



Title	Skeletal Myoblast Cells Enhance the Function of Transplanted Islets in Diabetic Mice
Author(s)	門, 威志
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/103085">https://hdl.handle.net/11094/103085</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論 文 内 容 の 要 旨  
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	門 威志
論文題名 Title	Skeletal Myoblast Cells Enhance the Function of Transplanted Islets in Diabetic Mice (糖尿病モデルマウスにおいて骨格筋由来筋芽細胞は移植膵島のインスリン分泌能を向上させる)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>1型糖尿病は主に自己免疫学的機序により膵島のうちインスリンを分泌する<math>\beta</math>細胞が破壊される疾患であり、インスリン自己注射、人工膵島、膵臓移植の他、低侵襲かつ膵島機能を組織機能的に補完する方法として膵島移植が行われている。しかしながら膵島移植の治療効果は不十分で、複数回の投与を要することが課題である。そこで、増殖因子であるvascular endothelial growth factor (VEGF)、hepatocyte growth factor (HGF)、stromal-derived factor-1<math>\alpha</math> (SDF-1<math>\alpha</math>)などを複数分泌する骨格筋由来筋芽細胞に着目し、筋芽細胞の共移植による膵島移植の治療効果を評価することを目的とした。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>膵島は以下のようにオスのICRマウス（10-12週齢、35-40g）から採取した。総胆管にコラゲナーゼを注入後に膵臓を摘出し、37°Cで18分消化して密度勾配遠心分離法で回収した。実験には37°Cで1晩の培養後に使用した。筋芽細胞（ICRマウス 2-5日齢、コスモバイオ）は3-5継代後に使用した。以下の実験はn=3以上で行い、p&lt;0.05を有意差ありとした。</p>	
<p>膵島（30個）と筋芽細胞（<math>1.0 \times 10^5</math>個）を72時間共培養し（以下共培養群）、培養上清中のサイトカイン濃度、膵島の遺伝子発現およびインスリン分泌能を評価した。共培養群の上清では、膵島単独（以下単独培養群）と比較してVEGF、HGF、SDF-1<math>\alpha</math>が高濃度であった（VEGF； <math>1318 \pm 16</math> vs <math>203 \pm 5</math> pg/mL、HGF； <math>5504 \pm 53</math> vs <math>33 \pm 14</math> pg/mL、SDF-1<math>\alpha</math>； <math>570 \pm 9</math> vs <math>145 \pm 9</math> pg/mL）。共培養群では、膵島の分化に関連する遺伝子である<i>ins2</i>、<i>neurog3</i>の発現亢進を認めた（<i>ins2</i>； 1.57倍、<i>neurog3</i>； 1.92倍）。インスリン分泌能を評価するために、高グルコース液（20mM）と低グルコース液（3.3mM）で交互に1時間ずつ培養し、上清中のインスリン濃度の比を求めGlucose-stimulated insulin secretion index (GSIS index)を算出したところ、共培養群のGSIS indexは高値であった（<math>3.4 \pm 0.5</math> vs <math>1.8 \pm 0.2</math>）。</p>	
