

可逆性不死化ヒト膵島細胞 NAKT-15 を用いたガラス化法による凍結保存溶液の検討

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

Keywords : 糖尿病、凍結保存、ガラス化法、NAKT-15

1. 目的

近年、再生医療や移植治療の進歩に伴って、細胞や組織の凍結保存の重要性が注目されている。しかし、凍結保存には細胞や組織によって成績に違いが生じている。1型糖尿病の移植治療に使用されている膵島は凍結保存することにより、著しく生存率やインスリン分泌能が低下することが知られている。

本研究は、可逆性不死化ヒト膵島細胞 NAKT-15 を用いて、Slow rate freezing 法 (SRF、緩慢凍結保存法) と Quick rate freezing 法 (QRF、ガラス化法) による凍結保存法を比較検討し、NAKT-15 に最適な凍結保存溶液の探索を目的とした。

2. 研究方法

a. 細胞株

凍結保存に使用する細胞は、可逆性不死化ヒト膵島細胞である NAKT-15 を使用した。

b. 凍結保存法

本研究では、1 バイヤル約 50 万個の NAKT-15 を凍結保存した。SRF 法では凍結保護剤として dimethyl sulfoxide (DMSO) を 10% 使用した。一方で、QRF 法では propylene glycol (PG)、DMSO と acetamide (AC) を凍結保護剤として使用した。PG を 0~100%、DMSO を 0~100% と AC を 0~1M の混合液を様々な割合で作成して凍結保存した。

c. 生存率の測定

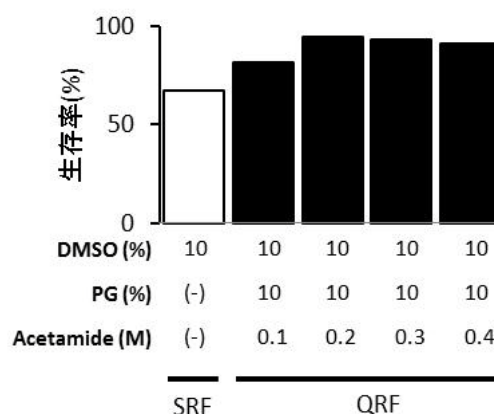
生存率の測定には Trypan blue を用いた分

染法で NAKT-15 を染色して自動セルカウンターで凍結前と融解後に測定して算出した

3. 研究結果

SRF 法による NAKT-15 の生存率は 71% であり、QRF 法による生存率は PG10%、DMSO10% と AC 0.1~0.4M を使用した場合 81~94% であった。

QRF 法で凍結された凍結保存溶液が、NAKT-15 の凍結保存に最適であることが示唆された (図)。



4. 今後の展望

本研究は、NAKT-15 を用いた QRF 法による凍結保存で良好な生存率が得られたが、インスリン分泌能などの機能的な検討が必要である。今後は、NAKT-15 のインスリン分泌能を検討したうえで、ラットの膵島を用いた凍結保存の検討と NAKT-15 やラット膵島を用いた移植実験の検討を行う。