



ニューロンを作る幹細胞と作らない幹細胞～何が違いを決める？

1. 発表者：

壺井 将史 （研究当時：東京大学大学院工学系研究科 博士課程3年生）

岸 雄介 （東京大学大学院薬学系研究科 講師）

平林 祐介 （東京大学大学院工学系研究科 准教授）

後藤 由季子（東京大学大学院薬学系研究科 教授／東京大学国際高等研究所ニューロインテリジェンス国際研究機構 主任研究者）

2. 発表のポイント：

- ◆ 遺伝子の情報読み出しに関わる「ポリコーム群タンパク質」の持つ2つの機能が、神経幹細胞のニューロン産生能が「有る状態」と「無い状態」の決定に関与することを示しました。
- ◆ 本研究は、未だ大きな謎である、幹細胞が特定の細胞のみに分化出来る機構のひとつを明らかにしました。
- ◆ 今後、ポリコーム群タンパク質の制御によって、神経幹細胞におけるニューロン分化能の制御が可能にできれば、将来的に再生医療に貢献することが期待されます。

3. 発表概要：

私たちの体を作るさまざまな「幹細胞」は、発生が進むと徐々に分化可能な細胞の種類が少なくなります。たとえば脳を作る「神経幹細胞（注1）」は、発生の過程で初めはニューロンに分化できますが、発生後期になるとその能力を失い、グリア細胞のみに分化します。しかしこの「幹細胞の分化能力」がどのように制御されているのかについては未だに多くが謎に包まれています。東京大学大学院工学系研究科の壺井将史大学院生（研究当時）、平林祐介准教授、東京大学大学院薬学系研究科の岸雄介講師、後藤由季子教授らの研究グループは、ポリコーム群タンパク質（PcG、注2）に注目してそのメカニズムの一端を明らかにしました。まず、ニューロン分化期においては、PcGがヒストンユビキチン化という修飾によって「一過的に（可逆的に）」ニューロン関連遺伝子の発現を抑制しており、ニューロン分化誘導シグナルにตอบสนองしてPcGによる抑制が外れることで、ニューロン関連遺伝子が活性化しニューロンに分化することが示されました。一方グリア分化期では、PcGはヒストンユビキチン化ではなく、PcG自身の凝集化によって「がっちり（永続的に）」ニューロン関連遺伝子の発現を抑制しているために、ニューロン分化誘導シグナルにตอบสนองしてPcGによる抑制が外れないため、神経幹細胞はニューロンに分化しないことが示されました。この成果は、再生医療の実現において、幹細胞の分化能を適切に制御することで、目的の細胞に分化させる方法を確立するために重要な知見になることが期待されます。

本研究成果は、日本時間12月18日（火）に米国科学誌 *Developmental Cell* に掲載されました。

4. 発表内容：

1. 研究の背景

幹細胞は、未分化な状態を保ちつつさまざまな細胞に分化する能力を持つ、という一見矛盾する性質を併せ持つ細胞です。この2つの性質を維持するために、幹細胞では分化細胞で機能する遺伝子の転写が「一過的に」抑制され、分化を促すシグナルにより活性化できるような状態になっています。一方で、発生初期には多くの細胞種に分化できた幹細胞も、胎児から成体になるにつれて徐々に分化できる細胞種が限られていき、分化能が徐々に制限されていきます。この過程で起こる、分化細胞で機能する遺伝子の「一過的な」抑制状態から「永続的な」抑制状態への移行は、幹細胞の分化能の制御における本質的な変化であるにもかかわらず、これまでそのメカニズムは明らかにされていません。

組織幹細胞の1つであるマウス大脳新皮質神経幹細胞は、出生前にはニューロンに分化できる、すなわちニューロン分化能を持っていますが（ニューロン分化期）、出生後にはニューロン分化能を失い、グリア細胞を産生するようになります（グリア分化期）。これに伴って、ニューロン関連遺伝子の転写は、「一過的な」抑制状態から「永続的な」抑制状態へと移行します。興味深いことに、本研究グループの成果を含むこの分野におけるこれまでの研究から、この両方の抑制状態に転写抑制因子である PcG が重要であることが示唆されました。そこで本研究グループは、ニューロン分化期とグリア分化期の神経幹細胞で PcG にどのような変化が起きているかに注目してこの課題に取り組みました。

2. 研究内容

PcG の必須構成因子である Ring1 タンパク質（注3）は、遺伝子転写に深く関わるヒストン H2A にユビキチン化を施す酵素として働くことが知られています。本研究グループは、Ring1B タンパク質のユビキチン化活性を完全に消失した Ring1B 変異体（Ring1B I53A/D56K）を世界で初めて作製し、Ring1A, B を欠損した初代培養神経幹細胞を用いて Ring1 タンパク質のユビキチン化活性の必要性を検討しました。

