

氏名	たに がき けん じ 谷 垣 健 二
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2368 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	医 学 研 究 科 分 子 医 学 専 攻
学位論文題目	Notch1 and Notch3 instructively restrict bFGF-responsive multipotent neural progenitor cells to an astroglial fate. (Notch1, Notch3 は bFGF 依存性神経系幹細胞からアストログリアを分化誘導する)
論文調査委員	(主 査) 教 授 笹 井 芳 樹    教 授 影 山 龍 一 郎    教 授 本 庶 佑

### 論 文 内 容 の 要 旨

【緒言】 Notch は多種多様な細胞運命決定に重要な役割を果たしている分子であり、二種類の機能様式が知られている。一つは側方抑制であり、もうひとつは、分化誘導である。これまでの研究では、Notch シグナルは、オリゴデンドロサイトや、神経にすでに運命決定がなされている前駆細胞の分化成熟を抑制することが知られていたが、最近の研究により、Notch シグナルにより中枢神経系幹細胞から radial glia への分化誘導がおこることが示された。しかし、Notch シグナルの radial glia への分化誘導が、Notch シグナルの神経・オリゴデンドロサイト分化抑制の結果、二次的に起こっているのか、Notch シグナルが radial glia という運命決定を積極的に促進するのかわかっていなかった。今回、成体ラット海馬より bFGF 依存性に単離された中枢神経系幹細胞である AHP を用い、Notch の恒常的活性化型変異体である RAMIC の AHP の分化への影響の解析をおこなって、Notch シグナルが神経系幹細胞からアストログリアへの分化誘導活性をもつということ、そして、その効果が他のアストログリアへの分化誘導活性をもつ CNTF とは異なる分子機構で起こるということを明らかにした。

【対照と方法】 レトロウイルスを用いて神経系幹細胞に Notch の恒常的活性化型変異体である RAMIC を導入し、神経系幹細胞の分化に与える影響を検討した。さらに、その作用様式が選択的な細胞毒性もしくは細胞増殖によるものか、細胞分化誘導によるものかを検討するため、クローン解析をおこなった。また、その作用の分子機構を解明するため、ルシフェラーゼアッセイを用いてアストログリアのマーカー分子である GFAP の発現調節機構を検討した。

【結果】 Notch の恒常的活性化型変異体である RAMIC を導入した神経系幹細胞は自発的にアストログリアに分化した。クローン解析の結果、その作用様式は、細胞分化運命決定時に起こり、かつ選択的な細胞増殖の寄与もあるということがわかった。また、タモキシフェン依存性 NotchRAMIC を用い、一時的に Notch シグナルを活性化するだけでアストログリアへの運命決定がおこることを確認した。アストログリアのマーカー分子である GFAP のエンハンサー領域を用いたルシフェラーゼアッセイによると、Notch の RAMIC によるアストログリア誘導活性は、アストログリアへの強い分化誘導活性をもつ CNTF とは異なり、転写因子 STAT3 を介さないことが明らかになった。

【考案】 Notch の恒常的活性化型変異体である RAMIC のアストログリアへの分化誘導活性は細胞運命決定の段階において起こるものである。一時的な Notch シグナルの活性化によってアストログリアへの運命決定がおこるということは、神経系幹細胞が Notch シグナルによって全能性を失うということを強く示唆する。AHP から Notch RAMIC によって誘導される GFAP 陽性細胞が radial glia である可能性はあるが、ラットにおける radial glia マーカー分子の欠如のため明らかでは無い。LIF, CNTF, BMP2 はアストログリアの分化を誘導し、アストログリアのマーカー分子である GFAP の発現上昇を誘導する際に、STAT3 複合体を必要とする事が報告されている。Notch RAMIC のアストログリアへの分化誘導活性は STAT3 非依存性であり、LIF, CNTF, BMP2 と全く異なる分子機構を介してアストログリアの分化を誘導する事が示唆されている。

## 論文審査の結果の要旨

た。クローン解析の結果、その作用は、細胞分化運命決定時に起こり、かつ選択的な細胞増殖の寄与もあるということがわかった。また、タモキシフェン依存性 RAMIC を用い、一時的な Notch シグナル活性化だけでアストログリアへの運命決定がおこることを確認した。このことは、神経系幹細胞が Notch シグナルによって全能性を失うということを強く示唆する。また、アストログリアのマーカー分子である GFAP のエンハンサー領域を用いたルシフェラーゼアッセイによると、Notch の RAMIC によるアストログリア誘導活性は、アストログリアへの強い分化誘導活性をもつ CNTF とは異なり、転写因子 STAT3 を介さないことが明らかになった。この結果、Notch のアストログリアの分化誘導活性は CNTF と全く異なる分子機構によることが示された。

以上の研究は、Notch シグナルによる神経発生制御の解明に貢献し、発生学の発展に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成13年2月26日実施の論文内容とそれに関連した諮問を受け、合格と認められたものである。