



自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET

日本大学飯田隆教授とルンド大学（スウェーデン）三原田賢一講師等の  
共同研究学術論文が **Cell Stem Cell** に掲載

「Bile Acids Protect Expanding Hematopoietic Stem Cells from Unfolded Protein Stress in Fetal Liver」

『胆汁酸は胎児肝で増幅中の造血幹細胞を変性タンパク質ストレスから保護する』

雑誌名：Cell Stem Cell, 2016年1月28日 オンライン版公開

日本大学の飯田隆教授、ルンド大学の三原田賢一講師、順伸クリニック胆汁酸研究所の入野博所長らの共同研究グループは、全ての血液の源である造血幹細胞が胎児の肝臓で増殖する仕組みを解明しました。

本研究成果は、2016年1月28日（アメリカ東部標準時間正午）に、米科学誌 Cell Stem Cell（セルステムセル）のオンライン速報版で公開されます。Cell Stem Cell は幹細胞生物学の全領域をカバーし、2007年の創立以来トップレベルの科学情報を提供しています。

【注意事項】

本リリースは、日本時間1月29日（金）午前2時（アメリカ東部標準時間1月28日（木）正午）以後の公表となります。

【研究成果の要点】

- 液体クロマトグラフ-タンデム質量分析を用いて胎児と成体肝における胆汁酸組成の違いを明らかにした
- 胆汁酸が、胎児肝で増殖中の造血幹細胞において変性タンパク質の蓄積に伴う「小胞体ストレス」を低減していることを発見した
- 胎児の胆汁酸の大半は母親由来であることを解明した

【概要】

全ての血液細胞の源である造血幹細胞は、大人の体内では骨髄の内部で休眠状態にありますが、発生中の胎児では肝臓（胎児肝）で活発に増殖しています。造血幹細胞はストレスに弱く、体外で増殖させるとすぐに機能が低下してしまうことが知られているため、胎児肝の中ではどうして増殖が可能であるのか謎のままでした。当研究グループは以前、造血幹細胞はタンパク質を正常に折りたたむ能力が低いため、体外培養すると異常なタンパク質が蓄積して死んでしまうことを発見していました。今回、著者らは胎児肝では食物の消化に使われる胆汁の主成分である「胆汁酸」が異常タンパク質の蓄積を防いでいることを明らかにしました。胎児肝の胆汁酸が減少するマウスを解析

発信元：日本大学広報部広報課 〒102-8275 東京都千代田区九段南 4 丁目 8 番 24 号  
TEL 03-5275-8132 FAX 03-5275-8321

<http://www.nihon-u.ac.jp>



自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET

したところ、増殖するはずの造血幹細胞が大幅に減少していることがわかりました。さらに、詳細な質量分析の結果胎児肝に存在する胆汁酸の大半は母親から送られていることもわかりました。これらの発見は、白血病治療などに対する骨髄・臍帯血移植技術の改良につながるだけでなく、妊娠中に胎児に起こる病気の解明などに貢献すると期待されます。

#### 【今後の展開】

これらの発見は、造血幹細胞の増殖環境に対する脆弱性を説明するものであり、造血幹細胞の体外培養技術改良による骨髄・臍帯血移植技術へ広く応用されるものと考えられます。さらに、母体と胎児間での胆汁酸輸送などの知見から、妊娠中に胎児に起こる病気の解明などに貢献すると期待されます。

#### 【共同研究者及び研究助成】

(共同研究者) 日本大学文理学部 飯田 隆

スウェーデン・ルンド大学幹細胞研究所 遺伝子治療・分子遺伝分野 三原田賢一  
順伸クリニック胆汁酸研究所 入戸野博

(研究助成) 当研究はスウェーデン研究評議会 (Vetenskapsrådet)、スウェーデンがん基金 (Cancerfonden)、オーケ・ウィベグ基金 (Åke-Wibergs Stiftelsen)、クラフォード基金 (Crafoordska stiftelsen)、ステムセラピープロジェクト (StemTherapy) の助成により行われました。

#### 【発表雑誌】

雑誌名: Cell Stem Cell 2016年1月28日オンライン版公開

論文タイトル: Bile Acids Protect Expanding Hematopoietic Stem Cells from Unfolded Protein Stress in Fetal Liver

(胆汁酸は胎児肝で増幅中の造血幹細胞を変性タンパク質ストレスから保護する)

