

課題番号	LS108
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	細胞分裂制御(対称・非対称分裂)の操作による造血幹細胞増幅
研究機関・ 部局・職名	慶應義塾大学・医学部・専任講師
氏名	新井 文用

1. 当該年度の研究目的

<p>1. Evi1-GFP レポーターマウスから分離した、Evi1⁺造血幹細胞を用いた細胞分裂様式の解析 (paired daughter cell: PDC 解析) を行い、数学的・統計学的解析により造血幹細胞の非対称・対称分裂に関連する遺伝子を明らかにする (asymmetry/symmetry 遺伝子の同定)。これらの実験で同定される asymmetry 遺伝子についての機能解析をおこなう。特に、造血幹細胞の静止状態維持に働く Tie2 などの遺伝子について、造血幹細胞の細胞分裂パターンへの制御、自己複製・分化の振り分けにいかんにかかわっているのか明らかにする。</p> <p>2. さらに、Evi1⁺造血幹細胞、Evi1-GFP 造血幹細胞、および前駆細胞分画についてマイクロアレイ解析を行い、Evi1⁺および Evi1⁻造血幹細胞にそれぞれ特異的な遺伝子を同定する。これにより、現在までに PDC 解析で検討を進めている遺伝子群に加え、マイクロアレイ解析結果にもとづいた遺伝子のセットを選定する。</p>

2. 研究の実施状況

<p>1. asymmetry/symmetry 遺伝子の同定とその機能解析</p> <p>Evi1⁺造血幹細胞を用いた PDC 解析を行い、27 遺伝子が asymmetry 遺伝子として同定された。その中には Tie2, Cdh2, Cdkn1a, Cdkn1c, Ndn, Foxo1, Foxo4, Fbxw7 など、細胞周期の静止状態の維持に関わる分子、Cxcr4, Notch1, Alcam, Tie2, Itgb2 などの造血幹細胞-ニッチ間相互作用に関わる分子が含まれていた。そこで、Tie2 に着目し、その結合因子である Angiopoietin1 (Angpt1) が造血幹細胞の細胞分裂パターンにどのように作用するのか、Angpt1 を添加した PDC 解析を行い検討したところ、Angpt1 により成体骨髄由来 Evi1⁺造血幹細胞の非対称分裂が増加することがわかった。Tie2/Angpt1 シグナルは造血幹細胞の維持に関わることをふまえ、この結果から、Angpt1 は 1 個の造血幹細胞から 2 個の前駆細胞を生み出す分裂を抑制していると考えられた。</p> <p>次に、成長段階にあり骨髄内で活発に増殖している (自己複製していると考えられる) 4 週齢のマウス造血幹細胞を用いて Angpt1 添加・非添加条件下で PDC 解析を行った。その結果、興味深いことに、成体骨髄造血幹細胞とは異なり、4 週齢の造血幹細胞では Angpt1 により非対称分裂の頻度が低下する、すなわち対称性分裂が増加することがわかった。</p> <p>そこで Tie2/Angpt1 シグナルの生体内での機能を検討するため、骨芽細胞特異的に Angpt1 を過剰発現するトランスジェニックマウス (Angpt1-Tg マウス) について、造血幹細胞の限界希釈による骨髄移植を行い、長期骨髄再構築能をもつ造血幹細胞の数を検討したところ、Angpt1-Tg マウスはコントロールマウスと比較して、約 2 倍の造血幹細胞を持つことがわかった。</p> <p>これらの結果から、Tie2/Angpt1 シグナルは増殖期にある造血幹細胞については細胞分裂パターンに影響し、1 個の造血幹細胞から 2 個の造血幹細胞を生み出す自己複製分裂を誘導しているものと考えられた。特に、4 週齢の造血幹細胞では Angpt1 により PDC に対称性にされる 12 遺伝子が同定された。</p> <p>2. Evi1⁺および Evi1⁻造血幹細胞特異的遺伝子の同定。</p> <p>Evi1⁺および Evi1⁻造血幹細胞、前駆細胞を用いてマイクロアレイ解析を行い、Evi1⁺特異的遺伝子、Evi1⁻造血幹細胞特異的遺伝子を同定し、これに基づき PDC 解析に用いる新規遺伝子セットを選択した。</p>

