

課題番号 : 26指001
研究課題名 : 幹細胞ニッチの低酸素制御の研究
主任研究者名 : 田久保 圭誉

キーワード : 造血幹細胞、幹細胞ニッチ、低酸素応答、メタボロミクス、白血病幹細胞
研究成果 :

組織幹細胞は自己複製能と多分化能を持つ細胞集団で、多くの臓器の組織発生や恒常性維持に寄与する。組織幹細胞の数や機能の異常は、各種の疾患発症や老化に伴う臓器や個体の機能低下につながると考えられている。また、組織幹細胞は再生医療に不可欠の細胞ソースであることから、人為的な操作・増殖技術の確立は重要な課題である。組織幹細胞の性質(幹細胞性と呼ばれる)を規定する転写因子ネットワークは、幹細胞に特有の生物現象(自己複製、非対称分裂、静止期維持、分化、遊走、ニッチへのホーミングなど)を実行する際に必要なエネルギーや代謝物を供給する代謝プログラムを起動する。近年、主任研究者らは低酸素環境である骨髄に存在する造血幹細胞の解析から、組織幹細胞特有の代謝特性とそれを維持する分子機構がニッチに存在していることを見出してきた。しかし、その分子機構や、病態における変容や意義、標的治療・診断技術開発としての有用性は不明である。本研究課題においては定常状態とストレス下の造血幹細胞における代謝特性とそれを維持するニッチの分子機構を解明することでこれらの問題の解決を図り、新規の診断・治療法に寄与しうる知見を見出すことを目指すものである。本年度はこの研究計画の一部として、特に下記(1)の研究成果を得た:

(1) 慢性骨髄性白血病の微小残存病変候補分画を同定した。がんの薬物療法が目指す理想的なゴールは、がん細胞を患者の体内から根絶して、再発の恐れがない状態で投薬を完了することである。このゴールを達成するには、「再発しない状態」を科学的に定義し、患者ごとに安全に治療終了できるタイミングを臨床医が判断することが必要である。つまり、再発の原因となる微小残存病変(minimal residual disease; MRD)の検出技術の実現化はその過程に不可欠であるといえる。しかし、これまでMRDの評価に基づいて「再発しない状態」を高い確度で判断するための方法論とそのための診断技術は臨床には実装されていないのが現状である。慢性骨髄性白血病(CML)は、t(9;22)転座によるBCR-ABL融合遺伝子が原因であり、発症や維持過程では白血病幹細胞と呼ばれる多分化能をもった少数の細胞に依存している。現在、CMLはBCR-ABLの恒常的チロシンキナーゼ活性に対する阻害薬(tyrosine kinase inhibitor: TKI)により効果的な治療が可能となった。しかし、TKIが標的とするのは主に分化したCML細胞であり、TKI耐性を持つCML幹細胞がMRDとして存在する症例が存在するため、TKIの服用を中止した後に分子学的完全寛解を維持できるのは半数未満である(Lancet Oncol 2010)。そこで、TKI治療を最終的に完了するための判断基準—MRDの高感度検出法—をもたらす技術と、白血病幹細胞活性を持つMRDを撃破するCML根治療法の開発が求められている。主任研究者のグループはこれまでにIL-2/CD25シグナルはCMLのMRDの診断・治療標的候補となることを見出したが(Kobayashi & Takubo et al. Blood 2014)、なおもCD25発現のCML病態における臨床的な意義については未確定だった。主任研究者は、慶應義塾大学病院血液内科との共同研究で、CML患者骨髄におけるCD25発現を検討した結果、CML幹細胞分画のCD25蛋白の細胞表面の発現が初発時に高く、TKI加療後に低下し、分子学的寛解後もCD25を発現する未分化細胞分画が残存することを見出しており、これを指標にすることでMRDを評価できる可能性を見出した。今後は、様々な治療段階にあるCML患者から経時的に採取される骨髄検体を用いて、CML幹細胞分画におけるCD25の発現とt(9;22)転座の有無、BCR-ABLトランスクリプトの発現、そして病態との連関を単一細胞レベルのゲノム・トランスクリプト解析を通じて検証し、未分化血液細胞分画内に残存するMRDが検出される頻度や性状を評価する予定である。本研究開発を通じてCML幹細胞活性を持つMRDの生物学的特性の解析と患者ごとに個別化したMRD検出法を開発して、CMLの治療完結のための科学的な判断基準を提供するための基盤技術を確立する。以上の知見は、今後様々な病態の診断・治療法への示唆を与えるだけでなく、白血病存在下で健気に造血を続ける正常な造血幹細胞の防護策の策定にも寄与する基盤的な知見であると考えている。本研究は慶應義塾大学病院との共同研究として両施設において倫理委員会の承認のもと実施している。

