

「エピゲノム研究に基づく診断・治療へ向けた新技術の創出」
平成 23 年度採択研究代表者

H25 年度
実績報告

鈴木 淳史

九州大学 生体防御医学研究所
教授

肝細胞誘導におけるダイレクトリプログラミング機構の解明とその応用

§ 1. 研究実施体制

(1)「鈴木」グループ(九州大学)

① 研究代表者: 鈴木 淳史 (九州大学 生体防御医学研究所、教授)

② 研究項目

- ・ iHep 誘導因子のゲノム上結合位置の同定
- ・ iHep 誘導因子のエピゲノム機能解析
- ・ ヒト iHep 細胞の作製と、エピゲノムの知見に基づく新しい iHep 細胞作製法の開発

(2)「大川」グループ(九州大学)

① 主たる共同研究者: 大川 恭行 (九州大学 医学研究院、准教授)

② 研究項目

- ・ 次世代シーケンサーによる解析
- ・ モノクローナル抗体の作製

(2)「長崎」グループ(東北大学)

① 主たる共同研究者: 長崎 正朗 (東北大学 東北メディカル・メガバンク、教授)

② 研究項目

- ・ ゲノムデータ解析プラットフォームのスーパーコンピュータ上での運用・開発
- ・ 大規模ゲノム情報解析

§ 2. 研究実施の概要

本研究では、最近明らかになった皮膚細胞から肝細胞への直接的な運命転換(ダイレクトリプログラミング)をエピゲノム情報の再構成として捉え、細胞のエピゲノム情報に立脚した細胞運命転換の制御メカニズムを明らかにする。そして、得られる結果から、細胞運命を規定する特定因子の働きとエピゲノム情報の再構成を繋ぐ新原理の発見や、ヒト皮膚細胞からの肝細胞誘導とエピゲノム情報の人為的操作に基づく革新的な治療・検査技術の開発を目指す。

iHep 細胞の作製には、Hnf4 α と Foxa (Foxa1, Foxa2, Foxa3 のいずれかひとつ)という転写因子が必要である。そこで、それら転写因子のゲノム上結合位置を同定するために必要な iHep 細胞及びモノクローナル抗体を作製し、かつ、トランスクリプトーム解析等を行うために必要な iHep 細胞も合わせて作製した。作製した iHep 細胞の RNA-seq を行ったところ、リプログラミングの精度を評価可能な遺伝子を複数同定することに成功した。これらの遺伝子を指標にすることで選別された良質な iHep 細胞については引き続きエピゲノム解析を行い、集められたデータの大規模解析を進めることによって良好なデータを得ている。一方、本研究の解析では RNA-seq によって取得されたデータから転写産物を正確に推定することが必要なことから、推定効率の極めて高い新手法を開発した。現在、この推定手法による発現の推定結果を用いて、より信頼度の高い結果を得られるように研究を進めている。また、これまでに得られた情報を基盤として応用することにより、ヒト iHep 細胞の作製を含め、エピゲノムの知見に基づく新しい iHep 細胞作製法の開発にも挑戦している。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

