



メタボリックレギュレーターとしての FGF リガンドの補助受容体を介したシグナル伝達と特異性発揮の機構

1. はじめに

細胞増殖因子として1970年代から研究されてきた繊維芽細胞増殖因子 (fibroblast growth factor; FGF) ファミリーの中で、FGF19 サブファミリーに分類される FGF19, FGF21, FGF23 のリガンド群は、最近、メタボリズム調節因子としての特徴的生理活性を有することが、遺伝疾患の解析やトランスジェニック動物などの解析により明らかになってきた¹⁾。

FGF19 サブファミリーは、これまで研究されてきた従来の FGF とは大きく異なる性質を持つ。従来の FGF が多くの他の増殖因子と同様に産生細胞の近傍で作用する様式を持つことに対して、血流を介して身体の離れた場所に位置する標的細胞に作用する所謂ホルモン様の作用様式を示す。また、チロシンキナーゼ型膜タンパク質である FGF 受容体を介したシグナル伝達には、補助受容体として Klotho ファミリーの膜タンパク質が共存することが必要

であるとする報告が相次いでいる。これらの性質から補助受容体と受容体の組み合わせにより、シグナルの標的特異性が決定されると考えられてきている²⁾。

FGF による新たなメタボリズム調節のシグナル伝達を理解することは、メタボリックシンドロームの理解にもつながると共に、診断、治療などに役立つ可能性が大きいと期待され、既にこれを指向した研究も始まっている³⁾。

2. 代謝調節因子としての FGF19 サブファミリー

FGF 研究の初期においては、培養繊維芽細胞の増殖促進活性などを元に、多数の命名が並立する時期があったが、それらの多くは分子クローニングを経て FGF1 と FGF2 に収束することが判明した。次にオンコジーン候補としてあるいは細胞形質転換活性によってクローニングされた FGF3, 4, 5, 6, 角化細胞増殖因子としてクローニングされた FGF7 などがこれに続いたが、これらはいずれも細胞の増殖を促進するという点において共通性を示した。その後、伊藤博士の研究グループを中心として、さらに複数の FGF ファミリーメンバーが先行 FGF の一次構造上のモチーフを参考にして同定されたが、*in vitro* アッセイ系では強い細胞増殖活性を示さないなど生物活性が明らかでないメンバーが残った。これらの多くはトランスジェニック動物やノックアウト動物の表現型解析を端緒として機能解析が進んできた¹⁾。中でも、相互に構造的近縁である FGF19 サブファミリー (FGF19, 21, 23) は、それぞれが異なる活性を持つ各種代謝調節因子であることが近年明らかになり、学術的にも応用上の可能性からも注目されている (表1, 図1)。

FGF15 はマウスの神経発生時に発現される新規 FGF メンバーとして1997年にクローニングされた。FGF19 は1999年に FGF15 のホモロジーサーチによりヒトから分離

表1 FGF ファミリーの進化的関連とその作用モード (文献1を元に作成)

サブファミリー	リガンド	作用モード	FGF 受容体との相互作用
cFGF (canonical)	FGF1 サブファミリー	FGF1, FGF2	パラクリン, 細胞内
	FGF4 サブファミリー	FGF4, FGF5, FGF6	パラクリン
	FGF7 サブファミリー	FGF3, FGF7, FGF10, FGF22	パラクリン, (FGF3 は細胞内フォームもあり)
	FGF8 サブファミリー	FGF8, FGF17, FGF18	パラクリン
	FGF9 サブファミリー	FGF9, FGF16, FGF20	パラクリン
iFGF (intracellular)	FGF11 サブファミリー	FGF11, FGF12, FGF13, FGF14	細胞内
hFGF (hormone-like)	FGF19 サブファミリー	FGF19/15, FGF21, FGF23	細胞内 あり (Klotho ファミリーの共存下)