Subject No. : 26-001(Project research)

Title : Elucidation of stem cell niche regulation by the hypoxia-response system

Researchers : Keiyo Takubo (Project director, Department of Stem Cell Biology, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine)

Key word : hematopoietic stem cell, stem cell niche, hypoxia response, metabolomics, leukemic stem cell

Abstract :

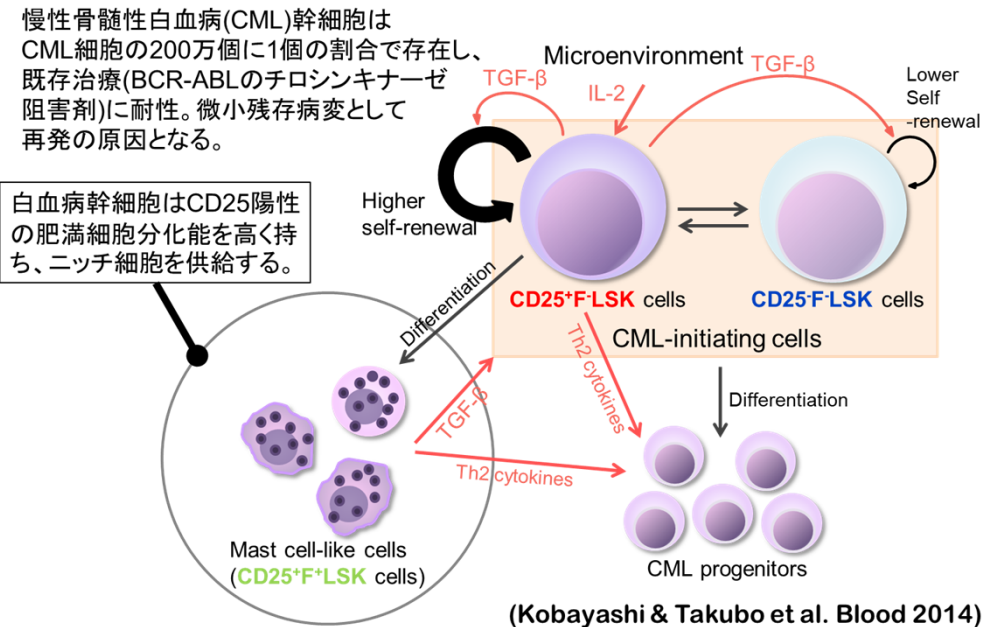
Tissue stem cells exhibit a variety of characteristics, including self-renewal capacity and differentiation ability into multiple cell types, stress resistance, and drug efflux activity. These specific biological characteristics (or so-called “stemness”) are supported by signals from the surrounding niche and the stem cell-specific transcription factor set, including hypoxia and the machinery that senses low oxygen levels. These properties are essential for normal stem cells, and when defective may induce cellular senescence and tumorigenesis. Hematopoietic stem cells (HSCs) depend on the bone marrow (BM) niche for their maintenance, proliferation, and differentiation. Recent studies using metabolomics technologies reveal that metabolic regulation plays an essential role in HSC maintenance. Metabolic pathways provide energy and building blocks for other factors functioning at steady state and in stress. In this project research, we will focus on the metabolic regulation of HSC system that maintains lifelong hematopoiesis. We especially investigated the following topic (I) in FY2017.

