

03\_□□□□□□□□□□

□□□□□□□□□□

Image



**HEMATO CAPSULE**  
presented by Novartis

Interview ファースト・オーサーの横顔

## 横溝 智雅 先生

東京女子医科大学 解剖学(顕微解剖学・形態形成学) 講師

横溝 智雅(よこみぞ ともまさ)先生 2001年、京都大学大学院医学研究科博士課程修了。筑波大学(日本学術振興会特別研究員)、エラスムス医療センター(オランダ)、シンガポール国立大学、順天堂大学内科学血液学講座、熊本大学国際先端医学研究機構を経て、2022年より東京女子医科大学解剖学(顕微解剖学・形態形成学)講師。

# 「造血発生の起源に迫る」

造血幹細胞と造血前駆細胞の起源は独立している——

東京女子医科大学の横溝智雅先生らは、マウス胎子の肝臓で観察される血液細胞の大部分が、

造血幹細胞とは別に独立して発生していることを発見しました<sup>1</sup>。

造血幹細胞を頂点に血液細胞の階層性が作りだされるという、これまでの考え方に

一石を投じる今回の研究はどのように行われたのでしょうか。

横溝先生にお話をうかがいました。(インタビュー:2022年12月6日)

ご所属はインタビュー時のものです

### 京大ウイルス研で造血発生研究への道に

私は京都大学工学部石油化学科の出身で、修士課程までは触媒の研究をしていましたが、さまざまな情報に接するうちに、その当時急速な発展を見せていた生命科学の分野に関心を抱くようになりました。立花隆氏による利根川進先生へのロングインタビュー『精神と物質—分子生物学はどこまで生命の謎を解けるか』<sup>2</sup>では、1987年にノーベル生理学・医学賞を受賞した、抗体産生の多様性をもたらすV(D)J遺伝子再構成の解明に至る過程が詳述されていますが、このような新たな発見につながる分子生物学に強い興味を覚えました。同時に、自分が本当にやりたいのは、エンジニアリングの側面が強い当時の専攻分野ではなく、サイエンスなのだ気づいたので。

分子生物学を学ぶため、博士課程では京都大学医学研究科へと進み、同ウイルス研究所の伊藤嘉明先生

(現:シンガポール国立大学がん科学研究所教授)の研究室に入りました。1990年代、伊藤先生らは転写因子Runxのクローニングに成功しており、その研究を基に作製されたRunx1遺伝子のノックアウトマウスが伊藤研に提供されることになりました。ところがその頃の伊藤研では実験用マウスを飼育する環境やノウハウが確立しておらず、では君が飼いなさい、とそのマウスの世話を命じられて途方に暮れたのを覚えています。伊藤研にはその後、大里元美先生(現:シンガポール国立大学がん科学研究所准教授/熊本大学客員教授)が加わりました。当時、伊藤研の隣のビルには、血管内皮細胞から造血がなされることを初めて実験的に証明した西川伸一先生(京都大学名誉教授)の研究室があったのですが、大里先生は私を西川研に連れて行ってくれ、そこでも実験やミーティングに参加する機会を与えられて、研究がどんどん面白くなっていきました。

 **NOVARTIS**

1

ノバルティス ファーマ 株式会社

Image

## 血液細胞クラスターの詳細な観察を可能にしたホルマウント免疫染色と3Dイメージング

哺乳類の成体における造血幹細胞は、胎生期の背側大動脈の腹側壁に生じる造血性血管内皮細胞 (hemogenic endothelium) に由来します (図1)。平坦な造血性血管内皮細胞は、丸い血液細胞へと変化した後、血管壁に付着する形で細胞塊 (血液細胞クラスター) を形成します。マウス胎仔では胎生期の一時期にのみ、背側大動脈に血液細胞クラスターが観察されます。この血液細胞クラスターに含まれるプレ造血幹細胞は肝臓へと移動し、造血幹細胞へと成熟していきます。この後に造血前駆細胞を作りはじめると考えられています。

ところで、この血液細胞クラスターは血管内に広く分布しており、これを詳細に調べるためには、例えば大量の連続切片を用意して免疫染色を行うというような膨大な作業が必要になる、という課題がありました。この課題を解決するため、私はマウス胎仔を有機溶媒により透明化し、共焦点顕微鏡を用いて観察するという手法を開発しました (図2)<sup>3</sup>。このホルマウント免疫染色と3Dイメージングにより、血液細胞クラスターの分布を特定することができ、さらにフローサイトメトリーで解析すれば、血液細胞クラスターを定量し詳細に分析することが可能になります。その当時私が所属していたオランダ・エラスムス医療センターのElaine Dzierzak先生 (現:

