

【要約】

Limited rejuvenation of aged hematopoietic stem cells
in young bone marrow niche

(加齢造血幹細胞の若齢骨髄ニッチ環境下における
部分的機能回復)

千葉大学大学院医学薬学府

先端医学薬学 専攻

(主任：金田 篤志 教授)

栗林 和華子

【緒言】

造血幹細胞(Hematopoietic Stem Cells; HSCs)は造血システムの起点として、生涯を通して全ての血液細胞の元となっている。HSCsは加齢に伴い様々なストレスに曝され、その結果、自己複製能の低下、骨髄球・血小板細胞への分化の偏り、骨髄腫瘍リスクの増大といった様々な機能的変化を呈する。加齢に伴う造血機能低下の原因として、DNAダメージの蓄積、細胞極性の低下、エピジェネティックなリプログラミングといった細胞内変化と、骨髄ニッチ環境の変化、炎症、酸化ストレスといった細胞外変化が考えられている。

これまでの造血システムの加齢研究において、加齢 HSCs の細胞内変化は骨髄ニッチ環境が若齢へ変化しても元どおりになることはないと考えられていた。この知見は致死量放射線照射を行なった若齢レシピエントマウスに HSCs を移植し、若齢 HSCs の方が加齢 HSCs よりも生着が良いという結果に基づいている。しかし同様に、致死量放射線照射を行なった加齢レシピエントマウスに若齢 HSCs を移植すると、若齢レシピエントマウスに移植した時よりも生着率は悪くなる。これらの報告は細胞内と細胞外の両方が HSCs の加齢に伴う機能低下に影響を与えていることを示唆している。また、致死量放射線照射という骨髄破壊的移植前処置によって、レシピエント側の HSCs に加え骨髄ニッチ環境も少なくない障害を受けており、骨髄ニッチ環境が加齢 HSCs に対して与える影響を調べるのが難しくなっている。

骨髄ニッチ環境は HSCs ニッチとも呼ばれており、HSCs の細胞数と機能維持に重要な役割を果たしている。かつて骨髄ニッチは HSCs のためのスペースが限られており、そのため骨髄移植には致死量放射線照射や化学療法などの骨髄破壊的移植前処置による、内在性 HSCs の除去が必須であると考えられていた。しかし、先述の通り骨髄破壊的移植前処置は、骨髄ニッチ環境にも障害を与えるため、移植した HSCs と骨髄ニッチの直接的な関係を明らかにすることは、実験技術的に難しいとされてきた。この障害を克服するために、骨髄ニッチから HSCs を枯渇させる c-Kit 抗体を免疫不全マウスに用いて HSCs 移植を行ったり、CD47 阻害による Fc 媒介抗体エフェクターの増強によって、免疫応答性マウスに HSCs 移植を行う実験が為されてきた。これらの実験とは対照的に、2017年の Blood 誌において Shimoto らは、大量の HSCs を移植することで、骨髄破壊的移植前処置なしに HSCs 移植が成功したと報告した。この知見は、レシピエント HSCs は骨髄ニッチの全てが

占有されているのではなく余剰な骨髄ニッチが存在すること、余剰な骨髄ニッチは移植したドナー HSCs の生着と増殖に寄与することを示している。

本研究において、私たちは大量の加齢 HSCs を骨髄破壊的移植前処置なしに若齢レシピエントマウスへ移植し、フローサイトメトリー解析や RNA sequence 解析を通して、若齢骨髄ニッチ環境が加齢 HSCs に直接与える影響を明らかにしている。

【目的】

加齢に伴う HSCs の機能低下の原因の一つである骨髄ニッチに注目し、若齢骨髄ニッチ環境下にある加齢 HSCs の表現型は機能的に改善するのか検討を行なった。

【方法】

20 ヶ月齢のマウスから分取した加齢 HSCs を含む LSK 細胞を放射線未照射の 8 週齢の若齢マウスへ移植した。2 ヶ月の経過観察後、骨髄細胞を回収しフローサイトメトリー解析を行った。さらに、生着した加齢 HSCs を分取し RNA sequence 解析や DNA メチル化解析を実施した。

【結果・考察】

放射線を未照射の若齢マウスに移植した加齢 HSCs の生着を確認した。同様に 10 週齢・1 年齢の HSCs を移植し比較した結果、加齢 HSCs は 10 週齢・1 年齢よりも HSCs 分画におけるキメリズムは低いものの、高い生着率を示した。しかし、10 週齢・1 年齢の HSCs と比較して多能性前駆細胞でのキメリズムが著明に低く、末梢血液における分化が骨髄球に隔たっており分化能の障害が疑われた。二次移植を経ても同様の結果が得られたことから、加齢 HSCs は若齢骨髄ニッチ環境を経ても表現型は若返らないことが分かった。

RNA sequence 解析をもとにクラスター解析を行った結果、加齢 HSCs と若齢 HSCs の二極化するクラスターのなか、移植した加齢 HSCs は若齢クラスターへ分類され、加齢関連遺伝子が骨髄ニッチ環境の変化によって転写レベルが若齢に傾くことが示唆された。可逆的に変動する加齢関連遺伝子は代謝に関連する遺伝子が多く含まれていた。一方で、加齢に伴う DNA メチル化変動と、それ

に連なる遺伝子発現変動については、若齢骨髄ニッチ環境を経ることによる影響は見られなかった。

【結語】

加齢 HSCs は前処置なしに若齢レシピエントに生着するが、造血再構築活性や分化能などの機能的には若返らなかった。一方で、遺伝子発現は可逆的に若齢の表現型に近づき、多くの遺伝子発現が若齢骨髄ニッチの影響を受けていることが明らかとなった。