



地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所

国立研究開発法人理化学研究所

国立医薬品食品衛生研究所

令和5年6月2日

参考資料

(文部科学記者会、科学記者会、神奈川県政記者クラブ、川崎記者クラブ 同時送付)

ヒト間葉系間質／幹細胞の中からその虚血環境下での血管内皮増殖因子（VEGF）の分泌機能において主役を演じる細胞群を同定することに成功

～細胞加工製品の薬理効果に寄与する細胞群を特定するための画期的手法を開発～

概要

国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部の佐藤陽治部長（神奈川県立産業技術総合研究所非常勤研究員を兼務）及び三浦巧室長、地方独立行政法人神奈川県立産業技術総合研究所次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクトの河合純常勤研究員（理化学研究所生命医科学研究センター生命医科学大容量データ技術研究チーム客員主管研究員を兼務）及び理化学研究所生命医科学研究センター遺伝子制御回路研究チームの河野掌りサーチアソシエイト（研究当時）、並びに国立成育医療研究センター研究所の梅澤明弘所長らの研究グループは、ヒト間葉系間質／幹細胞（MSC）と呼ばれる細胞集団の中から、虚血環境における血管内皮増殖因子（VEGF）の分泌能に特に寄与する細胞群を同定しました。

ヒト MSC は、骨髄や脂肪組織などの多くの組織に存在する細胞で、「抗炎症作用」「血管新生作用」「組織修復作用」などを持つことに加え、多様な細胞種に分化する能力も持つことから、再生医療への臨床応用が期待されています。一方で、ヒト MSC は均質な細胞集団ではなく性質が異なる複数の細胞群から構成されていることから、ヒト MSC の不均質性が臨床応用での有効性の再現性に影響を与える可能性があると言われてきました。そのため、不均質な細胞集団の中から目的とする薬理効果に寄与する細胞群を特定する方法の開発が望まれています。

本グループは、ヒト MSC の不均質性を理解するために、1 細胞 RNA シーケンス法（scRNA-Seq 法）により、1 細胞レベルの遺伝子発現状態に基づいて MSC を分類し、不均質な細胞集団であるヒト MSC には、虚血培養環境下における VEGF の分泌に特に寄与する細胞群が含まれていることを見出しました。さらに、この細胞群は、*LRRC75A* という遺伝子がより強く発現している細胞によって構成されていることと、虚血によってヒト MSC から分泌される VEGF の量は *LRRC75A* 遺伝子の発現量によりコントロールされているこ

とを明らかにしました。VEGF は強力な血管新生作用があることが従来から知られています。従って本グループのこれらの成果から、*LRRC75A* 遺伝子の発現が高い細胞あるいはこれらの細胞を多く含む細胞群の存在量を確認しながらヒト MSC を培養すれば、虚血性疾患で血流が途絶えた組織において高い血管新生能を示すヒト MSC を効率的かつ再現性高く製造できるようになることも期待できます。

本研究成果は、不均質な細胞集団の中から、特定の薬理作用・生理作用に関わる「作用主体」や「有効成分」を規定する細胞群を同定することができることを示したものです。本研究で用いたアプローチは、幹細胞生物学や再生医療・細胞治療の分野において広く応用されることが期待されます。

本研究成果の詳細は、日本時間 2023 年 6 月 2 日（金）午前 9 時（英国夏時間 6 月 2 日（金）午前 1 時）に、英国科学雑誌“*STEM CELLS Translational Medicine*”に掲載されました。

研究の背景

ヒト間葉系間質/幹細胞（MSC）は、その機能が多様であることから、さまざまな疾患に対する細胞治療に既に用いられており、今後も更なる臨床応用が期待されています。

一方で、ヒト MSC は不均質な細胞集団であり、各疾患に対する細胞治療で実際に有効性を発揮している細胞がどのような特性（顔つき）を持つのが不明確なため、治療効果を保証する規格値を製造時に設定することが困難です。そこで本研究では、ヒト MSC の不均質性を理解するために、1 細胞レベルの遺伝子発現状態に基づいてヒト MSC の細胞集団を詳細に分類し、ヒト MSC の細胞集団内で特定の薬理機能に寄与する細胞群の特定を試みました。

