

トピックス

## 脂肪細胞の自家移植による血糖コントロールについて

千葉大学大学院医学研究院臨床遺伝子応用医学

伊藤 昌史, 武城 英明

千葉大学大学院医学研究院細胞治療学

高橋 和男, 齋藤 康

### はじめに

近年の肥満研究の進展にともない, その本体を構成する脂肪細胞がもつ多様な特性が明らかにされつつある. なかでも, 脂肪細胞が種々の生理活性因子(アディポサイトカイン)を分泌する内分泌細胞としての機能を有し, 生体機能の調節に積極的に寄与していることが明らかになった<sup>1)</sup>. 一方, われわれは3T3-L1脂肪細胞を用いた細胞移植法をマウスにおいて確立し, 移植脂肪細胞が発現した分泌蛋白により個体の耐糖能が修飾されることを明らかにした<sup>2)</sup>. これらの事象は, 脂肪細胞の移植により細胞由来の液性因子をsystemicに供給し得ることを示している.

そこでわれわれはこのような脂肪細胞の特性を応用して新たな疾患治療が可能になるのではないかと考えた. すなわち, 脂肪細胞に治療蛋白の遺伝子を安定導入しこれを移植することで治療蛋白を持続的に血中に補充する, という治療法である. 脂肪細胞は初代培養の単離が可能であることから, 自己由来の初代培養脂肪細胞を用いれば免疫拒絶の可能性も回避できる.

本研究ではその候補として, 1型糖尿病に対する基礎インスリン(食事に

依存しない, 循環中に常時一定量存在するレベルのインスリン)の安定供給を目標に, インスリン遺伝子導入脂肪細胞を用いた糖尿病モデルマウスの治療効果を検討した.

### 1. 改変型インスリン発現初代培養脂肪細胞の作製

脂肪細胞において高活性型インスリンを産生させるために, c-peptideの両端をfurin切断配列に改変し, さらにB鎖10番目のアミノ酸をヒスチジンからアスパラギン酸に置換した改変型ヒトプレプロインスリンcDNA<sup>3)</sup>を構築した(s1s2B10-Ins). この遺伝子を, C57BL/6マウスの皮下脂肪から天井培養法<sup>4)</sup>により単離した初代培養脂肪細胞(PA)にレトロウイルスベクターを用いて安定導入した(s1s2B10-Ins/PA). ELISA法による検討の結果, この細胞の培養上清中に成熟型インスリン, およびc-peptideの分泌を認めた. さらにこの培養上清でヒト肝癌由来HepG2細胞を刺激したところ, インスリン受容体のチロシンリン酸化の亢進が認められた. これらの結果から, 改変型インスリン遺伝子を導入した初代培養脂肪細胞から活性型インスリンが産生されたことが確認された.

### 2. インスリン発現脂肪細胞の移植による治療効果

糖尿病マウスは, 9週齢のC57BL/6マウスに170mg/kgのstreptozotocin(STZ)を静脈内投与して作製した. 細胞移植は, マトリゲルに懸濁したs1s2B10-Ins/PAをマウスの背部皮下に注入して行った. 対照(C群)には, 非遺伝子導入脂肪細胞を同様に移植した. その結果, 移植1週後の絶食時血糖は, C群の $396 \pm 75.2$  mg/dlに対しs1s2B10-Ins/PAの $4 \times 10^6$ 個移植群(L群)で $181.7 \pm 31.8$ mg/dl,  $8 \times 10^6$ 個移植群(H群)で $91.6 \pm 18.7$  mg/dlと移植細胞数に依存して有意に低下した( $p < 0.001$ ). この作用は移植10週にわたって持続し, この間正常マウスの絶食時血糖を下回るような絶食時低血糖は認められなかった. C群で検出限界以下であった血中インスリンは, L群で $92 \pm 38$ pg/ml, H群で $157 \pm 55$ pg/mlとやはり移植細胞数に依存して上昇していた. 持続的なインスリン供給による血糖低下作用によって, 移植10週後のHbA<sub>1c</sub>値はH群において有意に改善された(C群:  $9.8 \pm 0.7\%$  vs.  $8.4 \pm 0.5\%$ ,  $p < 0.01$ ). また, STZ投与により低下した体重(C群:  $16.5 \pm 0.5$ g)も, L群で $19.7 \pm 0.4$ g( $p < 0.01$ ), H群で $21.7 \pm 0.5$ g( $p < 0.001$ )と細胞数に依存して有意に改善された. これらの結果から, 単回の細胞移植により, 10週間にわたって安定な血糖コントロールが達成されたことが明らかになった.

### おわりに

マウスモデルにおいて, インスリンを安定発現する初代培養脂肪細胞を移植することにより長期の血糖コントロールに成功した. 本法は, 臨床においては自家移植が可能なこと, 細胞の凍

結保存により同ロットの頻回移植が可能なこと、血中濃度を移植細胞数により調節できる、などの利点を有し、1型糖尿病に対する有用な治療法と考えられる。特に、高齢者のように自己注射が困難な患者に対して、基礎インスリンを長期間供給できる意義は大きい。また他の疾患とペプチド補充療法についても幅広く応用が可能である。今後は、外来遺伝子発現の制御機構を構築するなど、より安全な治療法への発展が期待される。

#### 文 献

- 1) Shimomura I, Funahashi T, Takahashi M, et al.: Enhanced expression of PAI-1 in visceral fat: possible contributor to vascular disease in obesity. *Nat Med* 1996, 2 : 800-803.
- 2) Shibasaki M, Takahashi K, Ito T, et al.: Alterations of insulin sensitivity by the implantation of 3T3-L1 cells in nude mice. A role for TNF- $\alpha$ ? *Diabetologia* 2002, 45 : 518-526.
- 3) Groskreutz DJ, Sliwkowski MX, Gorman CM: Genetically engineered proinsulin constitutively

- processed and secreted as mature, active insulin. *J Biol Chem* 1994, 269 : 6241-6245.
- 4) Sugihara H, Yonemitsu N, Miyabara S, et al.: Primary cultures of unilocular fat cells: Characteristics of growth in vitro and changes in differentiation properties. *Differentiation* 1986, 31 : 42-49.