

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17370

研究課題名（和文）シングルセル解析を用いた加齢造血幹細胞の機能低下機序の解明とその機能回復の試み

研究課題名（英文）Elucidation of the Mechanism of Functional Decline of Aged Hematopoietic Stem Cells and Attempts to Restore Their Function.

研究代表者

小出 周平 (Koide, Shuhei)

東京大学・医科学研究所・特任研究員

研究者番号：10845126

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、若齢・中間齢・高齢マウスから造血幹細胞を回収し、single cell RNA-sequence解析から加齢に伴う機能低下の分子機序をトランスクリプトームから明らかにした。解析の結果、これまで高齢マウスで認められる機能不全型の造血幹細胞は中間齢マウスにおいて既に顕在化しており、分子シャペロンであるClusterin (Clu)が高度に発現していることが明らかとなった。

Cluレポーターマウスの解析結果から、Clu陽性細胞は加齢に伴い支配的に増加すること、加齢に伴う造血障害はCluの発現に起因す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

近年世界的な高齢化を背景として、老化研究に対する高い注目が集まっている。本研究内容である造血幹細胞の老化は、加齢関連疾患として知られる造血器腫瘍発症の母地として機能すると考えられている。本研究結果として、加齢造血幹細胞の機能不全マーカーであるCluの同定に成功した。今後、Cluの発現制御を試みることで、白血病を始めとした老化関連疾患の予防、並びに治療法確立が期待される。

研究成果の概要（英文）：In this study, HSCs were collected from young, middle-aged, and aged mice, and single cell RNA-sequence analysis was performed to elucidate the molecular mechanisms of age-related functional decline in the transcriptome. The analysis revealed that the dysfunctional HSCs observed in aged mice were already manifested in middle-aged mice, and that the molecular chaperone Clusterin (Clu) was highly expressed in these mice.

Analysis of Clu reporter mice revealed that Clu-positive cells dominantly increase with age and that age-related hematopoietic defects are attributable to Clu expression.

研究分野：造血幹細胞

キーワード：造血幹細胞 老化 造血器腫瘍 シングルセル解析

1. 研究開始当初の背景

血液細胞は全身を常に循環し続けることで臓器・組織への栄養供給並びに伝達物質を輸送することで個体維持に重要な機能を担う。その機能低下は全身に影響を及ぼし、個体の機能低下と直結する。造血幹細胞は骨髄ニッチに存在しながら、状況に応じて必要な血液細胞を供給し続けるが、個体の加齢に伴い内因性・外因性の多様なストレスに暴露されることで表現型の変化をきたす。これらの加齢に伴う表現型の変化は結果として造血幹細胞の機能低下へと繋がる。造血幹細胞の機能低下は、貧血やリンパ球の減少・機能不全による免疫系の減弱など造血システムの破綻をもたらし、酸素供給不全や慢性的な炎症などの全身の臓器に影響を及ぼすことで、個体の機能低下を促進する。さらに、加齢に伴う造血幹細胞の特性変化は、加齢に伴い頻度が増加する造血腫瘍の温床となるように、造血幹細胞の機能低下は個体の機能低下に直結する。したがって、加齢を造血幹細胞の観点から理解することは重要な学術的意義を有する。これらの加齢に伴う機能的変化は詳細に解析されつつあるが、その機能を規定する遺伝子発現とその分子基盤は未だ十分には解明されていないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究においては、各ライフコースにおけるマウス造血幹細胞の機能的変化の特性を遺伝子発現とクロマチン構造変化の観点からシングルセルレベルで明らかにし、加齢造血幹細胞の機能低下の基盤となる分子機序を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

若齢期 (10 週齢)、中齢期 (12 ヶ月齢)、高齢期 (20 ヶ月齢) のマウスから採取した造血幹細胞を 10x system を用いてシングルセルで RNA-sequence 解析を行い、加齢に伴うトランスクリプトームの特性を解析した。これらの情報から表面抗原としては均一な造血幹細胞集団の中の亜集団を同定し、その不均一性 (ヘテロジェネイティー) を明らかにする。特に加齢造血幹細胞においてどのような転写ネットワークが活性化あるいは活性化準備状態にあるかを比較検討し、加齢造血幹細胞の機能低下マーカーの同定を試みた。