著者: Valgardur Sigurdsson<sup>1</sup>, Hajime Takei<sup>2</sup>, Svetlana Soboleva<sup>1</sup>, Visnja Radulovic<sup>1</sup>, Roman Galeev<sup>1</sup>, Kavitha Siva<sup>1</sup>, L. M. Fredrik Leeb-Lundberg<sup>3</sup>, Takashi Iida<sup>4</sup>, Hiroshi Nittono<sup>2</sup> and Kenichi Miharada<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Division of Molecular Medicine and Gene Therapy, Lund Strategic Center for Stem Cell Biology, Lund University, Lund, Sweden

<sup>2</sup>Junshin Clinic Bile Acid Institute, Tokyo, Japan

<sup>3</sup>Department of Experimental Medical Science, Lund University, Lund, Sweden



自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET

<sup>4</sup>Department of Chemistry, College of Humanities and Sciences, Nihon University,  
Tokyo, Japan

\*Corresponding author

【研究者略歴】

日本大学教授 飯田 隆

昭和44年3月 日本大学生産工学部工業化学科卒業

昭和46年3月 日本大学大学院理工学研究科応用化学専攻 修士(工学)

昭和49年3月 日本大学大学院理工学研究科有機応用化学専攻 博士(工学)

昭和49年4月 日本大学工学部工業化学科 助手

昭和50年4月 日本大学工学部工業化学科 専任講師

昭和56年4月 日本大学工学部工業化学科 助教授

平成4年4月 日本大学工学部工業化学科 教授

平成8年4月 日本大学文理学部化学科 教授

ルンド大学講師 三原田賢一

平成13年3月 茨城大学理学部地球生命環境科学科卒業

平成15年3月 筑波大学大学院修士課程医科学研究科医科学専攻修了 修士(医科学)

平成19年3月 筑波大学大学院博士課程人間総合科学研究科先端応用医学専攻修了 博士(医学)

平成19年4月 - 21年3月 理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室

基礎科学特別研究員

平成21年4月 - 24年12月 スウェーデン・ルンド大学幹細胞研究所リサーチフェロー

平成25年1月 - スウェーデン・ルンド大学幹細胞研究所グループリーダー・講師

【問い合わせ先】

研究に関すること：ルンド大学幹細胞研究所 遺伝子治療・分子医学分野 三原田賢一

Tel: +46-46-2220592

e-mail: [Kenichi.Miharada@med.lu.se](mailto:Kenichi.Miharada@med.lu.se)

日本大学文理学部 化学科 飯田隆

Tel: 03-5317-9366

e-mail: [takaiida@chs.nihon-u.ac.jp](mailto:takaiida@chs.nihon-u.ac.jp)

報道に関すること：日本大学文理学部庶務課

Tel: 03-5317-9677

e-mail: [shomu@chs.nihon-u.ac.jp](mailto:shomu@chs.nihon-u.ac.jp)

発信元：日本大学広報部広報課 〒102-8275 東京都千代田区九段南4丁目8番24号

TEL 03-5275-8132 FAX 03-5275-8321

<http://www.nihon-u.ac.jp>

自主創造  
日本大学

LUNDS UNIVERSITET

—研究詳細資料—

## 【発表内容】

研究の背景と経緯

造血幹細胞は全ての血球系列に分化できる能力（多分化能）と分裂時に幹細胞自身を複製する能力（自己複製能）を兼ね備えた細胞であり、一つの細胞を移植するだけで造血能を再構築できることが実験的に示されています。<sup>注1)</sup> そのため、白血病をはじめとする血液疾患に対する骨髄・臍帯血移植治療では、これらの細胞の能力が被移植者の造血再建を担っています。一方で造血幹細胞は各種ストレスに弱く、体外培養すると機能が大幅に低下してしまうことも広く知られています。これが造血幹細胞の増幅を困難なものとしており、例えば臍帯血に含まれる造血幹細胞数の不足を培養で補うなどの技術が未だ確立されていない大きな要因の一つとなっています。

