

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08416

研究課題名（和文）クロマチンリモデリングから解き明かす造血幹細胞のエピジェネティクス制御

研究課題名（英文）Elucidating the Epigenetic Regulation of Hematopoietic Stem Cells through Chromatin Remodeling

研究代表者

仁田 英里子 (Nitta, Eriko)

神戸大学・医学研究科・学内講師

研究者番号：80401123

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）：本研究により、BRMは造血幹細胞において分化する前から免疫細胞、特にマクロファージ・樹状細胞・好中球など骨髄球系の細胞の活性化や機能に関わる遺伝子群のクロマチンを開いて、転写制御が可能な状態を作成して備えており、感染が生じた際には速やかにそれらの遺伝子が発現することで造血幹細胞が免疫細胞へと分化、さらには活性化させて免疫応答を誘導することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではクロマチンリモデリング因子が制御する造血幹細胞の維持のみならず、老化による機能低下の機構にも迫り、老化や造血腫瘍の予防につながる可能性を示した。研究の進捗により、造血幹細胞が分化する前から感染時の遺伝子発現に備えており、速やかな免疫応答を誘導する可能性を示唆した。今後この研究の発展により、免疫応答を制御する治療戦略の開発が期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study revealed that BRM prepares hematopoietic stem cells by opening the chromatin of genes involved in the activation and function of immune cells, particularly macrophages, dendritic cells, and neutrophils, even before differentiation. When an infection occurs, these genes are quickly expressed, enabling the hematopoietic stem cells to differentiate into immune cells and subsequently activate them to induce an immune response.

研究分野：造血幹細胞

キーワード：造血幹細胞 老化 クロマチンリモデリング 免疫応答 骨髄微小環境 BRM 樹状細胞 エピジェネティクス

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞は生涯に渡って全ての血液細胞を産出し、造血組織の恒常性を維持する源となる細胞である。幹細胞に生じる異常は組織の恒常性を破綻させ老化や白血病など造血腫瘍の発生に繋がる。その幹細胞維持に重要で老化や腫瘍の発症にも密接に関わる重要な機構のひとつがエピジェネティクスであり、その上流で制御すると考えられているのが、染色体やその本体であるクロマチンの動態である。DNAメチル化やヒストン修飾などのエピジェネティクス制御にはそれらを司るタンパク質複合体による標的遺伝子へのアクセスが必要であり、DNAの立体構造を高次に制御するクロマチンの動態が重要である。

研究アプローチが困難でありその本質の解明を拒まれてきたクロマチン動態の解明に風穴を開けたのが、近年の次世代シーケンス技術の発展、顕微鏡や画像技術の進歩および構造研究の革新的進化など、様々な分野における研究手段の成熟である。次世代シーケンスの工夫からクロマチンが形成するDNAの高次構造を予測するHi-Cなどの手法が開発された。また超解像顕微鏡の開発による蛍光顕微鏡の分解能の進歩や、クライオ電子顕微鏡の革命的進化に象徴される構造研究の飛躍的発展により、クロマチンの最小基本単位ヌクレオソームの原子レベルでの可視化や、細胞内の生理的な状態でのクロマチンの観察が実現している。このように様々な分野での技術革新が合わさって、遺伝子発現制御の理解を深めるため不可避であったクロマチン動態へのアプローチを可能とした。我々はそれを踏まえ、造血幹細胞におけるエピジェネティクス制御をさらに高次的に、クロマチン動態も含めたレベルで理解し、より生物学的機構に密着したメカニズムで精度の高い治療戦略などに繋げることを目指す。

2. 研究の目的

本研究提案では、クロマチンを制御する要素の中でも直接的にヒストン修飾の制御に繋がるクロマチンリモデリング機構が造血幹細胞を維持する機構を明らかにする。クロマチンリモデリング複合体はオープンなクロマチン構造を作出し、ヒストン修飾などを制御する分子と協調して遺伝子発現を制御する。ヌクレオソームに大きな変化を及ぼすためにATPの加水分解エネルギーを利用するため、ATPase活性を持つBRG1またはその相同分子BRMのどちらかを1分子擁し、複数のサブユニットから成る巨大複合体である。

