

小胞体ストレス応答機構が支える造血幹細胞の正常な自己増殖能と生存能

岩脇隆夫

金沢医科大学 総合医学研究所

【研究の背景】

造血幹細胞は白血球(好中球、好酸球、好塩基球、リンパ球、単球、マクロファージ)や赤血球、血小板、肥満細胞、樹状細胞を生み出す機能を持っており、生涯に渡って自己増殖を繰り返しながら体内(ヒト成体では主に骨髄)で長く維持される。その造血幹細胞から生み出されるBリンパ球が抗体を産生するプラズマ細胞へと分化する際¹⁾やナチュラルキラーT細胞における安定的なサイトカイン産生²⁾においてIRE1とよばれる分子が必須の役割を果たしている。また同じく造血幹細胞から生み出される樹状細胞の機能や生存にもIRE1が必要なことを見出されており、今日までに従来型樹状細胞による死細胞関連抗原のクロスプレゼンテーション能³⁾や形質細胞様樹状細胞における生死制御⁴⁾に加えて、樹状細胞を介したIL-23発現の活性化⁵⁾、メラノーマ細胞の認識およびCD8陽性T細胞のプライミング⁶⁾に関わることが分かってきた。さらに造血幹細胞自体についても自己増殖や生存能を維持するためにIRE1が必須であると判明している^{7,8)}。そして後者の報告では単に造血幹細胞の自己増殖能や生存能を維持するために働いているのではなく、IRE1は細胞としての品質維持にも機能する可能性が示されている。説明が後になったが、IRE1は小胞体に局在してストレスを感知するセンサーとしての役割を持ち、ストレスを軽減する分子シグナルの活性化に機能している⁹⁾。その小胞体は全ての真核細胞に備わる細胞小器官の1つであり、分泌タンパク質(抗体やホルモンなど)や膜タンパク質(チャネルや接着分子など)の正常な合成・修飾・輸送と品質管理に機能する。この機能にキャパシティー以上の負荷が生じることはIRE1が感知する小胞体ストレスの要因として知られている。

【目 的】

小胞体ストレスを感知してストレスの軽減に働く分子にはPERKやATF6も知られている。PERKについては生体での機能を解析するためのモデル動物がIRE1と同様に充実しており、造血幹細胞や他の血球系細胞における役割も理解が進みつつある。しかしATF6についてはモデル動物の開発が遅れたせいで未だ十分な解析ができていない。そこで本研究においては造血幹細胞でATF6を特異的に欠損させたマウスの解析を行う。この解析により造血幹細胞としての品質維持機能、自己増殖能、および生存能に寄与するATF6の役割を明らかにし、造血幹細胞が持っているストレス抵抗性の分子メカニズムに迫る。

【方 法】

哺乳動物には2種類のATF6(α 型と β 型)遺伝子が存在する。これら両方を条件的(Cre組換え酵素依存的)に欠損できるように各遺伝子座にloxP配列を挿入したマウスを作製した。血球系細胞の構成を解析するために表面抗原マーカーを用いてフローサイトメトリ解析を行った。造血幹細胞の単離には表面抗原マーカーに対する抗体およびマグネットビーズを用いた。単離した細胞の遺伝子発現やタンパク質発現は定量的PCR法やウエスタンブロット法により解析した。

【結 果】

ATF6 α および ATF6 β を各々単独で欠損させたマウスは正常に誕生および成長し、繁殖能も可能であった。血球組成および造血幹細胞の品質や数も野生型マウスと際立った差はなかった。一方、両 ATF6 を欠損したマウスは正常に胚発生せず、胎生9日以前に死亡するようである。そこで造血幹細胞で条件的に ATF6 を欠損できるように Cre マウスと交配した子孫を解析したが、やはりATF6 α およびATF6 β の単独欠損マウスは対照マウスの表現型と差がなかった。両ATF6を造血幹細胞で条件的に欠損したマウスの解析には時間的に現時点で至っていない。

【考 察】

ATF6 α および ATF6 β 、それぞれ単独の欠損では正常な生体機能をマウスが有することから、おそらく両 ATF6 は重複した役割を果たしていると考えられる。一方で両 ATF6 を欠損させた場合、比較的早期に胎生致死となることから造血幹細胞のみならず多くの細胞において正常な細胞機能に必須の役割を果たしていると考えられる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