4. 研究成果

若齢期 (10 週齢)、中齢期 (12 ヶ月齢)、高齢期 (20 ヶ月齢) のマウス造血幹細胞をシングルセル RNA-sequence 解析の結果、若齢期の造血幹細胞は中齢期・高齢期とは明確に異なる遺伝子発現特性を示した (図 1)。

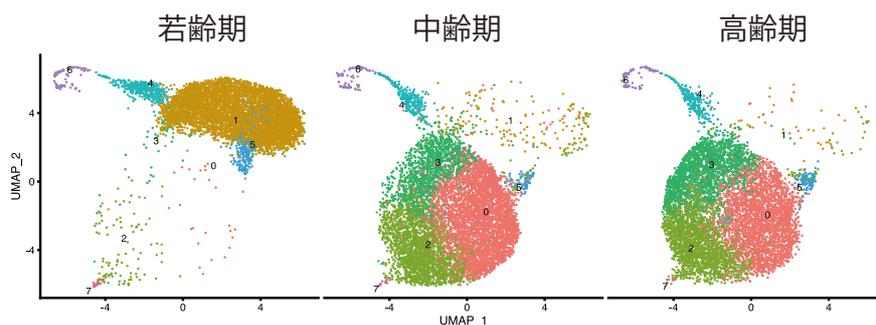


図 1 各ライフコースにおける造血幹細胞のシングルセル RNA-sequence 解析

また、シングルセル解析結果から細胞周期の補正した後、加齢造血幹細胞で特徴的な遺伝子を抽出したところ、分子シャペロンである Clu が中齢期と高齢期で高発現していることが明らかとなった (図 2)。

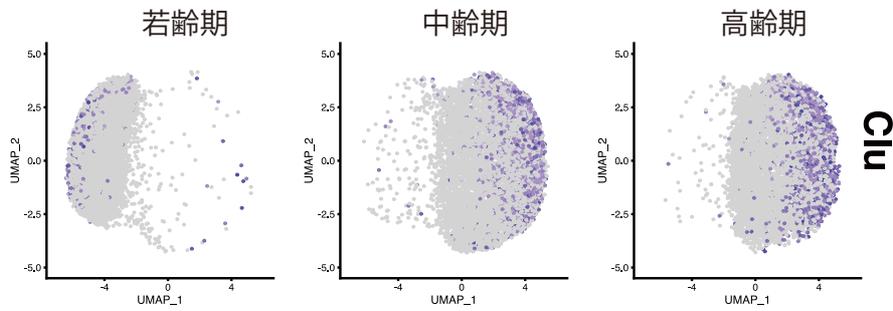


図2 各ライフコースにおける Clu の転写発現

続いて、Clu の発現が造血幹細胞の加齢に伴い亢進することから、Clu 陽性造血幹細胞の機能性を解析した。Clu 遺伝子領域の GFP 配列を挿入した Clu レポーターマウスを導入し、若齢マウスから採取した Clu 陽性と陰性の造血幹細胞を致死量放射線照射したマウスに移植を行った。その結果、Clu 陽性造血幹細胞は陰性造血幹細胞と比べて骨髄再構築能を評価する CD45 の割合が有意に低く、骨髄球系 (Myeloid) に分化能を有し、