Buscarletらは白血病幹細胞の維持におけるクロマチンリモデリング因子の重要性を示している(*Buscarlet et al. Blood 2014*)。白血病幹細胞を維持するクロマチンリモデリング因子にはBRG1が必須なのに対して、正常造血幹細胞ではBRMが高発現しており、正常造血幹細胞と白血病幹細胞ではクロマチンリモデリング因子により異なる機構で制御される可能性が示唆された。本研究計画はこのことに注目し、クロマチンリモデリング因子による正常造血幹細胞の制御機構を解明する。近年盛んなクロマチンリモデリング因子の研究のほとんどがBRG1を対象にしたものであり、本研究ではBRMにより制御される造血幹細胞を解析することで、クロマチンリモデリング因子がBRG1とBRMふたつのATPaseをどの様に使い分け、異なる細胞の遺伝子発現を制御しているのか紐解くことにもなる。さらには正常造血幹細胞と白血病幹細胞の維持機構の相違を解明し、新しい白血病治療戦略の開発にも繋がる。

3. 研究の方法

A. マウス造血幹細胞におけるBRMの機能解析

- (1) 正常マウス造血細胞におけるBRMの発現解析
- (2) BRMノックアウトマウスをドナーとする骨髄移植による造血幹細胞機能解析
- (3) 次世代シーケンスを用いた遺伝子発現解析 (RNAシーケンス)
- (4) 次世代シーケンスを用いたBRM標的遺伝子の機能解析 (ATACシーケンス)

B. 免疫応答時のマウス造血細胞におけるBRMの役割

- (1) 疑似感染を施したBRMノックアウトマウスにおける免疫細胞の解析
- (2) 次世代シーケンスを用いた遺伝子発現解析 (RNAシーケンス)
- (3) 次世代シーケンスを用いたBRM標的遺伝子の機能解析 (ATACシーケンス)

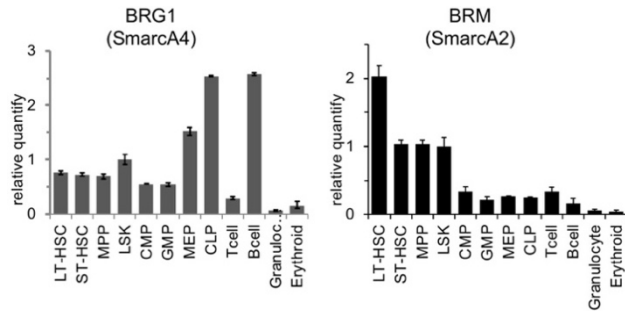
4. 研究成果

A. マウス造血幹細胞における BRM の機能解析

(1) 正常マウス造血細胞における BRM の発現解析

様々な造血分画における BRM の発現を調べると、BRM は未分化な造血幹細胞分画に特異的に発現しており、分化と共に発現が減少していた (図)。

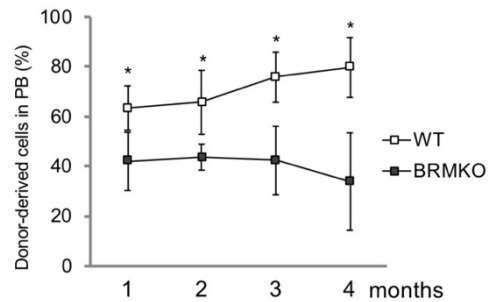
一方でそのホモログである BRG1 は B 細胞など一部の分化した血球で高発現が見られ、造血幹細胞では BRM が重要な役割を持っていることが示唆された。



