

Title	自己羊水幹細胞シートを用いた新生児難治性疾患に対する新規治療法の開発
Sub Title	Development of a novel therapy for neonatal intractable disease using autologous amniotic fluid stem cell sheets
Author	田中, 守(Tanaka, Mamoru) 落合, 大吾(Ochiai, Daigo)
Publisher	
Publication year	2019
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2018.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>妊娠24週以前の胎児は、全く瘢痕化なく創傷治癒する事はよく知られており動物種を超えて保存されている。このため、ヒト羊水幹細胞 (human amniotic fluid stem cells: hAFS) は他の間葉系幹細胞よりも強力な抗線維化作用を有するのではないかと仮説を立てた。また、細胞シート作成の際、hAFSを効率よく目的の細胞に分化すると分化型細胞シートが作成可能なのではないかと考えた。我々は、hAFSの多分化能の検証と細胞シート作成に成功した。そして、動物実験にて、その細胞シートは強力な抗線維化作用を持つことを明らかにした。しかし、分化型細胞シートは作成できなかった。</p> <p>Fetal wounds before 24 weeks of gestation are known to heal without fibrotic scarring, and this characteristic is preserved beyond animal species. Therefore, we hypothesized that human amniotic fluid stem cells (hAFS) have more potential for anti-fibrosis than other mesenchymal stem cells. In addition, hAFS that have pre-differentiated into target cells, such as neurons and cardiomyocytes, could be used to create hAFS sheets. In this study, we demonstrated that hAFS are multipotent and could be differentiated into neuronal cells and cardiomyocyte-like cells. Additionally, we successfully produced a cell sheet using hAFS and confirmed its formation and strong anti- fibrotic potential using a murine model. However, we were unable to create a pre-differentiated hAFS sheets.</p>
Notes	研究種目：挑戦的萌芽研究 研究期間：2016～2018 課題番号：16K15536 研究分野：胎児医学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_16K15536seika

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.

令和元年5月25日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15536

研究課題名(和文)自己羊水幹細胞シートを用いた新生児難治性疾患に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of A Novel Therapy for Neonatal Intractable Disease Using Autologous Amniotic Fluid Stem Cell Sheets

研究代表者

田中 守 (Mamoru, Tanaka)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・教授

研究者番号：20207145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：妊娠24週以前の胎児は、全く瘢痕化なく創傷治癒する事はよく知られており動物種を超えて保存されている。このため、ヒト羊水幹細胞(human amniotic fluid stem cells: hAFS)は他の間葉系幹細胞よりも強力な抗線維化作用を有するのではないかと仮説を立てた。また、細胞シート作成の際、hAFSを効率よく目的の細胞に分化すると分化型細胞シートが作成可能なのではないかと考えた。我々は、hAFSの多分化能の検証と細胞シート作成に成功した。そして、動物実験にて、その細胞シートは強力な抗線維化作用を持つことを明らかにした。しかし、分化型細胞シートは作成できなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞工学技術の進歩により細胞シートを作成することが可能になった。細胞シートは、成人疾患には臨床応用が開始されているが、新生児疾患ではほとんど検討されてこなかった。新生児にヒト羊水幹細胞(human amniotic fluid stem cells: hAFS)を用いた細胞治療を行う際、「頻回の細胞注射で生着する幹細胞数を増やす」方法が考えられる。しかし、新生児には負担が強いため、非侵襲的に幹細胞生着率を上げるツールとしてhAFS細胞シートの開発を試みた。我々は、hAFS細胞シート作成に成功し、その細胞シートは強力な抗線維化作用を持つことを動物実験で明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Fetal wounds before 24 weeks of gestation are known to heal without fibrotic scarring, and this characteristic is preserved beyond animal species. Therefore, we hypothesized that human amniotic fluid stem cells (hAFS) have more potential for anti-fibrosis than other mesenchymal stem cells. In addition, hAFS that have pre-differentiated into target cells, such as neurons and cardiomyocytes, could be used to create hAFS sheets. In this study, we demonstrated that hAFS are multipotent and could be differentiated into neuronal cells and cardiomyocyte-like cells. Additionally, we successfully produced a cell sheet using hAFS and confirmed its formation and strong anti-fibrotic potential using a murine model. However, we were unable to create a pre-differentiated hAFS sheets.

