

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 21 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25670749

研究課題名(和文) ヒトMuse細胞(多能性組織幹細胞)を利用した次世代血管新生治療法の開発

研究課題名(英文) Development of angiogenic therapy with human Muse cells

研究代表者

吉村 浩太郎 (Yoshimura, Kotaro)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60210762

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：まずヒトMuse細胞を脂肪間質細胞からMACSで単離して、その性質を調べた。分裂が少なく、一部の増殖因子の発現がとくに低酸素下で大きくなった。難治性皮膚潰瘍への血管新生治療への効果を見るために、SCIDマウスにSTZを注射して、タイプ1糖尿病マウスを作製した。背部に作成した皮膚潰瘍は治癒遅延が認められた。Muse細胞を投与した群では、Muse-poor細胞を投与した群に比べて、有意に治癒が早かった。Muse細胞の一部は血管内皮細胞や表皮角化細胞に分化していた。Muse細胞の臨床応用への有用性が示された。

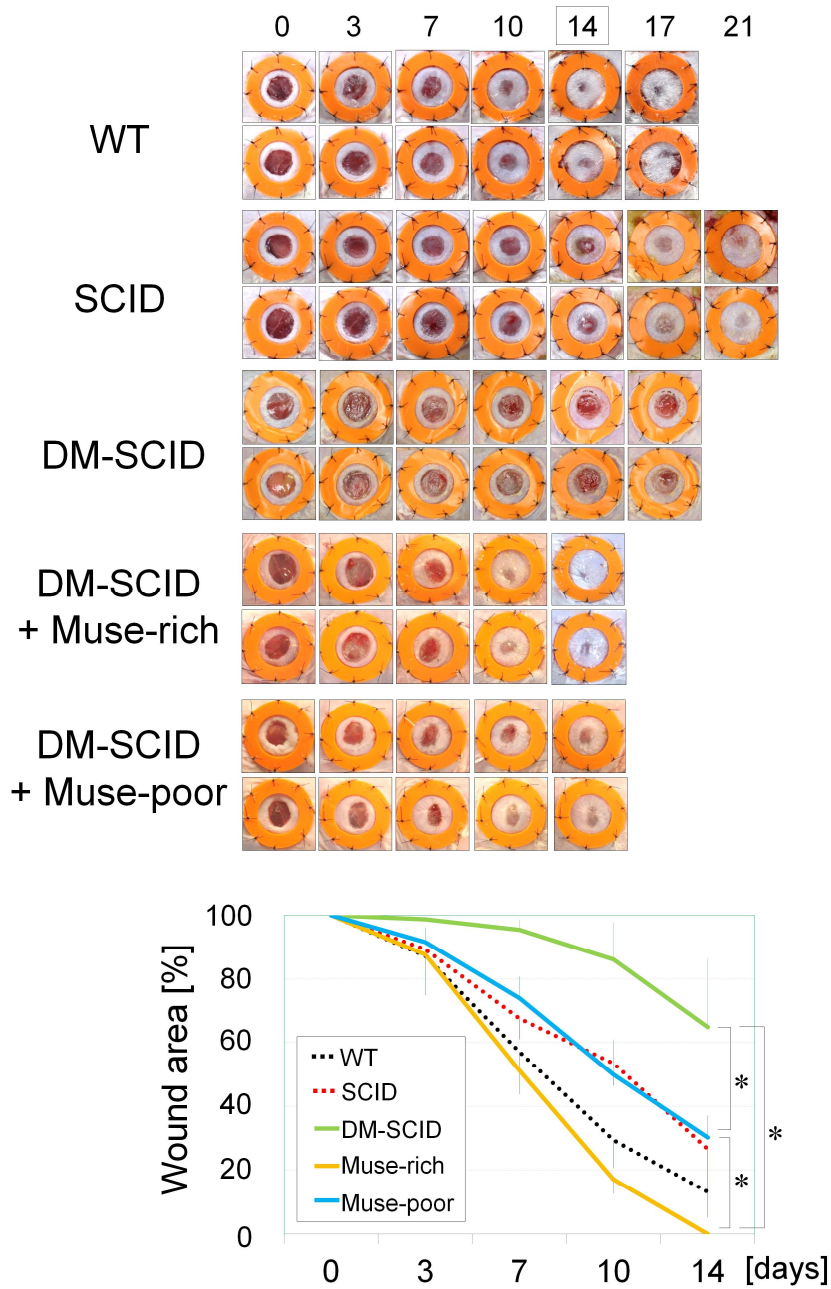
研究成果の概要(英文)：SSEA-3+ multipotent mesenchymal cells (Muse cells) were isolated from cultured human adipose tissue-derived stem/stromal cells (hASCs) and characterized, and their therapeutic potential for treating diabetic skin ulcers was evaluated. Muse-rich ASCs showed upregulated and downregulated pluripotency and cell proliferation genes, respectively, compared to Muse-poor counterpart. Skin ulcers were generated in SCID mice with type 1 diabetes, which showed delayed wound healing compared to non-diabetic SCID mice. Treatment with Muse-rich cells significantly accelerated wound healing compared to treatment with Muse-poor cells. Transplanted cells were integrated into the regenerated epidermis and dermis as epidermal keratinocytes and vascular endothelial cells, respectively. However, they were not detected in the surrounding intact regions. Thus, the selected population of ASCs has greater therapeutic effects to accelerate impaired wound healing associated with type 1 diabetes.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・形成外科学

