

様 式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

科学研究費助成事業 研究成果報告書



令和 6 年 1 月 24 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K15363

研究課題名（和文）五感による造血制御：かおり

研究課題名（英文）Hematopoietic regulation by five senses: scent

研究代表者

片山 義雄 (KATAYAMA, YOSHIO)

神戸大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：80397885

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000 円

研究成果の概要（和文）：平成27年度には、マウス造血組織である骨髓、胸腺、脾臓だけでなく造血幹細胞株やT細胞株での匂い感受シグナル特異分子 AC3 と Golf の mRNA 発現を確認できた。これらの一部は蛋白レベルでも確認できた。In vivo の実験として、植物由来匂い物質である α -ピネンをG-CSFによる造血幹細胞動員に併用したが、動員効率を変化させる効果はみられなかった。

平成28年度には、in vitro で各種細胞株における α -ピネンの効果を検討し、特にマウスTリンパ球細胞株であるEL-4の増殖を強力に抑制すること、これが主としてアポトーシス誘導によるものであることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒノキの臭い主成分の一つの α -ピネンは、強く増殖するTリンパ球を抑制し、定常状態にあるT細胞には影響が少ないことから、 α -ピネンは免疫抑制剤やT細胞性腫瘍に対する治療薬として有効である可能性が示唆された。今後の薬剤デリバリーの観点からも、注射剤などではなくアロマとして病室に漂わせることで補助的治療効果を担う薬剤の開発にも役立つかもしれない。またこれは、森林浴によるヒーリングと言われている現象の一部の説明にもつながるかもしれない。

研究成果の概要（英文）：I confirmed mRNA expression of olfactory-specific molecules such as AC3 and Golf in mouse bone marrow, thymus, spleen as well as in cell lines of hematopoietic progenitors and T cells. I also confirmed the protein expression in some of these tissues and cells. G-CSF-induced hematopoietic progenitor mobilization was not altered when an α -pinin was administered together with G-CSF.

We next focused on the in vitro effect of a substance on the cell fate determination in many kinds of cell lines including both hematopoietic and mesenchymal lineage cells, and found that α -pinin can induce apoptosis in T cell line EL-4.

研究分野：血液内科学

キーワード：かおり 細胞運命制御

※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。

1. 研究開始当初の背景

我々は、周囲環境からの刺激に常に曝されている。視覚、聴覚、触覚、味覚、嗅覚の「五感」はその代表であり、これら以外にも地球上で生きる上で逃れ得ない重力もその一つと考えられる。特に「匂い」や「香り」は古来よりお香、アロマセラピーや森林浴など我々の生活に根付いているが、その効果や科学的根拠は十分ではない。これらの刺激は、脳に情報を伝達し、周囲環境を詳細に把握することで個体の行動を規定していくと考えられて来た。しかし、これら周囲環境シグナルによる新たな生体システム制御機構が徐々に認知されてきている。実際、嗅覚刺激から GABA 神経系を介したリンパ球造血制御機構がハエでは報告されている (Shim, Cell 2013)。我々も、神経伝達系の異常によるリンパ球造血不全をマウスで報告しており (Katayama, Immunity 2003)、一旦中枢神経に集積された各種感覚シグナルが全身の造血系に与える影響は大きいと考えられる。最近我々が報告した、重力感知装置の異常に基づいておこる、造血幹細胞の骨髄から末梢血への移動不全や、胸腺や骨髄でのリンパ球造血不全 (Asada, Katayama, Cell Stem Cell 2013; Sato, Katayama, Cell Metabolism 2013) も、環境シグナル感受を起点とした全身制御の例と捉えることができる。

これとは別に、本来体表面に存在する感覚器で感受するはずの五感が予想もしない形で体内において機能していて、各臓器の恒常性を保っていることが徐々に明らかになってきている。これは感覚器受容体の解析技術とともに発展して来ており、舌以外での機能的味覚受容体の存在として気道平滑筋での苦み受容体の発現 (Deshpande, Nature Med. 2010) や味覚受容体欠損マウスでの精子形成不全 (Mosinger, PNAS 2013)、嗅覚器以外での機能的匂い感知装置の存在として腎での発現による糸球体濾過量調整 (Pluznick, PNAS 2009) や精子での遊走制御 (Spehr, Science 2003) などが報告されている。

匂い感受シグナルに特異的な 2 分子、olfactory-related adenylate cyclase (AC3) と olfactory G protein (G_{olf}) については、いずれの分子の単独欠損マウスでも嗅覚がない (Wong, Neuron 2000;

