The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | RGMa Signal in Macrophages Induces Neutrophil-Related Astrocytopathy in NMO |
| Author(s) | Iwamoto, Shosuke |
| Citation | 大阪大学, 2022, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/89550 |
| 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。 |

*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
## Synopsis of Thesis

| 氏　名<br>Name | 岩本　祥佑 |
|---|---|
| 論文題名<br>Title | RGMa Signal in Macrophages Induces Neutrophil-Related Astrocytopathy in NMO<br>（マクロファージにおけるRGMaシグナルは視神経脊髄炎における好中球を介したアストロサイト障害に関与する） |

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

視神経脊髄炎（NMO）は重篤な視神経炎や脊髄炎が出現する難病であり、中枢神経内のアストロサイトに多く発現するAQP4に対する自己抗体が関わる自己免疫疾患と考えられている。中枢組織内に漏出した抗AQP4抗体により惹起されるアストロサイト障害には、脊髄内に浸潤したマクロファージや好中球といった免疫細胞が関与している。軸索再生阻害因子のひとつであるRGMaは、免疫調節機能を持ち、種々の中枢神経疾患に関与することが明らかになってきているが、視神経脊髄炎病態における役割については不明なままであった。そこで本研究においては、NMOにおけるRGMaの機能解明を目的に、NMOモデルラットを用いた抗RGMa抗体の薬効評価および薬効メカニズム解明を行った。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

NMOモデルラットは、ミエリン塩基性蛋白により免疫化した雌性Lewラットに対し、高親和性抗AQP4モノクローナル抗体を腹腔内投与することで作製した。まず、本NMOモデルにおける運動機能を評価したところ、抗体投与の翌日から顕著な運動機能障害が抗体用量依存的に認められた。更に抗AQP4抗体投与によって生じる脊髄病態を免疫染色により確認したところ、血管周囲性の抗AQP4抗体の漏出およびアストロサイトマーカーであるGFAP・AQP4の脱落が認められ、アストロサイト脱落部位周囲においては、抗体依存性細胞障害を引き起こす好中球が大量に浸潤していることが確認された。そこでRGMaおよびその受容体であるNeogeninの脊髄組織中発現分布を免疫組織染色により解析したところ、RGMaはアストロサイトおよび神経細胞に発現しており、Neogeninは神経細胞およびマクロファージに強く発現していることが明らかになった。更にヒトNMO患者脊髄組織を用いた免疫組織染色の結果、RGMaは主にアストロサイトに、Neogeninは病変部位周囲に浸潤しているマクロファージに局在していることが明らかになった。次に本NMOモデルラットに抗RGMa抗体を投与したところ、運動機能障害およびアストロサイト障害の抑制作用が認められた。抗RGMa抗体による薬効メカニズムを解明すべく更に詳細な検討を行ったところ、抗RGMa抗体投与群においては、好中球の脊髄内浸潤および、好中球遊走ケモカインであるCXCL1/2の脊髄内遺伝子発現の抑制が認められた。更に、免疫組織染色により、CXCL2はアストロサイト障害部位に集積するマクロファージに主に発現していることが確認された。これらの結果から、脊髄内に浸潤したマクロファージがRGMaシグナルを介して好中球遊走ケモカインの発現を制御している可能性が考えられたため、ラット腹腔より回収したマクロファージ細胞に対してリコンビナントRGMaタンパクを添加したところ、用量依存的なCXCL1/2の遺伝子発現増加が認められ、この発現増加は抗RGMa抗体により顕著に抑制されることが明らかになった。最後に本モデルを用いて疼痛に関する実験を行った。NMO患者においては脊髄障害に起因する慢性的な痛みが高頻度にみられ、一般に難治性であり臨床上の問題となっているが、NMOモデル動物を用いた疼痛研究はほとんど行われていないのが現状である。そこで、本NMOモデルを用いて、ラット足底部のフィラメント刺激に対する疼痛関連行動の測定を行った。その結果、本NMOモデルラットにおいては抗AQP4体投与7日目から顕著な疼痛症状を呈し、少なくとも抗AQP4抗体投与21日後まで疼痛症状が持続していることが明らかになった。抗RGMa抗体の効果について検証すべく、抗AQP4抗体投与によりNMO病態を惹起した翌日から、抗RGMa抗体を週に１回の頻度で反復投与し、抗AQP4抗体投与21日目まで経時的な疼痛評価を行った。その結果、抗RGMa抗体投与群では疼痛症状の遷延化が抑制されていることが明らかになった。また脊髄組織を用いて各種疼痛関連遺伝子の発現変動を解析したところ、NMOモデルでは疼痛関連遺伝子の発現が増加しており、抗RGMa抗体投与群ではその発現が抑制されていることが明らかになった。

〔総　括(Conclusion)〕

本研究成果から、NMOにおいて脊髄組織内に浸潤したマクロファージはRGMaのシグナルを受け取ることで好中球遊走ケモカインを過剰に産生して好中球を呼び寄せ、アストロサイト障害および脊髄炎症を増悪させている可能性が示唆された。また本NMOモデルラットは慢性的な疼痛症状を呈し、神経障害性疼痛モデルとしても有用であることが明らかになった。更に抗RGMa抗体の投与によって脊髄炎症が抑制され、痛みの慢性化が抑制されたことからも、抗RGMa抗体がNMOに対する運動障害のみならず疼痛緩和にも有効である可能性が示唆され、既存の薬剤とは異なったメカニズムからの有効な治療法となることが期待される。

# 論文審査の結果の要旨及び担当者

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| （申請者氏名） | | | 岩本　祥佑 | |
| | （職） | | 氏　　名 | |
| 論文審査担当者 | 主　査 | 大阪大学教授 | 山下俊英 | 署名 |
| | 副　査 | 大阪大学教授 | 河原行郎 | 署名 |
| | 副　査 | 大阪大学教授 | 畠山昌則 | 署名 |

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、軸索再生阻害因子のひとつであるRGMaが視神経脊髄炎におけるアストロサイト障害や運動機能障害および慢性疼痛に寄与することを明らかにした。視神経脊髄炎モデルラットを作製し、病態発症後に抗RGMa抗体を投与することで、脊髄におけるアストロサイト障害や運動機能障害および疼痛症状を緩和出来ることを明らかにした。更にそのメカニズムとしてRGMaシグナルによる好中球遊走制御が重要である可能性を見出した。すなわち、中枢神経内に浸潤したマクロファージがRGMaを介したシグナルを受け取ることで、好中球遊走ケモカインの発現が促され、好中球浸潤およびアストロサイト障害の増悪を来していると考えられた。

本研究は、RGMaが視神経脊髄炎におけるアストロサイト障害に寄与するメカニズムを解明しただけでなく、抗RGMa抗体が運動機能障害や疼痛症状に対しても有効である可能性を明らかにすることで、既存の治療薬とは異なる新しいメカニズムによる視神経脊髄炎の治療法を提案したものであり、学位の授与に値すると考えられる。