

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19555

研究課題名(和文)加齢骨髄ニッチの高齢者造血腫瘍発症における病因論的意義の解明

研究課題名(英文)Pathogenic role of niche aging in the development of age-associated hematological malignancies

研究代表者

岩間 厚志(Iwama, Atsushi)

東京大学・医科学研究所・教授

研究者番号：70244126

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文):申請者は、ポリコム抑制性複合体1(PRC1)構成因子であるBmi1を骨髄ニッチの代表である傍血管間葉系ストローマ細胞特異的に欠損させたところ、加齢とともに骨髄の脂肪化が著明に進行し、造血幹細胞・前駆細胞が有意に減少すること、これに伴い髄外造血が亢進することを見出した。以上のデータから、Bmi1が骨髄ストローマ細胞の脂肪分化を抑制することにより、造血幹細胞ニッチの恒常性を保つことが明らかとなった。このモデルは加齢に伴うヒト骨髄の変化に類似し、加齢脂肪化骨髄における造血幹細胞クローンの拡大と加齢関連骨髄球系腫瘍発症に至る過程の解析に有用と考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト骨髄ニッチは加齢とともに脂肪化が進行し、造血幹細胞の支持機能が低下する。その結果、造血幹細胞は減少し、ドライバー遺伝子変異を獲得した異常クローンの増殖優位性が促進される。すなわち、加齢に伴うニッチ変化が、造血幹細胞を発症母地とする骨髄球系腫瘍の発症を促進する原因の一つである可能性がある。本マウスモデルは、加齢ヒト骨髄モデルとして有用である。ヒトで認められる加齢脂肪化骨髄における造血幹細胞クローンの拡大と加齢関連骨髄球系腫瘍発症に至る過程の解析に有用と考えられ、その成果は、加齢ニッチ因子を標的とした、加齢関連骨髄球系腫瘍の発症の予防法の開発につながるものが期待される。

研究成果の概要(英文):The polycomb group protein Bmi1 maintains hematopoietic stem cell (HSC) functions. We previously reported that Bmi1-deficient mice exhibited progressive fatty changes in bone marrow (BM). A large portion of HSCs reside in the perivascular niche created partly by endothelial cells and leptin receptor+ (LepR+) BM stromal cells. To clarify how Bmi1 regulates the HSC niche, we specifically deleted Bmi1 in LepR+ cells in mice. The Bmi1 deletion promoted the adipogenic differentiation of LepR+ stromal cells and caused progressive fatty changes in the BM of limb bones with age, resulting in reductions in the numbers of HSCs and progenitors in BM and enhanced extramedullary hematopoiesis. This adipogenic change was also evident during BM regeneration after irradiation. Our results indicate that Bmi1 keeps the adipogenic differentiation program repressed in BM stromal cells to maintain the integrity of the HSC niche.

研究分野：造血幹細胞

キーワード：造血幹細胞 ニッチ 加齢 造血腫瘍

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ヒト骨髄ニッチは加齢とともに脂肪化が進行し、造血幹細胞の支持機能が低下する。その結果、造血幹細胞は減少し、ドライバー遺伝子変異を獲得した異常クローンの増殖優位性が促進される。このことから、加齢に伴うニッチの特性変化が異常クローンの増幅に有利に働くことが想定される。すなわち、加齢に伴うニッチ変化が、造血幹細胞を発症母地とする骨髄球系腫瘍の発症を促進する原因の一つである可能性がある。しかしながら、マウスの加齢に伴う骨髄ニッチ変化はヒトと比べて軽微であり明らかな脂肪化は認められないため、異常造血幹細胞クローンの拡大やその結果としての骨髄球系腫瘍の発症・進展に対する加齢ニッチの効果を十分に検証できていないのが現状である。申請者らは、ポリコム抑制性複合体 1 (PRC1) 構成因子である *Bmi1* を全身で欠損させたマウスの骨髄ニッチが減少し、造血幹細胞を維持できないことを報告している。このマウスでは骨髄の脂肪化が著明に進行する。この所見はヒトの加齢に伴い認められる骨髄の脂肪化と極めて類似したものである (Oguro et al., *J Exp Med* 203, 2247-2253, 2006)。しかしながら、このマウスでは *Bmi1* 欠損により造血幹細胞の機能も障害されるため、よりニッチ細胞特異的なモデルが必要であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究においては、レプチン受容体遺伝子座に *Cre* が挿入された *LepR-Cre* マウスを用いて、*Bmi1* を骨髄ニッチの代表である傍血管間葉系ストローマ細胞特異的に欠損させることにより、加齢時に脂肪化が進行するヒト骨髄ニッチを模するマウスモデルを作成するとともに、*Bmi1* のニッチ細胞分化における機能を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ニッチ特異的 *Bmi1* 欠損マウスの作成・解析

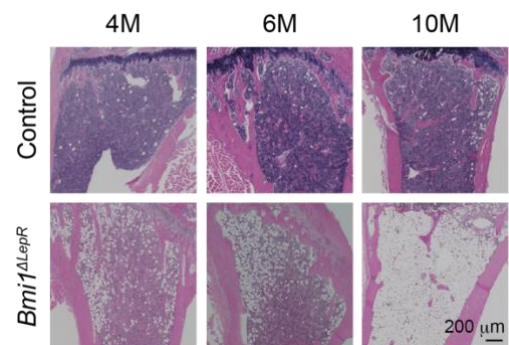
Bmi1 を傍血管間葉系ストローマ細胞特異的に欠損させるために、レプチン受容体遺伝子座に *Cre* が挿入された *LepR-Cre* マウスを用いて、*LepR-Cre;Bmi1^{fl/fl}* マウスを作成し、*Bmi1* 欠損によるニッチ細胞の分化異常を解析した。

