

氏 名	なんぶ ゆり 南部 有理
学位(専攻分野)	博 士 (学 術)
学 位 記 番 号	博 1 1 5 5 号
学 位 授 与 の 日 付	令和 7 年 3 月 21 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研 究 科 ・ 専 攻	工芸科学研究科 バイオテクノロジー専攻
学 位 论 文 題 目	Proliferation and differentiation of neural stem cells in the medulla oblongata of adult mice (成体マウスの延髄に存在する神経幹細胞の増殖と分化)
審 査 委 員	(主査)教授 宮田 清司 教授 片岡 孝夫 准教授 吉村 亮一

論文内容の要旨

神経幹細胞は、自己複製能と多分化能を有する未分化な幹細胞であり、胎生期や発育期の脳では増殖しているが、成体脳には存在しないと長年考えられてきた。このドグマは、「Neuron Theory」を確立したノーベル賞受賞者サンティアゴ・ラモン・イ・カハールが 1928 年の著書の中で「成体哺乳類の中枢神経系は損傷を受けると二度と再生しない」と提唱して以来、約 70 年にわたって広く信じられてきた。しかし、20 世紀終盤以降の研究により、ヒトを含む成体哺乳類の脳には神経幹細胞が存在し、生涯にわたって新しい神経細胞やグリア細胞を生み出していることが証明された。成体脳の神経幹細胞の機能は脳部位特異的である。例えば、海馬の神経幹細胞は記憶や学習機能に関与し、側脳室下帯の神経幹細胞は嗅覚機能に関与していることが知られている。さらに、近年これら 2 つの脳部位に加えて延髄にも神経幹細胞が存在することが報告されている。延髄は、魚類や両生類にも共通する脳幹の一部であり、呼吸、嘔吐、嚥下、消化、心拍数の調節など生命維持機能に必須の中枢が存在している。本申請論文では、今までほとんど解明が進んでいないマウス延髄の神経幹細胞に着目し、その増殖と分化の基礎的特性および環境因子についての研究をまとめた。さらに、延髄・最後野の神経細胞を実験的に脱落させた際の神経新生と修復について検討した。本申請論文は、「序論」、第 1 章「成体マウス脳の延髄におけるアストロサイト様とタニサイト様神経幹細胞の増殖に及ぼすレプチンの効果」、第 2 章「長期の走行とコルチコステロン投与が成体マウスの最後野アストロサイト様神経幹細胞の増殖に及ぼす影響」、第 3 章「グルタミン酸投与による成体マウスの延髄・最後野の神経脱落と再生」、および「総括」から構成されている。

第 1 章では、ニューロスフィア培養を行い、アストロサイト様とタニサイト様神経幹細胞が 6 代継代後も増殖能を有することを示した。さらに、2 代継代後のニューロスフィア細胞を分化専用培地で培養すると、アストロサイト、オリゴデンドロサイト、ニューロンに分化すること

を明らかにした。ニューロスフィア培養およびプロモデオキシウリジン (BrdU) 免疫組織化学を用いた *in vivo* 動物実験より、アストロサイト様神経幹細胞は比較的活発に増殖しているが、タニサイト様神経幹細胞はほぼ休眠状態であることが判明した。次に、飽食ホルモンであるレプチンをニューロスフィア培養した神経幹細胞に添加するとアストロサイト様神経幹細胞の増殖が促進されたが、タニサイト様神経幹細胞は変化がなかった。*in vivo* の動物実験からもレプチンの末梢投与はアストロサイト様神経幹細胞の増殖を促進したが、タニサイト様神経幹細胞には影響がなかった。免疫組織化学によりレプチン受容体の発現を確認したところ、アストロサイト様神経幹細胞にのみレプチン受容体の発現が確認され、増殖実験の結果を裏付ける結果となった。一方、成体マウスを飢餓状態で飼育すると、アストロサイト様神経幹細胞の増殖は有意に減少した。以上の結果は、マウスの延髄には異なる種類の神経幹細胞が存在し、飽食／飢餓シグナルが、延髄のアストロサイト様神経幹細胞の増殖に大きく影響を与えることを示唆した。

第2章では、長期の車輪走行とコルチコステロン投与が、最後野と海馬歯状回におけるアストロサイト様神経幹細胞の増殖に与える影響を調べた。長期の走行は、成体マウスの最後野における BrdU 標識アストロサイト様神経幹細胞の数を有意に減少させたが、歯状回における BrdU 標識神経幹細胞および神経幹細胞の数は顕著に増加させた。コルチコステロンの慢性投与は、最後野における BrdU 標識神経幹細胞数を著しく減少させたが、歯状回では減少させなかった。これらの結果は、延髄におけるアストロサイト様神経幹細胞の増殖が、慢性的なランニングとコルチコステロン投与によって減少することを示した。

