

氏 名 松 本 路 生

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第784号

学位授与の日付 平成16年3月24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 Glial cell activation and re-expression of
putative myelinating inhibitors in the brain
of mouse model for demyelinating disease

論 文 審 査 委 員 主 査 教授 川口 泰雄
教授 池中 一裕
教授 柿木 隆介
教授 馬場 広子 (東京薬科大学)

論文内容の要旨

Overexpression of the proteolipid protein (PLP) gene, which is the major component of central nervous system myelin, causes unique demyelinating disorder in mice (*Plp*^{-/-} mouse). In this transgenic animal model, normal-appearing myelin is formed at an early stage of their life and late-onset chronic demyelination occurs after several months. He aimed to understand the molecular mechanisms underlying this neuropathology. He first demonstrated that remyelination is severely affected in the aged *Plp*^{-/-} mouse. This was not caused by the deprivation of oligodendrocyte progenitors, expressing Olig1, Olig2 and Sox10, because they were present at a higher number in the central nervous system of mutant mice than in the wild type control throughout their lives. These suggested that oligodendrocyte progenitors cannot differentiate or mature due to a change in the microenvironment. He then searched for factors inhibiting oligodendrocyte development. He observed up-regulation of PSA-NCAM and cystatin C expression, both of which have been reported to be inhibitory for oligodendrocyte development and are produced by non-oligodendroglial cells. Thus he investigated the change in the number and properties of astrocytes and microglia. Glial activation was observed much earlier than the active demyelinating period. These data imply that not only cell intrinsic mechanisms but also extrinsic mechanisms contribute to the defect in re-myelination in the PLP overexpressing brain. During demyelination, resident microglial cells and astrocytes become activated, astrogliosis occurs, and these cells may change the environment to that inhibitory for oligodendrocyte differentiation/maturation.

論文の審査結果の要旨

グリア細胞のひとつであるオリゴデンドロサイトは、中枢神経系で軸索周囲にミエリンを作り神経線維の伝導速度を上げる。ミエリンの主要な構成蛋白である proteolipid protein (PLP)の異常産生は、ヒトでミエリン形成異常による脱髄性疾患を引き起こす。PLP を過剰に発現したマウスでも脱髄がみられ、過剰発現の程度に依存した症状がみられる。PLP 遺伝子を余分に導入しその蛋白質を30%多く発現した変異マウスでは、髄鞘形成は生後3ヶ月までは正常に起こるが、その後ミエリン変性が始まり生後7ヶ月までに脱髄化してしまう。従って、このマウスは遅発性脱髄化を調べるのに有用なモデル動物になるが、脱髄過程の分子メカニズムはあまり調べられていない。特に、発達期には髄鞘が正常に作られるのに、何故後期には脱髄がおこりミエリンが再形成されないのかは全くわかっていない。本研究では、このミエリン再形成ができないメカニズムを明らかにするために、他のタイプのグリア細胞の変化やオリゴデンドロサイトの分化を抑制する因子の発現様式を検討した。

この変異マウスでは、化学的マーカーで同定したオリゴデンドロサイト前駆細胞が、野生型より多く存在していた。また、正常マウスの前駆細胞を移植してもオリゴデンドロサイトには分化せずに、多くのものがアストロサイトに分化した。従ってミエリン再形成が起きないのは前駆細胞の消失によるのではなく、その分化・成熟が抑えられていると考えられた。そこで、オリゴデンドロサイトの分化を阻害する因子である、PSA-NCAM (polysialic acid-neural cell adhesion molecules) と cystatin C (cysteine ptotease inhibitor)の発現を発達を追って調べたところ、どちらの産生も野生型に比べて上昇していた。PSA-NCAM、cystatin C ともにアストロサイトで作られるが、アストロサイトの形態は大きくなっており、その数も増えていた。ミクログリアにおいても、その活性化で発現する物質を指標としてみると、変異型では活性化されたものが増えていた。アストロサイト・ミクログリアの変化は、脱髄が起きる前から観察された。これらから、他のグリア細胞や、それらが出す抑制因子がオリゴデンドロサイトの分化を妨げていることが考えられた。

以上、本論文は脱髄疾患のモデル動物においてその遅発性髄鞘形成不全の原因がオリゴデンドロサイトの内在的異常だけではなく、グリア細胞由来の分化抑制因子が関与していることを示唆した。この論文は脱髄疾患の病態を考える上で有用な知見を含んでおり、学位論文として十分ふさわしいものであると審査委員会は判断した。

学位論文の内容説明の後、作業仮説の妥当性、実験結果の解釈、ヒト疾患との関連などについて質疑応答がなされたが、申請者は的確に説明した。学位論文は明快な英語で論理的に書かれており、英語で論文を発表する能力も十分あるものと判断された。以上の結果から、申請者は学位を取得する水準に達しているものと審査委員会は判定した。