(2) *Bmi1* によるニッチ細胞分化制御機構の解析

LepR-Cre;Bmi1^{fl/fl} マウスにおける骨髄脂肪化を確認後、この過程に関わる *Bmi1* のエピジェネティック制御機構の同定を試みた。脂肪髄マウス (*LepR-Cre;Bmi1^{fl/fl}*) より *LepR+* 傍血管間葉系ストローマ細胞を分取し、RNA シークエンス、ChIP シークエンスにより、野生型コントロールと比較して発現や H2AK119ub1 修飾が変動する遺伝子を抽出し解析を行った。

4. 研究成果

申請者らは、レプチン受容体遺伝子座に *Cre* が挿入された *LepR-Cre* マウスを用いて *Bmi1* を骨髄ニッチの代表である傍血管間葉系ストローマ細胞特異的に欠損させたところ、加齢とともに骨髄の脂肪化が著明に進行し、造血幹細胞・前駆細胞が有意に減少すること (右図)、これに伴い髄外造血が亢進することを見出した。これは全身で *Bmi1* を欠損させたマウスの骨髄脂肪化よりも進行に時間を要するが、ニッチ細胞特異的な現象であり、加齢ヒト骨髄モデルとして有用である。また、この脂肪化はマウスに放射線照射を行ったあとの骨髄再生時により顕在化することが確認された。意外なことに、脂肪化の進行に伴い造血幹細胞の数は減少するものの、その機能は保たれることも



確認された。次に、この脂肪化の過程に関わるニッチ責任因子の同定を試みた。脂肪髄モデルマウスより、LepR陽性傍血管間葉系ストローマ細胞ならびに脂肪細胞を分取し、RNA シークエンスにより、野生型コントロールと比較して発現変動する遺伝子群を抽出した。また、その際のH2AK119ub1修飾の変動をChIPシークエンスにより検証した。その結果、Nr2f2 (COUP-TFII)などの脂肪分化制御遺伝子がBmi1により直接的にその発現が抑制されることが明らかとなった。以上のデータから、Bmi1が骨髄ストローマ細胞の脂肪分化を抑制することにより、造血幹細胞ニッチの恒常性を保つことが明らかとなった。これらの成果は、Experimental Hematology (Kato et al., 2019)に発表した。

本マウスモデルは、加齢ヒト骨髄モデルとして有用である。特にヒトで認められる加齢脂肪化骨髄における造血幹細胞クローンの拡大と加齢関連骨髄球系腫瘍発症に至る過程の解析に有用と考えられ、その成果は、加齢ニッチ因子を標的とした、加齢関連骨髄球系腫瘍の発症の予防法の開発につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kato Y, Hou LB, Miyagi S, Nitta E, Aoyama K, Shinoda D, Yamazaki S, Kuribayashi W, Isshiki Y, Koide S, Si S, Saraya A, Matsuzaki Y, van Lohuizen M, Iwama A.	4. 巻 79
2. 論文標題 Bmi1 restricts the adipogenic differentiation of bone marrow stromal cells to maintain the integrity of the hematopoietic stem cell niche.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Experimental Hematology	6. 最初と最後の頁 24-37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.exphem.2019.07.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 8件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Li-Bo Hou, Sha Si, Motohiko Oshima, Yuko Kato, Erico Nitta, Yaeko Nakajima, Satoshi Yamazaki, Atsushi Iwama
2. 発表標題 The loss of Bmi1 promotes age-associated changes in bone marrow niche cells
3. 学会等名 第15回幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwama A
2. 発表標題 Polycomb repressive complex 1 in normal and malignant hematopoiesis.
3. 学会等名 The 5th International Cancer Epigenomics Symposium 2018（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩間厚志
2. 発表標題 ポリコム遺伝子変異マウスモデルによる造血異常と造血腫瘍発症
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwama A
2. 発表標題 Deregulated polycomb functions in the pathogenesis of myeloproliferative neoplasms
3. 学会等名 The 9th JSH International Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩間厚志
2. 発表標題 造血幹細胞の加齢変化を規定するエピゲノム特性
3. 学会等名 第65回日本実験動物学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Iwama A
2. 発表標題 Epigenetic alterations in aged hematopoietic stem cells and age-associated malignancies
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwama A
2. 発表標題 Epigenetic alterations in aged hematopoietic stem cells and age-associated malignancies
3. 学会等名 第62回日本放射線影響学会大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 岩間厚志
2. 発表標題 造血幹細胞の加齢変化を規定するエピゲノム特性
3. 学会等名 第42回日本基礎老化学会大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Iwama A
2. 発表標題 Epigenetic alterations in aged hematopoietic stem cells and age-associated malignancies,
3. 学会等名 第13回日本エピジェネティクス研究会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学医科学研究所幹細胞治療研究センター幹細胞分子医学分野 http://www.ims.u-tokyo.ac.jp/molmed/</p>
--

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	宮城 裕子 (Miyagi Yuko)		