



令和4年3月29日

報道機関 各位

東北大学大学院歯学研究科

間葉系幹細胞の幹細胞性を向上させる 新規培養法を開発

—間葉系幹細胞塊を神経堤細胞様にすることで骨再生を効率的に—

【発表のポイント】

- ・ 幹細胞性の低下した間葉系幹細胞^{*1} の新たな振盪浮遊培養法(しんとうふゆうばいようほう)^{*2}を開発
- ・ 振盪浮遊培養に、神経の元となる神経幹細胞用培地を応用することで、神経堤細胞様の間葉系幹細胞凝集体(スフェロイド)を作製することに成功
- ・ 本スフェロイドが幹細胞関連遺伝子・免疫調整遺伝子の発現を回復させることで、骨再生効果を向上させることを示した。

【概要】

増殖して骨・軟骨・脂肪への分化能を持つ間葉系幹細胞が再生医療の細胞供給源として注目されています。しかしながら、プラスチックディッシュを用いた接着培養を繰り返すことで、予期しない自発的な分化や細胞劣化・老化が生じてしまい、幹細胞性が低下し、臨床効果にも悪影響を及ぼすという問題がありました。東北大学大学院歯学研究科 分子・再生歯科補綴学分野の大堀悠美(おおほり ゆみ) 学術研究員、新部邦透(にいべ くにみち) 講師および江草 宏(えぐさ ひろし) 教授らの研究グループは、振盪浮遊培養を応用することにより、一度低下したヒト間葉系幹細胞の分化能および幹細胞関連遺伝子・免疫調整遺伝子の発現を向上させ、骨再生効果を示す新たな神経堤細胞様の間葉系幹細胞スフェロイドの作製に成功しました。

この振盪浮遊培養技術は、弱った幹細胞を若返らせる技術へつながる可能性があります。また、作製した神経堤細胞様の間葉系幹細胞スフェロイドは、軟骨や神経といった他の組織再生への応用も期待されます。

