

間葉系幹細胞のばらつきを乗り越える 分化予測・制御方法

東京都立大学
システムデザイン学部
機械システム工学科

准教授 三好 洋美

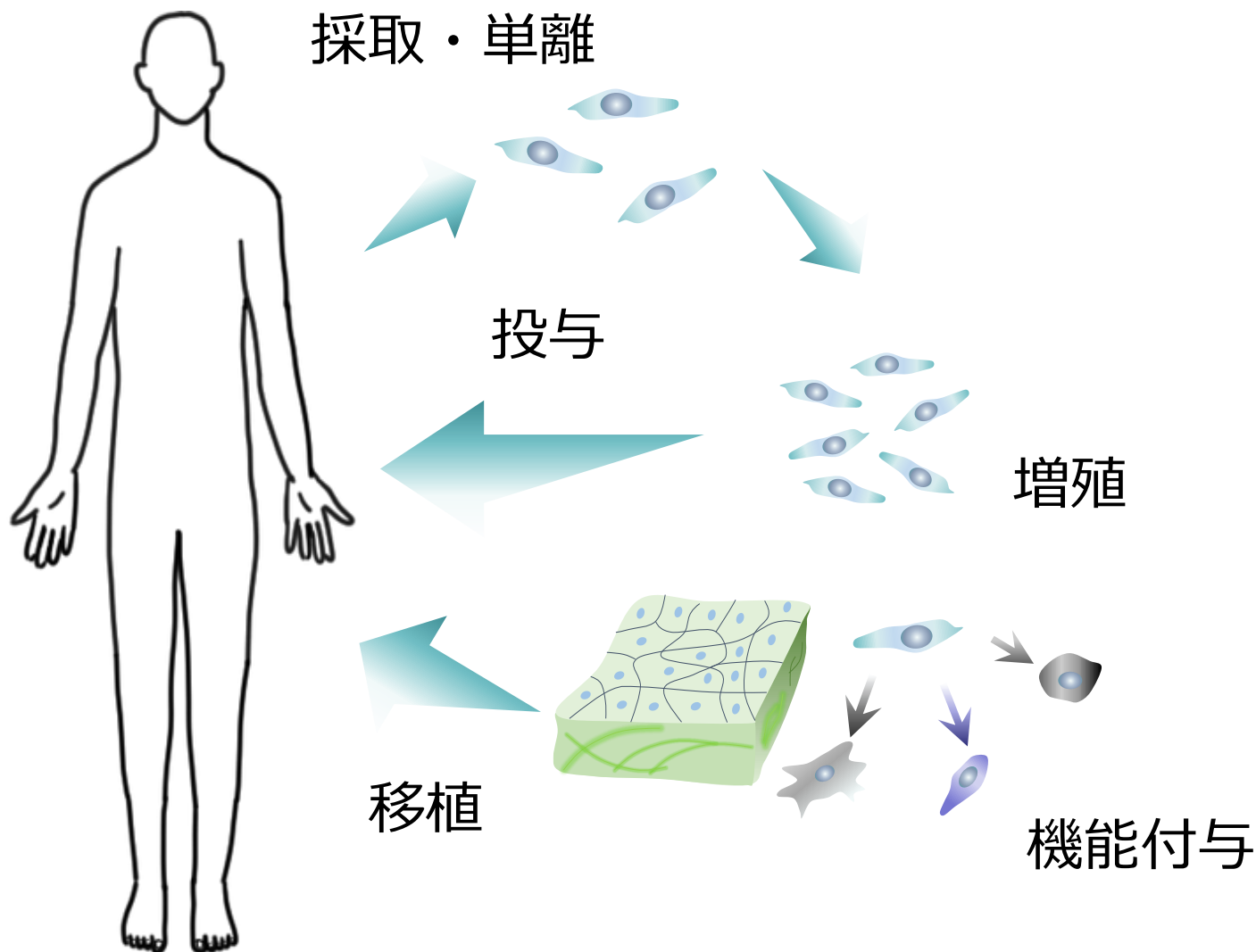
2021年7月8日

医療・バイオ産業の 間葉系幹細胞への期待

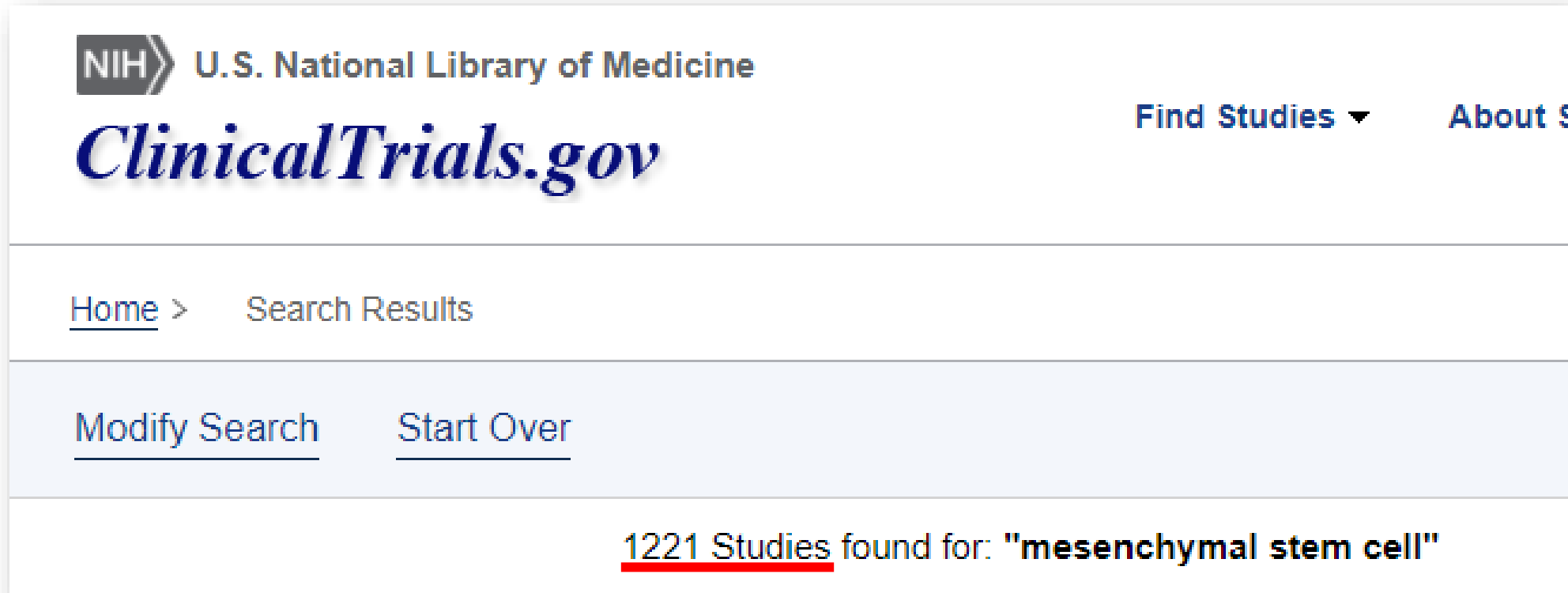
組織再生

炎症性疾患の治療

急性肺障害，急性呼吸窮迫症候群に対しても治療効果があるとされる．
COVID-19の治療に有効なのではないかと期待が持たれている．



医療・バイオ産業の 間葉系幹細胞への期待



検索日：
2021年6月16日

臨床試験登録サイト 米国国立医学図書館
<https://clinicaltrials.gov/ct2/home>

**全世界で実施されたさまざまな疾患に対する臨床登録サイトに
1000件を超える臨床試験**

国内市場規模

治療に適した間葉系幹細胞を選別し培養するニーズは今後、加速すると考えられる。

