

Title	マウス皮膚全層欠損モデルを用いた、ヒト羊水幹細胞シートの抗線維化作用に関する検討
Sub Title	Analysis of anti- fibrotic effect of human amniotic fluid stem cell sheet on cutaneous wound closure in mice
Author	落合, 大吾(Ochiai, Daigo)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究は、ヒト羊水幹細胞(Human amniotic fluid stem cell ; hAFS)を用いた細胞シートを用いて、難治性の先天性疾患に対する新しい自己羊水幹細胞治療法を提案することを目的とした。まず、BALA/cマウス皮膚全層欠損モデルを用いて、hAFS細胞シートと一般的な間葉系幹細胞(MSC)である骨髄MSC(BM-MSC)細胞シートと抗線維化作用を比較すること企図し、BM-MSC細胞シート作成を試みた。しかし、期待に反して安定したBM-MSC細胞シートの作成は容易ではなく、BALA/cマウス皮膚全層欠損モデルを用いた実験を行うことはできなかった。</p> <p>一方で、我々はこれまでにhAFSの三胚葉性分化能に関しては、神経様細胞、心筋様細胞の作成に成功していたが、本年度は血管新生能、および、肝細胞分化能を検討した。その結果、hAFSは適切な培養条件下ではVEGFタンパク陽性のAngiogenesis networkの作成がin vitroで可能であることが示された。しかし、肝細胞への分化能に関しては、本年度は成功しなかった。</p> <p>さらに、hAFSの有する抗線維化作用のメカニズムを調べるために、hAFSそのもの、あるいは、hAFS細胞シートの培養上清に含まれる分泌因子をELISA法にて測定した。興味深いことに、hAFSから分泌される因子は時間依存性に分泌が増加するものと12時間後をピークに一過性に分泌が増加するものに分類され、前者ではVEGFが後者ではIL-10やPGE2が代表的な因子であった。しかし、hAFSを細胞シート化することによる優位性はこの実験では見いだすことができなかった。</p> <p>In this study, we aimed to propose a novel method for intractable congenital diseases using human amniotic fluid stem cell sheet (hAFS sheet).</p> <p>First, by using the full-thickness skin defect model in BALA/c mice, we aimed to compare the anti-fibrotic effect of hAFS sheet and bone marrow MSC (BM-MSC sheet), which is a representative MSC. We tried to prepare BM-MSC sheet. However, contrary to our expectation, we could not prepare a stable BM-MSC sheet, and we could not perform the experiment using the full-thickness skin defect model in BALA/c mice.</p> <p>Second, we previously demonstrated that hAFS could directly differentiate into neuron- like cells and cardiomyocyte- like cells in an appropriate culture condition. Therefore, we aimed to determine the differentiation potential of hAFS toward angiogenesis and hepatocyte. As a result, we demonstrated that hAFS could directly differentiate VEGF-positive cell like an angiogenesis network in vitro in an appropriate condition. However, we could not show the differentiatonal potential of hAFS into hepatocyte.</p> <p>Finally, in order to investigate the mechanisms for anti- fibrotic effect, paracrine factors secreted from hAFS plated on the culture dish and hAFS sheet were measured by ELISA. Interestingly, ELISAs showed that VEGF levels gradually increased during the observation period, whereas, IL-10 and PGE2 levels peaked at 12 h and declined to baseline. However, we could not find out the superiority by converting hAFS into cell sheet.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170273">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000001-20170273</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	助教(有期・医学部)	補助額	500(特B)千円
	氏名	落合 大吾	氏名(英語)	Daigo Ochiai		
研究課題(日本語)						
マウス皮膚全層欠損モデルを用いた、ヒト羊水幹細胞シートの抗線維化作用に関する検討						
研究課題(英訳)						
Analysis of anti-fibrotic effect of human amniotic fluid stem cell sheet on cutaneous wound closure in mice						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究は、ヒト羊水幹細胞(Human amniotic fluid stem cell; hAFS)を用いた細胞シートを用いて、難治性の先天性疾患に対する新しい自己羊水幹細胞治療法を提案することを目的とした。</p> <p>まず、BALA/c マウス皮膚全層欠損モデルを用いて、hAFS 細胞シートと一般的な間葉系幹細胞(MSC)である骨髄 MSC(BM-MSC)細胞シートと抗線維化作用を比較すること企図し、BM-MSC 細胞シート作成を試みた。しかし、期待に反して安定した BM-MSC 細胞シートの作成は容易ではなく、BALA/c マウス皮膚全層欠損モデルを用いた実験を行うことはできなかった。</p> <p>一方で、我々はこれまでに hAFS の三胚葉性分化能に関しては、神経様細胞、心筋様細胞の作成に成功していたが、本年度は血管新生能、および、肝細胞分化能を検討した。その結果、hAFS は適切な培養条件下では VEGF タンパク陽性の Angiogenesis network の作成が in vitro で可能であることが示された。しかし、肝細胞への分化能に関しては、本年度は成功しなかった。</p> <p>さらに、hAFS の有する抗線維化作用のメカニズムを調べるために、hAFS そのもの、あるいは、hAFS 細胞シートの培養上清に含まれる分泌因子を ELISA 法にて測定した。興味深いことに、hAFS から分泌される因子は時間依存性に分泌が増加するものと 12 時間後をピークに一過性に分泌が増加するものに分類され、前者では VEGF が後者では IL-10 や PGE2 が代表的な因子であった。しかし、hAFS を細胞シート化することによる優位性はこの実験では見いだすことができなかった。</p>						