Belluscio, Neuron 1998)。ほ乳類の造血システムにおける匂い感知機構の存在については過去に報告がないものの、造血幹・前駆細胞のニッチを目指す移動性と卵子を求めて匂い感受機構を用いて遊走する精子との共通性から、研究申請者は、造血幹細胞が精子と同様匂いを頼りにニッチなどへ移動している可能性や、更に、リンパ球造血制御に局所で匂い感受機構が機能している可能性を起想した。すなわち、「骨髄ないしは胸腺の香り」など臓器特異的匂いシグナルの存在と、匂いシグナルによる造血細胞の分化、増殖、移動などの運命決定制御の可能性を研究することに思い至った。

2. 研究の目的

体が感じる環境シグナルは、個体の情動に影響を与えるだけでなく、最近の研究では体内組織や細胞の運命を局所で直接制御していることも明らかとなってきた。これから発展し、種々の環境シグナル受容、いわゆる「五感」が造血に与える影響を科学的に追求していく。本研究では特に、神経科学分野にて刺激分子や受容体の解析が非常に進んでいる「嗅覚」に注目し、造血システムにおける匂い感受機構の存在とその機能を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

マウスにおいて、骨髄、胸腺、脾臓といった免疫・造血組織における AC3, G_{olf} をはじめ匂い受容体の発現を蛋白レベルで確認していき、発現細胞を同定する。また、匂い成分の中で、細胞増殖や遊走を制御することが報告されている物質を用いて、造血幹細胞やリンパ球の機能を in vitro, in vivo にて検討していく。

4. 研究成果

平成 27 年度は、まずマウスの組織において、骨髄、胸腺、脾臓での匂い感受シグナル特異分子 AC3 と G_{olf} の mRNA 発現を RT-PCR で確認した。また、これらの発現は造血幹細胞に近い細胞株

FDCP-mix や T 細胞株 EL4 でも確認できた。これらの一部は蛋白レベルでもウエスタンブロット法で確認した。また、in vivo の実験として、サイトカイン G-CSF による造血前駆細胞の骨髓から末梢血への遊走（動員）に、植物由来匂い物質である α -ピネンを併用することによるこの効果の変化を検討したが、再現性のある形での動員効率の変化を来すデータは得られなかった。In vivo での造血幹細胞制御の実験では成果が難しいと判断し、平成 28 年度は in vitro で血球のみでなく間葉系も含めた各種細胞株における α -ピネンの作用を検討することとした。

α -ピネンやリモネンは、フィトンチッドと呼ばれる森林の匂いの成分の一部で、一般的にはヒノキの臭いの主成分として有名であり、これまでに大腸癌や肺癌細胞の増殖を抑制する効果が実験レベルでは報告されていた。我々は、各種血液細胞や造血環境細胞として働く骨芽細胞の細胞株の培養に対してこの α -ピネンを加え、多くの細胞株にある程度の増殖抑制効果を発揮するものの、特にマウス T リンパ球細胞株である EL-4 では濃度依存的に強力な増殖抑制効果と細胞死（我々の検討では主にアポトーシス）を誘導することを発見した。加えて、マウスの定常状態の T 細胞には細胞死をほとんど誘導しなかった。すなわち、 α -ピネンは激しく増殖している T リンパ球を特異的に抑制し、定常状態の T リンパ球には大きな影響を与えないという結果を示していた。リモネンでは α -ピネンと比べて非常に効果は弱かった。

この成果は、 α -ピネンが、免疫抑制剤として、ないしは有効な治療法の少ない T 細胞性造血器悪性腫瘍に対する治療薬となる可能性や、その薬剤デリバリーシステムに関しても注射などの直接投与のみでなく、病室にアロマセラピーとして漂わせることで、従来の治療法の効果を後押しできる有効な補助療法にもなりうる可能性を秘めている。

今後、マウスモデルにおける骨髓移植後移植片対宿主病 (GVHD) や、EL-4 を免疫不全マウスに移植した T 細胞腫瘍マウスモデルを用いた α -ピネンないしはこの関連のフィトンチッド成分の in vivo での効果の検討が必要である。その際、臭いとして嗅がせることで効果が確認

される方法を見つけ出すことが、今後の臨床への応用の幅を大きく広げることにつながると考えられる。

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）

〔雑誌論文〕（計 0 件）

〔学会発表〕（計 0 件）

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片山 義雄 (KATAYAMA, Yoshio)
神戸大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：8 0 3 9 7 8 8 5

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4)研究協力者 ()