細胞加工受託サービスの市場規模

- ・ 2018年の臨床研究や治験薬製造の受託ニーズを背景に
53億4000万円（前年度比118.9%）で大幅に拡大.
- ・ 2030年には130億円になると予測される.

間葉系幹細胞を用いた医師主導型臨床試験

- ・ 現在、難治性疾患を対象とするものがほとんど
（大学病院医療情報ネットワークセンターより）
例：難治性腸疾患の国内患罹数は20万人（2016年厚生労働省調べ）

STEVE OSCHMEISSNER/SPL

厳密な定義が確立されていない



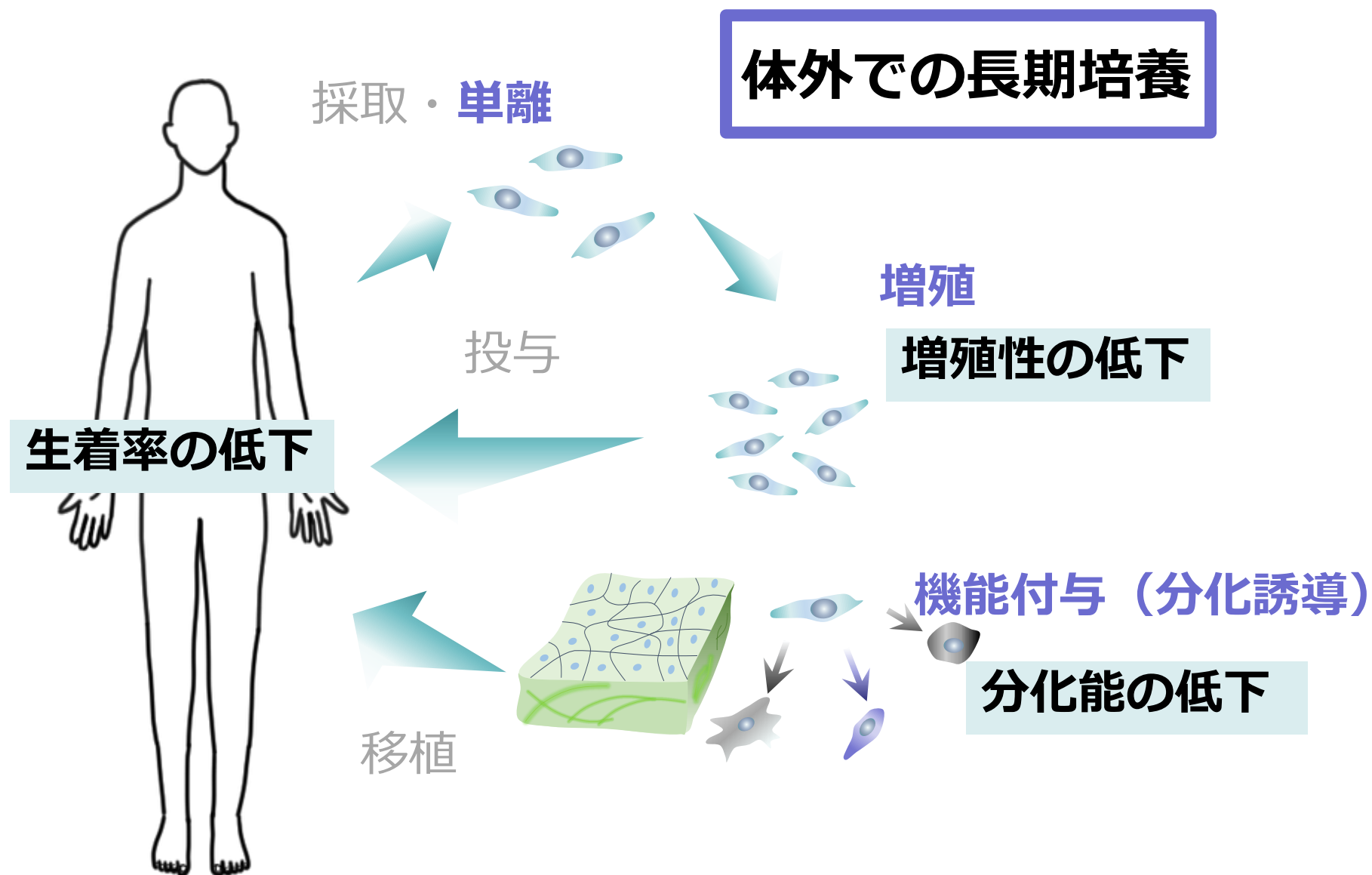
Scanning electron micrograph of what is called a human mesenchymal stem cell, which some say can develop into bone, cartilage or fat cells.