2. 研究成果実績の概要(英訳)						
<p>In this study, we aimed to propose a novel method for intractable congenital diseases using human amniotic fluid stem cell sheet (hAFS sheet).</p> <p>First, by using the full-thickness skin defect model in BALA / c mice, we aimed to compare the anti-fibrotic effect of hAFS sheet and bone marrow MSC (BM-MSC sheet), which is a representative MSC. We tried to prepare BM-MSC sheet. However, contrary to our expectation, we could not prepare a stable BM - MSC sheet, and we could not perform the experiment using the full-thickness skin defect model in BALA / c mice.</p> <p>Second, we previously demonstrated that hAFS could directly differentiate into neuron-like cells and cardiomyocyte-like cells in an appropriate culture condition. Therefore, we aimed to determine the differentiation potential of hAFS toward angiogenesis and hepatocyte. As a result, we demonstrated that hAFS could directly differentiate VEGF-positive cell like an angiogenesis network in vitro in an appropriate condition. However, we could not show the differentiatonal potential of hAFS into hepatocyte.</p> <p>Finally, in order to investigate the mechanisms for anti-fibrotic effect, paracrine factors secreted from hAFS plated on the culture dish and hAFS sheet were measured by ELISA. Interestingly, ELISAs showed that VEGF levels gradually increased during the observation period, whereas, IL-10 and PGE2 levels peaked at 12 h and declined to baseline. However, we could not find out the superiority by converting hAFS into cell sheet.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Marie Fukutake, Daigo Ochiai, Hiroataka Masuda, Yu Sato, Youhei Akiba, Toshimitsu Otani, Satoru Ikenoue, Yoshifumi Kasuga, Tadashi Matsumoto, Kei Miyakoshi, Mamoru Tanaka, Daisuke Aoki	Effects of human amniotic fluid stem cells on cutaneous wound healing in a mouse excisional model	Japan Society of Obstetrics and Gynecology	2017年4月16日			
福武麻里絵, 落合大吾, 佐藤佑, 秋葉洋平, 大谷利光, 池ノ上学, 春日義史, 松本直, 宮越敬, 田中守	ヒト羊水幹細胞がマウス皮膚再生に与える影響 - 細胞局所注射ならびに細胞シート貼付における検討	日本周産期・新生児医学会	2017年7月18日			
阿部雄志, 落合大吾, 福武麻里絵, 大谷利光, 升田博隆, 秋葉洋平, 松本直, 宮越敬, 田中守	ヒト羊水幹細胞の投与前調整法に関する検討	臍帯血による再生医療研究会	2017年7月23日			
落合大吾, 阿部雄志, 大谷利光, 福武麻里絵, 升田博隆, 佐藤佑, 秋葉洋平, 松本直, 宮越敬, 田中守	ヒト羊水幹細胞の羊水腔内注入によるラット脊髄髄膜瘤の治療効果に関する検討	日本胎児治療学会	2017年11月18日			
Daigo Ochiai, Hiroataka Masuda, Yushi Abe, Toshimitsu Otani, Marie	Human Amniotic Fluid Stem Cells: Therapeutic Potential for Perinatal	The Keio Journal of Medicine	2018年3月6日			

Fukutake, Tadashi Matsumoto, Kei Miyakoshi, Mamoru Tanaka	Patients with Intractable Neurological Disease		
Yushi Abe, Daigo Ochiai, Hiroataka Masuda, Toshimitsu Otani, Marie Fukutake, Youhei Akiba, Tadashi Matsumoto, Kei Miyakoshi, Mamoru Tanaka	A novel strategy to treat fetal myelomeningocele using human amniotic fluid stem cells	Society for Reproductive Investigation	2018年3月9日
Yu Sato, Daigo Ochiai, Hiroataka Masuda, Yushi Abe, Toshimitsu Otani, Marie Fukutake, Youhei Akiba, Tadashi Matsumoto, Kei Miyakoshi, Mamoru Tanaka	Human amniotic fluid stem cells have a unique potential to accelerate cutaneous wound healing with less fibrotic scarring like fetal wound healing	Society for Reproductive Investigation	2018年3月10日
Toshimitsu Otani, Daigo Ochiai, Marie Fukutake, Yushi Abe, Yu Sato, Youhei Akiba, Tadashi Matsumoto, Hiroataka Masuda, Kei Miyakoshi, Mamoru Tanaka	Human amniotic fluid stem cells :A novel treatment option for neonatal cerebral palsy	Society for Reproductive Investigation	2018年3月10日
阿部雄志, 落合大吾, 升田 博隆, 大谷利光, 福武麻里 絵, 秋葉洋平, 松本直, 宮越 敬, 田中守	ヒト羊水幹細胞を用いた脊髄髄膜 瘤に対する新規胎児治療法の開発	日本再生医療学会	2018年3月21日