

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10676

研究課題名(和文) Muse細胞を用いた大量肝切除後補助療法へ向けた基盤構築

研究課題名(英文) Scientific research on the cell replacement therapy with Muse cells after major liver resection

研究代表者

片桐 弘勝 (Katagiri, Hirokatsu)

岩手医科大学・医学部・助教

研究者番号：30714422

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ヒトMuse細胞は生体に内在する多能性幹細胞である。ヒト高度侵襲肝臓手術患者の末梢血Muse細胞数をSSEA-3という指標を用いて定量し、病態や侵襲と関連する意義を評価した。ヒト末梢血においてSSEA-3を用いてMuse細胞の定量化は可能であることを確認した。Muse細胞は高度侵襲肝臓手術後に全症例で動員がみられ、24時間後に最も動員されていた。心筋虚血がみられた症例においてイベントに一致して動員数の再上昇が確認された。症例により動員数に差異がみられ、意義について詳細な検討を進めていく。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトにおける大量肝切除や肝移植など、物理的傷害を伴う肝機能障害や肝不全におけるMuse細胞の動態・意義・外科的侵襲との関連に関する報告はない。ヒト高度侵襲肝臓手術におけるMuse細胞の臨床的な意義を明らかにし、Muse細胞をヒト肝臓手術後に生じる高度の肝機能障害・肝不全への細胞治療として臨床応用するための基盤を構成する試みである。Muse細胞の定量化により肝組織修復程度の指標としての意義の他、侵襲の定量化・細胞療法が有効な侵襲度の指標となる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Human Muse cells are pluripotent stem cells in vivo. The number of peripheral blood Muse cells in patients with highly invasive liver surgery was quantified using SSEA-3 as an index. It was confirmed that the quantification of Muse cells using SSEA-3 is possible in human peripheral blood. Muse cells were mobilized in all cases after highly invasive liver surgery and were most highly mobilized 24 hours later. A re-elevation of the degree of mobilization was confirmed in the event of myocardial ischemia, consistent with the event. There are differences in the degree of mobilization depending on the case, and we will proceed with a detailed examination of its significance.

研究分野：消化器外科

キーワード：Muse細胞 幹細胞 肝切除 再生医療

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

損傷後肝再生には様々な細胞の関与が示唆されており、ヒト生体肝移植後生検組織の解析からは肝外細胞の関与が想定されていた(①)。肝外細胞の中で骨髄間葉系幹細胞 (bone marrow mesenchymal stem cells, BM-MSCs)が肝再生に関与するとされているが、BM-MSCs も単一の細胞集団ではなく、肝再生に関わる肝外細胞の本態は明らかではない。近年、組織傷害における創傷治癒・再生に特異的に関与するヒト間葉系細胞の分画が単離され Muse (Multilineage-differentiating stress enduring)細胞と名付けられた(②)。Muse 細胞は多能性を有するが腫瘍原性のない細胞として同定され、ES 細胞と異なり倫理的問題もなく、また iPS 細胞のように遺伝子導入を必要としない幹細胞である。マウスを用いた移植実験において、ヒト BM-MSCs から SSEA-3 陽性細胞を採取し Muse 細胞が得られ、肝臓・筋肉・皮膚などの傷害部に Muse 細胞が定着・分化することが示されている。

先行研究において、マウスに対する物理的肝切除後にヒト Muse 細胞の移植を行ったところ、Muse 細胞が損傷部位近傍に優先的かつ専断的に集積し肝前駆細胞を介して肝臓の各種細胞に分化することを見出した(③)。しかし、ヒトにおける大量肝切除や肝移植など、物理的傷害を伴う肝機能障害や肝不全における Muse 細胞が肝再生・肝機能維持に果たす役割や組織・細胞・分子レベルでの特性、末梢血における動態は今だ解明されていない。

### 2. 研究の目的

ヒト高度侵襲肝臓手術(生体肝移植生体レシペ エント手術、major hepatic resection;クイノ一の分類で3 segments 以上の肝切除)と定義)における Muse 細胞の臨床的な意義を明らかにし、Muse 細胞をヒト肝臓手術後に生じる高度の肝機能障害・肝不全への細胞治療として臨床応用するための基盤を構成する。

### 3. 研究の方法

高度侵襲肝臓手術患者の末梢血 Muse 細胞数を SSEA-3 を指標として、フローサイトメトリを用いて定量する。

### 4. 研究成果

- (1) ヒト末梢血において SSEA-3 を用いた Muse 細胞の定量化は可能であることを確認した。(図 1)

