

氏 名	いと かず ゆたか 糸 数 裕
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 55 号
学位授与の日付	平 成 17 年 11 月 24 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	生 命 科 学 研 究 科 高 次 生 命 科 学 専 攻
学位論文題目	脈絡叢上衣細胞に存在する神経前駆細胞の解析

論文調査委員 (主 査)
教 授 清 水 章 教 授 上 村 匡 教 授 根 岸 学

論 文 内 容 の 要 旨

脈絡叢は、脳脊髄液の産生部位として機能しており脈絡叢上衣細胞がその中心的役割を果たしていることが知られている。これまでに本学位申請者らは脈絡叢の新たな機能として *in vitro* および *in vivo* において神経突起伸長促進作用を有すること、さらには損傷脊髄に移植した脈絡叢上衣細胞がアストロサイトへ分化することを報告してきた。

近年、成体中枢神経組織には、神経幹細胞、あるいは幹細胞の分化過程で出現する様々な前駆細胞群が残存していることが明らかとなった。これらを総称して神経前駆細胞と呼ぶ。成体脳では大脳側脳質周囲の細胞群や海馬に神経前駆細胞が存在し、前駆細胞からニューロンの新生が生涯にわたって持続していることが示されている。しかしながら、これらの神経前駆細胞に関する研究では、脈絡叢上衣細胞が特殊な上衣細胞であるということには一切言及されていない。

本研究では、脈絡叢上衣細胞にニューロンやグリア細胞を産生する神経前駆細胞が存在するか否かを検索した。まず、生後1日齢(P1)、生後7日齢(P7)および8週齢(P8W)ラットの第4脳室から採取した脈絡叢組織全細胞懸濁液を浮遊培養した。増殖因子(FGF2/EGF)を含む培地で培養した脈絡叢由来細胞は細胞塊(Neurosphere)を形成し、分化誘導によりニューロン、アストロサイト、およびオリゴデンドロサイトに分化した。

次に、脈絡叢上衣細胞のみを単離することを目指し、脈絡叢上衣細胞特異的なモノクローナル抗体を作成した。いくつかの抗体の中から、脈絡叢上衣細胞の微絨毛を特異的に認識する3E6モノクローナル抗体を得た。この3E6抗体を用いて、FACS(Fluorescent Activated Cell Sorting)により、脈絡叢上衣細胞を単離した。単離した3E6陽性脈絡叢上衣細胞には、脈絡叢を構成している繊維芽細胞、血管内皮細胞、マクロファージ、シュワン細胞といった脈絡叢上衣細胞以外の細胞の混在は認められなかった。3E6で標識した細胞を増殖因子含有培地で培養すると、細胞塊の形成が見られ、分化誘導培地で培養すると、ニューロン(5%)、アストロサイト(45%)、オリゴデンドロサイト(0.16%)に分化した。

8週齢ラットの免疫組織化学により、一部の脈絡叢上衣細胞は生体内で神経前駆細胞に発現していることが知られているMusashi-1、EGF-Rなどを発現していることが確認された。さらに脳室への増殖因子(EGF、FGF2)の投与により、正常なラットにおいて、増殖細胞の標識であるBrdUを取り込んでいる脈絡叢上衣細胞が存在することが判明した。

以上の結果より、分化した細胞である脈絡叢上衣細胞の一部の集団が神経前駆細胞の性質を有していることを明らかとなった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

脈絡叢は、脳脊髄液の産生部位として機能しており脈絡叢上衣細胞がその中心的役割を果たしていることが知られている。これまでに本学位申請者らは脈絡叢の新たな機能として *in vitro* および *in vivo* において神経突起伸長促進作用を有すること、さらには損傷脊髄に移植した脈絡叢上衣細胞がアストロサイトへ分化することを報告してきた。

近年、成体中枢神経組織には、神経幹細胞、あるいは幹細胞の分化過程で出現する様々な前駆細胞群が残存していること

が明らかとなった。これらを総称して神経前駆細胞と呼ぶ。成体脳では大脳側脳質周囲の細胞群や海馬に神経前駆細胞が存在し、前駆細胞からニューロンの新生が生涯にわたって持続していることが示されている。しかしながら、これらの神経前駆細胞に関する研究は、脈絡叢上衣細胞が特殊な上衣細胞であるということには一切言及されていなかった。

本学位申請者は、脈絡叢上衣細胞にニューロンやグリア細胞を産生する神経前駆細胞が存在するか否かを検索した。まず、生後1日齢(P1)、生後7日齢(P7)および8週齢(P8W)ラットの第4脳室から採取した脈絡叢組織全細胞懸濁液を浮遊培養した。増殖因子(FGF2/EGF)を含む培地で培養した脈絡叢由来細胞は細胞塊(Neurosphere)を形成し、分化誘導によりニューロン、アストロサイト、およびオリゴデンドロサイトに分化する能力を有することを明らかにした。

次に、脈絡叢上衣細胞のみを単離することを目指し、脈絡叢上衣細胞特異的なモノクローナル抗体を作成し、脈絡叢上衣細胞の微絨毛を特異的に認識する3E6モノクローナル抗体を得た。この3E6抗体を用いて、FACS(Fluorescent Activated Cell Sorting)により、脈絡叢上衣細胞を単離した。単離した3E6陽性脈絡叢上衣細胞には、脈絡叢を構成している繊維芽細胞、血管内皮細胞、マクロファージ、シュワン細胞といった脈絡叢上衣細胞以外の細胞の混在は認められなかった。3E6で標識した細胞を増殖因子含有培地で培養すると、細胞塊の形成が見られ、分化誘導培地で培養すると、ニューロン(5%)、アストロサイト(45%)、オリゴデンドロサイト(0.16%)に分化した。また、8週齢ラットの免疫組織化学により、一部の脈絡叢上衣細胞は生体内で神経前駆細胞に発現していることが知られているMusashi-1、EGF-Rなどを発現していることが確認された。さらに脳室への増殖因子(EGF、FGF2)の投与により、正常なラットにおいて、増殖細胞の標識であるBrdUを取り込んでいる脈絡叢上衣細胞が存在することが判明した。

以上の結果は、分化した細胞である脈絡叢上衣細胞の一部の集団が神経前駆細胞の性質を有していることを明らかとしたものである。成体の脈絡叢上衣細胞が脳脊髄液の産生のみならず、自己複製能および神経系の細胞への分化能を有していることは新しい重要な発見であり、幹細胞生物学の発展に大きく寄与し、さらには再生医学への新たな可能性が開かれたと考えられる。従って本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

なお本学位申請者は、平成17年10月13日に実施された論文内容とそれに関連した口頭試問を受け合格と認められた。