

平成 21 年度 博士前期課程学位論文要旨

学位論文題名 (注: 学位論文題名が欧文の場合は和訳をつけること)

サル胚性幹細胞由来神経幹細胞の増殖に対するメチル水銀の影響
Effects of methylmercury on proliferation of monkey
embryonic stem cell-derived neural stem cells

学位の種類: 修士 (健康科学)

人間健康科学研究科 博士前期課程 人間健康科学専攻
フロンティアヘルスサイエンス系

学修番号 07898602

氏名: 稲田 大助

(指導教員名: 井上 順雄)

注: 1,000 字程度 (欧文の場合 300 ワード程度) で、本様式 1 枚 (A 4 版) に収めること

脳神経系の発達において、神経幹細胞の増殖は、中枢神経系を構成する膨大な数の神経系細胞を供給する上で重要である。水俣病の原因物質であるメチル水銀は成体の脳神経系に重大な障害を引き起こすだけでなく、母体を通じて胎児へ作用することによって、小頭症などの顕著な発達神経毒性を示すことが知られている。したがって、メチル水銀が胎生期の神経幹細胞の増殖に対して重大な影響を与えると推定されるが、これまで十分な研究は行われていない。当研究室はすでにマウス神経幹細胞の増殖が低濃度のメチル水銀によって抑制され、細胞死が誘導されることを報告したが、本研究では、サルの神経幹細胞に対するメチル水銀の影響を検討した。

サル神経幹細胞は、Neural Stem Sphere (NSS) 法によって、サル胚性幹細胞 (ES 細胞) から調製した。すなわち、未分化の ES 細胞のコロニーを、アストロサイト条件培地で浮遊培養することによって、ES 細胞から神経系細胞への一方向的な分化を誘導し、神経幹細胞を含む球状細胞集合体 (NSS) を形成させた。その後、NSS を神経幹細胞の増殖因子である塩基性線維芽細胞増殖因子 (FGF-2) の存在下で接着培養することによって、均質な神経幹細胞を NSS から遊走・増殖させ、調製した。このサル神経幹細胞は、形態学的、免疫化学的および遺伝子発現解析から、神経幹細胞であることを確認した。さらに、FGF-2 存在下で神経幹細胞として活発に増殖し、一方、異なる培養条件では神経細胞へ分化することから、増殖能と神経系細胞への分化能を兼ね備えることも確認した。

この神経幹細胞が増殖する培養条件下に塩化メチル水銀を添加すると、細胞増殖の抑制と細胞死の誘導が起こった。その効果は低濃度のメチル水銀によって引き起こされ、濃度依存的であったが、有効濃度はマウス神経幹細胞よりわずかに高かった。また、TUNEL 法による解析によって、アポトーシスの発生が認められた。一方、メチル水銀を添加して培養しても、神経幹細胞としての性質に影響はなかった。以上から、マウス神経幹細胞と同様にサル神経幹細胞においても、低濃度のメチル水銀が、細胞の増殖抑制やアポトーシスによる細胞死を誘導することによって発達神経毒性を示すことが示唆され、これがヒト胎生期の水俣病の原因となる可能性が示された。