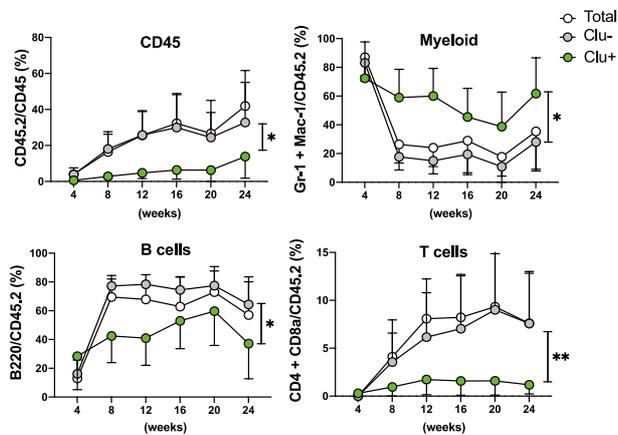


図3 骨髄移植による Clu 発現造血幹細胞の機能解析

リンパ球系 (B cell, T cell) への分化能が低いことなど加齢造血幹細胞と類似した表現型が確認された(図3)。

以上の結果から、造血幹細胞の機能不全型新規マーカーとして Clu の同定に成功した。今後さらなる解析を進め、Clu の発現制御機序の解明と老化関連疾患として知られる造血器腫瘍発症の抑制効果の検討を行う。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 6件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kuribayashi W, Oshima M, Itokawa N, Koide S, Nakajima-Takagi Y, Yamashita M, Yamazaki S, Rahmutulla B, Miura F, Ito T, Kaneda A, Iwama A.	4. 巻 3
2. 論文標題 Limited rejuvenation of aged hematopoietic stem cells in young bone marrow niche	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Exp Med	6. 最初と最後の頁 e20192283
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1084/jem.20192283	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
1. 著者名 Aoyama K, Shinoda D, Suzuki E, Nakajima-Takagi Y, Oshima M, Koide S, Rizq O, Si S, Tara S, Sashida G, Iwama A.	4. 巻 4
2. 論文標題 PRC2 insufficiency causes p53-dependent dyserythropoiesis in myelodysplastic syndrome	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Leukemia	6. 最初と最後の頁 1156-1165
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41375-020-01023-1	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
1. 著者名 Koide S, Sigurdsson V, Radulovic V, Saito K, Zheng Z, Lang S, Soneji S, Iwama A, Miharada K.	4. 巻 1
2. 論文標題 CD244 expression represents functional decline of murine hematopoietic stem cells after in vitro culture	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103603
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2021.103603	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
1. 著者名 Sezaki Maiko, Biswas Subinoy, Nakata Sayuri, Oshima Motohiko, Koide Shuhei, Ho Nicole Pui Yu, Okamoto Nobukazu, Miyamoto Takeshi, Iwama Atsushi, Takizawa Hitoshi	4. 巻 30
2. 論文標題 CD271+CD51+PALLADIN-Human Mesenchymal Stromal Cells Possess Enhanced Ossicle-Forming Potential	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cells and Development	6. 最初と最後の頁 725 ~ 735
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/scd.2021.0021	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

1. 著者名 Kayamori K, Nagai Y, Zhong C, Kaito S, Shinoda D, Koide S, Kuribayashi W, Oshima M, Nakajima-Takagi Y, Yamashita M, Mimura N, Becker HJ, Izawa K, Yamazaki S, Iwano S, Miyawaki A, Ito R, Tohyama K, Lennox W, Sheedy J, Weetall M, Sakaida E, Yokote K, Iwama A.	4. 巻 5
2. 論文標題 DHODH inhibition synergizes with DNA-demethylating agents in the treatment of myelodysplastic syndromes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 438 ~ 450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2020001461	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

1. 著者名 Murakami K, Kurotaki D, Kawase W, Soma S, Fukuchi Y, Kunimoto H, Yoshimi R, Koide S, Oshima M, Hishiki T, Hayakawa N, Matsuura T, Oda M, Yanagisawa K, Kobayashi H, Haraguchi M, Atobe Y, Funakoshi K, Iwama A, Takubo K, Okamoto S, Tamura T, Nakajima H.	4. 巻 34
2. 論文標題 OGT Regulates Hematopoietic Stem Cell Maintenance via PINK1-Dependent Mitophagy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108579 ~ 108579
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2020.108579	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 小出 周平
2. 発表標題 Unraveling heterogeneity of aged hematopoietic stem cells by single-cell RNA sequence analysis
3. 学会等名 日本血液学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shuhei Koide, Motohiko Oshima, Akira Nishiyama, Koichi Murakami, Naoki Itokawa, Yaeko Nakajima-Takagi, Zhiqian Zheng, Nozomi Yusa, Kazuaki Yokoyama, Kiyoshi Yamaguchi, Seiya Imoto, Yoichi Furukawa, Arinobu Tojo, Tomohiko Tamura, Atsushi Iwama
2. 発表標題 Single-cell RNA-seq reveals alterations in heterogeneity of hematopoietic stem cells with aging
3. 学会等名 ISEH 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------