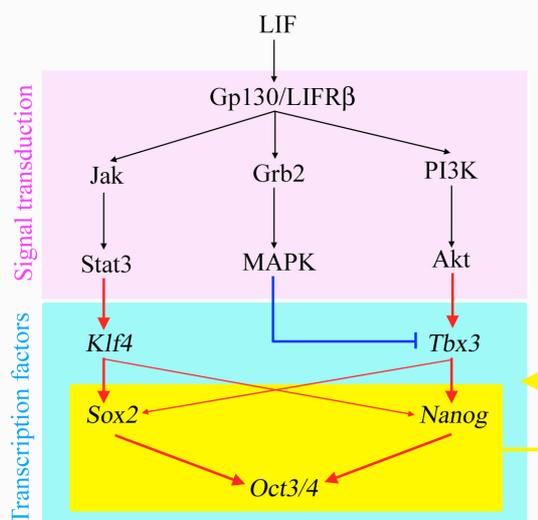


LIF が多能性を維持する仕組みを解明

平成 21 年 7 月 8 日

マウス ES 細胞の多能性を維持するためには、LIF (leukemia inhibitory factor) が必要であることは良く知られている。LIF を培地から取り除くと、ES 細胞はたちまち分化を始めてしまう。LIF は幾つかのシグナル経路を介して、多能性を維持する 3 つの転写因子、Sox2、Nanog、Oct3/4 を制御していると考えられているが、その詳しい地図はまだ描けていない。ES 細胞における多能性維持のメカニズムを理解するためには、LIF による制御機構を解明する必要があった。

今回、理研 CDB の丹羽仁史チームリーダー (多能性幹細胞研究チーム) らは、LIF が 2 つの平行するシグナル経路を介して Sox2、Nanog、Oct3/4 を制御し、マウス ES 細胞の多能性を維持していることを明らかにした。それぞれの経路を構成する因子が明らかになるとともに、2 つの経路を介することで Oct3/4 の発現がより安定的に維持されていることも示唆された。この研究成果は科学誌 *Nature* の 7 月 2 日号に掲載された。



マウスの ES 細胞では、LIF が 2 つの平行するシグナル経路を介して Sox2、Nanog、Oct3/4 の発現を誘導し、多能性を維持していることが明らかになった。一方、MAP キナーゼ (MAPK) 経路は Tbx3 に対して抑制的に働いていた。

近年、LIF の不在下でも、Nanog あるいは Stat3 と呼ばれるシグナル因子を過剰発現することで、マウス ES 細胞の多能性を維持できることが示されていた。つまり、これらの因子が LIF の下流で 3 つの転写因子、Sox2、Nanog、Oct3/4 を制御していることが示唆されるが、その具体的な経路は不明だった。

丹羽らはまず、Klf4 や Tbx3 といった転写因子を過剰発現させた場合も、LIF 非依存的に自己複製を維持できることを見出した。そこで次に、LIF 不在下で、Nanog、Klf4、Tbx3 のいずれ

かの過剰発現によって維持された ES 細胞における、内在性遺伝子の発現量を調べた。すると、いずれの場合も Oct3/4 の発現は安定的に維持されていたが、興味深いことに、Nanog と Tbx3 を発現させた細胞では、Klf4 の発現量が野生型の ES 細胞(LIF 不在下で培養)と同様のレベルに低下していた。また、これらの細胞では Sox2 の発現も低下していた。この結果は、Nanog と Sox2 は異なる経路で Oct3/4 を活性化するというこれまでの知見を支持していた。続いて各因子に対する抗体染色を行ったところ、Nanog、Klf4、Tbx3 の発現量は細胞によってバラつきがあるのに対し、Oct3/4 の発現は均一だった。この結果は、3つの不均一なシグナルが何らかの仕組みによって1つの均一な出力を生み出していることを示唆していた。また、いったん LIF を除去した ES 細胞に再び LIF を与えたところ、Tbx3 と Nanog の発現に変化はなかったが、Klf4 の発現量が上昇することが確認された。

LIF の下流には3つのシグナル経路、Jak-Stat3 経路、PI(3)K-Akt 経路、MAP キナーゼ経路が知られている。ES 細胞においては、PI(3)K-Akt 経路と MAP キナーゼ経路は複数の上流因子をもつのに対し、Jak-Stat3 経路は LIF のみによって制御されている。今回丹羽らは、LIF の存在下でこれらの経路を特異的に阻害あるいは活性化する実験を行った。まず、Jak-Stat3 経路を阻害すると、Klf4 の発現は抑制されたが、Tbx3 と Nanog の発現には影響がみられなかった。また、PI(3)K-Akt 経路を活性化すると、Tbx3 と Nanog の発現が上昇したが、Klf4 は影響を受けなかった。さらに、MAP キナーゼ経路を阻害すると Tbx3 の核移行が促進することから、MAP キナーゼ経路は Tbx3 転写活性に抑制的に働いていることが示された。これらの結果は、2つの平行する経路、Jak-Stat3 経路と PI(3)K-Akt 経路が、それぞれ Klf4 と Tbx3 を介して、Oct3/4 の発現を活性化していることを示していた。これら一連の結果から、彼らは上図のモデルを提唱している。

「今回の研究では、ES 細胞において多能性の維持に関与しているシグナル伝達機構の詳細を明らかにすることができました。それによると、LIF は2つの経路を介して Oct3/4 を活性化し、多能性をより強固に保証している可能性があります」と丹羽チームリーダーは話す。「今回の知見が、多様な環境下で幹細胞が維持されるメカニズムの解明につながれば良いと思います」。