

令和 6 年 6 月 11 日現在

機関番号：33916

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16391

研究課題名（和文）Muse細胞を用いた高効率な膵島移植法の確立

研究課題名（英文）Establishment of a highly efficient islet transplantation method with Muse cells

研究代表者

會田 直弘（Aida, Naohiro）

藤田医科大学・医学部・講師

研究者番号：40750500

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,500,000円

研究成果の概要（和文）：Muse細胞の共移植により膵島移植の効果が向上するか検討した。8週齢糖尿病ラットに対して、ラット膵島の単独投与もしくはヒトMuse細胞、ヒトMSCの共移植を行った（各群5例）。血糖改善率（随時400mg/dl以下）はMuse細胞共移植群は80%（4/5例）と良好であり、単独投与群40%（2/5例）、MSC共移植群20%（1/5例）と比較して良好であった。Muse細胞との共移植により、膵島移植の効果が向上する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵島移植では投与された膵島の大部分が死滅し単回の移植による効果は限定的である。そのため複数回移植が行われることが多い。本研究成果では、Muse細胞と共移植することで1回ごとの膵島移植効率が向上することが示唆された。Muse細胞との共移植が臨床応用された場合、1回あたりの膵島移植効果が向上することで、移植回数
の減少による身体的、経済的負担の軽減となること、また、1人当たりの必要移植回数が減るため、より多くの患者へ移植機会が提供できる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether co-transplantation of islet and Muse cells could improve the efficacy of islet transplantation. Eight-week-old diabetic rats were administered rat islets alone or co-transplantation of rat islets with human Muse cells or human MSCs (five cases per group). The blood glucose improvement rate (400 mg/dl or less at any time) was 80% (4/5 cases) in the Muse cell co-transplantation group, compared with 40% (2/5 cases) in the islet alone group and 20% (1/5 cases) in the MSC co-transplantation group. The Muse cell co-transplantation group showed a higher blood glucose improvement rate than the other two groups. These results suggest that co-transplantation with Muse cell may improve the efficacy of islet transplantation.

研究分野：膵島移植

キーワード：膵島移植 1型糖尿病 Muse細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

インスリン分泌機能が枯渇した 1 型糖尿病患者での唯一の根治療法は膵島移植である。十分な膵島量を移植できれば低侵襲で効果的な根治療法となるが、現状では投与した膵島の大部分が死滅してしまうため、インスリン離脱までには数回の移植を要する。このため移植必要回数を減らす、新たな高効率な膵島移植法の確立が求められている。

現在の膵島移植は経門脈的投与であるため、移植した膵島組織は肝臓内に散在する。生着率の向上のためにはこれらの散在した部位の組織低酸素や炎症反応の軽減を行う必要がある。Muse 細胞 (Multi-lineage differentiating Stress Enduring cell) は、血管投与のみで障害部位に選択的に集積し傷害細胞を置換する。この優れた遊走能に加えて、抗炎症効果や抗アポトーシス効果を併せ持っている。加えて Muse 細胞は腫瘍性がなく、すでに心筋梗塞や脳梗塞での治験が行われている。安全性と有効性が示されており、膵島移植においても臨床応用が期待できる。そこで本研究では Muse 細胞と膵島移植の共移植による効果を示し、高効率な膵島移植法の確立を目指した。

2. 研究の目的

投与した膵島組織の大半が死滅してしまう原因は組織低酸素を一因とした複雑な炎症反応が存在するためである。そこで我々は Muse 細胞が障害部位に遊走し、自発的に傷害部位で求められる細胞へ分化し、サイトカイン産生にも関与する稀有な能力に着目した。生着部位を同定することが難しい膵島移植において効率よく移植膵島周囲に到達が可能である点、また、複雑な病態において、Muse 細胞のもつ多数の能力が非常に有効と考えた。Muse 細胞との共移植により膵島移植の効率が向上するか否かを検討した。

3. 研究の方法

本研究では臨床応用されている経門脈投与による膵島移植での検討を行うため、ラット糖尿病モデルを使用することとした。当初の計画ではラット膵島とラット Muse 細胞との共移植を目指し、下記の通り研究を施行した。

1) ラットより骨髄 MSC を培養し Muse 細胞の分取を行う。

2) ラット糖尿病モデルを作成し膵島移植実験を行う。

2-1) ラット糖尿病モデルの作成

8 週齢ラット(200-250g)に対して Streptozotocin 70mg/kg を投与し糖尿病化する。連続 2 回の随時血糖が 400mg/dl 以上で糖尿病モデルとした。

2-2) 膵島単独移植効果の検討

基本となる膵島単独投与の効果を確認するため、糖尿病モデルに対して 600 islets、300 islets、200 islets を各群 5 例ずつ移植し、その後 8 週の血糖推移と成長を検討した。