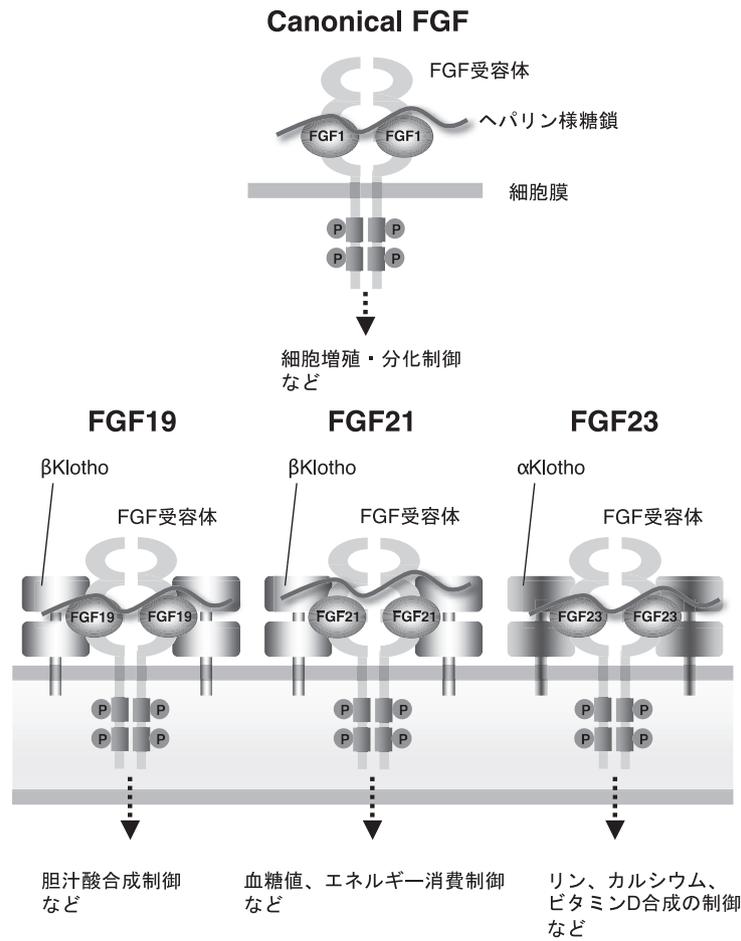


図1 canonical FGFとFGF19サブファミリーの受容体との複合体形成と機能 (詳細は表2参照)

され、脳での発現が報告された。他のFGFメンバーと比べてヒトとマウスの相同性が低いため(51%)、別の番号が付加されたが、現在ではこれらは互いにオルソログと考えられている。そのためマウスではFGF19がなくヒトではFGF15が欠番となっている。FGF19は長期に強制発現させると、体重、脂肪を減少させ、エネルギー消費を増大させることがトランスジェニックマウスの実験で見出された⁴⁾。さらに食餌による肥満やインスリン抵抗性を軽減する作用を有することが示された。しかし同時に長期発現により、肝細胞がんを誘導することも認められている。その後の解析によりFGF15/FGF19は、小腸で発現され、肝臓に作用し、胆汁酸の合成の抑制などに関わる代謝制御因子としての機能を持つことが明らかになった⁵⁾。

2000年にホモロジーサーチから新たなFGFメンバーとして見出されたFGF21は、2005年に糖・脂肪代謝に関わ

る因子として再発見された⁶⁾。その後の解析により、生理的には飢餓状態により、核内受容体PPARαを介して肝臓で発現誘導され、肝臓においてケトン体合成、脂肪酸酸化、中性脂肪代謝などを誘導し、脂肪組織において脂肪分解を促進することで、飢餓に対する生存応答を行うエネルギー調節機能が提唱されている^{7,8)}。薬理的には、血糖値および血中中性脂肪の低下作用、HDLの増大、LDLの減少、さらには抗肥満作用、インスリン抵抗性改善作用など、様々な抗メタボリックシンドローム作用を示す。重要な特徴として、インスリンの作用に対して相加的で、インスリンとは異なり投与による低血糖症を起こさないことが挙げられる。またトランスジェニックマウスで長期発現させても造腫瘍性がないことも特筆すべき点である³⁾。

FGF23は2000年にホモロジーサーチから新たなメンバーとしてクローニングされ、その後、遺伝的背景を有す

ることが知られていた骨軟化症・くる病、腫瘍性骨軟化症における原因遺伝子として同定された⁹⁾。これらの患者においては、FGF23の不活性化に与る分解酵素の標的配列が変異しており、FGF23活性の過剰発現の結果としてリン酸塩の過剰排泄が起こることが、病因の一つと考えられている。FGF23は骨組織で産生され、リン酸やビタミンD、カルシウムの代謝の制御因子であることが明らかにされた^{9,10)}。また副甲状腺にも作用し、副甲状腺ホルモンの産生および分泌調節因子としても機能することが示された¹¹⁾。

