

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	高澤 篤之
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Endoplasmic reticulum stress transducer old astrocyte specifically induced substance contributes to astrogliosis after spinal cord injury (小胞体ストレスセンサーOASISは脊髄損傷後のグリオシスに関与する)			
論文審査担当者			
主査	教授	今泉 和則	印
審査委員	教授	服部 登	
審査委員	教授	池上 浩司	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>脊髄損傷では，外力による機械的な損傷の後，炎症などによる二次損傷によって細胞死，脱髄および軸索損傷が拡大するため，二次損傷の制御は脊髄損傷の重要な治療戦略の一つとなっている。近年，この二次損傷に対する小胞体ストレスの関与が注目され始めている。小胞体ストレスは，炎症などによって生じた変性タンパク質が小胞体に蓄積して細胞機能を妨げる。これに対し細胞には小胞体ストレス応答と呼ばれる防御システムが備わっている。小胞体ストレスを感知する小胞体ストレスセンサーがそのシステムの起点として働くことが知られている。小胞体ストレスセンサーの中にはあらゆる細胞に発現するものと，組織特異的な発現分布を示すものがある。小胞体ストレスセンサーの一つであるOASISは胎生期においてアストロサイトに特異的に発現し，グリア形成に関与すると報告されている。そこで本研究では，損傷脊髄におけるOASISの時間的・空間的発現変化を明らかにし，脊髄損傷後のグリオシスとの関連について検討することを目的とした。</p> <p>10週齢のC57BL/6マウスで，IHインパクトを用いて第10胸椎高位の脊髄に70kdynの圧挫損傷を加え脊髄損傷モデルを作製した。損傷後1, 3, 7, 14日において，脊髄損傷部のOASISのmRNA発現をreal-time PCRで，OASISの蛋白発現をWestern blottingで評価した。脊髄損傷後7日目モデルから脊髄損傷部の組織切片を採取し抗CREB3L1抗体を用いたOASIS，抗GFAP抗体を用いたアストロサイトの免疫染色を行い，発現部位を評価した。さらに脊髄損傷後5日目モデルの脊髄損傷部の中枢側と末梢側に33G針を刺入し，OASIS siRNA注入群，scrambled siRNA注入群，針を刺入したのみのcontrol群の3群を作成した。それぞれの群でOASIS mRNA発現をreal-time PCRで，OASISの蛋白発現をWestern blottingで，さらに脊髄損傷7日目と14日目の損傷脊髄を採取しOASISとアストロサイトの発現部位を免疫染色で，後肢運動機能をBasso mouse scale for locomotion(BMS)を用い脊髄損傷後42日まで評価した。</p> <p>OASISのmRNAの発現は，損傷後7日のみで著明な上昇を認めた。免疫染色では，損傷後7日に脊髄損傷中心部のGFAP陰性領域と陽性領域の境界部に一致してOASISの発</p>			

現を認めた。OASIS siRNA 注入群では脊髄損傷 7 日目で有意に OASIS mRNA の発現は抑制され、脊髄損傷 7 日目と 14 日目で OASIS 蛋白の発現は有意に抑制された。OASIS siRNA 注入群の免疫染色において脊髄損傷 7 日目で反応性アストロサイトの発現が乏しく、脊髄損傷 14 日目でのグリオシスが抑制されていた。後肢運動機能評価では OASIS siRNA 注入群は脊髄損傷 42 日目で BMS 回復は有意に低値を示した。

これまでの脊髄損傷における小胞体ストレスの報告は、損傷後早期の細胞死に関するものが多い。本研究で注目した小胞体ストレスセンサー OASIS は、細胞死が終息してグリオシスが盛んとなる時期に発現が上昇しており、グリオシスの最前線で隣接したアストロサイトに特異的に発現していたことから、脊髄損傷後のグリオシスの進展に関与している可能性が考えられた。正常な中枢神経ではアストロサイトはエネルギー供給、血流調整、細胞外液の恒常性維持、シナプスのリモデリング調整などに重要な役割を持つが、損傷した中枢神経ではグリオシスを起こし脊髄損傷の時期に応じて有害にも有益にもなり得る。OASIS の発現を制御することにより、グリオシスの効果を制御することは、脊髄損傷の治療の新しいアプローチとなり得る。

以上の結果から、本論文は小胞体ストレスセンサー OASIS を用いた脊髄損傷後のグリオシスの制御は、脊髄損傷後の機能改善に有用な方法と考えられ、今後、臨床応用できる可能性があり、整形外科領域の発展に資すること大である。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士（医学）の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

最終試験の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（ 医学 ）	氏名	高澤 篤之
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目			
Endoplasmic reticulum stress transducer old astrocyte specifically induced substance contributes to astrogliosis after spinal cord injury (小胞体ストレスセンサーOASISは脊髄損傷後のグリオシスに關与する)			
最終試験担当者			
主 査	教授	今泉 和則	印
審査委員	教授	服部 登	
審査委員	教授	池上 浩司	
〔最終試験の結果の要旨〕			
判 定 合 格			
<p>上記3名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成30年8月2日の第75回広島大学研究科発表会（医学）及び平成30年7月30日の本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. アストロサイトの増殖や遊走の inducer 2. OASIS タンパク質の安定性 3. OASIS のノックダウンがアストログリオシスを抑制する機序 4. OASIS のノックダウンが脊髄機能回復に与えた影響の機序 5. 本研究の臨床応用 <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試験した結果、全員一致していずれも学位を授与するに必要な学識を有するものと認めた。</p>			