

ニッチによる造血恒常性維持

田久保 圭誉

哺乳類の造血システムの恒常性は骨髄の微小環境（ニッチ）にいる造血幹細胞によって制御される。造血幹細胞は細胞老化を防ぐために細胞周期の静止期性や代謝恒常性を維持しながら、適切なタイミングで細胞周期へ進入して分裂し、必要に応じて分化細胞を産生する。こうしたイベントを制御するのが骨髄ニッチを構成するニッチ細胞や低酸素環境である。本稿では造血幹細胞を制御するニッチの分子機構についての近年の知見を概説する。

1. はじめに

体重 60 kg のヒトを構成する細胞の総数は最新の検討ではおよそ 37 兆個と見積もられているが、そのうち酸素を運搬する赤血球が 27 兆個を占めていると考えられている¹⁾。すなわち、血球細胞は我々の身体を構成する細胞の 3 分の 2 以上を占める。こうした膨大な数の血球細胞を生産にわたって産生し続けることを可能にしているのが骨髄の造血システムによる精緻な造血制御機構である。造血システムは典型的な臓器幹細胞システムである。すなわち、自己複製能と多分化能を保持する造血幹細胞が、活発に分裂する造血前駆細胞へと分化し、造血前駆細胞からは各種の終末分化した血球細胞が産生されるという整然としたヒエラルキーのある細胞システムである。造血幹細胞の分裂様式としては対称分裂（幹細胞二つを生み出す分裂）と非対称分裂（幹細胞一つと前駆細胞一つを生み出す分裂）が存在すると考えられている。この分裂様式の決定や、細胞周期への進入、そして分化細胞の産生には「幹細胞ニッチ」と呼ばれる幹細胞周囲の微小環境からの制御が重要な役割を果たしている。この、造血幹細胞とそのニッチの相互作用を介して、造血幹細胞は造血システム全体の恒常性を調整している。特に近年、造血幹細胞の恒常性維持においては幹細胞の代謝特性とその制御機構が重要な役割を果たし

ていることが明らかになってきた。そこで本稿では造血幹細胞とそのニッチの分子機構と、それらを介した造血幹細胞の細胞内代謝制御についての我々のグループからの報告も含めた近年の知見を紹介する。

2. 造血幹細胞ニッチの機能と構成

1) 造血幹細胞ニッチの機能

幹細胞を維持・制御する微小環境の総称を幹細胞ニッチと呼ぶ。幹細胞ニッチは、幹細胞を維持するニッチ細胞と、実際に幹細胞に作用するニッチ分子とに分けることができる。ニッチ分子はニッチ細胞から供給されるか、あるいはニッチに存在する分子であり、前者はケモカイン、サイトカイン、接着分子、細胞外基質が該当し、後者はカルシウムイオンや酸素分子などが該当する。こうしたニッチ分子を介して、幹細胞ニッチは幹細胞の動態と運命を制御する。造血幹細胞ニッチは、大別すると (1) 幹細胞を骨髄にとどめる、(2) 過剰な分裂を抑制して、細胞周期の静止状態を維持し、(3) 必要に応じて増殖・分化を誘導する、(4) 骨髄移植などで外から導入された幹細胞をニッチに呼び寄せる、といった効果を造血幹細胞に対して発揮する。幹細胞ニッチの概念は、造血幹細胞システムで周囲の微小環境＝ニッチが幹細胞性を制御するというモデルが提案されて始まった²⁾。幹細胞ニッチの存在が遺伝学的に証明されたショウジョウバエの生殖幹細胞システムでは、生殖幹細胞は単一のニッチ細胞によって維持されることが示されている³⁾。一方、哺乳類の造血幹細胞のニッチ細胞については次から述べるように時期ごとにいくつかのニッチ細胞が存在することが見いだされている。

2) 胎仔肝の造血幹細胞ニッチ

哺乳類の造血は胎仔期の卵黄嚢や胎盤から開始される一次造血と、背側大動脈の腹側血管内皮細胞から生み出される造血幹細胞による二次造血に分けることができる。二次

慶應義塾大学医学部坂口光洋記念講座（発生・分化生物学）／国立国際医療研究センター研究所・生体恒常性プロジェクト（〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35）

Homeostatic regulation of hematopoiesis by the hematopoietic stem cell niche

Keiyo Takubo (Department of Cell Differentiation, the Saka-guchi Laboratory of Developmental Biology, Keio University School of Medicine/Department of Stem Cell Biology, National Center for Global Health and Medicine, 35 Shinano-machi, Shinjuku-ku, Tokyo 160-8582, Japan)

本総説は 2013 年度奨励賞を受賞した。

造血は生涯にわたる造血を維持する。胎生期後期には造血幹細胞は肝臓に存在して、活発に分化血球細胞を産生している。この胎仔肝の造血幹細胞にとっては、肝臓内に存在する洞様血管内皮細胞と肝芽細胞がニッチ細胞であると考えられている。胎仔肝洞様血管内皮細胞の近傍には、活性化プロテインC (APC) が豊富に存在する細胞外基質のネットワーク様構造が存在しており、胎仔肝造血幹細胞が局在する。APCは胎仔肝の造血幹細胞の細胞表面に発現する受容体EPCR/Par-1を介して受容され、その下流のシグナルが造血幹細胞を胎仔肝においてアポトーシスから守っていることが示唆された⁴⁾。一方、胎仔肝の肝芽細胞は、erythropoietin (EPO) や stem cell factor (SCF), thrombopoietin (TPO) といった造血サイトカインを発現している。その中でもEPOとTPOは洞様血管内皮や血球細胞では発現しておらず、肝芽細胞にしか発現していない。肝芽細胞を欠損する *Map2k4*^{-/-} マウスでは胎仔肝におけるEPOとSCFの産生が低下していること、造血幹細胞を含むc-Kit陽性細胞が減少していることから、肝芽細胞も胎仔肝造血幹細胞を維持するニッチとして機能していることが示唆されている⁵⁾。

3) 骨芽細胞ニッチモデルとその後

出生後は、造血幹細胞は造血の場を骨髄に移して一生にわたって血球細胞を作り続ける。骨髄を構成するのは造血幹細胞に由来する血球細胞と非血球系の細胞であるが、これまで主として非血球細胞のニッチ機能についての検討がなされている (図1)。まず始めにニッチ細胞としての関与が示唆されたのは骨形成を行う骨芽細胞である。

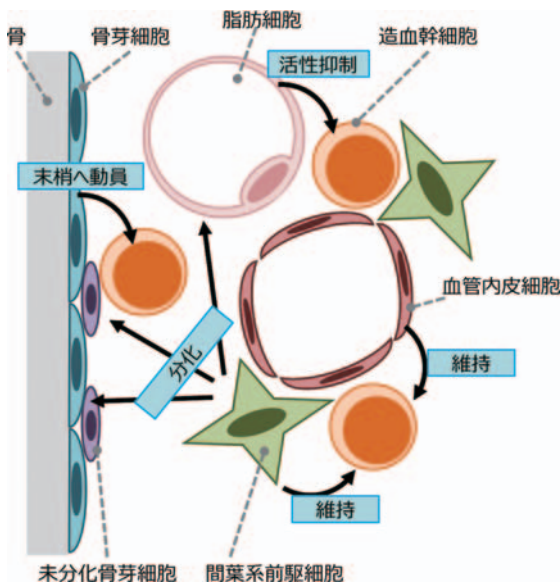


図1 非造血細胞系ニッチ細胞による造血幹細胞制御

骨髄の造血幹細胞を制御する血球ではないニッチ細胞としては間葉系前駆細胞と、その系譜の骨芽細胞、未分化骨芽細胞 (SNO細胞)、脂肪細胞があげられる。また、骨髄の血管内皮細胞もニッチ細胞として機能する。このほかに骨髄を支配する交感神経や、シュワン細胞も非造血細胞系のニッチ細胞として造血幹細胞の動員や静止期維持に寄与する (本文参照)。