第3章では、成体マウス最後野の神経細胞が脱落しても、神經新生により神經細胞密度が正常レベルまで回復することを証明した。グルタミン酸ナトリウム (MSG) の皮下投与は、最後野の HuC/D 陽性神経細胞に顕著な Fos 発現を誘導した。MSG 投与は、投与後 3～21 日の間に神經細胞死を引き起こし、HuC/D 陽性神経細胞密度を明らかに減少させた。しかし、神經密度は投与後 35 日にはコントロールレベルまで回復した。また、MSG 投与は、数日以内に神經細胞死を誘導し、同時にミクログリアが変性した神經細胞を貪食することが確認された。MSG は、投与後 7 日以内に、BrdU で標識された神經幹細胞と BrdU で標識された神經前駆細胞を著しく増加させた。神經細胞密度が正常に戻った MSG 投与後 35 日には、BrdU 標識され分裂した細胞は HuC/D 陽性の成熟神經細胞であることが多数観察された。これらの結果から、MSG 投与により成体マウスの最後野特異的に神經細胞死を引き起こすことが可能であり、最後野では減少した神經細胞密度が神經新生によって正常レベルまで回復することが明らかとなった。

論文審査の結果の要旨

再生医療の進歩は、従来の治療方法で治すことが出来なかつた疾病に対して有効な治療方法の開発に繋がる可能性がある。例えば、iPS 細胞から作出した神經幹細胞をドーパミン性神經に分化させ、パーキンソン病患者の脳への移植が試みられている。パーキンソン病はドーパミン産生

能力が低下することにより生じる脳疾病であり、移植により脳内ドーパミン量を持続的に増加させることによって、症状の改善が期待できる。一方、神経ネットワークの再構築は単純な仕組みではなく、外来性の神経幹細胞を移植しても正常な神経ネットワークを再構築できるかは不明である。一方で、内在性の神経幹細胞は、決められた仕組みの中で細胞運命が決められている。よって、内在性の神経幹細胞を人工的に操作することが出来れば、新しい再生医療への道が開ける可能性がある。成体脳の延髄には、最後野にアストロサイト様神経幹細胞と中心管にタニサイト様神経幹細胞が存在している。しかし、これらの神経幹細胞が、延髄の神経細胞の損傷に対して新しい神経細胞を供給する能力があるかどうかについては、今まで明らかになっていなかった。申請者は、第1章で、成体マウス延髄の神経幹細胞の増殖と分化の特徴を初めて明らかにした。第2章では、ランニングやストレスホルモンなどの生体環境因子が、延髄の神経幹細胞増殖に与える影響を解明した。第3章では、MSG処理により、延髄・最後野の神経細胞が選択的に死滅するが、神経幹/前駆細胞が増殖し、成熟神経細胞へ分化することで、正常レベルの神経密度に戻ることを示した。

延髄は、脳幹の一部であり、延髄を損傷すると、肢体麻痺や呼吸困難などが起り、生命を維持することが困難になる。本研究の結果は、延髄の損傷時に神経幹/前駆細胞から新しい神経細胞が供給されることを哺乳類で初めて明らかにしたもので、学術的意義が非常に高い。また、これらの研究は、医学的意義も大きく、延髄の内在性神経幹細胞を人為的に制御することが出来れば、延髄の損傷により肢体麻痺や呼吸困難となった脳疾病の新しい治療方法の開発に繋がる可能性がある。

本学位論文の内容を構成する主論文として、以下の査読制度の確立されている国際科学雑誌に、筆頭著者として2編、第2著者として1編、計3編が掲載されている。

[主論文]

- 1) Yuri Nambu, Koji Ohira, Mitsuhiro Morita, Hiroki Yasumoto, Erkin Kurjanov, Seiji Miyata. Effects of leptin on proliferation of astrocyte- and tanycyte-like neural stem cells in the adult mouse medulla oblongata. *Neuroscience Research.* (2021) 173:44-53.
- 2) Yuri Nambu, Kohei Horie, Erkin Kurjanov, Seiji Miyata. Chronic running and a corticosterone treatment attenuate astrocyte-like neural stem cell proliferation in the area postrema of the adult mouse brain. *Neuroscience Letters.* (2021) 748:135732.
- 3) Rena Fujii, Yuri Nambu, Nitin Sawant Shirikant, Eriko Furube, Mitsuhiro Morita, Ryoichi Yoshimura, Seiji Miyata. Neuronal regeneration in the area postrema of adult mouse medulla oblongata following glutamate-induced neuronal elimination. *Neuroscience.* (2024) 563:188-201.

また参考論文として、以下の国際科学雑誌に第3著者として1編が掲載されている。

[参考論文]

- Eriko Furube, Haruna Ishii, Yuri Nambu, Erkin Kurjanov, Sumiharu Nagaoka, Mitsuhiro Morita, Seiji Miyata. Neural stem cell phenotype of tanycyte-like ependymal cells in the circumventricular organs and central canal of adult mouse brain. *Scientific Reports.* (2020) 10:2826.