

No.	25-1132	
Project Title	コンディショナルFAマウスを用いた造血発生の解析	
Principal Investigator	Makiko Mochizuki (Tokyo Women's Medical University・Assistant professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Atsushi Iwama (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	中島 やえ子 (医科学研究所 附属幹細胞治療研究センター・助教)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

造血幹細胞(HSC)は胎生中期に発生し、胎児肝臓へ移行した後に活発な増殖・分化を行うことで、生体の造血システムの基盤を形成する。胎児肝臓はこの時期における主要な造血ニッチであり、HSC が最も高い増殖能を示す場として機能することから、発生期特有の細胞外環境および代謝状態が HSC の性質を規定していると考えられている。遺伝性骨髄不全症であるファンconi 貧血(Fanconi anemia: FA) は、DNA 複製ストレス応答および修復機構の破綻を特徴とし、幼児期に貧血を呈する疾患である。一方で既に胎児肝臓での HSC 増殖低下が明らかとなっている。申請者らはこれまでに、FANCD2 欠損マウス(*Fancd2* KO)の胎児 HSC において、p21 増加および Chk1 リン酸化により示される複製ストレスの亢進と、ミトコンドリア代謝を含むエネルギー代謝の異常活性化を明らかにした(Mochizuki-Kashio et al., 2023)。さらに、タウロウルソデオキシコール酸(TUDCA)投与およびインターフェロン(IFN)シグナル抑制によって胎児 HSC の増殖低下が回復することを示し、ストレス応答経路の可逆性を示した(Mochizuki-Kashio et al., 2024)。しかしながら、この回復効果が HSC 自身に作用する内因性(intrinsic)機構によるものか、あるいは肝細胞や血管内皮細胞などの造血ニッチ細胞を介した外因性(extrinsic)機構によるものは未解明であり、FA 胎児造血不全の本質的理解には至っていない。そこで本研究では、*Fancd2* コンディショナル欠損マウス(*Fancd2*^{fl/fl})を作製し、造血特異的(*Vav1-iCre*)、造血・血管内皮特異的(*Tie2-Cre*)、周辺細胞特異的(*EpoR-Cre*, *Alb-Cre*) Cre ドライバーを用いた細胞種特異的欠損モデルを構築することで、*Fancd2* KO 胎児 HSC 減少の再現性とその機序の解明を目指している。

本年度(1 年目)の解析において、*Tie2-Cre;Fancd2*^{fl/fl} マウスでは胎生 14.5 日(E14.5)の胎児肝において、EPCR 陽性 HSC から巨核球前駆細胞に至る分画で有意な細胞数低下が認められ、その程度は *Fancd2* KO と同等であった。一方、造血特異的欠損である *Vav1-iCre;Fancd2*^{fl/fl} マウスでは同様の表現型は認められなかった。この結果は、造血細胞単独での *Fancd2* 欠損では胎児 HSC 減少が十分に再現されないことを示しており、周辺細胞、特に血管内皮細胞を含むニッチ環境の関与が強く示唆される。さらに、E12.5 では *Tie2-Cre;Fancd2*^{fl/fl} においても HSPC 減少は認められなかったことから、本表現型は E12.5 から E14.5 にかけて胎児肝への移行および急速な増殖期に特異的に生じることが明らかとなった。すなわち、FANCD2 は胎児肝移行後、増殖活性の高い発生期 HSC においてより重要な役割を果たす可能性が示唆される。

分子機構の解析では、*Tie2-Cre;Fancd2*^{fl/fl} 由来 EPCR 陽性 HSC において p21 および pChk1 の上昇が認められ、DNA 複製ストレスの亢進が確認された。一方、RNA シークエンス解析では IFN シグナルの顕著な活性化は認められなかったが、Ifi208 や Pltp などのストレス応答関連遺伝子の発現上昇が確認された。また、*Tie2-Cre* モデルでのみ表現型が再現されることから、内皮細胞由来シグナルの変化が HSC の複製ストレス応答や代謝状態に影響を与えている可能性が考えられる。すなわち、FA における胎児 HSC 増殖低下は、HSC 内在的な DNA 損傷応答異常に加え、ニッチ由来シグナルとの相互作用破綻によって増幅される複合的現象である可能性が高い。

今後(2 年目)は、*Tie2-Cre;Fancd2*^{fl/fl} マウスを用いて、胎児肝における HSC とニッチ細胞の相互作用破綻の分子基盤をさらに詳細に解析する。特に、血管内皮細胞および周辺間質細胞の変動を解析し、どのニッチ細胞がどのようなシグナルを介して HSC 増殖低下に寄与するのかを明らかにする。さらに、本コンディショナル *Fancd2* 欠損マウスを用いた生後から成体までの造血解析も進め、胎児期に生じた異常がどのように持続し、造血不全や白血病化へとつながるのかを時系列的に明らかにする。