

骨髓球バイパスを含む造血システムの数理モデル

岩波翔也¹, 山本玲², 岩見真吾^{3,4}, 波江野洋³

九州大学大学院システム生命科学府¹

Institute for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, Stanford University School of Medicine²

九州大学大学院理学研究院生物科学部門³

科学技術振興機構さきがけ⁴

Shoya Iwanami¹, Ryo Yamamoto², Shingo Iwami^{3,4}, Hiroshi Haeno³

Graduate School of Systems Life Sciences, Kyushu University¹

Institute for Stem Cell Biology and Regenerative Medicine, Stanford University School of Medicine²

Department of Biology, Faculty of Sciences, Kyushu University³

PRESTO, Japan Science and Technology Agency⁴

1 はじめに

造血システムは、自己複製能力と多分化能力を有する造血幹細胞 (HSC: hematopoietic stem cell) によって維持されている。従来の考え方では、HSC から分化を経て、自己複製能力を持たないが多分化能力を有する多能性前駆細胞 (MPP: multipotent progenitor) が作られる。そこからさらに分化を重ね、自己複製能力を持たず分化系統が限定された前駆細胞が作られ、最終的に成熟した血球細胞に分化と考えられている。また、造血組織を構成する細胞やその階層性は詳細に調べられており、それぞれの分化ステージにおいて、それぞれの細胞に特徴的に発現する遺伝子が知られている¹。さらに、HSC は、多数の血球細胞とともに、放射線処理によって造血能力を失ったマウスに移植すると、その造血システムを再構築できることも知られている²。対照的に、MPP 単体による血球の再生産は一時的にしか現れない。この、HSC と MPP の再生産能力の差は自己複製能力の差によるものだと考えられている³。

近年の研究から、HSC には自己複製能力の多様性があることが示されており、長期的な自己複製能力を有する HSC を LT-HSC (long-term HSC)、短期的な自己複製能力を有する HSC を ST-HSC などと呼んでいる⁴。また、HSC の段階において、すでに分化能力が特定の細胞に偏っている細胞があることが知られている⁵。スタンフォード大学の山本玲らは、造血幹細胞だと考えられていた細胞集団の中に、自己複製能力を持ちながら分化能力が限定された骨髓球系前駆細胞 (MyRP: myeloid-restricted progenitors with long-term repopulating activity) が存在することを発見した³。この研究では、まず5系統の血球細胞 (赤血球、血小板、顆粒球、B 細胞、T 細胞) において赤色の蛍光タンパク質であるクサビラオレンジを発現するマウスの系統を作り、細胞膜マーカーにより造血幹細胞と分類される区画から1細胞を採取した。このクサビラオレンジを発現する細胞1個と、発現しない血球細胞 2×10^5 個を、放

射線処理によって造血能力を失ったマウスに移植し、経過観察によって、クサビラオレンジが発現している細胞から分化した成熟した細胞の全体に占める割合（キメラ率）を測定した。この実験は、5系統の血球細胞を同時に観察した初めての実験であった。この結果、遺伝子発現によって造血幹細胞だと思われていた細胞区画の中に、長期的（8週以上）な血球細胞の生産能力を持ちながら、骨髄球系（赤血球、血小板、顆粒球）しか作ることのできない細胞が存在することが初めて明らかになったのである。また、山本らはこの細胞（MyRP）がMPPを経るのではなく、HSCから直接分化することも、PDC (paired daughter cell) assay と1細胞移植実験を組み合わせることで示した³。本研究ではMyRPを含む造血幹細胞分化の数理モデルを構築し、1細胞移植実験データの解析を行った。骨髄球系細胞の生産に特化した自己複製能力を持つ細胞が、造血組織の階層性の中に存在する意義や、造血組織の機能に与える影響を解明することは、特定の血球細胞の量産や白血病などの造血組織由来の疾患の原因解明に重要であると考えられる。

