

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09900

研究課題名(和文) エピジェネティクス機構による造血幹細胞の老化制御メカニズム

研究課題名(英文) Mechanisms of hematopoietic stem cell aging regulated by epigenetic system

研究代表者

仁田 英里子 (Nitta, Eriko)

神戸大学・医学研究科・助教

研究者番号：80401123

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：老化に伴う造血幹細胞の変化と造血機能に与える影響について、Bmi1過剰発現マウスを用いて解析を行い、造血幹細胞において、Bmi1標的遺伝子の一部が加齢に伴って脱抑制し発現上昇していることを明らかにした。Bmi1を過剰発現させることで標的遺伝子の脱抑制を阻止すると、個々の造血幹細胞の機能が增强され、通常では加齢に伴って減弱する造血幹細胞機能を維持できることを示した。これらの内容および並行して進めてきた造血幹細胞ニッチの老化制御について2報の論文にまとめて投稿し、それぞれ掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

老化に伴う幹細胞機能の低下は、組織の、さらには個体の老化を引き起こす要因であり、幹細胞の老化機構の解明は人類の老化を解き明かし、老化の予防法の開発に役立つものである。本研究により、加齢に伴う幹細胞機能の低下にはBmi1による標的遺伝子抑制の減弱が一因となっていることが明らかとなり、さらにはBmi1を強制発現することで標的遺伝子の抑制を保ち、幹細胞機能を維持することができた。Bmi1をはじめとしたエピジェネティクス因子により、老化を制御する可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文)： Bmi1 defines the regenerative capacity of HSCs. We attempted to ameliorate the age-related decline in HSC function by modulating Bmi1 expression. The forced expression of Bmi1 did not attenuate myeloid-biased differentiation of aged HSCs. However, single cell transplantation assays revealed that the sustained expression of Bmi1 augmented the multi-lineage repopulating capacity of aged HSCs. ChIP-sequencing of Bmi1 combined with an RNA sequence analysis showed that the majority of Bmi1 direct target genes are developmental regulator genes marked with a bivalent histone domain. The sustained expression of Bmi1 strictly maintained the transcriptional repression of their target genes and enforced expression of HSC signature genes in aged HSCs. Therefore, the manipulation of Bmi1 expression is a potential approach against impairments in HSC function with aging.

Bmi1 also keeps the adipogenic differentiation program repressed in BM stromal cells to maintain the integrity of the HSC niche.

研究分野：血液内科学

キーワード：造血幹細胞 エピジェネティクス 老化 ポリコーム複合体 クロマチンリモデリング シングルセル

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

世界的な高齢化を迎えようとする現代社会において、生理的老化に対する理解は不可欠である。我々はこれまで組織の恒常性維持を担う幹細胞の老化制御に注目してきたが、近年の研究から老化過程におけるエピジェネティクスによる造血幹細胞制御の重要性に注目した。造血幹細胞では個体の加齢に伴って数の減少や DNA 損傷の増加と同時に、リンパ系の減少と顆粒球系への分化偏向を生じ細胞構成の変化を伴う。このような性質の変化は経時的な進行が避けられず、ストレス応答の蓄積というより発生の続きの様にプログラムされたものと考えられる。その仮説に則れば、造血幹細胞には内在性にその性質を変化させながら腫瘍の発症を抑制しつつ幹細胞機能を維持する機構を備えているのかもしれない。老化は遺伝子情報の改変を伴わずに起こるため、発生と同様に細胞の運命決定を行うエピジェネティクス機構により制御される可能性が考えやすい。

2. 研究の目的

造血幹細胞の維持を担うポリコム複合体に注目し、エピジェネティクスによりプログラムされた幹細胞の加齢変化の分子機構を明らかにする。さらにポリコム複合体による骨髄ニッチ制御についても検証し、内因性・外因性に扇動される造血幹細胞の老化制御機構とその生理的意義について多角的な解明を目指す。

3. 研究の方法

ポリコム複合体による造血幹細胞の老化制御の分子機構を、Bmi1 過剰発現および Bmi1 コンディショナルノックアウトなどのモデルマウスを用いて明らかにする。

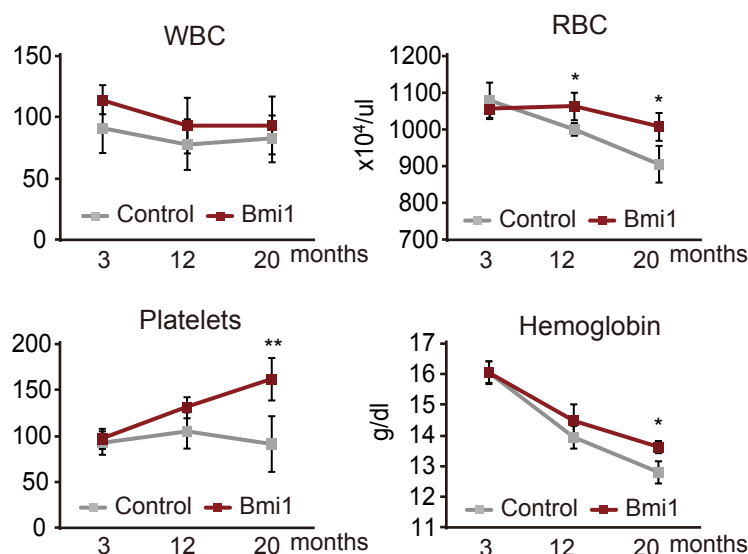
(1) Bmi1 過剰発現マウスについて、造血幹細胞の加齢に伴う変化を解析し、Bmi1 による造血幹細胞の老化制御の分子機構を解明する。

