

平成 20 年度顕在化ステージ 事後評価報告書

シーズ顕在化プロデューサー所属機関名: ニプロ株式会社

研究リーダー所属機関名 : 日本大学

課題名: 脱分化脂肪細胞を細胞源とする再生医療の実現化

1. 顕在化ステージの目的

日本大学では、脂肪組織から単離した成熟脂肪細胞を天井培養という方法で培養することによって得られる細胞群(脱分化脂肪細胞: DFAT)が、間葉系幹細胞に類似した高い増殖能と多分化能を獲得することを明らかにし知財化した。DFAT は少量の脂肪組織から簡便に大量調製が可能であるため、特に高齢者など細胞移植が困難とされてきた症例に対する再生医療の新たな細胞源として期待できる。顕在化ステージでは、DFAT の基準化に向けた特性解析を行い、他の幹細胞との差異や腫瘍原性の有無などを検討する。同時に GMP 基準に準拠した安全で効率的な DFAT 調製法をニプロ(株)と共同開発する。

2. 成果の概要 研究実施者の完了報告書より抜粋

大学の研究成果

GMP 適合試薬・培地を用いた閉鎖系での成熟脂肪細胞の単離法や脱分化培養法を確立した。また GMP 適合アイソレーター内にて DFAT が調製できることを確認した。脱分化培養による染色体数・コピー数の変化、癌関連遺伝子の DNA メチル化変化を網羅的に検討し、さらに免疫不全マウスへの移植実験などを行い、DFAT に腫瘍原性を示唆する所見が乏しいことを示した。研究期間中提供されたヒト皮下脂肪組織計 12 サンプルより DFAT を調製し、同一形質を示す純度が高い細胞群が得られることを確認した。マウス・ウサギ・ブタの下肢虚血モデルを用いた DFAT 移植実験において DFAT が安全に移植でき、高い血管新生能を示すことを明らかにした。

企業の研究成果

GMP 基準に適合可能なヒトリコンビナント蛋白から構成される DFAT 調製用専用培地を確立した。また脱分化培養容器を数種類試作し、最終的に閉鎖回路での脂肪細胞の脱分化培養を可能とする培養チェンバー付きガス透過性バックの開発に成功した。これらの DFAT 調製用培地、DFAT 培養用ガス透過性バックと GMP 基準適合ウシ胎児血清を用いてウサギやヒト脂肪細胞から従来法とほぼ同じ効率で DFAT を調製できることを確認した。さらに DFAT の調製・増殖に適したウシ胎児血清の至適濃度などを決定した。また市販の骨髄間葉系幹細胞用無血清培地を用いても DFAT の調製・増殖が可能であることを明らかにした。

3. 総合所見

脂肪組織から得られる、成熟脂肪細胞を天井培養することにより、脱分化脂肪細胞(DFAT)を得た。マウス・ウサギ・ブタの下肢虚血モデルを用い DFAT 移植試験を行い、高い血管新生能を示すことが、明らかにされた。下肢虚血疾患治療のイノベーションが期待される。