

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－イスラエル研究交流）

1. 研究課題名：「ES 細胞の多能性維持に果たす基本転写開始因子と伸長因子の機能解明」
2. 研究期間：平成 22 年 4 月～平成 25 年 3 月
3. 支援額： 総額 14,500,000 円
4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	山口 雄輝	東京工業大学	准教授
研究者	半田 宏	東京工業大学	教授
研究者	加藤 淳子	東京工業大学	技術員
研究者	柴田 紘孝	東京工業大学	大学院生
研究者			
研究者			
参加研究者 のべ 4 名			

相手側（研究代表者を含め 6 名までを記載）

	氏名	所属	役職
研究代表者	Rivka Dikstein	Weizmann研究所	准教授
研究者	Anat Bahat	Weizmann研究所	研究員
研究者	Liat Amir-Zilberstein	Weizmann研究所	大学院生
研究者	Gil Diamant	Weizmann研究所	大学院生
研究者			
研究者			
参加研究者 のべ 4 名			

5. 研究・交流の目的

ES 細胞は自己複製能と多能性という、生体を構成するすべての細胞種を生じうるユニークな能力を有している。ES 細胞から分化させた細胞は、様々な疾患の治療に応用できる可能性がある。したがって、多能性の根底にある分子メカニズムの解明は、哺乳類動物の発生・分化の基本原理の理解につながるだけでなく、医学的にも意義深い。ES 細胞の多能性は、多能性の維持に必要な遺伝子群を活性化し、分化特異的な遺伝子群を抑制する複雑な転写プログラムによって支配されている。こうしたゲノムワイドな転写制御は多数の因子――配列特異的な転写因子、特殊なクロマチン修飾、転写開始因子、転写伸長因子、一時停止した RNA ポリメラーゼ II など――によっては可逆的に制御されていると考えられる。本研究で日本側研究者とイスラエル側研究者は協力して、基本転写因子と基本伸長因子が ES 細胞の多能性維持に果たす役割を明らかにすることを目的とする。

6. 研究・交流の成果

6-1 研究の成果

本事業を通じて主に以下の 3 つの成果が得られた。

- ・ 転写開始因子と転写伸長因子がES細胞に果たす役割。基本転写因子TFIIDのサブユニットTAF4 には、TAF4bという細胞種特異的なイソフォームが存在する。TAF4bがES細胞で高発現していたことから、その機能解析を行った結果、TAF4bがES細胞の分化を阻害する働きをしていることが明らかとなった。一方、TAF4 は逆にES細胞の分化を促進することが分かった。さらにマイクロアレイ解析やChIP解析の結果、TAF4bが山中因子の 1 つであるOct4 と結

合し、標的遺伝子のプロモーター上で共に働いて、一群の遺伝子の発現を制御していることが分かった (Bahat et al. Genes Cells 2013)。

さらに転写伸長因子 NELF について解析し、NELF が制御する約 300 遺伝子を同定した。興味深いことに、NELF 標的遺伝子には 2 細胞期特異的な遺伝子が数多く含まれていた。最近の研究から、ES 細胞には 2 細胞期様の細胞が一部、混ざっており、ES 細胞は 2 つの状態を往復することで多能性を維持しているという仮説が提唱されている。したがって、NELF はこの 2 つの状態の変換を制御していることが示唆された。

・免疫・炎症応答制御に関する新しい知見。NF- $\kappa$ B という転写因子は免疫・炎症応答のハブとして重要な働きをするが、TNF 等の炎症性サイトカインで細胞を刺激したとき、その活性化は通常 1 時間くらいしか持続しない。その理由は、NF- $\kappa$ B の標的遺伝子である I- $\kappa$ B や A20 が NF- $\kappa$ B 経路を抑制する調節因子として働き、負のフィードバック機構が働くからである。本共同研究により、I- $\kappa$ B 遺伝子や A20 遺伝子の発現が、他の遺伝子とは異なるメカニズムで制御されていることが明らかとなった。すなわち、これらの遺伝子は、非誘導時に転写自体は起こって mRNA 前駆体は作られるものの、スプライシングと核外輸送が適切に進行せず、分解されてしまう。NF- $\kappa$ B がこれらの遺伝子のプロモーターに結合すると、転写伸長因子 DSIF がリクルートされる。DSIF は転写開始後のステップを促進することで、I- $\kappa$ B や A20 の発現を誘導し、NF- $\kappa$ B 経路を減衰させる。

