

Title	Cardiomyocyte-released factors stimulate oligodendrocyte precursor cells proliferation
Author(s)	黒田, 真里子
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/61544
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	黒田 真里子
論文題名 Title	Cardiomyocyte-released factors stimulate oligodendrocyte precursor cells proliferation (心筋細胞由来因子によるオリゴデンドロサイト前駆細胞への増殖促進作用)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>脱髄疾患では、神経細胞の髄鞘が損傷され、軸索伝導不全が生じることにより、多様な神経症状が生ずる。代表的な疾患である多発性硬化症の病態メカニズムには、髄鞘に対する自己免疫反応が関与していること、病巣において血液脳関門 (Blood-brain barrier) が破綻していること、また脱髄巣は部分的ではあるが自発的に修復され、修復機構を備わっていることが示されている。これまで我々の研究室では、脈管系の組織が脱髄疾患病態において損傷保護・修復に寄与していることを明らかにしている。その経緯から、脈管系組織のなかでも特に分泌因子を多様に放出する心臓に着目し、心臓由来因子が脱髄疾患の修復に寄与する可能性について、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (Oligodendrocyte precursor cell, OPC) の増殖を指標に検討を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>マウス由来初代培養心筋細胞及び初代培養OPCを各試験に用いた。初代培養OPCの単離には、まず生後1日齢のマウス脳を採取し、パパインによる酵素消化により細胞を分散した。次に、得られた細胞から磁気ビーズを用いたMACS (Magnetic-activated cell sorting)によりOPCマーカーA2B5陽性細胞を分離精製した。初代培養心筋細胞の単離には、生後1日齢のマウス心臓を採取し、コラゲナーゼによる酵素消化により細胞を分散した。次に、得られた細胞をプラスチックシャーレに播種・培養し、30分後に浮遊状態にある細胞群のみ回収することにより、接着性の高い繊維芽細胞を除去し心筋細胞を得た。OPCの増殖評価には、BrdU (Bromodeoxyuridine) の細胞内取り込みをELISA (Enzyme-linked Immunosorbent assay) 法により定量化した。</p> <p>まず、心筋細胞とOPCの共培養を行い、OPCの増殖作用への心筋細胞の影響を検討した。共培養にはトランスウェルを使用し、トランスウェルの下層にOPCを、上層に心筋細胞を播種し、24時間後におけるOPCの増殖を評価した。その結果、心筋細胞の共培養群において、OPCの増殖促進作用が認められた。この作用への液性因子の関与を確認する目的で、心筋細胞の培養上清を調整し、OPCへの培養上清添加による増殖作用への影響を検討した。その結果、心筋培養上清にもOPCの増殖促進作用が認められ、心筋細胞がなんらかの液性因子を分泌し、OPCの増殖を促進していることが示された。次に、心筋由来因子によるOPCの増殖促進にはどのような細胞内シグナルパスウェイが関わっているか明らかにするために、シグナルアレイを行った。その結果、心筋細胞培養上清刺激によりOPCのリン酸化ERK (Extracellular signal-regulated kinase) 1/2、リン酸化S6 ribosomal proteinが増加していることが示され、MAPK (Mitogen-activated protein kinase) シグナル及びPI3K (Phosphatidylinositol 3 kinase)シグナルの活性化が示唆された。これらのシグナルカスケードのOPC増殖作用への寄与について、阻害剤を用いた拮抗実験を行ったところ、OPCの増殖促進作用はPI3K阻害剤LY294002、MEK (MAPK/ERK kinase)阻害剤U0126により阻害された。一方で、p38MAPK阻害剤SB203580、JNK阻害剤SP600125はなんら作用を示さなかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>初代培養心筋細胞は、単一もしくは複数の液性因子を介してOPCの増殖を促進することが示された。PI3Kシグナル、MAPKシグナルが増殖促進シグナルに重要な寄与を果たしていた。今後の課題は、心筋細胞から分泌される液性因子の同定及び生体環境下での寄与の解明であると考えられる。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 黒田 真里子

	(職)	氏名
論文審査担当者	主査 大阪大学教授	山下 俊英
	副査 大阪大学教授	望月 秀樹
	副査 大阪大学教授	佐藤 真

論文審査の結果の要旨

これまでの研究で、脈管系の組織が脱髄疾患病態において損傷保護・修復に寄与していることを明らかとなっている。その経緯から、脈管系組織のなかでも特に分泌因子を多様に放出する心臓に着目し、心臓由来因子が脱髄疾患の修復に寄与する可能性について検討を行った。

その結果、心筋細胞との共培養及び心筋培養上清添加の条件においてOPCの増殖促進作用が認められ、心筋細胞がなんらかの液性因子を分泌し、OPCの増殖を促進していることが示された。次に、どのような細胞内シグナルパスウェイが関わっているか明らかにするために、シグナルアレイを行った結果、PI3K pathway、MAPK pathwayの活性化が示唆され、これらのシグナルの阻害によりOPCの増殖が抑制されることが示された。今後の課題は、心筋細胞から分泌される液性因子の同定及び生体環境下での寄与の解明であると考え。当研究からは、初代培養心筋細胞は、単一もしくは複数の液性因子を介してOPCの増殖を促進すること、PI3Kシグナル、MAPKシグナルが増殖促進シグナルに重要な寄与を果たしていたことを示し、学位に値すると考える。