

課題番号	LS113
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)
実施状況報告書(平成 23 年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	糖尿病性潰瘍に対するハイブリッド型生体外増幅血管内皮前駆細胞による新しい血管再生治療の開発
研究機関・部局・職名	順天堂大学医学部 形成外科学講座・准教授
氏名	田中里佳

1. 当該年度の研究目的

研究代表者（田中）は、本技法を用いて糖尿病性マウスにおいては自己血管幹細胞を糖尿病環境から解放、再教育した結果、血管幹細胞数が正常マウス同様に数百倍にも増幅され、さらにその血管再生能が正常に戻り、糖尿病性潰瘍治療に対する有効性を世界で初めて突き止めた（投稿中）。しかしヒト末梢血中の細胞は本技法のみでは、細胞数の増幅と機能改善はまだ不十分であることが昨年の研究成果で分かった。そこで、angiogenic T cell 等（Hur J et al, 2007）が末梢血中 CD34 陽性細胞の分化を促進することが報告されている。このように血液中の accessory cell と CD34 陽性細胞をハイブリッド培養することにより更なる増幅能、細胞機能改善を図れないと考えた。本研究は糖尿病患者を対象とした Hybrid 型生体外培養増幅方法という新たな血管幹細胞治療の開発と臨床応用を目的とする。

平成 22 年度に健常人末梢血を用いたハイブリッド型無血清生体外培養増幅法の開発を行った。無血清生体外増幅培養法にて CD34 陽性細胞と共培養する CD34 陰性細胞集団の中から増幅効率をもっともよい細胞を同定し、ハイブリッド型無血清生体外増幅培養法を確立する予定であったが末梢血単核球のハイブリッド型無血清生体外増幅培養における結果と CD34 陰性細胞集団を分離培養した結果に差が認められなかったことから末梢血単核球を用いたハイブリッド型無血清生体外培養増幅法の開発を行った。本方法の利点は、CD34 陽性細胞、陰性細胞の分離操作を必要としないことから、臨床応用における手技とコストの負担が軽減できるメリットがある。平成 23 年度は、糖尿病患者におけるハイブリッド型無血清生体外増幅培養法の有効性を増幅効率、血管再生能力改善率にて評価し、糖尿病患者血管幹細胞の機能回復機序について調べることを目的とした。

2. 研究の実施状況

本年度は健常人ボランティアと糖尿病患者の末梢血単核球を用いたハイブリッド型無血清生体外増幅培養法の有効性を検証した。健常人と糖尿病患者から末梢血50ccを採取し、単核球を分離し1週間ハイブリッド型生体外増幅培養法にて培養を行ったところ末梢血細胞数は健常人で74±0.2%と糖尿病で68%±0.1%増幅した (p<0.05)。ハイブリッド増幅細胞数中の血管幹細胞数(CD34陽性細胞数)を調べたところ、その比率はハイブリッド増幅前に比べ増幅後では健常人で6.4倍、糖尿病患者で2.2倍に増加した(p<0.05)。また、ハイブリッド増幅前後の単核球血管再生機能を EPC Colony Forming Assay で検査したところ、ハイブリッド増幅後における健常人単核球血管再生能は12倍になり、糖尿病では22倍に高くなった。ハイブリッド増幅細胞の移植効果を検証するため下肢虚血モデルにハイブリッド増幅前後の細胞を移植し、下肢血流改善効果、血管再生効果と下肢生存率を評価したところハイブリッド増幅細胞を移植した群においては有意に高い移植効果を示した。以上の結果より健常人と糖尿病患者の末梢血単核球を用いたハイブリッド無血清生体外増幅培養法の有効性を証明することができた。末梢血単核球を用いたハイブリッド型無血清生体外増幅培養による細胞治療は、細胞を採血から簡単な分離操作で採取することができ、血管再生能、移植効果を高めた細胞を移植できるため患者に対する身体的、経済的負担を最小限にして効果を最大限にした画期的な新しい細胞治療法である。今後は本治療法の特許申請、論文化を経て、臨床研究を開始する予定である。ハイブリッド型無血清生体外増幅培養法による糖尿病患者血管幹細胞の機能改善の機序については現在網羅的遺伝子検査を行い解析を行っている。

3. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計 6 件
計 8 件	<p>① Fukui T, Kawaguchi A, Miyasaka M, Tanaka R. Liposome encapsulated hemoglobin accelerates skin wound healing in mice. J of Artificial Organs. 36:2.2011</p> <p>② Fukui T, Kawaguchi A, Takekoshi S, Miyasaka M, Tanaka R. Liposome-encapsulated hemoglobin accelerates skin wound healing in mice. Artificial Organs. 35:187.2011</p> <p>③ Tanaka R, Imagawa K, Fukui T, Miyasaka M, Asahara, T. Efficacy of G-CSF mobilized autologous peripheral blood EPC transplant for non-healing diabetic foot patients. Plast Reconstr Surg. 127: 82. 2011.</p> <p>④ 饗場恵美子(順天堂大学 形成外科), 田中里佳, 名取悠平, 古元将和, 堀口雅敏, 松村崇, 松田倫史, 松本茂, 石原久子, 林礼人, 小室裕造, 水野博司「美的乳房再建術 美容面に配慮した乳房再建における我々の工夫」 日本美容外科学会会報(0288-2027)33 巻 4 号 Page248(2011.12)</p> <p>⑤ 田中里佳(順天堂大学 医学部形成外科講座), 増田治史, 伊藤理恵, 小堀みちる, 花野秀行, 有田佳代子, 藤村聡, 浅原孝之, 水野博司「糖尿病患者に対する生体外増幅・新血管再生治療法による組織再生効果」 日本創傷治癒学会プログラム・抄録集 41 回 Page42(2011.12)</p> <p>⑥ 松本茂(順天堂大学 医学部形成外科学講座), 田中里佳, 築山ゆり, 有田佳代子, 藤村聡, 田畑泰彦, 水野博司「塩基性線維芽細胞増殖因子徐放化ゼラチンシートを用いたマウス皮膚潰瘍モデルに対する有効性」 日本創傷治癒学会プログラム・抄録集 41 回 Page39(2011.12)</p>
	(掲載済み一査読無し) 計 1 件
	<p>1. 田中里佳, 宮坂宗男, 浅原孝之 【創傷治療の最前線】新しい治療法 糖尿病性潰瘍に対する最新治療 血管内皮前駆細胞移植の現状と可能性 医学のあゆみ(0039-2359)237 巻 1 号 Page146-150(2011.04)</p>
	(未掲載) 計 1 件
	<p>1. Tanaka R, Komoto M, Mizuno H. Skin perfusion press measurements-potentially the technique for assessing tissue viability in the distal foot Journal of Wound Tecnology. (in press)</p>

様式19 別紙1

<p>会議発表 計 13 件</p>	<p>専門家向け 計 11 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 田中里佳 「難治性糖尿病性潰瘍患者に対する自己末梢血管内皮前駆細胞移植両方の有効性」 徳島市(あわぎんホール) 平成 23 年 4 月 13 日～15 日 第 54 回日本形成外科学会総会・学術集会 2. 田中里佳 「EFFICACY OF G-CSF MOBILIZED AUTOLOGOUS PERIPHERAL BLOOD EPC TRANSPLANT FOR NON HEALING DIABETIC FOOT PATIENTS」 アメリカ ケンタッキー(ルイビル) 平成 23 年 4 月 28 日～30 日 第 55 回米国形成外科学会基礎学術集会 3. 田中里佳 「西湘フットケアを考える会」発足による地域連携の円滑化とフットケアの効果 横浜 平成 23 年 5 月 13 日～14 日 第 3 回日本下肢救済・足病学術集会 4. 田中里佳 「Efficacy of Micro-Focused Ultrasound for Brow Lift, Facial Skin Contour and Texture on Japanese Patient」カナダ バンクーバー 平成 23 年 5 月 22 日～27 日 16th Congress of International Confederation for Plastic Reconstructive and Aesthetic Surgery 5. 田中里佳 「糖尿病性潰瘍と抹消動脈疾患患者に対するフットウェアの留意点 ～装具外来の経験を経て～」札幌 平成 23 年 7 月 8 日～9 日 第 3 回日本創傷外科学会総会・学術集会 6. 田中里佳 ポスター発表「血管細胞(EPC)における組織再生治療はここまで来た！」東京 平成 23 年 10 月 6 日～7 日 第 20 回日本形成外科学会基礎学術集会 7. Shigeru Matsumoto, MD, Rica Tanaka, MD, PhD, Yuri Tsukiyama, MD, Kayoko Arita, PhD, Satoshi Fujimura, PhD, Yasuhiko Tabata, PhD, Hiroshi Mizuno, MD, PhD The efficacy of using basic fibroblast growth factor-impregnated gelatin sheet for the mouse ulcer skin model wound healing. 平成 23 年 11 月 2 日～4 日 Japan-China Congress on Plastic Surgery The 21st 福岡 8. 田中里佳 「糖尿病患者に対する生体外増幅・新血管再生治療法による組織再生効果」名古屋 平成 23 年 12 月 5 日 第 41 回日本創傷治癒学会 9. 松本茂、田中里佳、築山ゆり、有田佳代子、藤村聡、田畑泰彦、水野博司 「塩基性線維芽細胞増殖因子徐放化ゼラチンシートを用いたマウス皮膚潰瘍モデルに対する有効性」 名古屋 平成 23 年 12 月 5 日～6 日 第 41 回創傷治癒学会 10. 田中里佳 「糖尿病性潰瘍患者に対する新・血管再生治療の開発」 仙台(東北大学) 平成 24 年 1 月 19 日 東北大学形成外科学教室 11. 田中里佳 「透析足潰瘍患者の施設間クリニカルパス作成における経験」大阪 平成 24 年 3 月 17 日～18 日 第 10 回日本フットケア学会年次学術集会 <p>一般向け 計 2 件</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 田中里佳 「糖尿病患者さんの足と命を救う最先端治療フットケア～再生治療について」 第 48 回 順天堂大学医学部附属浦安病院市民公開講座 順天堂大学医学部附属浦安病院 平成 24 年 2 月 25 日 2. 田中里佳 「糖尿病性潰瘍患者に再生治療～現在と今後の展望」 第 3 回多摩フットケアセミナー 立川市 平成 24 年 2 月 3 日
<p>図書 計 1 件</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 田中里佳 「血管再生治療—現状から未来を展望する—」再生医療シリーズ 診断と治療社 2012 年 1 月 11 日 232p ISBN978-4-7878-1871-3