本研究成果は、2022年3月11日 Stem Cells Translational Medicine のオンライン版に掲載されました。

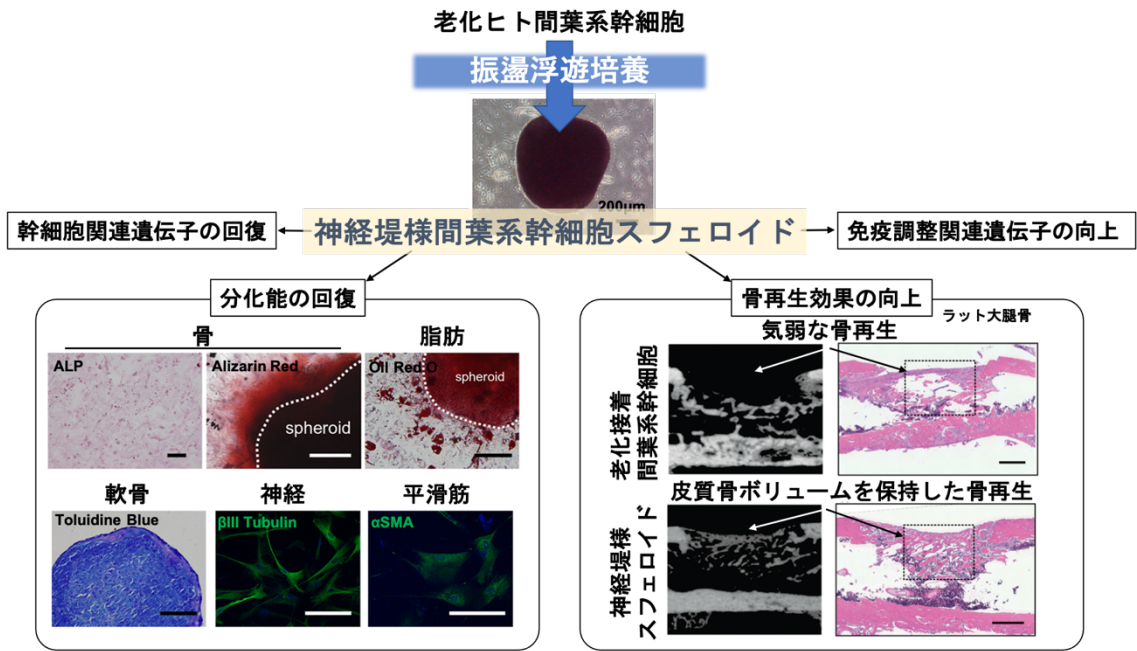


図 1: 振盪浮遊培養により形成された神経堤様間葉系幹細胞スフェロイドとその性質の概要

【詳細な説明】

自己増殖能と間葉系組織である骨・軟骨・脂肪への分化能を保有する間葉系幹細胞^{※1}は、再生医療の細胞供給源として着目されています。近年、その一部が中胚葉だけでなく、第4の胚葉といわれる神経堤^{※3}由来であることが報告され、神経・グリア・平滑筋といった間葉系以外の様々な細胞に分化する能力を持つことが報告されています。しかしながら、接着継代培養により増殖した間葉系幹細胞は、予期しない自発的な分化や細胞劣化・老化が生じることで幹細胞性が低下し、臨床効果にも悪影響を及ぼすという問題がありました。一方で、間葉系幹細胞は浮遊培養条件下で細胞塊（スフェロイド）を形成することが報告されていました。また、様々な機械的刺激が幹細胞の分化や性質に影響を及ぼすことが報告されています。そこで大堀悠美学術研究員、新部邦透講師および江草 宏教授らの研究グループは、浮遊培養条件下に機械的刺激を加えることで、間葉系幹細胞の分化能の低下を改善する戦略を着想しました。

同研究グループは、神経幹細胞用培地を用い、浮遊培養に特定条件の振盪刺激を加えたヒト間葉系幹細胞が、細胞間で強固に接着したスフェロイドを形成し、接着継代培養により低下した脂肪や神経細胞への分化能および幹細胞関連遺伝子の発現を回復することを明らかにしました。またこのスフェロイドは、神経堤幹細胞関連遺伝子を高発現し、免疫調整・抗炎症関連遺伝子も高発現していました。さらに、ラット大腿骨欠損モデルに本スフェロイドを未分化な状態で移植し骨再生効果を検証したところ、高い骨再生能を保持していることも明らかになりました。

本研究成果は、浮遊培養に「振盪」という機械的刺激を加えることで、間葉系幹細胞の低下した分化能および幹細胞関連の遺伝子発現を回復・向上できることを示しました。振盪浮遊培養技術は、弱った幹細胞を若返らせる技術へつながる可能性があり、作製した神経堤細胞様の間葉系幹細胞スフェロイドは、軟骨や神経といった他の組織再生への効果も期待されます。本研究成果は、2022年3月11日 Stem Cells Translational Medicine のオンライン版に掲載されました。なお、基盤となる浮遊振盪培養技術は国際特許出願中です（特願 2017-83483, PCT/JP2018/16321）。

【用語説明】

※1 間葉系幹細胞：体性幹細胞の一つ。骨髄や脂肪、胎盤や歯髄といった組織中に存在し、プラスチックディッシュに張り付き、増殖して骨・軟骨・脂肪への分化能を持つ細胞と定義されている。近年では、神経堤（後述）由来の間葉系幹細胞が存在し、神経・グリア・平滑筋といった細胞への分化能も保つことが知られている。

※2 振盪浮遊培養法：円錐形フラスコの液体培地中に細胞を浮遊させ、特殊な恒温振盪培養装置（バイオシェーカー）を用いてフラスコを振盪、培地中の細胞に振盪刺激を加えて培養する。これまで酵母や大腸菌等の微生物の培養で用いられてきた培養法である。

※3 神経堤：脊椎動物の表皮外胚葉と神経板の間に一過性に出現する構造であり、外胚葉・内胚葉・中胚葉に次ぐ「第4の胚葉」と呼ばれている。神経堤細胞は神経堤から脱上皮化し、上皮間葉転換（EMT）を起こし、さまざまな部位に遊走し、存在することが知られている。神経細胞・シュワン細胞・メラニン細胞・心筋平滑筋や顔面の骨・軟骨や歯髄などの細胞に分化可能である。

【論文情報】

Journal: Stem Cells Translational Medicine

Title: Novel Mesenchymal Stem Cell Spheroids with Enhanced Stem Cell Characteristics and Bone Regeneration Ability.

Authors: Yumi Ohori-Morita, Kunimichi Niibe, Phoonsuk Limraksasin, Praphawi Nattasit, Xinchao Miao, Masahiro Yamada, Yo Mabuchi, Yumi Matsuzaki, Hiroshi Egusa

Doi: <https://doi.org/10.1093/stcltm/szab030>

本研究は、科学研究費助成事業 若手研究 B (16K20480)、基盤研究 C (19K10220) および 特別研究員 DC1 研究奨励費 (18J21198) の一環で行われました。

【問い合わせ先】

(研究に関すること)

東北大学大学院歯学研究科

分子・再生歯科補綴学分野

講師 新部 邦透(にいべ くにみち)

E-mail: kunimichi.niibe.d4@tohoku.ac.jp

東北大学大学院歯学研究科

分子・再生歯科補綴学分野

教授 江草 宏(えぐさ ひろし)

E-mail: egu@tohoku.ac.jp

(報道に関すること)

東北大学大学院歯学研究科広報室

電話: 022-717-8260

E-mail: den-koho@grp.tohoku.ac.jp