

均寿命と健康寿命の差である)平均9年,女性で平均12年間は何らかの介護を要すると考えられる。平均寿命と健康寿命の差が小さくなると医療や介護の費用の削減にもつながることから,政府は2020年までに健康寿命を1歳以上延ばすことを目標に掲げている。

前述の通りフレイルは身体的な側面のみならず,精神的,社会的側面も併せ持つ。今後益々高齢者が増加すると推定されており,フレイル患者の増加は介護量の増加につながる実際寝たきりの多くが最終的に運動器障害(ロコモ)からくるものであるため,これらの多くが整形外科領域と考えられがちである。しかしながらロコモまたはフレイルに至るまでの途中経過を鑑みると,もはや整形外科のみならず,内科をはじめとした医師全体,また看護,薬剤,リハビリ関連等を含んだ医療全体の問題であることを認識する必要があると考えられた。

文 献

- 1) Rosenberg IH: Sarcopenia: Origins and Clinical Relevance. *J Nutr* 127: S990-991, 1997.
- 2) Yoshimura N, Muraki S, Oka H, et Al: Prevalence of knee osteoarthritis, lumbar spondylosis, and osteoporosis in Japanese men and women: the research on osteoarthritis/osteoporosis against disability study. *J Bone Miner Metab* 27: 620-628, 2009.
- 3) 簡単にできるフレイルセルフチェック. *Kampof Life* ホームページ. <https://www.kracie.co.jp/kampo/kampof-ullife/body/?p=1082> (2017年8月31日最終閲覧)
- 4) Fried LP, Tangen CM, Watson J et al: Frailty in older adults: evidence for a phenotype factors. *J Gerontol* 56A: M146-M156, 2001.

【特別講演】

造血幹細胞の老化と加齢関連造血器腫瘍

岩間 厚志

千葉大学大学院医学研究院細胞分子医学

Hematopoietic Stem Cell Aging and Age-associated Hematological Malignancies

Atsushi IWAMA

Department of Cellular and Molecular Medicine, Graduate School of Medicine, Chiba University

キーワード: 幹細胞, エイジング, 加齢関連腫瘍, エピジェネティクス

Reprint requests to: Atsushi IWAMA
Department of Cellular and Molecular Medicine,
Graduate School of Medicine, Chiba University,
1-8-1 Inohana, Chuo-ku,
Chiba 260-8670, Japan.

別刷請求先: 〒260-8670 千葉市中央区亥鼻1-8-1
千葉大学大学院医学研究院細胞分子医学

岩間厚志

超高齢社会に伴い、癌や生活習慣病などの加齢 (aging) に伴う疾患が急増し、健康長寿実現のための方策が望まれている。加齢に伴い、組織の機能低下や構築の変化を伴う加齢変化、すなわち組織の老化が進行し、生体システムのホメオスタシスが穏やかに破綻していく。哺乳類においては、この生理的变化をベースに、高血圧や糖尿病などの生活習慣病、癌などで見られる疾患特異的な変化が加わり、加齢関連疾患を発症する。これら生理的变化と病的変化はシームレスにつながっており、厳密には分離しがたく、生理的な老化の理解を踏まえたうえで加齢関連疾患を統合的に理解することが必要である。これまで老化研究は、加齢に伴う組織レベルの生理的機能の減退、個体レベルの機能低下とともに、加齢に伴う疾患解析を通して進められてきた。しかし、過去10数年程の間に幹細胞研究が目覚ましい進歩を遂げ、個体を構成する多くの組織・臓器が幹細胞を頂点とする幹細胞システムによる絶え間ない再生によって維持されていることが示された。一方で、不老と考えられてきた幹細胞にも寿命があり、造血や皮膚、腸管などの幹細胞あるいは幹細胞ニッチの加齢変化 (ステムセルエイジング) が、機能細胞の供給異常や分化の偏りをもたらし、臓器の機能低下や加齢関連疾患の発症へと繋がること明らかになりつつある¹⁾。幹細胞はその長い寿命の間に様々な老化ストレス (DNA 損傷や代謝変化等) に暴露される。老化ストレスは幹細胞の枯渇や分化・機能異常を引き起こすと同時に、遺伝子変異の蓄積を促進し癌化の危険性を高める。そこで幹細胞は、ニッチにおいて G₀ 期に存在することによりストレスを回避する。幹細胞の長い寿命は、このような老化を防ぐ安全装置によって支えられているが、その詳細や破綻による幹細胞の加齢変化の全貌は明らかになっていない。この幹細胞の加齢変化は加齢特性の中でも本質的なものと認識されており、筆者らは、文部科学省新学術領域研究「ステムセルエイジングから解明する疾患原理」(H26～30年度)において精力的に研究を推進している (<http://www.m.chiba-u.ac.jp/class/molmed/stemcellaging/index.html>)。