生体内では造血幹細胞は骨髄の内部で休眠状態にあり、活発な細胞分裂を行っていませんが、発生中の胎児では肝臓（胎児肝）で活発に増殖していることが知られています。<sup>注2)</sup> 前述の通り造血幹細胞を増殖させることは大変困難であるため、胎児肝ではどうして造血幹細胞が能力を維持したまま増殖できるのか謎のままでした。研究グループは以前、造血幹細胞はタンパク質を正常に折りたたむために必要なシャペロンタンパク質の働きが弱いために、増殖させると異常な折りたたみを起こした変性タンパク質が蓄積して「小胞体ストレス」<sup>注3)</sup> と呼ばれるストレスが上昇し細胞死を起こすことを発見していました。<sup>注4)</sup> また、この小胞体ストレス上昇は分子シャペロンとして知られる胆汁酸<sup>注5)</sup> の一種であるタウロウルソデオキシコール酸（TUDCA）を培養に添加することで解消されることも示しました。このことから、著者らは胎児肝でも同様の仕組みで造血幹細胞の増殖が制御されているのでは無いかと考えました。

成体の骨髄にある、休眠状態の造血幹細胞ではタンパク質合成量が他の細胞の半分しか無いことが報告されています。調べてみると、胎児肝の造血幹細胞では大幅にタンパク質合成が亢進されていました。ところが、シャペロンタンパク質の働きが活性化されていないにもかかわらず小胞体ストレスは上昇していませんでした。このことは何らかの外的因子がタンパク質の折りたたみを補助していることを示唆しています（図1）。胎児は食物を消化する必要が無いにもかかわらず、既にその肝臓内に胆汁酸を保有していることが知られていました。<sup>注6)</sup> 胆汁酸は脂質消化に必要な胆汁の主成分ですが、なぜ胎児が胆汁酸を保有しているかは不明でした。そこで、著者らは胆汁酸がその役割を担っているという仮説を立てました。

研究内容（具体的な手法など詳細）

著者らはまず、成体肝および胎児肝の胆汁酸組成を液体クロマトグラフ-タンデム質量分析にて解析しました。その結果胎児肝の胆汁酸組成は成体肝のものとは大きく異なり、特に低毒性であるタウリン抱合型の胆汁酸がほぼ全量を占めることがわかりました。また、大変興味深いことに、胎児

発信元：日本大学広報部広報課 〒102-8275 東京都千代田区九段南 4 丁目 8 番 24 号

TEL 03-5275-8132 FAX 03-5275-8321

<http://www.nihon-u.ac.jp>





自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET

肝の中には二時胆汁酸と呼ばれる胆汁酸が含まれることがわかりました（図2）。二次胆汁酸は、肝臓で合成される一次胆汁酸から腸内細菌によって合成されるため、従来では胎児肝には存在しないと考えられていました。この発見は、胎児肝の胆汁酸には母体由来のものが混入していることを示唆しています。これらの新たな知見は、齧歯類特有の胆汁酸であるムリコール酸を含む多数の胆汁酸を成体肝・胎児肝で同条件にて詳細に比較したことによる成果で有り、世界的に見ても大変貴重なデータだと言えます。

次に、胎児期の胆汁酸量の減少が造血幹細胞にどのような影響を与えるかを調べるために、2つのマウスモデルを用いて胆汁酸の合成阻害を誘導しました。まず、胆汁酸合成反応をするために必要な酵素群を抑制する化合物（GW4064）を妊娠マウスに投与する実験を行いました。その結果、GW4064を投与された胎児の肝臓では成熟した血液細胞の数には変化が認められなかった一方で、造血幹・前駆細胞といった未分化な細胞が有意に減少していました。これらの細胞では変性タンパク質の蓄積に伴う小胞体ストレスの上昇が認められ、またアポトーシスによる細胞死が観察されました。これらの影響は、外部から胆汁酸の1種であるタウロコール酸（TCA）もしくは小胞体ストレスを阻害する薬剤であるサルブライナルを投与することで消失することもわかりました。

さらにもう一つの実験系として、胆汁酸合成酵素の一つである CYP27A1 を欠損したマウスを解析しました。CYP27A1 欠損の母親の胎内で成長した CYP27A1 欠損胎児では、胎児肝に含まれる造血幹細胞の数は有意に減少していました（図3）。残存している細胞では凝固した変性タンパク質が多く蓄積しており、小胞体ストレスによって細胞死を起こした細胞が有意に増加していました。興味深いことに、胎児が胆汁酸を合成できなくても、母親側が胆汁酸を合成できる場合は胎児肝の胆汁酸量はそれほど変化が無く、造血幹細胞への影響も見られませんでした。一方で、母親側で胆汁酸合成が阻害された場合は胎児側の合成が正常でも胎児肝胆汁酸は減少し、造血幹細胞数に一定の影響が見られました（図3）。以上のことから、胎児の胆汁酸の大半は母親から送られており、しかも低毒性のものが選択的に使われていることが明らかになりました。

