

内在性因子による造血幹細胞増幅法の開発

研究代表者：国立健康危機管理研究機構 国立国際医療研究所 田久保 圭誉

【基本構想】

多細胞生物を構成する各種の細胞は、それぞれが協調しながら臓器や個体が適切に作動するために固有の機能を発揮する。こうした細胞社会の作用の結果、それぞれの個体は恒常性を維持しながら生涯を過ごすことが可能になる。幹細胞は自己複製能と他分化能を有する細胞で、体内にある幹細胞（組織幹細胞）は日々組織の恒常性を維持するのみならず、細胞医療や臓器再生など、再生医学への応用が期待される細胞群である。体内の各臓器・組織には組織幹細胞が存在しているが、そのなかでも造血幹細胞は全ての血液・免疫細胞を産生する能力を持つ組織幹細胞である。哺乳類では骨の中・骨髓で自らを複製しながら、自身を維持し、必要なタイミングで必要な数の血液細胞を供給する。また、造血器腫瘍の根治療法である幹細胞移植に活用される細胞でもある。さらには、造血幹細胞レベルの単一遺伝子変異で生じる血液・免疫・代謝疾患において、造血幹細胞の遺伝子・細胞治療は重要なモダリティである。今後少子高齢化がさらに進む我が国においては、骨髓ドナーや臍帯血バンクに由来する造血幹細胞を含む移植細胞ソースは確保が困難になることが予想されている。治療における大きな障壁となり、医学的・社会的な問題が近い将来に生じる可能性が高い。

造血幹細胞を活用した医療を持続的に展開するためには、限られた幹細胞リソースを最大限に活用する必要がある。近年、造血幹細胞を体外で増幅する技術の開発が進められている。しかし、その効果は限定的である。一方、体内に存在するはずの、内在性の造血幹細胞に自己複製を誘導している因子は未発見であった。そのため、体内同様の造血幹細胞の自己複製誘導は達成されていなかった。

私たちのグループは、長く未発見であった内在性の造血幹細胞増幅因子（endogenous hematopoietic stem cell expander; EHE）を同定した。偶然同定された同因子は既存のベストとされる造血幹細胞培養法よりも高い幹細胞増幅活性を有しており、独自かつ有望な幹細胞増幅手法を提供する。つまり、今回同定した因子を用いて幹細胞培養を追究・洗練して、治療技術シーズを整える必要性は高い。

そこで本研究では、私たちが同定した内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構を解明しながら、幹細胞活性・性質を維持したまま造血幹細胞を増幅する培養技術を開発することを目的とし、2つの研究項目「内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明」および「内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定」を設定して、令和6年度から2年間にわたり造血幹細胞医学に貢献する知見を得ることを目指した研究開発を進めてきた。本稿では、最終年度にあたる令和7年度の成果を中心に、2年間の研究の到達点を報告する。

1. 研究目的

造血幹細胞は全ての血液・免疫細胞を産生する能力を持つ組織幹細胞である。ヒトを含む哺乳類の造血幹細胞は、骨髓に存在する特殊な微小環境（ニッチ）で自らを複製しながら、自身の数と機能を維持し、必要なタイミングで必要な数の血液細胞を供給することで造血システム全体を生涯にわたって維持する。造血幹細胞は、造血器腫瘍の根治療法である幹細胞移植に活用される細胞でもある。さらには、造血幹細胞レベルの単一遺伝子変異で生じる血液・免疫・代謝疾患において、造血幹細胞を用いた遺伝子・細胞治療は重要なモダリティである。一方、今後少子高齢化がさらに進んでいく我が国においては、骨髓ドナーや臍帯血バンクに由来する造血幹細胞を含む移植細胞ソースは確保が困難になることが予想され

ている。その結果、各種の造血幹細胞を活用した治療における大きな障壁が出現して、医学的・社会的な問題が近い将来に生じる可能性が高い。

限られた幹細胞リソースを活用するためには、近年造血幹細胞を体外で増幅する技術の開発が進められているが、その効果は限定的である。一方、体内に存在するはずの、内在性の造血幹細胞に自己複製を誘導している因子は未発見であった。そのため、体内同様の造血幹細胞の自己複製誘導は達成されていなかった。

このたび私共のグループは、長く未発見であった内在性の造血幹細胞増幅因子を同定した。偶然同定された同因子は既存の培養法よりも高い幹細胞増幅活性を有しており、独自かつ有望な幹細胞増幅手法を提供する。つまり、今回同定した因子を用いて幹細胞培養を追究・洗練

