

平成 21 年 4 月 30 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19590948

研究課題名（和文） 脂肪細胞を用いた腎再生医療の新展開

研究課題名（英文） A new paradigm for the kidney regenerative medicine using adipose derived cells

研究代表者

丸山 彰一 (MARUYAMA SHOICHI)

名古屋大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：10362253

研究成果の概要：

本研究の目的は「脂肪由来幹細胞を用いた新たな腎再生医療を開発すること」である。低血清培養脂肪由来 MSC は高血清で培養した MSC と比較して、再生促進サイトカイン (VEGF, HGF) を多く分泌することを介して、血管内皮細胞の増殖を促進し、アポトーシスを抑制することを見出した。また低血清培養脂肪由来 MSC をラットの下肢虚血モデルに投与すると高血清培養 MSC と比較してより強い再生促進効果が得られた。さらに、急性腎不全を惹起したラットの腎被膜下に低血清培養 MSC もしくは培養を介さない脂肪由来細胞を投与することで腎障害が軽減されることを見出した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・腎臓内科学

キーワード：脂肪由来幹細胞、間葉系幹細胞、低血清培養、サイトカイン、下肢虚血、腎再生、急性腎不全、再生医療

1. 研究開始当初の背景

脂肪組織には多くの幹細胞が存在することが明らかとなり、再生医療における細胞ソースとして注目されていた。元研究分担者の故北川は世界に先駆けて低血清培養法を用いてヒト皮下脂肪から分化能力

と増殖能力の高い間葉系幹細胞 (MSC=mesenchymal stem cell) の選択的分離培養に成功していた。

2. 研究の目的

本研究は、脂肪組織内に存在する幹細胞を用いた新たな腎再生医療を開発することを目

的とする。我々の最終目標は腎不全患者数を減らすことであるが、その中で本研究は脂肪由来幹細胞を用いた腎再生医療の実現に向けた基礎研究と位置づけられる。

3. 研究の方法

(1) 低血清培養と高血清培養の比較検討：

In vitroにおいて脂肪由来MSCを低および高血清で培養し、その増殖効果、サイトカイン分泌効果、抗アポトーシス効果、細胞増殖促進効果などに関して比較検討する。

(2) 動物モデルでの治療効果検討と作用機序の解明：

脂肪由来MSCの再生促進効果をラットの下肢虚血モデルおよび急性腎不全モデルで検討する。またMSCから分泌される再生促進因子に着目し、作用機序を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 低血清培養法に関して：

脂肪由来幹細胞を低血清で培養した場合、高血清で培養したものと比較して、再生促進サイトカイン (VEGF, HGF) を多く分泌すること、血管内皮細胞の増殖を促進し、アポトーシスを抑制すること、その効果が抗サイトカイン中和抗体で抑制されることを見出した。

(2) ラット下肢虚血に対する治療効果：
低血清培養脂肪由来MSCをラットの下肢虚血モデルに投与すると高血清培養MSCと比較してより強い再生促進効果が得られた。

(3) ラット急性腎不全モデルに対する治療効果：

葉酸腎症を惹起したラットの腎皮膜下に低血清培養MSCを投与すると、腎障害が軽減されることを見出した。またシスプラチン腎症を惹起したラットの腎被膜下に培養を介さない脂肪由来細胞 (SVF) を投与することで腎障害が軽減されることを見出した。

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 22 件)

1. Naoki Watanabe, Mitsuhiro Kato, Norihiko Suzuki, Chikako Inoue, Svetlana Fedorova, Hisashi Hashimoto, Shoichi Maruyama, Seiichi Matsuo and Yuko Wakamatsu.

