

「シェルタリン複合体因子群による造血幹細胞のストレス保護機構」

九州大学大学院医学研究院 教授

新井 文用

要旨

造血幹細胞 (hematopoietic stem cell, HSC) の機能は加齢やストレスによって低下する。したがって、HSCをストレスから保護する機構が造血の恒常性維持には不可欠である。本研究では、その保護機構としてシェルタリン因子に注目し、その役割を解析した。これまでに、シェルタリン因子Pot1aがDNA損傷応答の抑制だけでなく、活性酸素種 (reactive oxygen species, ROS) の産生を抑制することで、HSCの機能維持や老化の抑制に寄与することを見出していたが、具体的なメカニズムは不明であった。本研究では、Pot1aがオートファジー制御因子Fosl2の発現を誘導し、ROSの産生を抑えることを明らかにした。一方、TIN2がTPP1と結合しない場合にはミトコンドリアへ移行し、ROS産生を誘導する。TIN2のミトコンドリア局在が増大すると、ROS産生が亢進することで、HSCの自己複製能が低下するが、これはTPP1によって阻止できることを見出した。さらに、Pot1aとTPP1を同時に導入すると、相乗的にHSCを維持し、ストレス耐性を高めることが明らかとなった。加えて本研究では、Pot1aがHSCのニッチ細胞である間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell, MSC) の機能維持にも寄与することが明らかとなった。今後、Pot1aとTPP1を併用することで、HSCやMSCの機能低下を抑制する技術開発が期待される。

背景・目的

HSCは、自己複製と多分化能のバランスを適切に制御することにより、生涯にわたって血球産生を維持している。しかしながら、加齢に伴う複製ストレスや酸化ストレス、代謝異常などの内因性ストレスに加え、感染や化学物質などの外因的要因、さらには慢性炎症などの環境要因によって、HSCの自己複製と分化に異常が生じ、貧血や免疫機能の低下などの原因となる。したがって、HSCをストレスから保護し、長期にわたり造血恒常性を維持する機構を解明することは極めて重要である。

染色体末端のテロメアは、細胞の老化やがん化に関わる重要な領域であるが、その構造ゆえに損傷DNAと誤って認識され、不必要なDNA損傷応答 (DNA damage response, DDR) が引き起こされることで増殖停止や細胞死が誘導される可能性がある。そのため、テロメアにはシェルタリンと呼ばれるテロメア特異的タンパク複合体が結合し、不要なDDRを回避している[1]。シェルタリンは、POT1、TPP1、TIN2、TRF1、TRF2、RAP1によって形成される複合体であり、Tループ構造を形成してDDRや染色体末端の異常な修復を抑制することでテロメアを保護する[1]。

我々は、シェルタリンのうちマウスPot1a/ヒトPOT1がテロメアの保護に加えてROSの産生を抑制し、HSC機能の維持に寄与することを報告した[2]。また、POT1はテロメア以外のDNAにも結合する可能性が示唆され[3]、転写調節を介してROS産生を制御する可能性が考えられた。一方、TIN2はTPP1およびPOT1と複合体 (POT1-TPP1-TIN2) を形成して核内に移行し、TRF1/TRF2との相互作用を通じてテロメアDNAの二本鎖領域と一本鎖Gテールをつなぐ役割を担うが、TPP1と結合しない場合にはミトコン

ドリアへ移行して代謝調節に関与する[4]。我々は、加齢や炎症などのストレス条件下でTIN2のミトコンドリア移行が増加し、ROSの産生を増加させてHSCの自己複製能が障害されることを見出しており、Pot1aとTPP1が協調してTIN2の細胞内局在を制御することがHSCにおけるROS産生抑制に重要であると考えた。

そこで本研究では、シェルタリン因子のうちPot1a、TPP1、TIN2に注目し、テロメア保護とDDR抑制のみならず、酸化ストレス防御や代謝制御の観点からHSCの機能維持機構を解明することを目的とした。具体的には、これらのシェルタリン因子がどのように協調してROS産生および代謝の制御に関与するかを明らかにするとともに、老化やストレスによって機能不全に陥ったHSCを回復させる技術への応用を検討し、長期にわたり造血恒常性を維持する新たな戦略を確立することを狙いとした。また、HSCは周囲の微小環境（ニッチ）と相互作用することで未分化性を維持しているため[5,6]、HSCの主要なニッチ細胞であるMSCにも着目し、Pot1aがMSCの機能制御に及ぼす影響についても解析した。

