



新部 邦透

21世紀COEプログラムRA →
GCOE RA →
慶應義塾大学医学部歯科・口腔外科学教室 助教

高純度間葉系肝細胞を用いたiPS細胞の高効率・高品質化

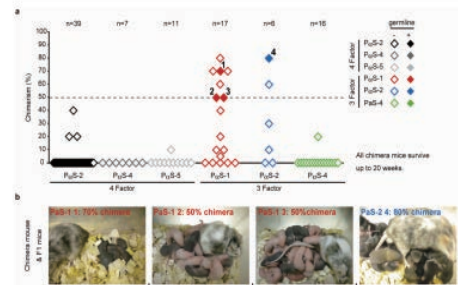
induced Pluripotent Stem (iPS)細胞は、様々な細胞に特定因子を導入することによって誘導された、ES細胞様の3胚葉系への分化能を示す画期的な細胞である。

線維芽細胞を用いた最初の報告以降、様々な細胞からiPS細胞を誘導できることが示された。しかしながらiPS細胞の性質において、胎児由来の細胞から誘導されたiPS細胞は生殖系列へ分化可能なGerm-line(生殖系列)キメラを作出しやすいため、成体由来の線維芽細胞に比べ、胎児由来の細胞の方が初期化されやすいことが予想された。そこで我々は、成体中の完全に分化した細胞よりある程度未分化な組織幹細胞の方が初期化されやすいのではないかと考えた。我々はフローサイトメーターを用いたこれまでの研究で、細胞表面抗原を指標にマウス骨髄中の間葉系幹細胞(MSCs)及び骨芽細胞を高純度に分離する技術を構築してきた。この技術を応用し、分化段階の異なるそれぞれの細胞からiPS細胞を誘導することで、iPS細胞の誘導効率、品質解析を行った。

Nanog-GFP-IRES-Purorマウスを用い、MSCs濃縮分画(P α S)及び骨への分化能しか保持しない骨芽細胞(OB)をフローサイトメーターにて同時に分離し、線維芽細胞(TTF)を準備した。MSC・OB・TTFに対し山中4因子、もしくはc-Mycを除いた3因子をレトロウィルスにて導入した。P α SはOB, TTFに比較し、4因子・3因子導入共に約5倍のコロニーを得ることができた。

我々はそれぞれのラインからランダムに5クローンずつ選択し、品質解析を行った。ES細胞マーカの発現と導入因子のサイレンシングを解析したところ、OB-iPS及びTTF-iPSではラインにより遺伝子発現にばらつきがあり、導入因子のサイレンシングも一部にしか確認できないラインが多数存在したが、P α S-iPSにおいては4因子・3因子どちらにおいても遺伝子発現は均一であり、全ての導入因子のサイレンシングが確認できた。遺伝子発現結果にはばらつきが認められたのに対して、分化能解析ではほとんどのラインで分化能が確認でき、4因子・3因子のP α S-iPSは全てのラインで3胚葉系への分化能を示した。DNA Microarrayによる遺伝子発現の網羅的解析では、iPS細胞とES細胞の遺伝子発現の比較解析を行った。その結果、P α S-iPSは4因子導入及び3因子導入のOB, TTFよりもES細胞に近似していることが分かった。また、P α Sはc-Mycを除いた3因子の方が4因子導入よりもES細胞に近い遺伝子発現を示した。そこで、P α S由来のiPS細胞を4因子及び3因子のそれぞれから3クローンずつ選び、キメラマウスを作製した。生殖系列への分化能を解析すると、P α S細胞は3因子導入において高い効率でGem-lineキメラマウスを作出することができた。

今回我々はマウスを対象とした研究において、成体由来の細胞を用いる場合、MSCs(P α S)を細胞ソースに用いた方がiPS細胞の誘導効率が上がり、初期化しやすく、Gem-lineキメラを作製できることを明らかにした。つまり、より未分化な状態の細胞を濃縮した状態で分取し、iPS誘導することで高品質なiPS細胞が誘導できる可能性が示された。



代表論文

1. "Purified mesenchymal stem cells are an efficient source for iPS cell induction." Kunimichi Niibe, Yoshimi Kawamura, Daisuke Araki, Satoru Morikawa, Kyoko Miura, Sadafumi Suzuki, Shigeto Shimmura, Takehiko Sunabori, Yo Mabuchi, Yasuo Nagai, Taneaki Nakagawa, Hideyuki Okano, Yumi Matsuzaki, Plos ONE, 2011, online
2. "Prospective identification, isolation, and systemic transplantation of multipotent mesenchymal stem cells in murine bone marrow" Satoru Morikawa, Yo Mabuchi, Yoshiaki Kubota, Yasuo Nagai, Kunimichi Niibe, Emi Hiratsu, Sadafumi Suzuki, Chikako Miyauchi-Hara, Narihito Nagoshi, Takehiko Sunabori, Shigeto Shimmura, Atsushi Miyawaki, Taneaki Nakagawa, Toshio Suda, Hideyuki Okano, Yumi Matsuzaki, Journal of experimental medicine, Volume 206, Issue 11, 26 Oct 2009, Pages 2483-96

21世紀COE/グローバルCOEに参加して

21世紀COE/グローバルCOEのリサーチアシスタントプログラムでは、国内外のトップレベルの研究者の講演の聴講、そして研究者との交流の機会があり、自分自身の研究テーマにとどまらず広い視野で研究というものに触れ、携わることができました。また、英語による研究成果報告会(COEX MEETING)を定期的で開催しており、英語による発表・質疑応答の経験を日頃から訓練できる機会があることで、英語の苦手な私でも国際学会において海外の研究者と積極的な意見交換・討論をすることができ、今後の研究生活において研究技術だけでなく、キャリアの方向性(可能性)を広げることにつながる非常にいい経験だったと思います。