

2. コノフィリンとベータセルリン $\delta 4$ による膵 β 細胞の分化誘導

北村 竜一 (群馬大・生調研・細胞調節分野,
防衛医大第3内科)

小島 至

(群馬大・生調研・細胞調節分野)

【背景・目的】 糖尿病の再生医療を実現する上で、有効な分化誘導因子の選択は重要な課題である。我々は β 細胞分化を促進する因子としてアクチビン (Act) およびベータセルリン (BTC) の有用性を明らかにするとともに、これら因子の分化誘導作用のみを発現する因子コノフィリン (CnP), BTC- $\delta 4$ についても報告してきた。今回、CnP と BTC- $\delta 4$ の組み合わせによる β 細胞分化誘導作用について検討を行ない Act+BTC と比較した。**【方法】** 膵前駆細胞モデル AR42J 細胞および新生ラット膵導管上皮細胞を用いて実験を行った。**【結果】** AR42J 細胞は、Act+BTC および CnP+BTC- $\delta 4$ によりインスリン (Ins) 陽性細胞に分化したが、CnP+BTC- $\delta 4$ により分化した細胞は分化後も増殖を続け、結果的に細胞数、Ins 含量ともに Act+BTC 処理細胞の 10 倍以上となった。また Act+BTC 処理細胞と異なり、CnP+BTC- $\delta 4$ 処理細胞はブドウ糖応答性に脱分極し、Ins 分泌能も増加した。遺伝子発現を解析するとグルコキナーゼの発現が増加しており、これがブドウ糖応答性の獲得に関与していると考えられた。新生ラット膵導管上皮細胞においても、CnP+BTC- $\delta 4$ は Act+BTC より有効で、Act+BTC 処理群に比較して CnP+BTC- $\delta 4$ により Ins 陽性細胞へと分化した細胞はよく増殖し、細胞数、Ins 含量は 4-5 倍に達した。またブドウ糖に反応して Ins 分泌が約 4 倍に増加した。この Ins 産生細胞を用いて偽膵島を作製し、ストレプトゾトシンを投与した糖尿病ヌードマウスの門脈内に移植することにより血糖をコントロールすることができた。**【結論】** CnP と BTC- $\delta 4$ は β 細胞分化を促進させる上できわめて有効である。

3. マウス DSS 腸炎における腸管粘膜再生の観点からみた創傷治癒の検討

坪井香保里, 山口 悟, 橋本 信次

堤 莊一, 浅尾 高行, 桑野 博行

(群馬大院・医・病態総合外科)

【目的】 炎症性腸疾患 (UC) の治療においては、腸管の炎症制御だけでなく良好な腸管粘膜の創傷治癒促進をはかることが重要である。間葉系幹細胞は可塑性を持っていることが明らかにされ、胚を越えた分化が示されている。腸管上皮を修復するためマウス DSS 腸炎における腸管粘膜再生の観点に基づいた創傷治癒において骨髄投

与による検討を行った。**【方法】** 8~10 週齢の C57BL/6 雌マウスに 3%DSS (Dextran Sodium Sulfate, M.W. 40,000) 水溶液を連日 7 日間自由引水させ、8 日目から蒸留水に変えて UC モデルを作成。(1) C57BL/6-Tg (ACTbEGFP) 雌マウスの大腿骨・脛骨より骨髄を採取。治療群: DSS 投与後 5 日目, 3×10^7 /ml の骨髄を尾静注。コントロール群: PBS 1ml を尾静注。(2) DSS 投与 5 日目, 10 日目に体重評価。(3) DSS 投与 5 日目, 10 日目に腸管の炎症を評価。ホルマリン固定腸管標本を 1% アルシアンブルーで染色し、びらん面積を測定。**【結果】** 同種骨髄細胞の尾静注によりびらん面積が有意に縮小し、減少した体重も有意に増加した。再生・修復された粘膜で GFP (+) 細胞は認められなかった。**【考察】** GFP (+) ドナー由来の細胞は確認できなかったが、骨髄投与で大腸粘膜のびらんの改善を認め、傷害された粘膜の再生・修復に骨髄幹細胞の関与が示唆された。骨髄幹細胞は自身の細胞からの誘導も考慮すべき点である。骨髄投与の間接的効果として IL-1 など炎症性サイトカイン、VEGF, EGF, TGF- β , ITF など液性因子の動員による粘膜再生・修復も寄与し得、直接的効果の評価とともに検討中である。

4. 半月板断裂に対する radiofrequency energy の効果

畑山 和久, 樋口 博, 木村 雅史

武田 光宏, 渡辺 秀臣, 小野 秀樹

高岸 憲二

(群馬大院・医・機能運動外科学)

【目的】 近年、関節内組織に対して Radiofrequency energy (RFE) を利用した治療法として Capsular shrinkage や Chondroplasty の報告が散見される。一方で半月板組織に対して RFE 処置を行なった報告は少なく、Lopez らは半月板断裂に対して実験的に RFE 処置を行い、断裂部が膠原線維の熱癒合によって接着できる可能性を示した。今回われわれは無血行野の半月板断裂に対して RFE 処置を行い、半月板の組織学的変化を経時的に調査した。**【方法】** 日本白色家兎を対象として、全身麻酔下に膝関節を切開し、内側半月板前節の無血行野に 5mm の縦切開を人工的に作成する。関節内に生理食塩水を貯留させた状態で、Vulcan EAS (Smith & Nephew) を用い断裂部から半月板外縁にかけて RFE 処置 (設定上限温度 60°C, 出力 40w) を行なった。創を閉鎖し、ウサギをゲージ内で飼育した。コントロール群は同様に半月板断裂を作成したのみで創を閉鎖した。処置直後 (0 週), 1 週, 2 週, 4 週, 12 週にウサギを屠殺し、内側半月板を全摘した。組織学的所見を検討するため H. E. 染色を行なった。**【結果】** HE 所見において、断裂部の癒合は、RFE 処置群で 0 週: 4/4 膝, 1 週: 4/4 膝, 2 週: