

厚生労働科学研究費補助金
ヒトゲノム・再生医療等研究事業

月経血・末梢血および臍帯血由来の間葉系幹細胞の
提供システムのすみやかな確立と成育疾患への適応

平成18年度 総合・総括研究報告書

主任研究者 梅澤 明弘

平成19(2007)年4月

目 次

I	総合研究報告書	1
	ヒト月経血・臍帯血・末梢血・骨髄由来の間葉系細胞の調整とプロファイリング	3
	梅澤 明弘	
II	総括研究報告書	11
	ヒト月経血・臍帯血・末梢血・骨髄由来の間葉系細胞の調整とプロファイリング	13
	梅澤 明弘	
III	分担研究報告書	19
	1. 月経血・臍帯血・末梢血由来間葉系細胞による「移植片宿主病の治療」に 関する臨床応用の検討	21
	室井 一男	
	2. ヒト間葉系細胞の移植システム検証のための mdx/SCID 開発と細胞移植後の 組織学的検証	23
	武田 伸一	
	3. 末梢血由来の間葉系幹細胞の調整	27
	落合 淳志	
	4. 月経血・臍帯血・末梢血由来間葉系細胞の分化機構に関する分子レベルでの解明	29
	望月 直樹	
IV	研究成果に関する一欄表	33
V	研究成果の刊行物・別冊	39

I 総合研究報告書

ヒト月経血・臍帯血・末梢血・骨髄由来の間葉系細胞の調整とプロファイリング

梅 澤 明 弘

厚生労働科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）

総合研究報告書

月経血・末梢血および臍帯血由来の間葉系幹細胞の提供システムのすみやかな
確立と成育疾患への適応（H16-再生-009）

主任研究者

梅澤 明弘

国立成育医療センター研究所

生殖医療研究部 部長

研究要旨：

間葉系幹細胞は、神経幹細胞、造血幹細胞と共に再生医療という治療戦略の重要な一翼を担う。臨床においても、すでに造血幹細胞の生着促進を目的に骨髄移植と同時に骨髄間質細胞の移植が行われている。同時に、骨髄移植において生着不全を防ぐことを目的に、骨髄間質細胞移植が始められている。これらの臨床試験は、移植細胞の生着促進のみならず、移植片対宿主反応を抑制する可能性を示した。本研究では、マウスのみならずヒト骨髄からも比較的増殖能力の高い間葉系細胞を数種類、分離、培養した。しかしながらこれらの細胞も通常の培養では、その細胞増殖には限界があり細胞治療への応用までは至っていない。ヒト骨髄由来間葉系細胞の寿命が延長するという発見を元に、多くのヒト骨髄間質細胞の寿命延長に成功し、心筋細胞、神経、骨芽細胞、脂肪細胞、骨格筋への分化をさせ、独自に確立した間葉系細胞培養システムを用いて、子宮内膜、臍帯血、末梢血由来の間葉系細胞を単離し、増殖させ、細胞移植の供給源とする細胞提供システム構築を試み、標準化された培養システムによって増殖する間葉系細胞を提供することを開始した。間葉系細胞は臍帯血、末梢血から得ることになり、間葉系細胞を用いた細胞治療に関する倫理性の due process を提示することになり、この提示された過程に従い、提供医療施設を増やしていくと同時に公的細胞バンクに寄託する倫理的手続きを進めた。現在の間葉系細胞培養に使用されている条件は、ウシ胎児血清、ならびに動物細胞、大腸菌等で作製されたヒト増殖因子が利用されており、外来種由来感染源の混入は否定できない。このため治療法としての安全性の基準の確立は急務であり、日本国内で進められている様々な幹細胞に対するフィーダー能を有するのみならず、その細胞自身が多分化能を有する間葉系細胞を適切に提供するシステム構築は重要な意義を有する。ヒト臍帯血・末梢血由来の間葉系細胞の増殖をコントロールし移植への系を確立することは移植医療の新たなパラダイムの獲得につながる。

