

# 自体脂肪由来の間充質幹細胞療法

## 幹細胞診所（SFC）の紹介



医療法人社団 みき会  
サンフィールドクリニック

医療法人  
Sunfield Clinic

# 诊所概要

公司名称： 医疗法人 MIKI会 (SUNFIELD CLINIC)

Confidential

所在地： 〒135-0064 东京都江东区青海2-4-32 TIME24大楼

创立： 2008年

业务内容： 干细胞和干细胞因子的全身回输以及局部注射



培养中心为乐敦制药所有

19楼 (研究所)

1楼 干细胞治疗中心

旁边 (细胞加工设施 : CPC)



诊所设立于2008年，是日本最早进行干细胞治疗的诊所，也是日本接受干细胞治疗最多的诊所，治疗人数达到4000人以上。

乐敦制药作为特定细胞加工物生产厂家<sup>※1</sup>已取得相关许可并运行设施。  
用严格的标准管理一系列生产以及质量管理工艺。



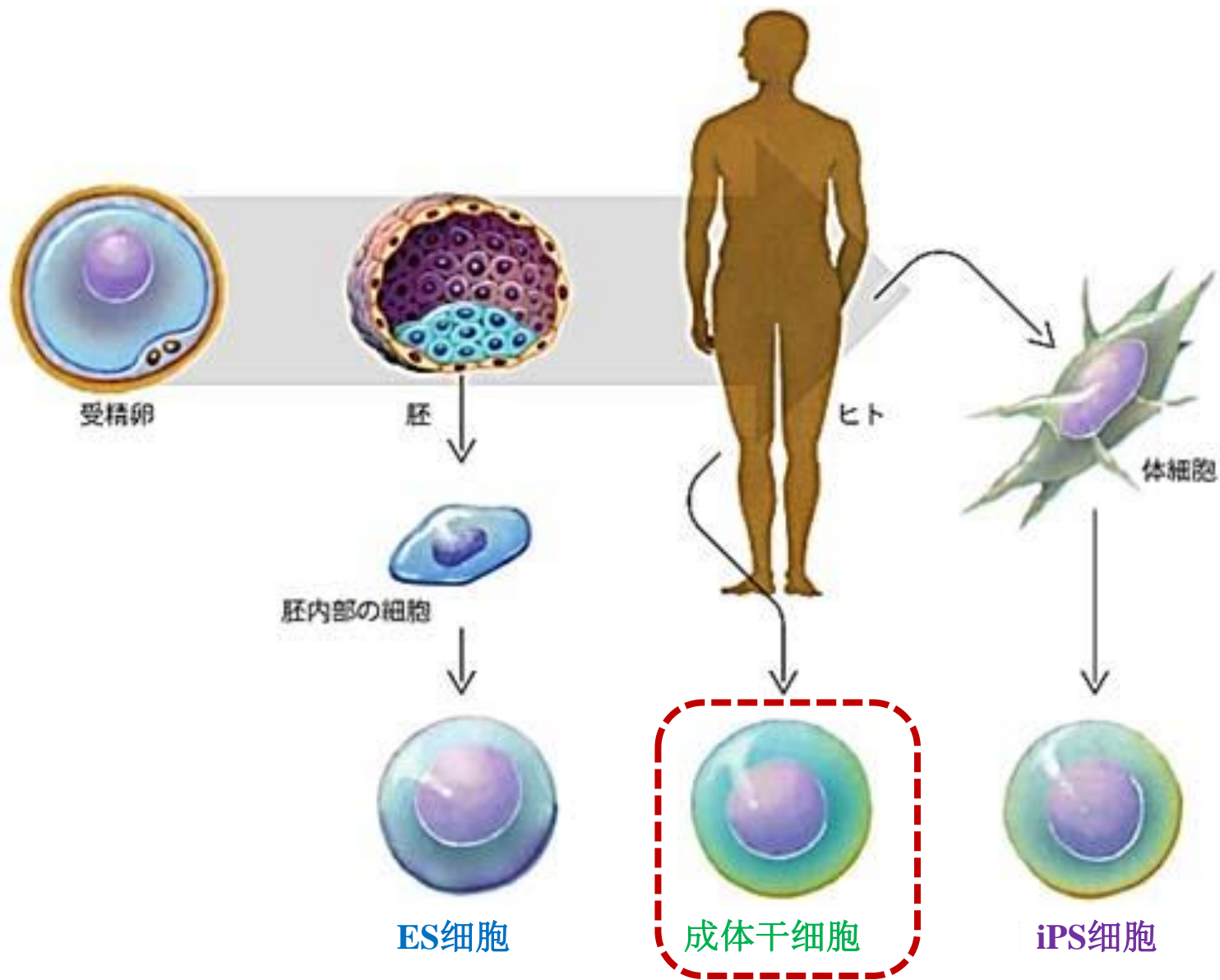
- ✓ 国内最大规模的培养加工设施（CO<sub>2</sub>恒温箱54台）
- ✓ 培养室以有人环境（4名）保证等级10,000的洁净度
- ✓ 以人体和物品的one-way 进行动线设计
- ✓ 实施了主要仪器（恒温箱、冷冻储存器、各操作区域）的多点监控
- ✓ 根据职务和职责设定了进出权限
- ✓ 设置了可对应大约4万根软管的自动供应型液氮罐

**乐敦制药的干细胞是日本厚生省指定的唯一的干细胞药品化的干细胞，也是日本厚生省指定的唯一的治疗新冠病毒重症肺炎的干细胞。**



# 关于干细胞类型和差异

# 干细胞类型



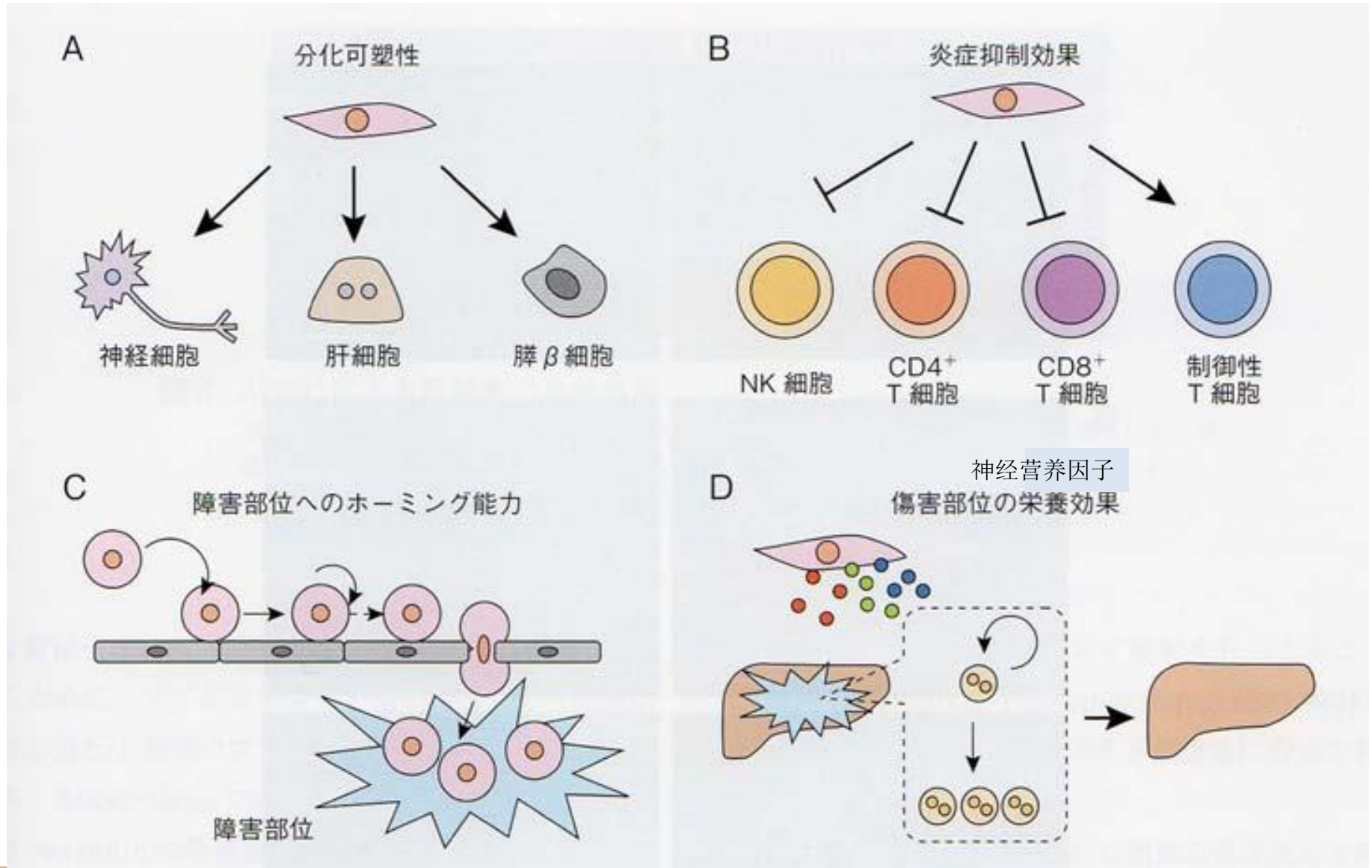
# 比较干细胞类型

	胚胎干细胞 (ES细胞)	iPS细胞	间充质干细胞
存在于成人体内	没有	没有	有
增殖能力	有	有	有
分化能力	有	有	有
分化潜在能力	多分化能力	多分化能力	有限
来源(原细胞的存在场所)	胚泡中 细胞快块	体内 分化细胞	骨髓, 脂肪和脐带 等
临床应用中的课题(致癌性)	肿瘤(畸胎瘤) 容易转变	瘤 容易转变	没有
伦理道德问题	有 (使用受精卵)	没有	没有

参考: Celling Technology (部分修改)



