

2019年4月19日
日本医科大学

造血幹細胞が作られる新たな仕組みを発見

【研究の概要】

日本医科大学（学長：弦間昭彦）先端医学研究所病態解析学部門の盧承湜助教と福原茂朋教授らの研究グループは、金沢大学理工研究域生命理工学系、国立循環器病研究センター研究所、日本医科大学先端医学研究所細胞生物学部門、青山学院大学理工学部、京都大学ウイルス・再生医科学研究所らのグループとの共同研究により、生涯にわたって血球細胞を産生する造血幹細胞が作り出される新たな仕組みを発見しました。

造血幹細胞は、胎児の大動脈に存在する造血性内皮細胞から発生します。造血性内皮細胞は、血液細胞と内皮細胞の両方への分化能を有する血管芽細胞から作られることが知られていますが、その詳細なメカニズムは良く分かっていませんでした。今回、共同研究グループは、臓器の発生や構造がヒトと類似したゼブラフィッシュをモデル脊椎動物として用いて研究を実施し、血管芽細胞の造血性内皮細胞への運命決定に、細胞内シグナル分子の一つである **Rap1** が重要であり、**Rap1** はインテグリンを介した細胞接着を促進することにより造血性内皮細胞の分化を誘導していることを発見しました。

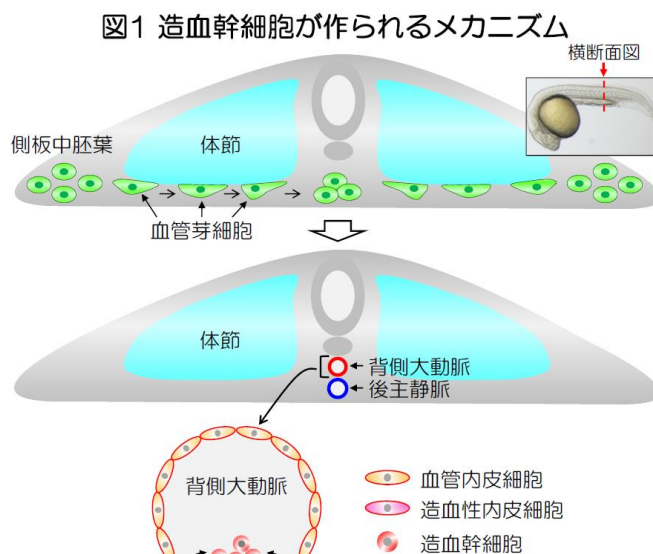
人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から造血幹細胞を試験管内で作り出す技術が開発されれば、白血病などの難治性血液疾患に対する根治的な治療法開発につながります。本研究成果は、造血幹細胞の発生機序の一端を解明するものであり、iPS 細胞から造血幹細胞を誘導する技術の開発に貢献することが期待されます。

本研究成果は、米国科学誌「**Developmental Cell**」に、2019年4月18日（木）午前11時（米国東部時間）にオンライン版で発表されます。

本研究の一部は、日本学術振興会（JSPS）科学研究費補助金による支援を受けて行われました。

【研究の背景】

造血幹細胞は、生涯にわたって私たちの体の血液細胞を作り出す重要な細胞です。造血幹細胞と血管の内腔を覆う血管内皮細胞は、共通の前駆細胞である血管芽細胞から発生することが知られています（図1）。胎生期において、側板中胚葉^[1]に含まれる血管芽細胞は、体節の腹側領域を正中線に向かって移動し、体内の主要な血管である背側大動脈と後主静脈を形成します。背側大動脈の腹側には、造血性内皮細胞という特殊な内皮細胞が形成され、のちに内皮-造血転換により造血幹細胞へと生まれかわります。



小型魚類であるゼブラフィッシュは、臓器の発生や構造がヒトと類似した脊椎動物であり、近年、生命医学研究に有用なモデル動物として注目されています。そのため、造血幹細胞の発生機序に関する研究の多くもゼブラフィッシュを用いて行われてきました。これまで、血管芽細胞の造血性内皮細胞への運命決定に、Notch シグナル^[2]が重要であることが報告されています。血管芽細胞は、体節の腹側領域を正中線に向かって移動する際に、Notch リガンドを発現する体節^[3]の細胞に接着することで、自身の Notch シグナルを活性化し、造血性内皮細胞へと分化することが報告されています（図2）。Notch リガンドは、細胞膜に存在するため、血管芽細胞が Notch シグナルを活性化するためには、体節細胞と物理的に接触する必要がありますが、これら細胞間の接着がどのように制御されているかについては良く分かっていませんでした。

