

課題番号 : 29指2007
研究課題名 : 生体内を精密に再現した造血幹細胞培養法の開発 (田久保班)
主任研究者名 : 田久保 圭誉
分担研究者名 : 加部 泰明

キーワード : 造血幹細胞、幹細胞培養、幹細胞代謝、低酸素応答、メタボロミクス

研究成果 :

造血幹細胞は全ての血液細胞を生み出す能力がある。生後は骨髄の特殊な微小環境 (造血幹細胞ニッチ) に存在し、生涯にわたって分化血液細胞を供給する。造血幹細胞は造血器腫瘍に対する幹細胞移植などの様々な疾患の治療に用いられている。しかし、現状では幹細胞ドナーの数が限られており、限られたドナー由来の造血幹細胞を体外で増幅する方法が存在しないことも治療開発の際の障壁となっている。本研究課題では、これまで当プロジェクトが NCGM で開発してきたマウス造血幹細胞の維持・増幅培養技術を洗練し、ヒト造血幹細胞への条件検討も実施する。この培養条件の決定については生体内の代謝環境を精密に検証・再現することで、安全性の高い幹細胞増幅を可能にする培養法の確立を目指した研究を実施する。

第1年度はマウス造血幹細胞の長期培養のための代謝物環境をメタボローム解析およびマニユアルの代謝物解析を通じて実施した。メタボローム解析のスペシャリストである分担研究者・慶應義塾大学医学部・加部博士との協働のもと、マウス骨髄や、骨髄から単離した各種造血幹・前駆細胞分画を大量に用意したうえで代謝物を抽出し、代謝物の網羅的な測定を実施し、骨髄が含有する代謝物プロファイルを明らかにした。また、既に決定しつつあるマウス造血幹細胞の長期培養法の条件を様々な血液学的解析 (移植を含む) を用いて実施し、造血幹細胞の長期培養のうち、活性を維持する条件を探索・検証した。

Subject No. : 29-2007

Title :

Researchers : Keiyo Takubo (Project director, Department of Stem Cell Biology, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine), Yasuaki Kabe (Lecturer, Department of Biochemistry, Keio University School of Medicine)

Key word : hematopoietic stem cell, stem cell niche, hypoxia response, metabolomics, leukemic stem cell

Key word : hematopoietic stem cell; stem cell culture; stem cell metabolism; hypoxia response; metabolomics

Abstract :

Hematopoietic stem cells (HSCs) are utilized for gene and cell therapy for monogenic disorder including immunodeficiency or metabolic diseases. HSCs keep quiescence in the bone marrow niche to maintain lifelong hematopoiesis. Recapitulation of quiescent state under culture system has not been achieved due to rapid proliferation and differentiation in vitro setting. As a result, HSC culture in vitro induces loss of stem cell number and capacity. This is a potential pitfall in gene or cell therapy using HSCs. By modulating environmental factors mimicking physiological condition, we enabled the maintenance of engraftable quiescent HSCs for 1 month in culture with almost defined factors. Among them, extracellular metabolites, cytokine concentration and combination, and oxygen tension are unique requirement for HSC maintenance ex vivo. This system provides a way to study a steady state HSC character and to test the effect of defined factors in vitro under near-physiological condition. In the first scientific aim, we will sophisticate the murine HSC culture system based on deep understanding of hematopoietic microenvironment or niche by metabolomics approaches. In the second scientific aim, we will optimize the murine HSC culture system to human HSCs. These investigations will provide a basis of improvement of HSC transplantation.

We especially investigated the first scientific aim in FY2017. First, we identified metabolites in bone marrow microenvironment and various hematopoietic stem/progenitor fractions. Cells were isolated and collected by flow cytometry and metabolites were extracted by bone marrow or purified cells. Isolated metabolites were then analyzed by mass spectrometry to profile metabolites. We also tested various conditions to improve/optimize the culture condition for murine HSCs.

29指2007 生体内を精密に再現した造血幹細胞培養法の開発 (主任研究者: 田久保圭誉)

【背景】培養刺激は造血幹細胞活性を傷害するため静止期培養が必要 幹細胞活性の低下
 ★ 骨髄内 静止期(G₀期)造血幹細胞 ★ 体外 静止期造血幹細胞 機能的な変化



Our key achievements in this field:

