

平成 21 年 6 月 16 日現在

研究種目：特別推進研究

研究期間：2004～2008

課題番号：16002011

研究課題名（和文） 造血幹細胞ニッチと細胞分裂制御

研究課題名（英文） Regulation of Hematopoietic Stem Cell Division in a Niche

研究代表者

須田 年生 (SUDA TOSHIO)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：60118453

研究成果の概要：

幹細胞の静止期性(G0)は、造血幹細胞を維持する上で重要である。我々は、骨髄の内骨膜領域にある造血幹細胞が、Tie2/Angiopoietin-1 や mpl/thrombopoietin のシグナルを通じて骨芽細胞に接着し、静止期性を維持することを見出した。また、ストレス下では、活性酸素種(ROS)は上昇し、幹細胞がニッチから離れる。p38MAPK や INK4A の増加は、幹細胞の消耗・老化を引き起こす。幹細胞は低酸素状態で、分裂・増殖が抑えられていて、解糖系優位という代謝学的特徴を有する。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度	70,400,000	21,120,000	91,520,000
2005年度	84,400,000	25,320,000	109,720,000
2006年度	80,400,000	24,120,000	104,520,000
2007年度	80,400,000	24,120,000	104,520,000
2008年度	70,400,000	21,120,000	91,520,000
総計	386,000,000	115,800,000	501,800,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：造血幹細胞, ニッチ, 骨芽細胞, 自己複製能, Tie2 / Angiopoietin-1, 活性酸素, Mpl / Thrombopoietin, ATM

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 造血幹細胞の分化の研究は、幹細胞研究のコアの一つとして活発に行われている。我が国でも、須田を代表として平成13年度まで「造血システムにおける自己複製と分化制御」が終了した後、平成15年度からは東京大学中内啓光教授を代表者とした特定領域研究(A)「幹細胞の可塑性と未分化維持機構」が開始され、横断的な幹細胞研究が行われている。このなかで

本特別推進研究は、幹細胞研究の中で最も進んでいる造血幹細胞の領域でニッチと細胞周期問題に集中するという特徴を有する。

(2) 造血幹細胞分化における不均等分裂について須田の paired daughter cell の論文 (*Blood*, 1984 及び *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984) は、stochastic model の実験的証拠として出版後 20 年たっても、教科書 [ Watson et al: *Molecular Biology of the Cell (Third Edition)*, 1994 ] などに引

用されつづけている。不均等分裂が起きるためには、細胞内に分子の偏りが必要で、細胞に極性がおきることが条件となる。浮遊する造血細胞では、この細胞極性が検討されてこなかったが、我々は、1) AGM 領域の血管内皮細胞から血液細胞が出現する過程 2) 造血幹細胞のニッチ(細胞)との接着の発見により、自己複製と分化の不均等分裂を蛋白レベルで議論できるようになった。成体骨髄幹細胞における比較的「緩い」と考えられるニッチモデルは、幹細胞の位置はニッチ細胞との接着結合(Fusome)によって固定されているという人工生殖幹細胞におけるスキームとの比較により、幹細胞生物学全体に大きなインパクトを与えたと考えられる。

われわれのグループは、約10年前に Tie2 受容体をクローニングして以来、この分子の機能解析を続けてきた。この過程で、血管内造血を示し、さらに造血幹細胞による血管新生のモデルを提出し、また造血幹細胞ニッチを明らかにしてきた。ことにニッチ細胞としては、骨芽細胞(osteoblastic niche)と血管内皮細胞(vascular niche)が注目され、今まで、当研究室で進めてきた骨・血管生物学をここに集約することにより、造血システムが包括的に理解されたと考える。

(3) 再生医学への期待が高まるなかで、幹細胞研究は注目されている。そのなかでも、造血幹細胞は単離され、自己複製能という属性を移植実験により定量することのできるという有利性をもっている。本研究では、幹細胞の未分化性はいかに維持されているのか、幹細胞を取りまくニッチはいかにそれを制御しているのかを解明する。この問題を解くことにより、われわれは初めて幹細胞の分化を制御できると考える。具体的には、造血の場を再構築することにより骨髄移植の効率を改善する方法の開発、さらには、白血病(がん)幹細胞の同定、またそれをコントロールする新しい治療法の開発につながる可能性がある。他の幹細胞研究にも影響を及ぼしうると考える。

