

# 論文審査の結果の要旨

氏名 村松 大

## 成績 合格

本論文の内容は3部構成になっており、第1部については、ニューラル bHLH 転写因子による神経幹細胞のニューロン分化誘導、第2部については、細胞の移植に適した時期の選定、第3部については、成体大脳皮質への GABA 作動性ニューロンの移植について述べられている。

成体大脳皮質は思考・推理・決断といった高次機能を司る部位である。GABA 作動性ニューロンは脳波を生み出し、脳機能の正常化に関わるニューロンであり、GABA 作動性ニューロンの脱落は統合失調症などの病状を引き起こす事が知られている。その為、移植療法による成体大脳皮質の GABA 作動性ニューロン再生に期待が持たれている。しかし、現在、成体大脳皮質において明確にニューロンを再生させたという報告はされていない。この理由は成体大脳皮質がニューロン分化に対し、非常に抑制的環境下である為、神経幹細胞を移植してもニューロンへ分化する事が出来ないからである。そこで、本研究ではニューロン分化に重要な役割を果たすニューラル bHLH 転写因子を神経幹細胞へ遺伝子導入し、強力的に GABA 作動性ニューロンへの分化誘導を促進、これを移植する事で、成体大脳皮質における GABA 作動性ニューロンの再生を試みた。

第一章では、ニューラル bHLH 転写因子 Ngn1, Mash1 を株化神経幹細胞株 MSP-1 へ遺伝子導入し、両遺伝子のニューロン分化誘導能についての解析を in vitro において行った。その結果、Ngn1 が Mash1 よりもニューロン分化誘導能が高い事、また、誘導されるニューロンは GABA 作動性ニューロンである事が示された。これまで、Ngn1 と Mash1 のニューロン分化誘導能の比較を行った研究は無く、このデータは貴重なものであると考えられる。

第二章では、脳組織への細胞移植の際、神経幹細胞の状態では生着率は高いがニューロンへの分化率は低く、一方、ニューロンに分化した状態では生着率が低いとされている。そこで、移植に用いるにはニューロンへ分化する直前の細胞が良いと考え、細胞接着分子である integrin  $\alpha 5$  を指標にし、細胞の移植に適した時期の選定を行った。integrin  $\alpha 5$  は神経幹細胞がニューロンへ分化する際に、発現が減少するという報告がなされている。FACS を用いた解析から、Ngn1 遺伝子導入後 2 日目より、integrin  $\alpha 5$  の発現低下した細胞が確認された。よって、この時期の細胞が移植に適していると判断した。

第三章では、第一章、二章の結果をうけ、成体マウス大脳皮質への細胞移植を行った。Ngn1 遺伝子導入後 2 日目の細胞を、4 週齢の成体マウス大脳皮質へと移植し 5 日後、固定した切片を免疫抗体染色により解析を行った。その結果、成熟ニューロンマーカー NeuN を発現した移植細胞が見られた。また、この NeuN(+) となった移植細胞は GABA を発現し、形態的にも GABA 作動性ニューロン様の放射状樹状突起を持つ事から、GABA 作動性ニューロンへ分化した事が確認された。さらに、その樹状突起には、他のニューロンとシナプス形成をする際に見られるスパイン構造が見られた事から、GABA 作動性

ニューロンとなった移植細胞はレシピエントの神経回路網に組み込まれたと予測される。以上の結果から、成体マウス大脳皮質へ移植された細胞は、わずか5日という短期間でGABA 作動性ニューロンへ分化したことが明確に示された。本研究により、これまで困難とされてきた成体大脳皮質への移植によりニューロンの再生が可能となった事は、今後、様々な脳障害への治療に大きく寄与し、脳の再生医療に対する新たな可能性を見出すものと考えられる。

本論文は成体マウス大脳皮質への GABA 作動性ニューロンの移植についての基礎的なデータを示し、脳の再生医療の手段として期待できることを示した有意義な内容であると判断できる。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。