# 脂肪来源的间充质干细胞具有的能力



# 干细胞归巢效应

离开身体的移动效果，这是特定生理学现象所需要的。  
输入到体内的干细胞可以自动找到需要再生的位置。

## 1. 释放和注入

间充质干细胞离开其周围并进入外周循环系统。  
培养的干细胞通过静脉输入，血管内给药。

## 2. 循环

它通过淋巴和外周血到达归巢部位。

## 3. 粘着

它粘附于血管内皮。

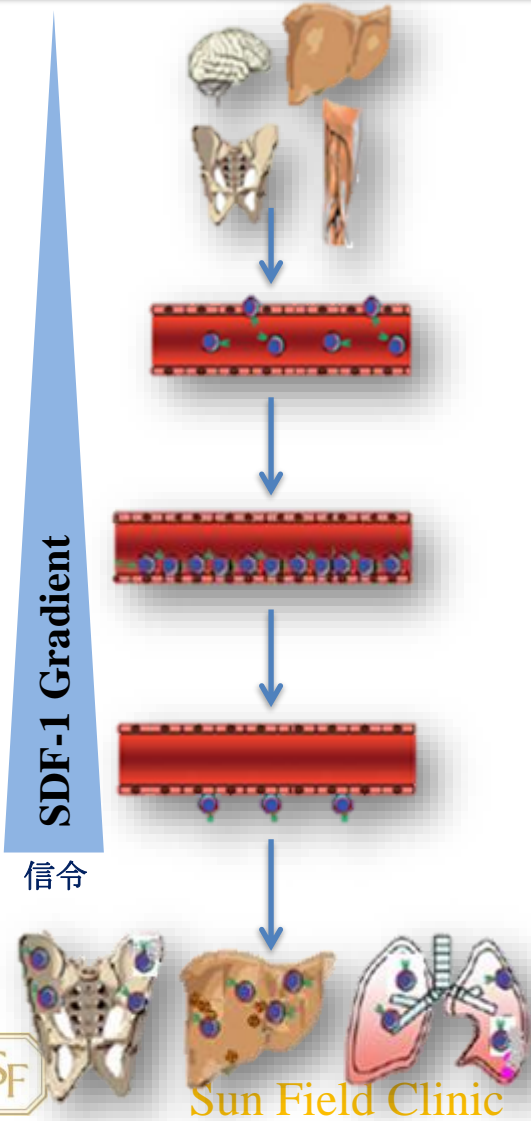
## 4. 归巢(迁移)

它侵入细胞组织。

## 5. 植入/蔓延(3-4小时)

增殖

## 6. 靶细胞分化(3-4个月)





# 间充质干细胞有效性的疾病

分组	疾病
免疫相关疾病	类风湿关节炎
	特应性皮炎
	炎症性肠病
	GvHD
	免疫抑制
	多发性硬化症
	红斑狼疮
Sjögren综合症	
中枢神经系统疾病	阿尔茨海默氏病
	肌萎缩侧索硬化症
	帕金森病
	脊髓损伤
代谢紊乱	1型糖尿病
	2型糖尿病
循环系统疾病	脑疾病
	心脏衰竭
	肢体缺血
	肝病
肾病	急性肾损伤
痛	慢性炎症性疼痛
	神经性疼痛
不孕不育	

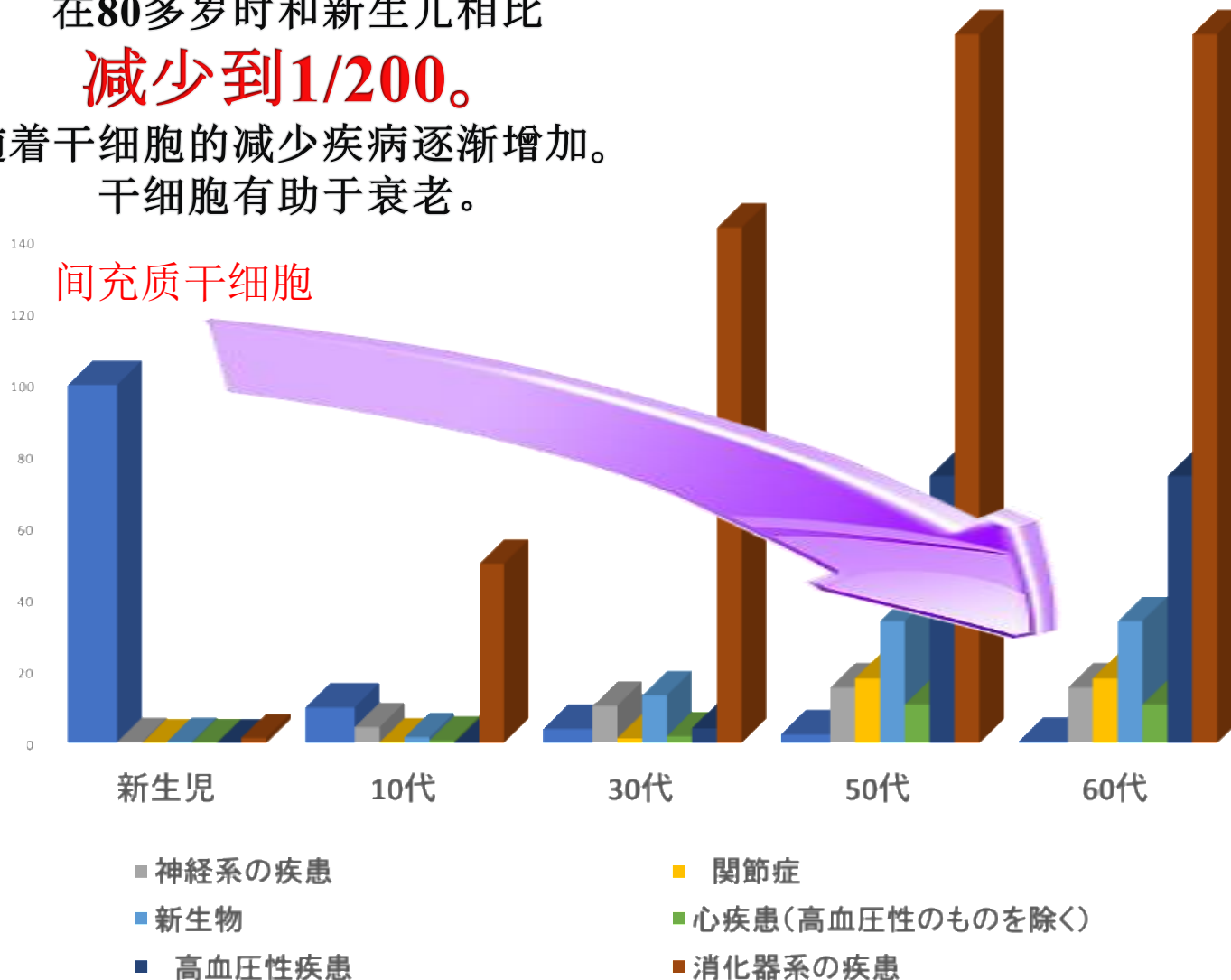


# 衰老与干细胞的关系

骨髓中组织干细胞的数量  
在80多岁时和新生儿相比

**减少到1/200。**

随着干细胞的减少疾病逐渐增加。  
干细胞有助于衰老。



资料来源: Caplan, AI (2007年)。Journal of cellular physiology, 213(2)、341-7. 改编自  
改编自e-stat 政府统计 (截至2008年10月的疾病患者人数)



# 脂肪来源的间充质干细胞的安全性

# 培养基的安全性

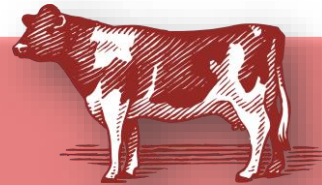
来自Sunfield Clinic的细胞培养液是  
完全不含人体和动物成分的（sf-DOT）。

