

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：32203

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21726

研究課題名（和文）Muse細胞の予防医学応用のための細胞組織疫学研究

研究課題名（英文）Exploratory cell histological and epidemiological research of Muse cell for prevention

研究代表者

小橋 元（Kobashi, Gen）

獨協医科大学・医学部・教授

研究者番号：60270782

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：非妊婦集団は共同研究先病院の糖尿病外来でフォローアップを受けている男女患者（HbA1cレベルにて正常群、軽度耐糖能異常群、糖尿病群の3群に分類している）の血液サンプルからの単核球分離により行うMuse細胞およびS1P測定の結果、糖尿病のコントロール不良者にMuse細胞数増加者が多い傾向が見られた。高血糖状態がMuse細胞の機能不全を招き代償的に細胞数が増加している可能性があり、今後の検討課題と考えられた。妊産婦血液および臍帯血等については、産科でのリクルート、サンプル収集を行い、Muse細胞とS1Pの解析を行っている。今後は更に例数を増やしながらか解析し検討を進める。

研究成果の学術的意義や社会的意義

再生医療分野での応用がこれから大いに期待される多能性修復幹細胞であるMuse細胞は、全身をめくり、障害された細胞から出るスフィンゴシン1-リン酸に反応して集積し、細胞・組織を日常的に修復することで、全身をメンテナンスしていると考えられている。

今回、様々な属性の集団でMuse細胞数を測定した結果、糖尿病患者で血糖コントロールが悪い（血中HbA1cが高い）集団で、血中Muse細胞数が高い傾向にあったことから、高血糖によるMuse細胞の機能不全が代償的に細胞数の増加を起している可能性が示唆された。今後は血糖コントロールとMuse細胞の機能との関係を疫学的に検証する必要がある。

研究成果の概要（英文）：Blood concentrations of multilineage-differentiating stress enduring (Muse) cells and sphingosin-1-phosphate (S1P) were measured in non-pregnant groups including men and woman which are recruited in out patients of a diabetes clinic. Blood concentration of Muse cells tended to increase in the patients without good blood sugar control for diabetes than those with good blood sugar control or non-diabetes subjects. It is possibly thought that continuous high blood sugar condition may reduce Muse cells' function, leading to compensatory increase of them. Measuring of blood concentration of Muse cells and S1P in pregnant groups are in progress. More in-depth studies are needed in the near future.

研究分野：予防医学

キーワード：Muse細胞 予防医学 糖尿病

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Multilineage-differentiating stress enduring (Muse)細胞は、生体内に存在する多能性幹細胞である。元々生体内に存在するので腫瘍性を持たず、骨髄から末梢血に動員されて各臓器に供給され、傷害を受けた臓器に集積し、傷害や細胞死によって失われた細胞を、その細胞と同じ種類の細胞に自ら分化することで細胞を置換し、組織を修復する。そして、Muse細胞は多様な臓器の修復に対応し、組織恒常性に寄与する。また、細胞傷害性因子があるストレスの多い環境での修復作業に関わるためにストレス耐性の性質を持つ。

Muse細胞は、胎盤の免疫抑制効果を担うHLA-Gを発現する性質を持つ。また、傷害組織の細胞膜から出る警報シグナル(スフィンゴシン-1-リン酸; S1P)に対する受容体を持ち、傷害部位に特異的に集積する。そのため、Muse細胞による再生医療は「血縁やHLA適合が不要で点滴での治療が可能」、しかも「投与後の長期にわたる免疫抑制剤投与も不要」である。

現在までに、心筋梗塞、脳梗塞、表皮水疱症、脊髄損傷においてその治療が実施されているが、いずれも血縁者やHLAマッチングを必要としない汎用性の高い成果が得られており、今後の再生医療分野での応用が大いに期待されている。

一方、Muse細胞は多能性幹細胞の代表的な細胞表面マーカーであるStage-specific embryonic antigen-3 (SSEA-3)で標識・同定することが可能である。骨髄、末梢血、各臓器に散在性に存在し、また、臍帯など胎児付属組織にも存在する。Muse細胞は、骨髄には有核細胞の約0.03%の割合で存在し、一定の割合で骨髄から末梢血に動員され、血液中を巡りながら様々な臓器に分配されていると考えられている。末梢血では有核細胞の約0.03%から0.1%の割合で存在するが、生活習慣による変動があり(適度な運動により増加する)さらには疾患がある場合は変動が大きい。

研究者らは、Muse細胞のこれらの特徴に着目し、公衆衛生学・予防医学(1次~3次予防)への応用を目指して研究を進めている。しかしながらMuse細胞の正常男性女性、妊婦等の全身や組織における分布についての研究は緒に就いたばかりであり、いまだ不明な部分も多い。

### 2. 研究の目的

本研究では、Muse細胞の公衆衛生学・予防医学(1次~3次予防)分野への応用、特に女性、正常妊娠、胎児・乳幼児発達を中心としたリプロダクション・母子保健分野における応用の可能性を探ることを目的として、様々な属性の集団・実験系を対象として疫学調査と測定および統計学的解析を行い、以下の仮説を検証するための基礎資料を得る。

