



2023年12月19日

報道関係者各位

慶應義塾大学薬学部

## ヒト臍帯（へその緒）由来の幹細胞シートの生着・治療効果を マウスで解明—新たな幹細胞治療法として期待—

慶應義塾大学薬学部 長瀬健一准教授を中心とする研究グループは、臍帯（へその緒）に含まれる幹細胞から作製したシート状の細胞組織（細胞シート）の治療効果を明らかにしました。

骨髄や脂肪組織から採取される間葉系幹細胞を移植して、難治性疾患の治療を行う再生医療が注目を集めています。また、近年では新たな間葉系幹細胞として、分娩時に破棄される臍帯から採取する間葉系幹細胞が注目を集めています。

そこで本研究では、臍帯から採取した間葉系幹細胞の治療効果を解明しました。ヒト臍帯から採取した間葉系幹細胞を用いて間葉系幹細胞シートと間葉系幹細胞懸濁液を作製し、マウスの皮下組織に移植して生着率と分泌サイトカイン<sup>(注1)</sup>量を測定しました。間葉系幹細胞懸濁液は、移植後にすぐに消失してしまうのに対し、間葉系幹細胞シートは、長期間に渡り生着していることがわかりました。また、肝細胞増殖因子（HGF）<sup>(注2)</sup>、形質転換増殖因子ベータ1（TGF- $\beta$ 1）<sup>(注3)</sup>などの治療に有効なサイトカインを大量に分泌していることがわかりました。

このように、本研究で検討した臍帯由来の間葉系幹細胞シートは、移植後の生着率が高く、分泌するサイトカインが多いことから、効果的な幹細胞治療法として期待できることがわかりました。

本研究成果は、2023年12月10日に国際学術誌『Stem Cell Research & Therapy』に掲載されました。

### 1. 本研究のポイント

- ・臍帯から採取した間葉系幹細胞で幹細胞シート、幹細胞懸濁液を作製
- ・幹細胞シートの生体内での長期間にわたる生着を確認
- ・幹細胞シートの移植部位での多量のサイトカイン分泌を確認
- ・臍帯由来の幹細胞シートが新たな幹細胞治療法として期待

## 2. 研究の背景

骨髄や脂肪組織に含まれる間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell: MSC) は、サイトカインと呼ばれる治療に有効なタンパク質を多量に分泌するため、様々な難治性疾患に対して治療効果のある幹細胞として再生医療で用いられています(図 1(a))。また、近年では、臍帯から採取された間葉系幹細胞が、分娩時に廃棄される生体組織から採取可能であり、臍帯組織が若い組織であるため細胞が高活性である事から、注目を集めています(図 1(b))。しかし、臍帯由来の間葉系幹細胞は、検討例が少なく、生体への効果的な投与方法や治療効果などの報告例がありませんでした。

