

2016 年度博士論文要旨

胚性幹細胞における細胞外Syntaxin-4 の 形態と分化への影響 —分化状態の不均一性との関わり—

関西学院大学大学院理工学研究科

生命科学専攻 平井研究室 萩原 (茶谷) 奈津美

近年、ES、iPS 細胞などの多能性幹細胞は次世代再生医療への応用が期待されているが、その実用化には、目的細胞への高効率な分化誘導技術の確立という重要課題が残されている。現在、この分化効率低下の原因として、「多能性幹細胞の不均一性」が挙げられている。未分化な幹細胞の単一コロニー中にはもともと形態や性質の異なる複数の細胞が混在するため、一方向への分化刺激に対しても複数の細胞応答が引き起こされてしまう。しかし、現在までその不均一性の発生メカニズムについてはほとんど明らかになっていない。本研究では、この多能性幹細胞の不均一性を生み出す候補因子として、細胞内外で異なる機能を発揮するユニークな膜タンパク質群 syntaxin に着目し、その局所的な発現と機能によって、幹細胞集団に不均一な分化状態が生じる可能性を見出した。通常、syntaxin は細胞膜の内側にアンカーされ、小胞の膜融合を媒介するが、細胞外からの種々の刺激を受け取ると、一部が膜の内側から外側へと反転し、隣接細胞に局所的なシグナルを伝えることができる。まず、これまで表皮角化細胞において細胞外提示が実証されている syntaxin-4 について未分化な ES 細胞表面での発現を確認したところ、コロニー中の一部の細胞が syntaxin-4 を局所的に細胞外提示することが判明した。さらに、マウス ES 細胞を均一な未分化状態 (ground-state) で維持するために用いられる MEK1/2 および GSK3 β の阻害剤 (2i) によって syntaxin-4 の

細胞外提示が抑制されることも明らかとなった。しかし、これまで細胞外 syntaxin-4 が多能性幹細胞に与える影響については一切報告されていない。そこで次に、ES 細胞や種々の EC (胚性癌) 細胞に syntaxin-4 を細胞外に強制提示させる系と機能阻害組み換えタンパク質を作用する系を組み合わせることで、幹細胞への機能を解析した。その結果、ES 細胞や EC 細胞では細胞外 syntaxin-4 によって EMT (上皮間葉転換) 様の形態変化や中胚葉系列への分化が誘導されることがわかった。また、トランスクリプトーム解析により、E-cadherin から P-cadherin へのスイッチや、未分化維持因子 Zscan4 の顕著な発現抑制が検出された。さらに、これらの発現変動には PI3K/Akt シグナルの不活性化が深く関与することが明らかとなった。以上の変化は、多能性維持因子である LIF 存在下でも誘導されることから、未分化維持培地中において、個々の幹細胞表面で不均一に発現する syntaxin-4 のシグナルを受け取った細胞は、完全な未分化状態を維持できず、結果として、細胞集団の不均一性が創出される可能性が示された。