

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 5 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791392

研究課題名(和文) ヒト間葉系幹細胞注入による乳房再建法の実現化に向けた基礎的エビデンスの創出

研究課題名(英文) Mesenchymal Stem Cell transplantation for Reconstruction of Breast Cancer patients

研究代表者

関 朋子 (Seki, Tomoko)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：70528900

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)：本研究ではヒト間葉系幹細胞を用い、細胞移植後の生着の土台として生体吸収性ハイドロゲルで補助した上で、細胞移植を行い、その対象としてマウスの乳房原基とされるMammary Fat Padという組織を部分切除し、実際の臨床で見られる乳房切除と近似したモデルを使用することで、乳がん術後の乳腺欠損部に対して、自家細胞移植を行い、その形状を復元することを目的としてその安全性に対する基礎的な実験を行うものである。本研究結果によって、移植された間葉系幹細胞が移植後に乳腺の欠損部を十分に補うことがわかり、また腫瘍化などの心配なく今後の自家細胞移植に安全に使用できる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：This study was to investigate new strategy for the reconstruction of mammary gland after glandectomy for breast cancer patients using autologous mesenchymal stem cell transplantation with self absorbable hydrogel. The mouse model we used was an unique model generated by resecting mammary fat pad which is the immature breast tissue in mouse and mimicking the patients who suffered partial breast resection. The result of the transplantation of human mesenchymal stem cell demonstrated that the cells could sufficiently restore the space after the fat pad resection in mouse and showed no tumorigenesis or inflammatory response. Therefore, we assume that this new strategy using autologous mesenchymal stem cell for the reconstruction of the breast will be one of the options for breast cancer patient without surgical incision.

研究分野：乳腺外科

キーワード：幹細胞 乳房再建 細胞移植 組織工学

1. 研究開始当初の背景

「乳房再建とその問題点」

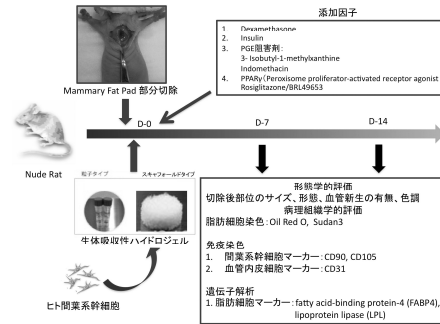
乳癌の世界的な増加によって数多くの患者が乳房の切除を余儀なくされている。米国では 8 人に一人、日本においても 20 人に一人の女性が発症するとされる乳癌に対して現在様々な治療法が開発され、乳房全摘を免れ部分切除が可能な患者数が増大した。しかしながら術後乳房の変形は避けられず、患者 QOL を肉体的のみならず精神的に大きく下げの要因となっている。これに対して、現在皮弁・インプラントなどの再建術式が用いられているが、人工物の使用や煩雑な術式を原因とした炎症・感染・再手術などの様々な問題が発生し、必ずしも満足のいく結果は得られていない。

申請者は実際に乳腺外科医として臨床に携わり同じ女性として多くの患者と接してきた中で、この術後乳房再建の問題がその後の癌と戦う気持ち自体をも削ぎかねない現状を目の当たりにしてきた。このような現状を打破するために、自己由来組織や生体吸収材料を応用することで炎症反応を惹起しない、新しい乳房再建法の開発が強く求められている。これに対して一部で自己由来の脂肪前駆細胞と脂肪細胞を局所注入することで生体本来の組織の再構成を狙った再建方法が試みられているが、特に注入後の細胞が生体内でどのような転機をたどるかなどを含めた明確なエビデンスに乏しく、安全性の問題を含め越えるべき障壁が山積している。

2. 研究の目的

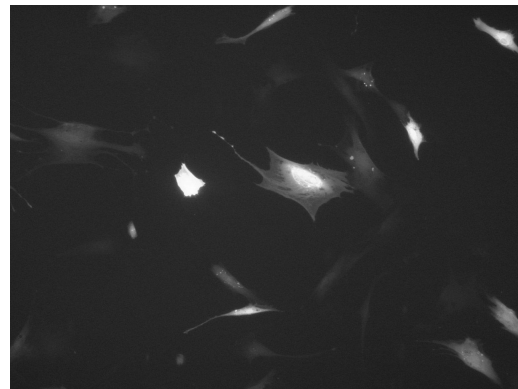
近年増加の一途を辿る乳癌の術後再建方法には様々な問題点があり、患者 QOL を著しく低下させる要因となっている。これに対し再生医療の応用による免疫応答を惹起することなく副作用のない新しい再建法の開発に大きな期待が寄せられている。脂肪前駆細胞等を用いる方法は一部で試みられているものの、明確な基礎的エビデンスは得られていない。本研究ではヒト間葉系幹細胞を用い、生着基盤として生体吸収性ハイドロジェルを加えること、更にマウスの乳房原基とされる Mammary Fat Pad の部分切除という具体性の高いモデルを使用することによって、細胞移植の安全性・注入後の動態を明らかにし、新しい幹細胞移植による乳房再建法を具現化する基礎的エビデンスの創出を目指す。

