

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09937

研究課題名（和文）ケミカル・ダイレクト・コンバージョンによる機能性MSCsの創出と再生医療への応用

研究課題名（英文）Small compounds driven direct conversion of functional human MSC

研究代表者

山本 健太（Yamamoto, Kenta）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・助教

研究者番号：00636160

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究の結果、特定の小分子化合物と培養条件を用いることで、体細胞から間葉系幹細胞（MSC）マーカーを高発現する細胞を誘導しえることを見出した。また得られた細胞は、従来のMSCsと同様に骨芽細胞、脂肪細胞などに分化する多分化能を示すとともに、高い遊走機能ならびに高い抗炎症機能を有する細胞であることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、従来の治療法では治療が困難であった歯科疾患への新規再生歯科治療確立のための基盤技術の提供を促すもので、治療後の患者のQOLとADLを大きく高める可能性がある。また歯科疾患のみならず多分野での再生治療にも大きく貢献できるものであり、その学術的・社会的意義は大きい。

研究成果の概要（英文）： We succeeded in inducing mesenchymal stem cell (MSC) phenotypes in somatic cells by culturing them with a specific combination of some chemical compounds under particular conditions. The resultant cells (cdMSCs) showed high levels of MSC's marker expression, and were capable of differentiating into osteoblasts and adipocytes similarly to primary MSCs. Also, the cdMSCs displayed high migration ability and powerful anti-inflammatory function. These results may contribute to new regenerative dental medicine and give huge impact with regards to both scientific and practical implications.

研究分野：再生医療

キーワード：再生医療 ダイレクト・リプログラミング MSC

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、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

間葉系幹細胞 (Mesenchymal stem cells (MSCs)) は、骨芽細胞、脂肪細胞や軟骨細胞への多分化能、免疫抑制機能、抗炎症機能、組織修復能などを有するため、再生治療への応用が期待されており、既に多くの分野での治験が実施され、良好な結果が得られているものもある。しかし現状においては、間葉系幹細胞を用いる再生治療には、細胞採取時の侵襲性、得られる幹細胞数の不足、継代培養に伴う幹細胞機能の低下などの問題がある。

体細胞から別の体細胞を直接誘導する技術(ダイレクト・コンバージョン)が知られている。この技術を用いれば、迅速、簡便、安価、そして未分化多能性幹細胞の混入に伴う腫瘍化リスクがなく移植しても安全な、目的の細胞を作出できる可能性がある。我々はこれまで、骨芽細胞、褐色脂肪細胞、筋芽細胞、シュワン細胞などの細胞をこのダイレクト・コンバージョンで誘導することに成功している。

ダイレクト・コンバージョンでは、転写因子の遺伝子を導入して誘導することができるが、細胞移植治療を目的とする場合には、遺伝子導入することなく、小分子化合物を添加するだけで誘導出来る技術(ケミカル・ダイレクト・コンバージョン)が操作性、経済面、安全面などからより望ましい。

そこで我々は、小分子化合物を用いたケミカル・ダイレクト・コンバージョンによる、体細胞から MSCs 様細胞の誘導を着想し本研究を行った。

2. 研究の目的

本研究では、体細胞より機能的な MSCs 様細胞をケミカル・ダイレクト・コンバージョンにて誘導し、その性質ならびに機能を解析することを目的とする。本研究成果は、多分野における新規再生治療に大きく貢献できるものであり、その学術的・社会的意義は計り知れないと考えられる。

3. 研究の方法

1) 間葉系幹細胞様細胞へのケミカル・ダイレクト・コンバージョン法の確立

体細胞を、種々の化合物を組み合わせた様々な条件で培養し、得られた細胞の MSC 表面マーカー発現を調べた。また得られた細胞の骨芽細胞および脂肪細胞への分化能を比較検討した。

