

生物・医学研究用

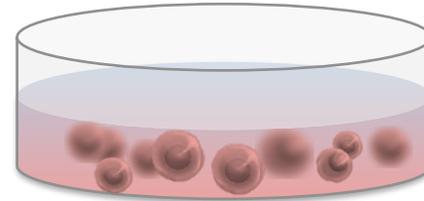
ヒト脂肪幹細胞培養上清 α ADCM

資料提供：点滴療法研究会 柳澤厚生

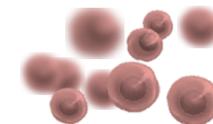
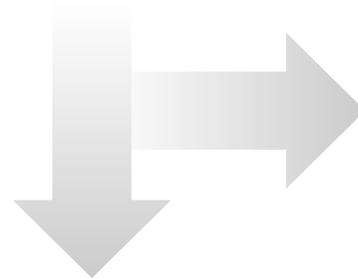
αADCMの製造工程



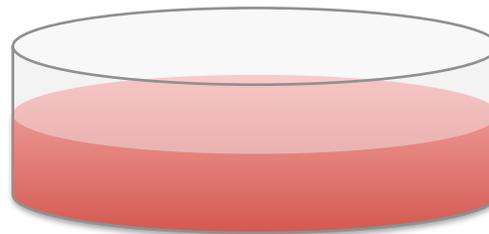
脂肪組織



動物由来成分不含完全無血清培地
を用いた細胞培養



間葉系幹細胞



培養上清 = ADCM

αADCMの特徴

純国産の培養上清

- 日本人の脂肪組織由来
- 日本で開発、製造された培地を使用
- 日本で製造

高い安全性

- 完全無血清培地を使用
- 全製造工程から動物抽出物を排除
- 厳しいドナー選定基準
- ウィルスチェックとマイコプラズマチェックを実施

種々の研究に好適

- 間葉系幹細胞由来成長因子やサイトカインの研究
- エクソソームの研究
- 細胞増殖への影響の研究
- 疾病モデル動物への効果など

研究における注意点

インスリン

- α ADCMは、約 0.12 U / mL のインスリンを含有する。
- 動物に投与する際、皮下注射や筋肉内注射では特に注意する必要はないが、静脈内注射や点滴などの血管内投与や体腔内投与を行う際は、血糖値の低下に十分気をつけること。
- 血管内、体腔内への投与前後で血糖値をモニターし、低血糖に対して適切な処置を施すこと。

