

## 論文内容の要旨

申請者氏名 Nunung Yuniarti

Histone deacetylases (HDACs) are the chromatin modifiers that can epigenetically regulate NSC fate choice. Our group and others have identified that the inhibition of HDACs by histone deacetylase inhibitors (HDACIs) *in vitro* increased global histone acetylation and drove NSCs toward neuronal lineage over glial ones. Moreover, we also found the role of histone acetylation on the specification of upper layer neurons in late corticogenesis through HDACI treatment of mouse ESCs culture system that mimics corticogenesis *in vitro*. However, the effect of increasing global histone acetylation by means of HDAC inhibition in NSC fate specification during corticogenesis *in vivo* is hitherto remains elusive.

Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) is one of the epidrugs developed for cancer treatment that works epigenetically by inhibiting histone deacetylases (HDACs). SAHA has been reported to diffuse across the placenta and found in fetal plasma in preclinical study, implying that it can influence fetus if taken by pregnant cancer patients. However, report regarding this aspect and the study of *in utero* HDAC inhibition by SAHA especially on fate specification of neural stem cells (NSCs) within the developing mammalian cortex, is yet unavailable. This study shows that transient exposure of SAHA to mouse embryos during prominent neurogenic period resulted in an enhancement of cortical neurogenesis, which is accompanied by an increased expression of proneuronal transcription factor *Neurog1*. Neurogenesis was enhanced due to the increase number of proliferating Tbr2<sup>+</sup> intermediate progenitor cells following SAHA exposure. In this relation, SAHA perturbed neonatal cortical lamination because of the increased production of Cux1<sup>+</sup> and Satb2<sup>+</sup> upper-layer neurons, and decreased that of Ctip2<sup>+</sup> deep-layer neurons. Furthermore, an upper-layer neuronal lineage determinant *Satb2* was also up-regulated, whereas those of deep-layer ones *Fezf2* and *Ctip2* were down-regulated by SAHA treatment. Taken together, these findings suggest that proper regulation of HDACs is important for precise embryonic corticogenesis.

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名      Nunung Yuniarti

神経幹細胞は自己複製能を持つとともに、中枢神経系を構成する種々の神経系細胞への分化能を持った細胞である。近年、神経幹細胞が持つこれらの特徴が、ヒストン修飾等を介したエピジェネティックな調節によって大きく制御されることが示されている。しかし、神経幹細胞がどのような機構で分化制御されているかは十分に理解されていないのが現状である。

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。本研究で申請者は、HDAC 阻害剤であり、抗がん剤として知られるスベロイルアニリドヒドロキサム酸 (SAHA: *suberoylanilide hydroxamic acid*) の神経幹細胞への影響を解析した。

申請者は、胎生期マウスに SAHA を一過的に投与することで、グローバルなヒストンアセチル化レベルの上昇と、神経幹細胞のニューロンへの分化が促進されていることを明らかにした。また、これらニューロンは *Cux1* 及び *Satb2* 陽性の表層ニューロンが高い割合を占めており、反対に *Ctip2* 陽性深層ニューロンの割合が低下することも示した。このニューロン分化の促進は、ニューロン分化に重要である bHLH 型転写因子 *Neurogenin1* の発現上昇、さらにはその下流転写因子 *Tbr2* の発現誘導を介したものであることを示し、神経幹細胞が直接ニューロンへ分化するのではなく、*Cux1* 陽性表層ニューロンへと主に分化する *Tbr2* 陽性の中間前駆細胞への分化を経た非直接的な経路により分化することを明らかにした。その結果、表層 (2層から4層) の厚みが増加し、深層 (5, 6層) の厚みが減少する異常が生じた。

また申請者は、胎児期に SAHA を投与したマウスの成体期の脳を解析し、神経幹細胞の増殖、分化に異常を示すことを見いだした。海馬において神経幹細胞の数が減少することや大脳皮質でアストロサイトの数の減少が観察された。

これら結果より、神経幹細胞の分化及び脳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ことが示唆された。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、成体脳においても神経幹細胞の増殖、分化に影響を与え続けていることが明らかとなった。

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 SAHA による神経幹細胞の分化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。