方法

マウス

C57BL/6J (B6-Ly5.2) マウス（九動）、B6-Ly5.1マウス（三協ラボサービス）、Pot1a^{fl/fl} (B6;129-Pot1a^{tm1.1Tdl/J}) (Jackson laboratory)、eR1-CreERT2マウス（シンガポール国立大学/熊本大学大里元美博士より供与）、LepR-Creマウス（九州大学生体防御医学研究所より供与）を使用した。若齢マウスは生後6~10週齢、高齢マウスは60-100週齢のものを使用した。6~7週齢のPot1a^{fl/fl}; eR1-CreERT2マウス[7]に対し、6日間連続でタモキシフェン（SIGMA）（2 mg/head）を腹腔内投与し、1か月後に解析を行った。遺伝子組換え実験は、遺伝子組換え実験安全委員会および九州大学動物実験委員会の承認を得て実施した。また、ARRIVEガイドラインおよび九州大学における動物実験および遺伝子組換え実験に関するガイドラインに従って実験を行った。

抗体

フローサイトメトリー（FACS）解析：CD4 (RM4-5)、CD8a (53-6.7)、B220 (RA3-6B2)、Ter119、Mac-1 (M1/70)、Gr-1 (RB6-8C5)、c-Kit (CD117) (2B8)、Sca-1 (D7)、CD48 (HM48-1)、CD150 (TC15-12F12.2)、CD201 (RCR-16)、CD45.1 (Ly5.1) (A20)、CD45.2 (Ly5.2) (104)、Fc-Block (93)、Ki67（以上、BioLegend）、Leptin receptor (Lepr) (R&D)、抗c-Kit (CD117) MACS Beads (130-091-224, Miltenyi Biotec)、CellROX® (C10422, Thermo Fisher Scientific)、CYTO-ID® (ENZ-KIT175-0050, Enzo Life Sciences)、CountBright absolute counting beads (C36950, Life technologies)、Propidium iodide (PI) (P3566, Thermo Fisher Scientific)

免疫染色およびウエスタンブロット：Mouse anti human TIN2 (Santa Cruz Biotechnology)、TOM20 (11802-1-AP, proteintech)、4' 6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (D523, DOJINDO)

FACS解析

HSC：マウス的大腿骨および脛骨から骨髓細胞を回収し、0.17M NH₄Cl (Wako) で溶血処理を行った。抗CD117 MACS beadsを用いてc-Kit⁺分画を濃縮後、CD4, CD8, B220, Mac-1, Gr-1, Ter119, Sca-1, c-Kit, CD48, CD150, CD201に対する抗体で染色した。染色後、0.5% BSA/PBS(-)で洗浄・懸濁し、PIを加えてFACS解析および分離を行った。

MSCの解析および分離：マウス的大腿骨および脛骨から骨髓細胞を回収し、Accumaxによる細胞分離分

散後、溶血処理を行い、間葉系細胞を回収した。Lepr、CD45、Ter119、CD31、CD51、CD140a抗体で染色し、FACS解析および分離を行った。

細胞周期解析：細胞表面抗原の染色後、BD Cytofix/Cytoperm™ Fixation/Permeabilization Kitを用いて、固定および透過処理を行った。次いで、Ki67抗体とDAPIで染色し、細胞周期を解析した。

代謝関連解析：ミトコンドリア膜電位をTMRE (tetramethylrhodamine ethyl ester)、ROSをCellROX®を用いて染色し、FACS解析を行った。

ChIP-Seq

Pot1a-FLAGを導入したEML-C1細胞を1%ホルムアルデヒドで架橋して超音波処理し、抗FLAG抗体で免疫沈降した。精製したDNAからDNA SMART™ ChIP-Seq Kit (Takara Bio) を用いてライブラリーを調製し、HiSeq (Illumina) でシーケンスを行った。Bowtie2でマウスゲノム (mm10) へマッピングし、MACS3でピークを検出した。上位3,000ピーク領域をGenomic Regions Enrichment of Annotations Tool (GREAT, v4.0.4) (<http://great.stanford.edu/public/html/index.php>) で解析し、Integrative Genomics Viewer (IGV) 2.8.7 (<https://igv.org/>) で可視化した。

