

【基盤研究(S)】 大区分 I



研究課題名 造血幹細胞体外増幅系を用いた幹細胞性・加齢・発癌機構の解析

東京大学・医科学研究所・特任教授
なかうち ひろみつ
中内 啓光

研究課題番号： 20H05695 研究者番号： 40175485

キーワード： 造血幹細胞、ex vivo 増幅、クローナル造血、CRISPRgRNA スクリーニング、マルチオミックス解析

【研究の背景・目的】

造血幹細胞は古くから良く研究されていて、多分化能、自己複製、ニッチなど幹細胞生物学の旗艦モデルシステムとして多くの概念を生み出してきた。しかし幹細胞生物学の根幹の原理である分化と自己複製の制御機構の詳細は依然として不明である。ごく最近、我々は血液学の長年の夢であったマウス造血幹細胞を *in vitro* で長期培養して幹細胞としての機能を維持したまま 4 週間で 900 倍以上に増殖させる手法を開発し報告した (Wilkinson et al. Nature 2019)。この手法は世界的に注目され、多くの研究室ですでに追試されている。本研究では我々が開発した造血幹細胞の長期培養増殖法を用いて、これまで得られる数が少なかったため難しかった造血幹細胞を対象とした遺伝子スクリーニングや長期培養後のゲノム変異解析を試み、造血幹細胞の分化と自己複製機構ならびに加齢による血液腫瘍の発症機構の解明に迫る。さらにヒト造血幹細胞の *ex vivo* の増殖を可能にする培養法を確立し、血液学の Holy Grail を達成することを目指す。

【研究の方法】

我々が開発したマウス造血幹細胞の *ex vivo* 増幅系においてもでも、長期培養に伴い機能的な幹細胞の純度は漸減する。まずは FACS と移植実験を駆使して、増幅された幹細胞を純化できる表面マーカーを同定する。

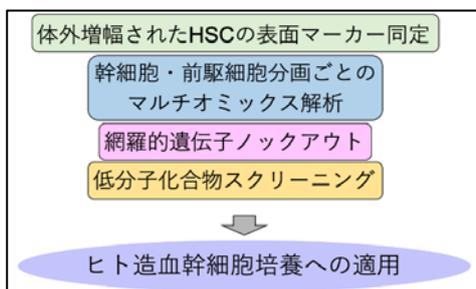


図1 研究のストラテジー

この結果をもとに、真の幹細胞分画を分離し、大量のサンプルが必要なマルチオミックス解析を実施する。同時に、CRISPR/Cas9 ゲノム編集ライブラリーで網羅的に遺伝子ノックアウトを行い、幹細胞性の維持に必要なシグナルを同定する。同定されたシグナルを中心に、低分子化合物等のスクリーニングも実施する。そして得られた知見をヒト造血幹細胞の培養系に適用することで、マウスとの共通点、あるいは相違点から、造血幹細胞の自己複製の本態と、ヒト造血幹細胞増幅に必要な条件の解明を目指す。

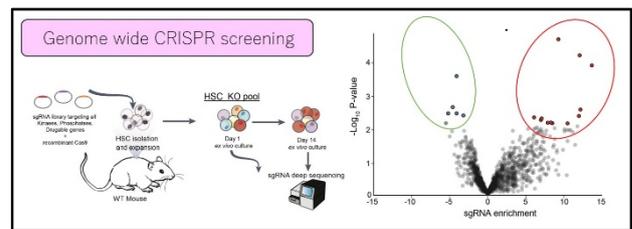


図2 CRISPR ゲノムライブラリーによる網羅的解析

【期待される成果と意義】

造血幹細胞は 50 年以上前から骨髄移植という形で造血器悪性腫瘍や遺伝性血液疾患に対する確立した治療法として臨床応用されているが、HLA がマッチしたドナーを得ること、数を増やすことが困難という問題を抱えている。さらに、加齢に伴う血液腫瘍の増加が遺伝子変異の蓄積と強く関連していること、高齢者の骨髄中には前白血病状態と考えられているクローン性の増殖が高頻度で見られることなどが示されているものの、変異集積から発症に至るメカニズムは不明である。申請者らが開発したマウス造血幹細胞の培養増殖系が可能にした multi-omics 解析を行うことによりこれらの血液学の長年の課題を一挙に解決することが期待できる。

【当該研究課題と関連の深い論文・著書】

1. Wilkinson AC, Igarashi KJ, Nakauchi H. (2020). Haematopoietic stem cell self-renewal in vivo and ex vivo. *Nat Rev Genet.* 21(9):541-554. "PMID": 32467607.
2. Wilkinson AC, Ishida R, Kikuchi M, Sudo K, Morita M, Crisostomo RV, Yamamoto R, Loh KM, Nakamura Y, Watanabe M, Nakauchi H*, Yamazaki S*. (2019). Long-term ex vivo haematopoietic-stem-cell expansion allows nonconditioned transplantation. *Nature.* 571(7763):117-121. "PMID": 31142833.
3. Yamamoto R, Wilkinson AC, Oechara J, Lan X, Lai CY, Nakauchi Y, Pritchard JK, Nakauchi H. (2018). Large-Scale Clonal Analysis Resolves Aging of the Mouse Hematopoietic Stem Cell Compartment. *Cell Stem Cell.* 22(4):600-607 e604. "PMID": 29625072.

【研究期間と研究経費】

令和2年度-6年度 152,600 千円

【ホームページ等】

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/sct/>
nakauchi@g.ecc.u-tokyo.ac.jp