研究分野：胎児医学

キーワード：羊水 幹細胞 創傷治癒 線維化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の周産期死亡率は世界一低い水準だが、未だ予後不良な難治性新生児疾患が存在する。具体的には、早産関連疾患(脳性麻痺、新生児慢性肺疾患、壊死性腸炎、難聴、未熟児網膜症)や先天性疾患(肺低形成、横隔膜ヘルニア、二分脊椎、先天性心疾患、食道閉鎖など)である。

成人疾患のなかには、iPS細胞や各種幹細胞の研究が進歩し臨床応用への道筋が整えられた疾患もあるが、新生児疾患に対する幹細胞治療の臨床応用は遅れている。このため、我々のグループは、妊娠中に羊水を採取・培養・調整し、得られた自己羊水由来幹細胞を用いた新規治療法開発を目指した研究を開始し、既報と同様に(De Coppi et al., Nature Biotechnology, 2007)、ヒト羊水幹細胞 (human amniotic fluid stem cells: hAFS)の分離・培養に成功した。

近年、細胞工学技術の進歩で容易に細胞シートを作成することが可能になった。細胞シートは、成人疾患では臨床応用されているが、これまで新生児疾患への応用は、ほとんど検討されてこなかった。新生児に hAFS を用いた細胞治療を行う場合、幹細胞の治療効果を高めるためには「細胞注射を頻回に行い、生着する幹細胞数を増やす」方法が考えられるが、新生児には負担が大きい。そこで我々は、非侵襲的に幹細胞生着率を上げるため細胞シート開発を試みた。

2. 研究の目的

本研究は、hAFS細胞シートによる新生児難治性疾患の新規治療法の開発を目的とする。妊娠24週以前の胎児は、全く瘢痕化なく皮膚創傷治療する事は古くからよく知られており、この特徴は動物種を超えて保存されている。このため、hAFSは他の間葉系幹細胞よりも強力な瘢痕化・線維化の抑制効果を有するのではないかと仮説を立てた。

また、羊膜、胎盤など胎児組織由来の間葉系幹細胞は、骨髄や脂肪など成人組織由来の間葉系幹細胞と比較し、胚葉を超えた分化能が高いとの報告が相次いでいる。このため、胎児由来の hAFS の多分化能の検証と、それを応用した分化型 hAFS 細胞シートの作成が可能なのではないかと考えた。

以上のことから、本研究では、(1) hAFS の多分化能の検討、(2) hAFS 細胞シート作成、(3) hAFS および hAFS 細胞シートの新生児疾患モデル動物を用いた治療効果の検討、(4) 目的の細胞に分化させた hAFS (分化型 hAFS) 細胞シート作成、を目的とした。

3. 研究の方法

(1) hAFS の多分化能の検討

以下の研究は、本学倫理委員会承認の下(承認番号:20140285)施行した。妊娠15-17週に当院で羊水検査を施行した患者羊水のうち約5mlを研究用に使用した。そのヒト羊水細胞から CD117 抗体単離法を用いて hAFS を分離・培養した。その後、得られた細胞を用いて、それぞれの分化誘導培地で培養を行い、分化誘導を行った。

- ・骨: hAFS を 3.0×10^4 / 35mm dish に播種し、0.1%ゼラチンコートした glass base dish (Iwaki) を用いた。MSC Osteogenic SingleQuots (Lonza) を用い分化誘導し、Alizarin Red S 染色を行った。
- ・脂肪: hAFS を 2.0×10^5 / 35mm dish に播種し 0.1%ゼラチンコート glass base dish (Iwaki) を用いた。Adipogenic Induction Medium (Lonza) を用いて分化誘導し、Oil Red O 染色を行った。
- ・軟骨: hAFS を 5.0×10^5 / 15ml tube でコニカルチューブ培養を行い、TGF- β 3 を添加した Differentiation Basal Medium- Chondrogenic (Lonza) を用い分化誘導し、Alcian Blue 染色を行った。
- ・神経: 3.2×10^4 / 35mm dish で、0.1%ゼラチンコート glass base dish (Iwaki) を用いた。MSC Neurogenic Differentiation Medium (PromoCell) を用い分化誘導し、Monoclonal- anti- MAP2 (Sigma-Aldrich)、Monoclonal- anti- β -Tubulin isotype III (Sigma-Aldrich) 染色を行った。
- ・心筋: 8.0×10^4 / 35mm dish、0.1%ゼラチンコート glass base dish (Iwaki) で、Cardiomyocyte Differentiation Media (celling-tech.com) を用いて分化誘導した。Purified rabbit cardiac Troponin T (Thermo scientific) を用いて染色した。
- ・血管内皮: hAFS を $6.5-8.0 \times 10^4$ / cm² で 60mm dish に播種し、collagen-coated 24 well に継代した。EGM-2 (LONZA) を用いて分化誘導し、Mouse-Monoclonal Anti-human CD31 (Dako) で染色した。

