

異種臓器灌流培養システムの開発 -機能的ヒト血小板様細胞産生に成功

慶應義塾大学医学部の小林英司特任教授らの研究グループは、シスメックス株式会社（代表取締役 家次恒）との共同研究により、ブタ摘出臓器を用いた生体外（ex vivo）灌流法により、ヒト巨核球から機能的血小板様細胞が産生されること証明しました。

種々の出血性疾患や血液疾患の治療に、輸血が用いられていますが、輸血用血液の中に含まれる血小板は、血小板自身のLife spanが短いことにより長期保存が困難です。現状では健康な方からの献血により血小板を得ていますが、保存期間が短いことから、供給に常に問題を抱えています。近年のヒト幹細胞から血小板を作る研究も格段に進んでいますが、試験管内（in vitro）だけで作成した血小板は、凝固能などの機能が低いことが課題となっています。血小板は、その元になる巨核球が生体内で、凝固機能となる成分を吸収しながら成熟すると考えられていて、‘生きた環境’が血小板機能の成熟に必要とされていました。

今回、研究グループは、健康なブタから摘出した大腿骨を用いて、血小板が成熟する生きた環境を模倣した疑似循環回路を作り上げました（図2）。培養したヒトの巨核球をこの回路の中で灌流させ、十分な凝固能も持つ機能的な血小板様細胞へと成熟させることに成功しました。グループは、まず試験管内でヒト臍帯血由来CD34陽性血液幹細胞*1を培養し巨核球*2に分化させた後（図1A）、摘出したブタの大腿骨骨髓内に注入して、数時間後にこれを回収する生体外灌流培養システム（ex vivo法：図1D）を作りました。そして、ブタが生きている状態でヒト巨核球を骨髓に注射した場合（in vivo法：図1C）とすべて試験管内で血小板を生成する従来法（in vitro法：図1B）を比較して調べました。

その結果、開発したex vivo法を用いた場合、巨核球1個当たり4.41個の血小板様細胞が産生され、比較したin vivo法（3.79個）及びin vitro法（0.12個）に比べ、多くの血小板様細胞ができていることが判明しました（図3A）。またex vivo法で生成された血小板を回収すると、トロンビン刺激によりCD62P陽性率*3がそれぞれ13.1%、8.7%増加し、試験管内だけで作るin vitro法に比して、血小板として高い生理機能も有することもわかりました（図3B）。

本研究は、ヒトの体内で巨核球が骨髓等で血小板機能を高める因子を吸収する現象を、

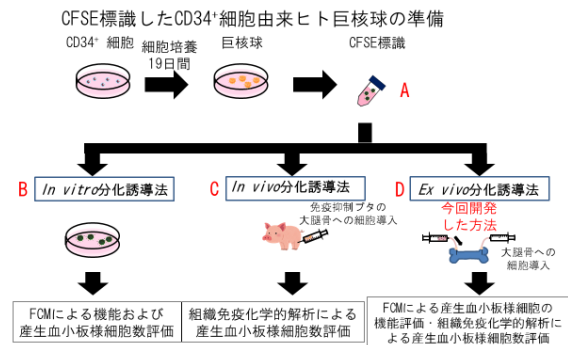


図1 実験プロトコール

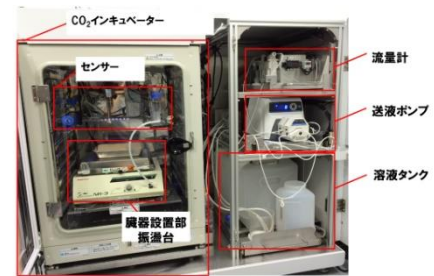


図2 異種臓器灌流培養システムを用いたヒト幹細胞分化誘導装置

異種*4 の摘出臓器を用いて体外で再現したものです。そして、このブタ摘出臓器を用いた ex vivo 灌流法により、ヒト巨核球から機能的血小板様細胞が生産されること発見しました。今後、ブタ骨髓還流システムから発生した血小板をもっと効率よく取り出す技術開発が必要ですし、異種動物の臓器自体を使わない研究も進めるべきだと考えています。

本研究結果は、ヒトの血小板を人工的に作り上げる再生医療等の研究に役立つもの期待されます。

本成果は、2020年4月7日（米国東部時間）米国科学誌『PLOS ONE』オンライン版に掲載されました。

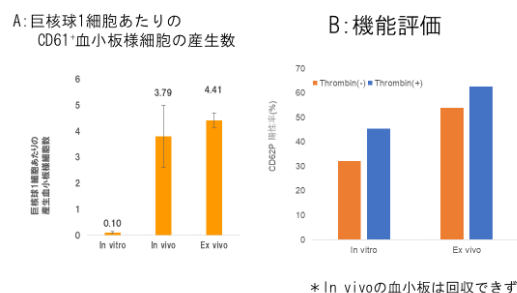


図3 実験結果

【掲載論文】

[Development of an ex vivo xenogeneic bone environment producing human platelet-like cells.](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230507)

Fujiyama S, Hori N, Sato T, Enosawa S, Murata M, Kobayashi E.

PLoS One. 2020 Apr 7;15(4):e0230507. doi: 10.1371/journal.pone.0230507. eCollection 2020.

<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0230507>

【用語説明】

[*1] CD34 陽性血液幹細胞

CD34 は細胞表面糖タンパク質であり、造血系細胞や内皮性の前駆細胞のマーカーです。

CD34 陽性血液幹細胞は、生体内や試験管内で、あらゆる血液細胞と内皮性細胞への分化能を持つことが知られています。

[*2] 巨核球

巨核球は、造血幹細胞由来の細胞分裂を伴わない胞体内核分裂を起こし多形核を持つ細胞です。巨核球は骨髓内に存在しますが、骨髓から出るとは出来ず末梢血中では観察できません。ヒト生体内では1個の巨核球から数千個の血小板が作成されるとされています。

[*3] トロンビン刺激による CD62P 陽性率

トロンビンは、血液の凝固に関わる酵素の一種で、フィブリノーゲンをフィブリンにする反応を触媒し、凝固機能を活性化させます。CD62 は、血小板の α 顆粒に存在し、凝固の活性化により、この抗原は細胞の表面に移動します。これを染色する抗 CD62 抗体でその陽性化を確認することができます。

[*4]異種

ヒトに対してブタなどの他の動物を指します。ブタはヒトと解剖学的や生理学的に似ているため、古くからヒトの臓器移植のドナーになれないかという観点から研究されています。

【論文内容の問い合わせ】



小林英司

慶應義塾大学医学部

ブリヂストン臓器再生医学寄附講座 特任教授

〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35 番地

TEL : 03-5315-4090(内線 63968) FAX : 03-5315-4089

e-mail: organfabri@keio.jp

【略歴】

- 1982 年 自治医科大学 卒業
- 1982 年 新潟大学医学部外科学教室入局、僻地病院勤務
- 1991 年 自治医科大学 外科 助手 医学博士取得（新潟大学）
- 1992 年 オーストラリア、クイーンズランド大学外科 留学
- 1995 年 自治医科大学 臨床薬理学教室 助教授
同附属病院 薬剤部 副部長、同大学外科 助教授（兼任）
- 2001 年 同大学 分子病態治療研究センター 教授
同大学 外科 教授（兼任）
- 2003 年 同大学 実験医学センター センター長（兼任）
- 2009 年 同大学 先端医療技術開発センター 客員教授
株式会社大塚製薬工場 特別顧問
- 2014 年 慶應義塾大学医学部 ブリヂストン臓器再生医学寄附講座 特任教授
東京医科歯科大学 客員教授、京都大学医学部 非常勤講師