

平成 24 年 6 月 25 日

## 幹細胞由来成長因子を用いた骨の再生医療 ～細胞移植を行わず骨の再生に成功 名大病院などで臨床研究開始～

### 概 要：

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長・高橋雅英教授）顎顔面外科学 上田実教授、片桐渉助教、大杉将嗣大学院生らの研究グループは、幹細胞を移植することなく、その培養上清を用いて骨再生を行うことに世界で初めて成功しました。幹細胞の移植においては細胞の癌化のリスクや、設備投資、厳格な細胞の品質・安全管理などが普及の妨げとなっていました。グループでは細胞ではなく細胞の分泌したサイトカインのみを移植することで細胞移植と同等の骨が再生することを発見しました。

この研究成果は、7月1日、米国誌『Tissue Engineering』に掲載されます。

幹細胞由来成長因子を用いた骨の再生医療  
～細胞移植を行わず骨の再生に成功・名大病院などで臨床研究開始～

【ポイント】

- ① 幹細胞を移植しないで骨を再生する方法を世界で初めて開発した。
- ② 幹細胞から分泌されるサイトカインが体内にある幹細胞を誘導して骨ができる。
- ③ サイトカインは幹細胞を培養するときに見える培養上清中に含まれ、培養上清を凍結乾燥することで製剤化できる。
- ④ 幹細胞移植を伴わないので、細胞の腫瘍化のリスクが軽減される。
- ⑤ 既存の骨補填剤と併用も可能で、併用することにより骨再生が期待できる。
- ⑥ すでに名古屋大学医学部附属病院歯科口腔外科とその関連病院で臨床研究を開始した。

【背景】

名古屋大学医学部附属病院では組織工学的手法を用いた幹細胞移植治療である「培養骨」を開発し臨床応用を行ってきました。患者骨髄由来の間葉系幹細胞を採取し培養、骨芽細胞に分化させたものを自身の多血小板血漿（PRP）と混和して患部に移植するもので、歯科インプラントを埋入するため骨が欠損している部位などにこの培養骨移植を行ってきました。これまで長期経過症例を含め良好な経過をたどっています。しかしながら幹細胞の移植にあたっては細胞培養施設の設置や細胞培養にかかる費用、人件費等コストが膨大であり、かつ高度な細胞の品質管理や安全性の担保が要求され、厳格な法規制もあいまって施設限定的な治療法と言わざるを得ません。

近年、幹細胞移植において、移植した細胞自体の効果はもとより、その細胞が分泌するタンパク質である様々な成長因子（サイトカイン）が組織再生に重要な役割を果たしているという報告がなされるようになってきました。すなわち細胞が分泌するこのような成長因子がパラクライン効果により周囲に存在する内在性の幹細胞に作用し、その細胞を局所へ動員させ、組織再生を起こすというものです。

この成長因子は細胞培養時には培養上清に分泌されます。培養上清中には明らかなだけで百数十種類のサイトカインが含有されており。われわれはこの培養上清に含まれるサイトカインに着目しました。つまり培養上清に含まれるこれらサイトカインの作用を期待し、この培養上清を局所に適切な足場とともに移植し、内在性の幹細胞の局所への動員を促し、骨再生が行われるのではないかと考えました。これは細胞移植を必要とせず内在性の幹細胞を利用する、これまでの概念にない骨再生医療であり幹細胞移植にまつわる上記の諸問題を解決できる方法となり得ます。さらに移植した幹細胞の造腫瘍化などの危険性も回避可能となります。研究グループでは幹細胞由来成長因子を用いた骨再生の研究を行い、幹細胞移植を行わず骨を再生することに成功しました。

## 【研究の内容】

- ・ 間葉系幹細胞 (MSC) の培養上清には IGF-1、VEGF、TGF- $\beta$ 1、HGF などのサイトカインを含有していました。
- ・ 培養上清は in vitro でヒト間葉系幹細胞 (hMSC) の遊走能、増殖能を上昇させました。
- ・ 培養上清をアガロースゲルに混和しラット頭蓋骨に作製した骨欠損部に移植する実験を行いました。マイクロ CT および組織切片にて観察したところ経時的に新生骨の添加がおり、培養上清移植部には細胞移植と同等以上の骨再生が認められました。
- ・ ラット頭蓋骨に培養上清を移植し、ラット尾静脈より蛍光標識した MSC の投与を行い in vivo イメージング装置にて細胞の動態を観察したところ、投与された MSC は頭蓋骨の培養上清移植部に高度に集積している事が明らかとなりました。さらに GFP ラットにて移植実験を行ったところ、培養上清移植部に GFP 陽性細胞が集積し、これらのなかで幹細胞マーカーを発現している細胞も多数認められました。このことは培養上清移植部へ周囲の内在性幹細胞が遊走してきていることを示すものでした。

## 【成果の意義】

幹細胞の移植なしで骨が再生するならば、治療の安全性が大幅に向上するばかりか、細胞移植に伴う諸問題の多くが解消される可能性がある。たとえば移植操作の簡便化、材料の規格化、安定性、治療コストの低減化など多くの利点をもたらします。

以上により、骨再生医療の実用化に本研究は大きく寄与するものと考えられます。

本研究の成果をもとに、院内生命倫理委員会の承認を受け、名古屋大学医学部附属病院歯科口腔外科およびその関連施設では臨床研究を開始しています。

さらに、幹細胞由来の成長因子を用いた再生技術は、骨の再生のみならず他の重要臓器、例えば、心臓、脳、肝臓などの再生技術として応用できる可能性がある。

## 【用語説明】

**間葉系幹細胞:** 間葉に由来する体性幹細胞。骨、軟骨や血管、神経、筋、脂肪等への分化能を持ち、再生医療への応用が期待されている。

**多血小板血漿:** 血小板を高濃度に濃縮したもので様々なサイトカインが含まれている。

**サイトカイン:** 細胞から分泌されるタンパク質で細胞の増殖や分化、細胞死等様々な細胞特性を調節する働きを持つ。

## 【論文名】

Conditioned media from mesenchymal stem cells enhanced bone regeneration in rat calvarial bone defects.

Osugi M, Katagiri W, Yoshimi R, Inukai T, Hibi H, Ueda M.

Tissue Engineering Part A (2012)