完全无血清培养基

SFC : sf-DOT

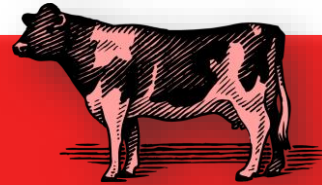


无血清培养基



去掉动物血清中的蛋白质

血清培养基



动物血清

# 血清和无血清培养基之间的差异

## 血清介质的作用

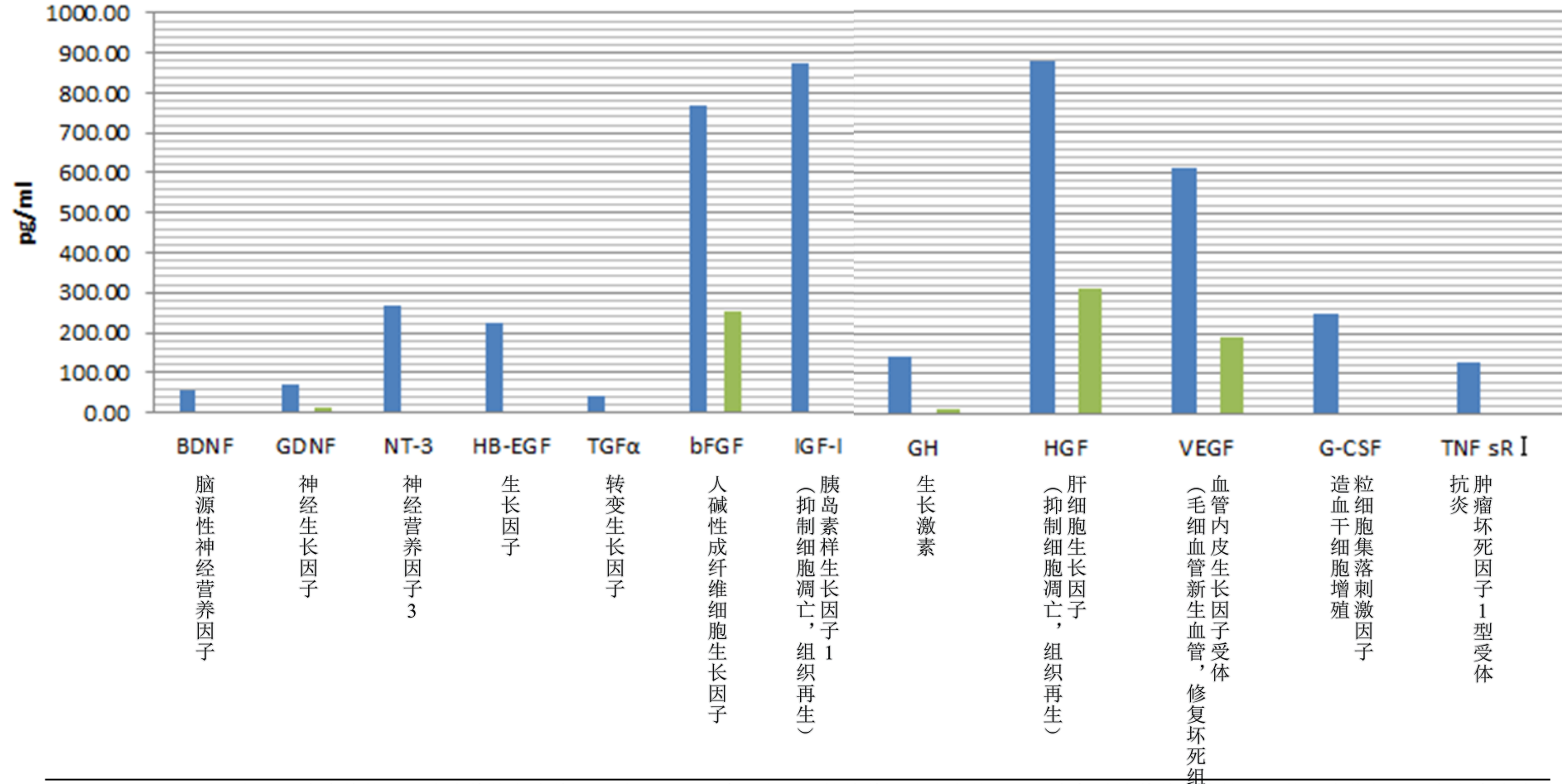
- 它具有以生理平衡的方式促进或抑制细胞生长的能力。
- 血清是许多生物分子的复杂混合物。



# 生长因子和细胞因子产生的比较

完全无血清培养基  
(Sunfield Clinic)

血清培养基  
含有10%FBS的培养基



脂肪来源的干细胞在无血清培养基和血清培养基中培养，通过细胞因子阵列定量比较培养上清液中的因子。在每种培养基中维持细胞第二次传代，并在半流式阶段收获培养物上清液。在无血清培养基中培养的脂肪来源的干细胞显示出神经保护生长因子的高表达，其中包括NT-3和G-CSF。此外，我们证实了OOATNFreceptor $\alpha$ 的高表达，其功能是中和HGF, IGF-1和b-FGF，以及HB-EGF，一种参与组织修复和抑制细胞凋亡的炎性细胞因子TNF $\alpha$ 。通过培养基组成的差异，澄清了脂肪来源干细胞分泌的因子的表达差异很大。



# 干细胞的表征

## 干细胞的表征

致瘤性  
研究

病毒排斥  
试验

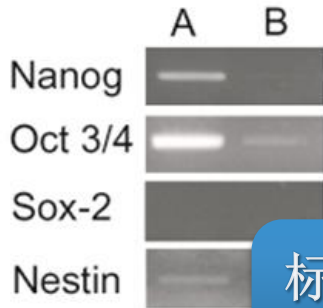
染色体  
安全性

标记基因  
发现

生长因子  
表达

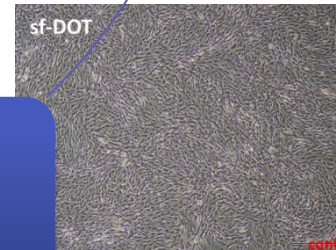
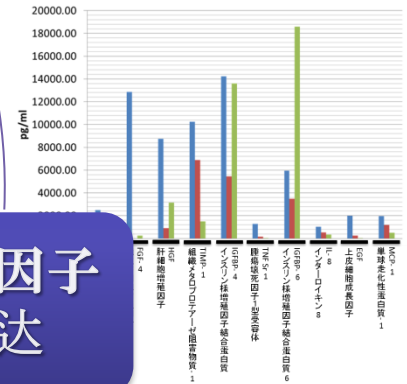
细胞表面  
标记  
发现

增长率  
存活率  
尺寸

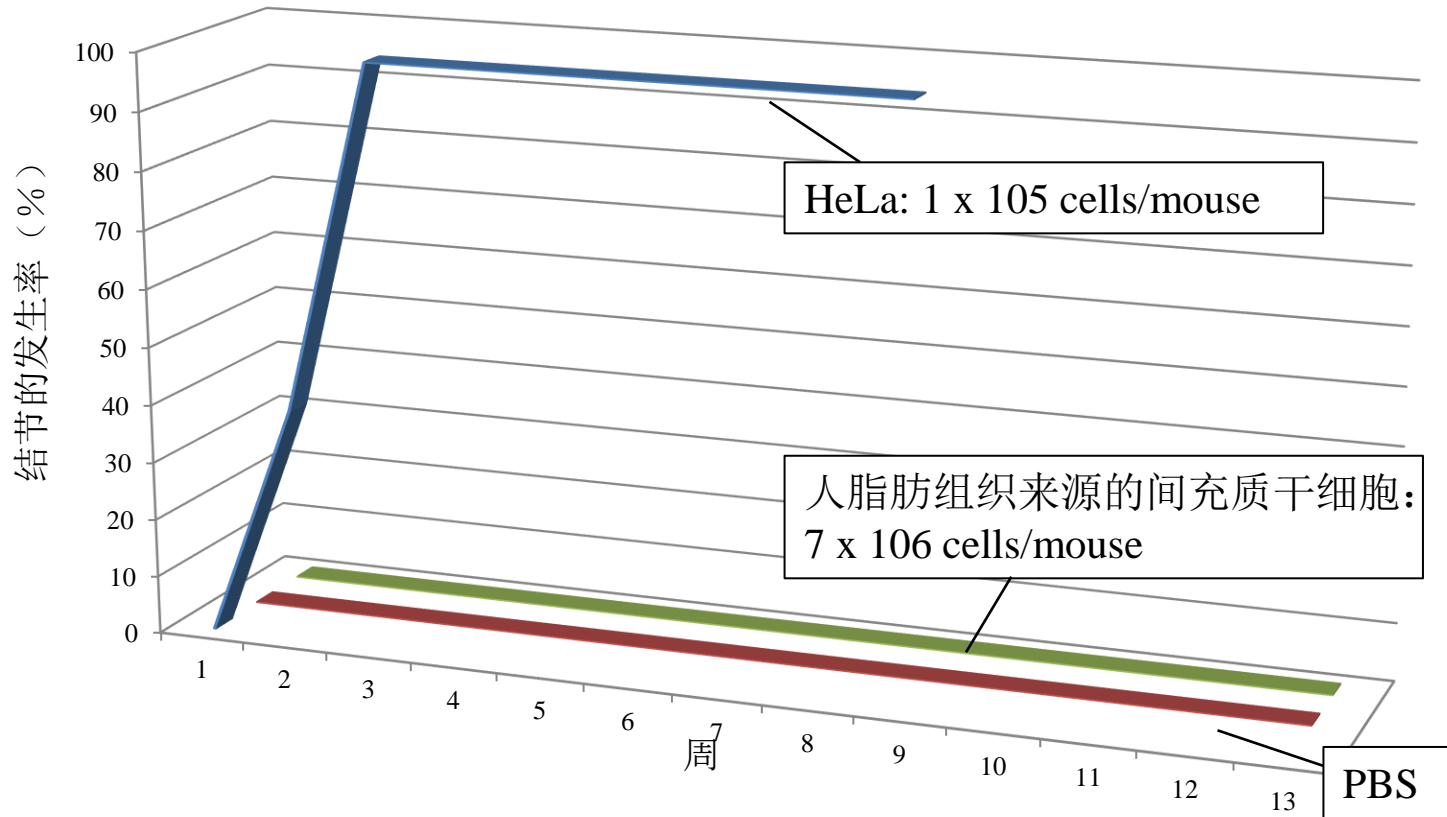


表面抗原	発見	機能	発現
CD150	CD44, Neprilysin, NRP, Ephraim-like, Atrial natriuretic peptide	EP-2/Eb1など、ペプチクシド分解に関与	+++
CD31	PECAM1	血管系や内皮系細胞のマーカー	-
CD34		造血幹細胞のマーカー	(+)
CD44		ヒアルロン酸ヒアロヘキサン-6-硫酸の細胞膜に結合	+++
CD45	PFMC, LCA, T200	造血系細胞のマーカー	-
CD73	EMT	リンパ球分化の指標	+++
CD90	THY1	多分化能の指標, MSCマーカー	+++
CD105	Endoglin	MSCマーカー	+++
CD117	c-kit	造血幹細胞のマーカー	Δ
CD184	CK14	ESF1との結合を介した表皮細胞へのホーミングに重要	+
CD271	NG2, p75	神経細胞のマーカー	Δ
SSEA-4		幹細胞マーカー	-