(2) BRM ノックアウトマウスをドナーとする骨髄移植による造血幹細胞機能解析

BRM ノックアウトマウスの造血幹細胞をドナーとした骨髄移植の解析から、BRM が正常造血幹細胞の長期再構築能に必要であることを示した (図)。

若齢マウスから分取した造血幹細胞をドナーとした場合、一次移植では BRM ノックアウト造血幹細胞でもコントロールと比べて差が見られなかったが、老齢マウスの造血幹細胞を用いた場合には一次移植から再構築能の低下が認められ、BRM ノックアウトマウスでは加齢に伴う造血幹細胞の機能低下が顕著であった。



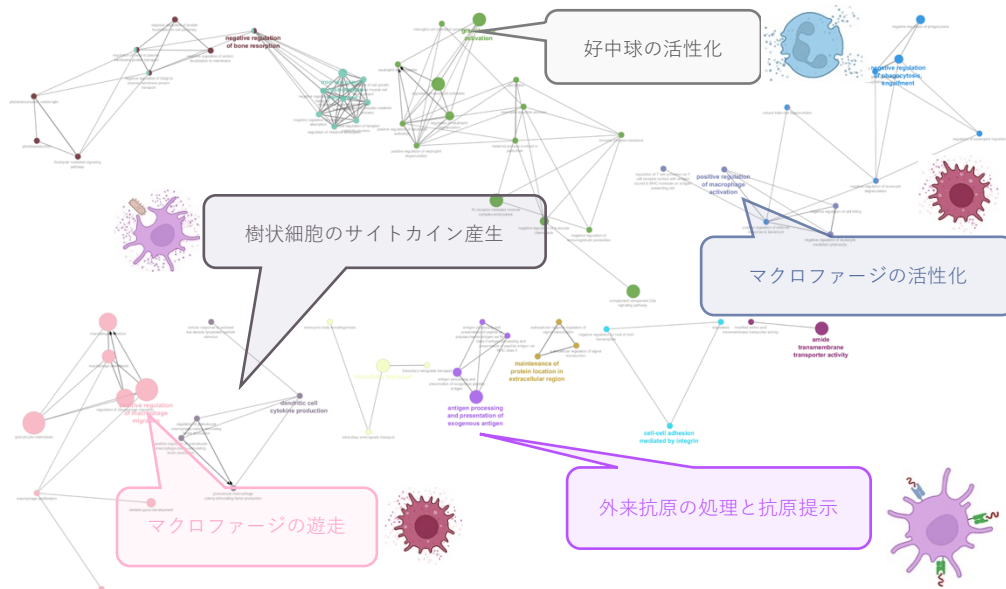
これらのことから、BRM は造血幹細胞の老化に伴う機能維持に貢献していると考えられる。

(3) 次世代シーケンスを用いた遺伝子発現解析 (RNA シーケンス)

(4) 次世代シーケンスを用いた BRM 標的遺伝子の機能解析 (ATAC シーケンス)

BRM ノックアウト造血幹細胞をドナーとした骨髄移植後の造血幹前駆細胞を分取して RNA シーケンスにより遺伝子発現を解析したところ、免疫応答に関わる多くの遺伝子が BRM により制御を受けていることが示唆された。

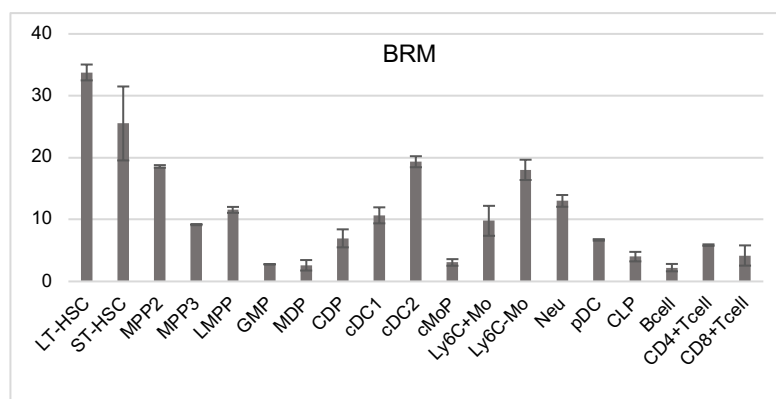
さらにこの時に BRM が直接制御している標的遺伝子を調べるため、造血幹前駆細胞において ATAC シーケンスを行い、BRM によるクロマチン制御を解析した。興味深いことに、BRM は分化する前の前駆細胞で既に樹状細胞・マクロファージ・好中球など骨髄球系の細胞の活性化や機能に関わる遺伝子群のクロマチンを開いていることが明らかになった。このことは造血幹前駆細胞において BRM が、分化前の早期から感染時の遺伝子発現に備えており、速やかに免疫応答を誘導することを示唆している (図)。



