

論文内容の要旨

申請者氏名 Berry Juliandi

Neural stem cells (NSCs) hold great promise for clinical treatment of neurological diseases and dysfunctions, owing to their ability to self-renew and their potential to generate various neural cell types. It is now established that epigenetic regulation contributes substantially, along with other mechanisms, to these properties of NSCs. However, our knowledge about the precise mechanisms that control NSCs differentiation is still in its infancy and many avenues remain to be explored.

Histone deacetylases (HDACs) are the chromatin modifiers that can epigenetically regulate NSC fate choice. Activity of HDACs can be altered by chemicals such as valproic acid (VPA), a widely used anticonvulsant and mood stabilizer drug, which recently has been shown to have an HDACs inhibition properties. Although several studies have reported that taking VPA during early pregnancy could lead to developmental abnormalities of the future offspring, it is currently still allowed to be prescribed to pregnant patients if this drug is the only medication that adequately controls seizures.

In the present study, I demonstrated that transient HDAC inhibition by VPA in mouse embryonic stem cell-derived NSCs enhances their neuronal differentiation. I further showed that the increasing neuronal population after VPA treatment includes a higher proportion of cut-like homeobox 1 (Cux1)-positive superficial-layer neurons, accompanied by a decreasing proportion of B-cell leukemia/lymphoma 11B (Bcl11b; also called Ctjp2)-positive deep-layer neurons. Transient prenatal exposure of VPA to mouse embryo during prominent neurogenic phase (embryonic day 12-14) also resulted in an enhancement of embryonic cortical neurogenesis. Neurogenesis was promoted using indirect pathway that form the intermediate progenitor cells, which mainly differentiated into Cux1-positive superficial-layer neurons, at the expense of direct pathway that generate Ctjp2-positive deep-layer neurons. As a result, cortical laminarization at postnatal was disrupted, with an increase and decrease of superficial-layer (layer II-IV) and deep-layer (layer V-VI) thickness, respectively.

At their adult stages, I also found that VPA-treated mice showed poor performance in several learning and memory tasks. Further, I observed that prenatal VPA exposure impaired adult hippocampal NSC proliferation and differentiation, implying that these impairments contribute to those poor performances in learning and memory tasks. Interestingly, voluntary running improved adult hippocampal NSC proliferation and differentiation, and recovered some of the learning and memory deficiencies in VPA-treated mice.

Taken together, these results imply that histone acetylation is an important factor for the NSC differentiation and developmental progression. It also suggests that epigenetic alteration in NSCs at embryonic stage can still persisted until adulthood, affecting learning and memory. Nevertheless, this alteration and its outcomes can be recovered, if not completely, by voluntary running.

論文審査結果の要旨

申請者氏名 Berry Juliandi

神経幹細胞は、その自己再生能と種々の神経系細胞への分化能を持つことから神経性疾患治療や機能回復への応用が有望視されている。近年、神経幹細胞が持つこれらの特徴がエピジェネティクスにより大きく制御される事が証明された。しかし、神経幹細胞がどのような機構により分化制御されているかは十分に理解されておらず、さらなる研究が望まれる。

ヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)はクロマチン修飾因子の1つであり、神経幹細胞の運命決定をエピジェネティックに制御する。いくつかの化学物質により HDAC 活性を変化させる事ができるが、その1つであるバルプロ酸は抗けいれん薬や気分安定薬として広く用いられており、また HDAC 阻害活性を持つ事が明らかとなっている。妊娠早期におけるバルプロ酸摂取により胎児の発達異常が引き起こされる可能性について数例報告があるが、現在においても、妊婦のてんかん治療の際に他の治療手段が無い場合に限り処方を許可されている。

本研究において申請者は、マウス胚性幹細胞由来の神経幹細胞に対し、バルプロ酸暴露により HDAC を一過的に阻害することで、神経幹細胞の神経系分化が亢進される事を示した。バルプロ酸暴露によって増加した神経系細胞集団中には、コントロールに対しより高い割合で Cux1 陽性表層ニューロンが占めており、それに伴い Ctip2 陽性深層ニューロンの割合は減少した。また、神経産生が顕著に起こる胎生 12 日から 14 日の間バルプロ酸をマウス胎児に投与したところ、胎生期の脳における神経産生が亢進した。この神経産生は、Ctip2 陽性深層ニューロンを産む神経幹細胞からの直接的な分化経路によってではなく、Cux1 陽性表層ニューロンへと主に分化する中間前駆細胞への分化を経た非直接的な経路により促進された。その結果、大脳皮質に見受けられる層構造には、表層（2層から4層）の厚みが増加し深層（5層、6層）の厚みが減少する異常が生じた。

また申請者は、成体期にバルプロ酸を投与したマウスには学習記憶能力の低下が見受けられる事を示した。さらに、出生前にバルプロ酸を投与した個体においては、成体期での海馬神経幹細胞の増殖および分化に異常を示し、これが学習記憶能力の低下の一因であると示唆された。この出生前におけるバルプロ酸投与による海馬神経幹細胞の異常は、回り車を設置し自発的な運動を促す事で改善され、学習記憶能力の一定の回復が認められた。

これら結果より、神経幹細胞の分化及び発達の進行においてヒストンアセチル化が重要な因子である事が示唆された。また、胎生期における神経幹細胞のエピジェネティックな変化が成体期まで持続し、学習記憶に影響している事が示唆された。

以上のように、本論文はヒストン脱アセチル化酵素阻害剤バルプロ酸による神経幹細胞の制御について興味深い観点から報告したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（バイオサイエンス）の学位論文として価値あるものと認めた。