RNA-Seq

HSCsからPrimeScript RT Reagent Kit (TaKaRa Bio) を用いてNSRプライマーでcDNAを合成した。Klenowフラグメントで二本鎖cDNAを作製して、Nextera XT DNA Library Prep Kit (Illumina) でライブラリーを調製した。Next-Seq (Illumina) でシーケンスして、FastQCで品質評価を行った。STARでマウス参照ゲノム (GRCm38/mm10) にマッピングして、RSEM softwareで遺伝子発現量を算出した。iDEP (<http://bioinformatics.sdstate.edu>)でDEG解析、主成分分析等を行った。

細胞膜透過性可溶型タンパクの作製

細胞膜透過性 (membrane translocating motif, MTM) タグを付与した可溶型Pot1a (MTM-Pot1a) と可溶型Tpp1 (MTM-Tpp1) は、Hosokawa et al.[2]に記載の方法で作製した。

細胞培養

HSCはStem cell factor (SCF, PEPROTECH, 100 ng/mL)、Thrombopoietin (TPO, PEPROTECH, 100 ng/mL)、2-mercaptoethanol (2ME, Gibco, 4.0 μg/mL)を添加したSF-O3培地 (EIDIA) で培養した。Lepr⁺ MSCはI型コラーゲンをコートした96ウェルプレートで、MTM-Pot1a (500 ng/mL) の存在下で1週間培養した。

免疫染色

Tin2の細胞内局在は、HSCを4% パラフォルムアルデヒドで固定した後、0.3% TritonX-100を用いて浸透処理を行った。Protein Block Serum-Free (Dako) によってブロッキング後、1次抗体を4℃で一晩反応させた後、2次抗体およびDAPI希釈液で染色した。観察は共焦点レーザー顕微鏡 (LSM700, Zeiss) で行った。

レトロウイルスを用いたHSCへの遺伝子導入

HSCをフィブロネクチンをコーティングした384ウェルプレートに3000~4000 cells/wellで培養し、ViroMag (OZ BIOSCIENCE) を用いてトランスフェクションを行った。mSCF、hTPO、2MEを含むSF-O3培地で2日間培養後、GFP⁺ HSCを分離した。

骨髄移植実験

Ly5.1/5.2マウスから回収したHSCにレトロウイルスを用いて遺伝子導入した後、GFP⁺ HSCを分離し (500 cells/mouse)、Ly5.2マウスの骨髄単核細胞 (4×10^5 cells/mouse) と共に致死量放射線 (9.5Gy) を

照射したレシピエントマウスに移植した。骨髄移植後、1ヵ月毎に、レシピエントマウスの末梢血解析を行った。また、骨髄移植4ヶ月後には、レシピエントマウスから骨髄細胞を分離し、LSKCD48⁻CD150⁺CD201⁺ HSCにおけるドナー細胞の割合を解析した。

HSCの代謝解析

HSCを回MTM-Pot1a、MTM-Tpp1存在下で培養した。培養2日後に培地交換を行い、培養4日目にオートファジー活性とROS産生の解析を行った。

MSCとHSCの共培養実験

Lepr⁺ MSC (1 × 10⁴ cell/well) をMTM-Pot1a存在下で1週間培養した後、サイトカイン非存在下でHSCとMSCの共培養を行った。また共培養後、CD45.1⁺ 細胞 (100 cell/mouse) をCD45.2⁺ 細胞 (4 × 10⁵ cells/mouse) とともに、致死量放射線照射 (9.5Gy) したCD45.2⁺ レシピエントマウスに移植した。

統計解析

有意差はtwo-tailed Student's t-tests、Tukeyの多重比較検定を用いて解析した。**** p < 0.0001, *** p < 0.001, ** p < 0.01, * p < 0.05.