(I) Chronic myeloid leukemia (CML) is a clonal HSC disorder characterized by the t(9;22) (q34;q11) reciprocal translocation called the Philadelphia (Ph) chromosome, which produces the BCR-ABL fusion protein that functions as a constitutively active tyrosine kinase for cellular proliferation. Although tyrosine kinase inhibitors (TKIs) have dramatically improved prognosis of CML patients, discontinuation of TKI can result in disease recurrence in more than half of patients who achieve molecular remission. Because CML leukemic stem cells (LSCs), which are defined as quiescent CD34⁺CD38⁻ CML cells, are thought insensitive to TKI therapy and underlie disease recurrence, a greater understanding of CML-LSCs is essential for devising complete cure therapy. Various surface markers expressed on CML stem and progenitor cells (SPCs; CD34⁺CD38⁻ fraction) at diagnosis are not expressed on normal HSCs. Among them, we and others have reported that CD25 functions as a CML-SPC surface marker at diagnosis in patients and in mouse models. However, little is known about how surface markers such as CD25 reflect pathogenesis in patients with CML and whether they are useful to evaluate minimal residual disease (MRD) with LSC potential following TKI therapy. To address this issue, we analyzed bone marrow (BM) samples from CML patients and identify the significance of CD25, a surface marker highly expressed in CML-SPC at diagnosis. In patients who achieved molecular remission, we observed the residual CD25-positive cells in the SPC fraction at variable frequencied. These analysis provide the strategy to identify and eradicate MRD in CML BM.

慢性骨髄性白血病幹細胞の微小残存病変の探索

【背景】慢性骨髄性白血病(chronic myeloid leukemia; CML)を対象として、ニッチに存在する微小残存病変(minimal residual disease; MRD)の研究を進めている。CMLは白血病幹細胞と呼ばれる多分化能をもった少数の細胞に依存している。現在、CMLはBCR-ABLを阻害するチロシンキナーゼ阻害剤(tyrosine kinase inhibitor; TKI)による治療で予後が大きく改善された。しかし、TKIに耐性を持つCML幹細胞がMRDとして存在するためTKI中止後に分子学的完全寛解を維持できるのは半数未満の症例にとどまっている。私たちはその中でもIL-2受容体 α 鎖(CD25)のCML幹細胞における発現を同定し、CML病態における機能解析と、臨床検体における検討を続けてきた。

CMLにおけるCD25シグナル

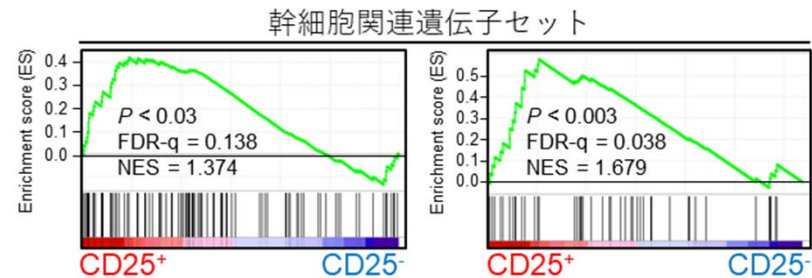


慢性骨髄性白血病幹細胞の微小残存病変の探索

【方法】CML患者のTKI治療効果判定に、定期的な骨髄細胞を用いた厳密な検索を実施している世界でも稀少な施設である慶應義塾大学病院血液内科の協力を得て検体供給体制を確立した上で骨髄CML未分化細胞分画におけるCD25の発現検討と性状解析を行っている。

【結果】CD25の発現はTKI加療後に低下するが、分子学的寛解後もCD25を発現する未分化細胞分画が残存する患者が存在することを見出している。また、CD25は初発検体では白血病幹細胞性を強く有していた。すなわちCD25を指標にしたMRD評価の可能性を示唆している。