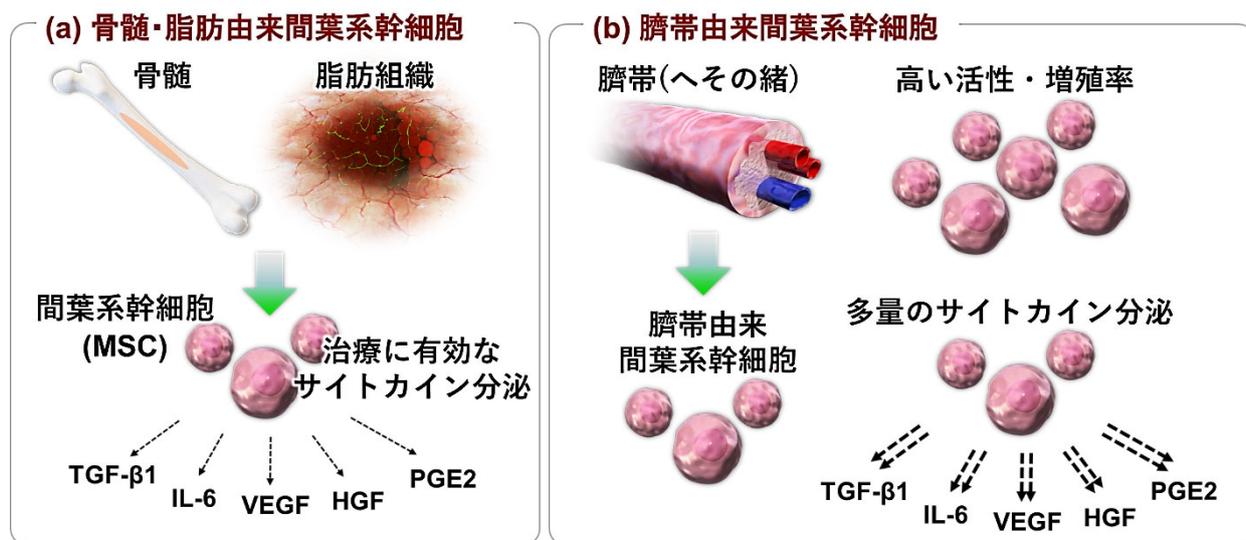


図 1 骨髄・脂肪・臍帯由来の間葉系幹細胞とその特性

## 3. 研究の内容・成果

本研究では、ヒト臍帯から採取した間葉系幹細胞を用いて、間葉系幹細胞シート、二種類の間葉系幹細胞懸濁液を作製し、マウスに移植することで、生体内での治療効果を調べました。

間葉系幹細胞シートは、温度変化により細胞の接着性を制御する温度応答性培養皿を用いて作製しました(図 2 (a))。培養皿表面にポリ(*N*-イソプロピルアクリルアミド)(PNIPAAm)という温度に応答して親水性/疎水性を変化させる高分子を修飾してあります。この培養皿に臍帯由来の間葉系幹細胞を播種して、温度 37°C で培養すると、間葉系幹細胞の増殖に伴って細胞同士が接着します。温度を 20°C に下げると、培養皿表面の温度応答性高分子が親水性に変化し、シート状の細胞組織である間葉系幹細胞シートが回収できます。

間葉系幹細胞懸濁液は、酵素処理による方法、温度応答性培養皿を用いた温度制御の方法で作製しました(図 2 (b)(c))。酵素処理による方法では、培養皿に間葉系幹細胞を播種し、5 日間培養して増殖させた後で、トリプシンによる酵素処理で細胞接着タンパク質を分解することで、個別の細胞が分散した幹細胞懸濁液を作製しました(図 2 (b))。また、温度制御による幹細胞懸濁液の作製では、温度応答性培養皿に細胞を播種し、37°C で 2 日間細胞を培養し、細胞同士が接着しない状態で、温度を 20°C に下げて細胞を回収しました。酵素処理とは異なり、細胞外マトリクスが付着した状態で幹細胞懸濁液を調製できます(図 2 (c))。