Kidney regeneration through nephron neogenesis in medaka. *Development Growth and Differentiation* 51, 2009: 135-143 査読有

2. Anas CM, Hattori R, Morita Y, Matsukawa Y, Komatsu, T, Yoshino Y, Maruyama S, Yuzawa Y, Matsuo S and Gotoh M.

Efficiency of laparoscopic-assisted renal biopsy. *Clinical Nephrology* 70(3), 2008: 203-9 査読有

3. Iwashima S, Ozaki T, Maruyama S, Saka Y, Kobori M, Omae K, Yamaguchi H, Niimi T, Toriyama K, Kamei Y, Torii S, Murohara T, Yuzawa Y, Kitagawa Y, Matsuo S.

Novel culture system of mesenchymal stromal cells from human subcutaneous adipose tissue. *Stem Cells and Development* 2008 *in press* 査読有

4. Ishii H, Kumada Y, Toriyama T, Aoyama T, Takahashi H, Amano T, Yasuda Y, Yuzawa Y, Maruyama S, Matsuo S, Matsubara T, Murohara T.

Aortic valvular calcification predicts restenosis after implantation of drug-eluting stents in patients on chronic haemodialysis. *Nephrology dialysis transplantation* 2008 *in press* 査読有

5. Kobayashi T, Liu D, Ogawa H, Miwa Y, Nagasaka T, Maruyama S, Li YT, Onishi A, Iwamoto M, Kuzuya T, Kadomatsu K, Uchida K, Nakao A.

Removal of blood group A/B antigen in organs by ex vivo and in vivo administration of endo- α -galactosidase (ABase) for ABO-incompatible transplantation. *Transplant immunology* Jan;20(3), 2008: 132-8 査読有

6. Urahama Y, Ohsaki Y, Fujita Y, Maruyama S, Yuzawa Y, Matsuo S, Fujimoto T.

Lipid droplet-associated proteins protect renal tubular cells from fatty acid-induced apoptosis. *American journal of Pathology* 173(5), 2008: 1286-1294 査読有

7. Shoichi Maruyama, Akihiko Taguchi, Shigejiro Iwashima, Takenori Ozaki, Kaoru Yasuda, Akie Kikuchi-Taura, Toshihiro Soma, Hideki Ishii, Toyooki Murohara, Hiroshi Takahashi, Hirotake Kasuga, Yoshitaka Kumada, Takanobu Toriyama, Yasuhiko Ito,

