

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：正常造血及び白血病における幹細胞性とエピジェネティクス
2. 研究開発代表者：中内 啓光（東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分）
3. 相手国研究代表者：John E. Dick（トロント大学 Department of Molecular Genetics カナダ）
4. 研究開発の成果

造血幹細胞は最もよく研究された幹細胞であり、造血幹細胞移植という形で広く臨床応用されている。しかしながらドナー不足の問題と非自己の幹細胞移植による GVHD は依然として大きな問題となっており、iPS 細胞から造血幹細胞を分化誘導する手法を確立することが期待されている。また、白血病においては白血病幹細胞の存在が明らかとなり、再発防止には白血病幹細胞を標的とした新しい治療法の確立が必須である。

本プロジェクトでは、造血発生ならびに異常造血の分子機構をゲノム、遺伝子発現に加えてエピジェネティクスの観点から総合的に理解すること目標とし、カナダチームと連携しつつ研究を行っている。日本側は東京大学医科学研究所中内啓光チームが、エピジェネティクス制御遺伝子の機能アッセイのための造血幹細胞誘導システムの開発、京都大学医学部小川誠司チームが、白血病細胞におけるエピジェノムの解明をテーマに研究を行っている。

### 1) 中内チームの成果

昨年度までの中内チームの研究から、テラトーマ法を用いることにより骨髓由来造血幹細胞と機能的に同等な造血幹細胞を得ることに成功していたものの、その誘導効率は未だ低いものであった。本年度はその課題を解決すべく、1. 宿主側の造血系を欠損させることにより骨髓にニッチを作りだし、テラトーマ由来造血幹細胞の移入 (migration) をより効率よく誘導する試み、および2. ドナーiPS細胞に造血系に関わる転写因子を誘導することで、造血幹細胞のより効率的誘導をはかる検討を行った。1. についてはテラトーマ中で誘導された造血幹細胞が宿主側の骨髓ニッチに生着する効率を上げることを目的に、テラトーマを投与するホストマウス由来の造血幹細胞を除去するシステムの構築に成功した。2. については、マウスを用いた実験から、造血系に関与する複数の転写因子をテラトーマに強制発現することで効率的に造血幹細胞を含むさまざまな血液細胞を誘導することを明らかにし、ヒトへの応用が期待される。このように iPS 細胞からテラトーマ法を用い *in vivo* で必要とされる造血幹細胞を得るための検討は着実に前進している。

### 2) 小川チームの成果

骨髓異形成症候群 (MDS) は汎血球減少を伴う無効造血と高率の急性骨髓性白血病 (AML) への移行を特徴とする骨髓腫瘍性疾患である。AML においては、DNA メチル化に関わる遺伝子異常が認められることから、ゲノム異常によりエピゲノム異常が引き起こされ腫瘍化に関わることが想定されるが、その全容は未だ明らかとなっていない。昨年度の研究で、小川チームは、ゲノム異常とメチル化の異常が腫瘍の増悪や進展に非常に重要な役割を担っていることを報告した。本年度小川チームは、Tet-Assisted Bisulfite Sequencing (TAB-Seq) 技術をジェノタイプングに応用することで、遺伝子プロモーターおよび CpG island とその周辺領域を多数の検体で効率よく行う系を確立することに成功した。さらに本解析系を用いて AML の DNA 脱メチル化異常が起こっている可能性のある遺伝子の候補を挙げることができた。このように白血病患者試料を対象とした網羅的なエピゲノムマッピングというマイルストーンの達成に向けて着実に前進している。

以上