

解禁時間(テレビ・ラジオ・インターネット):平成18年1月31日午前7時

(新聞):平成18年1月31日付 朝刊

(米国東部時間):平成18年1月30日午後5時)

「造血幹細胞の動画撮影に成功」

国立大学法人 筑波大学の研究チームは、全ての血液細胞のもととなる造血幹細胞を可視化し、マウス生体内における動画を撮影することに成功した。血液中には、赤血球や白血球などの様々な種類の細胞が循環している。これらの血液細胞は、機能や性質は大きく異なるものの、もとは造血幹細胞と呼ばれる1種類の細胞が様々な段階の細胞分裂を繰り返すことによって形成される。このような造血幹細胞の特質は「多分化能」と称されるが、この性質を利用して、白血病などの血液疾患の治療に用いられている。しかし、造血幹細胞は生体内での数が非常に少ない細胞であり、その実態解明は困難であった。今回、造血幹細胞が蛍光を発する遺伝子改変マウスを用いて、生きたままの環境で造血幹細胞の動態を撮影し、その実態を捉えることができた。また、造血幹細胞は特定の部位に存在し、他の細胞に比べて動きの少ない細胞であったことから、このような状態の維持が多分化能の保持には重要であると示唆された。

本研究成果は、筑波大学先端学際領域研究センターの山本雅之教授らのグループにおいて、米国ミシガン大学、キリンビール医薬探索研究所および戦略的創造研究推進事業「山本環境応答プロジェクト」の協力を得て得られたもので、平成18年1月31日付の米国科学アカデミー紀要誌のオンライン版に発表される。

血液中には、酸素を運搬する赤血球や細菌やウイルスを除去する白血球など、機能も性質も異なる様々な種類の細胞が循環している。これらの全ての血液細胞は、共通して造血幹細胞と呼ばれる1種類の細胞が起源であり、造血幹細胞が造血臓器である骨髄中で様々な生体環境の影響を受けつつ、分化・増殖することにより形成される(図)。したがって、造血幹細胞は「多分化能」を維持したまま増殖する能力(「自己複製能」)を有する細胞であると定義される。

白血病治療においては、白血病細胞を含む患者の全造血細胞を死滅させた後、提供者の骨髄細胞を移植するが、これは、提供者の骨髄に含まれる造血幹細胞の多分化能と自己複製能を利用して、患者の血液細胞を提供者の正常な細胞に入れ替えることに基づいている。

近年、血液系以外にも、神経や皮膚など、ほとんどの組織は各種組織幹細胞から形成されることが知られるようになり、幹細胞を利用した再生医療の発展に関心が集まっている。その中でも、造血幹細胞は最も古くから解析された幹細胞の一つであるが、生体内ではごく少数しか存在しないため、その解析や実態解明は難航していた。

今回の研究では、造血幹細胞で働く転写因子 GATA-2 (注1) の遺伝子を利用し、マウスに遺伝子改変を施すことにより、マウスの造血幹細胞を蛍光マーキングすることに成功した。マウスにおいても、造血は骨髄で営まれており、造血幹細胞から発生する多様な血球細胞もヒトと同様に存在する。そこで、この遺伝子改変マウスから骨髄を取り出し、蛍光顕微鏡下で観察したところ、蛍光ラベルされた造血幹細胞は骨髄の中でも辺縁部の骨の際に存在することが示された(図)。また、取り出した骨髄の断面を新鮮な状態で20~140分間の動画撮影を行ったところ、造血幹細胞は一定の場所に単独で存在し、周囲の他の血液細胞と異なり、ほとんど移動することはなかった。以上の観察結果は、造血幹細胞が多分化能と自己複製能を維持するためには、骨髄中の所定の位置(幹細胞のすみか:幹細胞ニッチ)から離れずに、とどまっていることが重要であると考えられた。また、造血幹細胞は幹細胞ニッチに集団ではなく単独で存在するという新たな知見を得た。さらに、本

研究で用いた遺伝子改変マウスは、骨髄中での造血幹細胞の実態観察を容易にただけでなく、このマウスを用いれば、効率良く造血幹細胞を単離することができるため、今後の造血幹細胞研究に有用であると期待される。

【用語解説】

（注1）転写因子 GATA-2

転写因子とは DNA から RNA を合成する転写過程において RNA 合成酵素以外に必要なタンパク質の総称であり、GATA-2 はその1つ。GATA-2 はヒトやマウスの造血幹細胞における特異的な転写反応に関与すると考えられている。

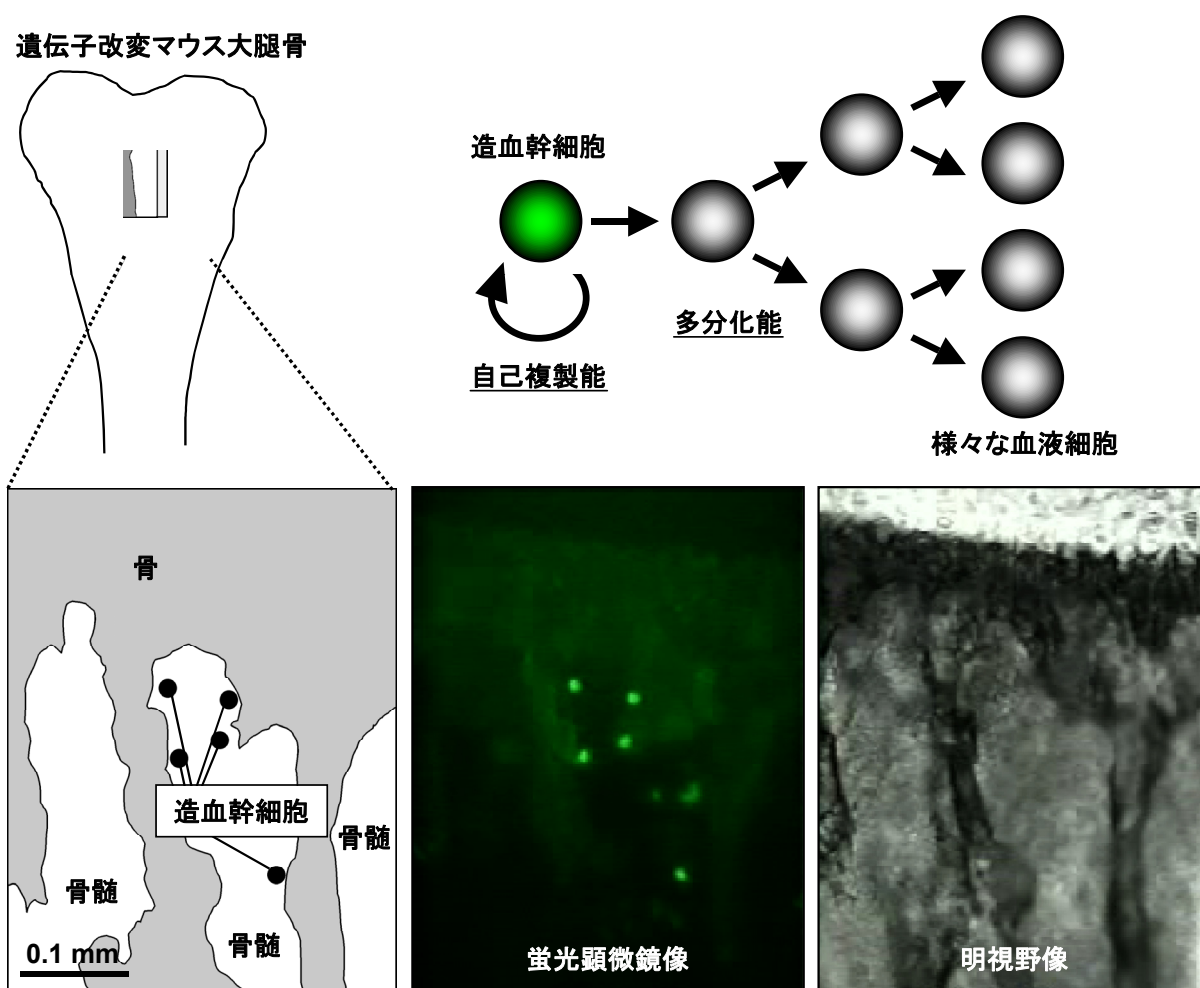


図 遺伝子改変マウスを用いた骨髄中の造血幹細胞の動態観察

骨髄では造血が盛んに営まれており、造血幹細胞から様々な種類の血液細胞が産生されている。造血幹細胞は種々の血液細胞への多分化能と自己複製能をあわせ持つことにより、生体内に安定して血液細胞を供給している。今回の遺伝子改変マウスを用いた研究により、造血幹細胞を緑色蛍光でマーキングし、その骨髄中の動態を観察することに成功した。写真から、造血幹細胞は骨の際に存在することが分かる。

[補足説明]

(研究の背景)

幹細胞研究は、近年の再生医療の発展に伴い、次世代の医療の中心を担う研究であると考えられており、その培養技術の開発や性状解析が盛んに進められている。造血幹細胞は、最も初期から研究が進められてきた幹細胞であり、常に、幹細胞研究の最先端のデータを提示してきた。しかし、数が少ないことなどから、造血組織における局在や動態については長い間不明のままであった。最近、造血幹細胞は骨髄の中でも骨に近い部位に局在しており、骨芽細胞と密接して存在していることが報告された。また、骨芽細胞との接着は、造血幹細胞の機能維持にも必須であることが示され、局在部位（幹細胞ニッチ）が幹細胞の機能に重要な役割を果たすという知見が得られていた。一方、造血幹細胞に関する多くのデータは、骨髄から単離した細胞を用いたものであり、実際の骨髄中で造血幹細胞がどのような動態を示すのかは明らかにされていなかった。