Clear up this stem-cell mess

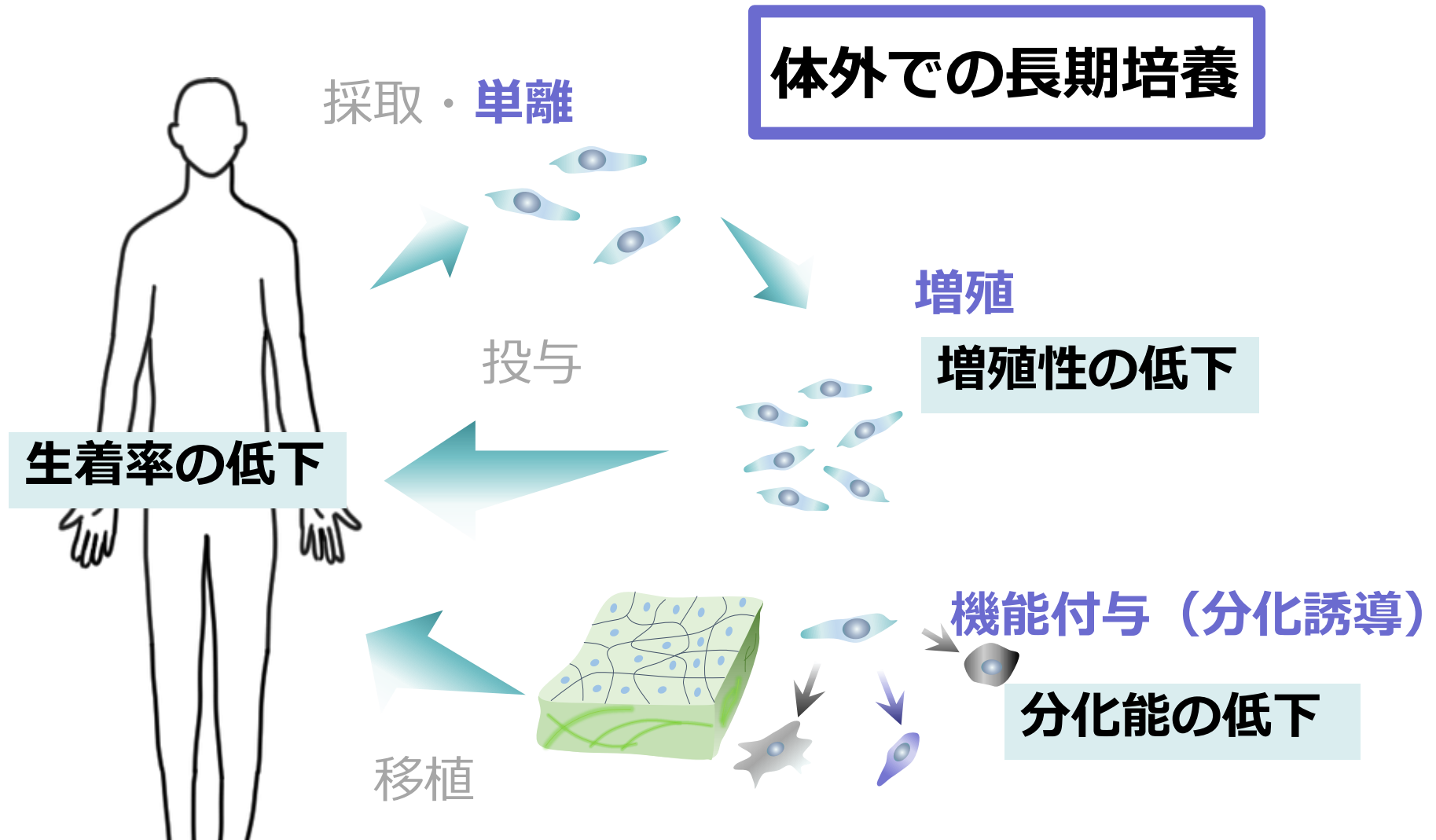
Confusion about mesenchymal stem cells is making it easier for people to sell unproven treatments, warn Douglas Sipp, Pamela G. Robey and Leigh Turner.

