

審査の結果の要旨

氏名 綿谷 健治

中枢神経系は多くの種類のニューロンとそれを支持するグリア細胞（アストロサイトやオリゴデンドロサイト）から構成され、これらの細胞は共通の前駆細胞である神経系前駆細胞に由来する。発生過程において神経系前駆細胞は自己複製を経て、適時にニューロンやグリア細胞へと分化することが観察されている。しかし、その分化制御機構には未解明な点が多く、神経系前駆細胞の制御機構の解明は中枢神経系の発生を理解するための重要な課題である。近年のiPS細胞研究を初めとする幹細胞研究より、幹細胞を再生医療分野へ応用する期待が高まっているが、幹細胞から特定の細胞への分化機構は十分に理解されていない。中枢神経系領域においてもアルツハイマー病、パーキンソン病、多発性硬化症といった疾患に対する根本的な治療法は確立しておらず、再生医療技術の向上は先端医療における喫緊の課題である。その上で安全かつ効率の良い医療を実現するため、神経系前駆細胞から特定の細胞への分化機構の正しい理解は必要不可欠である。これまで様々な細胞外因子が神経系前駆細胞をニューロンおよびグリア細胞への分化に関与することが報告されている。しかし、細胞外因子が神経系前駆細胞の分化を制御する際の、細胞内の分子（キナーゼや転写因子など）の挙動との因果関係には未解明な点が多い。本研究では様々な細胞外因子によって活性化されるPDK1経路に着目し、神経系前駆細胞の運命制御における機能を解析した。

第一部では、IGF-1によるニューロン産生においてPDK1-Akt経路の役割と細胞内での作用機構について、大脳由来の神経系前駆細胞の初代培養系を用いて解析した。ニューロン産生を制御するIGF-1の下流ではAktやMAPKなど数多くの因子が活性化することが知られているが、どのような機構でニューロンを産生しているかは明らかにならなかった。本研究では、IGF-1によって活性化したAktが神経系前駆細胞からニューロンへの分化を誘導していることを示した。さらに、活性型Aktは主にGAD67を発現する抑制性ニューロンを産生していることを見出した。また、細胞内の制御機構として、Aktは抑制性ニューロンへの分化に重要な転写因子であるMash1タンパク質の安定性を高めていることを明らかにした。これらの結果から、IGF-1はPDK1-Akt経路を介して転写因子Mash1を安定化し、抑制性ニューロンへの分化を促進していることが示唆された。

第二部では、**FGF-2** によるオリゴデンドロサイト産生における **PKD1** 経路の役割について解析した。オリゴデンドロサイトは中枢神経系においてニューロンの軸索を包むミエリン鞘を形成するグリア細胞の一種であり、中枢神経系が正常に機能する上で必須の役割を果たしている。これまで、*in vitro* の実験により **FGF-2** が生体内においてオリゴデンドロサイトの産生を制御することが示唆されていたが、細胞内でどのような分子機構が働いているかは必ずしも明らかになっていなかった。本研究では、大脳基底核由来のオリゴデンドロサイト前駆細胞が増加する胎生 **15.5** 日目において、*pkd1* 遺伝子欠損によりオリゴデンドロサイト前駆細胞の数が特異的に減少することを見出した。また、*in vitro* 初代培養系を用いて、細胞外因子 **FGF-2** によって産生されるオリゴデンドロサイトは *pkd1* 遺伝子欠損により減少することを明らかにした。さらに、一つ一つの神経系前駆細胞の系譜を追うクローナルアッセイにて、**PKD1** 経路が **FGF-2** によるオリゴデンドロサイトへの分化に必要であることを明らかにした。

以上のように申請者は、神経系の幹細胞である神経系前駆細胞が細胞外の**IGF-1**、**FGF-2**に対し、細胞内で**PKD1**経路の活性化がそれぞれニューロンへの分化とオリゴデンドロサイトへの分化に必須の役割を果たしていることを明らかにした。神経系前駆細胞の運命は、細胞自身の発生日数や分裂回数といった内的要因と、組織や部位に応じた増殖因子や接触刺激などの外的要因が複雑に協調し、制御される。本研究は、神経系前駆細胞が特定の細胞への分化を果たす際に、細胞外因子が細胞内でどのように作用しているかに着目し、複雑な発生機構の一部を明らかにするものである。また、細胞外因子による幹細胞の分化制御は遺伝子を改変しない運命制御のため再生医療に向けて期待の高い手法であるが、安全な実用化に際し、制御機構の理解は不可欠である。本研究は発生過程における神経系前駆細胞の運命制御の正しい理解に寄与するとともに、神経系前駆細胞を用いた再生医療や神経疾患に対する新薬のターゲット創出に貢献できると考えられる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。