	全解析対象	陽性判定	陽性率(%)
患者数	177名	2名	1.1%
n)	525検体	8検体	1.5%



# 我院脂肪源性间充质干细胞的致瘤研究



在超低免疫原性（免疫缺陷）动物（NOG小鼠）  
以下三个皮下移植。

- 人脂肪组织来源的间充质干细胞
- 癌细胞（HeLa）
- **PBS**

排除了间充质干细胞的致瘤性。





医療法人社団 みき会  
サンフィールドクリニック

**批准号码PB3160006**

**目的：预防动脉硬化化发展**

# 在进行脂肪来源的间充质干细胞治疗之前

---

目前，再生医学取得了突飞猛进的进展，其新疗法的潜在力正在新闻以及其他媒体中得到关注。

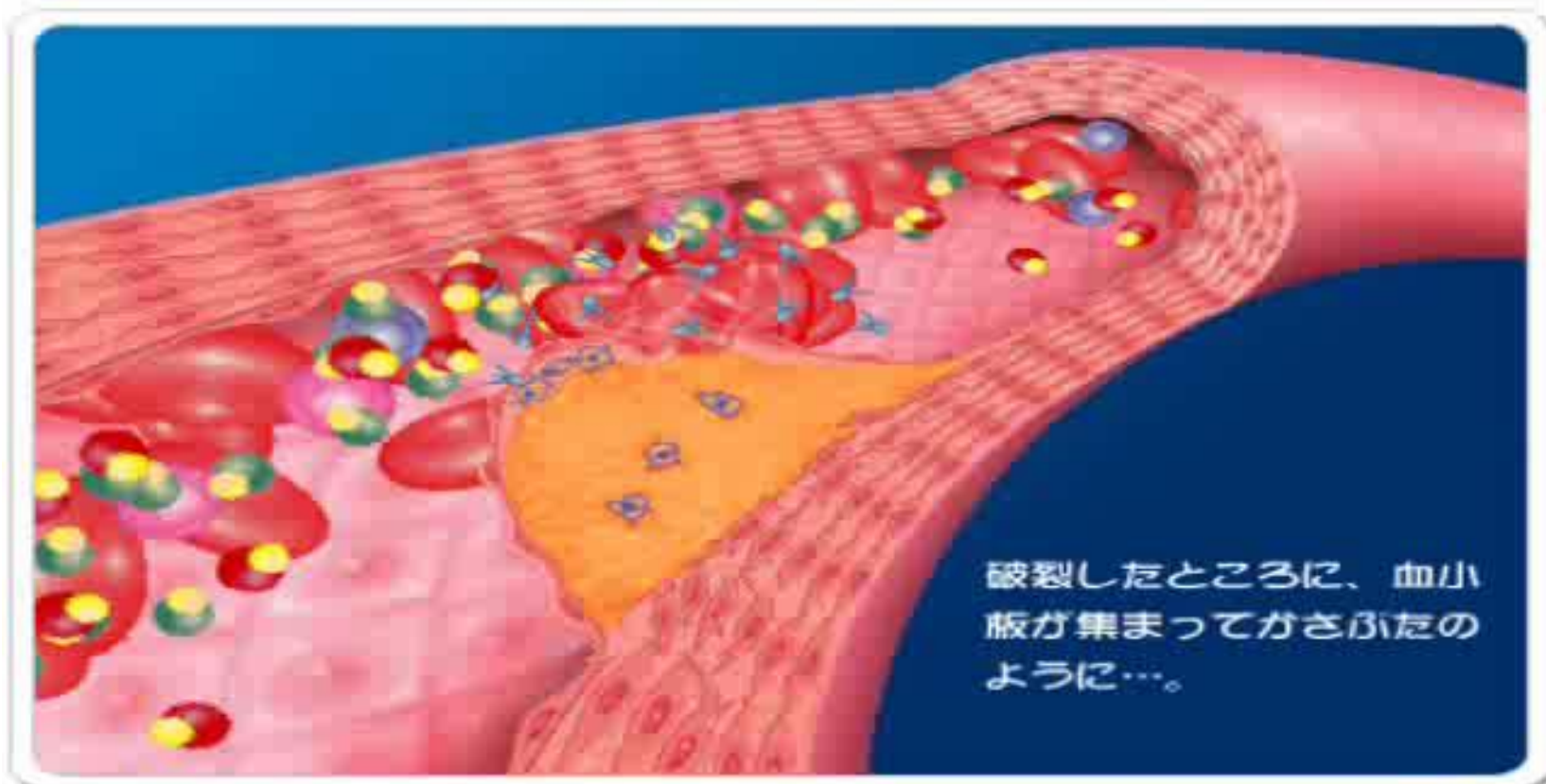
然而，由于干细胞治疗是新的疗法，接受干细胞疗法的病患者比较少，所以适应症还不能完全的确定，并且对他的疗效机理以及完全的科学依据仍在研究中。

安全性已得到验证，我们在干细胞治疗的患者中从未发生任何严重不良事件。

下面说明一下治疗内容，请客人自己选择治疗类型。



# 关于动脉硬化



破裂したところに、血小板が集まってかさぶたのように…。

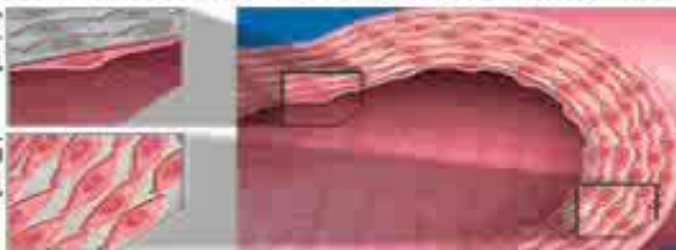
- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6

【凡例】

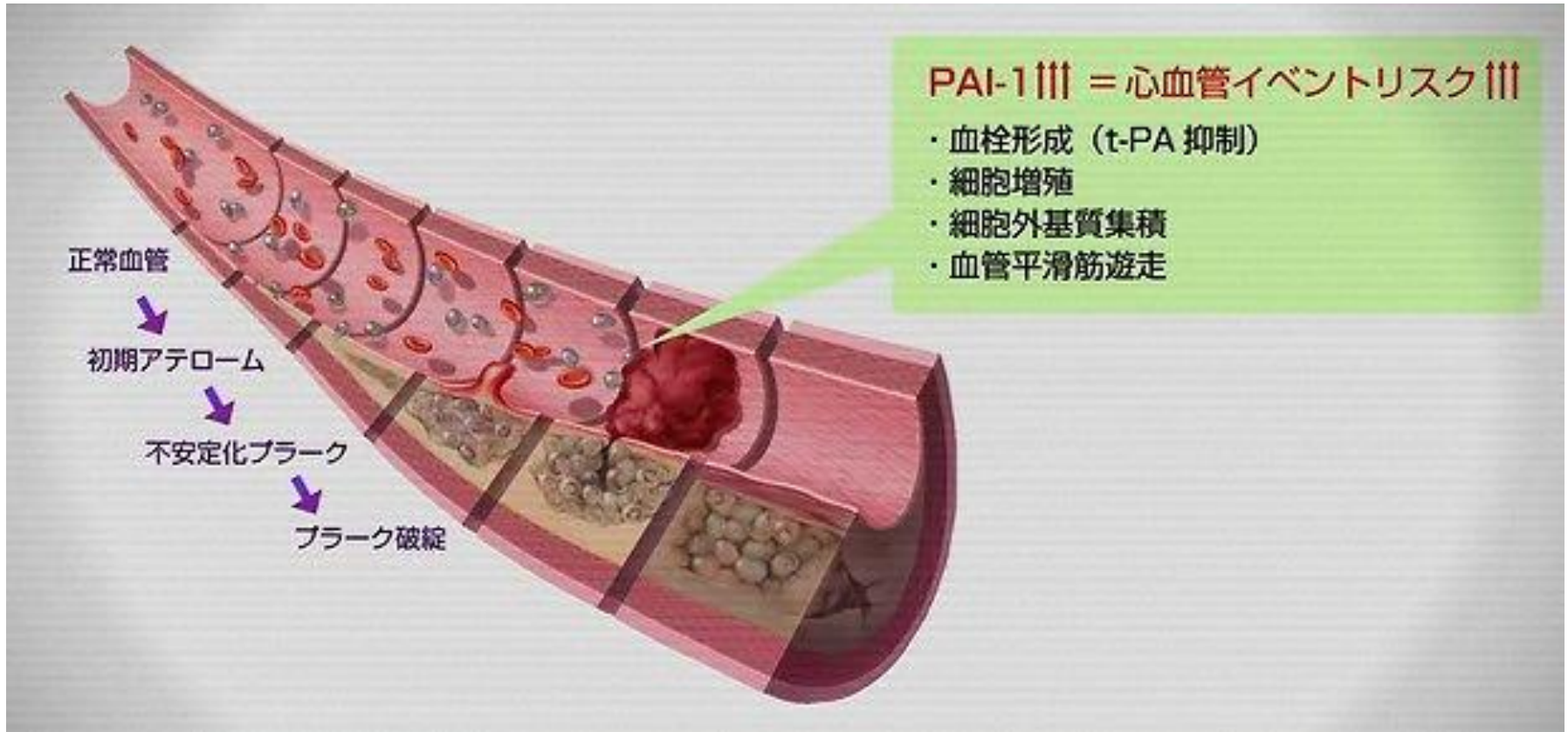
赤血球 	好中球 (白血球) 	単球 (白血球) 
LDL(悪玉) コレステロール 	HDL(善玉) コレステロール 	血小板 

血管内皮細胞

平滑筋細胞



# 关于动脉硬化



# 不适合接受治疗者

- 1) 治疗期间和治疗后不能继续来医院者
- 2) 同意治疗没有签字者
- 3) 太瘦取不到20克脂肪者
- 4) 感染检查结果有阳性者（由医生判断是否可以做）
- 5) 如果有到传染病疫区的（外交部，卫生，劳动和福利部，世界卫生组织（WHO））返回日本后四周以内的高危者
- 6) 明确性生活紊乱者
- 7) 使用麻醉剂和兴奋剂的患者
- 8) 孕妇
- 9) 在收集脂肪时无法停止抗凝治疗的患者，以及对用于脂肪采集的局部麻醉剂，消炎镇痛药，抗生素等有过敏史的患者
- 10) 患有或怀疑患有血液系统疾病并发症的患者会增加脓毒症，出血倾向或感染的风险
- 11) 医生判断其不合适的其他情况