加齢造血幹細胞は、造血能の低下とともにリンパ球分化能が抑制され骨髄球分化が亢進するが、このような分化能の変化も見かけだけであり、実態は分化能の異なる造血幹細胞クローンの割合の変化が原因であるとも考えられている²⁾。このような加齢変化は造血幹細胞の内的な要因とともに、加齢に伴うニッチ細胞の変化も影響を与えるものと考えられている。代表的な要因としては、例えば活性酸素種の産生亢進やDNA損傷の蓄積、細胞極性やエピゲノムの変化、ニッチの加齢変化による影響などがあげられる³⁾。

一方で、様々な加齢関連疾患と幹細胞異常の関連は広く認知されつつある。高齢者に好発する造血器疾患の多くは造血幹細胞の加齢変化に起因することが想定されていたが、近年その詳細が明らかにされつつある。加齢に伴い発症頻度が急増する疾患としては骨髄異形成症候群や骨髄増殖性腫瘍がよく知られているが、意外なことに慢性リンパ球性白血病においても造血幹細胞レベルに遺伝子変異が認められることが明らかにされた⁴⁾。さらに、ハーバード大とカロリンスカ大などの合同研究グループは、12,380人のスウェーデン人の末梢血DNAの全エクソンシーケンスを行い、50歳未満では1%であった体細胞突然変異を伴うクローナルな造血 (変異を獲得した造血幹細胞による造血) が、65歳以上の高齢者では10%に認められ、その頻度は年齢に伴って増加することを報告した。この変異を獲得した造血幹細胞による造血は一見正常に見えるが、加齢に伴いクローン造血の拡大が長年にわたって推移し、この増幅されたクローンから造血器腫瘍の起源となるがん幹細胞が派生するものと想定されている。クローナル造血細胞には造血腫瘍のドライバー遺伝子変異として知られる遺伝子群、すなわち *DNMT3A*、*TET2* やスプライソゾーム関連遺伝子の変異が主に認められ、造血腫瘍で高頻度に認められるその他の遺伝子変異、例えば *FLT3* や *NPM1* の変異は認められていない。すなわち、*DNMT3A* や *TET2*、スプライソゾーム関連遺伝子の変異は *FLT3* や *NPM1* 変異よりもより早期に獲得される変異と言える⁵⁾⁶⁾。

筆者らは現在、エピジェネティック制御因子の代表的なファミリー分子であるポリコム複合体の解析を通して造血幹細胞の加齢について研究を行っている。ポリコム群遺伝子はヒストン修飾を介して標的遺伝子の発現を抑制する分子群である⁷⁾。核内で複合体を形成し、その複合体は Polycomb repressive complex (PRC) 1 と PRC2 に大別される。PRC1 は主に PCGF ファミリー (PCGF4/BMI1, PCGF2/MEL, RING1A/B, CBX, PHC) で構成される。RING1A/B は H2AK119 のユビキチン E3 リガーゼであり、H2AK119 をモノユビキチン化 (H2AK119ub1) する。PRC2 は主に EZH1/2, SUZ12, EED で構成され、そのうち EZH1/2 は H3K27 のメチル化 (H3K27me1/me2/me3) 活性を有している。一般的には、まず PRC2 が標的遺伝子座に結合し、EZH1/2 の働きにより H3K27me3 修飾を行う。続いて H3K27me3 を CBX のクロモドメインが認識し PRC1 がリクルートされ、PRC1 の働きにより H2AK119ub1 修飾が付加され、転写伸長の阻害とクロマチン凝集を引き起こし、転写抑制状態が形成される (図1)。一方、PRC2 非依存的に PRC1 が標的遺伝子座にリクルートされるメカニズムも明らかにされている⁸⁾。PRC1 の構成