Sipp et al., Nature, 2018

間葉系幹細胞の課題



間葉系幹細胞の課題解決のための新技術

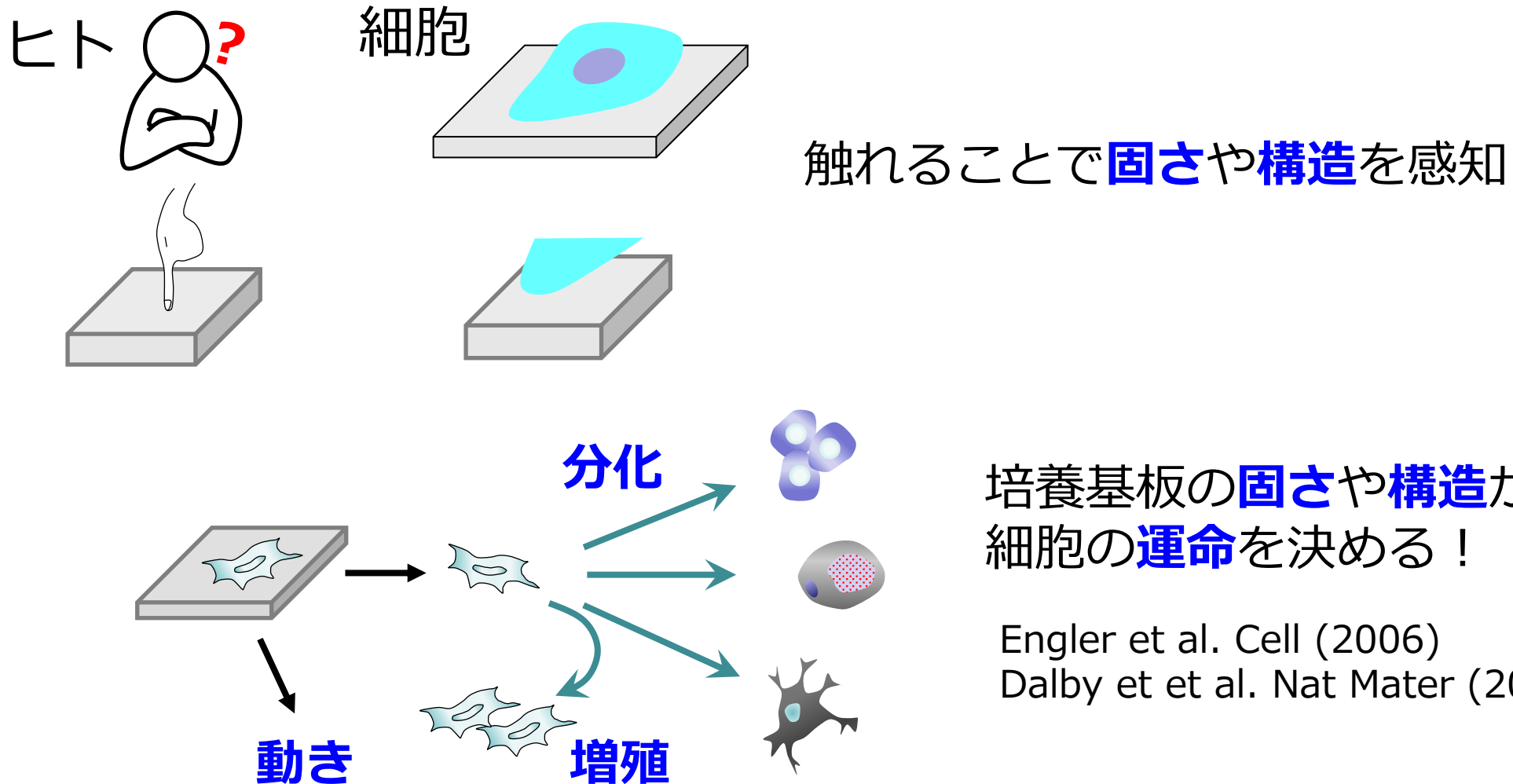


1. 間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法
2. 細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

課題解決のアプローチ

1. 間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法
2. 細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

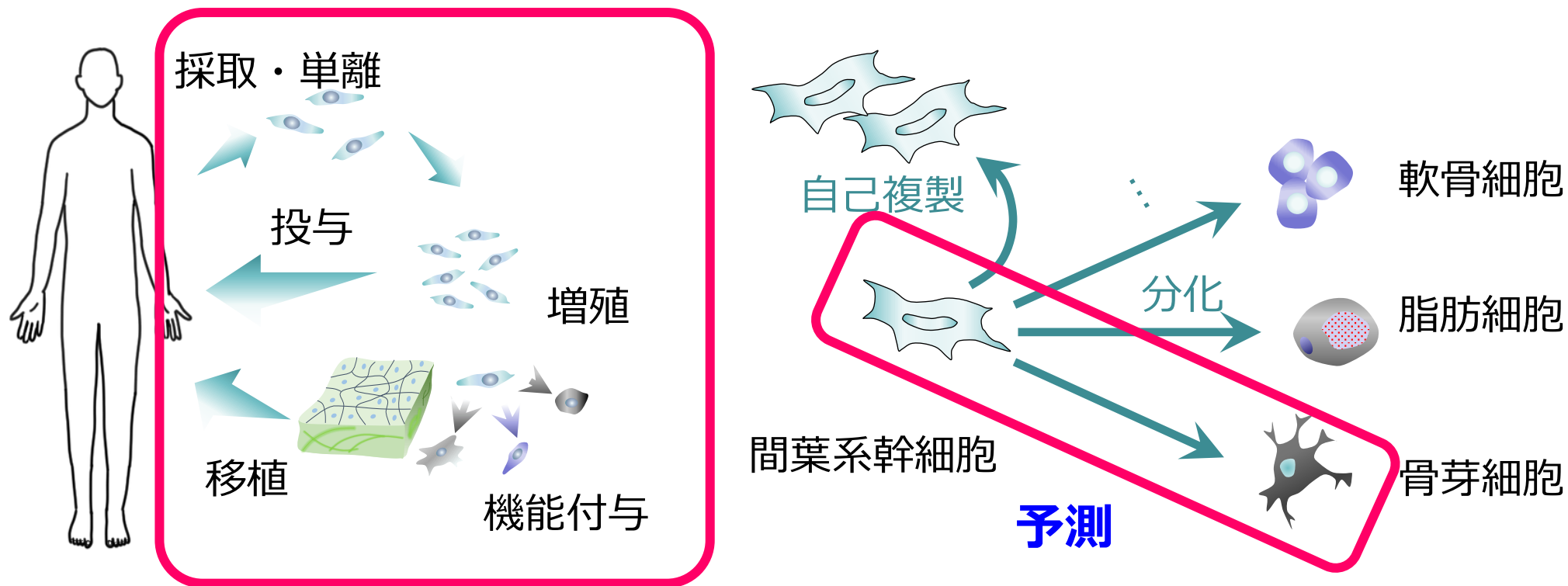
物理特性を制御した細胞培養基板を利用



間葉系幹細胞の課題解決のための新技術

1. 間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法

特願2020-166138 ; Yamazakiら, Analytical Sci. (2021)