## 2. 研究の目的

更新する組織の発生・維持には自己複製能と多分化能を有する幹細胞が存在する。しかし、幹細胞が幹細胞を生むという自己複製能は概念的であり、その実体あるいは分子基盤は不明のままである。そこで、我々は、幹細胞を「高い増殖能を有しながら分裂を止めている状態の細胞」と定義することにより、造血幹細胞の環境(ニッチ)分子を明らかにすると同時に、幹細胞の細胞周期・分裂制御機構を解析する。

造血幹細胞は、発生過程で AGM、胎児肝、骨髄とニッチを求めて移動するという特色を有する。また、他の組織幹細胞のなかでも最も高度に純化され、機能解析が進んでいる。しかしながら、1対1に純化されたと考えられる均質な幹細胞でも、単細胞レベルではその増殖・分化能に大きな差異が認められる。

幹細胞は、予め幹細胞として運命づけられているというより、周辺の細胞や環境分子によって、その動態が影響されると考えられる。ニッチは、生態学的適所を意味し、本研究では、まず幹細胞のニッチとは何かを明らかにする。骨髄幹細胞のニッチ細胞としては、骨芽細胞・血管細胞・幹細胞以外の血液細胞が想定される。

我々は、1992年にクローニングした Tie2 受容体のシグナルを中心に造血幹細胞の動態を解析してきた。骨髄幹細胞を DNA 結合色素の標識率の差によって、静止期幹細胞 Side Population (SP)と細胞回転する幹細胞 Main Population (MP)に分けられることを示した。骨髄有核細胞全体の0.1%以下の SP 集団の大部分は、Tie2 を発現しており、それを指標とすることにより、静止期幹細胞は緻密骨上(vascular niche)に存在することを初めて同定し、血管との相互作用(vascular niche)によって造血することを示してきた (*Cell*, 2000)。本研究では、緻密骨上に配列する骨芽細胞と造血幹細胞の接着装置・相互作用を分子レベルで詳細に検討し、骨芽細胞の幹細胞に対する役割を明らかにする。さらに、組織形成に重要な役割をはたす血管形成と造血の関係を明確にする。

次に、静止期幹細胞と分裂する幹細胞を FACS で分離し、両者間での遺伝子発現の差異を検討し、静止期幹細胞に特異的遺伝子の機能を解析する。静止期幹細胞と細胞回転する幹細胞の移行を制御する分子を解析する。現在、我々は、静止期造血幹細胞に特異的に発現する Tie2 受容体を介して、Angiopoietin -1(Ang -1)が、その接着を制御しているという仮説を立てている。SP 幹細胞が、その周辺の MP 幹細胞によって、分裂を抑えられているというモデルが成立するか否かを検討する。

研究協力者の平尾・佐谷らは、哺乳動物の細胞周期制御機構に関する研究により、G1/S および G2/M 移行制御機構、DNA 損傷や不完全 DNA 複製からのチェックポイント機構を Chk2 や ATM 分子を中心に明らかにしてきた (*Science*, 2000)。また、佐谷は、細胞接着分子に細胞膜直下で結合する分子が、接着部から遊離して中心体に移動することが細胞分裂への進行のスイッチになっている可能性を見出し、接着シグナルと細

胞周期の回転が直接リンクすることを分子レベルで明らかにしている (Cell, 2003)。

本研究では、幹細胞の特微的な細胞周期制御機構である G0 と呼ばれる静止期の本体、生体内の刺激により細胞周期に入る機構、分裂した娘細胞のひとつは幹細胞、他のひとつは分化する前駆細胞にと不均等分裂をする機構を解明し、幹細胞の動態を明らかにする。

幹細胞研究の中でも、造血幹細胞の歴史は長く他の組織幹細胞に比べ研究の蓄積は膨大であるが、幹細胞ニッチと細胞周期など、細胞生物学的には、アプローチの困難さにより未開拓のまま残されている。

