

テロメア・テロメラーゼ関連因子による 骨髄不全疾患の発症機構

慶應義塾大学医学研究科発生・分化生物学 日本学術振興会特別研究員RPD

仁田 英里子



再生不良性貧血は骨髄低形成の為に汎血球減少を来たす一つの症候群で、特に中等症以上の症例では輸血に依存し、感染や出血のため致命的となる重要な疾患である。その大部分は原因不明の特発性再生不良性貧血で、造血機能が低下する機序として造血幹細胞自身の質的異常と、免疫学的機序による造血幹細胞の傷害が考えられているが、その根本的な発症機構は解明されていない。

近年では抗ヒト胸腺細胞免疫グロブリンなどの免疫抑制療法によって約7割に寛解が得られその長期生存率は90%に達し、またHLA一致同胞からの同種造血幹細胞移植では90%以上の長期生存率が得られている。しかし超重症例では感染をコントロールできず治療の機会も得られないまま死に至る症例が現在も少なくなく、再生不良性貧血という疾患の重要性を物語っている。

再生不良性貧血は除外診断であるため、類縁の骨髄不全を来たす疾患を含め多彩な発症機構の症例が混在していると考えられ、免疫抑制療法によく反応し治癒が得られる症例が多い一方で、全く治療に反応しない症例も多く認められる要因である。その背景には疾患の成因が明らかでないことがあり、長期生存が期待できる治療が得られる現在こそ、発症機構の解明は急務と考えられる。

研究の目的

先天性の骨髄不全症を来たす疾患のひとつであるdyskeratosis congenita (DKC) の原因遺伝子はいずれも、テロメラーゼ複合体という染色体末端でテロメアを構成する複数のタンパク質を構成する分子である。最近では後天性の再生不良性貧血やMDSにおいてもテロメラーゼ複合体遺伝子の変異を持つ症例が報告されるなど、骨髄不全の成因にテロメラーゼ複合体の関与が注目されている。

テロメラーゼ複合体における逆転写酵素タンパク質本体であるtelomerase reverse transcriptase (TERT) は分化した細胞では発現が見られず生殖細胞や幹細胞に限られる分子であり、造血幹細胞活性の維持に重要な役割を担うと考えられるが、その詳細は未だ明らかでない。我々はこの幹細胞制御の鍵分子であるTERTを切り口としてTERTが司る造血幹細胞制御の分子機構を明らかにすることで、テロメラーゼ複合体の異常が関与する骨髄不全疾患の発症機構に迫ることを目的として研究を進めた。

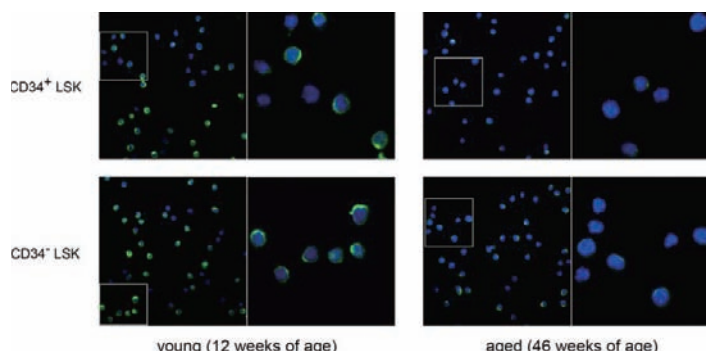
研究結果

我々はこれまで日本国内で樹立されたTERTノックアウトマウスを用いて個体レベルにおけるTERTの造血幹細胞制御機構を解析し、活性酸素種の蓄積を生じる遺伝子改変マウスと掛け合わせると造血幹細胞のアポトーシスが亢進し、結果として造血幹細胞能が低下するばかりでなく造血組織の老化を来たしマウス個体の寿命まで短縮することを明らかにした。

アポトーシスはプログラムされた細胞死とも言われ、不要な細胞や傷害を受け生存に不利な細胞を排除する機構である。再生不良性貧血症例の造血幹細胞でもアポトーシスの亢進を認めるなど骨髄不

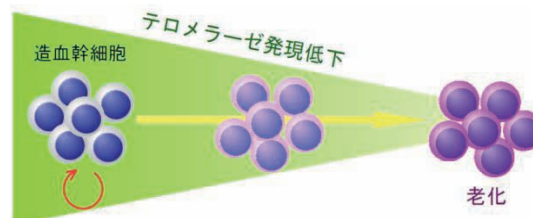
全疾患のうち造血幹細胞のアポトーシスが発症機序に関与しているものが少なからずあると推測されており、TERTによる造血幹細胞のアポトーシス防御機構が再生不良性貧血の成因に繋がると考えられる。さらに細胞学的・分子生物学的に検討した結果、TERTは造血幹細胞を活性酸素の蓄積により惹起されるアポトーシスから防御することを証明し、この機構にはTERTによるアポトーシス抑制因子BCL-2の発現維持が関与することを示した。

我々はまた造血幹細胞において老化に伴いTERT発現が低下することを明らかにし(図)、TERTの発現低下が幹細胞機能減弱の鍵を担う可能性を示唆した。そこでこの



図：TERTの蛍光タンパク質(緑色)が、老齢マウス造血幹細胞では減弱している

仮説を基に、定量リアルタイムPCRを用いて若齢と老齢の野生型マウス造血幹細胞で遺伝子発現の比較解析を行うと同時に、TERTノックアウトマウス造血幹細胞も解析し、結果を比較することでTERTに制御されるアポトーシス制御因子や幹細胞制御因子を探索した。まず個体差を考慮し個体別に造血幹細胞を回収して解析したが、予想以上に個体間での遺伝子発現の差が大きく、結論を得ることができなかった。これは同じ造血幹細胞として回収された細胞集団の中でも細胞間での差異があるためと考え、今後、1細胞毎の遺伝子発現解析を予定している。



また我々は異なる側面からのTERTによる造血幹細胞制御機構へのアプローチとしてTERTと結合して細胞内で複合体を作る既知のタンパク質に着目し、現在それらによる造血幹細胞制御を確認している。そのひとつである核小体タンパク質Nucleostemin (NS) をノックダウンし発現を抑制すると造血幹細胞が維持できなくなることを解明し、その細胞学的機構について現在解析を進めている。また他のTERT結合タンパク質でも造血幹細胞維持に重要であることを明らかにしており、今後TERTを中心としたタンパク質複合体による造血幹細胞制御について研究を進める。

今後の研究の発展

今後これらの研究を発展させ、テロメラーゼ複合体とくにTERTが司る造血幹細胞のアポトーシス制御、造血幹細胞制御因子、複合体によるダイナミックな制御機構などの詳細について解明することにより、生理的機構の破綻により発症する幹細胞病とも言える再生不良性貧血を始めとした骨髄不全疾患の成因解明の一助を得ると考える。