筑波大学先端学際領域研究センターの山本雅之教授らのグループは、造血幹細胞における遺伝子発現制御の様式を解明するために、造血幹細胞で発現する転写因子 GATA-2 の機能解析に取り組んできた。そして、マウスやヒトの *Gata2* 遺伝子には転写開始点が2カ所存在することを発見し、1つは広範な組織で使われているものの、もう一方は造血幹細胞を含む未分化造血細胞のみで特異的に用いられていることを報告した。

(具体的な実験結果・考察)

今回の研究では、*Gata2* 遺伝子の造血幹細胞で優位に用いられる転写開始点を利用し、その転写開始点を利用して緑色蛍光タンパク質 (GFP) を発現する遺伝子改変マウスを樹立した。GFP を発現する細胞は、ダメージを与えずに、観察・分取する手法が確立されている。そこで、本マウスの骨髄から GFP でマーキングされた細胞を解析したところ、非常に高濃度に造血幹細胞を含むことが示された。特に、造血幹細胞では GFP の発現レベルが高く、骨髄組織切片上でも強い緑色蛍光を発する細胞が造血幹細胞であることが分かった。次に、この遺伝子改変マウスを用いて、骨髄中の造血幹細胞の生きたままの動画映像を撮影することを試みた。遺伝子改変マウスから取り出した骨髄を半切し、培養液中で 20~140 分間の蛍光動画撮影を行ったところ、GFP を発現しない血液細胞に比べて、GFP を強く発現する造血幹細胞は、ほとんど動いていないことが分かった。また、造血幹細胞は骨の際に骨芽細胞とともに存在していることも示され、過去の報告に一致したデータも得られた。さらに、全ての1つの幹細胞ニッチには造血幹細胞が1つだけ存在しており、複数の造血幹細胞が1カ所で集団を形成しているような観察像は得られなかった。血液系以外の幹細胞の中には、集団を形成しているものも知られているが、造血幹細胞は単独で存在し、骨芽細胞から離れずに自己複製能と多分化能を維持し続けていることが示唆された。

(研究成果の社会的意義)

造血幹細胞の生の姿をとらえたことは、造血幹細胞の研究において、画期的なデータである。幹細胞研究においては、少数の細胞を効率良く回収し、解析する手法の開発が非常に重要であるが、本研究で用いた遺伝子改変マウスは、骨髄造血幹細胞を可視化しただけでなく、単離も容易にしたことから、本マウスは今後の幹細胞・再生医療の研究に有効であると考えられる。

[論文タイトル]

Combinatorial *Gata2* and *Sca1* expression defines hematopoietic stem cells in the bone marrow niche

(*Gata2* 遺伝子と *Sca1* の発現の組み合わせにより、骨髄における造血幹細胞の所在を明らかにできる)

本件問い合わせ先：

山本 雅之（やまもと まさゆき）

筑波大学大学院人間総合科学研究科・教授

〒305-8577 つくば市天王台 1-1-1 筑波大学先端学際領域研究センター

TEL : 029-853-7321

FAX : 029-853-7318

E-mail : masi@tara.tsukuba.ac.jp

論文タイトル

Combinatorial *Gata2* and *Sca1* expression defines hematopoietic stem cells in the bone marrow niche

(*Gata2*遺伝子と*Sca1*の発現の組み合わせにより、骨髄における造血幹細胞の所在を明らかにできる)

米国科学アカデミー紀要誌のオンライン版

(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)

解禁時間:平成18年1月31日 午前7時
(新聞:1月31日 朝刊)

研究分担

国立大学法人 筑波大学
先端学際領域研究センター
大学院人間総合科学研究科

キリンビール株式会社
医薬探索研究所(高崎市)

独立行政法人
科学技術振興機構

ミシガン大学(米国)

