

【目的】造血幹細胞は、自己複製能（一生涯持続）と多分化能（赤血球・血小板・白血球を産生）を持った未分化な血液細胞と定義される。造血幹細胞は、加齢に伴い自己複製・多分化能が変化し、さらには骨髄異形成症候群等の血液疾患や代謝性疾患に関与すると考えられている。しかし、そのメカニズムの多くは未だ不明である。マウスとヒトでは造血幹細胞のマーカ―や機能分子が異なる場合が多く、必ずしもマウスで得られた知見がヒトには適用できるわけではない。つまり、ヒトへの応用という観点で考えると、よりヒトに近い、自家移植を用いた動物実験モデルの構築が望まれる。非ヒト霊長類であるカニクイザルは、寿命が20~30年と長く、遺伝子配列などマウスよりヒトに近い。また多くのヒト抗体との交差性があり、造血幹細胞はヒトと同じく CD34 陽性 CD38 陰性 CD45RA 陰性 CD90 陽性画分に存在すると報告されており、ヒト造血幹細胞研究においても有用であると考えられる。以上のことからカニクイザル研究から得られた知見は、ヒトへの外挿がマウス研究より容易であると期待できる。また、ヒト研究とは異なり、カニクイザル由来の血液細胞をカニクイザルに移植して機能を評価する自家移植の系が利用できることが非常に大きな利点となっている。このように、カニクイザルなどの非ヒト霊長類は実験動物モデルとして非常に優位性が大きい。倫理的な問題や設備上の制約などから、使用するにはハードルが高く、世界的にも非ヒト霊長類を用いた血液、特に造血幹細胞研究はアメリカ国立衛生研究所の一研究室で行われているのみでほとんど行われていない。我々の現在の所属先であるヒト生物学高等研究拠点には、霊長類遺伝子改変コアやシングルセル解析コア、非ヒト霊長類飼育施設もあり、非ヒト霊長類研究を行う環境がそろっている。

【方法】我々は、非ヒト霊長類であるカニクイザルを動物モデルとして用い、造血幹細胞の表面マーカ―の同定、自己複製・多分化能のメカニズム解明を行うことを目的とした。具体的には、シングルセルレベルで細胞系譜追跡が可能となる細胞のバーコード化技術を応用し、カニクイザル造血幹細胞をバーコード化し、自家移植を行う。その後、定期的に末梢血・骨髄細胞を解析することによりメカニズム解明を行う。

【結果】まず、カニクイザルの胎児肝臓・骨髄細胞を用い、その中のどの画分が実際に機能的な造血幹細胞であるかフローサイトメトリーと免疫不全マウスへの移植系を用いて同定した。さらに、その画分のシングルセル遺伝子発現解析を行った。また、細胞系譜追跡実験系を確立するために RNA バーコード実験系を確立した。本研究助成により、RNA バーコード実験系の確立を行い、さらに、カニクイザルに実際に造血幹細胞の機能を有する細胞が含まれることを同定した。

カニクイザル胎児肝臓の造血幹細胞

Human HSC (cord blood, bone marrow) = CD34+CD38-CD45RA-CD90+(CD49f+)

Cynomolgus fetal liver (day 50-60)

