



## 増殖ストレス時における造血幹細胞制御機構

著者名	望月 牧子, Peter Kurre, Markus Grompe, 石津 綾子
雑誌名	東京女子医科大学雑誌
巻	90
号	1
ページ	48-49
発行年	2020-02-25
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10470/00032465">http://hdl.handle.net/10470/00032465</a>

doi: [https://doi.org/10.24488/jtwmu.90.1\\_48](https://doi.org/10.24488/jtwmu.90.1_48)|[10.24488/jtwmu.90.1\\_48](https://doi.org/10.24488/jtwmu.90.1_48)

## 令和元年度東京女子医科大学医学部・基礎系教室研究発表会

日 時：2019年12月21日（土）9：30～12：30

場 所：東京女子医科大学弥生記念講堂地下 A 会議室

主 催：基礎医学系運営会議

1. スフェロイドを利用した三次元細胞間接着の制御機構の評価 (生化学) 田中正太郎
2. 増殖ストレス時における造血幹細胞制御機構 (解剖学 (顕微解剖学・形態形成学分野)) 望月牧子
3. 筋萎縮性側索硬化症におけるミクログリアのグルタミン酸放出増強機構 (病理学 (病態神経科学分野)) 柴田亮行
4. 線虫の変異体ストックを利用した、行動戦略の制御に関わる分子の探査と解析 (生理学 (分子細胞生理学分野)) 末廣勇司
5. 熱帯アフリカのマラリア撲滅を目指したコミュニティ主導型統合的戦略のための分野融合研究 (国際環境・熱帯医学) 凧 幸世
6. 災害時用医薬品の備蓄体制に関する研究 (衛生学公衆衛生学 (環境・産業医学分野)) 中島範宏
7. IgG<sub>4</sub> 関連疾患マウスモデルにおける細菌抗原の役割 (微生物学免疫学) 柳澤直子
8. 交通事故被害者の被害実態と日本における支援 (日本語学) 辻村貴子

## 1. スフェロイドを利用した三次元細胞間接着の制御機構の評価

(生化学)

田中正太郎・中村史雄

〔緒言〕三次元培養の一種である細胞集団塊（スフェロイド）を用いた強靱性（組織の変形しにくさ）研究は、現在はElastography（弾性画像解析）という分野で展開されている。これは顕微鏡観察下でスフェロイドを圧迫し、その形状変化から物理的情報をくみ出そうというものである。本研究では現在の課題である「①一細胞レベルの観察が困難②スフェロイドの圧迫には特殊な技術が必要」を解決し、細胞間接着を定量的に評価するための実験系を構築する。〔対象と方法〕カバーガラスの自重で生きたスフェロイドを直接圧迫し、内部細胞の構造変化を独自のライブイメージング技術（陰性造影法）で定量的に観察する。さらに遺伝子ノックダウンした細胞で調製されたスフェロイドで構造変化の違いを確認し、その遺伝子の強靱性への貢献度を評価する。〔結果〕カバーガラスと様々な厚みのスペーサーを用い、スフェロイドを任意の高さに圧迫する方法を開発した。また陰性造影法にて圧迫前後の内部細胞の構造変化を観察した。細胞は体積を保存したまま形状のみ大きく変化させていたが、一定の圧迫距離を超えるとそれまで保持されていた細胞体積・細胞表面積相関が一気に破綻した。これは強靱性破綻の閾値が存在することを示唆していた。〔結論〕強靱性解析に向けたスフェロイド観察技術を確立した。今後

は遺伝子ノックダウン細胞での実施を試みる。

## 2. 増殖ストレス時における造血幹細胞制御機構

(解剖学 (顕微解剖学・形態形成学分野))

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Papé Family Pediatric Research Institute, Pediatric Blood & Cancer Biology Program, Stem Cell Center, Oregon Health & Science University, Portland, OR., <sup>2</sup>Comprehensive Bone Marrow Failure Center, Children's Hospital of Philadelphia; Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA)

望月牧子<sup>1,2</sup>・Peter Kurre<sup>3</sup>・Markus Grompe<sup>2</sup>・石津綾子<sup>1</sup>

造血幹細胞 (hematopoietic stem cell: HSC) は傍大動脈生殖隆中腎 (AGM) 領域で発生し、胎児肝 (fetal liver: FL) で急激に増殖するが、一方、成体になり骨髄に移行した後は静止期 (G0) に保たれており、HSCの細胞周期は個体の生涯にわたってダイナミックに遷移していることが明らかになっている。HSCのエネルギー代謝は、従来、成体HSCは解糖系優位であることが言われてきたが、近年盛んにHSCでのミトコンドリアの酸化ストレス代謝 (OXPHOS) の研究が進められており、OXPHOSはHSCにとって自己複製、多能性の両方に必須であることが明らかになっている。ファンconi貧血 (Fanconi

anemia : FA) は遺伝性の小児疾患でこれまでに 25 遺伝子が原因遺伝子として同定されており, 主な FA 分子は複合体を形成して架橋 DNA ダメージに対する修復に寄与する。

本発表では演者が留学先で明らかにした, FL HSC での増殖ストレスと FA 分子ファンコニ貧血相補群 D2 蛋白との関連および, 本学においてこれから研究している増殖ストレスと OXPHOS との関連について論じたい。