骨芽細胞が増加するマウスモデルでは造血幹細胞数が増加することが報告された^{6,7)}。特に、骨芽細胞の中でもN-cadherin陽性のspindle-shaped N-cadherin-positive osteoblast (SNO細胞) と呼ばれる骨芽細胞の重集団に、細胞周期が静止状態の造血幹細胞が接着している像が免疫染色から観察され、造血幹細胞のニッチとして骨芽細胞の重要性が示唆された⁷⁾。これは、ショウジョウバエの生殖幹細胞ニッチでもcadherinを介してニッチ細胞と生殖幹細胞が接着していることが示されていることから³⁾、種間で保存された幹細胞ニッチのリーズナブルなモデルとして当初は受け止められた。この、骨芽細胞が造血幹細胞のニッチ細胞として機能するというモデルを「骨芽細胞ニッチ」と呼ぶ。その後も骨芽細胞に異常が生じるマウスモデルで造血幹細胞異常が報告されている。また、造血幹細胞を維持するニッチ因子であるAngiopoietin-1 (Ang-1) やTPOが骨芽細胞から供給されて、造血幹細胞が発現するそれぞれのニッチ因子の受容体であるTie2とc-Mplにそれぞれ受容されることで造血幹細胞の細胞周期静止期の維持がなされているというモデルも提案された^{8,9)}。骨表面の内骨膜近傍部位において、骨芽細胞は骨を破壊する破骨細胞と協調的に働き、一つの機能ユニットとして骨恒常性を保つことが知られている。破骨細胞の活性化が、造血幹細胞の末梢への動員に寄与していることも、骨芽細胞とその近傍の構造が造血幹細胞の維持に重要な役割を果たすという仮説を支持した¹⁰⁾。骨芽細胞ニッチを構成する細胞を明らかにするために内骨膜近傍の非血球細胞を表面抗原に基づいて分画した検討から、CD45⁻ Ter119⁻ CD31⁻ Sca-1⁻ ALCAM⁺の未分化骨芽細胞分画はN-cadherinを含む各種のニッチ因子を発現しており、ソート後にも造血幹細胞と共培養することで、体外で幹細胞活性を維持できることが示された¹¹⁾。一方、N-cadherinに対するモノクローナル抗体を用いて胎仔肝造血幹細胞を抗体が標識する分画と非標識分画に細分化し、放射線照射した成体マウスに骨髄移植を行って幹細胞活性を評価したところ、抗体でラベルされた分画の方が移植後に幹細胞活性を高く保っていた¹²⁾。さらに、N-cadherinをウイルスベクターを用いて造血幹前駆細胞に過剰発現すると、移植された造血幹細胞の骨髄への移行が促進されること¹³⁾、N-cadherinのドミナントネガティブ体やN-cadherinに対する低分子ヘアピン型RNA (shRNA) をウイルスベクターを用いて造血幹前駆細胞で発現させて骨髄移植を行うと、骨髄への移行の低下と末梢血産生能の低下を招く^{13,14)}ことも認められた。以上の結果から、N-cadherinのホモフィリックな結合を介して骨芽細胞と造血幹細胞が相互作用すること、移植後のニッチへの生着などに重要な機能を果たしていることが示唆された。これを支持するように、免疫不全マウスへ移植されたヒト造血幹細胞は骨芽細胞が存在する内骨膜に接していること¹⁵⁾、N-cadherinタンパク質でコートしたマイクロウェルで造血幹細胞を培養すると細胞周期の静止状態が保たれること^{13,16)}などがこれまでに報告されている。

ところが、MorrisonらはN-cadherin遺伝子領域にLacZ遺伝子をノックインしてLacZ活性でN-cadherinの発現をモニターできるマウスを作製・解析し、骨髄細胞のうち、N-cadherinを発現しない細胞のみが幹細胞活性を持つこと、そもそも造血幹細胞にN-cadherinの発現が存在しないこと、骨芽細胞が減少するbiglycan欠損マウスでも造血幹細胞には異常が存在しないことを報告した¹⁷⁾。さらに、N-cadherin遺伝子を造血幹細胞や未分化骨芽細胞などを含む細胞で後天的に欠失させたマウスが造血幹細胞異常を呈さないことから、N-cadherinは造血幹細胞とそのニッチでは機能していないと報告した¹⁸⁾。また、N-cadherinをOsx-CreやColl-Creを用いて骨芽細胞系列で欠失させたマウスでは、一時的な骨梁増加と加齢時の骨減少といった骨形成異常は呈するものの、造血幹細胞には異常がないことが報告されている^{19, 20)}。加えて、骨芽細胞系統でCreを発現するラインを用いて、造血幹細胞ニッチ因子として不可欠であるSCFやケモカインCXCL12を*in vivo*で骨芽細胞特異的に欠失させても、骨髄内の造血幹細胞の数や機能にはほとんど変化がないことが示されている^{21~23)}。このように、ノックアウトマウスなどの遺伝学的な解析から現在得られている結果では、少なくとも骨芽細胞性ニッチがそれ単体で定常状態の骨髄の造血幹細胞全体を維持するために十分な機能を果たしているとは考えづらい。

ただし、現状でもほかのニッチ細胞で代償できる範囲で、骨芽細胞性ニッチが定常状態の造血幹細胞維持に寄与している可能性は残されている。たとえば、N-cadherin陽性の未分化骨芽細胞は複数の非古典的Wntリガンドと古典的Wntシグナルインヒビターを発現しており、静止期造血幹細胞が発現する非古典的Wntシグナル経路の受容体であるFrizzled8と、Flamingoを介して細胞周期の静止状態を維持していることが示されている²⁴⁾。造血幹細胞の増殖が必要な局面では、N-cadherinを発現する未分化骨芽細胞の非古典的Wntと古典的Wntシグナルインヒビターの発現が抑制され、古典的Wnt経路が造血幹細胞で相対的に活性化して、NFATや β -cateninシグナルの活性化・発現誘導によって細胞周期を活性化するというモデルが提唱されている²⁴⁾。また、加齢時は非古典的WntリガンドであるWnt5aが造血幹細胞自身から分泌され、造血幹細胞における非古典的/古典的Wntシグナル入力のバランスが非古典的Wnt優位に傾くことが造血幹細胞の加齢性変化の一因となることが示唆されており²⁵⁾、Wnt5aを骨芽細胞や血球細胞などの各細胞系統特異的Creマウスを用いて欠失させたマウスモデルを用いた遺伝学的な検討が待たれる。

一方、granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) 投与による骨髄の造血幹細胞の末梢への動員の際は、交感神経系を介した骨芽細胞機能の低下とCXCL12発現低下が誘導され、造血幹細胞が末梢へ放出される。定常状態以外で急性のストレスに応答することが必要な状況で幹細胞動態を制御しているニッチとして機能すると考えられる²⁶⁾。

さらに、骨芽細胞はWntシグナル等を介して後述するニッチ細胞・間葉系前駆細胞の機能を調整することも知られており²⁷⁾、骨髄全体のニッチ機能を調節する役割を果たしていると思われる。骨芽細胞でSCFを欠損させたマウスではリンパ球系の前駆細胞数が減少しており²¹⁾、定常状態では前駆細胞のニッチとして機能していることも見いだされている。

4) 血管性ニッチとその概念の拡張

マウスの造血幹細胞を同定する際に、SLAMファミリーに属する膜表面分子CD150の発現を指標にすることが有用であると報告されている²⁸⁾。この際、CD150陽性で分化マーカー陰性の造血幹細胞は必ずしも内骨膜領域に存在するわけではなく、骨髄全体に局在し、とりわけ血管近傍で血管に接触しているとして骨芽細胞性ニッチと対比して「血管性ニッチ」という概念が提唱された。血管性ニッチの主要な構成要素としては血管内皮細胞そのものと、血管内皮細胞の周囲に存在する間葉系前駆細胞があげられる(図1)。血管再生を阻害すると骨髄再生が抑制される。実際、骨髄血管内皮細胞からはニッチ因子SCFやCXCL12が発現しており、血管内皮でこれらの遺伝子を欠損させると、骨髄の造血幹細胞の数が減少することが報告されている^{21~23)}。

一方、骨髄の血管近傍には脂肪細胞や骨芽細胞へと分化する能力を保持した間葉系前駆細胞が存在しており、造血幹細胞はこれらの細胞に接して存在すると報告されている。この間葉系前駆細胞はCXCL12やSCF, Ang-1, Vcam1, Spp1といったニッチ因子を豊富に発現し、造血幹細胞維持に重要な機能を果たしている^{29, 30)}。特に、これらの間葉系前駆細胞は細胞表面に脂肪細胞から分泌されるレプチンの受容体を発現している³¹⁾。糖尿病ではレプチン抵抗性が認められ、骨粗鬆症の危険因子となったり、造血幹細胞ニッチの機能異常による末梢への造血幹・前駆細胞の動員が低下したりすることが知られている³²⁾。したがって、糖尿病をはじめとした生活習慣病の病態生理に骨髄の間葉系前駆細胞を軸にした造血幹細胞ニッチの変調が関与している可能性がある。間葉系前駆細胞から分化する骨髄の白色脂肪細胞自体も造血幹細胞の増殖に抑制的に作用することが報告されている³³⁾。間葉系前駆細胞の脂肪化の防止とニッチ機能の維持には転写因子FoxC1が必要であることも明らかになった³⁴⁾。一方、骨髄には褐色脂肪細胞様の脂肪細胞が豊富に存在しており、それらが各種の造血幹細胞ニッチ因子となるサイトカインを発現しているという報告もあることから³⁵⁾、間葉系前駆細胞からの脂肪細胞産生制御も重要なニッチの制御機構となると考えられる。

また、骨髄血管の多くは洞様血管内皮と呼ばれる比較的血管径が大きい血管であり、静脈様の機能を果たす。一方、骨髄の細動脈近傍部位のニッチとしての機能も注目されている。骨髄の細動脈は周皮細胞によって覆われているが、この細胞は間葉系前駆細胞としての特性を保持してい