2-3) 膵島 300 islets と 10^4 cell の Muse 細胞もしくは MSC との共移植を行い、移植後 8 週の血糖推移を比較した。

4. 研究成果

1) ラット骨髄からの Muse 細胞分取

ラット骨髄から MSC を抽出し 3 週間培養後に FACS にて SSEA-3 陽性細胞を回収した。MSC の抽出および培養は良好であったが、FACS では SSEA-3 陽性細胞の検出は 0.5-1.0% と非常に低く、十分な細胞数の確保が困難であった。条件を変更し培養、FACS を計 7 回施行したが分取率は向上しなかった。Muse 細胞の存在が少数であること、また、培養条件が不良であることが考えられた。共移植に使用するのは困難であると考え、ヒト Muse 細胞に着目した。ヒト Muse 細胞は抗原性が低く他の異種移植で免疫抑制療法なく 7 週以上生着を得ている。そこでラット膵島とヒト Muse 細胞の共移植を行うこととした。

2) ラット膵島移植

2-2) 投与膵島量の決定

600islets では 4/5 例が 8 週の観察終了時に糖尿病治癒(随時血糖 200mg/dl 以下)に至った。300islets では 2/5 例が糖尿病治癒、200islets では 1 例も治癒には至らなかった(図 1)。このことから、300islets を基準として共移植の効果を検討した。

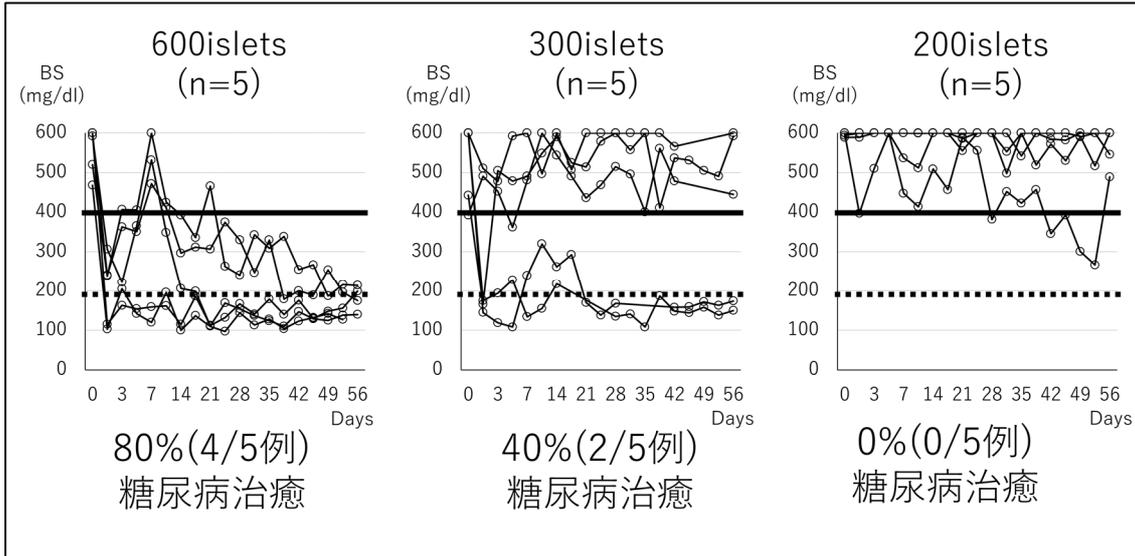


図 1 膵島単独投与後の血糖推移

2-3) Muse 細胞もしくは MSC との共移植

8 週齢糖尿病ラットに対して、ラット膵島(300islets)とヒト Muse 細胞あるいはヒト MSC の共移植(10^4 cells)を行った(各群 5 例)。Muse 細胞共移植群の糖尿病治癒率は 40%(2/5 例)、MSC 共移植群は糖尿病治癒率 20%(1/5 例)であり、前述の単独投与群と同等であった。しかし、随時血糖値 400mg/dl とする血糖改善率を比較すると、Muse 細胞共移植群は 80%(4/5 例)と単独投与群の 40%(2/5 例)と比較して良好であった(図 2)。MSC 共移植群においても血糖改善率は 20%(1/5 例)と単独投与群と同等であり、Muse 細胞の共移植が血糖改善に寄与している可能性が示唆された。