桜映画社
中外製薬株式会社

説明内容

1 研究背景と目的

研究背景—造血幹細胞

研究に至る経緯—造血幹細胞でのみ使われる遺伝子制御系の発見

研究目的—造血幹細胞の簡単で効率的な検出系の確立

2 研究成果の概要

造血幹細胞の簡便で効率的な単離と生体内での可視化に成功

3 研究成果の意義

1 研究背景と目的

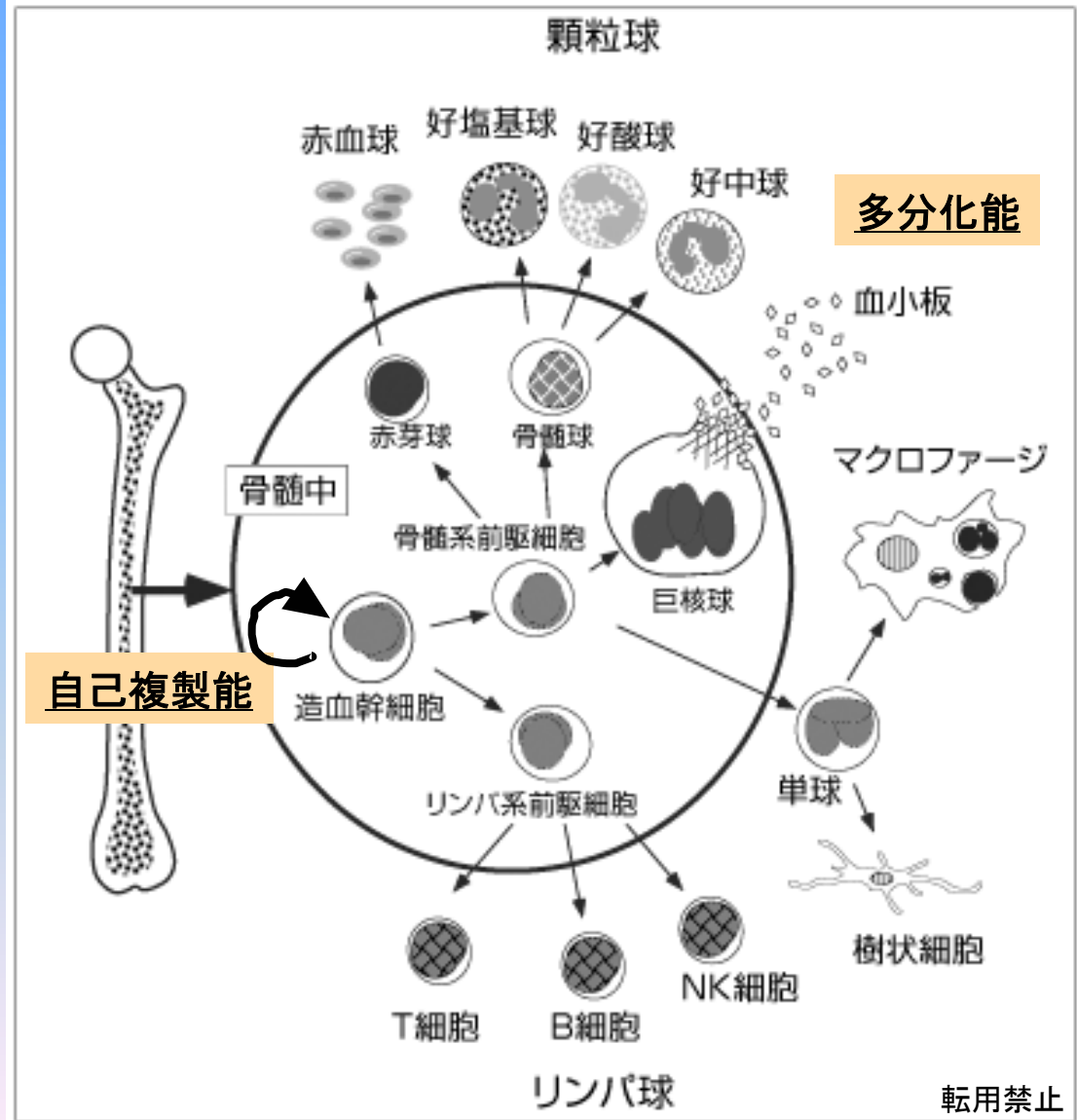
造血幹細胞

幹細胞
自己複製能
多分化能

幹細胞ニッチ
幹細胞のすみか

骨髄移植や再生医療研究の進歩に伴い、幹細胞の性状解析が進んでいる。

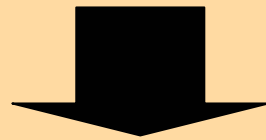
血液細胞の分化と造血幹細胞



1 研究背景と目的

造血幹細胞

問題点 骨髄中に非常に少ない数で存在し、検出が難しい。



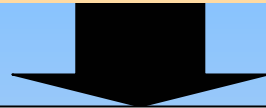
造血幹細胞の性状解明が進まない

造血幹細胞の簡単かつ効率的な
検出方法の開発が必要

1 研究背景と目的

本研究に至る経緯

GATA-2遺伝子の解析の過程で、GATA-2遺伝子には2つの発現制御系が存在することを発見した。そのうちの1つは造血幹細胞などの未分化な血液細胞で使われていた。



(仮説)

