



【本件リリース先】

文部科学記者会、科学記者会、
広島大学関係報道機関、沖縄県政記者クラブ

NEWS RELEASE

広島大学広報グループ
〒739-8511 東広島市鏡山 1-3-2
TEL : 082-424-4518 FAX : 082-424-6040
E-mail: koho@office.hiroshima-u.ac.jp

本件の報道解禁につきましては、令和4年
2月15日(火)午後2時以降にお願いいたし
ます。

令和4年2月9日

記者説明会（2月14日（月）13時00分・東広島キャンパス）のご案内

iPS 様細胞を作り出して再生する海の珍しい動物を発見！

<Zoom 参加可>

論文掲載

【本研究成果のポイント】

- 背骨がある動物（脊椎動物）では、万能細胞として知られる iPS 細胞（※1）は、数種類の因子を人為的に活性化することによってのみ得られるが、ギボシムシ（※2）は、その iPS 細胞を作り出すのに必要なリプログラミング因子（※3）を使って、再生していることを解明。
- 脊椎動物は、万能細胞を作り出すことが可能な遺伝子ネットワークを保持しているにもかかわらず、それをなぜか再生には利用しておらず、再性能が著しく限定されている。一方、脊椎動物と同じ分類群で再性能が非常に高いギボシムシにおいて、同様の遺伝子ネットワークが存在し、かつ再生に利用されていることが明らかとなったので、ギボシムシの再生研究が、今後ヒトなど脊椎動物の再生医療の理解と発展に繋がる。

本成果につきまして、下記のとおり記者説明会を開催し、ご説明いたします。
ご多忙とは存じますが、是非ご参加いただきたく、ご案内申し上げます。

日 時：令和4年2月14日（月）13時00分～14時00分
（12時30分から受付）

場 所：広島大学東広島キャンパス 理学部大会議室（E203）

出席者：広島大学大学院統合生命科学研究科附属臨海実験所 田川 訓史 准教授
広島大学大学院統合生命科学研究科附属臨海実験所 有本 飛鳥 助教
沖縄科学技術大学院大学マリンゲノミクスユニット 佐藤 矩行 教授
（Zoom 参加）

【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科附属臨海実験所の田川訓史所長、有本飛鳥助教、佐々木あかね研究員、沖縄科学技術大学院大学の佐藤矩行教授のグループ、ハワイ大学のトム・ハンフリーズ教授のグループが共同で、半索動物ギボシムシの頭部再生において、脊椎動物哺乳類で発見されたリプログラミング因子（Oct4, Sox2, Nanog, Klf4）のホモログ（※4）と考えられる因子（Pou3, SoxB1, Msxlx, Klf1/2/4）が、再生芽（※5）を含む細胞分裂が盛んな領域で発現している事を明らかにしました。また、ギボシムシの Pou3 がマウス内在性の Oct4 と同等の機能をもつことが、マウス培養細胞株への導入で明らかになりました。

再生能が限定されている脊椎動物の中で、比較的再生能が高いイモリやゼブラフィッシュなどの再生では、リプログラミング因子の発現による万能細胞の生産は行われ

ず、欠損した部位の再構築に複数種類の細胞の協働が必要です。

一方、再生能が極めて高いことで有名なプラナリアなどでは、一生を通して新生細胞と呼ばれる全能性幹細胞（※6）が存在し、この細胞が再生芽を形成し、全ての細胞タイプへ分化することで再生が進みます。

本研究では、ギボシムシが全能性幹細胞を常に維持している可能性は低く、損傷を受けると損傷部位付近の背側表皮に活発に増殖する細胞が現れ、それらの細胞がリプログラミング因子を発現しながら、再生過程が進んでいく様子が明らかになりました。従って、ギボシムシの再生では、再生芽の形成にリプログラミング因子が関与していることが示唆されました。

本研究成果は、グリニッジ標準時間の令和4年2月15日午前5時（日本時間令和4年2月15日午後2時）「Frontiers in Ecology and Evolution」オンライン版に掲載されます。

< 発表論文 >

論文タイトル

Ancestral stem cell reprogramming genes active in hemichordate regeneration

著者

Tom Humphreys^{1*}, Keith Weiser¹, Asuka Arimoto², Akane Sasaki², Gene Uenishi¹, Brent Fujimoto¹, Takeshi Kawashima³, Kekoa Taparra¹, Janos Molnar¹, Noriyuki Satoh³, Yusuke Marikawa¹, Kuni Tagawa^{2*}

