

# 平成 29 年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input checked="" type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input type="checkbox"/> 21 世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 21 世紀教育開発奨励金 (教育推進研究助成金)
研究課題名	炎症性 miRNA-155 による神経幹細胞の幹細胞性メカニズムの解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：近畿大学医学部 リハビリテーション医学 助教 A 大洞佳代子	

## 1. 研究目的・内容

本邦における脳卒中患者は 130 万人を超え、脳卒中後後遺症はいまだ深刻な医学的社会的問題である。早期リハ介入によりある程度の機能回復は得られるものの、更なる予後改善に向けては、機能回復効率化が本分野最大の課題である。脳卒中、特に脳梗塞では虚血・再灌流に伴う周囲脳浮腫および神経細胞死に続き、神経炎症が生じる。脳梗塞に伴う神経炎症はいわば亜急性～慢性炎症の一型であり、組織死と密接に結びついているため、本病態の制御は脳梗塞治療および後続リハ戦略における重要課題である。

近年、発生、炎症、発癌、細胞死など多くの生命現象の制御に microRNA (miRNA) が深く関わっていることが明らかにされた。申請者らは、局所炎症では miR-155 が特異的に上昇し、神経幹細胞 (NSC) 制御の中心的役割を果たしうることを発見した。本研究では、miR-155 の機能についてさらに解析を進め、miRNA 創薬の礎となる知見を蓄積することを目的とする。

## 2. 研究経過及び成果

本研究では、神経幹細胞 (NSC) と miR-155 の関連について 4 点の新規知見を見出した。

### (1)炎症性サイトカインは NSC において miR-155 の発現を促進する。

マウス新生仔脳より樹立した NSC に対して、IL-1 $\beta$ 、TNF $\alpha$  を添加した。約 12 時間で miR-155 が 300 倍程度まで上昇することを確認した。

### (2)miR-155 は神経幹細胞の自己複製遺伝子の発現を抑制し、分化を促進する。

炎症性サイトカインで処理した NSC は増殖阻害、分化傾倒が認められた。miR-155 の影響を確認するため、強制発現実験、miRNA inhibitor を用いた阻害実験を行った。その結果、miR-155 が Musashi1、Hes1、Bmi1 の発現を抑制していることが明らかとなった。

分化への影響を確認するため、miR-155 の前駆配列を Cumate 誘導システムに組み込み、NSC に導入後、Cumate を導入した。Cumate 添加群では細胞の増殖抑制と、NSC コロニーの崩壊が認められた。

### (3)miR-155 による自己複製抑制は転写因子 C/ebp $\beta$ の制御を介して生じる。

今回、miR-155 の導入によって発現が抑制された遺伝子はいずれも miR-155 に対する相補配列を有していなかった。そのため、データベースを用いた解析により、直接の標的遺伝子を探索した。その結果、いずれの遺伝子も C/ebp 結合配列を含んでいること、miR-155 が C/ebp $\beta$  を抑制しうることを発見した。miR-155 を発現させた NSC では C/ebp $\beta$  の発現が著しく低下しており、miR-155 は C/ebp $\beta$  を抑制する作用があると考えられた。

### (4)miR-155 による神経幹細胞の自己複製阻害作用はヒト iPS 細胞由来神経幹細胞でも再現される。

miRNA の中には、種間での配列保存性が低いもの、あるいは種間で miRNA-標的遺伝子の関係が保存されていないものがある。miR-155 がどのように疾患に関わるかを考察する上では、ヒト細胞での再現は必須である。しかし、ヒトでは倫理的問題から正常 NSC の利用が困難であ

る。そこでヒト iPS 細胞より NSC を分化誘導し、miR-155 の mimic 配列あるいは inhibitor 配列を導入した。ヒト NSC においても、miR-155 は幹細胞の自己複製抑制効果を示した。

以上より、炎症により惹起される miR-155 はヒト NSC において C/ebp  $\beta$  の発現を抑制し、幹細胞の増殖、未分化性を抑制することで分化傾倒させることを明らかにした。

本研究成果は Scientific Reports 誌に原著論文として発表した。

### 3. 本研究と関連した今後の研究計画

本研究では、NSC における miR-155 の幹細胞機能抑制作用を示した。miR-155 の発現は全身で生じうる。近年では加齢に伴う慢性的な組織炎症状態が報告されており、同条件下でも miR-155 の誘導は生じていると考えられる。今後は間葉系幹細胞 (MSC)、筋衛星細胞といった他の組織幹細胞でも検討していく予定である。

### 4. 成果の発表等

発表機関名	種類 (著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
Scientific Reports	雑誌 (査読あり)	2017年2月27日