

ミトコンドリアに着目した老化造血幹細胞多様性のシングルセル解析

松村貴由

自治医科大学 分子病態治療研究センター 兼任 循環器内科

【研究の背景】

造血幹細胞は全ての血球系細胞に分化可能な幹細胞であり、悪性腫瘍化することなく生涯にわたる造血を維持するために、造血幹細胞の自己複製と分化は厳密に制御されなければいけない。しかし、造血幹細胞の機能は老化とともに低下し、悪性腫瘍化の危険は上昇する。

老化造血幹細胞は若年造血幹細胞と比べ、その多様性、不均一性が増すことが知られている。それに伴い、老化個体の中にも、実際に機能が低下している老化造血幹細胞と、あまり機能が低下していない造血幹細胞があるという報告があり、申請者自身も造血幹細胞集団内の差異、多様性を確認していた。このため、今後の老化研究においては幹細胞を1個1個ごとに検討する、単一細胞(シングルセル)レベルの解析が必須と申請者は考えた。また、個々の造血幹細胞の機能とミトコンドリア量には相関があることが知られていた。

【目 的】

本研究では、老化造血幹細胞の多様性・不均一性をふまえ、ミトコンドリア量を可視化できる Dendra2 マウスの造血幹細胞に対しシングルセル RNA シークエンシング及び ATAC シークエンシングを施行することで、老化骨髄における遺伝子変化、エピゲノム変化、ミトコンドリア機能変化の全体像を単一細胞レベルで把握すると同時に、臨床応用のため、老化個体の中でもあまり機能が低下していない幹細胞を選別するための表面マーカーの同定を目指した。

【方 法】

ミトコンドリア量に応じて緑色蛍光の明るさが変化する Dendra2 マウス¹⁾を用い、若年及び老年 Dendra2 マウスからミトコンドリア量の多い造血幹細胞およびミトコンドリア量の少ない造血幹細胞(Lin 陰性 cKit 陽性 Sca1+陽性 CD150 陽性 CD48 陰性と定義)を回収し、シングルセル RNA シークエンシング、シングルセル ATAC シークエンシングを施行した。得られた知見については、通常の FACS による選別(ソート)からの qPCR(遺伝子発現量の測定)で再現性を確認した。

【結 果】

シングルセル RNA シークエンシングの結果とシングルセル ATAC シークエンシングの結果を統合したところ、造血幹細胞は4つの集団に分類できることが明らかになった。老化マウスから得られた造血幹細胞の最も大きな特徴は細胞周期関連遺伝子の発現低下であった。これは特にミトコンドリア量の多い老化マウス由来造血幹細胞に著明であり、細胞周期静止あるいは細胞老化を反映していると考えられた。次に、老化したマウスの造血幹細胞では、造血幹細胞の特定の亜集団が増加していることがわかった。この集団は、造血幹細胞の機能が特に低下した細胞集団であることが示唆された。第三に、別の細胞集団は、他の細胞集団よりも高い蛋白質合成能を示し、幹細胞機能が維持されている細胞集団であると考えられた。この細胞集団は老化マウスでも十分に保存され、若いマウスの造血幹細胞と非常によく似た遺伝子発現とエピゲノム変化を示した。この細胞集団は、老齢マウスの中でも比較的機能が保たれた“若年相当の”造血幹細胞の候補となりうると考えられた。

我々は現在、どのような表面抗原がこの細胞集団の抽出に適しているかを調べている。また、上記の特に機能が低下した造血幹細胞を詳細に解析することで、老齢マウスの中でもより老化した造血幹細胞に特異的に発現する表面蛋白質を同定した。老化の研究においては、個々の報告ごとに結果が異なることがしばしば問題となるが、この蛋白質に関しては、過去の多くの老化関連の報告の再解析においても老化造血幹細胞での発現が高いことが確認された。この蛋白質が発現していない造血幹細胞を選別することも、老化個体における“若年相当の”造血幹細胞を濃縮する戦略の一つとなりうると考えている。

【考 察】

老化マウスから得られた造血幹細胞の中に、若いマウスから得られた造血幹細胞と非常によく似た遺伝子発現とエピゲノム変化を示す細胞集団があること、そしてこの細胞集団では他の細胞集団に比べて蛋白質合成能が高いことを確認した。将来的には、高齢者からこのような造血幹細胞集団を選択する方法を確立したいと考えている。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

日本社会は前例のない超高齢化社会に突入している。老化に伴い、各種臓器の機能低下や悪性腫瘍を含む各種疾患の頻度は著明に上昇することが知られており、老化は多くの悪性腫瘍において最大の危険因子とされている。日本のみならず全世界で老化は非常に大きな社会経済学的な問題と位置付けられており、老化の生物学的なメカニズムを理解することは科学の社会に対する貢献という観点で、非常に大きな意義がある。

老化個体の中であまり機能が低下していない造血幹細胞を同定する方法が確立されれば、将来的に骨髄移植ドナー年齢の引き上げが可能になる。長期的には、造血幹細胞の老化を解明する過程で得られた知見は、骨髄以外の各種組織の幹細胞の老化研究に応用可能であり、血液疾患に限らず各種臓器の疾患で、老化関連疾患に罹患する可能性の高い個人を特定する個別化最適医療への応用も考えられる。

【参考・引用文献】

1. Takihara Y, Nakamura-Ishizu A, Tan DQ, Fukuda M, Matsumura T, Endoh M, Arima Y, Chin DWL, Umemoto T, Hashimoto M, Mizuno H, Suda T. High mitochondrial mass is associated with reconstitution capacity and quiescence of hematopoietic stem cells. *Blood Adv.* 2019;3(15):2323-2327.