

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22390096

研究課題名（和文） 免疫系の形成・造血のニッチによる時間空間的制御機構の解明

研究課題名（英文） The regulation of lympho-hematopoiesis by bone marrow niches

研究代表者

長澤 丘司 (Nagasawa Takashi)

京都大学・再生医科学研究所・教授

研究者番号：80281690

研究成果の概要（和文）：

CAR 細胞の造血ニッチとしての生体での機能を明らかにするために、DT 受容体遺伝子を用いた特異的細胞欠損誘導システムにより CAR 細胞の欠損を誘導できるマウスを作製した。CAR 細胞欠損マウスでは、増殖している造血幹細胞、B 細胞前駆細胞、赤血球前駆細胞の細胞数、CXCL12 と SCF の蛋白量が著明に減少していた。一方、骨髓球への分化を誘導する転写因子の発現量が造血幹細胞で著明に増加していた。以上より、CAR 細胞は、造血幹細胞の増殖と未分化性の維持、造血前駆細胞の増殖に必須のニッチとして働くこと、造血に必須のサイトカインである CXCL12 と SCF の骨髓での主たる産生細胞であることが明らかになり、造血を支持する骨髓のニッチ細胞についての理解が大きく進んだ。

研究成果の概要（英文）：

We generated mice that allowed selective ablation of CAR cells within bone marrow and determined the in vivo function of CAR cells as a niche for hematopoietic stem cells (HSCs) and lympho-hematopoietic progenitors. Short-term ablation of CXC chemokine ligand (CXCL)12-abundant reticular (CAR) cells in vivo severely impaired the production of SCF and CXCL12, and led to a marked reduction in cycling lymphoid and erythroid progenitors. HSCs from CAR cell-depleted mice were reduced in number and cell size, were more quiescent and had increased expression of early myeloid selector genes. Thus, CAR cells are the major producer of CXCL12 and SCF and are required for proliferation of HSCs and lymphoid and erythroid progenitors as well as maintenance of HSCs in an undifferentiated state.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2012 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
年度			
年度			
総計	14,200,000	4,260,000	18,460,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：サイトカイン・造血幹細胞

1. 研究開始当初の背景

成体の骨髄では、免疫担当細胞を含むすべての血液細胞が造血幹細胞より時間空間的に精緻に制御され適切な数、産生されている。骨髄には、造血幹細胞や造血の制御に中心的な役割を担うニッチ (niche) と呼ばれる特別な微小環境の存在が想定されてきたが、その実体や機能は長年明らかではなかった。米国の研究者らにより、骨を形成する骨芽細胞や血管内皮細胞が候補として報告されたが、証明はされていなかった。研究代表者らは、ケモカイン CXCL12 とその受容体 CXCR4 に焦点をあてた研究を推進し、CXCL12- CXCR4 シグナルが造血幹細胞の骨髄へのホーミング (移動・定着) と維持、B 細胞や形質細胞様樹状細胞や NK 細胞の産生に必須であることを明らかにした。更に、この発見を基盤として、CXCL12 遺伝子座に蛍光タンパク質 GFP 遺伝子を挿入したマウスを作製・解析することにより、骨髄で CXCL12 を高発現する突起を持った細胞 (CAR 細胞) を発見し、CAR 細胞が造血幹細胞・B 細胞前駆細胞・形質細胞・形質細胞様樹状細胞のニッチを形成することを示唆した。

2. 研究の目的

本研究では、CAR 細胞に注目し、ニッチによる造血幹細胞・免疫担当細胞形成の時間空間的制御における役割と作用機構を明らかにすることを目標とした。

3. 研究の方法

CAR 細胞の造血ニッチとしての生体での機能を明らかにするため、ジフテリア毒素 (DT) により細胞死が誘導される DT 受容体 (DTR) 遺伝子を用いた特異的細胞欠損誘導法により、CAR 細胞特異的な細胞欠損を誘導できるマウスの表現型を解析した。具体的には、DTR 遺伝子を CXCL12 遺伝子座に挿入したマウスを作製・解析した。

4. 研究成果

新たに作製した変異マウスでは、DT 投与により CAR 細胞は著減するが他のニッチ候補細胞である骨芽細胞や血管内皮細胞は投与前と同様に存在することが確認された。この CAR 細胞欠損マウスでは、造血幹細胞の細胞数は軽度に減少し、増殖している造血幹細胞と B 細胞前駆細胞、赤血球前駆細胞の細胞数、骨髄での CXCL12、SCF の蛋白量が著明に低下していた。また、骨髄球への分化を誘導する転写因子の発現量が造血幹細胞分画で著明に増加していた。以上より、CAR 細胞は、造血幹細胞の増殖と未分化性の維持、造血前駆細胞の増殖に必須のニッチとして働くこと、造血に必須であるサイトカイン CXCL12 と SCF の骨髄での主たる産生細胞であることが明らかになり、造血を支持する骨髄のニッチ細胞についての理解が大きく進んだ。その後、CAR 細胞の機能を解析することができる CAR 細胞特異的遺伝子欠損誘導システムを樹立した。また、米国の研究者によりレプチン受容体遺伝子が CAR 細胞特異的に発現することが報告されたが、CAR 細胞の中にレプチン受容体の発現が低い亜分画が存在することを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

*: 責任著者

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① Greenbaum, A., Hsu, Y.M., Day, R.B., Schuettpe, L.G., Christopher, M.J., Borgerding, J.N., Nagasawa, T., *Link, D.C. CXCL12 in early mesenchymal progenitors is required for haematopoietic stem-cell maintenance.

