

Title	Cerebrospinal fluid mitochondrial DNA in neuromyelitis optica spectrum disorder
Author(s)	山下, 和哉
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72162
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		山下和哉	
論文審査担当者	(職)	氏名	
	主査	大阪大学教授	望月 季 樹
	副査	大阪大学教授	池田 亨
	副査	大阪大学教授	畠 島 晴 彦
論文審査の結果の要旨			
<p>視神経脊髄炎関連疾患（NMOSD）において抗AQP4抗体の病原性は確立しているが、自然免疫の関連を示唆する報告もある。本研究では自然免疫を活性化させることが知られているミトコンドリアDNA（mtDNA）に注目し、NMOSD病態への関与を検討している。まず髄液中のmtDNAを定量し、NMOSD急性期では他疾患と比較して有意に上昇していること、急性期治療の介入により有意に低下することを見出した。さらに抗AQP4抗体の刺激によりアストロサイトからmtDNAが細胞外に放出されること、mtDNA刺激によりミクログリアからのIL-1β産生が誘導されること、IL-1β産生にはToll-like receptor 9（TLR9）とインフラマソームが関与していることを実験的に証明した。NMOSDにおいてmtDNAを介した自然免疫系の炎症促進機序が存在している可能性を報告しており、学位の授与に値すると考えられる。</p>			

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	山下 和哉
論文題名 Title	Cerebrospinal fluid mitochondrial DNA in neuromyelitis optica spectrum disorder (視神経脊髄炎関連疾患における髄液ミトコンドリアDNAの関与)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕 視神経脊髄炎関連疾患 (neuromyelitis optica spectrum disorder; NMOSD) において抗aquaporin 4 (AQP4)抗体の病原性は確立されている。しかし近年、NMOSDにおける髄液IL-1 β やHMGB-1の増加が報告されており、炎症促進因子として自然免疫の関連が示唆されている。ミトコンドリアDNA (mitochondrial DNA; mtDNA) は自然免疫を活性化する働きが知られているが、神経免疫疾患への関与は報告されていない。そこで本研究ではNMOSDにおけるmtDNAの関連性、さらには炎症促進因子としての可能性を検討した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず抗AQP4抗体陽性のNMOSD 46例(急性期 26例、寛解期 20例)の髄液中mtDNAを定量的PCRにより測定した。対照群は多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS)急性期 18例、他神経疾患 50例 (ギランバレー症候群 8例、筋萎縮性側索硬化症 (ALS) 15例、特発性正常圧水頭症 9例、頸椎症 7例、身体症状症 11例) を用いた。結果として、NMOSD急性期における髄液mtDNAはNMOSD寛解期、MS急性期および他神経疾患群と比較して有意に増加していた。さらにNMOSDにおいて、治療介入後の髄液mtDNAは有意に低下していた。 次にAQP4強制発現HEK293細胞とヒトアストロサイト初代培養にNMOSD患者血清、健常人血清をそれぞれ添加し、上清中mtDNAの測定をおこなった。結果はいずれの細胞においてもNMOSD患者血清によりmtDNAは有意に多く培養上清中に放出され、抗AQP4抗体を介したアストロサイト障害によりmtDNAが細胞外に放出されることが示された。 最後にmtDNAによる炎症促進作用の可能性について検討を行った。まずNMOSD患者髄液から抽出したDNA分画をマウス混合グリア細胞に加え、炎症性サイトカイン産生を検討したところ、IL-1 β の産生が誘導されることが示された。次にHEK293細胞から放出されたmtDNAをマウス由来の混合グリア細胞、アストロサイト、ミクログリアへそれぞれ添加したところ、混合グリア細胞、ミクログリアからはIL-1 β 産生が誘導されたが、アストロサイトからは誘導されなかった。これにより、ミクログリアがIL-1 β の主要な産生細胞であることが示された。さらにIL-1 β 産生機序の解明のため、ヒトのperipheral blood mononuclear cells (PBMC)に対し、Toll-like receptor 9 (TLR 9) 阻害薬 (ODN2088) とインフラマソーム阻害薬 (MCC950) を用いて検討した。結果はODN2088あるいはMCC950で前処置したPBMCにおいてはmtDNA刺激によるIL-1 β 産生が有意に低下していた。これにより、mtDNAを介したIL-1 β 産生にはTLR9とインフラマソームが関与していることが示された。	
〔総括(Conclusion)〕 mtDNAはNMOSD急性期で増加し、TLR9とインフラマソーム依存性にIL-1 β 産生を誘導することが示された。NMOSDにおいて、mtDNAが炎症増幅因子として関与している可能性がある。	