結果

Pot1aによるHSCの代謝制御とROSの産生抑制に関して、転写の調節を介した機構、およびTIN2の細胞内局在を介した機構の2つが関与すると考え、それぞれについて解析を行った。

1. Pot1aによるオートファジー制御因子の転写調節

Pot1a^{fl/fl}マウスと造血幹・前駆細胞を標識できるeR1-CreERT2マウスを交配し(eR1-CreERT2;Pot1a^{fl/fl}マウス)、タモキシフェン投与によってHSCでPot1aを欠損させ、Pot1a KO HSCと野生型(WT) HSCのRNA-seq解析を行った。また、Pot1aを導入したEML細胞を用いたChIP-Seq解析を行った。次に、RNA-seqで得られたDEG(differentially expressed gene)とChIP-seqで得られた

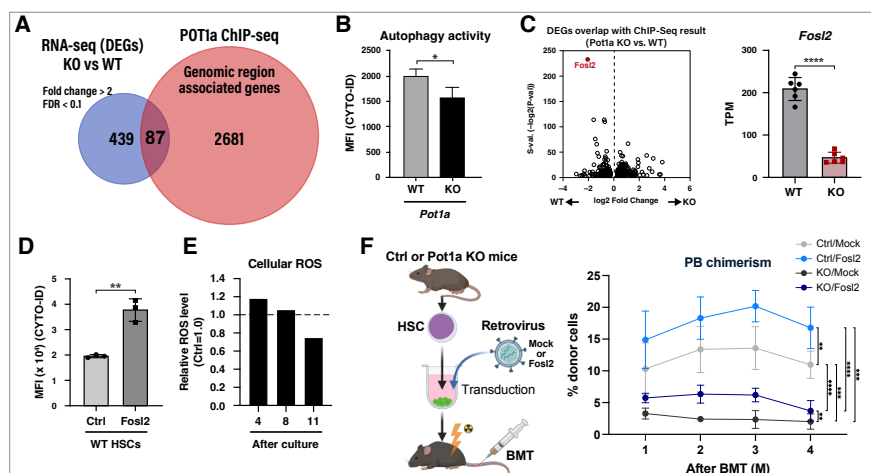


図1. Pot1aによるオートファジー制御因子の転写調節

(A) RNA-seqおよびChIP-seq解析. (B) Pot1a欠損HSCにおけるオートファジー活性の低下. (C) Fosl2の発現レベルの解析. (D) Fosl2導入HSCにおけるオートファジー活性の変化. (E) Fosl2導入HSCにおけるROS産生レベル. (F) Fosl2を導入したPot1a欠損HSCの骨髄再構築能

データでオーバーラップする87の遺伝子を同定した (図1A)。これらの候補遺伝子の中には、オートファジーの調節に関与するものが含まれていた。加えて、Pot1a KO HSCでは、オートファジー活性の低下が確認された (図1B)。本研究では、87遺伝子の中から、Fosl2[8]に注目し、その発現を定量RT-PCRで解析したところ、Pot1a KO HSCではFosl2の発現低下が確認された (図1C)。そこで、Lin⁻Sca-1⁺c-Kit⁺ (LSK) CD48⁻CD150⁺CD201⁺ HSCにレトロウイルスを用いてFosl2を導入したところ、Fosl2の導入によってオートファジー活性が亢進した (図1D)。また、Fosl2の導入によってROS産生が抑制された (図1E)。

次に、Pot1a KO HSCにFosl2を導入して骨髄移植実験を行った。その結果、WT HSCではFosl2の導

入によって骨髄再構築能が上昇した (図1F)。一方、Pot1a KO HSCではFosl2導入によって再構築能がわずかに改善されたものの、Pot1a欠損による機能低下をレスキューできないことが分かった (図1F)。これは、Fosl2を導入してもPot1a欠損によるテロメアDDRの亢進を十分に抑制できないためと考えられた。これらの結果から、Pot1aはオートファジー制御因子の転写を調節するものの、それだけではHSCの機能維持には不十分であり、DDR抑制が必須であることが示唆された。