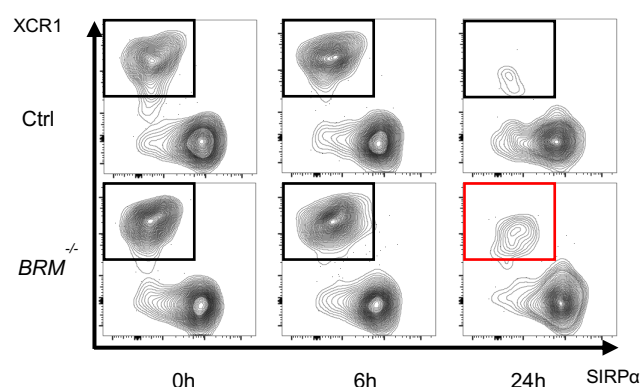
B. 免疫応答時のマウス造血細胞における BRM の役割

(1) 疑似感染を施した BRM ノックアウトマウスにおける免疫細胞の解析

各種造血細胞の RNA シーケンス公開データを再解析し、免疫細胞における BRM の発現を調べたところ、樹状細胞やマクロファージ、好中球で発現が増加していることがわかり、これらの細胞における機能に BRM が重要であることが考えられた (図)。



そこでマウスに疑似感染を施し、免疫細胞を解析した。感染に応答して起こる樹状細胞の活性化が BRM ノックアウトマウスでは弱く、BRM は樹状細胞の活性化に重要であることが明らかになった (図)。



(2) 次世代シーケンスを用いた遺伝子発現解析 (RNA シーケンス)

(3) 次世代シーケンスを用いた BRM 標的遺伝子の機能解析 (ATAC シーケンス)

BRM が感染に反応して免疫細胞の分化・活性化を誘導する分子機構について調べるため、疑似感染前後の樹状細胞を分取して RNA シーケンスおよび ATAC シーケンスを行い、詳細な解析を行っている。

