

【目的】 加齢に伴う造血微小環境（ニッチ）の機能低下は、造血幹細胞（hematopoietic stem cell : HSC）の分裂パターン（対称性自己複製分裂・非対称分裂・対称性分化分裂）に影響を及ぼすことによって、自己複製能の低下と分化異常につながると考えられる。そこで本研究では、HSC の細胞分裂パターンの加齢変化とニッチの老化の関連を明らかにすることを目的とした。

【方法】 1. 細胞分裂アッセイ：幼若（4 週齢）、成体（8 週齢）、老齢（18 カ月齢）マウスの造血幹・前駆細胞のシングルセル定量 PCR アレイデータを学習させた人工ニューラルネットワーク（artificial neural network : ANN）を構築した。細胞分裂アッセイでは、学習済 ANN を用いて HSC の娘細胞のアイデンティティーを識別し、その結果に基づいて、分裂パターンとその加齢変化を解析した。2. 新規ニッチ細胞・ニッチ分子の同定：骨内膜領域のライニング細胞（bone lining cell : BLC）のシングルセル定量 PCR アレイ解析、骨髄ストローマ細胞（CD45⁻TER119⁻CD31⁻細胞）のシングルセル RNA-Seq 解析を行い、ニッチ細胞分画の同定、および HSC の自己複製分裂の制御に関わるニッチ分子の探索を行った。3. 人工ニッチの作製：Matthias P. Lutolf 博士（スイス連邦ローザンヌ工科大学）からの技術指導によって人工ニッチを作製し、HSC の分裂アッセイに用いた。

【結果】 1. HSC の分裂パターンの加齢変化：老齢マウスの HSC は、*in vitro* での自己複製分裂能を失っていることが分かった。2. 新規ニッチ細胞・ニッチ分子の同定：骨内膜領域で、主に骨芽細胞から構成される ALCAM⁺ BLC 中に存在する未分化な間葉系幹細胞（mesenchymal stem cell : MSC）に特異的な細胞表面マーカーとして $\alpha 8$ -integrin（Itga8）を同定した。さらに、ALCAM⁺Itga8⁺ BLC は、骨、脂肪、軟骨への多分化能をもつ MSC であり、さらには HSC の骨髄再構築能を維持する能力が高いことを明らかにした。また、骨髄ストローマ細胞のシングルセル RNA-Seq 解析によって、レプチン受容体（LepR）と Cxcl12 を発現する MSC 分画を同定し、この分画が *Igfbp5*, *Adipoq*, *Ibsp* を高発現していることを見いだした。3. 人工ニッチを用いた分裂様式の解析：HSC の分裂解析に用いる人工ニッチとして、ポリエチレングリコール（polyethylene glycol : PEG）ハイドロゲルを基材としたマイクロウェルを作製した。

老化に伴うニッチ機能の低下と HSC の自己複製分裂低下

