

氏 名（本籍）	まへ 前	かわ 川	もと 素	こ 子
学位の種類	博 士（医 学）			
学位記番号	医 博 第 2 3 5 0 号			
学位授与年月日	平 成 18 年 3 月 24 日			
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻			
学位論文題目	転写因子 Pax6 は生後海馬の神経幹細胞および神経前駆細胞の維持に必要である			

（主 査）

論文審査委員	教授 大 隅 典 子	教授 八 尾 寛
	教授 曾 良 一 郎	

論文内容要旨

神経新生は脳形成のために重要なイベントの一つで、胎生期に爆発的に起こり生後脳においても海馬歯状回 (GCL) の顆粒下層 (SGZ) や脳室下帯 (SVZ) などの限局された領域で起こり続けている。一方、Pax6は転写制御因子として知られており、胎生期の機能としては脳のパターン化や胎生期の神経新生に重要であることが知られている。Pax6は生後の海馬においても発現し、海馬、SVZ、扁桃体などで発現が認められる。そこで、本研究では、海馬歯状回におけるPax6の発現に注目し、生後海馬神経新生におよぼす転写因子Pax6の役割を調べることにした。

まず、海馬歯状回におけるPax6の発現の分布を調べると、生後神経新生の場として知られるSGZを中心にPax6の発現が認められた。さらに、Pax6発現細胞の性質を詳しく調べるために神経前駆細胞のマーカーGFAPおよびPSA-NCAMを用いて解析を行うと、SGZのPax6発現細胞は、約60%がGFAPを共発現して放射状グリア細胞様の形態を示し、約30%がPSA-NCAMを共発現してクラスターを形成していた。また神経幹細胞のマーカーであるnestinを約30%、Musashi1を約60%共発現した。この結果はPax6発現細胞が神経幹細胞、GFAP陽性早期神経前駆細胞、およびPSA-NCAM陽性後期神経前駆細胞様の性質を持つことを示唆している。さらに、野生型ラットの海馬歯状回に対するBrdU標識30分後のサンプルにおいて、BrdU標識細胞の90%以上がPax6を発現していることがわかった。これは、生後海馬においてPax6が増殖に深く関わることを示唆している。

また、Pax6ヘテロ接合ラット ($rSey^{\Delta}/+$ ラット) を用いて増殖細胞数を定量的に解析すると、 $rSey^{\Delta}/+$ ラットの海馬では増殖細胞数が約30%減少していることがわかった。Pax6と増殖との関係をさらに詳しく調べるために、 $rSey^{\Delta}/+$ ラットに対してBrdUパルス/追跡実験法を行うと、GFAP陽性早期神経前駆細胞からPSA-NCAM陽性後期神経前駆細胞への分化移行が加速していた。また、神経幹細胞を含むと考えられるPax6/GFAP共発現細胞とBrdU長期標識サンプルにおけるBrdU/Pax6共発現細胞の数が約20%減少していた。この結果により、Pax6が神経幹細胞およびGFAP陽性早期神経前駆細胞の未分化性維持に必要であることがわかった。さらに、 $rSey^{\Delta}/+$ ラット海馬歯状回において、Wntシグナル分子の発現やFABP7 (別名FABP7, B-FABP) の発現が著明に減少していた。これらの結果から、生後の海馬神経新生でPax6は神経幹細胞、GFAP陽性早期神経前駆細胞、およびPSA-NCAM陽性後期神経前駆細胞に発現し、神経幹細胞およびGFAP陽性早期神経前駆細胞の未分化性維持に不可欠であることが示唆された。またPax6の下流因子としてはWntやFABP7が考えられ、神経幹細胞/神経前駆細胞の維持に必要である可能性が考えられた。

審査結果の要旨

本研究は、転写因子 Pax6 の生後脳神経新生における機能について解析したものである。神経新生は脳形成のために重要なイベントの一つで、胎生期に爆発的に生じ、生後脳においても海馬歯状回 (GCL) の顆粒下層 (SGZ) や脳室下帯 (SVZ) などの限局された領域で起こり続けるが、その分子メカニズムは未知の点が多い。転写因子 Pax6 は胎生期から生後の脳に発現し、脳の初期パターン形成や神経新生に重要な働きをすることが知られている。Pax6 は生後脳において海馬・脳室下帯 (SVZ) ・嗅球などに発現することは知られていたが、生後の機能についてはほとんど分かっていなかった。そこで本研究では、海馬歯状回における Pax6 の発現に注目し、生後海馬神経新生に及ぼす転写因子 Pax6 の機能を解析した。まず、海馬歯状回における Pax6 の発現の分布と Pax6 発現細胞性質を調べると、生後神経新生の場として知られる SGZ を中心に Pax6 の発現が認められること、Pax6 陽性細胞は神経幹/神経前駆細胞マーカーを共発現する (nestin⁺ 34.4%, Musashi1⁺ 68.7%, GFAP⁺ 59.0%, PSA-NCAM⁺ 31.5%) のに対して成熟神経細胞マーカー NeuN は陰性であること、BrdU 標識 30 分後のサンプルにおいて Pax6 陽性細胞の 7.6% が BrdU 標識されることがわかった。次に、Pax6 の機能が失われた Pax6 遺伝子へテロ接合ラット (*rSey²/+* ラット) を用いて Pax6 と細胞増殖および分化の関係について調べると、*rSey²/+* ラットでは BrdU 標識細胞数が野生型の約 70% に減少していること、GFAP 陽性神経幹/早期神経前駆細胞から PSA-NCAM 陽性後期神経前駆細胞への分化移行が加速していることがわかった。さらに、*rSey²/+* ラット海馬歯状回において、Wnt シグナル分子の発現や FABP7 (別名 BLBP, B-FABP) の発現が著明に減少していることがわかった。これらの結果から、生後海馬で Pax6 は GFAP 陽性神経幹/早期神経前駆細胞および PSA-NCAM 陽性後期神経前駆細胞に発現すること、GFAP 陽性神経幹/早期神経前駆細胞の維持に不可欠であることが示唆された。また Pax6 の下流因子としては Wnt や FABP7 が考えられ、神経幹細胞/神経前駆細胞の維持に関与する可能性が考えられた。

以上のことから、本論文は生後神経新生の分子メカニズムの一端を明らかにしたオリジナリティーの高いものであると考えられ、学位授与に十分値する。