以上、本研究により、定常的に細胞が更新する造血において、幹細胞はどのように維持され、動員されるのか、いわゆる「幹細胞の使われ方」を理解することができる。また、ニッチ因子による幹細胞の動態制御が可能になれば、より有効な骨髄移植、幹細胞を守る抗がん剤治療などの道を拓くことができる。さらには、これにより他の組織幹細胞の本体を明らかにし、組織構築あるいは再生の原則を知ることができると思う。

### 3. 研究の方法

#### (1) 幹細胞ニッチの分子基盤解明:

Tie2 受容体/Angiotensin-1 (Ang-1) シグナルの解析

静止期造血幹細胞 (LSK-SP 細胞) に Ang-1 の刺激を加えた際の細胞接着分子の発現、細胞増殖速度の検討を行った。また、LSK-SP 細胞を Ang-1 の存在 / 非存在下で 1 週間培養した後、骨髄移植実験を行い Tie2/Ang-1 シグナルの幹細胞維持における機能を検討した。さらに、優性抑制型 Tie2 の強制発現、Ang-1 の強制発現による造血幹細胞の細胞周期を検討し、Tie2/Ang-1 シグナルの静止期維持における作用について解析をおこなった。

幹細胞ニッチ細胞としての骨芽細胞の機能解明

成体マウス骨組織からコラゲナーゼ処理により、内骨膜領域に接着して存在している細胞を分離し、血球・血管内皮以外の細胞 (CD45<sup>+</sup>CD31<sup>-</sup>Ter119<sup>-</sup>細胞) について、間葉系幹細胞、骨芽細胞前駆細胞のマーカーとして、それぞれ Sca-1、ALCAM (CD166) の発現を検討した。さらに、Sca-1 および ALCAM の発現パターンに基づいた細胞集団を FACS により純化し、分化能を検討とマイクロアレイによる遺伝子発現解析をおこなった。

静止期造血幹細胞特異的分子の同定  
静止期造血幹細胞 (LSK-SP) と細胞周期

の回転する活性化造血幹細胞 (LSK-non SP) について、遺伝子発現を比較し、静止期造血幹細胞に特異的に発現する分子を検討した。さらに、そのシグナルを増強・抑制した際の造血幹細胞の細胞周期、ニッチに対する接着について検討した。

#### (2) 細胞周期・分裂に関する研究

幹細胞・ニッチ細胞の共培養

骨髄の内骨膜領域から分離した、間葉系前駆細胞、骨芽細胞前駆細胞、成熟骨芽細胞と造血幹細胞の共培養をおこなった後、骨髄移植、コロニー形成を検討することで、各内骨膜細胞分画の造血支持能を解析した。

幹細胞の分裂の可視化

造血幹細胞の in vitro 培養において、一個の造血幹細胞が細胞分裂したときの 2 個の娘細胞について、Numb および Tie2 の発現を免疫染色により検討し、造血幹細胞の不均等分裂の解析系の構築を試みた。

静止期造血幹細胞に細胞周期制御因子 p57<sup>Kip2</sup> が極めて特異的に発現していることを見いだしており、p57<sup>Kip2</sup> の BAC クローンを用いた GFP トランスジェニック (TG) マウスを作製し、p57<sup>Kip2</sup> の発現を指標にすることで、静止期造血幹細胞を生細胞で追跡する系の確立を試みた。

幹細胞の細胞周期制御

静止期造血幹細胞に発現する Mpl とその結合因子 Thrombopoietin (THPO) のシグナルによる造血幹細胞の静止期 (G0) 維持機構について検討するため、マウスに Mpl 中和抗体 (AMM2)、あるいは THPO を投与した後、造血幹細胞の細胞周期制御因子の発現、造血幹細胞中の SP 細胞および G0 期の細胞の割合の変化について検討した。さらに、Mpl/THPO シグナルを抑制することにより、ニッチとの相互作用を阻害し、造血幹細胞の静止状態を抑制することにより、放射線照射を用いない低侵襲骨髄移植が可能となるか検討し、ニッチシグナルの制御による幹細胞操作の可能性についても併せて検討した。

