

令和 4 年 4 月 27 日現在

機関番号：32666

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09501

研究課題名(和文)細胞担持ナノシートと蛍光遺伝子導入を用いた新しい脂肪由来幹細胞移植法の研究

研究課題名(英文)Enhanced cellular engraftment of adipose-derived mesenchymal stem cell therapy by Nanosheets.

研究代表者

青木 伸峰(AOKI, SHIMPO)

日本医科大学・大学院医学研究科・研究生

研究者番号：70739797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：ナノシートは、物理的作用によりあらゆる物質表面に密着できる。ナノシートを幹細胞移植に応用し、ASCを用いることで、細胞培養期間を短縮し、加工工程を省き、低コストに治療効率を大きく改善する新しい幹細胞移植技術を創出できる。移植ASCおよびASCスフェロイドをナノシートで保持することで創傷治癒促進効果を得られた。創傷治癒機序解明への新アプローチを発見することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性皮膚潰瘍は治療抵抗性であり、皮弁術など高度な手術手技を要することも多い。治療期間も長期化し、人的、経済的負担は大きい。ナノシートによる細胞治療は創傷治癒を促進し、成長因子発現亢進が認められた。このASCの paracrine効果について、移植細胞を有効に利用し、創傷治癒効果促進を得られていることがわかった。

ナノシートを幹細胞移植に応用し、脂肪由来幹細胞(ASC)を用いることで、細胞培養期間を短縮し、加工工程を省き、低コストに治療効率を大きく改善する新しい幹細胞移植技術を創出できる。

研究成果の概要(英文)：There have been technical restrictions for cell therapy in clinical practice. Here, we show an effective method for transplantation of Adipose-derived stem cell(ASC) or ASC spheroids onto skin wounds in order to efficiently cure refractory ulcers. To assist anchoring of spheroids onto skin wounds, we used a nanosheet that has a highly adhesive property. Bioluminescence imaging showed that ASC spheroids carried by the nanosheet survived for 14 days, which is about two-times longer than that previously reported. Wounds treated with a nanosheet carrying ASCs were 4-times smaller than untreated wounds on day 14. This method could be applied to cell therapy for various wounds.

研究分野：再生医療

キーワード：ナノシート 細胞治療 幹細胞移植

1. 研究開始当初の背景

幹細胞治療の研究開発が盛んに行われているが、あまたある幹細胞の中で脂肪由来幹細胞(以下 ASC)は、自家幹細胞として大量に採取できるため、移植を前提に大量増殖することに要する培養期間を大幅に短縮できる。他方、申請者らが開発したナノシートは、厚さが数十ナノメートルと細胞膜程度のきわめて薄い生体吸収性のシートで、創傷治癒を促進し、接着剤なしに創面に強く密着できる。申請者らは最近、ASC をナノシートに生着させ (ASC 担持ナノシート)、これを潰瘍創面に被覆することで、ASC の創面生着に成功した。そこで本研究では、ASC 担持ナノシートを用いた潰瘍創面での ASC の生着技術ならびに増殖技術を開発して、難治性皮膚潰瘍の治療における新しい再生医療技術の確立を目指す。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ASC をナノシートに生着させ創面で増殖させる技術を開発して、難治性皮膚潰瘍の治療における新しい再生医療技術の確立することである。ナノシート独自の特性を生かして幹細胞移植に利用することで、他の足場素材では得られない高効率の細胞移植技術を実現する。ナノシートは、物理的作用によりあらゆる物質表面に密着できる一方、一旦接着すれば隣接組織との癒着を起こさない特徴を有する。一方でナノシートは、生分解性材料であるポリ乳酸を使用しているため、時間とともに分解され、生体内に遺残しない安全性の高い素材である。このユニークな素材を幹細胞移植に用いることで、周辺臓器への癒着のない、標的臓器表面のみへの細胞移植を行うことができる。放射線、褥瘡、糖尿病、閉塞性動脈硬化症等に起因する難治性皮膚潰瘍は治療抵抗性であり、皮弁術など高度な手術手技を要することも多い。治療期間も長期化し、人的、経済的負担は大きい。ナノシートを幹細胞移植に応用すること、さらに幹細胞として比較的低侵襲に、大量に採取できる ASC を用いることで、細胞培養期間を短縮し、加工工程を省くことが可能となる上に、患者への侵襲も軽減できる。これにより、低コストに治療効率を大きく改善する新しい幹細胞移植技術を創出できる。