過剰な炎症反応は関節リウマチやクローン病といった疾患の原因となるので、そのメカニズムの一端を解明したことは意義深い。また、RNA プロセッシングを制御するという転写伸長因子 DSIF の新たな役割を解明した点でも重要である。

・ES細胞の遺伝子コード領域におけるエピジェネティック制御。研究開始時に予期しなかったことだが、相手側研究者が所属する Weizmann 研究所を訪問した機会に、Moshe Oren 博士と知己を得た。Oren 博士は、遺伝子のコード領域で観察されるヒストン修飾である H2B モノユビキチン化の第一人者であり、最近、マウス ES 細胞の分化過程で H2B のモノユビキチン化がダイナミックに変化し、それが ES 細胞の分化に重要であることを明らかにした。しかし、高等真核生物における H2B モノユビキチン化が分子レベルでどのような役割を果たしているか不明であるため、我々は Oren 研究室と共同で、H2B がユビキチン化されたヌクレオソームと特異的に相互作用する ES 細胞由来の因子のプロテオーム解析を実施した。その結果、既知のクロマチン関連因子、転写伸長因子、RNA プロセッシング因子が複数、同定された。本研究は、ES 細胞の分化過程におけるエピジェネティック制御機構の解明に寄与することが期待される。

## 6-2 人的交流の成果

相手国訪問の機会としては、(1) 本課題の開始時に開催された JST-MOST 合同シンポジウム出席のため私がイスラエル側を訪問、(2) H23 年度に JST 主催で開かれた京都のワークショップ出席のため Rivka Dikstein 博士と Anat Bahat 博士が来日、という 2 回が主な交流機会であり、相手側の研究代表者のみならず複数の研究者と知り合うことができた。さらに、ドイツ・ハイデルベルグで開かれた国際学会に双方が出席し、相手国研究者と交流する機会もあった。直接会った回数は少ないが、Skype による情報交換や FedEx による研究試料の交換を頻繁に行うことで、共同研究をスムーズに進めることができた。

私、山口と Dikstein 博士という 2 名だけでなく、双方の研究室の若手である柴田や Bahat らを含めた人的ネットワークが構築され、このことが共同研究の推進に寄与した。Dikstein 博士とは 10 年以上に渡って細々と共同研究を続ける関係だったが、今回、初めて共同研究タイプのグラントを得て、関係を深化することができた。今後、より強固な共同研究を続けていけるだろう。

計画立案段階には予期しなかったことに、Dikstein 博士と同じ Weizmann 研究所に所属する Moshe Oren 博士と知己を得て、遺伝子コード領域のエピジェネティック制御に関する新しい共同研究を立ち上げることができた。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

論文 or 特許	<ul style="list-style-type: none"> <li>・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年</li> <li>・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、 出願番号、出願人、発明者等</li> </ul>	備考
論文	Diamant, G., Amir-Zilberstein, L., Yamaguchi, Y., Handa, H., and Dikstein, R. (2012) DSIF restricts NF-kappa B signaling by coordinating elongation with mRNA Processing of negative feedback genes. <i>Cell Reports</i> 2, 722-731.	相手側との共著
論文	Kawano, A., Hayashi, Y., Noguchi, S., Handa, H., Horikoshi, M., and Yamaguchi, Y. (2011) Global analysis for functional residues of histone variant Htz1 using the comprehensive point mutant library. <i>Genes Cells</i> 16, 590-607.	
論文	Taneda, T., Zhu, W., Cao, Q., Watanabe, H., Yamaguchi, Y., Handa, H., and Wada, T. (2011) Erythropoiesis is regulated by the transcription elongation factor Foggy/Spt5 through gata1 gene regulation. <i>Genes Cells</i> 16, 231-242.	
論文	Kim, S., Yamamoto, J., Chen, Y., Aida, M., Wada, T., Handa, H., and Yamaguchi, Y. (2010) Evidence that cleavage factor Im is a heterotetrameric protein complex controlling alternative polyadenylation. <i>Genes Cells</i> 15, 1003-1013.	
論文	Ito, T., Ando, H., Suzuki, T., Ogura, T., Hotta, K., Imamura, Y., Yamaguchi, Y., and Handa, H. (2010) Identification of a primary target of thalidomide teratogenicity. <i>Science</i> 327, 1345-1350.	