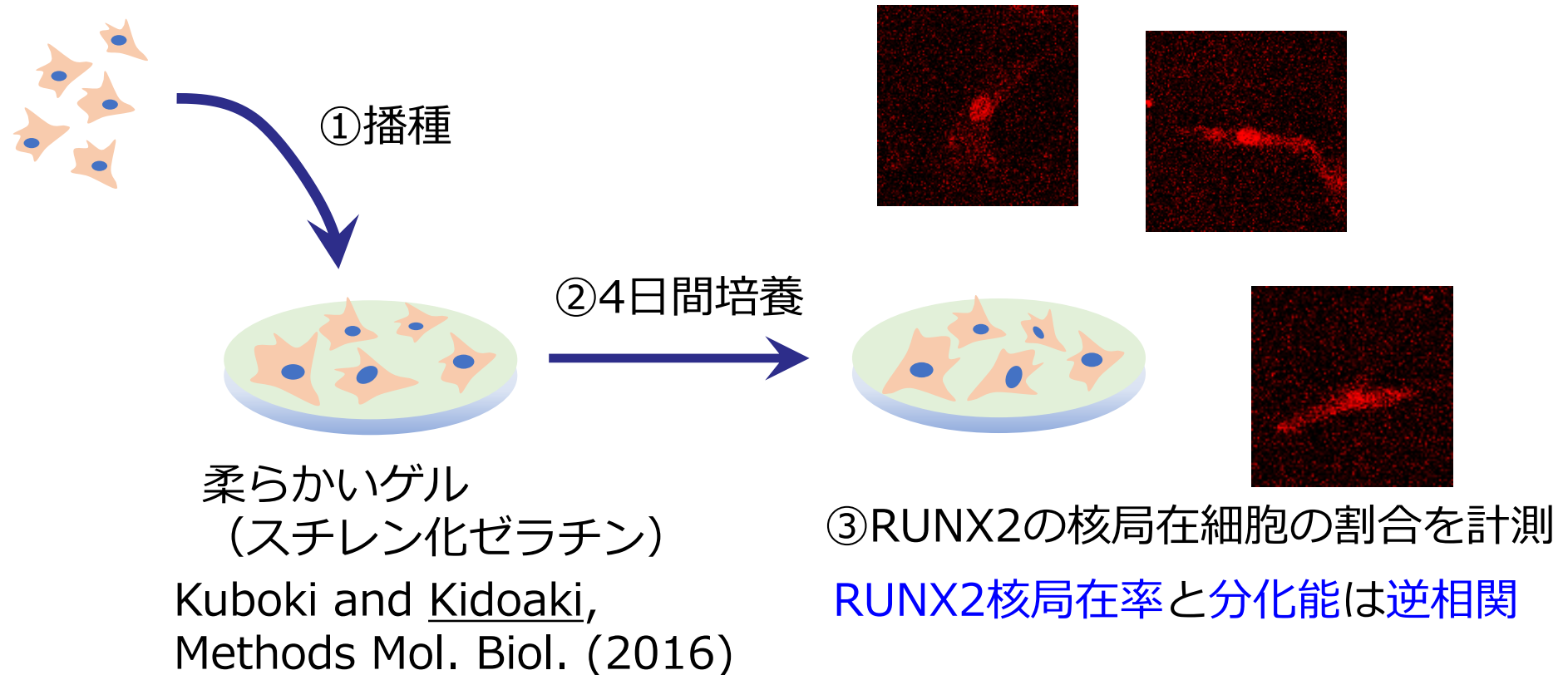


柔らかいゲル（弾性率 < 5 kPa）

間葉系幹細胞の課題解決のための新技術

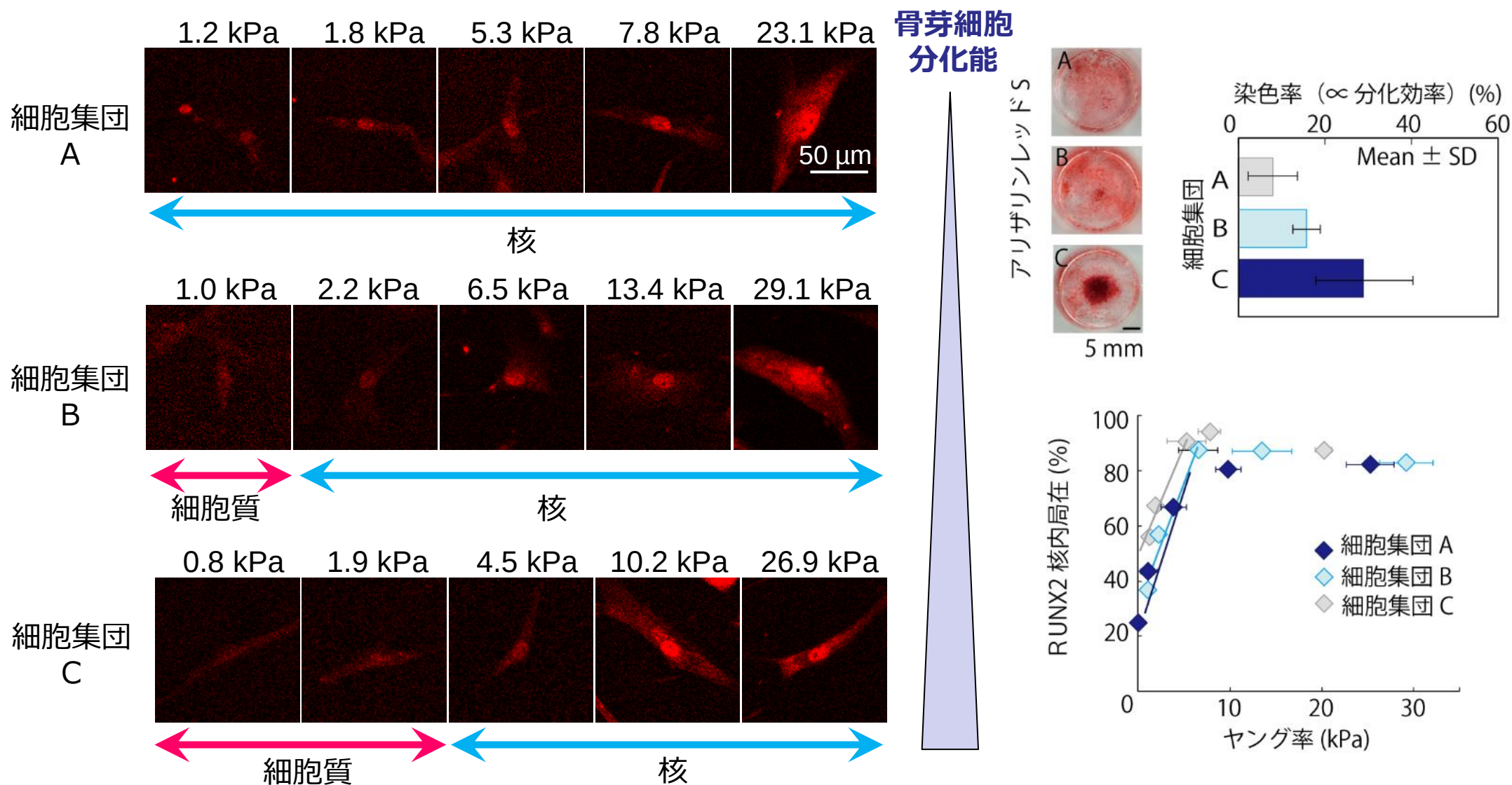
間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法

柔らかいゲル（スチレン化ゼラチン；弾性率 < 5 kPa）を培養基板として用いた**4日間**の予備培養にて、間葉系幹細胞集団の**骨芽細胞分化ポテンシャルを予測**できる。



検証結果

間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法



競合技術に対する優位性

間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法

1. 細胞に分化誘導をかけて分化効率を評価し確認する方法。
時間的コストが課題。

数週間（競合技術） vs **4日間**（本研究）

2. セルソーター
分化ポテンシャルとの相関が不明確，大量の細胞数を要する。
作業が煩雑であることが課題

100,000細胞以上（競合技術） vs **1,000細胞程度**（本研究）

想定される用途

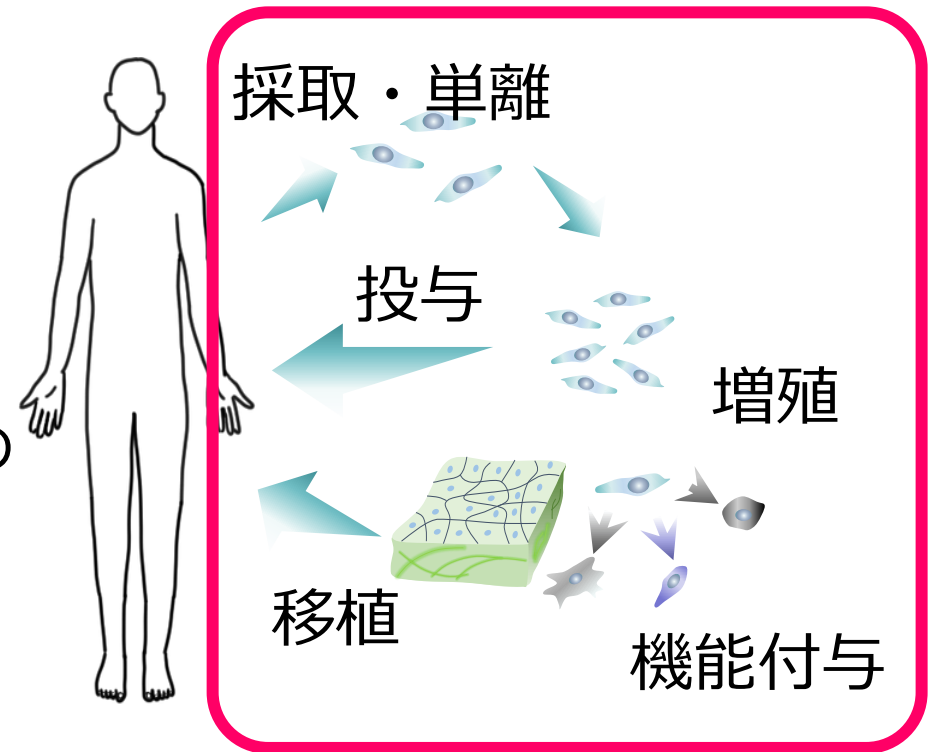
間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法

【基礎研究】

研究に適したロットの選択.

【臨床応用】

間葉系幹細胞を細胞供給源とする
骨組織全般（運動器，歯周組織等）の
再生医療における
細胞移植の治療効果の予測.