して、治療技術シーズを整える必要性は高い。

そこで本研究では、私たちが同定した内在性造血幹細胞増幅因子（endogenous hematopoietic stem cell expander; EHE）の作動機構を解明しながら、幹細胞活性・性質を維持したまま造血幹細胞を増幅する培養技術を開発することを目的とし、それらに基づく加齢幹細胞の若齢化誘導や遺伝子編集法の開発につながる研究開発を進めることとした。

具体的には、2年間の到達目標として、EHEを作用させた造血幹細胞のオミクス解析、シグナル解析、EHE受容体の探索・同定を通じてEHEの「作動機構の解明」を行うこと（研究項目①）、ならびに各種の培地条件を網羅的に検討し、特にヒト造血幹細胞の増幅培養条件を同定することで「EHEの試験管内増幅条件の同定」を行うこと（研究項目②）を設定した。

2. 研究成果

本研究では、【研究項目①】内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明と、【研究項目②】内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定を両輪として研究を展開し、EHEの機能解明に基づいた増幅法の技術開発を進めた（図1）。初年度（令和6年度）にはマウス造血幹細胞を中心にEHEの効果と作動機構に関する基盤的な検討を行い、第2年度（令和7年度）には、その成果に基づいて応用展開の可能性を見出すべく多面的な研究を実施した。研究は、国立健康危機管理研究機構 国立国際医療研究センター（旧・国立国際医療研究センター研究所）造血システム研究部を拠点として実施した。以下、初年度の成果を概括したうえで、令和7年度の成果を報告する。

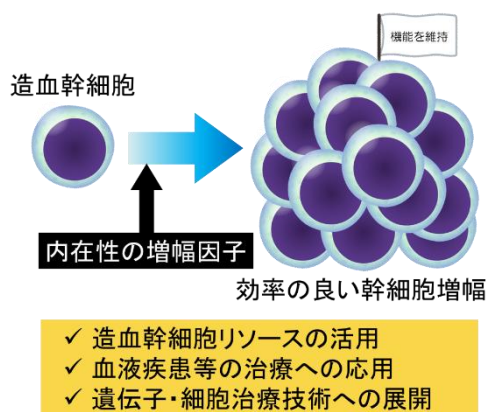


図1 内在性造血幹細胞増幅因子（EHE）を活用した造血幹細胞増幅法の概念図。EHEは造血幹細胞の機能を維持したまま効率よく増幅し、幹細胞リソースの活用、血液疾患治療への応用、遺伝子・細胞治療技術への展開が期待される。

（1）初年度（令和6年度）の成果の概要

EHEの発見は、造血幹細胞エイジングの研究過程における偶然の産物であった。加齢に伴いあらゆる細胞は機能が変化し、その結果として個体の老化が進む。線維芽細胞を中心とした研究から、加齢に伴って細胞は増殖を停止し、炎症性のサイトカイン・ケモカインを産生する

ことが知られるようになったが、造血幹細胞の加齢変化については不明な点が多かった。私たちは、加齢造血幹細胞で発現が上昇する因子を若齢造血幹細胞に発現させることで造血幹細胞エイジングに寄与する因子を探索し、その一つとして、ミトコンドリア呼吸鎖複合体IIのアセンブリーを促進するSDHAF1が加齢造血幹細胞に代謝学的頑健性を付与することを論文発表した（Watanuki et al., Cell Stem Cell 2024）。この成果は、加齢で発現が上昇する因子のスクリーニングが造血幹細胞エイジングの分子機構の同定に有効であることを示すものであり、その過程で、候補因子の一つについて造血幹細胞エイジング誘導効果を検討することとなった。当該分子を添加した条件では、培養後の細胞クラスター内の造血幹細胞の割合と絶対数の双方が増加していた。この分子の効果から、同分子をEHEとして本課題の検討を進めることとなった。

まず、EHEには関連分子や修飾体が存在することから、造血幹細胞の培養時にEHEおよび類縁分子群をそれぞれ添加し、14日間の長期培養で造血幹細胞を維持・増幅できるのは類縁分子群の中でEHEのみであった。

既存法でベストとされる合成ポリマー添加培養との比較を行った。14日間培養した造血幹細胞を移植し、移植後4か月まで1か月ごとに末梢血キメリズムを解析したところ、EHE培養はポリマー添加培養に比べて有意に高い末梢血再構築能を発揮し、これはB細胞、顆粒球、T細胞の各系列についても同様であった。あわせて、培地交換の可否、培養プレートの形状、基本培地とその添加物についても評価を行い、EHE培養に必要な添加物を同定して改良版のEHE培地を作製した。