英国エディンバラ大学教授) は、マウス胎仔の造血幹細胞が大動脈-生殖-中腎 (aorta-gonad-mesonephros: AGM) 領域から生みだされることを発見した研究者です。Dzierzak先生は、造血発生の分野を研究している米国ダートマス大学のNancy Speck先生 (現:ペンシルベニア大学教授) と親交があり、私もSpeck先生らの研究にホルマウント免疫染色と3Dイメージングを用いた実験で協力しました。この研究ではRunx1が内皮細胞から造血細胞への転換に必須である一方、その後の造血幹細胞の維持には関与していないことが示されています<sup>4</sup>。

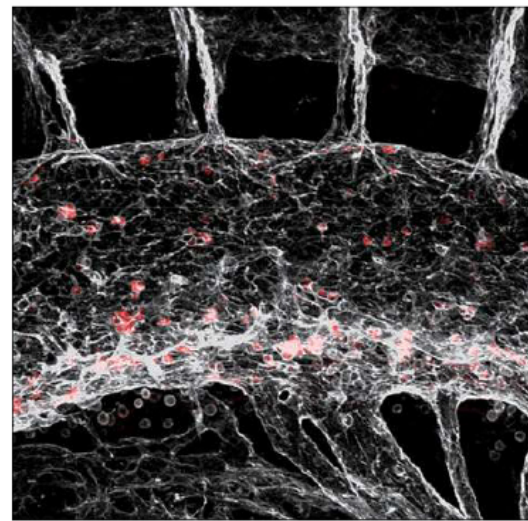


図2 ホルマウント免疫染色による血液細胞クラスターの観察

マウス胎仔 (胎生10.5日) の背側大動脈血管壁に付着した細胞塊 (血液細胞クラスター: 赤) が観察される。(横溝智雅先生提供)

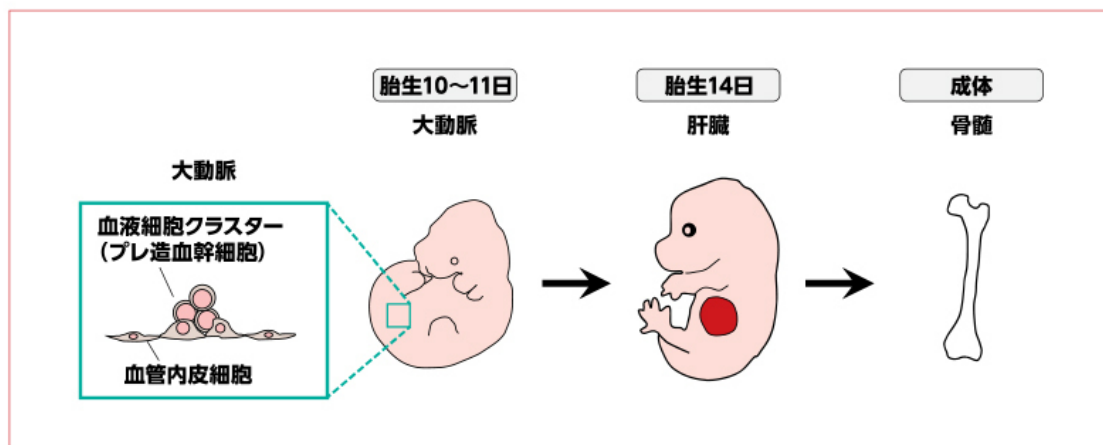


図1 造血幹細胞の発生と移動過程

造血幹細胞のもとになる細胞 (プレ造血幹細胞) は、大動脈の特殊な血管内皮細胞から生みだされ、血液細胞クラスターを形成する。このうち一部が造血幹細胞となり、肝臓、骨髄へと移動していくとされている。

文献1より引用改変

## 造血幹細胞の発生経路を探る

近年、iPS細胞からさまざまな種類の細胞が誘導され、治療や再生医療への応用が期待されています。血液細胞の分化誘導の研究も盛んに行われており、これまでに多種の血液細胞の試験管内誘導が可能となっています。ところが、最も応用範囲が広いと考えられる造血幹細胞については、遺伝子導入をすることなく誘導に成功したという報告はいまだありません。生体内での造血幹細胞の発生メカニズムの詳細についてはまだ不明な点が多く、効果的な培養系を構築できていないこともその理由として挙げられるでしょう。

