

江良 択実

熊本大学発生医学研究所  
教授

iPS 細胞を用いた組織幹細胞誘導の確立と分子基盤の解明

## § 1. 研究実施体制

### (1) 「江良」グループ

① 研究代表者: 江良 択実 (熊本大学、教授)

② 研究項目

- ・ES/iPS 細胞から誘導した中間段階細胞からの間葉系幹細胞と造血幹細胞への分化誘導方法の開発と分化経路の解明
- ・間葉系細胞の分化・増殖の分子機構の解明
- ・可視化レポーター遺伝子 (GFP 等) をマーカー遺伝子座に導入した ES/iPS 細胞の解析

### (2) 「西中村」グループ

① 主たる共同研究者: 西中村 隆一 (熊本大学、教授)

② 研究項目

- ・中腎及び後腎のネフロン前駆細胞の系譜解析
- ・マウス中間中胚葉段階から腎臓系譜への分化誘導
- ・マウス ES 細胞及びヒト iPS 細胞の誘導

### (3) 「中尾」グループ

① 主たる共同研究者: 中尾 光善 (熊本大学、教授)

② 研究項目

- ・iPS 細胞における標的遺伝子座の高次エピゲノムの解析
- ・iPS 細胞における細胞核構造の解析
- ・iPS 細胞とその分化誘導における解析

## § 2. 研究実施の概要

間葉系幹細胞の中胚葉を経由する分化経路解析において、マウスの間葉系幹細胞 (MSCs) の多能性を司る分子についての研究を進めた。マウス ES 細胞の中胚葉由来 MSCs、神経上皮由来 MSCs、マウス胎仔由来 MSCs を対象に DNA アレイを使って遺伝子発現解析を行い、MSCs に共通に特異的発現する遺伝子群のリストを作成した。現在 qPCR にて発現が一致した分子について shRNA によるノックダウンを進めている。

次に、新たに間葉系細胞の増殖に関わる分子として単離した分子が、その後の解析そのリプログラミングにも関与していることがわかりその解析を進めている。さらに、マウス間葉系幹細胞の起源についての研究では、マウス発生時期においてそれぞれのステージでマウス胎仔について間葉系幹細胞の頻度を調べ、発生起源を解析するとともに、間葉系幹細胞で働く分子の機能解析も進めている。

造血幹細胞は、胎生期に血管内皮細胞の一部から分化する。血管内皮細胞系列から血液細胞系列への「転換」のメカニズムを理解することは、造血幹細胞の発生メカニズムを解明するために重要である。これまで、この「転換」を起こす血管内皮細胞は明確に同定されていなかったが、マウス ES 細胞の試験管内分化系を用いて、「転換」を起こす血管内皮細胞を分離することに成功した。

一方、複雑な 3 次元構造をもつ腎臓の再生は極めて難しいとされていた。西中村らは、腎臓の起源が今まで考えられていた場所ではないことを発見し、そこから腎臓がどうやって形成されるかを解明した。これを基盤にして、マウス ES 細胞とヒト iPS 細胞から、腎臓の 3 次元構造を試験管内で誘導することに成功した。これは世界初の成果であり、腎臓再生に向けた大きな一歩である。ただし、現時点で誘導できる組織は腎臓の一部であり、未熟でかつ小さい。今後これを解決した上で、機能する腎臓を目指す必要がある。

iPS 細胞の形態学的な特性を理解するために、ヒト iPS 細胞 (標準株と新規株) について、イメージング解析を実施した。形態分類ソフトウェアを用いて、iPS 細胞が形成するコロニーの分類を行い、完全な iPS 細胞 (多能性を有する)、不完全にリプログラムされた non-iPS 細胞を検討し、両者の細胞のコロニー形態は~90%の正確度で区別可能であり、形態特徴の近遠度に基づく系統樹を作成した。また、核内構造体を認識する特異抗体を用いて、iPS 細胞と non-iPS 細胞を識別できることが判明した (2011 年特許出願)。iPS 細胞では、核内構造体のひとつである PML ボディーが特異な形成を呈した。さらに、iPS 細胞では、細胞老化を促進する p15/ARF/p16 遺伝子の発現は強く抑制されており、クロマチン因子 CTCF が高発現していた。同遺伝子座は CTCF による緩いクロマチンループの形成、ヒストン H3 の K4/K27 の両方のメチル化で特徴づけられた。このように、完全な iPS 細胞の識別につながる成果を得た。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

1. Tanaka A, Woltjen K, Miyake K, Hotta A, Ikeya M, Yamamoto T, Nishino T, Shoji E, Sehara-Fujisawa A, Manabe Y, Fujii N, Hanaoka K, Era T, Yamashita S, Isobe K, Kimura E, Sakurai H. Efficient and reproducible myogenic differentiation from human iPS cells: Prospects for modeling Miyoshi Myopathy in vitro. *PLOS ONE*, **8**:e61540, 2013. (doi:10.1371/journal.pone.0061540)
2. Yoshimura N, Motohashi T, Aoki H, Tezuka K, Watanabe N, Wakaoka T, Era T, Kunisada T. Dual origin of melanocytes defined by Sox1 expression and their region-specific distribution in mammalian skin. *Dev. Growth Differ.*, **55**: 270-281, 2013. (doi:10.1111/dgd.12034)
3. Taguchi A, Kaku Y, Ohmori T, Sharmin S, Ogawa M, Sasaki H, and Nishinakamura R. Redefining the in vivo origin of metanephric nephron progenitors enables generation of complex kidney structures from pluripotent stem cells. *Cell Stem Cell* **14**: 53-67, 2014. (doi:10.1016/j.stem.2013.11.010)
4. Hino S, Nagaoka K, and Nakao M. Metabolism-epigenome crosstalk in physiology and diseases. *J. Hum. Genet.* (Reviews, Special Section on Epigenomics: biological understanding and clinical application) **58**:410-415, 2013. (doi:10.1038/jhg.2013.57)
5. Kanda S, Ohmori T, Taguchi A, Kudo K, Horiuchi T, Sato Y, Hino S, Suzuki Y, Sander M, Sugano S, Nakao M, and Nishinakamura R. Sall1 co-operates with Six2 to actively maintain nephron progenitors. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014 (in press)

#### (3-2) 知財出願

- ①特許出願件数 (国内2件)
- ②CREST 研究期間累積件数 (国内5件)