本研究により、BRM は造血幹細胞において分化する前から免疫細胞、特にマクロファージ・樹状細胞・好中球など骨髄球系の細胞の活性化や機能に関わる遺伝子群のクロマチンを開いて、転写制御が可能な状態を作成して備えており、感染が生じた際には速やかにそれらの遺伝子が発現することで造血幹細胞が免疫細胞へと分化、さらには活性化させて免疫応答を誘導することが明らかになった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hiromichi Okuma, Yumiko Saijo-Hamano, Aalaa Alrahman Sherif, Emi Hashizaki, Naoki Sakai, Takaaki Kato, Tsuyoshi Imasaki, Eriko Nitta, Miwa Sasai, Yoshimasa Maniwa, Hidetaka Kosako, Daron M Standley, Masahiro Yamamoto, Ryo Nitta	4. 巻 29
2. 論文標題 Structural basis of Irgb6 inactivation by Toxoplasma gondii through the phosphorylation of switch I	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Genes to cells	6. 最初と最後の頁 17-38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/gtc.13080	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Satomi Komori, Yasuyuki Saito, Taichi Nishimura, Datu Respatika, Hiromi Endoh, Hiroki Yoshida, Risa Sugihara, Rie Iida-Norita, Tania Afroj, Tomoko Takai, Okechi S. Oduori, Eriko Nitta, Takenori Kotani, Yoji Murata, Yoriaki Kaneko, Ryo Nitta, Hiroshi Ohnishi, and Takashi Matozaki	4. 巻 120
2. 論文標題 CD47 promotes peripheral T cell survival by preventing dendritic cell-mediated T cell necroptosis.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PNAS	6. 最初と最後の頁 e2304943120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2304943120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Seiji Nishikage, Akira Fujisawa, Hiromi Endoh, Hirotaka Sakamoto, Tomohide Suzuki, Maki Kanzawa, Shinichi Ishii, Mitumasa Okano, Eriko Nitta, Kimikazu Yakushijin, Hidesaku Asakura, Kandai Nozu, Ryo Nitta, Yoshio Katayama, Kazuhiko Sakaguchi	4. 巻 129
2. 論文標題 Amyloid deposition through endocytosis in vascular endothelial cells.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Exp. Hematol	6. 最初と最後の頁 104129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.exphem.2023.11.003, 2023	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 宮地洋希, 仁田英里子	4. 巻 67
2. 論文標題 エピジェネティクス機構による造血幹細胞の老化制御メカニズム	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 42-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tsuyoshi Imasaki, Satoshi Kikkawa, Shinsuke Niwa, Yumiko Saijo-Hamano, Hideki Shigematsu, Kazuhiro Aoyama, Kaoru Mitsuoka, Takahiro Shimizu, Mari Aoki, Ayako Sakamoto, Yuri Tomabechi, Naoki Sakai, Mikako Shirouzu, Shinya Taguchi, Yosuke Yamagishi, Tomiyoshi Setsu, Yoshiaki Sakihama, Eriko Nitta, Masatoshi Takeichi, Ryo Nitta	4. 巻 11
2. 論文標題 CAMSAP2 organizes a γ -tubulin-independent microtubule nucleation centre through phase separation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e77365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.77365	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shinya Taguchi, Juri Nakano, Tsuyoshi Imasaki, Tomoki Kita, Yumiko Saijo-Hamano, Naoki Sakai, Hideki Shigematsu, Hiromichi Okuma, Takahiro Shimizu, Eriko Nitta, Satoshi Kikkawa, Satoshi Mizobuchi, Shinsuke Niwa, Ryo Nitta	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural model of microtubule dynamics inhibition by kinesin-4 from the crystal structure of KLP-12 γ -tubulin complex	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Elife	6. 最初と最後の頁 e77877
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.77877	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計17件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 西川大生、鈴木暖佳、宮地洋希、椎名達郎、川端野乃子、今崎剛、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 Chromatin remodeling factors BRM and BRG1 regulate the rapid immune response in hematopoietic cells.
3. 学会等名 第20回 幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 暖佳、宮地 洋希、西川 大生、久野 舟平、椎名 達郎、吉川 遼、川端 野乃子、今崎 剛、吉川 知志、仁田 亮、仁田 英里子
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM maintains hematopoietic stem cells via the bone marrow microenvironment niche.