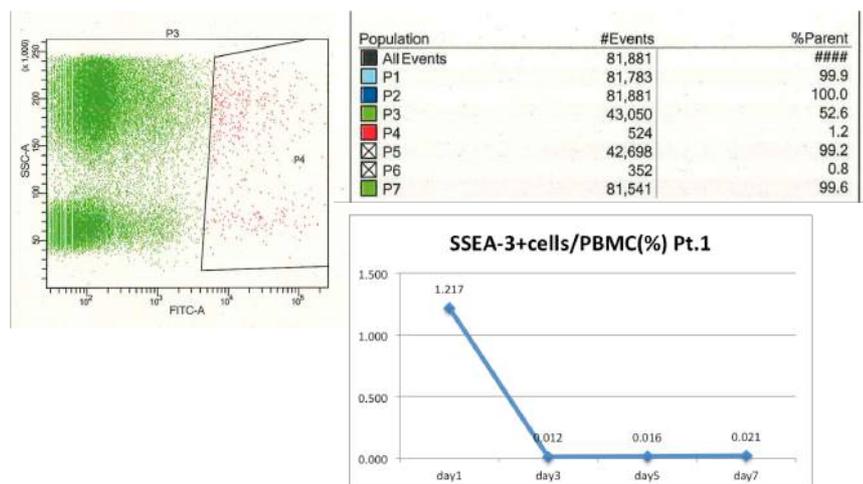


図 1 SSEA-3 を用いた Muse 細胞の定量化

- (2) Muse 細胞は高度侵襲肝臓手術後全症例で動員がみられ、24 時間後に最も動員されていた。

- (3) 症例及びイベントに応じて Muse 細胞動員数に差異がみられた。

(4) 心筋虚血がみられた症例においてイベントに一致して動員数の再上昇が確認された(図2)。

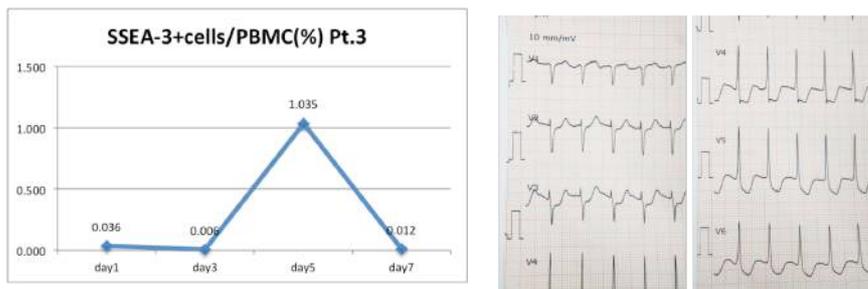


図2 術後36時間で冠動脈虚血が生じた症例。術後24時間で動員がみられた後、心筋虚血イベントにより Muse 細胞動員の再上昇がみられた。

#### 【まとめ】

Muse 細胞は高度侵襲肝臓手術後24時間後に最も動員されている。症例により動員数に差異がみられ、意義について詳細な検討を進めていく。Muse 細胞の定量化により、肝組織修復程度の指標としての意義の他、侵襲の定量化・細胞療法が有効な侵襲度の指標となる可能性があり、肝移植以外の症例へ対象を拡大して引き続き症例の蓄積と解析を行っていく。

#### <引用文献>

- ① W Kleeberger, T Rothamel, S Glöckner, et al. High frequency of epithelial chimerism in liver transplants demonstrated by microdissection and STR-analysis. *Hepatology*, 35, 2002, 110.
- ② Y Kuroda and M Dezawa, et al. Unique multipotent cells in adult human mesenchymal cell populations. *PNAS*, 107(19), 2010, 8639-8643.
- ③ H Katagiri, Y Kushida, M Dezawa and S S Nishizuka, et al. A Distinct Subpopulation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells, Muse Cells, Directly Commit to the Replacement of Liver Components. *Am J Transplant*, 16(2), 2016, 468-83.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片桐 弘勝
2. 発表標題 高度侵襲肝臓手術患者におけるMuse細胞とその遊走因子測定の臨床的有用性
3. 学会等名 第119回 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鈴木 悠地  (Suzuki Yuji)  (00779332)	岩手医科大学・医学部・助教    (31201)	
研究分担者	西塚 哲  (Nishizuka Satoshi)  (50453311)	岩手医科大学・医歯薬総合研究所・特任教授    (31201)	