3. 研究の方法



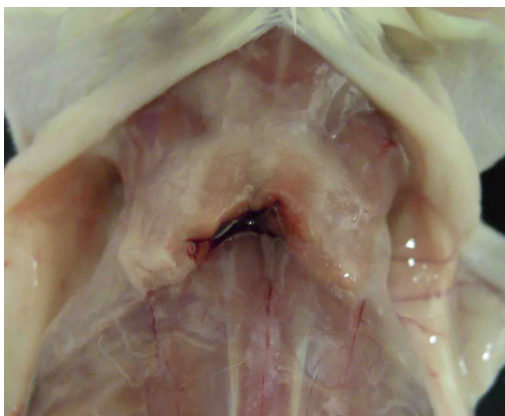
本研究は in vitro、in vivo においてヒト間葉系幹細胞/ハイドロジェルの乳房再建における有用性と基礎的エビデンスを、3 年の期間で創出する計画で行う。まず生体への移植による安定的な結果を導くため、1) 生体吸収性ハイドロジェルを用いたヒト間葉系幹細胞の培養と移植条件の最適化、を行い、各種の分化誘導因子の添加など異なる条件を十分に検討する。引き続き得られた条件を元に、2) ヒト間葉系幹細胞/ハイドロジェルのマウス乳房部分切除モデルへの移植、によって短期（1 週間）～長期（1 年間）における移植後の欠損修復能・安全性を十分に評価する。in vivo では免疫不全マウスの乳房（Mammary Fat Pad）切除モデルを用い、移植細胞としてヒト細胞を用いることによって、移植した細胞とマウス由来細胞との相違を明確化し、移植細胞の動態・分化、周囲組織との反応などを詳細に検討する。

4. 研究成果



まず、ハイドロジェル内で生着したヒト間葉系幹細胞をコントロールとし、まず GFP の発現評価に加えて病理組織学的評価・電子顕微鏡、及び遺伝子発現によって、ハイドロジェル内で間葉系幹細胞が安定して固着していることを 2 週間まで経時的に確認した。（図は高率で GFP 導入が成功したヒト間葉系幹細胞）

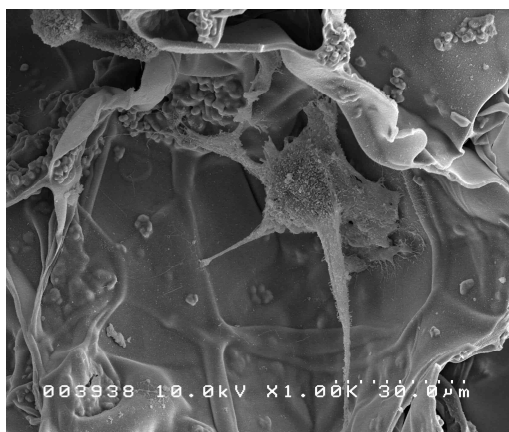
Mammary Fat Pad 部分切除モデル



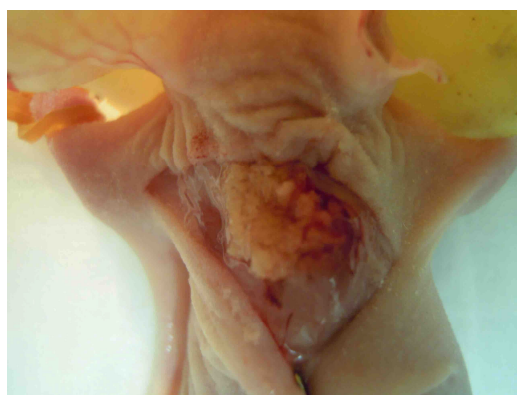
これまでの研究のほとんどが移植後の細胞を評価するためにマウスの皮下注入モデルが用いられていたため、臨床で見られる乳房欠損部位への移植とは特に細胞周囲環境の点で隔たりがあった。今回マウスの乳房原基である Mammary Fat Pad を一部切除し欠損を生じさせることによって、移植細胞と**周囲環境との相互作用**が評価可能となるため、実地臨床により近い乳房部分切除モデル (Walden PD, *Endocrinology* 1998) の作成に成功した。

この動物モデルに対して、ヒト間葉系幹細胞/ハイドロゲルの複合細胞塊を乳房欠損部に移植した後観察し、経時的に周囲組織と共に採取して、乳房欠損部の修復効果があること、また間葉系幹細胞がハイドロゲル内で安全かつ長期的に生存していることが示された。(図はハイドロゲル内の間葉系幹細胞)

実際のハイドロゲル+間葉系幹細胞の移植された、Mammary Fat Pad 部分切除モデル



を図に示す。本マウスは術後2週間を経ても細胞が生着しており、部分切除後の欠損部分が十分に再構築されていることが示された。また腫瘍形成や強い免疫応答、感染などはなく、安全に移植が可能であることが示された。



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

発表者：関朋子

共同演者；松本暁子、村田健、高橋麻衣子、林田哲、神野浩光、岡林剛史、北川雄光

場所；大阪府大阪市、大阪国際会議場

題名；原発性乳癌に対する乳頭温存乳房切除術の安全性の検証

日時；2014年7月11日(金)

学会名；日本乳癌学会

〔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：
取得年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：

国内外の別：

〔その他〕
ホームページ

http://keiosurg.umin.jp/ggs/study_group/keio_surgery_regenerative_therapy-new_000.htm

6．研究組織

(1)研究代表者

関 朋子 (Seki Tomoko)
慶應義塾大学・医学部・助教
研究者番号：70528900