

## 【基盤研究(S)】

総合系 (環境学)



### 研究課題名 組織幹細胞におけるゲノム安定性の制御

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

とうどう たけし  
藤堂 剛

研究課題番号：15H05713 研究者番号：90163948

研究分野：放射線・化学物質影響科学

キーワード：応答、修復、生物影響

#### 【研究の背景・目的】

我々のゲノムは、常に外的・内的要因による DNA 損傷の脅威に曝されている。DNA 損傷はゲノム不安定性を誘発し、やがて長い潜伏期間の後、発ガン等重篤な疾患を引き起こす。このような晩発影響の標的細胞として組織幹細胞が重要な役割を果たしている。組織幹細胞は、再生医療への利用・発ガンの標的細胞等、医学領域における緊急な課題に直結している。組織幹細胞には本来、ゲノム安定性を維持する機構が備わっている。しかしながら、再生医療においては内的要因により幹細胞に起こる自然突然変異が、発ガンにおいては長期にわたり体内に留まる幹細胞に生じる誘発突然変異が、ゲノム不安定性を誘発する。自然・誘発変異に対し組織幹細胞がどのようなゲノム安定性維持機構を持っているのか？分化細胞と異なる組織幹細胞特異的な損傷応答機構が有るのか？は極めて重要な課題である。本研究では、組織幹細胞に誘発されるゲノム不安定性を直接検出する *in vitro*, *in vivo* 解析系を構築し、自然変異あるいは環境変異原に対する組織幹細胞の損傷応答機構を明らかにする研究を行う。

培養細胞レベルでの実験系は、均質でシンプルな系であり詳細な解析が可能となるが、現象の一断面を切り取ったものとなる。一方、組織レベルでの解析は、系が複雑化するものの組織・個体全体との相互作用の中での解析が可能になる。本研究では、「細胞レベル (*in vitro*)」系として代表的な組織幹細胞である「間葉系幹細胞 (MSC; Mesenchymal Stem Cell)」を、「個体レベル (*in vivo*)」系としてはメダカを用いている。MSC は純度を保ちながら培養する技術が確立しているラット骨髄由来のものを使用する。メダカはコンパクトなゲノムを持ち (ヒトの 1/5) ゲノム解析に最適である。また、体組織観察に優れた特性を持つ。両者の特性を活かし、組織幹細胞のゲノム安定性維持機構を総合的に解析する。

#### 【研究の方法】

本研究では、次世代 DNA シークエンサ (NGS) を用いたゲノム解析を基本ツールとする。損傷が生じた時、細胞は細胞周期を停止し、その間に DNA 修復を行い、損傷が残った細胞はアポトシスで排除される。これら一連の損傷応答機構については詳細な解析が行われている。生体にとり一番重要なのは損傷応答をくぐり抜け生じた突然変異であるが、稀な事象である

突然変異は検出に多くの困難を伴い、損傷応答を突然変異生成の視点から解析した研究はこれまでほとんどされていらない。NGS の普及により、突然変異から損傷応答全体を俯瞰する事が可能になってきた。

メダカでの体細胞解析には体細胞モザイクを利用する。メダカは、分子遺伝学的手法を利用した体組織観察に優れている。本研究ではこの利点を利用し、赤外レーザー (IR-LEGO) を用いた組織特異的遺伝子発現法 (Kamei, Todo, Yuba et al. *Nature Methods* 6, 79-81, 2009) 及びトランスポゾンベクターを用いた高効率遺伝子導入法により体細胞モザイクを作成する。体組織レベルでの遺伝子機能解析が可能となる。

#### 【期待される成果と意義】

本研究では、ゲノム変異をエンドポイントに着目したこれまでに無い新たな視点での解析を行う。幹細胞のゲノム安定性維持機構に関する新たな知見が得られる事が期待される。

生物は、様々なレベルでの品質管理を行っている。ゲノム損傷に対しては、細胞周期チェックポイント、アポトシスが知られている。本研究における体組織解析により Stem Cell Competition 等、新たな細胞品質管理機構の実体を確認できる事が期待される。

#### 【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

- Kamei Y, Suzuki M, Watanabe K, Fujimori K, Kawasaki T, Deguchi T, Yoneda Y, Todo T, Takagi S, Funatsu T, Yuba S. Infrared laser-mediated gene induction in targeted single cells *in vivo*. *Nature Methods*. (2009) 6(1):79-81.
- Ishikawa T, Kamei Y, Otozai S, Kim J, Sato A, Kuwahara Y, Tanaka M, Deguchi T, Inohara H, Tsujimura T, Todo T. High-resolution melting curve analysis for rapid detection of mutations in a Medaka TILLING library. *BMC Mol Biol*. 2010 15;11(1):70

#### 【研究期間と研究経費】

平成 27 年度 - 31 年度 153,800 千円

#### 【ホームページ等】

<http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/radbio/www/index.html>