3. 学会等名 第20回 幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西川大生, 松坂光樹, 鈴木暖佳, 宮地洋希, 椎名達郎, 川端野乃子, 今崎剛, 林哲太郎, 芳村美佳, 梅本晃正, 田村智彦, 西山晃, 仁田亮, 仁田英里子
2. 発表標題 Chromatin remodeling factors BRM and BRG1 regulate the rapid immune response in hematopoietic cells.
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 暖佳, 宮地 洋希, 西川 大生, 久野 舟平, 椎名 達郎, 吉川 遼, 川端 野乃子, 今崎 剛, 吉川 知志, 仁田 亮, 仁田 英里子
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM regulates hematopoietic stem cell senescence through the bone marrow microenvironment.
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 西川大生、鈴木暖佳、宮地洋希、椎名達郎、川端野乃子、今崎剛、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子BRM/BRG1は素早い免疫応答を制御する
3. 学会等名 第129回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木暖佳, 宮地洋希, 西川大生, 久野 舟平, 椎名達郎, 吉川 遼, 吉川知志, 今崎剛, 仁田亮, 仁田英里子
2. 発表標題 骨髓微小環境ニッチによる造血幹細胞の老化制御戦略
3. 学会等名 第129回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Eriko Nitta
2. 発表標題 Regulation of hematopoietic system homeostasis by chromatin remodeling factors.
3. 学会等名 Hemato-Retreat 2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Eriko Nitta, Hiroki Nishikawa, Hiroki Miyachi, Takuro Shiina, Nonoko Kawabata, Tsuyoshi Imasaki, Naoki Itokawa, Shuhei Koide, Masayuki Yamashita, Motohiko Oshima, Toshio Suda, Atsushi Iwama, Ryo Nitta
2. 発表標題 Regulation of hematopoietic system homeostasis by chromatin remodeling factors.
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 暖佳, 宮地 洋希, 西川 大生, 椎名 達郎, 川端 野乃子, 吉川 遼, 崎浜 吉昭, 薛 富義, 吉川 知志, 今崎 剛, 仁田 亮, 仁田 英里子
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM maintains hematopoietic stem cells via the bone marrow microenvironment niche.
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 西川大生、鈴木暖佳、宮地洋希、椎名達郎、川端野乃子、今崎剛、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子BRM/BRG1は素早い免疫応答を制御する
3. 学会等名 第128回日本解剖学会総会・全国学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Hiroki Miyachi, Hiroki Kiriyama, Nonoko Kawabata, Naoki Itokawa, Motohiko Oshima, Tsuyoshi Imasaki, Toshio Suda, Atsushi Iwama, Ryo Nitta, Eiko Nitta
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM maintains the hematopoietic stem cell via regulation of immune response.
3. 学会等名 第18回幹細胞シンポジウム・若手つくしの会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eiko Nitta, Hiroki Kiriyama, Hiroki Miyachi, Nonoko Kawabata, Tsuyoshi Imasaki, Naoki Itokawa, Shuhei Koide, Masayuki Yamashita, Motohiko Oshima, Toshio Suda, Atsushi Iwama, Ryo Nitta
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM maintains the hematopoietic stem cell via regulation of immune response.
3. 学会等名 第18回幹細胞シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Eiko Nitta
2. 発表標題 Chromatin remodeling factor BRM maintains the hematopoietic stem cell via regulation of their microenvironment.
3. 学会等名 The 5th UW-KU International Joint Symposium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroki Miyachi, Hiroki Kiriyama, Naoki Itokawa, Motohiko Oshima, Toshio Suda, Atsushi Iwama, Ryo Nitta, Eiko Nitta
2. 発表標題 The chromatin remodeling factor BRM maintains the hematopoietic stem cells into a quiescent state through epigenetic mechanisms.
3. 学会等名 第83回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 宮地洋希、西川大生、椎名達郎、桐山大輝、川端野乃子、糸川直樹、小出周平、山下真幸、大島基彦、今崎剛、須田年生、岩間厚志、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子BRMは骨髄微小環境ニッチを介して造血幹細胞の幹細胞性を維持する
3. 学会等名 第127回日本解剖学会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西川大生、宮地洋希、椎名達郎、桐山大輝、川端野乃子、今崎剛、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 造血細胞におけるクロマチンリモデリング因子BRMとBRG1による免疫応答遺伝子の制御機構
3. 学会等名 第127回日本解剖学会・学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 椎名達郎、吉川遼、西川大生、宮地洋希、桐山大輝、川端野乃子、今崎剛、仁田亮、仁田英里子
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子BRMは間葉系幹細胞を介して骨代謝を制御する
3. 学会等名 第127回日本解剖学会・学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学大学院医学研究科 生体構造解剖学分野
<http://structure.med.kobe-u.ac.jp>

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