



令和5年12月25日

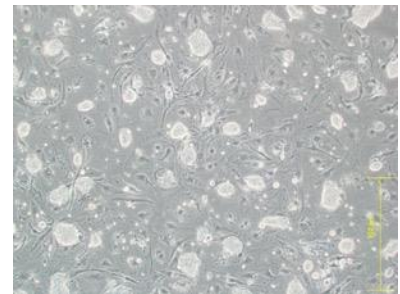
9 産業と技術革新の
基盤をつくらう

ニワトリ胚性幹（ES）細胞の維持に重要な細胞内伝達因子を特定

論文掲載

【本研究成果のポイント】

- ゲノム編集や遺伝子改変に利用可能なニワトリ ES 細胞（※1）の培養に重要な細胞内情報伝達物質を特定しました。
- なんとマウスの ES 細胞で必要だった Wnt/ β -カテニンシグナル伝達（※2）の活性化は、ニワトリでは逆効果でした。
- マウス ES 細胞とニワトリ ES 細胞のこの違いは興味深く、Wnt/ β -カテニンによる細胞内情報伝達系といわれるタンパク質のネットワーク（シグナル伝達）がニワトリ ES 細胞でも重要な役割を果たしていることが明らかになりました。
- これまでニワトリでのゲノム編集は、卵子や精子などのもとになる始原生殖細胞でのみで行われてきましたが、新たに ES 細胞（あらゆる細胞に分化できる能力（多能性）を持つ）が利用できる可能性が高まり、ニワトリにおけるゲノム編集を用いた品種改良に貢献できると思われます。



【概要】

広島大学大学院統合生命科学研究科の堀内浩幸教授らの研究グループでは、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達の活性化が、ニワトリ胚性幹細胞（ニワトリ ES 細胞）の分化を促進し、逆にシグナル伝達の阻害が、chESC の多能性維持に重要であることを明らかにしました。マウス胚性幹細胞（マウス ES 細胞）では、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達の活性化が、ES 細胞の性質を維持したまま増殖させることをサポートします。ニワトリ ES 細胞に対する Wnt/ β -カテニンシグナル伝達の活性化または阻害の影響は、ほとんど解析されていなかったため、私たちはこれらの影響を調べました。Wnt/ β -カテニンシグナル伝達を活性化する CHIR99021 を ニワトリ ES 細胞の培養系に添加すると、コロニーの形状が平坦になり、多能性関連遺伝子（※3）、生殖系列関連遺伝子の発現レベルが低下しました。さらにニワトリ ES 細胞の増殖能は低下し、最終的に増殖が停止しました。対照的に、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達を阻害する XAV939 を培養物に添加すると、多能性関連および生殖系列遺伝子が安定した発現を示し、高密度でコンパクトなコロニー（形態学的にはマウス ES 細胞コロニーに類似）が形成されました。XAV939 の添加により、培養の初期段階でニワトリ ES 細胞の増殖が安定化し、その樹立が促進されました。さらに、これらのニワトリ ES 細胞は、初期胚へ移植することにより体細胞へ分化することが確認されました。結論として、機能的なニワトリ ES 細胞は、Wnt/ β -カテニンシグナル伝達阻害剤を使用して安定に培養することができることが示されました。これらの発見は、鳥類幹細胞における Wnt/ β -カテニンシグナル伝達の重要性を示唆しており、ニワトリ ES 細胞を使用した応用研究に貴重な洞察を提供します。

なお、本研究成果は 2023 年 12 月 7 日に Elsevier 社が発刊する専門誌で、家禽研究領域でトップである「Poultry Science」に電子版として公開されました。

<発表論文>

論文タイトル

Wnt signaling blockade is essential for maintaining the pluripotency of chicken embryonic stem cells

著者

Ryota Kajihara¹, Ryo Ezaki¹, Kennosuke Ichikawa³, Tenkai Watanabe¹, Takumi Terada¹, Mei Matsuzaki¹, Hiroyuki Horiuchi^{1,2,*}

1：広島大学大学院統合生命科学研究科

2：広島大学ゲノム編集イノベーションセンター

3：エジュンバラ大学ロスリン研究所

*：責任著者

掲載誌

Poultry Science

DOI 番号

<https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103361>

【背景】

安定して培養できる幹細胞は、遺伝子改変動物の作出において重要なツールになります。これまでに、ニワトリのゲノム編集や遺伝子改変への利用を目的にニワトリ ES 細胞に関する研究が行われてきました。しかしながら、これまでの培養系においてニワトリ ES 細胞は、培養初期に不安定性がみられ、ニワトリ ES 細胞を利用した研究の妨げになっていました。そこで私たちは、哺乳類の ES 細胞で重要なシグナル経路に着目しました。

ES 細胞は外部からのシグナルを受け取ることで、未分化性と多分化能を維持します。ES 細胞を試験管内で培養する上で、このシグナルを適切に管理することが重要です。マウスにおいては、Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化により、マウス ES 細胞の未分化性が維持されます。一方、ニワトリ ES 細胞において Wnt/ β -カテニンシグナルの機能は明らかになっていませんでした。本研究では、ニワトリ ES 細胞においても Wnt/ β -カテニンシグナルの調節が、ニワトリ ES 細胞の安定培養に必要であると考え、解析を行いました。