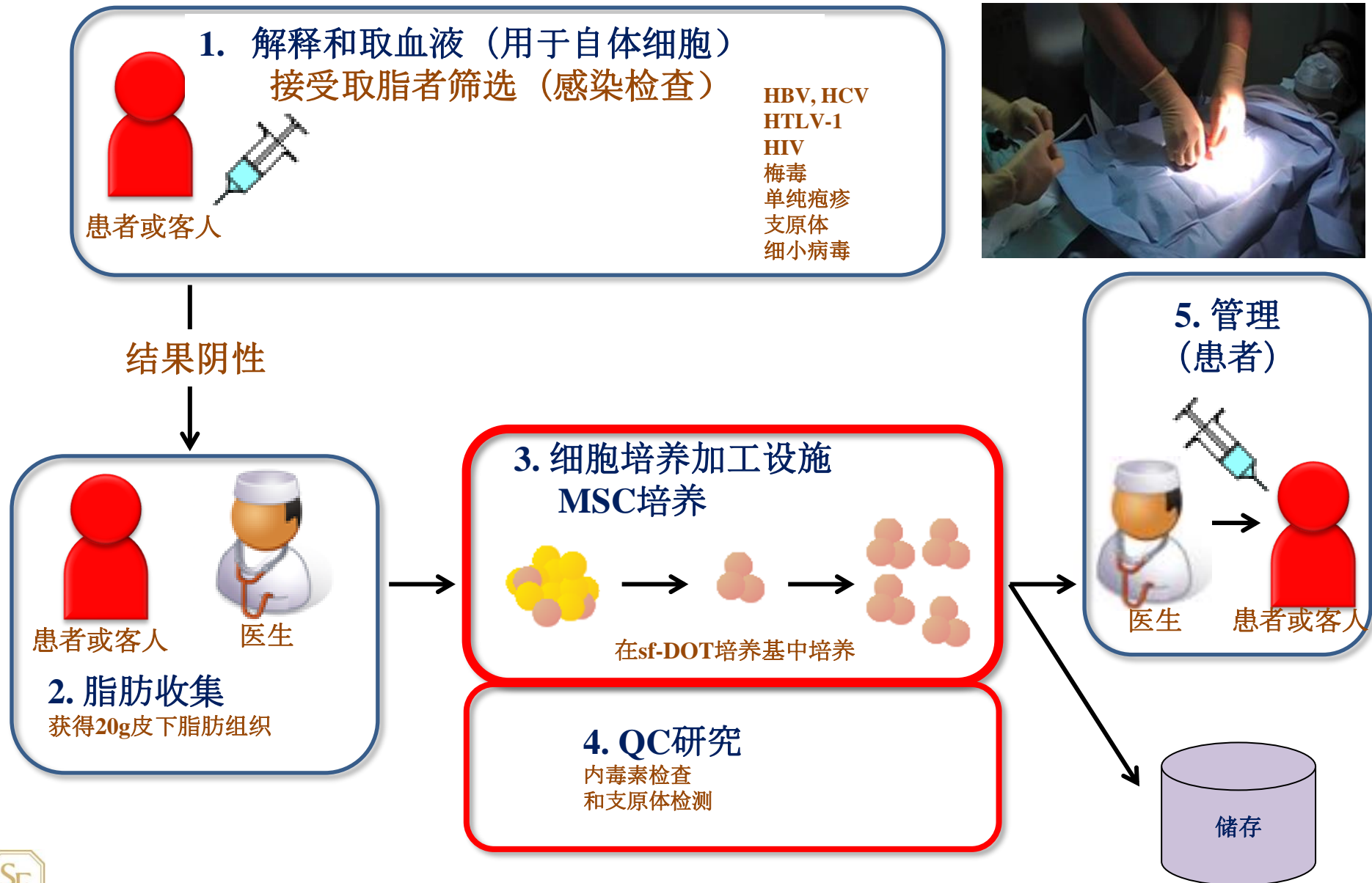


# 脂肪来源的间充质干细胞的治疗流程



幹細胞治療における  
施術の流れ

# 脂肪来源的间充质干细胞的治疗流程



# 治疗前传染病检测

---

要求下列传染病进行病毒和细菌的检测，

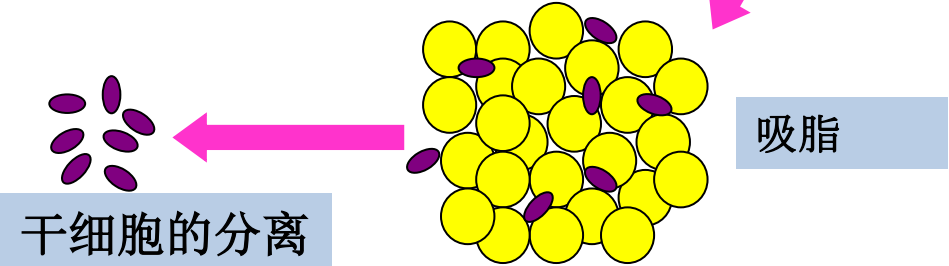
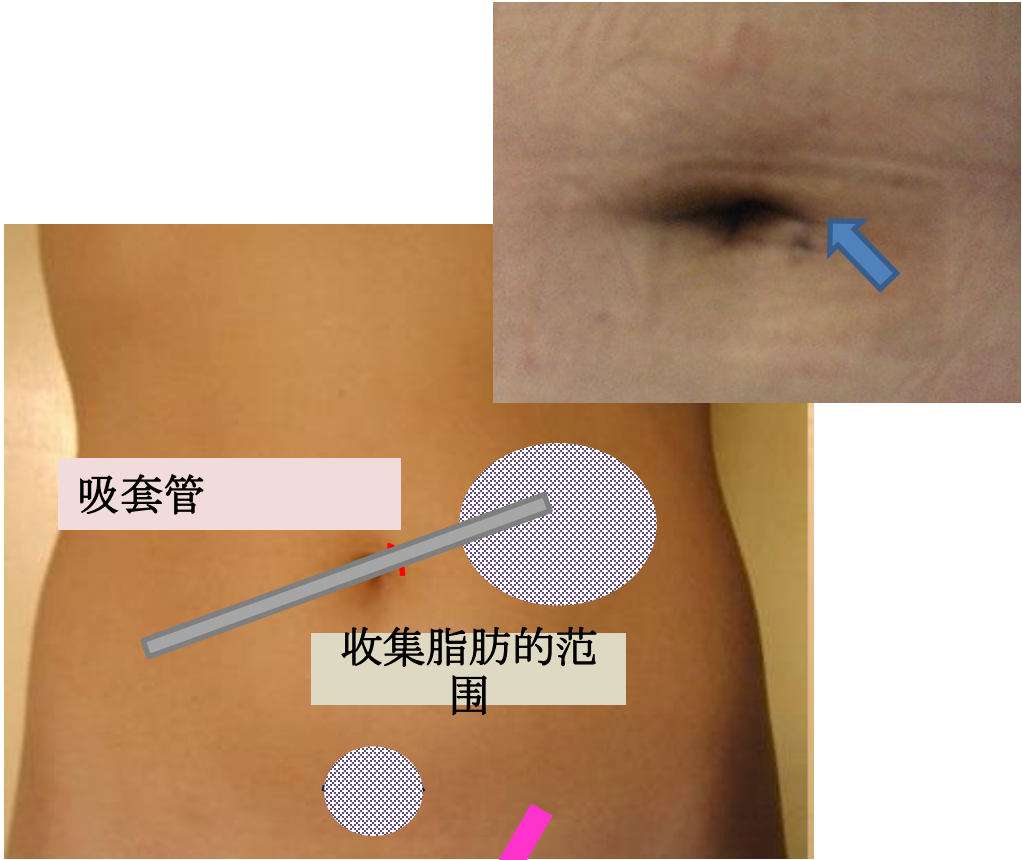
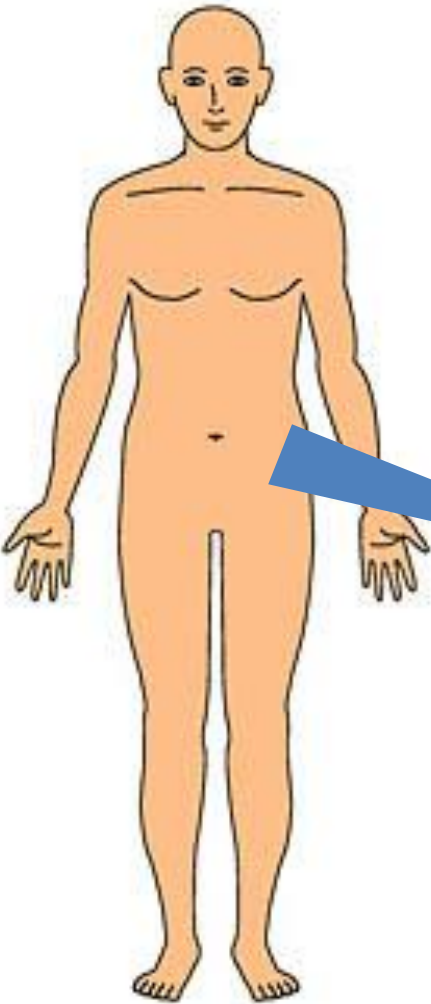
如果确认感染，则不能培养干细胞，也不能接受干细胞治疗

- ① HIV (抗原抗体法)
- ② HCV 抗体 (CLIA 方法)
- ③ HBs 抗原 (CLIA)
- ④ HBe 抗原 (CLIA)
- ⑤ HTLV-I 抗体 (CLEIA 方法)
- ⑥ 梅毒 (RPR 法) 和梅毒 (TPHA 法)
- ⑧ 单纯疱疹病毒 (CF)
- ⑨ 支原体 (PA) 方法
- ⑩ 细小病毒B19 (IgM抗体)





