

令和4年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		神経幹細胞の分化におけるヘッジホッグシグナルの役割		
新規・継続の別		新規 ・ ■継続		
研究代表者	所属	奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科・バイオサイエンス領域	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	准教授・笹井紀明		
研究分担者 (適宜行を追加し て下さい)	所属		/	/
	職名・氏名			
	所属		/	/
	職名・氏名			
受け入れ教員	職名・氏名			
概要 (100～150字程度)		<p>神経幹細胞は中枢神経系に存在する未分化性の細胞で、生涯にわたって存在し、神経損傷や細胞外からのシグナルに応答して増殖・分化を開始する。一方、膜タンパク質 Prominin-1 (Prom1) はこの神経幹細胞に高い発現量を示す。申請者は神経幹細胞の分化メカニズムを明らかにする上で、貴研究所・近藤亨教授が樹立した Prominin-1 遺伝子変異マウスを利用し、神経幹細胞の増殖、神経損傷に対する応答の多様性を明らかにすることを旨とする。</p>		
研究目的 (300字程度)		<p>Prom1 は神経幹細胞に高い発現を示すため、神経幹細胞の維持または神経幹細胞からの神経・グリア分化に必須の役割を果たす可能性が高い。一方、ヘッジホッグシグナルは主に発生過程において細胞分化・増殖に関与するが、この神経幹細胞の維持や分化過程にも必須であることが、申請者らによるものも含めて以前の研究からすでに明らかになっている。そこで、野生型並びに Prom1 変異マウスに脊髄損傷を与えて神経幹細胞を活性化させ、その治癒過程における遺伝子発現や分化能の違いを比較した。さらに、アデノ随伴ウイルス (Adeno Associated Virus; AAV) を損傷部位に導入して神経幹細胞の遺伝子発現改変を試みた。</p>		
研究内容・成果 (1000字程度・Web会議の回数も記載)		<p>(1)野生型または Prom1 変異マウスにおける脊髄損傷モデルの構築と神経幹細胞の活性化。</p> <p>神経幹細胞がその分化能を発揮するのは、神経組織が物理的損傷など外部からの刺激を受けた時である。この過程における Prom1 の関与を明らかにする目的で、野生型または Prom1 遺伝子変異の成体マウスの脊髄に人工的に損傷を導入し、その回復過程における損傷部位の遺伝子発現や、野生型と Prom1 変異マウスの回復能の違いを解析した。</p> <p>その結果、Prom1 変異マウスに脊髄損傷を与えたマウスでは、</p>		

	<p>損傷からの回復過程においてグリア細胞の遺伝子発現の一部が野生型に比べて変化することや、神経幹細胞の増殖能が弱化する傾向にあることが観察された。このことは、Prom1 が、損傷応答における神経幹細胞の増殖能や分化方向の決定に必須の役割を果たすことを意味する。</p> <p>一方、ヘッジホッグシグナルは細胞の増殖や分化に必要とされるシグナルの1つであり、これもまた神経幹細胞の維持・分化に関与することが示唆されている。そこで、ヘッジホッグシグナルの活性化がリアルタイムに観察できるレポーターマウス（GBS-GFP トランスジェニックマウス）と Prom1 変異マウスを交配して上記と同様の脊髄損傷応答を観察したところ、Prom1 変異マウスでは GBS-GFP 陽性細胞数が減少していることが明らかとなった。このことから、損傷応答における神経幹細胞の増殖・分化にはヘッジホッグシグナルが必須であること、またこの過程に Prom1 が関与することが明らかになった。現在、どの細胞に分化する過程にヘッジホッグシグナルが必要なのか、また Prom1 がこの過程に関わる詳細について解析を進めている。</p> <p>(2) AAV の導入による神経幹細胞の遺伝子発現の改変</p> <p>AAV は分化途上にある細胞の遺伝子発現を改変する上で、遺伝子不導入法として有用である。そこで、GFP（コントロール）や一部のヘッジホッグ関連遺伝子を損傷部位に導入し、特に Prom1 変異マウスにおいて遺伝子発現の変化や機能回復が見られるかを解析している。現在までに、システム自体がワークするところまでは明らかになっているため、今後機能遺伝子の導入を進めていく。</p> <p>上記の研究に関連して、データ内容や実験技術の情報交換に関する Web 会議を 2 回行った。また 2023 年 3 月に貴研究所を訪問し、成果発表に向けた戦略について近藤亨教授と直接議論した。いずれも、当初は想定していなかった技術の情報交換や戦略の策定につながるものであり、有意義であった。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 該当なし</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと ピアレビュー雑誌への論文発表（3件） (1) Akiko Hori, Kenji Nishide, Yuki Yasukuni, Kei Haga, Wataru Kakuta, Yasuyuki Ishikawa, Matthew J Hayes, Shin-ichi Ohnuma, Hiroshi Kiyonari, Kazuhiro Kimura, Toru Kondo, Noriaki Sasai. “Prominin-1 modulates Rho/ROCK-mediated membrane morphology and</p>

	<p>calcium-dependent intracellular chloride flux.” Scientific Reports (2019) vol. 9,15911. (IF=4.996) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31685837</p> <p>(2) Atsuki Yatsuzuka, Akiko Hori, Minori Kadoya, Mami Matsuo-Takasaki, Toru Kondo, Noriaki Sasai. “GPR17 is an essential regulator for the temporal adaptation of Sonic Hedgehog signalling in neural tube development.” Development (2019) vol. 146, dev176784 (IF=6.862) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31444216</p> <p>(3) Noriaki Sasai, Michinori Toriyama, Toru Kondo “Hedgehog signal and genetic disorders” Frontiers in Genetics (2019) vol.10, 1103 (IF=4.772) https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31781166</p>
	<p>【新聞報道】 該当なし</p>