The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Vitamin K2 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats
Author(s)	森谷, 真之
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46141
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。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

氏　　名　森谷真之（もりやまさゆき）

博士の専攻分野の名称　博・士（医　学）

学位記番号　第　20124　号

学位授与年月日　平成18年3月24日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科生体統合医学専攻

学位論文名　Vitamin K_2 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in Lewis rats
（ビタミン K_2 はルイスラット実験的自己免疫性脳脊髄炎を改善する）

論文審査委員　（主査）
教　授　佐古田三郎

（副査）
教　授　吉峰　俊樹　　教　授　菊谷　　仁

論文内容の要旨

〔目　　的〕

多発性硬化症（multiple sclerosis, MS）は免疫学的機序による中枢神経の脱髄を来す疾患であり、再発時の症状抑制目的に副腎皮質ステロイド、再発の予防目的にインターフェロンβなどが使用されている。しかし効果としては不十分であり、副作用も多く、注射による投与のため患者の苦痛を伴う事から、副作用の少ない新たな経口治療法の開発が望まれている。

実験的自己免疫性脳脊髄炎（experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE）は、実験動物に中枢神経由来の抗原を免疫することにより惹起される脳脊髄炎であり、MSの動物モデルとして汎用されているが、近年HMG-CoA還元酵素阻害薬（スタチン）がEAEの重症度を改善するという報告がなされた。スタチンは高脂血症治療薬として使用されてきたが、EAE抑制効果、抗腫瘍効果、動脈硬化抑制など多彩な作用を持つことが判明してきており、これらの作用にはゲラニルゲラニルピロリン酸（GGPP）等の産生抑制が大きく関与していると考えられている。

ビタミン K_2（VK2）は側鎖としてゲラニルゲラニル基を持ち、GGPPと同一の構造を持っている。またVK2はワーファリンの拮抗薬、骨粗鬆症抑制薬として使用されているが、抗腫瘍効果、動脈硬化抑制、神経細胞やオリゴデンドロサイトに対する保護作用などが報告されており、スタチンの作用とかなり共通している。これらの背景から、VK2がスタチンと同様に、EAEの重症度に関与する可能性が考えられ、その効果を検討するに至った。

〔方法ならびに成績〕

EAEは、ルイスラットにMyelin Basic Protein（MBP）をアジュバントと共に免疫することにより誘導した。この系において、VK2あるいはコントロールとして溶媒のみを腹腔内投与し、VK2の症状抑制効果を検討した。VK2の用量は、高用量62.5 mg/kg、低用量2.7 mg/kgとし、期間は、予防的投与（免疫1日前から23日後まで）あるいは治療的投与（免疫11日後から19日後まで）とした。ラットを連日観察し、重症度を評価した。

VK2高用量の予防的投与（VK2投与群n=20、コントロール群n=18）により、症状の有意な改善が認められた。低用量の予防的投与、高用量の治療的投与では、有意な効果は認められなかった。

次に、高用量・予防的投与下において、脊髄のHE染色を行い、炎症細胞浸潤の程度を半定量的に評価した。VK2群の脊髄において炎症細胞の浸潤は、コントロール群に比べ有意に抑制されていた。

さらに、EAE発症に重要な分子であるMHCクラスII（MHCII）とinducible nitric oxide synthase（iNOS）の発現を、高用量・予防的投与下において検討した。コントロール群の脊髄の免疫組織学的検討では、ミクログリアと一部のアストロサイトにMHCIIの発現を認めた。一方VK2群では、このMHCIIの発現が明らかに減少していた。脊髄のウェスタンブロットにおいても、MHCIIの発現はVK2群で有意に減少していた。

脊髄におけるiNOSの発現についても免疫組織学的に検討した。コントロール群では血管周囲のミクログリアと一部のアストロサイトに発現しており、VK2群ではこの発現は抑制されている傾向があった。脊髄のウェスタンブロットでは、有意差には至らなかったがiNOS発現はVK2群で減少傾向が認められた。

これらの結果をさらに検証するため、in vitroの実験を施行した。ミクログリア細胞株（GMI-M6-3）にIFN-γ、IFN-γ＋CD40刺激抗体、LPSをそれぞれ添加して培養するとiNOSの発現が誘導されるが、この系でVK2（25μM）の存在下に培養を行ったところ、iNOSの誘導は有意に抑制された。初代培養アストロサイトにおいても同様の抑制効果が認められた。この結果から、VK2はiNOS発現抑制効果を持つことが示唆された。

〔総　　括〕

VK2の予防的投与によりEAEの重症度は改善することが示された。この効果には、中枢神経における炎症細胞浸潤の抑制、MHCIIとiNOSの発現の抑制が寄与している可能性が考えられた。VK2は既に骨粗鬆症に対して重篤な副作用無く使用されている薬剤であり、MSに対する新たな治療薬となり得る可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

本研究では、多発性硬化症（MS）の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）を使用している。近年HMG-CoA reductase inhibitor（スタチン）がEAEに有効であることが報告されているが、本研究ではビタミンK2（VK2）がその化学構造上、スタチンと共通した作用を持ちうることに注目し、EAEに対する効果を検討している。その結果、VK2はEAEの重症度を抑制することが明らかにされた。またVK2は、EAEの脊髄の炎症細胞浸潤を抑制するとともに、EAE発症に関与する分子であるMHCクラスIIおよびinducible NO synthase（iNOS）の脊髄における発現を抑制していることが示された。現在MSの治療薬は経口投与が困難で副作用も多いが、VK2は経口投与が可能で副作用も殆どないため、MSの新しい治療薬となりうる可能性が示唆された。このことは医学研究として寄与するところが大きいと考えられ、学位に値すると考える。