活性酸素制御

細胞周期制御因子 Ataxia Teleangiectasia Mutated (ATM)、および代謝・寿命・老化の制御に関わる Forkhead 転写因子 Foxo3a の遺伝子欠損 (KO) マウスについて、造血幹細胞の自己複製能および細胞周期制御について解析をおこなった。さらに、造血幹細胞の連続骨髄移植をおこない、造血幹細胞に対してストレスを加えた際の、幹細胞内の ROS の産生と骨髄再構築能の関係について解析した。また、ROS によって造血幹細胞の自己複製が

障害される時のシグナルに関しても解析をおこなった。

#### 4. 研究成果

##### (1) 幹細胞ニッチの分子基盤解析

###### Tie2 受容体/Ang-1 シグナルの解析

成体骨髄の静止期造血幹細胞は Tie2 受容体陽性分画に特異的に存在することがわかり、Tie2 が静止期造血幹細胞のマーカーとなることが示された。また、Tie2<sup>+</sup>静止期造血幹細胞はさまざまなストレスに対して抵抗性を示し、5-FU 投与による骨髄抑制状態においても残存した。骨髄標本の免疫組織染色の結果では、Tie2 陽性の静止期造血幹細胞が Ang-1 を産生する骨芽細胞と接着して存在していることがわかり、Tie2/Ang-1 シグナルが静止期造血幹細胞のニッチ分子として機能することが示唆された。静止期造血幹細胞に対する Tie2/Ang-1 のシグナルは  $\alpha$ 1-integrin や N-cadherin を介した細胞接着の亢進、静止期造血幹細胞の細胞分裂の抑制による骨髄再構築能の維持、造血幹細胞の細胞周期の静止状態の維持に関わることを明らかにし、この結果から、Tie2/Ang-1 シグナルは造血幹細胞をニッチに留め、静止状態を維持するのに機能していることが明らかとなった。また、マウスに Ang-1 組換え蛋白あるいは Ang-1 を発現するアデノウイルスを投与した後、致死量放射線照射あるいは 5-FU 投与をおこない、マウスのサバイバルを検討することにより、Tie2/Ang-1 シグナルの造血幹細胞保護における役割を検討したところ、Ang-1 投与マウスにおいてサバイバルの有意な延長がみられた。この結果から、Tie2/Ang-1 シグナルは造血幹細胞のストレスからの保護にも重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

###### 幹細胞ニッチ細胞としての骨芽細胞の機能解明

マウス骨組織から血液細胞と血管内皮細胞を含まない、CD45<sup>-</sup>CD31<sup>-</sup>Ter119<sup>-</sup>細胞を分離し、間葉系幹細胞・骨芽細胞のマーカーとして Sca-1、ALCAM の発現を解析したところ、Sca-1<sup>+</sup>ALCAM<sup>-</sup>、Sca-1<sup>-</sup>ALCAM<sup>+</sup>、Sca-1<sup>-</sup>ALCAM<sup>-</sup> の 3 つの細胞集団が得られ、それぞれ、間葉系前駆細胞、骨芽細胞前駆細胞、成熟骨芽細胞であることがわかり、これらの細胞集団について、マイクロアレイ解析により遺伝子発現を検討した。その結果、間葉系前駆細胞分画は静止期誘導因子 (Ang-1, Thpo など) と増殖因子 (SCF など) を産生し、成熟骨芽細胞は N-cadherin などの接着分子を発現して幹細胞との接着に関わることで、幹細胞の機能

を調節していると考えられ、骨芽細胞性ニッチでは、特定のニッチ細胞が機能するのではなく、複数の細胞がニッチ複合体を構成し、機能分担・相互作用することで、造血幹細胞の静止状態の維持および自己複製能の制御を担っていると考えられた。

