

厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）  
分担研究報告書

分担課題： 漢方薬による血管機能回復への効果解析

研究分担者 橋口照人 鹿児島大学大学院医歯学総合研究科・血管代謝病態解析学 教授

## 研究要旨

平成23年度に報告した腹腔内環境の修飾における血管新生因子の影響に関する研究が「血管機能と健康」の観点から本年度にて結論を得ることができた。糖代謝は腹腔内環境の影響を受ける代表的な内分泌システムである。一方、膵細胞の産生する血管内皮細胞増殖因子-A（以下、VEGF-A）と膵細胞の機能についてはこれまで多数報告されていたが、非膵細胞由来の VEGF-A と細胞を含む膵構成細胞との関連についての報告はこれまでなかった。平成25年度の研究において non-細胞由来（内臓平滑筋 dominant）の VEGF-A 発現の up-regulation が islet を構成していないインスリン産生細胞数をマウスモデルにおいて増加していることを見出した。今回の観察は腹腔内環境の構成に重要な役割を持つ血管新生因子と糖代謝の関連を考察する上で重要な結果である。

## A．研究目的

細胞は islet を構成するインスリン産生細胞として認識されている。しかしながら、鏡検下に観察される“ラ氏島を構成していない”インスリン産生細胞（insulin producing cells、以下 IPCs）についての検討は世界的にも殆どなされていない。一方、血管内皮細胞増殖因子-A（以下、VEGF-A）は angiogenesis/vasculogenesis の鍵分子であり、細胞由来の VEGF-A は islet の血管形成および機能維持に必須の役割を果たしている。これまで VEGF-A の islet への生物学的影響に関する研究はインスリンプロモーター下にドライブされる細胞由来 VEGF-A の overexpression あるいは deficient モデルにて検討されてきたが、今回我々は non-細胞由来（内臓平滑筋 dominant）の VEGF-A 発現を up-regulation させたマウスの膵組織の変化について検討した。

## B．研究方法

内臓平滑筋 dominant に VEGF-A の発現を up-regulation する tg マウス (SM-CreER<sup>T2</sup>/hVEGF mice) を作出して SM-CreER<sup>T2</sup> (ki) mice を対象コントロールとして膵組織を組織学的に比較観察するとともに細胞の分化に関す

る因子の発現の比較および STZ 投与による糖尿病モデルマウスの病態を比較検討した。

(倫理面への配慮)

本申請においては個人情報の取り扱いの配慮を必要とする研究およびヒト遺伝子解析研究は含まれない。VEGF 関連疾患トランスジェニックマウスについては、鹿児島大学遺伝子組換え実験安全委員会の承認済み（承認番号24038）である。

## C．研究結果

SM-CreER<sup>T2</sup>/hVEGF mice の膵組織において、islet を構成していない IPCs (100~215 μm<sup>2</sup>) 数の“islet を含む IPCs clusters 数”に対する割合はコントロールに比較して優位に増加した(473 out of 1992 clusters IPCs in SM-CreER<sup>T2</sup>/hVEGF mice, n=5 vs 199 out of 976 in SM-CreER<sup>T2</sup> (ki) mice, n=3, *p* <0.05)。しかしながら、膵外分泌線の面積に対するトータルの IPCs の面積比に有意差は認めなかった。また、islet を構成していない IPCs は IPCs のみ、あるいは細胞との cluster 形成として観察されたが、細胞との cluster 形成は観察されなかった。膵管に観察される IPCs は細胞の progenitor 細胞として知られているが、その数に有意差は認めなかった。islet を構成していない IPCs の

中で細胞増殖の指標となる proliferating cell nuclear antigen (PCNA) 陽性細胞は SM-CreER<sup>T2</sup>/hVEGF mice により観察された。膵組織の 細胞の分化に関する代表的因子 (*Ins1, Ins2, Nkx6-1, Pdx-1, Ngn3, Mafa*) の RT-PCR 解析の比較において有意差は認めなかった。8週齢マウスへの STZ 5日間投与 (50mg/kg/day) における比較では SM-CreER<sup>T2</sup>/hVEGF mice において血糖値が低く、体重減少が抑制されている傾向を認めた。

#### D . 考察

本研究により腹腔内環境における non- 細胞由来 (内臓平滑筋 dominant) の VEGF-A は膵組織における、これまで注目されていなかった islet を構成していない IPCs を増やすことが明らかとなった。今回観察した IPCs がどのような分化過程をたどるのか、あるいは血中の血糖レベルに应答するインスリン分泌応答機能を有するののかの検討がこれからの課題であると考えられる。

#### E . 結論

non- 細胞由来 (内臓平滑筋 dominant) の血管内皮細胞増殖因子-A は膵組織において “ラ氏島を構成していない” インスリン産生細胞の数を増加させる。この観察は、腹腔内環境・血管新生因子・糖代謝の関連を繋ぐ新しい知見であると考えられる。

#### F . 健康危険情報

なし

#### G . 研究発表

##### 1. 論文発表

Takenouchi K, Shrestha B, Yamakuchi M, Yoshinaga N, Arimura N, Kawaguchi H, Nagasato T, Feil R, Kawahara KI, Sakamoto T, Maruyama I, Hashiguchi T. :

Upregulation of non- Cell-derived Vascular Endothelial Growth Factor A Increases Small Clusters of Insulin producing Cells in the Pancreas.

*Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 2014. in press

##### 2. 学会発表

なし

#### H . 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

##### 3. その他

なし