

造血多能性細胞の増殖を制御する新しい分子メカニズムの発見

1. 発表者：

中島 克彦（東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 分子病態医科学部門 助教）

宮崎 徹（東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター 分子病態医科学部門 教授）

2. 発表のポイント：

◆どのような成果を出したのか

クロマチン修飾酵素であるペプチジルアルギニンデイミナーゼ 4（PAD4）は、がん遺伝子 *c-myc* を制御し造血多能性細胞の増殖をコントロールすることを明らかにした。

◆新規性（何が新しいのか）

PAD4 によるクロマチン修飾の生理的意義はよく分かっていなかったが、がん遺伝子を制御することで造血多能性細胞の増殖をコントロールすることを明らかにした。

◆社会的意義／将来の展望

PAD4 が、がん抑制因子のひとつである可能性を示唆しており、この研究成果は白血病等の造血系疾患の診断や治療に役立つ可能性がある。

3. 発表概要：

東京大学大学院医学系研究科附属疾患生命工学センター分子病態医科学部門の中島克彦助教と宮崎徹教授のグループは、遺伝子改変マウスを用いた研究から、造血多能性細胞（注1）の増殖を制御する新しい分子メカニズムを明らかにした。

ペプチジルアルギニンデイミナーゼ 4（PAD4）（注2）によるクロマチン修飾（注3）は、様々な遺伝子を制御することが示唆されていたが、その生理機能はほとんど不明であった。今回の研究成果により、PAD4 は他の制御因子と複合体を形成し、がん遺伝子 *c-myc*（注4）の上流に結合しクロマチンを修飾することでその発現を制御することを明らかにした。また、遺伝子改変マウスを用いた解析から、PAD4 は骨髄の造血多能性細胞の増殖を調節していることが明らかとなった。

今回の研究成果は、PAD4 ががん抑制因子として機能することを示唆しており、白血病等の造血系疾患に対する PAD4 を標的とした診断や治療の可能性が考えられる。

4. 発表内容：

血液細胞は、ひとつの造血幹細胞から様々な前駆細胞を経てつくられる。その過程では、細胞の分化・増殖を制御する多様な分子メカニズムが関与し、複雑かつ精密に制御されている。ひとたびその制御が破綻すると、白血病などの造血系疾患を引き起こしてしまう。そのため、造血幹細胞や前駆細胞の増殖や分化における分子メカニズムの解明は、こうした疾患の発症機構の研究に有用となる。

クロマチン修飾は、クロマチン構造の変化を介して遺伝子発現の調節などを担っており、様々な生物学的現象において重要な役割を担っている。クロマチン修飾のひとつであるシトルリン化は、近年遺伝子発現の制御に関わることが知られているが、その生理機能はほとんど明

らかとなっていない。クロマチンのシトルリン化は、核内のペプチジルアルギニンデアミナーゼ4 (PAD4) によって引き起こされる。PAD4は、成熟好中球や単球、また骨髄造血細胞において高い発現がみられるが、造血における役割は分かっていなかった。そこで、PAD4欠損マウスを用いてPAD4の造血における生理機能とその分子メカニズムを詳細に調べた。