その結果、興味深いことに、ニューロン分化期における「一過的な」抑制状態には Ring1 タンパク質のユビキチン化活性が必要であるが、グリア分化期の「永続的な」抑制状態にはユビキチン化活性は不要であることがわかりました。さらに重要なことにこの「永続的な」抑制状態には Ring1 と複合体を作る Phc2 という因子による PRC1 同士の自己重合／凝集が必要であることが示唆されました。これは、幹細胞における2つの異なる分化遺伝子抑制状態がどのように制御されているかを明らかにした世界で初めての研究です。

ではユビキチン化活性依存的な抑制状態から非依存的な抑制状態へはどのようにして移行するのでしょうか？本研究グループはこの点について、Mbd3 タンパク質を含む NuRD/Hdac 複合体がヒストンの脱アセチル化を行い（注4）、ユビキチン化活性への依存性が変化することを示唆する結果を得ました。つまりヒストンの脱アセチル化こそが、発生の時間経過とともに神経幹細胞の分化能を喪失させるトリガーであると言えます。

3. 今後の展望

上述の通り、幹細胞における分化細胞で機能する遺伝子の「一過的な」抑制状態と「永続的な」抑制状態の使い分けは、幹細胞が産生することができる細胞系譜の決定に必須の役割を担います。本研究成果は、幹細胞ではどのようにその特殊な能力が維持されているのか、という幹細胞研究の本質に迫るものであると考えています。PcGはニューロン関連遺伝子だけでなく、ほとんどの分化関連遺伝子を抑制することが知られています。したがって本研究で明らかになった「分化能あり・なし」のPcGによるスイッチは他の幹細胞にも共通している可能性があります。

また、最近では幹細胞を用いた再生医療の実現に期待が高まっていますが、実際には幹細胞から分化細胞を適切に誘導し、必要な細胞種を大量に得るところで問題を抱えることがあります。本研究成果は、幹細胞の分化能を適切に制御して必要な細胞種を生産する方法を確立することに寄与することが期待されます。

<本研究の主な助成事業>

科学研究費補助金

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構の革新的先端研究開発支援事業

(AMED-CREST)「生体恒常性維持・変容・破綻機構のネットワーク的理解に基づく最適医療実現のための技術創出」研究開発領域における研究開発課題「環境適応・ストレス応答の生体恒常性を司る神経幹細胞の制御と破綻」(研究開発代表者：後藤由季子)の一環で行われました。なお、本研究開発領域は、平成27年4月の日本医療研究開発機構の発足に伴い、国立研究開発法人科学技術振興機構(JST)より移管されたものです。

5. 発表雑誌：

雑誌名：*Developmental Cell* (2018年12月17日号)

論文タイトル：Ubiquitination-independent repression of PRC1 targets during neuronal fate restriction in the developing mouse neocortex

著者：Masafumi Tsuboi, Yusuke Kishi, Wakana Kyojuka, Haruhiko Koseki, Yusuke Hirabayashi, and Yukiko Gotoh

DOI番号：10.1016/j.devcel.2018.11.018

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院薬学系研究科

教授 後藤 由季子 (ごとう ゆきこ)

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1

Tel : 03-5841-4870

E-mail : ygotoh@mol.f.u-tokyo.ac.jp

国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)

基盤研究事業部 研究企画課

Tel : 03-6870-2224 FAX : 03-6870-2246

E-mail : kenkyuk-ask@amed.go.jp

7. 用語解説：

(注 1) 神経幹細胞

中枢神経系を構成するニューロンや、アストロサイト、オリゴデンドロサイトなどのグリア細胞を産み出す幹細胞です。発生の早い時期にはニューロンを産み出しますが、遅い時期になるとニューロンを産み出すことができずにグリア細胞を産生します。ニューロンは脳での情報伝達を行う細胞で、アストロサイトは主にその機能をサポートする役割がありますが、どちらも脳の機能に重要な細胞種です。

(注 2) ポリコーム群タンパク質複合体 (PcG)

ヒストン修飾などのエピジェネティックな制御を通じて遺伝子の転写を抑制する転写因子複合体です。さまざまな組織の発生で重要な役割を果たすことが知られており、神経幹細胞でも分化能や増殖などを制御することが知られています。PRC1 と PRC2 という 2 つの複合体から構成され、そのうち PRC1 は、PRC2 が施したヒストン H3 リジン 27 のメチル化を認識して標的遺伝子座に結合し、実際に転写を抑制する因子であることが知られています。PRC1 には Ring1 タンパク質や Phc2 などさまざまなタンパク質が含まれます。

