

(平成 25 年度 研究実施報告)

# 国際科学技術共同研究推進事業 (戦略的国際共同研究プログラム)

研究領域 「幹細胞のエピジェネティクス」

研究課題名「細胞移植治療の実現に向けた細胞アイデンティティ制御」

平成25年度実施報告書

代表者氏名 山田 泰広  
(京都大学 iPS 細胞研究所・教授)

## 1. 研究実施内容

### 1-1. 研究実施の概要 公開

平成 25 年度は、細胞初期化過程における細胞アイデンティティの消失について様々な観点からの検討を行った。

山田グループは、ウォルツェングループとともに、細胞アイデンティティの消失が発がんと密接に関連することを、マウスモデルを用いて明らかにした。まず、生体内で体細胞を初期化できる「生体内体細胞初期化システム」を構築した。生体内での体細胞初期化を途中で中止することで、中途半端な細胞初期化状態を誘導すると、複数の臓器に未分化な異型細胞の増生からなる腫瘍を形成することを示した。それらの腫瘍は Wilms 腫瘍に代表されるような小児芽腫に類似しており、小児芽腫の発生と細胞アイデンティティの消失に関与するエピゲノム制御が関連していることが示唆された。興味深いことに、発生したがん細胞は完全初期化により多能性幹細胞へと変化し、さらに初期化されたがん細胞は、非腫瘍性の腎臓細胞に分化可能であることが分かった。現在まで発がんの原因は遺伝子配列異常であると広く受け入れられてきた。我々の成果は、遺伝子配列異常に依存しない発がん経路の存在を示唆するものである。細胞アイデンティティ消失に関わるエピゲノム制御が関与する発がんメカニズムを解明することは、新しいがん治療法の開発に有用のみならず、安全な細胞移植治療の実現にむけて重要な知見を与えるものと考えられる。これらの研究成果は Cell (156(4):663-77, 2014) に発表し、JST から本研究プロジェクトの成果としてプレスリリースを行った。

眞貝グループは、生体内細胞初期化システムを用いて細胞アイデンティティの維持／消失に関わるヒストン修飾状態の解析を行うことを目標に、少量検体からのヒストンマーク解析技術 (ChIP-seq) の開発を進めた。ヒストンマークの種類によっては数千個の細胞から解析できる可能性がでてきた。

ウォルツェングループは Klf4 が細胞初期化の時期特異的に異なる役割を果たすことを明らかにした。Klf4 の発現亢進により、細胞初期化の早期過程が阻害されることが明らかとなった。細胞アイデンティティの維持と Klf4 の関連が示唆された (投稿準備中)。

H25 年度には、シンポジウムの開催とともに、合計 6 回の研究打ち合わせを行った。6 回のうち 2 回は、日本、カナダ両国のグループが参加した。研究の進捗状況を確認するとともに、今後の方針についての議論を行った。

## 2. 研究実施体制 公開

### 2-1. 日本側の研究実施体制

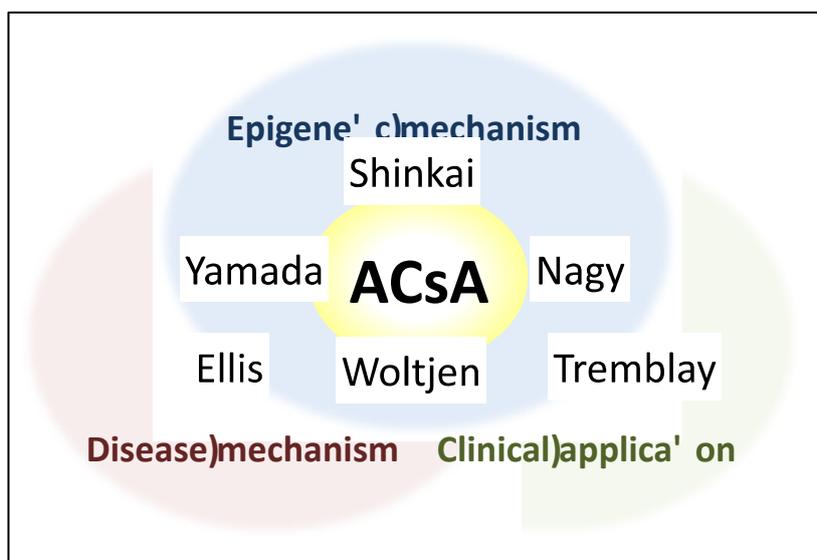
研究代表者/ 主な共同研究者	氏名	所属	所属部署	役職
研究代表者	山田 泰広	京都大学	iPS 細胞研究所	教授
主な共同研究者	眞貝 洋一	理化学研究所	眞貝細胞記憶 研究室	主任研究員
主な共同研究者	クヌート ウォルツェン	京都大学	iPS 細胞研究所	准教授

