

要 約

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	田 井 育 江
主 論 文 題 名 Mortalin and DJ-1 coordinately regulate hematopoietic stem cell function through the control of oxidative stress (分子シャペロンmortalinは、抗酸化ストレスタンパク質DJ-1と協調し、酸化ストレスの制御を介して造血幹細胞の未分化性維持に寄与する)				
(内 容 の 要 旨) 造血幹細胞は自己複製能と多分化能を有し、造血システムを恒常的に維持している。造血幹細胞は活性酸素種 (Reactive oxygen species: ROS) に対して脆弱であり、ROSレベルを低く保っている。最大のROS発生源がミトコンドリアであることから、主にミトコンドリアで機能を発揮する分子シャペロンmortalinに着目した。これまでに、ゼブラフィッシュのmortalin機能低下変異体が骨髄異型性症候群に似た症状を呈すること、また多くの生物種において、mortalin機能欠損変異体はミトコンドリア機能不全を伴って致死であることが報告されている。つまり、mortalinはミトコンドリアの機能維持を介して細胞を保護する生存に必須の因子である。本研究は、mortalinによるROSの抑制的制御が、造血幹細胞の未分化性維持において重要であることを初めて明らかにした。 まず、様々な分化段階の血液細胞間でmortalinの発現量を比較したところ、mRNAレベルとタンパク質レベルにおいて造血幹・前駆細胞での高発現が認められた。さらに、蛍光免疫染色と免疫電顕により、mortalinの大部分がミトコンドリア内に局在することが明らかになった。 次に、mortalin阻害剤MKT-077の存在下で造血幹細胞を <i>in vitro</i> 培養したところ、MKT-077濃度依存性の造血幹細胞画分の顕著な減少、自己複製能の喪失、ROS産生量の増加が確認された。さらに、mortalinを発現抑制したドナー造血幹細胞の長期骨髄再構築能を評価したところ、骨髄生着率の低下が認められ、移植後のドナー由来造血幹・前駆細胞において静止期の破綻が認められた。 逆に、mortalinを過剰発現した造血幹細胞を <i>in vitro</i> 培養したところ、造血幹細胞集団が非常に多く維持されており、ROS蓄積量が顕著に低下していた。さらに、mortalinを過剰発現したドナー造血幹細胞は、長期骨髄再構築能が有意に上昇しており、移植後のドナー由来造血幹・前駆細胞のROS蓄積量は有意に低下していた。 最後に、上記表現型のメカニズム解明を目指し、mortalinの結合因子であるDJ-1の寄与を評価した。免疫沈降によりmortalinとDJ-1の結合が血液細胞株においても確認できた。DJ-1はmortalinと非常に近い発現パターンで造血幹・前駆細胞に強く発現していた。DJ-1欠損マウスでは造血幹細胞分画が顕著に減少しており、造血幹細胞特異的にROS蓄積量が増加していた。mortalin過剰発現による幹細胞数の増加とROS蓄積量の低下は、DJ-1欠損マウス由来の造血幹細胞においては観察されなかった。 以上より、造血幹細胞において、mortalinとDJ-1の相互作用はROSの抑制的制御を介して未分化性維持に貢献していることが明らかになった。				