

液体のりで造血幹細胞の増幅に成功 ～細胞治療のコスト削減や次世代幹細胞治療に期待～

1. 発表者

山崎 聡（東京大学医科学研究所 幹細胞生物学分野 特任准教授）

2. 発表のポイント

- ◆通常の培養で使用する高価なウシ血清成分やアルブミンの代わりに液体のりの主成分であるポリビニルアルコール（PVA）を用いることで、安価に細胞老化を抑制した造血幹細胞の増幅が可能になった。
- ◆マウス造血幹細胞を用いた実験により、1個の造血幹細胞を得ることができれば複数の個体へ造血幹細胞移植が可能であることがわかった。
- ◆本発見は、ヒト造血幹細胞にも応用可能であると期待され、おもに小児の血液疾患に対して移植処置の合併症リスクを軽減した安全な造血幹細胞移植が提供できるとともに、幹細胞治療や再生医療への応用や医療コストの軽減に期待される。

3. 発表概要

東京大学医科学研究所の山崎 聡 特任准教授（幹細胞生物学分野）を中心とした研究チーム（スタンフォード大学と理化学研究所との共同研究チーム）は、マウスの造血幹細胞（注 1）を用いた研究から、細胞培養でウシ血清成分や精製アルブミン（注 2）さらには組み換えアルブミンが造血幹細胞の安定的な未分化性を阻害していることを突き止めました。しかし、アルブミンのようなタンパク質を培養液に加えないと、造血幹細胞の細胞分裂が誘導できないことが問題でした。今回、本研究チームは“液体のり”の主成分であるポリビニルアルコール（PVA）（注 3）という化学物質が血清成分やアルブミンの代わりになり、しかも血清成分やアルブミンと異なり造血幹細胞の未分化性を維持したまま数ヶ月培養可能であることを明らかにしました。1ヶ月間以上も造血幹細胞を未分化な状態で増幅培養できる報告は世界で初めてであり、本技術により、ドナーから1個の造血幹細胞さえ分離採取できれば、複数の患者が治療できる可能性が示されました。

4. 発表内容

（研究の背景）

造血幹細胞は、全血液細胞を一生涯にわたり供給することができる組織幹細胞です。この造血幹細胞は、血液疾患を根治する際の骨髄移植（造血幹細胞移植）には欠かせない細胞であり、ドナーからの供給が非常に重要です。しかし、高齢化社会によるドナーの減少により、骨髄バンク

や臍帯血バンクの補助的なシステムの構築が課題となっております。そこで本研究チームは、白血病を含む血液/免疫疾患患者へ応用を目指して造血幹細胞を生体外で増やす技術開発を進めていました。

(研究の結果)

最適な造血幹細胞の増幅因子の濃度の同定

本研究チームは過去に報告した全組み換えタンパク質を基礎とした培養条件を用いて、造血幹細胞の細胞分裂を誘導することが昔から知られている2つのサイトカイン（注4）の最適な濃度を検討しました。その結果、SCF（注5）が低い濃度でありかつTPO（注6）が高い濃度のバランスが、造血幹細胞の性質を維持しながら効率良く長期に培養可能であることを発見しました。

1) PVAは血清アルブミンの機能を代替し、細胞老化を抑制することで造血幹細胞の増幅をする (図1)

精製アルブミンや組み換えアルブミンには、精製過程でどうしても取り除けない微量の混入物が残存しています。その混入物が造血幹細胞自身を分化する方向へ誘導してしまうことが、本研究により明らかとなりました。また、タンパク質の酸化反応が細胞老化を誘導してしまうことも明らかとなったことから、アルブミンを他のタンパク質ではなく、化学物質で置換することが課題解決になると考えました。この課題に取り組んだところ、PVAがアルブミンの代替物質として有効であることが分かりました。さらには、PVAは培養液中で酸化されない安定な物質であるため、造血幹細胞の老化も抑制しつつ長期間増幅を維持することを発見しました。

2) PVAを用いた造血幹細胞の増幅培養システムは1つの造血幹細胞からでも多くの個体へ骨髄移植が可能である (図2)

マウスから1つの造血幹細胞を分離採取し、1ヶ月間培養し増幅させた後に複数の放射線を照射した（骨髄破壊的処置し貧血を誘導した）マウスに移植しました。その結果、すべてのマウスで移植した増幅造血幹細胞の骨髄再構築が確認できました。この結果は、ドナーからごくわずかな造血幹細胞を得てその得られた造血幹細胞を増幅することで、複数の患者へ移植可能な造血幹細胞が準備できることを示しています。

