

Vol. **20**
Oct. 2018

The logo features a large, stylized 'C' composed of two concentric circles, the outer one in a vibrant blue and the inner one in a lighter, sky-blue shade. To the right of the 'C', the letters 'RJ' are written in a simple, black-outlined font. Below 'RJ', the word 'LETTERS' is written in a larger, black-outlined, sans-serif font. A thin black line extends from the bottom right of the 'S' in 'LETTERS' and continues diagonally across the page.

ヒト臍帯血由来造血幹細胞の純化と階層制の解明

日本チャールス・リバー株式会社

ヒト臍帯血由来造血幹細胞の純化と階層制の解明

関西医科大学 iPS・幹細胞再生医学講座 客員教授

藺田 精昭

要旨：

我々は、骨髓内直接移植 (IBMI) 法を開発することにより、マウスで最も未分化な造血幹細胞 (HSC) と考えられている CD34⁺ 抗原陰性 (CD34⁻) KSL 細胞 (Science, 1996) の counterpart である CD34⁺ SCID-repopulating cell (SRC) がヒト臍帯血 (CB) 中に存在する事を世界で初めて明らかにしている (Blood, 2003)。この CB 由来 CD34⁺ SRC (HSC) は、これまで最も未分化と考えられていた CD34⁺CD38⁻CD90⁺ SRC (HSC) (Science, 2011) を *in vitro* 及び *in vivo* で産生することができる。加えて、CD34⁺ SRC の長期骨髓再構築能について解析すると、NOG マウスで 1 次、2 次、3 次移植 (1 年以上) まで可能な myeloid-biased long-term repopulating HSC であることが明らかになった。このことは、CB 由来 CD34⁺ SRC が、ヒト HSC の階層制において頂点に位置することを示唆している。最近、我々は、CD34⁺ SRC (HSC) の陽性 / 濃縮純化マーカーとして CD133 抗原 (Leukemia, 2014) と GPI-80 抗原 (Blood, 2016) の同定に成功した。最終的に、2 つの陽性マーカーを同時に用いることで CD34⁺ HSC をほぼ完全に純化することに世界で初めて成功した (Nat Commun, 2018)。その結果、CD34⁺ HSC は、自己複製能と長期骨髓再構築能を兼ね備えた未分化な HSC であり、従来の CD34⁺ HSC とは異なるクラスに属するヒト HSC と考えられた。加えて、CD34⁺ HSC が、高い赤血球・巨核球系細胞への分化能を有することも明らかにした。以上より、ヒト CB 由来の CD34⁺ HSC が、階層制上で頂点に位置する未分化ヒト HSC であると共に、新たな分化経路 (Bypass route) を示す可能性を提唱した (Nat Commun, 2018)。

1) はじめに

造血幹細胞 (HSC) は、自己複製能と多分化能を併せ持つ細胞と定義されており、骨髓、臍帯血 (CB)、末梢血中に存在することが明らかにされている。中でも、骨髓はヒト最大の臓器であり、1 日で赤血球 2000 億個、白血球 700 億個を含む 1 兆個もの血液細胞を供給している。HSC の骨髓中の存在頻度は、有核細胞の約 10 万個に 1 個程度と非常に低いために、その同定・分離・純化は長い間困難であった。周知のように、HSC は均一な細胞集団ではなく、未分化多能性幹細胞から造血前駆細胞 (HPC) を経て、すべての成熟血球細胞を供給している。そして、HSC は分化に伴って自己複製能や多分化能を失っていくと考えられている。

造血幹細胞移植 (Hematopoietic stem cell transplantation, HSCT) は、白血病や再生不良性貧血などの血液難病の治療を可能にする唯一の治療法である。本邦では、様々な疾患に対して年間約 3,500 例の同種造血幹細胞移植が行われている。この内、約 1,200 例が非血縁者間臍帯血移植 (UCBT) である。この HSCT の根幹をなすものが HSC である。骨髓、CB、あるいは末梢血などの移植片に含まれる HSCs によって、移植後にレシピエントの造血が再構築される。少子高齢化社会を迎えて、UCBT の重要性は益々高まっていくものと予測されている。しかしながら、UCBT における生着不全や造血回復の遅延などの臨床的な課題は未だに克服されていない。近い将来、より安全で効率的な UCBT を開発・確立するためには、ヒト CB 由来 HSC の本体の解明が必須不可欠であり、そのためにヒト HSC の陽性分子マーカーの同定とその完全純化法の開発が待たれていた。