低分子量 GTP 結合タンパク質の一つである Rap1^[4]は、細胞内シグナル伝達に関わる分子で、インテグリン^[5]を活性化することで、細胞と細胞外マトリックスの接着を増強するとともに、カドヘリンを介した細胞同士の接着も促進します。本研究では、Rap1 がインテグリン接着を促進することで血管芽細胞と体節細胞の接着を増強し、造血幹細胞の発生を制御していることを明らかにしました。

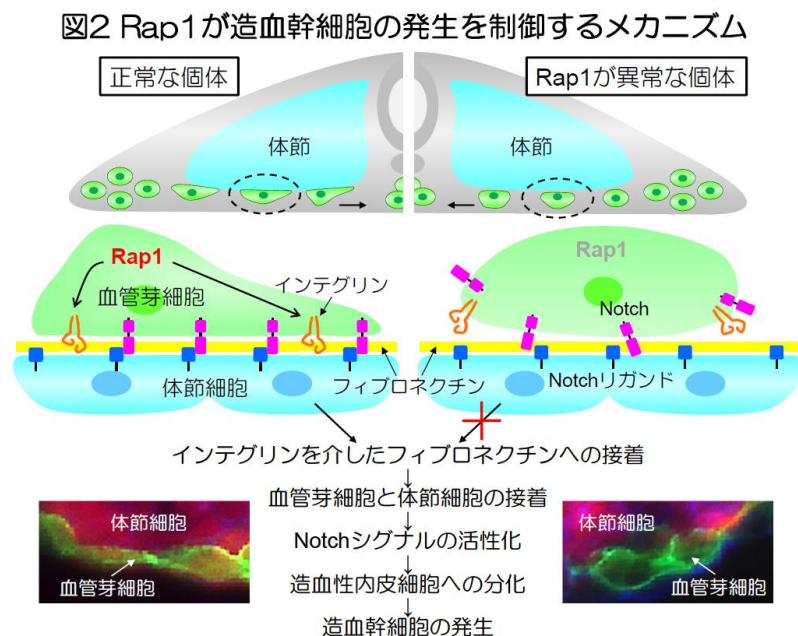
【研究成果の概要】

血管系及び造血系の発生における Rap1 の役割を明らかにするため、これらを構成する細胞に主に発現する *rap1b* 遺伝子を破壊したゼブラフィッシュ (*rap1b* 欠損フィッシュ) を樹立しました。*rap1b* 欠損フィッシュでは、血管形成は正常であったのに対し、造血性内皮細胞及び造血幹細胞の発生が阻害されていました。このことから、Rap1b は血管芽細胞の内皮細胞への分化には関与しないものの、造血内皮細胞への運命決定に必要であることが証明されました。

Rap1b が造血性内皮細胞の発生を制御するメカニズムを知るため、*rap1b* 欠損フィッシュの血管芽細胞を解析したところ、Rap1b は血管芽細胞と体節細胞の接着を増強することで、血管芽細胞における Notch シグナルを活性化し、造血性内皮細胞への分化を促進していることが明らかになりました (図 2)。

Rap1b が血管芽細胞と体節細胞の接着を増強するメカニズムを探るため、正中線に向かって移動する血管芽細胞の挙動とその制御機構を解析しました。血管芽細胞は、インテグリンを介して体節の境界部位に蓄積するフィブロネクチン^[6]に接着し正中線に向かって遊走すること、また、このインテグリンを介したフィブロネクチンへの接着は、血管芽細胞と体節細胞の物理的な接触を促進させ、血管芽細胞における Notch シグナルの活性化と造血性内皮細胞への運命決定を制御していることが

明らかになりました (図 2)。さらに、Rap1b はインテグリンを介したフィブロネクチンへの接着を促進することにより、血管芽細胞と体節細胞の接着を亢進し、血管芽細胞の Notch シグナル依存的な造血性内皮細胞への分化を誘導していることを発見しました (図 2)。

