

Title	MIFによる神経幹細胞制御の統合的理
Sub Title	Toward an integrated understanding MIF's function regulating NSC
Author	大多, 茂樹(Ohta, Shigeki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>以前の研究で、MIFが神経幹・前駆細胞の増殖・生存維持に関わる因子であることを報告した。今回の研究ではTPT1が神経幹・前駆細胞においてMIFにより発現制御されることを明らかにした。TPT1がマウス胎生14.5日脳室周囲に発現することや、マウス培養神経幹・前駆細胞において、MIF刺激によるTPT1遺伝子の発現亢進を見出した。これらとは別に、ZFHX4が新たにMIFおよびTPT1によりマウス培養神経幹・前駆細胞において発現制御されることも見出した。さらに、胎児脳でZFHX4がNestinと共に発現しうることが^{in silico} scRNA-Seqデータからも明らかとなった。また、レンチウイルスによるTPT1の過剰発現によりマウス神経幹・前駆細胞の細胞増殖が促進されたのに対し、TPT1を発現抑制させた場合は逆に細胞増殖抑制を認めた。ヒトES細胞由来神経幹・前駆細胞においても、MIFによるTPT1の発現制御が同様に認められると同時に、TPT1の発現抑制により細胞増殖抑制および神経分化の低下が認められた。同様な現象はゲノム編集によりTPT1の発現が抑制されたヒトiPS細胞由来神経幹・前駆細胞でも観察された。ヒトES細胞由来神経幹・前駆細胞において、TPT1-miR338-SMOからなるシグナルカスケードを見出し、それらが細胞増殖制御に関与することを見出した。</p> <p>以前の研究において、MIF-CHD7シグナル系譜がグリオーマ幹細胞の細胞増殖調節を行っていることを明らかにした。グリオーマ幹細胞においてTPT1がそれら因子の制御下にあることを見出した。また、グリオーマ幹細胞においてTPT1の発現抑制を行うと細胞増殖抑制が起きると共に、BMI1, ASPM, MYCN遺伝子の発現抑制、miR338の発現亢進を伴うことを見出した。さらに、ZFHX4の発現抑制によってもグリオーマ幹細胞の細胞増殖抑制が認められた。免疫不全マウスにヒトグリオーマ幹細胞を移植するモデルにおいて、TPT1を発現抑制させた担癌マウスはコントロールと比較して有意に生存期間を延長した。このことは、本研究がグリオーマ治療開発に貢献しうることを示す。</p> <p>In the previous study, Macrophage migration inhibitory factor (MIF) was identified as a factor, which can support the proliferation and/or survival of murine neural stem/progenitor cells (NSPCs). In the present study, we identified TPT1 (Tumor Protein, Translationally-Controlled 1) as a MIF signaling downstream target in NSPCs. TPT1 is expressed in cultured mouse NSPCs and the ventricular zone of mouse brain at embryonic day 14.5. MIF-treated murine NSPCs increased the Tpt1 gene expression. In addition, overexpression of Tpt1 in mouse NSPCs increased and in contrast, gene silencing of Tpt1 decreased the cell proliferation in vitro. We also identified that Zfhx4 (zinc finger homeobox 4) gene expression was also downregulated by either Mif or Tpt1 gene silencing in mouse NSPCs in vitro. ^{In silico} single cell RNA-seq data showed that Nestin and Zfhx4 coexpressed in mouse fetal brain. In human ES cell-derived NSPCs (hES-NSPCs), lentivirus-mediated gene silencing of MIF decreased the gene expression of Tpt1. Over-expression of TPT1 increased cell proliferation and in contrast, lentivirus-mediated gene silencing of Tpt1 decreased the cell proliferation and neurogenesis in hES-NSPCs. Importantly, the same decrease of cell proliferation and defect of neurogenesis were observed in human NSPCs generated from iPSCs harboring CRISPR/Cas9-mediated heterozygous disruption of the Tpt1 compared with the wild-type cells in vitro. Moreover, the TPT1-miR338-SMO axis was identified as regulating the cell proliferation of hES-NSPCs in vitro. In a previous study, we reported the functions of MIF-CHD7 (Chromodomain-Helicase-DNA-binding protein 7) axis in brain tumor initiating cells (BTICs), regulating cell proliferation. We found that Tpt1 gene expression was regulated by MIF and CHD7, respectively, and Tpt1 gene silencing accompanied with gene downregulation of BMI1, ASPM and MYCN and upregulation of miR338, leading to decreased cellular proliferation of BTICs. Finally, we examined the therapeutic effect of TPT1 in a nude mouse model. BTICs infected with either lentiv-shTPT1 or lenti-shControl were implanted into the brains of nude mice. Mice implanted with lentiv-shTPT1-infected BTICs showed longer overall survival than the control group. These results open new avenues for the development of glioma therapies.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180332

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部附属先端医科学研究所	職名	専任講師(有期・医学部)	補助額	300 (A) 千円
	氏名	大多 茂樹	氏名（英語）	Shigeki Ohta		

