

# 論文審査の結果の要旨

氏名 松村 直人

本論文は 3 章からなり、第 1 章は成体マウス大脳新皮質の灰白質領域のみを分離する解剖法、第 2 章は灰白質領域に存在するネスチン陽性細胞の細胞特性、第 3 章はネスチン陽性細胞の分化特性について述べられている。

第 1 章については、ニューロンへの分化機構を保持している細胞が存在しているか未だ明らかではない、灰白質領域を解析するために必要な解剖法を開発している。方法として、今まで使用されていた既存法と、新たに開発した解剖法を用い、両解剖法を比較することによって、正確に大脳新皮質の灰白質領域を分離することができるかを検証している。その結果、既存法においては、灰白質領域以外の細胞の混入と考えられる多くのアストロサイトが存在していることを示している。一方、改良法においては、以前に報告された、成体ラットの皮質領域の分裂細胞の性質と同様に、多くの細胞がオリゴデンドロサイトへと分化していることを示している。このため、改良法は、正確に灰白質領域のみを分離する解剖法であること示した。現在、白質領域においては、多分化能を有する細胞が存在することが示されているが、神経疾患による障害は、主にニューロンが存在している灰白質領域である。このため、白質の混入を避けられる、本論文の新たな解剖法は、灰白質領域に存在する細胞の解析に有効な解剖法であるといえる。

第 2 章については、成体の大脳新皮質領域に、神経幹細胞の有効なマーカー

の 1 つである、ネスチンタンパク質を発現している細胞が存在していることに注目し、その細胞の性質について研究している。ネスチンタンパク質は、性質上、細胞の分化後にその発現が著しく減少してしまうことがわかっている。そのため、組織内に散在しているネスチン陽性細胞を、パーコール密度勾配遠心法を用いることによって回収し、培養系において性質を調査している。その結果、大脳新皮質の灰白質領域に存在しているネスチン陽性細胞は、増殖能を保持していることを明らかにした。また、多くのネスチン陽性細胞は、オリゴデンドロサイトの前駆細胞のマーカースとして用いられている NG2 を発現しており、側脳室領域に存在しているネスチン陽性細胞とは、異なる性質を保持していることを示した。大脳新皮質に存在しているネスチン陽性細胞については、まったくその性質が明らかではなかった。そのため、本研究は、脳内に存在しているネスチン陽性細胞の性質を理解するうえで、有益な結果であると判断される。第 3 章については、ネスチン陽性細胞の分化特性について、特にニューロン分化に焦点を絞り研究している。その結果、大脳新皮質の灰白質領域より分離した細胞において、ニューロンへの分化機構を保持している細胞が存在していることを示した。増殖中のネスチン陽性細胞において、ニューロンマーカである Tuj-1 を発現している細胞が一部確認されたことから、ニューロン分化機構を保持している細胞の少なくとも一部は、ネスチン陽性細胞である可能性を示している。一方、現在、成体の大脳新皮質領域において、ニューロン新生は起こらないとされている。このため、組織内では、このニューロン分化機構が、何らかの原因で抑制されているのではないかと考え、次の実験において、神経幹細胞がニューロンへ分化する際に発現がみられるニューラル bHLH 転写因子を導入することによって、ニューロン分化機構を活性化することができるかどうかを検証している。この結果、ニューラル bHLH 転写因子である Mash1、

NeuroD1 を導入した細胞に対して、ニューロンへの分化誘導が活性化されていることを示した。また、ニューラル bHLH の導入により、ニューロン分化機構が活性化された細胞において、ニューロンとしての電気生理的性質を保持しているかを検証するため、パッチクランプ法を行っている。この結果、NeuroD1 を導入した細胞において、ニューロンにみられるナトリウムカレントが確認され、形態的なニューロン分化だけでなく、電気生理的な性質も獲得している事が示された。よって、これらの結果から、組織内でニューロン分化機構を保持している細胞をターゲットとし、ニューラル bHLH 転写因子を活性化させる処置を施すことが可能となれば、大脳新皮質領域でのニューロンの再生を実現できる可能性を見出した。これらの研究は、神経疾患に対する新たな再生医療手段として、将来期待できる結果を示したと判断できる。したがって、論文提出者は、博士(生命科学)の学位を授与できると認める。

## 最終試験の結果の要旨

氏名 松村 直人

成績 合格

本委員会は、論文提出者に対し平成 16 年 1 月 30 日、学位論文の内容及び関連事項について、口頭試験を行った。

その結果、論文提出者は、先端生命科学専攻・細胞応答化学分野について博士(生命科学)の学位を受けるにふさわしい十分な学識をもつものと認め、審査委員全員により合格と判定した。