研究の内容

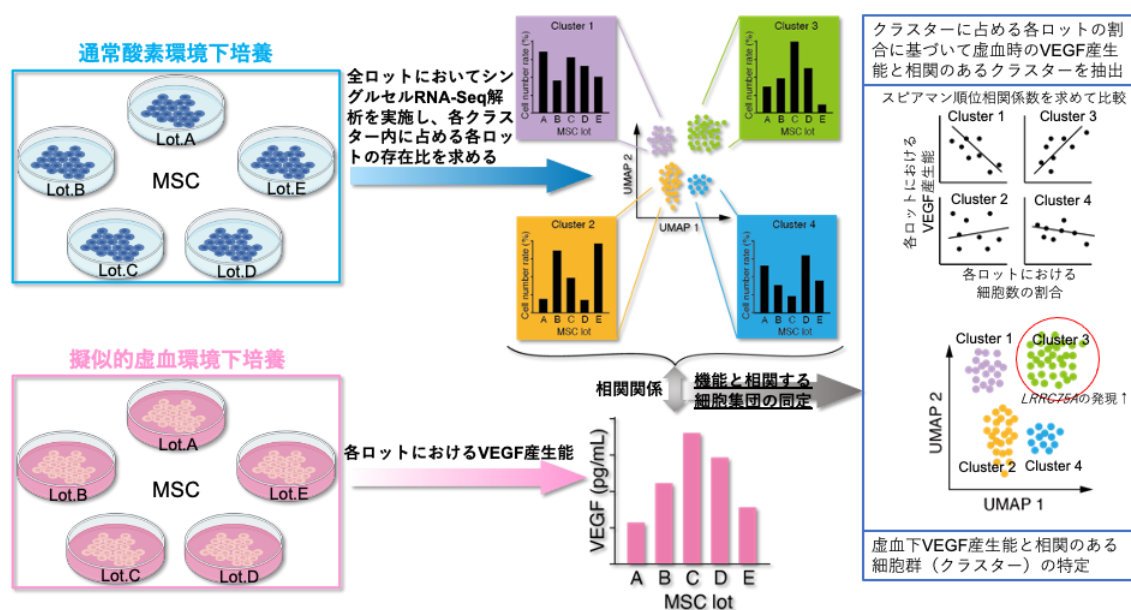
ヒト MSC の重要な機能の 1 つに、血管新生を促進する作用があります。この作用機序として、ヒト MSC から分泌される VEGF を中心としたさまざまな血管新生促進因子が、血管内皮細胞の伸張を誘導し、新しい血管の形成を促すことが知られています。

本研究では、ヒト MSC における VEGF 分泌能のドナー差やロット差による違いを明らかにするために、11 株の骨髄由来のヒト MSC（BM-MSC）を虚血条件下で培養し、VEGF 分泌能が株間で大きく異なることを見出しました。次に、1 細胞 RNA シーケンス法（scRNA-Seq 法）を用いて BM-MSC の不均質性を詳細に分類することにより、虚血下 BM-MSC 株間における VEGF 分泌能の差違と相関がある細胞群を同定することに成功しました。興味深いことに、この細胞群はエネルギー代謝に関する遺伝子が高発現している一方で、細胞外マトリックス関連遺伝子の発現が低下していることが示されたことから、この細胞群の細胞は高い活動性を持つ状態にあると推定されました。

また、同定された細胞群において、*LRRC75A* という遺伝子の発現が高い細胞が多く存在

していることが見出されたため、*LRRC75A* 遺伝子の発現抑制実験を実施したところ、虚血時に誘導された VEGF の分泌も並行して抑制されることが示されました。

以上の成果から、*LRRC75A* 遺伝子の発現が高い細胞の数あるいはこれらの細胞を多く含む細胞群の全 MSC 細胞集団に対する存在比をモニターすれば、ヒト MSC の虚血条件下での VEGF 分泌能の予測に役立つことが示唆されます。



本研究の概念図

scRNA-Seq 法による間葉系間質/幹細胞の不均質性評価に基づいた虚血下 VEGF 産生能を予測する細胞群の同定

研究の意義と展望

今回の研究成果は、採取部位や採取方法などが異なる複数のヒト MSC 株の中から、特定の薬理作用・生理作用をもつ細胞株を選択する場面で活用されることが期待されます。

