



Title	ALS脊髄後根神経節における一次感覚ニューロン障害の病態解明
Author(s)	西浦, 輝
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105328
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

氏 名 （ 西 浦 輝 ）

論文題名 ALS脊髄後根神経節における一次感覚ニューロン障害の病態解明

論文内容の要旨

【研究背景と目的】

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis : ALS）は、上位および下位運動ニューロンが選択的に障害される進行性の神経変性疾患であり、人口10万人あたり1～2.5人の発症率を示す。ALS患者は四肢の筋力低下や嚥下・呼吸障害を呈し、最終的には死に至る。これまでALSの研究は主に運動ニューロンの病態に焦点を当ててきたが、現在に至るまで有効な治療法は確立されていない。近年、ALSの発症・進行には運動系のみならず感覚系の関与も示唆されており、ALSモデルマウスを用いた先行研究では、咀嚼に関与する一次感覚ニューロンの電気生理学的異常が報告されている。しかし、四肢の一次感覚ニューロンに関しては臨床的な異常報告があるものの、その分子・形態学的実態は十分に解明されていない。そこで本研究では、ALSにおける四肢の一次感覚ニューロンの病態変化を詳細に解析し、ALSにおける感覚系の関与を明確にすることで、今後の新たな治療戦略の構築に寄与する基礎的知見を得ることを目的とした。

【方法】

実験1：ALSモデルマウスDRGのRNAシーケンス解析

雄の12週齢ALSモデルマウス（SOD1G93A）（N=3）および野生型マウス（N=3）から脊髄後根神経節（Dorsal Root Ganglion : DRG）を摘出した。得られたDRG組織より総RNAを抽出し、大阪大学微生物病研究所ゲノム解析室にてRNAシーケンスを実施した。得られた遺伝子発現データは、統合的遺伝子発現解析プラットフォーム iDEP2.0 を用いて統計学および生物学的解析を行い、ALSモデルマウス群と野生型群の間で発現変動遺伝子を比較検討した。また同週齢のALSモデルマウスの脊髄運動ニューロンの公開データと比較検討を行った。

実験2：ALSモデルマウスDRGの免疫組織学的解析

雄の12週齢ALSモデルマウス（N=3）および野生型マウス（N=3）を4%パラホルムアルデヒド（PFA）で灌流固定後、DRGを摘出した。標本を30%スクロースで48時間置換し、5 μm厚の凍結切片を作製した。A線維マーカー（NF200）およびC線維マーカー（Peripherin）を用いて免疫染色を行い、各線維群に属する神経細胞体の長径を測定した。さらに、ナトリウムチャネル（Nav1.6、Nav1.7、Nav1.8）の発現を免疫組織学的に評価し、ALSモデルマウス群と野生型群間で比較検討した。

実験3：ALSモデルマウスDRGニューロンの電気生理学的解析

雄の12週齢ALSモデルマウス（N=5）および野生型マウス（N=4）からDRGを摘出後、24時間の分散培養を行った。単離されたDRGニューロンを対象に、パッチクランプ法によるwhole-cell記録を行った。まずVoltage-clamp条件下で膜電流特性を評価し、ALSモデルマウス群と野生型群の間で比較検討した。さらに、Current-clamp条件下において矩形波脱分極パルスを印加し、誘発される活動電位および連続発火特性の変化を解析した。

【研究結果】

実験1: ALSモデルマウスのDRGのRNAseqによる遺伝子発現解析

12週齢のALSモデルマウス群および野生型マウス群のDRGから得られたRNAシーケンス解析により、計22,039個の遺伝子が検出された。そのうち、発現変動量（fold change）2倍以上かつ偽発見率

(False Discovery Rate : FDR) < 0.05を満たす有意な発現変動遺伝子は47個であった。その内訳は、ALSモデルマウス群で発現が上昇していた遺伝子が31個、低下していた遺伝子が4個であった。これらの遺伝子を用いて遺伝子セット富化解析 (Gene Set Enrichment Analysis : GSEA) を行った結果、Phagosomeがもっとも有意に変動していた。Phagosome経路は酸化ストレス関連経路であり、ALSモデルマウスDRGにおいて酸化ストレスの亢進が特徴的に認められた。また、脊髄運動ニューロンの公開RNA-seqデータとの比較検討により、DRG特異的に発現上昇する遺伝子が22個同定された。

