

論 文 内 容 要 旨

題目 Trophic effect of adipose tissue-derived stem cells on porcine islet cells  
(脂肪由来幹細胞のブタ膵島細胞に対する保護効果)

著者 Shinichiro Yamada, Mitsuo Shimada, Tohru Utsunomiya, Tetsuya Ikemoto,  
Yu Saito, Yuji Morine, Satoru Imura, Hiroki Mori, Yusuke Arakawa, Mami  
Kanamoto and Shuichi Iwahashi

平成 26 年 4 月発行 JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH

第 187 巻第 2 号

667 ページから 672 ページに発表済

内容要旨

1 型糖尿病に対する根治的治療法として膵島移植が行われているが、インスリン離脱率の低さ、ドナーソース不足などの問題があり、未だ満足できる治療効果が得られていない。また ES 細胞・iPS 細胞といった幹細胞を用いた研究が現在盛んに行われているが、倫理的問題や遺伝子異常、発癌に関する問題がある。そこで我々は、そのような問題点を解決しうる脂肪由来間葉系幹細胞 (ADSC; adipose tissue derived mesenchymal stem cell) に注目した。近年、ADSC は様々な栄養因子を分泌することで細胞の再生を促進することが報告されているが、膵島細胞に対する保護効果については不明な部分も多い。今回我々は、ADSC のブタ膵島細胞に対する保護効果の機序解明を目的とし以下の研究を行った。

in vitro において、Ricordi 変法を用いてブタから分離した膵島細胞 ( $1.0 \times 10^4$  cells / well) とヒト ADSC STEMPRO<sup>®</sup> ( $1.0 \times 10^4$  cells / well) を Transwell<sup>®</sup> を用いて細胞接触がない状態で共培養し、48 時間後の膵島細胞 viability を tripan blue 染色にて、また、培養液中の VEGF・IL-6・TNF- $\alpha$  を ELISA 法にて測定し膵島細胞単独培養群と比較した。さらに、培養液中に抗 VEGF 抗体である Bevacizumab (Bev)、抗 IL-6R 抗体である Tocilizumab (Toc) を投与しその影響を検討した。

得られた結果は以下の如くである。

- 膵島細胞の viability は単独培養群に比して ADSC 共培養群で有意に良好であり ( $84.0 \pm 5.3\%$  vs.  $65.4 \pm 5.1\%$ ,  $P < 0.05$ )、ブタ膵島から分泌されるインスリン濃度も共培養群で有意に上昇していた ( $34.5 \pm 10.3$  vs.  $2.1 \pm 0.9$  mIU/mL,  $P < 0.05$ )。

様式 (8)

- 2) ADSC 共培養群で、培養液中の VEGF、IL-6 濃度が有意に上昇していたが ( $888.7 \pm 42.4$  vs.  $55.5 \pm 5.0$  pg/mL,  $3500 \pm 68.7$  vs.  $175 \pm 27.5$  pg/mL, 共に  $P < 0.05$ )、TNF- $\alpha$  濃度は差を認めなかった。
- 3) 培養液中に Bev を投与したところ膵島細胞の viability、インスリン濃度ともに共培養群に比して有意に低下しており ( $66.7 \pm 6.1\%$  vs.  $84.0 \pm 5.3\%$ ,  $18.0 \pm 2.7$  vs.  $34.5 \pm 10.3$  mIU/mL, 共に  $P < 0.05$ )、細胞保護効果が打ち消されていることが示された。しかし Toc を投与しても膵島細胞 viability、インスリン濃度は共培養群と差を認めなかった。

これらの結果から、ADSC は細胞接触なくブタ膵島細胞保護作用を有し、その保護作用には VEGF を主とする液性因子が寄与していると考えられ、さらに詳細な膵島保護作用の探索によって、ADSC が I 型糖尿病治療を大きく前進させる可能性が示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

報告番号	甲医第 <b>1218</b> 号	氏 名	山田 眞一郎
審査委員	主査 丹黒 章 副査 佐田 政隆 副査 松久 宗英		

題目 Trophic effect of adipose tissue-derived stem cells on porcine islet cells

(脂肪由来幹細胞のブタ膵島細胞に対する保護効果)

著者 Shinichiro Yamada, Mitsuo Shimada, Tohru Utsunomiya, Tetsuya Ikemoto, Yu Saito, Yuji Morine, Satoru Imura, Hiroki Mori, Yusuke Arakawa, Mami Kanamoto and Shuichi Iwahashi

平成 26 年 4 月発行 JOURNAL OF SURGICAL RESEARCH  
 第 187 巻第 2 号 667 ページから 672 ページに発表済  
 (主任教授 島田 光生)

要旨 1 型糖尿病に対する根治的治療法として膵島移植が行われているが、インスリン離脱率の低さ、ドナーソース不足などの問題があり未だ満足できる治療効果が得られていない。

脂肪由来間葉系幹細胞 (ADSC; adipose tissue derived mesenchymal stem cell) は様々な栄養因子を分泌することで細胞の再生を促進することが報告されている。

そこで申請者らは、ADSC のブタ膵島細胞に対する保護効果とその機序解明を目的とし、in vitro において、Ricordi 変法を用いてブタから分離した膵島細胞とヒト ADSC STEMPRO® (各々  $1.0 \times 10^4$  cells / well) を Transwell®を用いて細胞接触がない状態で共培養し、48 時間後の膵島細胞 viability、培養液中の VEGF・IL-6・TNF- $\alpha$  を測定し膵島細胞単独培養群と比較した。さらに、培養液

中に抗 VEGF 抗体である Bevacizumab (Bev)、抗 IL-6R 抗体である Tocilizumab (Toc) を投与しその影響を検討した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) 膵島細胞の viability は単独培養群に比して ADSC 共培養群で有意に良好であり( $84.0 \pm 5.3$  vs.  $65.4 \pm 5.1\%$ )、ブタ膵島から分泌されるインスリン濃度も共培養群で有意に上昇していた( $34.5 \pm 10.3$  vs.  $2.1 \pm 0.9$  mIU/mL)。
- 2) ADSC 共培養群で、培養液中の VEGF、IL-6 濃度が有意に上昇していたが( $888.7 \pm 42.4$  vs.  $55.5 \pm 5.0$  pg/mL,  $3500 \pm 68.7$  vs.  $175 \pm 27.5$  pg/mL)、TNF- $\alpha$  濃度は差を認めなかった。
- 3) 培養液中に Bev を投与したところ膵島細胞の viability、インスリン濃度ともに共培養群に比して有意に低下しており( $66.7 \pm 6.1$  vs.  $84.0 \pm 5.3\%$ ,  $18.0 \pm 2.7$  vs.  $34.5 \pm 10.3$  mIU/mL)、細胞保護効果が打ち消されていることが示された。しかし Toc を投与しても膵島細胞 viability、インスリン濃度は共培養群と差を認めなかった。

以上の結果から、ADSC はブタ膵島細胞保護作用を有し、その作用には VEGF を主とする液性因子が寄与していると考えられた。本研究は、膵島移植の成績向上における ADSC の有用性とその機序解明に寄与するところが大きく、学位授与に値すると判定した。