

令和4年3月31日

## 若手研究者海外挑戦プログラム報告書

独立行政法人日本学術振興会 理事長 殿

受付番号 202080035

氏名 瀬崎真衣子

若手研究者海外挑戦プログラムによる派遣を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。  
なお、下記記載の内容については相違ありません。

### 記

1. 派遣先：都市名 チューリッヒ (国名 スイス)
2. 研究課題名 (和文)：3次元イメージングによる造血発生時ニッチ細胞の局在定量化
3. 派遣期間：令和3年12月15日～令和4年3月18日 (94日間)
4. 派遣先機関名・部局名：University of Zurich & University Hospital Zurich (USZ), Department of Molecular Oncology and Hematology
5. 派遣先機関で従事した研究内容と研究状況 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

#### <研究の背景>

造血幹細胞 (HSC) は E10.5 頃にマウス胚の AGM 領域で誕生し、肝臓や脾臓などの造血組織を経て、最終的に骨髄で成体造血を担う。HSC の機能維持に必須な因子 (SCF、CXCL12) を高発現し、HSC の骨髄内での停滞や血中への流動を制御する様々な“骨髄ニッチ”が成体マウスで報告されてきた。CAR 細胞、レプチンレセプター (LepR) 細胞、血管内皮細胞や神経などが代表的である。しかし、胎児期では造血組織自体がまだ発達過程にあり、ニッチ細胞の出現や同定、HSC の臓器間輸送への関わりは不明である。又、成体では静止状態 (quiescent) の HSC に比べ、胎児期の HSC は活発に分裂している。この制御機構に関わるニッチ細胞や因子を明らかにすることで、HSC の試験管培養や臨床応用 (骨髄移植後の生着) に有用な知見の獲得が期待される。

#### <研究状況>

USZ の Nombela-Arrieta ラボへは 3次元イメージングと定量解析技術を学ぶ目的で訪問した。骨髄ニッチは HSC との距離 (接着) を指標にこれまで同定されてきた。しかし、一部のニッチ細胞においては報告に矛盾があり、イメージング画像の解析が安直であった為に起こったと考えられる。Nombela-Arrieta ラボで独自に開発された機械学習解析パイプラインを駆使することで、形の複雑さ故に正確な画像構築が難しい血管やストローマ細胞の適格な同定が可能となる。更に血管内や骨のマスキングを解析に加えることでバイアスを除いた HSC 局在の特定が実現する。派遣者が渡航までに取得した HSPC (Hlf<sup>tdTomato</sup>) (Yokomizo et al., 2019) と血管 (Cdh5-creERT2;R26YFP) やストローマ (LepR-cre;R26YFP, Ednra-creERT2;R26YFP) のダブルレポーターマウスの画像を解析した。又、

Nombela-Arrieta ラボで作成された HSC のダブルレポーター (H1f<sup>tdTomato</sup>;  $\alpha$ Catulin<sup>GFP</sup>) や骨髄ニッチの代表格である CAR 細胞をマークする CXCL12<sup>GFP</sup> マウスをサンプリングする機会も得られた。

#### 6. 研究成果発表等の見通し及び今後の研究計画の方向性 (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

派遣者のラボでは造血幹細胞・前駆細胞 (HSPC) マーカーとして H1f<sup>tdTomato</sup> を使用しており、このレポーターは FACS で HSC の解析は可能でも表面マーカーの関係上、イメージングで前駆細胞を除外することが困難である。今回 USZ でサンプリング (骨髄、肝臓、脾臓) した H1f<sup>tdTomato</sup>;  $\alpha$ Catulin<sup>GFP</sup> マウスではダブルポジ (DP) 細胞の 80% が LT (long-term) -HSC であり、移植後長期の再増殖能を有する “true” HSC とそのニッチに焦点を当てた実験が可能となった。そして、以下を観察した。

- 1) E18.5 の骨髄では DP 細胞が非常に少なく、H1f 細胞のほとんどが multipotent progenitor (MPP) である。これら DP 細胞は骨幹の動脈付近に位置し、骨幹端では稀である。
- 2) 骨髄に比べ DP 細胞は脾臓では圧倒的に数が多く、活発な分裂を起こしている。MPP や巨核球細胞と密着、又は近い距離に存在する。
- 3) 肝臓では時間と共に DP 細胞は減少し、血管の近くに細胞集団 (クラスター) を作っている。

訪問中に CXCL12<sup>GFP</sup> マウスの FACS とイメージングも行った。E18.5 では既に大量の CAR 細胞が骨髄内に存在し、すべての HSPC と接着している。それに比べ、派遣者のラボで所持している LepR マウスでは LepR 細胞が少なく、HSPC と接着している細胞とそうでない細胞を分けることができる。派遣者はこれら LepR 細胞が HSC の成体造血の構築に関わっていると考え。成体マウスでは CAR と LepR 細胞は重複していると報告されているが、胎児期～新生児期では数や分布など明らかな違いが見受けられる。

機械学習に関してはアルゴリズム上のトラブルにより成果が中々得られなかった。解析パイプラインを確立すべく、今後も訪問先とデータのやり取りを行う。

#### 7. 本プログラムに採用されたことで得られたこと (1/2 ページ程度を目安に記入すること)

今回の USZ 訪問は派遣者にとって大変貴重な体験となった。コロナ禍で刻々と規制が変わる中、受入先との適格なコミュニケーションやスケジューリングの柔軟性を特に試された。

毎週行われるラボミーティングへの参加を許され、骨髄ストローマに関する最前線の研究について勉強した。又、部局の全体会議で発表する機会も与えられ、派遣者のこれまでの成果について様々な意見をもらうことができた。今後、どの様にプロジェクトを進めて行くべきか、方向性を改めて考える直す良い機会となった。そして、派遣者が所属する施設対 USZ の共通機器の使用状況や管理システムの細かな比較もできた。USZ ではすべてのライセンスをオンライン上で管理しており、場所や時間を問わず、FACS やイメージングデータの解析、統計ソフトの使用が可能であることに特に関心した。

派遣者は今後海外で研究を続けたいと考えており、3 ヶ月ではあったがスイスのラボライフを垣間見ることができた。刺激的な研究生活のみならず美しい山脈や運河に囲まれ、充実したワークライフバランスをも体験した。スイスは ETH や Roche、Novartis、Bayer など高名な研究施設や企業の拠点である。しかし、そんな中、外国人としてスイスで成功する難しさや、ラボやマウス施設の十分なスペースの確保など、リアルな現実問題とも直面した。スイスにおいては動物実験の認可が年々厳しくなっているのが現状であり、動物実験を全て廃止にする案も現在挙がっている。今後どこを拠点に研究を続けたいか、考慮すべき様々な点を考えさせられた。