

Molecular Mechanisms for self-renewal of tissue stem cells

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/9752

【研究紹介】

組織幹細胞自己複製制御機構の解明

Molecular Mechanisms for self-renewal of tissue stem cells

金沢大学がん研究所がん幹細胞研究センター
遺伝子・染色体構築研究分野

平 尾 敦

はじめに

近年、生体の組織には、それを構成する細胞の源となるいわゆる“幹細胞”が存在していることが明らかとなってきた。それぞれの組織において幹細胞は、その居場所、“ニッチ”に局在し、環境因子からの制御を受けながら前駆細胞へ分化し、細胞の供給に貢献している。同時に、自分自身を作り出すいわゆる自己複製という幹細胞に特有の能力を持つとされている。個体の一生という長期に渡り、幹細胞プールを維持するために、幹細胞には、他の分化した細胞にはない特殊な制御機構が備わっていることが考えられる。筆者らは、組織幹細胞の自己複製の制御機構の分子メカニズムを明らかにすることを研究の中心にしている。幹細胞研究により、組織の再生メカニズムの理解および再生医療の発展に貢献できることを目指している。一方、最近、がん組織の中にも、幹細胞的な役割を持つ“がん幹細胞”の存在が示唆され、がんの治療法開発に向けた新たな標的細胞として注目されている。筆者らはこれまでの組織幹細胞の研究を展開し、がん幹細胞の制御機構の解明を目指している。本稿においては、筆者らがこれまで明らかにしてきた幹細胞、特に造血幹細胞における自己複製制御機構についての知見を紹介する。

造血幹細胞のニッチ

ニッチとは、幹細胞の生物学的適所を意味する。幹細胞のニッチは、概念的に、幹細胞と幹細胞に影響を与える支持細胞から構成される。そもそも、幹細胞のニッチが提唱されたのは、骨髄移植の際、造血幹細胞が、骨髄や脾臓へホーミングする現象を説明する時使われたのがはじめである。特に、造血幹細胞を維持したり各種の細胞への分化を支持する環境因子、すなわち分化に必須のサイトカインを分泌するストローマ細胞を指して使われた。その後、この概念は、他の組織幹細胞にも適応され、造血幹細胞から始まったニッチという概念が、一般的な幹細胞学の中で重要な概念として取り上げられることとなった。

筆者らは、Goodellらの提唱した新しい幹細胞集団、Side Population (SP) を詳細に検討することによって造血幹細胞のニッチの解明にアプローチしてきた。SPとはHoechst33342で細胞内DNAを染色した際の染色性の低い集団であり、細胞表面にABCトランスポーターABC2が発現し、色素を排出することによって形成される細胞集団である。SPは、造血幹細胞が濃縮されているとされているが、筆者らは、SPが幹細胞の中でも細胞周期上静止期(G0期)にいる幹細胞が存在する分画であることを見出した¹⁾。つまり、造血幹細胞の定義を長期骨髄再構築能のある細胞としても、そのような幹細胞は常に同じ場所、

同じ状態にいるわけではない。例えば、通常のマウス成体骨髄中の造血幹細胞の多くはG0期にあるということが報告されているが、抗癌剤やG-CSF投与によって、造血幹細胞は細胞分裂が活発になり、末梢へ動員されはじめる。つまり、造血幹細胞は細胞周期の状態が変化するだけでなく、その局在も変わってくるのである。したがって、幹細胞が細胞表面マーカーによって特定されていても、それは必ずしもニッチにいる幹細胞を反映しない。そこで、筆者らは、ニッチを特定するために、造血幹細胞の中でも静止期にいるものを特定する集団を検索したところ、SP細胞がまさしく静止期にある幹細胞であることが判明した。この細胞集団は、様々なストレスに対して抵抗性を示しニッチにいる幹細胞としての性格もよく持ち合わせていることがわかった。さらに、SPを形成するABCトランスポーターABC2は、がんの薬剤耐性獲得の原因であることから、幹細胞とがん幹細胞の共通性を示唆するものであった。

