

生理的経験に伴う成体神経幹細胞の制御機構の解明

バーゼル大学バイオセンター

大宮英恵

【研究背景】

成体の脳には神経幹細胞が存在し、生涯にわたってニューロンやグリア細胞を産生する。成体神経幹細胞はその幹細胞性を維持するため、休止状態に保たれているが、必要に応じて活性化し、分化細胞を産生する。最大の幹細胞ニッチである脳室下帯に存在する成体神経幹細胞は均一な集団ではなく、存在する領域に応じて特定のニューロンサブタイプやグリア産生を行うことがわかっている。しかし、成体神経幹細胞の領域特異性が脳の可塑性に与える影響についてはあまりわかっていなかった。

派遣先研究室の Fiona Doetsch 研究室において、空腹・満腹、妊娠など様々な生理的条件下において、通常休止状態に保たれている成体神経幹細胞を含めた一部のみが活性化し、特定のニューロンサブタイプを生み出すことが報告された (Paul et al., 2016, Chaker et al., 2023)。これは、成体神経幹細胞が特定の環境下において活性化し、時々に応じて必要な分化細胞を生み出すことで、個体が環境に適応するメカニズムの一端を担っていることを示唆している。しかし、どの様にして成体神経幹細胞が領域毎に異なる分化能を持ち、異なる生理的条件下に応答するのかわかっていない。そこで私は、成体神経幹細胞の領域毎の不均一性および応答性を制御するメカニズムの解明を目的とした。

【経過・成果】

留学開始から1年の期間においては、主に手技の習得、実験系の確立、およびデータの取得に時間を費やした。

1) 成体マウス脳室下帯のシングルセルマルチオミックス (RNA+ATAC)

これまで脳室下帯のシングルセル RNA-seq は多数報告されており、成体神経幹細胞の遺伝子発現状態の多様性が記述されてきた。しかし、これらは主に側方側の脳室下帯に領域が限定されていた。さらに、成体神経幹細胞のクロマチン状態の多様性についてはほとんどわかっていない。そこで私は、成体の雄と、異なる性周期と妊娠 7.5 日目の雌マウスから、側方側と内側の脳室下帯を切り取り、一つの細胞から遺伝子発現状態とオープンクロマチン状態を両方見られるシングルセルマルチオミックスを行った。取得したデータからは、脳室下帯に存在する多様な細胞種が観察され、成体神経幹細胞とその分化系譜細胞も観測できた。成体神経幹細胞は側方側と内側で異なる遺伝子発現、およびクロマチン状態を持つことがわかった。今後はより詳細に解析し、成体神経幹細胞のサブタイプを特徴づけるマーカーを同定していく予定である。

2) 脳室下帯の成体神経幹細胞 CUT&Tag

さらにクロマチン状態をより詳細に解析するため、成体神経幹細胞の CUT&Tag を行う。ヒストン修飾はクロマチン状態を制御する。CUT&Tag により特定のヒストン修飾がどの遺伝子座に存在するか調べることで、成体神経幹細胞の領域毎のクロマチン状態のより詳細な解析を行う。成体神経幹細胞は少数細胞しか存在しないため、少数細胞から

CUT&Tag する手法を確立する必要があった。私は FACS により 5000 の成体神経幹細胞を分取したのちに CUT&Tag することに成功した。さらに、予備的な結果から、抑制性ヒストン修飾が側方側と内側の成体神経幹細胞で異なる遺伝子座に存在しそうだということがわかった。今後は他のヒストン修飾についても CUT&Tag を行い、領域毎の成体神経幹細胞の応答性の差がヒストン修飾の差によるかを検討していきたい。

【今後の展望】

今後は解析より明らかになった成体神経幹細胞のサブタイプについてより詳細に解析する。さらに、現在空間的遺伝子発現解析と組み合わせることで成体神経幹細胞の詳細な領域と形態が遺伝子発現やクロマチン状態の不均一に反映されるのか見ていきたい。そして、これらのサブタイプが特定の生理的条件下で活性化しうるのかを検証し、異なる生理的条件下においてどのように一部の幹細胞のみが応答するのかのメカニズムに迫る。さらに CUT&Tag の結果、ヒストン修飾が成体神経幹細胞の存在する領域毎に異なる遺伝子を調整していることが分かれば、ヒストン修飾酵素の機能解析により領域特異性や応答性に変化があるのかも調べていきたい。

【謝辞】

アステラス病態代謝研究会様のご支援により、金銭的な不安なく研究活動に専念することができました。おかげさまで、研究者としての素質を磨くのにこの上ない環境で研鑽を積むことができました。心よりお礼申し上げます。