(注 3) Ring1 タンパク質

PcG において非常に重要な役割を果たし、Ring1A と Ring1B の 2 つのファミリー遺伝子から構成されます。実際に、Ring1 タンパク質を欠損した細胞では PcG が働かなくなることがさまざまな細胞種で示されています。ユビキチン化を施す E3 リガーゼであることが知られており、Ring1 タンパク質がヒストン H2A にユビキチン化を施すことが転写の抑制に重要である場合があることも報告されています。

(注 4) Mbd3、NuRD 複合体、ヒストン脱アセチル化

染色体上のヒストンのアセチル化はそこに存在する遺伝子の転写を促進することが知られており、PcG とは逆の働きを担います。ヒストンの脱アセチル化は遺伝子の発現抑制に関わることが知られており、それを担う酵素がヒストン脱アセチル化酵素 (Hdac) です。Hdac が含まれる複合体の 1 つが NuRD 複合体です。NuRD 複合体では Mbd3 タンパク質が複合体形成に必須の役割を果たしています。

8. 添付資料 :

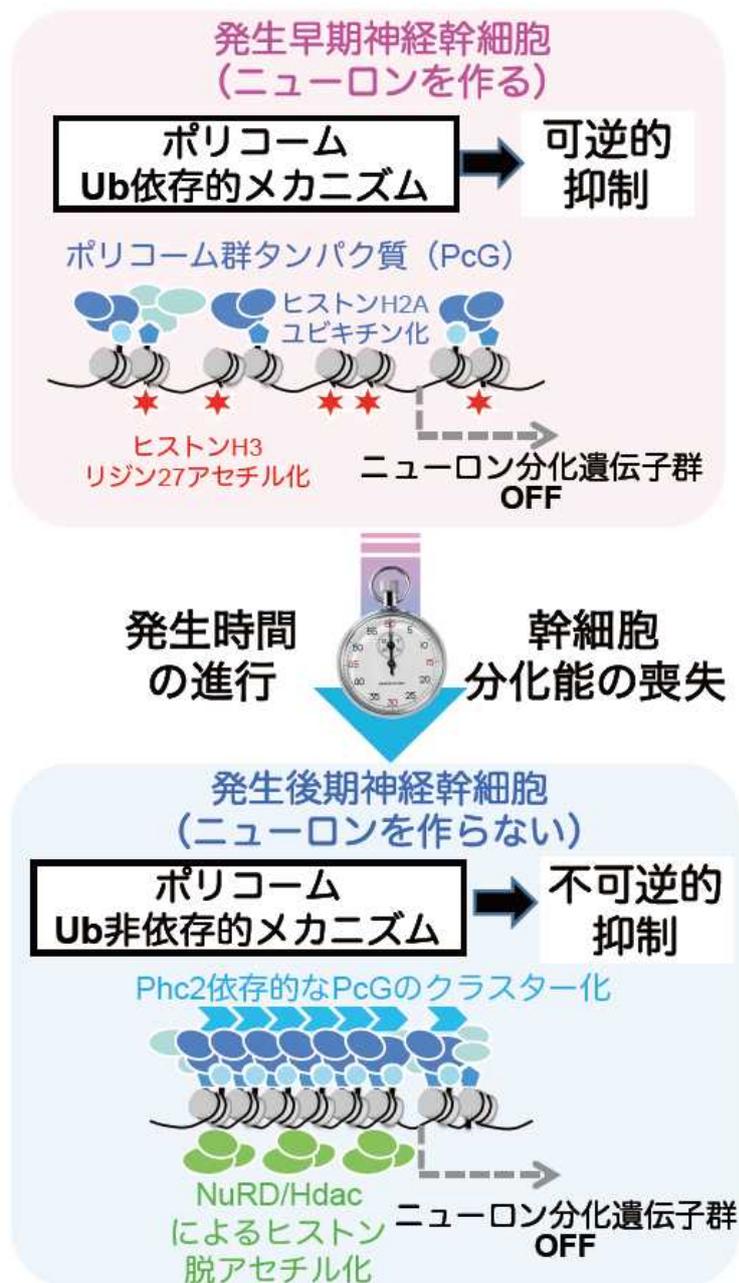


図. 発生早期の神経幹細胞において、PcGはニューロン分化関連遺伝子群をヒストンH2Aユビキチン化修飾により「一過的に」抑制する(可逆的抑制)。この抑制状態では、ニューロン分化関連遺伝子群は分化刺激に応じて活性化しニューロンが産生される。

発生時間が進行し発生後期になると、PcGはニューロン分化関連遺伝子群をヒストンH2Aユビキチン化に依存しないメカニズムにより「がっちり」と抑制する(不可逆的抑制)。そのため、ニューロン分化関連遺伝子群は活性化せずニューロンは産生されなくなる。