【想定される製品形態】

RUNX 2 染色試薬、スチレン化ゼラチンコーティング培養シャーレ、
骨芽細胞分化予測プロトコルを含む研究用試薬キットとして販売

実用化に向けた課題

間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法

課題

運搬，保管における品質管理が難しい

温度，pH，塩濃度変化により低域の弾性率がゆらぎやすい

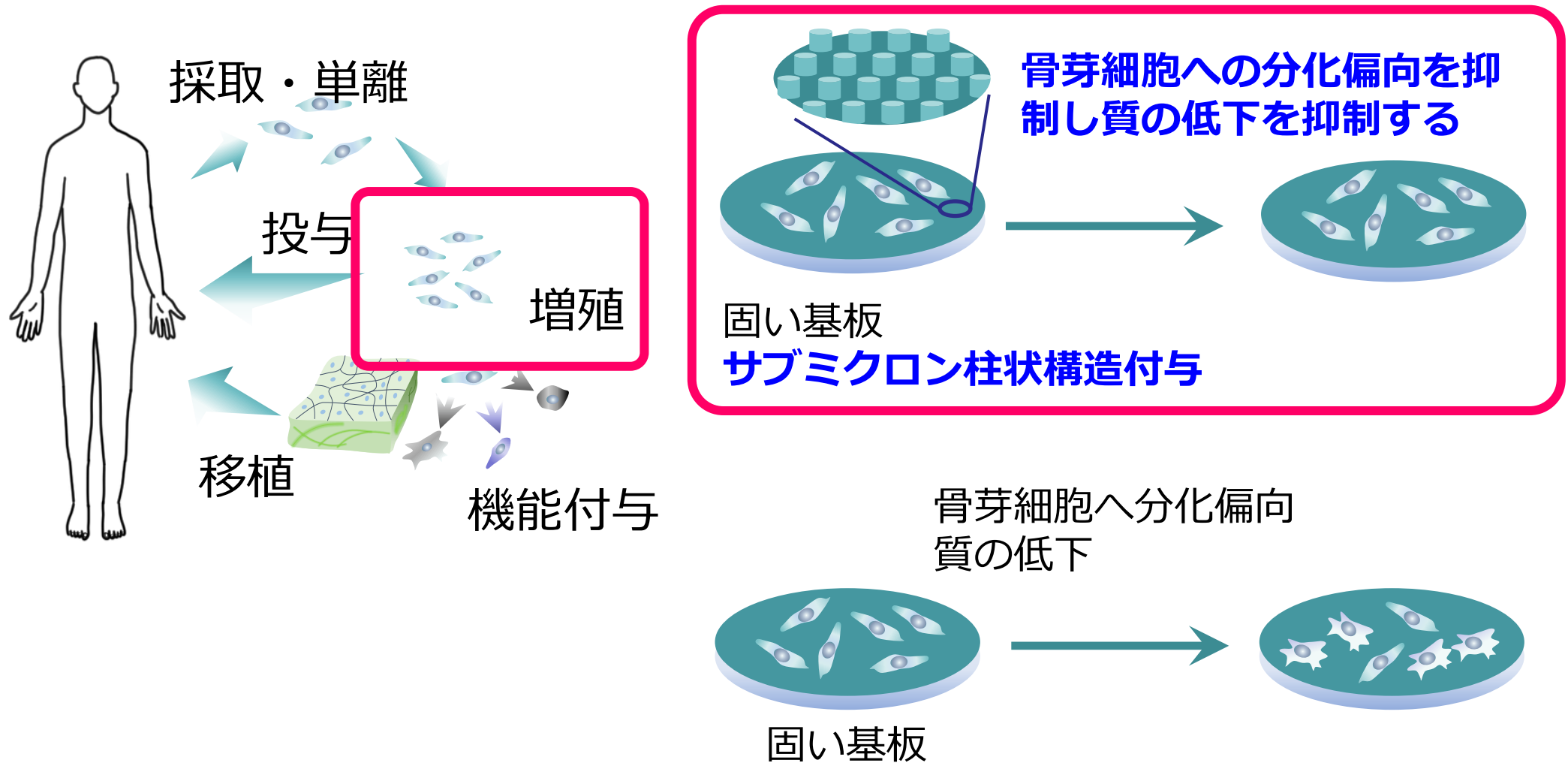
課題解決に向けて必要な取り組み

- ①培養基材としてのスチレン化ゼラチンの保存性・安定性の検討
(コーティング剤/コーティング済み培養シャーレ)
- ②弾性率 (< 5 kPa) 維持の検討

間葉系幹細胞の課題解決のための新技術

2. 細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

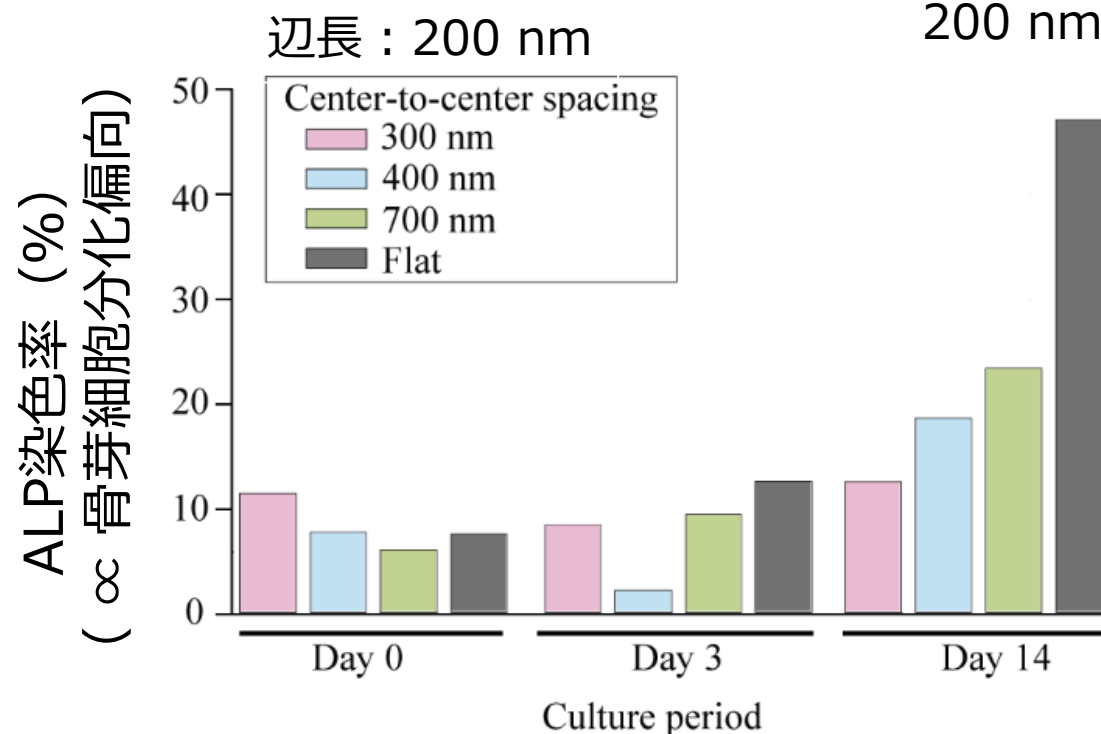
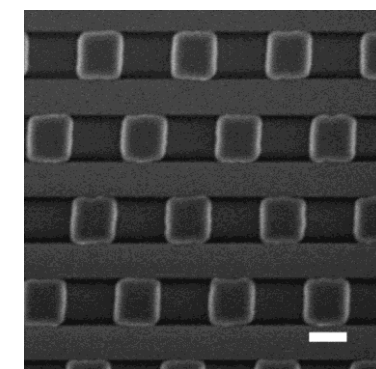
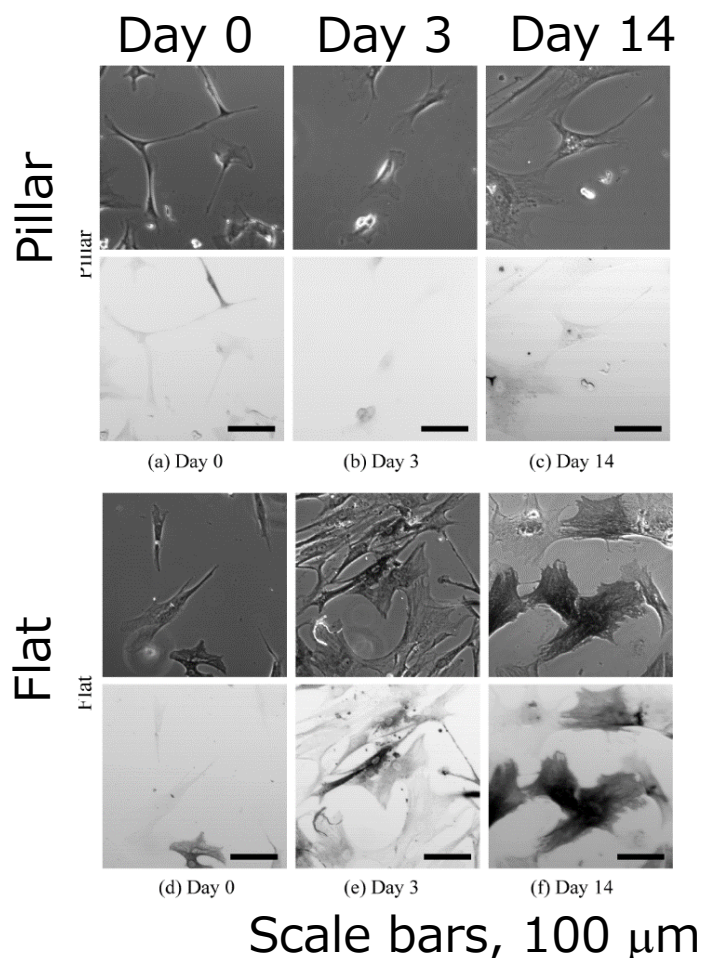
特願2019-062622 ; 山崎ら, 電気学会論文誌C. (2021)