- 1 Takafusa Hikichi, Ryo Matoba, Takashi Ikeda, Akira Watanabe, Takuya Yamamoto, Satoko Yoshitake, Miwa Tamura-Nakano, Takayuki Kimura, Masayoshi Kamon, Mari Shimura, Koichi Kawakami, Akihiko Okuda, Hitoshi Okochi, Takafumi Inoue, Atsushi Suzuki, Shinji Masui, “Transcription factors interfering with dedifferentiation induce cell type-specific transcriptional profiles”, *Proc Natl Acad Sci USA*, vol. 110, No. 16, pp.6412-6417, 2013 (DOI: 10.1073/pnas.1220200110)
- 2 Sayaka Sekiya and Atsushi Suzuki, “Hepatocytes, rather than cholangiocytes, can be the major source of primitive ductules in the chronically injured mouse liver”, *Am J Pathol* (in press).
- 3 M. Villacorte, K. Suzuki, A. Hirasawa, Y. Ohkawa, M. Suyama, T. Maruyama, D. Aoki, Y. Ogino, S. Miyagawa, T. Terabayashi, Y. Tomooka, N. Nakagata, G. Yamada, “ β -catenin signaling regulates Foxa2 expression during endometrial hyperplasia formation”, *Oncogene*, vol. 32, No. 29, pp.3477-3482, 2013 (DOI: 10.1038/onc.2012.376)
- 4 Tomohiko Yoshimi, Yasuyuki Ohkawa, Masayuki Azuma, Taro Tachibana, “A panel of specific monoclonal antibodies directed against various phosphorylated histones H3”, *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*, vol. 32, No. 2, pp.119-124, 2013 (DOI: 10.1089/mab.2012.0105)
- 5 Keiko Kitajima, Shinya Oki, Yasuyuki Ohkawa, Tomoyuki Sumi, Chikara Meno, “Wnt signaling regulates left-right axis formation in the node of mouse embryos”, *Dev Biol*, vol. 380, No. 2, pp.222-232, 2013 (DOI: 10.1016/j.ydbio.2013.05.011)
- 6 Hiromi Kumamaru, Hirokazu Saiwai, Kensuke Kubota, Kazu Kobayakawa, Kazuya Yokota, Yasuyuki Ohkawa, Keiichiro Shiba, Yukihide Iwamoto, Seiji Okada, “Therapeutic activities of engrafted neural stem/precursor cells are not dormant in the chronically injured spinal cord.”, *Stem Cells*, vol. 31, No. 8, pp.1535-1547, 2013 (DOI: 10.1002/stem.1404)
- 7 Hirokazu Saiwai, Hiromi Kumamaru, Yasuyuki Ohkawa, Kensuke Kubota, Kazu Kobayakawa, Hisakata Yamada, Takehiko Yokomizo, Yukihide Iwamoto, Seiji Okada, “Ly6C(+)Ly6G(-) Myeloid-derived suppressor cells play a critical role in the resolution of acute inflammation and the subsequent tissue repair process after spinal cord injury”, *J Neurochem*, vol. 125, No. 1, pp.74-88, 2013 (DOI: 10.1111/jnc.12135)
- 8 Jun Katahira, Daisuke Okuzaki, Hitomi Inoue, Yoshihiro Yoneda, Kazumitsu Maehara, Yasuyuki Ohkawa, “Human TREX component Thoc5 affects alternative polyadenylation site choice by recruiting mammalian cleavage factor I”, *Nucleic Acids*

Res, vol. 41, No. 14, pp.7060-7072, 2013 (DOI: 10.1093/nar/gkt414)

9 Akihito Harada, Masayasu Hayashi, Yuuki Kuniyoshi, Yuichiro Semba, Satoko Sugahara, Taro Tachibana, Yasuyuki Ohkawa, Masatoshi Fujita, “Generation of a Monoclonal Antibody for INI1/hSNF5/BAF47”, *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*, vol. 33, No. 1, pp.49-51, 2014 (DOI: 10.1089/mab.2013.0065)

10 Akihito Harada, Etsuko Okazaki, Seiji Okada, Taro Tachibana, Yasuyuki Ohkawa, “Production of a Monoclonal Antibody for C/EBP β : The Subnuclear Localization of C/EBP β in Mouse L929 Cells”, *Monoclon Antib Immunodiagn Immunother*, vol. 33, No. 1, pp.34-37, 2014 (DOI: 10.1089/mab.2013.0069)

11 Scott E. LeBlanc, Qiong Wu, A. Rasim Barutcu, Hengyi Xiao, Yasuyuki Ohkawa, Anthony N. Imbalzano, “The PPAR γ locus makes long-range chromatin interactions with selected tissue-specific gene loci during adipocyte differentiation in a protein kinase A dependent manner”, *PLoS One*, vol. 9, No. 1, pp.e86140, 2014 (DOI: 10.1371/journal.pone.0086140. eCollection 2014)

12 Naoki Nariai, Osamu Hirose, Kaname Kojima, Masao Nagasaki, “TIGAR: transcript isoform abundance estimation method with gapped alignment of RNA-Seq data by variational Bayesian inference”, *Bioinformatics*, vol. 29, No. 18, pp.2292—2299, 2013 (DOI: 10.1093/bioinformatics/btt381)

13 Siti Razila Abdul Razak*, Kazuko Ueno*, Naoya Takayama, Naoki Nariai, Masao Nagasaki, Rika Saito, Hideto Koso, Chen-Yi Lai, Miyako Murakami, Koichiro Tsuji, Tatsuo Michiue, Hiromitsu Nakauchi, Makoto Otsu, Sumiko Watanabe, “Profiling of MicroRNA in Human and Mouse ES and iPS Cells Reveals Overlapping but Distinct MicroRNA Expression Patterns”, *PLoS One*, vol. 8, No. 9, pp.e73532, 2013 (*Equal contributor) (DOI:10.1371/journal.pone.0073532)