因子のうち、PCGF には6つのファミリー分子が存在し、PCGF4/BMI1 や PCGF2/MEL18 を含むものを canonical PRC1, PCGF1, PCGF3, PCGF5, PCGF6 を含むものは Non-canonical PRC1 として分類され、その構成因子はそれぞれに異なる⁹⁾。この non-canonical PRC1 はいずれも PRC2 による H3K27me3 修飾とは独立して標的遺伝子にリクルートされ H2AK119ub1 修飾を付加しようと考えられている。例えば PRC1.1 の構成因子である KDM2B は非メチル化 CpG アイランド (CGI) を認識し結合する。その結果、KDM2B と結合能を有する RING1B, PCGF1, がリクルートされ PRC1.1 が形成される (図1)。このように PRC1 はその構成をかえることで多様な遺伝子座への分布を可能にしていると考えられる。

筆者らは、若年齢 (10 週) と加齢 (20 ヶ月) マウスの造血幹細胞 (HSC) の RNA シークエンスと PRC2 ポリコム複合体によるヒストン修飾 H3K27me3 の ChIP シークエンスデータから、遺伝子発現プロファイルの加齢変化の一因として、H3K27me3 で発現が抑制される PRC2 標的遺伝子の発現が有意に亢進することを確認した。グローバルな H3K27me3 の変化は軽微であるが、

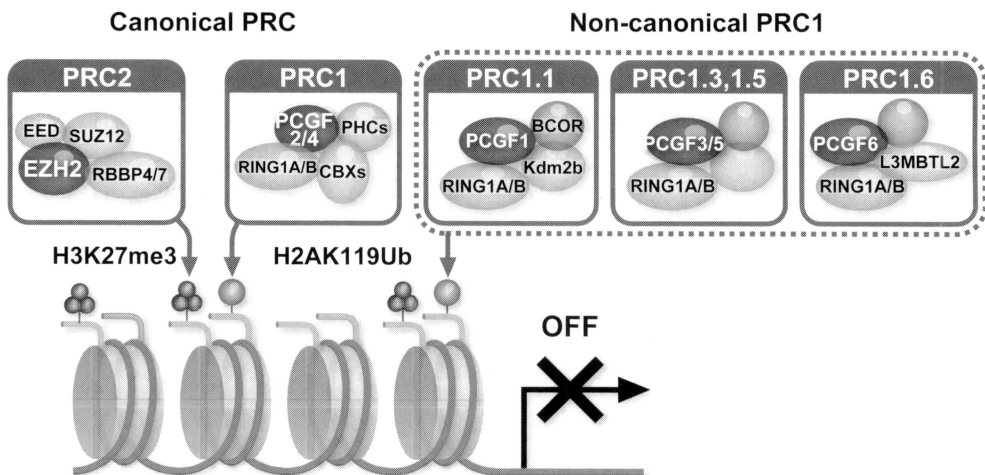


図1 ポリコム群転写抑制複合体

ポリコム群 (PcG) 複合体である PRC2 による H3K27 のトリメチル化 (H3K27me3) および PRC1 による H2AK119 のモノユビキチン化 (H2AK119ub1) は転写抑制に働く。

