



TITLE:

神経幹細胞活性化と細胞分化におけるbHLH型転写因子Ascl 1の発現動態と機能の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

末田, 梨沙

CITATION:

末田, 梨沙. 神経幹細胞活性化と細胞分化におけるbHLH型転写因子Ascl 1の発現動態と機能の解析. 京都大学, 2021, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2021-09-24

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k23552>

RIGHT:

Doi: 10.1016/j.gep.2021.119198 © 2021. This manuscript version is made available under the CC-BY-NC-ND 4.0 license.

(続紙 1)

京都大学	博士 (生命科学)	氏名	末田 梨沙
論文題目	神経幹細胞活性化と細胞分化におけるbHLH型転写因子Ascl1の発現動態と機能の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>神経幹細胞や前駆細胞の増殖や分化は、脳を発生期にかたちづくり、成体期においても神経幹細胞を長期維持するために、様々な因子によって厳密に制御されている。中でもbHLH型転写因子は、細胞の運命決定を担うマスター因子として機能する重要な役割を持つ。近年の報告から、Ascl1やHes1をはじめとするbHLH因子は、発現が振動することや持続することが知られており、その発現レベルおよび発現動態によって異なる機能をもつことが示されている。本研究では、第一部で成体神経幹細胞の活性化とニューロン分化におけるHes1およびAscl1の発現動態と機能を明らかにし、さらに第二部でオリゴデンドロサイト前駆細胞におけるAscl1の発現動態を明らかにした。</p> <p>第一部：胎仔期の神経幹細胞は、活発に増殖と分化を行う。これまでに、Hes1は2-3時間周期の振動発現を行うこと、Ascl1はHes1に抑制されて逆位相での振動発現を行うが、この振動発現が神経幹細胞の増殖を促進させることが明らかになっていた。一方で成体の神経幹細胞は、増殖や分化をほとんど行わない静止状態にある。これまでに、静止状態はHes1の上流因子であるNotchシグナルが関与すること、Ascl1が静止状態では発現せず活性化状態の一部の神経幹細胞で発現することが報告されていた。しかしながら、静止状態を維持する機構や活性化状態への移行にHes1やAscl1がどのようにはたらくか詳細は明らかになっていなかった。本研究では、まず免疫染色とライブイメージングによりそれぞれの発現を解析した。静止状態と活性化状態でのHes1の発現を比べると、静止状態で発現が高く活性化状態では低いレベルで振動していた。一方、Ascl1は静止状態では発現が見られず、活性化状態では振動発現を示した。次に、成体神経幹細胞においてHes1のノックアウトと強制発現実験を行った。Hes1およびHes関連遺伝子群非存在下ではAscl1の発現が上がりほぼすべての神経幹細胞が活性化してニューロンに分化し、3週間以内に枯渇した。Hes1を強制発現するとAscl1の発現が下がり神経幹細胞は活性化されなくなった。最後に、静止状態の神経幹細胞にAscl1の発現を誘導して活性化を試みた。光遺伝学的手法あるいはHes5プロモーターを利用したAscl1の振動発現によって、脳内に存在する静止状態の成体神経幹細胞を効率的に活性化し、ニューロン新生を促進することに成功した。以上から、成体神経幹細胞の静止状態はHes1の高発現とそれに伴うAscl1の発現抑制によって維持されること、静止状態から活性化状態への移行時にHes1が低下してAscl1が振動発現を開始することが明らかになった。さらにAscl1の振動発現の誘導により静止状態の神経幹細胞を活性化させて新たなニューロンを作り出すことが可能となった。</p> <p>第二部：Ascl1は、ニューロン分化のパイオニア因子として知られているが、前述のとおり神経幹細胞の増殖にも関与し、さらにオリゴデンドロサイト産生にも重要な役割をもつ。しかしオリゴデンドロサイトへの分化運命決定時のAscl1の発現動態はこれまでに明らかになっていない。本研究ではタイムラプスイメージングにより、Ascl1の発現がオリゴデンドロサイト前駆細胞において振動していることを明らかにした。さらに神経幹細胞がオリゴデンドロサイト前駆細胞に分化する条件下でAscl1を持続発現させるとニューロン分化が亢進し、オリゴデンドロサイト前駆細胞に分化する割合が減少したため、オリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖や維持にはAscl1の振動発現が重要であることが示唆された。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

神経幹細胞の増殖や分化には、bHLH型転写因子が重要な役割を担う。胎生神経幹細胞では、Hes1の振動発現により駆動されるAscl1の振動発現が細胞増殖を促進し、Ascl1の持続発現がニューロン分化を誘導しており、発現動態の違いが異なる機能をうみだす。一方で、成体の神経幹細胞は活性化状態と静止状態のバランスを維持しているが、Hes1やAscl1がどのような発現動態をもち、これらの状態の制御に関与するかは明らかになっていなかった。また、Ascl1はオリゴデンドロサイト前駆細胞においても発現するが、発現動態については明らかになっていなかった。

本論文では、第一部で成体脳の静止状態／活性化状態の神経幹細胞におけるHes1とAscl1の発現動態とその意義を明らかにし、第二部ではオリゴデンドロサイト前駆細胞におけるAscl1の発現動態を明らかにした。まず第一部では、成体脳の神経幹細胞におけるHes1とAscl1の発現を免疫染色とライブイメージングにより解析し、活性化状態よりも静止状態においてHes1の発現が高く保たれていることを明らかにした。次に、Hes1のノックアウトと強制発現の実験から、Hes1が成体神経幹細胞におけるAscl1の発現をダイレクトに制御しており、Hes1の高発現によりAscl1の発現抑制がなされ静止状態が維持されることを明らかにした。最後に、静止状態の神経幹細胞を活性化させる手法として、光遺伝学的手法あるいはHes5プロモーターを用いたAscl1の振動発現の誘導を行い、神経幹細胞の活性化とニューロン新生の誘導が人為的に可能であることを示した。

第二部では、オリゴデンドロサイト前駆細胞に発現しているAscl1に着目し、ライブイメージングにより海馬歯状回分子層のオリゴデンドロサイト前駆細胞ではAscl1が振動発現していることを明らかにした。さらに、神経幹細胞がオリゴデンドロサイト前駆細胞に分化する過程で、内在性のAscl1の振動発現が起こる場合とAscl1の高発現を誘導した場合を比較すると、Ascl1が高発現する場合にオリゴデンドロサイト前駆細胞に分化する割合が減少したため、Ascl1の低レベルでの振動発現がオリゴデンドロサイト前駆細胞の増殖や維持に重要であることが示唆された。

本研究は、成体脳の静止状態／活性化状態にある神経幹細胞、および神経幹細胞からの分化過程において、転写因子の異なる発現動態が異なる機能を与えることを提唱し、さらに転写因子の発現をコントロールすることで細胞の運命決定を変える新たな手法の開発に成功している。本論文は、生命科学に関する高度で幅広い学識、優れた研究能力、そして生命科学の理解・発展に寄与する新しい知見が示されており、論理的かつ一貫性を持って記述されている。よって、本論文は博士（生命科学）の学位論文として価値あるものと認めた。

令和3年8月10日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日