

臍帯血生体外増幅に関わる因子の解明

櫻井政寿

慶應義塾大学医学部 血液内科

【研究の背景】

臍帯血は造血幹細胞移植ソースとして知られているが、臍帯血は移植のための非常に入手しやすい供給源である一方、造血幹細胞の数が少ないため、生着や持続的な造血系の再構築に不十分なユニットも多くある。したがってヒト造血幹細胞、特に臍帯血由来造血幹細胞の生体外での増幅は、血液学の重要な目標であり続けている^{1,2)}。

我々は、アルブミンとサイトカインを、高分子ポリマーと特定の化合物でそれぞれ置換した培地を用いて、ヒト造血幹細胞の生体外での長期増幅を可能とする新規の培養技術を開発した(3a 培地)。この方法により、1 か月の長期培養が可能となり、さらに単一細胞 RNA シークエンス解析では、既存の培養技術と比較し、造血幹細胞が選択的に増幅されることが示唆された³⁾。しかしながら、既存の方法でもその新技術でも、その増幅効率には臍帯血ロット間で異なり、予測する手段がないことが、臨床応用するにあたって課題の 1 つとなっていた。

【目 的】

本研究では、臍帯血を解析し、増幅効率に関わる因子を同定することを目的とする。

【方 法】

1) 臍帯血細胞の細胞表面マーカー解析

市販されている複数ロットの臍帯血由来細胞を用いて、細胞表面マーカー解析を行う。この方法により、細胞のプロファイルを詳細に検討し、ロット間の差を確認する。

2) 臍帯血細胞の培養

上記解析後に、細胞を上記した 3a 培地で増幅し、その増幅率を算出する。

【結 果】

1) 臍帯血細胞の細胞表面マーカー解析

すでに造血幹細胞マーカーとして同定されている細胞表面マーカーである CD34/CD38/CD90/CD45RA/CD49f を用いて複数ロットの培養前臍帯血細胞の解析を行った。すると、CD34+CD38-CD90+CD45RA-CD49f+細胞分画は、ロットによって割合として数倍、さらに絶対数換算すると数十倍の差があることが明らかとなった。

2) 臍帯血細胞の培養

上記解析後に、臍帯血細胞を 24-well flat-bottomed CellBIND tissue culture plates (Corning; 3337) に播種し、3a 培地を用いて 1 週間培養を行った。培養後に再び細胞数カウントを行い、細胞表面マーカー解析を行い CD34+CD90+CD45RA-細胞比率を明らかにした。増幅効率は 5-20 倍で、ロット間によって差があることが明らかとなった。また培養前に含まれる幹細胞マーカー分画と 1 週間の培養による増幅効率は、緩やかな相関関係にあることがわかった。

【考 察】

本研究では、臍帯血由来の細胞表面マーカー解析および 3a 培地を用いた培養実験を通じて、臍帯血ロット間での増幅効率に差があることを明らかにした。特に、CD34+CD38-CD90+CD45RA-CD49f+細胞分画の割合および絶対数がロット間で大きく異なることが確認され、これが増幅効率の違いに影響を及ぼしている可能性が示唆された。この結果は、造血幹細胞の初期特性が培養後の増幅効率を予測する重要な指標となり得ることを示している。一方で、他の因子の関与も考慮する必要がある。例えば、臍帯血採取時の条件あるいは細胞の代謝状態やエピジェネティックな状態など、さらなる解析が必要である。

本研究の結果は、臨床応用において重要な示唆を与える。すなわち、臍帯血ロット間の増幅効率を事前に予測できる指標が確立できれば、効率的で安全性の高い移植用細胞の準備が可能となるだけでなく、コスト効率の向上にもつながるであろう。今後は、さらなるロット解析を通じて、増幅効率を左右する因子を包括的に特定し、予測モデルを構築することが重要である。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

臍帯血の生体外増幅技術は海外ではすでに承認もされており、現在もいくつかの臨床試験が進行中で、世界中からの興味を集める分野である。我々の開発した新技術は、それら既存の方法と比較しても、造血幹細胞を選択的に増幅できる。さらに、本研究により、臍帯血ロット間による増幅効率の違いを事前に予測することができれば、増幅技術を臨床応用する際に、より適切な臍帯血ユニットの選択が可能となるであろう。

【参考・引用文献】

- 1) Sakurai M, Ishitsuka K, Becker HJ, Yamazaki S. Ex vivo expansion of human hematopoietic stem cells and clinical applications. *Cancer Sci.* 2024;115:698-705.
- 2) Sakurai M. Recent advances in *ex vivo* expansion of human hematopoietic stem cells. *Blood Cell Ther.* 2023;6:151-157.
- 3) Sakurai M, Ishitsuka K, Ito R, Wilkinson AC, Kimura T, Mizutani E, Nishikii H, Sudo K, Becker HJ, Takemoto H, Sano T, Kataoka K, Takahashi S, Nakamura Y, Kent DG, Iwama A, Chiba S, Okamoto S, Nakauchi H, Yamazaki S. Chemically defined cytokine-free expansion of human haematopoietic stem cells. *Nature.* 2023;615:127-133.