

令和元年6月23日現在

機関番号：82610

研究種目：新学術領域研究(研究領域提案型)

研究期間：2014～2018

課題番号：26115005

研究課題名(和文) ニッチ-幹細胞相互作用による造血系抗老化システムの解明

研究課題名(英文) Aging and anti-aging mechanisms in niche-hematopoietic stem cell interaction

研究代表者

田久保 圭誉 (TAKUBO, Keiyo)

国立研究開発法人国立国際医療研究センター・その他部局等・生体恒常性プロジェクト長

研究者番号：50502788

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 125,100,000円

研究成果の概要(和文)：ニッチ細胞や造血幹細胞の加齢変化は細胞老化とは遺伝子発現的にも細胞生物学的にも異なる性質を持っていることが示された。その過程で巨核球が新規ニッチ細胞であることも見出した。かつて造血幹細胞の加齢変化を誘導する重要なシグナル経路として報告されたp38MAPK経路についての再解析を実施したところ、むしろ造血幹細胞をストレスから守る機能を代謝制御を通じて発揮していることを見出した。さらには新たに静止期造血幹細胞の体外維持培養法の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、造血幹細胞システムをモデルとした、幹細胞やニッチのエイジングと、細胞老化との異同が示され、臓器レベルの抗老化戦略や加齢関連疾患発症の分子機構の一端が明らかとなった。また、既存の造血幹細胞エイジング関連経路の再評価によって、ストレス関連経路と臓器レベルのエイジングを接続する知見がもたらされた。一方、静止期造血幹細胞の体外培養法は、幹細胞の休眠や静止期性、あるいは細胞の“ポテンシャル”を理解するための基礎的な知見と、研究プラットフォームをもたらした。以上の知見は超高齢社会における医学・生物学的問題の理解と科学的な解決につながる基盤的知見たりうるものである。

研究成果の概要(英文)：We identified transcriptome and cell biological differences among hematopoietic stem cell (HSC) aging and cellular senescence. We also found that megakaryocyte, a differentiated cell originated from HSC, was a niche cell for HSCs. Reanalysis of p38MAPK cascade, a signaling pathway that had been clarified as an inducer for HSC aging, revealed that it also protected HSCs from acute stresses. Finally, we developed a method to maintain quiescent HSCs from aging ex vivo.

研究分野：幹細胞生物学、血液学

キーワード：造血幹細胞 幹細胞ニッチ 幹細胞代謝 メタボローム解析 単一細胞トランスクリプトーム解析 低酸素 ストレス応答

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

体性幹細胞は、ニッチと呼ばれる微小環境によって維持されることで自己複製能と多分化能を維持する。ニッチは細胞成分であるニッチ細胞と、各種のサイトカインや接着分子、酸素分圧などのニッチ因子によって構成される。加齢によってニッチの機能やニッチ因子の発現異常が起こり、幹細胞支持能が低下して幹細胞システムに異常が発生すると考えられているが、そのメカニズムは不明である。哺乳類成体の造血の場である骨髄は、多種多様な細胞が混在する複雑な組織である。哺乳類成体が生涯にわたり血球細胞を産生し続けるためには、造血の場である骨髄のニッチで、造血幹細胞が適切に維持されることが必須である。造血幹細胞ニッチの構成要素は、間葉系幹細胞、骨芽細胞、脂肪細胞などの間葉系細胞と血管内皮細胞、それに研究代表者らが発見した巨核球などの血球細胞や酸素分圧などから構成される。

これまでの幹細胞ニッチ研究は、主にノックアウトマウスを用いて、定常状態のニッチ細胞に必要な分子機構の同定を行ってきた。特に、古典的な幹細胞の定義である自己複製能や多分化能の解析に重点を置きすぎた結果、解析に長期間を要する加齢に伴うニッチの変容や、それに伴う幹細胞の数や性質の変化については、詳細な解析がされてこなかった。また、細胞老化研究において、「幹細胞システムの各構成細胞の細胞老化」と「臓器レベルの加齢に伴う異常」とをシームレスに説明することは困難であった。