1. ハワイ大学生物発生研究所
2. 広島大学大学院統合生命科学研究科附属臨海実験所
3. 沖縄科学技術大学院大学

掲載雑誌

Frontiers in Ecology and Evolution

DOI 番号

10.3389/fevo.2022.769433

【背景】

半索動物門に属するギボシムシは、脊索動物門に属するヒトやマウスなどの背骨がある脊椎動物と近縁な無脊椎動物として知られています。19世紀からギボシムシの頑強な再生能は知られてきましたが、再生過程の研究モデルとして注目を集めたのはつい最近のことです。ギボシムシはヒトと類似した発生をする「新口動物群」に属しますが、脊椎動物の再生能が非常に限定されているのに対し、ギボシムシは比較的小さな断片から体全体を再生することが可能です。しかしながら、その再生様式が、プラナリアのように常に維持された全能性幹細胞によるものなのか、もしくは脊椎動物のように分化できる細胞タイプが限定された幹細胞が複数種類関与するものなのか、そして、リプログラミング因子が関与しているのかなどの詳細については、明らかになっていませんでした。

【研究成果の内容】

今回、我々の研究グループは、全能性幹細胞の検証をするため、ギボシムシの頭部再生過程のさまざまな時間経過で、どの細胞が活発に細胞分裂を行っているのか、BrdU（※7）ならびに EdU（※8）により明らかにしました。その結果、切断直後の組織では、腸上皮の細胞以外で顕著な細胞分裂は観察されませんでした。全能性幹細胞が再生に関与する動物では、全身で活発な細胞分裂が常に観察されます。そのため、この結果から、ギボシムシの再生は常在性の全能性幹細胞に依存する可能性は低いと考えられます。切断後48時間までに損傷部位付近の背側表皮で、細胞分裂が検

出され始め、72 時間までにその数はさらに顕著になりました。これらの結果から、損傷を受けてから新たに生じる細胞が再生に重要であると考えられます。再生時に出現する細胞が多様な細胞タイプに分化できるか探るため、そのような性質をもつ多能性幹細胞の出現に必要なリプログラミング因子の発現の有無を検証しました。脊椎動物で性質が詳細に調べられているリプログラミング因子のホモログをギボシムシの EST ライブラリー（※9）ならびにゲノム配列から探索し、ギボシムシのゲノム中に存在する最も類似した遺伝子をそれぞれ同定しました。同定したホモログが、ギボシムシの再生過程で発現しているのかどうか、インシチュウハイブリダイゼーション法（※10）により発現解析をした結果、細胞増殖が盛んな領域でそれらの因子の発現が検出されました。それらの因子のうち、哺乳類細胞のリプログラミングに必要不可欠な Oct4 のホモログと考えられるギボシムシの因子、Pf-Pou3 をマウス ES 細胞株へ導入し *in vitro* 機能解析をしたところ、Pf-Pou3 がマウスの内在性 Oct4 と同等の機能を有することが明らかになりました。これらの結果は、ギボシムシの再生ではリプログラミングによる多能性幹細胞の新生とその再分化が生じることを支持しています。

【今後の展開】

人工多能性幹細胞の発見で、マウスやヒトで、ほとんどの分化した細胞を未分化な状態へと導けるようになり、そのような多能性状態を作り出す遺伝子プログラムの詳細な研究が進んでいます。その一方で、作り出された多能性幹細胞を使って、実際に再生医療で用いられた例はごく僅かです。現在の再生医療は、細胞の培養やリプログラミング操作、分化制御を体外で行う必要があることから費用と侵襲性が高いものになっています。

我々の研究結果は、ヒトに類似した発生をするギボシムシが、その創傷治癒応答の一部としてリプログラミングを通じた多能性幹細胞の獲得を利用していることを示唆しています。ギボシムシと脊椎動物のリプログラミング機構の共通性が浮かび上がったため、ギボシムシの再生を調べることで、再生生物学の理解や再生医療に貢献することが一層期待されます。