この遺伝子制御系と緑色蛍光タンパク質遺伝子を用いて、遺伝子改変マウスを作成すれば、容易に造血幹細胞を検出できるのではないか？



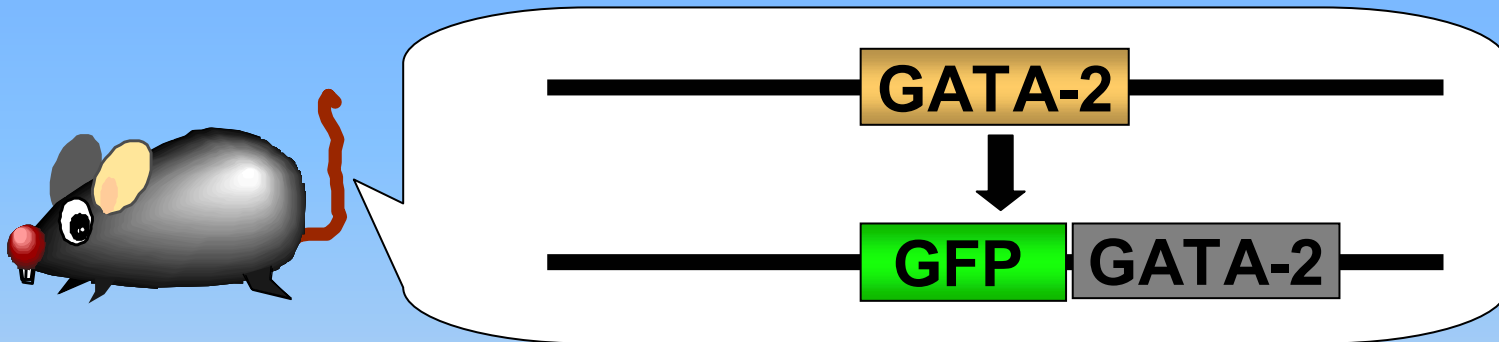
造血幹細胞の簡単かつ効率的な
検出方法が開発できる

1 研究背景と目的

遺伝子改変マウス

作成方法

緑色蛍光タンパク質(GFP)遺伝子をマウスのGATA-2遺伝子上に挿入



造血幹細胞などの未分化な血液細胞において、
GATA-2タンパク質の代わりにGFPが合成される。

GFP蛍光を利用した造血幹細胞の検出
造血幹細胞の性状解析を進める

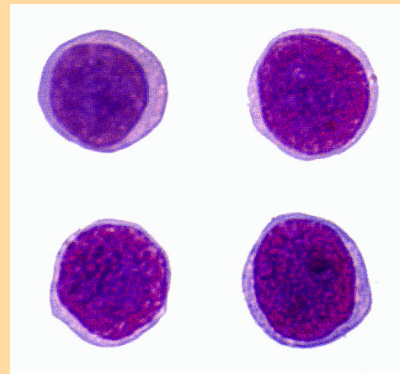
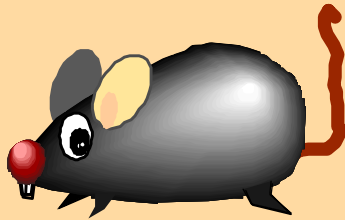
GFP(緑色蛍光タンパク質)

