

「人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) 作製・制御等の医療基盤技術」  
平成 21 年度採択研究代表者

H25 年度 実績報告
----------------

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. 研究実施の概要

### 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

リプログラミング過程のマイクロアレイの結果をもとに、重要な転写因子として同定した **Foxd1** と **Foxo1** の分子的作用機序を解析した。特に、**Foxd1** の下流遺伝子候補として同定した **Dax1** の機能阻害を行い、**Foxd1** 同様にリプログラミング効率が低下することを示した。また、**Foxd1** と **Foxo1** を同時に機能阻害すると、リプログラミング効率がさらに低下することを見出し、**Foxd1** と **Foxo1** が独立にリプログラミングに寄与している可能性を示した。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、複数の因子についてリプログラミングへの関与を見出した。また、グリア細胞の一種であるアストロサイトから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い、マウス胎仔繊維芽細胞からのリプログラミング過程と比較した。RNA 結合タンパク質 (RBPs) の siRNA スクリーニング結果をもとにした解析により、多能性幹細胞のスプライシング制御に関与する **U2AF1** と **SRSF3** の2つの RBP が、細胞リプログラミング過程で重要な役割を果たす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独自に開発した、腸に遺伝子を発現させる手法を用いて、小腸上皮幹細胞・前駆細胞の増殖に必須である因子を同定した。さらに、褐色脂肪細胞への分化の系において、薬剤スクリーニングを行い、褐色脂肪細胞への分化を制御する因子を同定した。

### 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

リプログラミング過程におけるマーカー遺伝子として着目した **Foxd1** に関して、**Cre/LoxP** システムを用いた細胞運命追跡実験を行い、95%以上の **Nanog** 陽性 iPS 細胞コロニーが、**Foxd1** 陽性細胞に由来することを示した。**Foxd1** の発現は一過的であるので、優れた時期特異的リプログラミングマーカー遺伝子といえる。

### 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

筋分化のマスターレギュレーターである転写因子 **MyoD** と脂肪分化のマスターレギュレーターである転写因子 **PPAR $\gamma$**  が互いに排他的に作用することを明らかにした。**PPAR $\gamma$**  が **MyoD** の作用を抑制する機構の一つとして、ユビキチン・プロテアソーム系の関与が示され、その制御に **Cdk** が関与していることを明らかにした。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

1. Koga, M., Matsuda, M., Kawamura, T., Sogo, T., Shigeno, A., Nishida, E., and Ebisuya, M., Foxd1 is a mediator and indicator of the cell reprogramming process. *Nat Commun*, **5**, 3197, (2014). (doi:10.1038/ncomms4197)
2. Ohta, S., Nishida, E., Yamanaka, S., and Yamamoto, T., Global splicing pattern reversion during somatic cell reprogramming. *Cell Rep.*, **5**, 357-366, (2013). (doi:10.1016/j.celrep.2013.09.016)
3. Sunadome, K., Suzuki, T., Usui, M., Ashida, Y., and Nishida, E., Antagonism between the master regulators of differentiation ensures the discreteness and robustness of cell fates. *Mol. Cell*, in press. (doi:10.1016/j.molcel.2014.03.005.)
4. Takashima, S., Hirose, M., Ogonuki, N., Ebisuya, M., Inoue, K., Kanatsu-Shinohara, M., Tanaka, T., Nishida, E., Ogura, A., and Shinohara, T. Regulation of pluripotency in male germline stem cells by Dmrt1., *Genes Dev* **27**, 1949-1958, (2013). (doi:10.1101/gad.220194.113)