

京都大学	博士 (医科学)	氏名	貝 瀬 峻
論文題目	Hes1 oscillation frequency correlates with activation of neural stem cells (Hes1 遺伝子の振動発現の頻度は神経幹細胞の活性化と相関する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>哺乳類において、組織の恒常性維持と修復を達成するためには、組織幹細胞の状態が適切に調整される必要があります。発生段階の中枢神経系では、神経幹細胞が活発に増殖をしつつ様々な種類の神経細胞とグリア細胞へと分化することで脳組織を構築していきます。一方で、成体の脳内では、神経幹細胞のほとんどが休止状態ですが、時折り活性化状態となって細胞増殖および神経分化をすることで、記憶学習などの脳機能を支持しています。</p> <p>近年、Notch pathway が神経幹細胞の休止状態と活性化状態の両方で重要な役割をもつことが示唆されてきました。Notch1/2/3 のノックアウト実験から、Notch1 が成体脳の神経幹細胞を休止状態から活性化させる際に必要なこと、一方でNotch2 と Notch3 が成体脳の神経幹細胞を休止状態に維持する際に必要なこと、が報告されています。それに加えて、先行研究より Notch pathway の主要なターゲットである転写抑制因子 Hes1 の発現動態が休止状態と活性化状態で異なることも報告されています。Hes1 の発現は、活性化状態の神経幹細胞では2~3 時間の周期的な振動をする一方で、休止状態の神経幹細胞では比較的定常に保たれています。Hes1 の周期的な振動は proneural gene Ascl1 の発現振動を介して神経幹細胞の活性化に寄与する一方で、Hes1 の定常的な発現は Ascl1 の定常的な抑制を介して神経幹細胞の休止化に寄与する、と考えられています。</p> <p>従って、Notch1-Hes1 pathway が神経幹細胞の活性化を制御し、Notch2-Hes1 pathway が神経幹細胞の休止化を制御する、という機構の存在が予想されます。</p> <p>しかしながら、神経幹細胞が休止状態から活性化状態へ移行する際に、Notch pathway がどのようにして異なる Hes1 の発現動態を誘導するかはわかっていませんでした。そこで本研究は活性化型の Notch1 遺伝子を異なるプロモーター下で発現させることで、神経幹細胞の活性化への影響を評価しました。その結果、活性化型 Notch1 遺伝子を過剰発現させることで、<i>in-vitro</i> と <i>in-vivo</i> の両条件で神経幹細胞が活性化されること、そして、活性化型 Notch1 の発現レベルと神経幹細胞の活性化が比例すること、を見出しました。次に、Hes1 の発現動態をライブセルイメージングによって定量することで、Hes1 発現への活性化型 Notch1 の作用を解析しました。その結果、活性化型 Notch1 は休止状態の神経幹細胞において、バースト状の Hes1 の発現振動を誘導すること、そして、Hes1 の発現振動の大きさよりも頻度が神経幹細胞の活性化効率と相関すること、を見出しました。これらの結果は休止状態の神経幹細胞において、バースト状の Hes1 の発現振動が Ascl1 の周期的な発現を誘導する可能性を示しており、すなわち、Notch1 に誘導される Hes1 発現振動の頻度が休止状態から活性化状態へと遷移する鍵であることを示唆しています。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

成体の脳内では、休止状態の神経幹細胞が時折り活性化状態となって、細胞増殖と神経分化をすることで、記憶や学習などの脳機能を長期的に維持している。神経幹細胞が休止状態から活性化する際に Notch1 が必要なこと、一方で、休止状態に維持される際に Notch2 が必要なこと、が報告されている。また、Notch pathway の下流因子 Hes1 は、活性化状態では2~3 時間周期の発現振動をする一方で、休止状態では比較的定常に発現することが報告されている。従って、Notch1-Hes1 pathway が活性化を制御し、Notch2-Hes1 pathway が休止状態を維持する、という機構が存在すると予想される。しかし、Notch pathway が異なる Hes1 の発現動態を誘導する仕組みは未解明であった。当該研究では、活性化型の Notch1 遺伝子 (NICD) を過剰発現させることで休止状態の神経幹細胞が活性化されること、そして NICD の発現レベルと活性化効率が比例することを見出した。さらに Hes1 の発現振動の頻度が活性化効率と相関することを見出した。すなわち、Notch1 に誘導される Hes1 発現振動の頻度が休止状態から活性化状態へと遷移する鍵であることが示唆された。

以上の研究は、神経幹細胞における発現振動の意義の解明に貢献し、細胞生物学研究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 (医科学) 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、令和3年 5月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。