

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17830

研究課題名(和文) 自然リンパ球による新規造血調節機構の探索

研究課題名(英文) Regulation of the hematopoietic system by the innate lymphoid cells

研究代表者

浅田 騰 (Asada, Noboru)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：70803055

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：自然リンパ球(以下ILC)は、各臓器において少数ながら、様々なサイトカイン等を駆使して臓器機能を制御している。本研究では、ILCの発生、分化の場所である骨髄でのILCを解析し、免疫や造血におけるILCの機能を検討した。骨髄中には、各種ILCのうち、ILC-2の前駆細胞であるILC-2Pが多く存在し、これらの細胞は放射線照射後にも残存し、造血幹細胞(すべての造血細胞の源となる細胞)の回復に先立って、一時的に増加することを見出した。これらの結果から、骨髄中のILC-2Pは、様々な造血ストレス(抗癌剤や放射線など)からの血液の回復期を何らかの機構で促進する作用を持つことが考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ILCと血液疾患との関わりといった視点で見ると、ILCは骨髄移植後の腸管を標的とした移植片対宿主病を和らげる作用を持つことや、血液悪性腫瘍である、急性骨髄性白血病や形質細胞性腫瘍の患者では、血液中あるいは骨髄中ILCに変化をみとめ、ILCが治療対象となる可能性が報告されている。しかしながら、ILCの造血制御全体における働き、とりわけ造血幹細胞やその機能を支える骨髄中の細胞との関連は明らかにされておらず、本研究結果は、自然免疫システムによる新たな造血幹細胞制御機構の解明や治療法の開発につながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Innate lymphoid cells (referred to as ILC) control organ functions by releasing various cytokines, although they are in small numbers in each organ. In this study, we analyzed the ILC in the bone marrow, which is the site of ILC development and differentiation, and examined the function of the ILC in the regulation of hematopoiesis. Among various ILCs, ILC-2P, which is a precursor cell of ILC-2, is abundant in the bone marrow, and these cells remain even after irradiation. We found a temporary increase prior to the recovery of the hematopoietic stem cells (cells that are the source of all hematopoietic cells) after the myelosuppression induced by irradiation. These results suggest that ILC-2P in bone marrow plays a role for promoting the recovery of hematopoiesis after hematopoietic stresses (anticancer agents, radiation, etc.) by some mechanism.

研究分野：造血幹細胞

キーワード：自然リンパ球 造血幹細胞

1. 研究開始当初の背景

全ての血液細胞の祖である造血幹細胞 (HSC; Hematopoietic stem cell) は、哺乳類成体では硬組織である骨に囲まれた骨髄にて、生涯に渡り造血を維持し、生物活動で生じる様々なニーズに応じて数的、質的に造血を制御する。この造血幹細胞の活動には特別な微小環境であるニッチが必要であり、ニッチを理解することが造血制御全体の理解に必須である。近年のニッチ研究により、これまでに、骨髄内の間葉系の細胞群、すなわち、血液細胞以外の系譜を持つ細胞群がニッチ細胞として同定されてきた。我々は、骨組織に埋もれた骨細胞が造血幹細胞制御に重要であることを明らかにし、新しいニッチプレーヤーとして報告した。また、多くのニッチ細胞が同定される中、ニッチ細胞間の機能的差異を見いだすことが重要となってきており、血管周囲に存在する異なる 2 種類のニッチ細胞の機能を詳細に検討し、それぞれのニッチ細胞の造血幹細胞制御における役割を明らかにした (Asada *et al.*, Nat Cell Biol 2017)。一方で、造血幹細胞制御機構やニッチ細胞間の連関には未だ謎が多い。これらは、様々な内的あるいは外的環境因子による刺激を受けて繊細に調節されているはずであり、未知の調節機構の存在が予想される。