例えば、マウス胎仔では、造血幹細胞の発現よりも先に赤芽球系骨髄前駆細胞 (erythroid-myeloid progenitor: EMP) が検出されますが、その理由はわかっていませんでした。また、ES細胞あるいはiPS細胞からの*in vitro*での分化培養法では、造血幹細胞ではなく、EMPばかりが誘導されてしまいます。この点について、私たちが新規レポーターマウスを作製して行った研究では、転写因子Hlf (hepatic leukemia factor) は造血幹細胞では発現するものの、EMPでは発現していないことや、EMPが発生する胎生9日以前の血液細胞クラスターではHlfは発現せず、胎生9日以降の血液細胞クラスターで発現することが確認されました<sup>5</sup>。これらの結果から、EMPを生み出す血管内皮細胞と、造血幹細胞を生み出す血管内皮細胞は、異なる細胞系譜であることが示唆されています。

## 自己複製と分化：造血幹細胞にとって相反するようにみえる二つの現象は、胎生期の短い期間においてどのように両立しているのか

私たちは、造血幹細胞の発生メカニズムを解明するため、さらに実験を積み重ねてきました。その結果、マウス胎生期の肝臓における造血が造血幹細胞とは別に独立していること、また、造血幹細胞および造血前駆細胞の生まれる数が*Evi1* (ecotropic viral integration site 1) 遺伝子の発現量によって調節されていることを見出し、これらの研究成果は2022年9月にNatureに掲載されました<sup>1</sup>。

哺乳類の成体では、血液細胞の大部分は骨髄内に存在する造血幹細胞から作りだされていますが、胎生期に

は、血液細胞の大部分は主に肝臓で産生されます。胎生期の肝臓では、成体の骨髄内と同様に、造血幹細胞、分化能が限定された種々の造血前駆細胞、成熟血液細胞が観察されることから、胎仔の肝臓においても、造血幹細胞を頂点とした階層性が存在し、造血幹細胞が成熟血液細胞を作りだすものと考えられていました。しかし、そこで問題となるのは造血システムを作り上げるスピードです。体が急速に大きくなる胎生期には、造血システム全体も急速に拡張していきます。つまり、成熟血液細胞の産生 (造血幹細胞の分化) と同時に、造血幹細胞自体の数を増やす自己複製が必要となります。造血幹細胞にとって、自己複製 (self-renewal) と分化 (differentiation) とは相反する現象と考えられていますが、これらを胎生期の短い期間に両立させていく仕組みはこれまで明らかになっていなかったのです。

## マウス胎生期の血液細胞の大部分は、造血幹細胞とは別に独立して生まだされている

今回の研究では、造血幹細胞を含む造血システム全体が胎生期にどのように現れるかを明らかにするため、マウスでの細胞系譜追跡実験を行いました。血液細胞を遺伝学的に標識することにより、血液細胞クラスターを構成する細胞が、将来どのような細胞になるのかを調べることができます。その結果、造血幹細胞と造血前駆細胞はそれぞれ独立して発生すること、つまり、胎生期の肝臓における血液細胞の階層構造の形成には造血幹細胞がほとんど関与していないことが明らかになりました。

## *Evi1* 遺伝子の発現量の差により、造血幹細胞と造血前駆細胞の生まれる数が調節されている

次に私たちは、造血幹細胞と造血前駆細胞を作りだす起源細胞群を新たにプレ造血幹・前駆細胞 (pre-hematopoietic stem and progenitor cells: pre-HSPC) と名付け、この細胞群の中に、転写因子*Evi1*の濃度勾配が存在することを見出しました。*Evi1*は成体の造血幹細胞を調節する因子であり、胎生期の造血幹細胞の形成に必要な因子として知られています。私たちは、*Evi1*遺伝子を高発現する細胞が造血幹細胞となり、*Evi1*遺伝子発現の低い細胞が造血前駆細胞となることを突きとめまし

た。さらに、*Evi1*遺伝子をpre-HSPCで過剰発現させると、本来造血前駆細胞になるべき細胞が、造血幹細胞になることもわかりました。つまり、*Evi1*遺伝子の発現量の差によって、造血幹細胞、そして造血前駆細胞の生まれる数が調節されていることが明らかになったのです。