また、高い薬理効果を示す細胞群を一定量以上含む細胞加工製品を再現性高く製造する方法としても、本研究で用いたアプローチは応用可能だと考えられ、再生・細胞治療で用いられる細胞加工製品の効率的かつ再現性の高い製法の開発に大きく貢献するものと期待されます。

資金情報

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題の支援を受けて行ったものです。

事業名： 神奈川県 先進異分野融合プロジェクト研究立案・推進事業

研究開発課題名： 細胞の特性理解と細胞医薬の品質評価に資する知見の創出

研究開発代表者：河合 純（理化学研究所 科技ハブ産連本部 予防医療・診断技術開発プログラム 副プログラムディレクター）

研究実施期間：令和2年度～令和3年度

事業名：神奈川県 科学技術イノベーション共創拠点推進事業

研究開発課題名：細胞の特性理解と細胞医薬の品質評価に資する知見の創出

研究開発代表者：粕川 雄也（理化学研究所 生命医科学研究センター チームリーダー）

研究実施期間：令和4年度～令和5年度

事業名：国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）再生医療実用化研究事業

研究開発課題名：「再生医療に資する細胞品質特性指標の探索法の開発」

研究開発代表者：河合 純（理化学研究所 科技ハブ産連本部 予防医療・診断技術開発プログラム 副プログラムディレクター）

研究実施期間：令和元年度～令和3年度

事業名：国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）再生医療実用化研究事業

研究開発課題名：「ヒト間葉系幹細胞を原材料とする再生医療等製品の臨床有効性に関する品質特性の探索・解析手法の開発と国際標準化に資する研究」

研究開発代表者：梅澤 明弘（国立成育医療研究センター研究所 所長）

研究実施期間：令和4年度～令和6年度

掲載誌情報

雑誌名：

STEM CELLS Translational Medicine

論文名：

Single-cell RNA-seq reveals *LRRC75A*-expressing cell population involved in VEGF secretion of multipotent mesenchymal stromal/stem cells under ischemia

著者：

Takumi Miura^{1,2,10}, Tsukasa Kouno^{3,10}, Megumi Takano¹, Takuya Kuroda¹, Yumiko Yamamoto³, Shinji Kusakawa¹, Masaki Suimye Morioka³, Tohru Sugawara^{2,4}, Takamasa Hirai¹, Satoshi Yasuda¹, Rumi Sawada¹, Satoko Matsuyama^{1,5}, Hideya Kawaji^{3,6}, Takeya Kasukawa³, Masayoshi Itoh³, Akifumi Matsuyama⁵, Jay W Shin^{3,7}, Akihiro Umezawa², Jun Kawai^{3,8}, Yoji Sato^{1,8,9*}

所属：

1. 国立医薬品食品衛生研究所 再生・細胞医療製品部
2. 国立成育医療研究センター研究所 再生医療センター
3. 国立研究開発法人 理化学研究所 生命医科学研究センター
4. 横浜市立大学大学院 生命医科学研究科
5. 地方独立行政法人 大阪府立病院機構 大阪はびきの医療センター
6. 公益財団法人 東京都医学総合研究所 ゲノム医学研究センター
7. Genomic Institute of Singapore, Agency for Science, Technology and Research, Singapore
8. 地方独立行政法人 神奈川県立産業技術総合研究所 次世代ライフサイエンス技術開発プロジェクト
9. 大阪大学大学院 薬学研究科
10. equal contributions

*責任著者

DOI 番号：10.1093/stcltm/szad029

お問い合わせ先

研究内容に関する問い合わせ先

国立医薬品食品衛生研究所

薬品部

部長 佐藤 陽治

TEL: 044-270-6600 (内線 1200) FAX: 044-270-6506

E-mail: yoji*nihs.go.jp

報道に関する問い合わせ先

神奈川県立産業技術総合研究所

研究開発部 地域イノベーション推進課

TEL: 044-819-2031 FAX: 044-819-2026

E-mail: rep-kenkyu*kistec.jp

理化学研究所

広報室 報道担当

TEL: 050-3495-0247

E-mail: ex-press*ml.riken.jp

(*を@に置き換えてください)