

平成 20 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）

ES 細胞から神経系細胞への分化過程における

遺伝子発現変化の解析

—新規神経分化マーカー遺伝子の探索—

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 07898605

氏名：前田 智美

（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

胚性幹細胞（ES 細胞）は、神経疾患の再生医療に用いる移植用細胞を供給する細胞の候補として有力である。しかし、再生医療の実現化のためには、ヒト ES 細胞からの優れた分化誘導法を確立することが必須であると共に、ヒト神経分化マーカーを用いて分化機構を解明し、移植用細胞の安全性を検証する必要がある。本研究では、マウスおよびヒト ES 細胞を Neural Stem Sphere（NSS）法によって、選択的に神経系細胞へ分化させ、その分化過程における遺伝子発現を解析して、新規神経分化マーカー遺伝子を探索した。マウスおよびヒト ES 細胞のコロニーは、アストロサイト条件培地中で浮遊培養して細胞集合体を形成させ、それぞれ 4 日目および 20 日目まで培養した。それぞれの分化誘導の途中の過程の細胞集合体から mRNA を回収し、既知のマーカー遺伝子の発現量をリアルタイム RT-PCR 法で解析して、培養によって ES 細胞から神経系細胞への一方向的な分化が起こったことを確認した。さらに、本研究の先行研究として行ったサル ES 細胞の神経分化過程の Gene Chip 解析によって、発現量の増加が認められた 5 つの遺伝子について、マウスおよびヒト ES 細胞の培養に伴う発現量の変化を解析した。その結果、5 つの遺伝子は、マウスおよびヒト ES 細胞から神経系への分化に伴い発現量が増加することが明らかになり、新規神経系細胞のマーカー遺伝子になり得る可能性が示された。しかし、培養に伴う発現の変化は、遺伝子間で異なり、マウス ES 細胞では、遺伝子 2 の発現量が分化誘導初期（培養 1 日目）から増加し、中期（培養 2 日目）にピークになった後、若干減少した。一方、ほかの 4 つの遺伝子の発現は分化誘導後期（培養 3 日目）に顕著になり、4 つの中の 3 つの遺伝子の発現量は 4 日目にさらに増加した。それに対して、ヒト ES 細胞では、培養に伴う遺伝子発現の変化はマウスと若干異なった。すなわち、マウスで初期から発現した遺伝子 2 は、ヒトではむしろ後期に顕著に発現量が増加した。さらに、マウスで後期に発現量が増加した 4 つの遺伝子のうち、ヒトでは遺伝子 4 はマウスと同様に後期に発現が顕著に増加したが、遺伝子 1、遺伝子 5 は初期から発現した。以上の結果から、5 つの遺伝子は新規神経分化のマーカー遺伝子になりうるが、マウスとヒトでは神経系細胞の分化過程において機能に若干の相違があることが示唆された。