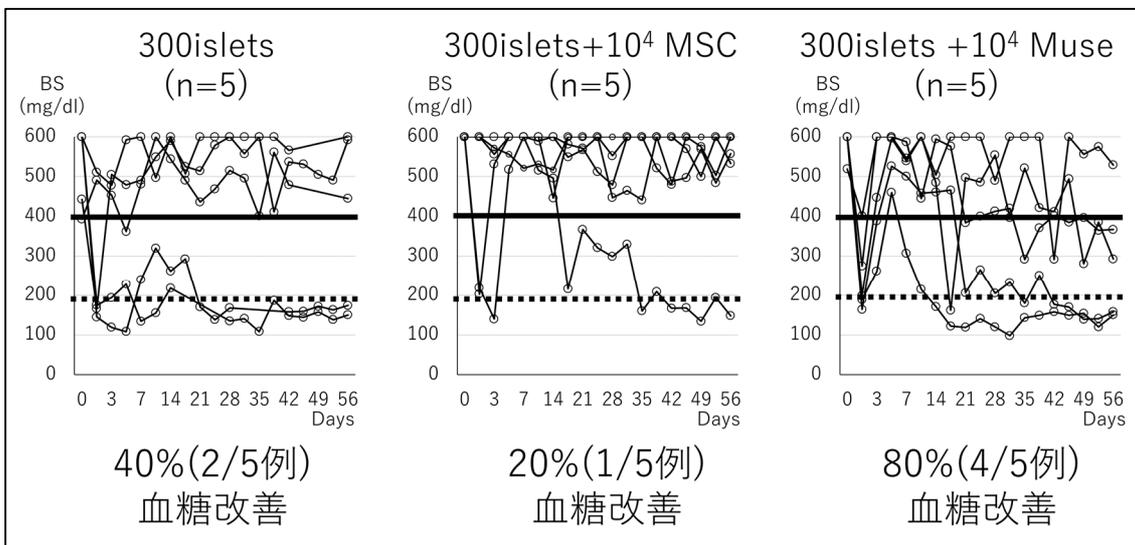


図 2 膵島移植後の血糖値の推移

また、体重増加に着目すると MSC 共移植群では最終体重が 296[279-386]g であるのに対し、Muse 細胞共移植群では最終体重が 343[332-371]g と高値であった(図 3)。Muse 細胞共移植群ではいずれの個体でも成長障害が緩和されており、その背景として血糖改善効果が関与している可能性も示唆された。

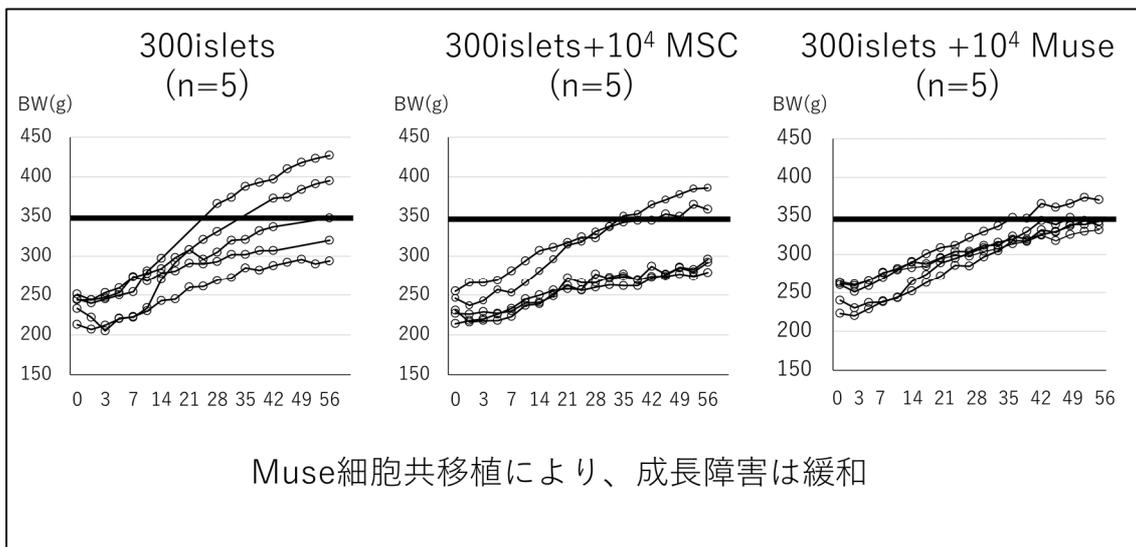


図 3 膵島移植後の体重の推移

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 會田直弘、伊藤泰平、栗原啓、劍持敬
2. 発表標題 ラット膵島に対するMuse細胞共移植効果の検討
3. 学会等名 第51回日本膵・膵島移植学会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	出澤 真理 (Dezawa Mari) (50272323)	東北大学・医学系研究科・教授 (11301)	
研究協力者	若尾 昌平 (Wakao Shohei) (80511948)	東北大学・医学系研究科・講師 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------