3. BaF3細胞を用いたFGF受容体活性化解析：従来型のFGF・受容体・ヘパラン硫酸による活性シグナル複合体形成

FGFのシグナル伝達機構には複数のパスウェイが存在すると考えられるが、最も良く解析が進んでいるのは、細胞膜1回貫通型(I型膜タンパク質)のFGF受容体(FGFR)を介するシグナル伝達である。チロシンキナーゼ型FGFRは四つの遺伝子にコードされ、選択的スプライシングを経て七つのサブタイプに大別されるタンパク質として発現される。血液系細胞などを例外としてほとんどの種類の細胞には、これらFGFRのいずれかまたは複数種が、様々な量で発現している。ヒトとマウスで18種類存在する、FGF受容体と相互作用するリガンド(表1)とこれらFGFRの間には、ある程度の選択的組み合わせが存在するが、FGF1のように七つ全てのサブクラスに結合して活性化する能力を有するリガンドもある。一方、FGF7のように、FGFR2Ⅲbという特定のサブタイプのみを活性化するものもある。これらの性質は、反応の選択性や冗長性の基盤となると考えられている。反応特異性を決定する実験系としては、1996年にOrnitz博士らのグループが発表した方法が優れており、内在性のFGFRを持たない前駆B細胞であるBaF3細胞株を用い、この細胞に各種のFGFRを人工的に強制発現させることで、リガンドで誘導されるDNA合成からその反応性を評価する¹²⁾。この系では、別の細胞の解析からも示唆されていたように、ヘパリン/ヘパラン硫酸糖鎖が共存することが受容体活性化の必要条件とされた。これらの実験結果もふまえ、FGFRを介したFGFのシグナル伝達機構としては、細胞膜表面で、FGFリガンド、FGFR、ヘパラン硫酸/ヘパリン、の3種類の分子による活性型シグナル複合体が形成され、これが細胞内にシグナルを伝達するというモデルが現在広く支持されている¹³⁾。このような態様でシグナルを伝達するFGFリガ

ンドを、ここでは“canonical FGF”と呼ぶ(図1, 表1)。

4. FGF19サブファミリーの特殊性：補助受容体・受容体・リガンド・ヘパラン硫酸による活性シグナル複合体形成のスナッチショット

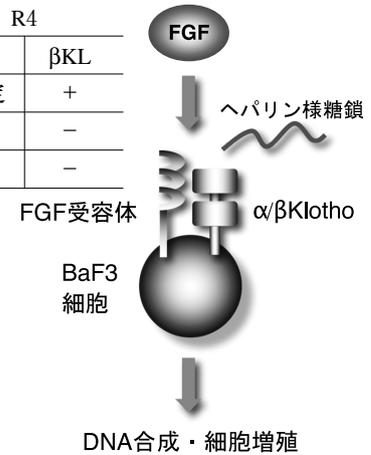
筆者らは肝臓での特異的発現が報告されたFGF21について注目し、その解析を行う過程で、FGF21はcanonical FGFとは異なり、ヘパリンに対して親和性がないこと、前述のBaF3/FGFR再構成系においてヘパリンなどの硫酸化多糖の共存下でもFGFRの活性化能がないことなどを観察していた¹⁴⁾。canonical FGFの性質と比べて大きな相違があることから、その作用発現には既知のFGF受容体とは異なる受容体、あるいは補助的受容体が存在する可能性が想定された。Ornitz博士らはその後22個までメンバーが増えたFGFリガンドについてFGFRの対応をBaF3/FGFR再構成系により網羅的に解析し報告したが、FGF19サブファミリーはcanonical FGFに比べ、極度に反応性が低いもしくはほぼない、ことを示した¹⁵⁾。このようにFGF19サブファミリーの作用機構は謎であったが、その突破口はまずFGF23で得られた。島田博士、山下博士らの研究グループによって作製されたFgf23遺伝子のノックアウトマウスが異所性骨化や早期老化のような表現型を示し、黒尾博士、鍋島博士らのグループによって加齢遺伝子として発見されたKlotho(α Klotho)遺伝子変異マウスと酷似していたのである^{10,16)}。浦川博士、島田博士ら、また黒須博士、黒尾博士らはさらにKlothoがFGF23と直接結合することを示した^{17,18)}。そこで私たちは、FGFR1cを強制発現させたBaF3細胞の系でこの状況を再構築してみた。FGF23はヘパリンの存在下でもこの細胞にDNA合成を起させないが、この細胞にKlothoを同時に発現させると、FGF23刺激によってDNA合成を誘導するようになった。このことは、KlothoがFGF23に対して、補助受容体として働くことを示唆する¹⁹⁾(表2)。

