

Title	Cloning and Expression of Myelin-associated Oligodendrocytic Basic Protein : A Novel Basic Protein Constituting the Central Nervous System Myelin
Author(s)	山本, 洋一
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/39002
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

氏名	山本洋一
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 11789 号
学位授与年月日	平成7年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学研究科内科系専攻
学位論文名	Cloning and Expression of Myelin-associated Oligodendrocytic Basic Protein : A Novel Basic Protein Constituting the Central Nervous System Myelin (中枢神経系髄鞘を構成する新しい塩基性蛋白質のクローニング)
論文審査委員	(主査) 教授 岸本 忠三 (副査) 教授 柳原 武彦 教授 祖父江憲治

論文内容の要旨

【目的】

脊髄は小脳に比べて白質を多く含み、又、運動ニューロン病などの神経疾患で変性のみられる脊髄前角細胞を含む組織である。脊髄に優位に発現する遺伝子をスクリーニングすることにより、脱髄あるいは運動ニューロン病に関与する遺伝子のクローニングを試みた。

【方法】

6週齢ラット脊髄のcDNAライブラリーを作製し、脊髄及び小脳のcDNAをプローブとしておよそ3000プラークの differential screening を行い、脊髄優位に発現しているクローンを得た。それらは5'及び3'側から遺伝子構造を決定しホモロジー検索の後、未知の遺伝子についてはcRNA probeを用いた in situ hybridization 法によりその発現部位を検索した。未知の遺伝子の中でオリゴデンドロサイトに最も高頻度で発現している遺伝子 myelin-associated oligodendrocytic basic protein (MOBP) についてはそのアイソフォーム及びヒトの counterpart をクローン化し、全構造を決定した。MOBPの遺伝子頻度は plaque hybridization によって proteolipid protein (PLP), 2', 3'-cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase (CNP) と比較した。更に MOBPのN末及びC末の合成ペプチドに対する抗体を作製しその蛋白の発現を検討した。

【結果】

3000プラークの differential screening により得た94クローンの遺伝子構造を決定したところ67の既知のクローンと27の未知のクローンを得た。既知のクローンは髄鞘及び細胞骨格蛋白、酸化還元反応に関与する蛋白、転写翻訳に関与する蛋白をコードする遺伝子であった。未知の遺伝子のうち肝臓に発現していない13遺伝子は in situ hybridization の結果5つはオリゴデンドロサイトに主に発現していた。このうち最も発現頻度の高い MOBP の遺伝子頻度は PLP の53%で、一般的に3番目に髄鞘に多く発現していると考えられている CNP より多く発現していた。ノザン・ウェスタンブロット解析の結果から、少なくとも2つのアイソフォームがあることが明らかになった。ヒトの counterpart では10個のアミノ酸が4回繰り返すプロリンに富む構造を持つ塩基性小分子であったが、従来の蛋白とはホモロジーを有していなかった。in situ hybridization, 免疫組織化学, 電子顕微鏡により、オリゴデンドロサイトが産生し、中枢神経髄鞘に局在する蛋白であることが明らかになった。

【総括】

このスクリーニングの結果、脊髄に多く発現する遺伝子構成が明らかになった。今回クローニングされた MOBP は遺伝子頻度の高い塩基性小分子という特徴をもち、これらの点は既に多方面から研究されている髄鞘構成分子である myelin basic protein (MBP)と同じである。MBP と MOBP の大きな相違点は、MOBP は末梢の髄鞘には発現していないことと、プロリンを多く含む繰り返し構造を持つという非常にユニークな点である。遺伝子頻度の高い髄鞘に発現する遺伝子の多くは脱髄疾患に関係していることが明らかになっており、MOBP は多発性硬化症を含む中枢の脱髄疾患に関与していることが期待される。

論文審査の結果の要旨

本研究は、中枢の髄鞘を構成する新しい蛋白をコードする遺伝子の、cDNA の塩基配列を決定し、その抗体を作製し、その局在を明らかにした。この蛋白は、myelin basic protein と多くの特徴を、共有するが、中枢にしか存在せず、プロリンを多く含む繰り返し構造を持つ非常にユニークなものである。髄鞘の研究に新しい知見を加えるものであり、脱髄疾患の解明に寄与することが期待される。以上の理由から、本研究は博士論文に値するものである。