（2）令和7年度の成果

【研究項目①】内在性造血幹細胞増幅因子の作動機構の解明

令和7年度は、初年度に確立した基盤的な検討に基づき、その応用展開の可能性を見出すべく多面的な研究を実施した。研究項目①では、初年度に引き続き、EHEが造血幹細胞に自己複製を誘導するメカニズムの解析を進めた。なお、初年度に着手した化合物スクリーニングについても、EHE培養の改善に資する候補物質の探索を継続した。

【研究項目②】内在性造血幹細胞増幅因子による試験管内増幅条件の同定

初年度に至適化を進めたEHEによる増幅条件のうち、ヒト造血幹細胞に対して、表面マーカーや遺伝子発現プロファイル等の形質の上でとりわけ良好な試験管内増幅効果を示すものを中心に、移植モデルを用いてさらに検討した。

（3）今後の展開

以上の成果を踏まえ、今後はEHEを核として、臨床実装が可能なヒト造血幹細胞の増幅培養プラットフォームを確立し、知財を創出しながら実用化への道筋をつける。さらに、これらの技術とその価値を高めるために、EHEが活性化する自己複製シグナル経路、EHE受容体、

機械刺激受容機構、ならびに新規の増幅剤候補のスクリーニングといった独自の EHE 関連の知見を深掘りする。このために、高効率の造血幹細胞解析、次世代ヒト化マウスモデル、各種オミクス解析、構造生物学等の独自技術を含む先進的な手法を動員し、既存のポリマー添加培養法を凌駕する機能的な造血幹細胞増幅を、低毒性のプロセスとして実現する。今後 4 年間で、①臨床グレードの培養条件の決定、②同定した受容体や機械刺激受容機構を標的とした移植改善法の実証を達成し、知財と標準作業手順を整備して事業化へと接続することで、神奈川県発の新たな造血幹細胞医療の創出を目指す。

本研究は令和 7 年度をもって戦略的研究シーズ育成事業としての 2 年間の研究期間を終了し、令和 8 年度からは KISTEC 有望シーズ展開事業「造血幹細胞医療革新」プロジェクトとして研究開発を継続している。同プロジェクトでは、内在性の因子を軸に、①造血幹細胞を増やす培養法の確立と最適化、②増やした細胞を活かす新しい治療法への展開、③移植した細胞の生着を高める手法の開発、の 3 つの方向から研究開発を進める。①では内在性因子を基盤とした培養法をさらに改良し、培養前後の細胞の状態を遺伝子レベルまで詳細に調べることで有効な因子や条件を効率よく見出し、高い増幅効果と再現性の両立を目指す。②では安定して増やせるようになった造血幹細胞を、遺伝子を導入して機能を補う遺伝子治療など新しい治療法の基盤とし、これまで細胞数の制約から難しかった治療の設計に道を開く。③では増やした造血幹細胞が体内で確実に生着し造血を速やかに再構築する過程を詳細に解析し、移植成績のさらなる向上を目指す。これらを通じて、より多くの患者に、より安全で効果の高い移植医療を届けるとともに、次世代の造血幹細胞医療へと発展させることを目指す。

業績

【原著論文】

1. Morikawa T, Fujita S, Sugiura Y, Tamaki S, Haraguchi M, Shiroshita K, Watanuki S, Kobayashi H, Kanai-Sudo H, Naito Y, Hayakawa N, Matsuura T, Hishiki T, Matsui M, Tsutsui M, Suematsu M, Takubo K., *Nat Commun*, 16(1), 5475(2025)

【口頭発表】

1. Keiyo Takubo
Self-renewal and aging of hematopoietic stem cells
52nd IMSUT Founding Commemorative Symposium
“Frontiers in Hematology Research”、2025 年 5 月、東京
2. 田久保 圭誉
造血幹細胞の加齢変化の分子機構
第 37 回日本神経免疫学会学術集会、2025 年 8 月、千葉
3. 田久保 圭誉
造血幹細胞とニッチの加齢変化
第 31 回八幡平造血セミナー、2025 年 8 月、盛岡
4. 田久保 圭誉
骨髄の微小循環制御のエージェンダ
HypoxJP 2025、2025 年 9 月、東京
5. Keiyo Takubo
Identification of an endogenous expander for HSCs
ISEH2025、2025 年 9 月、熊本
6. Keiyo Takubo
Metabolic rewiring of HSCs in life and in culture
JSH2025、2025 年 9 月、神戸
7. 田久保 圭誉
造血幹細胞が刻むリズム：静と動を操る
山梨大学・生命科学の最前線 特別シンポジウム “造血と生殖の最前線”、2025 年 10 月、甲府

【特許】

- (1) 国内特許出願 0 件
- (2) 国際特許出願 1 件