# 脂肪收集方法



# 培养的干细胞

---

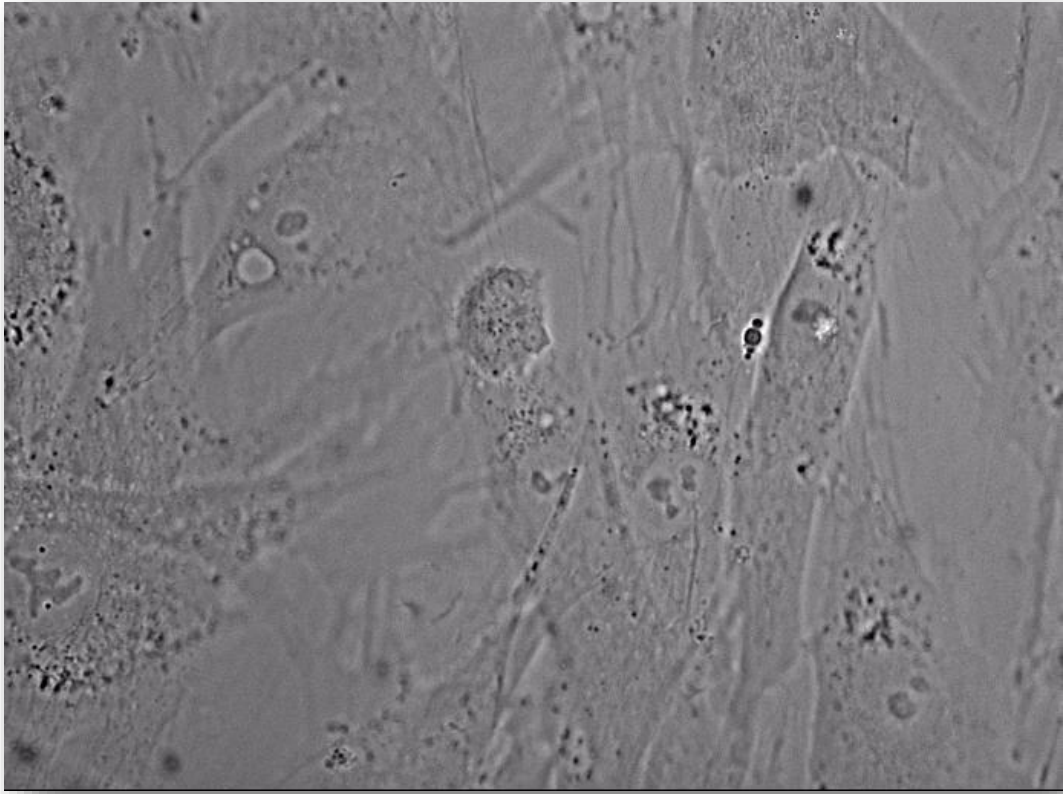
培养后用于治疗干细胞数量，  
培养大约需要4至6周。

干细胞增殖的能力因人而异，有时取的脂肪组内的干细胞培养后增殖不好，培养的干细胞比较少，或者有极个别的出现污染则重复进行取脂。

培养干细胞后如果不合适给药的患者，担当医生会对患者进行解释说明的。



# 干细胞培养

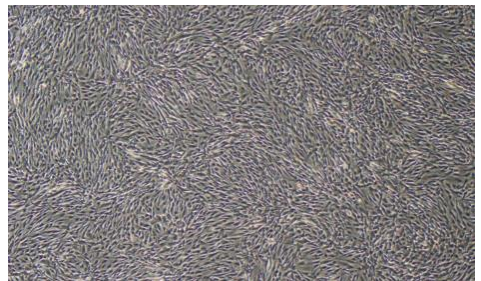
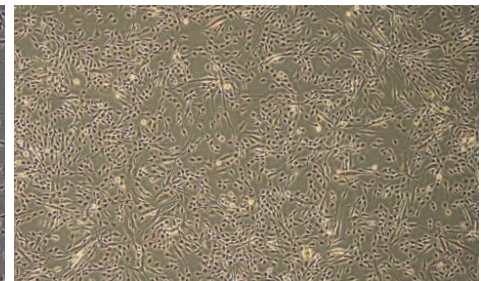
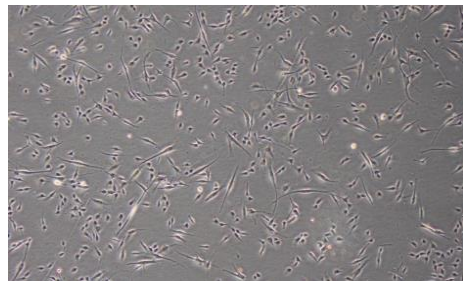
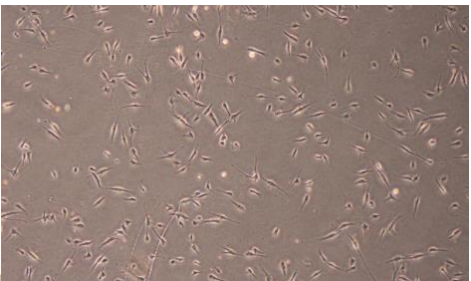


第一天的文化

文化的第3天

第4天的文化

文化的第7天





# 管理干细胞

---

干细胞从患者自身的脂肪组织分离出来，进行培养培养。

治疗的干细胞数为 $4 \times 1,000,000$ （4百万）细胞/kg或更少。然而，每次输入的干细胞的最大数量是2亿，如果培养的干细胞在2个亿以上的患者，需要分2天输入，第二次输入时需要客人负担消耗品等费用。

干细胞治疗是静脉点滴的，输入干细胞数量和点滴的间隔时间医生会做说明的。



# 用于储存和今后使用的细胞

---

剩余的细胞在适当的环境中免费储存。

## 单次治疗

初次培养干细胞完成后的24个月之内

[多次（4）治疗]。

初次培养干细胞完成后的48个月之内

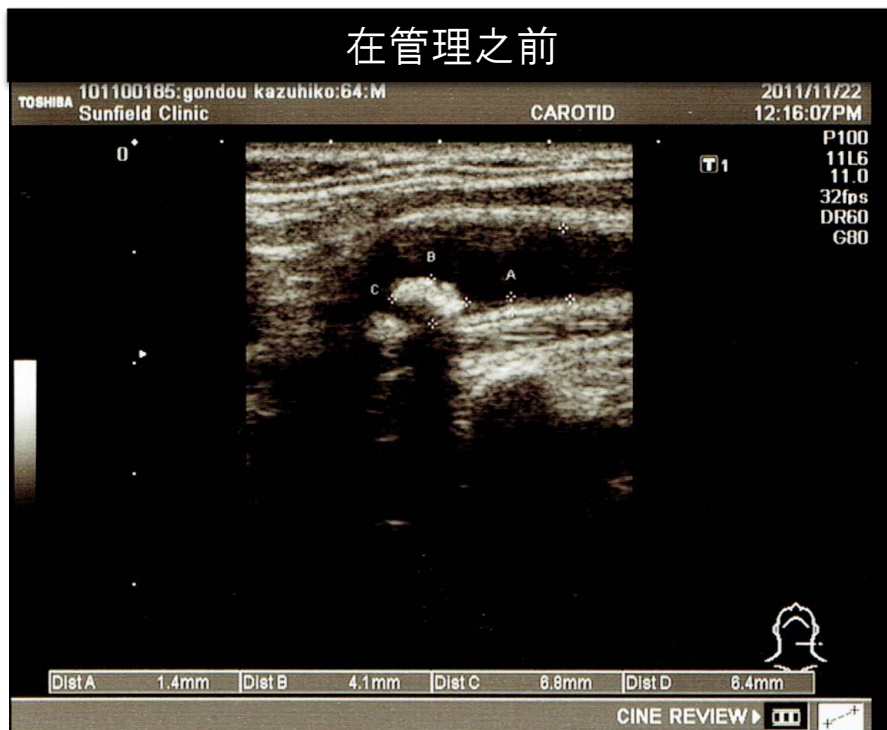
在免费储存期后，如果患者没有用完，改为收费储存，如果没有付费的诊所会处理掉。



# 对动脉硬化病变的影响

宫颈静脉造影的颈动脉斑块课程（62岁/男）

间充质干细胞总共施用2.7亿个细胞



IMT=4.1mm



IMT=3.6mm

CAVI

右：9.6

左：9.6



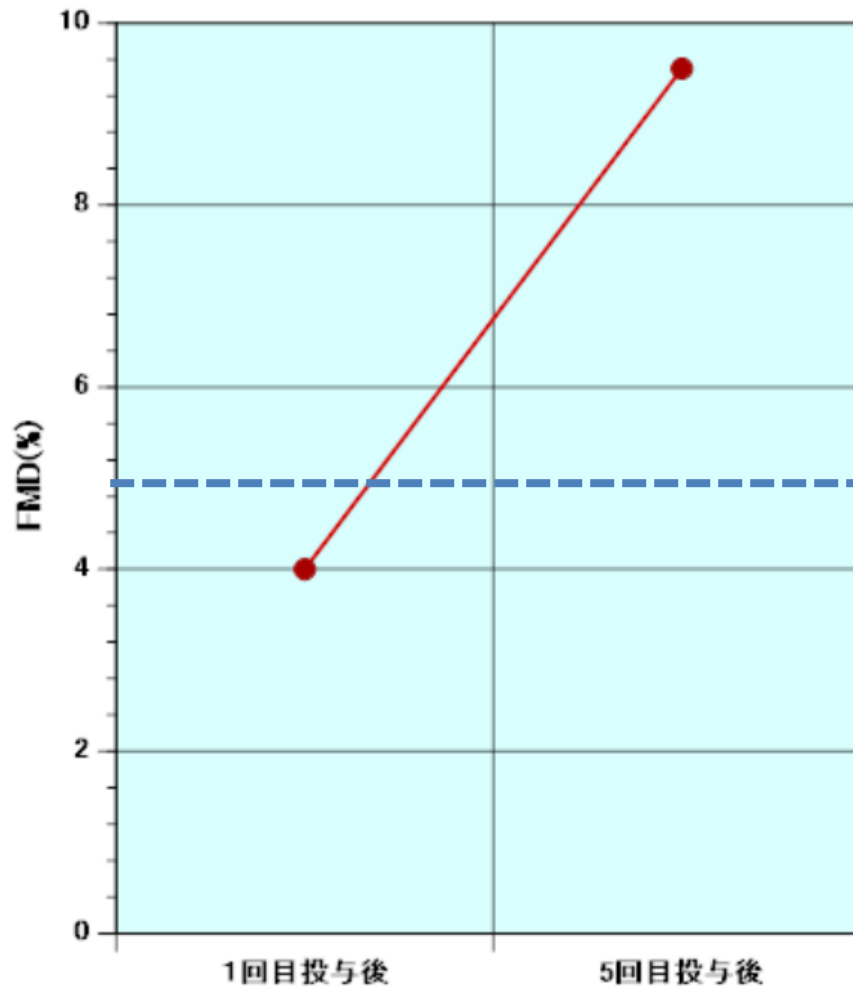
右：9.1

左：8.8

# 对动脉硬化病变的影响

FMD诱导的血管内皮功能变化 (59岁/男性)