2 造血幹細胞の1細胞移植実験

本研究で用いた1細胞移植実験データは、細胞膜タンパク質によってHSCに分類される細胞(CD150⁺CD41⁻CD34⁻c-Kit⁺Sca-1⁺ lineage)を移植して得られた。この実験では、放射線処理により造血組織を破壊したマウスに、蛍光タンパク質を発現させた造血細胞1個を移植し、造血システムの再構築の様子を経時的に測定した。末梢の血液から血球細胞における蛍光細胞の割合（キメラ率）を24週目まで測定している³。

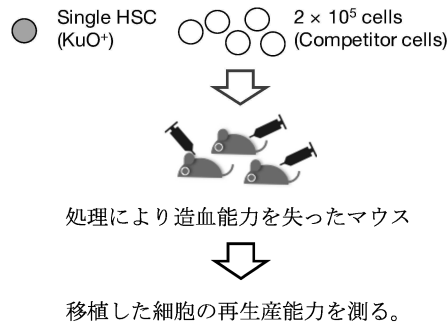


図1：1細胞移植実験の概要

この実験に基づき、骨髄球系に特化した前駆細胞（MyRP）を従来考えられてきた造血組織の細胞集団に加えた数理モデルを用いて、1細胞移植実験データを解析する。単純化のために、LT-HSC、ST-HSC、MyRP、リンパ球系細胞、骨髄球系細胞の5つの細胞集団の増殖動態を微分方程式で表し、データとの

フィッティングによってそれぞれの細胞集団の特性を調べる。この研究では、造血組織の維持に MyRP が果たす役割を示すとともに、1細胞解析による最新の実験データに即した造血組織の動態を示す。

3 造血幹細胞分化の数理モデル

本数理モデルでは造血組織を構成する $X_0 \sim X_4$ の5つの集団を想定する。単純化のために、成熟した血球細胞は、大きくリンパ球 (T細胞、B細胞) と骨髄球 (赤血球、血小板、顆粒球) という2つに分けて考える。 X_3 がリンパ球、 X_4 が骨髄球である。分化の階層構造の一番上流上流に当たる細胞を X_0 とし、これは LT-HSC の役割を果たす。すなわち、最終的に全ての血球細胞 (X_3 、 X_4) に分化することができ、自身と同じ細胞 (X_0) を長期的に作るができる自己複製能力を持つ。 X_0 は分化することにより、 X_1 と X_2 を作る。 X_1 は、ST-HSC に対応し X_0 と同じように自己複製能力を持ち、 X_3 と X_4 に分化することができる。 X_2 は、新たに発見された MyRP に相当するものであり、自己複製能力を持つが、分化することのできる細胞は X_4 に限定されている (図2)。つまり、このモデルでは LT-HSC からの分化経路に関して、多分化能力を保持しながら分化する経路と、早い段階で分化が限定する経路 (骨髄球バイパス) の二つの経路を考えている。現実にはより細かい細胞集団の分類がなされているが、ここでは単純化のために5つの細胞集団に限定して考える。

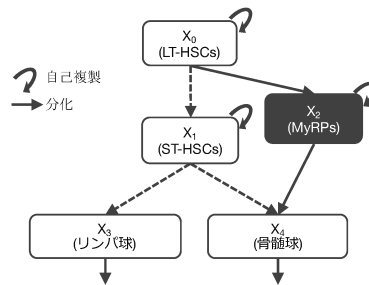


図2: 骨髄球バイパスを含む分化モデル

次に、それぞれの集団の増殖、分化に関わるパラメータを設定する。先に述べたように、 X_0 、 X_1 、 X_2 は自己複製能力を持つことから、自身の数を増殖させることができると仮定し、その増殖速度を a_i ($i = 0, 1, 2$) とする。また、 X_0 は X_1 と X_2 に分化することから、それらの産生速度を b_i ($i = 1, 2$) とする。さらに、 X_1 は X_3 と X_4 に分化し、 X_2 は X_4 に分化するので、それぞれの産生速度を c_{13} 、 c_{14} 、 c_{24} とする。 X_3 と X_4 は成熟した血球細胞であるので、一定の速度で死亡すると仮定し、その死亡速度を d_i ($i = 3, 4$) とする。