我々が注目していたFGF21については、既述のようにEli Lilly社のKalikonentov博士らの研究グループにより、脂肪細胞に分化した3T3-L1細胞によるグルコーストランスポーターの発現を、FGF21が上昇させることが報告されていた⁶⁾。我々はその結果を追試できたが、同時に、脂肪細胞に分化する前の3T3-L1繊維芽細胞では、FGF21に対する反応性は検出できないこと、また、この違いは、FGF受容体の発現レベルでは説明できないという結果を得た。そこでFGF23の補助受容体として機能することが示唆された α Klothoと、その類縁分子である β Klothoをそ

表2 FGF受容体, α/β Klotho (KL) 発現 BaF3細胞を用いた FGF19サブファミリーの FGF受容体, 補助受容体特異性の解析パネル

受容体	R1c		R2c		R3c		R4	
補助受容体	α KL	β KL						
FGF19	-	+	-	+	-	+	未確定	+
FGF21	-	+	-	未確定	-	+	-	-
FGF23	+	-	+	-	+	-	+	-

受容体	R1b		R2b		R3b	
補助受容体	α KL	β KL	α KL	β KL	α KL	β KL
FGF19	-	-	-	-	未実験	-
FGF21	-	-	-	-	未実験	-
FGF23	-	-	-	-	未実験	-



それぞれ共発現させた FGFR1c/BaF3細胞を作製し, 反応を解析したところ, FGF21は β Klotho/FGFR1c/BaF3細胞にのみ DNA合成を惹起することが示された. その後, 受容体/補助受容体の組み合わせと, FGF19サブファミリーリガンドとの反応性の関係を体系的に調べたところ, 未だ実験が完了していない部分も含めて表2のような関係が成り立つことが示された¹⁹⁾. この結果から, FGF19サブファミリーの標的細胞特異性は, 発現している FGFR だけでは決まらず, 共発現している α Klotho または β Klotho によって規定されることがわかる.

複合体形成の制御機構については, まだ明らかでないが, FGF23では抗体を用いた実験からまた FGF19では結合実験から, それぞれ N末端側が FGF受容体と, C末端側が Klothoファミリー分子と相互作用することが示され, あるいは示唆されている^{20,21)}. また我々は, 上述の解析系において, 共存させる硫酸化グリコサミノグリカンの種類によって FGF受容体/Klothoファミリー分子と FGF19サブファミリーリガンドとの反応性が変化することも見出し, 硫酸化グリコサミノグリカンが活性複合体形成を制御することが示唆される.

5. 内分泌因子としての FGF19サブファミリーとその標的特異性発揮メカニズム

なぜ, FGF19サブファミリーには補助受容体が必要なのであろうか? この疑問に対する一つの可能性として, 標的特異性を他の FGFに対するよりも厳密に担保する必要性から, このようなシステムができあがったのではないかと私たちは考えている. 私たちは, FGF19サブファミ

