

# 論文内容の要旨

申請者氏名 Mohammad Shyful Islam

Despite the presence of neural stem cells in the adult brain, repair of brain damage caused by injury or disease is still a challenge. It has been shown that oligodendrocyte progenitor cells (OPCs) respond to various kinds of damage in the adult central nervous system (CNS). Indeed, many OPCs are found in acute or chronic demyelinated areas, but not all of them differentiate efficiently into mature oligodendrocytes in the demyelinated CNS. Recent studies have also shown that OPCs marked by Olig2, a basic helix-loop-helix transcription factor, which stimulates OPCs to differentiate into oligodendrocytes, is strongly upregulated in many pathological conditions including acute or chronic demyelinating lesions in the adult CNS. Despite their potential role in the treatment of demyelinating diseases, the long-term cellular fate of these Olig2-upregulated OPCs has not been identified due to the lack of stable labeling methods. To identify the cellular fate of these OPCs in the damaged area of the CNS, I have used double-transgenic mice, in which I was able to label Olig2-expressing OPCs conditionally with green fluorescent protein (GFP). Demyelination was induced in the CNS in these mice by feeding them with cuprizone, a copper chelator. After six weeks of cuprizone induction, Olig2 marked

GFP-positive cells were processed for a second labeling with the major neural cell markers APC (mature oligodendrocyte marker), GFAP (astrocyte marker), NeuN (neuronal marker), Iba1 (microglia marker) and NG2 proteoglycan (OPC marker). More than half of the Olig2 marked GFP-positive cells in the corpus callosum in the CNS showed colocalization with NG2 (55% in the controls and 67% in the cuprizone treated group). Colocalization of APC with Olig2 marked GFP-positive cell was significantly higher in the cuprizone-treated group (38%) than in the controls (25%). While significant difference in oligodendrocytic lineage cell differentiation was found between the groups, no significant difference was observed in astrocytic lineage cell differentiation. No neuronal or microglial lineage cells were found in this experimental condition. Although Olig2 marked GFP-positive cells still showed NG2 colocalization throughout the experimentation period but did not showed any cell lineage differentiation, suggesting that OPCs tend to keep progenitor-like characteristics. My study has identified the fate of the Olig2-expressing progenitors directly by and endogenous genetic labeling approach in vivo in the demyelinated lesions.

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 Mohammad Shyful Islam

本研究は脱髄性疾患の特徴の一つ、再ミエリン化に焦点を当て、ミエリンを形成する成熟オリゴデンドロサイトがいかなる前駆細胞から由来するのかを詳細に検討したものである。多発性硬化症では神経症状が固定されているわけではなく、増悪と軽快、症状の変化を繰り返すが、これは脱髄巣における脱ミエリン化と再ミエリン化が同調せずに起こるためである。この不調和の原因は現在、主としてなんらかの再ミエリン化の低下と考えられている。再ミエリン化はオリゴデンドロサイト前駆細胞がミエリンを形成する成熟オリゴデンドロサイトに分化することで起こるとされているが、実際のヒト組織ではその過程を追うことは技術的に困難である。この研究では前駆細胞に特異的な遺伝子 *Oligo2* のプロモーター下に GFP を発現するトランスジェニックマウスにおいて Cuprizone (脱髄を reversible に惹起させる薬物) を経口投与し、実験的な中枢神経内の脱髄モデルを作成し、GFP でマークされた細胞 (*Oligo2* 前駆細胞) の分化系譜を追跡した。

成熟したオリゴデンドロサイトに主に発現する分子マーカー APC と GFP 陽性 (*Oligo2* を発現するオリゴデンドロサイト前駆細胞) が共陽性となる細胞は Cuprizone 投与群で、脱髄巣において前駆細胞は有意に活性化および細胞増殖を行い、脱髄を修復するための再ミエリン化を起こすような細胞に分化することが示された。一方、ヒト多発性硬化症の病巣において前駆細胞の集積が認められるものの、これらの細胞が成熟オリゴデンドロサイトに分化しないという病理学的な知見が明らかになっており、薬物投与中止後に再ミエリン化が更新された本モデルとは異なっている。また今回の観察においても脱髄モデルにおいて *Oligo2* marked GFP-positive cells が成熟オリゴデンドロサイトに分化しない細胞が数多くみられたことから、脱髄疾患において再ミエリン化を促すための重要な変換点が成熟オリゴデンドロサイトへの分化という現象の中に存在すると考えられる。

以上のように、本論文は脱髄疾患の治療法開発に大きな示唆を与えるもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。