63 DNAバーコード技術を用いた造血幹細胞亜集団の理解

熊本大学 国際先端医学研究機構　　田中　洋介

【目的】造血幹細胞の体外増幅が可能になった今、次の課題は増幅後の品質管理である。造血幹細胞は本質的にヘテロであり、どの亜集団が増幅されたかを見極める必要があるが、現状では移植試験でしか識別できない。本研究ではDNAバーコードを用いて分裂・分化パターンを解析し、亜集団間の階層性や関連性を明らかにし、識別マーカーを特定して造血幹細胞全体像の理解を目指す。

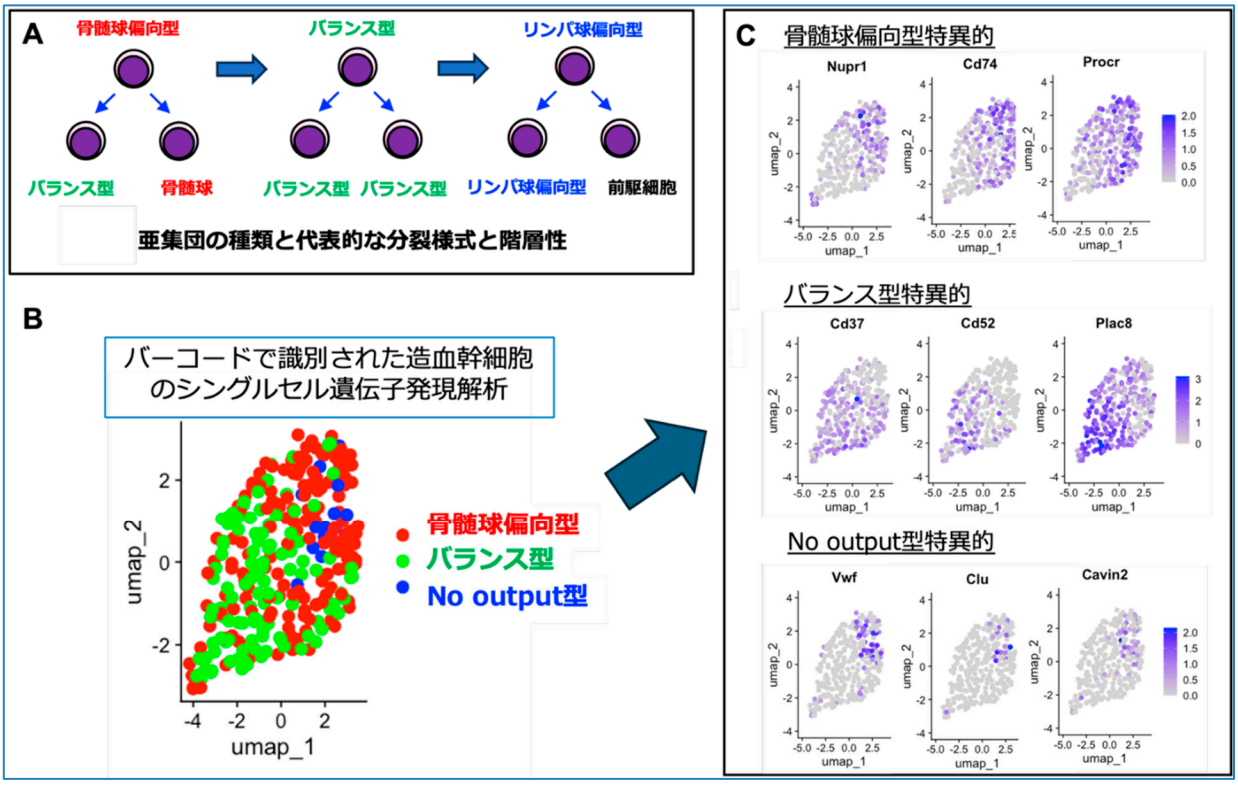
【方法】骨髄から造血幹細胞を採取し、レンチウイルスで DNA バーコード（BFP 標識）を導入する。無血清培地＋サイトカインで 40 時間培養し、ほぼ全ての造血幹細胞を 1 回分裂させる。1 回分裂後の BFP＋細胞をセルソーティングし、2 群に分けて致死量放射線照射したレシピエントマウスへ移植する。同一バーコードを持つ娘細胞ペアは、2 匹のマウスへ 1:1 の確率で移植される。4 か月後、成熟血液細胞からバーコードを回収し、娘細胞ペアの分化パターンを解析する。さらに骨髄を二次移植して亜集団の階層性を解析し、同時に骨髄造血幹細胞のシングルセル RNA 解析を行う。これにより自己複製したクローンのバーコードと遺伝子発現パターンが明らかになり、亜集団の自己複製能（品質）と特徴的遺伝子発現を特定する。本研究により造血幹細胞の分裂パターン、亜集団間の階層性・関連性、自己複製能と発現パターンの違いを統合的に解明し、造血幹細胞の全貌理解を目指す。

【結果】本研究により以下を明らかにした（図）。造血幹細胞の主な分裂様式は骨髄球偏向型 - バランス型、バランス型 - バランス型、リンパ球偏向型 - 前駆細胞であった（A）。2 次移植解析から階層性は骨髄球偏向型→バランス型→リンパ球偏向型と判明した（B）。さらに DNA バーコード既知の造血幹細胞のシングルセル解析で、骨髄球偏向型（Nupr1、Procr、Cd74）、バランス型（Plac8、Cd37、Cd52）、No output 型（Vwf、Clu、Cavin2）の特異的マーカー候補を同定した。Procr、Cd37、Cd52 はフローサイトメトリーで亜集団分画可能であることを確認した（C）。

【発表】本助成金での成果発表があれば、以下の例にならい記載する。

1）　2024 年 5 月　　第 21 回幹細胞シンポジウム

2）　2024 年 10 月　第 86 回日本血液学会学術集会、口頭発表



DNA バーコードにより明らかになった造血幹細胞の全貌