【参考資料】

図1. ギボシムシの再生過程を表した図を示します。A はギボシムシの正常個体。B は切断直後。C は切断後1日。傷が閉じ始めます。D は切断後3日で、傷が閉じ、矢印の所に小さな再生芽が形成されているのが見えます。E は切断後5日で、再生芽が急速に増殖しています。F は切断後7日で、再生芽が吻（矢印）と襟（矢尻）部分に形を変えています。G は切断後11日で、吻や襟が切断前と同等の大きさに再生しているのが分かります。再生された部分は、元の体の色と比べて、色素がうすく透明に見えます。（出典：原著論文の図1より）

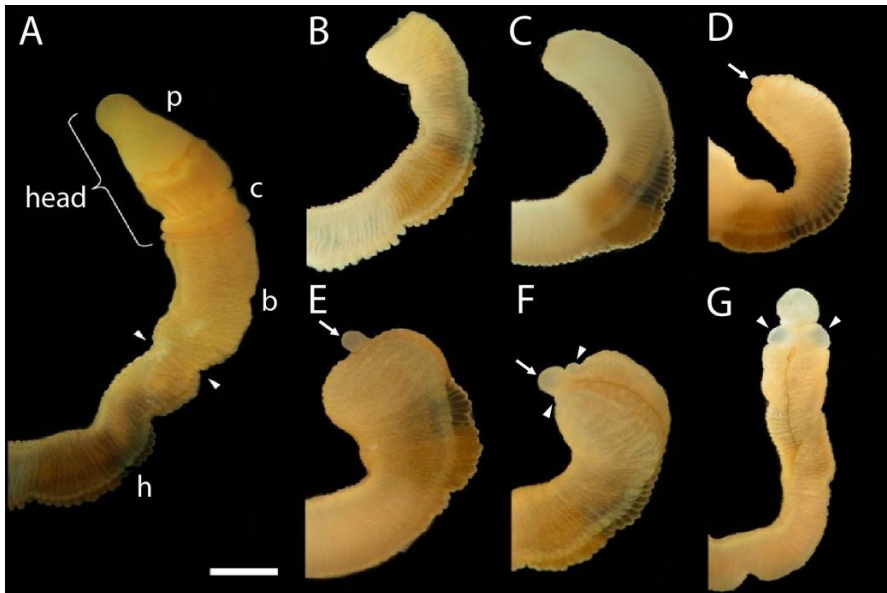
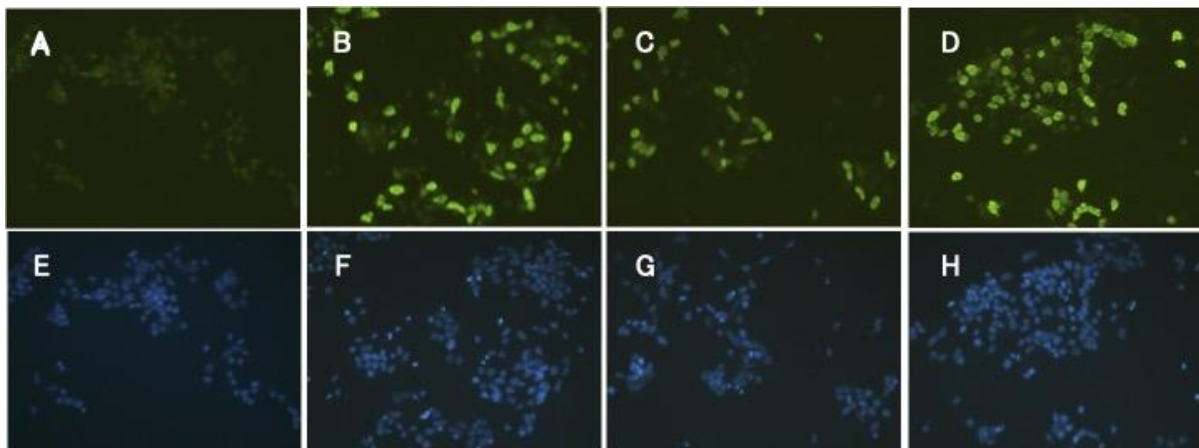


図2. ギボシムシのリプログラミング因子をマウスの胚性がん細胞 (P19 株)へ導入した図を示します。A-D は導入された遺伝子が発現している細胞を、緑色の蛍光、E-D は細胞核を青色の蛍光で可視化しています。A と E は空のベクターを導入したもの。B と F はマウスの内在性 Oct4 を導入したもの。C と G はギボシムシの Oct4 ホモログ Pf-Pou3 を導入したもの。G と H は Nanog ホモログ Pf-Msxlx を導入したもの。いずれのギボシムシ遺伝子もマウスの細胞株でマウスの遺伝子と同じように発現しています。



