

令和元年6月26日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K09256

研究課題名(和文) 卵膜由来間葉系幹細胞を用いた腎疾患治療

研究課題名(英文) Treatment for kidney disease using fetal membrane-derived mesenchymal stem cells.

研究代表者

勝野 敬之 (Katsuno, Takayuki)

愛知医科大学・医学部・講師

研究者番号：60642337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：申請者のこれまでの研究により、卵膜由来MSCの培養液の血清濃度を2%に変更した条件下でMSCの分化が確認された。しかし、血清濃度2%の低血清培養法では卵膜由来MSCの増殖能が減衰し、passage3で増殖速度が低下した。MSCの増殖促進の目的でhFGF(human fibroblast growth factor)を添加し培養液を導入すると、増殖速度の改善が得られる一方で未分化状態が維持されない問題点が明らかとなった。卵膜由来MSCでは脂肪組織由来MSCと同一の結果を出すことができなかった。低血清培養法は細胞ソースに依存する可能性が今回の研究で示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は再生医療における細胞ソースとして、卵膜由来間葉系幹細胞を用いようとする点に特色がある。この際、世界に先駆け開発した低血清培養法を用いる点に独創性がある。さらに卵膜由来間葉系幹細胞を自家細胞移植だけでなく、他家細胞移植にも用いようとする点は学術的な意義がある。卵膜由来間葉系幹細胞の培養法及び治療法の確立が達成できれば、再生医療産業化の促進に期待が持たれる。

研究成果の概要(英文)：Applicants' previous studies have identified mesenchymal stem cells (MSC) differentiation under conditions where the serum concentration of the culture solution of fetal membrane-derived MSC (FM-MSC) was changed to 2%. However, in the low serum culture method with a serum concentration of 2%, the proliferation ability of the FN-MSCs was attenuated, and the proliferation rate was decreased in passage3. When hFGF (human fibroblast growth factor) was added for the purpose of promoting the growth of MSCs and the culture medium was introduced, an improvement in the growth rate was obtained but the problem that the undifferentiated state was not maintained became clear. The FM-MSC could not give the same result as that of adipose tissue-derived MSC. This study suggested that low serum culture may be dependent on cell source.

研究分野：再生医療

キーワード：再生医療 細胞治療 間葉系幹細胞 腎臓

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

再生医療の分野では人工多能性幹細胞（iPS細胞）が注目されているが、安全性という点ではまだ克服すべき課題が存在する。一方で間葉系幹細胞（mesenchymal stem cells:MSC）は安全性が高く、また同種他家移植が可能であるなど実用化という点で優位性がある。MSCは組織障害に伴って惹起される生体の過剰反応を抑え調整する役割を担っていると考えられ、その多面的作用により幅広い疾患領域での再生効果が報告されている。国内外で、MSCを用いた再生医療に関する臨床研究は数多く行われている。移植細胞ソースの多くは骨髄であるが、採取に関する身体への侵襲度が高く、かつ高齢者や様々な難治性疾患患者では良質な幹細胞を十分に確保することが難しいという点が指摘されている。また細胞治療分野における独創性を見出す点からも、細胞ソースを骨髄以外の組織に求める戦略が有用であると考えられる。近年、新たな移植細胞ソースとして卵膜に注目がおかれている。もともと破棄される組織であり、再生医療にまつわる倫理的問題点が軽減される。卵膜は豊富なMSCを含んでおり、非侵襲的に若い細胞を大量に確保することが可能である。さらに卵膜自体の免疫原性が低いため、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）バリアを超えて他家移植が可能となることが予想される。このように卵膜由来MSC（FM-MSC:fetal membrane-derived MSC）は、臨床応用に有用な細胞ソースといえる。すでにラットのFM-MSCに関しては多くの研究成果がでており、骨髄由来MSC（BMSC）と同様の表面マーカーや分化能を有している（Ishikane 2008 Stem Cells）。このFM-MSCは、下肢虚血、虚血再灌流障害、急性心膜炎およびメサンギウム増殖性腎炎の各種動物モデルにおいて優れた治療効果を発揮している（Tsuda 2010 Am J Physiol Renal Physiol）。申請者らは、皮下脂肪から治療効果の高い幹細胞を選択的に分離培養する方法（＝低血清培養法）を世界に先がけ開発した（Iwashima 2009 Stem Cells Dev）。この低血清培養脂肪由来MSC（LASC: low serum cultured adipose tissue-derived MSC）は細胞増殖や再生促進因子の分泌に優れており、これまでに各種動物モデル(下肢虚血、急性腎障害、皮膚潰瘍、腹膜線維症、骨粗鬆症、腹圧性尿失禁)で臓器再生を促進することを見出している(Katsuno 2012 Cell Transplant)。この独自性を有する低血清培養法による卵膜由来MSCの治療効果に期待が持たれる。

2. 研究の目的

本研究の最終目的は、卵膜由来 MSC の低血清培養法による新規細胞製剤の開発と腎疾患への臨床応用である。

3. 研究の方法

① 低血清培養法による卵膜由来 MSC の作成 細胞特性や免疫調整能の解析

FM-MSCを低血清培養する最適条件を見出す。作成された低血清培養FM-MSCについて、表面マーカー、分化誘導、細胞増殖、サイトカイン分泌、Tリンパ球増殖抑制および免疫調整性M2マクロファージへの誘導を検証する。

② 治療効果の検証

低血清培養FM-MSCを腎疾患動物モデル（葉酸腎症、抗糸球体基底膜抗体型腎炎モデル）に投与し、治療効果を検証する。またその効果に関して、LASCやBMSCとの比較検討を行う。

③ 安全性の検討

低血清培養FM-MSCの臨床応用に向けた安全性（拒絶反応、腫瘍形成など）を確認する。

4. 研究成果

申請者らのこれまでの研究により、卵膜由来 MSC の培養液の血清濃度を 2%に変更した条件下で MSC の分化が確認された。しかし、血清濃度 2%の低血清培養法では卵膜由来 MSC の増殖能が減衰し、passage3 で増殖速度が低下した。MSC の増殖促進の目的で hFGF(human fibroblast growth factor)を添加し培養液を導入すると、増殖速度の改善が得られる一方で未分化状態が維持されない問題点が明らかとなった。卵膜由来 MSC では脂肪組織由来 MSC と同一の結果を出すことができなかった。低血清培養法は細胞ソースに依存する可能性が今回の研究で示唆された。今後、卵膜由来 MSC に最適な独自性を有する培養法の確立と腎疾患への治療効果の検証が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：丸山彰一

ローマ字氏名：Maruyama Shoichi

所属研究機関名：名古屋大学・医学系研究科

部局名：腎臓内科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：10362253

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。