

# 胚胎幹細胞的多功能性 (Pluripotency)

中央研究院 生物醫學所 謝清河老師實驗室 陳貞云

## RESEARCH ARTICLE

**Bcl3 bridges LIF-STAT3 to Oct4 signaling in the maintenance of naïve pluripotency**

Chen CY, Lee DS, Yan YT, Shen CN, Hwang SM, Lee ST, Hsieh PC\*

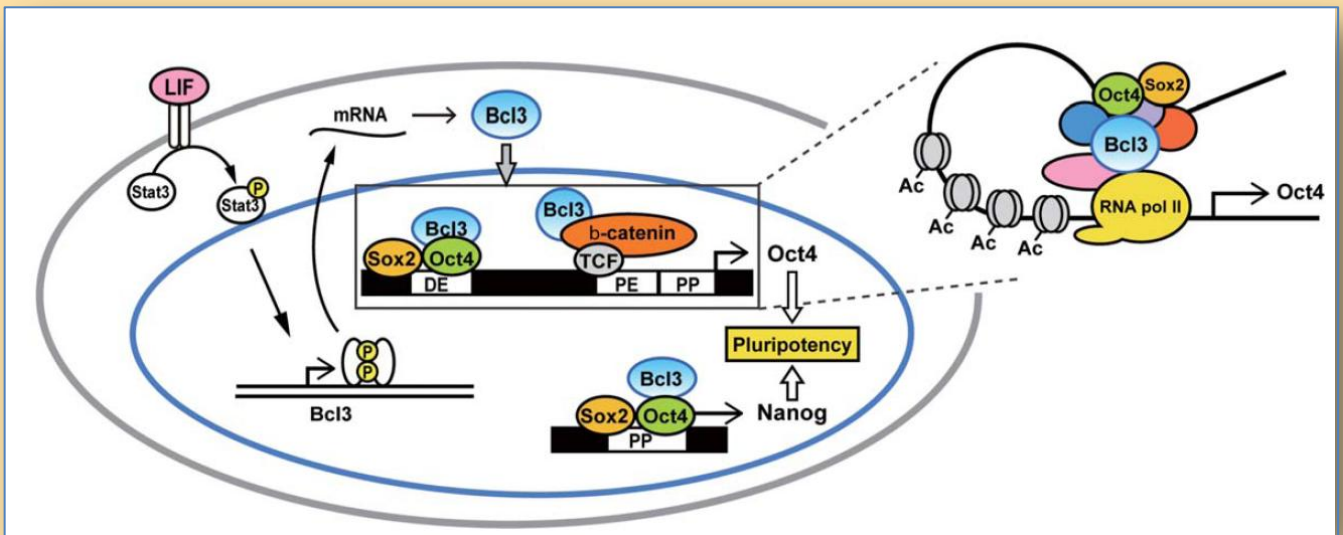
**Leukemia inhibitory factor (LIF) regulates mouse embryonic stem cell (mESC) pluripotency through STAT3 activation, but the downstream signaling remains largely unelucidated. Using cDNA microarrays, we verified B cell leukemia/lymphoma 3 (Bcl3) as the most significantly downregulated factor following LIF withdrawal in mESCs. Bcl3 knockdown altered mESC morphology, reduced expression of pluripotency genes including Oct4, Sox2, and Nanog, and downregulated DNA binding of acetylated histone 3 and RNA polymerase II on the Oct4 promoter. Conversely, Bcl3 overexpression partially prevented cell differentiation and promoted Oct4 and Nanog promoter activities. Furthermore, coimmunoprecipitation and chromatin immunoprecipitation experiments demonstrated that Bcl3 regulation of mESC pluripotency may be through its association with Oct4 and  $\beta$ -catenin and its promoter binding capability. These results establish that Bcl3 positively regulates pluripotency genes and thus shed light on the mechanism of Bcl3 as a downstream molecule of LIF/STAT3 signaling in pluripotency maintenance. *Stem Cells* 2015;33:3468-3480.**