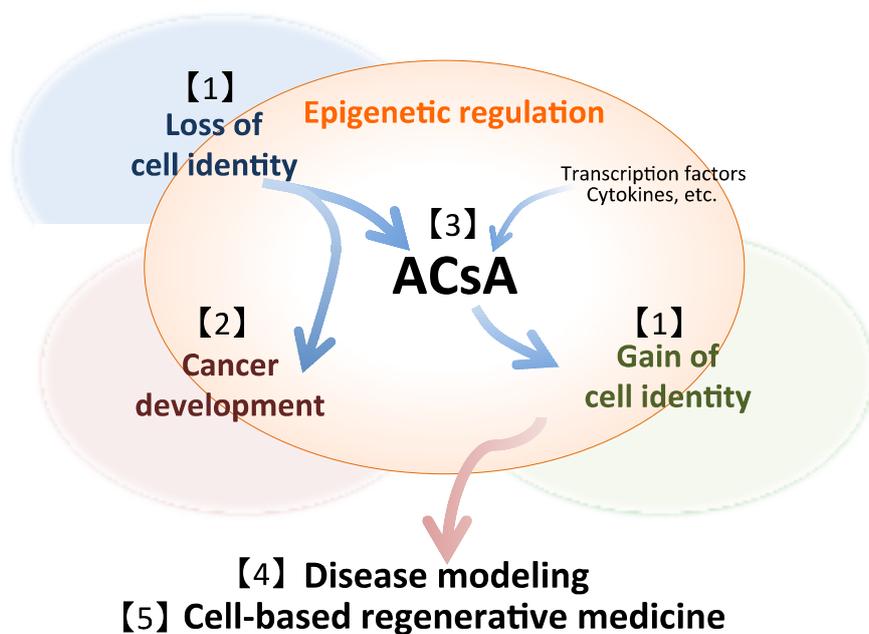
### 2-2. 相手側の研究実施体制

研究代表者/ 主な共同研究者	氏名	所属	所属部署	役職
研究代表者	アンドラス ナギー	マウント・サイナイ病院	サミュエル ルネ ンフェルド研究所	上席研究員
主な共同研究者	ジェームス エリス	トロント小児病院	発生・幹細胞 部門	上席研究員
主な共同研究者	ジャック トレンベリー	ラバル大学	分子医学講座	教授

### 2-3. 両国の研究実施体制

## ACsA; Assisted Cell-state Alteration





- 【1】 初期化因子発現による iPS 細胞を含む準安定的細胞の形成過程に関わるエピジェネティック修飾状態の同定（細胞アイデンティティの消失、獲得に関わるエピジェネティクス制御の同定）  
山田、ウォルツェン、眞貝、Nagy、Ellis グループ
- 【2】 がん化に関わる準安定的細胞のエピジェネティック修飾状態の同定  
山田、眞貝グループ
- 【3】 エピジェネティクス制御による効果的な細胞運命制御方法 ACsA の開発  
眞貝、Nagy、ウォルツェン、Ellis グループ
- 【4】 細胞運命制御方法 ACsA を活用した疾患発症メカニズムの解明  
山田、ウォルツェン、Ellis グループ
- 【5】 細胞運命制御方法 ACsA を活用した細胞移植治療用分化細胞の誘導  
Tremblay、Nagy、ウォルツェングループ