- Hirohisa Kawahara, Yukio Yuzawa and Seiichi Matsuo
 Low circulating CD34+ cell count is associated with poor prognosis in chronic hemodialysis patients. *Kidney international* 74(12), 2008: 1603-9 査読有
8. Kumada Y, Aoyama T, Ishii H, Tanaka M, Kawamura Y, Takahashi H, Toriyama T, Aoyama T, Yuzawa Y, Maruyama S, Matsuo S, Murohara T. Long-term outcome of percutaneous transluminal angioplasty in chronic haemodialysis patients with peripheral arterial disease. *Nephrology dialysis transplantation* 23(12), 2008: 3996-4001 査読有
 9. Imai E, Matsuo S. Chronic kidney disease in Asia. *LANCET* 371(9631), 2008: 2147-2148 査読有
 10. Yuzawa Y, Niki I, Kosugi T, Maruyama S, Yoshida F, Takeda M, Tagawa Y, Kaneko Y, Kimura T, Kato N, Yamamoto J, Sato W, Nakagawa T, Matsuo S. Overexpression of Calmodulin in Pancreatic β Cells Induces Diabetic Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology* 19(9). 2008: 1701-1711 査読有
 11. Nishimura H, Ito Y, Mizuno M, Tanaka A, Morita Y, Maruyama S, Yuzawa Y, Matsuo S. Mineralocorticoid receptor blockade ameliorates peritoneal fibrosis in new rat peritonitis model. *American journal of physiology. Renal physiology* 294, 2008: F1084-1093 査読有
 12. Takaaki Yaomura, Naotake Tsuboi, Yoshinori Urahama, Akinori Hobo, Kenji Sugimoto, Jun Miyoshi, Tetsuya Matsuguchi, Kannagi Reiji, and Seiichi Matsuo, Yukio Yuzawa
 A Serine/Threonine Kinase, Cot/Tpl2, Regulates Renal Cell Apoptosis in Ischemia/Reperfusion Injury. *Nephrology* 13(5), 2008: 397-404 査読有
 13. Sato W, Kosugi T, Zhang L, Roncal CA, Heinig M, Campbell-Thompson M, Yuzawa Y, Atkinson MA, Grant MB, Croker BP, Nakagawa T. The pivotal role of VEGF on glomerular macrophage infiltration in advanced diabetic nephropathy. *Laboratory investigation* 88(9), 2008: 949-961 査読有
 14. Takei Y, Nemoto T, Mu P, Fujishima T, Ishimoto T, Hayakawa Y, Yuzawa Y, Matsuo S, Muramatsu T, Kadomatsu K. In vivo silencing of a molecular target by short interfering RNA electroporation: tumor vascularization correlates to delivery efficiency. *Molecular cancer therapeutics* 7(1), 2008: 211-221 査読有
 15. Ozaki T, Anas C, Maruyama S, Yamamoto T, Yasuda K, Morita Y, Ito Y, Gotoh M, Yuzawa Y, Matsuo S. Intrarenal administration of recombinant human soluble thrombomodulin ameliorates ischaemic acute renal failure. *Nephrology dialysis transplantation* 23(1), 2008: 110-119 査読有
 16. Takuji Ishimoto, Yoshifumi Takei, Yukio Yuzawa, Koji Hanai, Shunji Nagahama, Yuzo Tarumi, Seiichi Matsuo, Kenji Kadomatsu
 Downregulation of monocyte chemoattractant protein-1 involving short interfering RNA attenuates hepten-induced contact hypersensitivity. *Molecular Therapy* 16(2), 2008: 387-395 査読有
 17. Fumihiko Sato, Shoichi Maruyama, Hiroki Hayashi, Izumi Sakamoto, Shingo Yamada, Tomonori Uchimura, Yoshiki Morita, Yasuhiko Ito, Yukio Yuzawa, Ikuro Maruyama, Seiichi Matsuo
 High mobility group box chromosomal protein 1 in patients with renal diseases. *Nephron Clinical Practice* 108(3), 2008: c194-c201 査読有
 18. Liu D, Kobayashi T, Onishi A, Furusawa T, Iwamoto M, Suzuki S, Miwa Y, Nagasaka T, Maruyama S, Kadomatsu K, Uchida K, Nakao A
 Relation between human decay-accelerating factor (hDAF) expression in pig cells and inhibition of human serum anti-pig cytotoxicity: value of highly expressed hDAF for xenotransplantation. *Xenotransplantation* 14(1), 2007: 67-73 査読有
 19. Anas C, Ozaki T, Maruyama S, Yamamoto T, Gotoh M, Ono Y, Matsuo S
 Effects of olprinone, a phosphodiesterase III inhibitor, on ischemic acute renal failure. *International journal of Urology* 14(3),

- 2007: 219-225 査読有
20. Nakagawa T, Sato W, Glushakova O, Heinig M, Clarke T, Campbell-Thompson M, Yuzawa Y, Atkinson MA, Johnson RJ, Croker B
Diabetic endothelial nitric oxide synthase knockout mice develop advanced diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology* 18(2), 2007: 539-550 査読有
 21. Dambara A, Morinaga T, Fukuda N, Yamakawa Y, Kato T, Enomoto A, Asai N, Murakumo Y, Matsuo S, Takahashi M.
Nucleolin modulates the subcellular localization of GDNF-inducible zinc finger protein 1 and its roles in transcription and cell proliferation. *Experimental cell research* 13(17), 2007: 3755-3766 査読有
 22. Kosugi T, Yuzawa Y, Sato W, Arata-Kawai H, Suzuki N, Kato N, Matsuo S, Kadomatsu K.
Midkine is involved in tubulointerstitial inflammation associated with diabetic nephropathy. *Laboratory investigation* 87(9), 2007: 903-913 査読有
- equation for Japan. *American journal of kidney diseases* 50(6), 2007: 927-937 査読有

