

## 論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 (医学)	氏名	土川 雄司
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目			
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)			
論文審査担当者			
主査	教授	橋本 浩一	印
審査委員	教授	丸山 博文	
審査委員	准教授	田中 茂	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>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 miR 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する。クラスター化された miRNA はターゲット遺伝子からのタンパク翻訳の制御において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。</p> <p>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、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。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、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ウェスタンブロット法で評価した。</p> <p>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。電子顕微鏡をもちいた脊髄における髄鞘の形態評価により、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。ウェスタンブロットによるタンパク発現評価では、10 週齢において、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 群で有意に低い結果であった。免疫染色による解析では、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 マウスにおいて阻害されていなかったが、ウェスタンブロットでは KO 群の MBP 発現量が 4 週齢において WT 群と比較し有意に低下していた。プロテオーム解析とウェスタンブロットにより、KO 群ではロイシンジッパー様転写調節因子 1 (LZTR1) の発現増加と、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) の発現低下が認められた。この結果は、miR-23-27-24 クラスターが 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を示唆する。</p>			

以上の結果から 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。

よって審査委員会委員全員は、本論文が著者に博士(医学)の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。