共计2.5亿个间充质干细胞 (5个剂量的细胞总数)



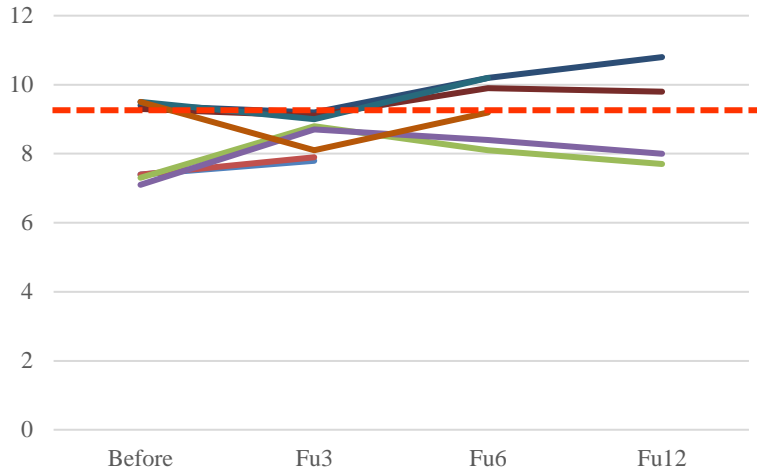
※ 内皮疾病在5%或更少



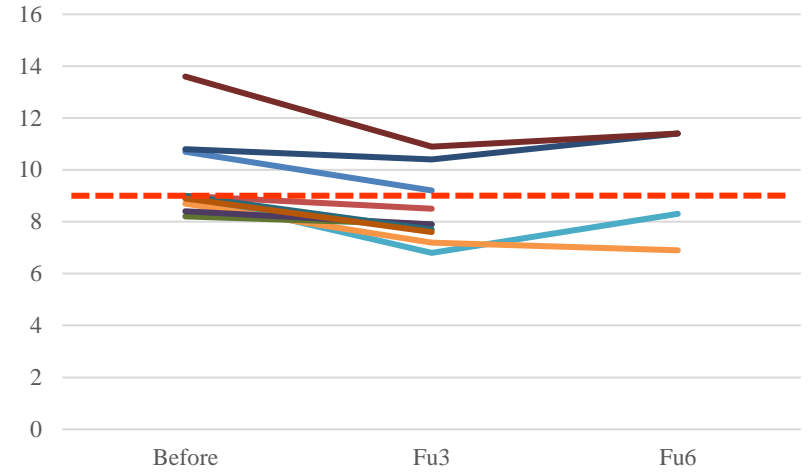


# 干细胞给药前后CAVI的变化

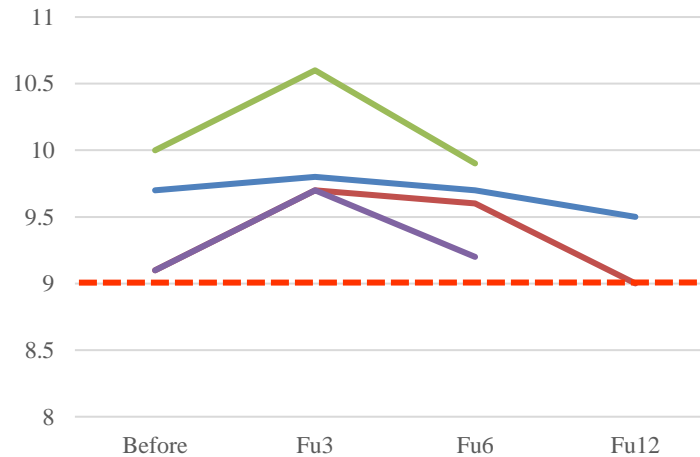
增加了一组N=6



降序N=6



不变N=2



衡量变化

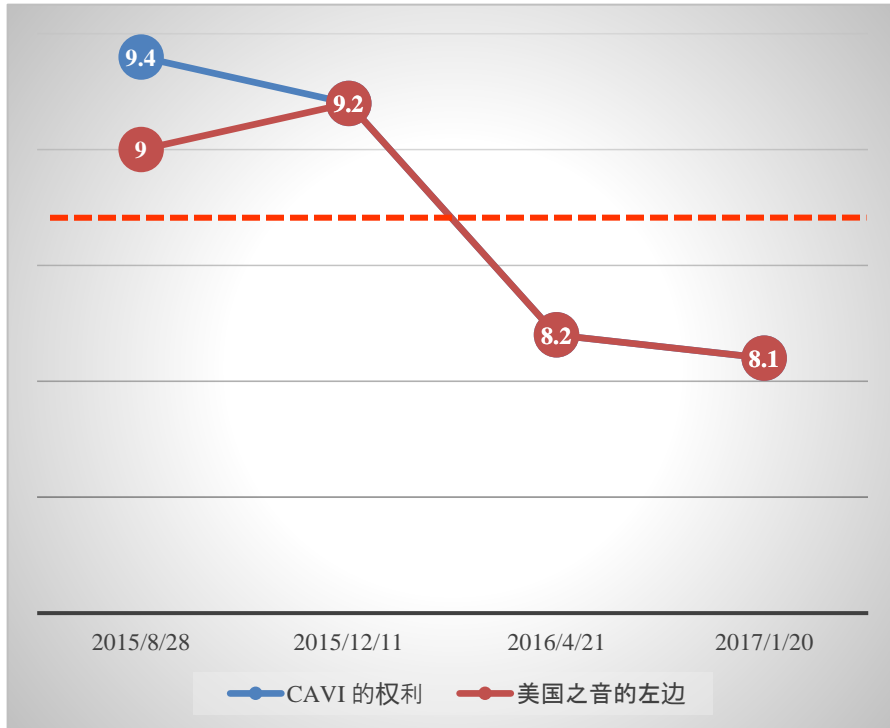
0.5: 海拔  
0.5: 减少  
±0.4: 没变

每组不重要

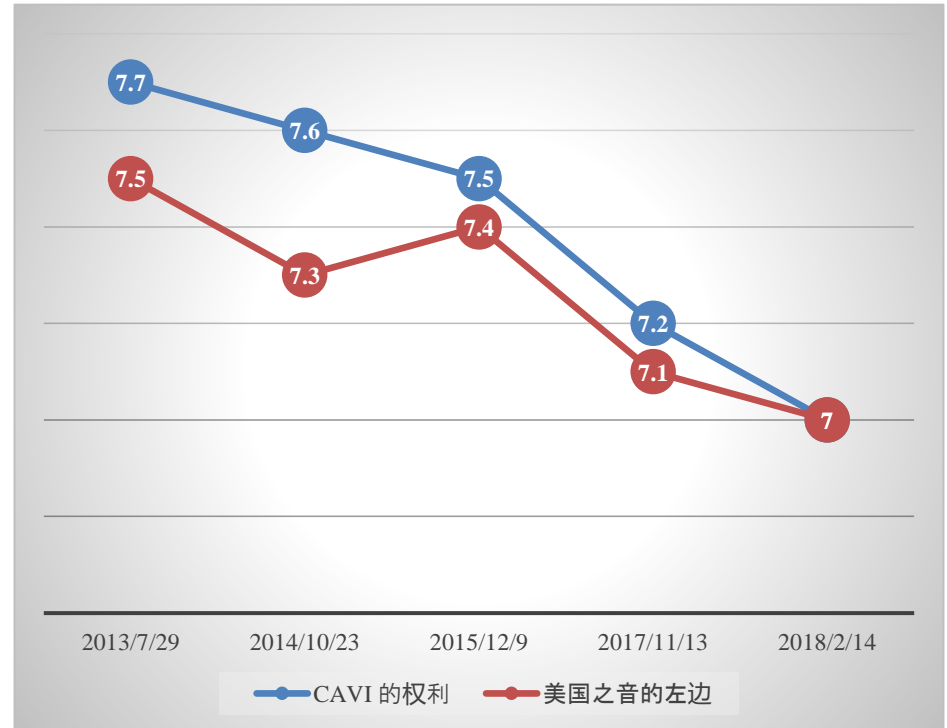


# 长期接受治疗的患者CAVI的变化

## AS 1194



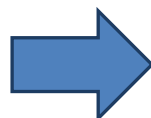
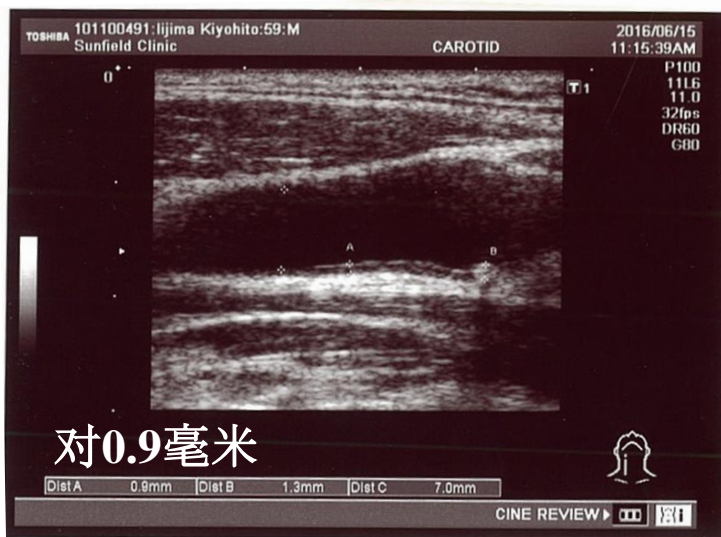
## AS 622