[学会発表] (計 19 件)

1. Yukio Yuzawa
Characteristics and causes of immune dysfunction related to uremia and dialysis. 3rd CKD Forum in Nagoya Feb. 15, 2009, Nagoya
2. Isao Ito, Shoichi Maruyama, Kiyonari Kato, Hiroshi Takahashi, Takanobu Toriyama, Hirohisa Kawahara, Seiichi Matsuo, Yukio Yuzawa
Elevated Serum Resistin Level Is Associated with Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients on Hemodialysis. 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Nov.4-8, 2008, Philadelphia
3. Hiroki Hayashi, Yukio Yuzawa, Shoichi Maruyama, Waichi Sato, Akinori Hobo, Shinya Ikematsu, Daisuke Sugiyama, Kenji Kadomatsu, Seiichi Matsuo
Urinary Midkine Is a Sensitive Biomarker of Ischemic Acute Kidney Injury and an Early Ditection of Acute

- Kidney Injury in Human. 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Nov.4-8, 2008, Philadelphia
4. Yasuhiko Ito, Masashi Mizuno, Hayato Nishimura, Yasuhiro Suzuki, Makoto Mizutani, Akiho Sawai, Hideki Hiramatsu, Shoichi Maruyama, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
Beta2 Microglobulin as an Indicator of Residual Renal Function and Adequacy for Peritoneal Dialysis. 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Nov.4-8, 2008, Philadelphia
 5. Shigejiro Iwashima, Shoichi Maruyama, Hirotake Kasuga, Hiroshi Takahashi, Takanobu Toriyama, Hirohisa Kawahara, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
Elevated Cardiac Troponin T and C-Reactive Protein Interactively Increased Cardiovascular and All-Cause Mortality Risk in Hemodialysis Patients. 41rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Nov.4-8, 2008, Philadelphia
 6. 坂洋祐・丸山彰一・岩島重二郎・渡辺達人・安田香・尾崎武徳・湯澤由紀夫・松尾清一・今泉正恭・北川泰雄
低血清培養法による脂肪組織由来間葉系細胞の骨粗鬆症モデルマウスでの検討 第 29 回日本炎症・再生医学会 2008 年 7 月 8-9 日、東京
 7. Hiroki Hayashi, Yukio Yuzawa, Shoichi Maruyama, Akinori Hobo, Shinya Ikematsu, Daisuke Sugiyama, Kenji Kadomatsu, Seiichi Matsuo
URINARY MIDKINE IS A SENSITIVE BIOMARKER OF ACUTE TUBULAR NECROSIS IN HUMAN. 45th ERA-EDTA Congress May.10-13, 2008, Stockholm
 8. 岩島重二郎・丸山彰一・坂洋祐・渡辺達人・安田香・尾崎武徳・湯澤由紀夫・北川泰雄・室原豊明・松尾清一
低血清培養ヒト脂肪由来間葉系細胞はラットの下肢虚血を改善する 第 7 回日本再生医療学会総会 2008 年 3 月 13-14 日、名古屋
 9. 渡辺達人・丸山彰一・松尾清一・山本徳則・後藤百万
ラット尿失禁モデルにおける低血清培養脂肪由来間葉系細胞を用いた治療実験 第 7 回日本再生医療学会総会 2008 年 3 月 13-14 日、名古屋

