



Title	Single-nucleus multiome shows motor neuron glutamate overactivation in amyotrophic lateral sclerosis
Author(s)	竹内, 恵里子
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105302
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	竹内 恵里子
論文題名 Title	Single-nucleus multiome shows motor neuron glutamate overactivation in amyotrophic lateral sclerosis (単一核マルチオーム解析により明らかとなった ALS における運動ニューロンのグルタミン酸過剰活性)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 筋萎縮性側索硬化症 (ALS) は、大脳皮質運動野 (MCX) の上位運動ニューロンおよび脊髄 (SC) の下位運動ニューロンが選択的に変性する進行性神経変性疾患である。また、ALS 症例の 95%以上で TAR DNA-binding protein 43 (TDP-43) の核外移行と細胞質凝集が認められる。しかし、上位および下位運動ニューロンが特異的に障害される分子機序は依然として不明である。運動ニューロン自身の細胞自律的变化に加えて、周辺グリア細胞との非細胞自律的相互作用も病態に寄与することが示唆されているが、その詳細は明らかではない。 本研究では、ヒト剖検脳および脊髄組織を対象とした単一核マルチオーム解析 (snRNA-seq および snATAC-seq) を用いて、ALS の細胞種特異的な分子変化と、遺伝的感受性の分布を包括的に明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 ALS 患者 (n=6) および対照 (n=6) から得られた運動野 75,583 核、脊髄 62,711 核を用い、単一核レベルでの遺伝子発現およびクロマチンアクセシビリティ解析を同時に実施した。解析の第一段階として脳と脊髄における詳細な細胞地図を構築し、脳42、脊髄43の細胞亜集団を同定した。脊髄については、運動ニューロンを含め、同定した細胞亜集団の発現分布を、空間トランスクリプトームを用いて検証した。 細胞構成比解析では、オリゴデンドロサイトにおいて、ALSでシナプス形成・安定化に関連する遺伝子を強く発現するサブタイプが減少していることが明らかとなった。これらの変化とあわせて、細胞間相互作用解析では、ALSの脊髄において運動ニューロンを中心にアストロサイト、OPC、オリゴデンドロサイトとの相互作用が増加しており、グルタミン酸および NRXN-NLGN1 経路の活性化が示唆された。 さらに、遺伝子発現差異解析では脊髄運動ニューロンで顕著な遺伝子発現変化が認められ、とくに代謝型グルタミン酸受容体 GRM5 を含む、複数のグルタミン酸関連遺伝子の上昇が示された。GRM5については、ALS患者腰髄組織パラフィン切片の免疫組織化学染色および、一次培養マウス皮質ニューロンにおけるTDP-43ノックダウン実験により、タンパク質レベルでの発現上昇を確認した。これらの所見は、ALS における過剰なグルタミン酸シグナルの関与を支持した。 また、GWAS データおよび ALS 関連遺伝子との統合解析により、ALS の遺伝的感受性は、先行研究で示されているミクログリアや血管系細胞に加えて、脊髄運動ニューロンにも蓄積していることが明らかとなった。特にミクログリアでALS 関連遺伝的感受性が高く、細胞種特異的な遺伝的リスクの局在化が示された。加えて、MOBP、MOB3Bなどの領域に、病態に関与する可能性のある転写調節候補SNPが複数同定された。 〔総括(Conclusion)〕 本研究は、ALS の病態において脊髄運動ニューロンのグルタミン酸シグナル過剰活性化が病態に関与している可能性を示した。また、遺伝的リスクの蓄積がミクログリアをはじめとするグリア細胞にも及ぶことを明らかにし、運動ニューロンとグリア細胞間の相互作用変化が ALS 病態に関与する可能性を示した。これらの包括的マルチオームデータは、ALS の分子基盤の理解を深めるとともに、新規治療標的の探索に資する貴重なリソースとなる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 竹内 恵里子				
論文審査担当者		(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	高 橋 正 紀	署 名
	副 査	大阪大学教授	島 田 昌 一	署 名
	副 査	大阪大学教授	島 田 昌 一	署 名

論文審査の結果の要旨

本研究は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）を対象として、ヒト剖検脳および脊髄組織を用いた単一核マルチオーム解析（snRNA-seq および snATAC-seq）により、ALS における細胞種特異的な分子変化および遺伝的感受性の分布を包括的に解析したものである。その結果、ALS 脊髄において運動ニューロンを中心とした細胞間相互作用の変化が認められ、とくにグルタミン酸関連経路の活性化が示された。また、脊髄運動ニューロンにおいて代謝型グルタミン酸受容体を含む複数の関連遺伝子の発現上昇が明らかとなり、免疫組織化学染色および実験的検証によりその妥当性が確認された。さらに、GWAS データとの統合解析により、ALS に関連する遺伝的感受性がミクログリアをはじめとするグリア細胞に加え、脊髄運動ニューロンにも蓄積していることを明らかにし、細胞種特異的な遺伝的リスクの局在化を示した。これらの知見は、ALS 病態における細胞種特異的な脆弱性に着目することの重要性を示すものである。

以上より、本研究は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。