



Title	Mouse embryonic dorsal root ganglia contain pluripotent stem cells that show features similar to embryonic stem cells (ES cells) and induced pluripotent stem cells (iPS cells)
Author(s)	小川, 竜平
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.18910/67111
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (小川 竜平)	
論文題名	Mouse embryonic dorsal root ganglia contain pluripotent stem cells that show features similar to embryonic stem cells (ES cells) and induced pluripotent stem cells (iPS cells) マウス胚後根神経節は胚性幹細胞 (ES 細胞)および人工多能性幹細胞 (iPS 細胞)と同様の特徴を示す多能性幹細胞を含む
論文内容の要旨	
神経冠は脊椎動物特有の胚組織で、神経細胞やグリア細胞などの外胚葉系の細胞種と平滑筋細胞や軟骨細胞などの中胚葉系の細胞種を形成し、複数の細胞種へと分化する能力 (multipotency)を持つことが知られている。最近、<i>Xenopus</i>神経冠細胞が、<i>in vitro</i>において、内胚葉細胞にも分化できることが報告された (Buitrago-Delgado <i>et al.</i>, 2015)。したがって、マウス神経冠細胞においても、外胚葉・中胚葉・内胚葉といった三胚葉系への細胞種への分化能を持つ可能性が示唆される。以前の報告で、三胚葉系への分化能を持つ細胞は、多能性 (pluripotency)を持つ細胞であることが提示されている。そこで、本研究では三胚葉系への分化能を持つ細胞を、pluripotencyを持つ細胞と定義した。したがって、マウス神経冠細胞はpluripotencyを持つ細胞であるかもしれない。さらに、一部の神経冠細胞はmultipotencyを維持し、後根神経節 (dorsal root ganglion; DRG)、腸、骨髄、皮膚などで神経冠細胞由来幹細胞 (neural crest-derived stem cells; NCSCs)を形成する。これらの報告は、発生初期の胚細胞が持つpluripotencyが、神経冠細胞、さらにNCSCsへと引き継がれる可能性を示唆する。そこで本研究では、NCSCsがES細胞やiPS細胞といった多能性幹細胞 (pluripotent stem cells; PSCs)と同様の性質を持つかを検証した。 本研究から、マウス胚DRGにおいてマウスES細胞やiPS細胞のpluripotencyマーカーであるOct4, Sox2, Nanog, SSEA1を発現する細胞およびアルカリフォスファターゼ活性を示す細胞が観察された。さらに、マウス胚DRG細胞は、<i>in vitro</i>および<i>in vivo</i>で外胚葉系・中胚葉系・内胚葉系への細胞種に分化した。これらの結果は、マウス胚DRGが三胚葉系全ての分化能を持つ細胞、PSCsを含む可能性を示唆する。次に、マウス胚DRGに含まれるPSCsとNCSCsの維持条件について調べた。その結果、LIF/BMP2/FGF2はマウス胚DRGに含まれるNCSCsのmultipotencyの維持だけでなく、PSCsのpluripotencyの維持にも効果的であることが判明した。さらに、マウス胚DRGに含まれるNCSCsとPSCsの関連に着目したところ、PSCsのpluripotency関連因子とNCSCsのmultipotency制御因子が共発現するばかりでなく、これらの間での発現制御が見られた。以上の結果は、マウス胚DRG内のPSCsがNCSCsであることを示唆する。すなわち、本研究の結果は、発生初期の胚細胞が持つpluripotencyが、従来考えられていたよりもずっと遅い発生段階までNCSCsによって引き継がれている可能性を示唆する。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (小川 竜平)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	松野 健治
	副 査	教授	西田 宏記
	副 査	教授	橋本 主税
	副 査	講師	伊藤 一男

論文審査の結果の要旨

神経冠は脊椎動物特有の組織で、外胚葉系と中胚葉系の細胞種に分化する。最近、Xenopus 神経冠細胞が内胚葉系の細胞種にも分化できることが報告された (Buitrago-Delgado et al., 2015)。したがって、神経冠細胞は三胚葉系への分化能力、すなわち pluripotency を持つ可能性がある。一方、神経冠細胞の一部は、後根神経節 (dorsal root ganglion; DRG)・腸・骨髄・毛包などで分化能を維持し、神経冠細胞由来幹細胞 (neural crest-derived stem cells; NCSCs) となる。これらの報告は、NCSCs は pluripotency を持ち、ES 細胞や iPS 細胞のような多能性幹細胞 (pluripotent stem cells; PSCs) である可能性を示唆する。本博士論文では、この可能性を明らかにするため、神経冠由来の DRG を用い解析した。

本博士論文では、マウス胚から解剖によって摘出した DRG を用いた。摘出は最新の方法を用いて行われているが、摘出された DRG に、DRG 細胞以外の細胞が混入している可能性を否定することはできない。この点に留意する必要があるが、マウス胚 DRG には、マウス ES 細胞や iPS 細胞の pluripotency マーカーである Oct4、Sox2、Nanog、SSEA1 を共発現する細胞が含まれていることを示唆する結果が示された。さらに、マウス DRG に由来すると考えられた細胞は三胚葉系の細胞種に分化するのに加え、始原生殖細胞様細胞にも分化した。さらに、これらの細胞は、胚様体のようなスフェアも形成した。これらの結果は、マウス胚 DRG が PSCs を含むことを示唆している。

マウス胚 DRG に由来すると考えられる PSCs と NCSCs の維持条件について調べところ、どちらも LIF/BMP2/FGF2 が効果的であることが判明した。さらに、PSCs の pluripotency 関連因子と NCSCs の multipotency 制御因子が共発現するばかりでなく、これらの間での発現制御が見られた。これらは、マウス胚 DRG 内の PSCs が NCSCs であることを示唆する。すなわち、発生初期の Pluripotency が、従来考えられていたよりもずっと遅くの発生段階まで NCSCs によって引き継がれている可能性がある。

本博士論文において、実験の方法としては不十分な点もあるが、多能性幹細胞が維持される機構について、新たな可能性が提唱された。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。