ることが報告された³⁶⁾。また、細動脈周囲の周皮細胞では洞様血管内皮近傍の間葉系前駆細胞よりも造血幹細胞ニッチ因子の発現が高く、細胞周期がより静止状態にあり、同様に細胞周期がより静止状態の造血幹細胞が近傍に局在していることが見いだされた。さらにジフテリア毒素受容体を動脈周囲の周皮細胞に発現させた上で、ジフテリア毒素を投与して細胞を除去すると造血幹細胞数が減少することから、機能的な造血幹細胞のニッチ細胞であることが示唆されている³⁶⁾。また、造血幹細胞とこれらの間葉系前駆細胞サブセットの平均距離を測定すると、洞様血管内皮と造血幹細胞の距離は平均 14.8 μm 、細動脈内皮と造血幹細胞との距離は平均 52.0 μm であり、動脈内皮と造血幹細胞の接着を介したシグナルがどの程度必要であるかについても興味を持たれる。ただし細動脈周囲の周皮細胞をラベルする NG2-CreERT マウスを用いた細胞系譜解析では間葉系細胞が標識されないことから³¹⁾、今後さらなる解析が必要であると思われる。

さらに、血管内皮細胞と間葉系前駆細胞に加えて、骨髓血管近傍の神経線維を覆うシュワン細胞も血管性ニッチの構成要素であると考えられている。骨髓のシュワン細胞は、骨髓に豊富に存在する非活性化型の transforming growth factor- β (TGF- β) を活性化型 TGF- β に変換し、造血幹細胞の細胞周期を静止期化する機能を果たすことが示唆されている³⁷⁾。このように血管内皮細胞だけでなく、血管の近傍に局在する種々の細胞が造血幹細胞を維持するニッチとして重要な役割を果たしていると考えられる。ヒトの骨髓でも骨芽細胞へと分化する血管近傍の未分化間葉系細胞が造血幹細胞ニッチとして機能することが示唆されており³⁸⁾、マウスで見いだされたニッチ細胞との位置づけについても興味を持たれる。

5) 分化血球細胞もニッチを構成する

間葉系のニッチ細胞はあくまでも骨髓細胞の中でもマイナーな画分である。骨髓の大半を占めているのは血球細胞であり、造血幹細胞が骨髓の中で接触しているのも主に血球細胞である。便宜上、骨芽細胞性ニッチの構成要素として前述した破骨細胞も造血幹細胞由来のマクロファージに近い血球細胞であるが、それ以外の血球細胞も造血幹細胞のニッチとして機能していることが示唆されている(図2)。たとえば、内骨膜近傍に存在するマクロファージによる骨芽細胞機能の調整が、G-CSF 投与によって造血幹・前駆細胞がニッチから末梢へ動員される際に必要である^{39, 40)}。また、制御性 T 細胞も造血幹細胞近傍部位に存在していることが報告されており⁴¹⁾、造血幹細胞近傍における過剰な免疫応答とそれに関連した炎症性サイトカインから幹細胞を防護している可能性がある。これらは直接的に造血幹細胞を制御しているというよりは造血幹細胞ニッチの環境を維持・整備している機能を果たしていると考えられている。

一方、分化血球細胞を産生するのが造血幹細胞の基本的

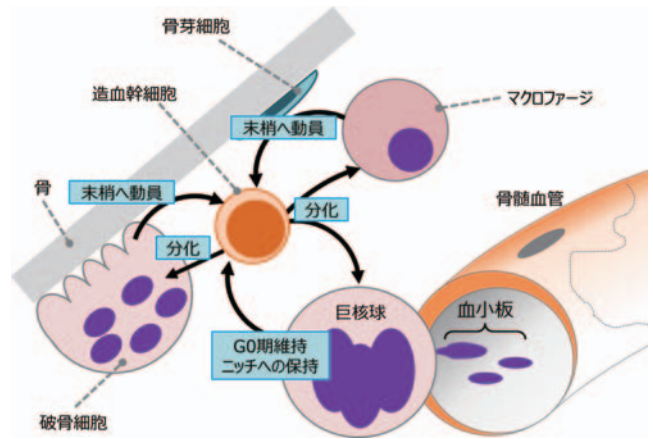


図2 分化血球細胞による造血幹細胞制御

造血幹細胞から生み出される分化血球細胞もニッチ細胞として振る舞う。骨髓のマクロファージや破骨細胞は造血幹細胞の動員を制御する。一方、血小板を産生する巨核球は PF4 や、TGF- β 1、TPO といったケモカイン・サイトカインを介して造血幹細胞の静止状態を維持する。このほかニッチには制御性 T 細胞が局在することが知られている(本文参照)。

な機能であることを考えると、分化血球細胞が直接的な造血幹細胞のニッチとして機能すれば分化血球細胞の産生に都合がよい。すなわち、ニッチとして機能する分化血球が失われると造血幹細胞の静止状態と未分化性が失われ、その結果分化血球の産生が可能となると思われる。この実例として、血小板を産生する巨核球があげられる。巨核球は CXCL4 や TGF- β 、TPO といった分泌性因子を造血幹細胞に供給して、造血幹細胞の静止状態を維持する^{42~44)}。実際、巨核球を除去したマウスモデルでは、造血幹細胞の細胞周期の静止状態が失われていると報告されている。また、造血ストレス後は巨核球からの FGF1 が造血幹細胞の増殖を誘導する⁴²⁾。

これらを総合すると、骨髓の造血幹細胞ニッチとは必ずしも単一の細胞種が担うものではなく、さまざまなニッチ細胞が状況に応じて造血幹細胞の機能を制御するものであると考えられている。

3. 非細胞性ニッチ成分としての骨髓低酸素環境

1) 骨髓の低酸素環境と“低酸素ニッチ”の存在について

体内の酸素分圧は臓器や組織ごとに多彩であることが知られている。その中でも骨髓は、骨を貫いて進入する血管の数が限られているために酸素の供給が限定された低灌流な臓器とされている。それに加えて、骨髓を満たす血球細胞が活発に酸素を消費するために、結果として骨髓は他臓器に比べて低酸素環境にあるとも考えられている。造血幹細胞が存在する骨髓では低酸素環境がニッチの構成因子として重要な役割を果たしている。骨髓の酸素供給と酸素消費に基づいたシミュレーションから、骨髓は比較的血管近傍部位であっても低酸素環境であることが示唆されていた⁴⁵⁾。実際に、骨髓の組織学的解析からマウスの造血幹細胞

胞やマウスに移植されたヒト造血幹細胞は、低酸素マーカー pimonidazole を高く保持することが知られている⁴⁶⁻⁵⁰。また、健常ヒト骨髄の吸引細胞検体の酸素分圧は平均値で 54.9 mmHg で、酸素飽和度は 87.5% であったことから⁵¹、骨髄が比較的低酸素環境であることは種を問わず共通であろうと考えられている。二光子顕微鏡と低酸素プローブを用いてマウス骨髄の酸素分圧を直接測定した研究から、骨髄はたとえ血管近傍部位であっても低酸素分圧であることが報告されている⁵²。この報告では、リン光プローブ PtP-C343 を投与したマウスの頭蓋骨骨髄を二光子顕微鏡で観察し、骨髄にある 2 種類の血管、細動脈と洞様血管それぞれの血管内と血管外の酸素分圧を測定した。その結果、骨髄は全体的に低酸素環境 (<32 mmHg) であり、その中でも細動脈とその近傍ではやや酸素分圧が高く (血管内: 平均 21.9 mmHg, 血管外: 平均 13.5 mmHg)、洞様血管内皮とその近傍ではそれよりわずかに酸素分圧が低い (血管内: 平均 17.7 mmHg, 血管外: 平均 9.9 mmHg) ことが示された。

こうした低酸素環境は低酸素誘導転写因子 (hypoxia-inducible factor-1 α : HIF-1 α) を介して造血幹細胞に影響を及ぼしていることが知られている。HIF-1 α タンパク質は通常の大気中の酸素分圧では酸素依存性のプロリン水酸化酵素 (prolyl hydroxylase) である PHD によって酸素依存性分解ドメインのプロリン残基が水酸化され、この水酸化プロリン残基が E3 ユビキチンリガーゼである VHL によって認識される結果、ユビキチン・プロテアソームシステムによって分解される。骨髄の細動脈近傍あるいは洞様血管近傍では低酸素マーカーである HIF-1 α タンパク質が安定化するために十分に低い酸素分圧 (<32 mmHg) である。実際、ほとんどの造血幹細胞が HIF-1 α タンパク質を安定化している上、骨髄で pimonidazole で染まる部位は点在しており大きな帯状や島状の領域を形成しているわけではない^{46,50}。こうした解析結果は骨髄に特定の低酸素部位やゾーン、あるいは「低酸素ニッチ」が存在するというよりは、ニッチを含む骨髄全体がそもそも低酸素環境であることを示唆している。間葉系前駆細胞のうち細動脈近傍

のものの方がより未分化であるという知見を併せると³⁶、HIF-1 α タンパク質を発現した造血幹細胞は、低酸素環境の中でも酸素分圧がやや高い部位細動脈近傍から酸素分圧がやや低い洞様血管近傍部位へと移行しながら細胞周期が増殖相に入っていくと考えられる。

