

令和 7 年 4 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K19396

研究課題名（和文）胚固有の低酸素微小環境が誘導する初期赤血球造血と個体発生の新機軸

研究課題名（英文）Essential roles of embryo-specific hypoxic microenvironments for organizing primitive erythropoiesis and morphogenesis

研究代表者

鈴木 教郎（Suzuki, Norio）

東北大学・未来科学技術共同研究センター・教授

研究者番号：20447254

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）：動物細胞に酸素は必要であり、酸素不足はストレスとなる。血液循環系が未発達の胎生期は酸素供給効率が低く、低酸素状態に陥る。本研究では、胎生期固有の低酸素状態が、個体発用に利用されることをマウスの解析から示した。また、ラットとヒトの細胞でも低酸素状態が未分化性維持と造血因子産生などに利用されることを発見した。以上の成果から、低酸素状態をストレスではなく、積極的に利用する生体調節系が存在すると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低酸素状態が個体発用を調節するシグナルとして機能することを示し、形成体（organizer）による形態形成誘導という発生学の古典的な概念に新展開をもたらした。また、低酸素状態をストレスとして捉えてきた従来の考えに対して逆説的な生命現象を提唱した。今後、胎児期の酸素環境に対する理解が進むことにより、母体の生活環境が胎児に及ぼす影響も明らかになると期待される。

研究成果の概要（英文）：Since oxygen molecules (O₂) are essential for animal cells, a lack of O₂ (hypoxia) induces serious stress. Until the circulatory system is established in developing embryos, the efficiency of O₂ supply is low, leading to hypoxic microenvironments within the embryos. This study, using mice, demonstrated that these embryo-specific hypoxic microenvironments are utilized as cellular signals during development. Additionally, we discovered that hypoxic conditions are also employed to maintain undifferentiated states and to produce growth factors in rat and human neural cells. These findings suggest that certain cells actively utilize hypoxic conditions as cellular signals rather than perceiving them as stress.

研究分野：細胞生物学

キーワード：酸素 個体発用 遺伝子改変マウス 赤血球造血

1. 研究開始当初の背景

動物細胞にとって、酸素の欠乏は重篤なストレスとなる。そのため、各細胞は低酸素センサー分子 PHD (prolyl hydroxylase domain containing proteins) と低酸素誘導性転写因子 HIF (hypoxia inducible factors) で構成される低酸素ストレス防御機構を備えている。

これまでに、酸素運搬を担う赤血球の産生量が貧血などによる個体への低酸素ストレスに応答して増大する機構について、遺伝子改変マウスを用いた解析を進めてきた。その結果、赤血球造血因子エリスロポエチン (EPO) が、腎臓の線維芽細胞 (renal EPO producing cell : REP 細胞) において、PHD2-HIF2 α 経路によって低酸素誘導性に産生されることを明らかにした (Souma et al., *J Am Soc Nephrol* 2016)。また、マウス胚では神経堤・神経上皮細胞の一部の細胞 (neural EPO producing : NEP 細胞) が一過性に EPO を産生し、循環系の始動とともに卵黄嚢での初期赤血球造血を誘導することを発見した (Suzuki et al., *Nat Commun* 2013)。さらに、NEP 細胞の EPO 産生制御にも PHD-HIF 経路が関与することを示す知見を得た。

循環系成立前の胚では、赤血球を介さずに、周辺の溶存酸素の拡散によって非効率的に酸素が供給される。そのうえ、胚は細胞の増殖・分化・移動が活発であるため、酸素消費量が多く、胚内は重篤な低酸素状態に陥っている。そこで、胚発生の過程で必然的に生じる低酸素微小環境を利用して、EPO 産生および胎生期造血が誘導されると考えるに至った。また、EPO 産生以外にも、血管新生、代謝変換、細胞移動などにおいて、胚内低酸素環境が個体発生シグナルとして必須の役割を担っていると考えた。実際に、ラットの子宮外全胚培養系から循環系成立前の正常な胚発生には、低酸素下での全胚培養が必須であり、高酸素環境や HIF 欠損マウスでは、神経管の閉鎖不全などの形態形成異常を引き起こすことが知られている。一方、循環系成立後の全胚培養では、高酸素(酸素 80%)での培養が必須であることから、発生段階に固有の低酸素環境が個体発生誘導に必要であることが示唆されていた。

2. 研究の目的

本研究では、胚発生過程で必然的に生じる低酸素環境が、ストレスではなく、個体発生を誘導するシグナルとして機能する局面があることを実証することを目的とした。

臓器や胚の複雑な構造は、個体発生過程で出現する形成体 (organizer) から分泌されるアクチビンやレチノイン酸などの様々な誘導物質の濃度勾配によって規定されることが知られている。本研究では、胚発生過程で形成される低酸素組織が形成体と同様に個体発生を誘導することを実証し、その分子機構に迫ることから、発生学の分野に新機軸を加える。また、低酸素がストレスではなく、個体発生の誘導要因であるという逆説的な新概念の提唱に挑む。