本稿では、HSCT の根幹をなすヒト HSC に焦点

を絞り、われわれが世界で初めて同定に成功したCD34抗原陰性 (CD34⁻) HSC(1)の生物学的な特性について最新の研究成果を紹介する。

2) HSC/HPC の測定法の開発

ヒト造血幹細胞 / 前駆細胞 (HSC/HPC) に関する研究は、その測定法の開発と並行して進展してきた。1960 年代以降に *in vitro* コロニー形成法が開発され、これを用いて D. Metcalf や M. Ogawa らにより、HPC の増殖・分化経路に関する詳細な研究が展開された。一連の研究により、コロニー形成刺激因子 (Colony stimulating factor, CSF) として多くの造血因子が発見・同定されている。1970 年代には、Dexter らによりストローマ細胞との共培養系が開発された。この共培養系を用いるとコロニー形成法よりも長期の培養が可能であり、より未分化な long-term culture-initiating cell (LTC-IC) の測定が可能になった。しかしながら、これらの測定法では、HPC の測定はできるものの、最も未分化な HSC の測定は不可能であった。1980 年代以降になると、カナダの J. Dick らにより、重症免疫不全 (NOD-scid) マウスを用いる異種間移植系が開発され、非常に未分化な HSC が SCID-repopulating cell (SRC) として測定可能となった (2)。このような研究の進展には、細胞を識別・分取するセルソーター (Fluorescence activated cell sorting, FACS) 技術の開発・進展と、多くのモノクローナル抗体の開発が必須不可欠であった。加えて、高感度の SRC 測定系の開発には、より高いヒト造血細胞の生着を可能とする移植用重症免疫不全マウスが重要となる。1990 ~ 2000 年代にかけて、NOD/SCID/ $\beta 2$ microglobulin^{null} マウス、NOD/Shi-scid IL2R γ null (NOG) マウス、NOD/LtSz-scid IL2R γ null (NSG) マウスなどが相次いで開発され、ヒト HSC の高精度な測定が可能となった (3)。

3) ヒト未分化 CD34⁺/SRC (HSC) の超高度純化法の開発：ヒト CB 由来未分化 CD34⁺/SRC (HSC) の完全純化

前述したように、ヒト未分化 HSC は、重症免疫不全マウスを用いる異種間移植系において SRC として測定される。ヒト未分化 CD34⁺/HSC の未分化性維持、増殖・分化機構を解明するためには、CD34⁺/SRC (HSC) の完全純化が必要である。そこで、新たに開発した 18 lineage 抗体を用いる高度純化法 (4) を用いて、陽性分子マーカーである CD133 抗原 (5) と GPI-80 抗原 (6) を同定した。以上の実験結果に基づいて、CD133 と GPI-80 に対する抗体を同時に用いる 3 laser 7 color FACS 法 (図 1) を開発した。本法によれば、CB 由来 CD34⁺/SRC (HSC) を各々頻度 1/5 及び 1/8 に純化可能であり、最終的に単一細胞移植により幹細胞特性について解析することが可能となった (7)。

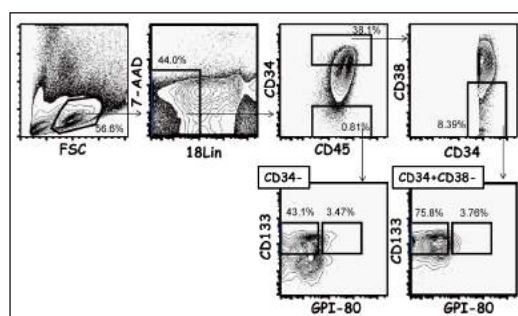


図1：CD133抗原とGPI-80抗原に対する抗体を同時に用いるCD34⁺/HSCの超高度純化法 (3 laser 7 color FACS法)

図 2 に、本法で純化した $18\text{Lin}^{-}\text{CD}34^{+}\text{CD}133^{+}\text{GPI-80}^{+}$ 細胞 (A) と $18\text{Lin}^{-}\text{CD}34^{+}\text{CD}38^{+}\text{CD}133^{+}\text{GPI-80}^{+}$ 細胞 (B) を示す。両細胞共に直径 $10\ \mu\text{m}$ 前後で細胞質に乏しく、繊細な核網と複数の核小体を持つ芽球様細胞である。純化した単一HSCを用いることにより、移植可能な真のHSCにおける遺伝子発現パターンが明らかになり、自己複製や未分化性維持に重要な分子機構が解明されることが期待される。

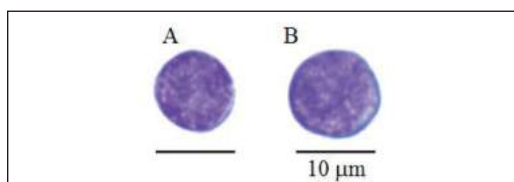


図 2 : CB から純化したヒト HSC (7) より改変引用
(A) $18\text{Lin}^{-}\text{CD}34^{+}\text{CD}133^{+}\text{GPI-80}^{+}$ 細胞
(B) $18\text{Lin}^{-}\text{CD}34^{+}\text{CD}38^{+}\text{CD}133^{+}\text{GPI-80}^{+}$ 細胞

4) 単一細胞移植系の開発・確立

我々は、ACDU により標的細胞を 60well MiniTray にクローンソートし、倒立顕微鏡下に細胞を 1 個ずつ吸引し、骨髓内直接移植 (IBMI) 法 (1) で NSG マウス左脛骨内に正確に移植する方法を開発した。図 2A で示した純化 $\text{CD}34^{+}$ 細胞 1 個を IBMI 法で NSG マウス左脛骨内に移植し、20 週後に FACS 解析を行った (図 3)。その結果、 $\text{CD}34^{+}$ 細胞を含む多血球系統への分化が確認された。加えて、6 カ月毎の二次、三次移植においても多血球系統への分化能が認められ、純化した $\text{CD}34^{+}\text{HSC}$ が 1 年半に亘り造血再構築能を保持することが示された。このことは、 $\text{CD}34^{+}\text{HSC}$ が、高い自己複製能と多分化能を持った未分化ヒト HSC であることを示している (7)。

