

アハメド シャー アディル イッシティアック氏の学位論文審査の要旨

論文題目

Tsukushi is essential for proper maintenance and terminal differentiation of mouse hippocampal neural stem cells

(Tsukushi は、マウス海馬の神経幹細胞の維持と分化に必須である)

Tsukushi (TSK) は申請者の所属する研究室で同定された分泌因子で、Wnt、BMP、Notch といった主要な発生の制御シグナル経路と相互作用することにより、体軸形成や神経板形成といった発生の様々な局面を制御することが示されている。中枢神経系においても、Wnt シグナルを介して網膜発生を制御すること、また前交連形成などの軸索ガイダンスにも重要な働きをすることが明らかにされている。申請者は、記憶・学習などを司る海馬の発生および機能における TSK の役割を明らかにする目的で、TSK ノックアウトマウスを用いた一連の解析を行った。

まず、TSK 遺伝子座に挿入された β ガラクトシダーゼの活性によって、生後マウスにおいて海馬を含む前脳の複数個所における TSK の強い発現を確認した。この発現は、生後 15 日目以降徐々に減衰し、生後 30 日目では海馬歯状回 (DG) に限局することを示した。DG では顆粒細胞下層と顆粒細胞層に広く発現し、各種の細胞系譜マーカーとの共染色を行うと、神経幹細胞、新生ニューロン、アストロサイトで発現が認められた。次に、組織学的解析を行って TSK KO マウスの海馬の表現型を解析し、TSK が欠失するとアンモン角 (CA)、DG を含む海馬領域全体が縮小することを明らかにした。さらに、細胞レベルでの表現型について各種マーカーを用いた免疫組織学的解析を行ったところ、神経新生ニッチである DG における神経幹細胞は数および密度ともに上昇しており、増殖性を示す細胞の割合も増加していた。次に、培養実験によって TSK KO マウスの海馬神経幹細胞の性状を評価した。まず、ニューロスフェアアッセイの結果、TSK KO の海馬では神経幹細胞が増加していることが確認された。さらに、単層培養を行って神経幹細胞の分化能を検討したところ、ニューロンへの分化が亢進する一方で、アストロサイト、およびオリゴデンドロサイトへの分化は抑制されることが明らかとなった。また、分化したニューロンでは、神経突起の伸長に異常が認められた。以上の結果から、TSK が海馬の形成、および神経幹細胞ニッチに重要な役割を果たすことが示された。

審査では、行動・記憶・学習への影響と海馬の表現型との関連、神経幹細胞の増殖が亢進するにもかかわらず海馬が縮小、および側脳室が拡大することの説明、歯状回以外の海馬領域への影響とその機能、海馬の背側と腹側に関する解析、培養実験の免疫染色の結果、神経回路形成への影響、皮質ニューロンへの影響、NeuN による海馬ニューロンの定量、レスキュー実験における TSK 投与量、行動異常のレスキューの可否、TSK 以外によるレスキュー、TSK のレセプター、細胞系譜変化の作用機序、SVZ 神経幹細胞の異常に対するレスキューの可否についてなど、多くの質問がなされたが、申請者から概ね適切な回答と考察がなされた。

本研究は、分泌因子 TSK が海馬の発生、神経幹細胞の恒常性維持と細胞系譜の制御に関与することを初めて示したものであり、海馬を制御する分子機構の解明に新たな知見をもたらしたという点で学位に値する意義ある研究と認めた。

審査委員長 脳発生学担当教授

(署名)

嶋 打 健 児