

氏 名	北 条 雅 人
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2544 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 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	医 学 研 究 科 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Glial cell fate specification modulated by the bHLH gene Hes5 in mouse retina (bHLH 型遺伝子 Hes5 によるマウス網膜におけるグリア細胞の分化運命決定)
論文調査委員	(主 査) 教 授 塩 田 浩 平 教 授 本 田 孔 士 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

ニューロンとグリア細胞は、共通の前駆細胞から分化する。ショウジョウバエでは、gcm 遺伝子がグリア細胞の分化運命決定を制御することが知られている。しかし、哺乳類の gcm ホモログは神経系にほとんど発現しておらず、哺乳類ではグリア細胞への分化機構は不明である。

Hes5 は中枢神経系に発現する bHLH 型遺伝子である。Notch の下流因子であることが知られており、抑制因子として哺乳類の発生に関与している。網膜は、前駆細胞から 6 種のニューロンと 1 種のグリア細胞（ミューラーグリア）に分化し、中枢神経系の細胞の分化運命決定を解析するのに非常に適している。本研究では、神経発生の分子機構を明らかにする目的で、マウス網膜をモデルとして、Hes5 の機能を明らかにした。

マウス網膜における Hes5 の発現パターンは、免疫組織化学および in situ ハイブリダイゼーション法により検討した。Hes5 の強制発現はレトロウイルスベクターを用いて行った。また、機能喪失実験として Hes5 ノックアウトマウスの網膜を解析した。

Hes5 は、分化途中のミューラーグリア細胞に特異的に発現しており、成熟したミューラーグリア細胞では発現が消失していた。コントロールのウイルスを感染させた前駆細胞は 8 % 以下がミューラーグリア細胞に分化したが、Hes5 を強制発現させると 50 % 以上がミューラーグリア細胞に分化した。BrdU の取り込み実験および TUNEL 染色により、Hes5 を強制発現させても前駆細胞の増殖・細胞死には影響を及ぼしていないことがわかった。すなわち、Hes5 は前駆細胞からニューロンへの分化を抑制し、グリア細胞への分化を促進する働きがあると考えられた。一方、Hes5 ノックアウトマウスの網膜では、正常マウスの網膜に比べ、ミューラーグリア細胞は 30-40 % 減少していた。

強制発現実験とノックアウトマウスの解析から、マウス網膜において、Hes5 に前駆細胞をグリア細胞へと分化させる働きがあることが示された。そのメカニズムとして、Hes5 は抑制因子であることから Mash1 や NeuroD などの神経分化因子を抑制することにより、グリア細胞への分化を促進する可能性が考えられた。Hes5 は Notch のエフェクターの一つであり、Notch-Hes5 の経路が哺乳類においてニューロンとグリア細胞の分化運命決定を制御している可能性が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

ニューロンとグリア細胞は、共通の前駆細胞から分化する。しかしながら、哺乳類では前駆細胞からグリア細胞への分化機構は不明である。hairy and Enhancer of split homolog-5 (Hes5) は中枢神経系に発現する basic helix-loop-helix (bHLH) 型遺伝子である。本研究では、神経発生の分子機構を明らかにする目的で、マウス網膜をモデルとして Hes5 の機能を解析した。

Hes5 は分化過程のミューラーグリア細胞に特異的に発現しており、成熟したミューラーグリア細胞では発現が消失していた。強制発現実験では、コントロールのレトロウイルスを感染させた場合、前駆細胞の 8 % 以下がミューラーグリア細胞

に分化したが、*Hes5* を強制発現させた場合、50%以上がミューラーグリア細胞に分化した。また、*Hes5* ノックアウトマウスの網膜を構成する細胞数をカウントすると、正常マウスの網膜に比べ、ミューラーグリア細胞は30-40%減少していた。

これらの結果から、マウス網膜において、*Hes5* に前駆細胞をグリア細胞へと分化させる働きがあることが示された。そのメカニズムとして、*Hes5* が神経分化因子を抑制することにより、グリア細胞への分化を促進する可能性が考えられた。

以上の研究は中枢神経系におけるニューロンとグリア細胞の分化機構の解明に貢献し、神経再生治療の発展に寄与するところが大きい。

従って、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14年12月20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。