

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和2（2020）年度 中間評価用〕

平成30年度採択分
令和2年3月31日現在

ミトコンドリア代謝制御を介した造血幹細胞の自己複製機構
Self-Renewal Capacity of Hematopoietic Stem Cells
through the Regulation of Mitochondrial Metabolism

課題番号：18H05284

須田 年生（SUDA, TOSHIO）

熊本大学・国際先端医学研究機構・卓越教授



研究の概要

幹細胞が幹細胞を生み出す自己複製分裂と機能細胞を生み出す分化分裂があると仮定し、ミトコンドリア代謝がいかに幹細胞機能を制御するかを明らかにする。さらに、従来の幹細胞の *in vitro* 培養条件を見直し、ミトコンドリア動態を適切に制御することによって、幹細胞の自己複製分裂を誘導する。

研究分野：血液内科学

キーワード：造血幹細胞、幹細胞ニッチ、ミトコンドリア代謝

1. 研究開始当初の背景

造血幹細胞は、個体の一生にわたって造血を維持する。造血幹細胞の分化・増殖により生体の成熟血球が供給される。健全な造血において、骨髄造血幹細胞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の静止期状態で維持されている。今までに、造血幹細胞とニッチに関する研究は、格段に進歩した。この中で、幹細胞代謝が、造血幹細胞の静止期維持・分裂・分化に影響を与えるという知見が集積している。

幹細胞の存続過程には、幹細胞が幹細胞を生み出す自己複製分裂と機能細胞を生み出す分化分裂があると仮定することができる。この2様式の分裂および静止期維持に、幹細胞におけるミトコンドリア機能がいかに制御されて関与するかは、明らかにされていない。また、「造血幹細胞の自己複製分裂を *ex vivo* で促進する」というのは、造血学の長年の命題であるが、いまだ実現に至っていない。

2. 研究の目的

本研究では、造血幹細胞におけるミトコンドリア動態制御機構の解析、ならびに、ミトコンドリアが幹細胞機能を制御する分子機構の解明することで、幹細胞の自己複製分裂のメカニズムの本質に迫る。目標としては、ミトコンドリア機能の制御を介して幹細胞分裂をコントロールし、*ex vivo* における幹細胞の増幅の手がかりを得ることに挑戦する。

3. 研究の方法

本研究ではミトコンドリアが造血幹細胞の分裂ならびに静止期性維持に与える影響を検討する。

1) トロンボポエチン投与後、ミトコンドリアの活性化が幹細胞分化に与える効果を解析する。

2) 細胞内カルシウム制御を介したミトコンドリア抑制が幹細胞性を維持するメカニズムを検討する。造血幹細胞におけるミトコンドリア動態制御機構に関しては、小胞体 (ER) とミトコンドリアの連関 (MAM) に関与する MITOL/March を、幹細胞特異的に欠失させ、その代謝に与える効果を解析する。

3) ミトコンドリア生合成の系と、オートファジーを介したミトコンドリア除去の両面に焦点を当てて、幹細胞における FLCNT-TFE3 のシグナルを解析する。また、オートファジー関連遺伝子である ATG7 を欠損した造血幹細胞を用いて、ミトコンドリアの「質」がいかに保たれているかについて検討する。

4) 造血発生過程の幹細胞分裂を試験管内で再現する。生体内で造血幹細胞の増幅があると考えられる、胎生期ならびに新生児期造血の特徴を解析する。

4. これまでの成果

1) 我々は、今までに、幹細胞・巨核球の産生において最重要なサイトカイン、トロンボポエチン (Thpo) によるミトコンドリア代謝を活性制御と造血幹細胞の分化・維持・増殖に関して報告してきた。Thpo 刺激時においては、ミトコンドリア膜電位の高い造血幹細胞

胞が、巨核球系に分化する傾向が強いことを示し、論文に報告した (**Nakamura-Ishizu et al. *Cell Rep.* 2018**)。しかしながら、Thpo シグナルがどのようにミトコンドリア代謝を制御し、造血幹細胞の分化・維持に関わるのか、そのメカニズムの詳細は不明であった。そこで、Thpo 遺伝子欠損マウスを作成し、解析したところ、これまでの報告と同様、骨髄内静止期造血幹細胞数の著しい低下を認めた。わずかに残存する造血幹細胞は、細胞回転をし、Apoptosis を示した。しかし驚くべきことに、これら Thpo 欠損幹細胞は、骨髄移植、あるいは mpl-agonist (Romiplostim) 投与により、ほぼ正常レベルまで幹細胞性を回復することがわかった。Thpo 遺伝子欠損マウス造血幹細胞の RNA sequence により、欠損マウス幹細胞では、ミトコンドリアの酸化リン酸化関連分子の発現が、有意に低下しているが、mpl-agonist 投与により回復することが示され、幹細胞機能は可変的であることが確認された。

