

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. 研究実施体制

(1) 「西田」グループ

① 研究代表者: 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

§ 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)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

マイクロアレイ解析の結果をもとに同定した、リプログラミング過程に重要な転写因子について、分子生物学的解析を行った。ノックダウンやノックアウトを行ったところ、リプログラミング効率が低下した。また、これらの転写因子の発現パターンとリプログラミングの成功の有無に相関を見出した。さらに、マイクロアレイの結果をもとに、受容体や分泌因子についてもリプログラミングへの関与を解析した。グリア細胞の一種であるアストロサイトから iPS 細胞へのリプログラミング過程における遺伝子発現パターンの解析を行った。高速シーケンサーを用いてスプライシングバリエントごとの発現量を解析する手法を開発し、iPS 細胞と ES 細胞に特異的なスプライシングバリエントを同定した

(図 1)。さらに、siRNA スクリーニングにより多能性幹細胞におけるスプライシングを制御する RNA 結合タンパク質を同定し、それらの一部が体細胞初期化、多能性維持に必要であることを明らかにした。

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

小腸の幹細胞維持や分化システムについて、in vivo での解析を行うために、腸に遺伝子を発現させる方法を開発した。また、軟骨をモデルとして細胞分化過程における転写プログラムの解析を行ない、MAPKKK ファミリー分子 MLTK が、軟骨細胞の分化のマスター制御因子 Sox9、Sox5、Sox6 のうち Sox6 の発現を制御することで、軟骨形成を促進することを明らかにした (図 2)¹⁾。さらに新たな分化モデルの系として、褐色脂肪細胞への分化の系を確立し、薬剤スクリーニングを行い、褐色脂肪細胞の分化を制御する因子を探索した。

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、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行った。そのうち一つの候補遺伝子に関して、GFP をノックインしたレポーターマウス由来の繊維芽細胞を用いて、リプログラミング過程の時期特異的に GFP の発現を観察することに成功した。かつ、この時期における GFP の発現とリプログラミング成功の有無に強い相関を見出した。また、iPS 細胞誘導過程と iEpil (induced Epiblast like) 細胞誘導過程における遺伝子発現パターンの比較に基づいて得られた、iPS 細胞と iEpil 細胞の違いを決める候補遺伝子について、ノックダウンを行い、iPS 細胞誘導に必要であることを示唆するデータを得た。

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

転写因子間の相互作用を検討するために、筋分化、脂肪分化それぞれのマスター制御因子である MyoD、PPAR γ の相互作用を解析したところ、転写依存的なメカニズムと転写非依存的なメカニズムが存在することがわかった。また、マウスの繊維芽細胞に 3 因子 (Tbx5, GATA4, Mef2c) を導入して心筋細胞を誘導するシステムにおいて、クロマチン構造を制御する因子 43 個について過剰発現を行い、心筋細胞誘導に与える影響を調べた。

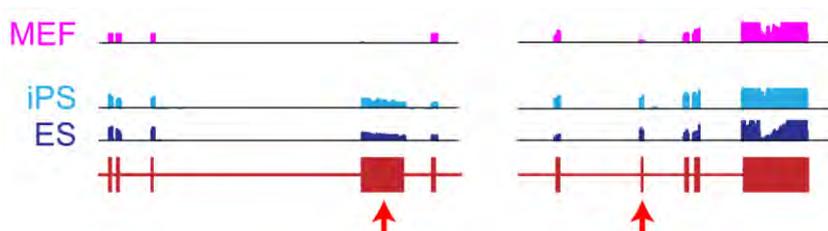


図1体細胞初期化前後で変化するスプライシングパターン

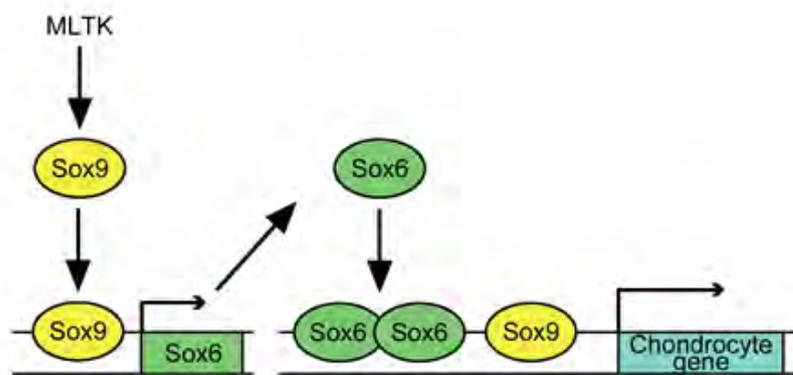


図2 軟骨細胞分化における転写調節機構

§3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Suzuki, T., Kusakabe, M., Nakayama, K., and Nishida, E. The protein kinase MLTK regulates chondrogenesis by inducing the transcription factor Sox6. *Development*, **139**, 2988-2998, (2012). (DOI: 10.1242/dev.078675)
2. Matsuda, M., Koga, M., Nishida, E., and Ebisuya, M. Synthetic Signal Propagation Through Direct Cell-Cell Interaction. *Sci. Signal.*, **5**, ra31 (2012). (DOI: 10.1126/scisignal.2002764)
3. Tanimura, N., Saito, M., Ebisuya, M., Nishida, E., and Ishikawa, F. Stemness-related Factor Sall4 Interacts with Transcription Factors Oct-3/4 and Sox2 and Occupies Oct-Sox Elements in Mouse Embryonic Stem Cells. *J. Biol. Chem.*, **288**, 5027-5038, (2013). (DOI: 10.1074/jbc.M112.411173).