

研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名 「幹細胞システムに基づく中枢神経系の発生・再生研究」

2. 研究代表者名及び主たる研究参加者名(研究機関名・職名は研究参加期間終了時点)

研究代表者

岡野 栄之 (慶応義塾大学医学部 教授)

主たる共同研究者

小川 正晴 (理化学研究所脳科学総合研究センター チームリーダー)

(平成13年4月～)

3. 研究内容及び成果

・研究課題全体の研究内容及び成果:研究課題全体として、下記の I~IV の項目を中心に研究を進めた。

I. 神経幹細胞の未分化状態の維持・多分化能の維持と分化の制御機構

(A) 神経幹細胞に強く発現する RNA 結合蛋白質 Musashi ファミリーの機能解析(岡野 G):

RNA 結合蛋白質 Musashi-1 蛋白質が、mNumb mRNA に結合し、その翻訳抑制を介し、Notch シグナルの活性化と神経幹細胞の自己複製能を高めることを示した。

(B) 神経幹細胞の長期維持機構に関する研究(岡野 G); 任意の遺伝子の神経幹細胞における機能を、定量・解析できる技術を開発し神経幹細胞の自己複製を制御する因子を探索し、糖鎖結合性分泌蛋白質 Galectin-1 を同定し、その機能の個体レベルの解析を行った。

(C) Hu タンパク質による神経幹細胞の分化制御機構の解明 (岡野 G):RNA 結合蛋白質Huファミリー蛋白質について、結合蛋白質 hnRNPK を同定し、標的分子 p21 mRNA の翻訳制御を介する神経前駆細胞の分裂制御機構と神経分化調節機構を解明。KOマウスによる個体レベルの機能解析も行い、上記モデルを検証した。

(D) ショウジョウバエ成虫型神経幹細胞をモデルとした幹細胞生物学(岡野 G):ショウジョウバエ成虫型神経幹細胞が哺乳類中枢神経系のよいモデルであることを示した。

(E) Notch signalling の神経幹細胞における役割の解析(岡野 G):Notch シグナル関連分子 Numb の機能解析と同シグナル生体内における活性化状況を可視化した。

(F) 神経幹細胞の未分化維持機構の解析(岡野 G):Adaptor 分子 Gab1 を介した PI3K-Akt 経路が、神経幹細胞が未分化維持に必須であることを示した。

(G) 胚生期大脳皮質領域における神経幹細胞・放射状グリアの形態と役割に関する解析(小川 G・岡野 G):*nestin*-GFP マウスを用い放射状グリアの形態を解明した。

(H) 大脳壁における神経幹細胞の分裂様式とニューロン産生ならびにその移動について(小川 G・岡野 G):*nestin*-GFP マウスを用いて神経幹細胞・放射状グリアの分裂様式に新知

見をもたらした。

- (I) 大脳皮質神経細胞の層特異的運命決定の機構(小川 G): POU ホメオドメイン転写因子 Brn1 と Brn2、Reelin シグナルの役割を個体レベルで実証。

II. ES 細胞より分化誘導した神経細胞の FACS による分離・培養(岡野 G)

- (A) ES 細胞由来神経幹細胞の分化誘導: EB-Neurosphere 法による ES 細胞からの神経幹細胞・各種神経細胞を *in vitro* で誘導する方法を開発(特許も取得)。
- (B) レチノイン酸による ES 細胞由来神経系細胞における領域特異性の制御: 様々な濃度のレチノイン酸(RA)存在下で EB を形成し、神経系細胞の分化段階、あるいは胚の前後軸、背腹軸に沿った遺伝子群の発現を解析した。その結果、RA は濃度依存的に神経系の後方化を促し、さらに背腹軸の形成にも影響を与えていた。
- (C) 神経幹細胞の時系列特異的な分化能の変化の制御: 幹細胞の時系列特異的な分化能の変化を制御するメカニズムを解明するために、DNA マイクロアレイ解析(2 万 2 千遺伝子)による時系列特異的な遺伝子発現プロファイリングを行った。
- (D) 霊長類 ES 細胞の神経分化法の開発: マウスでの研究成果を生かし、カニクイザル、マーモセットおよびヒト ES 細胞より神経幹細胞を分化誘導し、霊長類神経発生を *in vitro* で再構成するシステムを開発した。

