

西田 栄介

京都大学 大学院生命科学研究科・教授

細胞リプログラミングと分化における転写調節機構

§1. 研究実施の概要

本研究は、iPS 細胞へのリプログラミング過程および各種細胞への分化過程を、転写因子や遺伝子発現状態の変化に注目して解析し、細胞リプログラミングと細胞分化の分子機構解明の一助となることを目指している。具体的な研究目標としては、Ⅰ．細胞リプログラミング過程における転写プログラム変換の分子機構の解明、Ⅱ．細胞分化の諸過程における遺伝子発現変換プログラムの解明、Ⅲ．転写カスケードを用いて分化細胞から別の分化細胞へ転換させる自動プログラムの樹立とその機構解明、Ⅳ．転写調節の分子基盤である転写因子の作用機構およびエピジェネティック制御の調節機構の解明、を挙げている。項目Ⅰでは、繊維芽細胞や神経幹細胞から iPS 細胞を誘導する過程における遺伝子発現パターンをマイクロアレイを用いて網羅的に解析した。項目Ⅱでは、筋芽細胞や小腸細胞の分化過程において、新たなシグナル伝達経路を見出した。項目Ⅲでは、リプログラミング途中段階の時期特異的マーカー遺伝子の探索を開始した。項目Ⅳでは、小腸分化におけるヒストン修飾制御に関する予備的な観察結果を得た。これらの成果に基づいて今後の研究を進めていく予定である。

§2. 研究実施体制

(1)「西田」グループ

① 研究分担グループ長：西田 栄介（京都大学 大学院生命科学研究科、教授）

② 研究項目

- I. 細胞リプログラミング過程における転写プログラム変換の分子機構の解明
- II. 細胞分化の諸過程における遺伝子発現変換プログラムの解明
- III. 転写カスケードを用いて分化細胞から別の分化細胞へ転換させる自動プログラムの樹立とその機構解明
- IV. 転写調節の分子基盤である転写因子の作用機構およびエピジェネティック制御の調節機構の解明

§3. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(4-1)に対応する)

I. 細胞リプログラミング過程における転写プログラム変換の分子機構の解明

マウス胎仔繊維芽細胞およびマウス胎仔神経幹細胞に4因子を導入し、リプログラミング初期における遺伝子発現パターンをマイクロアレイ解析により網羅的に解析した。さらに、高速シーケンサーを用いてスプライシングバリエーションごとの発現量を解析する手法を開発し、iPS細胞に特異的なスプライシングバリエーションの探索を開始した。

II. 細胞分化の諸過程における遺伝子発現変換プログラムの解明

培養細胞 C2C12 を用いた筋分化システムにおいて、ERK5 MAP キナーゼシグナル伝達経路が、筋細胞の融合に機能することを明らかにした。さらに ERK5 の下流の遺伝子発現の網羅的な解析から、ERK5/Sp1/Klf2&4 という新たなシグナル伝達経路を同定し、筋細胞融合における Klf2/4 の重要性が見出された³⁾(図1) (Sunadome *et al.*, *Dev. Cell*, 20, 192-205 (2011).)。別の実験系では、培養細胞 Caco2 を使った小腸分化システムにおいて、レチノイン酸経路が ERK1/2 経路を抑制することが、小腸分化に重要であることを示唆するデータを得た。さらに、新たな分化モデル系として、PPAR γ を用いて脂肪細胞へ分化させる実験系を立ち上げた。

III. 転写カスケードを用いて分化細胞から別の分化細胞へ転換させる自動プログラムの樹立とその機構解明

項目 I と連携して、iPS 細胞誘導過程における遺伝子発現状態を網羅的に調べたところ、リプログラミング途中段階の時期特異的マーカー遺伝子となり得る、いくつかの候補遺伝子を見つけることができた。そこで、単一細胞レベルでの発現状態変化を知るため、マーカー遺伝子候補のプロモーターの下流にレポーター(蛍光タンパク質)をつなぎ、ライブセルイメージングを行うための実験系を立ち上げた。項目 II と連携して、分化のマスターレギュレーター探索・分化誘導能の確認・機能解析を開始した。

IV. 転写調節の分子基盤である転写因子の作用機構およびエピジェネティック制御の調節機構の解明

細胞リプログラミングの過程において、転写の波及効果(最近我々が見出した、転写因子がターゲットとする遺伝子の転写だけではなく、ゲノム上の近傍領域の転写も活性化するという現象)が見られるか検討するため、山中研と共同で iPS 細胞の誘導過程でのタイリングアレイを行い、詳細な解析を行ったが、残念ながら転写の波及効果は観察されなかった。また、培養細胞 Caco2 を使った小腸分化システムにおいて、そのヒストン修飾状態を、ERK1/2 経路が制御している可能性を示唆するデータを得た。

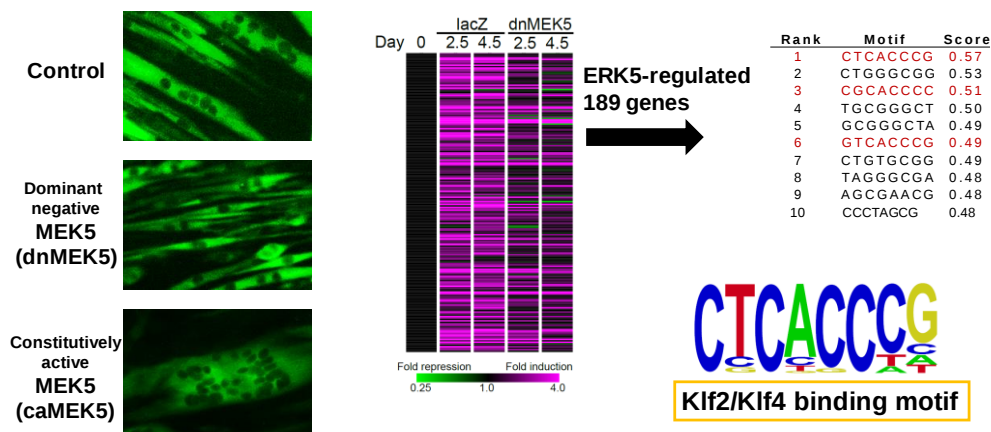


図 1. 筋細胞融合におけるシグナル伝達経路の解析

§4. 成果発表等

(4-1) 原著論文発表

●論文詳細情報

1. Imajo, M., and Nishida, E. Human Tribbles homolog 1 functions as a negative regulator of retinoic acid receptor. *Genes Cells* 15, 1089-1097 (2010).
2. Endo, T., Kusakabe, M., Sunadome, K., Yamamoto, T., and Nishida, E. The kinase SGK1 in the endoderm and mesoderm promotes ectodermal survival by downregulating components of the death-inducing signaling complex. *Science Signaling*, 4, ra2 (2011).
3. Sunadome, K., Yamamoto, T., Ebisuya, M., Kondoh, K., Sehara-Fujisawa, A., and Nishida, E. ERK5 regulates muscle cell fusion through Klf transcription factors. *Dev. Cell*, 20, 192-205 (2011).

(4-2) 知財出願

- ① 平成22年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 0 件)