こうした状況で、研究代表者の田久保は、これまでに哺乳類造血幹細胞が成体で骨髄の低酸素ニッチに存在し、細胞周期を静止期に止めていることを見出してきた。このような低酸素ニッチで、造血幹細胞は低酸素応答で重要な役割を果たす転写因子 HIF-1 を安定化・活性化し、ピルビン酸脱水素酵素リン酸化酵素 (pyruvate dehydrogenase kinase; Pdk) の発現誘導を介した解糖系メインのエネルギー代謝と静止期維持を行う。造血幹細胞はこうして過剰な細胞周期の進行を抑制し、細胞老化を防いで、生涯に亘り造血を維持することを見出した (Cell Stem Cell 2010, 2013)。さらに、古典的なニッチ細胞である間葉系細胞以外にも、造血幹細胞から分化する巨核球もニッチとなる可能性を見出していた。一方、研究分担者の大谷は、細胞老化が誘導されるとエピゲノム状態が変化し、炎症性サイトカインやプロテアーゼなど様々な分泌タンパクを産生する形質 (senescence-associated secretory phenotype; SASP) を取ることを明らかにした (Mol Cell 2012)。さらに、細胞老化反応のイメージングマウスを駆使して、腸内細菌由来の代謝産物が SASP を誘導してがん微小環境を変化させることを示した (Nature 2013)。こうした知見は、ニッチの代謝産物変化や、細胞老化に伴う SASP を含む形質変化が、加齢に伴って幹細胞とニッチの相互作用が変化する際に大きな役割を果たし、臓器・組織の老化に寄与することを示している。そのため幹細胞ニッチから加齢に伴う幹細胞システムの変容の解明を行うことの重要性は高いと考えられた。

2. 研究の目的

幹細胞はニッチによって維持される。ニッチと幹細胞の相互作用の加齢に伴う変容は組織恒常性を失わせる要因となるが、その詳細は不明である。本研究では、造血幹細胞システムをモデルとして、加齢に伴ってニッチと造血幹細胞の相互作用がいかに変容し、造血幹細胞システム全体に影響を及ぼすかに焦点を当てて研究を進める。そのために造血幹細胞や細胞老化のイメージングを行い加齢ニッチの変容を検証し、トランスクリプトーム・メタボローム解析による加齢に伴う幹細胞ニッチの質的変化の詳細を明らかにする。さらに得られた知見から、加齢に伴う幹細胞ニッチの劣化を予防する戦略の開発や、体外で幹細胞を老化させることなく維持する方法の確立を目指す。

3. 研究の方法

(1) ニッチの加齢に伴う変容を検証する。

加齢マウスや早老症モデルマウス、放射線照射によるニッチ細胞老化誘導マウスを用いて各種ニッチ細胞の動態や、ニッチ因子や SASP 因子に注目しながら網羅的遺伝子発現解析を行う。また、加齢ニッチの代謝変動を同定するため、ニッチ細胞と造血幹細胞の代謝特性と代謝産物量、さらにその分布を解析する。一方、造血幹細胞ニッチが加齢に伴い SASP 形質を獲得する分子機構を解明するために、ニッチ細胞や造血幹細胞のトランスクリプトームを単一細胞レベルで解析する。

(2) 加齢ニッチによる幹細胞システムの恒常性障害を解析する。

造血幹細胞とニッチの相互作用の変化を同定するため、それぞれを標識した加齢マウスモデルの骨髄ニッチの構造を解析する。また、造血幹細胞の動態や、産生される分化細胞系譜の変化を検討する。加齢ニッチによる幹細胞への影響を培養系でも検証する。

(3) ニッチによる造血幹細胞加齢防止技術を開発する。

ニッチ細胞由来の幹細胞傷害因子を同定し、その抑制実験をマウスで行い、ニッチ環境の正常化で幹細胞を加齢変化から守ることを目指す。また、幹細胞を細胞老化させずに体外で維持する技術の開発を行う。

4. 研究成果

(1) 加齢に伴う骨髄のニッチ細胞や造血幹細胞のトランスクリプトーム変化を単一細胞レベルで解析した結果、ニッチ細胞や造血幹細胞の加齢変化は線維芽細胞等で認められるような細胞老化とは遺伝子発現的にも細胞生物学的にも異なる性質を持っていることが示された。特に、典型的な細胞老化関連遺伝子の発現は加齢したニッチ細胞や造血幹細胞では発現変化していないことが明らかとなった。また、その解析過程では造血幹細胞から分化する巨核球が骨髄に存在する新規の造血幹細胞のニッチ細胞として同定された(J Exp Med 2015)。