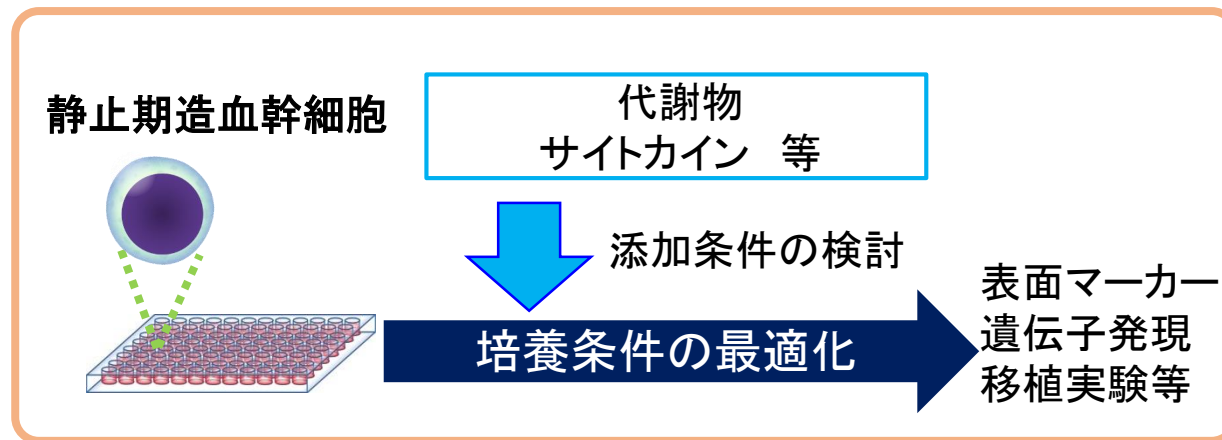
- ✓ 造血幹細胞の移植生着能を維持するニッチとして低酸素環境や巨核球を同定し, 作動機構を解明した.
(Cell Stem Cell 2010, J Exp Med 2015他)
- ✓ 造血幹細胞の定常状態の代謝特性と分子機構を同定し, 細胞周期の静止期性と移植生着能維持における必要性を見出した.
(Cell Stem Cell 2013)
- ✓ ストレス(移植や体外培養)が負荷されると造血幹細胞代謝変化を通じて分化能や移植生着能が低下する.
(Cell Stem Cell 2016, Cell Reports 2015他)

29指2007

生体内を精密に再現した造血幹細胞培養法の開発 (主任研究者: 田久保圭誉)

【方法】マウス造血幹細胞の長期培養のための代謝物環境をメタボローム解析およびマニュアルの代謝物解析を通じて実施する。本項目にはメタボロームのスペシャリストである分担研究者・慶應義塾大学医学部・加部博士との協働のもと、代謝物の網羅的な測定を実施する。既に決定しつつあるマウス造血幹細胞の長期培養法の条件を様々な血液学的解析(移植を含む)を用いて実施し、造血幹細胞の長期培養のうち、活性を維持する条件の決定を行う。

【結果】各時期のマウス骨髄・あるいは造血幹・前駆細胞が含む代謝物プロファイルを取得することができた。これらの情報に基づいた培養中の代謝環境の最適化が可能となった。また、培養条件の細やかな検討を行い、移植実験も通じて幹細胞維持培養の条件の幹細胞活性に対する意義の検証を行った。



課題番号 : 29指2007

研究課題名 : 生体内を精密に再現した造血幹細胞培養法の開発 (田久保班)

主任研究者名 : 田久保 圭誉

分担研究者名 : 加部 泰明

キーワード : 造血幹細胞、幹細胞培養、幹細胞代謝、低酸素応答、メタボロミクス

研究成果 :

造血幹細胞は全ての血液細胞を生み出す能力がある。生後は骨髄の特殊な微小環境 (造血幹細胞ニッチ) に存在し、生涯にわたって分化血液細胞を供給する。造血幹細胞は造血器腫瘍に対する幹細胞移植などの様々な疾患の治療に用いられている。しかし、現状では幹細胞ドナーの数が限られており、限られたドナー由来の造血幹細胞を体外で増幅する方法が存在しないことも治療開発の際の障壁となっている。本研究課題において分担研究者は、これまで主任研究者が開発してきたマウス造血幹細胞の維持・増幅培養技術を洗練し、ヒト造血幹細胞への条件検討する際に必要な、「生体内の代謝環境の精密な検証」にメタボローム解析技術を通じて貢献する。

第1年度はマウス造血幹細胞の長期培養のための代謝物環境を同定するためにメタボローム解析を実施した。主任研究者が用意した骨髄や各種血液細胞から代謝物を抽出し、代謝物の網羅的な測定を実施し、骨髄が含有する代謝物プロファイルを明らかにした。また、データ解析から骨髄や血液細胞が局面ごとに駆動する代謝パスウェイの探索を行った。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：29指2007

研究課題名：生体内を精密に再現した造血幹細胞培養法の開発

主任研究者名：田久保 圭誉

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
該当無し				

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
該当無し				

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当無し				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
造血幹細胞を維持培養するための培地、及びそれをを用いた培養方法	特願2018-100036	(田久保圭誉、小林央)	(平成30年5月24日)	日本

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。