(2) hAFS 細胞シート作成

温度感受性培養皿 (UpCell : U35-1505 35mm dish (Cell Seed)) に、hAFS を細胞数 3.0×10^6 / 35mm dish となるように播種した。培養後、常温で静置すると、hAFS 細胞シートが自然剥離した。そして、hAFS 細胞シートの凍結切片を作成し、HE 染色、Vimentin 染色を行った。

(3) hAFS および hAFS 細胞シートの新生児疾患モデル動物を用いた治療効果の検討

hAFS や hAFS 細胞シートがマウス皮膚創傷治療に与える影響について、BALB/c マウス皮膚全層欠損モデルを用いて検討した。

・モデル作成: 8週齢のオス BALB/c マウスに吸入麻酔を導入し、背部に皮膚全層欠損創を2箇所作成した。一方は治療群、他方を対照群と設定し、治療群には hAFS 局所注射あるいは hAFS 細胞シート貼付を行った。

・評価: 7、14、21 日目に肉眼的創部面積を観察した。また、皮膚組織を採取しパラフィン切片を作成し、各種染色法 (HE 染色、Masson's trichrome 染色、Elastic-van-Gieson 染色、Picrosirius Red 染色) を用いた組織学的評価を行った。

また、我々はこれまでに、母獣にレチノイン酸を投与し、ラット胎仔脊髄髄膜瘤モデルを作成し、hAFS を羊水腔内に注入することにより、hAFS が直接被覆と paracrine 効果を介して脊髄

髄膜瘤胎仔の脊髄神経損傷を軽減する胎児治療効果を見出してきた。このため、同モデルを用いて hAFS 細胞シートを胎仔病変部に貼付し治療効果の検討を試みた。

(4) スフェロイド化による検討

hAFS をスフェロイド化することで、単層培養よりも未分化性が上昇し、分化誘導効率が上昇するとの仮説を検証した。

4. 研究成果

(1) hAFS の多分化能の検討

CD117 陽性羊水細胞は、紡錘形で、通常の接着培養にて培養・継代可能であり、CD117 陽性細胞はフローサイトメトリーにて間葉系幹細胞マーカー(CD29, CD73, CD90, CD105)陽性、血球系マーカー(CD14, CD34, HLA-DR)陰性であった。さらに、骨・軟骨・脂肪への分化能を有した(図1)。このことから、CD117 陽性羊水細胞は間葉系幹細胞の特性を持つ hAFS であると考えられた。

また、hAFS は骨・脂肪・軟骨のみならず神経様細胞、心筋様細胞、血管内皮様細胞への分化能を認めた(図2)。

(2) hAFS 細胞シート作成

hAFS 細胞シートを作成は可能であった。また、この細胞シートは間葉系細胞の性質を維持していることを明らかにした(図3)。

(3) hAFS および hAFS 細胞シートの新生児疾患モデル動物を用いた治療効果の検討

hAFS 局所注射の治療効果

(Fukutake, Ochiai, Tanaka et al., Hum Cell 2019)

肉眼的創部閉鎖：促進

再上皮化：促進

肉芽形成：不変

繊維化・癒痕化(Ⅲ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲン比)：抑制(低下)

