

新規 *Kit* 変異ラットの作製と同種骨髄移植モデルへの応用

Generation and characterization of a novel *Kit* mutant rat for bone marrow transplantation

○飯田 龍哉^{1,2}、石田 紗恵子¹、Jinxi Wang¹、服部 晃佑¹、吉見 一人¹、真下 知士¹
○Ryuya Iida^{1,2}, Saeko Ishida¹, Jinxi Wang¹, Kosuke Hattori¹, Kazuto Yoshimi¹,
Tomoji Mashimo¹

1. 東大・医科学研究所, 2. 東大・院新領域創成科学研究科

1. IMSUT, Univ. Tokyo, 2. Grad. Sch. Front. Sci., Univ. Tokyo

【要旨】

Kit は Stem cell factor (SCF) の特異的な受容体型チロシンキナーゼであり、造血細胞、メラノサイト、神経細胞、および生殖細胞で発現し、分化や維持に関与している。*Kit* に変異を持つ *Kit*^{W41} マウスは SCF/KIT のシグナル伝達に異常が生じ、貧血や白毛などの表現型を示す。また、*Kit*^{W41} マウスの造血幹細胞は、野生型の造血幹細胞と比較して競争力が低下すると考えられている。そのため、*Kit*^{W41} マウスでは、一般的に必要な放射線照射をせずに、骨髄移植が可能であることが報告されている。しかし、ラットにおいてこのような骨髄移植モデルは確立されていない。

そこで、本研究では、ゲノム編集技術 CRISPR/Cas9 により *Kit*^{W41} マウスと同じ変異をもつ、*Kit* 変異ラット (F344-*Kit*^{V834M}) を作製した。*Kit*^{V834M} ラットは生存可能で繁殖能力があり、*Kit*^{W41} マウスと同様に貧血と肥満細胞の減少を示した。この貧血は年齢とともに改善する傾向が見られた。さらに、*Kit*^{V834M} ラットの骨髄細胞を培養するコロニー形成単位-顆粒球マクロファージアッセイにより、*Kit*^{V834M} 変異は骨髄細胞の増殖能と分化能に影響を与えることが分かった。また、EGFP を発現する F344-*Rosa26*^{EGFP} ラットの骨髄細胞を *Kit*^{V834M} ラットに移植したところ、移植後長期に渡り EGFP 陽性細胞が生着することが分かった。加えて、移植後の *Kit*^{V834M} ラットの骨髄細胞をさらに他のレシピエントに移植する二次移植でも、レシピエントの末梢血中に EGFP 陽性細胞が確認されたことから、*Kit*^{V834M} ラットは移植前処置を必要とせず、長期骨髄再建能のある造血幹細胞の生着を許容することが明らかとなった。そこで、*Kit*^{V834M} ラットと *Rosa26*^{EGFP} ラットの骨髄細胞を等量混合し、放射線を当てた野生型のラットに移植する競争的骨髄移植アッセイを行ったところ、*Kit*^{V834M} 造血幹細胞は *Rosa26*^{EGFP} 造血幹細胞に比べてほとんど生着しないことが分かり、*Kit*^{V834M} ラットは造血幹細胞の競争力の低下により放射線照射なしの同種骨髄移植が可能となることが示唆された。

以上のことから、本 *Kit* 変異ラットモデルは、KIT の機能に関する貴重な洞察を提供し、造血幹細胞の性質や骨髄移植の理解を深めるための有望な実験的選択肢となることが期待される。