3. 研究の方法

(A) 胚内低酸素環境の検出

循環系成立前後の胚における低酸素環境を実証するために、低酸素組織 (領域) の検出に汎用されるプローブ (pimonidazole) を妊娠マウス (妊娠 7~9 日目) に投与し、胚発生過程における低酸素微小環境を検出した (Souma et al., *J Am Soc Nephrol* 2016; Sekine et

al, *Nat Metab* 2024)。また、HIF は低酸素細胞の核に蓄積するので、HIF1 α および HIF2 α の免疫染色を行った (Suzuki et al, *Kidney Int* 2018)。

(B) NEP 細胞の EPO 産生における PHD-HIF 経路の役割

NEP 細胞は、マウス胎生 8~11 日に一過性に EPO を産生する未分化な神経堤細胞および神経上皮細胞である。そのため、EPO 産生を終えた NEP 細胞 (NEP 細胞由来細胞) は、主に神経系細胞に分化しながら、脳などの様々な臓器へ移動する (Suzuki et al., *Nat Commun* 2013)。NEP 細胞の分化と移動における低酸素微小環境および HIF 転写因子群の寄与を検討するために、EPO 産生細胞の運命追跡が可能な遺伝子改変マウス (*Rosa26(lsl-tdTomato/wt);Tg(EpoCre)*, REC マウス) と HIF2 α 欠損マウスを用いた (Yamazaki et al., *Nat Commun* 2013; Tojo et al, *Mol Cell Biol* 2015)。また、胎生 9 日目の胎仔頭部の *ex vivo* インキュベーション系を確立し、低酸素 (1%酸素濃度) または HIF 活性化剤 (PHD 阻害剤: GSK360A) の 24 時間曝露に対する遺伝子発現への影響を解析した。

NEP 細胞における *Epo* 遺伝子発現制御機構を解析するために、胎生 15 日目のマウス NEP 細胞から樹立した細胞株 (Neplic 細胞: Hirano and Suzuki, *Front Cell Dev Biol* 2019) を用いた。Neplic 細胞を NEP 細胞様細胞に脱分化させるために、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC 阻害剤: romidepsin または trichostatin A) を添加した (Suzuki et al, *Exp Cell Res* 2018; Nakai et al, *Biochem Pharmacol* 2022; Nakai et al, *Blood Adv* 2023; Nakai et al, *Life Sci* 2024)。

4. 研究成果

(A) 胚内低酸素環境の検出

低酸素プローブを妊娠マウスに投与し、胎仔における低酸素組織を検出することを試みたが、血液循環系が成立する前の胎仔はプローブの送達性が低く、検出は困難であった。そこで、低酸素環境下で蓄積する転写因子 HIF1 α タンパク質の検出を試みたところ、胎生 9 日目前後の神経管および肝原基における蓄積を検出した。この HIF1 α 発現は血液循環系が成立した後の胎仔では認められなかったことから、胎生中期の胎仔は、NEP 細胞を含む神経管領域で低酸素状態に陥っていることが確認された (Iwamura et al, *Mol Cell Biol* 2025)。

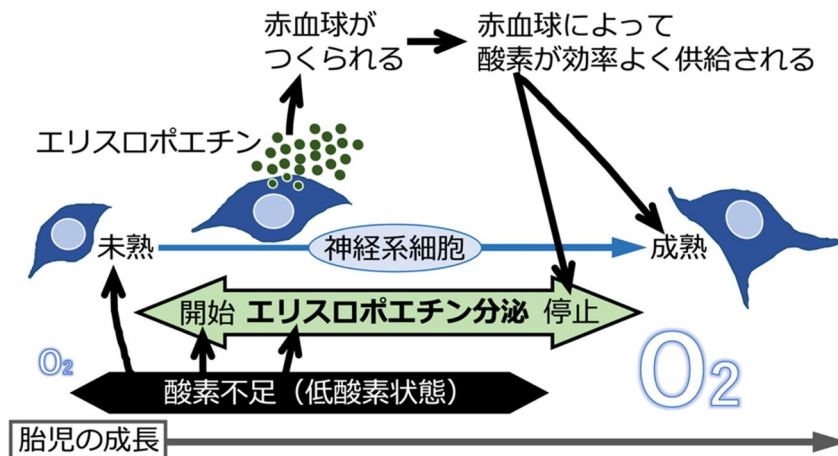
次に、*in situ* hybridization 法により、ラットの胎仔神経管にも *Epo* 遺伝子を発現する NEP 細胞が存在することを確認した。また、ヒト胎児神経前駆細胞の初代培養系を用いて、ヒトにも NEP 細胞が存在し、*EPO* 遺伝子発現が PHD-HIF 経路によって制御されることを明らかにした。

