



|              |                                                                                                                                                                                                          |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Morphometric Analysis of the Myelin-Associated Oligodendrocytic Basic Protein-Deficient Mouse Reveals a possible Role for Myelin-Associated Oligodendrocytic Basic Protein in Regulating Axonal Diameter |
| Author(s)    | 貞廣, 茂樹                                                                                                                                                                                                   |
| Citation     | 大阪大学, 2000, 博士論文                                                                                                                                                                                         |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                          |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/42556">https://hdl.handle.net/11094/42556</a>                                                                                                                      |
| 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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。    |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                                                                                     |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名           | さだ 貞 ひろ 廣 しげ 茂 樹                                                                                                                                                                                                                                    |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                                           |
| 学 位 記 番 号     | 第 1 5 6 4 7 号                                                                                                                                                                                                                                       |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 12 年 6 月 30 日                                                                                                                                                                                                                                   |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科内科系専攻                                                                                                                                                                                                                         |
| 学 位 論 文 名     | MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE MYELIN-ASSOCIATED OLIGODENDROCYTIC BASIC PROTEIN-DEFICIENT MOUSE REVEALS A POSSIBLE ROLE FOR MYELIN-ASSOCIATED OLIGODENDROCYTIC BASIC PROTEIN IN REGULATING AXONAL DIAMETER<br>(ミエリンオリゴデンドロサイト塩基性蛋白 MOBP は軸索径の調節に関与する) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 佐古田三郎<br><br>(副査)<br>教 授 内山 安男 教 授 祖父江憲治                                                                                                                                                                                                |

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### <目的>

ミエリンオリゴデンドロサイト塩基性蛋白 (MOBP) は中枢神経髄鞘に特異的に発現する蛋白として当教室での遺伝子が cloning された (Yamamoto Y. et al. *J. Biol. Chem.* 269, 1994)。本研究ではこの蛋白の機能の解明をめざして MOBP ノックアウトマウスを用いた幾何学的なアプローチを試みた。

#### <方法ならびに成績>

既知の髄鞘塩基性蛋白であるミエリン塩基性蛋白 (MBP) が髄鞘層構造の compaction に関係することから MOBP にも同様な機能が予想された。髄鞘の層構造は正確に同じ周期で何層も繰り返すことを利用して、マウスの視神経に対して X 線回折技術を適用した。X 線源には高輝度光実験施設 (兵庫県佐用郡) のシンクロトロン軌道放射を使った。その結果、予想に反して MOBP ノックアウトマウスの層周期は正常周期と同じであることが判った。これにより MOBP が髄鞘層構造の compaction に寄与するとしても、少なくとも通常の条件下では周期に影響を及ぼさないと考えられた。

次に、軸索を含めた中枢神経の構成に MOBP が与える影響を調べるため、マウス視神経断面の電顕写真を用いた定量的な評価を行った。すなわち、モルフォメトリーにより軸索断面積を求め、それを基に軸索径を計算した。また、高倍率の電顕写真から直接髄鞘層数を数えた。その結果、MOBP ノックアウトマウスの軸索径及び髄鞘層数はいずれも正常に比べて有意に増加していることが判った。さらに軸索径と髄鞘層数の関係を調べたところ、両者の間に比例関係が認められ、しかも MOBP ノックアウトマウスにおける回帰直線は正常コントロールのそれと変わらないことが、統計的に証明された。一般に軸索径の成長と髄鞘の形成との間には比例関係があり、軸索径の成長が原因となって髄鞘層数の増加をもたらすということがいわれている (Friede R. L. *J. Comp. Neurol.* 144, 1972)。上記の結果は、MOBP ノックアウトマウスにおいても軸索径と髄鞘層数の間の univesal な関係は保たれていることを示しており、このことから MOBP の欠損による真の変化は軸索径の増大であって、髄鞘層数の増加はそれに伴う二次的なものであることが推測される。すなわち『MOBP は軸索の成長を遅らせる』ということが考えられた。この仮説を裏付けるため MBP 欠損ミュータントである *shiverer* と MOBP ノックアウトマウスを交配させることにより MBP/MOBP ダブルノックアウトマウスを作製し、*shiverer* と比較した。ダブルノックアウトマウスは一見したところ *shiverer* と変わるところはなく、寿命も *shiverer* と同じであった。ダブルノックアウトマウス及び *shiverer* の中枢神経では髄鞘

化が十分でなく、少数の不完全な髄鞘に包まれた軸索 (ensheathed fiber) がみられるのみで残りはすべて無髄であった。モルフォメトリーの結果、ダブルノックアウトマウスにおける ensheathed fiber の軸索径は *shiverer* のそれに比べて有意に大きく、無髄軸索径には有意差がなかった。このことは『MOBP は軸索の成長を遅らせる』という上の仮説を支持すると考えられる。さらに軸索断面の形状が真円からどれだけずれているかを表わす指数 (form factor) を導入し同様の比較を行ったところ、ダブルノックアウトマウスの軸索形状の方が *shiverer* のそれよりも有意にいびつであることも判った。これは MOBP が軸索形状の安定化にかかわっていることを示唆する。

#### <総括>

中枢神経髄鞘に特異的に発現する蛋白として発見された MOBP の機能を調べるためモルフォメトリーによる解析を行った。その結果、『MOBP は軸索の成長を遅らせ、軸索形状を安定化させる』と考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

本研究は中枢神経髄鞘に特異的に発現しているミエリンオリゴデンドロサイト塩基性蛋白 (MOBP) の機能を明らかにするため、ノックアウトマウスを用いた解析を幾何学的手法を取り入れて行ったものである。解析の結果、MOBP は軸索径の成長を遅らせる因子のひとつであることが判明した。これは髄鞘の蛋白質である MOBP が、何らかの手段で軸索構成分子に影響を与えていることを示唆しており、ミクロな分子間相互作用が軸索径というマクロな量の変化としてとらえられたという意味で貴重な観察である。髄鞘蛋白と軸索径の関係については PLP, MBP 等の欠損による軸索径の変化が調べられており、ニューロフィラメント、マイクロチューブルといった細胞骨格を介した相互作用がその機序として想定されている。したがって本研究は手法および生理学的意義の両面で医学生物学の進歩に貢献すると考えられ、博士 (医学) の学位授与に値する。