造血幹細胞から分化した血球細胞である好中球やマクロファージが造血幹細胞制御に働くという事実 (J Exp Med 2011, Cell 2013) に着目し、生物が外敵から身を守るために非自己を即座に排除するシステムである自然免疫機構を担う細胞による造血制御の可能性の発想に至った。自然免疫細胞の中でも、ILC は、近年新たに同定されたリンパ球サブセットであり、これまでの研究により、様々な臓器において、数は少ないながらも強力にサイトカイン等を分泌し、免疫バランスをコントロールしていることがわかってきている。しかしながら、ILC 発生の際である骨髄で自らの祖先である造血幹細胞やその支持細胞であるニッチ細胞をコントロールし、造血システム全体を制御する可能性については未だ明らかにされておらず本研究での目標とした。

2. 研究の目的

これまでの知見より ILC は、) 各臓器において、その数は少数ながら様々なサイトカイン等を駆使して周辺細胞を制御する。) 成体では主に、皮膚、腸管、肺などに分布しているが、発生、分化の際は骨髄であり骨髄中にも存在する。) 腸管においては、腸管上皮幹細胞の制御に関与している。) 造血幹/前駆細胞を多く含む臍帯血中に末梢血や骨髄よりも多く存在する。以上のことから本研究では、 : ILC は造血幹細胞の分化や維持にどのような役割を果たすか、 : ILC が造血幹細胞制御に関与するのであれば、それは直接的な制御か、あるいはニッチを介した制御か、を明らかにすることを目的とする

3. 研究の方法

ILC の造血幹細胞制御における機能を検討するために、まず野生型マウスを用いて、定常状態での骨髄内 ILC の定量と位置解析を行い、各種ニッチ細胞との関連を検討する。さらに、造血幹細胞に多大な増殖ストレスがかかり、ニッチ細胞機能も大きく変化する特殊な状況である、骨髄抑制後の造血回復期における骨髄での ILC の定量とニッチ細胞との位置解析を経時的に行い、ILC と造血幹細胞、ニッチ細胞とのダイナミクスを明らかにする。

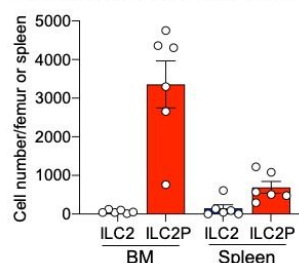
次に、ILC の造血幹細胞制御における役割を直接検討するため、ILC 欠損マウスモデルを用いて生体内での ILC の機能を解析する。まずは ILC 欠損マウスの骨髄造血幹細胞とニッチ細胞に起こる変化を、定常状態ならびに骨髄抑制後の造血回復期で解析する。さらに、ロックアウトマウスより分離した造血幹細胞とニッチ細胞の遺伝子発現パターン解析を行い、遺伝子発現の変化を捉え、分子機構解明の糸口を探る。本研究では、ILC のサブセットのうち、肺で上皮細胞の修復に関わることが知られている ILC2、さらに、骨髄内で ILC2 様の機能を持つことが報告されている (Brickshawana *et al.*, J Immunol 2011)、Lineage marker Sca-1^{c-kit}⁺CD25⁺CD127⁺ST2⁺ で定義される骨髄内 ILC2 (以下 ILC2P とする) の機能を検討する。

4. 研究成果

(1) 定常状態の骨髄中 ILC2 の定量

野生型マウスの骨髄中、脾臓中の ILC2 をフローサイトメトリーにて定量的に解析した。ILC2 は Lineage marker (CD4, CD5, CD8, CD11c, CD11b, CD19, NK1.1, Gr-1, TER119, Fc RI, B220)⁻Sca-1^{c-kit}⁺CD25⁺CD127⁺ST2⁺ で定義し、ILC2P は Lineage marker Sca-1^{c-kit}⁺CD25⁺CD127⁺ST2⁺ で定義した。定常状態の骨髄中には、ILC2: 60.59 ± 17.28/femur, ILC2P: 3356 ± 608.1/femur が、脾臓には ILC2: 146.2 ± 95.17/spleen, ILC2P: 691.5 ± 151.1/spleen が含まれ、中でも ILC2P は骨髄中に多く含まれることがわかった (図 1)。

