

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32653

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K17036

研究課題名(和文) ヒト脂肪由来幹細胞シートを用いた糖尿病足潰瘍の新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of a novel therapeutic method for diabetic foot ulcers using human adipose-derived stem cell sheets

研究代表者

加藤 ゆか (Kato, Yuka)

東京女子医科大学・医学部・助教

研究者番号：20646616

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：難治性である糖尿病足病変の有効な治療法として、細胞シート工学を用いて作製した脂肪由来幹細胞シートと人工真皮を併用し、肥満2型糖尿病モデルラットの他家移植で創傷治癒促進を示し、実験プロトコルを示した。また、当研究チームの濱田を筆頭にヒト脂肪細胞から作製したヒト脂肪由来幹細胞シート(hASCシート)の評価、肥満2型糖尿病モデルラットへの移植を施行し、hASCシート作製プロトコルを確立し、hASCシートは異種移植で有意な創傷治癒促進を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性である糖尿病足病変の有効な治療法の確立を目指した。細胞シート工学を用いて作製したラットあるいはヒト脂肪由来幹細胞シートと人工真皮との併用は肥満2型糖尿病モデルラットで明らかな創傷治癒促進を示しており、同種あるいは異種の個体への創傷治癒の有効性を認めた。今後、創傷治癒において、脂肪由来幹細胞シートが治療法確立の選択肢となり得、また、脂肪由来幹細胞シートを用いた際、自家での移植のみならず、同種あるいは異種での移植も治療の手段になり得ることが示された。

研究成果の概要(英文)：As an effective treatment for intractable diabetic foot ulcer, allogeneic transplantation of an adipose-derived stem cell sheet fabricated using cell sheet engineering combined with artificial skin accelerates wound healing in rat model of type 2 diabetes and obesity, and we showed the experimental protocol. Led by Hamada of our research team, we evaluated human adipose-derived stem cell sheet (hASC sheets) prepared from human adipose tissue collected at the time of surgery, transplanted them into obese type 2 diabetes model rats. The hASC sheet was found to accelerate wound healing in xenogeneic transplantation.

研究分野：再生医療

キーワード：糖尿病足病変 再生医療 細胞シート工学 脂肪由来幹細胞 創傷治癒

1. 研究開始当初の背景

糖尿病足病変(足潰瘍、足壊疽)は神経障害や血管障害を合併した破壊的病変であり、自覚症状に乏しいため早期発見が困難であり、易感染性かつ難治性である。患者数は年々増加しており、糖尿病診療における大きな問題の一つとなっている。糖尿病足病変は、症状が進行すると下肢切断を余儀無くされ、その生命予後は不良であるため、早期に創傷治癒を促す新規治療法の開発が求められているが、有効な治療法は確立されていない。

そこで、細胞シート工学を用いた再生医療と現在用いられている人工真皮を組み合わせ、有効な治療法の確立を目標とした。我々は、すでに作製に成功しているラット脂肪由来幹細胞シートと人工真皮を併用した創傷治癒促進について、肥満2型糖尿病モデルラットの他家移植で成果を示した(Katoら Diabetes 2015)。糖尿病患者の創部は難治性に至りやすく、糖尿病患者由来のASCは機能が低下している可能性を認めため、自家移植よりも他家移植が望ましいと考え、将来のヒトにおけるASCシートの他家移植を見据え、ヒト脂肪由来幹細胞シート(hASCシート)を作製し、hASCシートの長期的な安全性確認を行い、大動物実験での創傷治癒の促進の有無を評価し、ヒト臨床治験を検討することとした。

2. 研究の目的

- (1) ヒト脂肪細胞より抽出した脂肪幹細胞より作製したhASCの性質を評価する。
- (2) hASCよりhASCシートを作製し、hASCシートの短期的・長期的な安全性の確認を行う。
- (3) hASCシートの肥満2型糖尿病と近い症状を呈した大動物を用い、ヒト臨床治験を見据えて大動物実験への移行を行う。

3. 研究の方法

- (1) 肥満2型糖尿病モデルラットにおけるASCシートと人工真皮との併用での他家移植の成果(Katoら Diabetes 2015)に基づき、実験における再現性、確実性のためにASCシート作製のプロトコルを作成する。
- (2) 手術によって得た糖尿病を有さない正常血糖の5名のヒト脂肪細胞からヒト脂肪幹細胞(hASC)を抽出し、染色体検査、自己複製能、多分化能、表面抗原マーカーの確認、培養上清における成長因子の定量解析、細胞増殖率、生存率、剥離試験を含んだ評価を行う。
- (3) hASCからhASCシートを作製し、作製したhASCシートを肥満2型糖尿病モデルラットへ異種移植し、4週間、12週間を区切りとして移植後の経過を確認する。
- (4) 作製したhASCシートを、2型糖尿病に近い病状を有した大動物に異種移植を行い、短期間・長期間の経過の観察にて、局所あるいは全身の免疫反応の確認、一般毒性検査、周囲の細胞・組織への影響、目的外の形質転換あるいは腫瘍形成の有無、生体内の残存性、全身状態の評価を施行する。

