

第77回研究所セミナー 抄録

日 時

2016年5月18日(水)

18:00~19:00

場 所

北野病院 5F きたのホール

研究発表

総合司会

研究所副所長 福井 基成

発 表

第5・第6研究部

第5研究部

～ 司会 梶 勇人（第5研究部） ～

演題

中枢及び末梢神経の再生

主任研究員 石川 奈美子（形成外科）

第6研究部

～ 司会 秦 大資（第6研究部部長） ～

演題

インターフェロノパチー；

SLE 類縁疾患における新規責任遺伝子の同定

小田 紘嗣（小児科）

第5研究部

(演題) 中枢及び末梢神経の再生

(演者) 形成外科 石川 奈美子

【はじめに】

末梢神経が損傷されると運動及び知覚機能が失われる。このため臨床では損傷により生じた神経の欠損部が小さい場合には直接縫合が、欠損部が大きい場合自家の知覚神経移植が広く行われてきた。しかし、この方法では採取された神経の支配領域の知覚が犠牲になるという問題があり、採取できる神経の量の限界がある。また、脊髄を損傷すると本人及び家族の生活を一変させてしまうため、われわれはこれまで人工材料を用いた末梢及び中枢再生を研究してきた。

【目的】

末梢神経が損傷すると損傷部の近位では、再生芽はシュワン細胞の基底膜に沿って伸長するが、線維芽細胞が侵入し瘢痕が形成されると再生軸索の伸長が妨げられる。瘢痕の形成を防ぐような材料を用いて損傷部を架橋し軸索を早期に支配領域まで到達させることが重要である。また、神経損傷部位に磁場を生じさせると、軸索再生を促進することが示唆されている。これまでの研究にてラットの脊髄損傷モデルを作成し、骨髄間質細胞を第4脳室經由にて移植し良好な結果を得ている。磁場及び人工材料を用いた末梢及び中枢神経の再生の研究は患者の負担も少なく医の倫理に抵触しないため臨床応用可能な方法と思われるため、臨床応用への第一歩となることを目的とする。

【方法】

1. 4週齢ラットの坐骨神経に7mmの神経欠損部を作成し、ラットの大腿骨より採取した骨髄間質細胞より分化誘導させたシュワン細胞をGFPにてラベルし、人工材料(キトサンゲル)を担体とし欠損部を架橋し移植した。免疫組織染色にて経時的に軸索再生を検討した。術後2カ月及び4カ月にてトルイジンブルー染色にて軸索再生及びミエリンを検討した。
2. 4週齢ラットの坐骨神経と腓骨神経と脛骨神経分岐部に7mmの欠損を作成しアルギン酸ゲルにて欠損部を架橋し再生軸索が腓骨神経及び脛骨神経切断遠位端に伸長するのかを免疫組織染色にて検討した。
3. ヘルムホイットコイルを作成し、同様にラットの脊髄損傷モデル及び坐骨神経欠損モデルを作成し1日4時間磁場をかけ軸索の再生を検討した。周波数と共に波形も変更して観察し同様に経時変化を検討した。

【結果】

1. キトサンゲル移植群では再生軸索は術後 2 週間にて切断遠位端に到達し、GFP にてラベルされた移植シュワン細胞が再生軸索に伴われていることを認めた。2 か月後より 4 か月後のほうが再生軸索の数と直径が増加していることをトルイジンブルー染色にて確認した。
2. 再生軸索は腓骨神経及び脛骨神経切断遠位端に伸長していた。術後 2 カ月のトルイジンブルー染色にて腓骨神経及び脛骨神経の再生軸索を多数認めた。
3. 担体がない状態でも磁場をかけると再生軸索が坐骨神経切断遠位端にまっすぐに伸長していることが観察された。

【考察】

シュワン細胞は神経栄養因子 (NGF、BDGF、NT-3、CNTF、b-FGF) を分泌し、接着因子 (NCAM、L1、N-cadherin、 β -integrin) を発現することで、シュワン細胞が再生軸索伸長に有効であることは広く知られている。アルギン酸ゲル及びキトサンゲルスポンジは、移植されたシュワン細胞の生存および増殖に良好な環境を提供する担体であることが考えられた。また、磁場をかけた実験では、磁場が線維芽細胞を抑制することもしくは成長円蓋に何らかの影響を与えていることが考えられた。

【結語】

骨髄間質細胞や磁場を応用した医療材料の開発につなげ、軸索が早期に支配領域に伸長することで廃用性萎縮を予防し、本来の支配組織に再生軸索が到達することを期待された。

(演題) インターフェロノパチー；SLE 類縁疾患における新規責任遺伝子の同定

(演者) 小児科 小田 紘嗣

【はじめに】

遺伝的な I 型インターフェロン (IFN) の過剰産生に伴い SLE 類似の表現系を呈することから、”インターフェロノパチー”と呼ばれる一群のメンデル遺伝疾患が知られている。インターフェロノパチーの一病型である Aicardi-Goutières 症候群 (AGS) は乳児期早期に発症する遺伝性脳症であり、発達遅滞・頭蓋内石灰化・中枢神経炎症などの神経系の所見に加えて自己抗体産生・低補体血症・凍瘡様皮疹・周期性発熱などの免疫異常を呈する。過去に AGS の責任遺伝子として細胞内核酸代謝に関わる複数の遺伝子が報告されている一方、既報告遺伝子に変異を認めない AGS 患者が同定されていることから、新規責任遺伝子の存在が推定されている。

【目的】

AGS の新規責任遺伝子を同定し、その疾患関連性を証明する

【方法】

既報告遺伝子に変異のない AGS3 家系においてエクソーム解析により責任遺伝子を同定する。患者検体の IFN 関連遺伝子の発現を RT-qPCR で検討する。タンパク質構造解析および変異タンパク質の I 型 IFN 発現誘導能の評価を行う。

【結果】

エクソーム解析にて 3 家系に MDA5 (遺伝子名; *IFIH1*) の新規発症のヘテロミスセンス変異を同定した (L372F, A452T, R779H)。末梢血単核球における IFN 関連遺伝子群の発現は患者において有意に上昇していた。MDA5-二本鎖 RNA (dsRNA) 複合体の構造解析の結果、変異は MDA5-dsRNA 間の結合能を変化させることで疾患原性を生じさせている可能性が示唆された。変異 MDA5 の培養細胞への強制発現により下流の *IFNB1* 遺伝子の転写活性上昇を認めた。

【考察】

MDA5 は細胞質における dsRNA の受容体であり、dsRNA との複合体形成により下流の I 型 IFN の転写を誘導することが知られている。本研究の結果 AGS 患者に認めた 3 変異は機能獲得変異であることが示唆された。過去にゲノムワイド関連解析によるヒト SLE と *IFIH1* 変異の関連性 (Gateva, 2009)、および SLE 腎症モデルマウスにおける *Ifih1* 変異 (Funabiki, 2014) が報告されており、これらは我々の検討結果と合致するものと考えた。

【結語】

AGS の新規責任遺伝子として *IFIH1* を同定した。

～ メモ ～

今後の研究所セミナー等の予定

7月16日(土) 第91回学術講演会・第15回研究所研究発表会

特別講演、研究部研究発表、
優秀論文表彰、最優秀論文受章者記念講演

9月21日(水) 第78回研究所セミナー

第7研究部 (生体画像・医療機器学研究部門)
第8研究部 (予防・医療疫学・検査医学研究部門)

11月16日(水) 第79回研究所セミナー

第9研究部 (薬学・生理学研究部門)
第10研究部 (看護学研究部門)

主催 (財) 田附興風会医学研究所北野病院研究所運営委員会