

論文内容要旨

Deficiency of MicroRNA-23-27-24 Clusters Exhibits the
Impairment of Myelination in the Central Nervous System
(マイクロ RNA-23-27-24 クラスターの欠失は中枢神
経系の髄鞘形成を障害する)

Neural Plasticity, vol. 2023, Article ID 8938674.

主指導教員：安達 伸生教授

(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：亀井 直輔准教授

(医系科学研究科 整形外科学)

土川雄司

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

【はじめに】

脊髄再生メカニズムとして軸索の再髄鞘化が重要視されており、治療開発において、中枢神経の髄鞘化メカニズムの解明が必要不可欠である。マイクロ RNA(miR)は様々な生体反応を制御するが、miR-23 や miR-27a を含むいくつかのマイクロ RNA (miRNA) は、中枢神経系の髄鞘形成の調節に関与していると報告されている。miR-23a/b や miR-27a は in vivo でクラスターを形成し、クラスター化された miRNA は相補的な機能を果たすことが知られているが、髄鞘形成におけるこれらの miRNA クラスターの役割は明らかにされていない。髄鞘形成における miR-23-27-24 クラスターの役割を明らかにするために、本研究では、miR-23-27-24 クラスターノックアウト(KO)マウスを用い、髄鞘化における miR-23 クラスターの役割を解明することを目的とした。

【方法】

miR-23-27-24 クラスターKO マウスを作製し、4 週、10 週および 12 ヶ月齢において野生型(WT)群、ノックアウト(KO)群における各 miR-23 クラスターの発現量を解析、同タイムポイントで運動機能評価(Open field testing, Hanging wire test, Balance beam test)を行った。また脊髄および脳の白質の組織学的変化を Luxol Fast Blue 染色で定量評価した。また脊髄における髄鞘の形態を電子顕微鏡を用いて定量評価した。また髄鞘形成に必要な不可欠であるオリゴデンドロサイトおよびオリゴデンドロサイト前駆細胞の数、Myelin Basic Protein(MBP)発現量を免疫染色で定量評価した。プロテオーム解析を用いてターゲット遺伝子候補を選定し、発現量を髄鞘関連蛋白とともに Western Blot 法で評価した。

【結果】

運動機能評価では 10 週齢の KO 群において Hanging wire test における成績が低下していた。Luxol Fast Blue 染色による組織学的変化では脊髄においては 10 週齢及び 12 ヶ月齢で、脳では 12 ヶ月齢で KO 群の白質が低形成となっていた。脊髄における髄鞘の形態を電子顕微鏡で評価では 4 週齢、10 週齢、12 ヶ月齢において KO 群の髄鞘が低形成となっていることが示された。10 週齢においては髄鞘関連蛋白である MBP, PLP の発現レベルも WT 群と比較して、KO 群では有意に低い結果であった。免疫染色においてはオリゴデンドロサイトおよびオリゴデンドロサイト前駆細胞の分化は、KO マウスでは阻害されていなかったが、4 週齢において MBP の発現量は WT 群より KO 群の方が有意に低かった。プロテオーム解析と Western Blot 法により、KO 群ではロイシンジッパー様転写調節因子 1 (LZTR1) の発現の増加を示し R-RAS およびリン酸化細胞外シグナル調節キナーゼ 1/2 (pERK1/2) の発現の低下を示した。miR-23-27-24 クラスターの損失は、マウスの髄鞘形成を減少させ、運動機能を低下させる。さらに LZTR1 をターゲットとして髄鞘形成を促進するシグナルである ERK1/2 経路の R-RAS 上流を調節することが示された。

【考察】

miR-23-27-24 クラスターKO マウスは髄鞘の形成が障害されていることが示された。髄鞘形成に重要な役割を果たすオリゴデンドロサイトおよびオリゴデンドロサイト前駆細胞の分化は、KO マウスでは阻害されていなかったが、オリゴデンドロサイトにおける髄鞘関連蛋白の MBP の発現

量が低下していた。miR-23-27-24 クラスターの新規ターゲット LZTR1 は RAS-MAPK 経路を制御することが知られている。RAS-MAPK 経路は髄鞘の成熟において重要な役割を果たすことも知られており、miR-23-27-24 クラスターは LZTR1 を制御することで髄鞘成熟に深く関与していることが明らかとなった。脊髄損傷後の再髄鞘化においても miR-23-27-24 クラスターが関与している可能性があり、脊髄損傷の治療研究においても重要な役割を果たすことが期待される。