リーはいずれもヘパリンに対する結合アフィニティーが極めて弱いことを見出していた. 一般に FGFファミリーメンバーは, ヘパリン/ヘパリン硫酸糖鎖に結合するアフィニティーが強く, それを利用してアフィニティー精製できるものも多い. この性質のため, これらの FGFは血中や細胞間に放出されたとしても, すぐに近傍のマトリックスなどに多量に存在するヘパリン硫酸などにトラップされてしまう. したがって, 多くの他の増殖因子同様, FGFリガンドの産生細胞とその標的細胞は近傍に位置してパラクリン因子として作用することが重要であると考えられる. しかし, FGF21は生理的食塩濃度ではヘパリンセファロースに全く吸着されず, FGF19と FGF23も極めて弱くしか結合しない¹⁴⁾. したがって, FGF19サブファミリーメンバーは, 血管壁など非標的組織にトラップされにくく, 血液を介して遠くの標的細胞に到達することも可能であろう. 実際, 私たちは, FGF21の発現が昂進した病的状態のマウス個体の末梢血中から内在性 FGF21を明確に検出している. このように FGFリガンドが内分泌因子として挙動する場合, その標的特異性については, 標的細胞側で厳密に保証する必要が出てくる. そこで, α Klotho, β Klotho という補助受容体がシステムに加わり, FGFリガンドと標的細胞の対応の特異性を高めることが進化的に達成されたのではないかと考える.

現在の所, FGF19サブファミリーの機能の解析は主に, トランスジェニックマウスやノックアウトマウスを用いて行われている. これらマウスで得られた FGF19ファミリーの生理機能に関する情報は, ヒトの様々な代謝調節に関わる疾病に関連した診断治療法や医薬の創製につながる

可能性が非常に高い。一方、FGF21をノックアウトしたゼブラフィッシュでは、赤血球の分化成熟に問題が起きることが示されており、マウスのような代謝調節については報告されていない。またFGF19ノックアウトゼブラフィッシュでは、眼のレンズと網膜の分化に欠陥があるが、胆汁酸の生成について異常は報告されていない。既に述べたように、FGF19サブファミリーは進化の過程では比較的最近現れた分子であると考えられ、それらが担う生理的機能が、動物種によってもちがうという可能性も考える必要があるかもしれない。マウスによって得られた機能情報をヒトにあてはめるにあたっては、慎重に行う必要がある。

6. おわりに

1997年にはじめてKlothoが見出され報告された時点では、KlothoファミリーとFGFシステムに接点があることは、想像だにできなかった。その後10年を経て、FGFの作用を規定する重要な因子としての側面が明らかになってきた。今後、FGF19サブファミリーの有する代謝制御機能を創薬等に活かしていくためには、さらなるメカニズム解明に加えて、構造解析や薬理的解析など詳細な研究が必要である。また、canonical FGFのシグナル伝達がKlothoファミリー/FGFRの系でどのように影響を受けるのかなどについても、解析が必要である。さらにはKlothoファミリーの別のタンパク質や関連タンパク質がFGF受容体のシグナル伝達に影響するかについても興味のあるところである。 β Klothoのノックアウトマウスにおいて、FGF21の活性発揮に第3の因子が関与する可能性について鍋島博士らが言及している（第1回CREST“代謝調節機構解析に基づく細胞機能制御基盤技術”研究領域公開シンポジウム）。マウスにFGF21を投与することによる高血糖の正常化作用と抗肥満作用とでは、必要なFGF21の量が異なるとの報告があり、これらの作用メカニズムが異なる可能性も考えられている²²⁾。