2) HIF 制御系を介した造血幹細胞維持機構

こうした低酸素環境が造血幹細胞について及ぼす影響については古くから培養系での検討がなされている。たとえば、骨髄の血球細胞を低酸素培養することで造血幹・前駆細胞活性を反映するコロニー形成能や骨髄移植生着能が高く維持されること⁵³、造血幹細胞が保持する色素を細胞外へくみ出す形質 (side population) が増強されること⁵⁴、造血幹細胞の細胞周期静止期化が誘導されること⁵⁵などが知られている。こうした観察結果は、造血幹細胞が低酸素環境によって維持されていることを示唆している。この分子機構としては低酸素応答系である PHD-VHL-HIF システムが重要であると考えられる (図 3)。

とりわけ HIF-1 α の転写は、造血幹細胞維持に必須の転写因子 Meis1 によって活性化されることから⁴⁷、造血幹細胞で重要な機能を果たしていることが示唆される。HIF-1 α ノックアウトマウスは胚性致死であるが⁵⁶、合成二本鎖 RNA である polyI : polyC 投与で Cre リコンビナーゼを活性化できる Mx1-Cre⁵⁷ を用いて HIF-1 α をホモ欠失した造血幹細胞を持つコンディショナルノックアウトマウス (HIF-1 α ^{Δ/Δ}マウス) を利用することで成体造血の検討ができる。末梢血の検討を行うと、軽度の白血球数の上昇と平均赤血球容積の低下を認めるが、各種の分化細胞画分での著明な異常は認めない。また、造血前駆細胞の機能にも有意な差は認めない⁴⁶。すなわち造血幹細胞以外の画分の維持については HIF-1 α の寄与は大きくないことが示唆される。

その一方、HIF-1 α ^{Δ/Δ}マウスから LSK 細胞を分取し骨髄移植実験を行うと、末梢血のドナー由来の血球細胞の割合 (キメリズム) は HIF-1 α ^{Δ/Δ}マウスに由来する LSK 細胞を移植されたレシピエントマウスで顕著な高値を示す。とこ

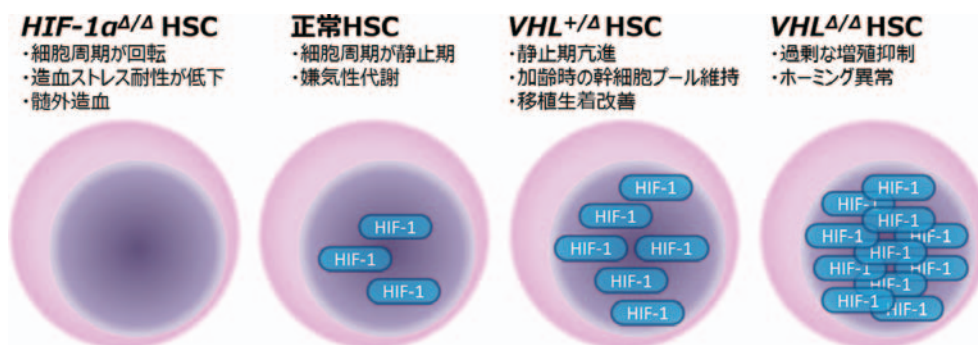


図 3 低酸素制御系の VHL/HIF-1 α 系の欠損した造血幹細胞 (HSC) の動態変化
HIF-1 α や VHL を欠損した細胞はそれぞれ HIF-1 α の量によって細胞周期や代謝特性を変える。特に、HIF-1 α 欠損あるいは VHL 欠損のいずれでも造血幹細胞機能が障害されることから、HIF-1 α 量の精密な制御が造血幹細胞が機能するために必要であると考えられる。

ろが、移植後4か月目に骨髄のLSK画分のキメリズムを解析すると、末梢血とは逆に *HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウス由来のキメリズムは著明に低下する。この際 *HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウスに由来するLSK細胞では、*Ink4a* 遺伝子座の産物である p16^{Ink4a} と p19^{Arf} の発現が上昇しており、老化細胞用の遺伝子発現パターンを呈する。実際に一次移植レシピエントからドナーに由来するLSK細胞を分取して二次移植レシピエントへの連続骨髄移植実験を行うと、*HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウスに由来するLSK細胞は完全に骨髄再構築能を失い末梢血キメリズムも低いままである⁴⁶⁾。そこで造血幹細胞で p16^{Ink4a} と p19^{Arf} の発現を抑制できるポリコム遺伝子 *Bmi1*⁵⁸⁾ をレトロウイルスベクターにより過剰発現すると、*HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウスの造血幹細胞は p16^{Ink4a} と p19^{Arf} の発現上昇が抑制されるだけでなく、対照と遜色ない骨髄再構築能を示す。また、加齢マウスや抗がん剤の連続投与マウスなど、造血幹細胞に骨髄移植実験以外のストレスを負荷する系でも *HIF-1 α* の欠損により幹細胞の減少や造血不全が認められることから、*HIF-1 α* は造血幹細胞にストレス耐性を付与すると考えられる。*HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウスの造血幹細胞ではG0期の細胞が減少していたことから、*HIF-1 α* 欠損による造血幹細胞の老化傾向は、本来静止状態にある造血幹細胞の細胞周期が亢進し複製老化を起こした結果であることが示唆される⁴⁶⁾。

一方、ヒトの常染色体優性の遺伝性疾患である von Hippel-Lindau 病の原因遺伝子である VHL 遺伝子のヘテロ欠損あるいはホモ欠損により *HIF-1 α* タンパク質の量が増加することが知られている。*VHL*^{+/-}マウスでは、造血幹細胞と造血前駆細胞におけるG0期にある画分が著明に増加していた。本来G0期にある細胞が少ない造血前駆細胞であるが、その増加の程度は *VHL*^{+/-}マウスの造血幹細胞画分に比べてより強度であった⁴⁶⁾。これは、通常造血前駆細胞に *HIF-1 α* は存在しないが、VHLのヘテロ欠損により安定化した *HIF-1 α* によって静止期化しうることを示唆している。生理的なストレス条件である加齢後の *VHL*^{+/-}マウスの骨髄では、造血幹細胞の割合と細胞数が野生型に比べて多く保たれる。また、若い *VHL*^{+/-}マウスの造血幹前駆細胞は移植すると高い骨髄キメリズムを示す。一方、*VHL*^{Δ/Δ}マウスの造血幹細胞の細胞周期は静止期化したが、骨髄中の機能的な造血幹細胞も減少する。この異常は *HIF-1 α* に依存的であり、*HIF-1 α* と VHL とのダブルロックアウト細胞では細胞周期の抑制も移植再構築能も回復する⁴⁶⁾。*VHL*^{Δ/Δ}マウスの造血幹細胞は骨髄移植後の骨髄へのホーミングが軽度低下しているが、移植再構築能が完全に失われることを説明できるほどではなく、それ以外の未知のメカニズムの関与も示唆される。たとえば *HIF* ファミリーの転写活性を負に制御する *CITED2* を欠失した造血幹細胞は細胞老化用の遺伝子発現を呈して機能異常を呈することも知られている⁵⁹⁾。すなわち VHL ホモ欠損に相当するような *HIF-1 α* の過剰な安定化は造血幹細胞機能を障害するが、ヘテロ欠損に相当するような比較的軽度の安定化

では造血幹細胞の維持や機能が增强されると考えられる。実際に、*HIF-1 α* を安定化する効果がある PHD の阻害剤で短時間造血幹細胞を処理して骨髄移植を行うと移植生着能が向上するが⁶⁰⁾、長時間の PHD 阻害剤処理では造血幹・前駆細胞活性が失われる⁶¹⁾ことから、*HIF-1 α* 量の精緻な制御が造血幹細胞プールを維持するために重要であると思われる。また、ヒト CD34 陽性臍帯血造血幹細胞においては *HIF-2 α* が小胞体ストレスを抑制し、その結果細胞死から守っていることが報告されているが⁶²⁾、マウス造血系では *HIF-2 α* は造血幹細胞維持には寄与しないとされている⁶³⁾。

一方、周囲の環境は低酸素分圧であるにも関わらず、造血前駆細胞では *HIF-1 α* があまりタンパク質として安定化しないことから⁴⁶⁾、前駆細胞レベルにおいて *HIF-1 α* の活性化を抑制するメカニズムが存在するものと考えられる。実際に、血球系で PHD ファミリーである *Phd2* を欠損したマウス骨髄には造血前駆細胞画分が蓄積することが知られており⁶⁴⁾、VHL や PHD といった *HIF* 分解系の活性化を介して *HIF-1 α* が造血前駆細胞で過剰に活性化しないことが造血恒常性を維持するために必要と考えられる。

