

## 共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：順天堂大学大学院医学研究科

職名：先任准教授

氏名：平澤(有川)恵理

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

### 記

1. 研究課題：

細胞外マトリックス分子、パールカンの幹細胞ニッチとしての生物学的意義の解明

2. 再生医科学研究所共同研究者：長澤丘司、尾松芳樹

3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題  
(平成22年4月1日～平成23年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

近年、幹細胞ニッチが細胞治療等新しい治療法のターゲットとして着目されている。これまで成体では新生しないとされていた脳においても成体神経新生の存在が明示され、そのニッチが着目される。基底膜等を構成する細胞外マトリックス、特にプロテオグリカンはニッチ構成の重要な要素と考えられるがその分子基盤は不詳である。中でも基底膜型ヘパラン硫酸プロテオグリカン、パールカンは成長因子等との多様な結合活性から、特に着目すべき分子である。本研究では、その遺伝子改変マウスの解析から明確な基底膜構造を持たない脳、骨髄、軟骨における細胞外マトリックス分子のニッチとしての存在意義を示し、幹細胞の増殖、分化の制御を目指した。パールカン機能完全欠損マウス及び、軟骨以外でパールカンを欠損するマウスを使用して、順天堂大学では成体神経新生と膝関節滑膜細胞を、京都大学では骨髄造血能を解析し、その知見を情報交換することで、共通あるいは固有のニッチ機能を明らかにするための共同研究である。年度途中より、順天堂大学血液内科高久も参加し、京都大学において情報交換を行なった。高久らは、米国NIHにて骨髄内パールカンがマトリックスネットワークを構築していることを示しており (Takaku et al Blood 2010) , これと整合し

て長澤らは CAR 細胞でのパールカンの特異的発現を免疫染色、定量 RT-PCR で確認した（未発表データ他）。更に順天堂大学で骨髄の近傍の膝関節滑膜細胞でもパールカンの強い発現が免疫組織化学染色で観察され、滑膜細胞の幹細胞の分離・同定とその分化誘導機構の解明に挑戦する研究も開始した（協力研究者：順天堂大学整形外科 金子、石島）。また、骨髄におけるヘパラン硫酸鎖の局在を免疫組織化学的に観察したところ、パールカン欠損骨髄ではその局在形式に変化を認めた（未発表データ）。これらの知見は、今後の共同研究推進に重要な結果と思われた。一方、成体の神経幹細胞からの神経新生におけるパールカンの働きについても以下の方法により、新しい知見が得られた（論文投稿準備中）。サイトカインの脳室内投与（ICV）は手技が確立されており、我々も基礎データを多く持つのでこれを行なう。同時に BrDU を投与することにより、サイトカイン刺激により増殖した細胞をマークする。BrDU 陽性細胞を分化マーカーで経時的に追跡し、その運命を確認、神経幹細胞は抗 CD133 抗体でマークする。その増殖能は BrDU/CD133 二重陽性細胞で検討する。この結果、パールカン欠損脳では FGF-2 による成体の神経幹細胞からの神経新生促進能が有意に低下している可能性が示唆された。その分子機構については、さらに in vitro の系を使った実験が必要と思われた。本研究期間終了後も引き続き長澤研究室と共同研究を継続し、基底膜プロテオグリカンの組織幹細胞維持における作用と作用機構を骨髄と脳で明らかにして行く予定である。

## 5. 研究成果の公表

※発表論文リスト（掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可）、学会発表等  
平澤

Perlecan participates in maintenance and activation of CD133-positive quiescent neural stem cells in adult brain

Aurelien Kerever, Frederic Mercier, Yuka Oda, Bernard Zalc, Yohei Okada Yoshihiko Yamada and Eri Arikawa-Hirasawa（論文投稿準備中）

長澤

The Essential Functions of Adipo-osteogenic Progenitors as the Hematopoietic Stem and Progenitor Cell Niche.

Omatsu, T., Sugiyama, T., Kohara, H., Kondoh, G., Fujii, N., Kohno, K., \*Nagasawa, T.  
*Immunity* (2010) Sep 24. 33; 387-399,

協力研究者 高久（参考）

Hematopoiesis in 3 dimensions: human and murine bone marrow architecture visualized by confocal microscopy.

Takaku T., Malide D, Chen J, Calado RT, Kajigaya S, Young NS.  
*Blood* (2010) Oct 14;116(15):e41-55. Epub 2010 Jul 20.