

影山 龍一郎

京都大学ウイルス研究所
教授

細胞増殖と分化における遺伝子発現振動の動態解明と制御

§ 1. 研究実施体制

(1)「影山」グループ

- ① 研究代表者:影山 龍一郎 (京都大学ウイルス研究所、教授)
- ② 研究項目
 - ・遺伝子発現振動の計測、操作と数理モデルの検証

(2)「郡」グループ

- ① 主たる共同研究者:郡 宏 (お茶の水女子大学人間文化創成科学研究科、准教授)
- ② 研究項目
 - ・ 遺伝子発現振動の数理モデル作成・解析
 - ・ 遺伝子発現制御の数理モデル作成・解析
 - ・ 相互作用する細胞集団の分化ダイナミクスの数理モデル作成・解析

§ 2. 研究実施の概要

神経幹細胞は、自己複製によって増殖しつつ、かつ脳を構成する主要な3種類の細胞であるニューロン、アストロサイト、オリゴデンドロサイトを生み出す多分化能を持つ。ニューロン分化は *Ascl1* によって、アストロサイト分化は *Hes1* によって、オリゴデンドロサイト分化は *Olig2* によって決定・促進されることが知られていた。しかし、*Hes1*、*Ascl1*、*Olig2* は神経幹細胞にも発現しており、その増殖を促進する。このように、同一因子が神経幹細胞の増殖能を活性化したり、神経幹細胞から特定の細胞分化を決定・促進したりするが、この相反する機能を制御するメカニズムは不明であった。

そこで、ホタルの発光たんぱく質であるルシフェラーゼと上記の分化運命決定因子の融合蛋白質が発現するような遺伝子改変マウスを作製し、分化運命決定因子の発現動態を解析した。高感度の発光イメージングによって、Hes1、Ascl1、Olig2の3種類の分化運命決定因子の発現動態を観察・解析することに成功した。その結果、神経幹細胞において Hes1、Ascl1 たんぱく質は 2～3 時間周期で、Olig2 たんぱく質は 5～8 時間周期で周期的に発現(発現振動)していること、分化決定時にはこの3種類の中から選ばれた1種類が持続発現して他の因子の発現が抑制されることが明らかになった。これらの結果から、分化決定因子は、発現振動すると神経幹細胞の増殖能を活性化し、持続発現すると分化決定を誘導すると考えられた。

次に、この仮説を検証するために、Ascl1 に注目し、機能解析を行った。そのため、青色光照射で遺伝子発現を誘導できる GAVPO システムを作製し、これを Ascl1 欠損神経幹細胞に導入した。青色光の照射パターンを変えることによって、この神経幹細胞に Ascl1 の発現振動や持続発現を誘導することが可能になった。そこで、Ascl1 の発現振動を3日間誘導したところ、ニューロンの形成は見られなかったが、神経幹細胞の増殖能が活性化された。一方、Ascl1 の持続発現を3日間誘導したところ、効率よくニューロン分化が起こった。したがって、発現動態の違いによって、同一因子が神経幹細胞の増殖能を活性化したり、ニューロン分化を決定できることが明らかになった。また、この技術によって、神経幹細胞の自己複製とニューロン分化誘導を「光」で制御できることが可能になった。従来用いられてきた外来性のたんぱく質や化合物を投与することなく、光の照射パターンを変えるだけで、神経幹細胞の増殖やニューロン分化を自在にコントロール可能な技術開発に成功した。

本研究は、自己複製能と多分化能の両立という神経幹細胞の根幹をなすメカニズムを明らかにした。Hes1 蛋白質は、神経幹細胞だけではなく、万能細胞(ES 細胞・iPS 細胞)や造血幹細胞・皮膚幹細胞などほとんどの幹細胞で発現が確認されていることから、本研究で見出された細胞分化決定因子の周期的な発現(発現振動)による制御機構は、他の種類の幹細胞においても普遍的に使用されているメカニズムであると考えられ、幹細胞研究全体への幅広い波及効果が予想される。また、神経幹細胞の自己複製とニューロン分化誘導を「光」で制御できる技術は、脳損傷や神経変性疾患に対する再生医療研究に貢献することが期待される。さらに、光照射による神経幹細胞の増殖・分化コントロール技術は、脳内の神経幹細胞にも適応できる可能性がある。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

論文詳細情報(国際)

1. Tateya, T., Imayoshi, I., Tateya, I., Hamaguchi, K., Torii, H., Ito, J., and Kageyama, R. (2013) Hedgehog signaling regulates prosensory cell properties during the basal-to-apical wave of hair cell differentiation in the mammalian cochlea. **Development** 140, 3848-3857. (DOI: 10.1242/dev.095398)

2. Imayoshi, I., Isomura, A., Harima, Y., Kawaguchi, K., Kori, H., Miyachi, H., Fujiwara, T.K., Ishidate, F., and Kageyama, R. (2013) Oscillatory control of factors determining multipotency and fate in mouse neural progenitors. **Science** 342, 1203-1208. (DOI: 10.1126/science.1242366)
3. Sakamoto, M., Ieki, N., Miyoshi, G., Mochimaru, D., Hirano, K., Miyachi, H., Imura, T., Yamaguchi, M., Fishell, G., Mori, K., Kageyama, R., and Imayoshi, I. (2014) Continuous postnatal neurogenesis contributes to the formation and maintenance of the functional olfactory bulb neural circuit. **J. Neurosci.** (in press).

(3-2) 知財出願

- ① 平成 25 年度特許出願件数(国内 1 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 1 件)