

ウサギ多能性幹細胞の樹立とその解析

○本多 新、廣瀬 美智子、羽鳥 真功、小倉 淳郎
(理化学研究所バイオリソースセンター遺伝工学基盤技術室)

【はじめに】近年の多能性幹細胞研究は1. 未分化性維持機構（および分化機構）の解析、2. キメラ動物作製（遺伝子ノックアウト）、3. 再生医療への展開を充実させることが大きな課題として意識されている。我々はこれまでに、日本白色種(JW 種)ウサギから ES 細胞を樹立しその特徴解析を行った。その結果、多能性幹細胞研究を進展させる上でウサギ ES 細胞が優れた特徴を有していることを明らかにした。特にヒト iPS 細胞を再生医療研究に発展させる場合、他動物種での前臨床安全評価が必要不可欠であり、そこにウサギ多能性幹細胞が貢献できると期待している。本発表では Dutch 種ウサギ ES 細胞に加えて、世界初のウサギ iPS 細胞樹立とその特徴解析、およびそれらを用いた研究展開について報告する。

【方法】Dutch 種ウサギ胚盤胞期胚から JW 種ウサギと同様にウサギ ES 細胞株を樹立した。また Dutch 種ウサギ体細胞にヒト 4-factors (*OCT3/4*, *KLF4*, *SOX2*, *c-MYC*) を導入して、ウサギ iPS 細胞の樹立を試みた。樹立した多能性幹細胞は、各種未分化マーカーの発現、メチル化解析、テロメラーゼ活性、および体外や体内での分化能、さらに DNA マイクロアレイ解析等に供してそれらの特徴を解析した。

【結果】Dutch 種の ES 細胞株は JW 種ウサギ ES 細胞と異なり、樹立が困難であったが4ラインを樹立することができた。また、Dutch 種ウサギ iPS 細胞もいくつかの試行錯誤の結果、10 ライン以上の株を樹立することができた。樹立したこれらの多能性幹細胞は、各種未分化マーカー陽性で、*OCT3/4* プロモーター領域の脱メチル化、テロメラーゼ活性の獲得、体外および体内で三胚葉性の分化誘導ができることが明らかになった。予想どおり、これらのウサギ多能性幹細胞はヒト ES 細胞によく似た特徴を有していた。さらに、DNA マイクロアレイ解析から、ウサギ ES 細胞と iPS 細胞で相違点があることも明らかになった。

【まとめ】ウサギ多能性幹細胞を用いた研究を充実させるためには、ウサギだからこそ有利な材料（多能性幹細胞種）と展開（研究目的）を効果的に組み合わせる必要がある。ウサギは iPS 細胞の比較対象として ES 細胞も樹立できるという利点があるが、我々が樹立した ES 細胞と iPS 細胞は多能性幹細胞として相同な部分が多い一方で、明らかに異なる部分も持ち合わせている。このような細胞種を用いてこそ、多能性幹細胞を利用したヒト再生医療の安全性を効果的に評価できる。これまで様々な動物種から iPS 細胞が作出されているが、ウサギの多能性幹細胞は、トランスレーショナルリサーチの発展に有利な条件を数多く備えている。今後はウサギ多能性幹細胞の特性とウサギであることの有用性を活かした研究を進展させたい。