

平成 24 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 細胞由来の神経系細胞における Necdin の発現解析

Analysis of Necdin expression in ES cell-derived neural 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学域

学修番号: 09898605

氏名: 鈴木 朝美

(指導教員名: 木下 正信)

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

神経発生において、初期神経管は一層の神経幹細胞 (神経上皮細胞) で構成されるが、発生と共に神経幹細胞は活発に増殖して細胞数を増加させ神経管は肥厚し、神経幹細胞は神経細胞およびグリアへ分化し、移動して、複雑な神経系が構築される。一方、神経幹細胞は神経疾患や損傷の移植治療に用いる神経細胞など神経系細胞の供給源としても注目されている。したがって神経幹細胞の増殖と分化を解明することは非常に重要であるが、神経幹細胞解析用のマーカーは、Nestin など良く知られているものがあるがまだ十分ではない。そこで本研究では神経幹細胞に対する細胞学的解析に利用できる新たなマーカーを探索することを目的とし、胚性幹細胞 (ES 細胞) に由来する神経系細胞を用いて神経細胞に発現する核タンパク質であると報告されている Necdin 遺伝子およびタンパク質の発現を解析した。Neural Stem Sphere (NSS) 法に従い、マウス ES 細胞をアストロサイト条件培地中で浮遊培養して神経系細胞だけに分化させ、分化過程における遺伝子発現変化をリアルタイム RT-PCR を用いて調べた。その結果 Necdin 遺伝子は神経幹細胞が出現する培養 4 日目に現れ、神経細胞が出現する培養 6 日目で最も発現が多くなることから、ES 細胞から神経幹細胞および神経細胞への分化に伴い遺伝子が発現することが分かった。次に均質なマウス ES 細胞、神経幹細胞、神経細胞およびアストロサイトにおける Necdin の遺伝子発現を解析し、Necdin 遺伝子は神経幹細胞、神経細胞およびアストロサイトに発現するが、神経細胞における発現が最も高いことが分かった。さらに抗 Necdin 抗体を用いた蛍光免疫染色法により、マウス神経幹細胞、神経細胞およびアストロサイトにおいて、すべての細胞の核周辺あるいは細胞質に Necdin タンパク質の発現を確認し、遺伝子発現解析の結果を裏付けることができた。一方、ヒト ES 細胞を NSS 法に従い神経系細胞へ分化誘導させて Necdin 遺伝子の発現変化を調べたところ、マウスと同様に、神経幹細胞が出現し神経細胞へ分化するとともに Necdin 遺伝子の発現が見られ増加することが分かった。以上の結果より、Necdin は種の違いによらず神経系細胞に普遍的に存在するが、神経細胞で特に高いこと、そして神経系細胞のマーカーとして利用できる可能性があることが示唆された。