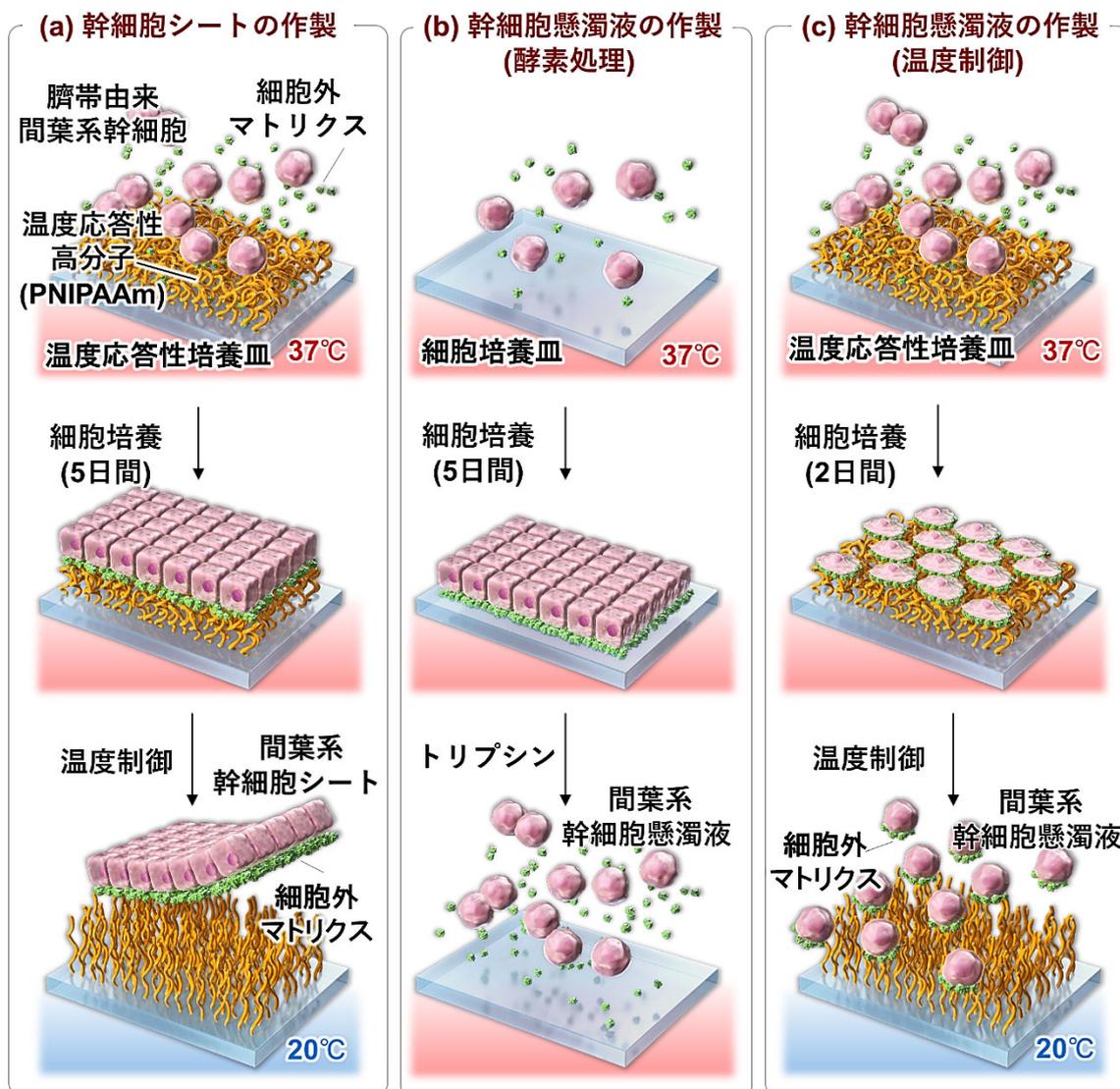


図2 臍帯由来間葉系幹細胞シートと間葉系幹細胞懸濁液の作製

作製した間葉系幹細胞シートと二種類の幹細胞懸濁液をマウスの皮下組織に移植し、移植後の生着率を *in vivo* イメージングにより観察しました(図3(a))。二種類の間葉系幹細胞懸濁液は、移植後、数日で体内から消失したのに対し、間葉系幹細胞シートは28日後でも生着している事が確認できました(図3(b))。これは、間葉系幹細胞シートは、細胞同士の接着が維持され、細胞シート底面に細胞外マトリクスが保持されているため、移植組織への生着を促進するためであると考えられます。さらに、ヒト組織由来の間葉系幹細胞シートがマウスの生体から排除されずに長期間に渡り生着している事から、臍帯由来間葉系幹細胞の免疫調節作用が効果的に働いている可能性がある事が推察されました。