このように、当研究グループは造血にとって胆汁酸という一見関連の無い分子が重要な役割を担っているということを世界に先駆けて発見しました（図4）。これらの発見は、なぜ造血幹細胞が異常を来すこと無く胎児肝で増殖できるのか、また、なぜ胎児の肝臓に胆汁酸が存在するのかという二つの大きな疑問に対する解答につながるものと期待されます。

自主創造  
日本大学

LUNDS UNIVERSITET

## 【用語解説】

## 注1) 造血幹細胞

体内に存在する全ての血液細胞（赤血球、血小板、顆粒球、マクロファージ、Bリンパ球、Tリンパ球、ナチュラルキラー細胞など）に分化することが可能であり（=多分化能）、増殖の際に事故と同等の能力を有する細胞を新たに生み出す能力（=自己複製能）を兼ね備えた細胞。非常に稀な細胞で、骨髄細胞の0.004%程度しか存在しない。致死量放射線照射したマウスへの移植実験により、たった一つの細胞で個体の造血能を再構築できることが証明されている（Osawa et al., *Science*, 1996）。

## 注2) 胎児肝造血幹細胞

成体のほ乳類個体では、造血幹細胞は骨髄中のニッチと呼ばれる微小環境で細胞分裂をせずに休眠状態にあるが（静止期）、発生中～後期の胎児では肝臓内にて活発に増殖を繰り返している。この仕組みは未だ不明である。

## 注3) 小胞体ストレス

リボ核酸（RNA）から翻訳されたペプチドはその後折りたたまれて高次構造を持ったタンパク質となる。このプロセスは小胞体で起こるが、何らかの要因により折りたたみに不具合が生じると異常な構造を持った変性タンパク質が細胞内に蓄積する。変性タンパク質は細胞に様々な障害を引き起こすため、シグナル分子を介してストレス応答が起こる。これを小胞体ストレスと呼ぶ。比較的軽微な蓄積の場合は、タンパク質の翻訳量を調整したり異常タンパク質の分解を亢進したりして状況の改善を図るが（生存シグナル）、より重度の蓄積やストレスが長期に渡る場合は細胞死を誘導して異常タンパク質を蓄積した細胞を排除する（死シグナル）。

注4) Miharada, K., Sigurdsson, V., and Karlsson, S. (2014). Dppa5 improves reconstitution capacity of hematopoietic stem cells by reducing endoplasmic reticulum stress. *Cell Rep.* 468, 653-658.

## 注5) 胆汁酸

胆汁に含まれる、コラン骨格を持ったステロイド誘導体である。合成は肝臓で行われ、コレステロールを材料として種々のシトクローム P450 酵素群の機能により産生される。これを一次胆汁酸と呼ぶ。一部の一次胆汁酸はその後腸内細菌の作用により二次胆汁酸へと変換される。胆汁酸は遊離型その他、タウリンやグリシンと結合して抱合型としても存在する。主な機能はミセル形成による食物脂肪の吸収促進であるが、近年ではシグナル分子やシャペロン分子としての機能も報告されている。

注6) Nakagawa, M. and Setchell, K.D. (1990). Bile acid metabolism in early life: studies of amniotic fluid. *J. Lipid Res.* 31, 1089-1098.

発信元：日本大学広報部広報課 〒102-8275 東京都千代田区九段南 4 丁目 8 番 24 号  
TEL 03-5275-8132 FAX 03-5275-8321

