

課題番号 61

p38MAPK による生殖細胞のリプログラミング抑制機構の解明

[1] 組織

代表者: 岡村 大治

(近畿大学農学部生物機能科学科)

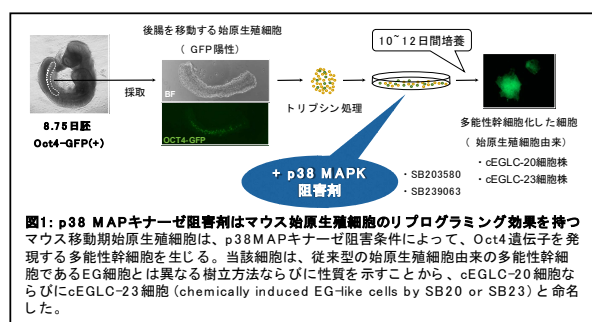
対応者: 松居 靖久

(東北大学加齢医学研究所)

研究費: 旅費_70,920 円

物件費_59,080 円

[2] 研究経過



将来精子や卵子へと分化する始原生殖細胞は、受精というイベントを介して初めて全能性・多能性を発揮する。しかし、受精までに多能性を発揮した場合はテラトーマと呼ばれる胚性腫瘍のリスクを向上させるため、始原生殖細胞は多能性を発揮できないように様々な分子機構によって制御され、その破綻はテラトーマ発症につながる事が予想される。始原生殖細胞の培養条件下において、各種成長因子やサイトカインの添加によって上記のような制御機構は破綻しEG細胞と呼ばれる多能性幹細胞へリプログラムされる場合があり、始原生殖細胞は多能性を発揮出来るようになる (Matsui et al., *Cell*, 1992)。そこで我々はEG細胞へのリプログラミング過程を生体内におけるテラトーマ発生を模倣する生体外のシステムとして捉えた。この始原生殖細胞の初代培養システムに様々な低分子化合物である各種阻害剤を添加し、仮に始原生殖細胞がリプログラミングを起こした場合、阻害されたシグナル分子が生体内での始原生殖細胞において多能性を発揮させないように制御している分子機構であり、またテラトーマの原因シグナルである可能性が示唆される (図1)。

今回我々はエピジェネティック修飾分子やシグナル伝達阻害剤として機能する種々の低分子化合物のスクリーニングを行なった結果、p38 MAP キナーゼ

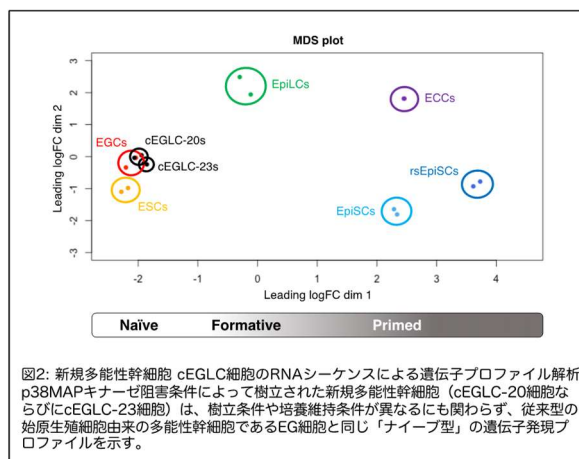
阻害剤 (SB239063 ならびに SB203580) を添加することでマウス始原生殖細胞から従来のEG細胞とは大きく異なる性質を持つ多能性幹細胞を作製することに成功した。化学物質のみによって誘導されたEG様細胞を以降「cEGLCs (chemically induced EG-like cells)」と呼称することとする。cEGLC細胞らは代表的な未分化マーカーである Oct4-GFP を発現する一方で、EG細胞が強い発現を示すアルカリフォスファターゼ活性の減弱化が認められたことから、従来のEG細胞との差異が注目された。

研究打ち合わせ等の開催状況:

打ち合わせ実施日: 2024年3月3日-3月5日

[3] 成果

(3-1) 研究成果



網羅的な遺伝子プロファイル解析が必要との判断から、RNA-seq解析を実施した結果、新規多能性幹細胞 cEGLCs は従来のEG細胞と同じような「ナイーブ型」の多能性を示すことが明らかとなった (図2)。またこれらの新規多能性幹細胞が樹立された経緯から、材料として用いたマウス始原生殖細胞内において p38 MAP キナーゼが機能することにより、リプログラミングを抑制している可能性が示唆された。

現在、上記研究結果を含めた内容で、論文を準備している (松居先生との共著)。論文内で我々は、活性型 p38 MAP キナーゼタンパク質はマウス始原生殖細胞において、未分化性の発揮 (リプログラミング) ならびにテラトーマ化を抑制するように機能している可能性に言及する。

(3-2) 波及効果と発展性など

現在までに iPS 細胞の誘導と共通する遺伝子導入やリプログラミング因子の添加によって、マウス始原生殖細胞からの多能性幹細胞の樹立は数多くなされてきたが、生体内の始原生殖細胞が内包するリプログラミング抑制機構については、雄マウスにおける Dnd1 遺伝子を除いてほとんど明らかになっていない。

今回、始原生殖細胞内で機能する(活性化している)シグナル経路の阻害剤によってリプログラミングが誘導され、雌雄を問わず多能性幹細胞が樹立されたことは (eEGLC-20, -23 細胞)、生体内の始原生殖細胞内において雌雄間で保存されたリプログラミング抑制機構ならびに奇形腫(テラトーマ)抑制機構が存在することを強く示唆している。

今後は本研究を発展させ、生殖細胞におけるテラトーマ形成の分子メカニズムの解明を明らかにしていきたい。

[4] 成果資料

対応者の松居靖久教授とともにデータをまとめ、現在投稿中

p38 MAPK as a gatekeeper of reprogramming in mouse migratory primordial germ cells.

Okamura D, Kohara A, Chigi Y, Katayama T, Sharif J, Wu J, Matsui Y.

Under submission (現在投稿中)