【研究成果の内容】

Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化剤と阻害剤を培養系に添加し、ニワトリ ES 細胞の性状を調べました。その結果、Wnt/ β -カテニンシグナルを活性化すると、細胞形態が平らな形態へと変化し、多能性に関与する遺伝子発現の低下が見られました(図 1)。この条件で培養されたニワトリ ES 細胞は、キメラ形性能(※4)を示しました(図 2)。一方、Wnt/ β -カテニンシグナルを阻害すると、細胞はコンパクトな形態へと変化し、多能性関連遺伝子の安定した発現が見られました。さらに、この条件で培養されたニワトリ ES 細胞は、培養初期に安定的に増殖し、キメラ形性能を示しました。Wnt/ β -カテニンシグナルの調節機構は、ニワトリと哺乳類 ES 細胞間で明確に異なっており、ニワトリ ES 細胞の極めて興味深い特徴であることがわかりました。

【今後の展開】

今後は、最適化された培養系で培養されたニワトリ ES 細胞の分化能をより詳細に評価する予定です。また、本研究で得られた知見は、ニワトリ以外の鳥類種でも共通する可能性があり、鳥類幹細胞研究のさらなる発展が期待されます。

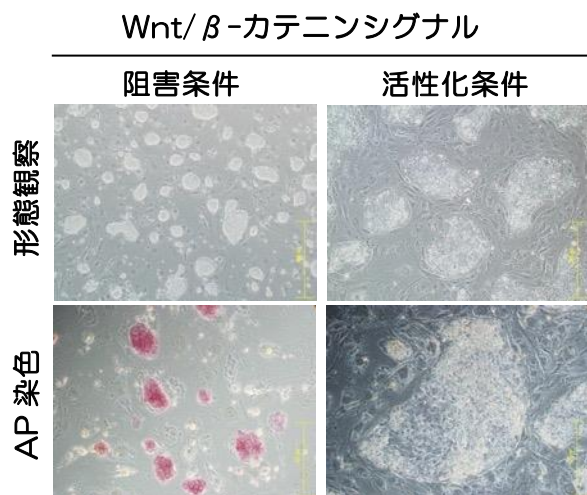


図 1. ES 細胞の形態と多能性評価

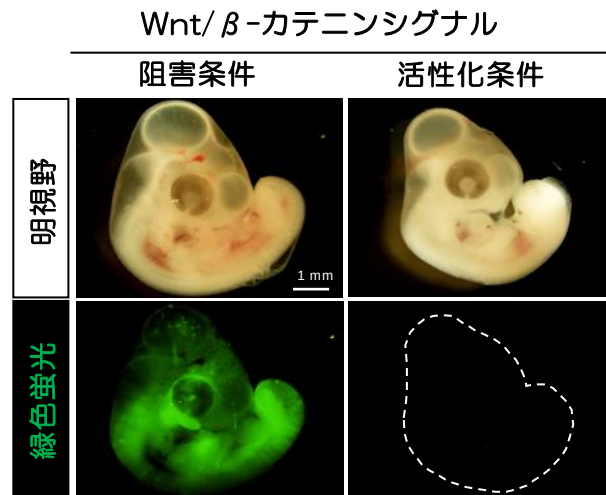


図 2. キメラ形成試験

図 1. Wnt/ β -カテニンシグナル活性化・阻害条件におけるニワトリ ES 細胞の形態の違いと、アルカリフォスファターゼ (AP) 活性 (※5)。

図 2. ニワトリ ES 細胞のキメラ形性能評価。Wnt/ β -カテニンシグナル阻害条件下で、ニワトリ ES 細胞はキメラ形性能を示した。

【研究プロジェクトについて】

本研究は JST 科学技術イノベーション創出に向けた大学フェローシップ創設事業 JPMJFS2129 と JST-COI Grant Number JPMJPF 2010 の支援を受けたものです。

【用語説明】

- ※1 ES 細胞：発生初期の胚から、将来体を形作る細胞を取り出して培養された細胞。さまざまな細胞へと変化できる多能性と、分裂を繰り返すことができる自己複製能を持つ。ニワトリ ES 細胞は、排卵直後の受精卵から樹立することができる。
- ※2 Wnt/ β -カテニンシグナル：ショウジョウバエからヒトに至るまで、幅広く保存されるシグナル経路。生物の発生に密接に関与する。マウス ES 細胞の多能性維持には Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化が必要である。
- ※3 多能性関連遺伝子：ES 細胞の多能性維持に関与する遺伝子。それらの遺伝子の発現レベルを調べることで、細胞の状態を調べることができる。
- ※4 キメラ形性能：多能性幹細胞がもつ特徴の 1 つ。移植先の胚体の一部に分化することができる能力。
- ※5 アルカリフォスファターゼ (AP)：未分化の幹細胞で活性が高く、未分化性の指標として利用される。

【お問い合わせ先】

大学院統合生命科学研究科 堀内 浩幸 Tel : 082-424-7970 FAX : 082-424-7970 E-mail : hhor10@hiroshima-u.ac.jp 発信枚数：A4版 3枚(本票含む)