- 1) Itoh, N. & Ornitz, D.M. (2008) *Dev. Dyn.*, **237**, 18–27.
- 2) Kuro-o, M. (2008) *Trends Endocrinol. Metab.*, **19**, 239–245.
- 3) Kharitonov, A. & Shanafelt, A.B. (2008) *BioDrugs*, **22**, 37–44.
- 4) Tomlinson, E., Fu, L., John, L., Hultgren, B., Huang, X., Renz, M., Stephan, J.P., Tsai, S.P., Powell-Braxton, L., French, D., & Stewart, T.A. (2002) *Endocrinology*, **143**, 1741–1747.
- 5) Jones, S. (2008) *Mol. Pharm.*, **5**, 42–48.
- 6) Kharitonov, A., Shiyanova, T.L., Koester, A., Ford, A.M., Micanovic, R., Galbreath, E.J., Sandusky, G.E., Hammond, L. J., Moyers, J.S., Owens, R.A., Gromada, J., Brozinick, J.T., Hawkins, E.D., Wroblewski, V.J., Li, D.S., Mehrbod, F., Jaskunas, S.R., & Shanafelt, A.B. (2005) *J. Clin. Invest.*, **115**, 1627–1635.
- 7) Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., Li, Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Esser, V., Elmquist, J.K., Gerard, R.D., Burgess, S.C., Hammer, R.E., Mangelsdorf, D.J., & Kliewer, S.A. (2007) *Cell Metab.*, **5**, 415–425.
- 8) Badman, M.K., Pissios, P., Kennedy, A.R., Koukos, G., Flier, J.S., & Maratos-Flier, E. (2007) *Cell Metab.*, **5**, 426–437.
- 9) Yu, X. & White, K.E. (2005) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **16**, 221–232.
- 10) Shimada, T., Kakitani, M., Yamazaki, Y., Hasegawa, H., Takeuchi, Y., Fujita, T., Fukumoto, S., Tomizuka, K., & Yamashita, T. (2004) *J. Clin. Invest.*, **113**, 561–568.
- 11) Ben-Dov, I.Z., Galitzer, H., Lavi-Moshayoff, V., Goetz, R., Kuro-o, M., Mohammadi, M., Sirkis, R., Naveh-Manly, T., & Silver, J. (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**, 4003–4008.
- 12) Ornitz, D.M., Xu, J., Colvin, J.S., McEwen, D.G., MacArthur, C.A., Coulier, F., Gao, G., & Goldfarb, M. (1996) *J. Biol. Chem.*, **271**, 15292–15297.
- 13) Mohammadi, M., Olsen, S.K., & Ibrahim, O.A. (2005) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **16**, 107–137.
- 14) Asada, M., Shinomiya, M., Suzuki, M., Honda, E., Sugimoto, R., Ikekita, M., & Imamura, T. (2009) *Biochim. Biophys. Acta*, **1790**, 40–48.
- 15) Zhang, X., Ibrahim, O.A., Olsen, S.K., Umemori, H., Mohammadi, M., & Ornitz, D.M. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 15694–15700.
- 16) Kuro-o, M., Matsumura, Y., Aizawa, H., Kawaguchi, H., Suga, T., Utsugi, T., Ohyama, Y., Kurabayashi, M., Kaname, T., Kume, E., Iwasaki, H., Iida, A., Shiraki-Iida, T., Nishikawa, S., Nagai, R., & Nabeshima, Y.I. (1997) *Nature*, **390**, 45–51.
- 17) Urakawa, I., Yamazaki, Y., Shimada, T., Iijima, K., Hasegawa, H., Okawa, K., Fujita, T., Fukumoto, S., & Yamashita, T. (2006) *Nature*, **444**, 770–774.
- 18) Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K.P., Baum, M.G., Schiavi, S., Hu, M.C., Moe, O.W., & Kuro-o, M. (2006) *J. Biol. Chem.*, **281**, 6120–6123.
- 19) Suzuki, M., Uehara, Y., Motomura-Matsuzaka, K., Oki, J., Koyama, Y., Kimura, M., Asada, M., Komi-Kuramochi, A., Oka, S., & Imamura, T. (2008) *Mol. Endocrinol.*, **22**, 1006–1014.
- 20) Yamazaki, Y., Tamada, T., Kasai, N., Urakawa, I., Aono, Y., Hasegawa, H., Fujita, T., Kuroki, R., Yamashita, T., Fukumoto, S., & Shimada, T. (2008) *J. Bone Miner. Res.*, **23**, 1509–1518.
- 21) Wu, X., Lemon, B., Li, X., Gupte, J., Weiszmann, J., Stevens, J., Hawkins, N., Shen, W., Lindberg, R., Chen, J.L., Tian, H., & Li, Y. (2008) *J. Biol. Chem.*, **283**, 33304–33309.
- 22) Coskun, T., Bina, H.A., Schneider, M.A., Dunbar, J.D., Hu, C. C., Chen, Y., Moller D.E., & Kharitonov, A. (2008) *Endocrinology*, **149**, 6018–6027.

