

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 春木 明代

〔題名〕

NMO sera down-regulate AQP4 in human astrocyte and induce cytotoxicity independent of complement. (NMO 患者血清は補体非依存性にヒトアストロサイト株の AQP4 発現低下と細胞傷害をきたす.)

〔要旨〕

視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica: NMO) は, 抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が補体介在性にアストロサイト (AST) を傷害することが病態の本質とされているが, その詳細な機序は不明である.

我々は, 抗 AQP4 抗体による AST 傷害機序解明を目的として, ヒト primary AST に温度感受性ラージ T 抗原とヒト AQP4 (M23) の cDNA をレトロウイルスを用いて導入し, AQP4 強発現ヒト AST 不死化細胞株 (hAST-AQP4 株) を樹立した. 同細胞株に NMO 患者血清を作用させ, 形態学的変化, 細胞傷害の定量的解析, AQP4 蛋白量の変化を免疫細胞化学的手法を用いて検討した. NMO 患者血清を作用させると AST の足突起が縮小し, AQP4 は AST の細胞質内に顆粒状に集積し, AST 細胞傷害を生じた. 補体を添加すると AST は膨化し, 死滅細胞は増加した. NMO 患者血清により, AQP4 は mRNA レベル, 蛋白レベルで減少し, TNF α , IL-6 の mRNA は増加した. NMO 患者血清と TNF α , IL-6 の中和抗体を同時に作用させると AST の細胞傷害は阻害され, AQP4 蛋白量も正常化した. 抗 AQP4 抗体の補体介在性 AST 傷害以外に, AST 自体が分泌する炎症性サイトカインによる autocrine 作用が AST 傷害をきたす機序の一つである可能性が考えられた. AST とヒト脳微小血管内皮細胞 (Brain microvascular endothelial cell: BMEC) との共培養では, BMEC 側に面した足突起への AQP4 蛋白の局在がみられた.

本細胞を含むヒト BBB 構成細胞株を用いた glio-vascular unit model は, NMO の病態を解明する有力なツールとなりうるとともに, 炎症性サイトカインの産生を抑制することが治療法のひとつになる可能性が考えられた.

学位論文審査の結果の要旨

報告番号	甲 第 1343 号	氏 名	春木 明代
論文審査担当者	主査教授	池田 条 二	
	副査教授	大和田 祐二	
	副査教授	神田 隆	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
NMO sera down-regulate AQP4 in human astrocyte and induce cytotoxicity independent of complement. (NMO 患者血清は補体非依存性にヒトアストロサイト株の AQP4 発現低下と細胞傷害をきたす。)			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。)			
NMO sera down-regulate AQP4 in human astrocyte and induce cytotoxicity independent of complement. (NMO 患者血清は補体非依存性にヒトアストロサイト株の AQP4 発現低下と細胞傷害をきたす。)			
掲載雑誌名 Journal of the neurological sciences. 第 331 巻 第1号 P.136 ~ 144 (2013年8月 <input checked="" type="checkbox"/> 掲載・掲載予定)			
(論文審査の要旨)			
<p>視神経脊髄炎 (Neuromyelitis optica : NMO) は、抗アクアポリン 4 (AQP4) 抗体が補体介在性にアストロサイト (AST) を傷害することが病態の本質とされているが、その詳細な機序は不明である。</p> <p>本論文は、抗 AQP4 抗体による AST 傷害機序解明を目的として、ヒト primary AST に温度感受性ラージ T 抗原とヒト AQP4 (M23) の cDNA をレトロウイルスを用いて導入し、AQP4 強発現ヒト AST 不死化細胞株 (hAST-AQP4 株) を樹立した。同細胞株に NMO 患者血清を作用させ、形態学的変化、細胞傷害の定量的解析、AQP4 蛋白質量の変化を免疫細胞化学的手法を用いて検討した。NMO 患者血清を作用させると AST の足突起が縮小し、AQP4 は AST の細胞質内に顆粒状に集積し、AST 細胞傷害を生じた。補体を添加すると AST は膨化し、死滅細胞は増加した。NMO 患者血清により、AQP4 は mRNA レベル、蛋白レベルで減少し、TNFα、IL-6 の mRNA は増加した。NMO 患者血清と TNFα、IL-6 の中和抗体を同時に作用させると AST の細胞傷害は阻害され、AQP4 蛋白質量も正常化した。抗 AQP4 抗体の補体介在性 AST 傷害以外に、AST 自体が分泌する炎症性サイトカインによる autocrine 作用が AST 傷害をきたす機序の一つである可能性が考えられた。AST とヒト脳微小血管内皮細胞 (Brain microvascular endothelial cell: BMEC) との共培養では、BMEC 側に面した足突起への AQP4 蛋白の局在がみられた。</p> <p>本細胞を含むヒト BBB 構成細胞株を用いた glio-vascular unit model は、NMO の病態を解明する有力なツールとなりうるとともに、炎症性サイトカインの産生を抑制することが治療法のひとつになる可能性が考えられた。</p>			
<p>本論文は、温度感受性 SV40 large T 抗原、AQP4 cDNA を用いて AQP4 強発現ヒト AST 不死化細胞株を樹立し、抗 AQP4 抗体による AST 傷害機序を解析した論文である。NMO 患者血清を用いて AST 傷害をきたす分子メカニズムを詳細に解析した報告は他になく、今後、NMO の病態解明に有用となり得る報告であり、学位論文として価値のあるものと認められた。</p>			