

課題番号 44

多能性幹細胞の不活化機構の解明

[1] 組織

代表者：岡村 大治
(近畿大学農学部バイオサイエンス学科)
対応者：松居 靖久
(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物件費19万6千3百円
旅費20万3千7百円

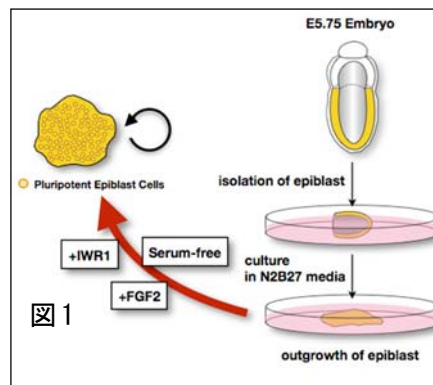
[2] 研究経過

本研究は「細胞の不活化」機構を体系的に理解することで、細胞の癌化やiPS細胞誘導の統一原理に迫り、発癌抑制やiPS細胞の腫瘍化抑制につながるターゲット分子の同定に結びつけることを目的として行った。

一昨年度、申請者が樹立に成功した新規多能性幹細胞(rsEpiSCs)は、着床直後のマウス胚の多能性細胞集団であるエピブラストをWntシグナル抑制剤(IWR1)とFGF2の添加条件下で培養することで、エピブラスト細胞は無限増殖能を獲得し多能性幹細胞株として樹立される(Okamura* et al., *Nature*, 2015)。驚くべきことにこの初代培養下において、1胚あたり500細胞ほどの細胞塊であるエピブラスト細胞のほとんど(99.5%)が、多能性を持つ株化細胞(不活化細胞)となり無限に増殖し続ける(図1)。このことは、「細胞の不活化」機構を「細胞集団」としてRNAシーケンスなどの大規模解析が実現出来る可能性を示しており、当該提案課題はここに着目した。

受け入れ教員である松居靖久教授にはRNAシーケンスの解析をご担当頂いた。ご担当頂くにあたり、どのような条件の細胞を集めるべきか、またその前提条件を検証するための初期実験をどのように進めていくべきかなど、共同研究の進捗のたびに加齢医学研究所で直接お会いして、加齢医学研究所内にて研究打ち合わせを行った。具体的には、下記の日程で合計3回行った。

- (1回目) 2017年4月14日
- (2回目) 2017年8月10日
- (3回目) 2018年1月17日



[3] 成果

(3-1) 研究成果

プロジェクトを進めるにあたり、まずはRNAシーケンスを行うための材料の検討を行った。RNAシーケンスで見えてくるであろう初動遺伝子を「無限増殖能の獲得プロセス」の上流に位置する候補遺伝子とするために、どの時期のエピブラスト細胞を採取してするのが最も適切であるかを検討した。

その結果、エピブラスト細胞が無限増殖能を獲得する過程を詳細に解析し、培養後6時間から12時間間に一部のエピブラスト細胞が株化し、多能性幹細胞となっていることが判明した。これは「無限増殖能を獲得する分子機構に迫る」目的を達成する上では大変重要な発見であり、この事実を根拠に我々は、大規模解析するための材料を培養前(0時間)と12時間培養後のエピブラスト細胞と定め、このサンプル間での発現遺伝子の比較をRNAシーケンスで行うこととした。一方で一つの懸念材料があった。それは、通常エピブラストを培養し多能性幹細胞を樹立するためにはフィーダー細胞を敷きその上で培養を行う必要があるが、フィーダー細胞がコンタミすることでRNAシーケンスの「ノイズ」となる点であった。我々は様々な条件を試しフィーダー細胞の代替となるものを探した結果、血清でコーティングし培養液にフィーダー細胞の培養上清を用いることで、フィーダー細胞を用いない樹立条件を確立することに成功した。これにより、RNAシーケンスを行うための材料や条件の検討が終了し、現在はエピブラスト細胞の回収が終了し、松居靖久教授と共同してRNAシーケンスとそのデータ解析を行なっている。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究の特色は、不死化過程にあるエピブラスト細胞の全てを材料とし RNA シーケンスや ChIP-seq 法などの「大規模解析」を実現出来る点にある。これは「無限増殖能を獲得」しつつある細胞を特定することが出来ない iPS 細胞の誘導過程や生体内における癌化のプロセスでは、現在においても極めてアプローチが難しい。私はここで見えてくるであろう分子機構は多能性幹細胞のみならず、iPS 細胞の誘導やガン幹細胞なども含めた様々な細胞の無限増殖能の獲得に共通している可能性が考えられ、癌予防薬などの新規の創薬ターゲットの探索に大きく貢献出来ると考える。

[4] 成果資料

現在までのところ、未だ解析途中にあることから、ここに該当するような成果はない。