Nature 495(7440):227-230, 2013

査読有

DOI: 10.1038/nature11926

- ② Li, W., Kohara, H., Uchida, Y., James, J.M., Soneji, K., Cronshaw, D.G., Zou, Y.R., Nagasawa, T., *Mukouyama, Y.S. Peripheral Nerve-Derived CXCL12 and VEGF-A Regulate the Patterning of Arterial Vessel Branching in Developing Limb Skin.

Dev. Cell 24(4): 359-371, 2013
査読有
DOI: 10.1016/j.devcel.2013.01.009

- ③ *Kanatsu-Shinohara, M., Inoue, K., Takashima, S., Takehashi, M., Ogonuki, N., Morimoto, H., Nagasawa, T., Ogura, A., Shinohara, T.
Reconstitution of mouse spermatogonial stem cell niches in culture.
Cell Stem Cell 11: 567-578, 2012
査読有
DOI: 10.1016/j.stem.2012.06.011

- ④ Nishiyama, C., Uesaka, T., Manabe, T., Yonekura, Y., Nagasawa, T., Newgreen, D.F., Young, H.M., *Enomoto, H.
Trans-mesenteric neural crest cells are the principal source of the colonic enteric nervous system.
Nat. Neurosci. 15(9): 1211-1218, 2012
査読有
DOI: 10.1038/nn.3184

- ⑤ *Nagasawa, T., Omatsu, Y., Sugiyama, T.
Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells.
Trends Immunol. 32(7): 315-320, 2011
Review.
査読有
DOI: 10.1016/j.it.2011.03.009

- ⑥ Sugiyama, T., *Nagasawa, T.
Emergency evacuation! Hematopoietic niches induce cell exit in infection.
Immunity 34(4): 463-465, 2011
査読無
DOI: 10.1016/j.immuni.2011.04.009

- ⑦ Noda, M., Omatsu, Y., Sugiyama, T., Oishi, S., Fujii, N., and *Nagasawa, T.
CXCL12-CXCR4 chemokine signaling is essential for NK cell development in adult mice.
Blood 117: 451-458, 2010
査読有
DOI: 10.1182/blood-2010-04-277897

- ⑧ Omatsu, Y., Sugiyama, T., Kohara, H., Kondoh, G., Fujii, N., Kohno, K., *Nagasawa, T.
The Essential Functions of Adipo-osteogenic Progenitors as the Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Niche.

Immunity 33(3): 387-399, 2010
査読有
DOI: 10.1016/j.immuni.2010.08.017

- [学会発表] (計 12 件)
- ① T. Nagasawa
第 41 回日本免疫学会学術集会 シンポジウム
Lymphocyte development “The adipo-osteogenic progenitors with long processes function as niches for hematopoietic stem and progenitor cells”
(2012. 12. 5 神戸)
- ② T. Nagasawa
The 9th Nikko International Symposium 2012, Understanding complex network systems in disease biology.
“Adipo-osteogenic progenitors function as niches for hematopoietic stem and progenitor cells in the marrow”
(2012.10.12 Tochigi)
- ③ T. Nagasawa
The 21st Hot Spring Harbor Symposium jointly with 9th Global COE international Symposium; Cell Migration in Biology and Medicine, “Bone marrow niches controlling behavior of hematopoietic stem and progenitor cells”
(2012.1.22-23 Fukuoka)
- ④ T. Nagasawa
The 23th Korean Society of Bone Metabolism Autumn Scientific Congress, Satellite Symposium: Bone and Hematopoietic System. “Adipo-osteogenic progenitors constitute reticular niches for hematopoietic stem and progenitor cells”
(2011.11. 19 Seoul, Korea)
- ⑤ T. Nagasawa
40th Annual Scientific Meeting of the ISEH-Society for Hematology and Stem Cells, Break out session: Microenvironment. “CXCL12 and reticular niches for hematopoietic stem and progenitor cells”
(2011.8.25-28 Vancouver, Canada)
- ⑥ T. Nagasawa
14th International Congress of Immunology
“The chemokine CXCL12 and niches for hematopoietic stem cells and immune cells.”
(2010.8.22-27 Kobe)

- ⑦ T. Nagasawa
The 3rd International Conference on
Osteoimmunology: Interactions of the
Immune and Skeletal Systems.
“The chemokine CXCL12 and bone marrow
niches for HSCs and immune cells.”
(2010. 6. 20-25 Fira, Greece)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

長澤 丘司 (Nagasawa Takashi)
京都大学・再生医科学研究所・教授
研究者番号：80281690