

【目的】 献血だけでは供給に限界がある状況を補完することを目的に開発されている iPS 細胞由来血液製剤は、ドナー確保が困難な稀な血液型製剤も供給可能と期待されている。また血小板は、室温保存特性のために有効期限が4日と短く、需要供給制御の難しさも伴う。我が国の血小板の基本輸血量は約2,000億個と膨大であり、iPS細胞から如何にして作製するかが大きな課題である。この課題解決のため、ヒト iPS 細胞由来巨核球前駆細胞株 (imMKCL) の作製によって巨核球を量産化する技術を開発した。次に、マウス骨髄内の血小板造血の場で流体物理因子“乱流”が関与していることを発見し、その物理作用を培養技術に応用し、8L培養槽から1,000億個の止血機能を有する血小板 (iPS血小板) を得る製造法を見出した。一方、生体内の血小板造血に近似する高効率の生体外製造を実現させて産業化に発展させるには、培養槽内部の乱流による巨核球への最大限の刺激を達成する培養条件の最適化が必須である。そこで、最も重要な物理負荷因子として同定した「乱流エネルギー」の細胞刺激応答をモニタリングする技術を開発し、巨核球成熟を可視化することで100%の巨核球が再教育される物理負荷条件や培地条件の最適化を達成する。具体的には、巨核球の成熟が乱流刺激の複数の機械刺激受容体の感受性変化によるという仮説を実証し、乱流刺激に応答する感受性変化のモニタリングとしての細胞内シグナルを規定する。

【方法】 乱流エネルギーセンサーの候補として cilia (繊毛) に着目した。imMKCL 成熟期における外界の刺激や流体等の細胞外環境の変化を感知する cilia 形成の有無を観察し、cilia の形成と imMKCL の血小板産生能について検討した。Cilia を通じた細胞内 Ca^{2+} シグナルに関わる候補機械刺激受容体を欠失させた imMKCL を作製し、乱流環境下における imMKCL 成熟期の細胞内 Ca^{2+} 動態を観察した。

【結果】 imMKCL 成熟培養の経時的な cilia 形成をアセチル化 α -tubulin 免疫染色によって観察し、成熟培養1日目に cilia の形成が認められた。持続的な乱流刺激は、cilia の進展を逆に阻害した。また、cilia 形成を薬物で阻害すると imMKCL の血小板産生能が低下した。これらの所見は、乱流刺激依存的な血小板産生機構に cilia が関与することを示唆している。次に cilia の細胞内下流シグナルとして想定される機械刺激受容体を欠失させた imMKCL を準備し、観察したところ成熟培養5日目から6日目にかけて細胞内 Ca^{2+} 濃度が野生型と比べ低下し、血小板産生能も低下していた。以上の結果から、cilia センシングメカニズムには、 Ca^{2+} シグナルに関わる機械刺激受容体に関わり、巨核球成熟における血小板産生に寄与することが示唆された。特に、成熟期後期に imMKCL 細胞内への急激な Ca^{2+} 上昇が観察され、imMKCL 成熟のマーカーの一つになることが明らかとなった。

血小板造血乱流センシング機構