初発CML幹細胞分画のCD25陽性細胞と陰性細胞のトランスクリプトーム解析(gene set enrichment analysis)



研究発表及び特許取得報告について

課題番号： 26指001

研究課題名： 幹細胞ニッチの低酸素制御の研究

主任研究者名： 田久保 圭誉

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Lysophosphatidic acid acyltransferase 3 tunes the membrane status of germ cells by incorporating docosahexaenoic acid during spermatogenesis..	Iizuka-Hishikawa Y, Hishikawa D, Sasaki J, Takubo K, Goto M, Nagata K, Nakanishi H, Shindou H, Okamura T, Ito C, Toshimori K, Sasaki T, Shimizu T.	J Biol Chem.	292:12065-12076.	2017
Metabolic regulation of hematopoietic and leukemic stem/progenitor cells under homeostatic and stress conditions.	Karigane D, Takubo K.	Int J Hematol.	106:18-26.	2017
Use of Imaging Techniques to Illuminate Dynamics of Hematopoietic Stem Cells and Their Niches.	Morikawa T, Takubo K.	Front Cell Dev Biol.	5:62.	2017
Quiescence of adult oligodendrocyte precursor cells requires thyroid hormone and hypoxia to activate Runx1.	Tokumoto Y, Tamaki S, Kabe Y, Takubo K, Suematsu M.	Sci Rep.	7:1019.	2017
Acquired expression of CblQ367P in mice induces dysplastic myelopoiesis mimicking chronic myelomonocytic leukemia.	Nakata Y, Ueda T, Nagamachi A, Yamasaki N, Ikeda KI, Sera Y, Takubo K, Kanai A, Oda H, Sanada M, Ogawa S, Tsuji K, Ebihara Y, Wolff L, Honda ZI, Suda T, Inaba T, *Honda H.	Blood.	129:2148-2160.	2017

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
Metabolic regulation of hematopoietic stem cell during stress	Keiyo Takubo	JSPS-NUS Joint 2nd symposium	熊本	2018年1月
旅する造血幹細胞を支える代謝学的基盤	田久保 圭誉	CONBIO2017	神戸	2017年12月

研究発表及び特許取得報告について

“4次元生体リモデリング”～造血幹細胞研究の最新の状況～	田久保 圭誉	JST-CRDSライフサイエンス・臨床医学分野“恒常性”区分俯瞰ワークショップ「4次元生体リモデリング」	東京	2017年11月
Aging Program of Hematopoietic Stem Cells	Keiyo Takubo	Cell Press LabLinks	東京	2017年11月
Metabolic regulation and hematopoietic stem cell aging	Keiyo Takubo	The 27th Hot Spring Harbor International Symposium	福岡	2017年11月
造血幹細胞の代謝プログラムを規定する分子機構	田久保 圭誉	第14回レドックス・ライフノベーションシンポジウム	仙台	2017年10月
異常造血と幹細胞ニッチ	田久保 圭誉	第79回日本血液学会学術集会教育講演	東京	2017年10月
ニッチによる造血幹細胞の代謝制御と応用	田久保 圭誉	東京医科歯科大学難治疾患研究所セミナー	東京	2017年9月
p38 α protects hematopoietic stem/progenitor cells in acute and aging stresses	Keiyo Takubo	Scientific Working Group, 22nd Congress of European Hematology Association	Madrid	2017年6月
Transcriptional and metabolic program for hematopoietic stem cell aging	Keiyo Takubo	Tohoku Forum for Creativity Thematic Program “Aging Science: from Molecules to Society”	仙台	2017年5月
造血幹細胞ニッチの動的制御～ストレス応答とエイジング～	田久保 圭誉	慶應義塾大学医学部血液内科セミナー	東京	2017年5月
造血幹細胞のストレス応答とエイジング	田久保 圭誉	東京大学分子細胞生物学研究所セミナー	東京	2017年4月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと