

カテプシンE過剰発現ではN-カドヘリンの分解によってP19胚性奇形癌細胞の神経分化が抑制される

原田, ゆか

<https://hdl.handle.net/2324/2236144>

出版情報 : Kyushu University, 2018, 博士 (歯学) , 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (3)

氏名：原田 ゆか

論文名：カテプシンE過剰発現ではN-カドヘリンの分解によってP19胚性奇形癌細胞の神経分化が抑制される

区分：甲

論文内容の要旨

カテプシン E (CatE) はアスパラギン酸プロテアーゼの一種であり、胃細胞のような限られた種類の細胞に発現する。正常な脳では CatE の発現は認められないが、障害を受けた病的な状況ではニューロンや活性化したミクログリアに発現する。CatE の増加はミクログリアやニューロンに病的変化をもたらすが、この細胞内メカニズムおよび詳細な変化は明らかにされていない。

本研究では、マウス胚性腫瘍細胞由来の一種の幹細胞である P19 細胞に CatE を過剰発現させることで、ニューロンでの CatE 増加が引き起こす現象を解析した。その結果、CatE は P19 細胞が神経細胞へと分化する過程での細胞塊形成を阻害した。一方で、アスパラギン酸プロテアーゼ阻害剤であるペプスタチン A により CatE を阻害することで、P19 細胞の凝集が起こることが分かった。CatE は神経細胞表面に発現する細胞接着因子である N-カドヘリンの細胞外ドメインを切断していた。これらの結果から、CatE は P19 細胞の N-カドヘリンを分解することで細胞凝集を阻害し、神経分化を阻害していることが示唆された。

また、ミクログリアに対する CatE の影響も検討した。自己免疫疾患の一種である多発性硬化症の動物モデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎(Experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)でミクログリアの活性化が報告されていることから、CatE 欠損マウスを用いて、EAE に対する CatE の機能解析を試みた。野生型マウスでは EAE 誘導後約 10 日で運動機能障害を発症するのだが、運動機能障害に先行した急激な疼痛閾値の低下が EAE 誘導約 4 日後から認められた。一方で、CatE 欠損マウスでは EAE 誘導により生じる疼痛閾値の低下は抑制された。脊髄ミクログリア活性化に伴う CatE の誘導が疼痛閾値の低下に関与する可能性を考え、野生型と CatE 欠損マウスで疼痛閾値に有意な差が認められた EAE 誘導 5 日目に脊髄で免疫蛍光染色を行ったところ、予想と異なりいずれのマウスでもミクログリア活性化は認められなかった。また、EAE 発症に深く関わる CD4 陽性 T 細胞の脊髄への浸潤も認められなかった。一次求心性神経の神経節である L4 脊髄後根神経節(dorsal root ganglion, DRG)を解析したところ、EAE 誘導初期において DRG に好中球が集積すること、そして集積した好中球で CatE が発現することが分かった。そこで、EAE 抗原のエピトープである MOG₃₅₋₅₅ で刺激した野生型の好中球を正常マウスの DRG に移植すると疼痛が生じ、これは好中球の CatE に依存的であった。この際に CatE 依存的に好中球エラスターゼの分泌が生じており、好中球エラスターゼの選択的阻害薬であるシベレスタットが MOG₃₅₋₅₅ で刺激した好中球の養子免疫により生じる機械的アロディニアを抑制することが分かった。

以上のことから病態において CatE 発現量が増加することで神経分化や疼痛閾値の低下へ悪影響を及ぼすことが示唆された。