A. 研究目的

骨髄間質細胞は、臨床においても、すでに造血幹細胞の生着促進を目的に骨髄移植と同時に移植が行われて始め、移植細胞の生着促進のみならず、移植片対宿主反応を抑制する可能性が示されてきた。間葉系幹細胞は、神経幹細胞、造血幹細胞と共に再生医療という治療戦略の重要な一翼を担い、骨髄細胞と共に細胞治療における事実上の標準となってきた。骨髄由来間葉系細胞の寿命延長を可能とした「ストレスのない培地 (Stress-free medium)」の開発経験に基づき、臍帯血、末梢血由来のヒト間葉系細胞を増殖させ、細胞治療が有効とされる疾病に対する新たな細胞治療法を開発する。具体的には、ヒト間葉系細胞の分離培養、細胞のプロファイルの確定後、培養細胞の寿命延長過程における細胞の分化能を含めた検討を行う。

B. 研究方法

臍帯血・末梢血由来のヒト間葉系幹細胞を用いた。同時に対象として、従来より蓄積されている骨髄由来のヒト間葉系細胞を用いた。

(1) ヒト臍帯血由来の間葉系細胞の調整とプロファイリング

既に国立成育医療センター・倫理委員会(承認番号 25, 26, 27, 49, 55、全て平成 15 年)にて、承認を受けた臍帯血・骨髄由来の間葉系細胞を単離、培養を行った。ならびに、慶應義塾大学倫理委員会にて承認された分離培養したヒト間葉系細胞の性質を細胞表面マーカー、gene chip 解析 (Affymetrix) を用いたプロファイリングを行い細胞の有する性格を詳細に検討を終了した。そのデータを利用して、これらの細胞が多分化能を有す状態を保つ培養条件、方法等を確立するための一助としている。

(2) 免疫不全マウスへのヒト間葉系細胞の移植

ヒト由来の細胞移植には、免疫不全マウス (NOG: NOD/SCID/IL-2 受容体 γ ノックアウトマウス) を利用した。病理形態学的解析を中心に、移植後の病理組織学的な解析を遂行した。

(3) 培養条件によるヒト細胞寿命の延長と分子レベルにおける解析

清野ら (Nature, 1999) により発見されたヒト細胞寿命の延長に関わる遺伝子を導入、高発現させ、それに伴う細胞の増殖能の増加、寿命の延長を検討した。その際、寿命延長には、p16INK4a の上昇を介した Rb 経路に関わることが知られ、この経路に関するシグナル伝達を細胞毎に検討できるよう、シグナル伝達にかかわる分子の定量ならびにリン酸化状態を検討した。またその際のヒト細胞の染色体、遺伝子レベルでの検討、遺伝子導入効率に対する基盤的研究を同時に行った。

(4) 臨床応用への具体的な検討

細胞の臨床応用を視野におき、科学性および倫理性を確保する。①治療プロトコルに関しては、分担研究者の室井らが検討し、②ヒト細胞に関しては、具体的な手続きを通じて、倫理委員会における議論の元に調整する。

C. 研究結果

(1) ヒト間葉系細胞の培養

マウス、ラット、ウサギ、ウシ、ブタ、イヌの骨髄から間葉系細胞を多数樹立し、心筋細胞、脂肪細胞、軟骨細胞、骨細胞、骨格筋細胞、神経細胞への分化を示し、ヒ

ト間葉系細胞に関しては臍帯血、骨髄、末梢血より間葉系細胞の培養を開始しており、それらが少なくとも複数の分化形質を示した。これらを培養するにあたり、ヒト血清ならびにヒト液性因子のみからなる培養法を確立し、Non-stress 培地として数施設に提供し、その妥当性についての報告を受け、新規開発へフィードバックしている。特に、幹細胞を未分化状態に保つための維持培養に必須の要素について検討を終了した。これらの細胞について、さらに網羅的発現遺伝子解析 (Affymetrix 社 GeneChip による解析) ならびにモノクローナル抗体を用いた既知の分子発現解析を終了し、一部はホームページ上で公開

(<http://1985.jukuin.keio.ac.jp/umezawa/link.html>) し、それらはデータベースとして構築した。幹細胞を用いた治療基盤確立のための準備状況としては、分化能検定の開発ならびに分化形質発現システムを通じた情報収集を行った。特に生体への移植は、実験中央研究所より供与を受けている免疫不全動物 (NOD/SCID/IL-2 受容体 γ ノックアウトマウス) への移植による生着、機能発揮、組織構築能に関する検討を進行中である。これらの成果を利用して目的の細胞へ分化しうる臍帯血・末梢血由来のヒト間葉系細胞を選別し、疾患モデル動物で確立された治療戦略をヒトへ応用することを着実に進めている。