3) 骨髄破壊的な処置をしない安全な造血幹細胞移植モデルの確立 (図3)

多くの研究者らの報告から、造血幹細胞は骨髄中に存在する特殊な環境（骨髄ニッチ）を放射線や薬剤による骨髄破壊的な処置を行わなければ骨髄への生着は難しいとされていました。近年の日本国内外の研究チームの報告から、大量の造血幹細胞を個体へ移植することで、骨髄破壊的

な処置を用いずに造血幹細胞の生着が可能であることが示されました。しかし、ドナーから得られる造血幹細胞の数に限りがあるため、この大量の造血幹細胞移植は現実的に不可能であると考えられてきました。そこで本研究チームは、今回見出された増幅培養系を用いることで、50個という少ない造血幹細胞から充分量の造血幹細胞を得ることに成功し、骨髄破壊的な処置を用いない安全で容易な造血幹細胞の移植法を新たに発見しました。

まとめ

本研究チームは、マウスの造血幹細胞を用いた研究から液体のりの主成分である PVA を用いることで、造血幹細胞の長期培養系における増幅に成功しました。また、これらの培養系はヒト造血幹細胞においても応用できる可能性が示されました。以上の成果は、白血病を含む血液疾患への次世代幹細胞治療の道を開くとともに、幹細胞分野の基礎研究にも大いに貢献するものと期待されます。PVA は日常的に用いられている安価な化学物質であり、かつ医薬品製造グレードの製品が容易に入手できることから、幹細胞治療へのコスト削減にも大いに貢献するものと期待されます。

(本研究への支援)

本研究は、下記機関より支援を受けて実施されました。

日本医療研究開発機構 (AMED) 再生医療実現化拠点ネットワークプログラム「生体外におけるヒト iPS 細胞由来造血幹細胞増幅技術開発」(JP18bm0404025)、日本学術振興会 (科研費) 若手 A (17H05086)、文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究 細胞社会ダイバーシティーの統合的解明と制御 (JP18H05095)。

5. 発表雑誌

雑誌名: 「*Nature*」 (2019 年 5 月 30 日オンライン版)

論文タイトル: Long-term ex vivo hematopoietic stem cell expansion allows nonconditioned transplantation

著者: Adam C. Wilkinson, Reiko Ishida, Misako Kikuchi, Kazuhiro Sudo, Maiko Morita, Ralph Valentine Crisostomo, Ryo Yamamoto, Kyle M. Loh, Yukio Nakamura, Motoo Watanabe, Hiromitsu Nakauchi, Satoshi Yamazaki*

6. 問い合わせ先

東京大学医科学研究所 幹細胞治療研究センター 幹細胞生物学分野
特任准教授 山崎 聡 (ヤマザキ サトシ)

AMED 事業に関するお問い合わせ先
国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED)
戦略推進部 再生医療研究課

7. 用語解説

(注 1) 造血幹細胞：生体内に全血液/免疫細胞を供給してくれる細胞

(注 2) アルブミン：血清中の60%を占めているタンパク質であり細胞培養には一般的に加えられる因子。精製アルブミンとは主にウシ血清から分離されたアルブミン分画であり、組み換えアルブミンとは人為的にアミノ酸配列を変更し酵母や稲などの細胞で人工的に作られたアルブミンである。

(注 3) PVA (Polyvinyl alcohol (ポリビニルアルコール))：機能性樹脂の一種。生活の様々な製品に用いられている一方で医療用としての GMP グレードも存在するなど、近代の社会生活には欠かせない化学物質。

(注 4) サイトカイン：細胞から分泌される様々な細胞刺激因子として知られている。

(注 5) SCF (Stem Cell Factor (ステムセルファクター))：造血幹細胞を含む幾つかの組織幹細胞の細胞分裂を誘導する因子。肥満細胞を誘導、増幅する因子としても知られている。