得られた結果から最適な化合物の組み合わせと培養条件を選定し、その方法で得られた細胞を間葉系幹細胞様細胞 (cdMSCs) とした。

2) cdMSCs の *in vitro* での機能評価

cdMSCs の細胞表面マーカー発現、分化能、遊走能などをプライマリー MSCs と比較しながら評価した。

3) cdMSCs の網羅的遺伝子発現解析

元の体細胞と誘導した cdMSCs のトランスクリプトームを解析し、網羅的遺伝子発現パタ

ーンを GO term 解析、Pathway 解析、および GSEA 解析に供した。

- 4) cdMSCs の *in vivo* での機能評価
cdMSCs およびプライマリー-MSCs を疾患モデル動物に投与し、その効果を検討した。

4. 研究成果

- 1) 間葉系幹細胞様細胞へのケミカル・ダイレクト・コンバージョン法の確立
特定の化合物の組み合わせと特定の条件にて培養することで、体細胞に MSC 表面マーカーを強く発現し、かつ骨芽細胞および脂肪細胞への分化能を誘導することができた。さらにそれらの最適化を図ることができた。
- 2) cdMSCs の *in vitro* での機能評価
得られた cdMSCs は元の体細胞と比し、MSC 表面マーカーを強く発現しており、その発現レベルはプライマリー-MSCs と同等であった。また cdMSCs はプライマリー-MSCs に匹敵する骨芽細胞、脂肪細胞、軟骨細胞などへの分化能を有しており、元の体細胞と比較し、高い遊走能も有していた。
- 3) cdMSCs の網羅的遺伝子発現解析
cdMSCs では元の細胞に比し、MSC に関連したいくつかの GO term において有意な発現の増大が見られ、また特定の細胞内シグナル分子の発現様式の顕著な変化が認められた。
- 4) cdMSCs の *in vivo* での機能評価
cdMSCs は疾患モデル動物に移植すると、プライマリー-MSCs と同様の機能を発揮することが組織学的、免疫学的評価によって確認することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Adachi Tetsuya, Tahara Yoshiro, Yamamoto Kenta, Yamamoto Toshiro, Kanamura Narisato, Akiyoshi Kazunari, Mazda Osam	4. 巻 10
2. 論文標題 Cholesterol-Bearing Polysaccharide-Based Nanogels for Development of Novel Immunotherapy and Regenerative Medicine	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Gels	6. 最初と最後の頁 206 ~ 206
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/gels10030206	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Lee Sunghee, Ogino Shuichi, Sowa Yoshihiro, Yamamoto Kenta, Kato Yuki, Munisso Maria Chiara, Saito Susumu, Shirai Manabu, Yamaoka Tetsuji, Morimoto Naoki	4. 巻 25
2. 論文標題 Evaluation of adipogenesis over time using a novel bioabsorbable implant without the addition of exogenous cells or growth factors	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 220 ~ 228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2023.12.015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Redolfi-Bristol Davide, Mangiameli Alessandro, Yamamoto Kenta, Marin Elia, Zhu Wenliang, Mazda Osam, Riello Pietro, Pezzotti Giuseppe	4. 巻 37
2. 論文標題 Ammonia Toxicity and Associated Protein Oxidation: A Single-Cell Surface Enhanced Raman Spectroscopy Study	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Chemical Research in Toxicology	6. 最初と最後の頁 117 ~ 125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.chemrestox.3c00368	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Taga Hideto, Kishida Tsunao, Inoue Yuta, Yamamoto Kenta, Kotani Shin-ichiro, Masashi Tsujimoto, Ukimura Osamu, Mazda Osam	4. 巻 18
2. 論文標題 TGF- inhibitor treatment of H2O2-induced cystitis models provides biochemical mechanism for elucidating interstitial cystitis/painful bladder syndrome patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0293983
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0293983	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yamanobe Hironaka, Yamamoto Kenta, Kishimoto Saki, Nakai Kei, Oseko Fumishige, Yamamoto Toshiro, Mazda Osam, Kanamura Narisato	4. 巻 28
2. 論文標題 Anti-Inflammatory Effects of -Cryptoxanthin on 5-Fluorouracil-Induced Cytokine Expression in Human Oral Mucosal Keratinocytes	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2935 ~ 2935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules28072935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mizuno Kai, Boschetto Francesco, Yamamoto Kenta, Honma Taigi, Miyamoto Nao, Adachi Tetsuya, Kanamura Narisato, Yamamoto Toshiro, Wenliang Zhu, Marin Elia, Pezzotti Giuseppe	4. 巻 234
2. 論文標題 Cytotoxicity and osteogenic effects of aluminum ions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Inorganic Biochemistry	6. 最初と最後の頁 111884 ~ 111884
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jinorgbio.2022.111884	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Ishii Takenobu, Ruiz-Torruella Montserrat, Yamamoto Kenta, Yamaguchi Tsuguno, Heidari Alireza, Pierrelus Roodelyne, Leon Elizabeth, Shindo Satoru, Rawas-Qalaji Mohamad, Pastore Maria Rita, Ikeda Atsushi, Nakamura Shin, Mawardi Hani, Kandalam Umadevi, Hardigan Patrick, Witek Lukasz, Coelho Paulo G., Kawai Toshihisa	4. 巻 23
