

氏名(本籍)	かね こ ゆきこ 金子由樹子(栃木県)		
学位の種類	博士(医学)		
学位記番号	博甲第2384号		
学位授与年月日	平成12年3月24日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	医学研究科		
学位論文題目	Musashi 1: an evolutionally conserved marker for CNS progenitor cells including neural stem cells (Musashi 1: 進化的に保存されたCNS幹細胞/神経前駆細胞のマーカー)		
主査	筑波大学教授	医学博士	中内啓光
副査	筑波大学教授	医学博士	濱口秀夫
副査	筑波大学教授	博士(医学)	榊正幸
副査	筑波大学助教授	医学博士	伴野悠士

## 論文の内容の要旨

### (背景と目的)

Musashi1 (Msi1) は発生過程の神経上皮において未分化幹細胞に強く発現しているRNA結合タンパク質である。Msi1は種を越えて良く保存されていることから、Msi1に対するモノクローナル抗体を作製し、Msi1が神経細胞を識別するマーカーとなりうるかを明らかにすることを目的とした。

### (対象と方法)

大腸菌に発現させて作製したGST融合マウスMsi1リコンビナント蛋白を抗原として免疫したラットの脾細胞をマウスミエローマ細胞と細胞融合し、抗マウスMsi1モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ株を得た。エピトープ部位はC末端より段階的な欠損を持つMsi1変異タンパク質を作製し、モノクローナル抗体との反応性を調べることにより決定した。また、Msi1タンパクの発現については組織あるいは初代培養細胞を対象に免疫染色法により解析した。

### (結果)

Msi1を認識する互いに独立した二つのハイブリドーマクローンを得た。それぞれのモノクローナル抗体が認識するエピトープは異なるものの、どちらも両生類、鳥類、および哺乳類の間において極めて相同性の高い部分を認識し、免疫組織化学法によりマウスだけでなくアフリカツメガエル、ニワトリおよびヒト神経幹細胞を染色可能であることが確認された。発生過程のマウス中枢神経系ではMsi1の発現は神経幹細胞が分裂している脳室壁周辺に強く、分裂後の神経細胞が成熟するにつれて減少し、やがて消失した。成体において例外的に神経産生の継続している、海馬歯状回、rostral migratory streamにおいてMsi1の強い発現が見られた。また脳全域で形態的にastrocyteと思われる細胞にMsi1の発現が見られた。また、培養細胞における解析から、Msi1はradial glia、神経幹細胞およびastrocyteを包括した集合に発現していた。

#### (考察)

モノクローナル抗体を使った解析により、Msilが神経幹細胞だけでなく astrocyte や一部の glia 細胞にも発現していることが明らかとなった。したがって Msil が神経幹細胞マーカーであることの特異性は低くなったが、細胞内における局在が細胞体にあり、個々の細胞を識別可能であることから、突起に局在し組織染色像が繊維状になる既存の神経幹細胞マーカーと比較して細胞数の計測などには有利である。また、哺乳類以外の脊椎動物種において神経幹細胞を認識する抗体は知られておらず、本研究で作製したモノクローナル抗体は神経幹細胞の普遍的なマーカーとして有用であると考えられる。

### 審 査 の 結 果 の 要 旨

近年、再生しないと考えられていた神経系にも幹細胞が存在することが明らかとなり、神経幹細胞の同定・分離法を確立し、その性状を解析することは各種神経疾患の治療を考える上で極めて重要である。本論文において著者は、未分化な神経細胞に強く発現しているRNA結合タンパク質であるMsilに対するモノクローナル抗体を作製し、そのエピトープおよび各種神経組織におけるMsilの発現を形態学的、免疫組織化学的手法を用いて明らかにした。また、これらの抗体はマウスのみならず両生類や鳥類のMsilとも交差性を示すことから、種を越えた神経幹細胞のマーカーとして利用できることが明らかとなった。これらの結果はMsilに対する抗体が神経幹細胞を同定する上で有用であることを示しており、今後の神経幹細胞の研究に大きく貢献することが期待でき、博士論文として十分な研究であると評価した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。