

対象研究テーマ：幹細胞あるいはがん幹細胞の特定・可視化に関する研究

研究期間：2012年4月1日～2013年3月31日

研究題目：慢性骨髄性白血病幹細胞ニッチシグナルの同定と制御機構の解明

研究代表者：慶応義塾大学医学部 専任講師 田久保圭誉

研究成果の概要：

マウス慢性骨髄性白血病(CML)を白血病幹細胞(LSC)のモデル系として検討を行い、CMLのLSC分画で発現しているCML LSC抗原のスクリーニングを行い、候補分子を得た。候補分子に対する抗体を用いてさらにLSC分画を細分化したところ、分画ごとにサイトカインやLSCを維持するニッチ因子の発現が異なっていることを見出した。さらに、連続移植システムによってLSC活性の検討を行ったところCMLは複数のLSC分画を持っていることを見出した。一方、正常の造血幹細胞(HSC)のニッチシグナルについても更なる検討を進め、HSCが他の分化した前駆細胞や終末分化した血球細胞に比べて解糖系優位のエネルギー産生を行っており、分子機構としてはピルビン酸脱水素酵素リン酸化酵素(Pdk)による解糖系からミトコンドリアTCAサイクルへの代謝流束の抑制が重要であることを見出した。さらに、Pdk様化合物によって体外でHSCを静止状態に保つことが可能になった。

研究分野：がん生物学

キーワード：幹細胞ニッチ、白血病幹細胞、造血幹細胞、低酸素応答

1. 研究開始当初の背景

HSCは自己複製能と多分化能を保ち、生涯にわたりすべての血球細胞を産生する能力を持つ。その機能を発揮するためには、哺乳類のHSCは骨髄のニッチで維持される。ひとたびこの幹細胞/ニッチの相互作用が破たんすると、幹細胞はその機能を失い、老化したりあるいは腫瘍化の一因になったりすると考えられている。

我々はこれまでに正常のHSCは骨髄の中でも低酸素環境に存在し、VHL/HIF-1 α 制御系によって維持されていることを示してきた(Takubo et al. Cell Stem Cell 2010, Shima et al. Exp Hematol 2010)。本制御系によってHIF-1 α の適切な量が保たれてHSCの細胞周期の静止状態が維持されていることまでを確認してきたものの、その下流で駆動される分子メカニズムは不明であった。さらに、LSCは骨髄でこういったニッチシグナルによって維持されているかも全く未解明であった。CMLはHSCにおいて融合遺伝子BCR-ABLが転座により獲得された結果、BCR-ABLの恒常活性化型チロシンキナーゼ活性によるクローナルな増殖が引き起こされて発症する。これまでにチロシンキナーゼ阻害剤(TKI)によって病勢の良好なコントロールが得られるが、TKI耐性のクローンが出現

すること、LSCをTKIでは確実には根絶できないことなどから、LSCの特性の解明とそれに基づいた標的療法の開発は不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、LSCに対する標的療法開発を行うためにCML LSCをモデルとしたニッチシグナルを受容する表面抗原の同定を行う。また、LSCのカウンターパートとしての正常HSCの細胞特性の解明を行う。

3. 研究の方法

LSCモデルとしてマウス造血幹・前駆細胞LSK細胞にレトロウイルスでBCR-ABLを導入して致死量放射線照射したレシピエントマウスに正常骨髄細胞とともに移植するマウスCMLモデルを用いた。本モデル骨髄LSC分画で特異的に発現している表面抗原を蛍光標識抗体でスクリーニングした。また、同定された抗原の発現に基づいてLSC様分画をさらに細かく分画し、遺伝子発現や生物学的特性を検討する。とりわけ、LSC活性については連続移植モデルを用いて検討を行う。

一方、LSCのカウンターパートとして正常HSCについても生物学的特性、とりわけ

代謝特性についての知見を得るために細胞内の代謝産物の網羅的解析と、その制御分子の同定を行う。また、得られた制御分子のノックアウトマウスを用いて HSC の代謝特性と、幹細胞活性の検討を行う。

4. 研究成果

CML の LSC 分画で発現している CML LSC 抗原のスクリーニングを蛍光標識抗体を使用して行い、候補分子を得た。候補分子に対する抗体を用いてさらに LSC 分画を細分化したところ、分画ごとにサイトカインや LSC を維持するニッチ因子の発現が異なっていることを見出した。連続移植システムによって LSC 活性の検討を行ったところ、これまでの概念では単一の LSC サブセットが存在すると考えられていた CML が、実は複数の LSC 分画を含んでいることを見出した。一方、正常 HSC のニッチシグナルについても更なる検討を進め、HSC が他の分化した前駆細胞や終末分化した血球細胞に比べて解糖系優位のエネルギー産生を行っており、解糖系中間産物を多く含んでいることを見出した。その分子機構としては Pdk による解糖系からミトコンドリア TCA サイクルへの代謝流束の抑制が重要であり、その中でも Pdk2 と Pdk4 を共欠損した HSC は代謝特性を失うだけでなく、ストレス耐性を失って老化しやすいことを見出した。さらに、Pdk 様化合物を用いて体外で HSC を培養したところ、長期培養後も試験管内で静止状態に保つことが可能であり、その結果幹細胞活性を保持させることが可能になった。

5. 主な発表論文等

(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 4 件)

Ikushima YM, Arai F, Hosokawa K, Toyama H, Takubo K, Furuyashiki T, Narumiya S, Suda T.

Prostaglandin E(2) regulates murine hematopoietic stem/progenitor cells directly via EP4 receptor and indirectly through mesenchymal progenitor cells.

Blood. 2013 Mar 14;121(11):1995-2007.

Takubo K, Nagamatsu G, Kobayashi CI, Nakamura-Ishizu A, Kobayashi H, Ikeda E, Goda N, Rahimi Y, Johnson RS, Soga T, Hirao A, Suematsu M, Suda T.

Regulation of glycolysis by Pdk functions as a metabolic checkpoint for cell cycle quiescence in

hematopoietic stem cells.

Cell Stem Cell. 2013 Jan 3;12(1):49-61.

Takaesu G, Inagaki M, Takubo K, Mishina Y, Hess PR, Dean GA, Yoshimura A, Matsumoto K, Suda T, Ninomiya-Tsuji J.

TAK1 (MAP3K7) signaling regulates hematopoietic stem cells through TNF-dependent and -independent mechanisms.

PLoS One. 2012;7(11):e51073.

Takubo K, Suda T.

Roles of the hypoxia response system in hematopoietic and leukemic stem cells.

Int J Hematol. 2012 May;95(5):478-83.

[学会発表] (計 2 件)

Keiyo Takubo

Regulation of Leukemia Initiating Cells in the Hypoxic CML Niche

第 10 回幹細胞シンポジウム(2012 年 5 月 31 日・淡路)

Keiyo Takubo

Regulation of Leukemia Initiating Cells in the Hypoxic CML Niche

第 71 回日本癌学会学術総会(2012 年 9 月 20 日・札幌)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

慶應義塾大学医学部・専任講師

田久保 圭誉

(2) 研究分担者

なし

(3) 本研究所担当者

遺伝子・染色体構築・教授 平尾 敦