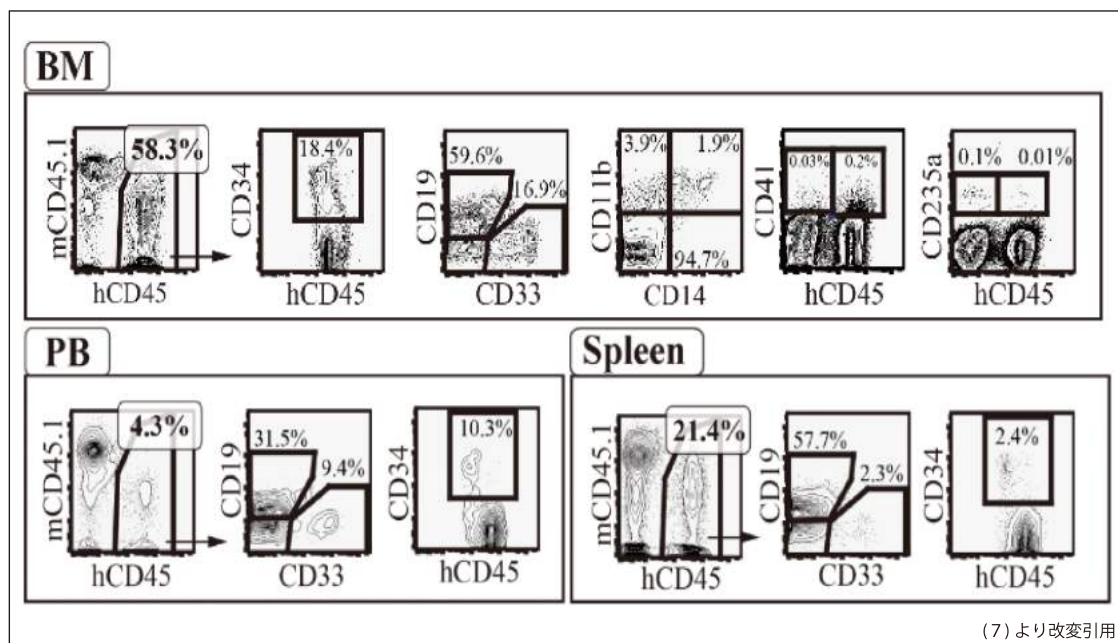


図 3 : 1 個の $18\text{Lin}^{-}\text{CD}34^{+}\text{CD}133^{+}\text{GPI-80}^{+}$ 細胞移植後 20 週目の NSG マウス骨髓、末梢血、脾臓におけるヒト造血の再構築

5) 単一細胞移植系における NSG マウスの優位性について

ヒト CB 由来 CD34⁺/HSCs の幹細胞特性を明らかにするためには、単一細胞移植系において、自己複製能や増殖・分化能を詳細に解析する必要がある。このことは表面免疫特性で純化した CD34⁺/HSCs の遺伝子発現パターンに、なお heterogeneity が認められること（後述、図 4,5,6 参照）からも非常に重要なことと考えられる（7）。

現在、ヒト未分化HSCは、重症免疫不全マウス（NSGあるいはNOGマウス）を用いる異種間移植系においてSRCとして測定されている。我々が開発したCD34⁺/HSCの超高度純化法（3 laser 7 color FACS法）（図1）を用いて分取した18Lin⁻CD34⁺CD133⁺GPI-80⁺細胞（図2-A）と18Lin⁻CD34⁺CD38⁻CD133⁺GPI-80⁺細胞（図2-B）を各々200個づつNSGあるいはNOGマウスに

IBMI法で移植した場合、ほぼすべてのマウスで生着すると共に、生着率、分化能に有意な差は認められなかった（7）。一方で、究極の移植系である単一細胞移植においては、表1に示すようにCD34⁺/HSCのいずれの移植においてもNSGマウスの方が生着頻度が高かった（7）。しかしながら、ヒトCD45⁺細胞の生着率や分化能に明らかな差は認められなかった。

これまでに少数のHSCを移植する場合には、NSGマウスの方がNOGマウスよりも高率にヒト造血を支持することが報告されている。しかしながら、同様の表現型を持つこれらのマウスでの生着頻度の差が何に起因するのかは明らかにされていない。我々の予備的な検討では、自然免疫系によるヒトHSCの排除がNOG、NSGマウスにおけるヒト造血細胞の生着に重要な役割を果たしている可能性が示唆されている（8）。

