

氏名	荒田 尚
授与した学位	博士
専攻分野の名称	医学
学位授与番号	博乙第 4426 号
学位授与の日付	平成26年 6月30日
学位授与の要件	博士の学位論文提出者 (学位規則第4条第2項該当)

学位論文題目	Maintenance of Glucose-sensitive Insulin Secretion of Cryopreserved Human Islets with University of Wisconsin Solution and Ascorbic Acid-2 Glucoside (アスコルビン酸-2グルコシド添加のUW液を用いて凍結保存した、ヒト膵島の血糖感受性インシュリン分泌能維持について)
--------	--

論文審査委員	教授 山本 和秀 教授 大塚 文男 教授 四方 賢一
--------	----------------------------

学位論文内容の要旨

ドナー不足から、ヒト膵島の細胞治療の適応は限られている。効果的な凍結保存液の開発、膵島への遺伝子導入技術の確立は急務である。本稿では、ヒト膵島の凍結保存、遺伝子導入について検討した。

カナダから空輸されたヒト膵島を用いた。凍結保存液として UW 液に AA2G を加えた A 群、UW 液のみの B 群、100%FBS の C 群、CMRL1066 の D 群を設定した。Dimethylsulfoxide を加え、液体窒素で3ヶ月間凍結保存した。解凍された膵島で viability とインスリン分泌能を評価した。また、細胞外マトリックスで単層化培養に成功した A 群の膵島に対して、レンチウイルスによる遺伝子導入をおこなった。

解凍後の膵島の形態や viability, インスリン分泌能とも A 群が高く、stimulation index は各群と比較し、有意差が得られた。RT-PCR でも A 群に発現が強い傾向がみられた。遺伝子導入後に関しては、内分泌細胞と考えられる単層化した小型細胞のほぼ 100%に LAC Z の発現がみられた。ヒト膵島の標準的な移植法である門脈内注入を、ヌードマウスに対しておこない、組織学的に生着が確認された。

今回、冷凍保存液として UW液に AA2G を添加することの有用性が示された。また、単層化した膵島に効率的に遺伝子を導入でき、将来の不死化遺伝子導入につながる結果と考えられた。また、マウスへの経門脈的ヒト膵島移植成功は、拒絶反応研究モデル作製を可能とする結果と考えられた。

論文審査結果の要旨

本研究は、ヒト膵島の細胞治療のための基礎的検討として、効果的な凍結保存液の開発、細胞不死化のため遺伝子導入技術の開発を目的に行われた。

ヒト膵島を用いた凍結保存において、UW 液にアスコルビン酸-2 グルコシド (AA2G) を加えた凍結保存液の有用性について、UW 液のみ、100% FBS、通常の培養液 (CMRL1066) と比較検討した。凍結解凍後の viability、インスリン分泌能、プロインスリン産生能について検討したところ、UW 液 + AA2G が最も良好であった。またヒト膵島を単層化培養し、レンチウイルスを用いて遺伝子導入を試みたところ、高率に遺伝子導入を行うことができた。また経門脈的にヌードマウスの膵島移植を行ったところ、肝臓への生着が確認された。本研究は膵島細胞移植の基礎的検討として、凍結保存液の開発や遺伝子導入法を開発した点で興味深い。

よって本研究者は博士 (医学) の学位を得る資格があると認める。