3) 低酸素環境に適応するための造血幹細胞の解糖系優位の代謝特性

低酸素環境に存在する造血幹細胞は、酸素を消費するミトコンドリア酸化的リン酸化による ATP 産生がしづらい状況であると考えられる。実際、造血幹細胞ではミトコンドリアの数が少なく、少ないミトコンドリアも不活性化されていることが示唆されていた⁶⁵⁾。それに加えて未分化造血細胞のトランスクリプトームやプロテオームを比較すると静止期にある造血幹細胞が主として解糖系酵素を発現しており、ATP 産生を解糖系に依存していることが示唆されるのに対して、前駆細胞では好氣的解糖と酸化的リン酸化を同時に利用していることが示唆される^{66,67)}。*HIF-1 α* ^{Δ/Δ}マウスの造血幹細胞では本来低いはずのミトコンドリアの活性酸素の産生が亢進する一方、*VHL*^{+/-}マウスの造血幹細胞画分では活性酸素の産生が低下していたことから⁴⁶⁾、VHL/*HIF* 経路は造血幹細胞の代謝特性を制御している可能性が示唆される。造血幹細胞などの各種の血球細胞画分を用いてメタボローム解析をはじめとする代謝解析を実施すると、造血幹細胞では解糖系の律速酵素であるホスホフルクトキナーゼの基質であるフルクトース 6-リン酸が少なく、酵素反応で産生されるフルクトース 1,6-ビスリン酸が比較的多く含まれている。また、解糖系の ATP 産生反応を触媒するピルビン酸キナーゼの基質であるホスホエノールピルビン酸が低値で、産生されるピルビン酸が高値を示す。フルクトース 1,6-ビスリン酸はピルビン酸キナーゼをアロステリックに活性化することから、この代謝産物のプロファイルは、造血幹細胞において解糖系が優位に利用されていることを示唆する。実際、造血幹細胞では解糖系の活性化を反映する細胞内乳酸脱水素酵素 (lactate

dehydrogenase : LDH) 活性や乳酸の産生が前駆細胞よりも高い一方で、酸素消費は低値である⁶⁸。

こうした代謝特性を規定する分子機構として、造血幹細胞ではピルビン酸脱水素酵素 (pyruvate dehydrogenase : PDH) の E1 α サブユニットのリン酸化反応と LDHA を介したピルビン酸から乳酸への変換が重要であると考えられている^{68,69} (図4)。PDH はピルビン酸をアセチル CoA へと変換する反応を触媒し、ミトコンドリアの TCA サイクルを駆動する。PDH のリン酸化酵素 (PDH kinase : Pdk) によってリン酸化されることによって PDH-E1 α は酵素活性を失い、解糖系から TCA サイクルに代謝産物を送り込めなくなる。結果として解糖系が活性化され、TCA サイクルと解糖系は脱共役されることになる。造血幹細胞では PDH-E1 α がリン酸化されていることから、Pdk が活性化していることが示唆される。また、HIF-1 α を欠損した造血幹細胞では Pdk ファミリーのうち Pdk2 と Pdk4、LDHA の発現が低下していることが確認され、PDH のリン酸化レベルや解糖系特性の低下、ミトコンドリアの肥大も観察される。すなわち、HIF-1 α は解糖系の制御を介して造血幹細胞の代謝特性を制御していることが示唆される。実際、Pdk2/Pdk4 の共欠損⁶⁸あるいは LDHA を欠損した造血幹細胞⁶⁹は解糖系活性が低下しており、造血幹細胞は HIF-1 α を介して解糖系を活性化することで低酸素環境に適した代謝特性を確保していると考えられる。このほかに HIF-1 α は分泌タンパク質である vascular endothelial growth factor (VEGF) や Cripto の転写活性化を誘導し、それぞれ

造血幹細胞自身が持つ受容体 Flk-1 あるいは GRP78 で受容することで低酸素環境下における生存を促進する⁷⁰⁻⁷²。特に、Cripto は造血幹細胞の解糖系活性を促進することが示されており⁷²、低酸素応答系が活性化する複合的なメカニズムで造血幹細胞の代謝特性が制御されていると考えられる。

以上のような解糖系に依存した代謝特性は造血幹細胞の細胞周期を静止状態にとどめるためにも機能している。HIF-1 α 、あるいは Pdk2 と Pdk4 を共欠損した造血幹細胞は細胞周期の静止期性が失われている。その結果、造血幹細胞は骨髄移植などの造血ストレスに脆弱となり細胞老化に陥りやすくなる。すなわち、こうした解糖系代謝特性は直接造血幹細胞の活性を維持するために不可欠の機能を果たしていると考えられる (図4)。通常、長期培養を行った造血幹細胞は培地中のサイトカインに反応して増殖・分化・細胞老化し、移植しても生着する能力を失う。ところが Pdk と同様に PDH 活性を抑制する L-アミノエチルホスフィン酸を添加して造血幹細胞を液体培地中で培養すると、造血幹細胞は増殖をほとんどせず、未分化な形質を保って移植生着能を保持したまま培養可能となる⁶⁸。したがって、造血幹細胞の解糖系を増強することは造血幹細胞を操作する新たな技術となる可能性がある。

一方、解糖系酵素は造血前駆細胞でも重要な機能を果たす。ホスホエノールピルビン酸からピルビン酸への反応を触媒するピルビン酸キナーゼのうちの M 型遺伝子は選択的スプライシングを受けて PKM1 と PKM2 という二つの酵素を産生する。PKM2 に特異的なエキソンを誘導的に欠失したマウスの造血幹細胞は生存するものの、造血前駆細胞は異常を呈する⁶⁹。これらの知見は、分化段階によってエネルギー産生の際に利用する解糖系酵素が異なることを示唆している。

4. 病態や薬剤による造血幹細胞ニッチの変容とその影響

炎症や造血器腫瘍などで造血幹細胞ニッチの機能が障害されると造血恒常性が変容すると考えられている。たとえば感染時には骨髄の CXCL12 が減少して、造血幹細胞が脾臓へと移行することが報告されている⁷³。また、抗がん剤によって交感神経系が障害されると造血幹細胞ニッチが機能不全となって造血回復が遅延することが報告されている。これは神経防護剤の投与による交感神経障害の抑制で防ぐことができる⁷⁴。一方、各種の造血器腫瘍も骨髄ニッチを利用して維持されていることが示唆されている。たとえば急性骨髄性白血病では骨芽細胞近傍に抗がん剤耐性を持つ白血病幹細胞が局在していることが知られている^{75,76}。一方、慢性骨髄性白血病モデルでは、白血病細胞が産生する CCL3 や TPO が内骨膜領域の間葉系前駆細胞から線維芽細胞への分化を促進する⁷⁷。その結果、間葉系前駆細胞から産生される造血幹細胞を維持するニッチ因子の発現低

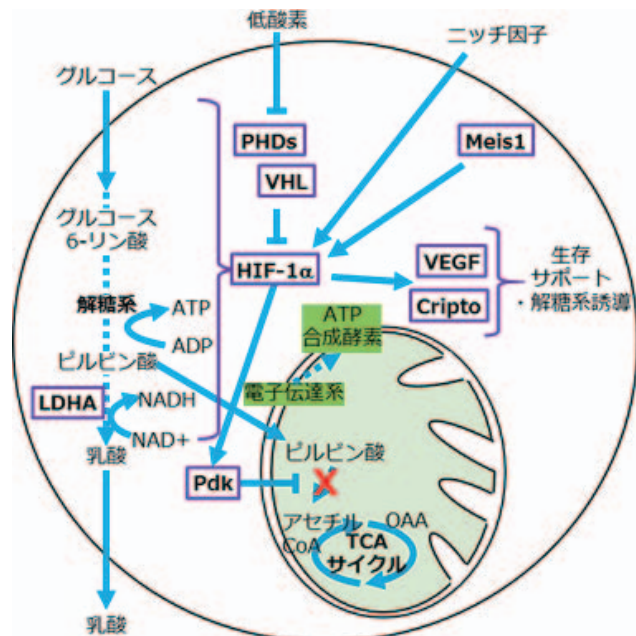


図4 低酸素応答系が制御する造血幹細胞の代謝プログラム
低酸素環境やニッチ因子、転写因子 Meis1 によって HIF-1 α の発現・安定化が誘導される。HIF-1 α はピルビン酸脱水素酵素リン酸化酵素 (Pdk) や LDHA を含む解糖系酵素の発現誘導を介してミトコンドリアと解糖系の脱共役を行い、細胞老化につながる活性酸素種産生を抑制しながら解糖系優位の代謝を誘導する。

下と、線維芽細胞から産生される炎症性サイトカインの発現上昇によって正常造血の抑制と、白血病幹細胞の維持がもたらされる。また、こうしたニッチに起こった異常が造血器腫瘍の原因となりうる観察結果も知られている。先天性の膵外分泌腺異常と骨髄不全、骨格異常を呈する Schwachman-Bodian-Diamond 症候群の原因遺伝子である *Sbds* を骨芽前駆細胞で欠損させると、造血幹細胞が造血不全を伴う前白血病状態である骨髄異形成症候群様の状態を呈する⁷⁸⁾。さらに造血幹細胞に *JAK2* 遺伝子の V617F 変異で誘導される骨髄増殖性疾患は、骨髄の交感神経線維やシュワン細胞、間葉系前駆細胞が減少して骨髄の CXCL12 量が減少し、その結果病態が進展する⁷⁹⁾。この原因は *JAK2* 変異を保持した造血幹細胞が産生する IL-1 β によっており、 β 3 アドレナリン受容体作動薬を用いることでニッチの異常とそれに付随した骨髄増殖性疾患進展が抑制される。

固形腫瘍の増殖・進展には低酸素環境が重要な役割を果たすことが知られている。造血器腫瘍においても低酸素微小環境や低酸素応答システムに依存して増殖や抗がん剤耐性、あるいは幹細胞性を獲得することが知られている⁸⁰⁾。急性骨髄性白血病における白血病幹細胞画分は細胞周期が静止状態で、活性酸素産生が低下しており、アポトーシス抑制因子 BCL-2 を過剰発現している。BCL-2 を阻害することで酸化リン酸化が活性化されて、白血病幹細胞幹細胞が細胞周期へと侵入して抗がん剤の標的になりやすくなることが見いだされた^{81, 82)}。

5. まとめにかえて：これまでの造血幹細胞ニッチ研究と今後の展望

造血幹細胞を維持するニッチの研究では、骨髄切片の免疫染色などの結果の解釈が難しい実験データに基づいた仮説が提示された結果、何がニッチ細胞であるのかについてさえ混沌とした状況が存在した。しかし、より精密な実験系による検討が増えてきたことで視界が徐々に晴れつつある⁸³⁾。具体的には、二つの方法論の寄与が大きい。一つはニッチ細胞の候補である特定の種類の細胞にジフテリア毒素受容体や誘導型のカスパーゼを発現させた上で薬剤投与することでその細胞種を除去して、その結果幹細胞側に起こる効果を検証するアプローチである。また一方で、各種のニッチ細胞で Cre を発現するトランスジェニックシステムを利用してニッチ因子候補をコンディショナルノックアウトする方法論によって、どの細胞からのニッチ因子の供給が重要であるかも明確になってきている。現状では、間葉系前駆細胞画分だけがこれらの両方の検証に耐えたニッチ細胞である。血管内皮細胞やシュワン細胞、巨核球や骨芽細胞についてはこれらの検証がなされていないか、一部しかなくおらず、さらなる実験検討が必要である。また、ニッチ因子のコンディショナルノックアウトについても、ほかの細胞による代償を最小限度にとどめるために Cre-

ERT などを用いて特定の時期に誘導的にノックアウトすることで丁寧な検証を行う必要がある。

今後はこうした検証の必要性に加えていくつかの解決されるべき課題が存在すると考えられる。まず、どのように骨髄ニッチが作られ、病に冒されたり加齢したりする中でいかに変化するかという問題である。これらについての知見は限られている上、2年程度の寿命のマウスで得られた知見が、80年以上生きる我々ヒトの加齢ニッチでどの程度外挿可能であるかは不明なままである。マウスモデルの *in vivo* イメージングによる検討も行われているが、造血幹細胞やニッチを標識したトランスジェニックシステムを複数組み合わせた長時間の解析が重要である。また、すでに交感神経系による骨髄ニッチの制御は知られているが、それ以外のタイプの神経制御や、他臓器に由来するホルモン性制御の研究は重要な意味があると考えられる。特に、TPO などの造血サイトカインは肝臓や腎臓で作られることから、ほかの遠隔臓器から骨髄という臓器にある造血幹細胞とニッチをどう制御しているかは重要な問題である。もう一つは、ニッチが造血幹細胞に対して実際に発揮する効果の実体はまだ確定していないという事実がある。自己複製や分化、ニッチからの離脱において細胞内代謝制御がどう関わり、ニッチシグナルが代謝をどう調節するかについてのさらなる検討も必要である。

さらに、これまで均一な細胞集団と仮定されてきた造血幹細胞にも多様性やヒエラルキーが存在する⁸⁴⁻⁸⁷⁾ことや、定常状態の造血では多能性前駆細胞の寄与が造血幹細胞よりも大きいとする知見⁸⁸⁾も報告されており、各種の造血幹細胞や前駆細胞を制御するニッチ機構や細胞内代謝特性の多様性の解明も進んでいくものと思われる。

謝辞

本稿で紹介した研究を行う機会をいただいた慶應義塾大学医学部発生分化生物学の須田年生教授と、研究室で日夜一緒に仕事を進めてきた過去と現在のグループメンバーの皆さんに深く感謝申し上げます。また、いつもご指導いただいている慶應義塾大学の末松誠博士、曾我朋義博士、金沢大学の平尾敦博士、広島大学の本田浩章博士、山口大学の池田栄二博士をはじめとする多くの共同研究者の方々にも厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) Bianconi, E., Piovesan, A., Facchin, F., Beraudi, A., Casadei, R., Frabetti, F., Vitale, L., Pelleri, M.C., Tassani, S., Piva, F., Perez-Amodio, S., Strippoli, P., & Canaider, S. (2013) *Ann. Hum. Biol.*, 40, 463-471.
- 2) Schofield, R. (1978) *Blood Cells*, 4, 7-25.
- 3) Losick, V.P., Morris, L.X., Fox, D.T., & Spradling, A. (2011) *Dev. Cell*, 21, 159-171.
- 4) Iwasaki, H., Arai, F., Kubota, Y., Dahl, M., & Suda, T. (2010) *Blood*, 116, 544-553.
- 5) Sugiyama, D., Kulkeaw, K., Mizuochi, C., Horio, Y., & Okayama, S. (2011) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 410,

- 301–306.
- 6) Calvi, L.M., Adams, G.B., Weibrecht, K.W., Weber, J.M., Olson, D.P., Knight, M.C., Martin, R.P., Schipani, E., Divieti, P., Bringham, F.R., Milner, L.A., Kronenberg, H.M., & Scadden, D.T. (2003) *Nature*, 425, 841–846.
 - 7) Zhang, J., Niu, C., Ye, L., Huang, H., He, X., Tong, W.G., Ross, J., Haug, J., Johnson, T., Feng, J.Q., Harris, S., Wiedemann, L.M., Mishina, Y., & Li, L. (2003) *Nature*, 425, 836–841.
 - 8) Arai, F., Hirao, A., Ohmura, M., Sato, H., Matsuoka, S., Takubo, K., Ito, K., Koh, G.Y., & Suda, T. (2004) *Cell*, 118, 149–161.
 - 9) Yoshihara, H., Arai, F., Hosokawa, K., Hagiwara, T., Takubo, K., Nakamura, Y., Gomei, Y., Iwasaki, H., Matsuoka, S., Miyamoto, K., Miyazaki, H., Takahashi, T., & Suda, T. (2007) *Cell Stem Cell*, 1, 685–697.
 - 10) Kollet, O., Dar, A., Shvitiel, S., Kalinkovich, A., Lapid, K., Sztainberg, Y., Tesio, M., Samstein, R.M., Goichberg, P., Spiegel, A., Elson, A., & Lapidot, T. (2006) *Nat. Med.*, 12, 657–664.
 - 11) Nakamura, Y., Arai, F., Iwasaki, H., Hosokawa, K., Kobayashi, I., Gomei, Y., Matsumoto, Y., Yoshihara, H., & Suda, T. (2010) *Blood*, 116, 1422–1432.
 - 12) Toyama, H., Arai, F., Hosokawa, K., Ikushima, Y.M., & Suda, T. (2012) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 428, 354–359.
 - 13) Hosokawa, K., Arai, F., Yoshihara, H., Iwasaki, H., Hembree, M., Yin, T., Nakamura, Y., Gomei, Y., Takubo, K., Shiama, H., Matsuoka, S., Li, L., & Suda, T. (2010) *Cell Stem Cell*, 6, 194–198.
 - 14) Hosokawa, K., Arai, F., Yoshihara, H., Iwasaki, H., Nakamura, Y., Gomei, Y., & Suda, T. (2010) *Blood*, 116, 554–563.
 - 15) Yahata, T., Mугuruma, Y., Yumino, S., Sheng, Y., Uno, T., Matsuzawa, H., Ito, M., Kato, S., Hotta, T., & Ando, K. (2008) *Stem Cells*, 26, 3228–3236.
 - 16) Lutolf, M.P., Doyonnas, R., Havenstrite, K., Koleckar, K., & Blau, H.M. (2009) *Integr. Biol. (Camb)*, 1, 59–69.
 - 17) Kiel, M.J., Radice, G.L., & Morrison, S.J. (2007) *Cell Stem Cell*, 1, 204–217.
 - 18) Kiel, M.J., Acar, M., Radice, G.L., & Morrison, S.J. (2009) *Cell Stem Cell*, 4, 170–179.
 - 19) Greenbaum, A.M., Revollo, L.D., Woloszynek, J.R., Civitelli, R., & Link, D.C. (2012) *Blood*, 120, 295–302.
 - 20) Bromberg, O., Frisch, B.J., Weber, J.M., Porter, R.L., Civitelli, R., & Calvi, L.M. (2012) *Blood*, 120, 303–313.
 - 21) Ding, L., Saunders, T.L., Enikolopov, G., & Morrison, S.J. (2012) *Nature*, 481, 457–462.
 - 22) Ding, L. & Morrison, S.J. (2013) *Nature*, 495, 231–235.
 - 23) Greenbaum, A., Hsu, Y.M., Day, R.B., Schuettpelz, L.G., Christopher, M.J., Borgerding, J.N., Nagasawa, T., & Link, D.C. (2013) *Nature*, 495, 227–230.
 - 24) Sugimura, R., He, X.C., Venkatraman, A., Arai, F., Box, A., Semerad, C., Haug, J.S., Peng, L., Zhong, X.B., Suda, T., & Li, L. (2012) *Cell*, 150, 351–365.
 - 25) Florian, M.C., Nattamai, K.J., Dorr, K., Marka, G., Uberle, B., Vas, V., Eckl, C., Andra, I., Schiemann, M., Oostendorp, R.A., Scharffetter-Kochanek, K., Kestler, H.A., Zheng, Y., & Geiger, H. (2013) *Nature*, 503, 392–396.
 - 26) Katayama, Y., Battista, M., Kao, W.M., Hidalgo, A., Peired, A. J., Thomas, S.A., & Frenette, P.S. (2006) *Cell*, 124, 407–421.
 - 27) Wan, Y., Lu, C., Cao, J., Zhou, R., Yao, Y., Yu, J., Zhang, L., Zhao, H., Li, H., Zhao, J., Zhu, X., He, L., Liu, Y., Yao, Z., Yang, X., & Guo, X. (2013) *Bone*, 55, 258–267.
 - 28) Kiel, M.J., Yilmaz, O.H., Iwashita, T., Yilmaz, O.H., Terhorst, C., & Morrison, S.J. (2005) *Cell*, 121, 1109–1121.
 - 29) Mendez-Ferrer, S., Michurina, T.V., Ferraro, F., Mazloom, A. R., Macarthur, B.D., Lira, S.A., Scadden, D.T., Ma'ayan, A., Enikolopov, G.N., & Frenette, P.S. (2010) *Nature*, 466, 829–834.
 - 30) Omatsu, Y., Sugiyama, T., Kohara, H., Kondoh, G., Fujii, N., Kohno, K., & Nagasawa, T. (2010) *Immunity*, 33, 387–399.
 - 31) Zhou, B.O., Yue, R., Murphy, M.M., Peyer, J.G., & Morrison, S.J. (2014) *Cell Stem Cell*, 15, 154–168.
 - 32) Ferraro, F., Lymperi, S., Mendez-Ferrer, S., Saez, B., Spencer, J.A., Yeap, B.Y., Masselli, E., Graiani, G., Prezioso, L., Rizzini, E.L., Mangoni, M., Rizzoli, V., Sykes, S.M., Lin, C.P., Frenette, P.S., Quaini, F., & Scadden, D.T. (2011) *Sci. Transl. Med.*, 3, 104ra101.
 - 33) Naveiras, O., Nardi, V., Wenzel, P.L., Hauschka, P.V., Fahey, F., & Daley, G.Q. (2009) *Nature*, 460, 259–263.
 - 34) Omatsu, Y., Seike, M., Sugiyama, T., Kume, T., & Nagasawa, T. (2014) *Nature*, 508, 536–540.
 - 35) Nishio, M., Yoneshiro, T., Nakahara, M., Suzuki, S., Saeki, K., Hasegawa, M., Kawai, Y., Akutsu, H., Umezawa, A., Yasuda, K., Tobe, K., Yuo, A., Kubota, K., Saito, M., & Saeki, K. (2012) *Cell Metab.*, 16, 394–406.
 - 36) Kunisaki, Y., Bruns, I., Scheiermann, C., Ahmed, J., Pinho, S., Zhang, D., Mizoguchi, T., Wei, Q., Lucas, D., Ito, K., Mar, J. C., Bergman, A., & Frenette, P.S. (2013) *Nature*, 502, 637–643.
 - 37) Yamazaki, S., Ema, H., Karlsson, G., Yamaguchi, T., Miyoshi, H., Shioda, S., Taketo, M.M., Karlsson, S., Iwama, A., & Nakauchi, H. (2011) *Cell*, 147, 1146–1158.
 - 38) Sacchetti, B., Funari, A., Michienzi, S., Di, Cesare S., Piersanti, S., Saggio, I., Tagliafico, E., Ferrari, S., Robey, P.G., Riminucci, M., & Bianco, P. (2007) *Cell*, 131, 324–336.
 - 39) Winkler, I.G., Sims, N.A., Pettit, A.R., Barbier, V., Nowlan, B., Helwani, F., Poulton, I.J., van Rooijen N., Alexander, K. A., Raggatt, L.J., & Levesque, J.P. (2010) *Blood*, 116, 4815–4828.
 - 40) Chow, A., Lucas, D., Hidalgo, A., Mendez-Ferrer, S., Hashimoto, D., Scheiermann, C., Battista, M., Leboeuf, M., Prophete, C., van Rooijen N., Tanaka, M., Merad, M., & Frenette, P.S. (2011) *J. Exp. Med.*, 208, 261–271.
 - 41) Fujisaki, J., Wu, J., Carlson, A.L., Silberstein, L., Putheti, P., Larocca, R., Gao, W., Saito, T.I., Lo, Celso C., Tsuyuzaki, H., Sato, T., Cote, D., Sykes, M., Strom, T.B., Scadden, D.T., & Lin, C.P. (2011) *Nature*, 474, 216–219.
 - 42) Zhao, M., Perry, J.M., Marshall, H., Venkatraman, A., Qian, P., He, X.C., & Ahamed, J., Li, L. (2014) *Nat. Med.*, doi: 10.1038/nm.3706.
 - 43) Bruns, I., Lucas, D., Pinho, S., Ahmed, J., Lambert, M.P., Kunisaki, Y., Scheiermann, C., Schiff, L., Poncz, M., Bergman, A., & Frenette, P.S. (2014) *Nat. Med.*, doi: 10.1038/nm.3707.
 - 44) Nakamura-Ishizu, A., Takubo, K., Fujioka, M., & Suda, T. (2014) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, in press.
 - 45) Chow, D.C., Wenning, L.A., Miller, W.M., & Papoutsakis, E. T. (2001) *Biophys. J.*, 81, 685–696.
 - 46) Takubo, K., Goda, N., Yamada, W., Iriuchishima, H., Ikeda, E., Kubota, Y., Shima, H., Johnson, R.S., Hirao, A., Suematsu, M., & Suda, T. (2010) *Cell Stem Cell*, 7, 391–402.
 - 47) Simsek, T., Kocabas, F., Zheng, J., Deberardinis, R.J., Mahmoud, A.I., Olson, E.N., Schneider, J.W., Zhang, C.C., & Sadek, H.A. (2010) *Cell Stem Cell*, 7, 380–390.
 - 48) Shima, H., Takubo, K., Tago, N., Iwasaki, H., Arai, F., Takahashi, T., & Suda, T. (2010) *Exp. Hematol.*, 38, 1231–1240.
 - 49) Lassailly, F., Foster, K., Lopez-Onieva, L., Currie, E., & Bonnet, D. (2013) *Blood*, 122, 1730–1740.
 - 50) Nombela-Arrieta, C., Pivarnik, G., Winkel, B., Canty, K.J., Harley, B., Mahoney, J.E., Park, S.Y., Lu, J., Protopopov, A., & Silberstein, L.E. (2013) *Nat. Cell Biol.*, 15, 533–543.
 - 51) Harrison, J.S., Rameshwar, P., Chang, V., & Bandari, P. (2002) *Blood*, 99, 394.