一個生物的個體包含了不同的器官和細胞。它們彼此分工,合作,協調,讓一個生物個體得以生長,代謝及繁殖。然而,令人讚嘆的是,這些不同功能的細胞追本溯源,可以回到一個受精卵細胞。這個細胞不但能發育出生物個體的多種組織,還能發育出胎盤,提供完整的胚胎發育環境。這樣的細胞稱之為全能性幹細胞 (**Totipotent stem cells**)。受精卵著床前會逐漸進行對稱和不對稱的細胞分裂而形成囊胚 (**Blastocysts**)。囊胚的中心聚集一群內細胞群(**Inner cell mass**), 這群內細胞群會發育成各式各樣的細胞型態, 包含外胚層的神經細胞, 中胚層的肌肉細胞和內胚層的肝臟細胞.....等。這群細胞除了無法分化成胚胎外構造以外, 具有分化成所有體細胞的能力, 這個能力稱之為胚胎幹細胞的多功能性 (**Pluripotency**)。自從這群內細胞群可以藉由體外細胞組織培養的方法不斷的複製之後, 胚胎幹細胞(**Embryonic stem cells**)的研究領域就此蓬勃發展。各式各樣體外培養的方式誘發胚胎幹細胞分化出多種細胞型態, 為之後的細胞治療或臨床前藥物測試帶來一線曙光。然而, 胚胎幹細胞的體外培養並不是一開始就很順利, 胚胎幹細胞經常進行自發性的分化, 無法維持多功能的特性。經過 **Dr. Austin Smith** 和 **Dr. R.Lindsay Williams** 多年的努力, 小鼠的胚胎幹細胞可以培養在含有白血病抑制因子(**LIF; leukemia inhibitory factor**)的培養基中, 維持它的多功能性。至於白血病抑制因子如何調節維持胚胎幹細胞的多功能性又是一門艱深複雜的問題。

本篇研究著重於白血病抑制因子維持胚胎幹細胞的多功能性的分子機制探討。作者將小鼠的胚胎幹細胞養在含有白血病抑制因子和不含白血病抑制因子的培養基中, 利用基因晶片 (**Microarray**) 比較兩群細胞的基因表現。細胞在不含白血病抑制因子的培養基中, 會開始進行分化, 許多維持多功能性的轉錄因子 (**Transcription factors**) 會逐漸減少, 而在表現量下降的基因群中, 作者找到一個表現量下降最顯著的基因 **Bcl3 (B cell leukemia 3)**。 **Bcl3** 是個非典型的 **I-kappa B** 蛋白質, 除了調控 **NF-kappa B** 的功能以外, 它可以進入到細胞核中和轉錄因子共同調控基因表現。

利用shRNA抑制Bcl3表現的方式，作者發現胚胎幹細胞的型態逐漸改變，趨向分化。維持多功能性的轉錄因子Oct4, Sox2和Nanog表現量也隨之下降。反之，在細胞中過量表現Bcl3，並將細胞培養在缺乏白血病抑制因子的環境中，細胞仍可維持部分的幹細胞特性。這些結果說明Bcl3在維持胚胎幹細胞多功能性上扮演著重要的角色。更深入的研究發現，Bcl3的表現直接受LIF-Stat3訊息傳遞的調控。Bcl3蛋白和Oct4或b-catenin轉錄因子結合，進一步調控Oct4和Nanog啟動子(Promoter)的活性,以維持胚胎幹細胞的多功能性。有趣的是，Bcl3除了和轉錄因子結合以外，也調控了染色質絲(Chromatin)的結構。

在過去，Bcl3在免疫及癌症相關的研究很多;而本篇文章賦予Bcl3一個新穎的角色:維持胚胎幹細胞的多功能性。除此之外，Bcl3連結了LIF-Stat3和Oct4訊息傳遞路徑，進一步解釋白血病抑制因子維持胚胎幹細胞的多功能性的分子機制。



圖一、圖示Bcl3維持小鼠胚胎幹細胞多功能性的分子機制。白血病抑制因子活化Stat3轉錄因子,使其進核結合到Bcl3的強化子(Enhancer)上，調控Bcl3的表現。Bcl3蛋白和Oct4及b-catenin結合，調控Oct4和Nanog的啟動子(Promoter)及基因表現以維持細胞的多功能性。此外，Bcl3也參與了染色質絲的結構調節，促進遠端強化子(distal enhancer)靠近啟動子，活化基因轉錄功能。