OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Overexpression of HGF attenuates the degeneratioin of Purkinje cells and Bergmann glia in a knockin mouse model of spinocerebellar ataxia type 7
Author(s)	野間, さつき
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/59770
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【１】

氏　　名	野間（のま）　さつき
博士の専攻分野の名称	博　士（医学）
学位記番号	第　２５５５５　号
学位授与年月日	平成24年４月20日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 医学系研究科予防環境医学専攻
学位論文名	Overexpression of HGF attenuates the degeneratioin of Purkinje cells and Bergmann glia in a knockin mouse model of spinocerebellar ataxia type 7 （HGFの過剰発現は脊髄小脳変性症７型モデルノックインマウスのプルキンエ細胞とバーグマングリアの変性を抑制する）
論文審査委員	（主査） 教　授　上田　啓次 （副査） 教　授　遠山　正彌　　教　授　吉川　和明

論文内容の要旨

〔　目　　的　〕

脊髄小脳変性症7型（SCA7）は、原因遺伝子ataxin-7内部の*CAG*リピートの異常伸長が原因で発症する、小脳の神経変性と失調症状を伴う遺伝性疾患である。組織特異的SCA7モデル動物を用いた研究により、小脳プルキンエ細胞の直接的な神経変性に加えてバーグマングリアの変性（グルタミン酸トランスポーターの低下による間接的な神経毒性の増加）が病態の進行に深く関与すると報告されているが、現時点でこれらの分子機序を基盤とした有効な治療法が開発されていない。

肝細胞増殖因子（HGF）は海馬、大脳皮質、脊髄など神経系において神経栄養活性を有することに加えて、小脳において発生期に重要な機能を担うこと、さらに小脳顆粒細胞に対して神経保護作用を示すことが報告されている。これらを背景に、本研究ではSCA7モデルノックインマウスでの (1) 小脳の神経細胞変性 (2)グルタミン酸トランスポーターの低下を伴うバーグマングリアの変性 (3) 失調症状 に対するHGFの機能について解析することを目的とした。

〔　方法ならびに成績　〕

まず、SCA7で主に神経変性が認められる小脳のプルキンエ細胞がHGF受容体（c-Met）を発現しているかを初代培養マウス小脳神経細胞と野生型マウス小脳の凍結切片について、抗c-Met抗体と抗calbindin（プルキンエ細胞マーカー）抗体の二重免疫染色法を用いて解析した。その結果、プルキンエ細胞でc-Metの免疫染色性が検出された。加えて、c-MetとGFAP（バーグマングリアマーカー）の二重免疫組織染色において、バーグマングリアにもc-Metの免疫染色性が確認された。次にSCA7患者由来ataxin-7遺伝子の異常伸長型*CAG*リピート領域をマウスの相当領域にノックインしたマウス（SCA7-KIマウス）と、HGF遺伝子を神経特異的（NSEプロモーター下）に過剰発現するTgマウス（HGF-Tgマウス）を交配させ、野生型（WT）同腹仔マウス、SCA7-KIマウス、HGF-TgマウスおよびSCA7-KI/HGF-Tgマウスの４群を作出した。これらのマウスの小脳の切片を用いてHGFおよびリン酸化c-Metの免疫染色を行った。その結果、HGF-TgマウスおよびSCA7-KI/HGF-Tgマウスの小脳ではプルキンエ細胞にもバーグマングリアにもHGFが高レベルで検出されること及びc-Metのリン酸化（活性化）が認められた。ELISA 法による定量解析においても、HGFレベルが高いことが検証された。プルキンエ細胞の変性の程度は小脳切片のcalbindin染色像上でcalbindin陽性細胞の細胞体面積を計測して評価した。WT、HGF-TgマウスとSCA7-KIマウスでは細胞体サイズの小さいプルキンエ細胞（変性神経細胞）が多数見られたが、SCA7-KI/HGF-Tgマウスではその割合が有意に減少していた。次にバーグマングリアの機能の指標として、バーグマングリアに発現するグルタミン酸トランスポーターであるGLASTとGLT-1について小脳切片の免疫染色を行った。その結果、WTマウスおよびHGF-TgマウスとSCA7-KIマウスの小脳でGLASTとGLT-1は大幅に減少するが、SCA7-KI/HGF-TgマウスではGLASTはWTマウスと同程度まで、GLT-1についてはWTマウス以上にその免疫染色性が上昇していた。さらにSCA7-KIマウスが示す失調症状に対する効果を評価するため、Rotarodテストを用いて協調運動能力の比較を行った。WTマウス、HGF-TgマウスとSCA7-KIマウスではRotarodの滞在時間が有意に短縮していた。一方で、SCA7-KI/HGF-Tgマウスの滞在時間はSCA7-KIと比較して有意に延長されていた。

〔　総　　括　〕

本研究ではSCA7-KIマウスの小脳へのHGF遺伝子の過剰発現により、HGF蛋白質がプルキンエ細胞とバーグマングリアに供給され、両細胞群を活性化することが明らかとなった。供給されたHGFはSCA7-KIマウスにおけるプルキンエ細胞の神経変性、バーグマングリアでのグルタミン酸トランスポーターレベルの低下を抑制し、さらに失調症状に対する治療への応用の可能性が初めて示された。

論文審査の結果の要旨

脊髄小脳変性症7型（SCA7）は、原因遺伝子ataxin-7内部の*CAG*リピートの異常伸長が原因で発症する、小脳の神経変性と失調症状を伴う遺伝性疾患であると考えられている。本論文ではヒトSCA7患者由来の異常伸長型*CAG*リピート近傍領域をノックインしたモデルマウス（SCA7-KI）とHGF遺伝子を神経特異的に高発現するTgマウス（HGF-Tg）の交配により、SCA7-KIに対するHGFの治療効果を解析した。免疫組織染色によりWT、HGF-Tg、SCA7-KIおよびSCA7-KI/HGF-Tgを比較した結果、SCA7-KIで認められた小脳プルキンエ細胞の変性及びバーグマングリアの変性に対してHGFが抑制効果をもつこと、また、小脳性協調運動機能をRotarod-testを用いて解析した結果、HGFはSCA7-KIの失調症状も抑制することを世界で初めて実証した。これらの成果は学位の授与に値すると考えられる。