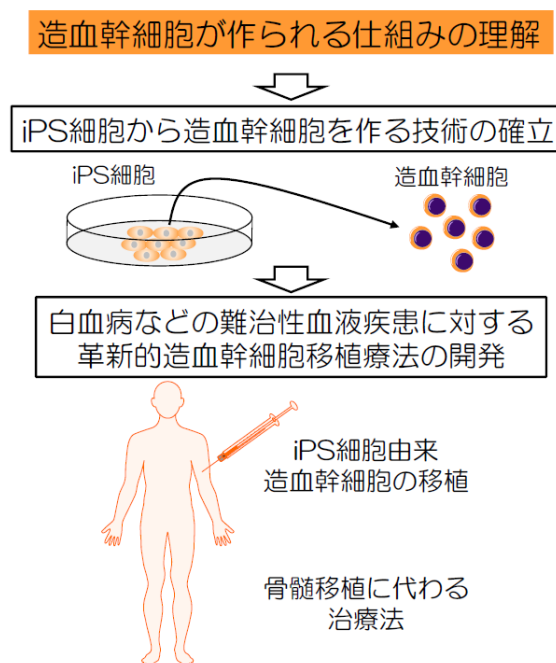


【本研究の意義】

今回、共同研究グループは、Rap1 によるインテグリン接着が血管芽細胞の造血性内皮細胞への運命決定に重要であることを世界ではじめて明らかにし、造血幹細胞の発生における新たな制御機構を発見しました。今後、本発見が造血幹細胞の発生機構についてのより深い理解につながることを期待できます。

本研究成果は、白血病などの難治性血液疾患に対する根治的な治療法開発に貢献することが期待されます（図 3）。現在、これら疾患を治療するため骨髄移植などの造血幹細胞移植が行われています。しかし、造血幹細胞移植には、HLA 型が一致したドナーが必要であり、また、骨髄を提供するドナーの負担やリスクが大きいなどの問題が残されています。そのため、人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から造血幹細胞を作り出すことができれば、骨髄移植に代わる白血病の新たな治療法開発につながります。本研究成果は、造血幹細胞の発生機序の一端を解明するものであり、iPS 細胞から造血幹細胞を試験管内で誘導する技術の開発に貢献することが期待されます。

図3 本研究の意義



【補足説明】

[1] 側板中胚葉

動物の発生初期に胚の周辺部に見られる中胚葉の一種であり、血管・血球・心臓などを形成する細胞が含まれる。

[2] Notch シグナル

進化上高度に保存された細胞間シグナル伝達経路であり、細胞の運命決定・分化・増殖を制御することで、様々な組織の発生や恒常性維持に関与する。受容体である Notch は、膜貫通型リガンドである Delta や Jagged と結合することで活性化し、細胞内にシグナルを伝達する。Notch 及び Notch リガンドは共に細胞膜上に存在するため、Notch シグナルは細胞間接着依存的に活性化する。

[3] 体節

胚発生において体幹に発生する、前後軸に分節した中胚葉性の構造物。真皮や骨格筋、骨格や体幹の脊髄神経など様々な要素に分化する。脊椎動物の体の形態を決定づける上で重要な構造である。

[4] Rap1

Ras スーパーファミリーに属する低分子量 **GTP 結合タンパク質** の一つ。 **GTP** (グアニンヌクレオチド三リン酸) を結合した活性化型と **GDP** (グアニンヌクレオチド二リン酸) を結合した不活性化型とをサイクルすることで、インテグリンを介した細胞-基質間接着、カドヘリンを介した細胞間接着を制御する。

[5, 6] インテグリン・フィブロネクチン

インテグリンは α 鎖と β 鎖からなる細胞膜上に存在するタンパク質であり、細胞内ドメインを介してアクチン細胞骨格と、細胞外ドメインを介して細胞外マトリックスと結合することで、細胞接着や細胞運動を制御する。フィブロネクチンは、細胞外マトリックスの一種で、インテグリンのリガンドとして機能する。

【原論文情報】

<タイトル> Rap1b promotes Notch signal-mediated hematopoietic stem cell development by enhancing integrin-mediated cell adhesion
<著者名> Seung-Sik Rho, Isao Kobayashi, Eri Oguri-Nakamura, Koji Ando, Masakazu Fujiwara, Naomi Kamimura, Hiromi Hirata, Atsuo Iida, Yoshiko Iwai, Naoki Mochizuki, Shigetomo Fukuhara.
<雑誌名> Developmental Cell
<DOI> 10.1016/j.devcel.2019.03.023
<Website> [https://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807\(19\)30234-5](https://www.cell.com/developmental-cell/fulltext/S1534-5807(19)30234-5)

【発表者】 ※研究内容については発表者にお問合せください

日本医科大学 先端医学研究所 病態解析学部門
教授 福原 茂朋（ふくはら しげとも）
TEL: 044-733-1823 FAX: 044-733-1877
E-mail: s-fukuhara@nms.ac.jp

【機関窓口】

学校法人日本医科大学 総務部 広報課
〒113-8602 東京都文京区千駄木 1-1-5
TEL: 03-3822-2131 FAX: 03-3824-2822
E-mail : kouhouka@nms.ac.jp