

自己評価報告書

平成 23 年 4 月 8 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390270

研究課題名 (和文) 生態学的適所における造血幹細胞分裂の分子基盤の解明

研究課題名 (英文) Analysis of self-renewal of hematopoietic stem cells in their niche

研究代表者

高倉 伸幸 (TAKAKURA NOBUYUKI)

大阪大学・微生物病研究所・教授

研究者番号：80291954

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：幹細胞、発生分化、自己複製、ニッチ、再生医学

1. 研究計画の概要

造血幹細胞は、胎児期において幹細胞は組織形成のために細胞周期を回転させている状況であるが、成体においては細胞周期が遅延化し、多くの幹細胞は休眠状態にあるとされてきたが、その細胞周期の相違についての分子機序についてはまだ明確にはされていない。我々は、従来の研究により、幹細胞の細胞周期を司ることを示してきた受容体 Tie2 の下流シグナルの解析から、DNA 複製因子 PSF1/SLD5 が造血幹細胞の細胞周期における正の制御因子であり、Galectin-3 が負の制御因子であることを示唆する所見を得てきた。そこで本研究では、Galectin-3 の発現および Tie2 の活性化状態とともに、胎児および成体の造血幹細胞の生態学適所における幹細胞の細胞分裂活性を解明する。また、PSF1 遺伝子のプロモーター領域のエピジェネティックな制御機構を解明することにより、PSF1 の発現を誘導する上流因子の解明へとつなげ、造血幹細胞の自己複製に関わる幹細胞因子の同定をはかることを目的とする。

2. 研究の進捗状況

Gal-3 を造血幹細胞に特異的に過剰発現できる遺伝子改変マウスを Cre-LoxP システムにより作製して、このことにより造血幹細胞の細胞周期の遅延化が生じることが明らかになった。また逆に Gal-3 ノックアウトマウスを解析し、本マウスでは造血前駆細胞分画が増加していることが示された。そこで、Gal-3 ノックアウトマウス骨髄由来の造血幹細胞を野生型マウスに骨髄移植し、長期にわたる観察により、ノックアウトマウス由来造血幹細胞の細胞分裂を解析したところ、Gal-3 ノックアウトマウス由来の造血幹細胞は、2回

目の骨髄移植以降、造血幹細胞への貢献性が次第に失われていくことが判明した。また、PSF1 ヘテロ欠損マウスでは、抗がん剤投与後の骨髄回復に際して、造血幹細胞の急速な自己複製が抑制されることが判明した。PSF1 は転写開始点の相違により、完全長のもので、不完全な短い PSF1 が産生されることを解明してきた。CD34 陰性～弱陽性の休眠中の造血幹細胞では、主に短い PSF1 が産生されており、CD34 陽性の増殖期の造血幹細胞では、完全長の PSF1 の産生が観察された。このことは PSF1 遺伝子のプロモーター領域において、PSF1 の発現をコントロールすることにより、短い PSF1 の産生により造血幹細胞の DNA 複製を抑制して幹細胞の細胞周期を負に制御していることが予想された。これまで PSF1 遺伝子の 1 番目のエクソンの上流 5 kb までのプロモーター領域を単離して、どの領域が PSF1 の転写活性に重要であるかを調べる準備を行ってきた。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。
その理由として、Gal-3 に関してはすでに造血幹細胞の細胞周期への影響を解析し終えており、論文投稿に至っている。また、PSF1 の造血幹細胞自己複製に関する成果は論文として発表している。

4. 今後の研究の推進方策

PSF1 のプロモーターに結合して造血幹細胞の細胞周期を制御する因子として、E2F ファミリー分子を予想している。そこで、いずれの E2F が重要であるのか、ChIP 解析を行い、実際に結合している転写因子の同定を行う。次いで、最も可能性のある E2F 分子から順番に

PSF1 を恒常的に発現するがん細胞株において遺伝子ノックダウンを行い、実際に E2F ファミリー分子の PSF1 発現における重要性を解明する。

5. 代表的な研究成果

(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 21 件)

① Kidoya H, Naito H, Takakura N. Apelin induces enlarged and nonleaky blood vessels for functional recovery from ischemia. *Blood* 115, 3166-74, 2010, 査読あり

② Katoh SY, Kamimoto T, Yamakawa D, Takakura N. Lipid rafts serve as signaling platforms for Tie2 receptor tyrosine kinase in vascular endothelial cells. *Exp Cell Res*, 315(16), 2818-23, 2009, 査読あり

③ Nagahama Y, Ueno M, Miyamoto S, Morii E, Minami T, Mochizuki N, Saya H, Takakura N. PSF1, a DNA replication factor expressed widely in stem and progenitor cells, drives tumorigenic and metastatic properties. *Cancer Res*. 70,1215-24, 2010, 査読あり

④ Ueno M, Itoh M, Sugihara K, Asano M, and Takakura N. Both alleles of *PSF1* are required for maintenance of pool size of immature hematopoietic cells and acute bone marrow regeneration. *Blood* 113,555-562, 2009, 査読あり

⑤ Kidoya H, Ueno M, Yamada Y, Mochizuki N, Nakata M, Yano T, Fujii R, Takakura N. Spatial and temporal role of the apelin/APJ system in the caliber size regulation of blood vessels during angiogenesis. *EMBO J*. 27,522-534, 2008, 査読あり

[学会発表] (計 23 件)

① 高倉伸幸、造血系と血管系における幹細胞の休眠化、第 9 回日本再生医療学会総会、2010 年 3 月 18 日、広島

② 高倉伸幸、がん幹細胞の生態学的適所の解明、第 98 回日本病理学会総会、2009 年 5 月 1 日、京都

③ Nobuyuki Takakura、Visualization of cancer stem cells and their vascular niche、第 71 回日本血液学会総会、2009 年 10 月 24 日、京都

④ Nobuyuki Takakura, Maturation of Blood Vessels by Hematopoietic Stem Cells. The 9th International Conference on Angiogenesis: Basic Science and Clinical Applications, June 24, 2008, Patras, Greece

⑤ Nobuyuki Takakura, Maturation of Blood Vessels by Hematopoietic Stem Cells. The 15th International Vascular Biology Meeting, June 3, 2008. Sydney, Australia

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (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

<http://st.biken.osaka-u.ac.jp/>