様式19 別紙1

<p>産業財産権 出願・取得状 況</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>www.juntendo.ac.jp/graduate/laboratory/labo/saisentan/index.html</p>
<p>国民との科 学・技術対話 の実施状況</p>	<p>国民もみなさんに研究内容を知っていただくため市民講座、セミナーとシンポジウムを開催いたしました。</p> <p>1)市民講座:田中里佳 「糖尿病患者さんの足と命を救う最先端治療フットケア～再生治療について」 第48回 順天堂大学医学部附属浦安病院市民公開講座。順天堂大学医学部附属浦安病院 平成24年 2月25日</p> <p>2)セミナー:田中里佳 「糖尿病性潰瘍患者に再生治療～現在と今後の展望」 第3回多摩フットケアセミナー 立川市 平成24年2月3日</p> <p>3) シンポジウム:最先端次世代研究支援プログラムキックオフシンポジウム「キックオフシンポジウム報 告会～疾患治療に向けた新・開発研究～」 順天堂大学 平成23年10月15日</p>
<p>新聞・一般雑 誌等掲載</p> <p>計0件</p>	
<p>その他</p>	

4. その他特記事項

実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	119,000,000	51,014,000	0	67,986,000	
間接経費	35,700,000	15,304,200	0	20,395,800	
合計	154,700,000	66,318,200	0	88,381,800	0

2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	48,812,503	0	0	48,812,503	43,584,827	5,227,676	0
間接経費	14,643,751	0	0	14,643,751	0	14,643,751	0
合計	63,456,254	0	0	63,456,254	43,584,827	19,871,427	0

3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	30,430,214	パラフィルム4 ``125Ft 他
旅費	2,414,700	4/12~4/15 徳島県、第54回日本形成外科学会 他
謝金・人件費等	10,036,820	人件費 岡田 佳世子 他
その他	703,093	資材、設備機器運費用
直接経費計	43,584,827	
間接経費計	0	
合計	43,584,827	

4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
HSオールインワン蛍 光顕微鏡	BZ-9000	1	12,701,850	12,701,850	2011/6/7	順天堂大学 形 成外科学講座
ダイレクトヒートCO2イ ンキュベーター310	CO2(T/Cセンサー) Thermo Forma	1	1,811,775	1,811,775	2011/6/14	順天堂大学 形 成外科学講座
小型冷却遠心機	CF16RX II	1	661,500	661,500	2011/6/24	順天堂大学 形 成外科学講座