

論文内容の要旨

申請者氏名 Nor Atiqah Binti Muhamad

一次繊毛は細胞外へ突出した細胞小器官であり、アンテナ様の機能をもつ。ほとんど全ての哺乳動物細胞に存在し、細胞外の刺激を受容することで、細胞周期の進行などを制御するためのシグナルを伝達する重要な役割を担っている。アストロサイトは、中枢神経系の恒常性維持に重要な役割を果たす最も豊富なグリア細胞である。近年、脳内の環境変化に伴いアストロサイトが反応性アストロサイトに変化すること、さらに反応性アストロサイトには炎症性因子を産生し神経細胞にダメージを与える神経障害性 A1 アストロサイトと、逆に虚血時に神経細胞を保護する保護性 A2 アストロサイトの少なくとも 2 種類が存在することが報告された。また、A1 アストロサイトはアルツハイマー病、パーキンソン病など神経変性疾患において増加し慢性炎症との関連が示唆されている。また、神経変性疾患モデルマウスや、繊毛病患者の解析の結果、一次繊毛と神経変性疾患発症の関連が示唆されている。しかし、A1 アストロサイトにおける一次繊毛の機能を解析した報告は見当たらない。

本研究では、A1 アストロサイトにおける一次繊毛の機能を解明するために研究を行った。まず A1 アストロサイトにおける一次繊毛形成を調べるために、出生後 7 日 (P7) マウス大脳皮質由来のアストロサイトを単離した。初代培養アストロサイトを IL-1 α 、TNF- α 、C1q の 3 種類の生理活性物質で刺激し、A1 アストロサイト分化を誘導後、一次繊毛マーカー ARL13B を免疫染色法で検出した。その結果、A1 アストロサイトの一次繊毛の長さが未刺激アストロサイトに比べ有意に伸長していることを見出した。さらに LPS を腹腔投与した炎症モデルマウスにおいてコントロールとして生理食塩水 (PBS) を投与したマウスに比べて、脳内の A1 アストロサイトの数が増加し、かつ一次繊毛の長さも伸長していた。次に A1 アストロサイトの分化と、一次繊毛の伸長の時間的關係性を調べた。A1 アストロサイトマーカーである C3 の発現は 3 種生理活性物質刺激後 6 時間以降で見られるのに対し、一次繊毛の長さは、刺激後 1 時間から伸長し始めることが判明した。この結果より、一次繊毛の伸長に伴い、C3 の発現が誘導されることが示唆された。続いて一次繊毛の形成抑制が C3 発現量に与える影響を検討した。一次繊毛形成に必須の IFT88 を siRNA でノックダウンしたところアストロサイト一次繊毛の形成が減少し、かつ C3 陽性のアストロサイト数が有意に減少したことから、一次繊毛形成が A1 アストロサイトの分化を促進することが示唆された。さらに LPS を腹腔に投与されたマウスは PBS 投与したコントロールマウスに比べて新規物体認知機能が低下していた。これらの結果から LPS 投与により誘導される A1 アストロサイトの増加及び一次繊毛の伸長が神経炎症を促進し、認知機能の低下を招いている可能性が示唆された。

やむを得ない事由[図書出版, 学術雑誌等への掲載, 特許・実用新案出願, 個人情報等の保護, その他 ()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Nor Atiqah Binti Muhamad

神経変性疾患は、脳内の特定の神経細胞群が脱落する疾患の総称であり、例えばアルツハイマー型認知症やパーキンソン病が知られている。アルツハイマー型認知症は加齢に伴い発症数が増加することが知られており、慢性神経炎症との関わりが強く示唆されている。中枢神経系(CNS)における慢性神経炎症には、グリア細胞が関わることも報告されており、その中でも神経障害性A1アストロサイトがCNS損傷や脳卒中などの急性障害によって誘導され、アルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症などの慢性神経変性疾患の病変部でも増加していることが報告された。一次繊毛は不動性の繊毛でありほとんど全ての哺乳動物細胞に存在し、外界からのシグナルを受容するアンテナとして機能している。一次繊毛の機能不全による繊毛病が知られているがアストロサイトにおける一次繊毛の役割はほとんど判っていない。申請者はA1アストロサイトにおける一次繊毛の生理機能を調べることで、神経炎症における一次繊毛の役割を解明することを試みた。まずマウス新生児より調製したアストロサイトを3種類の生理活性物質(IL-1 α 、TNF- α 、C1q)で処理し、A1アストロサイトのマーカータンパク質であるC3の発現を細胞免疫染色法で検証した。同時に一次繊毛の形成率や長さを調べるために一次繊毛のマーカータンパク質であるARL13Bに対する抗体で免疫染色を行った。その結果アストロサイトの一次繊毛の形成率は生理活性物質処理により変化はなかったが、一次繊毛の長さが未処理のアストロサイトに比べて有意に伸長していることを見出した。次に一次繊毛の伸長およびC3の発現の時間経過を詳しく調べたところ、一次繊毛の伸長が生理活性物質処理後1時間から認められるのに対して、C3の発現は処理後6時間が経ってから観察された。さらにLPSを腹腔投与した疑似炎症モデルマウス脳内におけるC3の発現と一次繊毛の長さの検証を行った。その結果、LPS誘発炎症マウスの脳内においてもC3の発現の上昇と一次繊毛の伸長が観察された。これらの結果から炎症時に一次繊毛の長さが長くなり、A1アストロサイトの分化が起こることが明らかとなった。続いて初代培養アストロサイトに一次繊毛形成に必須の*IFT88*をターゲットとしたsiRNAを一過性導入し、一次繊毛形成を抑制した際のC3の発現量を解析した。*IFT88*を発現抑制した細胞群においては、ノンターゲットのsiRNAを導入したコントロール細胞に比べて、C3陽性のアストロサイトの割合が有意に減少していたことから、A1アストロサイト分化における一次繊毛の関与が強く示唆された。以上のように、本論文はA1アストロサイト分化における一次繊毛シグナルの生理的意義を示し、同研究分野に新規の知見を提供するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士(バイオサイエンス)の学位論文として価値あるものと認めた。

やむを得ない事由[図書出版、学術雑誌等への掲載、特許・実用新案出願、個人情報等の保護、その他()]により本要旨を非公表とする。

【※該当する事由に○印をすること】