

公益財団法人富山第一銀行奨学財団  
理事長 野村 充 殿

助成研究成果概要報告書

|       |                           |      |            |
|-------|---------------------------|------|------------|
| 教育機関名 | ： 富山大学                    | 助成金額 | ： 800 千円   |
| 研究代表者 | ： 奥野のり子                   | 所属   | ： 学術研究部医学系 |
|       |                           | 職位   | ： 助教       |
| 研究題目  | ： 髄膜を標的とした進行型多発性硬化症の治療法確立 |      |            |

研究概要

多発性硬化症(MS)は最も高頻度の脱髄疾患で、特に進行型 MS (PMS) は病態不明かつ予後不良である。PMS では、病変が髄膜直下の脳皮質に分布することが特徴かつ予後不良因子で、病勢への髄膜の関与が指摘される。しかし従来の動物モデルでは脳皮質病変の誘導が困難で、検証は進んでいない。申請者は Nestin 下流で PDGFR $\alpha$  遺伝子をノックアウト(KO)することで、マウス脳皮質に、PMS 類似の持続性髄鞘低形成巣が見出だされることを特定した。これまでの研究では、border-associated macrophage(BAM) と脳髄膜線維芽細胞の相互活性化作用が、同部における持続性炎症に寄与していることを特定してきた。今回の研究では、未だに明らかとされていないこの相互作用の上流の変化について、より根本的な変化を検証した。加えて、この macrophage と線維芽細胞をターゲットとした薬剤投与により皮質下病変が改善するか否かについて検証した。

成果要約

BAM, 線維芽細胞の細胞相互については、以前 CSF1/PDGF-B 回路を中心としたシグナルが重要であることを特定してきた。今回さらに、In silico の解析を加え、KO 由来の線維芽細胞では BAM と線維芽細胞の相互作用に不可欠である二細胞間の接着に重要な Cadherin 11, Integrin subunit  $\alpha 1$  遺伝子の発現が上昇していることを確認し、更に、線維芽細胞における CSF1 の合成に関わる YAP1 の遺伝子発現も誘導されていた。免疫組織学的にも YAP1 の細胞質から核内への移行を確認し、細胞間接着および YAP1 の活性化が二細胞間の相互作用の上流で発生していることを蛋白レベルでも特定した。また同マウスで最も上流で発生する事象と考えられる神経幹細胞の *Pdgfra* KO について検証する目的に *Pdgfra* KO 細胞を用いた neurosphere を培養し、次世代シーケンスを行った。これにより複数のミトコンドリア障害、老化に関する遺伝子の発現増加、一方で幹細胞性や増殖に関する遺伝子の減少が見出された。これらが特定されたことで、今後より治療標的とする部位を詳細に研究することが可能となった。上流の変化とマクロファージの活性化エピソードの間を検証することで、神経変性疾患の背景として近年報告される幹細胞の老化と炎症との関係を明確化できる可能性がある。引き続き検討を行う。また治療実験として、線維芽細胞・BAM のシグナルを阻害するため、髄腔内に CSF1R 阻害薬を投与した。BAM, ミクログリア数は減少したが、アストログリオシス、線維化には変化がなく、全体的な組織の回復には、BAM, 線維芽細胞の相互作用の阻害が部分的に効果的である可能性があるものの、上述のより根本的な原因に対するアプローチを追求していくことが必要と考えられた。

|          |                                                                      |         |     |
|----------|----------------------------------------------------------------------|---------|-----|
| 研究成果発表状況 | 雑誌論文、学会発表、図書、新聞掲載、作成 Web ページ、特許権等の出願・取得状況                            |         |     |
|          | 血管生物学会(最優秀ポスター賞) Acta neuropathologica communications (under review) |         |     |
| 経費の執行状況  | 区 分                                                                  | 執行額(円)  | 備 考 |
|          | 試薬                                                                   | 507,880 |     |
|          | RNA-seq 外部委託費                                                        | 264,000 |     |
|          | 国内旅費                                                                 | 28,120  |     |