研究課題（日本語）

MIFによる神経幹細胞制御の統合的理

研究課題（英訳）

Toward an integrated understanding MIF's function regulating NSC

1. 研究成果実績の概要

以前の研究で、MIF が神経幹・前駆細胞の増殖・生存維持に関わる因子であることを報告した。今回の研究では TPT1 が神経幹・前駆細胞において MIF により発現制御されることを明らかにした。TPT1 がマウス胎生 14.5 日脳室周囲に発現することや、マウス培養神経幹・前駆細胞において、MIF 刺激による TPT1 遺伝子の発現亢進を見出した。これらとは別に、ZFHX4 が新たに MIF および TPT1 によりマウス培養神経幹・前駆細胞において発現制御されることも見出した。さらに、胎児脳で ZFHX4 が Nestin と共に発現しうることが *in silico* scRNA-Seq データからも明らかとなった。また、レンチウイルスによる TPT1 の過剰発現によりマウス神経幹・前駆細胞の細胞増殖が促進されたのに対して、TPT1 を発現抑制させた場合は逆に細胞増殖抑制を認めた。ヒト ES 細胞由来神経幹・前駆細胞においても、MIF による TPT1 の発現制御が同様に認められると同時に、TPT1 の発現抑制により細胞増殖抑制および神経分化の低下が認められた。同様な現象はゲノム編集により TPT1 の発現が抑制されたヒト iPSC 細胞由来神経幹・前駆細胞でも観察された。ヒト ES 細胞由来神経幹・前駆細胞において、TPT1-miR338-SMO からなるシグナルカスケードを見出し、それらが細胞増殖制御に関与することを見出した。

以前の研究において、MIF-CHD7 シグナル系譜がグリオーマ幹細胞の細胞増殖調節を行っていることを明らかにした。グリオーマ幹細胞において TPT1 がそれら因子の制御下にあることを見出した。また、グリオーマ幹細胞において TPT1 の発現抑制を行うと細胞増殖抑制が起きると共に、BMI1, ASPM, MYCN 遺伝子の発現抑制、miR338 の発現亢進を伴うことを見出した。さらに、ZFHX4 の発現抑制によってもグリオーマ幹細胞の細胞増殖抑制が認められた。免疫不全マウスにヒトグリオーマ幹細胞を移植するモデルにおいて、TPT1 を発現抑制させた担癌マウスはコントロールと比較して有意に生存期間を延長した。このことは、本研究がグリオーマ治療開発に貢献しうることを示す。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

In the previous study, Macrophage migration inhibitory factor (MIF) was identified as a factor, which can support the proliferation and/or survival of murine neural stem/progenitor cells (NSPCs). In the present study, we identified TPT1 (Tumor Protein, Translationally-Controlled 1) as a MIF signaling downstream target in NSPCs. TPT1 is expressed in cultured mouse NSPCs and the ventricular zone of mouse brain at embryonic day 14.5. MIF-treated murine NSPCs increased the Tpt1 gene expression. In addition, overexpression of Tpt1 in mouse NSPCs increased and in contrast, gene silencing of Tpt1 decreased the cell proliferation in vitro. We also identified that Zfhx4 (zinc finger homeobox 4) gene expression was also downregulated by either Mif or Tpt1 gene silencing in mouse NSPCs in vitro. In silico single cell RNA-seq data showed that Nestin and Zfhx4 coexpressed in mouse fetal brain. In human ES cell-derived NSPCs (hES-NSPCs), lentivirus-mediated gene silencing of MIF decreased the gene expression of Tpt1. Over-expression of TPT1 increased cell proliferation and in contrast, lentivirus-mediated gene silencing of Tpt1 decreased the cell proliferation and neurogenesis in hES-NSPCs. Importantly, the same decrease of cell proliferation and defect of neurogenesis were observed in human NSPCs generated from iPSCs harboring CRISPR/Cas9-mediated heterozygous disruption of the Tpt1 compared with the wild-type cells in vitro. Moreover, the TPT1-miR338-SMO axis was identified as regulating the cell proliferation of hES-NSPCs in vitro. In a previous study, we reported the functions of MIF-CHD7 (Chromodomain-Helicase-DNA-binding protein 7) axis in brain tumor initiating cells (BTICs), regulating cell proliferation. We found that Tpt1 gene expression was regulated by MIF and CHD7, respectively, and Tpt1 gene silencing accompanied with gene downregulation of BMI1, ASPM and MYCN and upregulation of miR338, leading to decreased cellular proliferation of BTICs. Finally, we examined the therapeutic effect of TPT1 in a nude mouse model. BTICs infected with either lenti-shTPT1 or lenti-shControl were implanted into the brains of nude mice. Mice implanted with lenti-shTPT1-infected BTICs showed longer overall survival than the control group. These results open new avenues for the development of glioma therapies.

3. 本研究課題に関する発表

発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)
Shigeki Ohta, Ayako Tokumitsu, Takafumi Sone, Ayuna Sakamoto, Yutaka Kawakami, Hideyuki Okano	MIF modulates the proliferation of neural stem/progenitors cells and glioma initiating cells	第41回日本分子生物学会(横浜)	2018年11月28