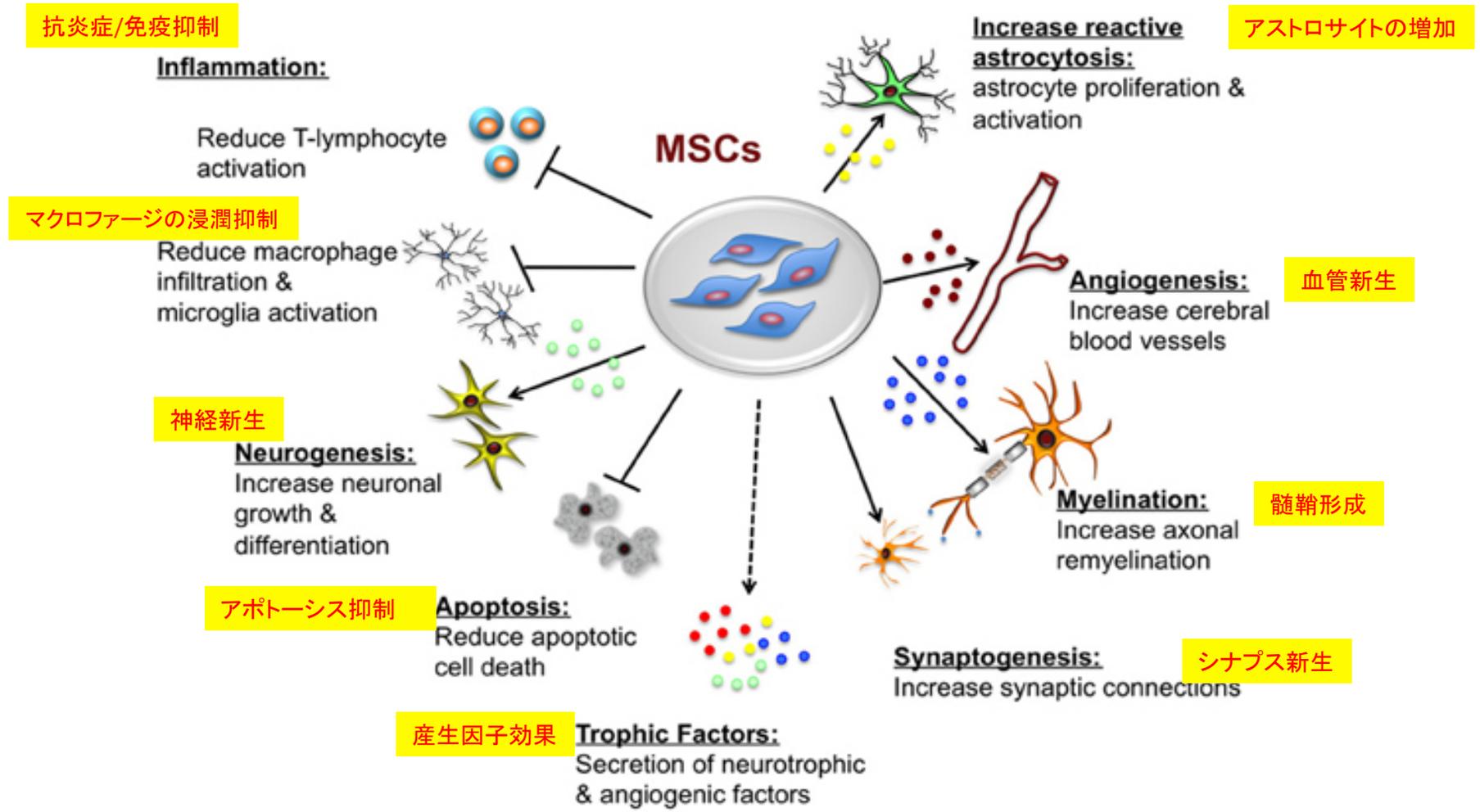
ゲンタマイシン

- α ADCMは、アミノグリコシド系抗生物質ゲンタマイシンを含有する。
- 研究に用いる動物や細胞が本抗生物質にアレルギーや感受性を示す場合は、使用を避けること。

温度管理

- 解凍後はなるべく速やかに使用すること。
- 凍結融解の繰り返しは避けること。
- 使用前の温度の上昇は避けること。

間葉系幹細胞の分泌因子がもたらす効果



培養上清を用いた研究例

(α ADCMを用いた研究例ではありません)

研究: アトピー性皮膚炎への効果

Ann Dermatol Vol. 24, No. 2, 2012

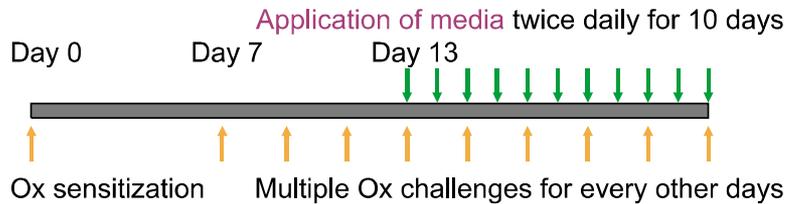
<http://dx.doi.org/10.5021/ad.2012.24.2.181>

ORIGINAL ARTICLE

The Effect of Adipose-Derived Stem Cell-Cultured Media on Oxazolone Treated Atopic Dermatitis-Like Murine Model

Hae-Jin Lee, M.D., Minyoung Jung, M.S., Jae-Hong Kim, M.D., Na Young Yoon, M.D., Eung Ho Choi, M.D., Ph.D.

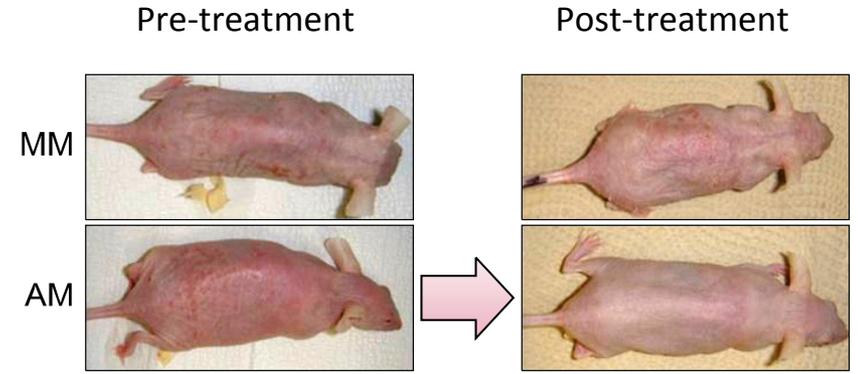
Department of Dermatology, Yonsei University Wonju College of Medicine, Wonju, Korea



Make atopic dermatitis: Topical treatment with 60 μ l of 5% oxazolone (Ox) for multiple times.