###### 静止期造血幹細胞特異的分子の同定

静止期幹細胞 (LSK-SP) と活性化造血幹細胞 (LSK-non Sp) を用いたマイクロアレイ解析により、静止期造血幹細胞幹細胞に Mpl 受容体が高発現していることを見いだした。さらに、長期骨髄再構築能をもつ造血幹細胞は LSK-CD34<sup>+</sup>細胞の中でも Mpl<sup>+</sup>分画に濃縮されることがわかった。そこで、LSK-CD34<sup>+</sup>Mpl<sup>+</sup>細胞に特異的に発現する細胞周期制御因子について検討したところ、cyclin dependent kinase inhibitor の 1 つである p57<sup>Kip2</sup> が特異的な発現を示すことを見いだした。現在、造血幹細胞の静止状態の制御における p57<sup>Kip2</sup> の機能について解析を進めている。

##### (2) 細胞周期・分裂に関する研究

###### 幹細胞・ニッチ細胞の共培養

LSK 細胞を内骨膜細胞の 3 分画：間葉系前駆細胞 (ALCAM<sup>+</sup>Sca-1<sup>+</sup>)、骨芽細胞前駆細胞 (ALCAM<sup>-</sup>Sca-1<sup>+</sup>)、成熟骨芽細胞 (ALCAM<sup>+</sup>Sca-1<sup>-</sup>) 上で共培養をおこない、コロニー形成の検討、および骨髄再構築実験をおこなった。

まず、5 日間の共培養後のコロニー数については、各分画で差がみられなかったが、未分化混合コロニー (CFU-Mix) の形成は、成熟骨芽細胞との共培養で最もよく維持された。また、各内骨膜細胞分画との 2 日間共培養し、骨髄移植実験をおこなったところ、造血幹細胞の骨髄移植能が、培養前の LSK 細胞と比較して増加していることが分かった。すべての内骨膜細胞の分画が骨髄再構築能を維持することができたが、特に、成熟骨芽細胞との共培養により LSK 細胞の骨髄再構築が最もよく促進されることがわかった。前述の通り、成熟骨芽細胞分画は細胞接着分子を高発現していることから、造血幹細胞と骨芽細胞性ニッチの接着が、幹細胞維持に重要であることが示唆された。

###### 幹細胞の分裂の可視化

LSK-CD34<sup>+</sup>造血幹細胞をスライドガラス上にソーティングし、stem cell factor、THPO、Flt3-ligand を含む無血清培地で 18 時間培養し、その後 Nocodazole を添加し、さらに 24 時間培養した。培養後、サンプルを固定し、Numb と Tie2 の発現を免疫染色で検討した。その結果、1 個の幹細胞から分裂した 2 個の

娘細胞で、Numb と Tie2 が不均等に発現していることがわかった。

p57<sup>Kip2</sup> は静止期造血幹細胞特異的に発現し、Ang-1/Tie2、Thpo/Mpl、N-cadherin のシグナルにより、その発現が増強することから、p57<sup>Kip2</sup> の 5' 末端の約 200kb を含む BAC クローンを用いた、p57<sup>Kip2</sup> プロモーター-GFP-TG マウスのコンストラクトを作製し、トランスジェニックマウスの作製をおこなっている。このコンストラクトは、p57<sup>Kip2</sup> の ATG に GFP の ATG 以下の配列を挿入している。このコンストラクトを NIH3T3 細胞に導入し、無血清で 48 時間培養後、内在性の p57<sup>Kip2</sup> 遺伝子の発現と同様に GFP の発現が上昇することを確認している。

#### 幹細胞の細胞周期制御

静止期幹細胞に Mpl 受容体が高発現しており、さらに、長期骨髄再構築能を持つ造血幹細胞が、Mpl 陽性分画に特異的に存在することを明らかにした。また、Mpl 結合因子 Thrombopoietin (THPO) が骨芽細胞から産生されることを見いだした。そこで、マウスに Mpl 中和抗体 (AMM2)、あるいは THPO を投与した後、LSK 細胞を採取し、細胞周期制御因子の発現を検討したところ、AMM2 投与により、p57<sup>Kip2</sup>、Tie2 の発現抑制、Myc の発現上昇がみられた。これとは逆に、THPO を投与すると Myc の発現が抑制され、p57<sup>Kip2</sup>、Tie2 の発現上昇がみられた。これらの遺伝子発現のパターンはそれぞれ、細胞周期の活性化と静止が誘導された状態を反映していると考えられた。また、AMM2 後、LSK-SP 細胞の割合の検討、LSK-CD34<sup>-</sup> と LSK-CD34<sup>+</sup> の幹細胞について、細胞周期の解析を Pyronin Y 染色により検討した。その結果、AMM2 投与により、投与後 6 日目に LSK-SP 細胞の割合の減少、LSK-CD34 細胞での Pyronin Y 細胞の減少がみられ、造血幹細胞の静止状態が失われることが明らかになった。また、THPO を投与したマウスにおいては、投与後 2 日目から 4 日目にかけて、一過性に LSK-SP 細胞の増加がみられ、造血幹細胞の静止状態が誘導されたことが分かった。これらの結果ら、Mpl/THPO シグナルにより、造血幹細胞の静止状態が維持されていることが明らかになった。

