

令和元年9月24日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09450

研究課題名(和文) ヒト人工多能性幹細胞を用いた移植可能な造血幹細胞の作成

研究課題名(英文) Establishment of transplantable hematopoietic stem cells using human iPSCs

研究代表者

田岡 和城 (Taoka, Kazuki)

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30529178

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：iPS細胞からCD34陽性CD38陰性CD43陽性の造血幹細胞様血球を作成、および多系統の血液細胞への分化誘導させることが可能とした。具体的なプロトコルは、iPS細胞を10T1/2細胞と共培養し、day1からday4にBMP4、day4からday9までIL3、day9からSCF、FLT3、TPO、IL3で順次サイトカインで刺激すると、造血幹細胞に認められるCD34陽性CD38陰性CD90陽性分画を認めた。誘導したCD34陽性造血前駆細胞をそれぞれ顆粒球、単球、赤芽球、巨核球への分化誘導が可能であり、多系統への分化能が保持されていることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、ヒトiPS細胞を用いて、骨髄移植に使用できる造血幹細胞を樹立誘導することである。白血病をはじめとする造血器腫瘍の根治治療として造血幹細胞治療がある。これまでは、骨髄バンクや臍帯血によって、ドナーを得ていたが、骨髄バンクには適切なドナーがない場合や、コーディネートに時間がかかること、臍帯血は十分な細胞数が確保出来ないといった問題があり、十分な治療が出来なかった。HLA一致のヒトの血液から速やかにiPSを樹立し、さらに造血幹細胞に誘導する。この新たなドナーソースの作成は、骨髄バンクを基板としたこれまでの移植医療を変革する可能性があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We established to create multipotential hematopoietic progenitor cells using human iPSCs. In this protocol, human iPSCs and 10T1/2 feeder cell were co-cultured BMP4, IL3, SCF, FLT3 and TPO sequentially. After 2 weeks later, human progenitor cells derived from iPSCs were emerged on the feeder cells. These progenitor cells revealed specific marker phenotypes, CD34 positive, CD38 negative and CD90 positive fraction. These progenitor cells is able to re-differentiated to several cells, such as myeloid cell, erythroid cells and platelets and have multi-potential capabilities.

研究分野：幹細胞研究

キーワード：iPS細胞 造血幹細胞

1. 研究開始当初の背景

白血病をはじめとする造血器腫瘍の根治治療として造血幹細胞治療がある。これまでは、骨髄バンクや臍帯血によって、ドナーを得ていたが、適切なドナーがない場合や、コーディネートに時間がかかること、臍帯血は十分な細胞数が確保出来ないといった問題があり、十分な治療が出来なかった。造血器腫瘍の治療は、化学療法だけでは根治治療とならないことが多く、根治治療として造血幹細胞移植されている。どのタイミングで適切な HLA 一致の移植を行うことが出来るかによって治療の予後に大きく影響する。白血病の第一寛解期にドナーコーディネートが進行しない、あるいは HLA が一致しないことから移植後の免疫学的拒絶反応が強くなるために時には生命を奪うこともあり、移植医療の大きな課題であった。この課題を解決するためにこれまで多くの研究者が、人工的な造血幹細胞の作成の研究してきた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ヒトの血液由来人工多能性幹細胞 induced pluripotent stem cells (iPS 細胞) を用いて、骨髄移植に使用できる造血幹細胞を樹立誘導することである。白血病をはじめとする造血器腫瘍の根治治療として造血幹細胞治療がある。これまでは、骨髄バンクや臍帯血によって、ドナーを得ていたが、適切なドナーがない場合や、コーディネートに時間がかかること、臍帯血は十分な細胞数が確保出来ないといった問題があり、十分な治療が出来なかった。申請者は、HLA 一致のヒトの血液から速やかに iPS 細胞を樹立し、さらに造血幹細胞に誘導することによってドナーソースとしての iPS 細胞由来造血幹細胞を作成することをめざす。この新たなドナーソースの作成は、骨髄バンクを基盤としたこれまでの移植医療を変革する可能性があると考えられる。