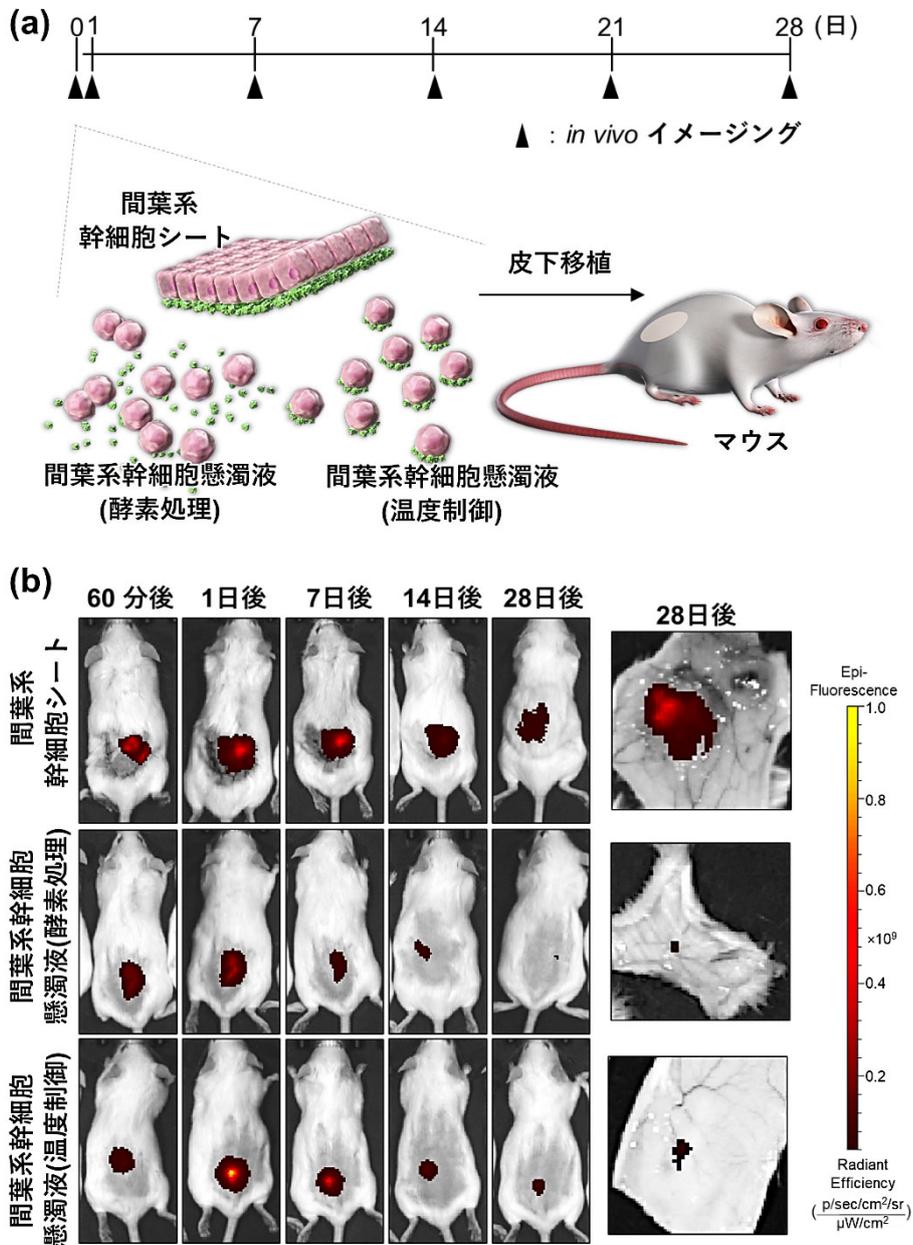


図3 臍帯由来間葉系幹細胞の *in vivo* での生着率評価 (a) 間葉系幹細胞シートと間葉系幹細胞懸濁液の移植 (b) *in vivo* イメージングによる移植幹細胞の生着率評価

そこで、間葉系幹細胞シートと二種類の間葉系幹細胞懸濁液の移植後 28 日目の移植部位でのサイトカイン分泌量を測定したところ、間葉系幹細胞シートを移植したマウスでは、二種類の間葉系幹細胞懸濁液を移植したマウスと比較して、HGF、TGF- $\beta$ 1 などのサイトカイン分泌量が顕著に多い事がわかりました (図4)。これは 28 日後に生着している間葉系幹細胞の量が多い事、生着した間葉系幹細胞の機能が高いためであると考えられます。

