

要 約

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	津 山 淳
主 論 文 題 名				
MicroRNA-153 Regulates the Acquisition of Gliogenic Competence by Neural Stem Cells (MicroRNA-153は神経幹細胞のグリア分化能獲得を制御する)				
(内容の要旨)				
<p>神経幹/前駆細胞 (NSPCs) は、発生過程においてニューロンへのみ分化する初期型 NSPCs から、アストロサイトやオリゴデンドロサイトを含むグリアへの分化能を持つ後期型 NSPCs へと性質を変化させる。しかしながら、NSPCs のグリア分化能獲得メカニズムは未だ謎が多い。そこで、本研究は NSPCs のグリア分化能を規定しうる遺伝子を新たに同定し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。</p> <p>本研究では、NSPCs のグリア分化能獲得に必須な Nuclea factor I-A (NFIA) 転写因子の下流で発現が変動する microRNA (miRNA) に着目した。NFIA によって発現が亢進、あるいは抑制された miRNA を Lentivirus vector を用いてマウス ES 細胞由来 neurosphere に過剰発現させた。NFIA によって発現抑制された miRNA である microRNA-153 (miR-153) を <i>in vitro</i> において過剰発現させると、適切な時期にアストロサイトへの分化能が獲得されなくなった。また、<i>in situ</i> hybridization 法および定量 RT-PCR 法を用いて miR-153 の発現パターンを確認したところ、miR-153 は大脳皮質 NSPCs において、神経発生の初期特異的な因子であることが示された。次に、<i>in vivo</i> の神経幹/前駆細胞に miR-153 を過剰発現させるとアストロサイトへ分化する細胞が減少し、代わりにニューロンおよび未分化マーカー陽性の細胞数が増加した。中間前駆細胞や増殖細胞数への影響が見られなかったことから、グリア分化能の獲得が阻害された結果、ニューロン新生期間が延長され、ニューロンの数が増加したと考えられた。続いて、標的因子を同定するため、miR-153 過剰発現によって発現が抑制され、初期型 NSPCs に比べ後期型 NSPCs で発現が高く、miR-153 を抑制する NFIA 過剰発現によって発現が上昇する因子の中から miR-153 の予測結合配列を持つ遺伝子を探索したところ、NFIA および NFIB が同定された。レポーターアッセイによって miR-153 は NFIA と NFIB を直接的に抑制することが示された。また、NFIA と NFIB を shRNA によって機能抑制すると、アストロサイトへの分化が著しく抑制されることを確認した。さらに、NFIA および NFIB の共発現によって、miR-153 によるグリア分化抑制効果をレスキューすることができた。最後に、miR-153 の機能抑制実験を行ったところ、異所性に NFIA/NFIB の発現が誘導され、早期にアストロサイト分化能が獲得された。</p> <p>これらの結果から、miR-153 は NFIA および NFIB を介して、NSPCs のアストロサイト分化能獲得時期を制御していると結論した。</p>				