

【目的】造血幹細胞は全ての種類の血液細胞を生産に亘って供給し続けられるという特殊な能力から、骨髄移植という形で白血病などの難治性血液疾患に対する治療に応用されている。人工多能性幹細胞 (iPS 細胞) から造血幹細胞へ分化誘導するには、胚発生期における造血幹細胞の発生過程を生体外で忠実に再現する必要がある。そのため造血幹細胞が生体内でどのように制御されて発生するのかを分子レベル・細胞レベルで詳細に解明することが求められている。脊椎動物の発生過程において造血幹細胞は血管芽細胞と呼ばれる血液・血管系の共通前駆細胞から発生することが知られており、その発生過程には Notch シグナルが重要な役割を果たしていることが知られている。そこで本研究では、発生生物学の分野で有用な実験モデルとして知られるゼブラフィッシュを用いて、Notch リガンドである Jagged 2b (Jag2b) が造血幹細胞の発生過程でどのような役割を果たすのか、および Jag2b の強制発現によって造血幹細胞を増幅させることができるのかについての検討を行った。

【方法】ゼブラフィッシュにおける Jag2b の機能を抑制するために、Morpholino oligo (MO) を一細胞期の受精卵へ注入した。また、遺伝子の強制発現を行うために、生体外で合成した mRNA を MO と同様の方法で受精卵へ注入した。注入した胚において遺伝子の発現を調べるために、Whole-mount in situ hybridization (WISH) および免疫組織化学染色を行った。

【結果】ゼブラフィッシュ胚において *jag2b* は体節において発現していたが、血管芽細胞へ直接シグナルを伝達している可能性は低く、Jag2b は何か別のシグナル伝達分子を介して造血幹細胞の発生を制御しているものと考えられた。野生型胚と *jag2b* MO 胚で造血幹細胞の制御に関わる分子の発現を比較した結果、Jag2b は体節において *wnt16* の発現制御に関わっている可能性が示唆された。しかしながら、Jag2b によって誘導される Notch の活性化細胞と *wnt16* の発現細胞は互いに隣接するように分布しており、重複しなかったことから、Jag2b による *wnt16* の発現制御の間にも別のシグナル伝達分子が存在すると考えられた。詳細な解析の結果、Ephrin A-L1 が Jag2b から *wnt16* へのシグナル伝達の橋渡しを行なっていることを見出すことに成功した。一方、*jag2b* mRNA をゼブラフィッシュ胚へ注入し、強制発現を行ったところ、50 pg の mRNA を注入した胚では、造血幹細胞のマーカー遺伝子である *runx1* の発現が増加したのに対し、150 pg の mRNA を注入した胚では逆に *runx1* の発現が減少した。これらのことから、Jag2b の適度な過剰発現では造血幹細胞の増幅が見込めるものの、過剰になりすぎると逆に造血幹細胞への分化を抑制してしまうことが明らかになった。

jag2b の強制発現による造血幹細胞数の変化