細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

サブミクロン柱状構造による骨芽細胞分化抑制

辺長：200 nm, 配置間隔：300 nm,
高さ：150 nm



競合技術に対する優位性

細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

性状が安定：運搬，保管，拡大培養に適
スケールアップ可能

競合技術	弾性率 (kPa)	特徴		実用化の 課題	
低弾性率 Gerard, Sci Rep, 2019	< 15	幹細胞性維持, コロニー増加	温度, pH, 塩濃 度変化により低 域の弾性率がゆ らぎやすい	運搬, 保管, 拡大培養 に不適	スケールアップのボトルネック
弾性率 パターンニング Kidoaki, Biophys Rev, 2019	10 300	幹細胞性維持			
接着領域 パターンニング Wang, J Mater Chem, 2016	1×10^6	幹細胞性維持	・細胞のECM分 泌による パターン欠損. ・細胞増殖（分 裂）に不適合.	拡大培養に 不適	
三次元培養 日産化学製 キット*	—	幹細胞性向上, 非凍結保存	細胞増殖なし		

想定される用途

細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

【基礎研究】

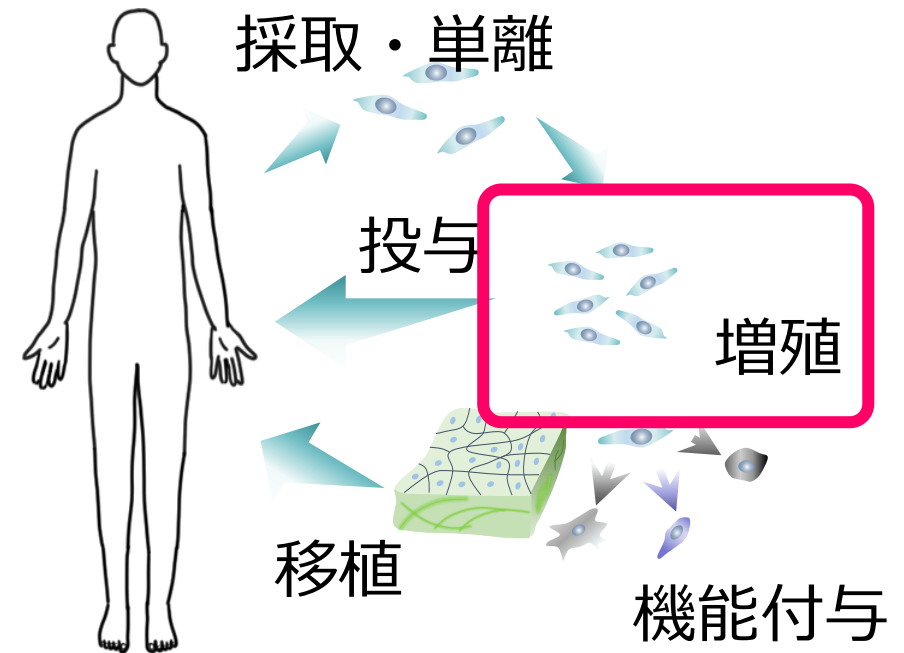
実験前の拡大培養

【臨床応用】

- ・ 間葉系幹細胞を細胞供給源とする再生医療全般.
- ・ 間葉系幹細胞を投与する再生医療全般.

【想定される製品形態】

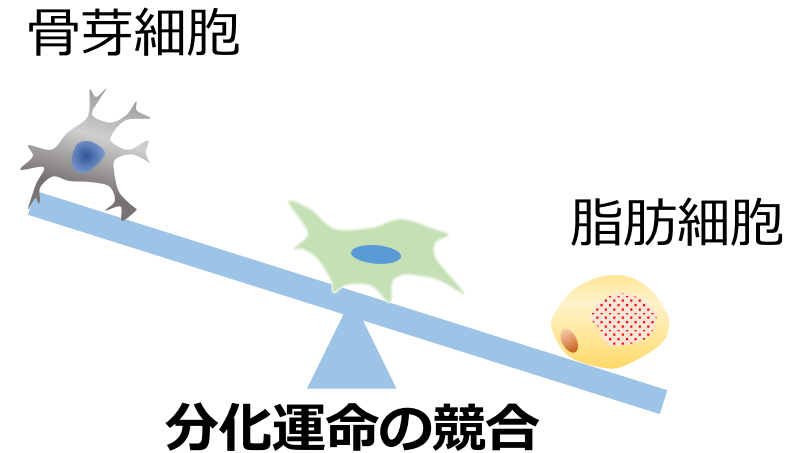
細胞培養容器, 細胞輸送容器



実用化に向けた課題

細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

- ・サブミクロン柱状構造付与基板における
 - 骨芽細胞以外の細胞への分化偏向の有無
 - 増殖性低下の有無の確認
- ・サブミクロン柱状構造付与基板の大面積化



Chen et al.,
Dell Death Differ (2016)

1. 間葉系幹細胞集団の骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法
2. 細胞培養用基板および間葉系幹細胞の分化制御方法

- ・本特許の実施許諾を念頭に企業と共同で、培養基板（製品）としての保存性・安定性（スチレン化ゼラチンゲル）、大面積化（サブミクロン柱状構造付与基板）の課題を解決したい。
- ・ライフサイエンス試薬販売企業、製薬企業、プラスチック・プリントヘッド・ディスプレイ等製造メーカーの技術による課題解決を期待している。

製品・サービス：

1. 間葉系幹細胞の品質管理，治療効果の予測
2. 細胞培養容器，細胞運搬容器

顧客：

大学・臨床検査会社・病院・細胞加工委託会社（CPCなど大規模細胞加工施設を持つ会社）等

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : 細胞培養用基板および
間葉系幹細胞の分化制御方法
- 出願番号 : 特願2019-062622
- 出願人 : 東京都公立大学法人
- 発明者 : 三好洋美、山崎雅史

- 発明の名称 : 間葉系幹細胞集団の
- 骨芽細胞分化ポテンシャルの予測方法
- 出願番号 : 特願2020-166138
- 出願人 : 東京都公立大学法人
- 発明者 : 三好洋美、藤江裕道、
山崎雅史、木戸秋悟

研究費獲得実績（技術開発・実用化関連）

- ・ 2011年-2012年 JST 研究成果最適展開支援プログラム A-STEP
- ・ 2012年-2013年 JST 研究成果最適展開支援プログラム A-STEP
- ・ 2015年-2019年 日本医療研究開発機構（AMED） PRIME
- ・ 2021年 JST 研究成果最適展開支援プログラム A-STEP

企業との連携（過去5年以内）

- ・ 共同研究：2社
- ・ 技術指導：4社

お問い合わせ先

東京都公立大学法人
産学公連携センター URAライン

T E L 042-677-2829

F A X 042-677-5640

e-mail ragroup@jmj.tmu.ac.jp