

課題番号 6

新規多能性幹細胞株における生殖細胞形成能の解析

[1] 組織

代表者：望月 研太郎

(University of British Columbia)

対応者：松居 靖久

(東北大学加齢医学研究所)

研究費：物品費 20 万円

[2] 研究経過

種々の多能性細胞は、高い分化能を持つ『ナイーブ型』とやや分化能の劣る『プライム型』とのいずれかに属すると従来考えられてきた。例えば、ナイーブ型の内部細胞塊がプライム型のエピブラストを経ることで、生殖細胞分化の初発段階である始原生殖細胞 (PGC) が形成される。同様に、内部細胞塊から樹立される胚性幹細胞 (ESC) も、エピブラストへの分化誘導を経ることで、試験管内にて BMP4 や WNT3 といったサイトカインの働きで段階的に PGC へと分化可能である。一方で、PGC を特定条件下で培養すると、その細胞は ESC と同等のナイーブ型多能性幹細胞へと容易に再プログラム化される。

近年、従来の分類に当てはまらない新規の多能性幹細胞株の樹立が相次いで報告されている。例えば、FTW-ESC は、遺伝子発現パターンなどからナイーブ型とプライム型の間隔的な性質を持つ多能性幹細胞であることが示唆され、PGC への高い分化能が確認されている (Yu et al., *Cell Stem Cell*, 2020)。同様に、EPSC もナイーブ型とプライム型の間隔的な性質を持つ多能性幹細胞であることが示唆される一方で、PGC への分化能は確認されていない (Yang et al., *Nature*, 2017)。本研究では、両者の PGC 分化能の違いを探ることを目的として行った。

なお、下記の通り、研究打ち合わせをメールまたはスカイプを用いて行った。

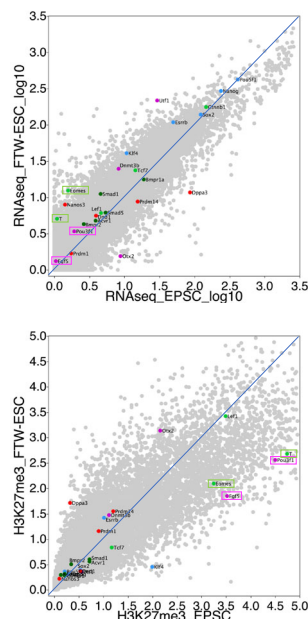
打ち合わせ実施日：(1) 2020 年 4 月 14 日
 (2) 2020 年 7 月 15 日
 (3) 2020 年 8 月 26 日
 (4) 2021 年 1 月 19 日

[3] 成果

A

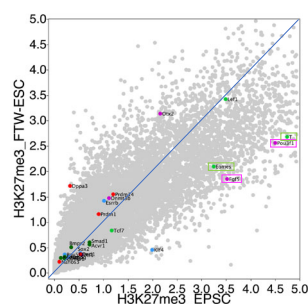
Enrichment FDR	Functional Category
7.15E-07	Cytokine-cytokine receptor interaction
1.31E-04	Osteoclast differentiation
2.60E-04	Staphylococcus aureus infection
2.79E-04	IL-17 signaling pathway
3.54E-04	Leishmaniasis

B

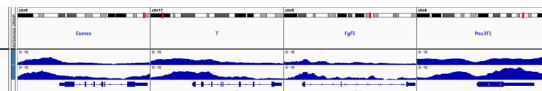


マーカー遺伝子
 Naive
 エピブラスト
 PGC
 BMP4経路
 WNT3経路

C



D



(3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第1に、FTW-ESC と EPSC との RNAseq によるトランスクリプトームの比較とパスウェイ解析から、前者ではサイトカイン-サイトカイン受容体の経路が顕著に活性化されていることを突き止めた (図A)。

第2に、サイトカインである WNT3 の下流で働く *T* および *Eomes* の発現が FTW-ESC で亢進していることを実際に RNAseq データより確認した (図 B)。さらに、EPSC にてそれらの遺伝子発現が低い原因として、遺伝子の転写開始点に抑制性のヒストン修飾である H3K27me3 が濃縮されることを ChIPseq データから発見した (図 C-D)。これらの結果は、FTW-ESC は *T* および *Eomes* に H3K27me3 による抑制を付与しないことによって、WNT3 シグナルに効率的に反応し、PGC 分化を進行する可能性を示唆するものかもしれない。また、既報より T が PGC 分化を正に制御することは知られていた (Aramaki et al, *Developmental Cell*, 2013) が、今回の結果は、

EOMES も同様の機能を持ち得ることを示唆しており、新規性がある。

第3に、EPSCにおいてH3K27me3はエピブラストマーカー遺伝子である *Fgf5* および *Pou3f1* の転写開始点でも亢進し、両遺伝子の低発現と一致している (図B・D) ことから、EPSCはナイーブ型とプライム型の中間的な性質を持つとされているものの、エピブラストには必ずしも近いわけではないことが推察された。

(3-2) 波及効果と発展性など

本研究において、ナイーブ型とプライム型の中間的な多能性を有する複数の細胞のPGC分化能を比較解析することで、PGC形成に重要な多能性状態の理解がより深まると考えられる。さらには、正常な胚発生過程で、何故一旦プライム型多能性を経てPGCが形成されるのかという長年の謎に迫る糸口を見出すことが期待される。

[4] 成果資料

現在、引き続き解析段階にあるため、該当するような成果はない。