2. 論文標題 Locally Secreted Semaphorin 4D Is Engaged in Both Pathogenic Bone Resorption and Retarded Bone Regeneration in a Ligature-Induced Mouse Model of Periodontitis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 5630 ~ 5630
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23105630	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Boschetto Francesco, Doan Hoan Ngoc, Phong Vo Phu, Zanocco Matteo, Yamamoto Kenta, Zhu Wenliang, Adachi Tetsuya, Kinashi Kenji, Marin Elia, Pezzotti Giuseppe	4. 巻 26
2. 論文標題 Bacteriostatic Behavior of PLA-BaTiO3 Composite Fibers Synthesized by Centrifugal Spinning and Subjected to Aging Test	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecules	6. 最初と最後の頁 2918 ~ 2918
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/molecules26102918	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakai Kei, Yamamoto Kenta, Kishida Tsunao, Kotani Shin-ichiro, Sato Yoshiki, Horiguchi Satoshi, Yamanobe Hironaka, Adachi Tetsuya, Boschetto Francesco, Marin Elia, Zhu Wenliang, Akiyoshi Kazunari, Yamamoto Toshiro, Kanamura Narisato, Pezzotti Giuseppe, Mazda Osam	4. 巻 9
2. 論文標題 Osteogenic Response to Polysaccharide Nanogel Sheets of Human Fibroblasts After Conversion Into Functional Osteoblasts by Direct Phenotypic Cell Reprogramming	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fbioe.2021.713932	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 山本健太
2. 発表標題 骨芽細胞のダイレクトリプログラミング
3. 学会等名 日本セラミックス協会年会 サテライトシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Kenta Yamamoto
2. 発表標題 Direct reprograming for bone regeneration
3. 学会等名 NSU Dental Symposium 2024, AADOCR Florida-JSPS Joint Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Oseko F, Yamamoto T, Yamamoto K, Takizawa S, Kinoshita R, Akane M, Matsuzawa N, Adachi K, Kanamura N
2. 発表標題 Anti-inflammatory effects of -cry on 5FU-induced cytokine production in hOMK
3. 学会等名 9th World Congress of the International Academy of Oral Oncology (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山本健太, 田原義朗, 岸田綱郎, 秋吉一成, 松田修
2. 発表標題 骨芽細胞の3Dダイレクト・コンヴァージョンとナノゲルテクトニクスによる骨再生
3. 学会等名 第45回日本バイオマテリアル学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yamamoto K, Kishimoto S, Yamanobe H, Oseko F, Yamamoto T, Kanamura N
2. 発表標題 Effect of 5-FU and -cryptoxanthin on oral mucosa derived keratinocytes
3. 学会等名 100th General Session and Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamamoto T, Yamamoto K, Adachi K, Oseko F, Amemiya T, Kanamura N
2. 発表標題 Mechanical Stress Induces Cytokine and Growth Factor in Oral Mucosa
3. 学会等名 100th General Session and Exhibition of the IADR (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yamamoto K, Yamamoto T, Kinoshita R, Kumagai W, Ohyabu H, Kanamura N
2. 発表標題 Small compounds-derived direct conversion of human fibroblasts into functional osteoblasts.
3. 学会等名 14th Asian Congress on Oral and Maxillofacial Surgery (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山本健太, 山本俊郎, 山田順子, 大迫文重, 久保田崇, 長谷川彰則, 中村亨, 村山高章, 金村成智
2. 発表標題 5-FUと -クリプトキサンチンのヒト口腔粘膜由来上皮細胞へ与える影響
3. 学会等名 第30回 日本有病者歯科医療学会学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yamamoto K, Yamamoto T, Kishida T, Mazda O, Kanamura N
2. 発表標題 Chemical direct conversion of human fibroblasts into functional osteoblastic cells
3. 学会等名 69th Japanese Association for Dental Research (国際学会)
4. 発表年 2021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	松田 修 (Mazda Osam) (00271164)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・教授 (24303)	
研究 分担者	岸田 綱郎 (Kishida Tsunao) (00370205)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授 (24303)	
研究 分担者	山本 俊郎 (Yamamoto Toshiro) (40347472)	京都府立医科大学・医学(系)研究科(研究院)・講師 (24303)	

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
---------	---------