2. Tin2の細胞内制御によるROS産生抑制

TIN2は、TPP1/TRF2との結合に関わるTPP1/TRF2 recruit domain (TRD) とミトコンドリア移行に関わるmitochondrial target signal (MTS) が重複して存在しており、TPP1-POT1が結合しない場合はミトコンドリアに移行してROS産生を誘導する[4]。Pot1a KO HSCにおけるTin2の細胞内局在を検討したところ、Tin2は核外に局在し、一部はミトコンドリアに移行していることが分かった (図2A)。次に、TRDに変異を挿入し、ミトコンドリアにのみ局在するTin2の変異体 (Tin2[F37D/L38E])[4]を作製し、HSCに導入したところ、ROS産生の亢進およびミトコンドリア膜電位 (TMRE) の上昇が見られた。また、骨髄移植実験を行ったところ、Tin2[F37D/L38E]の導入によってHSCの骨髄再構築能が失われることが分かった (図2B)。これらの結果から、Tin2のミトコンドリア移行阻止がROS産生抑制に重要であると考えられた。そこで、Tin2の結合相手であるTpp1を導入することで、Tin2のミトコンドリア移行を阻止できるか検討したところ、MTM-Tpp1を導入したHSCでは、Tin2のミトコンドリア移行が抑制された (図2C)。また、ROS産生およびミトコンドリア膜電位の上昇が抑制されることも確認された。さらに、Tpp1を過剰発現させたHSCの連続骨髄移植実験の結果、Tpp1によって骨髄再構築能が維持されることが分かった (図2D)。

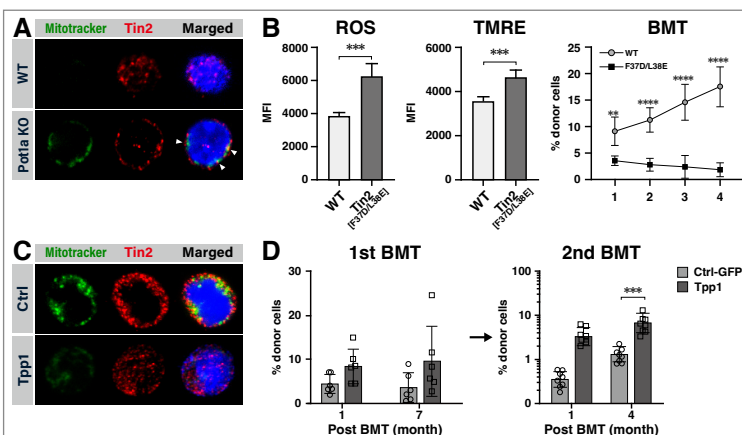


図2. Tpp1によるTin2の細胞内局在制御

(A) Pot1a欠損HSCにおけるTin2の細胞内局在の変化. (B) Tin2変異体によるHSC機能の低下. (C) Tpp1導入によるTin2のミトコンドリア移行の抑制. (D) Tpp1導入によるHSCの骨髄再構築能の維持

3. Pot1aおよびTpp1によるHSCの維持・増幅

上記の結果から、Pot1aおよびTpp1の導入がHSCの機能維持に有効であると考えられた。そこで、若齢 (8~12週齢) マウスのHSCを用いて、MTM-Pot1aまたはMTM-Tpp1をそれぞれ単独で添加した培養、およびMTM-Pot1aとMTM-Tpp1を同時に添加した培養 (Pot1a+Tpp1) を行い、ROS産生、オートファジー活性、HSC数の増幅について検討した。その結果、Pot1aおよびTpp1を添加したHSCでは、ROSの産生が抑制され、オートファジーが活性化された。また、HSC数の増加が認められた。さらに、Pot1a+Tpp1群では、Pot1aまたはTpp1を単独で添加した場合と比較して、ROSの産生抑制、オートファジーの活性化、HSCの増幅がやや促進された (図3A~C)。

次に、老化マウス (60~90週齢) のHSCにおいても、Pot1a、Tpp1、およびPot1a+Tpp1の作用を検討した。その結果、いずれの群においてもコントロールと比較してROSの産生が抑制されたが、Pot1a、Tpp1、Pot1a+Tpp1の間で大きな差は見られなかった (図3D)。また、オートファジー活性に関しては、いずれの群でも明確な変化は認められなかった。一方で、HSC数はPot1a、Tpp1、Pot1a+Tpp1の導入によって増幅した (図3E)。

