万能細胞からの赤血球前駆細胞株の樹立 献血に頼らない輸血用赤血球供給体制を目指して

これまで、ケガに伴う失血をはじめ、輸血を必要とする手術や治療には、献血によって集められた輸血用赤血球や血液製剤が使用され、多くの人命が救われてきた。しかし近年になって、少子高齢化に伴う献血者の減少に加え、検査体制の不備や技術不足のため、輸血が肝炎ウイルスや HIV などの感染をひき起こす原因の一つになっていることが大きな社会問題となっている。特に感染症に関しては、検査体制を確立しても「感染初期の検査陰性」や「未知なる感染症」などのリスクを完全に取り除くことは不可能であり、さらに検査項目が増えることで費用がかさむなどの問題もある。このことから安全な輸血用赤血球および血液製剤を人工的に大量生産する技術の開発が期待されている。

一方、万能細胞と呼ばれる ES (Embryonic Stem) 細胞や iPS (induced Pluripotent Stem) 細胞から移植可能な臓器を作製するという再生医療研究が脚光を浴びている。これまでに、万能細胞を用いた多くの研究成果^(1~3)から、赤血球を含む血液系細胞も誘導可能であることが明らかとなっている。そこで筆者らは、万能細胞から輸血用赤血球を大量生産できないかと考え、まずカニクイザル ES 細胞から効率良く血液系細胞を分化誘導する技術の開発に取り組んだ。その結果、全血球系細胞（成熟白血球、成熟赤血球、血小板前駆細胞など）の誘導に成

功し、さらに長期（約6ヵ月）にわたって血液細胞を産生することができる培養系を開発した⁽⁴⁾。しかし、誘導するまでに2~3週間程度の期間が必要であること、赤血球のみを選択的に誘導することは困難であったことなどから、大量生産は難しいと思われた。

この問題は、赤血球のみに分化し、さらに増殖可能である赤血球前駆細胞株を樹立することでクリアできるのではないか（図1）。筆者らは、カニクイザル ES 細胞を用いて確立した分化誘導培養系を応用して、マウス ES 細胞から血液系細胞を分化誘導し、長期継代培養することで細胞株の樹立を試みた。その結果、マウス ES 細胞株8株から、5種類の血液前駆細胞株を樹立することができた。このうち2種類は肥満細胞系、他の3種類は赤血球系の細胞株（赤血球前駆細胞株、MEDEP: Mouse Embryonic stem cell-Derived Erythroid Progenitor）であることが判明した。

3種類の赤血球前駆細胞株は、すべて試験管の中で分化能力をもち、分化後にはヘモグロビンを合成して細胞が赤くなり、さらに脱核赤血球（核のない赤血球）にまで分化することが明らかとなった（図2）。次に、樹立した赤血球前駆細胞株がマウス生体内でも分化でき、脱核赤血球を産生する能力があるか否かを調べるため、急性貧血を誘発したマウスへ赤血球前駆細胞株を移植してみ

図1 ■ 赤血球前駆細胞株樹立のメリット

赤血球前駆細胞株を樹立することにより、赤血球のみを短期間に、大量に、そして無限に産生することができる可能性がある。また品質管理の徹底により輸血による感染症を防ぐことが可能となる。

図2 ■ 赤血球前駆細胞 (MEDEP)

赤血球前駆細胞 (MEDEP) は分化せずに増殖している間は赤くないが、分化させることにより赤くなり (写真上)、脱核赤血球になる (写真下、矢印)。

たところ、赤血球前駆細胞株を移植したマウス群では、比較対照となる細胞 (肥満細胞系細胞株) を移植した群と比べて有意に貧血が改善した。さらに、より強度な貧血を誘導したマウスでは、赤血球前駆細胞株を移植したマウス群では8匹中7匹が生存していたが、比較対照群では8匹中1匹しか生存できなかった。したがって、移植した赤血球前駆細胞株からできた赤血球が生体内で機能していることが示唆された。また、赤血球前駆細胞株を移植したマウスでは、腫瘍形成はまったく認められなかった⁵⁾。

このように、マウス ES 細胞から機能的脱核赤血球を産生する赤血球前駆細胞株の樹立に成功したことは、ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞からも同様にヒト赤血球前駆細胞株を樹立できる可能性に加え、生体外において赤血球を工業的に大量生産できる可能性も示唆するものである。万能細胞から誘導した細胞を用いて移植を行なう場合には組織適合性が問題となる。移植後の拒絶を回避するには、患者さん自身の iPS 細胞または核移植 ES 細胞、または患者さんに適合する組織適合抗原をもった万能細胞を用いて、目的の細胞を誘導する必要がある。これに対し、赤血球輸血は通常の臓器移植とは異なり、移植 (輸血) の際に問題になるのは ABO 式および Rh 式の血液型のみである。理論的には、O 型 Rh (−) のヒト赤血球前駆細胞株を樹立し、脱核赤血球を大量生産す

ることができれば、特殊なケースを除いて、すべての患者に輸血が可能になる。さらに、万能細胞は生体に移植することで腫瘍を形成する可能性をもった細胞であることから、万能細胞由来細胞の移植に際してはこの問題をクリアする必要があるが、赤血球は核をもたない細胞であるため、腫瘍形成の危険性はほぼゼロである。つまり、万能細胞由来の赤血球の臨床への応用は他の組織に比べてハードルが低い。また、こうして生産した赤血球をあらかじめ検査し、品質管理を万全にすれば、感染症のリスクを回避するとともに検査費用の削減にもつながる可能性もあると考えられる。

現在筆者らは、ヒト ES 細胞やヒト iPS 細胞からのヒト赤血球前駆細胞株の樹立を目指して研究を進めている。これまでに、臍帯血中に存在する血液幹細胞から効率良く脱核赤血球を生産する分化誘導技術を開発しており⁶⁾、ヒト赤血球前駆細胞株を樹立できた後には、この分化誘導技術を応用して、輸血可能な脱核赤血球を効率良く生産する技術を開発することを目指している。将来的には、献血に頼らない輸血用赤血球供給システムを確立したいと考えている。

- 1) T. Nakano, H. Kodama & T. Honjo: *Science*, **265**, 1098 (1994).
- 2) D. S. Kaufman, E. T. Hanson, R. L. Lewis, R. Auerbach & J. A. Thomson: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 10716 (2001).
- 3) J. Hanna *et al.*: *Science*, **318**, 1920 (2007).
- 4) T. Hiroyama, K. Miharada, N. Aoki, T. Fujioka, K. Sudo, I. Danjo, T. Nagasawa & Y. Nakamura: *Exp. Hematol.*, **34**, 760 (2006).
- 5) T. Hiroyama, K. Miharada, K. Sudo, I. Danjo, N. Aoki & Y. Nakamura: *PLoS ONE*, **3**, e1544 (2008).
- 6) K. Miharada, T. Hiroyama, K. Sudo, T. Nagasawa & Y. Nakamura: *Nature Biotechnol.*, **24**, 1255 (2006).

(寛山 隆, 中村幸夫, 理化学研究所バイオリソースセンター)