(B) NEP 細胞の EPO 産生における PHD-HIF 経路の役割

胎生 9 日目の胎仔頭部の *ex vivo* インキュベーション系を用いて、NEP 細胞における *Epo* 遺伝子発現が PHD-HIF 経路を介して亢進することを見出した。そこで、HIF2 α 欠損マウス胎仔の *Epo* 遺伝子発現量を解析したところ、NEP 細胞および肝芽細胞における EPO 産生に対する HIF2 α の貢献度は HIF1 α と比べて低いことがわかった (Iwamura et al, *Mol Cell Biol* 2025)。実際に、ほとんどの NEP 細胞は HIF1 α を発現するが、HIF2 α を発現する NEP 細胞は非常に少ないことが *in situ* hybridization 法などにより示された。

HDAC 阻害剤によって神経系細胞が神経前駆細胞に脱分化することが知られていた
 ので、Neplic 細胞に HDAC 阻害剤を添加したところ、EPO 産生能が回復した。HDAC
 阻害剤によって、Neplic 細胞は神経前駆細胞で発現する遺伝子を高発現したことから、
 NEP 細胞が未分化状態であることが EPO 産生能の維持に必要であると考えられた。
 Neplic 細胞が HDAC 阻害剤によって再獲得した未分化性および EPO 産生能は、HDAC
 阻害剤の除去によって喪失した。そこで、HDAC 阻害剤によって脱分化誘導した Neplic
 細胞を低酸素下で培養したところ、HDAC 阻害剤を除去しても EPO 産生能を維持する
 ことがわかった (Iwamura et al, *Mol Cell Biol* 2025)。

以上の結果から、胎生中期の胎仔に必然的に生じる低酸素環境が、NEP 細胞の未分化
 性維持に寄与しており、未分化性が EPO 産生能に必要であることがわかった。NEP 細
 胞で産生した EPO は、循環開始とともに卵黄嚢に到達し、そこでの赤血球造血を誘導
 することにより、胎仔の酸素化を促すことがわかっている (Suzuki et al, *Nat Commun*
 2013)。したがって、NEP 細胞周囲の酸素化は NEP 細胞の分化を誘導し、EPO 産生能
 を喪失させると考えられた (下図)。本研究の成果は、動物個体には低酸素をストレス
 として受容するのではなく、個体発生や恒常性維持に低酸素環境を活用する生体調節系
 が存在することを示している。今後、EPO 産生や赤血球造血以外にも、血管新生や神経
 管形成など、胚内の低酸素環境が HIF 経路を介して、個体発生・臓器形成を誘導するこ
 とを明らかにし、低酸素を利用した生体調節系の普遍性を検証する。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9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 Nakai Taku, Iwamura Yuma, Kato Koichiro, Hirano Ikuo, Matsumoto Yotaro, Tomioka Yoshihisa, Yamamoto Masayuki, Suzuki Norio	4. 巻 7
2. 論文標題 Drugs activating hypoxia-inducible factors correct erythropoiesis and hepcidin levels via renal EPO induction in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 3793-3805
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1182/bloodadvances.2023009798	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 Shimizu Ritsuko, Hirano Ikuo, Hasegawa Atsushi, Suzuki Mikiko, Otsuki Akihito, Taguchi Keiko, Katsuoka Fumiki, Uruno Akira, Suzuki Norio, Yumoto Akane, Okada Risa, Shirakawa Masaki, Shiba Dai, Takahashi Satoru, Suzuki Takafumi, Yamamoto Masayuki	4. 巻 6
2. 論文標題 Nrf2 alleviates spaceflight-induced immunosuppression and thrombotic microangiopathy in mice	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 875
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-023-05251-w	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 Suzuki Norio, Iwamura Yuma, Kato Koichiro, Ishioka Hirota, Kanta Yusuke, Sato Koji, Uchida Nao, Koida Noa, Sekine Hiroki, Tanaka Tetsuhiro, Kumagai Naonori, Nakai Taku	4. 巻 74
2. 論文標題 Crosstalk between oxygen signaling and iron metabolism in renal interstitial fibroblasts	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition	6. 最初と最後の頁 179-184
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3164/jcbrn.24-8	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 石岡広崇, 鈴木教郎	4. 巻 17
2. 論文標題 腎臓病と低酸素応答機構	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 腎臓内科	6. 最初と最後の頁 714-720
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 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 -