次に、ウイルス導入ストレスがHSCに与える影響に対してMTM-Pot1aおよびMTM-Tpp1の導入が及ぼす効果を検討した。まず、GFPを発現するレトロウイルスを導入したHSCの培養系にPot1a、Tpp1、またはPot1a+Tpp1を添加し、HSC数の維持、ROS産生、DNA損傷応答(DDR)に対する効果を検討した。その結果、Pot1a+Tpp1群では、Pot1aまたはTpp1を単独で添加した場合と比較して、より多くのHSCが維持された(図3F)。さらに、Pot1a+Tpp1群において、DDRの抑制が顕著に見られた。

4. Pot1a発現誘導化合物のハイスループットスクリーニング(HTS)

これまでの、細胞膜透過性をもつMTM-POT1およびMTM-TPP1タンパク質を用いた実験を行ってきた。しかし、HSCの品質をより持続的かつ効率的に向上させる、あるいは生体内でHSCの機能回復を達成するためには、外来性タンパク質の導入に依存しない新たなアプローチが必要であると考えた。そこで、まずはPOT1の発現を誘導する低分子化合物のスクリーニングを開始した。

本研究では、ヒトPOT1プロモーター[9](Zeng L, et al. Oncol Lett 2017)を搭載したルシフェラーゼレポーターベクターを導入したHeLa細胞を作製し、HTSを実施した。HTSには、九州大学薬学研究院の管理する化合物ライブラリーおよび東京大学創薬機構の管理する化合物ライブラリーを使用した。初期スクリーニングの結果、ルシフェラーゼ活性を誘導する複数のヒット化合物を同定している。

5. Pot1aによるMSCのニッチ機能の維持

HSCの維持にはニッチとの相互作用が不可欠である。そこで、骨髄の造血ニッチ細胞であるMSCの機能制御に対するPot1aの働きについても解析を行った。

細動脈周囲に存在するNG2⁺ MSCでPot1aを欠損させたところ、脂肪酸の蓄積、過剰なROS産生、およびDNA損傷応答(DDR)の蓄積が生じた。その結果、骨芽細胞への分化異常による骨形成の低下、発育不全、Bリンパ球の産生低下、さらには白毛化などの老化様の表

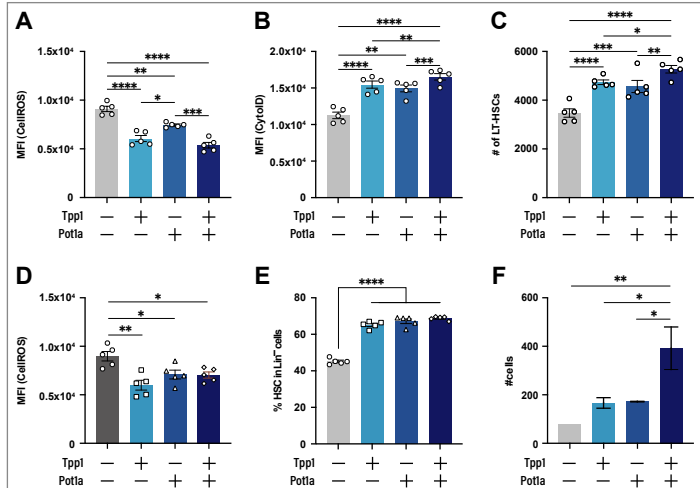


図3. Pot1a + Tpp1の効果

若齢HSC(8~12週齢)(A~C)、老化HSC(18か月齢)(D、E)、およびレトロウイルスベクター導入HSC(F)を、Pot1a、Tpp1、Pot1a+Tpp1のいずれかの存在下で12日間培養した。

(A) 若齢HSCにおけるROS産生への影響. (B) 若齢HSCにおけるオートファジー活性の変化. (C) 培養後の若齢HSC数. (D) 老化HSCにおけるROS産生への影響. (E) 培養後の老化HSC数. (F) 培養後のレトロウイルスベクター導入HSC数.

