

Title	Molecular biological studies on a differentiation factor of CNS myelin-forming cell
Author(s)	山田, 真久
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/39048
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏 名	やま だ まさ ひさ 山 田 真 久
博士の専攻分野の名称	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	第 1 1 5 3 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 6 年 9 月 2 6 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科 生物化学専攻
学 位 論 文 名	Molecular biological studies on a differentiation factor of CNS myelin-forming cell (中枢ミエリン形成細胞分化因子の分子生物学的解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 畠 中 寛 (副査) 教 授 二 井 将 光 教 授 吉 川 和 明 岡崎国立研究機構教授 池 中 一 裕

論 文 内 容 の 要 旨

神経細胞やグリア系の細胞は神経管由来の一層の細胞群から発生する。この神経系の形態形成は様々な液性因子によって制御されている。中枢神経系でミエリンを形成するオリゴデンドロサイトの発生過程においても様々な液性因子が関与している事が知られている。

ミエリンプロテオリピド蛋白質 (PLP) は哺乳類中枢神経系のミエリン形成細胞の主要な構成成分であり、PLP 遺伝子は PLP 分子とオルターナティブスプライシング産物である DM-20 分子をコードしている。従来 PLP はミエリン膜の安定化に寄与していると考えられてきた。しかし、PLP 遺伝子に突然変異を持つミュータントマウス (例えば、ジンピーマウス) においては、ミエリン形成期以前にミエリン形成細胞であるオリゴデンドロサイト (OL) が幼弱なまま細胞死に至ること、また、ミエリン形成期以前の胎生期マウス脳においてすでに DM-20 mRNA が検出されることなどから、PLP 遺伝子産物は単なる膜蛋白質として機能しているだけではなく発生段階のミエリン形成細胞の分化、生存維持に深く関与していることが示唆された。更に、DM-20 mRNA を産生している BI04 細胞の培養上清には、OL の前駆細胞である O-2A 細胞を増殖させる液性因子が放出されることが報告されたので、私は PLP 遺伝子発現が OL 数の増殖を促進する液性因子を放出させる事に直接関係があるのではないかと考え実験を行った。

DM-20 mRNA を産生している神経系の培養細胞である G26 や BI6 の培養上清をマウス大脳皮質初代培養系に添加したところ OL 数の増加が認められた。しかし、DM-20 mRNA を産生していない NIH3T3 細胞にはこの活性が認められないことを明らかにした。更に、DM-20 産生と OL 増殖活性の因果関係を解析するために NIH3T3 細胞に DM-20 または PLP cDNA をレトロウイルスベクターを用いて導入した形質転換細胞を作出した。

それらに培養上清を同様に初代培養系に形質転換細胞の培養上清には培養上清を添加した結果、PLP 形質転換細胞、DM-20 形質転換細胞の培養上清にはいずれの場合も OL 数を増加させる因子が含まれている事を明らかにした。即ち、非神経系の細胞である NIH3T3 細胞に PLP 遺伝子を発現させただけで、OL 細胞を増加させる液性因子を放出することが明らかになった。更に、この増加活性は抗 PLP 抗体によって中和された。又、O-2A 細胞を増殖させる液性因子を放出している BI04 細胞の上清中の活性は、抗 PLP 抗体によって有意に抑制された。このことより、PLP 分子自身

が直接OL増殖促進因子として作用している事が考えられた。そこで精製PLPを培養系に添加したところ、10pg/ml精製PLPという大変低い濃度でOL数の増加活性を示した。この結果から、PLP遺伝子が発現するとPLP/DM-20はミエリン膜に輸送されるだけでなく、液性因子としてPLP/DM-20自身がOLの前駆細胞を増殖させている事を明らかにした。

論文審査の結果の要旨

本研究は、中枢神経系ミエリン形成細胞であるオリゴデンドロサイト (OL) の主要な蛋白質であるミエリンプロテオリピド (PLP) の脳機能へ果たす役割を、PLP自身が液性因子として、OLの前駆細胞を増殖させていることを、遺伝子・蛋白質・細胞の各レベルで詳細に機能解析したものである。博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。