

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	石橋 栄樹
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 ① 2 項該当		
論文題目 Myelin-Specific microRNA-23a/b Cluster Deletion Inhibits Myelination in the Central Nervous System during Postnatal Growth and Aging (ミエリン特異的 microRNA-23a/b クラスターの欠失は中枢神経系におけるミエリン形成を阻害する)			
論文審査担当者			
主査	教授	丸山 博文	印
審査委員	教授	外丸 祐介	
審査委員	准教授	仁井内 浩	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>本研究は、中枢神経系の髄鞘形成における microRNA-23a/b クラスター (miR-23a/b クラスター) の役割を明らかにすることを目的とした。miR-23a/b クラスターは、miR-23a, miR-27a, miR-24-2 からなる miR-23a クラスターと、miR-23b, miR-27b, miR-24-1 からなる miR-23b クラスターで構成される。このようにクラスターとして存在する miRNA 群はクラスター内で相補的、協調的に効率よく機能することが知られている。我々はクラスター単位の miRNA の機能解析を行うこととし、先行研究において miR-23a/b クラスターを欠損させると leucine zipper-like transcriptional regulator 1 (LZTR1) の発現が上昇し、その下流で Ras-related protein R-Ras (R-RAS) の発現が抑制され、さらに下流で細胞外シグナル調節キナーゼ (Erk1/2) の活性化が抑制されることによって、脳および脊髄における髄鞘形成が抑制されることを報告した。しかし、先行研究では胎生期から全身で miR-23a/b クラスターがノックダウンされる Cag-cre ノックアウトマウス (KO マウス) を使用したため、一連の現象が髄鞘に特異的に起こっているか証明できず、miR-23a/b クラスターの機能が生後の成長や老化などのどの期間で重要であるのか不明であった。そこで本研究では、タモキシフェンの投与によって髄鞘特異的に miR-23a/b クラスターがノックダウンされるマウスを用いて、空間的、時間的に限定した miR-23a/b クラスターの欠損が髄鞘形成に与える影響を明らかにすることとした。</p> <p>本研究では、タモキシフェン投与により proteolipid protein (PLP) を発現する髄鞘特異的に miR-23a/b クラスターを欠損させるコンディショナルノックアウトマウス (Plp CreERT2;miR-23a/b cluster) を作製した。生後 7 日齢あるいは 10 週齢でタモキシフェンを投与し、それぞれ生後 10 週齢と 12 ヶ月齢での miR-23a/b クラスター欠損の影響を解析した。またタモキシフェンを投与しなかったマウスをコントロールとして用いた。KO マウスでは、10 週齢と 12 ヶ月齢の両方で、コントロールマウスと比較して Hanging wire test と Balance beam test における運動機能の低下が認められた。また、電子顕微鏡検査と Luxol Fast Blue 染色により、KO マウスの脳と脊髄における髄鞘および脳脊髄白質の形成不全が明らかになった。ウェスタンブロット解析では、髄鞘構成タンパク質である myelin basic protein (MBP) と PLP の発現量が KO マウスで有意に低下していた。一方、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) と成熟オリゴデンドロサイトのマーカーを用いた免疫組織化学染色の結果、KO マウスとコントロールマウスの間で OPC と成熟オリゴデンドロサイトの割合に有意差は無かった。しかし、全オリゴデンドロサイトにおける MBP を発現するオリゴデンドロサイトの割合は、KO マウスで有意に低かった。このことから、miR-23a/b クラスターの欠損は、OPC から成熟オリゴデンドロサイトへの分化には影響せず、主に成熟オリゴデンドロサイトによる髄鞘形成を抑制することで低髄鞘化を引き起こすと考えられた。さらに、miR-23a/b クラスターの標的分子の候補として報告されているタンパク質の発現を調べたところ、KO マウスでは、</p>			

LZTR1 の発現上昇が認められた。また、髄鞘形成に関与するシグナル伝達因子では、R-RAS の発現低下と Erk1/2 のリン酸化低下が認められた。これらの結果から、miR-23a/b クラスターによる髄鞘形成制御には、LZTR1, R-RAS を介した Mek/ERK1/2-MAPK 経路が関与している可能性が示唆された。

以上の結果から、miR-23a/b クラスターは、生後の成長期および老齢期のいずれにおいても中枢神経系の髄鞘形成に重要な役割を果たしていると考えられ、成熟オリゴデンドロサイトが髄鞘を形成する段階を制御することで、髄鞘形成を調節していると考えられた。今後、miR-23a/b クラスターを標的とした脱髄疾患の病態解明や治療法開発への応用が期待されることから本論文は高く評価される。

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。