以上の仮定により、各集団の数をそれぞれ n_i ($i = 0, 1, 2, 3, 4$) とすると、その動態は微分方程式を用

いて以下のように表すことができる。

$$\frac{dn_0}{dt} = a_0 n,$$

$$\frac{dn_1}{dt} = b_1 n_0 + a_1 n_1,$$

$$\frac{dn_2}{dt} = b_2 n_2 + a_2 n_2,$$

$$\frac{dn_3}{dt} = c_{13} n_1 - d_3 n_3,$$

$$\frac{dn_4}{dt} = c_{14} n_1 + c_{24} n_2 - d_4 n_4.$$

4 パラメータ推定

本研究で使用する1細胞移植実験データは、上述の通り、蛍光タンパクを発現している細胞1個と発現していない血球細胞を放射線処理したマウスに移植し、造血組織を再構築させて、成熟した血球細胞における蛍光タンパク質を発現しているものの割合（キメラ率）を計測している³。そこで、前節で得られた微分方程式系を2つ考え、蛍光タンパク質が発現した細胞（マーカーと呼ぶ）と、発現していない細胞（コンペティターと呼ぶ）の集団に分けて、その動態を考える。マーカーの各集団の数をそれぞれ x_i ($i = 0,1,2,3,4$)、コンペティターの各集団の数をそれぞれ y_i ($i = 0,1,2,3,4$) とすると、以下のように表すことができる。

$$\frac{dx_0}{dt} = a_0 x_0,$$

$$\frac{dx_1}{dt} = b_1 x_0 + a_1 x_1,$$

$$\frac{dx_2}{dt} = b_2 x_2 + a_2 x_2,$$

$$\frac{dx_3}{dt} = c_{13} x_1 - d_3 x_3,$$

$$\frac{dx_4}{dt} = c_{14} x_1 + c_{24} x_2 - d_4 x_4.$$

$$\frac{dy_0}{dt} = a_0 y_0,$$

$$\frac{dy_1}{dt} = b_1 y_0 + a_1 y_1,$$

$$\frac{dy_2}{dt} = b_2 y_2 + a_2 y_2,$$

$$\frac{dy_3}{dt} = c_{13} y_1 - d_3 y_3,$$

$$\frac{dy_4}{dt} = c_{14} y_1 + c_{24} y_2 - d_4 y_4.$$

これらの式から、成熟した血球細胞のキメラ率を計算すると、以下のようになる。

$$C_i = \frac{x_i}{x_i + y_i} \times 100.$$

ここで、 C_i ($i = 3, 4$) はそれぞれリンパ球、骨髄球のキメラ率である。

さらに、1細胞移植実験データの解析のために、二つの仮定を置いた。一つは、微分方程式中のパラメータは各実験(各マウス)で共通であるという仮定である。もう一つは、最初に移植したコンペティターに含まれる $X_0 \sim X_2$ の数(すなわち y_i ($i = 0, 1, 2$) の初期値)は、各実験(各マウス)で異なるという仮定である。つまり、最初に移植したマーカーの種類が同じであるとき、時系列データの違いは y_i ($i = 0, 1, 2$) の初期値によるものであるとした。

図3は、数理モデルを用いて、1細胞移植実験の中で移植したマーカーがLT-HSCであると判別された10実験の時系列データを解析したものである。この解析では、リンパ球としてB細胞を、骨髄球として血小板を用いた。図3中の●と▲は、それぞれ1細胞移植実験で得られたB細胞と血小板の時系列データを示している。また、実線と破線は数理モデルの C_3 と C_4 である。