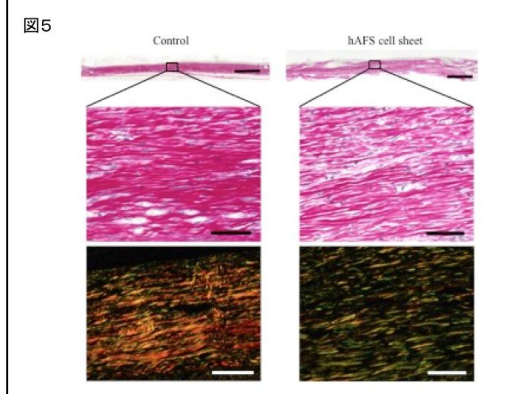
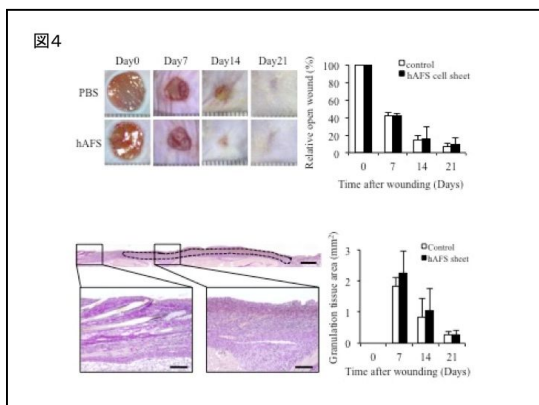
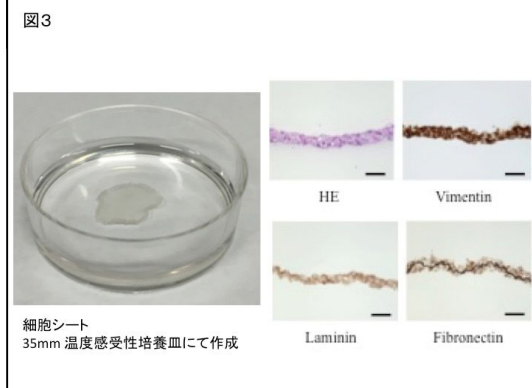
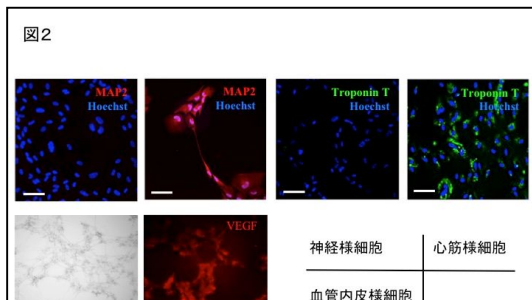
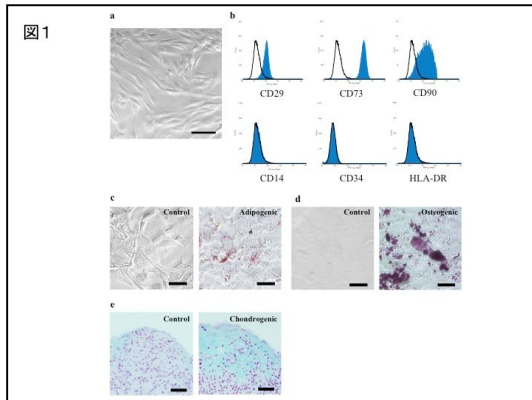
hAFS 細胞シート貼付の治療効果(図4)

肉眼的創部閉鎖：不変

再上皮化：不変(図4)

肉芽形成：不変(図4)

繊維化・癒痕化(Ⅲ型コラーゲン/Ⅰ型コラーゲン比)：抑制(低下)(図5)



このように、hAFS 細胞シートは創傷治癒を遅延させることなく、癒痕化の少ない創傷治癒を促すことを明らかにした。胎児型創傷治癒は成人型創傷治癒と比較しⅢ型コラーゲンが豊富に発現することが知られており、hAFS 細胞シートは胎児型創傷治癒の特徴を保持し、強力な癒痕化・線維化の抑制効果を有する間葉系幹細胞シートであると考えられた。

