

氏 名 石 橋 智 子

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第616号

学位授与の日付 平成14年3月22日

学位授与の要件 生命科学研究科 生理科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 Molecular compositions of myelin that restrict  
localization of axonal proteins to the nodal region  
in myelinated fibers

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 井本 敬二  
教授 伊佐 正  
教授 重本 隆一  
教授 池中 一裕  
教授 渡邊 雅彦（北海道大学）

## 論文内容の要旨

脊椎動物の有髄神経軸索は、中枢神経系ではオリゴデンドロサイト、末梢神経系ではシュワン細胞が形成するミエリン膜に覆われている。神経の活動電位はミエリンに覆われていないランビエの絞輪 (node) から node へと伝わる跳躍伝導により、効率的かつ迅速に伝導する。ミエリンが形成されると軸索上には node、軸索とミエリンが直接接する paranode、juxtaparanode、およびミエリンに完全に覆われる internode、という明らかに構造の異なる4つのドメインが形成される。活動電位発生に関わる電位依存性 Na<sup>+</sup>および K<sup>+</sup>チャンネルは、無髄軸索上では均一に分布するのに対して、有髄軸索上ではそれぞれ node あるいは juxtaparanode に特徴的に局在化することから、軸索上のこれらのドメインが機能的にも異なることが知られている。しかし、ミエリン膜がどのような機序で軸索ドメイン形成を引き起こすのか詳細は明らかではなく、またグリアとニューロンの相互作用を理解する上で重要な paranodal junction の形成機構も依然不明である。彼らは上記の疑問を解明する目的で、正常および様々なミエリン形成異常マウスにおける軸索上のドメイン形成を解析した。

その結果、ミエリン膜の重要性はドメインによってそれぞれ異なることが明らかとなった。Na<sup>+</sup>チャンネルの存在する node の初期形成にはミエリン膜は必要なくオリゴデンドロサイトの存在が不可欠であること、しかし node の成熟化にはミエリン膜が必要であることが分かった。一方 K<sup>+</sup>チャンネルが局在しているドメインを形成するにはコンパクトミエリンが必須であること、その局在化部位の決定にはコンパクトミエリンおよび paranodal junction が重要であることが明らかになった。さらに一旦形成されたドメイン構造が脱髄後に消失することより、ミエリン膜は軸索ドメインの初期形成のみならず維持にも必要であることが分かった。

現在 paranode に局在し junction 形成に関与している細胞接着分子として軸索側では contactin、contactin-associated protein (Caspr)、ミエリン側では neurofascin155 (NF155) が既に同定されている。しかし、これら軸索およびミエリン側の分子が直接結合している証拠はなく、junction 形成に関与している他の分子の存在が推測された。そこでミエリン側の junction 形成に関与する分子を解明するためにさらに研究を進めた結果、ミエリンの主要糖脂質の一つであるスルファチドおよびミエリン最外層に存在する4回膜貫通蛋白 CD9 の欠損マウスが、ともに junction 形成異常を呈すること、そして CD9 は paranode にも局在していることを見出した。さらにどちらの欠損マウスにおいても NF155 の局在異常が認められた。これらのことよりスルファチドおよび CD9 は NF155 など junction 形成に関わるミエリン分子を paranode に運ぶ重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

## 論文の審査結果の要旨

本研究は、有髄神経軸索のドメイン形成におけるミエリン膜の役割を検討したものである。

有髄神経軸索はグリア細胞が形成するミエリン膜により覆われている。神経の活動電位はミエリンに覆われていないランビエ絞輪 (node) から node へと伝わる跳躍伝導により、迅速かつ効率的に伝導する。ミエリンが形成されると軸索上には node、軸索とミエリンが直接接する paranode、juxtaparanode、およびミエリンに完全に覆われる internode、という明らかに構造の異なる4つのドメインが形成される。活動電位発生に関わる電位依存性  $\text{Na}^+$  および  $\text{K}^+$  チャネルは、無髄軸索上では均一に分布するのに対して、有髄軸索上ではそれぞれ node と juxtaparanode に特徴的に局在化することから、軸索のこれらのドメインが機能的にも異なることが知られている。しかしミエリン膜がいかに軸索ドメイン形成を引き起こすのかに関して詳細は明らかとなっていない。本研究では、正常および様々なミエリン形成異常マウスにおける軸索上のドメイン形成を主に形態学的に解析した。

本研究の結果、 $\text{Na}^+$  チャネルの存在する node の初期形成には、グリアの存在が不可欠であるがミエリン形成の必要はなく、node の成熟化にはミエリン形成の完了することが必要であることが示された。一方  $\text{K}^+$  チャネルが局在するドメインを形成するにはコンパクトミエリンが必須であり、局在化部位の決定にはコンパクトミエリンおよび paranodal junction が重要であることが明らかになった。さらに一旦形成されたドメイン構造が脱髄後に消失することから、ミエリン膜は軸索ドメインの初期形成のみならず維持にも必要であることがわかった。

paranode に局在し軸索とミエリンの junction 形成に関与する細胞接着分子として、軸索側では contactin、contactin-associated protein (Caspr)、ミエリン側では neurofascin155 (NF155) が既に同定されている。しかしこれらの分子が直接互いに結合している証拠はなく、他の分子の存在が推測された。junction 形成に関与するミエリン側の分子の探索を進めた結果、ミエリンの主要糖脂質の一つであるスルファチドおよびミエリン最外層に存在する4回膜貫通蛋白 CD9 の欠損マウスが、ともに junction 形成異常を呈すること、そして CD9 は paranode に局在していることを見出した。さらにいずれの欠損マウスにおいても NF155 の局在異常が認められた。これらの結果は、スルファチドおよび CD9 が、NF155 など junction 形成に関わる分子の paranode への輸送で重要な役割を果たしていることを示唆する。

本論文は遺伝子改変マウスの有髄神経軸索における  $\text{Na}^+$  チャネル、 $\text{K}^+$  チャネル、Caspr などの分布を検討することにより、ミエリン膜が軸索のドメイン形成において果たす役割を明らかにしたものであり、グリアと神経細胞の相互作用の理解に貢献するところが大きい。またスルファチドおよび CD9 のドメイン形成における役割を見出した点においても高く評価される。よって申請者の論文は学位論文として十分ふさわしい内容であるものと審査委員会で一致して判定した。

学位論文として提出された研究結果について説明した後、審査委員が研究の内容および周辺の知識について試問を行った。その結果、研究内容の把握、位置付け、結果の考察、基礎知識ともに、博士号を授与するに十分なレベルにあると判断された。また、本論文は平易な英語で書かれており、また論文の一部は英文学術誌に掲載が予定されていることから、申請者の語学能力は十分であると判断された。以上、総合的に判断し学位を取得するに足る水準に達しているものと判断した。