

脱分化脂肪細胞(DFAT)による再生医療

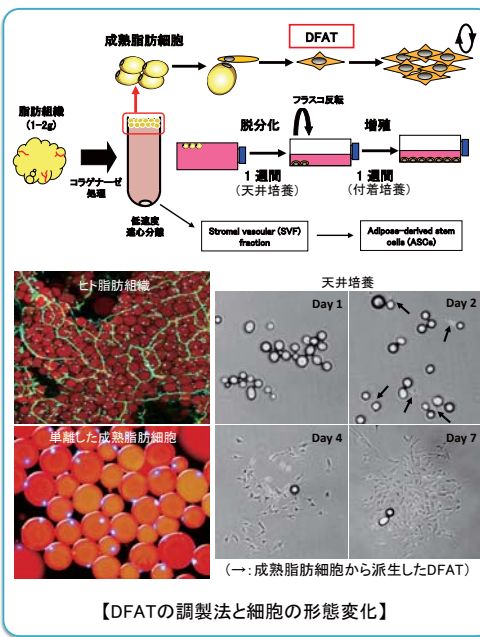
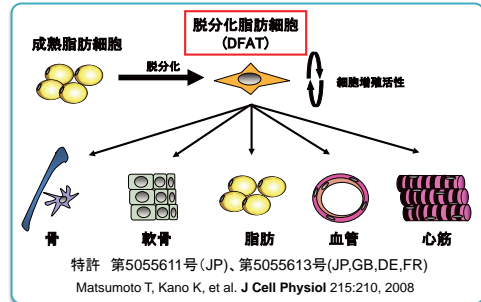
Regenerative medicine using dedifferentiated fat (DFAT) cells

日本大学医学部 機能形態学系細胞再生・移植医学分野 教授 松本 太郎
Taro Matsumoto, Department of Functional Morphology, Division of Cell Regeneration and Transplantation, Nihon University School of Medicine

目的・背景(Purpose and Background)

間葉系幹細胞(MSC)は患者自身の体から調製でき、腫瘍原性がなく移植安全性が高いため、多くの臨床研究が行われている。一方、MSCは培養後もヘテロな細胞集団で、その品質は個体差が大きく、ドナー年齢や基礎疾患に影響されるといった問題点がある。再生医療を万人に適応できる一般的な治療にするためには、より安定した品質の多能性細胞を低コストに調製する技術が望まれる。

脱分化脂肪細胞(Dedifferentiated fat cell: DFAT)は成熟脂肪細胞を天井培養という方法で脱分化させることにより得られるMSCと同等の多能性を有する細胞である。DFATは少量の脂肪組織から均質なMSC様細胞を大量調製できる技術であるため、実用性の高い治療用細胞ソースとして期待できる。



【治療用細胞としてのDFATの利点】

- ◆少量の脂肪組織から高効率に大量調製できる
 - 脂肪細胞から約40%の高効率で脱分化。培養ASCの約25倍の調製効率。約1gの脂肪組織から2週間の初代培養で10⁶個のDFATが得られる。
- ◆ドナー年齢や基礎疾患に影響されず調製できる
 - 年齢2~81歳、骨粗鬆症や再生不良性貧血患者を含む患者(n=62)よりDFATが調製でき、骨、軟骨、脂肪への多分化能を示すことを確認。
- ◆初代培養から純度が高い均質な細胞が得られる
 - 初代培養ASCは平滑筋細胞(18.6%)、血管内皮細胞(2.7%)、単球(13.3%)の混入あり。DFATはこれらの細胞の混入率は0.1%以下であった。
- ◆吸引脂肪法を用いて継続的な閉鎖系での調製が可能
 - 瘦身術などで用いられる脂肪吸引法(チュメント法)を最適化し、約10mlの吸引脂肪液から閉鎖回路でDFATを調製する方法を開発
- ◆廃棄脂肪組織を利用したバンキングシステムの構築が容易
 - HLAフルマッシュした他家移植への適応拡大の可能性

【目的】DFATの多分化能と各種疾患モデル動物に対する治療効果を検討した。

原理・方法・結果(Principles, Methods, and Results)

1. 血管再生能

マウスGFP-DFATとマウス血管内皮細胞(MS-1)を72時間共培養する。

血管内皮細胞との共培養によりDFATは50%以上の効率でNG2陽性のペリサイトに分化した。

SCIDマウス下肢虚血モデルにヒトDFATを筋肉内投与すると、生理食塩水や末梢血単核球の筋肉内投与に比べ、移植2週間後より有意に血流を改善した。

特願2015-065598 脱分化脂肪細胞を有効成分とする血管再生療法用組成物

2. 骨再生能

ヒトDFATをβTCP/コラーゲン複合体と2週間骨誘導培地で培養し、皮下移植する。

ヌードマウスに3週間後、肉眼的・組織学的評価を行う。

ヒトDFATをβTCP/コラーゲンスポンジに播種し、2週間骨誘導培地で培養後、ヌードマウスの皮下に移植した。3週間後の移植片は骨芽細胞や破骨細胞を有する類骨形成が認められた。

Matsumoto T, Kano K, et al. J Cell Physiol 215:210, 2008

ウサギ脛骨欠損モデルにDFAT・βTCP/collagen複合体を移植すると欠損部の骨密度の増加と皮質骨の再生が認められた。

Kikuta S et al. Tissue Eng Part A 19:1792, 2013

3. 平滑筋再生能

平滑筋誘導培地でヒトDFATを1週間培養すると50%以上の細胞が平滑筋αアクチンを発現した。Sakuma T et al. J Urol 182: 355, 2009

三次元流体デバイスで作成したDFATファイバーを平滑筋誘導培地で培養すると収縮能を有するコイル状の平滑筋が誘導された。

Hisao AY et al. PLoS One 10:e0119010, 2015

ラット腹圧性尿失禁モデルの尿道結合組織にDFATを移植すると尿道括約筋の再生と尿漏出圧(LPP)の増加が認められた。

Obinata D et al. Int J Urol 18:827, 2011

【まとめ】DFATは、高い血管新生能、骨再生能、平滑筋再生能を示し、虚血性疾患、骨欠損、尿道括約筋障害などに対する有効な治療用細胞となりうることが示唆された。

応用分野・用途(Applications)

- #### 【DFATによる細胞治療が期待できる疾患】

 - ◆重症虚血性疾患(末梢動脈疾患など)
 - ◆骨粗鬆症に伴う難治性骨折
 - ◆重症熱傷に伴う創傷治療促進
 - ◆軟骨欠損に対する再生医療
 - ◆萎縮性膀胱による腹圧性尿失禁
 - ◆脊髄損傷・末梢神経傷害に対する細胞治療
 - ◆造血幹細胞移植に伴うGVHD予防・治療
 - ◆難治性歯周病に対する歯槽骨再生

【DFAT細胞治療のポテンシャル】

 - ◆低コストの細胞治療・再生医療が可能となる(大規模なCPC, 増殖因子, 抗体選別など不要なし)
 - ◆高齢者の代謝変性疾患に対応し、QOLを改善(骨粗鬆症や変形性関節症に伴う難治性骨折などを治療させる能力)
 - ◆万人に適応可能な未来の一般医療となる可能性(高齢者、小児、全身状態不良の患者などに対する自家・他家細胞治療が可能)