次に、Mpl/THPO シグナルの抑制により、放射線の非照射条件下での造血幹細胞移植が成立するかを検討した。レシピエントマウスに移植 6 日前に AMM2 あるいは PBS を投与し、さらに 2 日前に 5-FU を投与し、LSK 細胞 1x10<sup>4</sup> 個の移植をおこなった。その結果、AMM2 と 5-FU を併用した群で造血幹細胞の長期骨髄再構築が観察された。これは、Mpl/THPO のシグナルの抑制により幹細胞と骨芽細胞ニッチの相互作用が阻害され、静止期造血が活性化され、ドナー細胞が生着可能となったもの

と考えられた。この研究成果は、ニッチ分子の機能を操作 (増強・阻害) することで、造血幹細胞の動態を制御できることを示唆するものであると考えられた。

#### 活性酸素制御

ATM KO マウス造血幹細胞では、活性酸素種 (reactive oxygen species: ROS) が蓄積による酸化ストレスにより p38MAPK のリン酸化が生じ、さらに p16<sup>Ink4a</sup>-Rb 経路が活性化され、自己複製能および細胞周期の静止状態が障害され、幹細胞のプールが失われることを明らかにし、ROS の制御・抑制が造血幹細胞の自己複製能および静止状態の維持に必須であることが明らかとなった。Foxo3a KO マウスにおいても ATM KO マウスと同様に、ROS の蓄積、p38MAPK の活性化により幹細胞機能が障害されることがわかった。また、これらの遺伝子改変マウスの解析に加え、造血幹細胞の連続骨髄移植実験においても、幹細胞に ROS が蓄積し、自己複製能が障害されることを明らかにした。この結果は、活性酸素 (ROS) による p38MAPK の造血幹細胞特異的な活性化が造血幹細胞の老化にも関連し、幹細胞の寿命に関わることを示唆するものと考えられた。さらに、造血幹細胞の酸化ストレスによる機能障害は抗酸化剤あるいは p38 阻害剤投与によって回復させることができることがわかった。

5-FU 投与により骨髄抑制を誘導した際に、造血幹細胞で一過性に ROS の産生が増加し、それに引き続き N-cadherin の発現低下が起こり、造血幹細胞の細胞接着が低下して、幹細胞のニッチからの離脱と細胞周期の活性化が起こることを見出した。この時、NAC を投与し、ROS の産生を抑制すると N-cadherin の発現低下が抑制されるとともに、細胞周期の活性化のタイミングが遅れることがわかった。これらの結果は、酸化ストレス刺激が N-cadherin を介した細胞接着を障害することで、造血幹細胞とニッチの相互作用を阻害することを示していると考えられた。

#### 5. 主な発表論文等

(雑誌論文)(計10件)

Miyamoto K, Miyamoto T, Kato R, Yoshimura A, Motoyama N, Suda T: FoxO3a regulates hematopoietic homeostasis through a negative feedback pathway in conditions of stress or aging. *Blood*, 112:4485-4493, 2008, 査読有

Matsuoka S, Oike Y, Onoyama I, Iwama A, Arai E, Takubo K, Mashimo Y, Oguro H, Nitta E, Ito K, Miyamoto K, Yoshiwara H, Hosokawa K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Hayashi

