

| | |
|--------------|---|
| Title | Studies on gene expression of myelin basic protein and proteolipid protein during development of mice |
| Author(s) | 塩田, 千代 |
| Citation | 大阪大学, 1989, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/37074 |
| rights | |
| Note | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。 |

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【5】

| | | | | | |
|---------|--|-------|----|----|-------|
| 氏名・(本籍) | しお 塩 | た | ち | よ | 代 |
| 学位の種類 | 理 | 学 | 博 | 士 | |
| 学位記番号 | 第 | 8912 | 号 | | |
| 学位授与の日付 | 平成元年12月18日 | | | | |
| 学位授与の要件 | 理学研究科 生物化学専攻 学位規則第5条第1項該当 | | | | |
| 学位論文題目 | Studies on gene expression of myelin basic protein and proteo- lipid protein during development of mice (マウス発育過程におけるミエリン塩基性蛋白質およびプロテオリピ ド蛋白質遺伝子の発現に関する研究) | | | | |
| 論文審査委員 | (主査) 教授 | 御子柴克彦 | | | |
| | (副査) 教授 | 中川 | 八郎 | 教授 | 田川 邦夫 |

論文内容の要旨

ミエリン塩基性蛋白質 (MBP) とプロテオリピド蛋白質 (PLP) はともに中枢神経系のミエリンの主要構成成分である。マウスのミエリン形成過程におけるこれら両蛋白質の遺伝子発現を生化学及び組織化学的手法を用いて解析し、ミエリン形成の機構について考察を行った。本論文は以下の3部から構成される。

第1部 マウス正常発育過程におけるMBP及びPLP遺伝子の発現を *in situ* hybridization 法及び免疫組織化学によって解析した。いずれの mRNA も、発育にともなって順次脳の後方から前方へと発現し、各部における発現量の増加が18ないし30日目まで認められた。PLP mRNA はオリゴデンドロサイトの核周辺部に分布するのに対しMBP mRNA は神経線維に沿って認められた。MBP, PLP は mRNA 発現直後から神経線維に沿って検出された。一方、培養オリゴデンドロサイトではMBP mRNA はまず細胞体に発現が認められ、ついで細胞突起にも分布するようになった。しかし、突起から伸展する膜状構造物には認められなかった。PLP mRNA はMBP mRNA より遅れて細胞体に発現が認められ、その後一貫して細胞体に局在した。蛋白質はいずれも膜状構造物にも検出された。以上の結果と従来からの報告からPLPは核周辺の膜結合型ポリゾームで合成され細胞突起を経てミエリン膜に移行するのに対し、MBPはミエリン膜に接近する細胞突起内の遊離のポリゾーム上で合成されることが強く示唆された。

第2部 reverse transcription と polymerase chain reaction を組み合わせることにより個々の培養オリゴデンドロサイトに発現しているMBP mRNAの解析を可能にした。解析の結果いずれの細胞にも alternative splicing による4種のMBP mRNAが発現していることを明らかにした。

第3部 ミエリン形成不全の突然変異マウスにおけるPLP, MBP両遺伝子の発現を解析した。MBPを欠失する shiverer マウスでは、PLPの減少および細胞体での異常な貯留が認められた。MBPの欠失でミエリン膜の伸展が不十分となり、PLPのミエリンへの移行が遅延していると考えられた。一方、PLP遺伝子に変異のある jimpy マウスでは、PLP mRNAは著減しているがPLP遺伝子の転写活性の低下は顕著ではなく未熟なオリゴデンドロサイトあるいは他の細胞でPLP遺伝子が転写されている可能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

本論文は神経機能の発現に重要なミエリンの主要構成蛋白質であるミエリン塩基性蛋白質 (MBP) とプロテオリピド蛋白質 (PLP) の遺伝子発現をマウスの発育過程を追って解析している。

まずマウスの正常発育過程における両蛋白質遺伝子の発現を *in situ* ハイブリダイゼーション法により mRNA レベルで、さらに免疫組織化学により蛋白質レベルで解析しており、発育にともなって脳後方から前方へと両遺伝子が順次発現されてゆくことを明らかにした。また、ミエリン形成細胞であるオリゴデンドロサイトで、PLP mRNAは従来の遺伝子発現にみられるように細胞体にみられたのに対し、MBP mRNAは細胞突起およびミエリン周囲に存在することを明らかにした。同じミエリン蛋白質でありながら、mRNAの種類によって細胞内局在に違いのあることを実証したことは重要な成果である。

次に、1個のオリゴデンドロサイトに由来するMBP mRNAを、逆転写及び polymerase chain reaction の2種の酵素反応を組み合わせる系を開発し、いずれのオリゴデンドロサイトも4種のMBP isoform を発現していることを明らかにした。この従来困難とされていた細胞単位での遺伝子発現を解析する実験系の確立は非常に意義がある。

最後にMBP, PLP遺伝子に異常がありミエリン形成不全を呈する突然変異マウスを用い解析を進めた結果、MBPが欠損している場合、PLP遺伝子の転写は正常であってもPLPはミエリン膜への移行の過程で障害を受けることを明らかにした。さらにPLP遺伝子に変異のある突然変異マウスではPLP mRNA陽性細胞の激減にもかかわらずPLP遺伝子の転写活性は正常であることを明らかにし、幼若オリゴデンドロサイトあるいは他の細胞でPLP遺伝子が転写され、PLP遺伝子がミエリン構成蛋白質だけではなく別の機能をもった蛋白質をコードしている可能性を示唆した。これらの結果は今後のミエリン形成機構の解明の研究に重要な知見を提供している。

以上、本論文は、理学博士の学位論文として十分価値あるものと認める。