

博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名	SIMANKOVA Anna
学位	博士 (医学)
学位記番号	新大院博 (医) 第 1032 号
学位授与の日付	令和3年9月21日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
博士論文名	Ddx20, DEAD box helicase 20, is essential for the differentiation of oligodendrocyte and maintenance of myelin gene expression. (DEAD ボックス型ヘリカーゼ 20, Ddx20 はオリゴデンドロサイトの分化とミエリン遺伝子の発現維持に必須である.)
論文審査委員	主査 教授 上野 将紀 副査 教授 柿田 明美 副査 講師 渡辺 啓介

博士論文の要旨

Oligodendrocytes form myelin sheaths that surround axons, contributing to saltatory conduction and proper central nervous system (CNS) function. Oligodendrocyte progenitor cells (OPCs) are generated during the embryonic stage and differentiate into myelinating oligodendrocytes postnatally. Ddx20 is a multifunctional DEAD-box helicase involved in multiple cellular processes, including transcription, splicing, microRNA biogenesis, and translation. Although defects in each of these processes result in abnormal oligodendrocyte differentiation and myelination, the involvement of Ddx20 in oligodendrocyte terminal differentiation remains unknown. To address this question, we used Mbp-Cre mice to generate Ddx20 conditional knockout (cKO) mice to allow for the deletion of Ddx20 in mature oligodendrocytes. Mbp-Cre;Ddx20 cKO mice demonstrated small body sizes, behavioral abnormalities, muscle weakness, and short lifespans, with mortality by the age of 2 months old. Histological analyses demonstrated significant reductions in the number of Plp-positive mature oligodendrocytes and drastic reductions in the expression levels of myelin-associated mRNAs, such as Mbp and Plp at postnatal day 42. The number of OPCs did not change. A thin myelin layer was observed for large-diameter axons in Ddx20 cKO mice, based on electron microscopic analysis. A bromodeoxyuridine (BrdU) labeling experiment demonstrated that terminal differentiation was perturbed from ages 2 weeks to 7 weeks in the CNS of Mbp-Cre;Ddx20 cKO mice. The activation of mitogen-activated protein (MAP) kinase, which promotes myelination, was downregulated in the Ddx20 cKO mice based on immunohistochemical detection. These results indicated that Ddx20 is an essential factor for terminal differentiation of oligodendrocytes and maintenance of myelin gene expression.

審査結果の要旨

中枢神経系において、軸索のミエリン形成、跳躍伝導を担うオリゴデンドロサイトは、出生後、オリゴデンドロサイト前駆細胞 (OPC) より分化する。Ddx20 は、転写、スプライシング、マイクロ RNA、翻訳など、多様な細胞内プロセスに寄与する DEAD ボックス型ヘリカーゼであるが、オリゴデンドロサイトの分化過程における役割は不明のままである。申請者は、オリゴデンドロサイトにおいて Ddx20 遺伝子を欠損するコンディショナルノックアウトマウス (Mbp-Cre;Ddx20 cKO) を作製し、発達・分化過程における Ddx20 の機能を探索した。まず、Mbp-Cre;Ddx20 cKO マウスは、身体の成長不全や筋力低下を示し、生後 2 か月までに死亡した。組織学的解析では、生後 42 日で成熟オリゴデンドロサイトの数の有意な減少および Mbp や Plp などミエリン関連 mRNA の発現減少を見出した。一方、OPC 数は変化を示さなかった。電子顕微鏡観察では、ミエリンの菲薄化が観察された。BrdU 標識実験から、生後 2~7 週にかけて分化異常が示され、ミエリン形成に関わる MAP キナーゼ活性の減少も見出した。これらの結果から、Ddx20 は、オリゴデンドロサイトの分化およびミエリン関連遺伝子の発現維持に不可欠な因子であることが明らかになった。本研究は、オリゴデンドロサイトの分化およびミエリン遺伝子発現の維持に関わる分子メカニズムとして Ddx20 を見出した点において、学位論文としての価値を認める。