

研究プロジェクト 心臓外科・再生医療・間葉系幹細胞治療研究

特任研究員 常 徳華、大学院生 朱 燦基、事務補佐員 梶原 紀子

【研究プロジェクト概要】

間葉系幹細胞（MSCs）はその多分化能、抗炎症効果、及び血管新生促進パラクリン効果によって再生医療で注目されている。特に、ヒト臍帯由来間葉系幹細胞（UCMSCs）は若い組織であるため、細胞の活性化が高く、非侵襲的に採取可能であり、品質管理の観点からも有望な細胞ソースとされている。MSCs は三系統分化能（脂肪、骨と軟骨分化）があり、マーカーとして CD105、CD73、CD90 などを持っていると定義されているが、これらのマーカーが発現していても増殖する細胞かどうかなどの品質の良さは判断できないことがあるので、MSCs の品質評価法が極めて重要である。本研究では、UCMSCs の形態学的特徴や生物学的特性を定量的に評価し、細胞継代回数が細胞の特性に与える影響を明らかにすることを目的としている。

【研究内容】

UCMSCs の品質を総合的に評価するには、細胞の面積、周囲長、縦幅、横幅の比率といった形態学的指標を測定する必要がある。本研究では、Passage5（P5）とPassage10（P10）のUCMSCs の分化能や間葉系幹細胞に発現するマーカータンパク質などを確認し、また、細胞画像解析技術を用いて、P5とP10のUCMSCs の形態変化を観察することにより、生物学的な特徴を比較して細胞の品質評価を行った。

再生医療の細胞治療では、製品としての細胞の安全性と有効性が非常に重要であり、治療効果に影響を与える。品質の高い細胞は増殖能が高く、細胞核が小さく、形状が整っていることが特徴である。本研究では、継代数の少ない細胞P5は、P10より、形態学的安定性が高く、細胞の増殖能や血管新生能にも優れていることが示された。

結果は、P5とP10のUCMSCs の分化能について、三系統分化実験（脂肪、骨と軟骨分化）を行った結果はいずれも分化に成功した。また、P5とP10のUCMSCマーカーにおいて、MSCに発現するマーカータンパク質であるCD105、CD73、CD90、CD11b、CD19、CD34、CD45、HLA-DRがその両方において確認された。形態学的研究において、P5とP10のUCMSCを比較した結果はP5の方が細胞の形態が良く、生存率が高かった。P5とP10のUCMSCの血管新生を比べ、P5の方がより多くの血管分岐点と総延長線を生成した。P5とP10に比べ細胞数、細胞密度いずれも高い傾向が見られた。P5とP10の細胞形態と特性を比較した結果は、P10では時間経過に伴い縦横比がP5より大きく変動し、細胞の密度も低下する傾向が見られた。

【今後の展望】

これらの結果は、細胞継代数が形態学的特徴や特性に影響を及ぼすことを示唆している。また、画像解析技術は、細胞の特性と関連した指標を用いることにより、間葉系幹細胞の製造工程中や最終製品の細胞の品質評価に役に立つ、安全かつ有効な細胞治療の製品の開発に繋がることが期待される。

【令和5年度活動実績】

<論文・著書>

英文論文

国際学術論文発表

1. Yu-Hong Wang, Ting-Ting Liu, Yan-Ping Guo, Shuo-Ji Zhu, Zi-Ming Liao, Jia-Mei Song, Xi-Ming Zhu, Jia-Liang Liang, Moussa Ide Nasser, Nan-BO Liu, **De-Hua Chang***, Ping Zhu*, Bio Yao*. Integrating melt electrospinning writing and microfluidics to engineer a human cardiac microenvironment for high-fidelity drug screening. Bioact Mater. 2024;45:551-566. Published 2024 Dec 11. doi:10.1016/j.bioactmat.2024.11.037
2. Shuoji Zhu, Junfeng Xuan, Yunchao Shentu, Katsuhiko Kida, Masaki Kobayashi, Wei Wang, Minoru Ono, **Dehua Chang***. Effect of chitin-architected spatiotemporal three-dimensional culture microenvironments on human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. Bioactive Materials 35 (2024)291-305. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2024.01.014>

<学会・講演会発表>

国内学会

1. **Chang D**, Zhu S and Ono M ヒト臍帯由来間葉系幹細胞の形態の特徴と生物学的特徴についての検討 (P-12-27) 第24回日本再生医療学会総会 2025, 3, 20-22 パシフィコ横浜

国際学会

2. **Dehua Chang**. Study on the Morphological and Biological Characteristics of Human Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cells. March 20-22, 2024, Guangzhou, China.
3. **D. Chang**, S. Zhu and M. Ono. The Characteristics and Functions of 3D-Cultured Stem Cells with Cellhesion. 7th termis World Congress. 2023 Annual Conference, June 25-28, 2024, Seattle, USA.