30 μ l of ADMSC conditioned medium (AM) topically applied twice a daily for 10 days



MM: Minimal Essential Medium
AM: Adipose-Derived Stem Cell-Conditioned Medium

AMの患部への塗布により

- 表皮のバリア機能の改善
- ケラチノサイトへの分化促進
- 抗菌ペプチド発現促進

研究: 急性肺障害に対する効果

Article

Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Induces Neutrophil Apoptosis Associated with Inhibition of the NF- κ B Pathway in Endotoxin-Induced Acute Lung Injury

Vincent Yi-Fong Su^{1,2,3}, Chi-Shiuan Lin^{4,5}, Shih-Chieh Hung^{6,7,8,9,10} and Kuang-Yao Yang^{3,11,12,*}

Int. J. Mol. Sci. **2019**, *20*, 2208; doi:10.3390/ijms20092208

Intratracheal injection of lipopolysaccharide (LPS) to mice

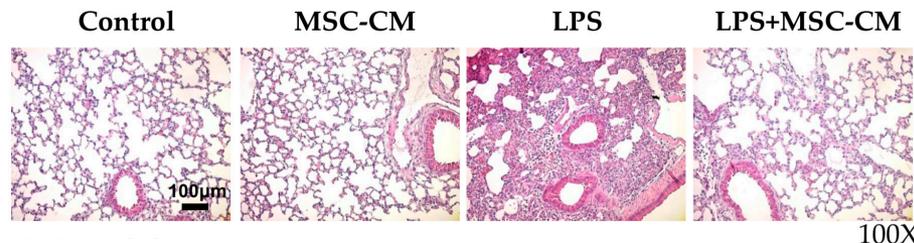
↓
4 hr

↓
Intravenous injection of MSC-Conditioned Medium (CM)

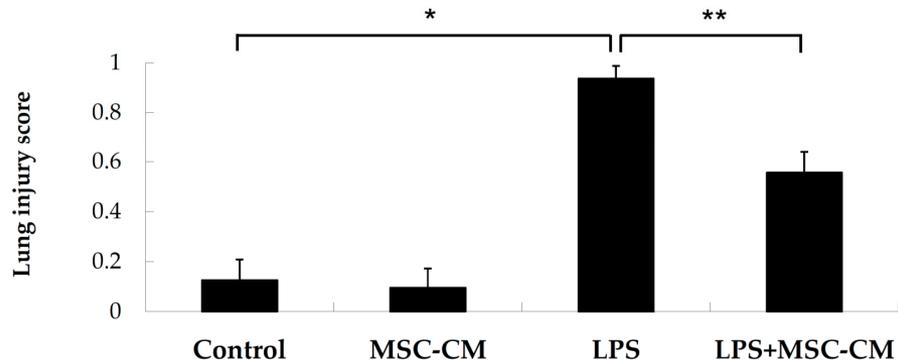
↓
24 hr

↓
Collection of bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and lung tissues

A. HE staining



B. Lung injury score



- エンドトキシン誘導性急性肺障害の緩和
- NF- κ B経路抑制
- 好中球のアポトーシス促進

研究: OA患者由来滑膜細胞への抗炎症作用

Ragni et al. *Stem Cell Research & Therapy* (2019) 10:109
<https://doi.org/10.1186/s13287-019-1215-z>

Stem Cell Research & Therapy

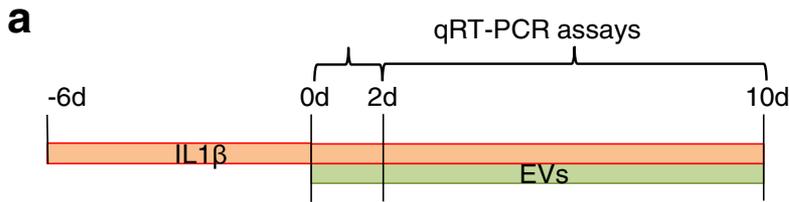
RESEARCH

Open Access

Interaction with hyaluronan matrix and miRNA cargo as contributors for in vitro potential of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles in a model of human osteoarthritic synoviocytes