(注 6) TPO (Thrombopoietin (トロンボポエチン))：造血幹細胞や血小板を産生する巨核球を誘導する因子。

8. 添付資料

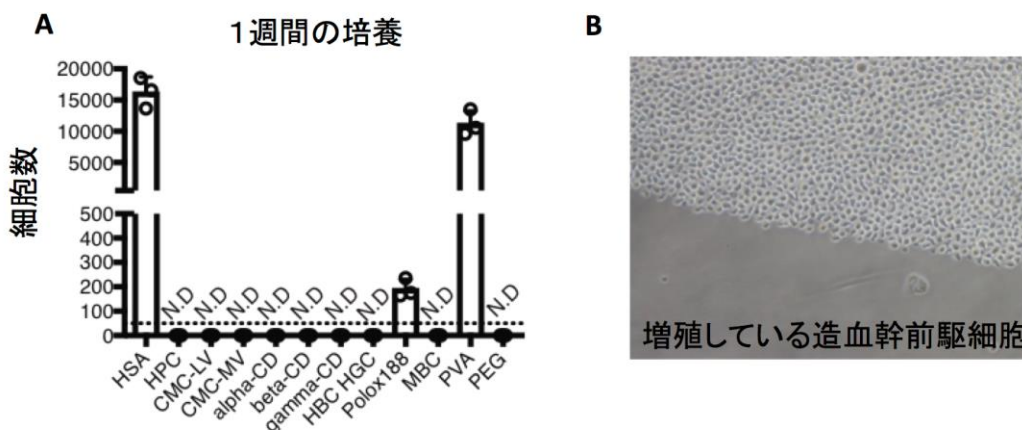


図 1：血清アルブミンを用いない PVA 培養液はマウス造血幹細胞の増幅を効率的に誘導する。A、B) 血清アルブミンに変わる化学物質の探索の結果 PVA がアルブミンと同様に造血幹細胞の細胞分裂を誘導することがわかった。B) 50 個から増幅した造血幹細胞及び造血前駆細胞 (造血幹前駆細胞)。

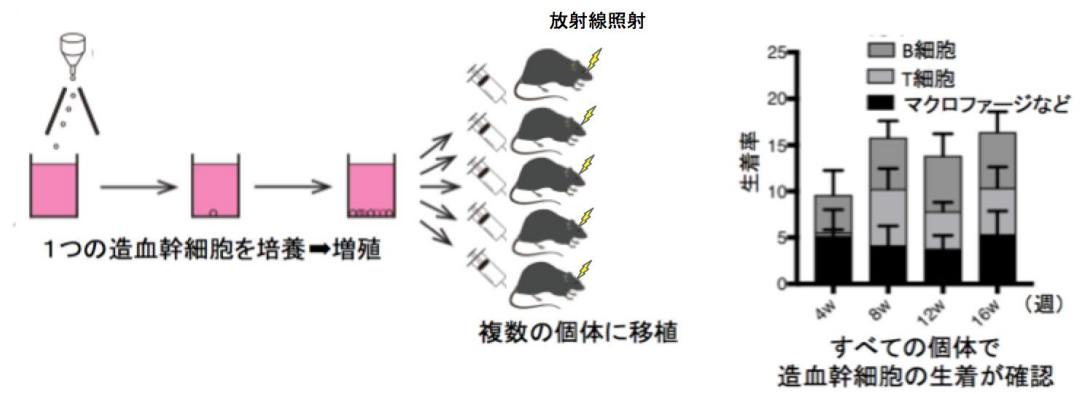


図 2: マウスの骨髄から造血幹細胞を 1 つ取り出して 1 ヶ月培養後に増幅した造血幹細胞を含む細胞を複数のマウスに移植した結果すべてのマウスにおいて造血幹細胞の骨髄再構築が確認された。

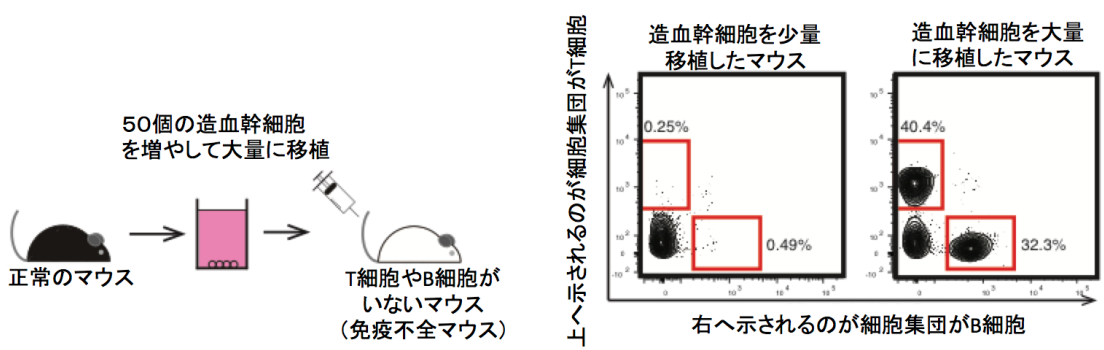


図 3 : マウスの骨髄から造血幹細胞を 50 個取り出して PVA を用いた培養により大量に増幅した造血幹細胞を免疫不全 (T 細胞や B 細胞が欠損している) マウスに投与するだけで早期に T 細胞や B 細胞が分化し免疫不全という症状が根治される。