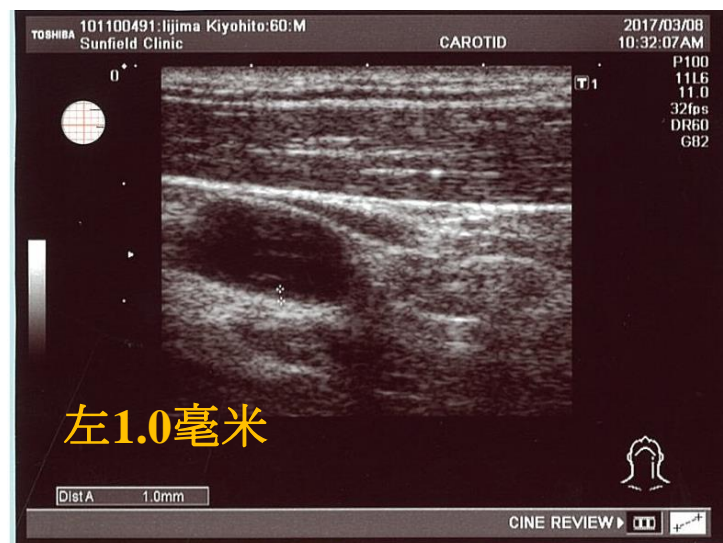
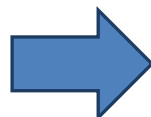
[实施前]

[六个月后]

对



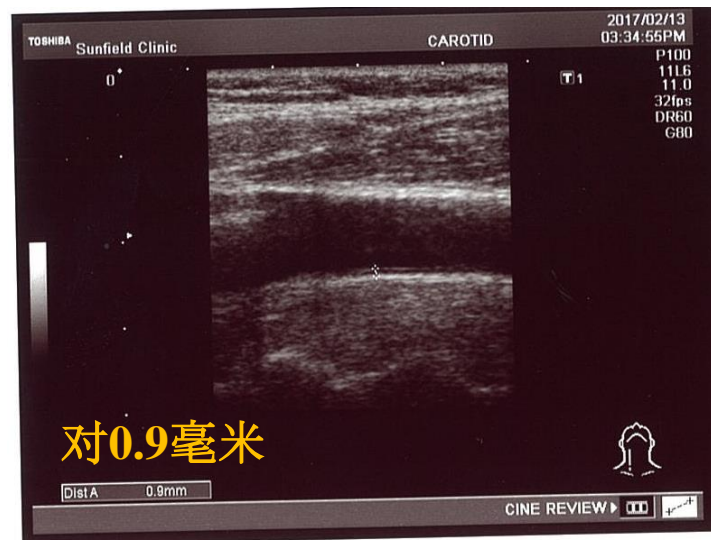
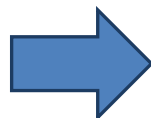
剩下



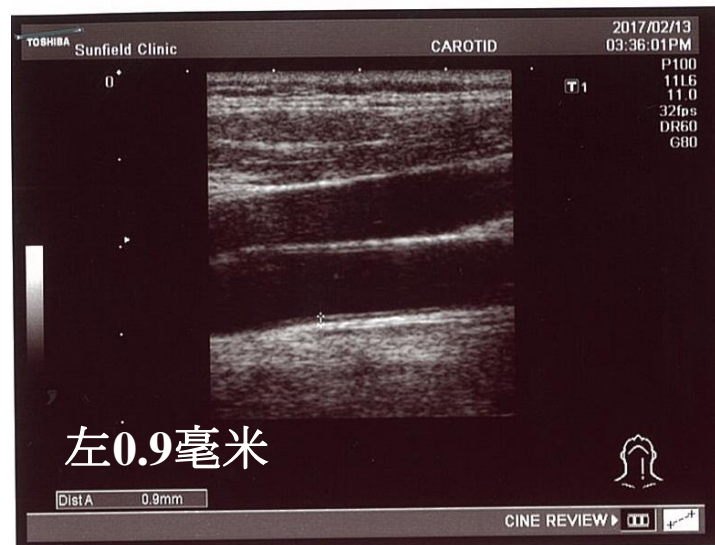
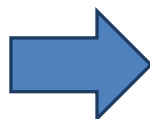
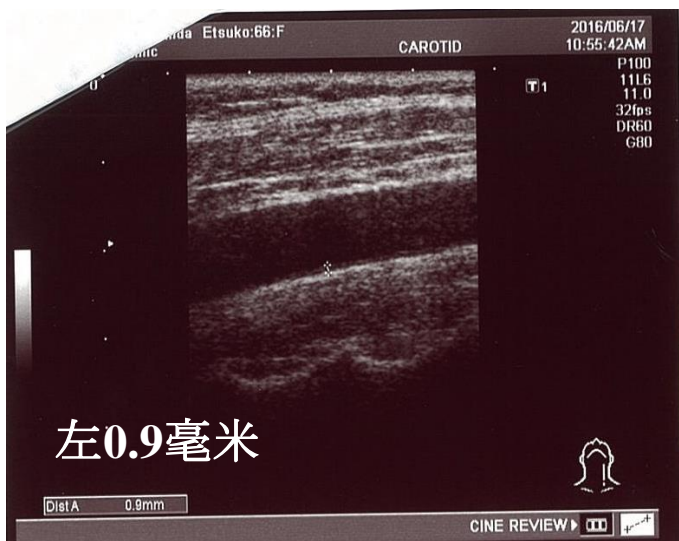
[实施前]

[六个月后]

对



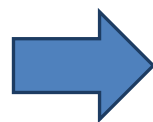
剩下



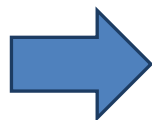
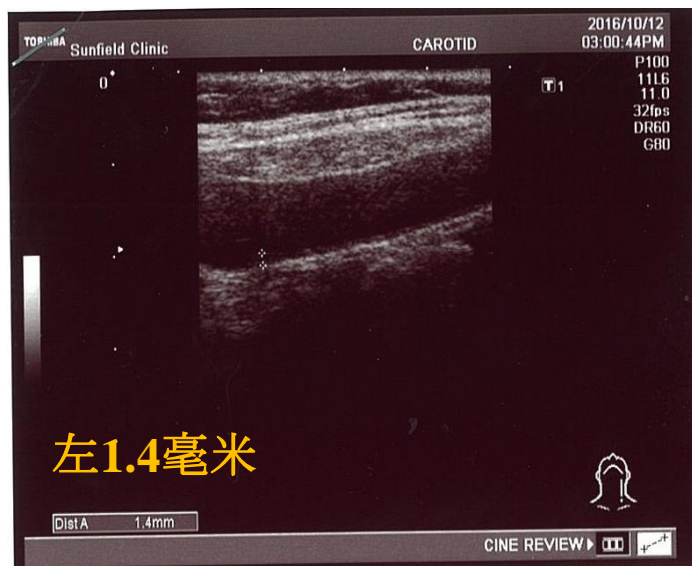
[实施前]

[3个月后]

对



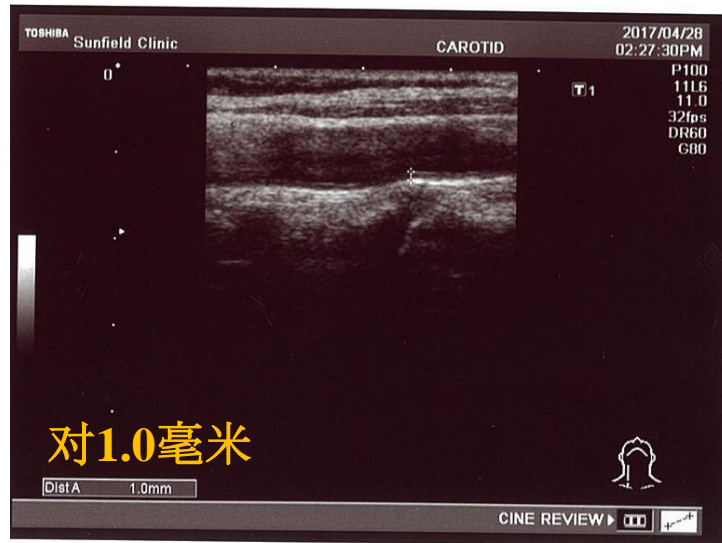
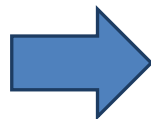
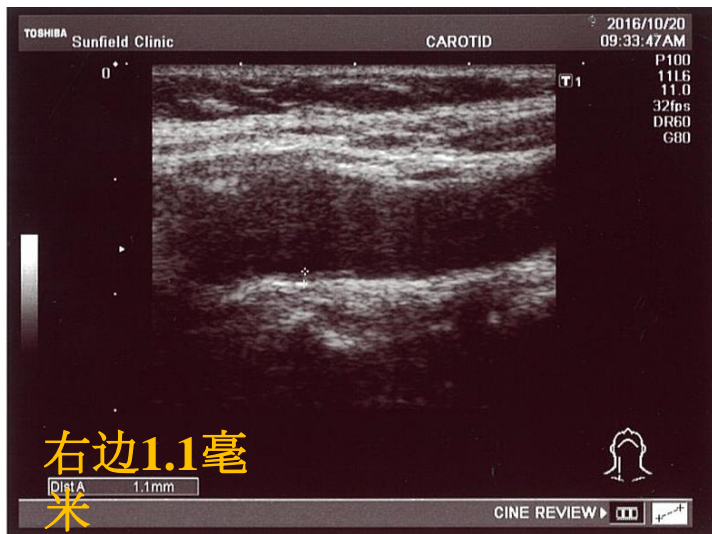
剩下



[实施前]

[六个月后]

对



剩下