2) 5-FU 投与による骨髄抑制からの回復期における造血幹細胞の自己複製分裂は、

①細胞内カルシウム濃度/ミトコンドリア膜電位の上昇が引き金となっていること、

②この時の細胞内カルシウム濃度/ミトコンドリア膜電位の制御に細胞外アデノシンが関与していることが明らかになった。

③一方で、in vitro での造血幹細胞培養では分化分裂が観察され、細胞内カルシウム濃度/ミトコンドリア膜電位は上昇する。

④しかし、細胞内カルシウム濃度を抑制し、ミトコンドリア膜電位の上昇を抑えると、幹細胞性が維持されることを見出した (**Umemoto et al. *J Exp Med.* 2018**)。

3) FLCN-TFE3 のシグナルが、リソソーム活性に関連し、オートファジーに貢献することを明らかにした (**Endoh and Baba et al. *Cell Rep.* 2020**)。

4) 転写因子Hepatic leukemia factor (HLF) が、造血発生時、幹細胞特異的に発現することを見出した (**Yokomizo et al. *J Exp Med.* 2019**)。

5. 今後の計画

ミトコンドリア代謝と幹細胞の静止期性、自己複製分裂の関係を明らかにするため、上記の Thpo, ATG7, FLCN, MITOL の研究を継続、深化させる。

さらに、後半の重点項目としては、ESなどの多能性幹細胞から、造血幹細胞誘導に挑戦する。具体的には、造血幹細胞誘導に重要と考えられる複数の遺伝子を搭載した Sendai Virus (SRV) を HLF-Tomato ES、あるいは、それから発生する造血性血管内皮細胞に導入し、HLF を指標として効率的な幹細胞導入法を開発する。誘導された HLF 陽性細胞は、放射線照射したマウスに移植し、その生着能で、幹細胞性を測定する。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

・ Endoh M, **Baba M**, Endoh T, Hirayama A, Nakamura-Ishizu A, **Umemoto T**, Hashimoto M, Nagashima K, Soga T, Lang M, Schmidt LS, Linehan WM, **Suda T**: A FLCN-TFE3 feedback loop prevents excessive glycogenesis and phagocyte activation by regulating lysosome activity. ***Cell Rep.* 30(6):1823-1834, 2020**

・ Yokomizo T*, Watanabe N, **Umemoto T**, Matsuo J, Harai R, Kihara Y, Nakamura E, Tada N, Sato T, Takaku T, Shimono A, Takizawa H, Nakagata N, Mori S, Kurokawa M, Tenen DG, Osato M, **Suda T***, Komatsu N: *Hlf* marks the developmental pathway for hematopoietic stem cells but not for erythroid-myeloid progenitors. ***J Exp. Med.* 216(7):1599-1614, 2019**

・ Takihara Y, Nakamura-Ishizu A, Tan DQ, Fukuda M, Matsumura T, Endoh M, Arima Y, Chin DWL, **Umemoto T**, Hashimoto M, Mizuno H, **Suda T**: High mitochondrial mass is associated with reconstitution capacity and quiescence of HSCs. ***Blood Adv.* 3(15):2323-2327, 2019**

・ **Umemoto T**, Hashimoto M, Matsumura T, Nakamura-Ishizu A, **Suda T**: Ca²⁺-Mitochondrial axis drives cell division in hematopoietic stem cells. ***J Exp Med.* 215(8):2097-2113, 2018.**

・ **Baba M**, Endoh M, Ma W, Toyama H, Hirayama A, Nishikawa K, Takubo K, Hasumi H, **Umemoto T**, Hashimoto M, Irie N, Esumi C, Kataoka M, Hano H, Nakagata N, Soga T, Yao M, Kamba T, Minami T, Ishii M, **Suda T**: Folliculin regulates osteoclastogenesis through metabolic regulation. ***J Bone Mineral Res.* 33(10):1785-1798, 2018.**

・ Nakamura-Ishizu A, Matsumura T, Stumpf PS, **Umemoto T**, Takizawa H, Takihara Y, O'Neil A, Majeed ABBA, MacArthur BD., **Suda T**: Thrombopoietin metabolically primes hematopoietic stem cells to megakaryocyte lineage differentiation. ***Cell Reports.* 25(7):1772-1785, 2018.**

7. ホームページ等

<http://ircms.kumamoto-u.ac.jp/research/>