蛍光を発するタンパク質。GFPを持つ細胞は、特別な処理をせずに、生きたまま観察できる。
また、自動分離装置により、光る細胞を簡単に単離することができる。

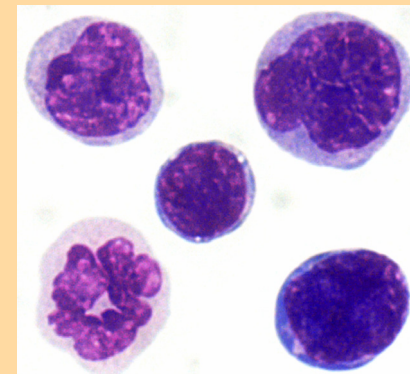
2 研究成果の概要

実験結果

遺伝子改変マウスの骨髄から、GFPを検出することにより、造血幹細胞を効率よく単離することができた。



自動分離装置により、遺伝子改変マウスから単離された造血幹細胞

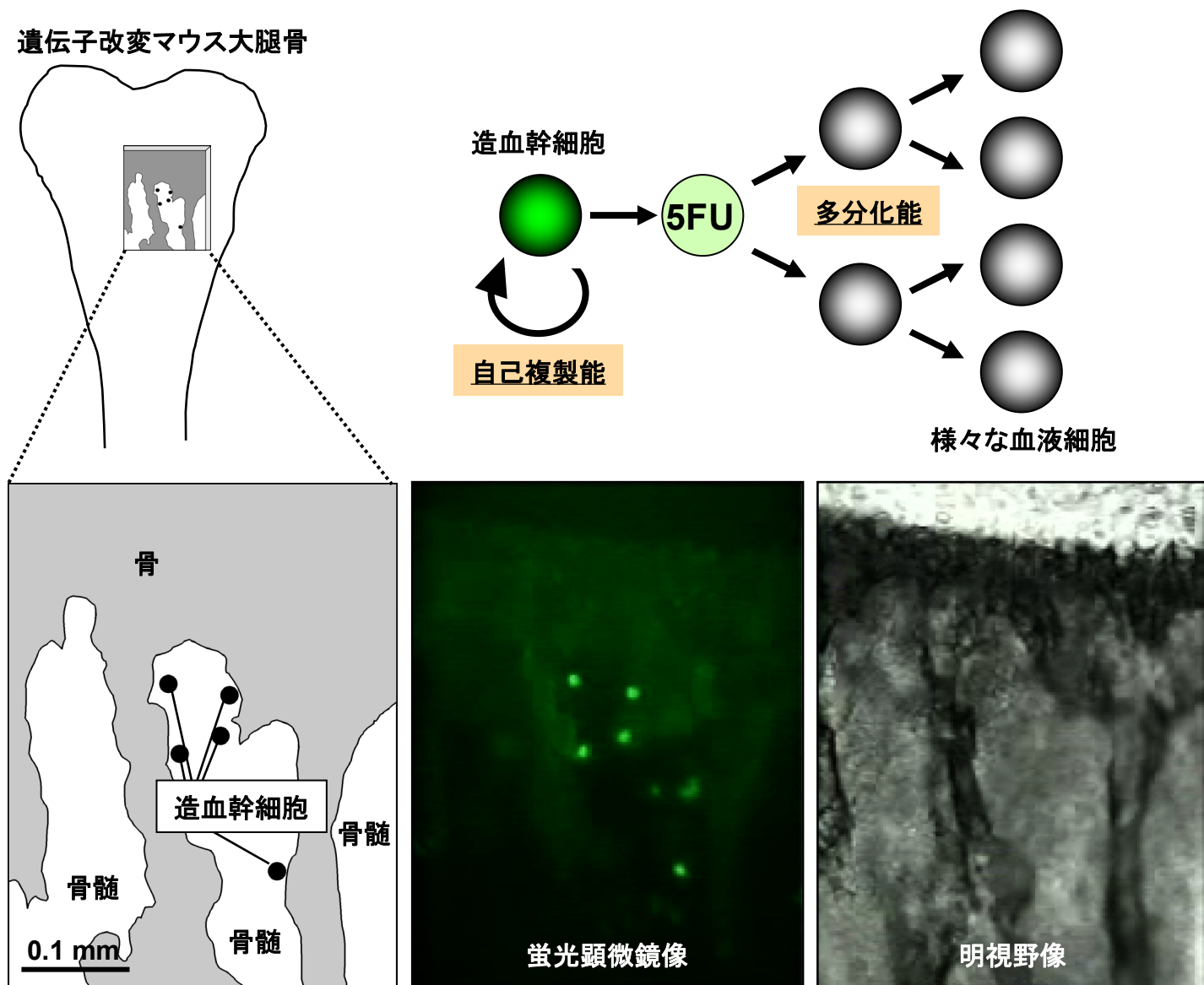


分化した血液細胞