<http://www.nihon-u.ac.jp>



自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET



細胞分裂	活発に増殖	休眠状態
タンパク質合成	亢進	低い
シャペロンタンパク質の働き	低い	低い
小胞体ストレス	なし	なし

何らかの因子が補佐？

図1 成体（骨髄）造血幹細胞と胎児（肝）造血幹細胞の相違点

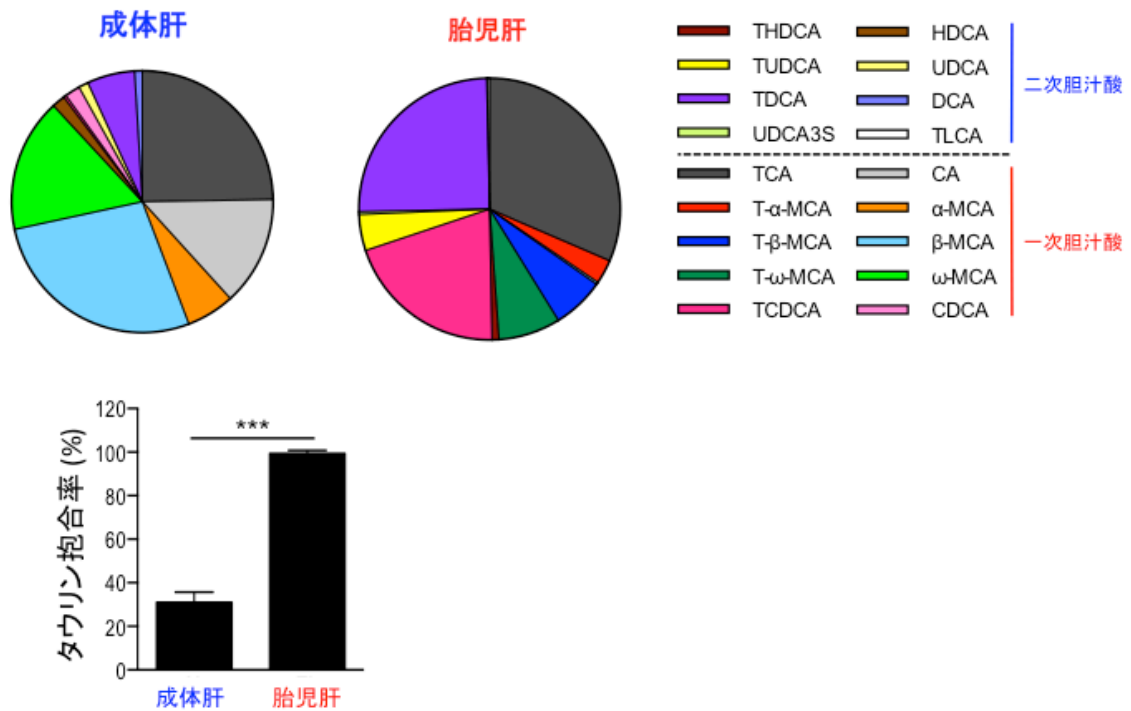


図2 質量分析による成体肝・胎児肝の胆汁酸組成分析



自主創造  
日本大学



LUNDS UNIVERSITET

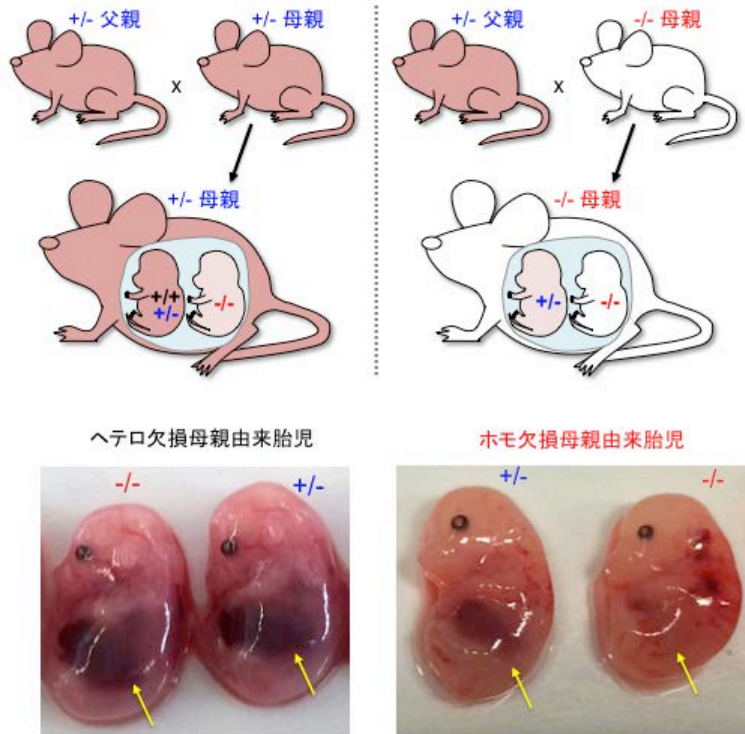


図 3 母親・胎児の複合要因による胆汁酸量変化と胎児肝成育への影響



図 4 母体由来胆汁酸による胎児造血幹細胞の保護 (イメージ図)

発信元：日本大学広報部広報課 〒102-8275 東京都千代田区九段南 4 丁目 8 番 24 号

TEL 03-5275-8132 FAX 03-5275-8321

<http://www.nihon-u.ac.jp>