### 3. 原著論文発表 公開

#### 3-1. 原著論文発表

##### ① 発行済論文数

	うち、相手側チームとの共著 (※)
国内誌 0 件	( 0 件)
国際誌 7 件	( 0 件)
計 7 件	( 0 件)

※本共同研究の相手国チーム研究者との共著に限る

\*1. Ohnishi K, Semi K, Yamamoto T, Shimizu M, Tanaka A, Mitsunaga K, Okita K, Osafune K, Arioka Y, Maeda T, Soejima H, Moriwaki H, Yamanaka S, Woltjen K, Yamada Y. Premature termination of reprogramming in vivo leads to cancer development through altered epigenetic regulation. *Cell*. 156: 663-77, 2014.

一過性初期化因子の発現により小児芽腫に類似した発がんが誘導されることを示した。それらのがん細胞では、部分的に多能性幹細胞と類似した DNA メチル化状態を認めた。細胞アイデンティティの消失に関わるエピゲノム制御が発がんに関与することを示した。

2. Sakuma T, Hosoi S, Woltjen K, Suzuki K, Kashiwagi K, Wada H, Ochiai H, Miyamoto T, Kawai N, Sasakura Y, Matsuura S, Okada Y, Kawahara A, Hayashi S, Yamamoto T. Efficient TALEN construction and evaluation methods for human cell and animal applications. *Genes to cells : devoted to molecular & cellular mechanisms*, 18(4), 315-326, 2013.

3. Tanaka A, Woltjen K, Miyake K, Hotta A, Ikeya M, Yamamoto T, Nishino T, Shoji E, Sehara-Fujisawa A, Manabe Y, Fujii N, Hanaoka K, Era T, Yamashita S, Isobe K, Kimura E, Sakurai H. Efficient and reproducible myogenic differentiation from human iPS cells: prospects for modeling Miyoshi Myopathy in vitro. *PLoS ONE*, 8(4), e61540, 2013.

4. Yamada K, Ohno T, Aoki H, Semi K, Watanabe A, Moritake H, Shiozawa S, Kunisada T, Kobayashi Y, Toguchida J, Shimizu K, Hara A and Yamada Y\*. *EWS/ATF1* expression induces sarcomas from neural crest-derived cells in mice. *Journal of Clinical Investigation*, 123: 600-10, 2013.

5. Hirata A, Utikal J, Yamashita S, Aoki H, Watanabe A, Yamamoto T, Okano H, Bardeesy N, Kunisada T, Ushijima T, Hara A, Jaenisch R, Hochedlinger K\*, Yamada Y\*. Dose-dependent roles for canonical Wnt signaling in de novo crypt formation and cell cycle properties of the colonic epithelium. *Development*, 140: 66-75, 2013.

6. Gallagher D, Norman AA, Woodard CL, Yang G, Gauthier-Fisher A, Fujitani M, Vessey JP, Cancino GI,

Sachewsky N, Woltjen K, Fatt MP, Morshead CM, Kaplan DR, Miller FD. Transient maternal IL-6 mediates long-lasting changes in neural stem cell pools by deregulating an endogenous self-renewal pathway. *Cell Stem Cell*, 13(5), 564–576, 2013.

7. Yamashita A, Liu S, Woltjen K, Thomas B, Meng G, Hotta A, Takahashi K, Ellis J, Yamanaka S, Rancourt DE. Cartilage tissue engineering identifies abnormal human induced pluripotent stem cells. *Scientific reports*, 3, 1978, 2013.

② 未発行論文数

	うち、相手側チームとの共著 (※)
国内誌 0 件	( 0 件)
国際誌 0 件	( 0 件)
計 0 件	( 0 件)

※本共同研究の相手国チーム研究者との共著に限る