OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Creation of a Rich Subcutaneous Vascular Network with Implanted Adipose Tissue-Derived Stromal Cells and Adipose Tissue Enhances Subcutaneous Grafting of Islets in Diabetic Mice
Author(s)	文元, 雄一
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54106
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【145】

氏名	文元雄一（ふみもとゆういち）
博士の専攻分野の名称	博士（医学）
学位記番号	第　23418　号
学位授与年月日	平成21年9月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Creation of a Rich Subcutaneous Vascular Network with Implanted Adipose Tissue-Derived Stromal Cells and Adipose Tissue Enhances Subcutaneous Grafting of Islets in Diabetic Mice （ADSCsと脂肪組織を用いて作成した皮下血管床は皮下膵島移植を可能にする）
論文審査委員	（主査） 教授　澤　芳樹 （副査） 教授　土岐祐一郎　　教授　下村伊一郎

論文内容の要旨

〔目　的〕

近年、再生医学が急速に発展しており、消化器分野においてもインスリン産生細胞や肝細胞の再生に成功したとの報告があり、その臨床応用がおおいに期待されている。これら再生細胞の臨床応用時において、移植部位の条件としては安全かつ容易に移植できるほか、有害事象（腫瘍化など）が発生したときに速やかに摘出等、適切に対処できることが求められる。そこで、我々は最も理想的な再生細胞の移植部位として皮下組織に注目した。しかし、皮下移植は上記の条件を満たす多数の長所がある反面、皮下組織の血管構築が阻であるためにグラフトが虚血に陥るという短所も有する。

adipose tissue-derived stromal cells（以下ADSCs）は強力な血管新生能を有することが知られている。in vivoにおいても下肢虚血モデル動物にADSCsを局所注射することによって血管新生が誘導され血行が再開するとの報告が多数認められる。また、この知見を基盤とし、脂肪組織を皮下移植する際にADSCsを同時移植することで血管網が構築され、脂肪組織が良好に生着するとの報告がある。そこで我々は、ADSCsに脂肪組織を併用することが血管構築に有効と想定した。さらにこの手法にて皮下組織に移植可能な血管床が作成可能かどうかを調べるため、マウスの膵島皮下移植のモデルを用いて検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

1）ADSCsの評価

C57BL/6Jマウスの鼠径部皮下脂肪から、ADSCsを分離した。検鏡下ではADSCsは紡錘型のfibroblast様の細胞形態を呈し、細胞増殖も旺盛であった。ADSCsの表面マーカーをFACSにて確認したところ、間葉系幹細胞マーカーであるCD44、Sca1の発現を認めたが、造血幹/血管内皮細胞マーカーであるCD31、CD34、CD45、CD117の発現は認めなかった。

2）ADSCsの血管新生能

Ⅰ群：ADSCs(5×10^5cells)+脂肪（150μl）、Ⅱ群：ADSCs（5×10^5cells）、Ⅲ群：脂肪（150μl）、Ⅳ群：無処置をそれぞれC57BL/6Jマウスの背部皮下に移植し、4週間後に血管新生能を評価した。Ⅰ群では肉眼的にも背部皮下に良好な血管網が確認できたが、他の3群では血管網が確認できなかった。組織学的評価ではHE染色にてⅠ群では、赤血球を含んだ多数の血管が確認できた。4群の皮下組織の血管数を定量化するため、血管内皮細胞のマーカーであるvon willebrand factorにて免疫染色して、血管数を計測したところ、Ⅰ群：57+12/mm^2、Ⅱ群：29+7/mm^2、Ⅲ群：21+4/mm^2、Ⅳ群：16+4/mm^{2}であった。これらを多群間比較すると、Ⅰ群は他の3群に比較し、有意差をもって血管数が多かった。

3）血管新生処置後の膵島皮下移植

血管新生処置後の4群のC57BL/6Jマウス（STZ 250mg/dody weight i.p.にて高血糖化）の背部皮下にそれぞれ600個の膵島を移植（同種同系移植）した。Ⅰ群では移植後1週間以内に血糖値が正常化し、8週間以上維持できたが、グラフト膵島を摘出すると血糖は再び高値を示した。Ⅱ群では一部のマウスで血糖値の低下がみられたが、正常値にまでは至らなかった。Ⅲ・Ⅳ群では血糖の低下は見られなかった。Ⅰ群に腹腔内グルコース負荷試験（移植後3週間目）を試行すると、グルコース負荷15分後に血糖は最高値を示し、その後、速やかに低下した。これは正常マウスとほぼ同様の血糖値の推移を示した。Ⅰ群の組織学的評価（移植後8週間目）では、グラフト膵島は皮下組織内にてviableな状態で生着していることが確認でき、インスリン染色にても陽性であった。

〔総　括〕

ADSCsに脂肪組織を併用することでマウスの皮下組織に良好な血管床を作成しえた。さらに本手法で作成した皮下血管床に膵島が生着し、良好に機能することが確認できた。本手法を用いることにより、再生細胞の皮下移植が十分可能であることが示唆され、再生医療の臨床応用に向け、大きく寄与しうると考える。

論文審査の結果の要旨

本研究は新規膵島皮下移植法の開発を目的とし、自己組織を用いた皮下血管床の作製について、マウスを用いた動物実験にて検討している。すなわち脂肪組織由来幹細胞（ADSCs）と脂肪組織を併用し、さらにスペーサーを同時に留置することで、皮下組織内に良好な血管床を作製することに成功した。ADSCs単独投与下では皮下組織内での血管新生は不十分であり、ADSCsに脂肪組織を併用することで血管新生が有意に増強されることを確認した。また、スペーサーを利用することにより血管床の中心部分に膵島の移植スペースが簡便に作製できた。本手法にて作製した皮下血管床に同種同系のマウス膵島を移植したところ、移植膵島は皮下組織内に生着し、良好に機能しうることを証明した。自己組織（ADSCs、脂肪）を用いた本手法は倫理面や安全性の点からも問題が少なく、Ⅰ型糖尿病患者に施行されている膵島移植への臨床応用もおおいに期待できる。本研究は独創性も高く、学位に値するものと認める。