

03-4410

ES細胞における分化多能性と高い増殖性の維持機構

代表研究者 奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター教授

山中伸弥

協力研究者 奈良先端科学技術大学院大学遺伝子教育研究センター教務職員

一 阪 朋 子

研究の目標

幹細胞を利用した細胞移植が、パーキンソン病、I型糖尿病、白血病など様々な疾患に対して期待されている。胚性幹（ES）細胞は高い増殖能と分化多能性を有することから、移植療法の資源としての価値が高い。しかしヒトES細胞は培養がマウスの場合より困難であり、また受精卵の利用という致命的な倫理的問題を有する。さらにES細胞を生体に移植すると奇形腫と呼ばれる特殊な須葉を形成するという問題点もある。これらを解決しない限り、真の臨床応用はあり得ない。私たちは最近、ES細胞の分化多能性を決定する転写因子Nanog（Cell 113: 631-642, 2003）や奇形腫形成における重要因子ERas（Nature 423: 541-545, 2003）をはじめとして、ES細胞で特異的に発現する遺伝子群を複数同定した。本研究においてはこれら遺伝子群の解析によりES細胞における特性維持機構を解明し、ヒトES細胞の培養法の改善、成体からの多能性幹細胞の分離もしくは樹立、および腫瘍形成抑制に関する技術開発を目指す。

研究計画

本研究においてはNanogとERasの機能解析をさらに進めるとともに、他のECAT遺伝子の機能も明らかにする。そしてその成果を利用して、理想的な幹細胞を樹立する技術開発を目指す。具体的には以下の研究項目を行う。

1. DNAマイクロアレイによるNanogおよびSTAT3の標的遺伝子の同定

これまでマウスES細胞の未分化状態はLIFにより活性化されたSTAT3によってのみ維持されてきたが、本研究者はNanogを数倍発現させると、STAT3非依存的に未分化状態を維持できることを見出した。未分化状態がSTAT3により維持されているES細胞と、Nanogにより維持されている細胞との間で、DNAマイクロアレイ解析を行う。両細胞とも未分化状態であり形態上は区別できないことから遺伝子発現の二次的な変化は少なく、両者で発現差のある遺伝子はSTAT3やNanogの標的である可能性が高い。

2. アフィニティー精製および質量分析によるNanog

の結合蛋白質の同定

Nanogは他の転写調節因子やクロマチン修飾因子と複合体を形成する可能性がある。そこでNanogと結合する蛋白因子の精製をTAP（Tandem Affinity Purification）法により行う。精製された蛋白質の同定は、奈良先端大で現有するMALDI-TOF型およびLC/MS/MS型質量分析計により行う。

3. Nanogを利用したヒトES細胞培養法の改善

大腸菌で産生、精製したNanog蛋白を培地に加えるとES細胞の未分化状態を維持できることが予備的実験により示されている。そこでLIFが無効であるヒトやサルES細胞において、リコンビナントNanog蛋白が未分化状態の維持を促進するかどうかを検討する。

4. ECAT遺伝子群の調節領域の同定と、それを利用した未分化ES細胞除去技術の開発

本研究者はすでに全ECATのヒト相同遺伝子を決定し、その遺伝子構造を明らかにしている。これをもとにレポーター遺伝子を作成し、未分化ES細胞特異的な発現をもたらす調節領域を同定する。次にその調節領域とHerpes simplex virus thymidine kinase遺伝子を組み合わせたベクターを作成し、サルやヒトES細胞に導入する。この細胞をヌードマウスに移植し、抗ウイルス薬であるFIAUを投与の腫瘍抑制効果を検討する。最も腫瘍抑制効果が大きく、かつ分化多能性は抑制しないベクターを選択する。

5. 他のECAT遺伝子群の機能解析

全ECAT遺伝子に関して、遺伝子ノックアウトおよび過剰発現系による機能解析を行う。