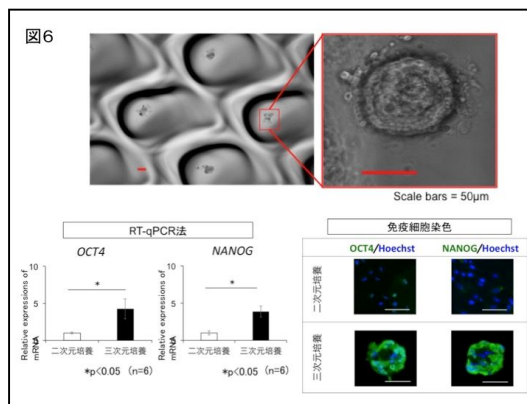
ラット胎仔脊髄髄膜瘤モデルによる検討

ラット胎仔は極めて小さく細胞シート貼付時に破水しほとんどが流産に至った。

このため、本動物モデルでのコンセプト検証は困難であった。今後、このコンセプトの検証には、羊などの大動物を用いた脊髄髄膜瘤モデルを用いる必要があると考えられた。

(4) スフェロイド化による検討

hAFS スフェロイドは単層培養の hAFS と比較し、未分化マーカー(Oct4、Nanog)mRNA の発現が上昇することを見出した(図6)。しかし、現在のところ各種細胞への分化誘導効率の上昇には至っておらず、改良が必要であると考えられた。



以上より、本研究課題の遂行により、(1)hAFS の多分化能、(2) hAFS 細胞シート作成、(2)hAFS および hAFS 細胞シートの新生児疾患モデル動物を用いた治療効果、について抗線維・癒痕化作用を中心に明らかにした。

しかし、分化誘導効率の改善には至らず、(4)分化型 hAFSC 細胞シートは作成できなかった。

5 . 主な発表論文等

[論文発表](計 22 件)

- 1) Makino S, Takeda S, Kondoh E, Kawai K, Takeda J, Matsubara S, Itakura A, Sago H, Tanigaki S, **Tanaka M**, Ikeda T, Kanayama N. National survey of uterine rupture in Japan: Annual report of Perinatology Committee, Japan Society of Obstetrics and Gynecology, 2018. J Obstet Gynaecol Res. 査読あり. 2019 Apr;45(4):763-765. doi: 10.1111/jog.13924.
- 2) Sasaki H, Kawamura K, Kawamura T, Odamaki T, Katsumata N, Xiao JZ, Suzuki N, **Tanaka M**. Distinctive subpopulations of the intestinal microbiota are present in women with unexplained chronic anovulation. Reprod Biomed Online. 査読あり. 2019 Apr;38(4):570-578. doi: 10.1016/j.rbmo.2018.12.026.
- 3) Miki F, Maruyama T, Miyazaki K, Takao T, Yoshimasa Y, Katakura S, Hihara H, Uchida S, Masuda H, Uchida H, Nagai T, Shibata S, **Tanaka M**. The orientation of a decellularized uterine scaffold determines the tissue topology and architecture of the regenerated uterus in rats. Biol Reprod. 査読あり. 2019 Jan 14. doi: 10.1093/biolre/iox004. [Epub ahead of print]
- 4) Fukutake M, **Ochiai D**, Masuda H, Abe Y, Sato Y, Otani T, Sakai S, Aramaki-Hattori N, Shimoda M, Matsumoto T, Miyakoshi K, Kanai Y, Kishi K, **Tanaka M**. Human amniotic fluid stem cells have a unique potential to accelerate cutaneous wound healing with reduced fibrotic scarring like a fetus. Hum Cell. 査読あり. 2019 Jan;32(1):51-63. doi: 10.1007/s13577-018-0222-1.
- 5) Iwai M, Harada Y, Miyabayashi R, Kang W, Nakamura A, Kawano N, Miyamoto Y, Yamada M, Hamatani T, Miyado M, Yoshida K, Saito H, **Tanaka M**, Umezawa A, Miyado K. Chemotactic behavior of egg mitochondria in response to sperm fusion in mice. Heliyon. 査読あり. 2018 Nov 16;4(11):e00944. doi: 10.1016/j.heliyon.2018.e00944. eCollection 2018 Nov.
- 6) Iwai M, Hamatani T, Nakamura A, Kawano N, Kanai S, Kang W, Yoshii N, Odawara Y, Yamada M, Miyamoto Y, Saito T, Saito H, Miyado M, Umezawa A, Miyado K, **Tanaka M**. Membrane protein CD9 is repositioned and released to enhance uterine function. Lab Invest. 査読あり. 2019 Feb;99(2):200-209. doi: 10.1038/s41374-018-0145-1.
- 7) Otani T, **Ochiai D**, Masuda H, Abe Y, Fukutake M, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. The neurorestorative effect of human amniotic fluid stem cells on the chronic phase of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy in mice. Pediatr Res. 査読あり. 2019 Jan;85(1):97-104. doi: 10.1038/s41390-018-0131-8.
- 8) Ikenoue S, Miyakoshi K, Kasuga Y, **Ochiai D**, Matsumoto T, **Tanaka M**. Impaired fetal growth in mothers with inadequate gestational weight gain: a retrospective study in Japanese uncomplicated pregnancy. J Matern Fetal Neonatal Med. 査読あり. 2018 Dec 2:1-5. doi:10.1080/14767058.2018.1545835. [Epub ahead of print]
- 9) Ota K, Sato K, Ogasawara J, Takahashi T, Mizunuma H, **Tanaka M**. Safe and easy technique for the laparoscopic application of Seprafilm in gynecologic surgery. Asian J Endosc Surg. 査読あり. 2018 Dec 13. doi: 10.1111/ases.12621. [Epub ahead of print]
- 10) Nishimura T, Tanaka M, Saisho Y, Miyakoshi K, **Tanaka M**, Itoh H. Lower serum total bilirubin concentration is associated with higher prevalence of gestational diabetes mellitus in Japanese pregnant women. Endocr J. 2018 Dec 28;65(12):1199-1208. doi: 10.1507/endocrj.EJ17-0533.
- 11) Kasuga Y, Miyakoshi K, Tajima A, Saisho Y, Ikenoue S, **Ochiai D**, Matsumoto T, Arata N, Hata K, **Tanaka M**. Clinical and genetic characteristics of abnormal glucose tolerance in Japanese women in the first year after gestational diabetes mellitus. J Diabetes Investig. 査読あり. 2018 Sep 21. doi: 10.1111/jdi.12935. [Epub ahead of print]
- 12) Nakamura A, Kawano N, Motomura K, Kuroda A, Sekiguchi K, Miyado M, Kang W, Miyamoto Y,

