

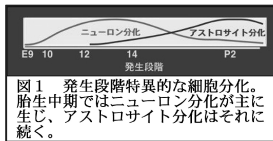
DNAメチル化による神経幹細胞の系譜制御機構の解明

●中島 欽一

熊本大学発生医学研究センター

＜研究の目的と進め方＞

神経幹細胞は自己複製能を有するとともに脳神経系を構成する3つの細胞種であるニューロン、アストロサイト及びオリゴデンドロサイトへの多分化能をもつ細胞であると定義される。しかし神経幹細胞は発生初期から多分化能を持つわけではなく、胎生中期にはニューロンへのみ分化し、アストロサイトへの分化は胎生後期になって初めて観察される(図1)。胎生中期神経幹細胞をアストロサイト誘導性サイトカインとして知られるLIFで刺激した場合、アストロサイトへの分化誘導は見られないものの下流の転写因子であるSTAT3の活性化は見られたため、シグナルの最終的な受け手である遺伝子(DNA)が何らかの修飾を受けている可能性が示唆された。そこでアストロサイト特異的遺伝子(GFAP)プロモーター中のSTAT3結合配列のメチル化状態を調べたところ胎生中期神経幹細胞では高度にメチル化を受けている一方で胎生後期神経幹細胞では脱メチル化されていた。本研究ではこのようなエピジェネティックなゲノム修飾機構が神経幹細胞系譜制御に及ぼす役割を明らかとすることを目的とした。



＜研究開始時の研究計画＞

- 1)メチル化STAT3結合配列が遺伝子発現に及ぼす影響の解析
STAT3のメチル化認識配列への結合能をゲルシフト解析及びクロマチン免疫沈降法で検討する。またメチル化STAT3認識配列を持つプロモーターはLIFによって活性化されないことを検討する。
- 2)ニューロン及びアストロサイトでそれぞれ特異的にメチル化されている遺伝子の同定。
それぞれの細胞でメチル化を受け不活性化されている遺伝子をMS-RDA法で網羅的に同定する。

＜研究期間の成果＞

研究計画1)について

LIFに応答してGFAPの発現が誘導される胎生後期神経幹細胞においてはGFAPプロモーター中のSTAT3結合配列が脱メチル化されていることが明らかとなった。LIF刺激によっても

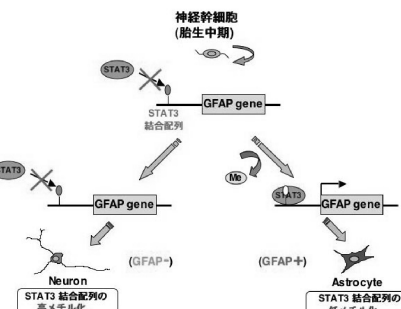


図2. 胎生中期の神経幹細胞ではGFAPなどアストロサイト特異的遺伝子のSTAT3結合部位がメチル化を受けているが、発生が進むに連れその部位の脱メチル化が生じアストロサイトへと分化できるようになる。

GFAPを発現しない胎生中期神経幹細胞や神経系以外の組織ではこのSTAT3認識配列が高メチル化されているという、GFAPの発現との逆相関が見られた。さらに

STAT3はメチル化された認識配列には結合できないことも明らかにされたため、発生段階に応じて遺伝子のメチル化状態が変化するという細胞内在性プログラムにより、細胞外シグナルへの応答が変化することで神経幹細胞の系譜が制御されるという新規分化制御機構が解明された1.2。

研究計画2)について

MS-RDA法は実施せず、いくつかの既知の遺伝子プロモーターのメチル化状態を調べた結果、GFAP以外のアストロサイト特異的遺伝子であるS100-bの発現も発生段階依存的なプロモーターのメチル化で制御されることがわかった。

＜国内外での成果の位置づけ＞

本研究成果はCell誌の姉妹誌、Developmental Cellに掲載された他数社の新聞にも記事が掲載され、多くの研究者にとって意義深い内容であることが認められた。本研究成果はエピジェネティクス機構の神経幹細胞分化制御における役割を世界に先駆けて報告したものであり、その後他の研究者の発表論文での引用も増加している。

＜達成できなかったこと、予想外の困難、その理由＞

達成できなかったことはMS-RDA法によるニューロン及びアストロサイトでそれぞれ特異的にメチル化されている遺伝子の同定である。理由としては研究期間が1年間と短く、時間的余裕がなかったためと考えられる。

＜今後の課題＞

今回解析したアストロサイト特異的遺伝子はGFAPとS100-b遺伝子のみであり、他のアストロサイト特異的遺伝子が同様のメカニズムで発現制御を受けているかどうかはまだ明らかにされていない。またアストロサイトだけではなく、ニューロンやオリゴデンドロサイト特異的遺伝子プロモーターも同様な制御を受けているかどうかにも興味を持たれる。これらに加えてどのようなメカニズムによって細胞種特異的遺伝子プロモーターのメチル化が制御されているのかなど解決されるべき興味深い問題が数多く残されている。当然メチル化のみで全ての細胞系譜が決定されるわけではなく、今後様々な細胞外シグナルや細胞内に存在する転写因子などの相互作用が明らかにされることによって、そのメカニズムの解明が期待される。

＜研究期間の全成果公表リスト＞

*shared correspondence, #equal first authorship

論文

1. 0202191551

*Takizawa, T., *#Nakashima, K., Namihira, M., Ochiai, W., Uemura, A., Yanagisawa, M., Fujita, N., Nakao, M. and #Taga, T., DNA Methylation Is a Critical Cell-Intrinsic Determinant of Astrocyte Differentiation in the Fetal Brain. Dev. Cell 1, 749-758 (2001)

2. 0202191554

Nakashima, K. and Taga, T., Mechanisms underlying cytokine-mediated cell-fate regulation in the nervous system. *Mol. Neurobiol.* 25, 233-244 (2002)