<p>続いて動物実験で検証した。オスのICRマウス（8-10週齢、35-40g）にストレプトゾシン160mg/kgを経静脈投与し、隨時血糖が2回続けて400mg/dL以上となったマウスを糖尿病マウスとした。腎被膜下に膵島（200個）を単独（以下単独移植群）または筋芽細胞（<math>1.0 \times 10^6</math>個）と共に移植（以下共移植群）し、移植後の血糖値の推移を評価した。共移植群ではグラフト摘出まで、随时血糖値が単独移植群より約200mg/dL低い180mg/dL未満で推移した。また移植後に血糖値が正常化したマウスの割合も多かった（100 vs 25%）。グラフト摘出後、すべてのマウスにおいて随时血糖値は360mg/dL以上へ再上昇した。摘出した膵島グラフトの組織学的検査においては、共移植群においてインスリン陽性細胞面積が広く（<math>0.28 \pm 0.08</math> vs <math>0.05 \pm 0.01</math> mm<sup>2</sup>）、CD31陽性微小血管が多く（<math>6.2 \pm 1.1</math> vs <math>2.7 \pm 1.0</math> %）、<math>\alpha</math>-SMAとCD31がいずれも陽性である成熟血管が多く認められた（<math>23.0 \pm 5.4</math> vs <math>7.1 \pm 1.6</math> %）。以上から、筋芽細胞が血管新生を増殖させることで、間接的に移植膵島の機能を向上させる可能性が示唆された。</p>	
<p>筋芽細胞と膵島細胞の直接的効果を検討すると、共培養群は単独培養群と比較して、Gene Ontology解析でJAK-STAT経路の活性化が認められた。JAK-STAT経路はIL-6 familyにより活性化されるが、共培養群の上清では、単独培養群と比較してIL-6が高濃度であった（<math>1211 \pm 52</math> vs <math>194 \pm 21</math> pg/mL）。共培養群の膵島細胞におけるpSTAT3はウエスタンブロッティングで10倍以上に亢進しており、JAK阻害薬の添加によりその亢進は抑制された。さらに、共培養群において、細胞増殖と細胞周期に関連する遺伝子である<i>mKi67</i>、<i>cdk1</i>の発現亢進を認めた（<i>mKi67</i>； 1.50倍、<i>cdk1</i>； 1.80倍）。移植後7日目の移植膵島において、共移植群におけるpSTAT3陽性細胞の割合（<math>3.8 \pm 1.1</math> vs <math>0.6 \pm 0.4</math> %）、BrdU陽性細胞の割合（<math>1.5 \pm 0.5</math> vs <math>0.3 \pm 0.1</math> %）が高値であった。以上から、筋芽細胞が分泌するIL-6が、膵島のJAK-STAT経路を直接的に活性化することで、膵島機能が向上する可能性が示唆された。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>筋芽細胞の共移植によって膵島機能が向上することを示した。この作用は、血管新生を介した間接的効果と、分泌するIL-6による直接的効果が関与する可能性がある。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 門 威志			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査 大阪大学教授	江口 英利	署 名
	副 査 大阪大学教授	新谷 旗	署 名
副 査 大阪大学教授	山岸 浩文	署 名	
<b>論文審査の結果の要旨</b>			
<p>本論文では、マウスの骨格筋由来筋芽細胞（筋芽細胞）と膵島を薬剤誘発糖尿病マウスの腎被膜下に共移植し、膵島単独移植との比較にて、隨時血糖値およびグルコース負荷試験で血糖値が有意に低下したことを報告した。摘出した膵島グラフトの組織学的検査では、共移植群においてインスリン陽性細胞面積が有意に広く、CD31陽性微小血管が有意に多く、<math>\alpha</math>-SMAとCD31がいずれも陽性である成熟血管が有意に多く認められ、筋芽細胞が血管新生を増殖させることで、間接的に移植膵島の機能を向上させる可能性が示唆された。また、筋芽細胞が膵島に与える直接的効果を検討すると、共培養群は単独培養群と比較して、Gene Ontology解析でJAK-STAT経路の亢進が認められ、細胞実験および動物実験で共培養群、共移植群におけるJAK-STAT経路の亢進を確認した。筋芽細胞が膵島のJAK-STAT経路を直接的に活性化させることで、膵島機能が向上する可能性が示唆された。以上より、筋芽細胞の共移植により、糖尿病化マウスの血糖値の改善を認め、1型糖尿病に対する治療効果を認めた。その機序として筋芽細胞が分泌するサイトカインによる血管新生と膵島への直接的効果が考えられた。本研究は、1型糖尿病患者に対する新規膵島移植法の開発に向け、大きな意義を持つと考えられ、学位論文に値する。</p>			