

氏 名	しも じょう ひろ み 下 條 博 美
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3251 号
学位授与の日付	平 成 20 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 病 理 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Oscillations in Notch signaling regulate maintenance of neural progenitors (Notch シグナルのオシレーションによって神経前駆細胞の維持が制御される)
論文調査委員	(主 査) 教 授 渡 邊 大 教 授 高 橋 良 輔 教 授 富 田 直 秀

論 文 内 容 の 要 旨

中枢神経系は多種多様なニューロンならびにグリア細胞から構成される。神経発生過程は厳密にコントロールされており、初めに神経前駆細胞の増殖が起こり、その後、神経前駆細胞からまずニューロンが分化し、続いてグリア細胞の分化が起こる。Notch シグナルのエフェクターである basic Helix-Loop-Helix 型抑制性転写因子 Hes1 は、神経系において神経前駆細胞に発現が認められ、神経分化を引き起こすプロニューラル遺伝子を抑制することによって、これら前駆細胞の未分化性の維持に機能している。しかし高レベルな Hes1 の持続発現は、神経前駆細胞の増殖と分化を抑制することも報告されている。

また、これまでに Hes1 は未分節中胚葉や培養細胞など様々な細胞種でその発現が増減(オシレーション)し、それが自身のネガティブフィードバックによって制御されていることが報告されている。しかしながら、発生過程の中枢神経系における神経前駆細胞において、Hes1 の発現がオシレーションしているかどうかは未だ不明であった。

この課題を解明するため、本研究では胎生マウスの中枢神経系において Hes1 の発現を単一細胞レベルでリアルタイムに可視化することを試みた。ユビキチンを付加させることによって半減期を短くした不安定化ルシフェラーゼを Hes1 プロモーター下につないだレポーターを用いて Hes1 の発現動態を解析した。その結果、発生過程の大脳皮質の神経前駆細胞において Hes1 の発現がオシレーションを示すことを見出した。

さらに神経前駆細胞における Hes1 オシレーションの意義を探るため、Hes1 の下流因子を DNA マイクロアレイを用いて探索した。神経前駆細胞における高レベルな Hes1 遺伝子の持続発現はプロニューラル遺伝子、Notch リガンドおよび G1 サイクリンの発現低下を引き起こし、これら因子の正常な発現が Hes1 のオシレーションに依存していることを示唆した。

発生過程の大脳皮質においてプロニューラル遺伝子である Neurogenin2 (Ngn2) と Notch リガンドである Delta-like1 (Dll1) の発現を詳細に検討したところ、どちらの因子とも Hes1 と負の相関を示したことから、これら因子も神経前駆細胞でオシレーションしている可能性が示唆された。そこで前述の不安定化ルシフェラーゼを用いて、Ngn2 および Dll1 の発現を可視化したところ、興味深いことにどちらの因子も神経前駆細胞において発現がオシレーションしていた。さらに Notch シグナルを抑制して神経分化を誘導すると、Hes1 の発現低下が起こり、Ngn2 と Dll1 の持続発現が引き起こされた。

以上の結果から、Hes1 がオシレーションすることによって Ngn2 および Dll1 のオシレーションが惹起され神経前駆細胞は相互に Dll1-Notch シグナルを刺激しあい、その結果 Hes1 オシレーションを維持し細胞を未分化に維持するという可能性が示唆された。Hes1、Ngn2 および Dll1 の発現のオシレーションは神経前駆細胞の増殖と未分化性の維持に必要であり、このバランスが崩れ Notch シグナルが欠乏し Hes1 の発現が維持できなくなると、持続的な Ngn2 および Dll1 の発現上昇がおこりニューロンへの分化を引き起こすことが考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Notch シグナルのエフェクター分子である bHLH 型転写抑制因子 Hes1 は、神経前駆細胞の維持に必須な役割を担う。

Hes1 の発現は、ネガティブフィードバック機構によって様々な細胞種でオシレーションするが、神経前駆細胞における Hes1 の発現動態やその意義については不明であった。

この問題を解明するために、申請者は、マウス胎仔の中樞神経系において Hes1 や下流因子の発現を単一細胞レベルで可視化した。その結果、神経前駆細胞において Hes1 やその下流因子であるプロニューラル遺伝子 Ngn2 と Notch リガンド Dll1 の発現がオシレーションすること、Ngn2 と Dll1 の発現量は Hes1 の発現量と反比例すること、Notch シグナルを抑制すると神経細胞分化が起こるが、このとき Hes1 の発現が低下して Ngn2 と Dll1 の発現が持続的に増加することが明らかになった。

以上より、Hes1 の発現オシレーションによって Ngn2 および Dll1 の発現オシレーションが惹起され、この Dll1 の発現によって神経前駆細胞は相互に Notch シグナルを刺激し合い未分化状態を維持すること、さらに、Hes1 の発現が無くなると、Ngn2 および Dll1 が持続発現して神経細胞分化が引き起こされることが示唆された。

以上の研究は、神経分化制御機構の解明に貢献し、発生生物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、価値あるものとみとめる。

なお、本学位授与申請者は、平成 20 年 3 月 11 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。