

氏 名	キ 奇 メ 梅 ヒ 日 コウ 更
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2809 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科外科系専攻
学位論文題目	PVA hydrogel sheet macroencapsulation for the bioartificial pancreas (ポリビニルアルコールゲルを用いたシート型マクロカプセル化バイオ人工 膵に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 堤 定 美 教 授 中 尾 一 和 教 授 田 畑 泰 彦

論 文 内 容 の 要 旨

『目的』カプセル化バイオ人工膵の臨床応用, すなわち糖尿病の普遍的な治療法としての確立を目指すためには, 良好な免疫隔離能, 十分な安全性, 簡便な作製方法と移植手技, 取出し・再移植が可能などの特性が重要である。本研究はポリビニルアルコール (PVA) ゲルを用いて, シート型マクロカプセル化バイオ人工膵のより簡便な作製方法を開発し, その機能を *in vitro* 及び *in vivo* で検討することを目的とした。

『材料方法』コラゲナーゼとデキストランによる比重勾配により分離した200個の Wistar ラット膵島を, 3%PVA (PVA を蒸留水で溶解) または 3%PVA+EC (PVA を Euro-Collins 液で溶解後 Nicotinamide, FBS と DMSO を添加) の二種類のゲル中に混和してシート状に成形し, その両側をメッシュで補強して, -80 度にて24時間凍結した。解凍したデバイスを 4°C の UW 液中でさらに24時間浸漬保存した後, CMRL-1066 培地中 37°C で培養した。機能評価は, 同時に分離した同数の膵島をコントロールとし, *in vitro* では14日まで培養 (37°C, 5%CO₂/95%air) して, 膵島の回収率, 経時的な形態変化, インスリン含有量, インスリン分泌能を検討し, *in vivo* では750個の分離膵島を 3%PVA+EC ゲルに包埋したデバイスを作製して, ストレプトゾトシンで糖尿病とした雄性マウスの腹腔内へ移植した。

『結果』膵島の培養1日目の回収率, インスリン含有量は 3%PVA 群で著明に低下したが, コントロール膵島と 3%PVA+EC 群では差が無く良好であった。3%PVA ゲルに包埋した膵島は培養一日目から膵島の辺縁が不明瞭になり, 破壊されているものと考えられた。これに比べて 3%PVA+EC ゲルに包埋した膵島は14日目でも形態が保たれた。培養1から14日目までの 16.7mM グルコース刺激に対するインスリン分泌能は, 3%PVA 群では消失, コントロール膵島は経過とともに低下したが, 3%PVA+EC 群では良好に維持された。*in vivo* では, 非絶食血糖値が移植前の平均 580mg/dl から移植後には 155-273mg/dl まで低下し, 経過とともに体重も増加し, Sham 群 (膵島を含まないデバイスを移植) と比べ, 有意差を認めた。また, 移植したデバイスは移植後30日目に容易に回収可能であり, 組織学的検討により viable な膵島の残存が確認された。

『結論と考察』本研究では PVA の凍結ゲル化法による新しいシート型マクロカプセル化バイオ人工膵の作製方法が有用であることが示唆された。この方法は, 従来開発してきたチューブ或いはバッグ型 PVA デバイスに比べて, 膵島細胞を組み込む上で非常に簡便であり, バイオ人工膵に限らず, 様々な細胞を用いた多様なバイオ人工器官の作製にも応用可能であると考えられた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

膵島移植のドナー不足や免疫抑制剤の長期使用の問題を解決するために, 免疫隔離能を有し, 作製方法と移植手技が簡便で, 移植後再回収及び再移植が可能なカプセル化バイオ人工膵の開発は急務である。

学位授与申請者らはポリビニルアルコール (PVA) ゲルにより, 凍結法を用いた新しいシート型マクロカプセル化バイ

オ人工臓の作製に成功した。ラット膵島を3%PVA（PVAを蒸留水で溶解）または3%PVA+EC（PVAをEuro-Col-lins液で溶解後Nicotinamide, FBSとDMSOを添加）の二種類のゲル中に混和してシート状に成形し、その両側をメッシュで補強して、-80度にて24時間凍結した。解凍したデバイスを4℃のUW液中でさらに24時間浸漬保存した後、CMRL-1066培地中37℃で培養した。3%PVA+ECゲルに包埋した膵島の培養1日目の回収率、インスリン含有量は良好であり、培養14日目まで形態が保たれ、グルコース刺激に対するインスリン分泌能も良好に維持された。また、このゲルに包埋した膵島750個を移植したSTZ-糖尿病マウスで、移植後30日まで血糖値の低下が観察された。

以上の研究はPVAの凍結ゲル化法による新しいマクロカプセル化バイオ人工臓に作製の解明に貢献し、将来の糖尿病治療の臨床応用に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成16年12月24日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。