3. 研究の方法

樹立した iPS 細胞を 10T1/2 feeder 細胞と共培養、及びサイトカインで誘導することによって、iPS 細胞から CD34 陽性 CD38 陰性 CD90 陽性の造血幹細胞様血球を作成、および多系統の血液細胞への分化誘導させる

4. 研究成果

具体的には、iPS 細胞を 10T1/2 細胞と共培養し、day1 から day4 に BMP4、day4 から day9 まで IL3、day9 から SCF、FLT3、TPO、IL3、VEGF をサイトカインで刺激すると、造血幹細胞に認められる CD34 陽性 CD38 陰性 CD90 陽性分画 (58.1%) を認めた(図 1)。また、この方法では、非常に効率よく造血幹細胞様の血球を産生することを可能とした。誘導した CD34 陽性造血前駆細胞を、骨髄系、赤芽球系、巨核球系の 3 系統に分化誘導したところ、それぞれ顆粒球、単球、赤芽球、巨核球への分化誘導が可能であり、多系統への分化能が保持されていることを示した(図 2.3)。

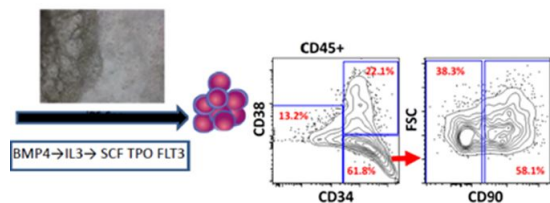


図1

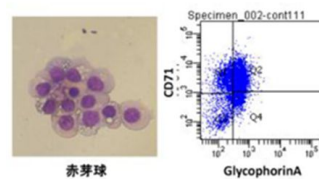


図2

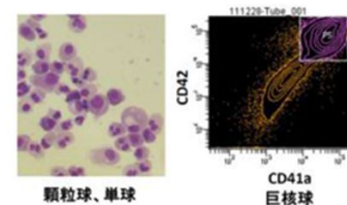


図3

5. 主な発表論文等  
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

Using patient-derived iPSCs to develop humanized mouse models for chronic myelomonocytic leukemia and therapeutic drug identification, including liposomal clodronate. Taoka K, Arai S, Kataoka K, Hosoi M, Miyauchi M, Yamazaki S, Honda A, Aixinjueluo W, Kobayashi T, Kumano K, Yoshimi A, Otsu M, Niwa A, Nakahata T, Nakauchi H, Kurokawa M.

Scientific Reports. 2018 Oct 26;8(1)

Ecilizumab treatment for ischemic enteritis accompanied with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a case report and literature review.

Yasunaga M, Taoka K, Nakagawa H, Yamada A, Abe H, Jona M, Nishikawa M, Nakazaki K, Yatomi Y, Fukayama M, Koike K, Kurokawa M. Ann Hematol. 2018 Mar 13. doi: 10.1007/s00277-018-3286-9. [Epub ahead of print] No abstract available.

ADAM8 Is an Antigen of Tyrosine Kinase Inhibitor-Resistant Chronic Myeloid Leukemia Cells Identified by Patient-Derived Induced Pluripotent Stem Cells.

Miyauchi M, Koya J, Arai S, Yamazaki S, Honda A, Kataoka K, Yoshimi A, Taoka K, Kumano K, Kurokawa M.

Stem Cell Reports. 2018 Mar 13;10(3):1115-1130. doi:

Clinical features and outcomes of secondary intraocular lymphoma.

Karakawa A, Taoka K, Kaburaki T, Tanaka R, Shinozaki-Ushiku A, Hayashi H, Miyagi-Maeshima A, Nishimura Y, Uekusa T,

Kojima Y, Fukayama M, Kurokawa M, Aihara M.

Br J Haematol. 2017 Nov 16. doi: 10.1111/bjh.15005

Clinical features of hematological disorders with increased large granular lymphocytes (LGLs): a retrospective study.

Matsuda K, Taoka K, Jona M, Masuda A, Arai S, Nakamura F, Yatomi Y, Kurokawa M.