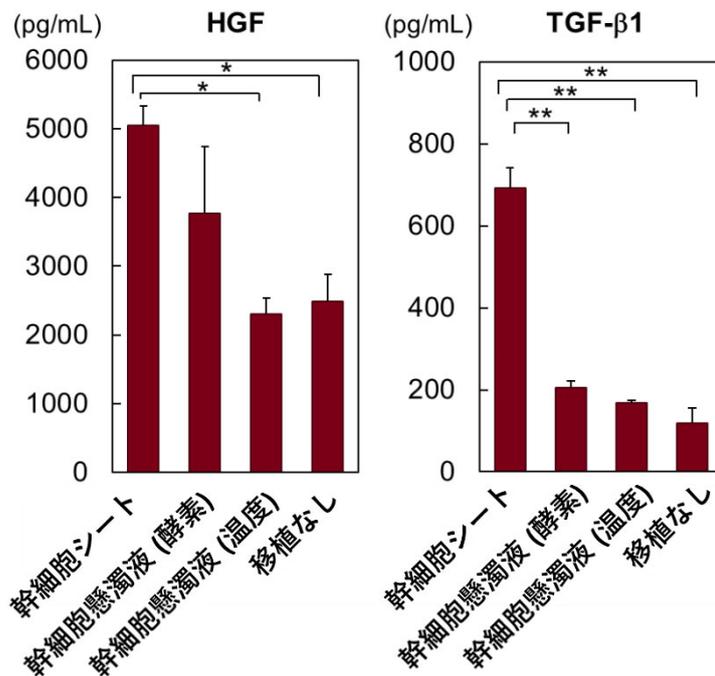


図4 間葉系幹細胞移植部位でのサイトカイン分泌量

#### 4. 今後の展望

本研究により、臍帯由来の間葉系幹細胞シートが高い生着率と多量のサイトカイン分泌を示す事がわかりました。これにより、臍帯由来間葉系幹細胞シートの移植により効果的な幹細胞治療が期待できます。

#### 5. 論文情報

タイトル： Umbilical cord-derived mesenchymal stem cell sheets transplanted subcutaneously enhance cell retention and survival more than dissociated stem cell injections

著者名： Mitsuyoshi Nakao, Makoto Matsui, Kyungsook Kim, Nobuhiro Nishiyama, David W. Grainger, Teruo Okano, Hideko Kanazawa, Kenichi Nagase\*

雑誌名： Stem Cell Research & Therapy

DOI： 10.1186/s13287-023-03593-0

URL： <https://doi.org/10.1186/s13287-023-03593-0>

本研究は以下の助成により行われました。

- ・科学研究費 国際共同研究(B) 21KK0199
- ・科学研究費 基盤研究(B) 19H02447
- ・科学研究費 挑戦的研究(萌芽) 18K19938
- ・科学研究費 挑戦的研究(萌芽) 22K19899
- ・科学研究費 新学術領域研究「水圏機能材料」 20H05233
- ・科学研究費 新学術領域研究「水圏機能材料」 22H04560
- ・テルモ生命科学芸術財団 研究助成金

<用語説明>

- (注1) サイトカイン：細胞から分泌される生理活性タンパク質。細胞間相互作用に関与し、周囲の様々な細胞に作用する。
- (注2) 肝細胞増殖因子(HGF)：肝臓を中心に生体内の様々な組織の自然治癒力を活性化させるタンパク質
- (注3) 形質転換増殖因子ベータ 1(TGF- $\beta$ 1)：細胞増殖、成長、分化や運動性を調節するタンパク質

※ご取材の際には、事前に下記までご一報くださいますようお願い申し上げます。

※本リリースは文部科学記者会、科学記者会、各社科学部等に送信させていただいております。

<研究内容についてのお問い合わせ先>

慶應義塾大学薬学部 創薬分析化学講座  
准教授 長瀬 健一 (ながせ けんいち)

TEL：03-5400-1378

E-mail：nagase-kn@pha.keio.ac.jp, nagase.kenichi@keio.jp

本発表資料のお問い合わせ先

慶應義塾広報室 (増田)

TEL：03-5427-1541 FAX：03-5441-7640

Email：m-pr@adst.keio.ac.jp <https://www.keio.ac.jp/>