

(様式 3 号)

学 位 論 文 の 要 旨

氏名 松尾 欣哉

〔題名〕 ALS 患者 (*TARDBP*^{N345K/+}) 由来の新規脳微小血管内皮細胞モデルの確立：拡散バリア機能障害と免疫細胞相互作用の研究

〔要旨〕 血液脳関門 (Blood-Brain Barrier: BBB) は、血中の有害分子や免疫細胞の侵入を制限し、中枢神経の恒常性を維持する重要な機能群であり、脳微小血管内皮細胞 (Brain Microvascular Endothelial Cells: BMEC) は主要な構成細胞である。種々の神経変性疾患において、全身の炎症や免疫細胞分画など末梢血液中の変化が神経予後に影響することから、末梢環境と中枢をつなぐ BBB の病態進展への関与が注目されている。筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS) は、根本的な治療法が存在しない代表的な神経変性疾患であり、ヒト剖検脳での BBB 破綻の報告に加えて、動物モデルでは、BBB 破綻が神経変性に先行することが示されているが、ヒト由来の機能解析可能な疾患 BBB モデルがなく BBB 破綻が結果なのか、原因なのかという検証は困難で、その病態機序は解明されていない。本研究では、家族性 ALS 患者 (TAR DNA-binding protein (*TARDBP*)^{N345K/+}変異) 由来のヒト人工多能性幹細胞から BMEC 様細胞を分化させ、ALS 患者由来 BMEC の機能を解析した。ALS 患者由来の BMEC 様細胞では、タイトジャンクションが破綻、小分子の透過性亢進、細胞接着因子の発現亢進、免疫細胞の接着数の増加がみられた。ALS 患者由来 BMEC 様細胞では、*vivo* と同様に *TARDBP* がコードする Transactive response DNA-binding protein 43 が細胞質内に異常局在していた。ただしこれらの異常は遺伝子編集で作成した *TARDBP* 変異 (*TARDBP*^{K263E/K263E}, *TARDBP*^{G295S/G295S}) クローン由来のモデルでは再現されず、遺伝子変異部位や背景遺伝子の差が影響している可能性がある。この結果は BMEC 様細胞単独での培養で観察されており、本患者における BMEC の異常が疾患進行の単なる 2 次的な影響ではないことを示している。また、また、Wnt/ β -カテニンシグナルが低下しており、その活性化薬により BMEC のバリア機能が回復し、VCAM-1 の発現が低下した。本モデルは家族性 ALS 患者の BMEC 異常を再現しており、ALS における BMEC を標的とした治療薬開発に有用なモデルである。

作成要領

1. 要旨は、800 字以内で、1 枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

令和 7 年 2 月 19 日

報告番号	医 博 甲 第 1719 号	氏 名	松尾 欣哉
論文審査担当者	主査教授	朝霧 成孝	
	副査教授	中森 雅之	
	副査教授	宮本 達雄	
学位論文題目名 ALS 患者 (TARDBP ^{N345K/+}) 由来の新規脳微小血管内皮細胞モデルの確立：拡散バリア機能障害と免疫細胞相互作用の研究			
Establishment of a novel amyotrophic lateral sclerosis patient (TARDBP ^{N345K/+})-derived brain microvascular endothelial cell model reveals defective Wnt/ β -catenin signaling: investigating diffusion barrier dysfunction and immune cell interaction (ALS 患者 (TARDBP ^{N345K/+}) 由来の新規脳微小血管内皮細胞モデルの確立：拡散バリア機能障害と免疫細胞相互作用の研究) 掲載雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology. Vol. 12 1357204 (2024 年 8 月 掲載) 著者 (全員を記載) Kinya Matsuo, Jun Nagamatsu, Kazuhiro Nagata, Ryusei Umeda, Takaya Shiota, Satoru Morimoto, Naoki Suzuki, Masashi Aoki, Hideyuki Okano, Masayuki Nakamori, Hideaki Nishihara			
(論文審査の要旨) 血液脳関門 (Blood-Brain Barrier: BBB) は、血中の有害分子や免疫細胞の侵入を制限し、中枢神経の恒常性を維持する重要な機能群であり、脳微小血管内皮細胞 (Brain Microvascular Endothelial Cells: BMEC) は主要な構成細胞である。種々の神経変性疾患において、全身の炎症や免疫細胞分画など末梢血液中の変化が神経予後に影響することから、末梢環境と中枢をつなぐ BBB の病態進展への関与が注目されている。筋萎縮性側索硬化症 (Amyotrophic Lateral Sclerosis: ALS) は、根本的な治療法が存在しない代表的な神経変性疾患であり、ヒト剖検脳での BBB 破綻の報告に加えて、動物モデルでは、BBB 破綻が神経変性に先行することが示されているが、ヒト由来の機能解析可能な疾患 BBB モデルがなく BBB 破綻が結果なのか、原因なのかという検証は困難で、その病態機序は解明されていない。本研究では、家族性 ALS 患者 (TAR DNA-binding protein (TARDBP) N345K/+変異) 由来のヒト人工多能性幹細胞から BMEC 様細胞を分化させ、ALS 患者由来 BMEC の機能を解析した。ALS 患者由来の BMEC 様細胞では、タイトジャンクションが破綻、小分子の透過性亢進、細胞接着因子の発現亢進、免疫細胞の接着数の増加がみられた。ALS 患者由来 BMEC 様細胞では、 <i>vivo</i> と同様に TARDBP がコードする Transactive response DNA-binding protein 43 が細胞質内に異常局在していた。ただしこれらの異常は遺伝子編集で作成した TARDBP 変異 (TARDBP K263E/K263E, TARDBP G295S/G295S) クローン由来のモデルでは再現されず、遺伝子変異部位や背景遺伝子の差が影響している可能性がある。この結果は BMEC 様細胞単独での培養で観察されており、本患者における BMEC の異常が疾患進行の単なる 2 次的な影響ではないことを示している。また、また、Wnt/ β -カテニンシグナルが低下しており、その活性化薬により BMEC のバリア機能が回復し、VCAM-1 の発現が低下した。本モデルは家族性 ALS 患者の BMEC 異常を再現しており、ALS における BMEC を標的とした治療薬開発に有用なモデルである。 上記論文を、学位論文として価値あるものと認めた。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。