(2) 加齢ニッチによる幹細胞システムで生じる恒常性維持機構の変容を解析したところ、各種細胞の動態に変調が生じることを見出した。また、かつて造血幹細胞の加齢変化を誘導する重要なシグナル経路として報告された p38MAPK 経路についての再解析を実施したところ、急性ストレスに対してストレス造血で対応するべく造血幹細胞が増殖開始する際に必要であることを見出した。メタボローム解析とノックアウトマウスの幹細胞生物学的解析を組み合わせた検討を行った結果、p38MAPK は下流で Mitf-Impdh2 経路を活性化し、その結果プリン体合成経路の活性化を通じて増殖開始に必要なことが示された(Cell Stem Cell 2016)。これは、造血幹細胞の代謝プログラムは固定されているわけではなく、状況に応じてダイナミックにリプログラムされて骨髄修復に寄与することを示唆するものである。また、造血幹細胞とニッチのエイジングにつながると考えられる感染ストレスによって、骨髄のニッチが構造的にも細胞の構成的にも、そして機能的にも変化して、感染応答に最適化することも見出された(Cell Rep 2015)。

(3) 造血幹細胞を体外でその性質(移植生着能や細胞周期の静止期性、代謝特性等)を維持することは困難で、培養によって加齢変化などの様々な変調が生じることが知られていた。そこでこれらを解決し、静止期造血幹細胞を維持するために様々な代謝物やサイトカインの効果を検討したところ、新たに静止期造血幹細胞の体外維持培養法の開発に成功した(Cell Rep 2019)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計5件)

Kobayashi H, Morikawa T, Okinaga A, Hamano F, Hashidate-Yoshida T, Watanuki S, Hishikawa D, Shindou H, Arai F, Kabe Y, Suematsu M, Shimizu T, Takubo K. Environmental Optimization Enables Maintenance of Quiescent Hematopoietic Stem Cells Ex Vivo
Cell Rep. 2019 in press 査読有

Karigane D, Kobayashi H, Morikawa T, Ootomo Y, Sakai M, Nagamatsu G, Kubota Y, Goda N, Matsumoto M, Nishimura EK, Soga T, Otsu K, Suematsu M, Okamoto S, Suda T, Takubo K. p38 Activates Purine Metabolism to Initiate Hematopoietic Stem/Progenitor Cell Cycling in Response to Stress.
Cell Stem Cell. 2016 Aug 4;19(2):192-204. 査読有

doi: 10.1016/j.stem.2016.05.013. Epub 2016 Jun 23.

#Nakamura-Ishizu A, #Takubo K (# equal contribution), Kobayashi H, Suzuki-Inoue K, Suda T. CLEC-2 in megakaryocytes is critical for maintenance of hematopoietic stem cells in the bone marrow. J Exp Med. 2015 Nov 16;212(12):2133-46. 査読有
doi: 10.1084/jem.20150057.

Kobayashi H, Kobayashi CI, Nakamura-Ishizu A, Karigane D, Haeno H, Yamamoto KN, Sato T, Ohteki T, Hayakawa Y, Barber GN, Kurokawa M, Suda T, Takubo K. Bacterial c-di-GMP affects hematopoietic stem/progenitors and their niches through STING.
Cell Rep. 2015 Apr 7;11(1):71-84. 査読有

doi: 10.1016/j.celrep.2015.02.066.

〔学会発表〕(計5件)

Keiyo Takubo, シンポジウム講演「Metabolic regulation of hematopoietic stem cells and their niche during aging」, 第41回日本分子生物学会年会、2018年

田久保圭誉, 教育講演「異常造血と幹細胞ニッチ」, 第79回日本血液学会総会、2017年

Keiyo Takubo, Scientific Working Group on “Metabolic regulation of stem cell” 講演、「p38 protects hematopoietic stem/progenitor cells in acute and aging stresses」, 第22回ヨーロッパ血液学会総会、2017年

田久保圭誉, 教育講演「幹細胞の代謝制御機構」, 第77回日本血液学会総会、2015年

Keiyo Takubo, シンポジウム講演「Stress response signaling in maintenance of hematopoietic stem cells」, 第76回日本血液学会総会、2014年

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 造血幹細胞を維持培養するための培地、及びそれを用いた培養方法

発明者：田久保圭誉、小林央
権利者：同上
種類：特許
番号：特願 2018-100036
出願年：2018 年
国内外の別： 国内

〔その他〕
ホームページ等
<https://takubolab.com>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：大谷直子
ローマ字氏名：OHTANI, Naoko
所属研究機関名：大阪市立大学
部局名：大学院医学研究科
職名：教授
研究者番号 (8 桁): 50275195

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、研究者個人に帰属されます。