Primary transplantation								
Type of cells transplanted into the PR mice	Strain and number of PR mice	Incidence of engraftment in the PR mice (%)	Mouse ID		% of human CD45 ⁺ cells in the respective sites of the PR mice			
					LT	OB	PB	Spleen
18Lin ⁻ CD34 ⁺ CD38 ⁻ CD133 ⁺ GPI-80 ⁺	NOG 57	3/57 (5.3)	34 ⁺	NOG003	17.0	15.3	2.1	11.6
				NOG024	3.9	4.1	1.4	10.6
				NOG041	1.0	0.8	0.3	1.5
	NSG 62	7/62 (11.3)	34 ⁺	NSG001	38.2	64.3	2.3	51.9
				NSG009	1.1	n.d.	n.d.	n.d.
				NSG010	45.1	16.0	0.2	1.0
				NSG016	19.5	22.4	2.2	15.5
				NSG017	0.8	n.d.	n.d.	n.d.
				NSG019	10.6	13.0	0.7	10.7
				NSG046	42.7	0.5	18.3	13.8
18Lin ⁻ CD34 ⁻ CD133 ⁺ GPI-80 ⁺	NOG 78	2/78 (2.6)	34 ⁻	NOG020	2.5	1.1	0.2	3.9
				NOG033	8.6	4.8	20.6	59.5
	NSG 100	6/100 (6.0)	34 ⁻	NSG012	1.0	n.d.	n.d.	n.d.
				NSG027	30.1	58.3	4.3	21.4
				NSG028	0.9	n.d.	n.d.	n.d.
				NSG058	25.4	9.9	3.1	42.7
				NSG076	4.6	33.6	0.1	1.0
				NSG079	23.8	0.3	0.5	0.5

表 1. CD34⁺/HSC の単一細胞移植結果

(7) より改変引用

PR = Primary Recipient mice,

LT = Left Tibia (injected site), OB = Other Bone (including right tibia and both femurs), PB = Peripheral Blood, SP = Spleen

n.d. = Not detected

Human cell reconstitutions in PR mice were analyzed 20 to 24 weeks after transplantation.

6) 単一細胞レベルの遺伝子発現解析

図2の純化細胞を標的としてHSCの自己複製、幹細胞性維持、細胞周期、増殖・分化等に重要な80個の遺伝子発現パターンについて、576個の単一細胞を用いてBioMark HDシステムで解析した。図4にPrincipal component analysis (PCA) 解析による遺伝子発現パターンの多変量解析の結果を示す。18Lin-CD34⁺CD133⁺GPI-80⁺分画細胞(△)は、18Lin-CD34⁺CD38⁺CD133⁺GPI-80⁺分画細胞(●)及びCD34⁺CD38⁺CD45RA⁺CD90⁺(+)分画細胞とは明確に異なる集団に区別された。以上より、我々が同定したCD34⁺HSCは、従来未分化とされていたCD34⁺CD38⁺CD90⁺HSCとは階層制上異なるクラスのHSCであることが強く示唆された(7)。

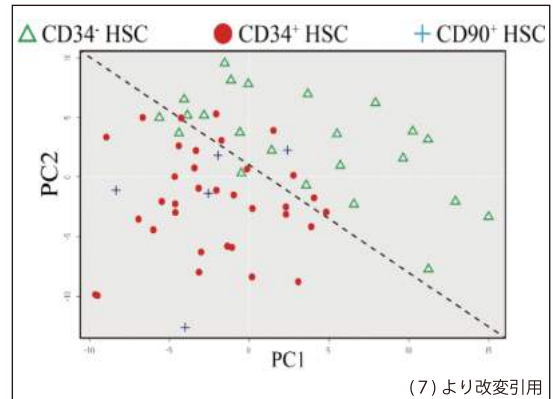
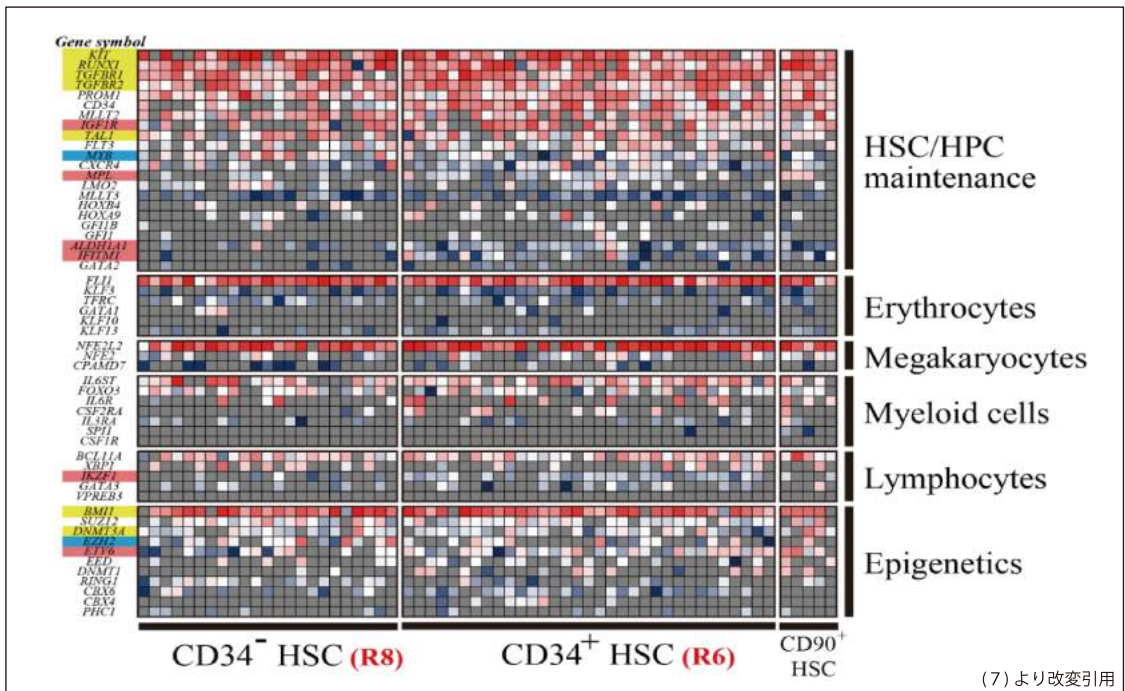


