

サイトカイン応答性による発生・成人期造血幹細胞の維持制御機構の解明

東京女子医科大学 医学部 顕微解剖・形態形成分野 教授

石津 綾子

造血幹細胞 (hematopoietic stem cell: HSC) の分化・増殖により生体の成熟血球が供給される。HSC は胎生期・新生児期に増殖性を示し、生体に必要な HSC 数を獲得したのち、成人にはストレス造血時などに備え、自己複製能を保持し細胞周期静止期状態で維持されている。炎症などのストレス造血時に再び増幅した HSC は造血回復後、再度静止状態へもどる。よって一個体において、一つの HSC は最小限の増殖回数しか経験せず、増殖に関わる DNA ダメージや代謝亢進による活性酸素種産生など様々な複製期ストレスより保護されている。HSC の幹細胞性制御は内因性の因子と胎生期肝臓や骨髄微細環境 (niche) からの外因性の因子が考えられる。しかしながら、胎生・新生児期やストレス造血などの増殖性 HSC が自己複製能や静止期を獲得するメカニズムや分子機構は十分解明されていない。本研究は、胎生期・新生児期・成人期 HSC のサイトカイン応答性の違いに着目し、HSC の代謝制御及び細胞分裂時の DNA 損傷修復機構が HSC の自己複製、分化、静止期維持をいかに制御するかを解析することを目的とした。

肝臓などにて産生されるサイトカイン、Thrombopoietin (Thpo) は外因性制御因子として HSC を制御する。Thpo シグナルは HSC の mitochondria 代謝を制御し、HSC の巨核球系分化への運命決定に関与する (Nakamura-Ishizu *Cell Reports* 2018)。Thpo による HSC の運命制御と mitochondria 代謝機構の関連をさらに解析するため、Thpo 遺伝子欠損マウス (*Thpo*^{-/-}) を解析した。過去の報告と同様、骨髄内静止期 HSC 数の著しい低下を認めた (Qian *Cell Stem Cell* 2007)。*Thpo*^{-/-} マウスに Thpo 受容体作動薬を投与したところ、Wild type (WT) マウスでは HSC 増殖が誘導されたのに対し、*Thpo*^{-/-} マウスでは静止期 HSC の数の著明な増加が認められた。このため、HSC の静止期誘導は Thpo シグナルに依存し、容量依存性である可能性が示唆された。また、*Thpo*^{-/-} 欠損マウスから分離した HSC を競合的骨髄移植を施行したところ、WT HSC と比較し、著変なく Recipient マウスに生着することを確認した。これらの結果は、Thpo 欠損下でもごく少数の HSC は保持され、その維持は Thpo に依存していないことを示唆していた。

Thpo^{-/-} マウス、Wild type (WT) マウスと Thpo 受容体作動薬を投与した両マウスの 4 群より HSC を分離し、RNA シークエンス解析を行った。その結果、*Thpo*^{-/-} マウスでは他の 3 群のマウスと比較し、有意に鉄代謝関連遺伝子の発現変化が認められた。*Thpo*^{-/-} マウスの HSC は WTHSC と比較し有意に細胞質内遊離鉄 (Labile iron pool: LIP) の上昇がみとめられた。細胞内の LIP は ROS 産生などを介し、細胞運命決定に重要である。LIP の多くは mitochondria に trafficking され、様々なタンパク合成に必要な iron-sulfur

cluster の形成、細胞死の誘導などに mitochondria 機能に関わる。そこで、ミトコンドリア鉄特異的なプローブを用いて HSC 内のミトコンドリア鉄を測定したところ、*Thpo*^{-/-}マウス HSC は WTHSC と比較して有意にミトコンドリア鉄高く、*Thpo* 受容体作動薬投与にて改善することが認められた。ミトコンドリア鉄の改善とともに、*Thpo*^{-/-}マウス HSC におけるミトコンドリア ROS、mitophagy、ATP 産生能などの改善が認められた。またミトコンドリア鉄の高低において HSC を分離したところ、ミトコンドリア鉄の高い HSC ほど造血幹細胞能が低いデータを得た。また、ミトコンドリア鉄は胎生期 HSC においてもその細胞増殖性に伴い変動することを示唆するデータをえられた。これらの結果は *Thpo* シグナルを介したミトコンドリア鉄の制御がミトコンドリア機能及び幹細胞機能に大きく影響していることを示唆している。今後、*Thpo* シグナルによるミトコンドリア鉄の制御分子機構に焦点を当て、さらに解析をすすめる予定である。また、成人期と新生児期の *Thpo*^{-/-}マウス由来の HSC が異なった代謝制御があることが考えられ、さらに解析を進める予定である。これらの結果をまとめ、現在投稿論文を準備中である。