- Hanai M, Iwai M, Yamada M, Hamatani T, Saito T, Saito H, **Tanaka M**, Umezawa A, Miyado K. Degradation of phosphate polymer polyP enhances lactic fermentation in mice. *Genes Cells*. 査読あり. 2018 Oct;23(10):904-914. doi: 10.1111/gtc.12639.
- 13) **Ochiai D**, Masuda H, Abe Y, Otani T, Fukutake M, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. Human Amniotic Fluid Stem Cells: Therapeutic Potential for Perinatal Patients with Intractable Neurological Disease. *Keio J Med*. 査読あり. 2018 Dec 26;67(4):57-66. doi: 10.2302/kjm.2017-0019-IR. Review.
- 14) Miyakoshi K, Otani T, Kondoh E, Makino S, **Tanaka M**, Takeda S; Perinatal Research Network Group in Japan. Retrospective multicenter study of leaving the placenta in situ for patients with placenta previa on a cesarean scar. *Int J Gynaecol Obstet*. 査読あり. 2018 Mar;140(3):345-351. doi: 10.1002/ijgo.12397.
- 15) Endo S, Saisho Y, Miyakoshi K, **Ochiai D**, Matsumoto T, Kawano Y, Mitsuishi M, Irie J, Tanaka M, Meguro S, **Tanaka M**, Itoh H. Association of Maternal Factors with Perinatal Complications in Pregnancies Complicated with Diabetes: A Single-Center Retrospective Analysis. *J Clin Med*. 査読あり. 2018 Jan 2;7(1). pii: E5. doi: 10.3390/jcm7010005.
- 16) Ota K, Sato K, **Tanaka M**. Ureteral stenosis due to DIE (deep infiltrating endometriosis) with difficulty in treatment: Case report and brief literature review. *Gynecol Minim Invasive Ther*. 査読あり. 2017 Oct-Dec;6(4):214-216. doi: 10.1016/j.gmit.2017.06.007.
- 17) **Ochiai D**, Miyakoshi K, Koinuma G, **Tanaka M**. Prenatal sonographic images of left pulmonary artery sling. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 査読あり. 2017;211:217-218. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2016.12.026.
- 18) Kasuga Y, **Ochiai D**, **Tanaka M**, Aoki D. Mid-trimester residual cervical length and the risk of preterm birth in pregnancies after abdominal radical trachelectomy: a retrospective analysis. *BJOG*. 査読あり. 2017;124:1729-35. DOI: 10.1111/1471-0528.14688.
- 19) Kasuga Y, Hata K, Tajima A, **Ochiai D**, Saisho Y, Matsumoto T, Arata N, Miyakoshi K, **Tanaka M**. Association of common polymorphisms with gestational diabetes mellitus in Japanese women: A case-control study. *Endocr J*. 査読あり. 2017;64:463-475. DOI: 10.1507/endocrj.EJ16-0431.
- 20) **Ochiai D**, Miyakoshi K, Akiba Y, Otani T, **Tanaka M**. Atypical HELLP syndrome secondary to uteroplacental insufficiency. *Hypertension research in pregnancy*. 査読あり. 2016;4:106-107. DOI: 10.14390/jssh.p.HRP2016-003
- 21) Kasuga Y, Nishio H, Miyakoshi K, **Ochiai D**, Kuji N, Aoki D, **Tanaka M**. Pregnancy Outcomes After Abdominal Radical Trachelectomy for Early-Stage Cervical Cancer: A 13-Year Experience in a Single Tertiary-Care Center. *Int J Gynecol Cancer*. 査読あり. 2016;26:163-168. DOI: 10.1097/IGC.0000000000000571.
- 22) Ito A, Saisho Y, Miyakoshi K, Fukutake M, Kasuga Y, **Ochiai D**, **Tanaka M**, Ito H. Time-dependent changes in insulin requirement for maternal glycemic control during antenatal corticosteroid therapy in women with gestational diabetes: a retrospective study. *Endocr J*. 査読あり. 2016;63:101-104. DOI: 10.1507/endocrj.EJ15-0482