キーワード：創傷治癒 幹細胞 糖尿病 皮膚潰瘍

図1 . 創傷治癒モデル



1. 研究開始当初の背景

近年、先進諸国では高齢化に伴い、生活習慣病が増加した。その為、動脈硬化症に伴う閉塞性動脈硬化症（ASO）や末梢動脈閉塞症（PAD）および糖尿病による下腿潰瘍・足壊疽が顕在化している。これらの治療法として、従来は壊疽・壊死した部位の中枢での切断を余儀なくされることが多く、歩行可能な状態を保つ下肢救済・フットケアの概念が広がっている。バルーン拡張術やステント挿入術、動脈バイパス術などの血行再建術や、局所療

法として持続陰圧吸引療法、高濃度酸素療法などが行われているが、未だ不十分で根本的な治療には至っていない。再生医療として骨髄由来細胞の局所注射などが先進医療として行われているが、十分な効果を出せていない。こうした問題点を解決するために、有望な再生医療の新技术を開発・研究することの意義は大きい。

2010年に東北大学大学院医学系研究科出澤教授らの研究グループでは、ヒト皮膚線維芽細胞や骨髄間質細胞から多能性を持つ幹

細胞が存在することを発見し、Muse 細胞と名付けて発表した。Muse 細胞は、これまでの多能性幹細胞である ES 細胞や iPS 細胞と異なり、腫瘍化の問題がないこと、遺伝子導入の必要がないことから、今後の再生医療への寄与が大いに期待されている。しかしながら、Muse 細胞は ES 細胞や iPS 細胞と比較して世界的にも認知度が低く、研究が乏しい領域である。我々はすでに 2011 年より出澤グループと共同研究を行い、基礎的な予備実験は十分に行っている状況であり、短期間で研究成果が出せる状況である。

2. 研究の目的

本研究は、新しい多能性組織幹細胞概念であるヒト Muse 細胞の皮膚・軟部組織に対する作用を精査し、Muse 細胞を用いて、糖尿病性壊疽・血管障害性潰瘍といった難治性潰瘍に対する有効性の高い根本的血管新生治療を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(A) ヒト Muse 細胞の分離・精製方法の確立：ヒト Muse 細胞は、ヒト皮膚線維芽細胞や骨髄間質細胞から発見され

たが、われわれのこれまでの研究から脂肪由来幹細胞（間葉系）毛乳頭細胞にも存在することが分かっている

。しかしながら、存在率が 1-2%と極めて少なく、その分離の為に、高い純度の細胞集団を効率よく分離する

方法の確立が必須である。現在は SSEA3 抗体を用いた MACS を使用している。

(B) 難治性潰瘍動物モデルの確立：難治性潰瘍を動物に作成する際に、創傷遅延動物モデルが必要である。創

傷遅延モデルとしては、臨床での糖尿病性壊疽の患者を想定し、免疫不全動物を用いて高血糖状態を維持した糖

尿病動物を作成する。いかに効率よく高血糖動物を作成するか検討を重ねる（すでにほぼ終了している）

この創傷遅延動物モデルに皮膚および軟部組織の難治性潰瘍を作成し、その創傷治癒能の低下を証明する。ここ

で確立した難治性潰瘍動物モデルを C 以下にて使用する。本研究では、ヒト由来の細胞を異種の動物に移植する

為に、免疫不全の動物モデルが必須となる。

(C) 難治性潰瘍動物モデルでの細胞移植方法の最適化：組織幹細胞移植は、創部の血流低下による幹細胞の減

少、機能低下を克服する戦略として行う。ヒト Muse 細胞の移植、移植方法の最適化を行う。

(D) 細胞移植後の組織変化の分析：移植後の皮膚軟部組織の経時的な変化を観察する。

とくに血管新生細胞、線維芽細胞に分化したヒト Muse 細胞を追跡し、数や挙動を分析する。また、組織において、組織リモデリング、毛細血管形成などに注目する。

4. 研究成果

まずヒト Muse 細胞を脂肪間質細胞から MACS で単離して、その性質を調べた。分裂が少なく、一部の増殖因子の発現がとくに低酸素下で大きくなった。難治性皮膚潰瘍への血管新生治療への効果を見るために、SCID マウスに STZ を注射して、タイプ 1 糖尿病マウスを作製した。背部に作成した皮膚潰瘍は治癒遅延が認められた。Muse 細胞を投与した群では、Muse-poor 細胞を投与した群に比べて、有意に治癒が早かった（図 1）。Muse 細胞の一部は血管内皮細胞や表皮角化細胞に分化していた。Muse 細胞の臨床応用への有用性が示された。

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 0 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉村 浩太郎 (KOTARO YOSHIMURA)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：60210762

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：