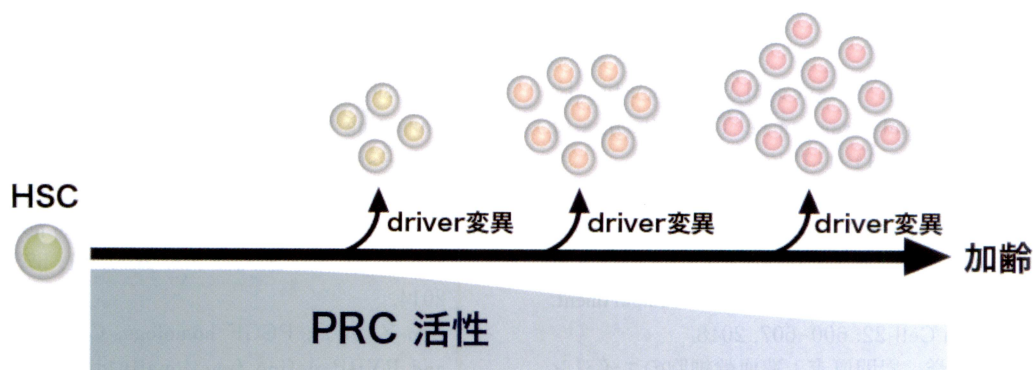


図2 造血幹細胞の加齢変化によるクローン拡大と PRC2 機能の低下

加齢にともない一部の造血幹細胞のゲノムに変異が蓄積する。特に *DNMT3A*, *TET2*, *ASXL1* などの driver 変異を獲得した造血幹細胞は増殖アドバンテージを獲得し、加齢に伴い幹細胞集団の中で優勢になっていく。造血幹細胞の加齢変化における PRC2 機能の低下は、driver 変異を獲得した加齢造血幹細胞がクローン拡大する際のエピゲノム要因の一つと考えられる。クローン拡大の過程において、PRC2 遺伝子の機能喪失型変異やスプライシング異常による *EZH2* の発現低下等により PRC2 機能はさらに低下し、driver 変異の造腫瘍活性を増強する。

プロモーターにおける H3K27me3 のレベルの減少が加齢に伴い進行することが確認された。また、LPS 投与による感染ストレスや 5-FU 投与による細胞分裂ストレスによってもプロモーターにおける H3K27me3 のレベルの低下が誘導されることを確認した。したがって、様々なストレスにより PRC2 機能は抑制される可能性がある。その機序についてはまだ不明であるが、*Ezh2* のリン酸化を介した PRC2 機能抑制の可能性を支持する知見を得て、詳細な解析を進めているところである。

一方で、高齢者に好発する造血幹細胞腫瘍（骨髄異形成症候群や骨髄線維症）には、PRC2 構成遺伝子 (*EZH2* 等) の機能喪失型変異や *EZH2* の発現低下が高率に認められ、PRC2 機能低下の関与が想定されていた。筆者らは、*Ezh2* 欠損造血幹細胞の解析から、PRC2 の機能低下が高齢者造血幹細胞腫瘍発症の誘因となること、さらに、これらの腫瘍に頻度の高い遺伝子変異 (*RUNX1* 変異や *JAK2V617F*) の造腫瘍性を著明に増強することを明らかにした^{10)–13)}。これらの知見は、造血幹細胞の加齢変化におけるポリコーム機能の低下が driver 変異を獲得した加齢造血幹細胞がク

ローン拡大する際のエピゲノム要因となっている可能性を示唆しており（図2）、造血幹細胞腫瘍発症におけるステムセルエイジングの意義を支持するものである。造血幹細胞の加齢において、腫瘍発症のリスクの増大は重要な意義を持つが、単に遺伝子変異の獲得だけで腫瘍が成立するわけではなく、変異を獲得した幹細胞が増幅・拡大するには、幹細胞自身とともにニッチ細胞の加齢変化が重要な要因となるものと考えられる。その加齢要因の解明が腫瘍の発症機構の理解と予防法・治療法の開発につながるものと期待される。

おわりに

造血幹細胞の加齢変化の理解は加齢関連疾患の理解や造血不全の治療法の開発に不可欠であり、着実に進められてきた。本稿で概説したように、造血幹細胞のエイジングの様々な特性と、その原因とされる分子機構についての報告が近年相次いでおり、非常に進展の著しい分野であり、今後の研究の進展が期待される。

