

研究成果報告書

研究テーマ (和文)	NAD ⁺ -SIRT 経路の造血幹細胞制御における役割		
研究テーマ (英文)	The role of NAD ⁺ -SIRT pathway in hematopoietic stem cell regulation		
研究期間	2019 年 ~ 2022 年	研究機関名	熊本大学国際先端医学研究機構
研究代表者	氏名	(漢字)	森嶋 達也
		(カタカナ)	モリシマ タツヤ
		(英文)	Tatsuya Morishima
	所属機関・職名	熊本大学国際先端医学研究機構・特任助教	
共同研究者 (1名をこえる場合は、別紙追加用紙へ)	氏名	(漢字)	滝澤 仁
		(カタカナ)	タキザワ ヒトシ
		(英文)	Hitoshi Takizawa
	所属機関・職名	熊本大学国際先端医学研究機構・特別招聘教授	

概要 (600字~800字程度にまとめてください。)

ヒト造血幹細胞を試験管内で維持・増幅培養する技術の確立を念頭に造血幹細胞の分化と自己増幅のメカニズムを理解することを目指し、ヒト造血幹細胞マーカーの一つである CD38 に着目して研究を開始した。

CD38 は NAD⁺を代謝する酵素であることから、NAD⁺代謝に関与する培地内成分であるトリプトファンおよびニコチンアミドの濃度を変更した培地を用いて臍帯血由来ヒト CD34⁺細胞の培養を行った。その結果ニコチンアミド濃度は細胞増殖に影響しなかったが、トリプトファン濃度を従来の培地の 1/100 に減らすと細胞増殖が停止することが明らかとなった。また、この低トリプトファン条件下ではヒト造血幹細胞と同様の表面マーカー発現パターン (CD34⁺38⁻45RA⁻90⁺) を示す細胞の割合が従来の培養条件と比較して有意に増加しており、低トリプトファン培地と従来の培地を入れ替えることで培地中のトリプトファン濃度に応じて細胞の増殖スピードをコントロールすることが可能であった。これらのデータから低トリプトファン条件下での培養はヒト造血幹細胞を維持できる培養条件である可能性が考えられた。

次にこの低トリプトファン条件下での培養による細胞増殖停止のメカニズムを明らかにするためメタボローム解析を行った。その結果培養前後で比べるとアミノ酸やタンパクの生合成経路が、低トリプトファン条件と従来の培地の比較ではグルタミン代謝経路に有意な差が認められた。

今後はこれらのデータをもとに RNA シークエンス解析 (実施済み) のデータも併せて解析することで、トリプトファンによる細胞増殖速度制御のメカニズムを明らかにすることを目指すとともに、低トリプトファン条件下で培養した細胞の造血幹細胞機能の検証を進め、造血幹細胞を用いた遺伝子治療の効率改善等への臨床応用の可能性を探っていく。

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）					
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
雑誌	論文課題				
	著者名		雑誌名		
	ページ	～	発行年	巻号	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	
図書	書名				
	著者名				
	出版社		発行年	総ページ	

英文抄録（100語～200語程度にまとめてください。）

Toward establishment of hematopoietic stem cell (HSC) ex vivo culture system, we studied the mechanism of HSC maintenance and expansion focusing on CD38, which is one of the HSC markers and an enzyme for NAD⁺ metabolism.

We tested human cord blood derived CD34⁺ cell culture in the culture medium containing different concentration of nicotinamide and tryptophan, which are the NAD⁺ precursors. This experiment revealed low-tryptophan medium suppressed cell growth while nicotinamide concentration played no role in cell proliferation. Moreover, low tryptophan culture could maintain phenotypical HSCs and cell growth was easily controlled by changing tryptophan concentration in the medium. These data suggested that low tryptophan medium could be the culture condition for HSC maintenance.

To understand the molecular mechanism, metabolic status was analyzed by metabolome analysis. Amino acid and protein biosynthesis pathways were significantly changed by culture and glutamine metabolism pathway showed significant difference between conventional and low tryptophan culture conditions.

Based on these data, in combination with RNA sequence analysis data, we will identify the molecular mechanism of cell growth regulation by tryptophan and explore the possibility of clinical appreciation such as efficient gene therapy using HSCs by validating the stem cell potential of cells cultured in low tryptophan medium.

共同研究者	氏名	(漢字)	王 雨馨	
		(カタカナ)	ワン ユーシン	
		(英文)	Yuxin Wang	
	所属機関・職名		熊本大学国際先端医学研究機構・リサーチサポート・アソシエイト	
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
	所属機関・職名			
	氏名	(漢字)		
		(カタカナ)		
		(英文)		
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				
氏名	(漢字)			
	(カタカナ)			
	(英文)			
所属機関・職名				