

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	宮西 正憲
研究機関名	神戸大学
所属部署名	大学院医学研究科
役職名	特命教授
研究課題名	造血幹細胞機能維持体外細胞増幅技術の開発
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

CD150⁺CD34^{-/lo}Flk2⁺Sca-1⁺cKit⁺Lineage⁻で定義される細胞集団には、全ての機能的な造血幹細胞 (HSC) が濃縮される。この細胞分画内で Hoxb5 遺伝子発現の有無により、自己複製能の強弱を前方視的に予測し、生体内から自己複製能の強い長期造血幹細胞 (LT-HSC) と自己複製能の弱い短期造血幹細胞 (ST-HSC) を単離できる。その一方で、この細胞集団を体外培養すると、Hoxb5 の発現が速やかに消失することや、また一部に発現が残存した場合においても生着能との間に明確な相関性が認められない。そこで、造血幹細胞分画内に存在する体外培養時増殖能不均一性の可視化する手法の開発を行った。1 細胞 RNA シーケンシングを含む、複数の 1 細胞実験の結果を元に、体外増殖能と相関しうる候補遺伝子のスクリーニングを行った。また体外培養後の生着能は、放射線照射処理したマウスへの移植後、末梢血中における成熟血液細胞産生により評価する。そこで、上記スクリーニングの結果を元に、レポーターマウスを作製し、*in vitro* での生着能予測レポーターシステムの開発を進めた。現在、作製したマウスから調整した HSC 分画を用いた実験、解析を行っており、得られた結果をもとに論文化の準備を進めている。

令和 6 年度には、体外培養後に発生する細胞機能の不均一性を生体内でクローナルレベルにて評価可能な高精度生着能評価法の開発を予定している。そこで、令和 5 年度には研究開発のコア技術となる分子バーコードデザインに関する基礎的データの採取を完了した。現在分子バーコードを組み込んだ最終的なレンチウイルスプラスミドの構築、さらに独自に開発した移植後生着を安定化させる MST (Minimum Subset for Transplantation) 法との組み合わせに関する最適化実験の準備を行った。