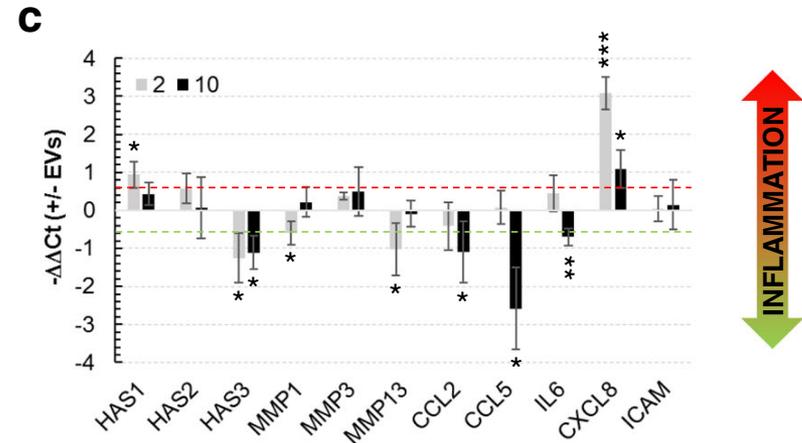
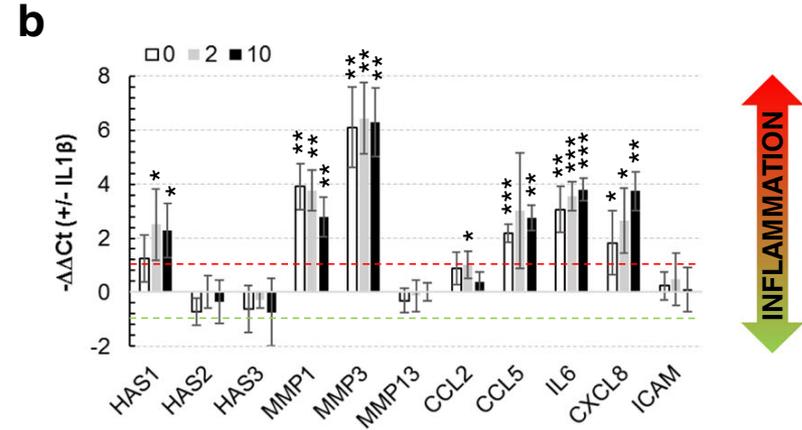
Enrico Ragni¹, Carlotta Perucca Orfei¹, Paola De Luca¹, Gaia Lugano¹, Marco Viganò¹,
 Alessandra Colombini¹, Federico Valli², Daniele Zacchetti³, Valentina Bollati⁴ and Laura de Girolamo¹



Treat fibroblast-like synoviocytes (FLSs) from osteoarthritis (OA) patients with (or without) human adipose-derived mesenchymal stem cells (ASC-EVs)



Measure expression of inflammation and OA-related genes



- EVs are able to reduce secretion of chemokines and cytokines under inflammation stimuli.

研究: 炎症性疼痛への効果



Cellular and Molecular Biology

E-ISSN : 1165-158X / P-ISSN : 0145-5680

www.cellmolbiol.org

CMB Association of Publishers

Original Research

Long term treatment by mesenchymal stem cells conditioned medium modulates cellular, molecular and behavioral aspects of adjuvant-induced arthritis

Vida Nazemian¹, Homa Manaheji^{1,2}, Ali Mohammad Sharifi³, Jalal Zaringhalam^{1,2*}