文 献

- 1) López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M and Kroemer G: The hallmarks of aging. *Cell* 153: 1194-1217, 2013.
- 2) Yamamoto R, Wilkinson AC, Ooehara J, Lan X, Lai CY, Nakauchi Y, Pritchard JK and Nakauchi H: Large-Scale clonal analysis resolves aging of the mouse hematopoietic stem cell compartment. *Cell Stem Cell* 22: 600-607, 2018.
- 3) 田久保圭誉, 岩間厚志: 造血幹細胞のエージェン
グと疾患 実験医学 35: 1279-1284, 2017.
- 4) Damm F, Mylonas E, Cosson A, Yoshida K, Della Valle V, Mouly E, Diop M, Scourzic L, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Miyano S, Kikushige Y, Davi F, Lambert J, Gautheret D, Merle-Béral H, Sutton L, Dessen P, Solary E, Akashi K, Vainchenker W, Mercher T, Droin N, Ogawa S, Nguyen-Khac F and Bernard OA: Acquired initiating mutations in early hematopoietic cells of CLL patients. *Cancer Discov* 4: 1088-1101, 2014.
- 5) Genovese G, Kähler AK, Handsaker RE, Lindberg J, Rose SA, Bakhoum SF, Chambert K, Mick E, Neale BM, Fromer M, Purcell SM, Svantesson O, Landén M, Höglund M, Lehmann S, Gabriel SB, Moran JL, Lander ES, Sullivan PF, Sklar P, Grönberg H, Hultman CM and McCarroll SA: Clonal hematopoiesis and blood-cancer risk inferred from blood DNA sequence. *N Engl J Med* 371: 2477-2487, 2014.
- 6) Jaiswal S, Fontanillas P, Flannick J, Manning A, Grauman PV, Mar BG, Lindsley RC, Mermel CH, Burt N, Chavez A, Higgins JM, Moltchanov V, Kuo FC, Kluk MJ, Henderson B, Kinnunen L, Koistinen HA, Ladenvall C, Getz G, Correa A, Banahan BF, Gabriel S, Kathiresan S, Stringham HM, McCarthy MI, Boehnke M, Tuomilehto J, Haiman C, Groop L, Atzmon G, Wilson JG, Neuberger D, Altshuler D and Ebert BL: Age-related clonal hematopoiesis associated with adverse outcomes. *N Engl J Med* 371: 2488-2498, 2014.
- 7) Blackledge NP, Rose NR and Klose RJ: Targeting Polycomb systems to regulate gene expression: modifications to a complex story. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 16: 643-649, 2015.
- 8) Comet I and Helin K: Revolution in the polycomb hierarchy. *Nat Struct Mol Biol*. 21: 573-575, 2014.
- 9) Gao Z, et al: PCGF homologs, CBX proteins, and RYBP define functionally distinct PRC1 family complexes. *Mol Cell* 45: 344-356, 2012.
- 10) Muto T, Sashida G, Oshima M, Wendt GR, Mochizuki-Kashio M, Nagata Y, Sanada M, Miyagi S, Saraya A, Kamio A, Nagae G, Nakaseko C, Yokote K, Shimoda K, Koseki H, Suzuki Y, Sugano S, Aburatani H, Ogawa S and Iwama A: Concurrent loss of *Ezh2* and *Tet2* cooperates in the pathogenesis of myelodysplastic disorders. *J Exp Med* 210: 2627-2639, 2013.
- 11) Sashida G, Harada H, Matsui H, Oshima M, Yui M, Harada Y, Tanaka S, Mochizuki-Kashio M, Wang C, Saraya A, Muto T, Inaba T, Koseki H, Huang G, Kitamura T and Iwama A: *Ezh2* loss promotes development of myelodysplastic syndrome but attenuates its predisposition to leukemic transformation. *Nat Commun* 5: e4177, 2014.
- 12) Mochizuki-Kashio M, Aoyama K, Sashida G, Oshima M, Tomioka T, Muto T, Wang C and Iwama A: *Ezh2* loss in hematopoietic stem cells predisposes mice to develop heterogeneous malignancies in an *Ezh1*-dependent manner. *Blood* 126: 1172-1183, 2015.
- 13) Sashida G, Wang S, Tomioka T, Oshima M, Kazumasa Aoyama K, Kanai A, Mochizuki-Kashio M, Harada H, Shimoda K and Iwama A: The loss of *Ezh2* cooperates with an active *JAK2* mutant in the pathogenesis of myelofibrosis and sensitizes tumor-initiating cells to bromodomain inhibition. *J Exp Med* 213: 1459-1477, 2016.