図4: PCA plot 解析

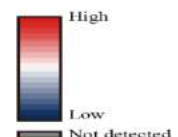
次に、これらの遺伝子発現パターンについてheatmap解析を行ったところ、CD34⁺HSCの遺伝子発現パターンには明瞭な違いが認められることが明らかにされた(図5)(7)。



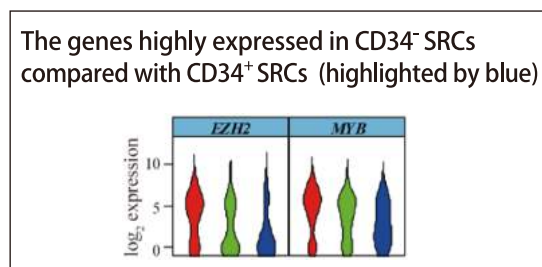
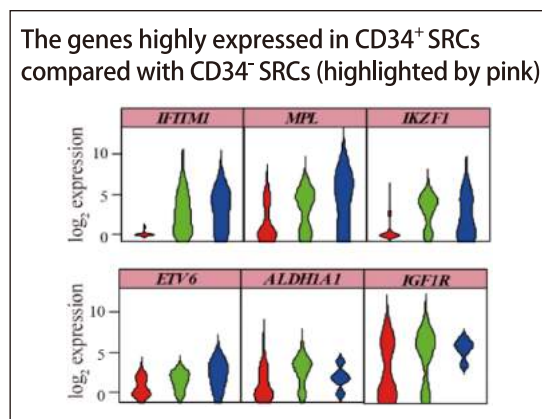
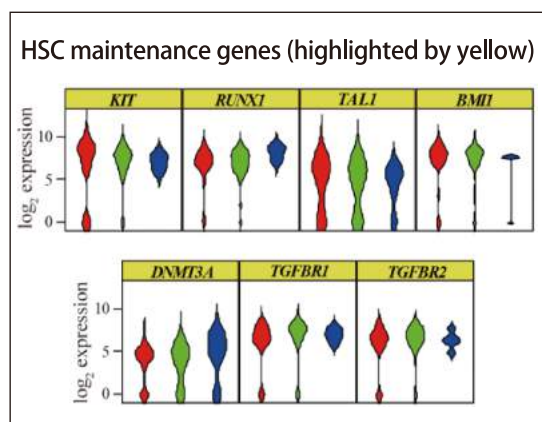
(図5) 単一細胞レベルのHeatmap解析

CD34⁻: 18Lin-CD34⁺CD133⁺GPI-80⁺細胞
 CD34⁺: 18Lin-CD34⁺CD38⁺CD133⁺GPI-80⁺細胞
 CD90⁺: 12Lin-CD34⁺CD38⁺CD45RA⁺CD90⁺細胞

*遺伝子名のカラー表示(イエロー、ピンク、ブルー)は、図6と対応している。



加えて、これらの遺伝子発現パターンについて violin plot 解析を行ったところ、CD34⁺HSC の遺伝子発現パターンには明瞭な違いが認められることが明らかにされた（図6）（7）。



(7) より改変引用

(図6) 単一細胞レベルの Violin plot 解析

CD34⁻: 18Lin⁻CD34⁻CD133⁺GPI-80⁺ 細胞

CD34⁺: 18Lin⁻CD34⁺CD38⁺CD133⁺GPI-80⁺ 細胞

CD90⁺: 12Lin⁻CD34⁺CD38⁺CD45RA⁺CD90⁺ 細胞

■ CD34⁻ HSC

■ CD34⁺ HSC

■ CD90⁺ HSC

従来の報告により HSC の維持に重要と考えられている遺伝子 (KIT, RUNX1, TAL1, BMI1, DNMT3A, TGFβR など) は、CD34⁻ HSC, CD34⁺ HSC, CD90⁺ HSC のいずれにおいても高い発現が認められた。一方、IFITM1, MPL, IKZF1, ETV6, ALDH1A1, IGF1R などの遺伝子は、CD34⁻ HSC に比べて CD34⁺ HSC, CD90⁺ HSC に高い発現が認められた。特に、IFITM1 の発現レベルの差は顕著であり、IFNα 関連シグナルの下流伝達分子の発現レベルも CD34⁻ HSC で有意に低下していた。このことは、炎症や感染などの際の IFNα の刺激に対して、CD34⁻ HSC が CD34⁺ HSC, CD90⁺ HSC に比べて抵抗性であることを示唆している。成体における造血系のストレスへの防御機構を考える上で興味を持たれる (7)。