3. 研究の方法

本研究では、マウス皮膚潰瘍モデルに ASC 担持ナノシートを適用して、ASC の生着率向上を図り、創傷治癒や分化誘導を観察した。さらに、セレンテラジンを用いたバイオイメーキング手法を用いて移植細胞の挙動について観察した。具体的には、ナノシートを用いた脂肪由来幹細胞移植の生着率向上と、創傷治癒促進効果および分化誘導の検討、ナノシートの特性および発光遺伝子導入 ASC を用いた幹細胞移植のイメージング法の検討を行った。

4. 研究成果

ASC、ASC スフェロイドをナノシートでマウス背部皮膚潰瘍に移植したところ、創傷治癒は促進され、FGF2、EGF、VEGF の発現亢進が認められた。この ASC の paracrine 効果について、ナノシート群では同一移植 ASC 数比でより有効に創傷治癒効果促進を得られていることがわかった。これは、移植 ASC および ASC スフェロイドが目標に対し極めて近接して保持される事による効果だと考えられた。ナノシートによる新治療の可能性と創傷治癒機序解明への新アプローチを発見することができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Suematsu Yoshitaka, Tsai Ya An, Takeoka Shinji, Franz Clemens M., Arai Satoshi, Fujie Toshinori	4. 巻 8
2. 論文標題 Ultra-thin, transparent, porous substrates as 3D culture scaffolds for engineering ASC spheroids for high-magnification imaging	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Materials Chemistry B	6. 最初と最後の頁 6999 ~ 7008
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0TB00723D	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 -
1. 著者名 藤枝 俊宣, 青木伸峰.	4. 巻 54
2. 論文標題 細胞担持ナノシートの開発と難治性皮膚潰瘍治療への応用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Japanese Journal of SURGICAL METABOLISM and NUTRITION	6. 最初と最後の頁 188 ~ 193
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11638/jssmn.54.4_188	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 山岸 健人, 藤枝 俊宣.	4. 巻 184(3)
2. 論文標題 生体組織接着性インプラント発光デバイスを用いたがん治療	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 バイオマテリアル-生体材料-	6. 最初と最後の頁 194-199
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 山岸 健人, 藤枝 俊宣.	4. 巻 70(7)
2. 論文標題 高分子ナノシートからなるプリンテッドナノ薄膜の創製とバイオデバイスへの展開	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学工業	6. 最初と最後の頁 57-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Printed nanofilms for medical and health-care applications,
3. 学会等名 Joint Workshops between TokyoTech & RWTH
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Emerging Flexible Devices for Advanced Healthcare and Medicine
3. 学会等名 The 3rd Japan-Russia Joint Forum for Education and Research. (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Ultra-Flexible Nanofilms for Bio-Integrated Device & System
3. 学会等名 Materials Research Meeting 2019 (MRM2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Ultra-Conformable Biodevice for Advanced Medicine and Healthcare
3. 学会等名 The 26th International Display Workshops (IDW '19) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Ultra-Flexible Polymeric Nanosheets for Wearable and Implantable Technologies
3. 学会等名 International Workshop on Advanced Electronics and Applications for early career researchers - For the future collaboration between Japan and Singapore (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Fujie, T.
2. 発表標題 Nanosheet Technology for Wearable and Implantable Devices
3. 学会等名 ISIPS2019, International workshop on Bioiontronics. (国際学会)
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	清澤 智晴 (KIYOSAWA TOMOHARU) (90221217)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・病院形成外科・教授) (82406)	
研究分担者	木下 学 (KINOSHITA MANABU) (70531391)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・免疫・微生物学・教授) (82406)	
研究分担者	守本 祐司 (MORIMOTO YUJI) (10449069)	防衛医科大学校 (医学教育部医学科進学課程及び専門課程、動物実験施設、共同利用研究施設、病院並びに防衛・生理学・教授) (82406)	

6. 研究組織（つづき）

	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	藤枝 俊宣 (FUJIE TOSHINORI) (70538735)	東京工業大学・生命理工学院・准教授 (12608)	

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