

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)

マウス胚性幹細胞由来神経幹細胞の増殖・分化に対する温熱刺激の影響

Effects of heat shock on proliferation and differentiation of
mouse 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

フロンティアサイエンス系

学修番号: 07898603

氏名: 大森 啓之

(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 (A4 版) に収めること

理学療法では物理療法が行われ、その中でも温熱刺激は臨床で広く用いられている。今後、臨床における温熱刺激の効果を検討する方法の一つとして、培養細胞レベルでの検討が重要となると考えるが、これまで、培養神経系細胞に対する温熱刺激の効果は十分に検討されていない。本研究では、マウス胚性幹細胞 (ES 細胞) から Neural Stem Sphere (NSS) 法によって分化誘導・調製した均質な神経幹細胞に温熱刺激を加え、その後の増殖および神経幹細胞から神経系細胞への分化に対する影響を検討した。

対照群 (Control 群) および温熱刺激群 37℃, 40℃, 42℃, 43℃, 44℃ の条件で、20 分間温熱刺激を加えた後、神経幹細胞を 4 日間培養した。位相差顕微鏡による細胞の形態観察と細胞数の計測、リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子発現の定量的解析、蛍光免疫染色による評価を行った。

細胞の形態観察において、各温熱刺激群の細胞は、短い複数の突起を持つ多角形の細胞体である神経幹細胞の形態的特徴を維持し、Control 群と差異は認められなかった。細胞数においては、温熱刺激群 37℃, 40℃, 42℃ では、培養 4 日目まで対数的に増加し、播種後の接着および増殖において Control 群と差異は認められなかった。しかし、温熱刺激群 43℃ および 44℃ では、顕著な細胞の増殖抑制と死細胞の出現がみられ、細胞数が有意に減少した ($p < 0.05$)。このことから、本研究に用いた神経幹細胞は、安定的に生存可能な温度が 42℃ 以下であり、42℃ までは熱ショック応答により細胞死が抑制されていることが示唆された。遺伝子発現解析においては、神経幹細胞のマーカー遺伝子である Nestin および Musashi-1 の発現および神経幹細胞としての性質をもつ放射状グリアのマーカーである Fabp7 の発現が高く、また、蛍光免疫染色でマーカータンパク質である Nestin の発現も認められ、各群で差異は認められなかったことから、増殖可能な温熱刺激では、神経幹細胞としての基本的性質は維持されると考える。

ES 細胞由来の神経系細胞は、神経系モデル細胞として重要であるばかりでなく、将来の神経系の再生医療分野における移植細胞への応用が期待されている。したがって、本研究は、再生医療分野における理学療法の必要性を検証する上でも重要になると考える。