Doi: <http://dx.doi.org/10.14715/cmb/2018.64.2.5>

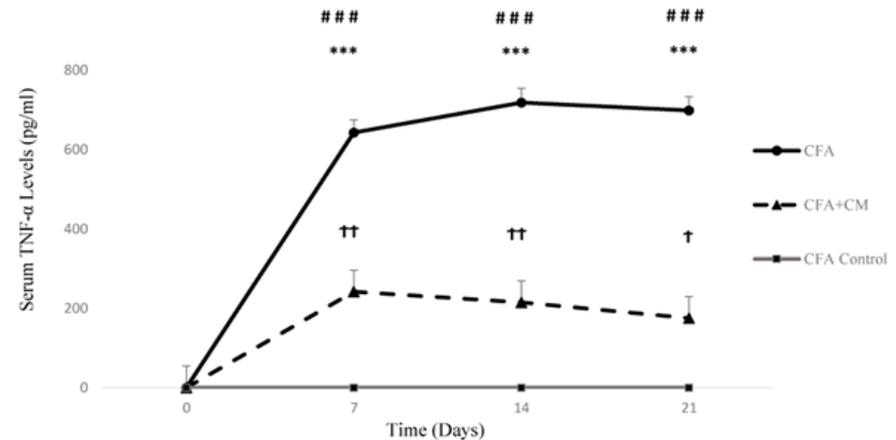
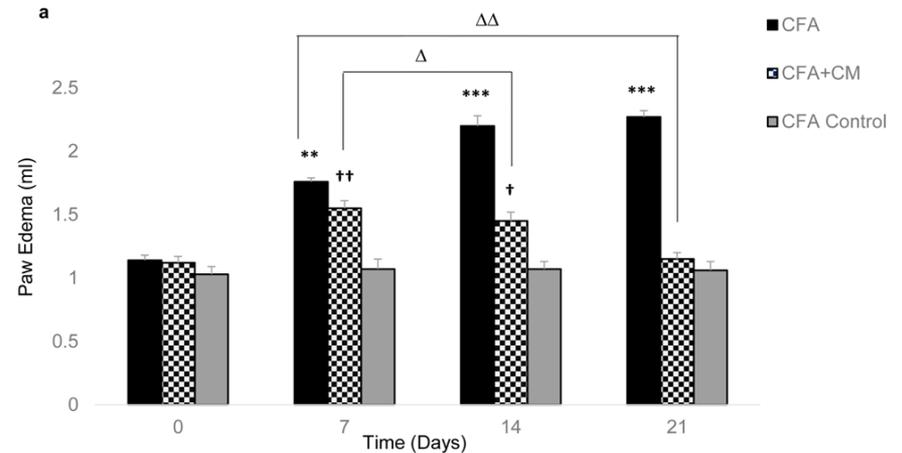
炎症性疼痛モデルラット
(Complete Freund's adjuvant (CFA) を
後肢に皮下注射)



ラット骨髄由来間葉系幹細胞から調整
された培養上清 (CM) を21日間腹腔内
投与

CM投与により

- 浮腫形成が抑制された
- 熱痛覚過敏が抑制された
- 血漿中の炎症性サイトカインTNF- α の濃度上昇が抑制された



研究:リュウマチ性関節炎への効果

SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium Reduces Disease Severity and Immune Responses in Inflammatory Arthritis

Received: 15 August 2017
Accepted: 5 December 2017
Published online: 21 December 2017

Alasdair G. Kay^{1,3}, Grace Long², George Tyler², Andrei Stefan³, Stephen J. Broadfoot⁴, Anna M. Piccinini⁵, Jim Middleton⁶ & Oksana Kehoe³

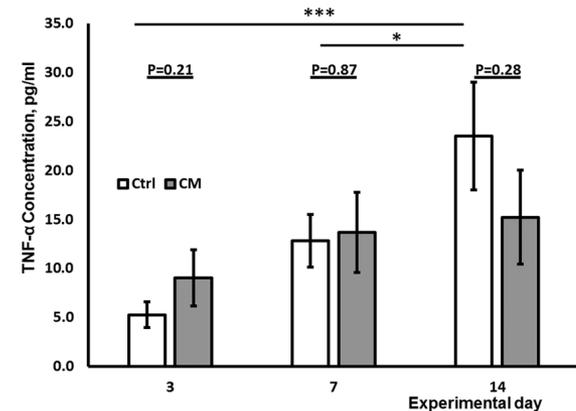
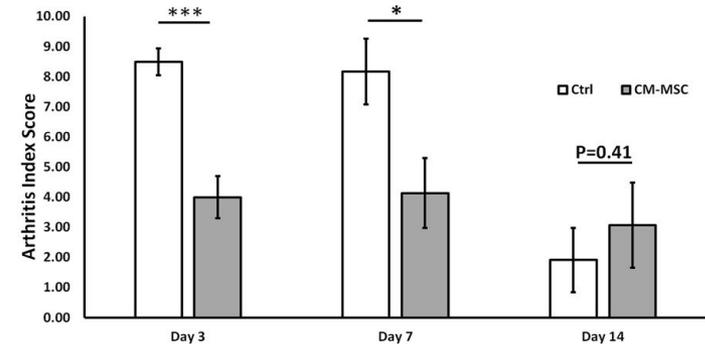
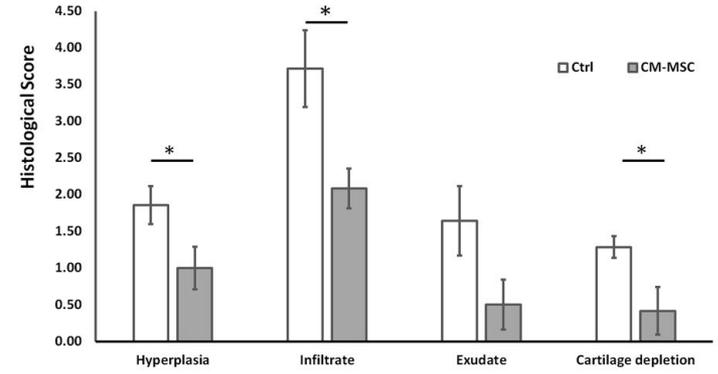
Chemokine C-X-C ligand 1 (CXCL1) をマウスの膝関節に投与して、抗原誘導性関節炎モデルマウスを作成