鈴木 理, 今村 亨

(独立行政法人産業技術総合研究所 (AIST)

脳神経情報研究部門シグナル分子研究グループ)

Signaling of metabolic regulatory FGFs: Specificity determination by co-receptors

Masashi Suzuki and Toru Imamura (Signaling Molecules Research Group, Neuroscience Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), Tsukuba Central 6, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japan)

多能性幹細胞を維持する転写ネットワーク

はじめに

マウス胚性幹 (embryonic stem, ES) 細胞の由来は初期胚の胚盤胞 (3.5 日胚) で, その内部細胞塊 (inner cell mass, ICM) を取り出し培養した細胞である。ES 細胞や人工多能性幹 (iPS) 細胞などを総称して多能性幹細胞とよび, これらは身体を構成するあらゆる細胞 (生殖細胞を含む) に分化する能力を維持しつつ無限に増殖する¹⁾。多能性維持機構に関しては成長因子や細胞周期, タンパク質分解系など様々な角度から研究が進められているが, ここでは中心的とされる転写因子の働きに絞って概説する。

多能性幹細胞における中心的転写因子

1. *Oct3/4*

POU (Pit-Oct-Unc) ファミリーに属する *Oct3/4* は, 生殖細胞や ICM など多能性を保持した細胞系譜で特異的に発現する。*Oct3/4* を初期胚でノックアウトすると, 多能性をもった ICM が形成できない²⁾。この分化を引き起こす原因の一つとして, 転写因子 *Cdx2* (caudal type homeo box 2) が知られる。*Cdx2* は初期胚において栄養外胚葉 (胎盤を形成する) に発現しており, ICM や ES 細胞では *Oct3/4* によってその発現が抑制されている。*Oct3/4* は *Cdx2* を物理的相互作用を介して機能抑制できることがわかっており, 逆に *Cdx2* は *Oct3/4* の機能抑制を通じて ES 細胞を栄養外胚葉へと分化誘導できる。ところが, *Cdx2* 遺伝子非存在下 (*Cdx2* ノックアウト ES 細胞) においても *Oct3/4* をノックアウトすると分化するため³⁾, *Oct3/4* は *Cdx2* の

機能抑制以外にも重要な役割をもつとみられる。その一つが, 以下に述べる Oct-Sox エンハンサーを介した下流遺伝子制御である。

2. *Sox2*

Oct3/4 が制御する遺伝子には, octamer 配列と Sox 因子結合配列が隣接するエンハンサー構造がしばしばみられる (以下, Oct-Sox エンハンサー)。Oct-Sox エンハンサー依存性遺伝子には, *Fgf4*, *Utf1*, *Nanog* など, 多能性幹細胞特異的に発現する遺伝子の大多数が含まれる¹⁾。Oct-Sox エンハンサーにインビトロで結合する Sox 因子として最初に同定されたのが *Sox2* (SRY-box containing gene 2) である⁴⁾。*Sox2* は DNA 結合部位である HMG (high mobility group) ドメインとその C 末端側の転写活性化ドメインから構成される。HMG ドメインの中には二つの核移行シグナル配列が存在し, 主に核内に局在する⁵⁾。転写活性化ドメインは三つのサブドメインから構成され, HMG ドメインと *Oct3/4* の POU ドメインとの相互作用を介して Oct-Sox エンハンサーの活性化を行うとされる⁶⁾。生体内では *Sox2* は ICM, 生殖細胞や神経幹細胞などに発現している。*Sox2* のノックアウト初期胚ではその ICM から ES 細胞は単離できないことが報告されており, *Sox2* は多能性維持に必須である⁷⁾。

i) 多能性維持における *Sox2* の役割

一般に, 遺伝子 X をノックアウトすると A という細胞が失われたとき, X は細胞 A の維持に重要な働きをする と解釈する。次に「X はどうして重要なのか」を考える, すなわち X の機能を推定する際には, 細胞 A において必須の分子経路 B が知られているとして, インビトロの解析で X が経路 B で機能するというデータがある場合, ほとんどのケースでは X の重要な機能は経路 B の制御であると解釈されている。「経路 B で重要な働きをしている」と決定するためには, X をノックアウトした直後に経路 B に効果が現れるかを検証する必要があるだろう。*Sox2* は多能性維持に必須の役割を果たすことはわかってはいたわけだが, その分子メカニズムはどのようなものだろうか。

ノックアウト直後の影響を解析する場合, 薬剤誘導的にノックアウトする ES 細胞を作成する必要がある。そこでテトラサイクリン誘導的 *Sox2* ノックアウト ES 細胞株を作成し, これを用いて Oct-Sox エンハンサー依存性遺伝子 (*Fgf4*, *Utf1*, *Fbxo15*, *Lefty1* および *Nanog*) のレポーターアッセイを行った。*Sox2* ノックアウト 24 時間後以