

Integrin $\alpha v \beta 3$ の双方的な造血幹細胞活性制御における方向性決定機構

梅本晃正

熊本大学国際先端医学研究機構 須田研究室

【研究の背景】

造血幹細胞は一生にわたり全血球系細胞を産生し続ける細胞であり、造血システムにおいて、最も中心的な役割を果たしている。一方、インテグリン受容体は接着分子として最も有名なファミリーの一つとして知られており、主に $\beta 1$ integrin ファミリーが造血幹細胞の様々な機能に関与することが古くから報告されている。しかしながら、 $\alpha v \beta 3$ integrin に関しては、造血幹細胞との関連性は殆ど知られていなかった。そんな中、我々は ① 造血幹細胞において $\alpha v \beta 3$ integrin の発現と幹細胞活性が相関すること¹⁾、② $\alpha v \beta 3$ integrin を介したシグナルが Thrombopoietin(TPO)を介した造血幹細胞活性維持の促進に寄与すること²⁾、③一方で、Interferon γ (IFN γ) 存在下では、 $\alpha v \beta 3$ integrin を介したシグナルは逆に造血幹細胞活性を負に抑制すること³⁾、を見出してきた。しかしながら、この双方向的な $\alpha v \beta 3$ integrin による造血幹細胞への影響を制御するメカニズムは未だ不明である。

【目的】

本研究では、IFN γ の最も中心的な下流分子として知られている「STAT1」に着目して、「 $\alpha v \beta 3$ integrin による造血幹細胞活性制御の方向の決定するメカニズム」を解明することを目的とし、細胞接着を介した新しい造血幹細胞の制御機構を明らかにすることを目指す。

【方法】

「 $\alpha v \beta 3$ integrin による造血幹細胞活性制御」における「STAT1」の役割を検討するため、まず、STAT1 欠損マウス由来の造血幹細胞を IFN γ とビトロネクチン(integrin $\alpha v \beta 3$ のリガンド) 共存在下で培養した後、移植実験を行った。また、「 $\alpha v \beta 3$ integrin の幹細胞活性維持効果を誘導する TPO」と「 $\alpha v \beta 3$ integrin の幹細胞活性抑制効果を誘導する IFN γ 」が STAT1 の活性化に及ぼす影響をフローサイトメーターにて比較した。さらに、IFN γ 存在下でビトロネクチンが STAT1 のリシン酸化状態や STAT1 を介した遺伝子発現に与える影響をフローサイトメーターや RNA-Seq を用いて検討した。

【結果】

IFN γ は野生型造血幹細胞の細胞増殖及び移植後の正着を減少させるが、STAT1 欠損マウス由来造血幹細胞では、細胞増殖を促進し、移植後の正着も向上させた。このような条件下で、ビトロネクチンの影響を検討すると、ビトロネクチンは STAT1 欠損マウス由来造血幹細胞の移植後の正着をさらに向上させていた。一方、TPO と IFN γ が STAT1 のチロシンリシン酸化に与える影響を検討したところ、IFN γ はチロシンリシン酸化を持続的に誘導するが、TPO は一時的であった。さらに、IFN γ 存在下でビトロネクチンは STAT1 のセリンリシン酸化や STAT1 を介した遺伝子発現に与える影響が亢進していた。

【考 察】

IFN γ は野生型造血幹細胞と STAT1 欠損マウス由来造血幹細胞に与える影響が異なり、さらに、 $\alpha v \beta 3$ integrin を介したシグナルはそれぞれで観察された影響を促進しているように見えた。ちなみに、IFN γ は STAT1 の持続的な活性化を誘導することによって、STAT1 の影響を有意にさせているようであった。従って、 $\alpha v \beta 3$ integrin が造血幹細胞に与える影響の方向性は造血幹細胞の周辺環境に依存的であり、 $\alpha v \beta 3$ integrin は周辺環境からのシグナルを增幅するシグナルブースターとして、造血幹細胞の機能の制御に寄与していることが示された。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究では $\alpha v \beta 3$ integrin が造血幹細胞における IFN γ の応答において、重要な役割を果たしていることが示された。従って、本研究は再生不良性貧血等の IFN γ がメディエーターである造血器疾患の治療法の開発において、新たな指針をもたらす成果であると考えられる。

一方、我々は以前に $\alpha v \beta 3$ integrin は in vitro における造血幹細胞の維持に寄与することを示している²⁾。これに加え、本研究の成果を考慮すると、「 $\alpha v \beta 3$ integrin のシグナルの誘導」と「STAT1 の阻害」の併用は、より安定的な in vitro での造血幹細胞維持・増幅に寄与することが期待されるため、本研究の成果は体外での造血幹細胞維持・増幅のための基盤技術の開発にも寄与する可能性も考えられる。

【参考・引用文献】

- Umemoto T, Yamato M, Shiratsuchi Y, Terasawa M, Yang J, Nishida K, Kobayashi Y, Okano T, Expression of integrin $\beta 3$ is correlated to the properties of quiescent hematopoietic stem cells possessing the side population phenotype, *J Immunol.* 177(11):7733-7739 (2006)
- Umemoto T, Yamato M, Ishihara J, Shiratsuchi Y, Tsukada K, Utsumi M, Morita Y, Terasawa M, Shibata T, Nishida K, Kobayashi Y, Petrich BG, Nakauchi H, Eto K, Okano T., Integrin- $\alpha v \beta 3$ regulates thrombopoietin-mediated maintenance of hematopoietic stem cells, *Blood.* 119(1): 83-94 (2012)
- Ishihara J, Umemoto T, Yamato M, Shiratsuchi Y, Takaki S, Petrich BG, Nakauchi H, Eto K, Kitamura T, Okano T., Nov/CCN3 regulates long-term repopulating activity of murine hematopoietic stem cells via integrin $\alpha v \beta 3$., *Int J Hematol.* 99(4):393-406 (2014)