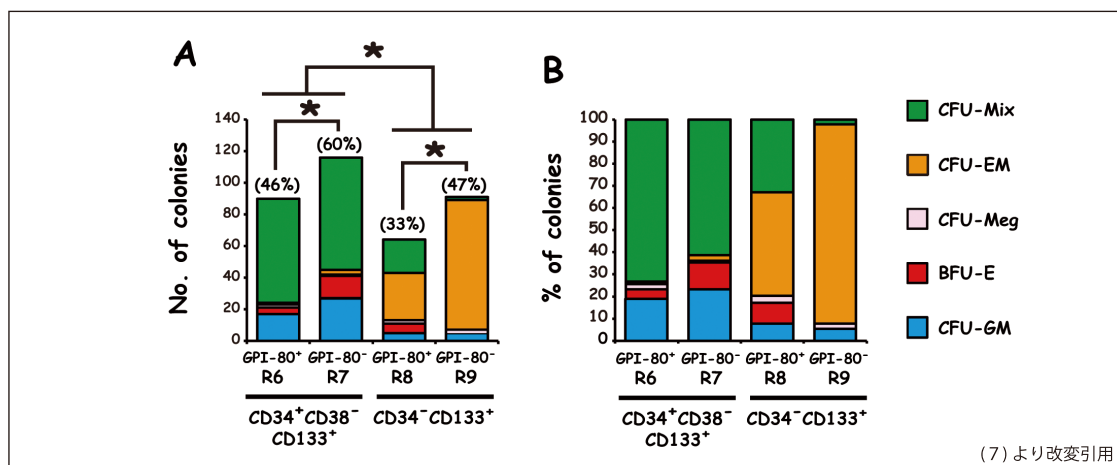
また、CD34⁺HSCでは、postembryonic adult HSCの生存に必須と報告 (9) されている遺伝子ETV6が、CD34⁻ HSCに比べて高発現していた。一方で、HSCの自己複製と老化のバランス制御に重要と報告 (10) されているpolycomb repressive complex (PRC) 2の構成分子であるEZH2がCD34⁺HSCに比べてCD34⁻ HSCで高発現していたことは興味深い。

以上より、CD34⁺HSCでは、その幹細胞性維持機構やエピジェネティック制御機構が異なる可能性が示唆された。前述のPCA解析結果 (図4参照) でも示されたように、この2つのHSCは階層制上異なるクラスのHSCであることが強く示唆された。

7) 赤血球・巨核球系細胞への分化能

次に、18Lin-CD34⁺CD133⁺GPI-80⁺/⁻ 細胞 (CD34⁺HSC) と 18Lin-CD34⁺CD38⁺CD133⁺GPI-80⁺ 細胞 (CD34⁺HSC) のコロニー形成能について単一細胞レベルで比較した (図 7)。

その結果、CD34⁺HSC が、高い赤血球・巨核球系コロニー (CFU-EM) 形成能を示すことが明らかにされた。このことは、*in vivo* 移植実験においても確認された (7)。



(7) より改変引用

(図 7) 単一細胞レベルのコロニー形成能

8) ヒト臍帯血由来 HSCs の新たな階層制モデルの提唱

近年、マウス HSC の分化経路に関して、巨核球系マーカーである CD41 陽性の HSC がマウス HSC の階層制上頂点にある myeloid-biased long-term (LT)-HSC であることが報告されている (11,12)。そして、未分化な HSC ほど myeloid 系への分化能力が高いことも明らかにされている。加えて、最近、トランスポゾン tagging 法を用いてマウス HSC/HPC の分化における運命決定をクローナルに解析した結果、LT-HSC が巨核球系前駆細胞産生の強力な起源になることが報告されている (13)。換言すると、巨核球系細胞への運命決定が未分化 HSC の主要な分化経路の可能性が示唆されたと言える。しかしながら、移植系においては同じ LT-HSC は多血球系統への分化能を示す。残念ながら、この研究では特定の subset、あるいはすべての LT-HSC がこのよう

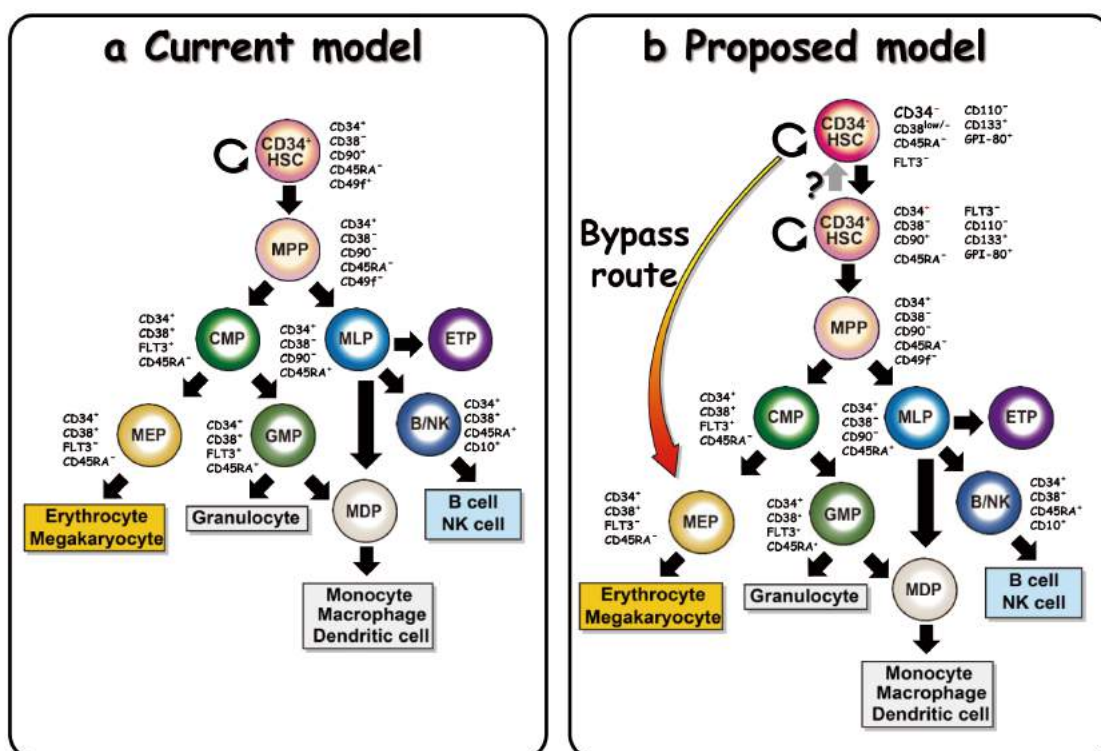
な性質を示すのかは明らかにされていない。以上のようにマウス HSC の本体の解明やその分化経路に関する研究は急速に進んでいる。