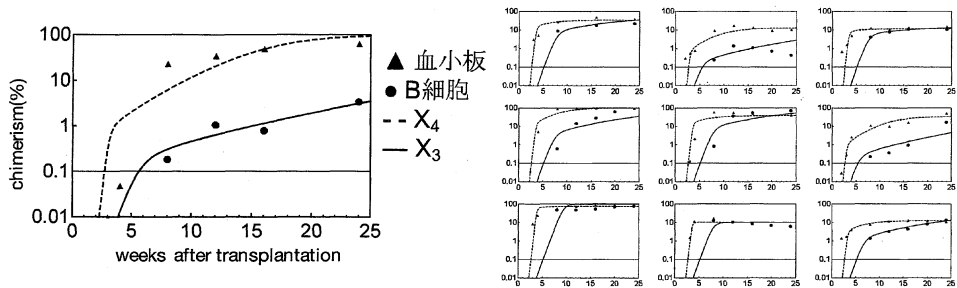


図3：時系列データとフィットしたモデル

この解析から推定されたパラメータは図4にまとめられている。

推定されたパラメータの値 [per week]					
種類	production		growth		death
X_0	-		a_0	0.469	-
X_1	b_1	0.00756	a_1	0.319	-
X_2	b_2	0.285	a_2	0.640	-
X_3	c_{13}	40.940	-		d_3 1.229
X_4	c_{14}	71.105	-		d_4 4.446
	c_{24}	44.690			

図4: 推定されたパラメータの値

さらに、各実験における y_i ($i = 0, 1, 2$) の初期値も同時に推定した。図5は40回の推定における、移植したコンペティターに含まれる $X_0 \sim X_2$ の数のそれぞれの平均の分布を示している。

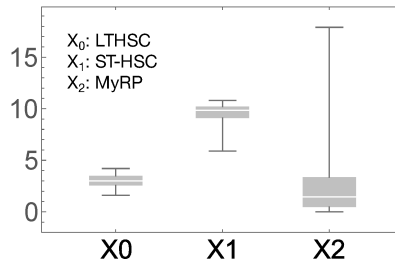


図5: 推定されたコンペティターの初期値の値

5 考察とまとめ

本研究では、自己複製能力を持ちながら分化能力が限定された骨髓球系前駆細胞 (MyRP: myeloid-restricted progenitors with long-term repopulating activity) の発見を元に、初めて、骨髓球バイパスを含む造血システムの数理モデルを構築した。この数理モデルを用いて、HSCの1細胞移植実験データを解析した結果、移植の系において、MyRPはST-HSCより増殖速度が大きく ($a_2 > a_1$)、LT-HSCの分化は、ST-HSCよりMyRPに傾いており ($b_2 > b_1$)、血小板はB細胞より死亡速度が大きい ($d_4 > d_3$) ことがわかった。これらことから、移植後、血小板は主にMyRPを通る経路で生産されているということが言える。さらに、推定された、移植したコンペティターに含まれる X_2 の数が少ないことから、平常状態での血中のMyRPの数は少ないと予想される。この2点を合わせると、MyRPは健常状態ではあまり存在せず、移植時のような緊急時には多く作られることが分かる。すなわち、骨髓球バイパスは血小板の再生産の主要な経路となっていると言える。

現在、HSCの分化経路の解明は盛んに行われており、バイオインフォマティクスなどの手法によって、膨大な遺伝子配列データから新しいモデルが提唱されつつある。しかし、実際に体内で起きている

幹細胞分化を直接追うことは未だ困難であるので、本研究のような数理モデルによるダイナミックなアプローチが、分化経路解明への先駆けとなることが期待される。

6 References

- 1 Orkin, S. H. & Zon, L. I. Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell* **132**, 631-644, doi:10.1016/j.cell.2008.01.025 (2008).
- 2 Eaves, C. J. Hematopoietic stem cells: concepts, definitions, and the new reality. *Blood* **125**, 2605-2613, doi:10.1182/blood-2014-12-570200 (2015).
- 3 Yamamoto, R. *et al.* Clonal analysis unveils self-renewing lineage-restricted progenitors generated directly from hematopoietic stem cells. *Cell* **154**, 1112-1126, doi:10.1016/j.cell.2013.08.007 (2013).
- 4 Wilson, A. *et al.* Hematopoietic stem cells reversibly switch from dormancy to self-renewal during homeostasis and repair. *Cell* **135**, 1118-1129, doi:10.1016/j.cell.2008.10.048 (2008).
- 5 Notta, F. *et al.* Distinct routes of lineage development reshape the human blood hierarchy across ontogeny. *Science* **351**, 139-+, doi:10.1126/science.aab2116 (2016).