

## 博士論文の要旨及び審査結果の要旨

氏名 張 正堃  
学位 博士 (医学)  
学位記番号 新大院博 (医) 第 819 号  
学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当  
博士論文名 ブタ自家膵島移植モデルの作製  
論文審査委員 主査 教授 曾根 博仁  
副査 教授 土田 正則  
副査 教授 若井 俊文

### 博士論文の要旨

【緒言】膵島移植は血糖コントロールが極めて困難な 1 型糖尿病患者に対して主に欧米にて実施されている細胞移植治療である。インスリン離脱率は未だ十分な成績には至っていない。膵島移植の治療成績の向上のためには良好な動物実験モデルの検討が不可欠であり、臨床に即した大動物モデルが必要である。今回われわれは慢性膵炎に対する自家膵島移植の手技に着目し、ブタを用いた膵全摘によるインスリン依存性糖尿病モデルおよび自家膵島移植モデルの作成が可能かどうかと検証した。さらに 2 型糖尿病に用いられる Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) が自家膵島移植に与える影響についても検証した。

【対象と方法】15-25 が月齢、体重 9-25kg のブタを用いた。自家膵島移植に用いられる膵全摘の手技を応用した糖尿病モデルを作成した (n=4, 糖尿病群)。次に切除膵を用いた自家膵島移植モデルを作成した (n=4, 膵島移植群)。膵島分離は Ricordi 法に準じて行い、経門脈的に肝内へ移植した。さらに膵島移植に GLP-1 を投与したモデルを作成した (n=4, 膵島移植+GLP 群)。以上の実験群に対して、術後 7 日間経過観察を行い、生存率、空腹時血糖値の推移、術前、術後 7 日目の経静脈的ブドウ糖負荷試験による内分泌機能を評価した。また術後 7 日目に膵島移植群の肝生検を行い組織学的に膵島生着の有無を検討した。

【結果】糖尿病群、膵島移植群、膵島移植+GLP 群の術後 7 日目の生存率はそれぞれ 25% (1/4)、75% (3/4)、100% (4/4) であった。糖尿病群に比べ、膵島移植+GLP 群では生存率が改善した (p=0.0404)。糖尿病群において死亡した 3 頭の死因は、高血糖による脱水 (n=2) と腹腔内感染症 (n=1) であった。膵島移植群で死亡した 1 頭の死因は門脈栓塞であった。術後 7 日間の血糖値は糖尿病で 289.7 ± 141.7 mg/dl と高値であったが、膵島移植では 123.4 ± 88.4 mg/dl と改善し (p=0.0384)、膵島移植+GLP 群では 67.4 ± 23.8 mg/dl と膵島移植群からさらに改善した (p=0.0118)。術後 7 日目の経静脈ブドウ糖負荷試験では、糖尿病群の 1 頭は著明な高血糖を示したが、膵島移植群、膵島移植+GLP 群では術前に比べ血糖値の増悪は認められなかった。膵島移植群の術後 7 日目の肝生検で門脈内に移植膵島の生着を確認した。

【考察】糖尿病動物モデルとしてはマウス、ラットが用いられることが多い、ストレプトゾトシン (STZ) を用いた薬剤誘発糖尿病モデルがある。STZ は肝腎毒性があり、STZ 過量投与により致死的となり、投与方法が煩雑である。膵全摘による糖尿病モデルは、理論的にインスリン分泌機能が全くなくなった。そのため、我々は膵全摘を用いた糖尿病モデルを作成することを選択した。90%膵臓

切除と STZ 投与を組み合わせたブタの糖尿病モデルが報告された。利点がある。膵島移植は糖尿病に対する根治的な治療である。長期のインスリン離脱率を維持することが難しいである。IBMR と呼ばれる生体反応は移植膵島細胞を傷害した。門脈栓塞を防止のため、至適門脈圧を注目し、今後の検討が必要である。GLP-1 受容体作動薬が膵島移植の生着を改善することを報告された。GLP-1 は膵島移植再生の観点から注目されている。膵β細胞の自己複製や、幹・前駆細胞から膵島細胞への再生を促進する効果が報告されている。移植した、2年後の血糖値コントロールが良いことが報告された。今回、GLP-1 による移植膵島の耐糖能改善効果を認めたが、膵島生着促進や、膵島再生が関与しているのかについては不明である。今後、膵島移植後の肝生検材料を用いて、検討する。同種膵島移植の大動物モデルの作成を予定である。

【結論】膵全摘術によるブタ糖尿病モデルおよび膵島移植の作成に成功した。GLP-1 は移植膵島の耐糖能を改善する可能性が示唆された。

#### 審査結果の要旨

膵島移植は1型糖尿病患者に対して主に欧米にて実施されている。膵島移植のさらなる治療成績の向上のためには、動物実験モデルの検討が不可欠である。今回、申請者の張らは慢性膵炎に対する自家膵島移植の手技に着目し、ブタを用いた膵全摘によるインスリン依存性糖尿病モデルおよび自家膵島移植モデルの作製を行った。さらに Glucagon-like peptide-1(GLP-1)が自家膵島移植に与える影響についても検証した。

ブタを用いて糖尿病モデルを作製した (n=4,糖尿病群)。また、切除膵を用いた自家膵島移植モデルを作製した (n=4,膵島移植群)。さらに、膵島移植+GLP-1 投与モデルを作製した (n=4,膵島移植+GLP 群)。糖尿病群、膵島移植群、膵島移植+GLP 群の術後7日目の生存率は、25%、75%、100%であった。術後7日間の血糖値は糖尿病群で289.7mg/dl と高値であったが、膵島移植では123.4mg/dl (p=0.0384)、膵島移植+GLP 群では67.4mg/dl であった (p=0.0118)。膵島移植群の術後7日目の肝生検で門脈内に移植膵島の生着を確認した。

術後成績において、問題点(膵全摘の完遂度、インスリン分泌能等)はあるものの、ブタ糖尿病モデルおよび膵島移植モデルが作製された。また、GLP-1 併用投与が移植膵島の耐糖能を改善する可能性が示唆された。

臨床に即した大動物モデル作製の方向性を示したこと、膵島移植における GLP-1 併用療法の可能性を示した点で、学位論文としての価値を認める。