一方、HSCT の根幹をなすヒト HSC の本体に関しては、その陽性分子マーカーが不明であったことや測定法の限界もあり十分に明らかにされていなかった。我々は、前述したように、CD34⁺HSC の陽性 / 濃縮マーカーである CD133 と GPI-80 抗原を同時に用いる超高度純化法を開発し、ヒト CB 中に存在する CD34⁺HSCs を超高度に純化することに成功した (7)。本法を用いることで、ヒト CB 中に存在する CD34⁺HSCs の単一細胞レベルでの移植実験や遺伝子発現解析が可能となった。その結果、単一 CD34⁺HSC を移植された NSG マウスにおいて 3 次移植マウスまで 1 年半に亘り多血球系統のヒト造血再構築能が維持されることが明らかとなった。単一 CD34⁺HSC は、*in vitro* 及び *in vivo* において CD34⁺HSC を産生し

た。一方、単一 CD34⁺HSC は、*in vitro* 及び *in vivo* において CD34⁺HSC を産生しなかった。このことは、CD34⁺HSC が CD34⁺HSC よりも階層制上でより上位に位置する未分化 HSC であることを強く示唆している。加えて、CD34⁺HSC は、*in vitro* 及び *in vivo* で高い赤血球・巨核球系細胞への分化能を示すことも示された (図7)。

以上の研究成果に基づいて、我々は、CD34⁺HSC が従来最も未分化とされていた

CD34⁺CD38⁺CD90⁺CD45RA⁺CD49f⁺HSC (14) と比べて、階層制上より上位の未分化 HSC であるという新たなモデルを提唱した(図8)(7)。加えて、今回の実験結果より、CD34⁺HSC が niche 細胞 / 因子の非存在下 (非影響下) では、CFU-EM に直接分化する可能性 (バイパス経路) が示唆されたことは、前述したマウス LT-HSC の報告 (13) と符合する点があることから非常に興味深いと結果と言えよう。



(図8) ヒト臍帯血由来 HSCs の新たな階層制モデル

(7)より改変引用

9) 今後の展望と結語

我々が IBMI 法を用いて同定に成功したヒト CB 由来 CD34⁺ SRC (HSC) (1) の生物学的特性について、これまでの一連の研究成果 (15,16) に基づいて概説した。CD133 と GPI-80 抗原を用いる超高度純化法の開発により、CD34⁺ HSCs の単一細胞レベルでの解析が可能になったことは、ヒト HSC の増殖分化機構や階層制を明らかにする上で大きな前進と言えよう (7)。しかしながら、ヒト CB 中に発見同定された CD34⁺ HSC が、骨髄や末梢血中にも存在するのか、CD34⁺ HSC の起源 (ニッチがどこにあるのか)、さらにニッチにおける CD34⁺ HSC の支持

機構の解明など、未だに多くの課題が残されている。

近未来について考えるときに重要なことは、これまでに明らかにされた成果をどのような移植臨床に応用するかである。現在、ヒト HSC 測定用キットの開発を目指しており、すでに UCBT への応用に関して前向き臨床観察研究が厚労科研の課題研究 (菌田班) において進行中である。また、純化した CD34⁺ HSCs を用いる *ex vivo* における血小板産生系の開発 (輸血医療への応用)、さらにはヒト HSCs の *ex vivo* 増幅系の開発と UCBT への応用 (ヒト HSC バンクの設立) など今後の重要な目標といえる。