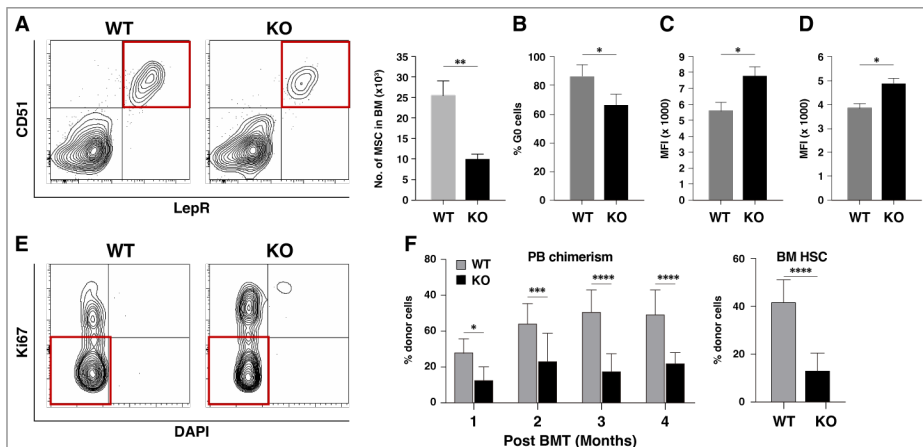


図4. MSCにおけるPot1aの機能解析

Lepr-Cre⁺; Pot1a^{fl/fl}マウスのMSC(A~D)およびHSC(E、F)について解析を行った。

(A) CD51⁺Lepr⁺MSCの数. (B) CD51⁺Lepr⁺MSCの細胞周期(G₀期の割合). (C) CD51⁺Lepr⁺MSCのROS産生量. (D) CD51⁺Lepr⁺MSCのミトコンドリア膜電位(TMREレベル).

(E) Lepr-Cre⁺; Pot1a^{fl/fl}マウスHSCの細胞周期(G₀期の割合). (F) Lepr-Cre⁺; Pot1a^{fl/fl}マウスHSCの骨髄移植実験.

現型が観察された[10]。

本研究では、類洞血管周囲に存在するLepr⁺ MSC特異的にPot1aを欠損させたマウス (Lepr-Cre⁺; Pot1a^{fl/fl})について、MSCとHSCの解析を行った。その結果、Pot1aの欠損によってMSCの減少、ROS産生の亢進、ミトコンドリア膜電位の上昇、および細胞周期の活性化が生じた (図4A~D)。また、Lepr-Cre⁺; Pot1a^{fl/fl}マウスでは、HSCの静止状態の低下と骨髄再構築能が低下した (図4E, F) (投稿準備中)。

考察

本研究では、Pot1a、Tpp1、Tin2 というシェルタリン因子に着目し、テロメア保護やDDR 抑制のみならず、ROS 産生や代謝制御の観点から HSC 機能の維持機構を解析した。その結果、Pot1a は Fosl2 や Fos などのオートファジー活性を制御する因子の転写調節に働くことが明らかとなった。オートファジー活性の低下は、ミトコンドリアの品質管理や代謝、増殖、DNA 損傷などに影響することから[11]、Pot1a はオートファジー (おそらくはマイトファジー) を促進し、ミトコンドリアの品質を管理することで ROS の蓄積を抑制していると考えられる。これは、加齢や炎症などのストレス環境下で HSC のミトコンドリア機能を守る上で重要であり、ROS の蓄積を抑制するための基盤となると推察される。しかし、Pot1a の欠損によって HSC 機能が大きく低下した一方で、Fosl2 導入による骨髄再構築能の回復は限定的であったことから、Pot1a が果たす DDR 抑制機構の重要性が改めて確認されたと考えられる。

一方、TIN2 の細胞内局在制御に着目した解析からは、Tin2 のミトコンドリア移行阻止が ROS 産生の抑制には重要であることが示唆された。すなわち、Pot1a と Tpp1 が協調的に TIN2 のミトコンドリア移行をブロックすることで ROS 産生を抑制しているという新たなメカニズムが提示されたと考えられる。これらの知見を踏まえ、Pot1a および Tpp1 を同時に導入した場合に、HSC の機能維持がより効率的に促進されることも明らかとなった。本研究で得られた結果から、HSC の増幅、および機能低下した HSC の機能回復には、(1) Pot1a を介した転写調節によるオートファジー促進と(2) Tpp1 を介した TIN2 の細胞内局在制御による ROS 産生抑制の双方を維持することが鍵となると考えられる。特に、ウイルス導入によるストレス環境下では Pot1a+Tpp1 が HSC の増幅を支持したことから、内因性・外因性のストレスが高まる状況では、両因子による保護効果が重要になると考えられる。

