The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Humanized Anti-RGMa Antibody Treatment Promotes Repair of Blood-Spinal Cord Barrier Under Autoimmune Encephalomyelitis in Mice
Author(s)	平田, 武史
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92084
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、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

論　文　内　容　の　要　旨
Synopsis of Thesis

氏　名 Name	平田　武史
論文題名 Title	Humanized Anti-RGMa Antibody Treatment Promotes Repair of Blood-Spinal Cord Barrier Under Autoimmune Encephalomyelitis in Mice（ヒト化抗RGMa抗体治療は自己免疫性脳脊髄炎モデルマウスの血液脊髄関門の修復を促進する）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

多発性硬化症（MS）の動的な神経病理学的変化を反映するバイオマーカーが確立されておらず、治験薬の治療効果の判定や、有益な効果を反映する生物学的プロセスの特定が困難である。本研究では、局所的に誘導された実験的自己免疫性脳脊髄炎（EAE）マウスに高磁場MRイメージングを適用し、MSの治療薬となりうるヒト化抗RGMa抗体投与後の経時的な神経病理学的変化を評価した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

局所誘発性EAEモデルマウスの病変部である脊髄の病態変化をMRIにより解析した．MOG_{35-55}で免疫した21日後に，Th8の脊椎直下の脊髄後索に対して，サイトカインを注入することで局所誘発性モデルマウスを作製した．サイトカイン注入後，7，14，21日後の脊髄血液関門（Blood-spinal cord barrier; BSCB）の破綻および白質障害の経時的な解析を行った．解析法には，臨床において脳血液関門（Blood-brain barrier; BBB）の破綻や白質障害の評価に利用されるDynamic contrast-enhanced MRI（DCE-MRI）およびDiffusion tensor imaging（DTI）を用いた．

Gd漏洩はサイトカイン注入後，7-14日で認められるが，21日後には全個体において抑制されていた．DTIによる白質の各パラメータ（FA, AD, RD）の解析では，経時的な白質障害の進行を示す結果が得られた．サイトカイン注入後7, 14, 21日後の各個体について，各MRIパラメータと神経症状スコアの相関解析を行った。脱髄の指標とされるRDと神経症状は有意な相関を示し，慢性期では強い相関を示した．Gd漏洩量は急性期に神経症状と強い相関を示した．時点ごとの神経症状に対する各MRIパラメータを用いた重回帰分析により，サイトカイン注入後7日の急性期では，BSCB破綻の程度が神経症状に強く寄与すること，また，21日後の慢性期では，白質障害が神経症状に強く寄与することを示した．さらに，Gd漏洩量と7日後の白質におけるRD増加の回帰分析は有意な予測性を示し，Gd漏出の程度が後の脱髄に影響することを示した．

次に，BSCB破綻が認められるサイトカイン注入7日後のマウスのGd漏洩量をもとに群分けを行い，抗RGMa抗体による治療効果を検討した．抗RGMa抗体投与後（サイカイン注入14日後）にGd漏洩は顕著に抑制され，抗RGMa抗体が破綻したBSCBの回復を促進することが示された．

これらのことから、抗RGMa抗体の速やかな薬効の作用点として、BSCB修復が考えられた。抗RGMa抗体の破綻したBSCBへの回復作用をさらに検証するため，サイトカイン注入14日後のMicroarrayによる網羅的遺伝子解析ならびに免疫染色による脊髄病態の解析を行った．網羅的な遺伝子解析では，病態モデルにおいてP-selectin, Colla1などのBBB破綻関連分子の活性化が認められ，抗RGMa抗体の投与によりそれらの分子の抑制作用が示された．そこで血管内皮細胞に依ると考えられるそれらの遺伝子変動について，免疫染色による脊髄病理解析により検証を行った。その結果、抗RGMa抗体治療による、CD31陽性血管内皮細胞におけるP-selectinの顕著な発現抑制，血管周囲性のコラーゲンの発現抑制が示された．これらのことから，MRIで認められた抗RGMa抗体による局所誘発性EAEマウスのBSCB破綻に対する回復作用は病的な血管病態の改善に基づく治療効果であると考えられた．

〔総　括(Conclusion)〕

本研究では，局所誘発性EAEモデルマウスの脊髄病態について，白質障害、BSCBの破綻の指標となるMRIパラメータを用いて経時的に評価する手法を構築した．同一個体の経時的な評価により，BSCB破綻の程度は、後の脱髄の強さを予測できること，さらに，抗RGMa抗体のBSCB破綻，白質障害に対する治療効果が経時的・定量的に評価できることを示した．結論として，BBB破綻および白質障害の同時評価が臨床における患者の予後予測および薬剤の治療効果のモニタリングに有用であり，MRIがイメージングバイオマーカーとして活用可能であることを示した．

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）　平田　武史

		（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	豊島靖彦	署名

論文審査の結果の要旨

抗RGMa抗体は、種々の神経疾患モデル動物において、神経保護、軸索伸長、免疫機能、血管障害など様々な生体機能を制御することで、薬理作用を示すことから，ヒトにおける治療効果が期待されている。一方で、神経疾患において、治療効果を客観的に評価可能な指標（バイオマーカー）は少なく、モデル動物とヒトと同じ指標で評価可能な技術は限られている。本研究では、臨床応用可能な核磁気共鳴画像法（Magnetic resonance imaging, MRI）を用いた自己免疫性脊髄炎モデルマウスの脊髄病態の経時的評価により、種々の薬理作用を有する抗RGMa抗体の作用点として、早期の血管障害改善作用が病態改善に重要であることを明らかにした。また，抗RGMa抗体による治療効果がMRIにより評価可能であること、すなわち、MRIのバイオマーカーとしての有用性を示している。これらの成果は，臨床における抗RGMa抗体治療で注目すべき作用点およびその評価方法に有用な知見を提供するものであり，学位の授与に値するものと考えられる。