図1: 定常状態骨髄、脾臓中 ILC2 定量



(2)造血ストレス後の骨髄、脾臓中 ILC2 と造血幹細胞解析

次に、骨髄中 ILC2 の造血制御における役割を検討するため、野生型マウスに全身放射線照射 (4Gy) による骨髄抑制後の造血回復期に、骨髄、脾臓における造血幹/前駆細胞 (HSC, LSK) HSC 機能を支える HSC ニッチ細胞 (stromal cell) ならびに ILC2 の定量を FACS 用いて経時的に解析した。骨髄、脾臓いずれにおいても造血幹/前駆細胞の回復に先立ち、放射線照射後 7~10 日から ILC2、ILC2P の一過性の増加がみられた。これらの結果から、ILC2、ILC2P は放射線照射による造血抑制からの造血回復期に、造血回復をサポートする何らかの役割を果たす可能性が考えられた。

図2:造血回復期における骨髄中HSC, ILC2

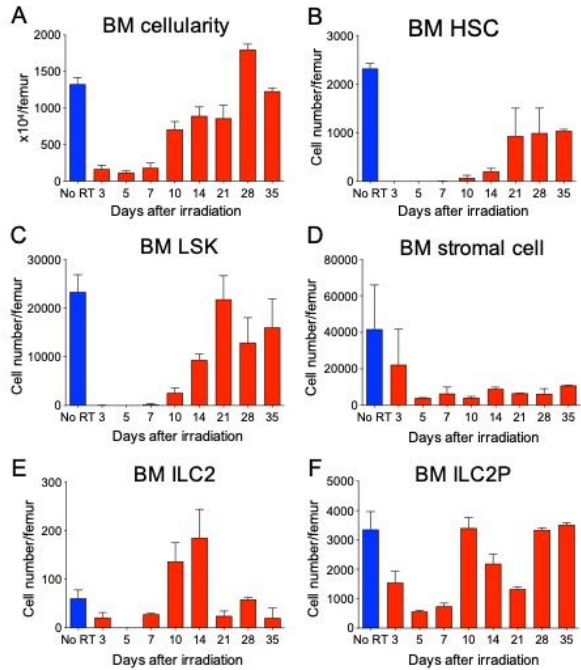
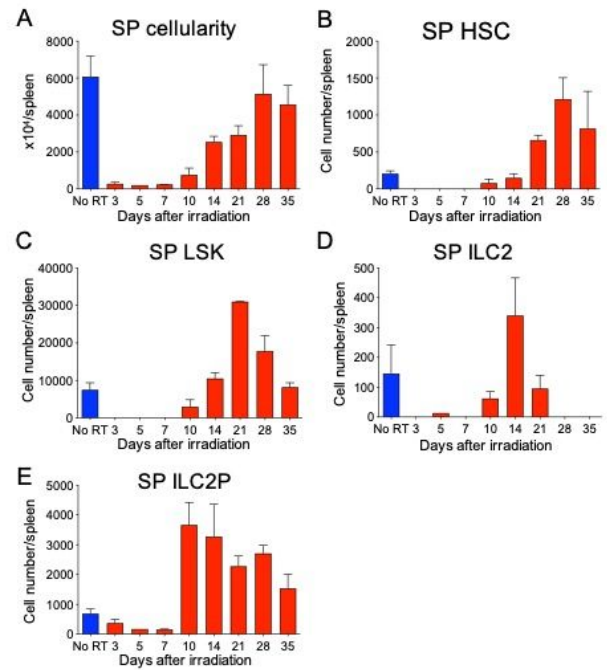


図3:造血回復期における脾臓中HSC, ILC2



全身放射線照射4Gy, n=2-6, HSC:hematopoietic stem cell, LSK: lineage⁻sca-1⁺c-kit⁺, stromal cell: CD45⁻TER119⁻CD31⁻CD51⁺CD140a⁺

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------