今後の応用としては、HTS で得られたヒット化合物が、実際に POT1 mRNA の発現を上昇させるかどうかを検討する。さらに、構造活性相関の分析を進める。POT1 発現誘導化合物は、老化や病的ストレスによって損なわれた HSC の効果的な回復に寄与すると考えられる。

加えて、本研究の解析から、Pot1a は骨髄 MSC のニッチ機能の維持にも重要な役割を果たすことが示唆された。Pot1a は HSC のみならず、MSC の機能回復に働き、ニッチとの相互作用を強化することで、HSC の機能回復を促進できると考えられる。今後、シェルタリン因子を介した骨髄微小環境全体の機能維持は、再生医療や老化制御における新たな戦略となる可能性がある。

共同研究者

細川健太郎

引用論文

- [1]. de Lange T. How telomeres solve the end-protection problem. *Science*. 2009. 326(5955):948-952.
- [2]. Hosokawa K, MacArthur BD, Ikushima YM, Toyama H, Masuhiro Y, Hanazawa S, Suda T, Arai F. The telomere binding protein Pot1 maintains haematopoietic stem cell activity with age. *Nat Commun*. 2017. 8(1):804.
- [3]. Choi KH, Lakamp-Hawley AS, Kolar C, Yan Y, Borgstahl GEO, Ouellette MM. The OB-fold domain 1 of human POT1 recognizes both telomeric and non-telomeric DNA motifs. *Biochimie*. 2015. 115:17-27.
- [4]. Chen LY, Zhang Y, Zhang Q, Li H, Luo Z, Fang H, Kim SH, Qin L, Yotnda P, Xu J, Tu BP, Bai Y, Songyang Z. Mitochondrial localization of telomeric protein TIN2 links telomere regulation to metabolic control. *Mol Cell*. 2012. 47(6):839-850.
- [5]. Morrison SJ, Scadden DT. The bone marrow niche for haematopoietic stem cells. *Nature*. 2014. 505(7483):327-334.
- [6]. Pinho S, Frenette PS. Haematopoietic stem cell activity and interactions with the niche. *Nature Reviews Molecular Cell Biology: Nat Rev Mol Cell Biol*. 2019. 20(5):303-320.
- [7]. Koh CP, Bahirvani AG, Wang CQ, Yokomizo T, Ng CEL, Du L, Tergaonkar V, Voon DC, Kitamura H, Hosoi H, Sonoki T, Michelle MMH, Tan LJ, Niibori-Nambu A, Zhang Y, Perkins AS, Hossain Z, Tenen DG, Ito Y, Venkatesh B, Osato M. Highly efficient Runx1 enhancer eR1-mediated genetic engineering for fetal, child and adult hematopoietic stem cells. *Gene*. 2023. 851:147049.
- [8]. Seidenberg J, Stellato M, Hukara A, Ludewig B, Klingel K, Distler O, Blyszczuk P, Kania G. The AP-1 Transcription Factor Fosl-2 Regulates Autophagy in Cardiac Fibroblasts during Myocardial Fibrogenesis. *Int J Mol Sci*. 2021. 22(4):1861.
- [9]. Zeng L, Wang YL, Wang F, Cui SQ, Hu L, Huang DN, Hou G. Construction of the POT1 promoter report gene vector, and the effect and underlying mechanism of the POT1 promoter in regulating telomerase and telomere length. *Oncol Lett*. 2017. 14(6):7232-7240.
- [10]. Nakashima K, Kunisaki Y, Hosokawa K, Gotoh K, Yao H, Yuta R, Semba Y, Nogami J, Kikushige Y, Stumpf PS, MacArthur BD, Kang D, Akashi K, Ohga S, Arai F. POT1a deficiency in mesenchymal niches perturbs B-lymphopoiesis. *Commun Biol*. 2023. 6(1):996.
- [11]. Ho TT, Warr MR, Adelman ER, Lansinger OM, Flach J, Verovskaya EV, Figueroa ME, Passegue E. Autophagy maintains the metabolism and function of young and old stem cells. *Nature*. 2017. 543(7644):205-210.

助成研究に関連した発表論文

該当なし