(2) 骨髄ニッチ特異的に Bmi1 を欠損するコンディショナルノックアウトマウスを用いて、Bmi1 が骨髄ニッチ特異的すなわち外因性に造血組織を老化制御する可能性を探る。

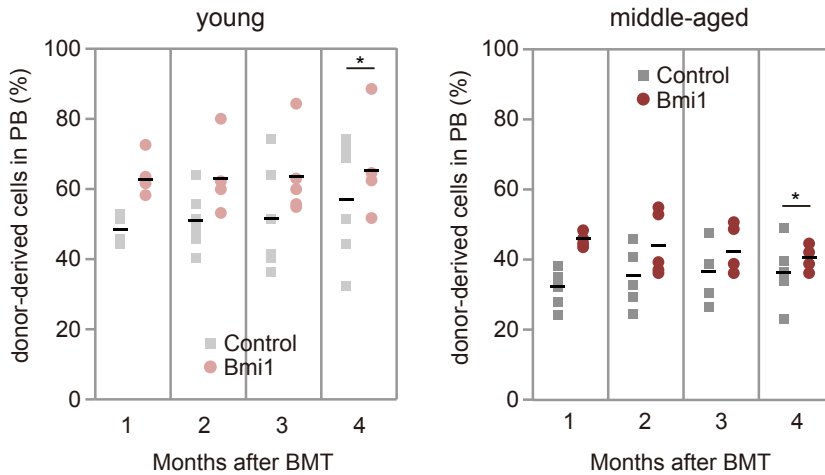
4. 研究成果

(1) Bmi1 過剰発現マウスについて、造血幹細胞の加齢に伴う変化を解析した。

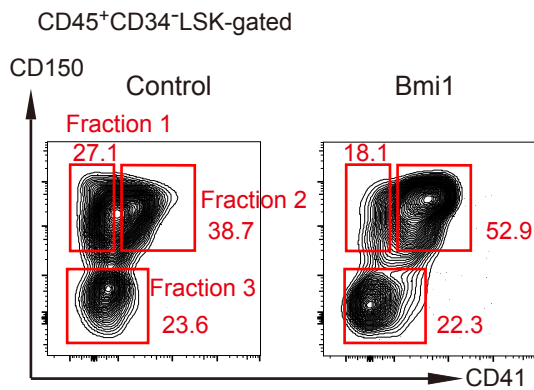
① Bmi1 を過剰発現することにより、マウスは約 2 年の老齢でも貧血や血小板減少の進行が軽度で、造血が維持されていた。



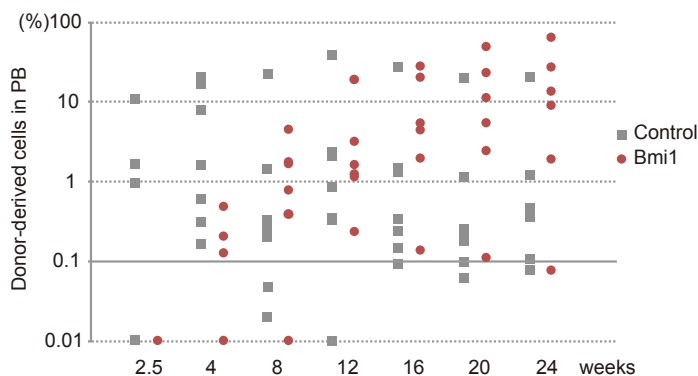
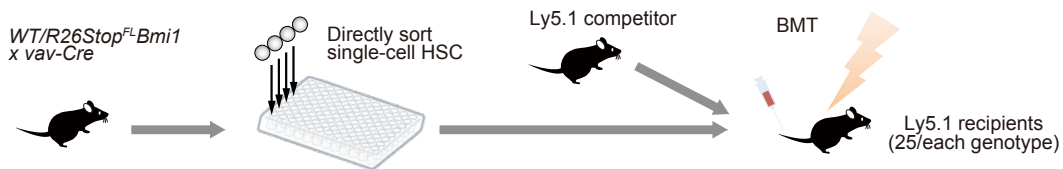
②骨髄移植解析により、このとき Bmi1 過剰発現マウスでは造血幹細胞の幹細胞機能、すなわち長期再構築能と自己複製能が増強していることを明らかにした。