1. 著者名 Sonoda Kento, Ujike Saki, Katayama Akito, Suzuki Norio, Kawaguchi Shin-ichi, Tsujita Tadayuki	4. 巻 73
2. 論文標題 Improving lipophilicity of 5-(1-acetyl-5-phenylpyrazolidin-3-ylidene)-1,3-dimethylbarbituric acid increases its efficacy to activate hypoxia-inducible factors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Bioorganic and Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 117039 ~ 117039
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2022.117039	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 Sonoda Kento, Bogahawaththa Sudarma, Katayama Akito, Ujike Saki, Kuroki Sae, Kitagawa Naho, Hirotsuru Kohichi, Suzuki Norio, Miyata Toshio, Kawaguchi Shin-ichi, Tsujita Tadayuki	4. 巻 5
2. 論文標題 Prolyl Hydroxylase Domain Protein Inhibitor Not Harboring a 2-Oxoglutarate Scaffold Protects against Hypoxic Stress	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Pharmacology and Translational Science	6. 最初と最後の頁 362 ~ 372
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acspsci.2c00002	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 Nakai Taku, Saigusa Daisuke, Iwamura Yuma, Matsumoto Yotaro, Umeda Keiko, Kato Koichiro, Yamaki Hayato, Tomioka Yoshihisa, Hirano Ikuo, Koshiba Seizo, Yamamoto Masayuki, Suzuki Norio	4. 巻 197
2. 論文標題 Esterification promotes the intracellular accumulation of roxadustat, an activator of hypoxia-inducible factors, to extend its effective duration	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biochemical Pharmacology	6. 最初と最後の頁 114939 ~ 114939
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 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 岩村悠真, 鈴木教郎	4. 巻 93
2. 論文標題 腎性貧血と酸素ホメオスタシス	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 腎と透析	6. 最初と最後の頁 751-755
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 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 -

1. 著者名 中井琢, 鈴木教郎	4. 巻 93
2. 論文標題 HIF-PH阻害薬による赤血球造血誘導と鉄利用促進の分子機構	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 腎と透析	6. 最初と最後の頁 179-183
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 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 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 鈴木教郎
2. 発表標題 個体発生に伴うエリスロポエチン産生制御機構の変遷
3. 学会等名 赤血球研究シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木教郎
2. 発表標題 宇宙旅行による骨量および血圧の変動における腎臓の貢献
3. 学会等名 第66回日本腎臓学会学術総会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木教郎
2. 発表標題 宇宙微小重力環境を利用した腎機能の加齢変化の解析
3. 学会等名 第53回日本腎臓学会東部学術大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木教郎
2. 発表標題 糖化ストレスに対する酸化ストレス防御系の役割
3. 学会等名 第33 回日本メイラード学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Iwamura Y, Nakai T, Kato K, Ishioka H, Yamamoto M, Hirano I, Suzuki N
2. 発表標題 Hypoxia inducible factor 2 alpha and histone deacetylases control erythroid growth factor in embryonic neural cells with their development
3. 学会等名 KEYSTONE SYMPOSIA (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nakai T, Iwamura Y, Kato K, Hirano I, Matsumoto Y, Tomioka Y, Yamamoto M, Suzuki N
2. 発表標題 Pharmacological activation of hypoxia-inducible factors promotes erythropoiesis and suppresses hepcidin production by inducing erythropoietin production in the kidneys
3. 学会等名 KEYSTONE SYMPOSIA (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Iwamura Y, Nakai T, Kato K, Ishioka H, Yamamoto M, Hirano I, Suzuki N
2. 発表標題 A subpopulation of renal interstitial fibroblasts originates from embryonic neural cells that produce the erythroid growth factor erythropoietin
3. 学会等名 The 56th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩村悠真, 中井琢, 石岡広崇, 加藤幸一郎, 鈴木教郎
2. 発表標題 胎仔期神経系細胞特異的な赤血球造血因子エリスロポエチンの産生制御機構
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木教郎
2. 発表標題 個体レベルの低酸素応答機構解析系と貧血モデル動物
3. 学会等名 第96回日本生化学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 岩村悠真, 中井琢, 加藤幸一郎, 鈴木教郎
2. 発表標題 低酸素誘導性転写因子HIF2aとヒストン脱アセチル化酵素による胎児期神経系細胞のエリスロポエチン産生制御機構
3. 学会等名 日本生化学会 東北支部 第88回例会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩村悠真, 中井琢, 加藤幸一郎, 鈴木教郎
2. 発表標題 胎仔期神経系細胞における低酸素誘導的・発生段階特異的エリスロポエチン産生制御機構
3. 学会等名 低酸素研究会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 岩村悠真, 中井琢, 加藤幸一郎, 鈴木教郎
2. 発表標題 胎仔期神経系細胞における発生段階特異的な赤血球造血因子エリスロポエチン産生制御機構
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会
4. 発表年 2022年

〔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