### 3. 筋萎縮性側索硬化症におけるミクログリアのグルタミン酸放出増強機構

(病理学 (病態神経科学分野)) 柴田亮行

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) の病態の全容は未だ解明されていない。今回我々は, 1990 年代から指摘されている組織内鉄過剰蓄積と脳脊髄液中グルタミン酸 (Glu) 濃度上昇の関連性を明らかにするため, 剖検脊髄と培養細胞を用いて分子病理学的解析を行った。ALS 脊髄中の可溶鉄 (フェロジン法) とフェリチン (Ft) およびグルタミンナーゼ C (GLS-C) (ウェスタンブロット法) のレベルは対照脊髄と比較して有意に増加していたが, アコニターゼ 1 (ACO1) と TNF $\alpha$  転換酵素 (TACE) は 2 群間で有意差を示さなかった。免疫組織化学的に, Ft, ACO1, TACE, TNF $\alpha$  および GLS-C はミクログリアに局在し, フェロポリチン (FPN) とヘプシジン (Hepc) はニューロンとグリアに局在していた。ALS 群では, TNF $\alpha$ /Hepc 陽性細胞は増加し, FPN 陽性細胞は減少していた。ミクログリア細胞株 (BV-2) にクエン酸アンモニウム鉄 (FAC) を添加すると培養上清中の Glu と TNF $\alpha$  の濃度が上昇し, これらはそれぞれ ACO1 と TACE の阻害薬前処理により相殺された。BV-2 細胞に TNF $\alpha$  を添加すると培養上清中の Glu 濃度が上昇し, これは GLS-C 阻害薬前処理により相殺された。BV-2 細胞に Hepc を添加すると細胞溶解液中の FPN のレベルは減少した。以上から, ALS 脊髄ミクログリアでは, 細胞内可溶鉄蓄積を背景に ACO1, TACE および GLS-C を介した Glu と TNF $\alpha$  の放出亢進が起こることが判明した。また, TNF $\alpha$  放出  $\rightarrow$  Hepc 放出  $\rightarrow$  FPN 内在化崩壊  $\rightarrow$  鉄蓄積というポジティブフィードバック機構の存在が示唆された。

### 4. 線虫の変異体ストックを利用した, 行動戦略の制御に関わる分子の探索と解析

(<sup>1</sup>生理学 (分子細胞生理学分野), <sup>2</sup>統合医科学研究所) 末廣勇司<sup>1</sup>・三谷昌平<sup>1,2</sup>

線虫という体長 1 mm の生物は, 一見すると人間と全く異なる生物だが, 分子・細胞レベルでの機能には人間と多くの共通点がある。そのため, 線虫は医学・生物学の基礎研究モデル生物として, 今日まで幅広く研究され

てきた。こうした研究の過程で重宝されるのが, 特定の遺伝子機能を欠損した変異体である。私たちは, DNA ダメージ修復機構に異常を示す線虫に, さらに化学物質による変異導入を行い, 高頻度で遺伝子機能阻害を起こす変異導入法を見出した。同時に, 次世代シーケンサーを利用して, この変異を検出し, 効率良く変態系統を作出する手法を生み出した。

加えて, 私たちは作出してきた変異体系統を利用した神経機能解析も行っている。精神疾患や薬物中毒などでは, 情報の統合と行動判断に異常を示す症状がみられる。こうした行動の選択性を決めるメカニズムを探るため, 上記の作成した変異体プールのうち, 神経系での機能が予想される遺伝子の変異体 1500 系統を利用して, 行動の選択性に異常を示す遺伝子を探索した。結果, 代謝型グルタミン酸受容体 (mgl-1) が行動選択性に関わることを見出した。さらに細胞内 Ca イメージングの結果, この受容体が働く神経は, 2 種の嗅覚情報を Ca 濃度レベルで統合すること, mgl-1 がその統合に関わることを見出した。

### 5. 熱帯アフリカのマラリア撲滅を目指したコミュニティー主導型統合的戦略のための分野融合研究

(国際環境・熱帯医学) 凧 幸世・杉下智彦

マラリア根絶は 21 世紀人類の課題である。熱帯アフリカでは, 近年のマラリア対策法スケールアップにもかかわらず多くの地域で伝播が続き, 依然 5 歳以下の小児を中心に年間 40 万人以上がマラリアにより命を落とす。その背景には, 不顕性感染源としての無症候性感染者, 媒介蚊が獲得する殺虫剤・行動耐性, 予防や治療における不適切な人間行動などの課題がある。本研究では, 高度マラリア流行が続く西ケニア・ヴィクトリア湖周辺地域をモデルとして, 従来の発熱者のみをターゲットとした診断・治療に代わり無症候性感染者への介入を含めた「普遍的診断治療アプローチ」を提唱する。また新規殺虫剤を使用した天井式蚊帳の導入により, 従来の長期残効型防虫処理蚊帳の限界を超えたマラリア媒介蚊への防御対策を確立する。さらにこれらのイノベーションが最大限に効果を発揮するためには, 住民の病気に対する正しい理解と適切な予防行動を自ら選択することが重要である。本研究では行動経済学の知見である「ナッジ効果」を応用し, 住民の行動を自発的に望ましい方向へ誘導する社会実装を試みる。これら医学, 行動経済学の両アプローチによる分野融合実証研究を通じて, 対象地の 5 歳以下小児のマラリア死亡ゼロを目指す。これは国連が持続可能な開発目標 (SDGs) で掲げる 2030 年までに地球規模のマラリア流行終焉へ向けた道標であり, ユニバーサル・ヘルス・カバレッジの実現に向けた実施可能な戦略である。