

[課程－2]

審査の結果の要旨

氏名 藤原 清香

本研究は末梢神経系のグリア細胞であるシュワン細胞の組織学的マーカータンパクとしても知られる S100B の誘導メカニズムを解明することを目的とし解析を行ったものであり、シュワン細胞の分化において重要な役割を担っていることが知られている Sox10 がシュワン細胞を特徴付けている S100B を誘導するという仮説に基づき、研究をおこない下記の結果を得ている。

- ・ 培養シュワン細胞と成体ラット肋軟骨由来初代培養軟骨細胞より mRNA を採取し、定量を行ったところ、Sox9 が Sox10 の発現量が前者では Sox9 が低く Sox10 が高値で、後者では Sox9 が高く Sox10 が相対に低値であった。
- ・ 末梢神経の各分化段階におけるマーカー因子の発現を検討したところ、S100B は Sox10 と同様生後 2 日齢より発現の上昇が見られ、その後も段階的に発現量が増加しており、この発現パターンは Sox10 により発現が制御されていることが知られている Myeline protein zero (P0) の発現パターンと類似していた。
- ・ シュワン細胞における Sox10 の発現パターン解析、gain-of-function、loss-of-function の実験結果よりシュワン細胞の分化において Sox10 が S100B を誘導に関与している可能性が示唆された。
- ・ S100B プロモーターを含むルシフェラーゼコンストラクトおよびシュワン細胞分化に重要な転写因子の発現ベクターを導入し、その活性を確認したところ Sox10 により S100B の転写活性が強力に誘導された。
- ・ Sox10 が S100B プロモーター上の転写開始点上流 2 箇所およびイントロン 1 箇所の Sox10 応答領域に作用し、転写を誘導することが示唆された。さらにこれらの応答領域の配列と Sox10 の結合性を確認すべく、クロマチン免疫沈降法を行った。シュワン細胞を用いて抗 Sox10 抗体にて免疫沈降を行ったところ、前述の三箇所のいずれの領域においても増幅が確認され、Sox10 の結合性を確認した。

- ・ シュワン細胞培養において増殖条件下と分化条件下において Sox10 および S100B の発現量を確認したところ、増殖条件下では Sox10、S100B ともに発現量が低下し、分化条件下では両者の発現量は増加しており、Sox10-S100B シグナルがシュワン細胞の増殖能に関与する可能性が示唆された。
 - ・ レトロウイルスベクターを用いてシュワン細胞に、S100B と Sox10 それぞれを過剰発現および発現抑制させて増殖能を評価したところ、発現抑制細胞において増殖が亢進していた。シュワン細胞において Sox10-S100B シグナルが細胞増殖に抑制的な作用を有することが考えられた。
 - ・ 後根神経節ニューロンとシュワン細胞の共存培養法 (DRG 分散培養法) により、S100B によるシュワン細胞のミエリン形成能への関与について解析を行った。S100B を発現抑制したシュワン細胞を用いて共存培養を行い、ミエリン形成を MBP の免疫化学染色により評価したところ S100B 発現抑制シュワン細胞において MBP 染色陽性シュワン細胞数が低下し、ミエリン形成が抑制されていることが示された。
- 以上のことからシュワン細胞における機能があまり知られていなかった Sox10-S100B シグナルが、細胞増殖に抑制的な作用を有し、細胞分化においてはミエリン形成に関与することが示唆された。

以上本論文は末梢神経系シュワン細胞において、そのマーカー蛋白である S100B は、転写因子 Sox10 によって発現誘導されていることを明らかにした。また、シュワン細胞における S100B の機能は細胞分化に促進的に働き、増殖に抑制的に働くことが考えられる。シュワン細胞の分化やその機能の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。