様式19 別紙1

3. 研究発表等

<p>雑誌論文</p> <p>計 4 件</p>	<p>(掲載済み一査読有り) 計 2 件</p> <p>Nitta E, Yamashita M, Hosokawa K, Xian M, Takubo K, <u>Arai F</u>, Nakada S, Suda T. Telomerase reverse transcriptase protects ATM-deficient hematopoietic stem cells from ROS-induced apoptosis through a telomere independent mechanism. Blood 117 (16): 4169-80. 2011</p> <p>Kharazi S, Mead AJ, Mansour A, Hultquist A, Böiers C, Luc S, Buza-Vidas N, Ma Z, Ferry H, Atkinson D, Reckzeh K, Masson K, Cammenga J, Rönnstrand L, <u>Arai F</u>, Suda T, Nerlov C, Sitnicka E, Jacobsen SE. Impact of gene dosage, loss of wild type allele and FLT3 ligand on Flt3-ITD induced myeloproliferation. Blood 118: 3613-3621, 2011.</p> <p>(未掲載) 計 2 件</p> <p><u>Arai F</u>, Hosokawa K, Toyama H, Matsumoto Y, Suda T. The role of N-cadherin-mediated cell adhesion in the regulation of hematopoietic stem/progenitor cell activities in the bone marrow niche. Ann N Y Acad Sci. in press.</p> <p>Sugimura R, He XC, Venkatraman A, <u>Arai F</u>, Box A, Semerad C, Haug JS, Peng L, Zhong X, Suda T, Li L. Non-canonical Wnt Signaling Maintains Hematopoietic Stem Cell through Flamingo and Frizzled8 in the Niche. Cell, in press.</p>
<p>会議発表</p> <p>計 5 件</p>	<p>専門家向け 計 4 件</p> <p><u>Arai F</u>. Regulation of hematopoietic stem cells in the niche. 第 32 回日本炎症・再生医学会. 6 月 2~3 日, 京都</p> <p><u>Arai F</u>. Regulation of Hematopoietic Stem Cells in the Niche. International Conference and Workshop. Hematopoietic Stem Cells VIII. September 22nd-24th, 2011, Tübingen, Germany</p> <p>新井文用. 造血ニッチにおける幹細胞制御. 先進血液学レクチャー. 11 月 11 日. 東京</p> <p>新井文用. 造血幹細胞ニッチと細胞接着. 大阪大学蛋白質研究所セミナー. 幹細胞を制御する環境因子の分子基盤 ~細胞-基質間・細胞-細胞間接着による幹細胞の制御機構~. 2011 年 11 月 30 日~12 月 1 日. 大阪大学・吹田キャンパス・蛋白質研究所. 大阪市</p> <p>一般向け 計 1 件</p> <p>新井文用. 細胞分裂からみた幹細胞の自己複製. 慶應義塾ライフ・イノベーションオープンセミナー「次世代を担う若手研究者たち」. 2012 年 3 月 13 日. 慶應義塾大学医学部, 東京</p>
<p>図書</p> <p>計 0 件</p>	
<p>産業財産権 出願・取得状況</p> <p>計 0 件</p>	
<p>Webページ (URL)</p>	<p>http://web.sc.itc.keio.ac.jp/celldiff/ss-index.html</p>
<p>国民との科学・技術対話 の実施状況</p>	<p>最先端・次世代研究開発支援プログラム「国民との科学・技術対話」の一環として、2012 年 3 月 13 日に慶應義塾大学信濃町キャンパスにてサイエンスに興味がある一般社会人を対象としたオープンセミナーを開催した。「次世代を担う若手研究者たち」と題して行ったこのオープンセミナーでは、慶應義塾大学医学部の 3 名の最先端・次世代研究開発支援プログラム採択者が、研究の目的・手法、研究成果が将来の国民の生活にどのように役立つことが期待されるのか、などについて一般向けに解説した。</p>

様式19 別紙1

	学内外から約 80 名の参加者が集う活気あるセミナーとなった。本研究代表者の演題は「細胞分裂からみた幹細胞の自己複製」。
新聞・一般雑誌等掲載 計 1 件	日経産業新聞、2012 年 3 月 9 日、10 面（先端技術）、見出し名「若手研究者がセミナー」
その他	

4. その他特記事項

特になし

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	123,000,000	41,000,000	47,080,000	34,920,000	0
間接経費	36,900,000	12,300,000	14,124,000	10,476,000	0
合計	159,900,000	53,300,000	61,204,000	45,396,000	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	39,963,335	47,080,000	0	87,043,335	87,042,931	404	0
間接経費	12,300,000	14,124,000	0	26,424,000	26,424,000	0	0
合計	52,263,335	61,204,000	0	113,467,335	113,466,931	404	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	75,754,923	CO2インキュベーター、セルソーター、実験器具、実験試薬等
旅費	694,760	研究成果発表旅費等
謝金・人件費等	4,872,625	博士研究員人件費等
その他	5,720,623	学会参加費、英文校正、外注抗体作製、外注Gene chip実験等
直接経費計	87,042,931	
間接経費計	26,424,000	
合計	113,466,931	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
CO2インキュベーター	アステック社製 SCA-165DRS	1	705,600	705,600	2011/4/13	慶應義塾大学
セルソーター	BD社製 FACSAria III	1	54,888,750	54,888,750	2012/3/19	慶應義塾大学
				0		