

論文内容の要旨

申請者氏名 辻村 啓太

神経幹細胞は自己複製能を有するとともに中枢神経系の主要な細胞種であるニューロン、アストロサイト及びオリゴデンドロサイトへの多分化能をもった細胞である。マウスの神経幹細胞は胎生中期においてニューロンへのみ分化するが、胎生後期にはアストロサイト特異的遺伝子プロモーター中の **Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)** 結合配列を含む領域が脱メチル化を受けることによりアストロサイトへの分化能を獲得し、多分化能を持った神経幹細胞へと成熟する。中枢神経系においてニューロンで高発現するメチル化 DNA 結合タンパク質ファミリーのメンバーである **Methyl CpG-binding protein 2 (MeCP2)** はメチル化された遺伝子に結合することで転写抑制因子として作用する。MeCP2 の変異により重度の精神神経疾患であるレット症候群が発症することが知られている。レット症候群は女兒のみに発症する進行性の神経発達障害で、精神遅滞および言語や運動の発達障害などを特徴とする。MeCP2 はこれまでに神経幹細胞の細胞運命決定というよりはニューロンの成熟に関与することが報告されている。本研究において、メチル化 DNA 結合タンパク質 MeCP2 を神経幹細胞に発現させたところ、MeCP2 はアストロサイトへの分化を誘導するサイトカインである **Leukemia inhibitory factor (LIF)** や **Bone morphogenic protein 2 (BMP2)** 存在下においてアストロサイトへの分化を抑制するだけでなく、ニューロンへの分化を促進できることが明らかになった。これまでに、ニューロン分化において **Ras-extra cellular signal regulated kinases(ERK)** 経路の活性化が重要な役割を果たしていることが報告されている。この MeCP2 の作用は **Ras-ERK** 経路で ERK の上流で機能している **MAPK/ERK kinase(MEK)** の阻害剤(U0126)により消失した。さらにレット症候群において高頻度にみられる欠失変異体やメチル化 DNA 結合ドメインおよび転写抑制ドメインの 1 アミノ酸置換型ミスセンス変異体は、野生型にみられるアストロサイト分化抑制作用とニューロン分化促進作用が消失していることが明らかになった。このことは、MeCP2 のニューロン分化促進作用という新規作用がレット症候群の病態に関与する可能性を示唆している。また、質量分析により神経幹細胞における MeCP2 結合タンパク質を網羅的に解析し、MeCP2 の新規相互作用因子をいくつか同定した。さらに、MeCP2 を発現する神経幹細胞を非神経新生領域である線条体と脊髄に移植した結果、MeCP2 を発現する移植神経幹細胞はこれらの非神経新生領域においてもニューロンへと分化することが観察された。このことから、MeCP2 は *in vitro* および *in vivo* においてニューロン分化を誘導できることが明らかになった。加えて、MeCP2 を発現する神経幹細胞は損傷脊髄においてもアストロサイトへは分化せずにニューロンへと分化することが観察された。これらの結果は、MeCP2 の作用を神経変性疾患や中枢神経系の損傷に対する治療へ応用できる可能性を示している。

論文審査結果の要旨

申請者氏名 辻村 啓太

MeCP2 の変異により重度の精神神経疾患であるレット症候群が発症することが知られている。レット症候群は女兒のみに発症する進行性の神経発達障害で、精神遅滞および言語や運動の発達障害などを特徴とする。MeCP2 はこれまでに神経幹細胞の細胞運命決定というよりはニューロンの成熟に関与することが報告されている。本研究において、メチル化 DNA 結合タンパク質 MeCP2 を神経幹細胞に発現させたところ、MeCP2 はアストロサイトへの分化を誘導するサイトカインである Leukemia inhibitory factor (LIF) や Bone morphogenic protein 2 (BMP2) 存在下においてアストロサイトへの分化を抑制するだけでなく、ニューロンへの分化を促進できることが明らかになった。これまでに、ニューロン分化において Ras-extra cellular signal regulated kinases (ERK) 経路の活性化が重要な役割を果たしていることが報告されている。この MeCP2 の作用は Ras-ERK 経路で ERK の上流で機能している MAPK/ERK kinase (MEK) の阻害剤 (U0126) により消失した。さらに、MeCP2 を発現する神経幹細胞を非神経新生領域である線条体と脊髄に移植した結果、MeCP2 を発現する移植神経幹細胞はこれらの非神経新生領域においてもニューロンへと分化することが観察された。このことから、MeCP2 は *in vitro* および *in vivo* においてニューロン分化を誘導できることが明らかになった。加えて、MeCP2 を発現する神経幹細胞は損傷脊髄においてもアストロサイトへは分化せずにニューロンへと分化することが観察された。これらの結果は、MeCP2 の作用を神経変性疾患や中枢神経系の損傷に対する治療へ応用できる可能性を示している。また、レット症候群において高頻度にみられる欠失変異体やメチル化 DNA 結合ドメインおよび転写抑制ドメインの 1 アミノ酸置換型ミスセンス変異体は、野生型にみられるアストロサイト分化抑制作用とニューロン分化促進作用が消失していることが明らかになった。このことは、MeCP2 のニューロン分化促進作用という新規作用がレット症候群の病態に関与する可能性を示唆している。また、質量分析により神経幹細胞における MeCP2 結合タンパク質を網羅的に解析した。その結果、いくつかの転写因子や RNA 結合タンパク質が MeCP2 の神経相互作用因子として同定された。これらの結果は、MeCP2 がメチル化および転写非依存的機構により遺伝子発現を制御できることを示唆している。

以上のように、本論文は中枢神経系の損傷および精神神経疾患に対する治療法の開発を示唆するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。