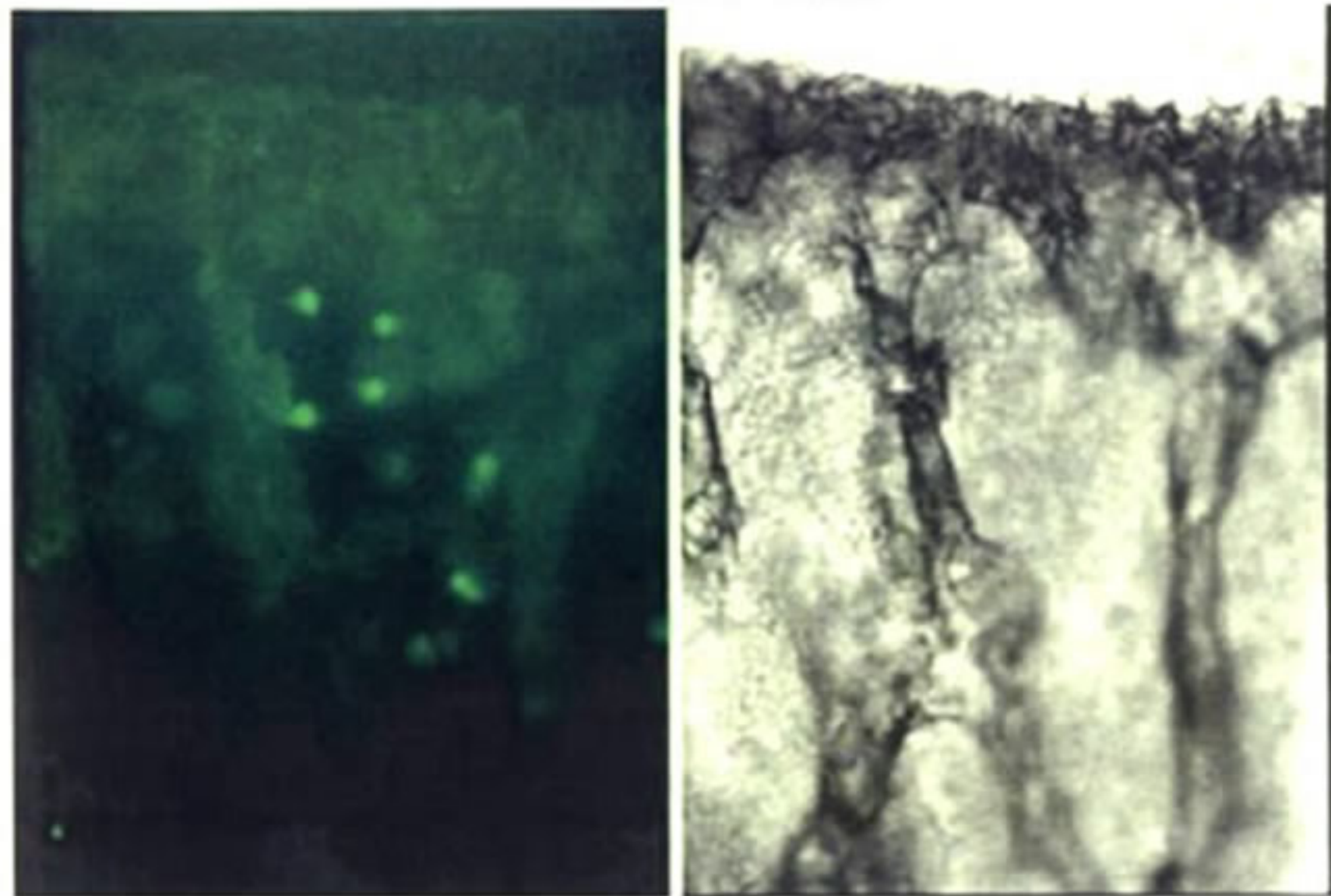
↓
遺伝子改変マウスの骨髄断面の動画撮影を行った。

↓
生体内の造血幹細胞の実態を動画で捉えることができた。

2 研究成果の概要

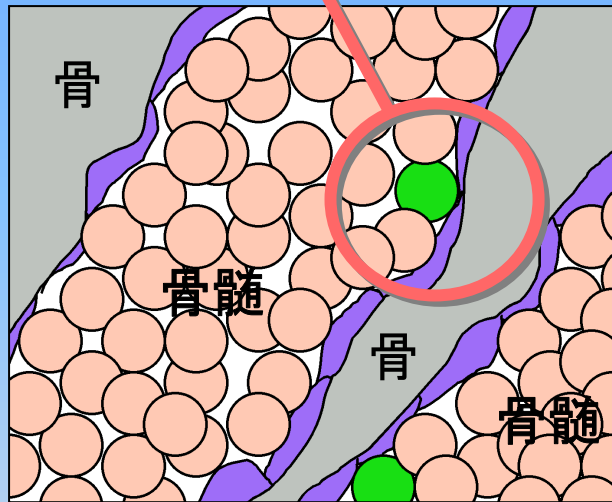


2 研究成果の概要

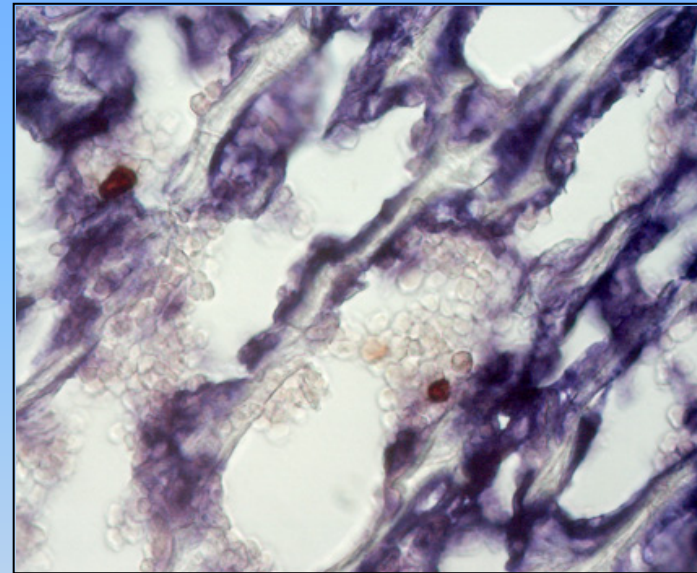


2 研究成果の概要

造血幹細胞ニツシエ



造血幹細胞のすみかは、ニツシエと呼ばれる特殊な環境であり、ニツシエにおいて、造血幹細胞は周囲の細胞とコミュニケーションをとっていると考えられている。