(2) 細胞治療用ヒト月経血・臍帯血由来の間葉系細胞の調整とプロファイリング

中胚葉に由来する幹細胞の供給源として、子宮内膜、月経血、臍帯血を利用した。マイクロアレイ解析から、これらの幹細胞は元の組織の性質を保持すると同時に各組織に由来する間葉系細胞に多様性があることが明らかとなった。

(3) 免疫不全マウスへのヒト間葉系細胞の移植

骨格筋多能性幹細胞の候補として、筋再生時に増殖する CD31-CD45-SP 細胞を新たに見出した。この細胞は *in vitro* にて間葉系細胞 (骨芽細胞、脂肪細胞、筋細胞) に分化した。また免疫不全マウスに筋芽細胞と共移植すると、著しく筋再生を促進したが、C57BL/6 マウス骨格筋を X 線照射し、内因性の筋衛星細胞と SP 細胞を抑制した後に移植すると、筋芽細胞の分化を抑制し、脂肪細胞に分化した。CD31-CD45-SP 細胞はマイクロアレイによる遺伝子発現解析の結果、炎症反応を制御する ST-2 分子を特異的に発現した。CD31-CD45-SP 細胞は筋再生時に微小環境に応じてその fate を変え、筋ジストロフィーで見られる繊維化、脂肪化に関与する可能性が示唆された。

(4) 培養条件によるヒト細胞寿命の延長と分子レベルにおける解析

臓器再生のために利用可能な間葉系細胞の分化への情報伝達のメカニズムと多分化能の維持機構を分子レベルで解明することを目的に研究を行った。月経血・臍帯血・末梢血由来の間葉系細胞のコントロールの目標は、目標とする分化誘導シグナルの同定と、多分化能を保持したままの増殖である。ヒト骨髄間質から得られた細胞に特異的発現する分子を同定することにより、①分化誘導シグナルを受ける受容体②シグナルを増幅するような因子を探索すること③多分化能の維持に不可欠な接着や増殖にかかわる分子を明らかにすることを目的として、シグナルシーケンストラップ法 (SST 法) でこれらの因子の同定を試みた。細胞から分泌される因子、細胞膜表面分子などシグナルシーケンスをもつ 300 以上の蛋白質を見つけた。この内、機能未知の分子 PTK7 についてその機能の解析に着手した。

(5) 臨床応用への具体的な検討

臨床試験に用いる治療用の骨髄間葉系幹細胞を製造するため、平成 12 年 12 月に通知された「ヒト又は動物由来成分を原料として製造される医薬品等の品質及び安全性確保について(医薬発第 1314 号)」に従い、臨床用細胞プロセッシング室を整備し細胞処理に係る必要な書式の作成を試みた。血縁者骨髄移植ドナーまたは骨髄移植ドナーではない血縁者から得られた骨髄間葉系幹細胞を患者に投与する臨床試験「造血幹細胞移植後に発症した難治性急性 GVHD に対する血縁者由来間葉系幹細胞を用いた治療」を計画し、院内の倫理委員会へ申請し臨床試験実施の許可を得た(臨 05-63 号)。第 3 者から得られた骨髄間葉系幹細胞を用いた同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病の治療」の第 1/II 相臨床試験の試験計画作成に参加するとともに、本研究に関連した海外における臨床試験の情報を収集し、骨髄間葉系幹細胞を投与した 17 例中 10 例に効果が認められ、重篤な副作用はみられなかった。

(6) 成体幹細胞の特性を決定

成体幹細胞に関する網羅的な遺伝子発現に関し、米国 NIH/NIA のグループとの共同研究を行い、国際誌に発表し(PLoS Biology, 1: 410-419, 2003)、その成果は Nature 誌の News に取り上げられた。また、その情報は Web 上に公開(http://lgsun.grc.nia.nih.gov/cDNA/NIA_7_4k.html)しており、すべての医療関係者に共有可能となっている。

(7) Cell processing center 設立と各種手順書・基準書作製

国立成育医療センター研究所が保有するヒト骨髄由来間葉系幹細胞培養技術ならびに製造管理及び品質管理規則(Good Manufacturing Practice, GMP 基準)を満たすセル・プロセッシング・センターを基盤