まだ研究は途中であるが、造血幹細胞が持つ品質維持機能、自己増殖能、および生存能は様々な分子メカニズムにより維持されていると思われる。本研究により小胞体ストレス応答との関連性が明確になってくれば、他のストレス応答との関与も解析されるようになり、造血幹細胞に備わる機能の理解が進むはずである。造血幹細胞は多くの血球系細胞を生み出す「源」であり、白血病など血球系異常を伴う疾患を治療するために移植されることがある。その移植細胞はドナーからの提供に頼らざるを得ないが、生体外でも増やして利用する技術開発が進められている。その際に体外増殖した細胞の状態を知ることが求められると考えるが、本研究は移植用の造血幹細胞を品質管理するのに役立つかもしれない。

【参考・引用文献】

1. Benhamron S, Hadar R, Iwawaki T, So JS, Lee AH, Tirosh B "Regulated IRE1-dependent decay participates in curtailing immunoglobulin secretion from plasma cells" *Eur J Immunol*, 44, 867-876, 2014.
2. Govindarajan S, Gaublot D, Van der Cruyssen R, Verheugen E, Van Gassen S, Saeys Y, Tavernier S, Iwawaki T, Bloch Y, Savvides SN, Lambrecht BN, Janssens S, Elewaut D, Drennan MB "Stabilization of cytokine mRNAs in iNKT cells requires the serine-threonine kinase IRE1alpha" *Nat Commun*, 9, 5340, 2018.
3. Osorio F, Tavernier SJ, Hoffmann E, Saeys Y, Martens L, Vettters J, Delrue I, De Rycke R, Parthoens E, Pouliot P, Iwawaki T, Janssens S, Lambrecht BN "The unfolded-protein-response sensor IRE-1 α regulates the function of CD8 α + dendritic cells" *Nat Immunol*, 15, 248-257, 2014.
4. Tavernier SJ, Osorio F, Vandersarren L, Vettters J, Vanlangenakker N, Van Isterdael G, Vergote K, De Rycke R, Parthoens E, van de Laar L, Iwawaki T, Del Valle JR, Hu CA, Lambrecht BN*, Janssens S "Regulated IRE1-dependent mRNA decay sets the threshold for dendritic cell survival" *Nat Cell Biol*, 19, 698-710, 2017.
5. Márquez S, Fernández JJ, Terán-Cabanillas E, Herrero C, Alonso S, Azogil A, Montero O, Iwawaki T, Cubillos-Ruiz JR, Fernández N, Crespo MS "Endoplasmic Reticulum Stress Sensor IRE1 α Enhances IL-23 Expression by Human Dendritic Cells" *Front Immunol*, 8, 639, 2017.
6. Medel B, Costoya C, Fernandez D, Pereda C, Lladser A, Sauma D, Pacheco R, Iwawaki T, Salazar-Onfray F, Osorio F "IRE1 α Activation in Bone Marrow-Derived Dendritic Cells Modulates Innate Recognition of Melanoma Cells and Favors CD8 $^+$ T Cell Priming" *Front Immunol*, 9, 3050, 2019.
7. Chapple RH, Hu T, Tseng YJ, Liu L, Kitano A, Luu V, Hoegenauer KA, Iwawaki T, Li Q, Nakada D "ER α promotes murine hematopoietic regeneration through the Ire1 α -mediated unfolded protein response" *Elife*, 7, e31159, 2018.

8. Liu L, Zhao M, Jin X, Ney G, Yang KB, Peng F, Cao J, Iwawaki T, Del Valle J, Chen X, Li Q "Adaptive endoplasmic reticulum stress signalling via IRE1 α -XBP1 preserves self-renewal of haematopoietic and pre-leukaemic stem cells" *Nat Cell Biol*, 21, 328-337, 2019.
9. Iwawaki T, Hosoda A, Okuda T, Kamigori Y, Nomura-Furuwatari C, Kimata Y, Tsuru A, Kohno K "Translational control by the ER transmembrane kinase/ribonuclease IRE1 under ER stress" *Nat Cell Biol*, 3, 158-164, 2001.