<用語説明>

(※1) iPS 細胞

iPS 細胞とは、induced Pluripotent Stem Cells の略で、山中教授らによって開発された人工性多能性幹細胞のことです。体細胞に数種類の因子を導入し培養することで、さまざまな細胞に分化する能力と無限に増殖できる能力をもつ細胞、人工性多能性幹細胞が作りだせます。

(※2) ギボシムシ

ギボシムシは、全て海棲で背骨がない動物（無脊椎動物）であり、半索動物門に分類されます。半索動物門は、ヒトなどの脊索動物門やウニなどの棘皮動物門と共に、同じ分類群、新口動物群に分類されますが、ギボシムシはその中でも再生能が非常に高いです。新口動物（後口動物ともいう）とは、左右相称動物のうち、発生において、原口が将来肛門やその周辺になる動物群の総称です。動物門が30数門あるうち、半索動物門、脊索動物門、棘皮動物門の3門のみがこの分類群に含まれます。これと対照に、残りのほとんどの左右相称動物は、原口が将来口またはその周辺になる動物群で、旧口動物（前口動物ともいう）と呼ばれます。

(※3) リプログラミング因子

分化した細胞を、初期の段階、つまり未分化な状態へと導く因子のことです。山中教授らが iPS 細胞の開発時に発見した Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc の4つの転写因子(山中因子)が有名です。我々は、リプログラミングの開始に重要な Oct4 に重点をおいて研究を行いました。

(※4) ホモログ

共通祖先に由来する類似性の高い塩基配列のことです。

(※5) 再生芽

動物の再生において、初期段階で見られる未分化な細胞の集合体で多分化能をもち、膨らみや突起として観察されます。

(※6) 全能性幹細胞

全ての細胞タイプに分化可能な幹細胞のことです。

(※7、8) BrdU、EdU

それぞれブロモデオキシウリジン、エチルデオキシウリジンの略で、DNA の構成成分チミジンの類似物であり、どちらの物質も細胞増殖に伴う DNA 合成によって増殖している細胞に取り込まれます。抗体を用いて、取り込まれた BrdU や EdU を検出することで、処理時に増殖していた細胞を判別できます。

(※9) EST ライブラリー

EST は expression sequence tag の略で、各発生ステージや組織で発現しているタンパク質の mRNA 配列に由来する cDNA 配列を部分的に決定したものです。それらを集めたものが EST ライブラリーです。

(※10) インシチュウハイブリダイゼーション法

組織や細胞において、目的の核酸 (DNA や mRNA) の分布や量をそれらの原位置で検出する方法で、通常は色素や蛍光で可視化します。

【お問い合わせ先】

<研究に関すること>

広島大学大学院統合生命科学研究科 附属臨海実験所
所長 田川 訓史
Tel : 0848-44-6055 FAX : 0848-44-5914
E-mail : kuni@hiroshima-u.ac.jp

(報道に関すること)

広島大学広報部広報グループ
Tel : 082-424-4518
E-mail : koho@office.hiroshima-u.ac.jp

沖縄科学技術大学院大学 (OIST)
広報ディビジョンメディア連携セクション
Tel : 098-982-3447
E-mail : media@oist.jp

発信枚数 : A4版 6枚 (本票含む)

【FAX返信用紙】

FAX：082-424-6040

広島大学財務・総務室広報部 広報グループ 行

記者説明会（2月14日（月）13時00分・東広島キャンパス）のご案内

iPS 様細胞を作り出して再生する海の珍しい動物を発見！

日 時：令和4年2月14日（月）13時00分～14時00分

場 所：広島大学東広島キャンパス 理学部大会議室（E203）

- ご出席（会場での参加）
 ご出席（ZOOMでの参加）

貴社名 _____

部署名 _____

ご芳名 _____（計 名）

電話番号 _____

E-mail _____

※ ZOOMで参加希望の方は、事前に招待メールをお送りしますので、必ずE-mailの記載をお願いします。

※ 誠に恐れ入りますが、取材いただける場合には、上記にご記入頂き、2月10日（木）16時00分までにご連絡ください。