はじめに、PAD4欠損マウスの骨髄における造血細胞に異常がみられるかどうか調べたところ、造血幹細胞や多能性細胞などの造血初期段階の細胞集団 (LSK細胞) が、野生型マウスに比べ増加していることが見つかった。これは、PAD4がその細胞の増殖制御に関与することを示唆した。次に、造血幹細胞や前駆細胞をFACS (注5) で分離し、それぞれの細胞におけるPAD4の発現を詳細に解析した結果、他の前駆細胞と比べLSK細胞ではPAD4の発現が高いことが分かった。また、PAD4を認識する抗体を作製し免疫蛍光細胞染色 (注6) を行ったところ、PAD4はLSK細胞の核内に存在することが示された。そこで、LSK細胞におけるPAD4の役割を調べるため、野生型マウスとPAD4欠損マウスのLSK細胞を用いて、発現遺伝子の網羅的解析を行った。その結果、がん遺伝子であるc-mycの発現がPAD4欠損マウスのLSK細胞で高いことがわかった。さらに、クロマチン免疫沈降法 (注7) により、PAD4がc-myc遺伝子の発現調節領域に結合し、クロマチンを修飾することが示唆された。また、他の遺伝子発現制御因子であるLEF1や、クロマチン修飾酵素であるHDAC1と複合体を形成することが示された。これらの結果から、PAD4はLSK細胞において他の遺伝子発現制御因子であるLEF1やHDAC1と複合体を形成し、c-myc遺伝子の高発現でクロマチンを修飾しその遺伝子発現を制御することが示された。さらにPAD4欠損マウスにおける造血細胞の増殖を詳細に解析した結果、LSK細胞の中でも特に造血多能性細胞の増加が顕著にみられ、PAD4の発現も高いことが分かった。これらのことから、PAD4は骨髄造血多能性細胞においてc-mycの発現を制御し細胞増殖を調節していると考えられる。

今のところPAD4欠損マウスでは白血病等の病態はみられていないが、PAD4が造血系疾患の治療や診断の標的となる可能性がある。今後は、造血系疾患におけるPAD4の関与について、モデルマウスや臨床検体などを用いて明らかにしていきたい。

5. 発表雑誌：

雑誌名：Nature Communications (5月14日オンライン版)

論文タイトル：PAD4 regulates proliferation of multipotent haematopoietic cells by controlling c-myc expression

著者：Katsuhiko Nakashima, Satoko Arai, Akari Suzuki, Yuko Nariai, Takeshi Urano, Manabu Nakayama, Osamu Ohara, Ken-ichi Yamamura, Kazuhiko Yamamoto, Toru Miyazaki

DOI番号：10.1038/ncomms2862

6. 問い合わせ先：

東京大学大学院医学系研究科附属 疾患生命工学センター 分子病態医科学部門
教授 宮崎 徹

TEL：03-5841-1436、FAX：03-5841-1438

E-mail：miya@m.u-tokyo.ac.jp または tm@m.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

（注1）造血多能性細胞：

血液細胞には白血球や赤血球など、様々な種類の細胞が存在するが、そのすべてが造血幹細胞からつくられる。造血多能性細胞は造血幹細胞よりも成熟した細胞であるが、全ての血液細胞に変化する多能性細胞で、増殖能が高い。

（注2）ペプチジルアルギニンデアミナーゼ4（PAD4）：

ペプチジルアルギニンデアミナーゼ（PAD）ファミリーの一つであり、タンパク質修飾酵素である。タンパク質中のアルギニン残基をシトルリン残基に変化させ、標的タンパク質の構造や機能を変える。

（注3）クロマチン修飾：

クロマチンは、4種類のヒストンタンパク質の複合体であり、ゲノムDNAを巻き付けコンパクトに細胞核内に収納するとともにゲノムを安定に維持するために重要な役割を担っている。クロマチンの修飾は、アセチル化やメチル化など様々なものが知られているが、遺伝子の発現などのクロマチン機能の調節に重要な役割を担っている。

（注4）がん遺伝子 c-myc：

がん遺伝子とは、その遺伝子異常により正常な細胞のがん化を引き起こすもののことである。なかでも c-myc は様々ながんにおいて発現や遺伝子構造に異常がみられる重要な遺伝子である。c-myc は転写制御因子であり、細胞周期を調節し細胞増殖を制御している。

（注5）FACS：

蛍光活性化セルソーター（FACS）は、蛍光標識した細胞表面マーカーに対する抗体を用いて個々の細胞を区別し、分取することができる実験機器。

（注6）免疫蛍光細胞染色：

細胞内のタンパク質を蛍光標識した抗体で染色し、蛍光顕微鏡によりその局在を観察する手法。

（注7）クロマチン免疫沈降法：

細胞内でのDNAとタンパク質の結合状態を調べることが出来る手法。