- (1) 生体におけるMuse細胞動員予備能力は、末梢血中Muse細胞/S1P比で推定することが出来、それは健常者集団、患者集団の双方において、非常に有用な「組織修復能力=健康状態のマーカー」となる。
- (2) 妊娠中の母体末梢血のMuse細胞濃度は非妊娠時に比べて高い。そしてそのMuse細胞の一部は胎児由来である。
- (3) 臍帯血(胎児血)のMuse細胞濃度は成人、母体に比べて著しく高い。
- (4) 母乳中にはMuse細胞が存在し、その濃度は母体血中Muse細胞濃度に相関する。

そして、健常者・疾病罹患における公衆衛生学・予防医学(1次~3次予防)はもちろん、特に正常妊娠、胎児・乳幼児発達といったリプロダクション・母子保健分野における応

用の可能性を探りたい。

### 3. 研究の方法

#### (1) 一般健康集団の血中 Muse 細胞、S1P 濃度測定

一般男女のリクルートを行い、末梢血中 Muse 細胞、S1P 濃度の測定を行う。また、非妊婦集団は共同研究先病院の糖尿病外来でフォローアップを受けている男女患者(HbA1c レベルにて正常群、軽度耐糖能異常群、糖尿病群の3群に分類している)の、それぞれ末梢血サンプルからの単核球分離により行う Muse 細胞および S1P 測定を行う。

#### (2) 妊産婦の血中・乳汁中 Muse 細胞、S1P 濃度測定

産婦人科において、妊産婦のリクルートを行い、妊娠前期、中期、後期、分娩時、産褥期、産後1か月の母体末梢血および臍帯血を採取し、それぞれの Muse 細胞、S1P 濃度を測定する。また産褥期の母乳中の Muse 細胞濃度を測定する。

#### (3) 生活習慣、身体症状、分娩(治療)転帰調査

上記(1)(2)でリクルートした対象者には、生活習慣、身体症状の質問紙調査もを行い、同時に健診データまたは分娩転帰のデータも入手する。

#### (4) 取得されたデータの統計学的解析

健常男女の末梢血中 Muse 細胞、S1P 濃度、末梢血中 Muse 細胞 / S1P 濃度比、妊産婦においては妊娠前期、中期、後期、分娩時、産褥期、産後1か月の母体血および臍帯血の Muse 細胞、S1P 濃度、臍帯血中 Muse 細胞 / S1P 濃度比のそれぞれについて要約統計量を求め その分布を明らかにし、時系列比較を行う。母乳中の Muse 細胞濃度については、産褥期の末梢血中 S1P 濃度と合わせて末梢血中 Muse 細胞 / S1P 濃度比の要約統計量を求める。また、各代表値と生活習慣、身体症状、健診結果あるいは分娩転帰などとの関連について、多変量解析等の解析法を用いて明らかにする。

### 4. 研究成果

本研究期間においては、COVID-19の臨床現場等への影響が大きく、研究進捗が大幅に遅れる結果となった。

その中でも、まず上記の(1)として、共同研究先病院の糖尿病外来において男女の患者リクルートを行った。多様な状況にある患者の末梢血中 Muse 細胞および S1P 濃度の測定を実施した結果、末梢血中 Muse 細胞および S1P 濃度は、糖尿病コントロール良好群においては非糖尿病群と差がなかったが、糖尿病コントロール不良群においては、これらの群に比べて末梢血中 Muse 細胞数が増加している(血中 HbA<sub>1c</sub> が高いほど末梢血中 Muse 細胞数が高い)傾向が認められた。

末梢血中 Muse 細胞数は身体活動やストレス状況によっても変化することから、日常生活習慣による補正も必要と考えられるが、この結果は、糖尿病のコントロール不良による影響によることが大きいと考えられる。すなわち、高血糖状態が Muse 細胞の機能不全を招き、代償的に末梢血中の Muse 細胞数が増加している可能性がある。Muse 細胞の機能不全は糖尿病の合併症にも関与している可能性があり、今後は Muse 細胞の機能解析も加えて、さらに詳細な観察と分析が必要と考えられる。

一方、妊産婦の末梢血中、臍帯血および乳汁等の解析については、Muse 細胞抽出に関わる予備実験に時間を費やしたが、現在も産婦人科でのリクルート、サンプル収集を行い、Muse

細胞とS1Pの解析を進めているところである。今後は引き続き更に例数を増やしながら解析し、検討を進めていく予定である。また、別に本研究と平行して、動物実験による子宮および附属器の組織におけるMuse細胞の観察等も進め、現在その成果を纏めているところであるが、今後、これらも併せて考察を進めていきたいと考えている。

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〕

〔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	内山 浩志  (Uchiyama Koji)  (00711318)	獨協医科大学・医学部・准教授   (32203)	
研究分担者	春山 康夫  (Haruyama Ysuo)  (20406185)	獨協医科大学・医学部・教授   (32203)	
研究分担者	出沢 真理  (Dezawa Mari)  (50272323)	東北大学・医学系研究科・教授   (11301)	
研究分担者	高倉 聡  (Takakura Satoshi)  (60256401)	獨協医科大学・医学部・教授   (32203)	
研究分担者	井上 健一  (Inoue Kenichi)  (90587974)	獨協医科大学・医学部・准教授   (32203)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------