

[最近のトピックス]

In vivoイメージングによる幹細胞研究

田巻 玉器

Tamaki YOKOHAMA-TAMAKI

北海道医療大学歯学部口腔構造機能発育学系組織学分野

幹細胞は非対称分裂によって自己複製である娘細胞と、活発に分裂し分化に向かう前駆細胞に分かれる。幹細胞の多分化能の維持と細胞周期は、ニッチと呼ばれる特殊な微小環境の中に存在することで厳密に調節されている。幹細胞ニッチはニッチ細胞と細胞外マトリックスから構成され、未分化性を維持するための因子、分化を抑制するための因子、およびニッチ内に幹細胞をつなぎ止めておくための接着因子を備えていると考えられている。これらの複雑な幹細胞の制御機構が解明されれば、幹細胞を利用した再生医療への応用が可能になることから世界各国において盛んに研究が進められている。

近年の幹細胞研究では分子生物学的手法に加え、生きた組織もしくは動物内における幹細胞のライブイメージング解析が盛んに行われている。幹細胞がどのようにしてニッチ内にたどり着き、保持され、相互作用しているのかを明らかにするためには、幹細胞とその周囲の環境を同時に観察することで時空間的な情報が得られるイメージング技術が非常に有利となる。

ショウジョウバエや、ゼブラフィッシュの胚を用いた実験は、生殖幹細胞とその幹細胞ニッチが形態的に容易に同定できることや、これまで発生学で行われてきた分子生物学的手法が活用できるため、幹細胞とニッチ研究の優れたモデル系として使用されている。特にゼブラフィッシュの胚は透明であることから、特定の細胞を細胞マーカーや色素によって標識することで、胚の生体内でリアルタイムに細胞運動をとらえる事が可能である。生殖細胞系列では、発生初期に胚の尾側の尿管基部で将来生殖細胞へと分化する始原生殖細胞が形成される。始原生殖細胞は分裂を繰り返しながら体軸に沿って前進し、最初に形成された部位からかなり離れた生殖器にたどり着く。生殖器内の始原生殖細胞は幹細胞ニッチにつなぎ止められ、特別な分泌因子によって生殖幹細胞になり自己再生能力と多分化能を持つようになる。Boldajipourらは蛍光標識した始原生殖細胞をゼブラフィッシュ胚に注入することによって、幹細胞ニッチまでの移動をライブセルイメージングで観察している⁽¹⁾。

一方、マウスなどのほ乳類を用いた研究では、各臓器で同定されている成体幹細胞とニッチの存在部位が生体内の深部に存在しているために、顕微鏡の焦点深度の限

界や臓器の複雑な構造によっては幹細胞の動態を追うことが困難であった。しかし近年観察装置の進歩によって、造血系幹細胞とニッチの間の機能的な相互作用をリアルタイムに解析する試みが可能になりつつある。骨髄におけるニッチ細胞は骨膜表面の骨芽細胞、血管内皮細胞、さらにその他の前駆細胞であることが示唆されているが、直接的な相互作用の詳細は明らかではない。Xieらはマウスの長管骨の器官培養法を応用して骨髄内の幹細胞を多光子レーザー顕微鏡で追跡し、移植された幹細胞がいつ、どのくらいの時間で、どの部位に生着するかまでをリアルタイムで観察する事に成功している。さらに生着したニッチ内では幹細胞の分裂する様子が捕らえられた⁽²⁾。一方Celsoらは高解像度の共焦点レーザー顕微鏡とtwo-photon video imaging技術を使用して、マウスの生体内に移植した幹細胞を含む細胞集団を麻酔下のマウスの頭蓋冠骨髄組織の中で追跡し、その後の幹細胞の動態と生着部位を報告している⁽³⁾。

我々の研究室では現在マウスの切歯の歯胚を用いて、歯の幹細胞ニッチで発現している遺伝子の機能解析を行っている。今後これらのイメージング技術を使用して、歯の幹細胞ニッチの形成のメカニズムや、幹細胞とニッチの相互作用はどのようにして行われているのかを解明したい。

参考文献

- 1) Boldajipour B, Mahabaleshwar H, Kardash E, Reichman FM, Blaser H, Minina S, Wilson D, Xu Q and Raz E. Control of chemokine-guided cell migration by ligand sequestration. *Cell* 132 : 463-73, 2008
- 2) Xie Y, Yin T, Wiegraebe W, He XC, Miller D, Stark D, Perko K, Alexznder R, Schwartz J, Grindley JC, Park J, Haug JS, Wunderlich JP, Li H, Zhang S, Johnson T, Feldman RA and Li L. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging, *Nature* 457 : 97-101, 2009
- 3) Celso CL, Fleming HE, Wu JW, Zhao CX, Lye SM, Fujisaki J, Cote D, Rowe DW, Lin CP and Scadden DT. Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche, *Nature* 457 : 92-96, 2009