として、動物由来成分を排除しヒト由来成分のみで構成される幹細胞培養法を確立した。「セル・プロセッシング・センター(CPC)」設立が承認され、厚生労働省直轄研究機関としては初の CPC として整備された。国立成育医療センターでは、上記 CPC を使用したヒト間葉系幹細胞の培養ならびに臨床研究への供給を課題として、研究部横断的な推進体制を構築した。

D. 考察

再生医療における細胞の供給源として、胚性幹細胞、胎児由来細胞、組織幹細胞があげられる。胚性幹細胞は、その増殖能、多分化能より、将来的に期待されているものの、臨床応用を開始するまでは多くの基盤研究ならびに細胞の整備が必要となり、時間がかかると予想される。胎児由来の神経細胞を初めとする細胞は、細胞移植によりパーキンソン病に効果があることが示されて久しいものの、ヒト中絶胎児を細胞治療の供給源とすることが許容される可能性は高くない。組織幹細胞は分化能に限られているが、目的の細胞に分化させることは比較的容易であり、現在最も注目をあびている。特に、骨髄由来細胞は、虚血四肢に用いられ効果が示され、臨床応用が拡大している。本研究に用いた骨髄・臍帯血・末梢血由来の間葉系細胞は既に培養を進行させており、その初期培養された細胞が蓄積され、これらの細胞を用いた神経、心筋、骨組織を構築する研究は臨床的な観点から極めて重要といえる。

間葉系幹細胞は驚くべき多岐に渡る胚葉を越えた可塑性を有し、試験管内においても生体外培養にて増殖させることが可能である。この体性幹細胞の利用は、自己の細胞を使用できるため倫理的な面からも臨床応用への理解が得られやすく現段階では、

再生医療・細胞移植の最適の対象になっている。細胞自体を生体内マイクロデバイスとして利用する新たな治療戦略を現実するために必要なステップとして、1) 細胞の分離培養技術の確立、2) 細胞のカタログ化、3) 細胞品質管理の標準化がある。細胞の分離培養技術であるが、これらは造血幹細胞の領域で既に臨床応用され多くの実績を得てきている。このような現状では特に①骨髄・臍帯血・末梢血由来のヒト細胞を移植することによる細胞治療戦略の確立、②ヒト間葉系細胞の寿命延長、増殖法の研究から得られる結果に基づくバイオインフォマティクスからの情報の蓄積、臨床への探索的研究が必要である。ヒト間葉系細胞を薬品、医療機器の範疇としてとらえ米食品医薬品局（FDA）基準を指標とする、細胞提供システムの確立、ならびにそれらの方法の安全性、科学性、倫理性を確立したうえで、再生医療を具体的に遂行する上での基盤的な成果を得ることに成功した。

E. 結 論

本研究では、骨髄間質に由来する幹細胞を含めた体性幹細胞を利用した細胞治療法の確立に向けた基盤研究を行った。さらに、これらの幹細胞を臨床応用するための安全かつ効果的な培養システムの確立を目指している。ヒト間葉系幹細胞は、神経幹細胞、造血幹細胞と共に再生医療という治療戦略の重要な一翼を担い、細胞治療における供給源のひとつとなっている。ヒト細胞の寿命延長を可能とした「ストレスのない培地」の開発経験に基づき、骨髄、臍帯血、末梢血由来のヒト間葉系細胞の分離培養技術を開発した。

これらの知見を基に、国立成育医療センター内に臨床研究を前提とした ad hoc 委員会を設立し、臨床試験研究への具体的なロ

ードマップを作製し、医療に提供できる新たな間葉系細胞の分離・培養を行い、ヒト血清ならびにヒト液性因子のみからなる培養法の開発を終了した。また、ヒト間葉系幹細胞の分化能検定システムの開発ならびに分化形質発現システムを通じた情報収集を行い、国立成育医療センター研究所が有する GMP 基準に沿った機関内の細胞プロセッシング・センターにおいて日本国内の研究施設より要請があった場合に高い安全性を有し、標準化された培養システムによって増殖する間葉系細胞を提供することを可能とした。運用は「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針（平成 18 年 9 月）」に沿うレベルで行い、各組織由来のヒト細胞を移植することによる細胞治療戦略を確立した。