10. 坂洋祐・丸山彰一・岩島重二郎・渡辺達人・安田香・尾崎武徳・湯澤由紀夫・松尾清一・今泉正恭・北川泰雄
脂肪由来間葉系細胞を用いた低血清培養法の検討 第7回日本再生医療学会総会 2008年3月13-14日、名古屋
11. 坂洋祐・丸山彰一・岩島重二郎・渡辺達人・安田香・尾崎武徳・湯澤由紀夫・松尾清一・今泉正恭・北川泰雄
低血清培養法による脂肪組織由来間葉系細胞の骨粗鬆症モデルマウスでの検討 第7回日本再生医療学会総会 2008年3月13-14日、名古屋
12. Takenori Ozaki, Shoichi Maruyama, Akihiko Taguchi, Shigejiro Iwashima, Kaoru Yasuda, Hideki Ishii, Hiroshi Takahashi, Hirotake Kasuga, Michie Ito, Keiko Kimura, Takanobu Toriyama, Yasuhiko Ito, Yukio Yuzawa, Hirohisa Kawahara, and Seiichi Matsuo.
Circulating CD34-positive cells and the prognosis in chronic hemodialysis patients. The 2nd Research Forum on Chronic Kidney Disease 2008年2月2日、名古屋
13. Yukio Yuzawa
Characteristics and Causes of Immune Dysfunction in Uremia 3rd Asian Chapter Meeting of International Society for Peritoneal Dialysis Nov. 24, 2007, Hiroshima
14. Yoshimichi Urahama, Shoichi Maruyama, Yukio Yuzawa, Toyoshi Fujimoto, Seiichi Matsuo
Lipid Droplet-Associated Proteins Protect Renal Tubular Cells from Apoptosis Induced by Fatty Acids. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
15. Kaoru Yasuda, Shoichi Maruyama, Takenori Ozaki, Shigejiro Iwashima, Hirotake Kasuga, Takanobu Toriyama, Hirohisa Kawahara, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
Cilostazol Improves Long-Term Patency after Percutaneous Transluminal Angioplasty in Hemodialysis Patients with Peripheral Artery Disease. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
16. Takenori Ozaki, Shoichi Maruyama, Tatsuto Watanabe, Shigejiro Iwashima, Kaoru Yasuda, Tokunori Yamamoto, Yasuo Kitagawa, Momokazu Gotoh, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
Adipose Derived Stromal Cells Cultured in Low-Serum Media Secrete High Levels of Cytokines and Ameliorate Acute Kidney Injury. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
17. Kaoru Yasuda, Shoichi Maruyama, Takenori Ozaki, Tatsuto Watanabe, Shigejiro Iwashima, Tokunori Yamamoto, Yukio Yuzawa, Momokazu Gotoh, Seiichi Matsuo
Novel Autologous Cell Therapy for Cisplatin Induced Acute Kidney Injury by Using Adipose Derived Stromal Vascular Fraction. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
18. Yutaka Fujita, Tomomi Ueda, Michie Itou, Hirotake Kasuga, Takanobu Toriyama, Shoichi Maruyama, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
High Prevalence of Cardiac Valve Calcification and Its Association with Future Cardiovascular Morbidity and Mortality in End-Stage Renal Disease Patients at Beginning of Hemodialysis Therapy. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
19. Shigejiro Iwashima, Shoichi Maruyama, Takenori Ozaki, Kaoru Yasuda, Hirotake Kasuga, Takanobu Toriyama, Hirohisa Kawahara, Yukio Yuzawa, Seiichi Matsuo
Cardiac Troponin T Predicts Long-Term Cardiovascular Morbidity and Mortality in Chronic Kidney Disease Patients on Maintenance Hemodialysis. 40rd Annual Meeting of The American Society of Nephrology Oct.31-Nov.5, 2007, San Francisco
6. 研究組織
(1) 研究代表者
丸山 彰一 (MARUYAMA SHOICHI)
名古屋大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：10362253
(2) 研究分担者
なし
(3) 連携研究者
湯澤 由紀夫 (YUZAWA YUKIO)
名古屋大学・大学院医学系研究科・講師
研究者番号：00191479

田口 明彦 (TAGUCHI AKIHIKO)
国立循環器病センター・循環動態機能部・
室長
研究者番号：10359276

菅谷 健 (SUGAYA TAKESHI)
東京歯科大学・歯学部・客員講師
研究者番号：40384561

松尾 清一 (MATSUO SEIICHI)
名古屋大学・大学院医学系研究科・教授
研究者番号：70190410