文 献

- 1) Wang J et al.: SCID-repopulating cell activity of human cord blood-derived CD34⁺ cells assured by intra-bone marrow injection. *Blood* 101:2924-2931, 2003.
- 2) Larochelle A et al.: Identification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating NOD/SCID mouse bone marrow: implication for gene therapy. *Nat Med* 2:1329-1337, 1996.
- 3) Shultz LD, Ishikawa F, Greiner DL: Humanized mice in translational biomedical research. *Nat Rev Immunol* 7:118-130, 2007.
- 4) Ishii M et al.: Development of a high resolution purification method for precise functional characterization of primitive human cord blood-derived CD34⁺ negative SCID-repopulating cells. *Exp Hematol* 39:203-213, 2011.
- 5) Takahashi M et al.: CD133 is a positive marker for a distinct class of primitive human cord blood-derived CD34⁺ negative hematopoietic stem cells. *Leukemia* 28:1308-1315, 2014.
- 6) Matsuoka Y et al.: GPI-80 expression highly purifies human cord blood-derived primitive CD34⁺ negative hematopoietic stem cells. *Blood* 128:2258-2260, 2016.
- 7) Sumide K et al.: A revised road map for the commitment of human CD34⁺ negative hematopoietic stem cells. *Nat Commun* 9:2202, 2018.
- 8) 中塚隆介、他: 重症免疫不全マウスにおけるヒト造血幹細胞の生着に及ぼす自然免疫系の関与について. *Cytometry Research* 27 Suppl:63, 2017.
- 9) Hock H et al.: Tel/Etv6 is an essential and selective regulator of adult hematopoietic stem cell survival. *Genes & Dev* 18:2336, 2004.
- 10) De Haan G, Gerrits A: Epigenetic control of hematopoietic stem cell aging the case of Ezh2. *Ann NY Acad Sci* 1106:233, 2007.
- 11) Gekas C, Graf T: CD41 expression marks myeloid-biased adult hematopoietic stem cells and increases with age. *Blood* 121: 4463-4472, 2013.
- 12) Sanjuan-Pla A. et al. Platelet-biased stem cells reside at the apex of the haematopoietic stem-cell hierarchy. *Nature* 502: 232-236, 2013.
- 13) Rodriguez-Fraticelli AE et al.: Clonal analysis of lineage fate in native hematopoiesis. *Nature* 553:212-216, 2018.
- 14) Notta F et al.: Isolation of single human hematopoietic stem cells capable of long-term multilineage engraftment. *Science* 333:218-221, 2011.
- 15) Sonoda Y: Immunophenotype and functional characteristics of human primitive CD34⁺ negative hematopoietic stem cells: The significance of the intra-bone marrow injection. *J Autoimmun* 30:136-144, 2008.
- 16) Sonoda Y: Human CD34⁺ negative hematopoietic stem cells. Book chapter in Ratajczak M, ed. "Adult Stem Cell Therapies : Alternatives to Plasticity". Humana Press, Springer, Berlin, 2014, pp.53-77.

著者プロフィール



そのだ よしあき
 菌 田 精 昭 (1950 年生；出身地 神奈川県)

学歴および職歴：

昭和 50 年	京都府立医科大学医学部医学科卒業
昭和 50 年～昭和 52 年	京都府立医科大学第三内科研修医
昭和 52 年～昭和 53 年	国立療養所神戸病院内科医員（厚生技官）
昭和 53 年～昭和 57 年	京都府立医科大学第三内科修練医
昭和 57 年～昭和 60 年	国民健康保険蒲生町病院内科医長
昭和 59 年	医学博士
昭和 61 年～昭和 63 年	米国南カロライナ医科大学実験血液学教室博士研究員
昭和 63 年～平成 4 年	京都府立医科大学衛生学教室 講師
平成 4 年～平成 15 年	京都府立医科大学衛生学教室 助教授
平成 15 年～平成 16 年	京都府立医科大学大学院医学研究科分子標的癌予防医学 助教授
平成 16 年～平成 30 年	関西医科大学衛生学講座 主任教授
平成 17 年～平成 30 年	関西医科大学大学院医学研究科幹細胞生物学講座 教授
平成 30 年～	関西医科大学 iPS・幹細胞再生医学講座 客員教授

(現在に至る)

主な研究分野：

幹細胞生物学、血液学、造血幹細胞移植学、再生医学

所属学会：

日本血液学会(功労会員)、日本造血細胞移植学会(名誉会員)、日本再生医療学会(評議員)、
 日本サイトメトリー学会(理事長)、米国血液学会、国際実験血液学会、国際幹細胞学会

趣味：

溪流釣り

お問い合わせは
 営業部（東日本） TEL 045 (474) 9340
 FAX 045 (474) 9341

営業部（西日本） TEL 072 (686) 6651
 FAX 072 (686) 6652

CRJ LETTERS この小冊子に関するご意見、ご要望を下記までお寄せください。

発 行 日：平成30年10月
 発 行 所：日本チャールス・リバー株式会社
 〒222-0033 横浜市港北区新横浜3-17-6イノテックビル11階
 電話 045 (474) 9340

企画・編集：日本チャールス・リバー株式会社 制 作：株式会社アドスリー
 Copyright (c) 2018 Charles River Laboratories Japan Inc. All Rights Reserved.
 本書の無断複写複製および転載は、特定の場合を除き、著作者、出版社の権利侵害になります。

日本チャールス・リバー株式会社

Charles River Laboratories Japan, Inc.

本 社（代表）	〒222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル 11 階	TEL 045-474-9330	FAX 045-474-9331
カスタマーサポートセンター（受注窓口）	〒222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル 11 階	TEL 045-474-9350	FAX 045-474-9351
営 業 部（東日本）	〒222-0033 横浜市港北区新横浜 3-17-6 イノテックビル 11 階	TEL 045-474-9340	FAX 045-474-9341
営 業 部（西日本）	〒569-0803 大阪府高槻市高槻町 5-25 北本ビル 1 階 C 号室	TEL 072-686-6651	FAX 072-686-6652

ホームページ

<http://www.crj.co.jp>

お問い合わせ先

web_order@crl.com