ATM

筆者らは、造血幹細胞の自己複製制御機構において、細胞周期チェックポイント分子ATM (Ataxia Teleangiectasia Mutated) の造血幹細胞における機能解析を行い、活性酸素の制御が、造血幹細胞の自己複製能に重要であることを明らかにした²⁾。ATMはDNAの損傷や複製停止を感知し、細胞周期を停止させる経路で中心的な役割を果たしている。これらの分子が活性化され、細胞周期の停止、アポトーシスの誘導さらにはDNA修復をすることによって、ゲノムの安定性に寄与している³⁾。ヒトではその機能欠損が、小脳失調や血管拡張症、免疫不全、リンパ腫の発症に加え、早老症を呈することから、ATMは老化制御に重要な働きをしていることが示唆されている。

Atm欠損マウスの造血は、T細胞の分化異常が見られるものの、その他に大きな異常は見られないことが報告されていた。筆者らは、Atm欠損マウスの造血幹細胞を詳細に検討した結果、前駆細胞には大きな障害が見られないのに対して、幹細胞の骨髄再構築能が極端に低下していること、さらに加齢に伴い幹細胞機能の低下による骨髄不全が進行することを見いだした。次に、Atmの欠失がいかにして自己複製を制御しているか検討したところ、活性酸素(過酸化水素)の上昇が、Atm欠損による幹細胞の機能低下の原因であることが判明した。上昇した活性酸素を下げることによって、自己複製能の障害が回復することを観察した。一方、前駆細胞は、活性酸素の上昇の影響を受けないことから、活性酸素制御は幹細胞にとって極めて重要な因子であることが示唆された。さらに遺伝子発現解析を行った結果、

p16^{INK4a}およびp19^{ARF}が上昇していることが判明した。これらの分子の発現上昇が原因かどうかを調べるために、Atm欠損幹細胞にポリコム遺伝子Bmi-1を強発現させて、p16^{INK4a}およびp19^{ARF}の発現を低下させたところ、骨髄再構築能の回復をみたため、これらの分子の上昇が原因であると考えた。p16^{INK4a}あるいはp19^{ARF}のどちらが必須であるかを調べるために、ヒトパピローマウイルス由来E6あるいはE7を強制発現させた。E6は、p19^{ARF}の下流分子であるp53を、E7はp16^{INK4a}の下流遺伝子であるRbの不活化を促す。その結果E7のみが、骨髄機能を回復させた。このことから、p16^{INK4a}-Rb経路が幹細胞の自己複製能の障害に必須であることが判明した(図1)。

p38MAPK

次に、筆者らは、正常の幹細胞の枯渇現象と活性酸素との関連を検討した。加齢マウスの骨髄より造血幹細胞を採取し、骨髄再構築能を検討してもその機能の低下は見られない。そこで、連続して骨髄移植を行うことにより、造血幹細胞の寿命を検討することが試みられてきた。その結果、マウス造血幹細胞の骨

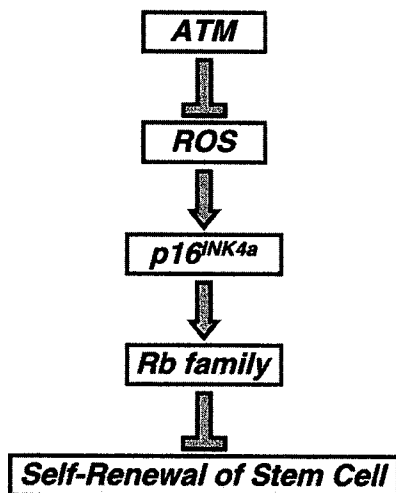


図1. ATMによる幹細胞自己複製維持機構のモデル
造血幹細胞において、ATMは活性酸素の制御に重要な役割を果たしている。ATMが欠失し活性酸素が上昇した際、p16/Rb経路が活性化し幹細胞の自己複製が抑制される。(文献2より改変)