4. 研究成果

- (1) 肥満2型糖尿病モデルラットにおけるASCシートと人工真皮との併用での他家移植の成果(Katoら Diabetes 2015)に基づき、実験における再現性、確実性を重視し、プロトコルの詳細な手順、注意点等を細かに記載した論文を発表し、手順の映像も示した(Katoら Journal of Visualized Experiments 2017)。
- (2) また、当研究チームの濱田を筆頭に、5名のヒト脂肪細胞から抽出した脂肪幹細胞において、染色体検査、自己複製能、多分化能、表面抗原マーカーの確認、培養上清における成長因子の定量解析、細胞増殖率、生存率、剥離試験を施行し、評価を行った。
- (3) 作製したヒト脂肪由来幹細胞シート(hASCシート)を肥満2型糖尿病モデルラットに移植を施行し、hASCシート作製のプロトコルを確立することに成功した(Hamadaら Regenerative Therapy 2017)。また、肥満2型糖尿病モデルラットの創部において、hASCシートは異種移植でも創部あるいは創部周辺に血管新生を認め、有意な創傷治癒促進が観察された。
- (4) 肥満2型糖尿病モデルラットの創部へのhASCシートの移植に関しては、12週間を目標とした長期的な評価を検討し、同時に、移植細胞の分化運命をたどることの施行も検討した。また、実験の経過中で、糖尿病ラット由来の脂肪、正常ラット由来の脂肪について、各々で細胞シートの作製を試みたが、糖尿病ラットにおける細胞シートの作製は成功しなかった。この事実は、今後、hASCシートの他家移植を推進していく上で重要な理由となり得ると考えられたため、原因の解析を検討したいと考えた。そして、ヒト臨床治験を見据えた大動物実験への移行を検討した。しかしながら、研究代表者の体調不良、出産、育児など

で研究が一時中断となり、2020年以降は covid-19 の影響により施設移動、研究施設の一時的な閉鎖、人員削減に伴う業務の大幅な増加で研究の再開が困難となり、2022年に研究を再開したもの(4)の内容に関して、論文等での成果を挙げるには至らなかった。

