

ラット膵島のガラス化法を用いた凍結保存法の検討

岡山理科大学・工学部・生体医工学科 笹本博美、閻付林、二見 翠、中路修平
(株) NeoCe1 安藤由典

Keywords : 糖尿病、ラット膵島、凍結保存、ガラス化法、膵島移植

1. 目的

現在、1型糖尿病の膵島移植はドナー不足のため、膵島の供給に関する問題が浮上している。解決策として、膵島の凍結保存の確立が重要な役割を担っている。しかし、凍結保存された膵島は、生存率やインスリンの分泌機能が低下するため、膵島移植に使用することは難しい。我々は、新規な凍結保護剤 EDT324 を Quick rate freezing 法(QRF、ガラス化法)で凍結保存して、ラット膵島の生存率やインスリン分泌能を検討した。

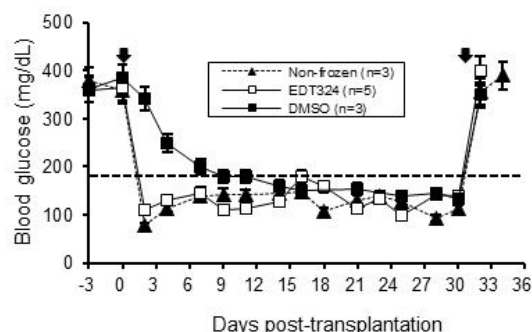
2. 研究方法

- ラット膵島の分離と凍結保存法：膵島は Lewis rat から、コラゲナーゼ による酵素的消化と polysucrose の濃度勾配法により膵島を分離した。SRF法は 10% DMSO 溶液で従来の方法で凍結保存した。QRF法は、膵島と EDT324 溶液の混合液を液体窒素の上に置いたアルミカップの上で急速に凍結した。
- 生存率の測定：膵島を細胞分散酵素で分散したあと、Ethidium Homodimer-1 で膵島細胞を染色して、細胞溶解液添加前と添加後に、蛍光プレートリーダーで蛍光度を測定して生存率を算出した。
- グルコース応答性とインスリン分泌能：膵島を 3mM と 20mM のグルコース溶液で刺激したそれぞれのサンプルのインスリンを定量した。インスリン分泌能は、20mM と 3mM 時のインスリン量の比をインスリン分泌能(SI)とした。

- 膵島移植：ストレプトゾトシン誘発性糖尿病ラットの左腎被膜下に膵島を移植して、30 日後に左腎臓を摘出した。

3. 研究結果

融解後の膵島の生存率は SRF 群で 67.6%、QRF 群で 93.2% だった (図 1)。新鮮な膵島の SI は 7.0 であり、SRF 群で 6.4、QRF 群は 0.9 だった (図 2)。また、EDT324 溶液で凍結した膵島を、ストレプトゾトシン誘発性糖尿病ラットに移植すると血糖値の低下も観察された。さらに、膵島移植 30 日後、左腎摘出することで血糖値の上昇も認めた (図)。



4. 今後の展望

本研究は基礎的検討であることから、さらに大動物を用いた長期的な臨床的研究が必要である。

5. 発表内容の活用可能な分野

本研究の成果は、基礎的な研究分野 (バイオ人工膵臓、細胞治療、ES, iPS 細胞の凍結保存) から臨床分野 (1型糖尿病) まで広範囲に及ぶ分野での応用が可能である