Ann Hematol. 2017 Dec;96(12):2113-2115. doi: 10.1007/s00277-017-3108-5. Epub 2017 Nov 2.

Combined intravitreal methotrexate and immunochemotherapy followed by reduced-dose whole-brain radiotherapy for newly diagnosed B-cell primary intraocular lymphoma.

Kaburaki T, Taoka K, Matsuda J, Yamashita H, Matsuda I, Tsuji H, Tanaka R, Nakazaki K, Nakamura F, Kamiya K, Kurokawa M, Ohtomo K, Aihara M.

Br J Haematol. 2017 Oct;179(2):246-255

Morita K, Nakamura F, Taoka K, Satoh Y, Iizuka H, Masuda A, Seo S, Nannya Y, Yatomi Y, Kurokawa M. Incidentally-detected t(9;22)(q34;q11)/BCR-ABL1-positive clone developing into chronic phase chronic myeloid leukaemia after four years of dormancy. Br J Haematol. 2015 Nov 12.

Iizuka H, Kagoya Y, Kataoka K, Yoshimi A, Miyauchi M, Taoka K, Kumano K, Yamamoto T, Hotta A, Arai S, Kurokawa M. Targeted gene correction of RUNX1 in induced pluripotent stem cells derived from familial platelet disorder with propensity to myeloid malignancy restores normal megakaryopoiesis. Exp Hematol. 2015 Jun 11

Uni M, Yoshimi A, Yamazaki S, Taoka K,

Shinohara A, Nannya Y, Nakamura F, Kurokawa M. Comparison of garenoxacin with levofloxacin as antimicrobial prophylaxis in acute myeloid leukemia. Jpn J Clin Oncol. 2015 May 19

〔学会発表〕(計 2 件)

Taoka K, Arai S, Hosoi M, Nakamura F, Miyauchi M, Yamazaki S, Honda A, Kobayashi T, Kataoka K, Kumano K, Yoshimi A, Eto K, Nakauchi H, Nakahata T, Kurokawa M. A new platform using patient-derived iPSCs of chronic myelomonocytic leukemia in vitro and vivo. CiRA/ISSCR International Symposium 2016.3.23

Kazuki Taoka<sup>1</sup>, Kensuke Matsuda<sup>1</sup>, Akira Honda, Shunya Arai<sup>1</sup>, Mineo Kurokawa<sup>1</sup>  
Large granular lymphocyte expansion implies the favorable clinical outcomes following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation  
第 76 回日本癌学会学術総会 2017

Taoka K, Arai S, Hosoi M, Nakamura F, Miyauchi M, Yamazaki S, Honda A, Kobayashi T, Kataoka K, Kumano K, Yoshimi A, Eto K, Nakauchi H, Nakahata T, Kurokawa M. Modeling chronic myelomonocytic leukemia through patient-derived induced pluripotent stem cells. Japanese Hematopoietic Meeting, 2014.11.1

Taoka K, Arai S, Hosoi M, Nakamura F, Miyauchi M, Yamazaki S, Honda A, Kobayashi T, Kataoka K, Kumano K, Yoshimi A, Eto K, Nakauchi H, Nakahata T, Kurokawa M. Modeling chronic myelomonocytic leukemia through patient-derived induced pluripotent stem cells. The 73th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association 2014.9.27

Taoka K, Arai S, Hosoi M, Nakamura F, Miyauchi M, Yamazaki S, Honda A, Kobayashi T, Kataoka K, Kumano K, Yoshimi A, Eto K, Nakauchi H, Nakahata T, Kurokawa M. Modeling chronic myelomonocytic leukemia through patient-derived induced pluripotent stem cells. Scientific Exchange Training Program, Hematopoietic stem cells 2014, Nov.1, JSH.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕  
ホームページ等  
なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

田岡 和城 (Taoka Kazuki)  
東京大学・医学部附属病院・助教  
研究者番号：30529178

### (2) 研究分担者

荒井 俊也 (Arai Shunya)  
東京大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号：00579716