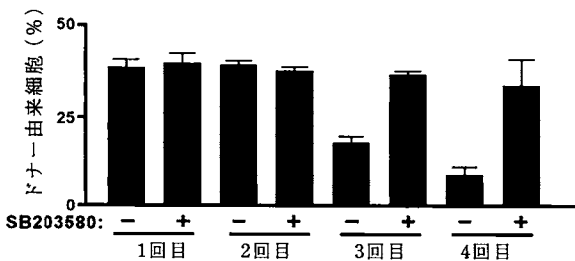


図2. p38MAPK阻害剤による幹細胞骨髄再構築能枯渇の回復
野生型マウス由来KSL細胞を移植し、4ヶ月後にレシピエントマウス骨髄よりドナー由来KSL細胞を採取し、別のレシピエントマウスに移植した。同様の移植を繰り返し、連続骨髄移植を行った。コントロールは、3回移植以降に骨髄再構築能が低下したが、p38MAPK阻害剤(SB203580)を投与することによって回避した。(文献4より改変)

髄再構築能は、5回程度移植すると枯渇現象が観察されること、この枯渇にはテロメアの短縮が関わっていないことが報告された。筆者らは、連続骨髄移植の過程で造血幹細胞において過酸化水素の上昇がみられ、特に3回目以降の移植では極めて高くなること、同時に骨髄再構築能の低下が見られることを観察した。さらに再構築された骨髄細胞の中で、未分化細胞ほど、ストレスキナーゼの一つであるp38MAPKが活性化していることを発見した。比較的若いマウスから採取した骨髄細胞をグルタチオンの枯渇を誘導するBSOにて処理し、過酸化水素を上昇させたところ、コロニー形成能などの造血前駆細胞の機能にはあまり影響がないのと対照的に、骨髄再構築能すなわち幹細胞活性が失われていることを観察した。このことは、加齢あるいは何らかのストレスによって幹細胞レベルで活性酸素が上昇すると、幹細胞活性が著しく阻害されることを示している。BSO処理による骨髄再構築能の低下に、MAPKが寄与しているかどうかを検証するために、各種阻害剤を添加したところ、p38MAPK阻害剤SB203580によって、BSOの影響から回避できることを見いだした。そこで、SB203580をATM欠損マウスに投与したところ、幹細胞活性の低下が見られず、骨髄不全も見られなかった。さらに、野生型マウス由来造血幹細胞の連続移植において、SB203580の投与を続けたところ、幹細胞の枯渇を防ぐことを確認した(図2)。NAC投与も同様の効果を認めた。このことは、活性酸素の上昇とそれに反応したp38MAPKの活性化が造血幹細胞の枯渇の原因であることを意味する。

終わりに

筆者らの研究により、活性酸素、ATM、p16、p19など腫瘍の発生あるいは抑制に重要な因子が幹細胞で特異的に制御を受けて、その自己複製能をコントロールしていることが判明した。幹細胞の特徴に、高い増殖能を持つこと、寿命が長いことが挙げられる。このような性質を持つ幹細胞において遺伝子変異が起こると、腫瘍化に発展することは考えやすい。すなわち、腫瘍発生制御の場として幹細胞は非常に重要であることが示されてきた。筆者らは、造血系だけではなく、神経や生殖組織における幹細胞システムも検討し、発がんとの関係を明らかにしていきたいと考えている。

文 献

- 1) Arai F, Hirao A, Ohmura M, Sato H, Matsuoka S, Takubo K, Ito K, Koh GY, Suda T. Tie2/angiopoietin-1 signaling regulates hematopoietic stem cell quiescence in the bone marrow niche. *Cell*. 118:149-61, 2004.
- 2) Ito K, Hirao A, Arai F, Matsuoka S, Takubo K, Hamaguchi I, Nomiya K, Hosokawa K, Sakurada K, Nakagata N, Ikeda Y, Mak TW, Suda T. Regulation of oxidative stress by ATM is required for self-renewal of hematopoietic stem cells. *Nature*. 431:997-1002, 2004.
- 3) Hirao A, Kong YY, Matsuoka S, Wakeham A, Ruland J, Yoshida H, Liu D, Elledge SJ, Mak TW. DNA damage-induced activation of p53 by the checkpoint kinase Chk2. *Science*. 287:1824-7, 2000.
- 4) Ito K, Hirao A, Arai F, Takubo K, Matsuoka S, Miyamoto K, Ohmura M, Naka K, Hosokawa K, Ikeda Y, Suda T. Reactive oxygen species act through p38 MAPK to limit the lifespan of hematopoietic stem cells. *Nat Med*. 12:446-451, 2006.