F. 健康危険情報

なし

G. 倫理面への配慮

当研究所においては、ヒト間葉系細胞の培養に関し、研究面において既に倫理審査を受け、承認を受けている（国立成育医療センター研究所、受付番号 25、26 及び 27、平成 15 年 1 月承認、受付番号 49、平成 15 年 10 月承認、受付番号 55、平成 15 年 11 月承認、受付番号 88、89、90、91 平成 16 年 7 月承認、受付番号 55、平成 16 年 11 月追加承認、受付番号 146、平成 17 年 4 月承認、受付番号 156、平成 17 年 7 月承認）。また、それぞれの組織については倫理的な手続きおよび考え方が年次毎に異なると予想され、「ヒト幹細胞等を用いる臨床研究に関する指針（平成 18 年 9 月）」に従い、最新の社会的な影響を十分に考慮した。

実験動物を用いる研究については、国立

成育医療センター研究所動物実験指針に準拠して研究を実施した(承認番号 2003-002, 2005-003)。特に、動物愛護と動物福祉の観点から実験動物使用は、目的に合致した最小限にとどめる。またその際、麻酔等手段により苦痛を与えない等の倫理的配慮をおこなった。

H. 研究発表

論文発表

1. Cui C, Uyama T, Miyado K, Terai M, Kyo S, Kiyono T, and Umezawa A. Human dystrophin expression in the mdx mouse, a model of Duchenne muscular dystrophy, can be conferred predominantly by "cell fusion" with human menstrual blood-derived cells. *Mol. Biol. Cell*, in press. 2007
2. Umezawa A, Toyoda M. Two MSCs : Marrow stromal cells and mesenchymal stem cells. *Inflammation and Regeneration* 27(1):28-36. 2007
3. Yamada Y, Sakurada K, Takeda Y, Gojo S, Umezawa A. Single-cell-derived mesenchymal stem cells overexpressing Csx/Nkx2.5 and GATA4 undergo the stochastic cardiomyogenic fate and behave like transient amplifying cells. *Exp Cell Res*. 2006
4. Sugiki T, Uyama T, Toyoda M, Morioka H, Kume S, Miyado K, Matsumoto K, Saito H, Tsumaki N, Takahashi Y, Toyama Y, Umezawa A. Hyaline cartilage formation and enchondral ossification modeled with KUM5 and OP9 chondroblasts. *J Cell Biochem*. 2006
5. Tomita M, Mori T, Maruyama K, Zahir T, Ward M, Umezawa A, Young MJ. A comparison of neural differentiation and retinal transplantation with bone marrow-derived cells and retinal progenitor cells. *Stem Cells*. 24(10):2270-8. 2006
6. Tanaka T, Umezawa A, Tsutsumi H. [Abnormalities in the development of adrenal gland] *Nippon Rinsho*. 28;Suppl 1:756-9. 2006
7. Migita O, Umezawa A. [Disorders of pituitary gland development] *Nippon Rinsho*. 28;Suppl 1:206-11. 2006
8. Nagayoshi K, Ohkawa H, Yorozu K, Higuchi M, Higashi S, Kubota N, Fukui H, Imai N, Gojo S, Hata J, Kobayashi Y, and Umezawa A. Increased mobilization of c-kit⁺ Sca-1⁺ Lin⁻ (KSL) cells and colony-forming units in spleen (CFU-S) following de novo formation of a stem cell niche depends on dynamic, but not stable, membranous ossification. *J. Cellular Physiology* 208:188-194. 2006 AU is a corresponding author.
9. Yazawa T, Mizutani T, Yamada K, Kawata H, Sekiguchi T, Yoshino M, Kajitani T, Shou Z, Umezawa A, Miyamoto K. Differentiation of adult stem cells derived from bone marrow stroma into Leydig or adrenocortical cells. *Endocrinology*. 147(9):4104-11. 2006
10. Fukuhara Y, Li XK, Kitazawa Y, Inagaki M, Matsuoka K, Kosuga M, Kosaki R, Shimazaki T, Endo H, Umezawa A, Okano H, Takahashi T, Okuyama T. Histopathological and behavioral improvement of murine mucopolysaccharidosis type VII by intracerebral transplantation of neural stem cells. *Mol Ther*. 13(3):548-55. 2006
11. Kato S, Matsubara M, Matsuo T, Mohri Y, Kazama I, Hatano R, Umezawa A, Nishimori K. Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor-4 (LGR4, Gpr48) is essential for renal development in mice. *Nephron Exp Nephrol*. 104(2):e63-75. 2006
12. Nonaka-Sarukawa M, Yamamoto K, Aoki H, Nishimura Y, Tomizawa H, Ichida M, Eizawa T, Muroi K, Ikeda U, Shimada K. Circulating endothelial progenitor cells in congestive heart failure. *Int J Cardiol*. 2007 in press.
13. Sato K, Ozaki K, Oh I, Meguro A,

