



Title	Efficacy of Autologous Skeletal Myoblast Cell Sheet Transplantation for Liver Regeneration in Liver Failure
Author(s)	遠矢, 圭介
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/93040
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、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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	遠矢 圭介
論文題名 Title	Efficacy of Autologous Skeletal Myoblast Cell Sheet Transplantation for Liver Regeneration in Liver Failure (自家骨格筋由来筋芽細胞シート移植治療は肝不全に対して肝再生効果を有する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 ウイルス性肝炎やアルコール性肝炎、非アルコール性脂肪性肝炎といった肝疾患は、進行すると肝不全に至り生命を脅かす疾患である。現在の肝不全に対する唯一の治療法は肝移植であるが、絶対的なドナー不足があり十分に普及していない。また、肝移植自体の侵襲の大きさや術後合併症のリスク、免疫抑制剤が不可欠であるといった背景から適応症例が限られている。そのため肝不全に対する新たな治療法の開発の研究が多く行われているが、いまだ確立した治療法はない。今回、肝再生に関与することが報告されている様々なサイトカインを分泌する自家骨格筋由来筋芽細胞シートに着目し、それを用いた新たな肝不全治療の開発を最終目的とし、自家骨格筋由来筋芽細胞シートが肝再生に与える影響を検討することとした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 まず、細胞実験にて肝臓を構成する細胞（肝細胞、肝星状細胞、類洞内皮細胞）に筋芽細胞が与える影響を検討した。ヒト筋芽細胞（HSMM）をヒト肝細胞（THLE-2）と共培養し、その増殖能を検討したところ、24時間後における共培養群の細胞数は単独群と比較して1.1倍に増加し、またKi-67陽性細胞率は1.6倍に増加した（以下を含め、$p < 0.05$を有意差ありとした）。次にHSMMをTGF-β1刺激下にヒト肝星状細胞（LX-2）と共培養すると、24時間後における共培養群の、LX-2の活性化に関与する<i>ACTA2</i>、<i>COL1α1</i>遺伝子のmRNAの発現が、単独群と比較してそれぞれ32.9%、64.1%に減少した。最後に、HSMMをヒト類洞内皮細胞（TMNK-1）と共培養し、Tube formation assayを用いて血管新生を検討すると、24時間後における共培養群の血管様構造の構築が単独群と比較して16.7倍に増加した。以上より、筋芽細胞は、肝臓を構成する肝細胞、肝星状細胞、類洞内皮細胞に対して、それぞれ肝細胞増殖の促進、線維化の抑制、血管新生の促進の作用を有することが示された。 続いてC57BL/6Jマウスを用いた動物実験による検討を行った。まず、マウスの下腿より筋芽細胞を接着培養法にて単離し、温度応答性培養皿を用いて筋芽細胞シートを作成した。次にマウスにチオアセトアミドを腹腔内投与し、薬剤性肝障害モデルマウスを作成した。薬剤投与1週間後に、筋芽細胞シート移植群では開腹下にシート移植を、コントロール群では開腹のみを行った。引き続き薬剤投与を継続し、移植3週間および5週間後に肝臓の評価を各群5匹行った。移植3週間後および5週間後のいずれにおいても、Sirius red染色にて評価した肝臓の線維化は、筋芽細胞シート移植群においてコントロール群と比較して軽度であり（Sirius red染色細胞の割合：3週間後；$2.0 \pm 0.2\%$ vs $4.5 \pm 0.3\%$、5週間後；$1.9 \pm 0.1\%$ vs $11.6 \pm 1.5\%$）、また免疫組織化学染色にて評価したKi-67陽性細胞率は増加した（3週間後；$29.0 \pm 1.9\%$ vs $6.1 \pm 0.6\%$、5週間後；$32.0 \pm 1.3\%$ vs $10.1 \pm 1.2\%$）。肝臓から抽出したmRNAを用いた定量RT-PCRでは、筋芽細胞シート移植群においてコントロール群と比較して<i>Acta2</i>、<i>Coll1α1</i>遺伝子のmRNA発現はそれぞれ3週後；92%、49%、5週後；38%、30%に減少した。さらにマウス70%肝切除モデルを各群5匹作成した。筋芽細胞シート移植群では残肝の表面にシート移植を、コントロール群では肝切除のみを行った。肝切除2日後において、肝重量体重比は筋芽細胞シート移植群においてコントロール群と比較して増加し（$4.4 \pm 0.2\%$ vs $3.8 \pm 0.5\%$）、Ki-67陽性細胞率は増加した（$31.7 \pm 4.0\%$ vs $13.4 \pm 2.2\%$）。また、リン酸化Erk1/2およびAktの蛋白発現量を、肝臓より抽出した蛋白を用いたWestern blot法にて評価した。筋芽細胞シート移植群においてコントロール群と比較して、それぞれ3.7倍、5.6倍に増加した。最後に90%肝切除モデルで生存期間を評価すると、筋芽細胞シート移植群はコントロール群と比較し生存期間が延長した。以上より、肝障害モデルマウスにおいて筋芽細胞シートは、肝線維化の抑制効果および肝再生の促進効果を持つことが示された。 〔総括(Conclusion)〕 骨格筋由来筋芽細胞シートの肝線維化抑制効果、肝再生効果を示した。この結果より、骨格筋由来筋芽細胞シート移植が肝不全に対する新たな治療法となり得る可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 遠矢 圭介				
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	山本 浩文	署 名
	副 査	大阪大学教授	竹原 敏郎	署 名
論文審査の結果の要旨				
骨格筋由来筋芽細胞を用いた細胞シートが、心不全に対して心機能の改善効果をもたらすことがこれまでに報告されており、筋芽細胞より放出される種々のサイトカインがその機序のひとつであると考えられている。それらのサイトカインが肝再生に寄与するというこれまでの多くの報告に着目し、本論文では骨格筋由来筋芽細胞シートが肝不全において肝再生効果を有するかを検討している。細胞実験や動物実験において、肝臓を構成する細胞や障害肝に対して与える影響を詳細に検討し、骨格筋由来筋芽細胞シートが肝再生を有することを示した。新たな肝再生治療の開発における足がかりとなる可能性を示した本論文は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。				