

## iPS 細胞由来血小板の安定製造を目指す免疫巨核球制御法の開発

陳 思婧

千葉大学 大学院医学研究院 イノベーション再生医学

### 【研究の背景】

社会の少子高齢化や COVID-19 のパンデミックなどにより、献血に依存しない血小板輸血製剤の供給が希求されている。私たちは、iPS 細胞由来血小板製剤 (iPS 血小板) の製造ソース細胞として巨核球株 (imMKCL) を樹立し (Nakamura ら, Cell Stem Cell, 2014; Ito ら, Cell, 2018)、世界初のヒト iPS 血小板輸血臨床試験 (iPLAT1) を実施した (Sugimoto ら, Blood, 2022)。しかし、iPS 血小板の工業的レベルでの大規模製造実現に向けて、imMKCL における不均一性が大きな課題の一つとなっている。近年、生体内の巨核球は、血小板造血だけでなく、造血幹細胞のニッチ機能、免疫システムの制御 (免疫巨核球) など、多様な役割を担うことが報告されている。我々はマイクロ RNA スイッチ技術を活用し、imMKCL における成熟不均一性の原因を検討した。その結果、自然免疫と獲得免疫を制御する免疫巨核球が imMKCL にも存在することを発見した。このサブ集団は let-7 活性の低下を特徴とし、免疫関連シグナルが活性化され、血小板産生を阻害した。さらに、低分子量 GTPase である RALB が、imMKCL における免疫表現型と血小板産生能の主要な調節因子であることを明らかにした (Chen ら, Nat Commun, 2024)。

### 【目 的】

本研究では、let-7-RALB 軸の上流に位置するエピジェネティックおよび転写レベルの制御機構を明らかにし、iPS 血小板産生効率の向上に資する新たな分子基盤を解明することを目的とした。

### 【方 法】

遺伝子強制発現、DNA メチル化解析、転写因子モチーフ解析、さらに siRNA による遺伝子ノックダウンを用いて、血小板産生に影響を及ぼす let-7-RALB 軸の上流の制御因子を同定・検証した。

### 【結 果】

バルク RNA-seq およびバイサルファイトシーケンス解析により、imMKCL において LIN28A が let-7 の負の制御因子として機能し、その発現が DNA メチル化によって制御されていることを明らかにした。特に、let-7 活性が高いサブ集団と低いサブ集団間で DNA メチル化パターンに顕著な差異が認められた。LIN28A をレンチウイルスで過剰発現させると、免疫関連経路が活性化され、血小板産生が抑制された。さらに、LIN28A の上流制御因子を同定するため、転写因子モチーフ解析および siRNA ノックダウンを行い、STAT1 を主要な転写因子として特定した。STAT1 ノックダウンは免疫関連シグナルを抑制し、細胞老化マーカーである CDKN2A の発現および IL-8 分泌を減少させるとともに、血小板産生を有意に増加させた。加えて、フラボピリドールやフルダラビンによる STAT1 リン酸化の薬理的阻害も血小板産生を促進し、STAT1 の制御的役割を支持した。

### 【考 察】

本研究では、imMKCL における血小板産生効率低下の一因として免疫型 imMKCL の存在を明らかにし、その制御に STAT1-

LIN28A-let-7-RALB 軸が関与することを示した。さらに、免疫シグナルが巨核球分化および血小板産生を抑制する新たな分子機構を提示し、免疫シグナル制御が産業スケールでの安定的な製造に有効な戦略となり得ることを示唆した。本成果は免疫巨核球の新たな理解にとどまらず、imMKCL の臨床応用に向けた重要な改善指針を提供し、iPS 血小板製造の産業化に寄与すると考えられる。

#### 【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究は、免疫シグナルが巨核球分化および血小板産生を抑制する新たな分子機構を提示し、免疫シグナル制御が産業スケールでの安定的な製造に有効な戦略となり得ることを示唆した。本研究成果は免疫巨核球の新たな理解にとどまらず、imMKCL の臨床応用に向けた重要な改善指針を提供し、iPS 血小板製造の産業化に寄与すると考えられる。

#### 【参考・引用文献】

1. Nakamura, Sou, et al. "Expandable megakaryocyte cell lines enable clinically applicable generation of platelets from human induced pluripotent stem cells." *Cell stem Cell* 14.4 (2014): 535-548.
2. Ito, Yukitaka, et al. "Turbulence activates platelet biogenesis to enable clinical scale ex vivo production." *Cell* 174.3 (2018): 636-648.
3. Sugimoto, Naoshi, et al. "iPLAT1: the first-in-human clinical trial of iPSC-derived platelets as a phase 1 autologous transfusion study." *Blood* 140.22 (2022): 2398-2402.
4. Chen, Si Jing, et al. "A let-7 microRNA-RALB axis links the immune properties of iPSC-derived megakaryocytes with platelet producibility." *Nature Communications* 15.1 (2024): 2588.