〔学会発表〕(計 20 件)

- 1) Abe Y, **Ochiai D**, Masuda H, Otani T, Fukutake M, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. A POTENTIAL THERAPY FOR FETAL MYELOMENINGOCELE BY HUMAN AMNIOTIC FLUID STEM CELLS. International Society for Stem Cell Research (ISSCR 2018). 2018. (国際学会)
- 2) Otani T, **Ochiai D**, Abe Y, Sato Y, Fukutake M, Ikenoue S, Miyakoshi K, **Tanaka M**. The therapeutic potential of human amniotic fluid stem cells on the chronic phase of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy in mice. 8th Korea-Taiwan-Japan Symposium on Maternal-Fetal Medicine. 2018. (国際学会)
- 3) Otani T, **Ochiai D**, Abe Y, Sato Y, Fukutake M, Ikenoue S, Miyakoshi K, **Tanaka M**. THE THERAPEUTIC EFFECTS OF HUMAN AMNIOTIC FLUID STEM CELLS ON THE CHRONIC PHASE OF NEONATAL HYPOXIC-ISCHEMIC ENCEPHALOPATHY. 20th Congress of the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies (FAOPS 2018). 2018. (国際学会)
- 4) Sato Y, **Ochiai D**, Abe Y, Otani T, Fukutake M, Ikenoue S, Miyakoshi K, **Tanaka M**. A NOVEL STRATEGY TO TREAT FETAL MYELOMENINGOCELE USING HUMAN AMNIOTIC FLUID STEM CELLS. 20th Congress of the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies (FAOPS 2018). 2018. (国際学会)
- 5) **Ochiai D**, **Tanaka M**. Pregnancy Outcomes After Abdominal Radical Trachelectomy for Early-Stage Cervical Cancer. Kangwon-Keio International symposium. 2018. (国際学会)
- 6) Sato Y, **Tanaka M**. Human Amniotic Fluid Stem Cells: Therapeutic Potential for Perinatal Patients with Intractable Neurological Disease. 2018. (国際学会)
- 7) Otani T, **Ochiai D**, Abe Y, Sato Y, Fukutake M, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. Human Amniotic Fluid Stem Cells: A novel treatment option for neonatal brain palsy. 65th Annual Scientific Meeting of Society for Reproductive Investigation. 2018. (国際学会)
- 8) Abe Y, **Ochiai D**, Masuda H, Otani T, Fukutake M, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. A novel strategy to treat fetal myelomeningocele using human amniotic fluid stem cells. 65th Annual Scientific