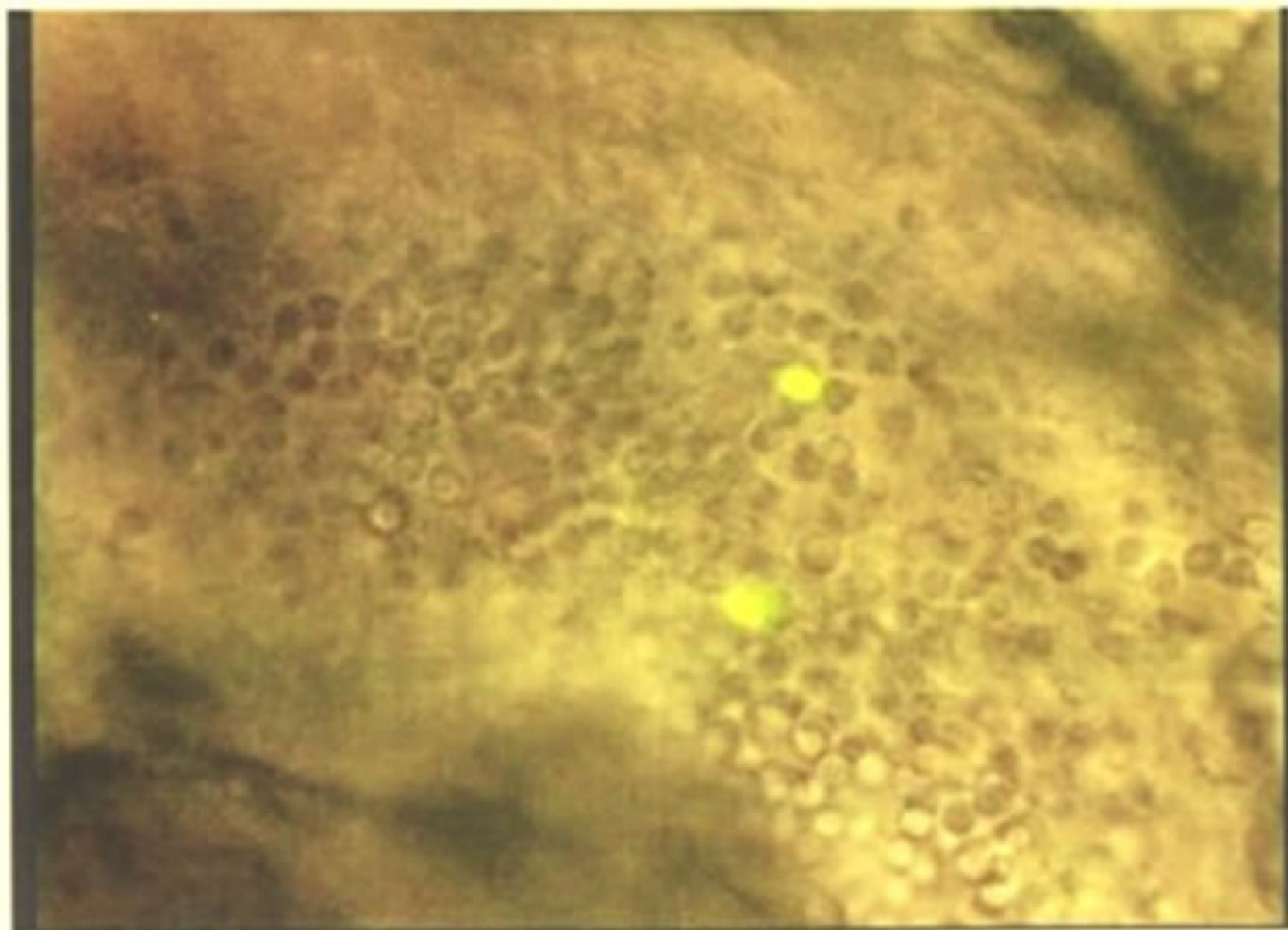


骨髄断面の染色画像

茶色: 造血幹細胞

紫色: 骨芽細胞

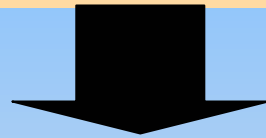
2 研究成果の概要



2 研究成果の概要

動画撮影からわかったこと

造血幹細胞は 骨のそばに存在する(幹細胞ニッチ)
単独で存在する(集団を形成しない)
ほとんど動かない



このような状態を維持することにより、
造血幹細胞の特性(自己複製能・多分化能)を維持している。