

# 肝幹細胞における microRNA の機能と制御

九州大学 生体防御医学研究所 器官発生再生学分野

鈴木 淳史

## 1. はじめに 緒言 目的 背景 序論

タンパク質へ翻訳されずにRNAのまま機能するノンコーディングRNA (ncRNA) の中で、マイクロRNA (microRNA) と呼ばれる小型のRNAは標的遺伝子のメッセンジャーRNA (mRNA) に対する相補的配列を有し、その遺伝子の発現を抑制する。microRNAは正常な個体発生から癌などの疾患にいたるまで様々な生命現象に関与しているが、最近では、胚性幹細胞 (ES細胞) や組織幹細胞の機能制御においても重要な役割を担うことが明らかになってきた。しかしながら、肝臓の組織幹細胞 (肝幹細胞) におけるmicroRNAの役割やその制御機構はこれまでほとんど解析されておらず、microRNAによる肝幹細胞の機能制御機構については解明すべき点が多い。肝幹細胞の性状解析が進まないもっとも大きな理由は、肝臓中にわずかしかな存在しない肝幹細胞を実験対象にすることが非常に難しく、肝臓の全細胞をそのまま使用する研究が未だ主流であるためと考えられる。

このように、肝臓は血液細胞を含む複数種の細胞によって構成された集合体として機能しており、数が少なく、形態による識別が困難な肝幹細胞に的を絞った研究を行うことは極めて難しい。そこで我々は、肝幹細胞を他の細胞から選別する手法として、細胞表面抗原を抗体で染色した細胞を生きたまま回収可能な装置であるフローサイトメトリーを利用し、回収された細胞の性状をクローナルな解析系 (1つ1つの細胞を個別に解析する手法) によって調べた。その結果、高い増殖能、多分化能、自己複製能、肝組織再構築能といった肝幹細胞の特性をすべて満たす細胞を、マウス胎仔及び成体マウスの肝臓から特異的に分離・回収することに成功した (Suzuki *et al.*, 2000; Suzuki *et al.*, 2002; Suzuki *et al.*, 2008b)。このように、独自の手法を確立して肝幹細胞を分離解析できることから、これまでに肝幹細胞の増殖や分化を制御する分子機構の一部を明らかにすることにも成功している (Suzuki *et al.*, 2003; Suzuki *et al.*, 2008a)。以上を踏まえ、本研究では、肝幹細胞の分離技術とクローナルな細胞解析技術を用いて、肝幹細胞におけるmicroRNAの機能的役割とその制御機構を解析し、それらの破壊により生じる肝幹細胞の機能異常と疾患との関係解明に向けて研究を進めた。

## 2. 方法

肝幹細胞でmicroRNAを制御する分子機構を解析すべく、microRNAの機能制御を担うRNA結合タンパク質のひとつ、Lin28に注目した。線虫の発生を制御するRNA結合タンパク質のひとつであるlin-28のマウスホモログ、Lin28AとLin28Bは、microRNAやmRNAと結合してそれらの機能を負に制御し、細胞増殖を伴う組織形成や再生、腫瘍形成に関与すると考えられている。本研究では、マウス胎仔肝臓から分離した肝幹細胞におけるLin28の機能や、Lin28によって制御を受けるmicroRNAの解析を行った。

## 3. 結果 研究成果

まず、マウス胎仔肝臓から分離した肝幹細胞においてLin28AとLin28Bの発現解析を行った。その結果、肝幹細胞でLin28Bの高い発現が認められた。そこで、肝幹細胞におけるLin28Bの機能を明らかにするために、Lin28BのsiRNAを用いたノックダウン解析を行った。その結果、Lin28Bのノックダウンにより、肝幹細胞においてサイクリン関連タンパク質の発現低下が生じ、肝幹細胞の増殖が強く抑制されることが判明した。次に、肝幹細胞において、Lin28Bが制御するmicroRNAの探索を行った。これまでの研究では、Lin28の標的としてlet-7ファミリーに属するmicroRNAが同定され解析されていることから、肝幹細胞においてもlet-7ファミリーのmicroRNAがLin28Bによって制御を受けている可能性が考えられた。そこで、肝幹細胞におけるlet-7ファミリーの解析を進めた結果、特定のlet-7がLin28Bによって制御されることを示唆するデータが得られた。

#### 4. 考察 まとめ

本研究では、Lin28Bによるlet-7の機能制御によって、マウス発生期における肝幹細胞の増殖が活性化されることを明らかにした。Lin28Bはヒト肝癌細胞株でも強く発現することから、癌細胞においても、肝幹細胞と同様にLin28Bがlet-7の制御を介して増殖を活性化していると考えられる。このことは、正常な肝幹細胞と異常な肝癌細胞の増殖メカニズムの類似性を示唆しているといえ、非常に興味深い。将来、肝幹細胞においてLin28Bの機能そのものを制御するメカニズムが明らかになれば、肝癌細胞の増殖を抑制する方法が見つかるかもしれない。そこで今後は、肝幹細胞におけるmicroRNAの機能的役割とその制御機構だけでなく、そのさらに上流に位置するLin28Bの制御メカニズムの解析も進めることで、幹細胞研究のみならず、癌研究においても新しい知見を得られるように研究を進めていきたいと思う。

#### 5. 発表論文、参考文献

なし（論文投稿準備中）