Meeting of Society for Reproductive Investigation. 2018.(国際学会)

9) Sato Y, **Ochiai D**, Masuda H, Fukutake M, Abe Y, Otani T, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. Human amniotic fluid stem cells have a unique potential to accelerate cutaneous wound healing with less fibrotic scarring like fetal wound healing. 65th Annual Scientific Meeting of Society for Reproductive Investigation. 2018.(国際学会)

10) 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. 第17回 日本再生医療学会. 2018.

11) 阿部雄志, **落合大吾**, 大谷利光, 福武麻里絵, 佐藤佑, 秋葉洋平, 松本直, 升田博隆, 宮越敬, **田中守**, 青木大輔. ラット胎仔脊髄髄膜瘤モデルを使用したヒト羊水幹細胞の羊水腔内注入による胎児治療効果について. 第70回 日本産科婦人科学会. 2018.

12) 大谷利光, **落合大吾**, 阿部雄志, 福武麻里絵, 佐藤佑, 秋葉洋平, 松本直, 升田博隆, 宮越敬, **田中守**, 青木大輔. 新生仔低酸素虚血性脳症モデルマウスに対するヒト羊水幹細胞鼻腔内投与の治療効果に関する検討. 第70回 日本産科婦人科学会. 2018.

13) 大谷利光, **落合大吾**, 佐藤佑, 福武麻里絵, 松本直, 宮越敬, **田中守**. 新生仔低酸素虚血性脳症モデルマウスに対するヒト羊水幹細胞鼻腔内投与の治療効果に関する検討. 第54回 日本周産期・新生児医学会. 2018.

14) **落合大吾**, 阿部雄志, 大谷利光, 福武麻里絵, 佐藤佑, 秋葉洋平, 松本直, 升田博隆, 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. 第15回 日本胎児治療学会学術集会. 2017.

15) Fukutake M, **Ochiai D**, Masuda H, Sato Y, Akiba Y, Otani T, Kasuga Y, Ikenoue S, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**, Daisuke Aoki. Effects of human amniotic fluid stem cells on cutaneous wound healing in a mouse excisional model. 69th Annual Congress of Japan society of Obstetrics and Gynecology. 2017.

16) **Ochiai D**, Fukutake M, Masuda H, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. The effect of human amniotic fluid stem cells on the cutaneous wound healing. 19th Congress of Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies. 2016.(国際学会)

17) 福武麻里絵, **落合大吾**, 升田博隆, 大谷利光, 秋葉洋平, 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創傷治癒に与える影響. 第14回 日本胎児治療学会学術集会. 2016.

18) 福武麻里絵, **落合大吾**, 大谷利光, 秋葉洋平, 春日義史, 池ノ上学, 松本直, 宮越敬, **田中守**. ヒト羊水幹細胞はマウス皮膚創傷治癒を促進する. 第52回 日本周産期・新生児医学会学術集会. 2016.

19) Fukutake M, **Ochiai D**, Akiba Y, Otani T, Kasuga Y, Ikenoue S, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**, Daisuke Aoki. Conditioned medium from human amniotic fluid stem cell ameliorates glutamate-induced apoptosis. 68th Annual Congress of Japan society of Obstetrics and Gynecology. 2016.

20) Fukutake M, **Ochiai D**, Masuda H, Otani T, Matsumoto T, Miyakoshi K, **Tanaka M**. Conditioned medium from human amniotic fluid stem cells ameliorated glutamate-induced neuronal cell injury. 63rd Annual Scientific Meeting of Society for Reproductive Investigation. 2016.(国際学会)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 1 件)

名称: 羊水幹細胞を含む細胞シート及びその製造方法

発明者: **田中守**, 福武麻里絵, **落合大吾**, 升田博隆

権利者: 学校法人慶應義塾

種類: 特許

番号: J12532A1

出願年月日: 平成 27 年 11 月 20 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 落合 大吾

ローマ字氏名: OCHIAI, Daigo

所属研究機関名: 慶應義塾大学

部局名: 医学部(信濃町)

職名: 講師

研究者番号: 80348713

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。