CXCL1投与1日後に、マウス間葉系幹細胞由来培養上清 (CM-MSC) を関節内投与

CM投与により

- 組織学的スコアの改善
- 関節炎インデックススコアの改善
- 血漿中の炎症性サイトカインTNF- α の濃度上昇の抑制



研究: 欠損した歯周組織の再生促進

TISSUE ENGINEERING: Part A
Volume 23, Numbers 9 and 10, 2017
© Mary Ann Liebert, Inc.
DOI: 10.1089/ten.tea.2016.0274

termis.
Tissue Engineering
& Regenerative Medicine
International Society

ORIGINAL ARTICLE

Conditioned Medium from Periodontal Ligament Stem Cells Enhances Periodontal Regeneration

Mizuki Nagata, DDS,¹ Kengo Iwasaki, DDS, PhD,² Keiko Akazawa, DDS,¹ Motohiro Komaki, DDS, PhD,² Naoki Yokoyama, PhD,³ Yuichi Izumi, DDS, PhD,¹ and Ikuo Morita, PhD⁴

ヒト歯根膜幹細胞 (periodontal ligament stem cells (PDLSCs)) を用いて培養上清を調整 (PDLSC-CM)

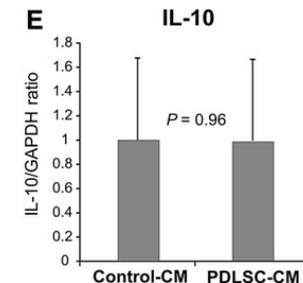
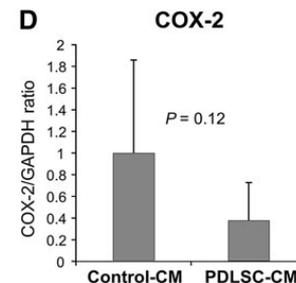
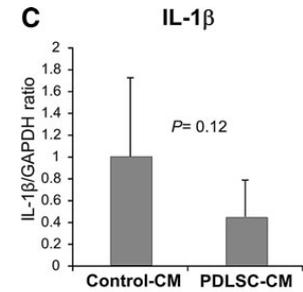
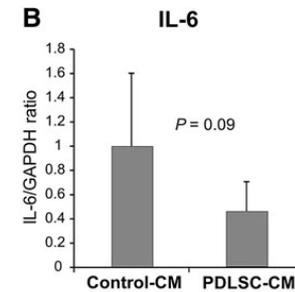
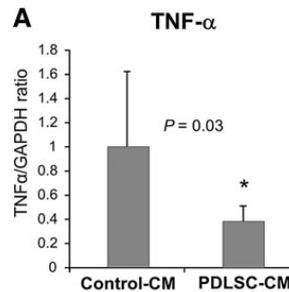
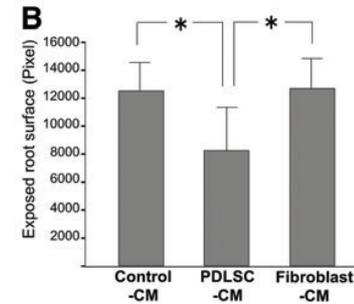
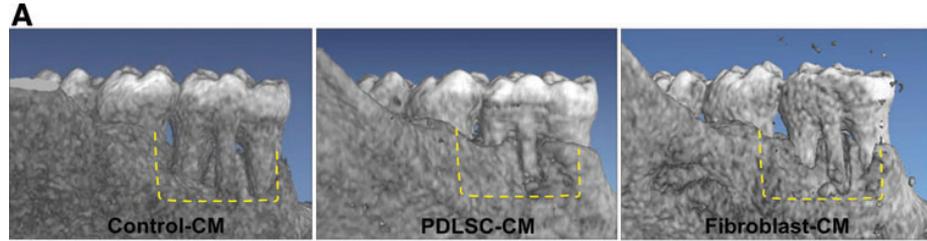