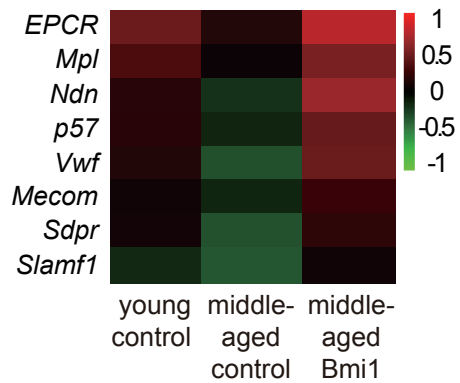
③老齢マウスにおける骨髄造血細胞分画の詳細な解析を行うと、Bmi1 過剰発現マウスでは最も未分化な静止期幹細胞を含む CD41 陰性分画が減少し、加齢に伴って増加することが知られる CD41 陽性の分画が増加して、造血細胞分画の構成はむしろ老化形質が増強する様に見られた。



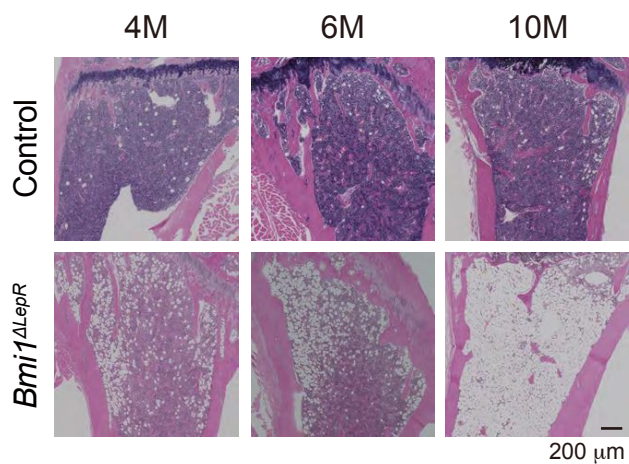
④シングルセル移植を行い幹細胞の長期再構築能を保持している細胞の由来を確認すると、野生型同様 CD41 陰性分画に存在しており、Bmi1 は造血幹細胞の見た目上の形質は変えずに幹細胞機能を増強していると考えられた。つまり Bmi1 は加齢に伴って造血幹細胞を数的に制御するのではなく、元々存在する少数の造血幹細胞の機能を増強することに貢献しており、また分化については関与しないか、むしろ老化に似た方向へ制御している可能性を示唆した。



⑤これらのマウスの造血幹細胞を用いた ChIP シークエンス及び RNA シークエンスを行って Bmi1 の標的遺伝子を同定し、さらには野生型では加齢に伴ってこれらの Bmi1 標的遺伝子のいくつかが発現抑制して発現が増加することを明らかにした。造血幹細胞は老化に伴ってこれらの分子が発現することで幹細胞性が失われることを示し、Bmi1 の過剰発現により抑制を保つことで造血幹細胞が維持できる可能性を示唆した。



(2) Bmi1 を骨髄ニッチ特異的に欠損するコンディショナルノックアウトマウスを作成したところ、骨髄の脂肪化が促進しており、特に老齢マウスや放射線照射ストレス負荷後の回復期で顕著であった。この脂肪化が促進した骨髄では造血幹前駆細胞の数が減少しており、造血幹細胞維持能が低下していると考えられる。これらの結果から Bmi1 は骨髄ニッチを健全に保ち、外因性に造血幹細胞の維持、ひいては造血組織の老化を抑制していることが示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nitta E, Itokawa N, Yabata S, Koide S, Hou LB, Oshima M, Aoyama K, Saraya A, Iwama A.	4. 巻 521
2. 論文標題 Bmi1 counteracts hematopoietic stem cell aging by repressing target genes and enforcing the stem cell gene signature.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 612-619
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.10.153.	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 Kato Y, Hou LB, Miyagi S, Nitta E, Aoyama K, Shinoda D, Yamazaki S, Kuribayashi W, Isshiki Y, Koide S, Si S, Saraya A, Matsuzaki Y, van Lohuizen M, Iwama A.	4. 巻 76
2. 論文標題 Bmi1 restricts the adipogenic differentiation of bone marrow stromal cells to maintain the integrity of the hematopoietic stem cell niche.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Exp Hematol.	6. 最初と最後の頁 24-37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.exphem.2019.07.006.	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 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 仁田英里子
2. 発表標題 Regulation of hematopoietic stem cell aging by Polycomb group protein Bmi1.
3. 学会等名 第79回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学大学院医学研究科 生理学・細胞生物学講座 生体構造解剖学分野
http://www.med.kobe-u.ac.jp/anato1/Anat1_home.html

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
--	---------------------------	-----------------------	----