Y, Matsuzaki Y, Nakayama K, Ikeda Y, Hata A, Chiba S, Nakayama KI, Suda T: Fbxw7 acts as a critical fail-safe against premature loss of hematopoietic stem cells and development of T-ALL. *Genes Dev*, 22: 986-991, 2008, 査読有

Takubo K, Ohmura M, Azuma M, Nagamatsu G, Yamada Y, Arai F, Hirao A, Suda T: Stem cell defects in ATM-deficient undifferentiated spermatogonia through DNA damage-induced cell cycle arrest. *Cell Stem Cell*, 2: 170-182, 2008, 査読有

Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K, Hagiwara T, Takubo K, Nakamura Y, Gomei Y, Iwasaki H, Matsuoka S, Miyazaki H, Takahashi T, Suda T: Thrombopoietin/Mpl signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence and interaction with the osteoblastic niche. *Cell Stem Cell*, 1:685-697, 2007, 査読有

Morita K, Miyamoto T, Fujita N, Kubota Y, Ito K, Takubo K, Miyamoto K, Ninomiya K, Suzuki T, Iwasaki R, Yagi M, Takaishi H, Toyama Y, Suda T: Reactive oxygen species induce chondrocyte hypertrophy in endochondral ossification. *J Exp Med*, 204: 1613-1623, 2007, 査読有

Miyamoto K, Y. Araki K, Naka K, Arai F, Takubo K, Yamazaki S, Matsuoka S, Miyamoto T, Ito K, Ohmura M, Chen C, Hosokawa K, Nakauchi H, Nakayama K, Nakayama K, Harada M, Motoyama N, Suda T, Hirao A: Foxo3a is essential for maintenance of the hematopoietic stem cell pool. *Cell Stem Cell*, 1: 101-112, 2007, 査読有

Ito K, Hirao A, Arai F, Takubo K, Matsuoka S, Miyamoto K, Ohmura M, Naka K, Hosokawa K, Ikeda Y, Suda T: Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nature Med*, 12: 446-451, 2006, 査読有

Yagi M, Miyamoto T, Sawatani Y, Iwamoto K, Hosogane N, Fujita N, Morita K, Ninomiya K, Suzuki T, Miyamoto K, Oike Y, Takeya M, Toyama Y, Suda T: DC-STAMP is essential for cell-cell fusion in osteoclasts and foreign body giant cells. *J Exp Med* 203: 345-351, 2005, 査読有

Ito K, Hirao A, Arai F, Matsuoka S, Takubo K, Nakagata N, Ikeda Y, Tak W. Mak, Suda T: Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*, 431: 997-1002, 2004, 査読有

Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda

T: Tie2/Angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*, 118: 149-161, 2004, 査読有

[学会発表](計5件)

Toshio Suda: Quiescent stem cells in the niche. The 6th International Society for Stem Cell Research (ISSCR) Annual Meeting 2008, Philadelphia, Jun 11-14, 2008

Toshio Suda: Niche regulation of hematopoietic stem cells by ROS. Gordon Research Conferences on Oxidative Stress and Disease, Ventura, California, Mar 11-16, 2006

Toshio Suda: Quiescent stem cells in the niche. The 4th ISSCR Annual Meeting, Toronto, Jun 29-Jul 1, 2006

Toshio Suda: Tools for identifying stem cell / niche cell interactions in the mouse. AACR Workshop on Cancer Stem Cells, Lansdowne, Maryland, Feb 1-4, 2005

Toshio Suda: Hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. ASH 46th Annual Meeting, San Diego, Dec 4-7, 2004

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

須田 年生 (SUDA TOSHIO)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号: 60118453

### (2) 研究分担者

新井 文用 (ARAI FUMIO)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 90365403  
宮本 健史 (MIYAMOTO TAKESHI)  
慶應義塾大学・医学部・講師  
研究者番号: 70383768  
松岡 佐保子 (MATSUOKA SAHOKO)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 20317340  
田久保 圭誉 (TAKUBO KEIYO)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 50502788  
永松 剛 (NAGAMATSU GO)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 70453545  
吉原 宏樹 (YOSHIHARA HIROKI)  
慶應義塾大学・医学部・助教  
研究者番号: 90348706