- Hatanaka K, Nagai T, Muroi K, Ozawa K. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood* 109:228-234, 2007.
14. Nagashima T, Muroi K, Kawano-Yamamoto C, Miyoshi T, Tatara R, Meguro A, Fujiwara S, Obara Y, Oh I, Kikuchi S, Sato K, Matsuyama T, Toshima M, Ohmine K, Ozaki K, Takatoku M, Mori M, Nagai T, Ozawa K. Pleocytosis after hemopoietic stem cell transplantation. *Leuk Lymphoma*. 47(8):1613-7. 2006
 15. Uesawa M, Sato K, Ozaki K, Nagai T, Muroi K, Ozawa K. Bone marrow metastasis of malignant melanoma. *Intern Med*. 45(5):341. 2006
 16. Kawano-Yamamoto C, Muroi K, Nagatsuka Y, Higuchi M, Kikuchi S, Nagai T, Hakomori SI, Ozawa K. Establishment and characterization of a new erythroblastic leukemia cell line, EEB: phosphatidylglucoside-mediated erythroid differentiation and apoptosis. *Leuk Res*. 30(7):829-39. 2006
 17. Meguro-Hashimoto A, Takatoku M, Ohmine K, Toshima M, Mori M, Nagai T, Muroi K, Ozawa K. The usefulness of magnetic resonance imaging (MRI) for disseminated trichosporosis of the gastrocnemius muscles. *J Infect*. 53(3):e135-8. 2006
 18. Sangai T, Ochiai A, et. al. Hormonal stimulation increases the recruitment of bone marrow-derived myoepithelial cells and periductal fibroblasts into the mammary gland. *Biochem Biophys Res Commun*. 11:346(4):1173-80. 2006 .
 19. Masuda M, Takeda S, Sone M, Ohki T, Mori H, Kamioka Y, Mochizuki N. Endophilin BAR domain drives membrane curvature by two newly identified structure-based mechanisms. *EMBO J*. 25: 2889-2897 2006
 20. Maeng YS, Min JK, Kim JH, Yamagishi A, Mochizuki N, Kwon JY, Park YW, Kim YM, Kwon YG. ERK is an anti-inflammatory signal that suppresses expression of NF-kappaB-dependent inflammatory genes by inhibiting IKK activity in endothelial cells. *Cell Signal* 18: 994-1005, 2006
 21. Kogata N, Arai Y, Pearson JT, Hashimoto K, Hidaka K, Koyama T, Somekawa S, Nakaoka Y, Ogawa M, Adams RH, Okada M, Mochizuki N. Cardiac ischemia activates vascular endothelial cadherin promoter in both preexisting vascular cells and bone marrow cells involved in neovascularization. *Circ Res*. 98: 897-904, 2006
 22. Fukuhara S, Sakurai A, Yamagishi A, Sako K, Mochizuki N. Vascular endothelial cadherin-mediated cell-cell adhesion regulated by a small GTPase, Rap1. *J Biochem. Mol. Biol*. 39: 132-139, 2006
 23. Linguh H, Tsuda M, Makino Y, Sakai M, Watanabe T, Ichihara S, Sawa H, Nagashima K, Mochizuki N, Tanaka S. Involvement of adaptor protein Crk in malignant feature of human ovarian cancer cell line MCAS. *Oncogene* 25:3547-3556, 2006
- I. 知的財産権の出願・登録状況
- 1) 特許取得

「心筋細胞への分化能を有する細胞」
 発明者：梅澤明弘、三好俊一郎、小川聡
 出願日：特願 2005-015539

「瘢痕のない創傷治癒能を有する細胞およびその調製方法」
 発明者：梅澤明弘、佐藤博子、貴志和生
 出願日：特願 2005-51661

「細胞増殖培地」
 発明者：梅澤明弘、高橋秀和
 出願日：特願 2005-151229

「間葉系幹細胞増殖培地」
 発明者：梅澤明弘、高橋秀和

出願日：特願 2005-151237

出願人：(株)TM セルサーチ

「コラーゲン代謝促進組成物」

発明者：梅澤明弘、吉田優子

特願出願施設内準備中

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし