

造血幹細胞の非対称分裂を支持するシングルセルレベルでの分子基盤の解明

藪下知宏

熊本大学 国際先端医学研究機構

【研究の背景】

造血幹細胞(HSC)は、自己複製能と多分化能を兼ね備えた造血細胞として定義され、一生涯にわたり多彩な機能を有する様々な造血細胞産生を維持している。HSC が初めて同定されて以来半世紀近く経過し、様々な技術的な発展により HSC の多様性・階層性の理解は飛躍的に高まってきた¹⁾。近年の最も重要な進歩の一つは、HSC から巨核球系へと速やかに分化するバイパス経路の同定である²⁾。血小板に偏った分化能を持つ HSC 亜集団(Platelet-biased HSC)は、従来想定されていた前駆細胞(骨髄系共通前駆細胞(CMP)・巨核球/赤芽球系共通前駆細胞(MEP))を経ずに巨核球や血小板に速やかに分化することが明らかになった。このバイパス経路由来の血小板は、血小板減少のような緊急時のみならず定常状態でも観察されるが、増殖能・凝集能など機能的にも異なることがわかり、大きな注目を集めている³⁾。一方で、Platelet-biased HSC は、HSC の中でも幹細胞活性が高く HSC hierarchy の最頂点に位置するため⁴⁾、バイパス経路による巨核球系細胞への分化をより一層厳密に制御する必要があるが、その分化制御機構は不明である。

【目 的】

以前、私達は造血細胞特異的に細胞周期の G0 期を可視化できる G0 マーカー(G₀M)マウスを用いて解析したところ、HSC 活性は G0 分画で最も高く、さらにこの分画の中で特に細胞内 Ca²⁺が高い HSC が最も HSC 活性が高いことを報告した。一方で、造血細胞では細胞外の種々の分化刺激に伴って細胞内カルシウム濃度が上昇するため、造血幹細胞の活性を維持するためにはカルシウム濃度の厳密な制御が必要である。したがって、本研究の目的は、HSC の休止状態と HSC から巨核球系へと速やかに分化するバイパス経路の活性化を制御するカルシウムシグナル経路を同定することである。

【方 法】

G0 期 HSC で細胞内 Ca²⁺濃度が高い HSC と細胞内 Ca²⁺濃度が低い HSC をサンプルとして、RNA-seq 解析をおこない、HSC の休止状態と活性化を制御する遺伝子を同定する。同定された遺伝子の標的遺伝子破壊マウスを用いて、HSC の自己複製や分化制御への影響について評価をおこなう。

【結 果】

最も HSC 活性の高い G₀M-high& Ca²⁺-high 画分に高発現し、他の分画において発現が低下する遺伝子として、Plcl1 が同定された。造血幹細胞機能制御における Plcl1 の役割を評価するために、我々は Plcl1 欠損(KO)マウスの定常状態およびストレス造血下での解析を行った。その結果、定常状態にて、長期骨髄再構築能をもつ造血幹細胞(LT-HSC)、特に血小板偏向性の CD41 陽性 LT-HSC が、野生型(WT)マウスに比べて Plcl1-KO マウスで増加していることがわかった。Plcl1-KO マウスでは、LT-HSC 特に CD41 陽性 LT-HSC 分画において細胞内カルシウム濃度低下を認めた。また、加齢マウスモデルでは、LT-HSC の血小板偏向性が特に顕著になることが知られているが、Plcl1-KO 加齢マウスは野生型マウスに比べて CD41 陽性 LT-HSC 分画がさらに増加し、その下流である血小板バイパス経路の活性化が認められた。さらに、5-FU を

用いたストレス造血モデル・anti-mouse CD42b 抗体を用いた急性血小板減少症モデルのいずれにおいても、Plcl1-KO マウスにおいて急速かつ持続的な血小板回復を認めた。上記の結果より、定常状態ならびに複数のストレス血小板造血モデルにおいて、Plcl1 が HSC の血小板偏向性、ならびに血小板バイパス経路の制御に関与していることが示唆された。

【考 察】

近年、造血幹細胞は中間の前駆細胞を経ずに、直接巨核球や血小板に分化する経路が存在することが示され、血小板バイパス経路として注目を集めている。このバイパス経路からの血小板産生は、1) 加齢に伴う増加、2) 高い血栓形成能、3) 迅速な血小板産生能を持ち合わせていることがこの数年で明らかになってきた^{3,5,6)}。Plcl1 はこのような HSC からの直接的な血小板産生を司る血小板バイパス経路を制御する重要な因子であると考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

種々の血小板減少症、ならびに骨髄移植や化学療法後の造血再建過程における血小板回復の遅延に対して、Plcl1 を標的とすることで造血幹細胞 (HSC) からの迅速な血小板産生が誘導され、従来の血小板輸血や成長因子療法を補完する新規治療法の開発が期待される。また、加齢に伴い血小板バイパスを有する HSC が増加する現象に対して、Plcl1 の機能調節により、加齢関連の血栓症や造血異常の予防に寄与する可能性が示された。加えて、血小板バイパス経路由来の血小板は従来経路由来の血小板と機能的に異なることから、その特性を応用することで、血栓症や出血傾向の制御を目的とした新規治療法の開発につながる可能性がある。

【参考・引用文献】

1. Becker AJ, Mc CE, Till JE. Cytological demonstration of the clonal nature of spleen colonies derived from transplanted mouse marrow cells. *Nature*. 1963; 197:452-4.
2. Carrelha J, Meng Y, Kettyle LM, Luis TC, Norfo R, Alcolea V, et al. Hierarchically related lineage-restricted fates of multipotent haematopoietic stem cells. *Nature*. 2018; 554:106-11.
3. Rodriguez-Fraticelli AE, Wolock SL, Weinreb CS, Panero R, Patel SH, Jankovic M, et al. Clonal analysis of lineage fate in native haematopoiesis. *Nature*. 2018; 553:212-6.
4. Carrelha J, Mazzi S, Winroth A, Hagemann-Jensen M, Ziegenhain C, Högstrand K, et al. Alternative platelet differentiation pathways initiated by nonhierarchically related hematopoietic stem cells. *Nat Immunol*. 2024; 25:1007-19.
5. Li JJ, Liu J, Li YE, Chen LV, Cheng H, Li Y, et al. Differentiation route determines the functional outputs of adult megakaryopoiesis. *Immunity*. 2024; 57:478-94.e6.
6. Poscablo DM, Worthington AK, Smith-Berdan S, Rommel MGE, Manso BA, Adili R, et al. An age-progressive platelet differentiation path from hematopoietic stem cells causes exacerbated thrombosis. *Cell*. 2024; 187:3090-107.e21.