### マウス胎生後期の造血幹細胞は自己複製に専念、下流の造血前駆細胞を供給していない

さらに、私たちはマウス胎仔肝臓内の造血幹細胞のその後のふるまいについて追跡実験を行いました。その結果、胎生後期の造血幹細胞は自己複製のみを行い、下流の造血前駆細胞を供給していないことがわかりました。つまり、胎生期のほとんどすべての血液細胞は、造血幹細胞に由来していないということが示されました(図3)。

これらの結果から、胎生期においては、造血幹細胞の関与なしに造血前駆細胞を作ることによって迅速に造血システムを構築していること、さらに造血幹細胞は自己複製に専念し、造血システム全体の急速な拡張に対応していることが示されました。今回の研究によって明らか

となった胎生期特有の巧妙な仕組みは、発生過程におけるこれまでの幹細胞の役割について再考を促すことになるものと思われます。

### おわりに

前述したように、iPS細胞からの造血幹細胞の試験管内誘導にはいまだ成功の報告はありません。多くの研究者たちが造血幹細胞の誘導にチャレンジしてきましたが、他の血液細胞は生みだされるのに、造血幹細胞だけは誘導することができず、その理由も十分にはわかっていませんでした。しかし、造血発生の機序を詳細に解明することで、生体内における培養条件を模倣できるようにすれば、これにより造血幹細胞を誘導できる可能性があるかもしれません。現在、特に国内では造血発生の分野の研究者は非常に少ないのですが、私たちの研究が、造血幹細胞誘導のために何らかのヒントを与えることができればよいと考えています。

- 文献 1. Yokomizo T, et al. Nature 2022; 609: 779-784.  
2. 立花隆, 利根川進. 文芸春秋 1990.  
3. Yokomizo T, Dzierzak E. Development 2010; 137: 3651-3661.  
4. Chen MJ, et al. Nature 2009; 457: 887-891.  
5. Yokomizo T, et al. J Exp Med 2019; 216: 1599-1614.

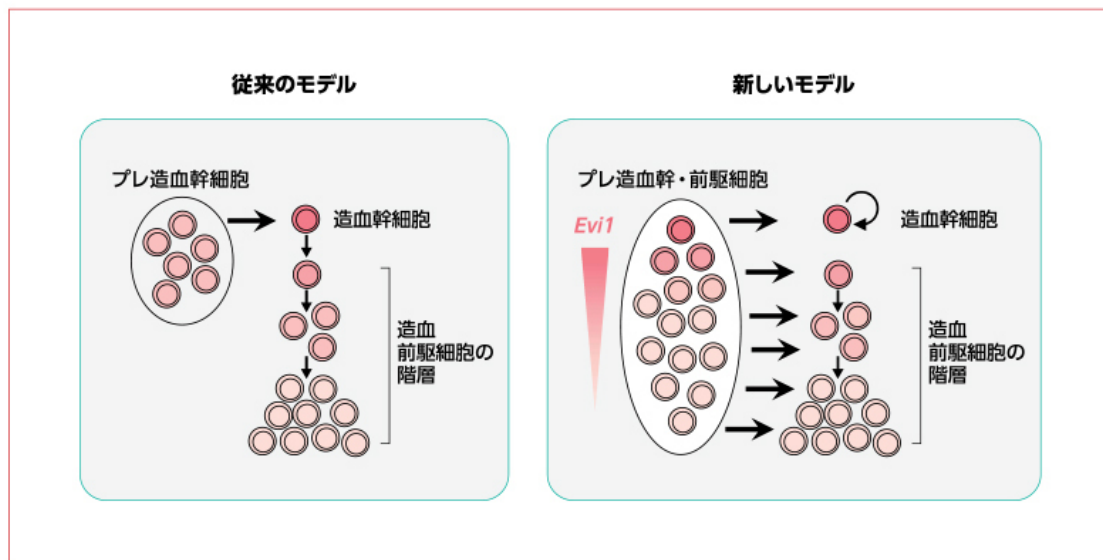


図3 造血システム発生のモデル

従来モデルでは、プレ造血幹細胞が造血幹細胞となり、造血前駆細胞の階層を作り上げると考えられていたのに対し、新しいモデルでは、プレ造血幹・前駆細胞の中に転写因子*Evi1*の濃度勾配が存在しており、*Evi1*遺伝子を高発現する細胞は造血幹細胞となり、*Evi1*遺伝子を低発現する細胞は造血前駆細胞となることが明らかとなった。文献1より引用改変

---

**Source URL:**

[https://www.pro.novartis.com/jp-ja/support/lecture/hem\\_mailservice/interview\\_03](https://www.pro.novartis.com/jp-ja/support/lecture/hem_mailservice/interview_03)