

京都大学	博士（医学）	氏名	井ノ口健太
論文題目	Impact of Prevascularization on Immunological Environment and Early Engraftment in Subcutaneous Islet Transplantation (皮下膵島移植前血管新生誘導が移植部位免疫環境およびグラフト早期生着に与える影響)		
(論文内容の要旨)			
<p>背景 同種膵島移植は、重度低血糖発作を伴う1型糖尿病に対し血糖値に応じたインスリン分泌を可能とし、糖尿病を根治しうる優れた低侵襲移植治療である。ドナーの出現に依存し、治療に必要な膵島を十分に確保するのは困難であるという課題があり、多能性幹細胞由来の膵島細胞を活用することでの解決が模索されている。この場合、移植片の観察、除去が可能で、低侵襲に移植できる皮下が有望な移植部位とされる。皮下は移植膵島を生着に導く血流が乏しく、血流を促進する様々な方法が試みられ、移植前に皮下に血管を新生させることが必要と考えられている。しかし、皮下への血管新生の際に誘発された反応が移植細胞に与える影響は十分に解明されていない。本研究は膵島皮下移植前に血管新生が与える影響を評価することを目的とした。</p> <p>方法 移植1週間前(1w群)および2週間前(2w群)にストレプトゾトシン誘導糖尿病C57BL/6マウスの背部皮下に basic fibroblast growth factor を担持させたアガロースロッドを挿入し、血管誘導を行ったうえで同系統のマウス膵島500個を移植し、移植前血管誘導を行わない control 群との移植と比較した。また、1w群と2w群で移植前移植部位の細胞浸潤、サイトカインレベルを評価した。グラフトの評価を ¹¹¹Indium-labeled exendin-4 を用いた SPECT/CT にて行った。加えて1w群に抗TNF抗体、抗IL-6抗体を用いた皮下移植を行い、炎症性サイトカインがグラフト生着に及ぼす影響を検討した。</p> <p>結果 血管誘導群は、皮下に新生血管を有しアガロースを囲むカプセル様構造 (ECM カプセル) を認めた。組織学的評価にて1w群のECMカプセル内には2w群より多数の好中球が存在していた。1w群、2w群ともにマクロファージの浸潤を認めた。より長く移植前血管新生を行った2w群は1w群と比較し移植成功率が高く、血糖正常化に要する期間が短かった。SPECT/CTにて生着したグラフトが検出され、血糖正常化がグラフト生着によるものであると確認できた。ECMカプセルの細胞浸潤をフローサイトメトリーにて検討すると、2w群では1w群よりもマクロファージの比率が増加し、好中球の比率は減少していた。ECMカプセルの炎症性サイトカインを評価したところ、1w群はTNFとIL-6が有意に高値であった (p < 0.05)。抗TNF抗体群、抗IL-6抗体群ではそれぞれ血糖正常化率が改善し (p < 0.05)、血糖正常化に要する期間は短縮した (p < 0.05)。結果、1wの血管誘導でも移植成績は2w群と遜色ないものとなった。</p> <p>結論 皮下への移植前の血管誘導では、1w群と比較し、2w群で特に良好な移植成績を得た。移植前の血管誘導の初期段階において好中球とマクロファージの蓄積が確認され、炎症性サイトカイン、特にTNFとIL-6の産生が早期生着を阻害することが判明した。これらは皮下膵島移植の最適化、および移植片の生存率と移植片の生着率を向上させる治療戦略において、貴重な知見を提供するものである。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

膵島移植のドナー不足という課題に対し、多能性幹細胞由来膵島細胞移植が模索され、その場合の移植部位として皮下移植の開発が試みられている。移植前に皮下に血管を新生させることが必要とされるが、皮下への血管新生の際に惹起される反応が移植細胞に与える影響は十分に解明されていない。申請者は、マウス皮下膵島移植モデルにて、basic fibroblast growth factor を担持させたアガロースロッドでの皮下血管誘導を行い、移植部位に起こる変化と移植膵島への影響を評価した。

血管誘導1週群では2週群より多数の好中球が存在し、1週群、2週群ともにマクロファージの浸潤を認めた。血管誘導2週群は移植成功率が高く、血糖正常化に要する期間が短かった。集積細胞をフローサイトメトリーにて検討すると、2週群では1週群よりもマクロファージの比率が増加し、好中球の比率は減少していた。また1週群は移植部位のTNFとIL-6が有意に高値であるが、抗TNF抗体、抗IL-6抗体の処置によって血糖正常化率が改善し、移植成績は2週群と遜色ないものとなった。

以上の研究により、皮下への血管誘導の初期段階において好中球とマクロファージが蓄積し、炎症性サイトカイン、特にTNFとIL-6の産生が早期生着を阻害することが判明した。これらは皮下膵島移植の生着率を向上させる治療戦略において、貴重な知見を提供するものである。

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、令和6年2月9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。