

平成 21 年 5 月 29 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19591211
 研究課題名（和文） 若年発症 型糖尿病に対する膵島移植 - 成長と膵島再生の機能連鎖
 研究課題名（英文） Islet transplantation for youth onset type diabetes
 Function chain of growth and reproduction
 研究代表者
 伊勢 一哉（ISE KAZUYA）
 公立大学法人福島県立医科大学・医学部・助教
 研究者番号：90363746

研究成果の概要：諸家の報告と同様に、個体の成長とともに膵島細胞の容量は増加していることが確認された。増殖因子のない条件での膵島と骨髄細胞の混合培養では、骨髄細胞からのインスリン分泌は確認されなかった。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：小児内分泌学、膵島移植

1. 研究開始当初の背景

- (1) 細胞の容量と年齢や体重の増加とはある一定の関係が存在し、耐糖能の変化や細胞死に対しても細胞の容量は増加するといわれている。この結果は、小児期に移植され膵島細胞の再生が起きれば長期生着も期待できることを示唆している。
- (2) 膵島は単一の細胞に分散させて培養すると数日で細胞が癒合し始め、約1週間で100 μ mの膵島が再構築される。骨髄細胞を混合するとこの再構築膵島に取り込まれ、内分泌細胞に特異的な抗体によって染色される事を明らかにしている。

2. 研究の目的

- (1) 小児膵島移植の実現を念頭においた基礎的実験として、小児に対する膵島移植の動物実験モデルを作製し、小児の成長を加味した移植条件の設定を試みた。
- (2) 骨髄中の膵島幹細胞を同定し、さらに増殖させ、再構築膵島を作成し、小児膵島移植の臨床応用へ展開を図る事を目的とした。

3. 研究の方法

- (1) 2、4、6 週齢 B6 マウスの膵島を用い、成長過程における膵島細胞の状態、容量について観察を行った。ストレプトゾトシンで糖尿病を誘発した WT ラットへの同系膵島移植を行い、成長期の至適投与数を決定し、成長に伴う血糖変動、再移植の有無、成長期間と体重増加の関連を検討した。
- (2) 骨髄細胞と膵島細胞の混合培養条件を変化させ設定する。再構築膵島に取り込まれた骨髄細胞がインスリンを発現しているかどうか確認する。混合培養した時の骨髄の分化について、マウスの腎被膜下に移植を行い免疫染色で確認する。混合培養時に添加する増殖因子の量について検索し、条件を変化させ設定する。

4. 研究成果

- (1) B6 マウスから摘出した膵臓を全割して作製した組織標本を用い膵島細胞数を測定したところ、膵島細胞の数および大きさは週齢に従い増加が見られた。3 週齢 WT ラットに 500 個移植すると、移植後 3 週で血糖の再上昇が認められたが、1000 個では正常血糖が維持された。再上昇の 1 週間後に 500 個の膵島を再移植したが血糖の正常化は認めなかった。
- (2) 再構築膵島に取り込まれた骨髄細胞についてインスリン染色を行ったが、染色されなかった。内皮細胞の前駆細胞に見られる Factor8 については移植後 30 日後に陽性細胞が確認された。繊維が細胞の前駆細胞に見られる FSP1 と、膵内分泌細胞の前駆細胞に見られる PDX1 はいずれも確認されなかった。各増殖因子(nicotinamide, EGF, VEGF) について膵島の培養実験で使用されている量は 0-15mM、10-100ng/ml、100ng/ml であった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

- 1) Gunji T, Saito T, Sato Y, Matsuyama S, Ise K, Kimura T, Anazawa T, Gotoh M. Mitomycin-C treatment followed by culture produces long-term survival of islet xenografts in a rat-to mouse model. Cell Transplant. 17(6):619-629, 2008. 査読有

- 2) Satoh A, Saito T, Sato Y, Tsuchiya T, Kenjo A, Kimura T, Kanno R, Suzuki H, Kogure M, Hoshino Y, Gotoh M. Traffic of infused bone marrow cells after genetically-labeled syngeneic bone marrow transplantation following lethal irradiation in mice. Fukushima J Med Sci. 54(1)11-24, 2008. 査読有
- 3) 山下方俊、斎藤拓朗、佐藤佳宏、伊勢一哉、後藤満一. ミゾリピンの異種移植における生着延長効果. 今日の移植. 20(3)、248-251、2007. 査読有

[学会発表](計 4 件)

- 1) Oshibe I, Sato Y, Saito T, Sato J, Kimura T, Kenjo A, Saito T, Gotoh M. Adenine nucleotide levels in closed automated enzymatic digestion system for porcine islet isolation: a new aspect of dilution timing. The 7th Korea-Japan Transplantation Forum 2008.10.11 Seoul, Korea
- 2) Saito Takaharu, Saito Takuro, Sato Y, Ise K, Gunji T, Oshibe I, (Yamamoto M, Waguri S), Gotoh M. Morphological and molecular-biological assessment of rat islets pretreated with Mitomycin-C (MMC) before transplantation. The 7th Korea-Japan Transplantation Forum 2008.10.11 Seoul, Korea
- 3) Tsukada M, Gotoh M, Saito T, Ise K, Kenjo A, Kimura T, Sato Y, Anazawa T, Suzuki S. Highly Toxic Environment to Isolated Islets during Collagenase Overdigestion. The 22th International Congress of The Transplantation Society 2008.8.10-14 Sydney, Australia
- 4) Ishii S, Saito T, Sato Y, Ise K, Kenjo A, Kimura T, Anazawa T, Terashima M, Suzuki S, Gotoh M. Rapid assessment of potential insulin secretory capacity of islets using a newly developed ATP bioluminescence assay. The American Transplant Congress 2007.5.5-9 San Francisco, USA

6 . 研究組織

(1)研究代表者

伊勢 一哉 (ISE KAZUYA)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：9 0 3 6 3 7 4 6

(2)研究分担者

【2007 年度】

松山 真一 (MATSUYAMA SHINICHI)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：9 0 3 8 1 3 8 4

佐藤 佳宏 (SATOH YOSHIHIRO)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：6 0 3 4 7 2 1 8

後藤 満一 (GOTOH MITSUKAZU)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：5 0 1 6 2 1 6 0

【2008 年度】

松山 真一 (MATSUYAMA SHINICHI)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・研究員

研究者番号：9 0 3 8 1 3 8 4

後藤 満一 (GOTOH MITSUKAZU)

公立大学法人福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：5 0 1 6 2 1 6 0

(3)連携研究者

なし