外科手術的に歯周組織を欠損させたモデルラットを作成



コラーゲンスポンジにPDLSC-CMを浸透させたものを欠損部位に移植し、フィブリングルーでカバー

- CM濃度依存的に欠損部位の組織再生促進
- 炎症性サイトカインの産生抑制
- マクロファージ細胞株RAWにおける炎症性サイトカインTNF- α の産生減少



研究: 女性型脱毛症

International Journal of
Dermatology

Pharmacology and therapeutics

Clinical use of conditioned media of adipose tissue-derived stem cells in female pattern hair loss: a retrospective case series study

Hyoseung Shin¹, MD, Hyeong Ho Ryu², MD, Ohsang Kwon², MD, PhD, Byung-Soon Park^{3,*}, MD, PhD, and Seong Jin Jo^{1,*}, MD, PhD

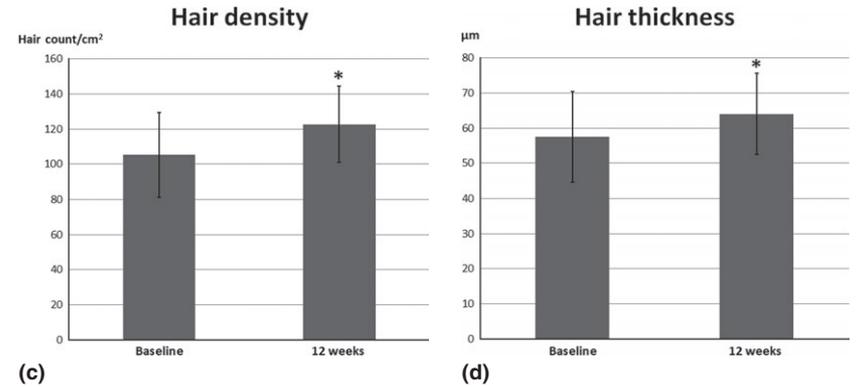
International Journal of Dermatology 2015, **54**, 730–735

Commercial ADSC-CM product AAPETM
(now known as NGALTM) (Prostemics
Research Institute, Sungnam, South Korea)



週に一度、12週に渡り、micro-needle roller
を用いてADSC-CMを頭皮に使用

- Hair density increased from 105.4 to 122.7 hairs/cm² ($P < 0.001$)
- Hair thickness increased from 57.5 μm to 64.0 μm ($P < 0.001$)
- None of the patients reported severe adverse reactions



使用方法例

塗布

1. 凍結保存されている α ADCMを、室温もしくは37°Cを上限とした温度帯で解凍
2. 解凍後、泡立たないように転倒混和
3. 適量を皮下に塗布（必要に応じてクリームなどの基剤と混合）

皮下・筋肉内注射

1. 凍結保存されている α ADCMを、室温もしくは37°Cを上限とした温度帯で解凍
2. 解凍後、泡立たないように転倒混和
3. シリンジで適量を吸い取り、皮下や筋肉内に注射

点滴

1. 凍結保存されている α ADCMを、室温もしくは37°Cを上限とした温度帯で解凍
2. 解凍後、泡立たないように転倒混和
3. ブラント針（ノンベル針）等を用いてシリンジに適量を吸い取る
4. 針を外し、孔径 0.2 μm のシリンジ用フィルターを装着
5. フィルターの他方に適切な注射針を装着
6. フィルターを通しながら、 α ADCMを直接点滴バッグに注入し、点滴液*と混和
（* 例：5% ブドウ糖注射液）
7. 動物に点滴**

（**： α ADCMにはインスリンが含まれているため、点滴中および点滴後の血糖値に気をつけること。
必要に応じてブドウ糖液を注射するなどの措置を取ること。）