル(アクアポリン4, AQP4)に対する自己抗体によってアストロサイトの破壊が生じて、脊髄に広範な病変が生じることによって、重度の麻痺をきたす疾患である。この疾患は寛解と再発を繰り返す。抗体療法による再発予防法は進歩してきたが、機能回復につながる治療法の開発を進める必要がある。

申請者は、広範なアストロサイト脱落をきたすNMOモデルを作製し、アストロサイトが広範に脱落した後にアストロサイト再生がはじまり、線維芽細胞増殖因子8 (FGF8) によってその再生が促されることを見出した。さらに、このFGF8によるアストロサイト再生の促進は、神経回路の再編および運動機能の回復を促し、再生アストロサイトは神経栄養因子であるGDNFを増加させる可能性が示唆された。

上記の研究結果は、FGF8によってアストロサイト再生を促すことが、NMOに対する新規治療法となる可能性を見出したことから、博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。