III. 神経幹細胞、中間前駆細胞、特定タイプのニューロンの選択的分離法の確立(岡野 G)

- (A) GFP レポーター遺伝子を用いた分離技術: *nestin*-EGFP, T α 1-EYFP のダブル TG マウスを樹立し、中間前駆細胞分離のための基盤技術開発を行った。
- (B) *nestin*-d4-Venus マウスの作成と解析: 半減期が短い d4Venus レポーターを用い、放射状グリア・神経前駆細胞の細胞形態の周期依存性を示した。
これ以外にも3項目の検討事項に成果をあげることが出来た。

IV. 神経疾患モデル動物への細胞移植による細胞補充とニューロンネットワーク再建による機能修復の試み(岡野 G):

中枢神経組織由来神経幹細胞については、パーキンソン病、脳梗塞、脊髄損傷、VII 型ムコ多糖症の疾患モデル動物に移植し、機能回復に成功した。ES 細胞由来前脳アセチルコリン作動性ニューロンの前駆細胞を、中隔核へのイボテン酸注入によるアルツハイマー病モデルの海馬に移植し、障害された認知機能の回復を認めた。一方、ES 細胞から運動ニューロンおよびその前駆細胞を *in vitro* で誘導することは出来たものの、これらを ALS モデル動物に移植しても機能回復には至らなかった。今後軸索再生と標的へのシナプス投射誘導と組み合わせた解析が必要となるであろう。

以上のほぼ全般を岡野グループが中心になって研究を進めた。小川グループが関与したの

は、I-(G)～(I)の部分である。I-(G), (H)は岡野グループとの共同研究であり、I-(I)は小川グループ独自の成果である。

4. 事後評価結果

4-1. 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況

きわめて多数の論文が発表されており、その一部は Nature, Nature Biotech., EMBO J., PNASなどの一流紙に公表されており、研究の内容の豊富さとレベルの高さが示されている。本研究プロジェクトは、研究代表者がショウジョウバエで発見した Musashi の研究を発展させて、哺乳類における Musashi ホモログが幹細胞の維持に関与する分子機構の解明、幹細胞の選別収集法の開発、集められた幹細胞の培養法の確立、そこにおける各種分化因子の添加による幹細胞からの細胞分化の詳細を明らかにするという基礎的な研究と、幹細胞を用いた移植再生医療応用の開発という応用研究を同時並行的に行ったもので、そのプロダクティビティの高さは見事な業績と言える。また、Musashi がRNA結合性であったことから始めて、RNA結合タンパク質に関する多くの研究成果につながったことも高く評価される。この分野は世界的に見ても競争の激しい領域で独自の成果を出して世界のトップを走り続けることは容易なことではないが、「これぞ岡野の仕事」といわれるようなさらなる研究の発展を期待したい。かなり大きくなった研究チームを統率していくことには難しさもあらうと思われるが、リーダーとしての役割をよくはたしている。それと矛盾する側面もあるかもしれないが、今後は発表論文数をむしろ抑制してでも一つ一つの論文の質の向上を図ることが国際的なビジビリティをさらに高めるであろう。

4-2. 成果の戦略目標・科学技術への貢献

多くの特許出願がなされ、一部は実用化も視野に入っていることは高く評価される。また、モデル実験動物の段階ではあるが幹細胞移植による神経機能回復などの実験に成功しており、今後の再生医療に応用する可能性が示された。

4-3. その他の特記事項(受賞歴など)

(受賞)

岡野栄之 塚原仲晃賞(2001年9月)

岡野栄之 ゴールドメダル「東京テクノフォーラム21」賞(2004年4月)

岡野栄之 Distinguished Scientists Award(2004年10月)

岡野栄之 日本医師会医学賞(2004年11月)