- 52) Spencer, J.A., Ferraro, F., Roussakis, E., Klein, A., Wu, J., Runnels, J.M., Zaher, W., Mortensen, L.J., Alt, C., Turcotte, R., Yusuf, R., Cote, D., Vinogradov, S.A., Scadden, D.T., & Lin, C.P. (2014) *Nature*, **508**, 269–273.
- 53) Cipolleschi, M.G., Dello, Sbarba P., & Olivotto, M. (1993) *Blood*, **82**, 2031–2037.
- 54) Krishnamurthy, P., Ross, D.D., Nakanishi, T., Bailey-Dell, K., Zhou, S., Mercer, K.E., Sarkadi, B., Sorrentino, B.P., & Schuetz, J.D. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 24218–24225.
- 55) Shima, H., Takubo, K., Iwasaki, H., Yoshihara, H., Gomei, Y., Hosokawa, K., Arai, F., Takahashi, T., & Suda, T. (2009) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **378**, 467–472.
- 56) Ryan, H.E., Lo, J., & Johnson, R.S. (1998) *EMBO J.*, **17**, 3005–3015.
- 57) Kuhn, R., Schwenk, F., Aguet, M., & Rajewsky, K. (1995) *Science*, **269**, 1427–1429.
- 58) Iwama, A., Oguro, H., Negishi, M., Kato, Y., Morita, Y., Tsukui, H., Ema, H., Kamijo, T., Katoh-Fukui, Y., Koseki, H., van, Lohuizen M., & Nakauchi, H. (2004) *Immunity*, **21**, 843–851.
- 59) Kranc, K.R., Schepers, H., Rodrigues, N.P., Bamforth, S., Villadsen, E., Ferry, H., Bouriez-Jones, T., Sigvardsson, M., Bhattacharya, S., Jacobsen, S.E., & Enver, T. (2009) *Cell Stem Cell*, **5**, 659–665.
- 60) Speth, J.M., Hoggatt, J., Singh, P., & Pelus, L.M. (2014) *Blood*, **123**, 203–207.
- 61) Eliasson, P., Rehn, M., Hammar, P., Larsson, P., Sirenko, O., Flippin, L.A., Cammenga, J., & Jonsson, J.I. (2010) *Exp. Hematol.*, **38**, 301–310.
- 62) Rouault-Pierre, K., Lopez-Onieva, L., Foster, K., Anjos-Afonso, F., Lamrissi-Garcia, I., Serrano-Sanchez, M., Mitter, R., Ivanovic, Z., de Verneuil H., Gribben, J., Taussig, D., Rezvani, H.R., Mazurier, F., & Bonnet, D. (2013) *Cell Stem Cell*, **13**, 549–563.
- 63) Guitart, A.V., Subramani, C., Armesilla-Diaz, A., Smith, G., Sepulveda, C., Gezer, D., Vukovic, M., Dunn, K., Pollard, P., Holyoake, T.L., Enver, T., Ratcliffe, P.J., & Kranc, K.R. (2013) *Blood*, **122**, 1741–1745.
- 64) Singh, R.P., Franke, K., Kalucka, J., Mamlouk, S., Muschter, A., Gembarska, A., Grinenko, T., Willam, C., Naumann, R., Anastasiadis, K., Stewart, A.F., Bornstein, S., Chavakis, T., Breier, G., Waskow, C., & Wielockx, B. (2013) *Blood*, **121**, 5158–5166.
- 65) Kim, M., Cooper, D.D., Hayes, S.F., Spangrude, G.J. (1998) *Blood*, **91**, 4106–4117.
- 66) Klimmeck, D., Hansson, J., Raffel, S., Vakhrushev, S.Y., Trumpp, A., & Krijgsveld, J. (2012) *Mol. Cell Proteomics*, **11**, 286–302.
- 67) Cabezas-Wallscheid, N., Klimmeck, D., Hansson, J., Lipka, D. B., Reyes, A., Wang, Q., Weichenhan, D., Lier, A., von Palesske L., Renders, S., Wunsche, P., Zeisberger, P., Brocks, D., Gu, L., Herrmann, C., Haas, S., Essers, M.A., Brors, B., Eils, R., Huber, W., Milsom, M.D., Plass, C., Krijgsveld, J., & Trumpp, A. (2014) *Cell Stem Cell*, **15**, 507–522.
- 68) Takubo, K., Nagamatsu, G., Kobayashi, C.I., Nakamura-Ishizu, A., Kobayashi, H., Ikeda, E., Goda, N., Rahimi, Y., Johnson, R.S., Soga, T., Hirao, A., Suematsu, M., & Suda, T. (2013) *Cell Stem Cell*, **12**, 49–61.
- 69) Wang, Y.H., Israelsen, W.J., Lee, D., Yu, V.W., Jeanson, N.T., Clish, C.B., Cantley, L.C., Vander, Heiden M.G., & Scadden, D.T. (2014) *Cell*, **158**, 1309–1323.
- 70) Gerber, H.P., Malik, A.K., Solar, G.P., Sherman, D., Liang, X. H., Meng, G., Hong, K., Marsters, J.C., & Ferrara, N. (2002) *Nature*, **417**, 954–958.
- 71) Rehn, M., Olsson, A., Reckzeh, K., Diffner, E., Carmeliet, P., Landberg, G., & Cammenga, J. (2011) *Blood*, **118**, 1534–1543.
- 72) Mihařada, K., Karlsson, G., Rehn, M., Rorby, E., Siva, K., Cammenga, J., & Karlsson, S. (2011) *Cell Stem Cell*, **9**, 330–344.
- 73) Burberry, A., Zeng, M.Y., Ding, L., Wicks, I., Inohara, N., Morrison, S.J., & Nunez, G. (2014) *Cell Host Microbe*, **15**, 779–791.
- 74) Lucas, D., Scheiermann, C., Chow, A., Kunisaki, Y., Bruns, I., Barrick, C., Tessarollo, L., & Frenette, P.S. (2013) *Nat. Med.*, **19**, 695–703.
- 75) Ishikawa, F., Yoshida, S., Saito, Y., Hijikata, A., Kitamura, H., Tanaka, S., Nakamura, R., Tanaka, T., Tomiyama, H., Saito, N., Fukata, M., Miyamoto, T., Lyons, B., Ohshima, K., Uchida, N., Taniguchi, S., Ohara, O., Akashi, K., Harada, M., & Shultz, L.D. (2007) *Nat. Biotechnol.*, **25**, 1315–1321.
- 76) Ninomiya, M., Abe, A., Katsumi, A., Xu, J., Ito, M., Arai, F., Suda, T., Ito, M., Kiyoi, H., Kinoshita, T., & Naoe, T. (2007) *Leukemia*, **21**, 136–142.
- 77) Schepers, K., Pietras, E.M., Reynaud, D., Flach, J., Binnewies, M., Garg, T., Wagers, A.J., Hsiao, E.C., & Passegue, E. (2013) *Cell Stem Cell*, **13**, 285–299.
- 78) Raaijmakers, M.H., Mukherjee, S., Guo, S., Zhang, S., Kobayashi, T., Schoonmaker, J.A., Ebert, B.L., Al-Shahrour, F., Hasserjian, R.P., Scadden, E.O., Aung, Z., Matza, M., Merckenschlager, M., Lin, C., Rommens, J.M., & Scadden, D.T. (2010) *Nature*, **464**, 852–857.
- 79) Arranz, L., Sanchez-Aguilera, A., Martin-Perez, D., Isern, J., Langa, X., Tzankov, A., Lundberg, P., Muntion, S., Tzeng, Y. S., Lai, D.M., Schwaller, J., Skoda, R.C., & Mendez-Ferrer, S. (2014) *Nature*, **512**, 78–81.
- 80) Wang, Y., Liu, Y., Malek, S.N., Zheng, P., & Liu, Y. (2011) *Cell Stem Cell*, **8**, 399–411.
- 81) Vo, T.T., Ryan, J., Carrasco, R., Neuberger, D., Rossi, D.J., Stone, R.M., Deangelo, D.J., Frattini, M.G., & Letai, A. (2012) *Cell*, **151**, 344–355.
- 82) Lagadinou, E.D., Sach, A., Callahan, K., Rossi, R.M., Neering, S.J., Minhajuddin, M., Ashton, J.M., Pei, S., Grose, V., O'Dwyer, K.M., Liesveld, J.L., Brookes, P.S., Becker, M.W., & Jordan, C.T. (2013) *Cell Stem Cell*, **12**, 329–341.
- 83) Kfoury, Y., Mercier, F., & Scadden, D.T. (2014) *Cell*, **158**, 228–228.e1.
- 84) Dykstra, B., Kent, D., Bowie, M., McCaffrey, L., Hamilton, M., Lyons, K., Lee, S.J., Brinkman, R., & Eaves, C. (2007) *Cell Stem Cell*, **1**, 218–229.
- 85) Challen, G.A., Boles, N.C., Chambers, S.M., & Goodell, M.A. (2010) *Cell Stem Cell*, **6**, 265–278.
- 86) Sanjuan-Pla, A., Macaulay, I.C., Jensen, C.T., Woll, P.S., Luis, T.C., Mead, A., Moore, S., Carella, C., Matsuoka, S., Bouriez, Jones T., Chowdhury, O., Stenson, L., Lutteropp, M., Green, J. C., Facchini, R., Boukarabila, H., Grover, A., Gambardella, A., Thongjuea, S., Carrelha, J., Tarrant, P., Atkinson, D., Clark, S. A., Nerlov, C., & Jacobsen, S.E. (2013) *Nature*, **502**, 232–236.
- 87) Oguro, H., Ding, L., & Morrison, S.J. (2013) *Cell Stem Cell*, **13**, 102–116.
- 88) Sun, J., Ramos, A., Chapman, B., Johnnidis, J.B., Le, L., Ho, Y.J., Klein, A., Hofmann, O., & Camargo, F.D. (2014) *Nature*, **514**, 322–327.

著者寸描

●田久保圭誉 (たくほ けいよ)



慶應義塾大学医学部坂光洋記念講座（発生・分化生物学）専任講師，国立国際医療研究センター研究所生体恒常性プロジェクト長，博士（医学）。

■略歴 1978年東京都に生る。2003年慶應義塾大学医学部卒業。07年同大学院医学研究科博士課程修了。日本学術振興会特別研究員，慶應義塾大学医学部助教を経て11年より慶應義塾大学医学部専任講

師。14年より国立国際医療研究センター研究所プロジェクト長（兼任）。

■研究テーマと抱負 造血幹細胞をモデルとした臓器システムの恒常性維持機構の研究。造血組織にわずかしか存在しない造血幹細胞とそのニッチを丁寧に解析していくことで，幹細胞システムに普遍的に存在するメカニズムを見出したい。

■ウェブサイト <http://www.rincgm.jp/department/pro/04/>

■趣味 子連れ旅。