実験2: ALSモデルマウスにおけるDRGの免疫染色による組織学的検討

免疫染色による形態学的解析では、ALSモデルマウス群においてA線維およびC線維に属する神経細胞体の長径が、野生型群と比較して有意に縮小していた。さらに、ナトリウムチャネル (Nav1.6、Nav1.7、Nav1.8) との共発現率がALSモデルマウス群で上昇しており、特にA線維に属するニューロンにおいて、Nav1.7およびNav1.8の発現上昇が顕著であった。

実験3: ALSモデルマウスにおけるDRGニューロンの電気生理学的検討

12週齢のDRGニューロンにおける膜電位特性について、静電容量値および入力抵抗値にはALSモデルマウス群と野生型マウス群との間で有意な差を認めなかった。Current-clamp条件下での活動電位解析では、ALSモデルマウス群のA線維においてSpike heightおよび静止膜電位が野生型群と比較して有意に上昇していた。また、連続発火活動を示すA線維の割合は、ALSモデルマウス群で上昇傾向を示した。

さらに、連続発火活動を示したA線維において、ALSモデルマウス群ではRheobaseが野生型群と比較して低下傾向を示した。

【考察】

RNA-seq解析では、mSOD1マウスDRGにおける発現変動遺伝子の大部分が上昇していることを認め、GSEAによりPhagosome経路が最も有意に変動していた。この結果は、DRGで免疫応答や酸化ストレス関連経路が活性化している可能性を示唆する。公開データセットとの比較解析では、脊髄運動ニューロンと共通して神経保護因子*Gpnmb*の上昇を認めた。一方でDRG特異的に神経活動亢進を示す*Fos*や*Npy*が有意に上昇しており、感覚系固有の病態応答が示唆された。免疫組織学的解析では、mSOD1群でAおよびC線維由来ニューロンの細胞体長径が縮小し、形態学的変化が確認された。さらに、A線維ではNav1.7およびNav1.8の共在割合が上昇しており、ナトリウムチャネルの局在変化が認められた。電気生理学的解析において、A線維由来DRGニューロンでは静止膜電位の脱分極、スパイク高の増大、および連続発火閾値の低下傾向が認められ、膜興奮性が亢進していた。一方、C線維では顕著な変化は限定的であった。この線維種特異的な変化はNavチャネルの変動と整合しており、分子変化が機能変化へと反映されている可能性が高い。

以上の結果を総合すると、ALSモデルマウスのDRGでは、酸化ストレスや免疫関連経路の活性化を背景として、Navチャネルの変調、形態変化および膜興奮性亢進が連続的に生じている可能性が示された。本研究は、ALSを運動ニューロン疾患としてのみ捉える従来の概念を拡張し、感覚系を含む神経回路全体の病態として理解する重要性を示すものである。

【結語】

本研究では、ALSモデルマウスにおけるDRGの遺伝子発現解析、電気生理学的検討および組織学的評価を行った。その結果、酸化ストレス関連経路の活性や組織学的変化が認められ、DRGニューロンの電気生理学的特性にも変調がみられた。これらの所見は、ALSにおける一次感覚ニューロンの障害を示唆するものであり、今後その分子基盤と機能的意義を明らかにすることが、ALS病態のさらなる解明につながる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (西 浦 輝)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	田中 晋
	副 査	教授	加藤 隆史
	副 査	准教授	早田 敦子
	副 査	講師	佐藤 文彦

論文審査の結果の要旨

本研究は、筋萎縮性側索硬化症（ALS）における感覚障害の病態解明を目的として、ALS モデルマウスの脊髄後根神経節（DRG）の遺伝子発現解析ならびに DRG ニューロンの組織形態学および電気生理学的検討を行ったものである。

その結果、ALS モデルマウスの DRG において酸化ストレス関連経路の活性化が認められ、DRG ニューロンでは電位依存性 Na^+ チャネルの発現変動がみられ、膜興奮性が亢進していることが明らかとなった。

以上の結果は、ALS における感覚障害の病態を理解する上で重要な知見を提供するものであり、よって博士（歯学）の学位論文として価値のあるものと認める。