糖尿病患者の創部は難治性に至りやすいこと、また、糖尿病患者由来の ASC は機能が低下している可能性を示す結果を認めたため、糖尿病患者において ASC は自家移植よりも他家移植が望ましいと考えられる。脂肪細胞は医療廃棄物等からも得られる可能性があり、今後、ASC シートを他家移植することが糖尿病患者において創傷治癒を促す新規治療法の一つとなっていくことを期待している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ikura Kazuki, Kato Hayato, Azuma Haruna, Oda Yuri, Kato Yuka, Miura Junnosuke, Babazono Tetsuya	4. 巻 4
2. 論文標題 A fact finding survey on self efficacy of foot care behaviour in patients with diabetes: Analysis using the Diabetes Study from the Center of Tokyo Women's Medical University 2017 (DIACET 2017)	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Endocrinology, Diabetes & Metabolism	6. 最初と最後の頁 pp. 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/edm2.219	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 Kato Y, Iwata T, Washio K, Yoshida T, Kuroda H, Morikawa S, Hamada M, Ikura K, Yamato M, Okano T, Uchigata Y.	4. 巻 Aug 4
2. 論文標題 Creation and transplanted of adipose-derived stem cells (ASCs) sheet in a diabetic wound healing model	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 126
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/54539.	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 Mariko Hamada, Takanori Iwata, Yuka Kato, Kaoru Washio, Shunichi Morikawa, Hiroyuki Sakurai, Masayuki Yamato, Teruo Okano, Yasuko Uchigata.	4. 巻 6
2. 論文標題 Xenogeneic transplantation of human adipose-derived stem cell sheets accelerate angiogenesis and the healing of skin wounds in a Zucker Diabetic Fatty rat model of obese diabetes	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 65-73
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 オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 小田 友里, 井倉 和紀, 花井 豪, 加藤 ゆか, 内湯 安子	4. 巻 87巻臨増2
2. 論文標題 糖尿病患者における下肢切断部位および再切断率の23年間にわたる経時的変化	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 東京女子医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 E234-E238
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 井倉 和紀, 花井 豪, 東 晴名, 岡 征児, 小田 友里, 濱田 真理子, 加藤 ゆか, 内潟 安子	4. 巻 87巻臨増2
2. 論文標題 糖尿病患者に対するフットケアを考える	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 東京女子医科大学雑誌	6. 最初と最後の頁 E162-E167
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15件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 井倉 和紀, 加藤 勇人, 東 晴名, 小田 友里, 加藤 ゆか, 馬場園 哲也
2. 発表標題 糖尿病性足潰瘍患者における足潰瘍再発と心電図R-R間隔変動係数の関連
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 加藤 勇人, 井倉 和紀, 東 晴名, 小田 友里, 加藤 ゆか, 馬場園 哲也
2. 発表標題 糖尿病性足潰瘍患者の全死亡に対するControlling Nutritional Status (CONUT)の影響: 血清アルブミンとの比較
3. 学会等名 第64回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 井倉 和紀, 加藤 勇人, 東 晴名, 小田 友里, 加藤 ゆか, 馬場園 哲也
2. 発表標題 糖尿病性足潰瘍の創部閉鎖とHMG-CoA還元酵素阻害薬使用との関連
3. 学会等名 第1回日本フットケア・足病医学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 東 晴名, 井倉 和紀, 馬場園 哲也, 加藤 勇人, 小田 友里, 加藤 ゆか
2. 発表標題 糖尿病患者における足の前潰瘍性病変の実態調査 DI-ACETを用いた解析
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井倉 和紀, 加藤 勇人, 東 晴名, 小田 友里, 加藤 ゆか, 馬場園 哲也
2. 発表標題 糖尿病性足潰瘍患者の創部閉鎖に対するHMG-CoA還元酵素阻害薬の効果
3. 学会等名 第63回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 井倉和紀, 加藤勇人, 東晴名, 岡征児, 小田友里, 濱田真理子, 加藤ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病患者におけるフットケア行動のセルフエフィカシーの実態調査 DIACETを用いた解析
3. 学会等名 日本下肢救済・足病学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 東晴名, 井倉和紀, 加藤勇人, 岡征児, 小田友里, 濱田真理子, 加藤ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病患者における足潰瘍発症と心電図R-R間隔変動係数との関連
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小田友里, 井倉和紀, 東晴名, 加藤ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病足感染症の創閉鎖に対する栄養評価法の検討
3. 学会等名 第62回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井倉和紀, 加藤勇人, 東晴名, 岡征児, 小田友里, 濱田真理子, 加藤ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病足感染症の創閉鎖に対する好中球・リンパ球比の影響
3. 学会等名 第17回日本フットケア学会年次学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 井倉 和紀, 花井 豪, 加藤 勇人, 東 晴名, 岡 征児, 小田 友里, 濱田真理子, 加藤 ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病性足海洋の発症に対する回内足, 回外足の影響 - Foot Posture Indexを用いた検討 -
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岡 征児, 井倉 和紀, 花井 豪, 加藤 勇人, 東 晴名, 濱田真理子, 小田 友里, 加藤 ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 糖尿病患者における末梢動脈疾患に対する% mean arterial pressure, Upstroke timeの有用性
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 東 晴名, 井倉 和紀, 花井 豪, 加藤 勇人, 岡 征児, 小田 友里, 濱田真理子, 加藤 ゆか, 馬場園哲也
2. 発表標題 MRSA感染による糖尿病足感染症の治療転帰
3. 学会等名 第61回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 加藤 ゆか, 井倉 和紀, 花井 豪, 東 晴名, 岡 征児, 小田 友里, 濱田 真理子, 内潟 安子
2. 発表標題 末梢動脈疾患を有する糖尿病足潰瘍患者の創部閉鎖に対するDPP-4阻害薬の影響
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 井倉 和紀, 花井 豪, 東 晴名, 岡 征児, 小田 友里, 濱田 真理子, 加藤 ゆか, 内潟 安子
2. 発表標題 糖尿病足潰瘍の創閉鎖に対する血清HDLコレステロール値の影響
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 濱田 真理子, 井倉 和紀, 花井 豪, 東 晴名, 岡 征児, 小田 友里, 加藤 ゆか, 内潟 安子
2. 発表標題 糖尿病患者における末梢動脈疾患に対する血清ビリルビン値の影響
3. 学会等名 第60回日本糖尿病学会年次学術集会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 内潟安子 監修 / 馬場園哲也・三浦順之助 編, 岡野光夫, 北野滋彦, 廣瀬晶, 岩崎直子, 中神朋子, 佐藤麻子, 尾形真規子, 柳沢慶香, 高池浩子, 井出理沙, 花井豪, 田中伸枝, 大屋純子, 入村泉, 井倉和紀, 保科早里, 加藤ゆか	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医歯薬出版株式会社	5. 総ページ数 288
3. 書名 1型糖尿病 治療・ケアのエッセンス	

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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